

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КАК СПОСОБ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Д. Н. Федорин, А. Т. Епринцев

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 28.02.2022 г.

Аннотация. Метилирование ДНК является одним из центральных регуляторных процессов в эпигенетике живых организмов, контролирует процессы репликации, транскрипции, трансляции, репарации ДНК, рекомбинации и транспозиции генов, служит механизмом дифференцировки клеток и тканей, дискриминации и репрессии генов, защищает геном от экспрессии генов экзогенных вирусных и эндогенных повторяющихся последовательностей ДНК. Два из четырех азотистых оснований - цитозин и аденин, могут быть метилированы, но метилирование аденина обнаруживается только у прокариот и растений. Метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы в позиции С-5 или N-4 цитозина (^{5m}C и ^{4m}C) или позиции N-6 аденина (^{6m}A). Процесс метилирования катализируют ДНК-метилтрансферазы, обеспечивающие регуляцию генов. Все известные ДНК-метилтрансферазы вовлекают S-аденозилметионин в качестве донора метильной группы в их процессы метилирования. Анализ геномов растений свидетельствует, что общая картина распределения ^{6m}A в ДНК аналогична распределению ^{5m}C , при этом данный показатель коррелирует с транскрипцией генов, как для ^{6m}A , так и для ^{5m}C . Анализ литературных источников показал, что обе метил-зависимые метки ДНК могут иметь определенную взаимозависимость, при этом увеличение ^{6m}A в промоторных участках генов способствует их выключению. Таким образом, механизмом эпигенетической регуляции является метилирование ДНК, в ходе которого метильная группа (CH_3) добавляется к цитозиновым основаниям ДНК. Особенностью метилирования у растений является то, что у них был обнаружен N6-метиладенин в геномной ДНК, в отличие от животных, для которых характерны цитозин-ДНК-метилтрансферазы, митохондрии растений обладают аденин-ДНК-метилтрансферазами. В последнее время удалось разработать биоинформационные инструменты для обнаружения и прогнозирования потенциальных сайтов метилирования с высокой специфичностью и точностью. Основными методами определения величины метильного статуса аденина в геномной ДНК являются: метил-зависимый рестрикционный анализ, SMRT и иммунопреципитация ДНК-аденин-метилтрансферазы.

Ключевые слова: метилирование ДНК, аденин, цитозин, промотор, CpG-островок, экспрессия гена

Наиболее изученным механизмом эпигенетической регуляции является метилирование ДНК, в ходе которого метильная группа (CH_3) добавляется к цитозиновым основаниям ДНК. Метильная группа метилцитозина находится в большой бороздке спирали ДНК, с которой взаимодействуют большинство ДНК-связывающих белков [1]. Показано, что изменение метильного статуса ДНК промоторных областей генов влияет на уровень их транскрипции. В настоящее время описаны два механизма репрессии генов при метилировании. В случае первого механизма с метилированными CpG-динуклеотидами связываются специфические белки, с которыми затем присоединяются

белки, участвующие в ремоделировании хроматина, делая его транскрипционно неактивным [2]. При альтернативном механизме метилирование препятствует связыванию ДНК с регуляторными белками, необходимыми для экспрессии генов. Чаще всего метилирование «выключает» ген, а деметилирование его «включает». В клетках млекопитающих метилирование, как правило, происходит в CpG-островках, но возможно и изменение метильного статуса отдельных CG-динуклеотидов. У эукариот метилирование используется для стабильной репрессии собственных генов. Метилирование ДНК осуществляется главным образом в результате обратимой химической модификации азотистого основания – цитозина (C), что приводит к присоединению метильной

группы к углероду, расположенному в положении 5 пиримидинового кольца. Метилирование цитозина осуществляется с помощью цитозин-ДНК-метилтрансфераз, которые включают 3 семейства: MET, хромометилазы, ДНК-метилтрансферазы *de novo* [3, 4]. В подавляющем большинстве случаев метилированию подвергаются цитозины, входящие в состав CpG-динуклеотидов. Около 80% CpG-динуклеотидов рассеяно по геному, однако 20% собраны в кластеры, так н. CpG-островки. Эти последовательности имеют размеры от 200 п.н. до нескольких тысяч п.н. и характеризуются чрезвычайно высоким содержанием CpG-пар по сравнению с их содержанием в среднем по геному. В большинстве случаев они располагаются в промоторных регионах и первых экзонах генов и предполагается, что до 50-60% генов может содержать CpG-островки, ассоциированные с промоторами [5].

