

РЕТРОТРАНСПОЗОНЫ И ТЕЛОМЕРЫ

Обзор

© 2023 А.И. Калмыкова*, О.А. Соколова

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,
119334 Москва, Россия; электронная почта: allakalm@idbras.ru

Поступила в редакцию 19.06.2023

После доработки 24.07.2023

Принята к публикации 12.08.2023

Мобильные элементы (МЭ) составляют десятки процентов генома эукариот, являясь основным источником нестабильности генома. Системы клеточной защиты подавляют экспансию МЭ на всех стадиях их жизненного цикла. Белки подсемейств Piwi и Piwi-взаимодействующие короткие РНК (piРНК) являются ключевыми элементами защитной системы, которая контролирует активность МЭ в гонадах многоклеточных животных, предотвращая наследуемые транспозиции и дефекты развития. В данном обзоре мы обсуждаем разнообразие регуляторных механизмов, с помощью которых короткие РНК подавляют активность МЭ. Тем не менее активные МЭ присутствуют в геномах, что свидетельствует об ограниченных возможностях этих механизмов защиты. Появляется всё больше данных, которые свидетельствуют о том, что повышенная активность МЭ совпадает в развитии с удлинением теломер и эпигенетическим перепрограммированием генома у разных видов. У плодовой мухи *Drosophila* теломеры состоят из ретротранспозонов, а защитный механизм с участием piРНК также необходим для поддержания теломер и контроля их длины. Следовательно, работа защитных механизмов в данном случае должна быть тонко сбалансирована, чтобы не только подавлять активность МЭ, но и поддерживать оптимальную длину и стабильность теломер. Структурно-функциональная связь гомеостаза теломер с ретротранспозоном LINE1 у человека указывает на тесную взаимосвязь эгоистичных МЭ с жизненно важными функциями генома. Такая связь, по-видимому, является наследием ретротранспозонного происхождения теломер и позволяет сохранять активные МЭ в геноме. Своеобразной платой за такую «услугу» является поддержание теломер и выполнение других жизненно важных функций, приобретённых МЭ в процессе их одомашнивания в геноме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ретротранспозоны, теломеры, теломераза, полиплоидия, Piwi, piРНК, зародышевая линия, хроматин, LINE1, *Drosophila*.

DOI: 10.31857/S0320972523110076, **EDN:** MLIDFQ

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему моменту накоплен достаточный массив данных, который указывает на то, что регуляция активности мобильных элементов (МЭ) и важные клеточные процессы тесно связаны, и именно эта связь обеспечивает выживание в геноме МЭ, несмотря на мощные системы подавления их активности. Каков механизм этого глобального геномного компромисса? МЭ служат богатым источником эволюционных преобразований в геноме, предоставляя энхансеры, промоторы, экзоны, сайты сплайсинга, архитектурные элемен-

ты и участвуя в ключевых механизмах развития и иммунного ответа [1–4]. МЭ вносят вклад в формирование таких важных структур хромосом, как центромеры и локус генов рибосомной РНК [5–8]. В данном обзоре мы рассмотрим один из ярких примеров вклада ретротранспозонов в эволюцию генома, связанных с происхождением и поддержанием теломер.

Теломеры — концевые участки линейных хромосом — находятся в центре внимания множества исследователей уже больше 50 лет, с 1971 г., когда было опубликовано блестящее предсказание Алексея Матвеевича Оловникова

Принятые сокращения: МЭ — мобильные элементы; piРНК — Piwi-interacting RNA, Piwi-взаимодействующие короткие РНК; siРНК — Small interfering RNA, малые интерферирующие РНК.

* Адресат для корреспонденции.

