

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РЕТРОТРАНСПОЗОНА LINE-1 И ЕГО РОЛЬ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

© 2016 г. С. А. Васильев*, Е. Н. Толмачёва, И. Н. Лебедев

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

**e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru*

Поступила в редакцию 24.02.2016 г.

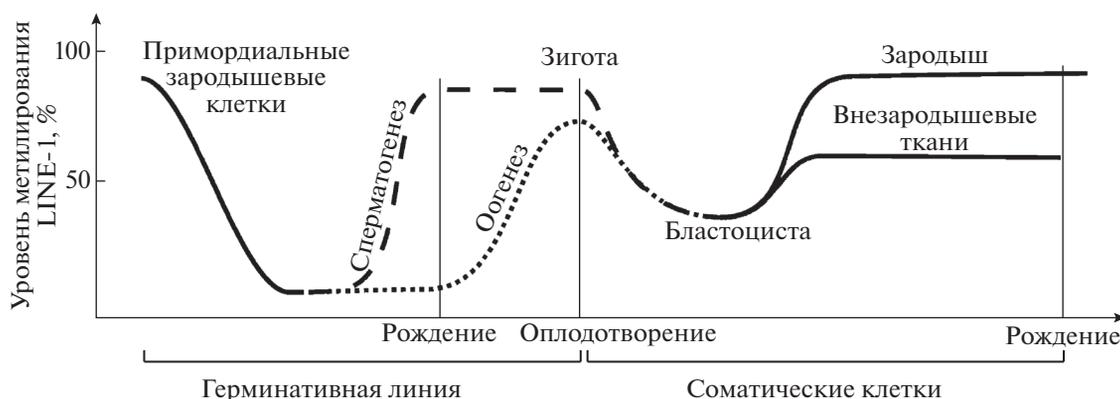
Ретротранспозон LINE-1 – наиболее распространенный мобильный генетический элемент в геномах различных млекопитающих (включая человека), а его гены представлены в наибольшем количестве копий. Долгое время считалось, что присутствие LINE-1 в геноме отражает ограниченную возможность клеток к его удалению, а активность самого ретротранспозона имеет лишь отрицательную сторону в виде инсерционного мутагенеза. В последние годы появились работы, указывающие на повышенную экспрессию ретротранспозона LINE-1 и активность кодируемых им белков в клетках млекопитающих на различных стадиях индивидуального развития организма и в первую очередь – в раннем эмбриогенезе. Связано ли это с тем, что именно на этих этапах развития организм наиболее чувствителен к активности ретротранспозонов, или LINE-1 играет определенную позитивную роль в процессах раннего эмбрионального развития? Настоящий обзор посвящен систематизации имеющихся пока еще немногочисленных данных об эпигенетической регуляции ретротранспозона LINE-1 и о его роли в эмбриогенезе млекопитающих. Впервые в сравнительном аспекте проанализирована связь между механизмами регуляции экспрессии LINE-1 и волнами эпигенетического репрограммирования в половых клетках, при оплодотворении и в бластоцисте, а также при установлении дифференцированного состояния зародышевых и экстраэмбриональных тканей.

Ключевые слова: LINE-1, метилирование ДНК, ретротранспозон, эмбриогенез, эпигенетическая регуляция, эпигенетическое репрограммирование генома.

DOI: 10.7868/S0016675816120158

Около половины генома млекопитающих составляют повторяющиеся последовательности, среди которых широко представлены ретротранспозоны. Семейство ретротранспозонов LINE-1 (long interspersed nuclear element 1) занимает около 20% генома человека [1]. Традиционно ретротранспозоны рассматривались в качестве бесполезных, а из-за своих способностей к рекомбинации и индукции инсерционного мутагенеза в некоторых случаях и вредных паразитных элементов, способных вызывать наследственные заболевания у человека и животных [2–4]. Но в последние годы появились исследования, в которых прослеживается заметная роль LINE-1 в регуляции глобального профиля генной экспрессии у эукариот [5–7]. Кроме того, показано непосредственное участие LINE-1 в таких фундаментальных морфогенетических процессах как ранний эмбриогенез, развитие и дифференцировка [8]. Недавно была описана роль LINE-1 в формировании обширных структурных вариаций генома в ходе эволюции [9, 10].

Участие LINE-1 в этих процессах возможно благодаря уникальным и разнообразным функциям ретроэлементов. Во-первых, на уровне ДНК-последовательностей ретротранспозоны могут работать в качестве альтернативных сильных промоторов, участвовать в обеспечении моноаллельной экспрессии отдельных генов и инактивации X-хромосомы у самок; во-вторых, на уровне РНК-транскриптов могут участвовать в активации эмбрионального генома, инактивации X-хромосомы, поддержании плюрипотентного состояния клеток; и наконец, белки ретротранспозонов могут способствовать смещению транскрипционных профилей за счет работы обратной транскриптазы и поддерживать стабильность теломер [11]. Все эти свойства играют важную роль в процессе индивидуального развития организма. Учитывая, что механизмы регуляции экспрессии LINE-1 носят эпигенетический характер, они тесно связаны с волнами эпигенетического репрограммирования генома в половых клетках, при оплодотворении и в бластоцисте, а также при установлении дифференцированного



Изменчивость уровня метилирования LINE-1 в связи с волнами эпигенетического репрограммирования в онтогенезе млекопитающих (по [12]).