Несмотря на то, что за последние несколько десятилетий было проделано много работы по выяснению роли 5-метилцитозина, только недавно было установлено, что помимо него также N6-метиладенин (^{6m}A) присутствует в количественных и биологически активных уровнях в ДНК преимущественно растительных клеток. ДНК этих эукариотических организмов подвержена энзиматической модификации (метилированию) не только по цитозиновым, но и по адениновым остаткам. Имеются косвенные свидетельства существования аденинового метилирования генома и у животных [6, 7]. В ядерных ДНК простейших, дрожжей, высших растений, насекомых, нематод и позвоночных обнаружены открытые рамки считывания, продукты которых гомологичны бактериальным адениновым ДНК-метилтрансферазам. Первая N6-адениновая ДНК-метилтрансфераза (*wadmtase*) высших эукариот выделена из фракции вакуолярных везикул колеоптилей пшеницы. Этот Mg²⁺- или Ca²⁺-зависимый фермент в присутствии S-аденозил-L-метионина метилирует *de novo* первый адениновый остаток в последовательности TGATCA у одно- и двуниевых ДНК, но предпочитает однониевые структуры. Адениновое метилирование ДНК у эукариот вовлечено, по-видимому, в регуляцию экспрессии генов и репликацию, в том числе и митохондриальных ДНК [8, 9].

Метилирование и деметилирование у растений

В последние годы распределение ^{6m}A было исследовано в небольшом количестве растений, одноклеточных водорослей [10] и грибах [11, 12].

Уровни ^{6m}A демонстрируют значительные различия в распространенности и влиянии на экспрессию генов у различных видов вследствие их различных моделей распределения. В целом можно констатировать, что уровень ^{6m}A у прокариот выше (0.002–2.7%) по сравнению с эукариотами (0.000006–0.8%) [13]. Причины низкого распространения у эукариот неизвестны, но, вероятно, это может быть связано с различием в размерах, сложности генома, наличии и длине палиндромных последовательностей и сложных процессах метилирования.

Сообщается, что *C. reinhardtii*, где частота ^{6m}A наблюдается почти в 14 000 генах (84% от общего числа генов), имеет бимодальное распределение с отчетливой картиной высокого уровня ^{6m}A вокруг стартовых сайтов транскрипции (TSSs). Данные секвенирования транскриптома свидетельствуют об активной экспрессии генов, когда вокруг TSS присутствует ^{6m}A [10]. Изменение ширины пиков, наблюдаемое в данных bma-IP-секвенирования, свидетельствует о наличии нескольких мотивов, и значительная часть ^{6m}A располагается в палиндромных AT динуклеотидах, в то время как GATC и CATG также подвергаются метилированию. Любопытно, что аналогичное наблюдение также сообщается в *Volvox carteri* на сайтах GATC [14]. Напротив, профили ^{6m}A у *A. thaliana* показали, что 32% от общего количества ^{6m}A распределяется внутри белок-кодирующей части генов со значительными количествами в экзонах и транспозируемых элементах [1].

Недавно были расшифрованы метиломные профили ^{6m}A в *O. sativa*, где 0.2% всего аденина было отмечено в виде ^{6m}A с высоким содержанием последнего (25%) в кодирующих генах, связанных с транспозируемыми элементами, и 14% транспозируемых элементах. Хотя этот уровень был сопоставим с уровнем зеленых водорослей, выявленные мотивы, AGG и GAGG, не были палиндромными. Исследования показали, что распределение ^{6m}A имеет более высокий уровень встречаемости в промоторных областях, чем в белок-кодирующих частях генов. Как и ^{5m}C, наличие в промоторе ^{6m}A приводит к снижению экспрессии генов [14]. Резюмируя исследованный материал можно заключить, что метильный статус ^{6m}A способствует снижению экспрессии генов в растениях.

