

<https://doi.org/10.17816/ecogen173111-117>

ИЗУЧЕНИЕ МАРКЕРА АКТИВНОГО ХРОМАТИНА — АЦЕТИЛИРОВАННОГО ГИСТОНА H3K9 — ХРОМОСОМ ИЗ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В ПРЕ- И ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ОНТОГЕНЕЗА

© О.А. Ефимова¹, А.А. Пендина^{1,2}, Ю.Г. Лежнина², А.В. Тихонов^{1,2}, О.Г. Чиряева¹, Л.И. Петрова¹, В.С. Дудкина¹, А.С. Кольцова^{1,3}, М.И. Крапивин^{1,3}, А.В. Петровская-Каминская^{1,3}, О.Е. Талантова¹, Т.В. Кузнецова¹, В.С. Баранов^{1,3}

¹ ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург;

² Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург;

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Для цитирования: Ефимова О.А., Пендина А.А., Лежнина Ю.Г., и др. Изучение маркера активного хроматина — ацетилованного гистона H3K9 — хромосом из лимфоцитов человека в пре- и постнатальный период онтогенеза // Экологическая генетика. — 2019. — Т. 17. — № 3. — С. 111–117. <https://doi.org/10.17816/ecogen173111-117>.

Поступила: 25.09.2018

Одобрена: 25.12.2018

Принята: 28.12.2018

✿ **Введение.** Нарушения эпигенетического маркирования генома приводят к хроматиновым болезням, в связи с чем актуальным представляется изучение эпигенетических маркеров хромосом в онтогенезе человека. **Цель** — провести сравнительный анализ распределения ацетилованного по лизину в 9-м положении гистона H3 (AcH3K9) на метафазных хромосомах из лимфоцитов периферической крови взрослых индивидов и пуповинной крови плодов человека. **Методы.** Иммуноцитохимическая детекция AcH3K9 на препаратах метафазных хромосом из стимулированных фитогемагглютинином лимфоцитов периферической крови 13 взрослых индивидов и пуповинной крови 10 плодов человека 20–22 недель развития. **Результаты.** Участки хроматина, обогащенные AcH3K9, преимущественно локализованы в R- и особенно в T-сегментах метафазных хромосом как у плодов, так и у взрослых индивидов. AcH3K9 отсутствует в блоках прицентромерного гетерохроматина хромосом 1, 9, 16; степень ацетилирования G-сегментов низкая. Выявлены различия по содержанию AcH3K9 в отдельных сегментах хромосом у взрослых и плодов: в сегментах 2q31, 5p13, 5p15 и 16p13 обнаружен более высокий уровень ацетилирования H3K9 у взрослых индивидов по сравнению с таковым у плодов, а в сегменте 9q13, наоборот, более низкий. **Выводы.** Распределение AcH3K9 вдоль плеч метафазных хромосом из лимфоцитов характеризуется сегментной специфичностью и одинаково у взрослых индивидов и плодов человека за исключением единичных сегментов, в которых уровень ацетилирования H3K9 отличается.

✿ **Ключевые слова:** эпигенетика; онтогенез человека; ацетилирование гистонов; хромосомы; хроматиновые болезни; пренатальная диагностика.

STUDY OF ACETYLATED HISTONE H3K9 - AN ACTIVE CHROMATIN MARK - IN CHROMOSOMES FROM ADULT AND FETAL HUMAN LYMPHOCYTES

© О.А. Efimova¹, А.А. Pendina^{1,2}, Y.G. Lezhnina², А.В. Tikhonov^{1,2}, О.Г. Chiryayeva¹, L.I. Petrova¹, V.S. Dudkina¹, А.С. Koltsova^{1,3}, М.И. Krapivin^{1,3}, А.В. Petrovskaya-Kaminskaya^{1,3}, О.Е. Talantova¹, T.V. Kuznetzova¹, V.S. Baranov^{1,3}

¹ D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia

² Center for Medical Genetics, Saint Petersburg, Russia

³ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Cite this article as: Efimova OA, Pendina AA, Lezhnina YG, et al.

Study of acetylated histone H3K9 — an active chromatin mark — in chromosomes from adult and fetal human lymphocytes.

Ecological genetics. 2019;17(3):111-117. <https://doi.org/10.17816/ecogen173111-117>.

