

## ROLA PIĘTNOWANYCH GENÓW W ORGANIZMIE LUDZKIM NA PRZYKŁADZIE REGIONU 11p15

THE ROLE OF IMPRINTED GENES IN HUMANS BASED  
ON EXAMPLE OF 11p15 REGION

Dorota JURKIEWICZ, Małgorzata KRAJEWSKA-WALASEK

Zakład Genetyki Medycznej, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”,  
Warszawa

*Streszczenie:* Piętnowanie genomowe jest zjawiskiem epigenetycznym powodującym, że niektóre geny ulegają ekspresji zależnej od pochodzenia rodzicielskiego. W genach podlegających takiej regulacji ekspresja zachodzi albo z allele matczynego, albo z allele ojcowskiego. Piętnowane geny odgrywają ważną rolę we wzrastaniu i rozwoju organizmu. Są one zlokalizowane w domenach kontrolowanych przez centra piętnowania (ICR). W allelospecyficzną ekspresję genów są zaangażowane epigenetyczne modyfikacje, między innymi metylacja DNA. Proces piętnowania jest najczęściej regulowany za pomocą dwóch różnych mechanizmów: poprzez działanie „izolatora” lub niekodującego RNA. Zaburzenia w regulacji procesu piętnowania uczestniczą w patogenezie różnych chorób człowieka. W pracy omówiono rolę piętnowanych genów, mechanizmów piętnowania oraz wpływu zaburzeń tego procesu na rozwój organizmu człowieka na przykładzie regionu 11p15.

*Słowa kluczowe:* piętnowanie genomowe, piętnowane geny, epigenetyka, region 11p15

*Summary:* Genomic imprinting is an epigenetic phenomenon leading to the parental-origin-specific expression of some genes. In genes regulated in this mode, expression is either from maternal or paternal allele. Imprinted genes are important for growth and development. They are localized in domains controlled by imprinting control regions (ICR). Epigenetic modifications, i.e. DNA methylation, are involved in the allele-specific expression. Imprinting is generally regulated by two distinct mechanisms: through the effect of insulator or noncoding RNA. Disturbances in imprinting are involved in pathogenesis of different human disorders. In this work information about the role of imprinted genes, mechanisms of imprinting and the influence of the imprinting dysregulation on human development based on example of 11p15 region is presented.

*Key words:* genomic imprinting, imprinted genes, epigenetics, 11p15 region

## PIĘTNOWANIE GENOMOWE

Epigenetyka dotyczy mechanizmów ekspresji genów, w które nie są zaangażowane zmiany w sekwencji DNA. Jednym z kluczowych dla rozwoju organizmu przykładów regulacji epigenetycznej jest zjawisko piętnowania genomowego (ang. *genomic imprinting*), powodujące, że niektóre geny ulegają ekspresji zależnej od pochodzenia rodzicielskiego [13]. W tej samej komórce ekspresja jednego z dwóch alleli rodzicielskich jest hamowana przez modyfikacje epigenetyczne, podczas gdy drugi allel ulega ekspresji. W genach podlegających takiej regulacji ekspresja zachodzi albo z allele matczynego, albo z allele ojcowskiego. Dowód na istnienie tego zjawiska uzyskano w latach osiemdziesiątych za pomocą serii doświadczeń wykonanych na myszach. Po uzyskaniu zarodków mysich w wyniku mikromanipulacyjnego podawania przedjądrza do oocyty okazało się, że dwa przedjądrza żeńskie w oocycie lub dwa przedjądrza męskie w oocycie nie rozwijały się prawidłowo i obumierały mimo prawidłowej liczby chromosomów. W wyniku tego eksperymentu wykazano, że geny ojcowskie i matczyne nie są funkcjonalnie równoważne i do prawidłowego rozwoju embrionu niezbędna jest zarówno kopia matczyzna, jak i ojcowska [25]. U ssaków zidentyfikowano około 150 piętnowanych genów [37]. Większość z tych genów zlokalizowana jest obok siebie, tworząc domeny podlegające regulacji przez centra piętnowania (ang. *Imprinting Control Regions*, ICRs) [34]. W allelospecyficzną ekspresję genów są zaangażowane epigenetyczne modyfikacje, czyli modyfikacje powodujące zmianę genomu inną niż zmiana sekwencji nukleotydów w DNA (m. in. metylacja DNA, metylacja i acetylacja histonów). Do najlepiej poznanych modyfikacji należy metylacja DNA, która dotyczy cytozyn znajdujących się w ugrupowaniach dwunukleotydów CpG (wyspy CpG). Proces metylacji DNA odbywa się przy udziale metylotransferaz DNA (ang. *DNA Methyltransferases*, DNMTs) [5]. Monoalleliczna ekspresja jest osiągnięta za pomocą odmiennych modyfikacji ICRs na allelu ojcowskim i matczynym. Metylacja wysp CpG prowadzi do hamowania ekspresji genów, natomiast brak metylacji umożliwia przejście chromatyny w stan aktywny i rozpoczęcie transkrypcji [1].

