

УДК 577.21

Белок Aef1 дрозофилы, содержащий домены цинковых пальцев, колокализуется с энхансерами и участвует в регуляции транскрипции многих генов

Н. Е. Воробьева¹, Ю. В. Николенко², А. Н. Краснов^{1*}¹Институт биологии гена РАН, Москва, 119334 Россия²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991 Россия

*E-mail: krasnov@genebiology.ru

Поступила в редакцию 07.11.2024

Принята к печати 06.03.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27556

РЕФЕРАТ Ранее мы показали, что белок Aef1 дрозофилы, содержащий домены цинковых пальцев, взаимодействует с DUB-модулем комплекса SAGA. Сайты связывания белка Aef1 колокализируются с комплексами модификации и ремоделирования хроматина SAGA и dSWI/SNF, а также с репликационным комплексом ORC. Белок Aef1 преимущественно локализован на промоторах активных генов (55% сайтов) и может участвовать в регуляции транскрипции этих генов. В представленной работе установлено, что сайты связывания белка Aef1 в клетках S2 дрозофилы, расположенные вне промоторов генов, являются областями с пониженной плотностью нуклеосом и колокализируются с комплексами SAGA, dSWI/SNF и ORC. Сайты связывания Aef1 колокализируются с белком CBP и гистоновой меткой H3K27Ac, что считается меткой активных энхансеров. С целью изучения роли белка Aef1 в регуляции транскрипции провели RNA-Seq-эксперимент в нормальных клетках S2 дрозофилы и в клетках с РНК-интерференцией Aef1. Показали, что белок Aef1 влияет на транскрипцию 342 генов, причем более половины из них (178) содержат Aef1 на своих промоторах или энхансерах. Таким образом, белок Aef1 может привлекаться как на промоторы, так и на энхансеры и участвовать в регуляции транскрипции соответствующих генов как прямо, так и опосредованно.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА Aef1, SAGA, dSWI/SNF, ORC, CBP, H3K27Ac, энхансеры.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ SAGA – гистонацетилтрансферазный комплекс; SWI/SNF – комплекс ремоделирования хроматина; ORC – комплекс позиционирования точек начала репликации в геноме.

ВВЕДЕНИЕ

Регуляция экспрессии генов эукариот – сложный процесс, который происходит на нескольких последовательных этапах транскрипции, процессинга мРНК, экспорта мРНК из ядра, трансляции и фолдинга белков [1]. Локальная структура хроматина, положение гена относительно функциональных ядерных компартментов и дальнейшие взаимодействия регуляторных элементов являются дополнительным уровнем регуляции генетических процессов в контексте сложной организации эукариотического генома в трехмерном пространстве клеточного ядра [2–5].

Высококонсервативный коактиваторный комплекс SAGA, основной функцией которого является модификация (ацетилирование и деубиквитинирование) гистонов хроматина, содержит более 20

белковых субъединиц [6]. Субъединицы комплекса SAGA взаимодействуют с различными активаторами транскрипции, привлекая таким образом комплекс на промоторы определенных генов [7, 8]. Между комплексами, ремоделирующими и модифицирующими хроматин, существует определенный синергизм действия. Показано, что комплекс SAGA ацетилюет нуклеосомы на промоторах генов в процессе активации транскрипции. Это приводит к привлечению комплекса ремоделирования хроматина dSWI/SNF и стимулированию его ремоделирующей активности [9, 10]. Комплекс ремоделирования хроматина SWI/SNF и ацетилтрансфераза CBP/p300/Nejire, которая ответственна за внесение метки активных энхансеров H3K27Ac, оказывают большой функциональный эффект на активацию

экдизон-зависимых генов *dhr3* и *hr4* в клетках S2 [11–14]. Показано, что ацетилирование гистона H3 (H3K27Ac) на энхансерах необходимо для активации экдизон-зависимых генов [15].

Комплексы SAGA и SWI/SNF дрозофилы локализованы на различных регуляторных элементах генома, включая промоторы, где зачастую колокализуются с репликационным комплексом ORC [16]. Инициация репликации происходит на множестве сайтов, которые называются участками начала (ориджинами) репликации. На ориджины репликации привлекается комплекс ORC, который состоит из шести субъединиц (ORC1–6). Комплекс ORC связывает определенные участки генома [17], однако субъединицы данного комплекса не проявляют явной специфичности к последовательностям ДНК. Поэтому встает вопрос, какие факторы определяют позиционирование ORC-комплексов в геноме.