Received: 25.09.2018

Revised: 25.12.2018

Accepted: 28.12.2018

✿ **Background.** Incorrect epigenetic modifications of the human genome may result in epigenetic disorders, thus, highlighting the necessity of studying chromosome epigenetic patterns in human development. **Aim of the study:** a comparative analysis of acetylated histone H3K9 (AcH3K9) patterns in human metaphase chromosomes from the lymphocytes of adults and fetuses. **Materials and methods.** The immunocytochemical detection of AcH3K9 in the metaphase chromosomes from PHA-stimulated peripheral lymphocytes of 13 adults and cord blood lymphocytes of 10 fetuses at 20-22 weeks of gestation. **Results.** Both in the chromosomes of the adults and the fetuses, AcH3K9 accumulated in the R- and T-, but not G-bands and avoided the regions of pericentromeric heterochromatin of the chromosomes 1, 9 and 16. When comparing the adult and the

fetal chromosomes, different levels of AcH3K9 were revealed in a few bands: 2q31, 5p13, 5p15 and 16p13 had higher level of H3K9 acetylation in adults, in contrast to 9q13 which was hyperacetylated in fetuses. **Conclusion.** The AcH3K9 distribution in metaphase chromosomes is band-specific and is similar between the adults and the fetuses, excluding a few bands with different acetylation levels.

✿ **Keywords:** epigenetics; human development; histone acetylation; chromosomes; chromatin disorders; prenatal diagnosis.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы возрос интерес к изучению организации хроматина в связи с идентификацией особой группы заболеваний — эпигенетических, или хроматиновых, болезней человека. Собственно термин «эпигенотип» впервые был предложен в 1942 г. для описания изменений экспрессии генов в ходе развития [1]. В настоящее время под эпигенетическими понимают изменения экспрессии отдельных генов без каких-либо структурных изменений в последовательности их нуклеотидов. Эпигенетические модификации обеспечивают установление и контроль дифференциальной активности генов в клетках различных тканей и на разных стадиях онтогенеза. Именно благодаря эпигенетическим механизмам в условиях идентичности наследственного аппарата во всех клетках одного организма возникает их многообразие с различными фенотипами и функциями [2]. Нарушения эпигенетического маркирования генома, в том числе вызванные воздействием внешних факторов, являются причиной его аномального функционирования, что в свою очередь приводит к эпигенетическим болезням, к которым относят болезни геномного импринтинга, а именно синдром Сильвера — Рассела, Беквита — Видемана, Прадера — Вилли, Ангельмана и др., а также синдромы ICF¹, Ретта, Рубинштейна — Тейби, Коффина — Лаури [3–5].

К эпигенетическим модификациям хроматина относят метилирование цитозина ДНК и посттрансляционные модификации гистоновых белков. Под метилированием ДНК понимают обратимую энзиматическую реакцию, в результате которой происходит присоединение метильной группы к 5-му положению остатков цитозина, преимущественно в динуклеотиде 5'-CpG-3' [6]. С невысокой частотой метилированные остатки цитозина также встречаются в последовательностях 5'-CpNpGr-3' или асимметричных последовательностях 5'-CpA-3' и 5'-CpT-3' [7]. Модификации гистоновых белков, к числу которых относят ацетилирование, метилирование, убиквитинирование и фосфорилирование происходят в основном в N-терминальных участках. В результате метилирования ДНК и модификаций гистонов устанавливается специфичный структурно-функциональный статус хроматина и осуществляется эпигенетическая регуляция его транскрипционной ак-

¹ ICF — иммунодефицит, сопровождающийся нестабильностью центромерных районов и лицевыми аномалиями (immunodeficiency, centromeric instability and facial anomalies).

тивности, специфичная для разных типов клеток и/или этапов онтогенеза [8].

В проведенных ранее исследованиях показано, что распределение метилированных участков по длине метафазных хромосом совпадает с их поперечной исчерченностью, выявляемой с помощью методов дифференциального окрашивания, в разных тканях: в лимфоцитах периферической крови индивидов с нормальным кариотипом [9–12], в лимфоцитах пуповинной крови плодов человека [13], в клетках цитотрофобласта хориона [14, 15] и эмбрионального легкого [15]. При этом рисунок метилирования метафазных хромосом характеризуется определенной временной и тканевой специфичностью — разной степенью метилирования одних и тех же сегментов хромосом в клетках различных тканей и на разных стадиях онтогенеза человека [13, 15]. В отличие от детально изученного рисунка метилирования ДНК данные о распределении по длине метафазных хромосом модифицированных гистоновых белков остаются неполными.