Значительный прогресс был достигнут в понижении метилирования ДНК в модельном растении *Arabidopsis thaliana*. Метилирование ДНК в рас-

тениях отличается от такового у млекопитающих: в то время как метилирование ДНК у млекопитающих в основном происходит на цитозиновом нуклеотиде в CpG-сайте, у растений цитозин может метилироваться на CpG-, CpHpG-и CpH-сайтах, где Н представляет собой любой нуклеозид, но не гуаниловый. В целом, ДНК арабидопсиса сильно метилирована, масс-спектрометрический анализ оценивал 14% цитозинов, которые будут модифицированы [15].

Основными ДНК-метилтрансферазами арабидопсиса, которые переносят и ковалентно присоединяют метильные группы к ДНК, являются DRM2, MET1 и CMT3. Как белки DRM2, так и белки MET1 имеют значительную гомологию с метилтрансферазами DNMT3 и DNMT1 млекопитающих, соответственно, в то время как белок CMT3 уникален для растительного царства. В настоящее время существует два класса ДНК метилтрансфераз: 1) *de novo* класс, или ферменты, которые создают новые метки метилирования на ДНК; и 2) класс обслуживания, который распознает метки метилирования на родительской нити ДНК и передает новое метилирование дочерним нитям после репликации ДНК. DRM2 является единственным ферментом, который был вовлечен в качестве *de novo* ДНК-метилтрансферазы. Было также показано, что DRM2, наряду с MET1 и CMT3, участвует в поддержании метилирования меток через репликацию ДНК [14]. Другие ДНК-метилтрансферазы экспрессируются в растениях, но не имеют известной функции.

Неясно, как клетка определяет места метилирования ДНК *de novo*, но данные свидетельствуют о том, что во многих (хотя и не во всех) местах участвует РНК-направленное метилирование ДНК-(RdDM). В RdDM, специфические транскрипты РНК процессируемые с геномного шаблона ДНК, и эта РНК формирует вторичные структуры - двухцепочечные молекулы РНК. Двухцепочечные РНК через механизмы с участием малых интерферирующих РНК (siRNA) или микроРНК (miRNA) направляют метилирование ДНК *de novo* [16]. Этот механизм считается важным в клеточной защите от РНК вирусов и/или транспозонов, оба из которых часто образуют двухцепочечную РНК, которая может быть мутагенной для генома хозяина. Путем метилирования их геномных локусов, через пока еще плохо изученный механизм, они отключаются и больше не осуществляют свою активность в клетке, защищая геном от их мутагенного эффекта. Показано, что метилирование

ДНК является главным детерминантом формирования эмбрионных культур из эксплантов древесных растений и рассматривается как основной механизм, объясняющий их слабую реакцию на соматический эмбриогенез у растений. Активная и обратимая модификация аденина в ДНК путем его метилирования катализируется за счет высоко синхронизированной и направленной активности специфических ферментов. До 1963 года считалось, что метилирование ДНК происходит на неинкорпорированных нуклеотидах до синтеза ДНК. Последующие исследования показали, что процесс метилирования ^{6m}A модулируется метилтрансферазами (writers) и деметилазами (erasers) обратимым образом. Метилирование может быть транскрипционным или *de novo*, в любом случае с участием специфических ферментов. ДНК-аденинметилтрансфераза (Dam) катализирует метилирование аденина исключительно на одноили двухцепочечной палиндромной последовательности (GATC) в присутствии S-аденозил-L-метионина (рис. 1), донора метильной группы, преобладающего в метилировании ДНК и РНК [17].

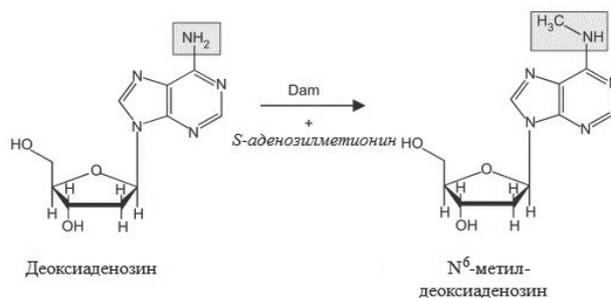


Рис. 1. Dam катализирует перенос метильной группы от S-аденозилметионина в положение N6 аденина. Показана нуклеозидная форма аденина, дезоксиаденозин.