## CYKL PIĘTNOWANIA

Piętnowanie genomowe jest wieloetapowym procesem, w którym piętna są usuwane i na nowo nadawane w każdym pokoleniu. Piętna są wymazywane w pierwotnych komórkach płciowych. Mogą być one tracone podczas pasywnej demetylacji DNA przy braku aktywności metylotransferazy DNMT1 lub mogą być aktywnie usuwane przy udziale białek TET (ang. *Ten-Eleven Translocation proteins*) [15]. Ponowne ustanawianie piętna ma miejsce w trakcie oogenezy i spermatogenezy. Piętno jest nadawane zgodnie z płcią, inny jest jego wzór w oocycie i inny w plemniku. W procesie ustalania piętna uczestniczy metylotransferaza DNMT3A wraz z kofakto-

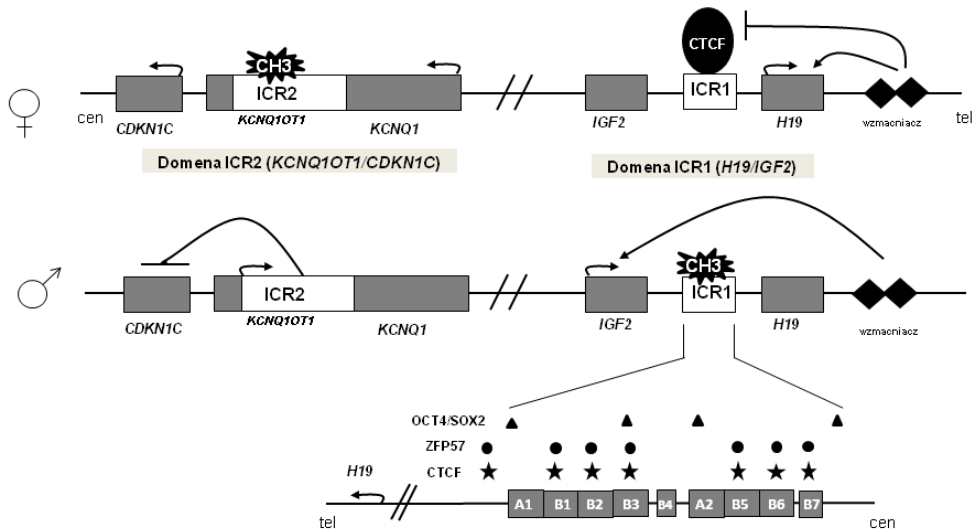
rem DNMT3L [8, 16]. Po zapłodnieniu piętno jest utrzymywane w blastocystyce, przy udziale metylotransferazy DNMT1 oraz dodatkowych czynników, takich jak ZFP57, PGC7/STELLA [22, 29]. Metylacje piętna nie są usuwane w trakcie demetylacji całego genomu, jaka ma miejsce w trakcie wczesnych etapów rozwoju embrionalnego. Piętna są utrzymywane w komórkach somatycznych w ciągu całego życia organizmu [4, 18, 28].

## EWOLUCJA ZJAWISKA EKSPRESJI GENÓW ZALEŻNEJ OD ICH POCHODZENIA RODZICIELSKIEGO

Stan diploidalny, czyli posiadanie dwóch aktywnych kopii danego genu jest korzystne, gdyż w przypadku mutacji jednej kopii, ciągle istnieje druga prawidłowa kopia genu. Z tego względu monoalleliczna ekspresja piętnowanych genów nie wydaje się być pożyteczna dla organizmu i korzyści ewolucyjne muszą przeważać nad zagrożeniami związanymi z aktywnością tylko jednej kopii ważnych dla rozwoju organizmu genów. Hipoteza konfliktu genetycznego proponuje wyjaśnienie genezy piętnowania genomowego [27]. Zakłada ona, że geny ulegające ekspresji tylko z allele ojcowskiego promują wzrastanie płodu poprzez maksymalne wykorzystanie zasobów odżywczych matki, zwłaszcza w populacjach poligamicznych. Geny ekspresjonowane z allele matczynego hamują nadmierny rozwój płodu poprzez limitowanie zasobów matki dostarczanych przez łożysko. Ma to na celu danie równych szans na rozwój maksymalnej liczbie potomstwa posiadającego jej geny. Zgodnie z tą teorią piętnowanie genomowe dotyczy głównie genów wpływających na wzrastanie płodu, rozwój łożyska oraz metabolizm składników odżywczych [32].