В связи с этим целью исследования стал сравнительный анализ распределения ацетилированного по лизину в 9-м положении гистона H3 (AcH3K9) — маркера активного хроматина — на метафазных хромосомах из лимфоцитов периферической крови взрослых индивидов и пуповинной крови плодов человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили препараты метафазных хромосом стимулированных фитогемагглютинином лимфоцитов периферической крови 13 взрослых индивидов и лимфоцитов пуповинной крови 10 плодов человека 20–22 недель развития. Образцы периферической и пуповинной крови были получены в ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» в связи с необходимостью кариотипирования. У всех взрослых индивидов и плодов был установлен нормальный кариотип.

Для культивирования отбирали лейкоцитарную фракцию, для визуализации которой центрифугировали пробирки с кровью в течение 1,5–2 мин при 1000 об/мин. Культивирование проводили согласно стандартному протоколу [16]. Метафазные хромосомы фиксировали с применением спиртового раствора 2 % ледяной уксусной кислоты. Препараты, не высушивая, помещали в раствор фосфатного буфера 1xPBS на 5–10 мин.

Участки хромосом, обогащенные AcH3K9, выявляли методом иммуноцитохимического окрашивания с помощью антител к AcH3K9 (AT-AcH3K9) (Abcam, США) и вторых антител, конъюгированных с Cy3 (Amersham, Великобритания), согласно использованному ранее протоколу с собственными модификациями [12]. Разведение антител осуществляли согласно рекомендациям фирм-производителей. Для идентификации хромосом применяли AT-специфичный краситель DAPI.

Препараты анализировали с помощью микроскопа LEICA DM LS, оборудованного объективами FLUOTAR $\times 20/0,40$ и $\times 100/1,30-0,60$, автоматической фотонасадкой, цветной камерой Leica DFC320, блоком светофильтров. Для получения фотоизображения применяли программное обеспечение Leica DFC Twain. О распределении участков хроматина, обогащенных AcH3K9, судили по наличию и интенсивности иммунофлуоресцентных сигналов. Распределение и интенсивность иммунофлуоресцентных сигналов оценивали как полуколичественно (визуально), так и количественно с помощью программного обеспечения Image J 1.34s. Инструменты программного обеспечения Image J 1.34s позволяют измерять интенсивность сигнала в выделенной области цифрового фотоизображения. Каждому пикселю в выделенной области изображения автоматически присваивается значение от 0 до 255 в зависимости от его оттенка серого в восьмибитном режиме. Среднюю интенсивность свечения выделенной области рассчитывают автоматически при суммировании значений, присвоенных всем пикселям, и делении полученной суммы на количество пикселей. С помощью измерений в программе Image J 1.34s получали абсолютные значения средней интенсивности флуоресценции сегментов. Проводили стандартизацию полученных значений, основанную на нахождении отношения абсолютного значения средней интенсивности флуоресценции сегмента к таковому реперной точки. За реперную точку принимали сегмент на анализируемой хромосоме, интенсивность которого не изменялась при визуальной оценке. Полученные средние относительные значения интенсивности флуоресценции сравнивали в программе STATISTICA 8.0 с помощью *U*-критерия Манна – Уитни.

В связи с тем что для предотвращения экстракции гистоновых белков из хроматина содержание уксусной кислоты в фиксирующем растворе было снижено до 2 %, на препаратах наблюдали большое число наложений хромосом, из-за которых анализ полного хромосомного набора клетки был невозможен. Распределение AcH3K9 вдоль плеч хромосом анализировали на фрагментах метафазных пластинок, содержащих 5–15 хорошо идентифицируемых хромосом, не налегающих друг на друга. Всего было проанализировано 300 фрагментов метафазных пластинок: 180 — из лимфоцитов взрослых и 120 — из лимфоцитов плодов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выявлено неравномерное распределение флуоресцентных сигналов AT-AcH3K9 по длине метафазных хромосом как у взрослых индивидов, так и у плодов человека. Сигналы были локализованы в отдельных районах, имеющих четкие границы, и формировали специфичный рисунок исчерченности каждой хромосомы (рис. 1, *а, б*). Характер исчерченности индивидуальных хромосом повторялся на всех фрагментах метафазных пластинок.

Границы районов, обогащенных AcH3K9, совпадали с границами сегментов, выявленных с помощью окрашивания DAPI. Большинство ацетилированных сайтов было локализовано в DAPI-негативных участках хромосом, соответствующих R-сегментам (рис. 1, *в*).

Для установления степени обогащенности сегмента ацетилированным гистонем H3 проводили полуколичественную оценку интенсивности AT-AcH3K9 флуоресценции по четырехбалльной шкале. Условно было выделено четыре типа флуоресцентных сигналов:

- 0 — отсутствие флуоресцентного сигнала;
- 1 — очень слабый флуоресцентный сигнал;
- 2 — слабый флуоресцентный сигнал;
- 3 — интенсивный флуоресцентный сигнал.