В ходе предыдущих исследований нами обнаружено, что инсуляторный белок Su(Hw), содержащий домены цинковых пальцев, взаимодействует с белком ENY2 (субъединица комплекса SAGA) и привлекает комплексы SAGA, SWI/SNF и ORC на Su(Hw)-зависимые инсуляторы дрозофилы, участвуя одновременно в регуляции транскрипции и в позиционировании ориджинов репликации [18–22]. Предполагалось, что существуют и другие белки с доменами цинковых пальцев, которые взаимодействуют с комплексом SAGA дрозофилы и функционируют сходным образом на других регуляторных элементах генома, включая промоторы. В ходе дальнейших экспериментов были идентифицированы еще четыре белка с доменами цинковых пальцев: CG9890, CG9609, Aef1 (Adult enhancer factor 1) и CG10543 [23–27]. Эти белки также колокализуются с комплексами SAGA, ORC и dSWI/SNF на своих сайтах связывания, преимущественно на промоторах активных генов и могут принимать участие в регуляции транскрипции. Белок Aef1, как показано ранее, привлекается на энхансеры генов *adh*, *yp1*, *yp2* и влияет на их транскрипцию [28–30]. В предыдущей работе [26] нами установлено, что РНК-интерференция белка Aef1 влияет на транскрипцию нескольких генов. С целью изучения влияния белка Aef1 на транскрипцию всех генов в клетках S2 дрозофилы нами проведен RNA-Seq-эксперимент как в норме, так и при РНК-интерференции белка Aef1.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Культивирование клеток линии Schneider 2 (S2). РНК-интерференция

Клетки S2 культивировали при 25°C в среде Schneider's insect medium (Sigma, США) с добав-

лением 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США). Клетки трансфицировали с использованием Effectene Transfection Reagent (Qiagen, США) по протоколу производителя. Нокдаун гена *Aef1* проводили с помощью РНК-интерференции согласно опубликованному протоколу [22]. В качестве неспецифического контроля для РНК-интерференции использовали дцРНК, соответствующую фрагменту плазмиды pBluescript II SK(-) (Stratagene, США). дцРНК для нокдауна гена *Aef1* и контроля синтезировали с использованием следующих праймеров:

Aef1, GAATTAATACGACTCACTATAGGGAGAATGATGTCATATCAAAAGCCT и GAATTAATACGACTCACTATAGGGAGATCCGGGATGCTCGCTATGT; pBluescriptII SK(-), GAATTAATACGACTCACTATAGGAGAGTTACATGATCCCCCATG и GAATTAATACGACTCACTATAGGGAGATTTCCGCCCGAAGAACG.

В каждый эксперимент по РНК-интерференции дцРНК брали из расчета 30 мкг на 1 млн клеток. Эксперимент выполняли в трех повторах. По прошествии 5 дней инкубации выделяли РНК.