## REGION 11p15 I EPIGENETYCZNE MECHANIZMY JEGO REGULACJI

U człowieka znajduje się szereg piętnowanych regionów w genomie, odgrywających ważną rolę we wzrastaniu i rozwoju płodu. Jednym z nich jest region 11p15, który obejmuje dwie piętnowane domeny: *H19/IGF2* (domena ICR1) zlokalizowaną w regionie telomerowym oraz *KCNQ1OT1/CDKN1C* (domena ICR2) znajdującą się z regionie centromerowym (ryc. 1). Każda z nich podlega kontroli własnego centrum piętnowania: ICR1 w regionie telomerowym i ICR2 w regionie centromerowym. Region 11p15 stanowi model badań nad regulacją piętnowania genomowego ze względu na swoją specyfikę. ICR1 i ICR2 mają odmienne wzory piętnowania: ICR1 jest jednym z nielicznych regionów piętnowanych na allele ojcowskim, podczas gdy ICR2 jest piętnowany na allele matczynym. Ponadto, oba centra piętnowania są regulowane za pomocą dwóch różnych mechanizmów. ICR1 działa jako „izolator”, a ICR2 jest promotorem dla regulatorowego niekodującego RNA [21].



**RYCINA 1.** Budowa oraz mechanizm regulacji regionu 11p15. Schemat przedstawia dwie piętnowane domeny: ICR1 (*H19/IGF2*) oraz ICR2 (*KCNQ1OT1/CDKN1C*) na allelu matczynym i ojcowskim. Domena ICR1 jest regulowana przy pomocy mechanizmu „izolatora”. Na allelu matczynym wiązanie białka CTCF do niemetylowanego centrum piętnowania ICR1 uniemożliwia oddziaływanie wzmacniacza na promotor genu *IGF2*. Na allelu ojcowskim metylacja blokuje wiązanie CTCF i wzmacniacz aktywuje transkrypcję *IGF2*. Domena ICR2 jest regulowana poprzez oddziaływanie niekodującego RNA. Centrum piętnowania ICR2 nie jest metylowane na allelu ojcowskim, co umożliwia produkcję niekodującego RNA (*KCNQ1OT1*), które hamuje ekspresję genu *CDKN1C*. Metylacja ICR2 na allelu matczynym uniemożliwia transkrypcję genu *KCNQ1OT1*. W dolnej części schematu przedstawiono centrum piętnowania ICR1 z miejscami wiązania CTCF (gwiazdy), ZFP57 (koła) oraz OCT4/SOX2 (trójkąty)

**FIGURE 1.** 11p15 region structure and regulation. Diagram presents two imprinting domains: ICR1 (*H19/IGF2*) and ICR2 (*KCNQ1OT1/CDKN1C*) on maternal and paternal alleles. ICR1 domain is regulated by the insulator model. On maternal allele, the binding of CTCF to unmethylated ICR1 prevents enhancers from accessing the *IGF2* promoter. On paternal allele the methylation blocks CTCF binding and the enhancer can activate the *IGF2* transcription. ICR2 domain is regulated by non coding RNA. ICR2 region is not methylated on paternal allele, allowing production of non coding RNA (*KCNQ1OT1*), which blocks *CDKN1C* expression. ICR2 methylation on maternal allele prevents the *KCNQ1OT1* transcription. In the lower part of the diagram ICR1 region with CTCF (stars), ZFP57 (circles) and OCT4/SOX2 (triangles) binding sites is shown

### BUDOWA DOMENY ICR1 (*H19/IGF2*)

W domenie ICR1 znajduje się gen *H19*, który ulega ekspresji z allela matczynej oraz gen insulinopodobnego czynnika wzrostu 2 (ang. *Insulin-like Growth Factor 2*, *IGF2*) eksprymowany z allela ojcowskiego. Oba geny są silnie ekspry-

