

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ САЙЛЕНСИНГ СТРУКТУРНЫХ ВАРИАЦИЙ ГЕНОМА

© 2017 г. Н. А. Скрябин^{1, 2, *}, С. А. Васильев^{1, 2}, И. Н. Лебедев^{1, 2}

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики,
Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск 634050

*e-mail: nikolay.skryabin@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 07.12.2016 г.

В геноме человека известно огромное количество вариаций числа копий повторов ДНК (copy number variations, CNVs), большинство из которых фенотипически нейтральны. Тем не менее роль CNVs в патогенезе наследственных заболеваний значительна, что особенно актуально для нервно-психических заболеваний, таких как умственная отсталость и аутизм. При анализе CNV-ассоциированных заболеваний дискуссионным вопросом остается выделение патогенетически значимых CNVs среди широко распространенных полиморфных вариантов и прогноз риска проявления заболевания у других детей в семье, при этом механизмы фенотипического проявления CNVs и их неполной пенетрантности остаются во многом неясными. В настоящее время неполная пенетрантность CNVs объясняется в основном только с точки зрения аллельных взаимодействий различных генетических вариаций. При этом эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов в контексте структурных вариаций генома остаются практически неизученными. Возможно, что именно эпигенетические модификации участков генома с CNVs могут лежать в основе понимания возможностей фенотипического проявления структурных вариаций генома у человека.

Ключевые слова: мейотический сайленсинг, структурные вариации генома, неполная пенетрантность, парамутации, метилирование ДНК, умственная отсталость, аутизм.

DOI: 10.7868/S0016675817100101

Развитие технологии биологических микрочипов позволило идентифицировать в геноме человека множество так называемых вариаций числа копий повторов ДНК (copy number variations, CNVs). Около 90% регионов CNVs перекрываются с кодирующими регионами, что указывает на их возможную роль в регуляции экспрессии через эффект дозы или положения гена. Точное число наследственных заболеваний, обусловленных CNVs, остается неизвестным, однако очевидно, что оно может быть очень значительным. Показано, что CNVs лежат в основе 15–25% случаев умственной отсталости неясной этиологии [1]. Другой частой нозологией, ассоциированной с CNVs, является аутизм. В разных странах показана различная распространенность аутизма, вплоть до 1 на 68 детей в США [2]. В Российской Федерации по официальным статистическим данным Научного центра психического здоровья на 1999 г. частота аутизма составляла 1 на 385 человек (более современные статистические данные являются крайне неполными вследствие отсутствия официально утвержденных национальных принципов такого учета) [3]. При этом от 6 до 10% случаев аутизма и

расстройств аутистического спектра (РАС) ассоциированы с CNVs [4].

Необходимо отметить, что значительная часть CNVs, выявляемых при умственной отсталости, являются унаследованными [5]. Учитывая этот факт, а также наличие значительного количества CNVs в геноме здоровых индивидов, важной проблемой является оценка потенциальной патогенетической значимости различных CNVs. Вышеуказанные факты свидетельствуют в пользу того, что значительная часть структурных вариаций генома обладает неполной пенетрантностью. Однако на настоящее время практически нет данных, объясняющих механизмы реализации неполной пенетрантности CNVs, что в свою очередь обуславливает недооценку патогенетической значимости CNVs. Это приводит к сложности в выявлении патогенетически значимых хромосомных перестроек у больных, а также к неопределенности прогноза наследования таких нарушений.

С другой стороны, CNVs потенциально могут приводить к изменениям экспрессионной активности генов, локализованных на интактном гомологе, без изменения нуклеотидной последова-

Пенетрантность микродупликационных и микроделеционных хромосомных аномалий (по [10–12])

Хромосомный регион с аномалией	Тип аномалии	Пенетрантность CNV при умственной отсталости и РАС, % (95% ДИ)		Пенетрантность CNV при шизофрении, % (95% ДИ)	
		[10]	[11]	[11]	[12]
Источник информации					
1q21.1	Делеция	36.9 (23.0–55.0)	35.0 (18.0–67.0)	5.2 (2.5–11.0)	6.1 (3.0–12.0)
1q21.1	Дупликация	29.1 (16.9–46.8)	18.0 (10.0–33.0)	2.9 (1.3–6.3)	–
2p16.3	Делеция	–	26.0 (16.0–80.0)	6.4 (2.5–8.3)	2.0 (1.0–4.0)
3q29	Делеция	–	53.0 (15.0–100.0)	18 (4.7–67.0)	–
7q11.23	Дупликация	–	44.0 (13.0–100.0)	6 (1.4–20.0)	–
15q11.2	Делеция	10.4 (8.45–12.7)	11.0 (8.2–14.0)	2.0 (1.4–2.7)	2.0 (1.0–3.0)
15q11-q13 (с-м Прадера-Вилли/Ангельмана)	Дупликация	–	54.0 (25.0–100.0)	4.2 (1.4–12.0)	–
15q13.3	Делеция	–	35.0 (19.0–62.0)	4.7 (2.2–9.9)	7.4 (3.0–16.0)
16p13.11	Дупликация	–	8.4 (5.7–13.0)	2.2 (1.3–3.7)	2.4 (1.0–4.0)
16p11.2	Делеция	46.8 (31.5–64.2)	23.0 (8.4–63.0)	2.6 (0.8–9.2)	–
16p11.2	Дупликация	27.2 (17.4–40.7)	26.0 (18.0–43.0)	8.0 (4.3–14.0)	6.9 (3.0–14.0)
16p12.1	Делеция	12.3 (7.91–18.8)	–	–	–
16p13.11	Делеция	13.1 (7.91–21.3)	–	–	–
17q12	Делеция	34.4 (13.7–70.0)	39.0 (13.0–100.0)	4.0 (0.8–18.0)	6.7 (3.0–17.0)
17q12	Дупликация	21.1 (10.6–39.5)	–	–	–
22q11.2 (с-м Ди Джорджи)	Делеция	–	88.0 (53.0–100.0)	12 (6.5–18.0)	55.3 (18.0–97.0)
22q11.21	Дупликация	21.9 (14.7–31.8)	–	–	–