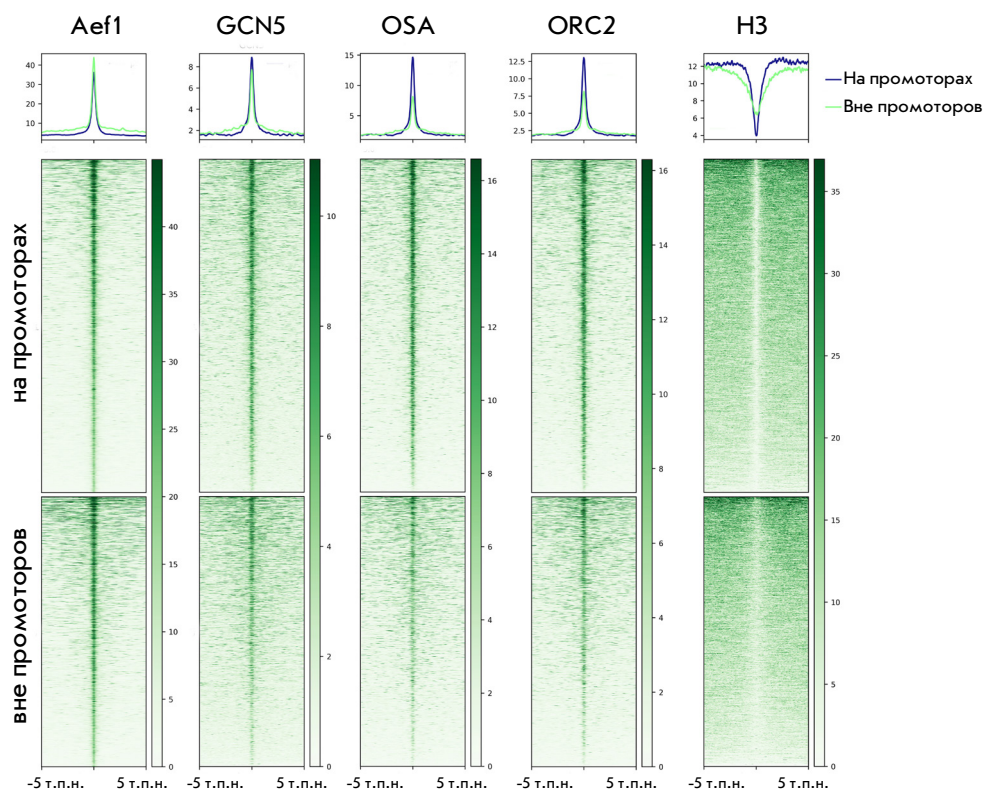
RNA-Seq и идентификация дифференциально экспрессирующихся генов

Библиотеки RNA-Seq получали с использованием набора NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs). Качество библиотек было проверено с помощью Bioanalyzer. Библиотеки секвенированы на геномном секвенаторе Illumina HiSeq 2000. Исходные риды в формате Fastq выравнивали на геном дрозофилы dmel_r6.54 с помощью программы Hisat2 [31], предварительно удалив адаптеры с помощью программы Atropos [32]. Также устанавливали ключ «-a», который позволяет искать множественные выравнивания, с целью их исключения из анализа. В дальнейшую работу брали только уникально картированные риды, обрабатывая флаг «NH:i» в результатах вывода программы Hisat2. Дифференциально экспрессирующиеся гены определяли с помощью программы CuffDiff2 [33].

Анализ обогащения белковых факторов на сайтах связывания Aef1

Для изучения колокализаций сайтов связывания белка Aef1 с различными белковыми факторами использовали ChIP-Seq-профили белков Aef1, GCN5, OSA, ORC2, H3, CBP, H3K27Ac, полученные нами ранее [14, 24, 26, 27, 34]. Данный анализ и визуализацию результатов выполняли с помощью пакета deepTool2 [35].

Рис. 1. Геномные колокализации сайтов связывания белка Aef1 с белками GCN5 (комплекс SAGA), OSA (комплекс dSWI/SNF), ORC2 (комплекс ORC) и гистона H3. Названия белков приведены вверху панелей. Представлены данные для сайтов Aef1, расположенных на промоторах (средняя панель) и вне их (нижняя панель). На верхней панели приведены усредненные профили. Синим цветом показан профиль белков, расположенных на промоторных сайтах Aef1, зеленым – на сайтах Aef1 вне промоторов



РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сайты связывания белка Aef1 являются областями с пониженной плотностью нуклеосом и колокализуются с комплексами SAGA, dSWI/SNF и ORC независимо от геномной локализации

Ранее мы показали, что белок Aef1 преимущественно локализован на промоторах активных генов (55% сайтов) и участвует в регуляции транскрипции [26]. Сайты связывания Aef1 колокализуются с комплексами модификации и ремоделирования хроматина SAGA и dSWI/SNF, а также с репликационным комплексом ORC. Существенная часть сайтов Aef1 (35%) расположена в теле генов (исключая промоторы) и межгенных областях (10% сайтов). В данной работе мы изучаем свойства сайтов связывания, расположенных вне промоторов генов. В анализе использовали ChIP-Seq-профили белков Aef1, GCN5 (комплекс SAGA), OSA (комплекс SWI/SNF), ORC2 (комплекс ORC) и гистона H3 [14, 24, 26, 27]. Проанализировано обогащение каждым из этих белков на двух группах сайтов – сайтах связывания Aef1, расположенных на промоторах и вне их (рис. 1). Показано, что исследуемые белковые комплексы привлекаются на обе группы сайтов примерно с одинаковой эффективностью, хотя сайты вне промоторов демонстрируют более низкие

уровни белков OSA и ORC2. Анализ распределения гистона H3 показал, что все сайты связывания Aef1 являются областями с пониженной плотностью нуклеосом, что характерно для активных регуляторных элементов, участвующих в регуляции транскрипции [36].