состояния зародышевых и экстраэмбриональных тканей [12] (рисунок). Поэтому отклонения в этих процессах могут вызвать существенное нарушение нормальной экспрессии мобильного элемента на каждом этапе развития. С другой стороны, aberrантные эпигенетические модификации LINE-1 часто свидетельствуют о глобальных эпигенетических аномалиях в геноме. Настоящий обзор посвящен рассмотрению пока еще немногочисленных данных о роли ретротранспозона LINE-1 в эмбриогенезе и последствиях нарушения его эпигенетической регуляции.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА LINE-1

В секвенированных геномах человека, мыши и крысы обнаружено около 500000 копий повторов LINE-1, однако подавляющее их число неактивно из-за многочисленных структурных перестроек. В составе LINE-1 выявлены 5'- и 3'-нетранслируемые районы, две открытые рамки считывания (ORF1 и ORF2) и полиадениновый тракт. Промоторные последовательности, располагающиеся в 5'-нетранслируемом регионе, отвечают за транскрипционную активность ретротранспозонов. Смысловая РНК LINE-1 является матрицей для построения новой копии ДНК LINE-1 и в то же время кодирует белки ORF1p и ORF2p [13, 14]. ORF1p способен формировать мультимерные комплексы, связывать однонитевую РНК и участвовать в процессе обмена нити во время обратной транскрипции элемента LINE-1 [15–17]. Белок ORF2p обладает активностями эндонуклеазы и обратной транскриптазы [18, 19].

Одним из основных механизмов регуляции экспрессии ретротранспозона LINE-1 является метилирование ДНК. Промоторные регионы ретротранспозона содержат большое число CpG-сайтов, которые обычно характеризуются высоким уровнем метилирования как у мыши, так и у человека. Повышенный уровень экспрессии мобильного

элемента сопровождается частичным деметилированием промоторов LINE-1 в 5'-UTR регионе. Метилирование *in vitro* цитозина в CG-динуклеотидах промоторных регионов LINE-1-элементов уменьшает их экспрессию более чем на 70%. Кроме того, в контроле экспрессии LINE-1 задействованы малые некодирующие РНК — piРНК, микроРНК и малые интерферирующие РНК, причем малые РНК работают главным образом в гаметогенезе и сразу после оплодотворения, когда геном подвергается процессу глобального эпигенетического репрограммирования [8].

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ LINE-1 В ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ

Экспрессия LINE-1 и ее регуляция различны в мужских и женских половых клетках млекопитающих. В период эпигенетического репрограммирования генома в мужских первичных половых клетках, когда геном практически деметилирован, транскрипцию LINE-1 контролируют piРНК, которые, с одной стороны, являются супрессорами транскрипционной активности, а с другой — детерминируют метилирование промоторов LINE-1 [20, 21].

В оогенезе, в отличие от сперматогенеза, piРНК скорее всего не участвуют в контроле экспрессии ретротранспозонов, так как потеря PIWI-белков не приводит к возрастанию экспрессии ретротранспозона. Вероятно, в этом случае роль контролирующих элементов играют другие малые РНК — микроРНК и малые интерферирующие РНК. Подобная ситуация наблюдается и в бластоцисте, и в эмбриональных стволовых клетках, где отмечается возрастание уровня экспрессии различных типов малых РНК, в том числе некодирующих РНК, происходящих из транскриптов LINE-1 [8].

Регуляция экспрессии LINE-1 за счет метилирования ДНК также различна в мужских и жен-

Предполагаемые функции LINE-1 и последствия снижения и повышения его экспрессии на различных стадиях индивидуального развития организма

| Стадия развития | Возможные функции LINE-1 | Последствия повышения метилирования/снижения экспрессии | Последствия снижения метилирования/повышения экспрессии |
|------------------------|---|--|---|
| Оогенез | ? | Арест деления на стадии зародышевого пузырька, повреждения ДНК, нарушение конформации хроматина [24] | Арест мейоза, дефекты веретена деления [23, 24] |
| Сперматогенез | ? | Сниженная подвижность сперматозоидов [29], низкое качество спермы [30] | Нарушение продукции сперматозоидов, стерильность [25, 26] |
| Зигота и дробление | Активация эмбрионального генома [32, 41], образование гетерохроматина [46, 47], поддержание стабильности теломер? | Арест деления, нарушение экспрессии генов [41, 42] | ? |
| Эмбриогенез (плацента) | Обеспечение функционирования плаценты? | Спонтанное прерывание беременности? | Возникновение мозаицизма? |

ских половых клетках. Так, промотор LINE-1 гиперметилирован в зрелых сперматозоидах, тогда как в ооцитах I порядка он гипометилирован на стадии диплотены, а ооциты II порядка на стадии овуляции имеют средний индекс метилирования промотора LINE-1 [22] (рисунок).

О функциях LINE-1 в половых клетках почти ничего не известно, однако очевидно, что его экспрессия должна поддерживаться на определенном уровне, поскольку повышение активности LINE-1 ассоциировано с различными аномалиями в гаметах (таблица). Так, например, показано, что сверхэкспрессия ORF1p в мышинных ооцитах приводит к аресту на стадии первого деления мейоза и сопровождается нарушениями выстраивания хромосом на экваторе клетки и дефектами организации веретена деления [23, 24], что обуславливает преимущественную элиминацию ооцитов с повышенной экспрессией ORF1p до рождения [23]. Известно, что нарушение функционирования рiPHK в сперматогенезе в клетках зародышевой линии мышей приводит к освобождению от репрессии различных семейств транспозонов и ассоциировано со стерильностью [25]. У мужчин с нарушением продукции сперматозоидов было обнаружено гиперметилирование генов, связанных с процессингом рiPHK, приводящее, в частности, к снижению уровня метилирования LINE-1 [26]. Повышение экспрессии ретротранспозона может приводить к возникновению двунилевых разрывов ДНК [27]. Соответственно, нарушения в результате активации ретротранспозона указывают на опасность для клетки снятия репрессии с этих последовательностей и хорошо согласу-

ются с традиционным рассмотрением LINE-1 в качестве “опасного пассажира” в геноме.