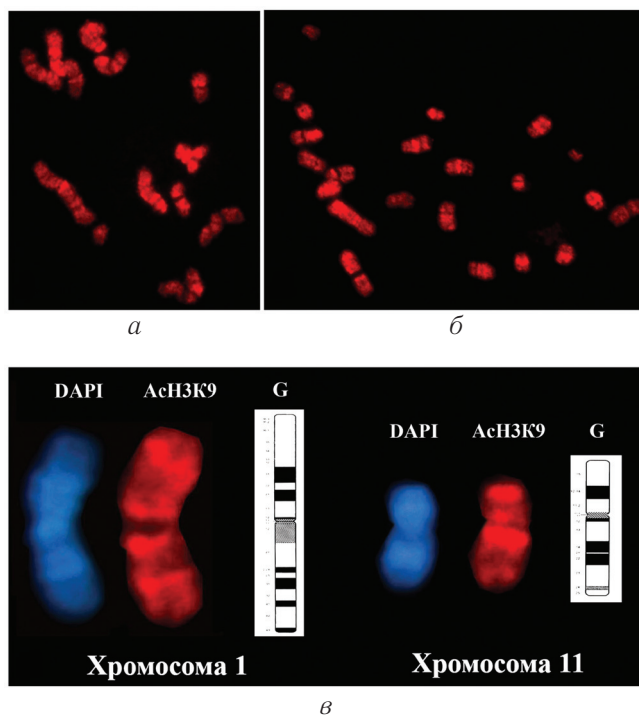


Рис. 1. Фрагменты метафазных пластинок из лимфоцита взрослого индивида (*а*) и плода человека 21/22 недель развития (*б*) после иммунофлуоресцентной детекции ацетилированного гистона H3K9 (AcH3K9). Фотоизображения хромосом 1 и 11 взрослого индивида после окрашивания DAPI и иммунофлуоресцентной детекции AcH3K9 и идиограммы G-сегментации (*в*)

В соответствии с данной классификацией для всех аутосом кариотипа были составлены идиограммы, отражающие интенсивность и сегментную локализацию ацетилированного гистона H3 (рис. 2).

Участки хроматина, имеющие интенсивный сигнал (3 балла), располагались в 33 R-сегментах у взрослых и у плодов. Сигнал слабой интенсивности (2 балла) был выявлен в 62 R-сегментах хромосом у взрослых и в 59 R-сегментах хромосом у плодов человека. Участки, имеющие очень слабый флуоресцентный сигнал (1 балл), — наименее обогащенные ацетилированием гистона H3, — были обнаружены во всех G-сегментах, в 38 R-сегментах хромосом у взрослых и в 42 R-сегментах хромосом у плодов. Флуоресцентного сигнала не было выявлено (0 баллов) в прицентромерном гетерохроматине хромосом 1, 9 и 16 как у взрослых индивидов, так и у плодов человека.

Сегментный полуколичественный и количественный анализ интенсивности флуоресценции АТ-АсНЗК9 позволил выявить отличия в интенсивности сигнала между хромосомами взрослых индивидов и плодов лишь в единичных сегментах: 2q31, 5p13, 5p15, 9q13 и 16p13. В сегментах 2q31, 5p13, 5p15 и 16p13 выявлена более высокая интенсивность флуоресценции у взрослых индивидов по сравнению с таковой у плодов человека, в то время как в сегменте 9q13, наоборот, — более низкая (*U*-критерий Манна — Уитни, $p \leq 0,05$) (рис. 3).

Таким образом, распределение АсНЗК9 вдоль плеч метафазных хромосом из лимфоцитов характеризуется сегментной специфичностью и одинаково у взрослых индивидов и плодов человека за исключением единичных сегментов, в которых уровень содержания АсНЗК9 отличается.