mowane podczas rozwoju embrionalnego, natomiast po urodzeniu ich ekspresja jest hamowana w większości tkanek. Gen *IGF2* koduje czynnik wzrostu odgrywający główną rolę w promowaniu wzrostu embrionu i łożyska. Produktem genu *H19* jest niekodujące RNA (ncRNA) i jego funkcja pozostaje niejasna, choć wykazano, że może działać jako supresor rozwoju nowotworów [38]. Ostatnie badania doprowadziły do obserwacji, że w pierwszym eksonie *H19* znajduje się silnie konserwowana sekwencja pre-mikroRNA (miR-675), z której powstają dwie formy mikroRNA (miR-675-5p i miR-675-3p). Badania na myszach wykazały, że miR-675-3p hamuje aktywność piętnowanego genu *Igf2*, oddziałując na jego receptor *Igf1r*, co może wpływać na ograniczenie wzrastania płodu [19]. Dokładny mechanizm oddziaływania na *Igf1r* nie jest jeszcze poznany. Udowodniono, że miR-675-3p wiąże się do dwóch miejsc zlokalizowanych w regionie 3'UTR receptora *Igf1r*. Ponadto zaobserwowano, że zwiększonemu poziomowi ekspresji miR-675 w łożysku towarzyszy zahamowanie ekspresji *Igf1r* [19]. W domenie ICR1 ostatnio zidentyfikowano także gen nazwany „*H19 Opposite Tumor Suppressor*” (*HOTS*) ulegający ekspresji z allele matczynego, który koduje białko z domeną supresji powstawania nowotworów [31].

W domenie ICR1 znajdują się elementy z powtórzeniami typu A i typu B oraz siedem miejsc przyłączania czynnika wiążącego CCCTC (ang. *CCCTC-binding Factor*; CTCF). Ponadto w domenie tej są zlokalizowane inne motywy wiążące białka, takie jak: OCT4, SOX2 i ZFP57 (ryc. 1).

## MECHANIZM REGULACJI DOMENY ICR1

Centrum piętnowania ICR1 jest zlokalizowane w regionie o zróżnicowanej metylacji (ang. *Differentially Methylated Region*, *DMR*) oddalonym 2 tysiące par zasad (kpz) od strony 5' genu *H19*. Region ten nie jest metylowany na allelu pochodzącym od matki, co umożliwia przyłączenie czynnika CTCF, który działa jako „izolator” hamujący oddziaływanie czynników wzmacniających ekspresję na promotor genu *IGF2*, podczas gdy czynniki te aktywują ekspresję genu *H19*. Metylacja ICR1 na allelu ojcowskim nie pozwala na przyłączenie białka CTCF, brak „izolatora” umożliwia działanie wzmacniaczy ekspresji na promotor genu *IGF2*, co prowadzi do jego transkrypcji [35] (ryc. 1). Mechanizm regulacji domeny ICR1 prowadzi do ekspresji *IGF2* z ojcowskiego allele i *H19* z matczynego allele. Badania nad strukturą chromatyny wskazują, że CTCF razem z kohezyną uczestniczą w tworzeniu pętli chromatynowej w domenie ICR1 i że organizacja chromatyny w tym obszarze wpływa na ekspresję *IGF2* i *H19* [30]. Przyłączenie się CTCF jest regulowane także przez czynniki OCT4 i SOX2 [36].

## BUDOWA DOMENY ICR2 (*KCNQ1OT1/CDKN1C*)

W domenie ICR2 znajdują się dwa istotne dla regulacji piętnowania geny: gen inhibitora kinazy zależnej od cyklin (ang. *Cyclin-Dependent Kinase inhibitor*; CDKN1C) oraz gen *KCNQ1OT1* (ryc. 1). Gen *CDKN1C* ulega ekspresji z allele matczynego, gen *KCNQ1OT1* jest ekspymowany z allele ojcowskiego. Ekspresja genu *CDKN1C* zachodzi we wszystkich ważnych organach w trakcie embriogenezy. Produkt genu negatywnie reguluje cykl komórkowy poprzez oddziaływanie na kinazy zależne od cyklin uczestniczące w przejściu komórki z fazy G1 do fazy S – nadmierna ekspresja tego genu prowadzi do zatrzymania cyklu w fazie G1 [24]. Gen *KCNQ1OT1* jest zlokalizowany w intronie genu *KCNQ1* i produkuje duże niekodujące RNA (ang. *long noncoding RNA*, lncRNA), którego funkcją jest zahamowanie ekspresji piętnowanych genów z allele ojcowskiego w domenie ICR2 [33].

W domenie ICR2 na niemetylowanym allele ojcowskim znajdują się dwa miejsca wiążące białko CTCF [14].