Сайты связывания белка Aef1 колокализуются с активными энхансерами

Чтобы лучше понять природу сайтов связывания белка Aef1, мы решили проанализировать сайты связывания, расположенные вне промоторов. В ряде работ показано, что белок Aef1 привлекается на энхансеры генов *adh*, *yp1*, *yp2* и влияет на их транскрипцию [28–30]. Маркером активных энхансеров является гистоновая метка H3K27Ac, за которую отвечает ацетилтрансфераза CBP/p300/Nejire. Комплекс ремоделирования хроматина SWI/SNF и ацетилтрансфераза CBP/p300/Nejire привлекаются на экдизон-зависимые энхансеры, что необходимо для активации транскрипции [14]. Мы решили проверить геномную колокализацию белка CBP и гистоновой метки H3K27Ac на сайтах связывания Aef1. Использовали ChIP-Seq-профили CBP и H3K27Ac, полученные нами ранее [14, 34]. Как видно из рис. 2, сайты связывания белка Aef1 характеризуются привлечением CBP и H3K27Ac. Таким образом, можно сделать вывод, что значи-

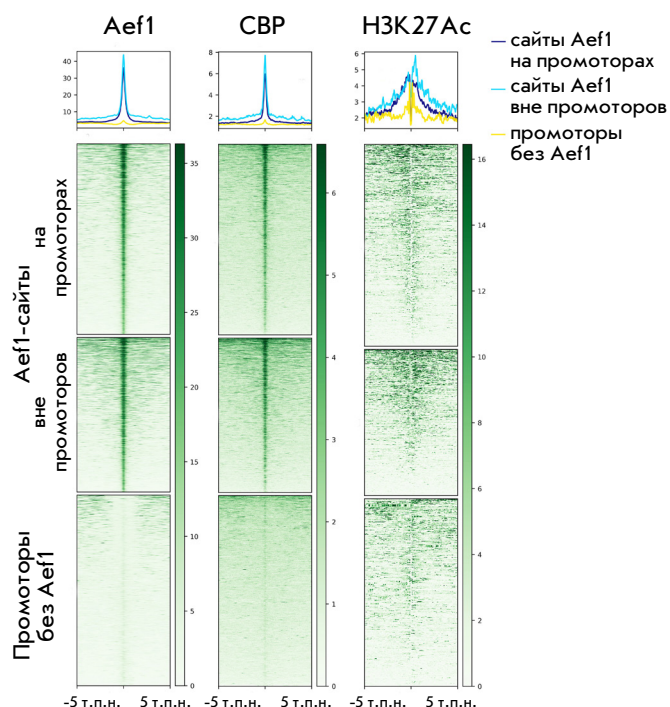


Рис. 2. Геномная колокализация белков Aef1, CBP и H3K27Ac на трех группах сайтов: на сайтах Aef1 на промоторах (верхние панели), на сайтах Aef1 вне промоторов (средние панели), на промоторах без Aef1 (нижние панели). Названия соответствующих белков указаны вверху панелей

тельная часть сайтов связывания Aef1 колокализуется с активными энхансерами.

Мы заметили, что CBP и H3K27Ac также маркируют и сайты связывания Aef1, расположенные на промоторах, и проанализировали еще одну группу сайтов, а именно промоторы, которые не содержат белка Aef1 (рис. 2, нижние панели). Анализ таких сайтов выявил низкий уровень CBP и H3K27Ac. Таким образом, привлечение CBP и высокий уровень сигнала H3K27Ac на Aef1-содержащих промоторах коррелируют с наличием сайта связывания Aef1, а не с промотором как таковым.