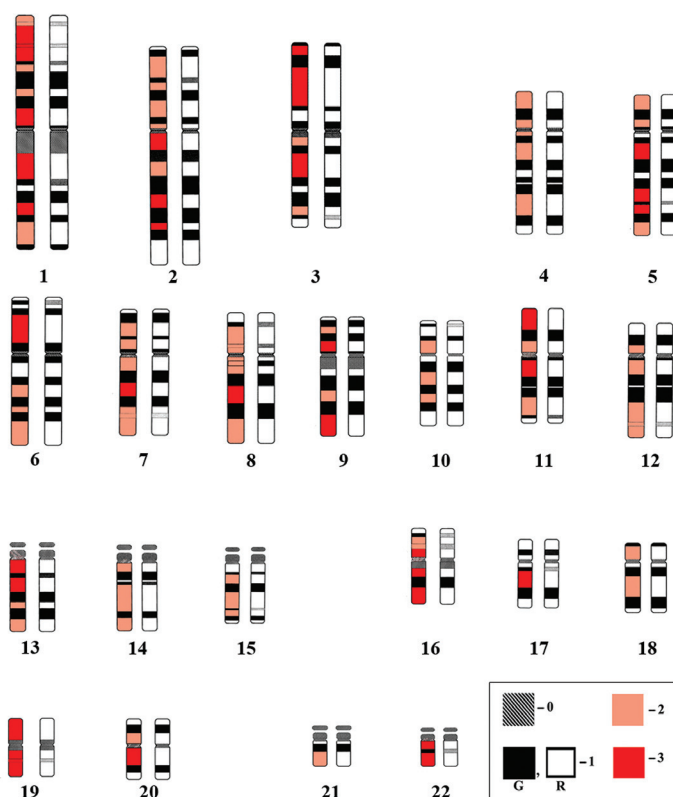


Рис. 2. Схема сегментной локализации ацетилированного гистона H3K9 (АсНЗК9) (цветная идиограмма слева) на хромосомах из лимфоцитов взрослого индивида и G-исчерченность (черно-белая идиограмма справа). Два оттенка красного отражают различную интенсивность флуоресценции АТ-АсНЗК9 в R-сегментах — оцененную в 2 и 3 балла. Черным показан низкий уровень свечения (1 балл), характерный для всех G-сегментов, белым — свечение, оцененное в 1 балл в R-сегментах. Серый цвет маркирует сегменты, в которых сигнал отсутствовал (0 баллов)

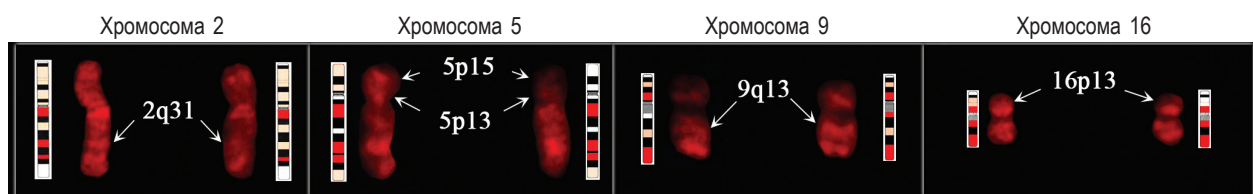


Рис. 3. Распределение ацетилированного гистона H3K9 (АсНЗК9) вдоль плеч хромосом 2, 5, 9 и 16 из лимфоцитов взрослых индивидов (слева) и плодов человека (справа). Стрелками показаны сегменты с различающимся уровнем ацетилирования H3K9

ОБСУЖДЕНИЕ

Ацетилирование гистона H3 является маркером транскрипционно активного хроматина [17, 18]. В связи с тем что наше исследование проведено на метафазных хромосомах, для которых нехарактерна транскрипционная активность, актуальным представляется вопрос о том, изменяются ли эпигенетические паттерны в клеточном цикле. Для ряда посттрансляционных модификаций гистонов — ацетилирования H2AK4, H2BK12, H2BK15, H2BK20, H3K19, H3K23, H4K5, H4K8, H4K12, H4K16 и метилирования H3K27, H3K36 — показаны изменения при смене фаз клеточного цикла [19]. Однако уровень ацетилирования H3K9 остается стабильным в течение клеточного цикла [20]. Таким образом, по уровню ацетилирования гистона H3 по лизину в 9-м положении, выявляемому на метафазных хромосомах, можно судить о потенциальной функциональной активности хроматина в период интерфазы.

Плотность генов не одинакова по длине хромосомы: в R-сегментах она выше, чем в G-сегментах [21, 22]. Высокий уровень содержания генов в R-сегментах и низкий — в G-сегментах потенциально может соотноситься с разным уровнем их транскрипционной активности, что объясняет наблюдаемую в нашем исследовании специфику локализации AсH3K9. Согласно полученным нами данным степень обогащенности R- и T-сегментов ацетилированным гистонам H3K9 различна. С учетом того что деацетилирование гистона H3K9 приводит к репрессии хроматина [23–25], можно предположить, что гипoaцетилированные R-сегменты содержат хроматин с невысокой транскрипционной активностью.