Более интересными, с точки зрения рассмотрения возможных функций LINE-1, являются данные о необходимости экспрессии LINE-1 в половых клетках. В мышинных ооцитах белок ORF1p присутствует на ранних стадиях гаметогенеза как в цитоплазме, так и в ядре [24] и подавление его синтеза приводит к аресту ооцитов на стадии зародышевого пузырька, а также к подавлению экспрессии циклина B1 и циклин-зависимой киназы CDC2, необходимых для запуска деления. Кроме того, при индуцированном недостатке ORF1p возникают повреждения ДНК и нарушения конформации хроматина [24]. Недавно вблизи акросом сперматозоидов было обнаружено наличие обратной транскриптазы, кодируемой LINE-1 [28]. Ее присутствие в сперматозоидах указывает на необходимость осуществления обратной транскрипции либо в самом сперматозоиде, либо сразу же после оплодотворения, когда геном зародыша еще не активен. Снижение экспрессии обратной транскриптазы в сперматозоидах напрямую с нарушениями в половых клетках ассоциировано не было, однако гиперметилирование LINE-1 ассоциировано со сниженной подвижностью сперматозоидов [29] и низким качеством спермы у доноров [30], что указывает на необходимость экспрессии LINE-1 не только после оплодотворения, но и для обеспечения функционирования сперматозоидов.

ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИИ LINE-1 В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

В эмбрионах мыши LINE-1 активно экспрессируется на стадии первого деления дробления, составляя 13% от общего пула кДНК в клетке [31–33]. В свою очередь, увеличение ретротранскриптазной активности LINE-1 в мышинной зиготе и на стадии первого деления дробления сопровождается увеличением количества копий самого ретротранспозона, независимого от репликации ядерной ДНК. Причем амплификация LINE-1 наблюдается в обоих пронуклеусах сразу после оплодотворения, что указывает, во-первых, на наличие РНК LINE-1 как в ооцитах, так и сперматозоидах и, во-вторых, на необходимость активности обратной транскриптазы еще в зиготе [28]. Интересно, что обратная транскрипция осуществляется, по-видимому, обратной транскриптазой LINE-1, содержащейся вблизи акросомы сперматозоидов [28].

Высокая транскрипционная активность LINE-1 на стадии дробления подтверждается быстрым снижением его метилирования при репрограммировании генома зародыша в зиготе и на стадии дробления (рисунок). Так, в ходе деметилирования отцовского генома в зиготе мышей наиболее значительно (на 18%) снижается индекс метилирования именно ретротранспозонов LINE-1 (в частности, семейств L1Md_T и L1Md_Gf) по сравнению с другими классами транспозонов. В дальнейшем в течение первых делений зиготы индекс метилирования LINE-1 продолжает снижаться в ходе пассивной потери метилирования ДНК, достигая минимума к стадии бластоцисты [22]. Учитывая глобальное деметилирование геномов в ходе репрограммирования, экспрессия LINE-1 в этот период регулируется, по-видимому, за счет механизма РНК-интерференции с использованием коротких некодирующих РНК LINE-1 [34].

Активация экспрессии мобильного элемента может быть побочным результатом гипометилирования генома в ходе глобального эпигенетического репрограммирования, которое происходит в этот период развития организма. В результате такой активации ретротранспозиция LINE-1 может происходить в зародышевой линии клеток млекопитающих и на ранних стадиях развития эмбриона до выделения зародышевой линии [35–40]. С другой стороны, повышение экспрессии LINE-1 может носить неслучайный характер и быть связанным со специфичными функциями LINE-1 в раннем эмбриональном развитии.

Потенциальная роль LINE-1 в раннем эмбриогенезе млекопитающих может реализовываться на уровне последовательности ДНК, экспрессирующихся транскриптов, а также синтезируемых на их основе белков. Наиболее важным событием, проис-

ходящим на этапе дробления, является активация эмбрионального генома (таблица). Предполагается, что ретроэлементы способны играть роль “альтернативных” сильных промоторов, обеспечивающих стабильную экспрессию генов эмбрионального генома на начальных стадиях дробления blastомеров на фоне событий тотального эпигенетического репрограммирования. Это подтверждается тем, что подавление активности одного из семейств LINE-1 приводило к нарушениям первых делений эмбриона на стадии дробления [41, 42]. При этом подавление экспрессии LINE-1 в зиготе и в бластоцистах индуцировало снижение или полное прекращение экспрессии некоторых генов, необходимых для деления нормальной бластоцисты, в том числе и гена *TP53*, тогда как два гена (*HSP70.1* и *CCND1*), транскрипция которых в норме на этих стадиях развития понижена, начинали активно экспрессироваться [41]. Подобный эффект наблюдался и при блокировке активности обратных транскриптаз химическими агентами в клетках у мыши и в трансформированных культурах клеток человека, т.е. снижение ретротранскриптазной активности приводило к нарушению клеточного деления [43, 44]. Кроме того, возможно, что LINE-1 способствует обеспечению открытой конфигурации хроматина на ранних этапах развития эмбриона для протекания процессов эпигенетического репрограммирования и активации эмбрионального генома [45].