тельности. Случаи со сходным типом наследования были недавно описаны в семьях с детьми, больными аутизмом и РАС [6], а также в семьях с наследственными формами рака [7]. Объяснение механизмов реализации неполной пенетрантности CNVs приведет к более полному пониманию механизмов их наследования, что позволит значительно улучшить медико-генетическое консультирование пациентов с CNVs-ассоциированными заболеваниями. В настоящем обзоре предложена гипотеза, объясняющая неполную пенетрантность CNVs за счет возникновения в сайтах их локализации наследуемых эпигенетических модификаций генома.

НЕПОЛНАЯ ПЕНЕТРАНТНОСТЬ CNV И ПАРАМУТАЦИИ

Геном человека характеризуется высокой вариабельностью по CNVs, размеры которых варьируют от нескольких тысяч до миллиона пар оснований. Значительная их часть (около 7 миллионов CNVs) на данный момент интерпретируется как полиморфные варианты [8], тогда как только для 27 тыс. CNVs (0.4%) была доказана патогенетическая значимость [9]. Более впечатляющими вы-

глядят результаты картирования полиморфных CNVs – они перекрывают 78% генома человека и около 95% всех транскриптов в выборке здоровых индивидов. Приведенные цифры указывают на существование системных механизмов, обеспечивающих неполную пенетрантность CNV.

В пользу наличия таких механизмов также свидетельствуют данные по оценке пенетрантности патогенетически значимых частей CNVs, которая при умственной отсталости в среднем составляет около 30% [10, 11], а при шизофрении всего около 8% [11, 12] (таблица).

В работах нашего коллектива также были описаны случаи наследования патогенетически значимых дупликаций у детей с умственной отсталостью от клинически здоровых отцов. Всего было выявлено две семьи с такими дупликациями. В первом случае от здорового отца была унаследована микродупликация размером 351 тпн в регионе 18p11.32. Дупликация охватывала гены *METTL4*, *NDC80*, *CBX3P2* и *SMCHD1* [13]. Во втором случае микродупликация захватывала единственный ген *CNTN6* (3p26.3) и была также унаследована от отца [14].

В настоящее время неполная пенетрантность CNVs объясняется в основном с точки зрения ал-

ельных взаимодействий различных генетических вариаций [15, 16]. В частности, рассматриваются варианты взаимодействия “CNV–точковые мутации” и “CNV–CNV”. Например, фенотипическое проявление синдрома Барда–Бидля, заболевания с аутосомно-рецессивным типом наследования, может быть обусловлено сочетанием микроделетий в гене *NRHP1* на одном аллеле и точковой мутацией на другом (с.14G>T (р.Arg5Leu) в гене *NRHP1*) [17]. Аллельные взаимодействия “CNV–CNV” были идентифицированы при анализе эпистатического взаимодействия генов, локализованных в регионах двух различных CNVs [18]. Первоначальный анализ проводился путем сравнения баз данных белок-белковых взаимодействий с базами данных CNVs. Таким образом были идентифицированы 37 парных CNVs с локализованными на них парами генов с возможностью белок-белковых взаимодействий. В ходе дальнейшего изучения было идентифицировано “CNV–CNV” взаимодействие, ассоциированное с регуляцией экспрессии гена *TP53TG3* геном *TP53*. Данное исследование показывает возможность формирования неполной пенетрантности посредством эпистатической регуляции генов при “CNV–CNV” взаимодействии. Однако то, что данный механизм является стохастическим и достаточно редким, свидетельствует в пользу того, что неполная пенетрантность, обусловленная аллельными взаимодействиями, является скорее исключением, чем правилом.

Другим объяснением неполной пенетрантности CNVs могут стать эпигенетические механизмы. Один из таких путей известен у растений, где он приводит к возникновению парамутаций. Парамутации – это взаимодействие между гомологичными последовательностями ДНК, локализованными на разных хромосомах, приводящее к изменению экспрессионной активности гена на одном из гомологов без изменения нуклеотидной последовательности и передающееся через митоз и мейоз [19]. Впервые парамутации были открыты у кукурузы, при изучении которой было описано транс-взаимодействие гомологичных хромосом и подавление экспрессии одного из аллелей локуса *red1* (парамутабельного) другим аллелем (парамутагенным) [20, 21]. В последующем парамутации были обнаружены и у других организмов, включая насекомых и круглых червей [22]. На связь структурных вариаций генома с возникновением парамутаций указывает то, что все известные примеры локусов, подверженных парамутациям, имеют в своем составе или в ближайшем окружении повторяющиеся последовательности ДНК или инвертированные дубликации [23]. Традиционно в качестве молекулярного механизма, лежащего в основе парамутаций, рассматривается мейотический сайленсинг за счет РНК-интерференции с использованием транскриптов, считы-