## MECHANIZM REGULACJI DOMENY ICR2

Gen *KCNQ1OT1* stanowi centrum piętnowania ICR2, które jest metylowane na allele matczynym. Metylacja regionu promotorowego genu *KCNQ1OT1* blokuje jego aktywność transkrypcyjną, natomiast ekspresji ulegają inne geny w tej domenie (ryc. 1). Brak metylacji ICR2 na allele ojcowskim umożliwia powstawanie lncRNA, które hamuje ekspresję pozostałych piętnowanych genów na tym allele w domenie ICR2, w tym genu *CDKN1C* [20]. Region 5' sekwencji lncRNA uczestniczy w tworzeniu pętli chromatynowej pomiędzy ICR2 i promotorem genu *Kcnq1*, przy udziale kompleksu PRC2 (ang. *Polycomb Repressive Complex 2*). Pętla ta jest niezbędna do utrzymania monoallicznej ekspresji genów w domenie ICR2 [39]. Istnieje hipoteza, że aktywność genu *CDKN1C* na allele ojcowskim może być również hamowana przez wiązanie białka CTCF, które uniemożliwia oddziaływanie elementów wzmacniających ekspresję, prawdopodobnie zlokalizowanych w obrębie genu *KCNQ1* [2].

## ZABURZENIA PROCESU PIĘTNOWANIA I ICH EFEKTY

Zaburzenia w regulacji procesu piętnowania uczestniczą w patogenezie różnych chorób człowieka objawiających się wadami wrodzonymi lub występowaniem nowotworów. Epigenetyczne defekty prowadzące do zaburzeń ekspresji piętnowanych genów w większości przypadków dotyczą nieprawidłowej metylacji ICRs (hipometylacji lub hipermetylacji). Genetyczne defekty obejmują disomię jednorodzicielską

ską, delecje, duplikacje w obszarze piętnowanych domen, a także mutacje punktowe w piętnowanych genach. Zaburzenia procesu piętnowania są zaangażowane w patogenezę zespołu Beckwitha i Wiedemanna, zespołu Silvera i Russella, zespołu Pradera i Willego, zespołu Angelmana, przejściowej cukrzycy noworodkowej, rzekomej niedoczynności przytarczyc typu 1b oraz matczynej i ojcowskiej UPD14. Choroby te są związane z defektami różnych piętnowanych regionów: 6q24, 11p15, 14q32, 15q11-13, 20q13 (tab. 1).

**TABELA 1.** Choroby związane z defektami piętnowania

**TABLE 1.** Imprinting diseases

CHOROBA	LOKALIZACJA CHROMOSOMOWA	CZĘSTOŚĆ DEFEKTU PIĘTNOWANIA
przejściowa cukrzyca noworodkowa	6q24	20%
zespół Silvera i Russella	11p15	60%
zespół Beckwitha i Wiedemanna	11p15	70%
matczyzna UPD14	14q32	rzadko
ojcowska UPD14	14q32	rzadko
zespół Angelmana	15q11-13	<5%
zespół Pradera i Willego	15q11-13	1-2%
rzekoma niedoczynność przytarczyc typu 1b	20q13	100%

### PODŁOŻE MOLEKULARNE ZESPOŁU BECKWITHA I WIEDEMANNNA ORAZ SILVERA I RUSSELLA

Z regionem 11p15 związana jest patogeneza zespołu Beckwitha i Wiedemanna (BWS) oraz Silvera i Russella (SRS). Te zespoły chorobowe charakteryzują się przeciwstawnym wpływem zaburzeń piętnowania na wzrastanie i rozwój płodu. W BWS obserwuje się nadmierny wzrost pre/postnatalny u dzieci, występowanie wad powłok brzucha i dużego języka oraz zwiększoną predyspozycją do rozwoju nowotworów [9]. Głównym objawem SRS jest znaczne pre/postnatalne zahamowanie wzrastania, objawiające się niskim wzrostem i asymetrią kończyn [3]. Epigenetyczne oraz genetyczne defekty obserwowane w BWS obejmują hipermetylację ICR1, hipometylację ICR2, ojcowską disomię jednorodzicielską, duplikacje ICR1 lub całego regionu 11p15 na allelu ojcowskim, a także mutacje punktowe w genie *CDKN1C*, prowadzące do utraty jego funkcji. Nieprawidłowości w regionie 11p15 występujące w SRS obejmują hipometylację ICR1, duplikacje ICR2 lub całego regionu 11p15 na allelu matczym oraz niezwykle rzadko mutacje

punktowe w genie *CDKN1C*, które powodują jego nadmierną aktywację [3, 6]. Defekty identyfikowane w BWS prowadzą do nadmiernej ekspresji genów będących promotorami wzrostu komórkowego (*IGF2* i *KCNQ1OT1*), natomiast nieprawidłowości w regionie 11p15 w SRS powodują zwiększoną ekspresję genów będących supresorami wzrostu (*H19* i *CDKN1C*). Tym samym nieprawidłowości w piętnowaniu i ekspresji genów regionu 11p15 skutkują nadmiernym wzrastaniem w BWS i zahamowaniem wzrastania w SRS [17].