Мы решили идентифицировать потенциальный консенсус связывания белка Aef1 на промоторах и вне их с помощью программы MEME-ChIP. В обеих группах сайтов идентифицирован идентичный консенсус (CAA)_n (рис. 3), уже идентифицированный нами ранее на всем пуле сайтов [26]. Можно заключить, что обе группы сайтов образуются за счет ДНК-связывающих свойств белка Aef1, а не являются результатом образования петель от других регуляторных элементов. Это хорошо согласуется

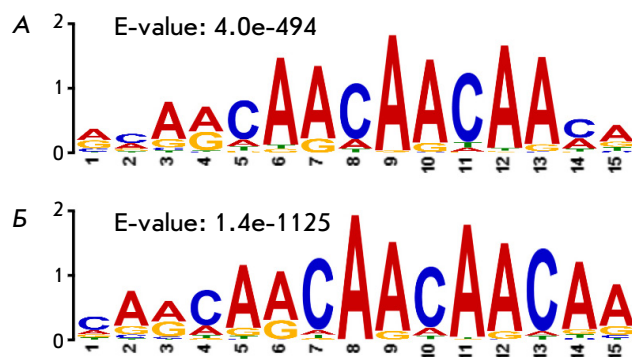


Рис. 3. Потенциальная консенсусная последовательность связывания белка Aef1, идентифицированная на промоторных сайтах (А) и вне промоторов (Б). Величина E-value отображает статистическую значимость результата и представляет собой вероятность случайного совпадения

с данными, согласно которым экспериментально подтвержденный сайт связывания Aef1 в энхансере гена *adh* содержит последовательность СААСАА.

Белок Aef1 участвует в регуляции транскрипции генов

Как уже упоминалось, сайты связывания белка Aef1 локализованы как в промоторных областях генов, так и вне промоторов. Причем обе группы сайтов колокализуются с метками активных энхансеров, что указывает на возможную роль белка Aef1 в регуляции транскрипции. Поэтому был проведен RNA-Seq-анализ в клетках S2 дрозофилы (в нормальных и с РНК-интерференцией белка Aef1). В результате были идентифицированы 342 гена, экспрессия которых значимо ($q\text{-value} < 0.05$) изменялась при РНК-интерференции Aef1. Все гены, на которые влияет РНК-интерференция белка Aef1, были разделены на несколько групп в зависимости от наличия сайтов связывания Aef1 в области гена. Оказалось, что 57 (17%) генов содержат Aef1 только в промоторной области, 52 (15%) содержат Aef1 только на потенциальных энхансерах и 69 (20%) генов содержат Aef1 одновременно на обоих регуляторных элементах. Сайтов связывания Aef1 не содержат 164 (48%) гена. Можно сделать вывод, что белок Aef1, локализованный как на промоторах, так и на энхансерах, принимает участие в регуляции транскрипции. Полученные результаты показывают также, что Aef1 может действовать прямо или косвенно, так как половина генов его не связывают. Можно предположить, что могут существовать петли между сайтами белка Aef1 (потенциальные энхансеры) и удаленными промоторами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе нами показано, что белок Aef1, содержащий цинковые пальцы, принимает участие в регуляции транскрипции. РНК-интерференция белка Aef1 влияет на транскрипцию 342 генов в S2-клетках дрозофилы. Около половины этих генов не содержат сайтов связывания белка Aef1 в промоторной области или теле гена, что может указывать на косвенные механизмы регуляции транскрипции, например, посредством образования петель между энхансерами и промоторами. Анализ сайтов связывания белка Aef1 показал, что они колокализуются с маркерами активных энхансеров: белком CBP и гистоновой меткой H3K27Ac. Это общее свойство сайтов связывания белка Aef1 не зависит от их локализации на промоторах или в межгенных областях. Aef1-содержащие промоторы гораздо сильнее обогащены белком CBP и H3K27Ac по сравнению с промоторами, не содержащими Aef1. Таким образом, можно заключить, что это свойство именно сайтов связывания Aef1, а не промоторов как таковых. Известно, что несколько Aef1-содержащих энхансеров дрозофилы расположены в областях, близких к сайтам начала транскрипции. В качестве примера можно привести энхансер гена *adh* [30]. Можно предположить, что белок Aef1 – это чисто энхансерный белок, а промоторная локализация обусловлена его привлечением на близлежащие энхансеры.