вающихся с повторяющимися последовательностями ДНК. Для обеспечения экспрессии этих последовательностей, по-видимому, необходимо формирование определенной конформации хроматина, содержащего повторы [23]. К такому состоянию хроматина потенциально может приводить выпетливание неспаренных участков ДНК на одном из гомологов. Механизмы поддержания транскрипционного сайленсинга в течение жизни следующего поколения связаны с метилированием ДНК. У растений возникновение парамутаций напрямую зависит от работы механизма РНК-зависимого метилирования ДНК [24, 25], играющего важную роль в установлении метилирования повторяющихся последовательностей ДНК, особенно вблизи генов [26, 27]. Помимо парамутаций метилирование является основным механизмом подавления транскрипционной активности транспозонов и неспаренных последовательностей ДНК, а также регуляции дозы генов, локализованных на половых хромосомах.

МЕЙОТИЧЕСКИЙ САЙЛЕНСИНГ

В мейозе как в женских, так и в мужских половых клетках известен механизм мейотического сайленсинга неспаренной ДНК (Meiotic silencing by unpaired DNA – MSUD), представляющий собой репрессию неспаренных последовательностей ДНК в профазе I мейоза с помощью малых интерферирующих РНК (миРНК) [28, 29]. На данный момент точный механизм детекции неспаренных участков генома изучен неполностью. Однако предполагается, что РНК, транскрибируемая с неспаренного гомолога во время мейоза, запускает механизм подавления гена с помощью РНК-интерференции с последующим метилированием CG-динуклеотидов в неспаренном участке и рядом с ним [5]. Гены, участвующие в мейотическом сайленсинге, являются гомологами генов, участвующих в РНК-интерференции у растений, грибов и животных. К таким генам относятся *Sad-1* (кодирует белок, обладающий существенной гомологией с РНК-зависимыми РНК-полимеразами), *dcl-1/sms-3* (Dicer-подобная экзонуклеаза), *sms-2* (гомолог Argonaute), *qip* (конвертирует РНК дуплексы siРНК) и др. Группой Yizhou Wang [30] были идентифицированы малые интерферирующие РНК, ассоциированные с мейотическим сайленсингом (“meiotic-silencing-associated small interfering RNAs” – masiRNAs), и доказана их связь с мейотическим сайленсингом неспаренных участков ДНК.

Дальнейшее закрепление этого состояния за счет метилирования CpG-сайтов зависит от типа гаметогенеза. Представляется, что дифференциальный характер установления метилирования ДНК в женских и мужских половых клетках может приводить к передаче эпигенетических моди-

фикаций, установленных в женском мейозе, в следующее поколение.

Кроме инактивации транспозонов, схожий механизм функционирует и при мейотической инактивации неспаренных половых хромосом (*meiotic sex chromosome inactivation – MSCI*) [31]. В профазе I мейоза вместе с конъюгацией аутосом происходит конъюгация псевдоаутосомных регионов половых хромосом. Все неспаренные участки половых хромосом подвергаются мейотическому сайленсингу по механизму, аналогичному с механизмом инактивации ретротранспозонов.

Аналогичный механизм работает и в половых клетках с Робертсоновскими транслокациями [32]. Образование тривалента приводит к нарушению конъюгации хромосом, участвующих в транслокации, что в свою очередь приводит к сайленсингу значительных участков ДНК на этих хромосомах. Это создает нехватку белков, участвующих в РНК-интерференции, и обуславливает снижение эффективности инактивации половых хромосом. Данные наблюдения свидетельствуют в пользу того, что механизмы инактивации неспаренных участков ДНК являются, по всей видимости, универсальными и не зависят от мишеней для инактивации посредством мейотического сайленсинга.

МЕЙОТИЧЕСКИЙ САЙЛЕНСИНГ CNV

Впервые идея о возможной роли метилирования ДНК при наследовании делеций у человека была высказана Pembrey et al. [6] при анализе феномена “обратной дискордантности”. Авторы проанализировали родословные, описанные в публикации Seroni et al. [33], в которой были изучены семьи детей с CAS-синдромом (*Childhood apraxia of speech* – синдром апраксии речи в детском возрасте) и делецией размером 21.3 тпн в гене *ZNF277*. Данная микроделеция затрагивает так называемый локус *AUTS1* (*autism susceptibility locus*), который ассоциирован с аутизмом, однако ее частота у больных с CAS-синдромом оказалась почти в 3 раза выше, чем у детей с РАС. Особенности в родословной, которые отметила группа Pembrey [6], заключались в наследовании данной микроделеции: в некоторых семьях были выявлены случаи проявления фенотипа CAS-синдрома не только у пробанда с делецией, но и у сибсов без микроделеции. Такое несовпадение генотипов при сходном фенотипе было названо авторами “обратной дискордантностью”. Они высказали гипотезу “мис-матч метилирования в мейозе” (*meiosis mismatch methylation, 3M*). Данная гипотеза предполагает, что в профазе I оогенеза конъюгация хромосомы, несущей микроделецию, с нормальным гомологом увеличивает шанс аномального метилирования в связи с выпетливанием

ем интактной последовательности на нормальном гомологе. Это, в свою очередь, приводит к подавлению функциональной активности генов, локализованных на неповрежденной хромосоме. Фактически, феномен “обратной дискордантности”, описанный Pembrey et al. [6], соответствует парамутациям, однако в формате взаимодействия гомологичных хромосом. При парамутациях, в их классическом определении, в результате взаимодействия между гомологичными последовательностями ДНК, локализованными на разных хромосомах, происходит изменение экспрессионной активности генов на гомологе без изменения нуклеотидной последовательности, при этом изменение экспрессии на неповрежденном гомологе передается через митоз и мейоз [19].