об «Ахиллесовой пяте двойной спирали» — о недорепликации концов хромосом [9, 10]. Им же было предположено существование специализированной ДНК-полимеразы, которая обеспечивает удлинение теломерной ДНК. Такой фермент, названный теломеразой, был обнаружен гораздо позже и оказался обратной транскриптазой, находящейся в комплексе с РНК-матрицей [11]. Предполагается, что концы первичных линейных хромосом могли защищаться и поддерживаться за счёт присоединений ретроэлементов, а теломеразный рибонуклеопroteinный комплекс можно рассматривать как возникший в процессе эволюции специализированный ретроэлемент, присоединяющийся на концы хромосом [12]. Действительно, филогенетический анализ обратной транскриптазы выявил, что теломераза и ретротранспозоны произошли от общего предкового ретроэлемента [13–15]. Хотя у большинства организмов теломеры поддерживаются теломеразой, это не единственный способ удлинения теломер. Среди современных видов животных есть такие, теломеры которых поддерживаются за счёт присоединений ретротранспозонов — это многие виды насекомых, и в особенности семейство *Drosophilidae*. Считается, что у *Drosophila* теломераза была утрачена, а в поддержании теломер участвуют специализированные теломерные ретротранспозоны. У шелкопряда смешанный тип теломер, в поддержании которых участвует низкоактивная теломераза и специализированные теломерные ретроэлементы. У многих видов животных, использующих теломеразу, включая человека, ретроэлементы также присоединяются к теломере в определённых условиях [16, 17], используя двунитевой обрыв на конце хромосомы как удобную мишень для ретротранспозиций. В то же время у комаров не обнаружено ни теломеразы, ни теломерных ретроэлементов, а удлинение теломер, по-видимому, происходит за счёт рекомбинации коротких повторов сателлитной природы, обнаруженных в теломерах [18, 19].

Теломеры, поддерживающиеся за счёт мобильных элементов, хоть и отличаются от теломер, которые поддерживаются с помощью теломеразы, тем не менее напоминают нам о ретротранспозонном прошлом теломер. Исследование регуляции теломер дрозофилы, состоящих из ретротранспозонов, выявляет удивительное сходство, если не идентичность, механизмов поддержания теломер и контроля активности МЭ. Это сходство приводит нас к выводу о существовании тесной функциональной связи между ретротранспозонами и тело-

мерами в геноме, которая, как показывают недавние исследования, присутствует не только у дрозофилы, но и у млекопитающих.

ПОЧЕМУ ТЕЛОМЕРАЗА УТРАЧЕНА У МНОГИХ ВИДОВ НАСЕКОМЫХ И ДРОЗОФИЛЫ?

Известно много видов растений и животных, у которых в процессе эволюции теломераза была утрачена, а для удлинения теломер используются другие механизмы. У двукрылых ген теломеразы был потерян около 270 млн лет назад [20]. Однако, несмотря на отсутствие теломеразы, представители отряда *Diptera* являются одними из наиболее многочисленных и процветающих видов животных. Ген, кодирующий теломеразу, не был найден в геномах видов *Drosophila*, а удлинение их теломер происходит за счёт транспозиций мобильных элементов. Наиболее изученными являются теломерные ретроэлементы *Drosophila melanogaster*. Они представлены тремя семействами ретротранспозонов типа LINE (Long Interspersed Nuclear Elements) — *HeT-A*, *TART* и *TAHRE* [21, 22]. В то же время у бабочки *Bombyx mori* (тутового шелкопряда) присутствует низкоактивная теломераза, а теломерная ниша активно заполняется специализированными теломерными ретротранспозонами *SART* и *TRAS* [23]. С чем связана такая обратная эволюция и отказ от теломеразы, остаётся загадкой.

Алексей Матвеевич Оловников особенно живо интересовался исключениями из правил, ища объяснение тому или иному загадочному явлению природы. В данной главе хотелось бы привести его оригинальные рассуждения по поводу утраты теломеразы у дрозофилы, которые он высказывал в личной переписке: «Известно, что хромосомы личиночных слюнных желез *D. melanogaster* подвергаются многим раундам эндорепликации. Вдобавок имеет место соматический синапсис гомологичных хромосом. Однако строго точная боковая конъюгация сестринских хроматид, плотно соединённых между собой по длине, с неизбежностью должна создавать в теломерной зоне чисто механическое препятствие для формирования теломеразной теломеры. Такая теломера должна иметь теломерную петлю — трёхмерную структуру. Сотни конъюгированных хроматидных концов, плотно объединённых в едином политенном пучке хроматид, создавали бы непреодолимые стерические препятствия друг для друга при формировании своего 3D теломерного комплекса. Поэтому дрозофилы,