Как и деметилирование цитозина, деметилирование аденина происходит одним из двух способов - через гидроксиметиладенин или гипоксантин [18]. Белки семейства writers являются основной категорией белков, участвующих в процессе метилирования. Эти специфические молекулы-эффекторы, способные распознавать сигнал ^{6m}A и позволяют осуществлять различные действия с ним, обеспечивая регуляцию экспрессии генов (рис. 2). Несмотря на этот факт, понимание роли белков writers в эукариотах остается в значительной степени неизвестным.

Несмотря на разные модели распределения и консенсус мотивы сайтов ^{6m}A в метилированных генах различных эукариотических организмов,

модификация ^{6m}A предпочтительно коррелирует с высоко экспрессируемыми генами у нескольких эволюционно далеких организмов, включая арабидопсис, хламидомонады, дрозофилы, а также несколько видов грибов (рис. 3) [6, 16, 20]. С добавлением метильной группы в шестое положение пурина кольцо аденина может влиять на энергию взаимодействия оснований и белок-ДНК [21], возможно, ^{6m}A может действовать на транскрипцию, влияя на факторы транскрипции, РНК-полимеразы, гистоны или другие компоненты в соответствующем хроматиновом контексте. Конкретная корреляция между ^{6m}A и экспрессией генов в различных организмах может динамически регулироваться в различных контекстах развития [22].

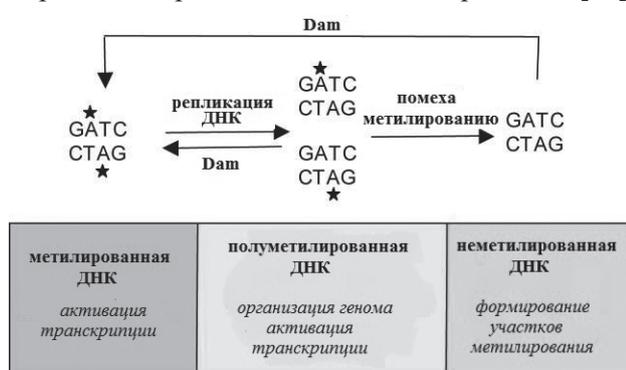


Рис. 2. Состояние метилирования сайта GATC. Репликация ДНК генерирует полуметилированные сайты GATC, обычно недолговечные, поскольку метилирование при участии Dam происходит вскоре после синтеза дочерней цепи ДНК. Однако в некоторых сайтах GATC цикл метилирования-полуметилирования по умолчанию, связанный с репликацией ДНК, может быть нарушен за счет связывания белков, которые блокируют активность ДНК-метилазы. Такое связывание может просто задерживать метилирование или предотвращать его после клеточного деления, тем самым позволяя дочерним клеткам наследовать полуметилированное состояние. Репликация полуметилированных сайтов GATC дает неметилированную ДНК, создавая паттерны метилирования ДНК, подобные тем, которые встречаются в эукариотических клетках [19].

Показано, что общая картина распределения ^{6m}A аналогична распределению ^{5m}C в хромосомах арабидопсиса [24]. Причем данный показатель для ^{6m}A и ^{5m}C коррелируют с транскрипцией генов, но различным способом. Следовательно, обе метил-зависимые метки ДНК могут иметь определенную взаимозависимость. При этом показана

четкая зависимость, что увеличение ^{6m}A в промоторных участках генов мобильных элементов приводило к их выключению. Поскольку эти гены мобильных элементов расположены в прицентроммерной области хромосом арабидопсиса [25], возможно, что на экспрессию этих генов влияет множество факторов, в том числе различные типы метилирования ДНК и контекст хроматина.