Zmiany w BWS są obserwowane głównie w regionie 11p15, natomiast około 10% pacjentów z SRS posiada zmiany także na chromosomie 7, najczęściej jest to matczyzna disomia jednorodzielska, w pojedynczych przypadkach identyfikuje się strukturalne aberracje (duplikacje lub delecje) obejmujące piętnowane geny [12]. Ponadto, zarówno u pacjentów z BWS, jak i SRS identyfikuje się zmiany epigenetyczne w innych *loci*, poza regionem 11p15 [10, 11, 23]. Ten typ nieprawidłowej metylacji określa się terminem – defekt metylacji w wielu *loci* (ang. *Multi-Locus Methylation Defect*, MLMD). O udział w powstawaniu takich defektów metylacji w różnych piętnowanych regionach genomu podejrzewa się jakieś czynniki genetyczne, np. mutacje w genach uczestniczących w metylacji, czy regulacji procesu piętnowania. W jednym rodzinnym przypadku BWS zidentyfikowano mutację w genie *NLRP2*, kodującym białko należące do rodziny receptorów typu „Nod-like” (ang. *Nod-Like Receptor Protein*, NLRP), gdzie utracie metylacji w ICR2 towarzyszyła hipometylacja *PEG1* [26]. W związku z tym odkryciem rozważano udział genu *NLRP2* w ustalaniu i utrzymywaniu piętna, lecz poszukiwania mutacji w tym genie u innych pacjentów z MLMD nie przyniosły do tej pory żadnych pozytywnych rezultatów. Bliak wraz z współpracownikami szukali u pacjentów z MLMD mutacji w genie *DNMT3L*, niezbędnym w procesie ustalania piętna matczynego, lecz nie zidentyfikowali żadnej patogennej zmiany [7]. Poszukiwania czynników genetycznych odpowiedzialnych za MLMD przeprowadzone u większej ilości pacjentów z tym defektem, powinno przynieść nowe rezultaty.

## PODSUMOWANIE

Zjawisko piętnowania genomowego odgrywa niezwykle istotną rolę w prawidłowym rozwoju organizmu. Zaburzenia procesów epigenetycznych prowadzą do nieprawidłowej ekspresji piętnowanych genów, co może być podłożem powstawania chorób rozwojowych. Dalsze badania epigenomu człowieka pozwolą na lepsze zrozumienie różnych mechanizmów epigenetycznych i ich wpływu na funkcjonowanie organizmu.



## PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, projekt nr 1149/B/P01/2011/40 (NN407114940) oraz zadania statutowego nr 230/14 Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”