применив политенизацию, были вынуждены отказаться от услуг теломеразы. В отличие от указанной ситуации, процесс формирования G-квадруплекса, защищающего конец ретро-транспозона на конце каждой хроматиды, не требует формирования теломерной петли и благодаря этому легко совместим с боковой конъюгацией хроматид. Можно предположить, что именно политенизация могла послужить ключевой причиной выбора у дрозофилы альтернативного способа защиты своих теломер. Сама же политенизация хромосом в клетках слюнных желез у личинок дрозофил, как известно, необходима, в частности, для продукции большого количества клейкого вещества перед окукливанием. Плотная укладка хроматид, по-видимому, не используется теми организмами, которые нуждаются в повышении копийности генов, но обладают при этом теломеразными теломерами. Например, у инфузорий, имеющих полиплоидный макронуклеус и теломеразу, хромосомы фрагментированы. Допустима также следующая альтернатива: если теломеры, в отличие от остальной части политенизированных хроматид, не конъюгированы (значит, свободны от упомянутого стерического препятствия), то это расширяет возможности применения теломеразного способа защиты теломер. Поэтому могут существовать виды, у которых на той или иной стадии развития используются политенные хромосомы и теломераза-подобные белки, но концы хромосом не спарены. Такие неспаренные концы хромосом наблюдались, например, в специализированных политенных клетках и на концах мейотических пахитенных хромосом у бобового растения *Vigna unguiculata*, использующего теломеразу [24, 25]. Тенденция к расслаиванию концов хромосом на олиготеновые пучки наблюдается в политенных хромосомах некоторых других видов [26]» (из письма от А.М. Оловникова А.И. Калмыковой, сентябрь 2017 г.).

Действительно, недавно появилось сообщение, что теломерные ретротранспозоны не только у представителей рода *Drosophila*, но и у других видов имеют тенденцию к формированию G-квадруплексов — вторичных структур, образуемых последовательностями ДНК, обогащёнными гуаниновыми остатками [27]. Такие структуры могут защищать концы линейных хромосом при отсутствии теломерной петли, характерной для теломер, поддерживаемых с помощью теломеразы. Существование альтернативных способов поддержания теломер даёт уникальную возможность исследовать возникновение функциональных аналогий в

природе. Изучение теломер дрозофилы дало нам возможность посмотреть с новой точки зрения на защитные механизмы регуляции МЭ и их участие в функционировании теломер. Наиболее ярким примером является участие механизма РНК-интерференции и коротких РНК типа piРНК (Piwi-interacting RNA, Piwi-взаимодействующие короткие РНК) в контроле длины теломер дрозофилы в зародышевой линии.

ПУТЬ С УЧАСТИЕМ piРНК: ИСТОЧНИКИ И МИШЕНИ piРНК

МЭ обнаружены во всех исследованных организмах и представлены несколькими классами и многочисленными семействами [28]. МЭ занимают почти половину генома человека и 20% генома *D. melanogaster* [29] и являются основным источником мутаций, в том числе тех, которые вызывают рак и нарушения развития [30, 31]. Существует множество различных стратегий для ограничения активности МЭ в соматических клетках и предотвращения наследуемых транспозиций в клетках зародышевой линии. Особое внимание уделяется регуляции транскрипции МЭ для подавления первичной стадии их размножения. Транскрипционный сайленсинг достигается двумя основными механизмами, ведущими к формированию неактивной структуры хроматина. Первый и наиболее консервативный механизм компактизации хроматина связан с модификациями гистонов, особенно метилированием лизина 9 гистона 3 (H3K9me), с последующим связыванием и распространением гетерохроматинового белка 1 (HP1) [32]. Вторым мощным механизмом репрессии транскрипции является метилирование ДНК, осуществляемое цитозин-5'-метилтрансферазами [33]. Как модификации гистонов, так и метилирование ДНК нацелены в геноме в значительной степени на МЭ, вызывая репрессию их транскрипции. Главный вопрос заключается в том, как рекрутировать эти универсальные механизмы именно к МЭ? В соматических клетках позвоночных важную роль в метилировании ДНК и гистонов на последовательностях эндогенных ретровирусов играют белки семейства KRAB-ZFP (KRAB-containing zinc finger proteins) [34, 35].