В предыдущих работах [18, 19] мы показали, что белок Su(Hw) привлекает комплекс SAGA и dSWI/SNF на свои сайты связывания, что приводит к формированию областей с низкой плотностью нуклеосом и привлечению репликационного комплекса ORC. В ходе дальнейших экспериментов были идентифицированы еще четыре белка с доменами цинковых пальцев, CG9890, CG9609, Aef1 и CG10543, которые колокализуются с комплексами SAGA, SWI/SNF и ORC [23–27]. Белок Su(Hw) локализуется преимущественно в межгенных областях на инсуляторах. Белки CG9890, CG9609 и CG10543 обладают преимущественно промоторной локализацией. Как показано в нашей работе, сайты связывания белка Aef1 колокализуются с маркерами активных энхансеров. Несмотря на различия в геномной локализации, все эти белки обладают схожими свойствами по отношению к комплексам SAGA, SWI/SNF и ORC. Мы предполагаем, что позиционирование ORC-комплексов в геноме детерминировано ДНК-связывающими белками, которые определяют формирование различных регуляторных элементов, включая инсуляторы, промоторы и энхансеры. Нами показано, что Aef1 может быть примером такого белка. ●

*Работа выполнена при поддержке Российского
научного фонда, грант № 20-14-00269.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Orphanides G., Reinberg D. // Cell. 2002. V. 108. № 4. P. 439–451. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00655-4
- Maksimenko O., Georgiev P. // Front Genet. 2014. V. 5. P. 28. doi: 10.3389/fgene.2014.00028
- van Bommel J.G., Pagie L., Braunschweig U., Brugman W., Meuleman W., Kerkhoven R.M., van Steensel B. // PLoS One. 2010. V. 5. № 11. P. e15013. doi: 10.1371/journal.pone.0015013
- Rando O.J., Chang H.Y. // Annu Rev. Biochem. 2009. V. 78. P. 245–271. doi: 10.1146/annurev.biochem.78.071107.134639
- Tchurikov N.A., Krasnov A.N., Ponomarenko N.A., Golova Y.B., Chernov B.K. // Nucleic Acids Res. 1998. V. 26. № 13. P. 3221–3227. doi: 10.1093/nar/26.13.3221
- Koutelou E., Hirsch C.L., Dent S.Y. // Curr. Opin Cell Biol. 2010. V. 22. № 3. P. 374–382. doi: 10.1016/j.ceb.2010.03.005
- Baker S.P., Grant P.A. // Oncogene. 2007. V. 26. № 37. P. 5329–5340. doi: 10.1038/sj.onc.1210603
- Brown C.E., Howe L., Sousa K., Alley S.C., Carrozza M.J., Tan S., Workman J.L. // Science. 2001. V. 292. № 5525. P. 2333–2337. doi: 10.1126/science.1060214
- Chatterjee N., Sinha D., Lemma-Dechassa M., Tan S., Shogren-Knaak M.A., Bartholomew B. // Nucleic Acids Res. 2011. V. 39. № 19. P. 8378–8391. doi: 10.1093/nar/gkr535
- Li B., Carey M., Workman J.L. // Cell. 2007. V. 128. № 4. P. 707–719. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.015
- Mazina M.Y., Kovalenko E.V., Derevyanko P.K., Nikolenko J.V., Krasnov A.N., Vorobyeva N.E. // Biochim. Biophys. Acta. 2018. V. 1861. № 2. P. 178–189. doi: 10.1016/j.bbagr.2018.01.016
- Mazina M.Y., Nikolenko J.V., Fursova N.A., Nedil'ko P.N., Krasnov A.N., Vorobyeva N.E. // Cell Cycle. 2015. V. 14. № 22. P. 3593–3601. doi: 10.1080/15384101.2015.1100772
- Mazina M.Y., Kocheryzhkina E.V., Nikolenko J.V., Krasnov A.N., Georgieva S.G., Vorobyeva N.E. // Dokl. Biochem. Biophys. 2017. V. 473. № 1. P. 145–147. doi: 10.1134/S1607672917020144
- Krasnov A.N., Evdokimova A.A., Mazina M.Y., Erokhin M., Chetverina D., Vorobyeva N.E. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. № 14. P. 11844. doi: 10.3390/ijms241411844
- Cheng D., Dong Z., Lin P., Shen G., Xia Q. // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. № 18. P. 10791. doi: 10.3390/ijms231810791
- MacAlpine D.M., Rodriguez H.K., Bell S.P. // Genes Dev. 2004. V. 18. № 24. P. 3094–3105. doi: 10.1101/gad.1246404
- Eaton M.L., Prinz J.A., MacAlpine H.K., Tretyakov G., Kharchenko P.V., MacAlpine D.M. // Genome Res. 2011. V. 21. № 2. P. 164–174. doi: 10.1101/gr.116038.110
- Vorobyeva N.E., Mazina M.U., Golovnin A.K., Kopytova D.V., Gurskiy D.Y., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Georgiev P.G., Krasnov A.N. // Nucleic Acids Res. 2013. V. 41. № 11. P. 5717–5730. doi: 10.1093/nar/gkt297
- Mazina M., Vorobyeva N.E., Krasnov A.N. // Tsitologiya. 2013. V. 55. № 4. P. 218–224.
- Kurshakova M., Maksimenko O., Golovnin A., Pulina M., Georgieva S., Georgiev P., Krasnov A. // Mol. Cell. 2007. V. 27. № 2. P. 332–338. doi: 10.1016/j.molcel.2007.05.035
- Vorobyeva N.E., Erokhin M., Chetverina D., Krasnov