Роль LINE-1 в регуляции экспрессии эмбрионального генома может быть также связана с индукцией образования гетерохроматина (таблица). Примером является предположительное участие LINE-1 в инактивации X-хромосомы у самок млекопитающих [46, 47]. У мыши, крысы и человека X-хромосома содержит примерно в 2 раза больше копий LINE-1 по сравнению с другими хромосомами [48, 49]. Кроме того, на X-хромосоме плацентарных LINE-1 распределены относительно равномерно, и их доля снижена только в районах, содержащих гены, избегающие инактивации [50, 51]. Интересно, что в большей степени на X-хромосоме представлены полные и эволюционно более молодые элементы [52]. Связь между LINE-1 и его функцией подавления транскрипции также следует и из эволюционных соображений, так как эволюционный период, в который происходило увеличение числа копий LINE-1 на X-хромосоме, совпадает с возникновением случайной инактивации X-хромосомы у плацентарных млекопитающих [51]. Известное обогащение полных копий LINE-1 вблизи генов со случайной моноаллельной экспрессией также подтверждает идею о том, что они могут играть определенную роль в инактивации одной из копий гена или даже целой хромосомы [53]. Кроме того, была предположена роль LINE-1 в имприн-

тинг [54], однако экспериментальных доказательств этой гипотезы пока не получено.

Участие LINE-1 в индукции образования гетерохроматина, по-видимому, реализуется через РНК-зависимые механизмы. Так, было обнаружено, что LINE-1 вместе с РНК Xist принимает участие в гетерохроматинизации X-хромосомы [55]. Известно, что транскрипты LINE-1 могут выступать в качестве субстратов для малых интерферирующих РНК. Такой процесс наблюдается при дифференцировке зародышевых стволовых клеток, когда эволюционно молодые LINE-1 элементы транскрибируются в районах неактивной X-хромосомы, не подвергшихся инактивации, и запускают локальную гетерохроматинизацию по механизму РНК-интерференции [55]. Масштабное изменение конформации хроматина, начиная от установления так называемой “открытой” конфигурации в бластомерах и до селективного подавления экспрессии отдельных генов при дифференцировке, может объяснить присутствие РНК LINE-1 в клетках в эти периоды развития организма.

Важным фактором поддержания плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток является обеспечение работы теломеразы. Интересно, что экспрессия LINE-1 в опухолевых клетках, по-видимому, ответственна за поддержание активности теломеразы и стабильности теломер [11]. Это достигается за счет регуляции LINE-1 экспрессии транскрипционных факторов с-Мус и KLF-4, активирующих экспрессию теломеразы. с-Мус и KLF-4 также активируют экспрессию LINE-1, что указывает на регуляцию с участием механизма обратной связи [11]. Возможно, как и в опухолевых клетках, экспрессия LINE-1 на ранних этапах развития организма ответственна за поддержание плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток и ее нарушение может приводить к аномалиям дифференцировки тканей эмбриона.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС И РОЛЬ LINE-1 В ПЛАЦЕНТЕ

В течение преимплантационного развития эмбриона индекс метилирования LINE-1 постепенно снижается до минимального уровня на стадии поздней бластоцисты (рисунок). Затем происходит метилирование *de novo*, причем в большинстве производных эпибласта, в том числе и в клетках самого эмбриона, LINE-1 гиперметируется, тогда как в цитотрофобласте и в некоторых производных эпибласта, относящихся в дальнейшем к плацентарным тканям, остается менее метилированным [56]. По нашим результатам и данной литературе [57, 58], плацентарные ткани в первом триместре беременности характеризуются сниженным индексом метилирования этого эле-

мента по сравнению с соматическими тканями взрослого организма, например с лимфоцитами периферической крови (50% в плаценте и 80% в лимфоцитах). Более того, отмечается снижение уровня метилирования LINE-1 в плацентарных тканях в ходе внутриутробного развития, приводящее к повышению его экспрессии [59].

Вероятно, активность LINE-1 необходима для нормального развития плаценты, однако до настоящего времени не проведены исследования по оценке активности ретротранспозона в плацентарных тканях (таблица). Известно, что гены ретровирусного происхождения играют ключевую роль в дифференцировке трофобласта плаценты человека. Баланс экспрессии двух генов эндогенного ретровируса человека – синцитина [60] и супрессина [61] – определяет путь дифференцировки клеток трофобласта до синцитиотрофобласта, характеризующегося формированием синцития из клеток со слившейся цитоплазмой, или инвазивного трофобласта, мигрирующего в децидуальную ткань матки. Возможно, что белки, кодируемые LINE-1, также могут принимать участие в обеспечении функционирования плаценты.

Нормальное функционирование экстраэмбриональных тканей является необходимым условием для обеспечения питания и развития эмбриона. Поэтому чрезмерная активация LINE-1 в экстраэмбриональных тканях, связанная с возникновением двунитевых разрывов ДНК и инсерционным мутагенезом, потенциально может быть причиной нарушений развития эмбриона и приводить к прерыванию беременности. Действительно, нами был обнаружен сниженный уровень метилирования LINE-1 в плацентарных тканях спонтанных абортусов I триместра беременности с нормальным кариотипом по сравнению с нормально развивающимися эмбрионами [58]. Интересно, что ранее в тканях спонтанных абортусов с нормальным кариотипом также была обнаружена сниженная активность поддерживающей ДНК-метилтрансферазы DNMT1, что может приводить как к гипометилированию LINE-1, так и к спонтанному прерыванию беременности [62].