Исходя из анализа результатов исследования родословных пациентов с РАС, являющихся носителями гомозиготной микроделеции гена *ZNF277*, Pembrey et al. [6] выявили несколько семей, в которых наблюдался феномен “обратной дискордантности”, и предположили, что наличие заболевания при отсутствии у пациента делеции обусловлено метилированием неповрежденного гомолога. Кроме того, аналогичные наблюдения были сделаны и при РАС [34]. Была выявлена семья, в которой также было показано наличие феномена парамутации, связанной с делецией гена *OXTR*. Двое детей имели фенотип РАС: один унаследовал микроделецию от матери, а у второго ребенка было выявлено метилирование гена на нормальном гомологе, также унаследованном от матери [34].

Метилирование неспаренных участков ДНК в материнских половых клетках подтверждается работами по изучению статуса метилирования при сбалансированных транслокациях и инверсиях материнского происхождения при синдроме Видеманна–Беквита [35]. Показано, что передача хромосом с перестройками через оогенез приводит к локальному гиперметилированию ДНК в участке с абберациями. При этом метилирование ДНК наблюдается не только непосредственно на участках с транслокациями и инверсиями, но и в прилежащих участках хромосом. Тот факт, что мейотический сайленсинг наблюдается не только при делециях, но и при других случаях негомологичного связывания участков ДНК, в частности при небольших инверсиях и транслокациях, свидетельствует о том, что 3M-гипотеза описывает не все случаи, связанные с мейотическим сайленсингом, в том числе не учитывает вероятную роль мейотического сайленсинга при микродупликациях.

Кроме того, необходимо принимать во внимание половые различия в реализации механизма мейотического сайленсинга, поскольку метилирование ДНК устанавливается различно в жен-

ском и мужском гаметогенезе [36]. В оогенезе метилирование ДНК происходит в профазе I мейоза, после конъюгации гомологичных хромосом, в ходе длительного ареста мейоза от эмбрионального периода развития и вплоть до полового созревания. Если при образовании синаптонемального комплекса на одной из гомологичных хромосом имеется делеция, то участок ДНК без делеции, локализованный на нормальной гомологичной хромосоме, выпетливается и подавляется за счет некодирующих РНК. Затем, в ооцитах в ходе ареста мейоза, репрессия данных последовательностей потенциально может закрепляться при установлении метилирования ДНК. Биологическим смыслом такого процесса может являться защита от новых вставок активных ретротранспозонов и ограничение их экспрессии в течение длительного ареста мейоза. При завершении мейоза это приводит к образованию двух типов гамет — с делецией и без делеции; при этом на хромосоме без делеции участок, гомологичный делетированной последовательности, будет гиперметилирован. Если экспрессия генов, локализованных в таком гиперметилированном регионе, регулируется за счет метилирования ДНК, то эта эпигенетическая модификация может иметь определенные фенотипические последствия. Возникновение таких гиперметилированных областей может рассматриваться как парамутация, где делеция на одном гомологе является парамутагеном, а гиперметилированный участок на другом гомологе — парамутабельным аллелем.

При наличии дубликации в зародышевой линии во время профазы I мейоза в ооцитах происходит выпетливание дублированной части ДНК с последующим ее метилированием. В дальнейшем в ходе мейоза происходит образование двух типов гамет, несущих нормальный или дублированный аллель. При этом экспрессия генов, локализованных на дублированном участке ДНК, может быть подавлена за счет гиперметилирования их промоторов. Этот механизм может объяснять неполную пенетрантность и вариабельную экспрессивность некоторых CNVs, представленных увеличением копийности участков ДНК.

Если в ооцитах происходит метилирование неспаренной ДНК, остается вопрос о том, насколько оно сохраняется при прохождении волны эпигенетического репрограммирования в бластоцисте. Ранее считалось, что обе волны репрограммирования деметилируют большую часть CpG-сайтов в геноме, однако группе китайских ученых во главе с Tang и Qiao [37, 38] недавно удалось измерить средний уровень метилирования клеток в бластоцисте человека. В результате было выявлено, что деметилирование ДНК происходит не полностью — метилированными остаются 43% CpG-сайтов. Эти данные были получены с использова-

нием технологии массивного параллельного секвенирования, в то время как предыдущие выводы делались в основном с помощью анализа флуоресцентно меченых антител к 5-метилцитозину. Метод оценки количества 5-метилцитозина главным образом отражает метилирование повторяющихся последовательностей, составляющих большую часть генома человека, таких как LINE и SINE. Возможно, что уникальные последовательности ДНК могут быть не затронуты при репрограммировании клеток бластоцисты либо затронуты не в такой глобальной степени, как повторяющиеся участки ДНК. Это дает основания считать, что, по крайней мере, для части генов метилирование неспаренной ДНК, установленное в женском мейозе, может наследоваться, не подвергаясь репрограммированию в зиготе и в первых делениях дробления.