## LITERATURA

- [1] ABRAMOWITZ KL, BARTOLOMEI MS. Genomic imprinting: recognition and marking of imprinted loci. *Curr Opin Genet Dev* 2012; **22**:72-78.
- [2] ALGAR E, DAGAR V, SEBAJ M, PACTHER N. An 11p15 imprinting centre region 2 deletion in a family with Beckwith Wiedemann syndrome provides insights into imprinting control at CDKN1C. *PLoS One* 2011; **6**:e29034.
- [3] AZZI S, ABI HABIB W, NETCHINE I. Beckwith-Wiedemann and Russell-Silver Syndromes: from new molecular insights to the comprehension of imprinting regulation. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014; **21**: 30-38.
- [4] Barlow DP, BARTOLOMEI MS. Genomic imprinting in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014; **6**: pii: a018382.
- [5] BARTOLOMEI MS, FERGUSON-SMITH AC. Mammalian genomic imprinting. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; **3**: pii: a002592.
- [6] Begemann M, SPENGLER S, GOGIEL M, GRASSHOFF U, BONIN M, BETZ RC, DUFKE A, SPIER I, EGGERMANN T. Clinical significance of copy number variations in the 11p15.5 imprinting control regions: new cases and review of the literature. *J Med Genet* 2012; **49**: 547-553.
- [7] BLIEK J, VERDE G, CALLAWAY J, MAAS SM, DE CRESCENZO A, SPARAGO A, CERRATO F, RUSSO S, FERRAIUOLO S, RINALDI MM, FISCHETTO R, LALATTA F, GIORDANO L, FERRARI P, CUBELLIS MV, LARIZZA L, TEMPLE IK, MANNENS MM, MACKAY DJ, RICCIO A. Hypomethylation at multiple maternally methylated imprinted regions including PLAGL1 and GNAS loci in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet* 2009; **17**: 611-619.
- [8] Bourc'his D, XU GL, LIN CS, BOLLMAN B, BESTOR TH. Dnmt3L and the establishment of maternal genomic imprints. *Science* 2001; **294**: 2536-2539.
- [9] CHOUFANI S, SHUMAN C, WEKSBERG R. Molecular findings in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2013; **163C**: 131-140.
- [10] DEMARS J, LE BOUC Y, EL-OSTA A, GICQUEL C. Epigenetic and genetic mechanisms of abnormal 11p15 genomic imprinting in Silver-Russell and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Curr Med Chem* 2011; **18**: 1740-1750.
- [11] EGGERMANN T, HEILSBERG AK, BENS S, SIEBERT R, BEYGO J, BUITING K, BEGEMANN M, SOELLNER L. Additional molecular findings in 11p15-associated imprinting disorders: an urgent need for multi-locus testing. *J Mol Med* 2014; **92**: 769-777.
- [12] Eggermann T, SPENGLER S, BEGEMANN M, BINDER G, BUITING K, ALBRECHT B, SPRANGER S. Deletion of the paternal allele of the imprinted MEST/PEG1 region in a patient with Silver-Russell syndrome features. *Clin Genet* 2012; **81**: 298-300.
- [13] FERGUSON-SMITH AC. Genomic imprinting: the emergence of an epigenetic paradigm. *Nat Rev Genet* 2011; **12**:565-575.
- [14] FITZPATRICK GV, PUGACHEVA EM, SHIN JY, ABDULLAEV Z, YANG Y, KHATOD K, LOBANENKOV VV, HIGGINS MJ. Allele-specific binding of CTCF to the multipartite imprinting control region KvDMR1. *Mol Cell Biol* 2007; **27**: 2636-2647.

- [15] HACKETT JA, ZYLICZ JJ, SURANI MA. Parallel mechanisms of epigenetic reprogramming in the germline. *Trends Gene* 2012; **4**: 164-174.
- [16] Hata K, OKANO M, LEI H, LI E. Dnmt3L cooperates with the Dnmt3 family of de novo DNA methyltransferases to establish maternal imprints in mice. *Development* 2002; **129**: 1983-1993.
- [17] KALISH JM, JIANG C, BARTOLOMEI MS. Epigenetics and imprinting in human disease. *Int J Dev Biol* 2014; **58**: 291-298.
- [18] KELSEY G, FEIL R. New insights into establishment and maintenance of DNA methylation imprints in mammals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013; **368**: 20110336.
- [19] KENIRY A, OXLEY D, MINNIER P, KYBA M, DANDOLO L, SMITS G, REIK W. The H19 lincRNA is a developmental reservoir of miR-675 that suppresses growth and Igf1r. *Nature* 2012; **14**: 659-665.
- [20] KOERNER MV, PAULER FM, HUANG R, BARLOW DP. The function of non-coding RNAs in genomic imprinting. *Development* 2009; **136**: 1771-1783.
- [21] Lee JT, BARTOLOMEI MS. X-inactivation, imprinting, and long noncoding RNAs in health and disease. *Cell* 2013; **152**: 1308-1323.
- [22] LI X, ITO M, ZHOU F, YOUNGSON N, ZUO X, LEDER P, FERGUSON-SMITH AC. A maternal-zygotic effect gene, *Zfp57*, maintains both maternal and paternal imprints. *Dev Cell* 2008; **15**: 547-557.
- [23] MAEDA T, HIGASHIMOTO K, JOZAKI K, YATSUKI H, NAKABAYASHI K, MAKITA Y, TONOKI H, OKAMOTO N, TAKADA F, OHASHI H, MIGITA M, KOSAKI R, MATSUBARA K, OGATA T, MATSUO M, HAMASAKI Y, OHTSUKA Y, NISHIOKA K, JOH K, MUKAI T, HATA K, SOEJIMA H. Comprehensive and quantitative multilocus methylation analysis reveals the susceptibility of specific imprinted differentially methylated regions to aberrant methylation in Beckwith-Wiedemann syndrome with epimutations. *Genet Med* 2014; doi: 10.1038/gim.2014.46.
- [24] MATSUOKA S, EDWARDS MC, BAI C, PARKER S, ZHANG P, BALDINI A, HARPER JW, ELLEDGE SJ. p57KIP2, a structurally distinct member of the p21CIP1 Cdk inhibitor family, is a candidate tumor suppressor gene. *Genes Dev* 1995; **9**: 650-662.
- [25] McGRATH J, SOLTER D. Inability of mouse blastomere nuclei transferred to enucleated zygotes to support development in vitro. *Science* 1984; **226**: 1317-1319.
- [26] MEYER E, LIM D, PASHA S, TEE LJ, RAHMAN F, YATES JR, WOODS CG, REIK W, MAHER ER. Germline mutation in NLRP2 (NALP2) in a familial imprinting disorder (Beckwith-Wiedemann Syndrome). *PLoS Genet* 2009; **5**: e1000423.
- [27] MOORE T, HAIG D. Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends Genet* 1991; **7**: 45-49.
- [28] MORGAN HD, SANTOS F, GREEN K, DEAN W, REIK W. Epigenetic reprogramming in mammals. *Hum Mol Genet* 2005; **14**: R47-R58.
- [29] Nakamura T, LIU YJ, NAKASHIMA H, UMEHARA H, INOUE K, MATOBA S, TACHIBANA M, OGURA A, SHINKAI Y, NAKANO T. PGC7 binds histone H3K9me2 to protect against conversion of 5mC to 5hmC in early embryos. *Nature* 2012; **486**: 415-419.
- [30] NATIVIO R, WENDT KS, ITO Y, HUDDLESTON JE, URIBE-LEWIS S, WOODFINE K, KRUEGER C, REIK W, PETERS JM, MURRELL A. Cohesin is required for higher-order chromatin conformation at the imprinted IGF2-H19 locus. *PLoS Genet* 2009; **5**: e1000739.
- [31] ONYANGO P, FEINBERG AP. A nucleolar protein, H19 opposite tumor suppressor (HOTS), is a tumor growth inhibitor encoded by a human imprinted H19 antisense transcript. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; **108**: 16759-16764.
- [32] PIEDRAHITA JA. The role of imprinted genes in fetal growth abnormalities. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2011; **91**: 682-692.
- [33] SMILINICH NJ, DAY CD, FITZPATRICK GV, CALDWELL GM, LOSSIE AC, COOPER PR, SMALLWOOD AC, JOYCE JA, SCHOFIELD PN, REIK W, NICHOLLS RD, WEKSBERG R, DRISCOLL DJ, MAHER ER, SHOWS TB, HIGGINS MJ. A maternally methylated CpG Island in *KvLQT1* is associated with an antisense paternal transcript and loss of imprinting in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 8064-8069.