Гиперметилование LINE-1 также потенциально может быть связано с нарушениями внутриутробного развития, однако само по себе, по-видимому, не приводит к прерыванию беременности, так как не встречается среди спонтанных абортусов с нормальным кариотипом [58]. Тем не менее гиперметилование LINE-1 встречается в трофобласте хориона на фоне аномалий кариотипа. Так, при частичном пузырном заносе, причиной которого являются оплодотворение яйцеклетки двумя сперматозоидами и возникающая в результате триплоидия, ретротранспозон LINE-1 гиперметилован в клетках трофобласта [63]. Кроме того, уровень метилирования LINE-1 повышен в

трофобласте хориона спонтанных абортусов с мозаичными формами анеуплоидии в отличие от чистых форм [58]. Однако вряд ли нарушение экспрессии LINE-1 в тканях на фоне аномального кариотипа является определяющим в механизмах, приводящих к внутриутробной гибели. Повышение индекса метилирования мобильного элемента в цитотрофобласте хориона эмбрионов с анеуплоидным кариотипом, скорее всего, отражает более глобальные эпигенетические нарушения на уровне генома и согласуется с данными предыдущих исследований о повышенной доле метилированных CpG-сайтов промоторных регионов генов в той же ткани при трисомии хромосомы 16 [64, 65].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Индекс метилирования ретротранспозона LINE-1 часто используют в качестве показателя глобального уровня метилирования генома, в том числе и в исследованиях нарушений эмбриогенеза [58], в то время как роль ретротранспозонов этого семейства в развитии млекопитающих остается плохо изученной. Практически ничего не известно о роли ретротранспозона в гаметогенезе, кроме того что продукты его экспрессии обнаруживаются и в сперматозоидах, и в ооцитах. Вероятно, активность обратной транскриптазы необходима для запуска работы эмбрионального генома. Несомненно, что эти элементы благодаря своим функциям участвуют в формировании структуры хроматина и необходимы для экспрессии генов, контролирующей дробление blastocysts. К тому же высокий уровень транскрипции LINE-1 в зиготе и blastocyst указывает на эссенциальную роль ретротранспозона в поддержании плюрипотентного состояния клеток. Высокая концентрация LINE-1 в участках ДНК, предполагающих моноаллельную экспрессию в дифференцированных клетках, также свидетельствует о том, что этот элемент в *цис*-положении влияет на инактивацию X-хромосомы. Слабо изучена роль этого мобильного элемента в плацентарных тканях. Несмотря на то что они являются вполне дифференцированными структурами, промоторные регионы LINE-1 имеют низкий уровень метилирования по сравнению с соматическими тканями на тех же сроках развития, что потенциально свидетельствует о более высоком транскрипционном уровне ретротранспозона в провизорных тканях эмбриона.

Несомненно, что ошибки в процессе глобального эпигенетического репрограммирования в половых клетках и позднее в зиготе затрагивают, в первую очередь, такие широко представленные в геноме последовательности, как LINE-1. Несмотря на то что метилирование ДНК не является основным механизмом контроля экспрессии ретротранспозона в первичных гонадах, наруше-

ния глобального деметилирования генома, а также последующего метилирования *de novo* более зрелых половых клеток в течение первой волны репрограммирования, по-видимому, отражаются на уровне экспрессии LINE-1. Последствия ошибок во время второй волны репрограммирования после оплодотворения являются еще более драматичными, так как, с одной стороны, активность LINE-1 необходима в процессе дробления, а с другой стороны, чрезмерная экспрессия ретротранспозона приводит к генетической нестабильности.

Несмотря на небольшое количество проведенных исследований, уже ясно, что значение LINE-1 в эмбриогенезе не ограничивается негативными эффектами снятия его эпигенетической репрессии. Напротив, этот ретротранспозон выполняет ряд функций в эмбриогенезе млекопитающих, необходимых на различных стадиях развития организма.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-01003) и стипендии Президента РФ (СП-3647.2015.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ostertag E.M., Kazazian H.H., Jr. Biology of mammalian L1 retrotransposons // *Annu. Rev. Genet.* 2001. V. 35. P. 501–538. doi 10.1146/annurev.genet.35.102401.091032
2. Mukherjee S., Mukhopadhyay A., Banerjee D. et al. Molecular pathology of haemophilia B: identification of five novel mutations including a LINE 1 insertion in Indian patients // *Haemophilia.* 2004. V. 10. № 3. P. 259–263. doi 10.1111/j.1365-2516.2004.00895.x
3. Brooks M.B., Gu W., Barnas J.L. et al. A Line 1 insertion in the Factor IX gene segregates with mild hemophilia B in dogs // *Mamm. Genome.* 2003. V. 14. № 11. P. 788–795. doi 10.1007/s00335-003-2290-z
4. Muhle C., Zenker M., Chuzhanova N., Schneider H. Recurrent inversion with concomitant deletion and insertion events in the coagulation factor VIII gene suggests a new mechanism for X-chromosomal rearrangements causing hemophilia A // *Hum. Mutat.* 2007. V. 28. № 10. P. 1045. doi 10.1002/humu.9506
5. Feschotte C. Transposable elements and the evolution of regulatory networks // *Nat. Rev. Genet.* 2008. V. 9. № 5. P. 397–405. doi 10.1038/nrg2337
6. Goodier J.L., Kazazian H.H., Jr. Retrotransposons revisited: the restraint and rehabilitation of parasites // *Cell.* 2008. V. 135. № 1. P. 23–35. doi 10.1016/j.cell.2008.09.022
7. Faulkner G.J., Kimura Y., Daub C.O. et al. The regulated retrotransposon transcriptome of mammalian cells // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. № 5. P. 563–571. doi 10.1038/ng.368
8. Jachowicz J.W., Torres-Padilla M.E. LINES in mice: features, families, and potential roles in early develop-