В мужской зародышевой линии происходит деметилирование в ходе митотических делений примордиальных клеток в эмбриогенезе, когда стираются почти все установленные ранее эпигенетические модификации (остаточное метилирование составляет около 7.8%), после чего происходит гиперметилирование ДНК и установление специфического профиля метилирования *de novo* [38]. Как и в ооцитах, в мужском мейозе, по-видимому, происходит выпетливание неспаренных участков при конъюгации гомологичных хромосом и их репрессия с помощью некодирующих РНК. Однако дальнейшего метилирования ДНК этих последовательностей не происходит. В частности, это может приводить к деметилированию ДНК в участках с дубликациями на хромосомах отцовского происхождения и фенотипическому проявлению хромосомного дисбаланса в следующем поколении. Именно такой тип наследования был прослежен в обследованной нами семье с микродупликацией 3p26.3, захватывающей единственный ген *CNTN6*: микродупликация у пациента с умственной отсталостью и аномалиями развития была унаследована от клинически здорового отца, получившего, в свою очередь, ее от своей здоровой матери [14].

НАСЛЕДОВАНИЕ И ПЕНЕТРАНТНОСТЬ CNVs С УЧЕТОМ ГИПОТЕЗЫ МЕЙОТИЧЕСКОГО САЙЛЕНСИНГА CNV

Предложенная в настоящей работе гипотеза мейотического сайленсинга CNV позволяет оценить наследование и пенетрантность различных CNVs в зависимости от родительского происхождения аномалии. Если CNV представляет собой дубликацию хромосомного материала, то дублированная часть отсутствует на втором гомологе и остается неспаренной. Это потенциально приводит к ее подавлению за счет механизма мейотического сайленсинга, действующего в мейозе как

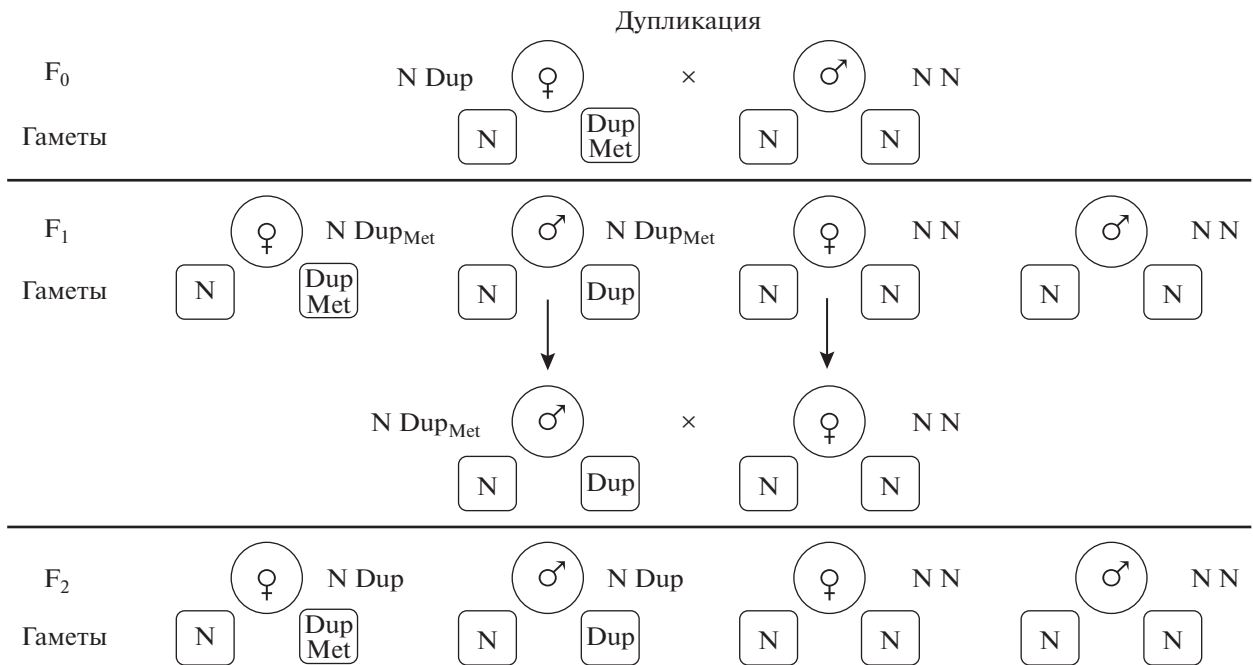


Рис. 1. Схема влияния метилирования неспаренных участков ДНК в мужском и женском мейозе на фенотип при наследовании хромосомных микродупликаций. N – интактный аллель, Dup – аллель с дупликацией, Dup_{Met} – метилированный аллель с дупликацией.

женских, так и мужских половых клеток. Последующая волна метилирования, проходящая в женских половых клетках, может приводить к закреплению репрессии дублицированных последовательностей с помощью метилирования ДНК. В результате в женском мейозе образуются два типа гамет: 1) нормальные и 2) содержащие дупликацию с повышенным уровнем метилирования ДНК (рис. 1). Таким образом, в следующем поколении гены в областях дупликаций, унаследованных от матери, могут: 1) иметь тот же статус метилирования, что и в клетках матери, если она получила эту дупликацию от своей матери; 2) быть гиперметилированными относительно соматических клеток матери, если она унаследовала эту дупликацию от своего отца, или данная перестройка возникла в зародышевой линии *de novo* после мейоза.