- [34] Spahn L, BARLOW DP. An ICE pattern crystallizes. *Nat Genet* 2003; **35**:11-12.
- [35] WEBBER AL, INGRAM RS, LEVORSE JM, TILGHAM SM. Location of enhancers is essential for the imprinting of H19 and Igf2 genes. *Nature* 1998; **391**: 711-715.
- [36] WETH O, RENKAWITZ R. CTCF function is modulated by neighboring DNA binding factors. *Biochem Cell Biol* 2011; **89**: 459-468.
- [37] WILLIAMSON C, BLAKE A, THOMAS S, BEECHEY C, HANCOCK J, CATTANACH B, PETERS J. World Wide Web Site – Mouse imprinting Data and References [http://www.Har.Mrc.Ac.Uk/Research/Genomic\\_Imprinting/](http://www.Har.Mrc.Ac.Uk/Research/Genomic_Imprinting/), ed.Oxfordshire: MRC Harwell.
- [38] YOSHIMIZU T, MIROGLIO A, RIPOCHE MA, GABORY A, VERNUCCI M, RICCIO A, COLNOT S, GODARD C, TERRIS B, JAMMES H, DANDOLO L. The H19 acts in vivo as a tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 12417-12422.
- [39] ZHANG H, ZEITZ MJ, WANG H, NIU B, GE S, LI W, CUI J, WANG G, QIAN G, HIGGINS MJ, FAN X, HOFFMAN AR, HU JF. Long noncoding RNA-mediated intrachromosomal interactions promote imprinting at the Kcnq1 locus. *J Cell Biol* 2014; **204**: 61-75.

*Redaktor prowadzący – Michał Nowicki*

*Otrzymano: 28.08.14*

*Przyjęto: 19.11.14*

*Dorota Jurkiewicz*

*Zakład Genetyki Medycznej, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”*

*al. Dzieci Polskich 20, 04-730 Warszawa*

*tel: 22 815 72 63*

*fax: 22 815 74 57*

*e-mail: d.jurkiewicz@czd.pl*