- ment // *Chromosoma*. 2015. V. 125. № 1. P. 29–39. doi 10.1007/s00412-015-0520-2
9. *Beck C.R., Collier P., Macfarlane C. et al.* LINE-1 retrotransposition activity in human genomes // *Cell*. 2010. V. 141. № 7. P. 1159–1170. doi 10.1016/j.cell.2010.05.021
 10. *Iskow R.C., McCabe M.T., Mills R.E. et al.* Natural mutagenesis of human genomes by endogenous retrotransposons // *Cell*. 2010. V. 141. № 7. P. 1253–1261. doi 10.1016/j.cell.2010.05.020
 11. *Aschacher T., Wolf B., Enzmann F. et al.* LINE-1 induces hTERT and ensures telomere maintenance in tumour cell lines // *Oncogene*. 2015. V. 35. № 1. P. 94–104. doi 10.1038/onc.2015.65
 12. *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
 13. *Mathias S.L., Scott A.F., Kazazian H.H., Jr. et al.* Reverse transcriptase encoded by a human transposable element // *Science*. 1991. V. 254. № 5039. P. 1808–1810. doi 10.1126/science.1722352
 14. *Федоров А.* Регуляция транскрипции ретротранспозонов LINE1 млекопитающих // *Цитология*. 2008. Т. 50. № 12. С. 1011–1022.
 15. *Martin S.L.* Nucleic acid chaperone properties of ORF1p from the non-LTR retrotransposon, LINE-1 // *RNA Biol*. 2010. V. 7. № 6. P. 706–711. doi 10.4161/rna.7.6.13766
 16. *An W., Dai L., Niewiadomska A.M. et al.* Characterization of a synthetic human LINE-1 retrotransposon ORF_{1p}-Hs // *Mob. DNA*. 2011. V. 2. № 1. P. 2. doi 10.1186/1759-8753-2-2
 17. *Dai L., Huang Q., Boeke J.D.* Effect of reverse transcriptase inhibitors on LINE-1 and Tyl reverse transcriptase activities and on LINE-1 retrotransposition // *BMC Biochem*. 2011. V. 12. P. 18. doi 10.1186/1471-2091-12-18
 18. *Dewannieux M., Heidmann T.* LINEs, SINEs and processed pseudogenes: parasitic strategies for genome modeling // *Cytogenet. Genome Res*. 2005. V. 110. № 1–4. P. 35–48. doi 10.1159/000084936
 19. *Doucet A.J., Hulme A.E., Sahinovic E. et al.* Characterization of LINE-1 ribonucleoprotein particles // *PLoS Genet*. 2010. V. 6. № 10. doi 10.1371/journal.pgen.1001150
 20. *Aravin A.A., Sachidanandam R., Bourc'his D. et al.* A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to *de novo* DNA methylation in mice // *Mol. Cell*. 2008. V. 31. № 6. P. 785–799. doi 10.1016/j.molcel.2008.09.003
 21. *Aravin A.A., van der Heijden G.W., Castaneda J. et al.* Cytoplasmic compartmentalization of the fetal piRNA pathway in mice // *PLoS Genet*. 2009. V. 5. № 12. e1000764. doi 10.1371/journal.pgen.1000764
 22. *Smith Z.D., Chan M.M., Mikkelsen T.S. et al.* A unique regulatory phase of DNA methylation in the early mammalian embryo // *Nature*. 2012. V. 484. № 7394. P. 339–344. doi 10.1038/nature10960
 23. *Malki S., van der Heijden G.W., O'Donnell K.A. et al.* A role for retrotransposon LINE-1 in fetal oocyte attrition in mice // *Dev. Cell*. 2014. V. 29. № 5. P. 521–533. doi 10.1016/j.devcel.2014.04.027
 24. *Luo Y.B., Zhang L., Lin Z.L. et al.* Distinct subcellular localization and potential role of LINE1-ORF1P in meiotic oocytes // *Histochem Cell Biol*. 2015. V. 145. № 1. P. 93–104. doi 10.1007/s00418-015-1369-4
 25. *Aravin A.A., Sachidanandam R., Girard A. et al.* Developmentally regulated piRNA clusters implicate MILI in transposon control // *Science*. 2007. V. 316. № 5825. P. 744–747. doi 10.1126/science.1142612
 26. *Heyn H., Ferreira H.J., Bassas L. et al.* Epigenetic disruption of the PIWI pathway in human spermatogenic disorders // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 10. e47892. doi 10.1371/journal.pone.0047892
 27. *Gasior S.L., Wakeman T.P., Xu B., Deininger P.L.* The human LINE-1 retrotransposon creates DNA double-strand breaks // *J. Mol. Biol*. 2006. V. 357. № 5. P. 1383–1393. doi 10.1016/j.jmb.2006.01.089
 28. *Vitullo P., Sciamanna I., Baiocchi M. et al.* LINE-1 retrotransposon copies are amplified during murine early embryo development // *Mol. Reprod. Dev*. 2012. V. 79. № 2. P. 118–127. doi 10.1002/mrd.22003
 29. *Tian M., Bao H., Martin F.L. et al.* Association of DNA methylation and mitochondrial DNA copy number with human semen quality // *Biol. Reprod*. 2014. V. 91. № 4. P. 101. doi 10.1095/biolreprod.114.122465
 30. *Houshdaran S., Cortessis V.K., Siegmund K. et al.* Widespread epigenetic abnormalities suggest a broad DNA methylation erasure defect in abnormal human sperm // *PLoS One*. 2007. V. 2. № 12. e1289. doi 10.1371/journal.pone.0001289
 31. *Evsikov A.V., de Vries W.N., Peaston A.E. et al.* Systems biology of the 2-cell mouse embryo // *Cytogenet Genome Res*. 2004. V. 105. № 2–4. P. 240–250. doi 10.1159/000078195
 32. *Peaston A.E., Evsikov A.V., Graber J.H. et al.* Retrotransposons regulate host genes in mouse oocytes and preimplantation embryos // *Dev. Cell*. 2004. V. 7. № 4. P. 597–606. doi 10.1016/j.devcel.2004.09.004
 33. *Peaston A.E., Knowles B.B., Hutchison K.W.* Genome plasticity in the mouse oocyte and early embryo // *Biochem. Soc. Trans*. 2007. V. 35. № Pt 3. P. 618–622. doi 10.1042/BST0350618
 34. *Fadloun A., Le Gras S., Jost B. et al.* Chromatin signatures and retrotransposon profiling in mouse embryos reveal regulation of LINE-1 by RNA // *Nat. Struct. Mol. Biol*. 2013. V. 20. № 3. P. 332–338. doi 10.1038/nsmb.2495
 35. *Brouha B., Meischl C., Ostertag E. et al.* Evidence consistent with human L1 retrotransposition in maternal meiosis I // *Am. J. Hum. Genet*. 2002. V. 71. № 2. P. 327–336. doi 10.1086/341722
 36. *Garcia-Perez J.L., Marchetto M.C., Muotri A.R. et al.* LINE-1 retrotransposition in human embryonic stem cells // *Hum. Mol. Genet*. 2007. V. 16. № 13. P. 1569–1577. doi 10.1093/hmg/ddm105
 37. *Kano H., Godoy I., Courtney C. et al.* L1 retrotransposition occurs mainly in embryogenesis and creates so-

- matic mosaicism // *Genes Dev.* 2009. V. 23. № 11. P. 1303–1312. doi 10.1101/gad.1803909
38. *Ostertag E.M., DeBerardinis R.J., Goodier J.L. et al.* A mouse model of human L1 retrotransposition // *Nat. Genet.* 2002. V. 32. № 4. P. 655–660. doi 10.1038/ng1022
 39. *van den Hurk J.A., Meij I.C., Seleme M.C. et al.* L1 retrotransposition can occur early in human embryonic development // *Hum. Mol. Genet.* 2007. V. 16. № 13. P. 1587–1592. doi 10.1093/hmg/ddm108
 40. *van den Hurk J.A., van de Pol D.J., Wissinger B. et al.* Novel types of mutation in the choroideremia (CHM) gene: a full-length L1 insertion and an intronic mutation activating a cryptic exon // *Hum. Genet.* 2003. V. 113. № 3. P. 268–275. doi 10.1007/s00439-003-0970-0
 41. *Li J., Kannan M., Trivett A.L. et al.* An antisense promoter in mouse L1 retrotransposon open reading frame-1 initiates expression of diverse fusion transcripts and limits retrotransposition // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. № 7. P. 4546–4562. doi 10.1093/nar/gku091
 42. *Beraldi R., Pittoggi C., Sciamanna I. et al.* Expression of LINE-1 retrotransposons is essential for murine preimplantation development // *Mol. Reprod. Dev.* 2006. V. 73. № 3. P. 279–287. doi 10.1002/mrd.20423
 43. *Kigami D., Minami N., Takayama H., Imai H.* MuERV-L is one of the earliest transcribed genes in mouse one-cell embryos // *Biol. Reprod.* 2003. V. 68. № 2. P. 651–654. doi 10.1095/biolreprod.102.007906
 44. *Mangiacasale R., Pittoggi C., Sciamanna I. et al.* Exposure of normal and transformed cells to nevirapine, a reverse transcriptase inhibitor, reduces cell growth and promotes differentiation // *Oncogene.* 2003. V. 22. № 18. P. 2750–2761. doi 10.1038/sj.onc.1206354
 45. *Sciamanna I., Landriscina M., Pittoggi C. et al.* Inhibition of endogenous reverse transcriptase antagonizes human tumor growth // *Oncogene.* 2005. V. 24. № 24. P. 3923–3931. doi 10.1038/sj.onc.1208562
 46. *Hall L.L., Carone D.M., Gomez A.V. et al.* Stable C0T-1 repeat RNA is abundant and is associated with euchromatic interphase chromosomes // *Cell.* 2014. V. 156. № 5. P. 907–919. doi 10.1016/j.cell.2014.01.042
 47. *Lyon M.F.* X-chromosome inactivation: a repeat hypothesis // *Cytogenet. Cell Genet.* 1998. V. 80. № 1–4. P. 133–137. doi 10.1159/000014969
 48. *Lyon M.F.* LINE-1 elements and X chromosome inactivation: a function for “junk” DNA? // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 12. P. 6248–6249. doi 10.1073/pnas.97.12.6248
 49. *Waterston R.H., Lindblad-Toh K., Birney E. et al.* Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome // *Nature.* 2002. V. 420. № 6915. P. 520–562. doi 10.1038/nature01262
 50. *Boyle A.L., Ballard S.G., Ward D.C.* Differential distribution of long and short interspersed element sequences in the mouse genome: chromosome karyotyping by fluorescence in situ hybridization // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1990. V. 87. № 19. P. 7757–7761.
 51. *Bailey J.A., Carrel L., Chakravarti A., Eichler E.E.* Molecular evidence for a relationship between LINE-1 elements and X chromosome inactivation: the Lyon repeat hypothesis // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 12. P. 6634–6639. doi 10.1073/pnas.97.12.6634
 52. *Mikkelsen T.S., Wakefield M.J., Aken B. et al.* Genome of the marsupial *Monodelphis domestica* reveals innovation in non-coding sequences // *Nature.* 2007. V. 447. № 7141. P. 167–177. doi 10.1038/nature05805
 53. *Abrusan G., Giordano J., Warburton P.E.* Analysis of transposon interruptions suggests selection for L1 elements on the X chromosome // *PLoS Genet.* 2008. V. 4. № 8. P. e1000172. doi 10.1371/journal.pgen.1000172
 54. *Allen E., Horvath S., Tong F. et al.* High concentrations of long interspersed nuclear element sequence distinguish monoallelically expressed genes // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. № 17. P. 9940–9945. doi 10.1073/pnas.1737401100
 55. *Paco A., Adegas F., Chaves R.* LINE-1 retrotransposons: from ‘parasite’ sequences to functional elements // *J. Appl. Genet.* 2014. doi 10.1007/s13353-014-0241-x
 56. *Chow J.C., Ciaudo C., Fazzari M.J. et al.* LINE-1 activity in facultative heterochromatin formation during X chromosome inactivation // *Cell.* 2010. V. 141. № 6. P. 956–969. doi 10.1016/j.cell.2010.04.042
 57. *Rosser J.M., An W.* L1 expression and regulation in humans and rodents // *Front Biosci (Elite Ed).* 2012. V. 4. P. 2203–2225. doi 10.2741
 58. *Васильев С.А., Толмачева Е.Н., Кашеварава А.А. и др.* Статус метилирования ретротранспозона LINE-1 при хромосомном мозаицизме на ранних стадиях эмбрионального развития человека // *Мол. биология.* 2015. Т. 49. № 1. С. 165–174. doi 10.7868/S0026898414060196
 59. *Price E.M., Cotton A.M., Penaherrera M.S. et al.* Different measures of “genome-wide” DNA methylation exhibit unique properties in placental and somatic tissues // *Epigenetics.* 2012. V. 7. № 6. P. 652–663. doi 10.4161/epi.20221
 60. *He Z.M., Li J., Hwa Y.L. et al.* Transition of LINE-1 DNA methylation status and altered expression in first and third trimester placentas // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 5. e96994. doi 10.1371/journal.pone.0096994
 61. *Mi S., Lee X., Li X. et al.* Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis // *Nature.* 2000. V. 403. № 6771. P. 785–789. doi 10.1038/35001608
 62. *Sugimoto J., Sugimoto M., Bernstein H. et al.* A novel human endogenous retroviral protein inhibits cell-cell fusion // *Sci. Rep.* 2013. V. 3. P. 1462. doi 10.1038/srep01462
 63. *Yin L.J., Zhang Y., Lv P.P. et al.* Insufficient maintenance DNA methylation is associated with abnormal embryonic development // *BMC Med.* 2012. V. 10. P. 26. doi 10.1186/1741-7015-10-26
 64. *Perrin D., Ballestar E., Fraga M.F. et al.* Specific hypermethylation of LINE-1 elements during abnormal overgrowth and differentiation of human placenta // *Oncogene.* 2007. V. 26. № 17. P. 2518–2524. doi 10.1038/sj.onc.1210039
 65. *Толмачева Е.Н., Кашеварава А.А., Скрябин Н.А., Лебедев И.Н.* Эпигенетические эффекты трисомии 16 в плацентарных тканях человека // *Мол. биология.* 2013. Т. 47. № 3. С. 423–432. doi 10.7868/S002689841303018X