В мужском мейозе волна метилирования происходит задолго до формирования синаптонемального комплекса и, по-видимому, не затрагивает последовательности, подавленные за счет механизма мейотического сайленсинга. Поэтому гены в области неспаренных дупликаций, гипометилированные ранее в ходе репрограммирования генома мужских половых клеток, остаются неметилированными. Это должно приводить к тому, что у потомства в генах, расположенных в области дупликаций, полученных от отца, уровень метилирования генов должен быть ниже по сравнению с таковым в соматических клетках отца (если он, в свою очередь, унаследовал эту ду-

пликацию от своей матери) или сравнимым с ним (если он унаследовал ее от своего отца). В целом такой механизм должен приводить к повышению уровня метилирования ДНК в регионах с дупликациями, унаследованных по материнской линии, и к их неполной пенетрантности. Те же дупликации, унаследованные от отца, могут приводить к формированию патологического фенотипа за счет стирания метилирования в отцовском мейозе.

В случае делеции при формировании синаптонемального комплекса остается неспаренной, напротив, нормальная последовательность, имеющаяся на втором интактном гомологе. Это приводит в женском мейозе к ее метилированию и формированию гамет двух типов: 1) с делецией и 2) с гомологичным ей участком с повышенным уровнем метилирования ДНК (рис. 2). В соответствии с предлагаемой гипотезой ожидается, что при наличии делеции у матери, но ее отсутствии у потомства, уровень метилирования ДНК в генах, расположенных в области делеций, полученных от матери, будет повышен. Напротив, если делеция будет иметься в соматических клетках потомства, то уровень метилирования в ее области будет определяться последовательностями ДНК, полученными от отца, и не будет отличаться от них по степени метилирования. То же будет наблюдаться и для генов в области делеций, унаследованных от отца. Таким образом, отличия по индексу метилирования должны наблюдаться для генов в области делеций, унаследованных по женской линии.

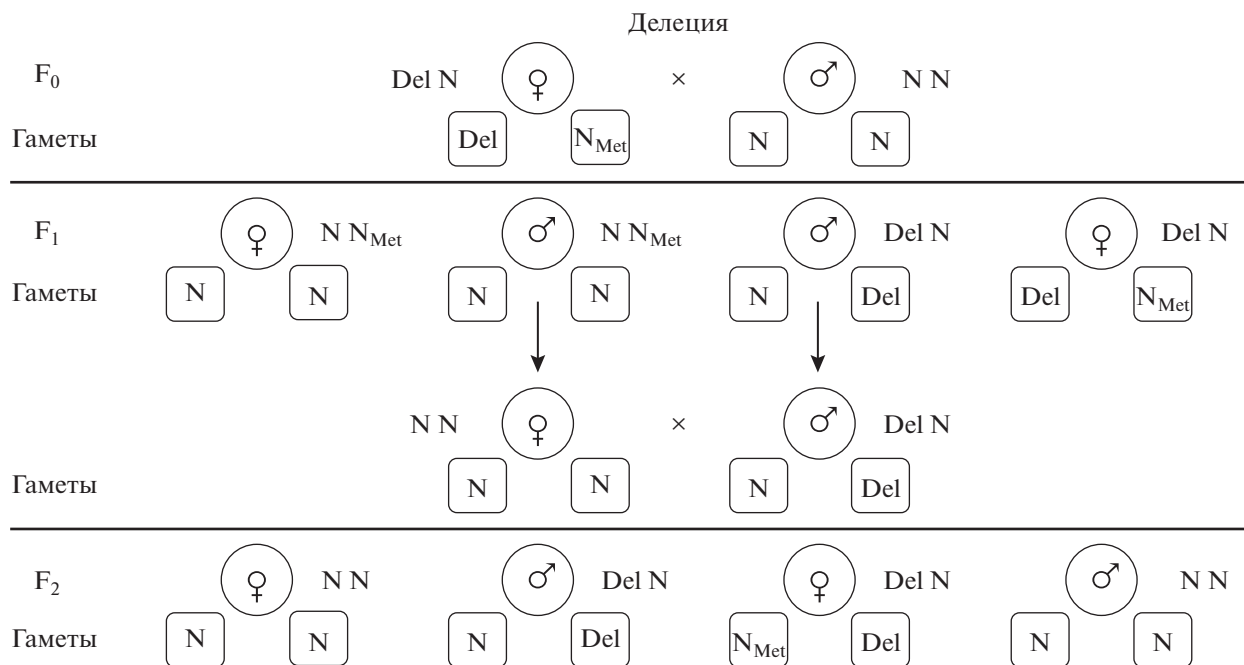


Рис. 2. Схема влияния метилирования неспаренных участков ДНК в мужском и женском мейозе на фенотип при наследовании хромосомных микроделеций. N – интактный аллель, N_{Met} – интактный метилированный аллель, Del – аллель с делецией.

В целом при наследовании делеций материнского происхождения такой механизм должен приводить к возникновению парамутаций в следующем поколении: часть потомства может иметь патологический фенотип вследствие наличия унаследованной делеции; у других потомков сходный фенотип может быть обусловлен нарушениями функции генов в области делеции за счет гиперметилирования без наследования самой делеции.

Скорее всего предложенная гипотеза не является универсальной, и фенотипическое проявление части наследуемых CNVs не будет соответствовать предложенной модели. Во-первых, нельзя забывать, что экспрессия не всех генов регулируется метилированием. Также, теоретически, возможными причинами несоответствия могут являться изменения эпигенетического статуса рассматриваемых генов в ходе одной из волн репрограммирования: 1) при активном деметилировании преимущественно отцовского генома в зиготе сразу после оплодотворения; 2) при пассивном деметилировании обоих геномов в ходе первых делений дробления; 3) при установлении тканеспецифичного характера метилирования при последующей тканевой дифференцировке. Кроме того, исключения могут быть обусловлены характером метилирования при мейотическом сайленсинге, а именно тем, что оно является случайным. Случайное метилирование CpG-сайтов может приводить к тому, что метилирование промоторной области не будет достаточным

для того, чтобы ингибировать экспрессию генов в области CNV.

Предложенная модель может объяснять эффекты, наблюдаемые при наследовании структурных вариаций генома, – неполную пенетрантность CNV и феномен парамутаций, которые могут быть обусловлены мейотическим сайленсингом неспаренной ДНК. Дальнейшие работы по выяснению механизмов реализации неполной пенетрантности и парамутаций позволят более точно прогнозировать фенотипические проявления CNV в следующем поколении, что является критически важным моментом при медико-генетическом консультировании в условиях нарастающего использования методов полногеномного анализа в медицине.

Работа получила финансовую поддержку гранта РФФ № 16-15-10229.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Iyer J., Girirajan S. Gene discovery and functional assessment of rare copy-number variants in neurodevelopmental disorders // *Brief. Funct. Genomics*. 2015. V. 14. № 5. P. 315–328. doi 10.1093/bfpg/elv018
2. Christensen D.L., Baio J., Braun K.V.N. et al. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2012 // *MMWR. Surveill. Summ*. 2016. V. 65. № 3. P. 1–23. doi 10.15585/mmwr.ss6503a1

3. Филиппова Н.В., Барыльник Ю.Б. Эпидемиология аутизма: современный взгляд на проблему // Социальная и клиническая психиатрия. 2014. Т. 24. № 3. С. 96–101.
4. Persico A.M., Napolioni V. Autism genetics // Behavioural Brain Res. 2013. V. 251. P. 95–112. doi 10.1016/j.bbr.2013.06.012
5. Wang B., Ji T., Zhou X. et al. CNV analysis in Chinese children of mental retardation highlights a sex differentiation in parental contribution to *de novo* and inherited mutational burdens // Sci. Rep. 2016. V. 6: 25954. doi 10.1038/srep25954
6. Pembrey M., Golding J., Connelly J. ZNF277 microdeletions, specific language impairment and the meiotic mismatch methylation (3M) hypothesis // Eur. J. Hum. Genet. 2015. V. 23. № 9. P. 1113–1113. doi 10.1038/ejhg.2014.262
7. Cini G., Carnevali I., Quaià M. et al. Concomitant mutation and epimutation of the *MLH1* gene in a Lynch syndrome family // Carcinogenesis. 2015. V. 36. № 4. P. 452–458. doi 10.1093/carcin/bgv015
8. <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home> – База данных геномных вариантов (DGV).
9. <https://decipher.sanger.ac.uk/> – База данных геномных вариантов и фенотипов (DECIPHER).
10. Rosenfeld J.A., Coe B.P., Eichler E.E. et al. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations // Genet. Med. 2013. V. 15. P. 478–481. doi 10.1038/gim.2012.164
11. Kirov G., Rees E., Walters J.T.R. et al. The Penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay // Biol. Psychiatry. Elsevier. 2014. V. 75. № 5. P. 378–385. doi 10.1016/j.biopsych.2013.07.022
12. Vassos E., Collier D.A., Holden S. et al. Penetrance for copy number variants associated with schizophrenia // Hum. Mol. Genet. 2010. V. 19. № 17. P. 3477–3481. doi 10.1093/hmg/ddq259
13. Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Skryabin N.A. et al. Array CGH analysis of a cohort of Russian patients with intellectual disability // Gene. 2014. V. 536. № 1. P. 145–150. doi 10.1016/j.gene.2013.11.029
14. Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Schultz-Pedersen S. et al. Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: *CNTN6* as a new candidate gene for intellectual disability // Mol. Cytogenet. 2014. V. 7: 97. doi 10.1186/s13039-014-0097-0
15. Beckmann J.S., Estivill X., Antonarakis S.E. Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability // Nat. Rev. Genet. 2007. V. 8. № 8. P. 639–646. doi 10.1038/nrg2149
16. Lee C., Scherer S.W. The clinical context of copy number variation in the human genome // Expert Rev. Mol. Med. 2010. V. 12: e8. doi 10.1017/S1462399410001390
17. Lindstrand A., Davis E.E., Carvalho C.M.B. et al. Recurrent CNVs and SNVs at the *NPHP1* locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome // Am. J. Hum. Genet. 2014. V. 94. № 5. P. 745–754. doi 10.1016/j.ajhg.2014.03.017
18. Sun Y.V., Kardia S.L.R. Identification of epistatic effects using a protein-protein interaction database // Hum. Mol. Genet. 2010. V. 19. № 22. P. 4345–4352. doi 10.1093/hmg/ddq356
19. Stam M. Paramutation: A heritable change in gene expression by allelic interactions in trans // Mol. Plant. 2009. V. 2. № 4. P. 578–588. doi 10.1093/mp/ssp020
20. Brink R. A Genetic change associated with the R locus in maize which is directed and potentially reversible // Genetics. 1956. V. 41. № 6. P. 872–889.
21. Brink R. Paramutation at the R locus in maize // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1958. V. 23. P. 379–391.
22. Ronsseray S. Paramutation phenomena in non-vertebrate animals // Semin. Cell Dev. Biol. 2015. V. 44. P. 39–46. doi 10.1016/j.semcdb.2015.08.009
23. Springer N.M., McGinnis K.M. Paramutation in evolution, population genetics and breeding // Semin. Cell Dev. Biol. 2015. V. 44. P. 33–38. doi 10.1016/j.semcdb.2015.08.010
24. Hollick J.B. Paramutation: A trans-homolog interaction affecting heritable gene regulation // Curr. Opin. Plant Biol. 2012. V. 15. № 5. P. 536–543. doi 10.1016/j.pbi.2012.09.003
25. Hövel I., Pearson N.A., Stam M. Cis-acting determinants of paramutation // Semin. Cell Dev. Biol. 2015. V. 44. P. 22–32. doi 10.1016/j.semcdb.2015.08.012
26. Zhong X., Hale C.J., Law J.A. et al. DDR complex facilitates global association of RNA polymerase V to promoters and evolutionarily young transposons // Nat. Struct. Mol. Biol. 2012. V. 19. № 9. P. 870–875. doi 10.1038/nsmb.2354
27. Gent J.I., Ellis N.A., Guo L. et al. CHH islands: *de novo* DNA methylation in near-gene chromatin regulation in maize // Genome Res. 2013. V. 23. № 4. P. 628–637. doi 10.1101/gr.146985.112
28. Aramayo R., Metzberg R.L. Meiotic transvection in fungi // Cell. 1996. V. 86. № 1. P. 103–113. doi 10.1016/S0092-8674(00)80081-1
29. Hammond T.M., Spollen W.G., Decker L.M. et al. Identification of small RNAs associated with meiotic silencing by unpaired DNA // Genetics. 2013. V. 194. № 1. P. 279–284. doi 10.1534/genetics.112.149138
30. Wang Y., Smith K.M., Taylor J.W. et al. Endogenous small RNA mediates meiotic silencing of a novel DNA transposon // G3 (Bethesda). 2015. V. 5. № 10. P. 1949–1960. doi 10.1534/g3.115.017921
31. Turner J.M.A. Meiotic silencing in mammals // Annu. Rev. Genet. 2015. V. 49. P. 395–412. doi 10.1146/annurev-genet-112414-055145
32. Fayer S., Yu Q., Kim J. et al. Robertsonian translocations modify genomic distribution of γ H2AFX and H3.3 in mouse germ cells // Mamm. Genome. 2016. V. 27. № 5–6. P. 225–236. doi 10.1007/s00335-016-9630-2
33. Ceroni F., Simpson N.H., Francks C. et al. Homozygous microdeletion of exon 5 in *ZNF277* in a girl with specific language impairment // Eur. J. Hum. Genet. 2014. V. 22. № 10. P. 1165–1171. doi 10.1038/ejhg.2014.4
34. Gregory S.G., Connelly J.J., Towers A.J. et al. Genomic and epigenetic evidence for oxytocin receptor deficiency in autism // BMC Med. 2009. V. 7: 62. doi 10.1186/1741-7015-7-62
35. Smith A.C., Suzuki M., Thompson R. et al. Maternal gametic transmission of translocations or inversions of human chromosome 11p15.5 results in regional DNA