Из пяти сегментов, по которым были выявлены различия в степени ацетилирования между хромосомами взрослых и плодов, обращает на себя внимание сегмент 2q31, по которому ранее нами были обнаружены различия в степени метилирования ДНК [13]. Согласно полученным результатам сегмент 2q31 в лимфоцитах взрослых характеризуется высоким уровнем ацетилирования гистона H3 и низким уровнем метилирования ДНК, а в лимфоцитах плодов — низким уровнем ацетилирования гистона H3K9 и высоким уровнем метилирования ДНК [13]. Это указывает на потенциально более низкую транскрипционную активность хроматина в сегменте 2q31 у плодов человека 20–22 недель развития по сравнению с таковой у взрослых индивидов. В сегменте 2q31 локализованы гены иммуноглобулинового суперсемейства CD51 (ген *ITGAV*) и CD49D (ген *ITGA4*). Выявленные особенности метилирования и ацетилирования сегмента 2q31 могут быть объяснены активной работой иммунной системы у взрослых индивидов, но не у плодов человека [26].

Таким образом, в соответствии с полученными результатами существует особый тип линейной исчерченности метафазных хромосом лимфоцитов, обусловленный дифференциальным распределением аце-

тилированного гистона H3K9. Увеличение и уменьшение степени ацетилирования отдельных сегментов хромосом из лимфоцитов плодов по сравнению с таковыми взрослых свидетельствует в пользу того, что описанный рисунок ацетилирования отражает не только структурные, но и функциональные особенности сегментов хромосом. Следует учитывать, что нарушения функционирования генома наиболее сложны для диагностики, но при этом именно они могут служить причиной ряда патологических состояний. Дальнейшие исследования характера ацетилирования гистонов метафазных хромосом, дополненные анализом транскрипционной активности, могут составить основу тест-систем для оценки эпигенетического статуса хроматина, в том числе в пренатальный период онтогенеза человека. Немаловажно при этом, что свойство пластичности эпигенома — возможность регуляции эпигенетических процессов путем внешних воздействий, в том числе лекарственными средствами, гормонами, диетой, — открывает перспективы для разработки подходов направленной терапевтической коррекции аномальных эпигенетических профилей.

Благодарности

А.С. Кольцова и М.И. Крапивин являются получателями стипендии Президента РФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Waddington CH. The epigenotype. 1942. *Int J Epidemiol.* 2012;41(1):10-13. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr184>.
2. Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития (генет. аспект). — М.: Изд-во МГУ, 2002. — 262 с. [Korochkin LI. Biology of individual development. Moscow: Izd-vo MGU; 2002. 262 p. (In Russ.)]
3. Назаренко С.А. Эпигенетические модификации генома и болезни человека // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / Под ред. чл.-корр. РАЕН А.Б. Масленникова. Вып. 7. — Новосибирск: Альфа-Виста, 2005. — С. 82–97. [Nazarenko SA. Epigeneticheskie modifikatsii genoma i bolezni cheloveka. In: Molekulyarno-biologicheskie tekhnologii v meditsinskoj praktike. Ed. by A.B. Maslennikov. Vol. 7. Novosibirsk: Al'fa-Vista; 2005. P. 82-97. (In Russ.)]
4. Пендина А.А., Ефимова О.А., Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Болезни геномного импринтинга // Журнал акушерства и женских болезней. — 2007. — Т. 56. — № 1. — С. 73–80. [Pendina AA, Efimova OA, Kuznetsova TV, Baranov VS. Genomic imprinting diseases. *Journal of obstetrics and women's diseases.* 2007;56(1):73-80. (In Russ.)]
5. Peters J. The role of genomic imprinting in biology and disease: an expanding view. *Nat Rev Genet.* 2014;15(8):517-530. <https://doi.org/10.1038/nrg3766>.

6. Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК и эпигенетика // Генетика. — 2006. — Т. 42. — № 9. — С. 1186–1199. [Vanyushin BF. DNA methylation and epigenetics. *Russian Journal of Genetics*. 2006;42(9):985-997. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S1022795406090055>.
7. Kirnos MD, Aleksandrushkina NI, Vanyushin BF. [5-Methylcytosine in pyrimidine sequences of plant and animal DNA: specificity of methylation. (In Russ.)]. *Biokhimiia*. 1981;46(8):1458-1474.
8. Dhall A, Chatterjee C. Chemical approaches to understand the language of histone modifications. *ACS Chem Biol*. 2011;6(10):987-99. <https://doi.org/10.1021/cb200142c>.
9. Barbin A, Montpellier C, Kokalj-Vokac N, et al. New sites of methylcytosine-rich DNA detected on metaphase chromosomes. *Hum Genet*. 1994;94(6):684-692. <https://doi.org/10.1007/bf00206964>.
10. Montpellier C, Burgeois CA, Kokalj-Vokac N, et al. Detection of methylcytosine-rich heterochromatin on banded chromosomes. Application to cells with various status of DNA methylation. *Cancer Genet Cytogenet*. 1994;78(1):87-93. [https://doi.org/10.1016/0165-4608\(94\)90052-3](https://doi.org/10.1016/0165-4608(94)90052-3).
11. Pfarr W, Webersinke G, Paar C, Wechselberger C. Immunodetection of 5'-methylcytosine on Giemsa-stained chromosomes. *Biotechniques*. 2005;38(4):527-528,530. <https://doi.org/10.2144/05384BM01>.
12. Пендина А.А., Ефимова О.А., Каминская А.Н., и др. Иммуноцитохимический анализ статуса метилирования метафазных хромосом человека // Цитология. — 2005. — Т. 47. — № 8. — С. 731–737. [Pendina AA, Efimova OA, Kaminskaya AN, et al. Immunocytochemical analysis of human metaphase chromosome methylation status. *Tsitologiya*. 2005;47(8):731-737. (In Russ.)]
13. Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В., и др. Сравнительный иммуноцитохимический анализ профилей метилирования ДНК метафазных хромосом из лимфоцитов взрослых индивидов и плодов человека // Молекулярная медицина. — 2015. — № 3. — С. 17–21. [Efimova OA, Pendina AA, Tikhonov AV, et al. A comparative immunocytochemical analysis of DNA methylation patterns in human metaphase chromosomes of adults and fetuses. *Molekulyarnaya meditsina*. 2015;(3):17-21. (In Russ.)]
14. Kokalj-Vokac N, Zagorac A, Pristovnik M, et al. DNA methylation of the extraembryonic tissues: an *in situ* study on human metaphase chromosomes. *Chromosome Res*. 1998;6(3):161-166. <https://doi.org/10.1023/a:1009299331871>.
15. Efimova OA, Pendina AA, Krapivin MI, et al. Inter-cell and inter-chromosome variability of 5-hydroxymethylcytosine patterns in noncultured human embryonic and extraembryonic cells. *Cytogenet Genome Res*. 2018;156(3):150-157. <https://doi.org/10.1159/000493906>.
16. Кузнецова Т.В., Логинова Ю.А., Чиряева О.Г., и др. Цитогенетические методы // Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике. В 2 т. / Под ред. А.И. Карпищенко. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — Т. 2. — С. 623–657. [Kuznetzova TV, Loginova YuA, Chiryayeva OG, et al. Tsitogeneticheskie metody. In: Medical laboratory technologies. Ed. by A.I. Karpishchenko. 3rd ed., revised and updated. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. Vol. 2. P. 623-657. (In Russ.)]
17. Di Cerbo V, Mohn F, Ryan DP, et al. Acetylation of histone H3 at lysine 64 regulates nucleosome dynamics and facilitates transcription. *Elife*. 2014;3: e01632. <https://doi.org/10.7554/eLife.01632>.
18. Khuong MT, Fei J, Ishii H, Kadonaga JT. Prenucleosomes and active chromatin. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2015;80:65-72. <https://doi.org/10.1101/sqb.2015.80.027300>.
19. Bonenfant D, Towbin H, Coulot M, et al. Analysis of dynamic changes in post-translational modifications of human histones during cell cycle by mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*. 2007;6(11):1917-1932. <https://doi.org/10.1074/mcp.M700070-MCP200>.
20. Valls E, Sánchez-Molina S, Martínez-Balbás MA. Role of histone modifications in marking and activating genes through mitosis. *J Biol Chem*. 2005;280(52):42592-600. <https://doi.org/10.1074/jbc.M507407200>.
21. Родионов А.В. Генетическая активность ДНК G- и R-блоков митотических хромосом человека // Генетика. — 1985. — Т. 21. — № 12. — С. 2057–2065. [Rodionov AV. Geneticheskaya aktivnost' DNK G-i R-blokov mitoticheskikh khromosom cheloveka. *Genetika*. 1985;21(12):2057-2065. (In Russ.)]
22. Bickmore WA, Sumner AT. Mammalian chromosome banding — an expression of genome organization. *Trends Genet*. 1989;5(5):144-148. [https://doi.org/10.1016/0168-9525\(89\)90055-3](https://doi.org/10.1016/0168-9525(89)90055-3).
23. Oyer JA, Chu A, Brar S, Turker MS. Aberrant epigenetic silencing is triggered by a transient reduction in gene expression. *PLoS One*. 2009;4(3):e4832. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004832>.
24. You SH, Lim HW, Sun Z, et al. Nuclear receptor co-repressors are required for the histone-deacetylase activity of HDAC3 *in vivo*. *Nat Struct Mol Biol*. 2013;20(2):182-187. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2476>.
25. Butler KV, Chiarella AM, Jin J, Hathaway NA. Targeted gene repression using novel bifunctional molecules to harness endogenous histone deacetylation activity. *ACS Synth Biol*. 2018;7(1):38-45. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00295>.
26. Cicala C, Martinelli E, McNally JP, et al. The integrin alpha4beta7 forms a complex with cell-surface CD4 and defines a T-cell subset that is highly susceptible to infection by HIV-1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(49):20877-82. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911796106>.