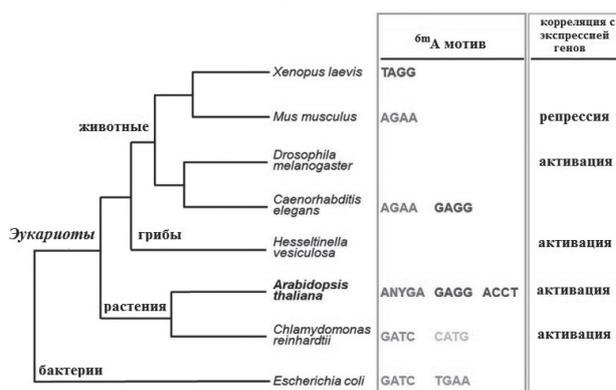


Рис. 3. Краткое описание основных характеристик ^{6m}A Метилирование ДНК у эукариот. Консенсусные мотивы ^{6m}A, идентифицированные в каждом организме. Длина ветвей произвольная. GATC это вероятно, самый древний мотив бМА, который присутствует как у эукариот, так и у бактерий. GAGG возможно произошли от общего предка из-за этого широко распространены в растениях и животных, в то время как ANYGA и ACCT являются мотивами, специфичными для Arabidopsis. Модификация ДНК бМА коррелирует с активацией генов у D. melanogaster, H. vesiculosa, Arabidopsis и Chlamydomonas, но с репрессией генов у M. Musculus [23].

Методы обнаружения ^{6m}A

Уровень ^{6m}A чрезвычайно низок у эукариот, особенно у растений, что делает обнаружение ^{6m}A обычными методами сложным. Однако, несмотря на его незначительные уровни, периодичность в распределении и контролируемом изменении статуса указывает на его возможные критические роли в топологии генома [26]. С появлением в последнее время сложных методов с высокой чувствительностью и точностью у эукариот была выявлена картина распределения ^{6m}A и его потенциальные роли [10].

Были разработаны различные базы данных, которые обеспечивают единую платформу для использования профилей метилирования ^{6m}A различных видов. Они аккумулируют информацию из существующих геномных баз данных и обще-

доступных данных секвенирования SMRT, а также позволяют проводить сравнительные исследования по метилированию у различных видов.

MethSMRT является первым ресурсом для ^{6m}A- и ^{4m}C-метилом ДНК, которые генерируются из общедоступных данных секвенирования SMRT [11]. Это позволит браузерам генома запрашивать и просматривать профили, связанные с метилированием, такие как одиночные нуклеотидные полиморфизмы (SNPs) и аннотации генов. Данный метод также анализирует и загружает метиломы ^{6m}A и ^{4m}C для прокариот и эукариот. В дополнение к профилям метилирования, ^{6m}A и ^{4m}C статистика метилома может быть выполнена вместе с предсказанием мотивов метилирования для отдельных видов, что позволяет проводить сравнительный анализ метилирования у разных видов. База данных модификации ДНК для *Rosaceae* является первым источником для отображения и хранения ДНК ^{6m}A и ^{4m}C из данных секвенирования SMRT растений *Rosaceae*. Настоящая версия включает наборы данных о розоцветных растениях, включая *F. vesca* и *R. chinensis* [27]. Кроме того, он предоставляет пользователю информацию о возможных мотивах метилирования, аннотации генов и онтологии генов.

DNAmod - это база данных модификаций ДНК с открытым исходным кодом, которая содержит модификации ДНК и предоставляет единый ресурс для запуска исследования их свойств с использованием базы данных [25].

После обнаружения у эукариот ^{6m}A с помощью современных сложных методов, последующим этапом исследований является анализ данных о метиломе ^{6m}A и выявление мотивов метилирования. В последнее время удалось разработать биоинформационные инструменты для обнаружения и прогнозирования потенциальных сайтов метилирования с высокой специфичностью и точностью (табл. 1).

Большинство методологий оценки метильного статуса аденина в составе ДНК применимы к растительным организмам:

1. SDM6A: метод, основанный на прогнозировании новых предполагаемых сайтов метилированного и неметилированного аденина в геноме растений с использованием платформы Integrative Machine-Learning Framework [16].
2. SNNRice ^{6m}A: метод идентификации ^{6m}A в геноме с использованием простой и легкой модели, основанной на пяти показателях, таких как точность, чувствительность, специфичность, коэффициент корреляции Мэтьюса (MCC) и площадь под кривой (AUC) [17].
3. i6mA-DCNP: идентификация и прогноз сайтов ^{6m}A в геноме с использованием высококачественной вычислительной модели. Прогноз основан на кодировании образцов геномной ДНК с использованием динуклеотидного состава и оптимизированных свойств ДНК на основе динуклеотидов [17].
4. csDMA: Идентификация и прогноз модификации ДНК ^{6m}A у разных видов с помощью пятишагового правила Чоу с использованием трех функций кодирования и различных алгоритмов для генерации матрицы признаков.
5. iDNA6mA-Rice: оценка ^{6m}A-сайтов в геноме риса с использованием алгоритма с машинным обучением для составления выборки в качестве исходной информации для выделения из метилированных и неметилированных сайтов.
6. iDNA6mA-PseKNC: метод, основанный на анализе предполагаемой последовательности, который позволяет идентифицировать участки ^{6m}A ДНК со 100%-ной специфичностью и точностью до 96%, не прибегая к сложным математическим формулам.
7. iDNA ^{6m}A: метод идентификации сайтов ^{6m}A в геноме с использованием подхода глубокого обучения, основанного на обычной нейрон-

Таблица 1.

Характеристика методов определения метильного статуса аденина

Метод	Значение
^{6m} A-RE (метил-зависимая рестрикция)	В результате метил-специфичного расщепления ДНК по сайтам, содержащим 6m-аденин, образуются фрагменты, которые можно идентифицировать методом ПЦР
SMRT (метод секвенирования третьего поколения)	Основываясь на кинетике ферментов, основания 6m-аденин идентифицируются по высокочувствительным межимпульсным отношениям в данных секвенирования
MeDIP-seq (секвенирование иммунопреципитации метилированной ДНК)	^{6m} -аденин в ДНК обнаруживают с помощью специфических антител путем высокопроизводительного секвенирования ДНК
Dam-ID (идентификация ДНК аденинметилтрансферазы)	Интересующие белки сшиваются с Dam, а сайты связывания идентифицируются путем рестриционного расщепления и картирования

ной сети, которая принимает один ввод последовательностей ДНК.

8. i6mA-Pred: идентификация сайтов ^{6m}A в геноме с 83% точностью, в которой последовательности ДНК были сформулированы с использованием химических свойств и частоты нуклеотидов на основе метода опорных векторов.
9. MM-6mA-Pred: идентификация сайтов метилированного и неметилированного аденина по значительным различиям в вероятности перехода между соседними нуклеотидами на основе модели Моркова с лучшим прогнозом, чем у i6mA-Pred [17].
10. DEER6mA: инструмент высокой производительности, позволяющий идентифицировать участки ^{6m}A в растениях с общей точностью прогнозирования 94% с использованием сверточной нейронной сети (CNN) для извлечения высокоуровневых функций в последовательности и двунаправленной сети с кратковременной памятью (BLSTM), изучить структуру зависимости вдоль последовательности.
11. FastFeatGen: этот инструмент предсказывает сайты ^{6m}A в геноме, используя подход машинного обучения с функциями мотива. Преимуществом этого инструмента является его скорость благодаря многопоточности и общей памяти [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, механизмом эпигенетической регуляции является метилирование ДНК, в ходе которого метильная группа (CH₃) добавляется к цитозиновым основаниям ДНК. Особенностью метилирования у растений является то, что у них был обнаружен N6-метилаланин в геномной ДНК, выделенной из многих высших растений, в отличие от животных, для которых характерны цитозин-ДНК-метилтрансферазы. При этом показано, что митохондрии растений обладают аденин-ДНК-метилтрансферазами. В последнее время разработаны сложные методы с высокой чувствительностью и точностью, обеспечивающие определение метильного статуса аденина в геномной ДНК: метил-зависимый рестрикционный анализ, SMRT и иммунопреципитация ДНК-аденин-метилтрансферазы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Finnegan E.J., Kovac K.A. // *Plant Mol. Biol.* 2000. Vol. 43, pp. 189-201. DOI: 10.1023/a:1006427226972.
2. Jones P.A. // *Nat. Rev. Genet.* 2012. Vol. 13,

pp. 484–492. DOI: 10.1038/nrg3230.

3. Cao X., Springer N.M., Muszynski M.G., Phillips R.L., Kaeppler S., Jacobsen S.E. // *PNAS USA.* 2000. Vol. 97, pp. 4979–4984. DOI:10.1073/pnas.97.9.4979
4. Cao X., Jacobsen S. // *Curr. Biol.* 2002. Vol. 12, pp. 1138-1144. DOI:10.5511/plantbiotechnology.22.71
5. Comb M., Goodman H.M. // *Nucleic Acids Res.* 1990. Vol. 18, pp. 3975-3982. DOI: 10.1093/nar/18.13.3975.
6. Mondo S.J., Dannebaum R.O., Kuo R.C., Louie K.B., Bewick A.J., LaButti K., Haridas S., Kuo A., Salamov A., Ahrendt S.R., Lau R., Bowen B. P., Lipzen A., Sullivan W., Andreopoulos B.B., Clum A., Lindquist E., Daum C., Northen T.R., Kunde-Ramamoorthy G., Schmitz R.J., Gryganskyi A., Culley D., Magnuson J., James T.Y., O'Malley M.A., Stajich J.E., Spatafora J.W., Visel A., Grigoriev I.V. // *Nat. Genet.* 2017. Vol. 49, pp. 964–968. DOI: 10.1038/ng.3859
7. Koziol M.J., Bradshaw C.R., Allen G.E., Costa A.S., Frezza C., Gurdon J.B. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2016. Vol. 23, pp. 24–30. DOI: 10.1038/nsm.3145
8. Ratel D., Ravanat J.L., Charles M.P., Platet N., Breuillaud L., Lunardi J., Berger F., Wion D. // *FEBS Lett.* 2006. Vol. 580, pp 3179–3184. DOI: 10.1016/j.febslet.2006.04.074.
9. Fedoreyeva L.I., Vanyushin B.F. // *FEBS Lett.* 2002. Vol. 514, pp. 305–308. DOI: 10.1016/s0014-5793(02)02384-0.
10. Sun Q., Huang S., Wang X., Zhu Y., Chen Z., Chen D. // *BioEssays.* 2015. Vol. 37, pp. 1155-1162. DOI: 10.1002/bies.201500076.
11. Ye P., Luan Y., Chen K., Liu Y., Xiao C., Xie Z. // *Nucleic Acids Res.* 2017. Vol. 45, pp. 85–89. DOI: 10.1093/nar/gkw950.
12. Aufsatz W., Mette M.F., van der Winden J., Matzke A.J., Matzke M // *PNAS USA.* 2002. Vol. 99, pp. 16499-16506. DOI: 10.1073/pnas.162371499.
13. Capuano F., Müllleder M., Kok R., Blom H., Ralser M. // *Analytical Chemistry.* 2014. Vol. 86, pp. 3697–3702. DOI: 10.1021/ac500447w.
14. Degtyarenko K., Matos P., Ennis M., Hastings J., Zbinden M., McNaught A., Alcantara R., Darsow M., Guedj M., Ashburner M. // *Nucleic Acids Res.* 2008. Vol. 36, pp. 344–350. DOI: 10.1093/nar/gkm791
15. Wu T.P., Wang T., Seetin M.G., Lai Y., Zhu S., Lin K., Liu Y., Byrum S.D., Mackintosh S.G., Zhong M., Tackett A., Wang G., Hon L.S., Fang G., Swenberg J.A., Xiao A.Z. // *Nature.* 2016. Vol. 532, pp. 329–333. DOI: 10.1038/nature17640.

16. Fu Y., Luo G-Z., Chen K., Deng X., Yu M., Han D., Hao Z., Liu J., Lu X., Dore L.C., Weng X., Ji Q., Mets L., He C. // *Cell*. 2015. Vol. 161, pp. 879–892. DOI: 10.1016/j.cell.2015.04.010.
17. Liu Z.Y., Xing J.F., Chen W., Luan M.W., Xie R., Huang J., Xie S.Q., Xiao C.L. // *Hortic. Res.* 2019. Vol. 15:78. DOI: 10.1038/s41438-019-0160-4.
18. Seidl M.F. // *Nat. Genet.* 2017. Vol. 49, pp. 823–824. DOI: 10.1016/j.tig.2017.07.003.
19. Marinus M.G., Casadesus J. // *FEMS Microbiol Rev.* 2009. Vol. 33, pp. 488-503. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2008.00159.x.
20. Zhang, G., Huang, H., Liu, D., Cheng, Y., Liu, X., Zhang, W., Yin, R., Zhang, D., Zhang, P., Liu, J., Li C., Liu B., Luo Y., Zhu Y., Zhang N., He S., He C., Wang H., Chen D. // *Cell*. 2015. Vol. 161, pp. 893–906. DOI: 10.1016/j.cell.2015.04.018.
21. Luo G.Z., Blanco M.A., Greer E.L., He C., Shi Y. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2015. Vol. 16, pp. 705–710. DOI: 10.1038/nrm4076.
22. Liang Z., Shen L., Cui X., Lu T., Gu X., Yu H. // *Developmental Cell*. 2018. Vol. 45, pp. 406–416. DOI: 10.1016/j.devcel.2018.03.012
23. Zilberman D., Gehring M., Tran R.K., Ballinger T., Henikoff S. // *Nat. Genet.* 2007. Vol. 39, pp. 61–69. DOI: 10.1038/ng1929.
24. Kaul S., Koo H.L., Jenkins J., Rizzo M., Rooney T., Tallon L.J., Feldblyum T., Nierman W., Benito M.I., Lin X., Town C.D., Venter J.C., Fraser C.M., Tabata S., Nakamura Y., Kaneko T., Sato S., Asamizu E., Kato T., Somerville C. // *Nature*. 2000. Vol. 408, pp. 796–815. DOI: 10.1038/35048692
25. Smith S.S., Kaplan B., Sowers L., Newman E. // *PNAS USA*. 1992. Vol. 89, pp. 4744–4748. DOI: 10.1073/pnas.89.10.4744
26. Kamat S.S., Fan H., Sauder J.M., Burley S.K., Shoichet B.K., Sali A., Raushel F.M. // *J. Am. Chem. Soc.* 2011. Vol. 133, pp. 2080–2083. DOI: 10.1021/ja110157u
27. Babinger P. // *Nucleic Acids Res.* 2001. Vol. 29, pp. 1261–1271. DOI: 10.1093/nar/29.6.1261

Воронежский государственный университет
Федорин Д. Н., доцент кафедры биохимии и физиологии клетки
E-mail: rybolov@mail.ru

Епринцев А. Т., заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки
E-mail: bc366@bio.vsu.ru

Voronezh State University
Fedorin D. N., PhD., Assistant Professor of biochemistry and cell physiology,
E-mail: rybolov@mail.ru

Eprintsev A. T., PhD., DSci., head of the department of biochemistry and cell physiology
E-mail: bc366@bio.vsu.ru

DNA METHYLATION AS A METHOD OF REGULATION OF GENE EXPRESSION

D. N. Fedorin, A. T. Eprintsev
Voronezh State University

Abstract. DNA methylation is one of the central regulatory processes in the epigenetics of living organisms, controls the processes of replication, transcription, translation, DNA repair and recombination of gene transposition, serves as a mechanism for cell and tissue differentiation, gene discrimination and repression, protects the genome from the expression of exogenous viral and endogenous repetitive genes. DNA sequences. Two of the four nitrogenous base, cytosine and adenine, can be methylated, but adenine methylation is found only in prokaryotes and plants. DNA methylation consists of adding a methyl group at the C-5 or N-4 position of cytosine (^{5m}C and ^{4m}C) or the N-6 position of adenine (^{6m}A). The methylation process is catalyzed by DNA methyltransferases that regulate genes. All known DNA methyltransferases involve S-adenosylmethionine as a methyl donor of the methyl group in their methylation processes. An analysis of plant genomes shows that the overall pattern of the distribution of 6mA in DNA is similar to that of ^{5m}C, while this indicator correlates with gene transcription for both ^{6m}A and ^{5m}C. An analysis of the literature sources shows that both methyl-dependent DNA marks may have a certain interdependence,

while an increase in ^{6m}A in the promoter regions of the genes contributes to their shutdown. Thus, the mechanism of epigenetic regulation is DNA methylation, during which a methyl group (CH₃) is added to DNA cytosine bases. A feature of methylation in plants is that N6-methylalanine was found in their genomic DNA, unlike animals, which are characterized by cytosine-DNA-methyltransferases, plant mitochondria have adenine-DNA-methyltransferases. Recently, bioinformatic tools have been developed to detect and predict potential methylation sites with high specificity and accuracy. The main methods for determining the value of the methyl status of adenine in genomic DNA are: methyl-dependent restriction analysis, SMRT, and immunoprecipitation of DNA adenine methyltransferase.

Keywords: DNA methylation, adenine, cytosine, promoter, CpG island, gene expression