- A.N., Mazina M.Y. // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 16963. doi: 10.1038/s41598-021-96488-0
22. Vorobyeva N.E., Krasnov A.N., Erokhin M., Chetverina D., Mazina M. // *Epigenetics Chromatin*. 2024. V. 17. № 1. P. 17. doi: 10.1186/s13072-024-00541-x
23. Nikolenko J.V., Fursova N.A., Mazina M.Y., Vorobyeva N.E., Krasnov A.N. // *Mol. Biol. (Moscow)*. 2022. V. 56. № 4. P. 557–563. doi: 10.31857/S0026898422040085
24. Fursova N.A., Mazina M.Y., Nikolenko J.V., Vorobyova N.E., Krasnov A.N. // *Acta Naturae*. 2020. V. 12. № 4. P. 114–119. doi: 10.32607/actanaturae.11056
25. Fursova N.A., Nikolenko J.V., Soshnikova N.V., Mazina M.Y., Vorobyova N.E., Krasnov A.N. // *Acta Naturae*. 2018. V. 10. № 4. P. 110–114.
26. Nikolenko J.V., Kurshakova M.M., Kopytova D.V., Vdovina Y.A., Vorobyova N.E., Krasnov A.N. // *Mol. Biol. (Moscow)*. 2024. V. 58. № 4. P. 700–707. doi: 10.1134/S0026893324700286
27. Nikolenko J.V., Kurshakova M.M., Kopytova D.V., Vdovina Y.A., Vorobyova N.E., Krasnov A.N. // *Mol. Biol. (Moscow)*. 2024. V. 58. № 4. P. 693–699. doi: 10.1134/S0026893324700274
28. An W., Wensink P.C. // *Genes Dev.* 1995. V. 9. № 2. P. 256–266. doi: 10.1101/gad.9.2.256
29. Brodu V., Mugat B., Fichelson P., Lepesant J.A., Antoniewski C. // *Development*. 2001. V. 128. № 13. P. 2593–2602. doi: 10.1242/dev.128.13.2593
30. Falb D., Maniatis T. // *Genes Dev.* 1992. V. 6. № 3. P. 454–465. doi: 10.1101/gad.6.3.454
31. Kim D., Paggi J.M., Park C., Bennett C., Salzberg S.L. // *Nat. Biotechnol.* 2019. V. 37. № 8. P. 907–915. doi: 10.1038/s41587-019-0201-4
32. Didion J.P., Martin M., Collins F.S. // *Peer. J.* 2017. V. 5. P. e3720. doi: 10.7717/peerj.3720
33. Trapnell C., Hendrickson D.G., Sauvageau M., Goff L., Rinn J.L., Pachter L. // *Nat. Biotechnol.* 2013. V. 31. № 1. P. 46–53. doi: 10.1038/nbt.2450
34. Mazina M.Y., Kovalenko E.V., Vorobyeva N.E. // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 172. doi: 10.1038/s41598-020-80650-1
35. Ramirez F., Ryan D.P., Gruning B., Bhardwaj V., Kilpert F., Richter A.S., Heyne S., Dundar F., Manke T. // *Nucleic Acids Res.* 2016. V. 44. № W1. P. W160–165. doi: 10.1093/nar/gkw257
36. McKay D.J., Lieb J.D. // *Dev. Cell.* 2013. V. 27. № 3. P. 306–318. doi: 10.1016/j.devcel.2013.10.009