✪ Информация об авторах

✪ Authors and affiliations

Ольга Алексеевна Ефимова — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. SPIN: 6959-5014. E-mail: efimova_o82@mail.ru.

Анна Андреевна Пендина — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; врач лабораторный генетик, Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург. SPIN: 3123-2133. E-mail: pendina@mail.ru.

Юлия Георгиевна Лежнина — биолог. Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург. E-mail: avesfly@mail.ru.

Андрей Владимирович Тихонов — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; биолог, Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург. SPIN: 3170-2629. E-mail: tixonov5790@gmail.com.

Ольга Гавриловна Чиряева — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. SPIN: 4027-4908. E-mail: chiryaeva@mail.ru.

Любовь Ивановна Петрова — врач лабораторный генетик, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. SPIN: 8599-6886. E-mail: petrovaluba@mail.ru.

Вера Святославовна Дудкина — врач лабораторный генетик, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. SPIN: 6286-7287. E-mail: dudkinavs@mail.ru.

Алла Сергеевна Кольцова — лаборант-исследователь, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; аспирант, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. SPIN: 3038-4096. E-mail: rosenrot15@yandex.ru.

Михаил Игоревич Крапивин — лаборант-исследователь, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; аспирант, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. SPIN: 4989-1932. E-mail: krapivin-mihail@mail.ru.

Анастасия Васильевна Петровская-Каминская — лаборант-исследователь, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; студент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: tonx2012@yandex.ru.

Ольга Евгеньевна Талантова — канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: olga_talantova@mail.ru.

Татьяна Владимировна Кузнецова — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. SPIN: 1000-7522. E-mail: tkuznetzova@mail.ru.

Владислав Сергеевич Баранов — д-р мед. наук, заведующий лабораторией, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека, ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. SPIN: 9196-7297. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu.

Olga A. Efimova — PhD, Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia. SPIN: 6959-5014. E-mail: efimova_o82@mail.ru.

Anna A. Pendina — PhD, Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia; laboratory geneticist, Center for Medical Genetics, St. Petersburg, Russia SPIN: 3123-2133. E-mail: pendina@mail.ru.

Yuliia G. Lezhnina — biologist. Center for Medical Genetics, St. Petersburg, Russia. E-mail: avesfly@mail.ru.

Andrei V. Tikhonov — PhD, Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia; biologist, Center for Medical Genetics, St. Petersburg, Russia SPIN: 3170-2629. E-mail: tixonov5790@gmail.com.

Olga G. Chiryayeva — PhD, Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia. SPIN: 4027-4908. E-mail: chiryaeva@mail.ru.

Lyubov I. Petrova — Laboratory Geneticist, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia. SPIN: 8599-6886. E-mail: petrovaluba@mail.ru.

Vera S. Dudkina — Laboratory Geneticist, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia. SPIN: 6286-7287. E-mail: dudkinavs@mail.ru.

Alla S. Koltsova — Assistant Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia; PhD student, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia SPIN: 3038-4096. E-mail: rosenrot15@yandex.ru.

Mikhail I. Krapivin — Assistant Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia; PhD student, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia SPIN: 4989-1932. E-mail: krapivin-mihail@mail.ru.

Anastasiia V. Petrovskaia-Kaminskaia — Assistant Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia; Student, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia E-mail: tonx2012@yandex.ru.

Olga E. Talantova — PhD, MD, Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia. E-mail: olga_talantova@mail.ru.

Tatiana V. Kuznetzova — PhD, Leading Researcher, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia. SPIN: 1000-7522. E-mail: tkuznetzova@mail.ru.

Vladislav S. Baranov — MD, Professor, Laboratory Head, Laboratory for Prenatal Diagnosis of Congenital and Inherited Diseases, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia; Professor, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia SPIN: 9196-7297. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu.