ПРОФИЛИ ЭКСПРЕССИИ НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ РНК В ЦЕНТРЕ ИНАКТИВАЦИИ У МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ

Е.А. Елисафенко [1,2,3], А.И. Шевченко [1,2,3], С.М. Закиян [1,2,3,4]

[1] ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия
[2] ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск, Россия
[3] ФГБУ «Новосибирский научно–исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия
[4] Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Long noncoding RNA expression pattern in the X inactivation center of rodents

E.A. Elisaphenko [1,2,3], A.I. Shevchenko [1,2,3], S.M. Zakian [1,2,3,4]
[1] Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
[2] Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
[3] State Research Institute of Circulation Pathology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia
[4] National Research University Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Для трех видов грызунов полевок, крысы и мыши проведен анализ транскриптомов нескольких клеточных линий, различающихся степенью дифференцировки, по результатам которого построены профили экспрессии генов в центре инактивации Х-хромосомы. Для мыши получены новые данные о том, как изменяется экспрессия ключевых генов центра инактивации *Xist* и *Tsix* в онтогенезе. Выявлены новые формы транскриптов. У полевок во всех 8 исследованных линиях клеток наблюдается экспрессия гена *Xist*. Интересно отметить, что преобладающий транскрипт гена *Xist* полевок, также как *Xist* крысы и мыши, имеет 7 экзонов. Кроме того, в четырех линиях клеток полевок, экспрессируется антисмысловой транскрипт — *Tsix*, который представлен как сплайсированными, так и несплайсированными вариантами. В трех линиях клеток у полевок выявляется экспрессия между генами *Enox* (*Jpx*) и *Xist*. При исследовании профиля экспрессии нескольких клеточных линий крысы были выявлены дополнительные варианты транскриптов гена *Tsix*, которых нет у мыши и полевки. Уровень экспрессии гена *Tsix* у крысы, в отличие от мыши и полевки, в разы превышает экспрессию *Xist*.

Ключевые слова: центр инативации Х-хромосомы, длинные нетранслируемы РНК, грызуны.

Transcriptome analysis of several cell lines with different differentiation degree has been carried out in three rodent species — voles, rats, and mice. As a result, expression profiles of X-inactivation center genes have been generated. In mice, new data on how expression of key genes of X-inactivation center, *Xist* and *Tsix*, changes during ontogenesis have been obtained. New types of transcripts have been revealed. In voles, *Xist* expression was observed in all 8 cell lines examined. Interestingly, main vole *Xist* transcript had 7 exons as those of rats and mice. In addition, *Xist* antisense transcript, *Tsix*, was expressed in 4 vole cell lines and was presented by both spliced and unspliced variants. Expression between the *Enox* (*Jpx*) and *Xist* genes has been revealed in three vole cell lines. Additional variants of *Tsix* transcripts were observed when studied expression profiles of several rat cell lines. The variants were not present in mice and voles. Compared to mice and voles, *Tsix* expression level in rats was several times higher than that of *Xist*.

Keywords: X-inactivation center, long non-coging RNA, rodents.

Введение

У диплоидных организмов большинство генов экспрессируются с обеих аллелей. Однако существуют множество случаев моноаллельной экспрессии. Классический пример этого явления — компенсация дозы генов Х-хромосомы у млекопитающих. Двукратное различие в числе копий Х-сцепленных генов у самцов (XY) выравнивается за счет подавления транскрипции большинства генов на одной из двух Х-хромосом у самок (XX) в результате процесса, названного инактивацией Х хромосомы.

Элементы, контролирующие основные стадии Х-инактивации (подсчет числа Х хромосом, выбор будущей неактивной хромосомы и инициация замолкания генов) располагаются в определенном локусе Х-хромосомы, названном XIC (X inactivation center). Центр инактивации Х-хромосомы мыши обогащен генами некодирующих РНК. У грызунов в пределах XIC на протяжении 100–500 т. п. н. находится как минимум 7 областей некодирующих ядерных РНК, таких как: *Xist*, RepA, *DXPas34, Xite*, *Tsix*, *Jpx/Enox, Ftx* [1–3]. Некоторые из этих РНК являются необходимыми для Х-инактивации. Так, ген *Xist* (X inactive specific transcript) производит нетранслируемую, ядерную РНК, необходимую для инициации инактивации Х-хромосомы [4].

Регуляция *Xist*, по-видимому, зависит от многих генов. Так, было показано, что в данной регуляции участвуют длинные некодирующие РНК центра инактивации — *Jpx* и *Ftx*. *Jpx* активирует экспрессию *Xist* на неактивной Х-хромосоме. Делеция данного гена в клетках самцов не вызывает эффекта, а в клетках самок, напротив, приводит к серьезным нарушениям развития [5]. Некодирующая РНК *Ftx* также влияет на экспрессию *Xist*. Делеция *Ftx* вызывает изменение структуры хроматина и снижение уровня экспрессии *Xist*.

Однако ключевым регулятором экспрессии *Xist* является его антисмысловой ген *Tsix*, обнаруженный у мыши [6], полевки, крысы [7] и человека [8]. Наиболее подробно этот ген и его регуляция изучены у мыши. Длина *Tsix* составляет примерно 40 т. п. н., выявлены две основные точки старта транскрипции мажорная и минорная. Исследования экспрессии показали, что у мыши основная точка старта транскрипции *Tsix* располагается на расстоянии 15 т. п. н. от 3'-конца гена *Xist*. Дополнительный минорный промотор обнаружен на расстоянии 28 т. п. н.

e-mail: antares@bionet.nsc.ru

от 3'-границы [9]. Определены дистальные регуляторные элементы *Tsix*: кластер тандемных повторов *DXPas34* и *Xite* (X intergenic transcription element), и предложены модели их взаимодействия [10]. *Xite* расположен выше *Tsix* и способствует его асимметричной экспрессии при выборе Х-хромосомы для инактивации. Он расположен в районе 20–32 т. п. н. от 3'-границы гена *Xist*, содержит сайты гиперчувствительности к ДНКазе I и несколько точек старта транскрипции. В эксперименте нокаут *Xite* уменьшал устойчивость транскрипции соседствующего с ним *Tsix*, что снижало шансы выбора мутантной Х в качестве активной. *Xite* является энхансером транскрипции *Tsix*, увеличивая стабильность его экспрессии. Возможно, регуляторный эффект *Xite* реализуется через модификацию структуры хроматина [11].

У мыши для функционирования *Tsix* его антисмысловая транскрипция должна перекрывать промотор гена *Xist* [12], что также справедливо для *Tsix* полевки и крысы. Однако у человека экспрессия *TSIX* терминируется задолго до промотора *XIST* и, вероятно, не может препятствовать его экспрессии. Ген *TSIX* человека обеднен CpG-островками, которые являются необходимыми для функционирования его ортолога у мыши [11, 13–15]. Более того, с помощью РНК FISH- было показано, что в клетках человека *TSIX* и *XIST* коэкспрессируются с неактивной Х-хромосомы, что также говорит о неспособности данного антисэнс-транскрипта отрицательно регулировать *XIST* [16]. Экспрессия РНК *TSIX* не поддерживается на неактивной Х-хромосоме, но остаётся на активной. Другим важным отличием *Tsix* у человека является его низкий уровень экспрессии [14, 16, 17]. Предполагают, что регуляция гена *Xist* с помощью антисмысловой РНК *Tsix* является видоспецифичной для грызунов.

Кроме мыши, ген *Tsix* детально изучен у полевок. Была получена полная геномная последовательность, определены границы гена и его экзон-интронная структура для четырёх видов обыкновенных полёвок (M. arvalis, M. levis, M. transcaspicus и M. kirgisorum), обнаружены альтернативные варианты сплайсинга. Показано наличие блока минисателлитных повторов, аналогичного регуляторному району *DXPas34* мыши. По сравнению с другими грызунами, у полевок произошла перестройка локуса XIC, в результате которой в нем не обнаружен *Xite* – подобный элемент и первый экзон *Tsix* [7].

В настоящей работе проведены анализ и сравнение профилей экспрессии в локусе центра инактивации у полевок, крысы и мыши с целью определить нюансы их регуляции у разных видов и выявить новых участников процесса инактивации Х-хромосомы.

Материал и методы

Референсные последовательности локуса центра инактивации Х-хромосомы мыши и крысы были экстрагированы из соответствующих сборок геномов MM10 и RN6. Для полевок использовали последовательность из GeneBank ACC AJ310130.1. Последовательности для анализа транскриптомов мыши были загружены из базы данных NCBI SRA (http: // www.ncbi.nlm.nih.gov/sra).

Использовали данные о секвенированых транскриптомах мыши со следующими регистрационными номерами: SRX1598951 и SRX502126 – дифференцированные клетки фибробластов самки и самца мыши, ERX594376 – преимплантационный эпибласт, ERX594384 – постимплантационный эпибласт, SRX316302 – ЭСК JM8.F6 самки, SRX316300 – эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) самца Bruce4, SRX316298 – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) самца.

У полевок были секвенированы транскриптомы фибробластов – A1, SA004, Sa005, SAD4, трофобластных стволовых (ТС) клеток – RTS1, CKR134 и клеток экстраэмбриональной энтодермы (XEN) – L7.10, M6S3.

Данные секвенирования транскриптомов по крысе были получены нами ранее [18] (http://trace.ddbj.nig.ac.jp/DRASearch/study?acc=SRP019984) для клеточных линий RNFF1, RNFM1 – эмбриональные фибробласты самки и самца соответственно, RES27, dB50 – ЭСК самки и самца, NF13, NF21, QV8 – ИПСК самок, SU3 – ИПСК самца.

Транскриптомы картировали на соответствующие референсные последовательности с использованием программы bowtie2 [19]. Результирующие файлы в формате SAM визуализировали и анализировали с использованием программного обеспечения Geneious 9.0.2 (http: //www.geneious.com) [20].

Результаты

Мы использовали данные по секвенированию транскриптомов нескольких клеточных линий мыши, полученных из базы данных SRA: эмбриональных стволовых клеток bruce4, индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, фибробластов MEF10, а также эпибласта до и после имплантации.

Экспрессия в локусе центра инактивации у мыши изучена уже достаточно детально. Наш анализ согласуется с результатами других исследований. Ген *Xist* транскрибируется в плюрипотентных клетках обоих полов и не транскрибируется в дифференцированных клетках самцов. Ген *Tsix* экспрессируется в плюрипотентных клетках, но его транскрипты не обнаруживаются в дифференцированных клетках (рис. 1).

Анализ клеток эпибласта у мыши выявил интересную особенность. До имплантации экспрессируется только очень короткая форма гена *Xist* в районе А-повтора (рис. 1). Сразу после имплантации в этих же клетках картина резко меняется. Экспрессируется не описанная ранее форма гена *Tsix*, которая перекрывает несколько экзонов *Xist* и продолжается транскрипция короткой формы *Xist* (рис. 1). Также на этой стадии начинают экспрессироваться два других гена центра инактивации *Ftx* и *Jpx* (данные не показаны). На более поздних стадиях снова появляется обычная форма *Xist*, а *Tsix* прекращает работу (рис. 1). В фибробластах самцов мыши экспрессия в центре инактивации не выявлятся.

На основании анализа транскриптома нескольких клеточных линий самок полевок с разной степенью дифференцировки (фибробластов, а также стволовых клеток экстраэмбриональной эндодермы и трофобласта) были построены профили экспрессии генов центра инактивации для этого вида (рис. 2). Последовательность XIC была получена и проанализирована у обыкновенных полевок рода Microtus в предыдущих исследованиях [7, 21, 22]. Во всех 8 исследованных линиях клеток наблюдается экспрессия гена *Xist* (рис. 2). Интересно отметить, что по данным транскриптомного анализа в составе РНК

гена *Xist* полевок выявляется 7 экзонов, тогда как по данным предыдущих исследований предполагалось наличие 8 экзонов. Дело в том, что результаты анализа транскрипома полевки показывают, что экзон 7, интрон 7 и экзон 8 гена *Xist* у данного вида экспрессируются как один большой экзон. Остальные экзон-интронные границы *Xist* полевок совпадают с определенными ранее методом ОТ-ПЦР. В четырех линиях клеток у полевок, кроме того, выявляется РНК *Tsix*, который экспрессируется на более низком уровне чем *Xist*. Это видно в районах, где гены *Xist* и *Tsix* полевок не перекрываются, то есть в экзонах 1 и 4 гена *Tsix*. Экспрессия *Tsix* выявлена в экстраэмбриональной эндодерме и фибробластах M. arvalis, а также в фибробластах гибридной линии SA004. (рис. 2), но не обнаружена в стволовых клетках трофобласта. В клеточных линиях полевок наряду со сплайсированными формами *Tsix* выявляется фоновая экспрессия через весь локус данного гена, которая соответствует неслайсированным вариантам его транскрипта. Ранее наличие неплайсированных транскриптов данного гена у полевок было обнаружено с помощью нозерн блот-гибридизации, подобные неслайсированные варианты *Tsix* также имеются у мыши и крысы. Во всех линиях полевок дополнительно выявляется экспрессия между генами *Enox* (*Jpx*) и *Xist*. Она соответствует установленной ранее антсмысловой транскрипции, в районе промотора гена *Enox* [7]. Подобная транскрипция в этом районе выявляется только у полевок. Другой интересный факт — выборочная экспрессия гена *Slc16A2*, который у полевок также входит в центр инактивации. Как видно из рисунка, в трех линиях из восьми его экспрессии нет (рис. 2).

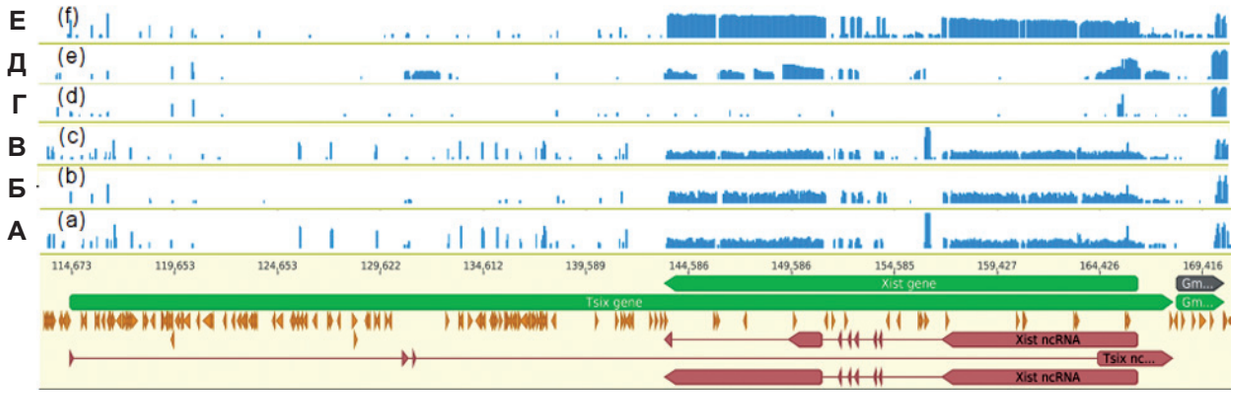

Рис. 1. Структура локуса центра инактивации Х-хромосомы и профиль экспрессии в клеточных линиях мыши: А — профиль ЭСК самца Bruce4; Б — профиль ЭСК JM8.F6 самки; В — профиль ИПСК самца; Г — профиль клеток преимплантационныого эпибласта; Д — профиль клеток постимплантационного эпибласта; Е — профиль дифференцированных фиброластов самки. Зелеными линиями условно обозначены гены; красными — известные транскрипты; оранжевым — мобильные элементы. Уровень экспрессии показан голубым цветом, его значение определялось как десятичный логарифм числа ридов, картированных на референсную последовательность

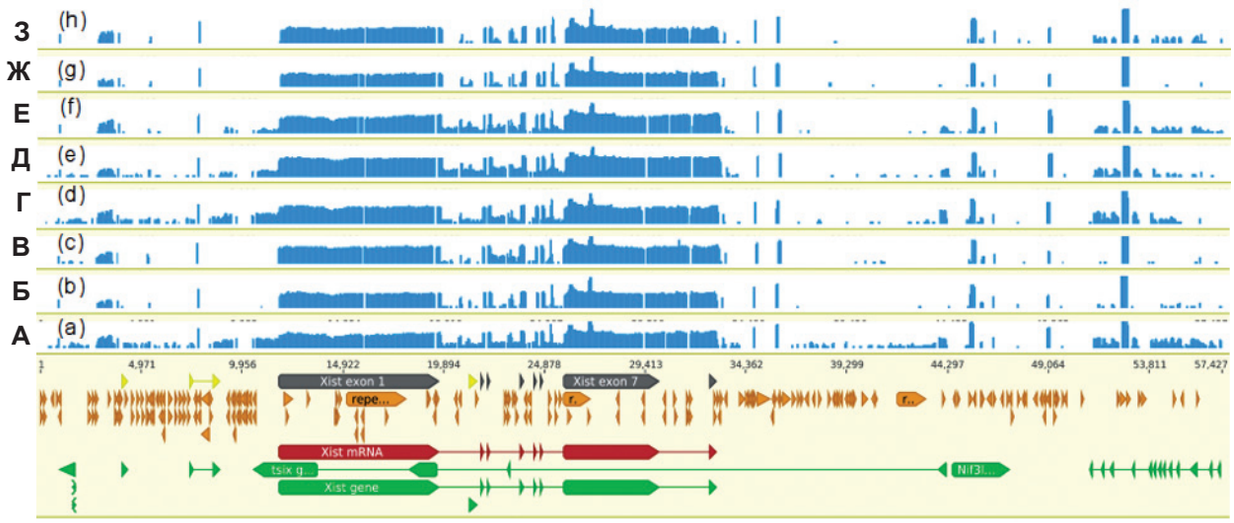

Рис. 2. Структура локуса центра инактивации Х-хромосомы и профиль экспрессии в клеточных линиях полевки: А–Г — профили для линий фибробластов — A1, SA004, Sa005, SAD4 соответственно; Д, Е — профили клеток экстраэмбриональной эндодермы — L7.10, M6S3; Ж, З — стволовые клетки трофобласта RTS1 и CKR134. Зелеными линиями условно обозначены гены; красными — известные транскрипты; оранжевым — мобильные элементы. Уровень экспрессии показан голубым цветом, его значение определялось как десятичный логарифм числа ридов, картированных на референсную последовательность

Аналогично были исследованы профили экспрессии нескольких клеточных линий у крысы. По сравнению с мышью и полевкой у нее выявляется большое количество разных транскриптов как внутри, так и в окружении гена *Xist*. Это видно, например, по анализу EST (рис. 3). Интересный факт — уровень экспрессии гена *Xist* намного меньше, чем *Tsix*, что характерно как для дифференцированных, так и для плюрипотентных клеток. Транскрипт гена *Tsix* при этом содержит три больших экзона. Первый и последний экзоны *Txis*, картированные по результатам анализа транскриптома крысы, совпадают с определенными ранее методом ОТ-ПЦР [7]. Выявленный впервые в данной работе второй экзон *Tsix* практически полностью перекрывает седьмой экзон *Xist*.

Таким образом, в сплайсированной РНК *Tsix* крысы имеются дополнительные экзоны, которых нет у мыши и полевки.

Обсуждение

Предположительно, антисмысловая пара генов *Xist/Tsix* является главным регулятором процесса инактивации Х хромосомы. Особенно четко это показано для мыши. В недифференцированных клетках *Tsix* экспрессируется с обеих Х хромосом. Во время этой стадии, *Xist* РНК экспрессируется на очень низком «базальном» уровне. На момент начала дифференцировки клеток *Tsix* продолжает экспрессироваться только на будущей активной Х хромосоме, подавляя на ней экспрессию *Xist*. На неактивной Х хромосоме снижение уровня *Tsix* влечет за собой активацию *Xist* [11]. Это мы и наблюдаем при анализе профиля экспрессии в ЭСК (рис. 1). Однако крыса и мышь отличаются принципиально по соотношению уровня экспрессии этих двух генов. У мыши экспрессия *Tsix* намного ниже *Xist*, у крысы — наоборот, намного выше. Кроме того, у крысы *Tsix* имеет 3 протяженных экзона, один из которых перекрывает 7 экзон *Xist*. Такая структура гена характерна только для крысы (рис. 2). У полевок также имеется специфика в организации транскрипта *Tsix*. Однако все три вида объединяет практически идентичные последний экзон и начало основного старта транскрипции *Tsix*.

В случае импринтированной инактивации в экстраэмбриональных тканях *Xist* и *Tsix*, экспрессируются с отцовской и материнской Х хромосомы соответственно [9, 23]. Сходную картину мы наблюдаем и в клеточных линиях экстраэмбриональной эндодермы полевок, которые отражают импритированную инактивацию. Импринтиг экспрессии генов *Xist* и *Tsix* в преимплантационном развитии является необходимым для нормальной жизнеспособности эмбрионов [4, 9, 23, 24]. При передаче от отца мутантной Х, импринтированная инактивация не может произойти, что приводит к гибели эмбрионов женского пола вскоре после имплантации, т.к. в экстраэмбриональных тканях представлены две активные Х хромосомы [24]. Тем не менее, в секвенированных транскриптомах стволовых клеток трофоэктодермы транскрипты *Tsix* не выявляются. Это может свидетельствовать о том, что в данном типе клеток *Tsix* экспрессируется на низком уровне, или же говорить о том, что его транскрипт слабо полиаденилирован и не отбирается при секвенировании во фракции поли-(А) РНК.

На будущей неактивной Х хромосоме экспрессия *Tsix* прекращается, что позволяет стабилизировать *Xist* и запустить процесс инактивации. Продолжение экспрессии *Tsix* блокирует активность *Xist*, что необходимо для поддержания активного состояния

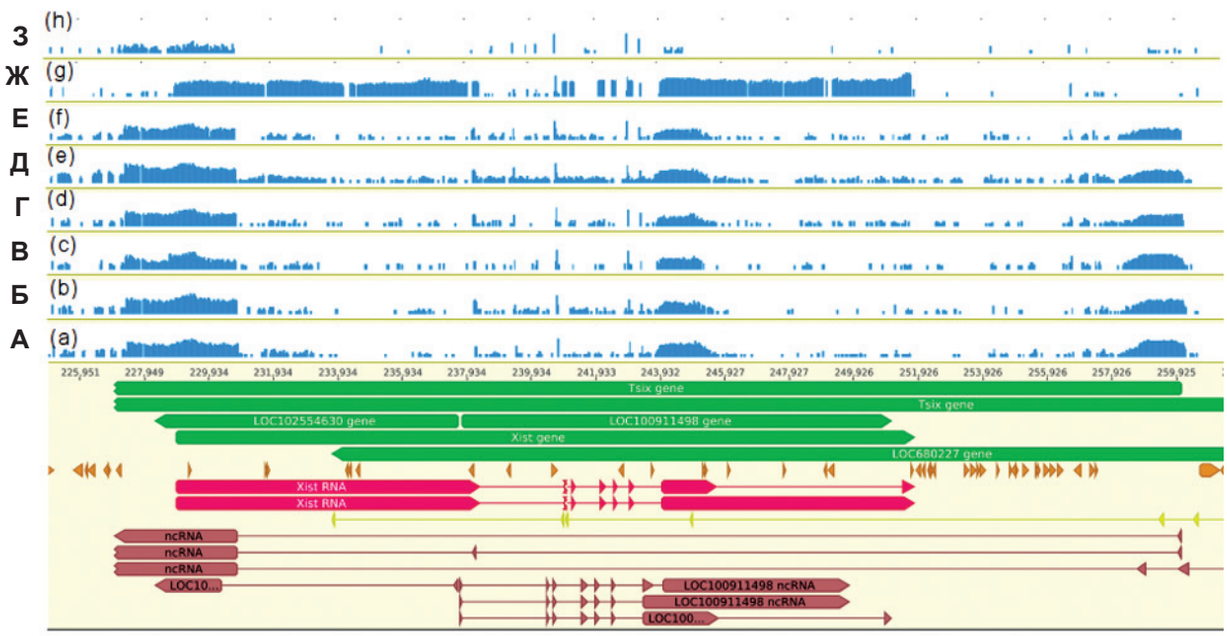

Рис. 3. Структура локуса центра инактивации Х-хромосомы и профиль экспрессии в клеточных линиях крысы: А — SU3 — ИПСК самцов; Б-Г — NF13, NF21, QV8 ИПСК самок; Д, Е — RES27, dB50 ЭСК самки и самца; Ж, З — RNFF1, RNFM1 эмбриональные фибробласты самки и самца. Зелеными линиями условно обозначены гены, красными — известные транскрипты, оранжевым — мобильные элементы. Уровень экспрессии показан голубым цветом, его значение определялось как десятичный логарифм числа ридов, картированных на референсную последовательность

Х-хромосомы [6]. Далее, после инактивации, работа гена *Tsix* у мыши прекращается. У крысы, также как и у мыши, экспрессия *Tsix* у самок не наблюдается, но остается у самцов. У полевок *Tsix* экспрессируется на активной Х-хромосоме как у самцов, так и у самок.

У всех исследованных видов грызунов и на всех стадиях, где экспрессируется *Xist*, преобладает длинная изоформа гена, содержащая 7 экзонов. В состав последнего входят установленные ранее 7 экзон, 7 интрон и 8 экзон данного гена. По всей видимости, именно такая изоформа необходима для инактивации. Исключение составляют клетки эпибласта у мыши, где экспрессируется супер-короткая форма *Xist*, обнаруженная также ранее в других исследованиях [25]. Ген *Tsix* у полевок, в отличии от мыши, у которой он активен только на ранних стадиях онтогенеза до инактивации Х-хрмосомы и потом замолкает, может экспрессироваться и на более поздних стадиях онтогенеза в клетках экстраэмбриональной эндодермы и даже в фибробластах. Кроме *Xist* и *Tsix* во всех линиях клеток полевок нами обнаружен видоспецифический транскрипт в районе гена *Enox*. Он присутствует только у полевок, и не имеет значимых гомологий с последовательностями других видов. Аналогичная последовательность (XM_013349652) обнаруживается среди кДНК и у прерийной полевки Microtus ochrogaster. Функция ее неизвестна, возможно, она каким-то образом также участвует в регуляции процесса инактивации.

На основании анализа профилей экспрессии мы видим, что даже у близких видов грызунов регуляция процесса инактивации достаточно специфична. Она отличается по соотношению уровней экспрессии основных генов, длине и экзон-интронному составу транскриптов, особенно *Tsix*. Существуют, кроме того, различные изоформы, которые видоспецифически транскрибируются по-разному на разных стадиях онтогенеза. По всей видимости, это связана с «тонкой» регуляцией или подстройкой процесса инактивации у каждого вида. Выявленный нами дополнительный генный транскрипт у полевок, возможно, также задействован в видоспецифичной регуляции.

Благодарности

Работа поддержана грантами РФФИ № 14-04-00710 и 15-04-03947.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Brockdorff N., Ashworth A., Kay G.F. et al. Conservation of position and exclusive expression of mouse Xist from the inactive X chromosome. Nature 1991; 351(6324): 329-31.
2. Lee J.T., Davidow L.S., Warshawsky D. Tsix, a gene antisense to Xist at the X-inactivation centre. Nat. Genet. 1999; 21: 400-4.
3. Chureau C., Prissette M., Bourdet A. et al. Comparative sequence analysis of the X-inactivation center region in mouse, human, and bovine. Genome Res. 2002; 12(6): 894-908.
4. Penny G.D., Kay G.F., Sheardown S. et al. Requirement for Xist in X chromosome inactivation. Nature 1996; 379(6561): 131-7.
5. Tian D., Sun S., Lee J.T. The long noncoding RNA, jpx, is a molecular switch for x chromosome inactivation. Cell 2010; 143(3): 390-403.
6. Lee J.T., Lu N. Targeted mutagenesis of Tsix leads to nonrandom X inactivation. Cell. 1999; 99: 47-57.
7. Shevchenko A.I., Malakhova A., Elisaphenko E. et al. Variability of sequence surrounding the Xist gene in rodents suggests taxon-specific regulation of X chromosome inactivation. PLoS One 2011; 6(8): e22771.
8. Migeon B.R., Chowdhury A.K., Dunston J., McIntosh I. Identification of TSIX, encoding an RNA antisense to human XIST, reveals differences from its murine counterpart: implications for X inactivation. Am. J. Hum. Genet. 2001; 69(5): 951-60.
9. Sado T., Wang Z., Sasaki H., Li E. Regulation of imprinted X-chromosome inactivation in mice by Tsix. Dev. 2001; 128: 1275–86.
10. Cohen H.R., Panning B. XIST RNA exhibits nuclear retention and exhibits reduced association with the export factor TAP/NXF1. Chromosoma 2007; 116(4): 373-83.
11. Ogawa Y., Lee J.T. Xite, X-inactivation intergenic transcription elements that regulate the probability of choice. Mol. Cell. 2003; 11(3): 731-43.
12. Ohhata T., Hoki Y., Sasaki H., Sado T. Crucial role of antisense transcription across the Xist promoter in Tsix-mediated Xist chromatin modification. Dev. 2008; 135(2): 227-35.
13. Lee J.T., Lu N., Han Y. Genetic analysis of the mouse X inactivation center defines an 80-kb multifunction domain. PNAS USA 1999; 96(7): 3836-41.
14. Migeon B.R., Winter H., Kazi E. et al. Low-copy-number human transgene is recognized as an X inactivation center in mouse ES cells, but fails to induce cis-inactivation in chimeric mice. Genomics 2001; 71(2): 156-62.
15. Lee J.T. Homozygous Tsix mutant mice reveal a sex-ratio distortion and revert to random X-inactivation. Nat. Genet. 2002; 32(1): 195-200.
16. Migeon B.R., Lee C.H., Chowdhury A.K., Carpenter H. Species differences in TSIX/Tsix reveal the roles of these genes in X-chromosome inactivation. Am. J. Hum. Genet. 2002; 71(2): 286-93.
17. Brown C.J., Chow J.C. Beyond sense: The role of antisense RNA in controlling Xist expression. Semin. Cell Dev. Biol. 2003; 14(6): 341-7.
18. Vaskova E.A., Medvedev S.P., Sorokina A.E. et al. Transcriptome Characteristics and X-Chromosome Inactivation Status in Cultured Rat Pluripotent Stem Cells. Stem Cells Dev. 2015; 24(24): 2912-24.
19. Langmead B., Salzberg S.L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. Nat. Methods 2012, 9(4): 357-59.
20. Kearse M., Moir R., Wilson A. et al. Geneious. Bioinformatics. 2012; 28(12): 1647-9.
21. Elisaphenko E.A., Kolesnikov N.N., Shevchenko A.I. et al. A dual origin of the Xist gene from a protein-coding gene and a set of transposable elements. PLoS One. 2008; 3(6): e2521.
22. Nesterova T.B., Slobodyanyuk S.Y., Elisaphenko E.A. et al. Characterization of the genomic Xist locus in rodents reveals conservation of overall gene structure and tandem repeats but rapid evolution of unique sequence. Genome Res. 2001, 11: 833-49.
23. Lee J.T. Disruption of imprinted X inactivation by parent-of-origin effects at Tsix. Cell 2000, 103(1): 17-27.
24. Marahrens Y., Panning B., Dausman J. et al. Xist-deficient mice are defective in dosage compensation but not spermatogenesis. Genes Dev. 1997, 11(2): 156-66.
25. Sarkar M.K., Gayen S., Kumar S. et al. An Xist-activating antisense RNA required for X-chromosome inactivation. Nat. Commun. 2015, 6: 8564.

Поступила: 12.02.2016