Epigenetic Regulation and Role of LINE-1 Retrotransposon in Embryogenesis

S. A. Vasilyev*, E. N. Tolmacheva, and I. N. Lebedev

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

** e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru*

LINE-1 retrotransposon is the most common mobile genetic element in the genomes of various mammals, including humans. Its genes are represented by the greatest number of copies. For a long time, it has been considered that the presence of LINE-1 in genome reflects the limited ability of cells to eliminate it, and the retrotransposon activity is negative owing to the insertional mutagenesis. In recent years, the increased expression of LINE-1 retrotransposon and the activity of their encoded proteins observed in mammalian cells at different stages of development and, first of all, in early embryogenesis have been discussed in the literature. Is early embryogenesis the stage of development when the organism is more susceptible to the activity of retrotransposons, or does LINE-1 play some positive role in early embryonic development? This review is aimed at classifying the available data on the epigenetic regulation and the role of LINE-1 retrotransposon in embryogenesis of mammals. The link between the mechanisms of regulation of LINE-1 expression and the waves of epigenetic reprogramming is tracked in germ cells, during fertilization, and in blastocyst, as well as during the differentiation of embryonic and extraembryonic tissues. English translation of the paper published in Russian Journal of Genetics, 2016, Vol. 52, No. 12, is available ONLINE by subscription from: <http://www.springer.com/>, <http://link.springer.com/journal/11177>

Keywords: LINE-1, DNA methylation, retrotransposon, embryogenesis, epigenetic regulation, epigenetic reprogramming of the genome.