- hypermethylation and downregulation of *CDKN1C* expression // *Genomics*. 2012. V. 99. № 1. P. 25–35. doi 10.1016/j.ygeno.2011.10.007
36. *Seisenberger S., Peat J.R., Hore T.A. et al.* Reprogramming DNA methylation in the mammalian life cycle: building and breaking epigenetic barriers // *Philos. Trans.* 2013. V. 368. № 1609. P. 20110330. doi 10.1098/rstb.2011.0330
37. *Guo H., Zhu P., Yan L. et al.* The DNA methylation landscape of human early embryos // *Nature*. 2014. V. 511. № 7511. P. 606–610. doi 10.1038/nature13544
38. *Guo F., Yan L., Guo H. et al.* The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells // *Cell*. 2015. V. 161. № 6. P. 1437–1452. doi 10.1016/j.cell.2015.05.015

Epigenetic Silencing of Genomic Structural Variations

N. A. Skryabin^{a, b, *}, S. A. Vasilyev^{a, b}, and I. N. Lebedev^{a, b}

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

^b*National Research Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia*

**e-mail: nikolay.skryabin@medgenetics.ru*

A great amount of copy number variations (CNVs) are identified in the human genome. Most of them are neutral; nevertheless, the role of CNVs in the pathogenesis of hereditary diseases is still significant. Especially, this is important for neuropsychiatric disorders, such as intellectual disability and autism. When analyzing the CNV-associated diseases, the controversial question is to distinguish the pathogenic CNVs among common polymorphic variants and to predict the disease risk in other children of the family. Unfortunately, the mechanisms of phenotypic expression and incomplete penetrance of CNVs remain largely unknown. Currently, incomplete penetrance and variable expressivity of CNVs are attributed mainly to allelic interaction of different genetic variations. However, epigenetic mechanisms of gene expression regulation in the context of structural variation of the genome are poorly explored. It is possible that epigenetic modifications of the genome regions with CNVs may underlie the understanding of ways of phenotypic manifestations of structural variations in the human genome.

Keywords: meiotic silencing, genomic structural variations, incomplete penetrance, paramutations, DNA methylation, intellectual disability, autism.