Наиболее консервативной, практически универсальной для множества видов растений и животных системой распознавания «своей-чужой» является РНК-интерференция. Пути с участием белков семейства Argonaute и связан-

ных с ними коротких РНК считают иммунитетом на уровне нуклеиновых кислот, т.к. эти механизмы способны сиквенс-специфически распознать и элиминировать чужеродные нуклеиновые кислоты, принадлежащие вирусам, МЭ, трансгенам. Защита соматических клеток от вирусов осуществляется с помощью РНК-интерференции, белков Argonaute и малых интерферирующих РНК (small interfering RNA, siРНК) длиной в 21 нуклеотид. В гонадах животных действует особая система защиты от МЭ и вирусов, которая обеспечивается белками подсемейства Piwi семейства Argonaute и ассоциированными с ними короткими РНК — piРНК — длиной 24–30 нуклеотидов [36, 37]. Важная особенность этой системы состоит в том, что комплекс Piwi–piРНК способен сиквенс-специфично индуцировать модификации хроматина МЭ, т.е. вызывать транскрипционный сайленсинг. Ядерные белки Piwi в комплексе с piРНК индуцируют формирование неактивного хроматина, используя комплементарность piРНК и новообразованной мРНК МЭ. Это многостадийный процесс, требующий взаимодействия нескольких линкерных и вспомогательных белков, их посттрансляционных модификаций, приводящих к конформационным изменениям, затем к сборке и стабилизации белкового комплекса хроматина, управляемого Piwi–piРНК, и, наконец, на последнем этапе — к рекрутированию универсальных факторов гетерохроматина к МЭ [36, 38]. Такая тонкая регуляция требуется для того, чтобы выключить именно МЭ и предотвратить ошибочную репрессию клеточных генов.

Механизм сайленсинга, опосредованный piРНК, представляет собой многоступенчатый процесс. Основными стадиями этого процесса являются образование длинных одноцепочечных РНК-предшественников в ядре, их процессинг в зрелые piРНК в цитоплазме и piРНК-опосредованный сайленсинг, который может происходить как в ядре (транскрипционный сайленсинг), так и в цитоплазме (посттранскрипционный сайленсинг).

Для выполнения своих функций зрелые piРНК должны комплементарно взаимодействовать с кодирующими транскриптами МЭ, т.е. они должны быть антисмысловыми по отношению к мРНК МЭ. Действительно, значительная доля piРНК в гонадах комплементарна МЭ, т.е. образуется не из мРНК МЭ. Причина и источник образования таких РНК в геноме неочевидны и обеспечиваются особыми механизмами. Считается, что piРНК образуются из длинных одноцепочечных РНК эндогенного

происхождения, называемых piРНК-предшественниками (pre-piРНК) [39, 40]. Наши знания по этому вопросу в основном были получены на модели оогенеза дрозофилы и привели к представлению о том, что piРНК-предшественники и их мишени кодируются разными геномными локусами (рис. 1, а). Нужно сразу отметить, что этот механизм не является универсальным. Это представление возникло на основе секвенирования библиотек коротких РНК, которые выявили скопления уникально картирующихся piРНК в прицентромерном гетерохроматине. Такие районы, являющиеся источником piРНК, были названы piРНК-кластерами [39]. Эти протяжённые области генома размером до 200 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов), обогащённые разрушенными копиями МЭ, кодируют необычные длинные транскрипты, из которых образуются зрелые piРНК, узнающие эухроматиновые активные копии МЭ. Это удивительный пример функционального применения участков генома, рассматриваемых ранее как «мусорная» ДНК. У дрозофилы описаны два типа piРНК-кластеров, одноцепочечные и двухцепочечные, которые транскрибируются в одном или двух направлениях, соответственно, но все они продуцируют антисмысловые piРНК-предшественники. Как они таковыми получаются, легче понять для одноцепочечных piРНК-кластеров, в которых все разрушенные копии МЭ находятся в инвертированном положении по отношению к направлению транскрипции pre-piРНК. Самый известный одноцепочечный piРНК-кластер — это геномный локус *flamenco* *D. melanogaster*, работающий в фолликулярных клетках яичника. Он содержит множество разрушенных копий МЭ на геномной минус-цепи по отношению к направлению транскрипции. Таким образом, зрелые piРНК, образованные из длинных транскриптов локуса *flamenco*, комплементарны мРНК МЭ и запускают их сайленсинг [39, 41]. Такие локусы генерируют piРНК против эндогенных ретровирусов, относящихся к семейству *Gypsy*. Такой сценарий образования piРНК-кластеров повторяется в эволюции. Однонитевые piРНК-кластеры, схожие с локусом *flamenco*, обнаружены у различных видов рода *Drosophila* и комаров [42–44]. Более того, у мышей было обнаружено два одноцепочечных piРНК-кластера, похожих на локус *flamenco*, которые продуцируют короткие piРНК против эндогенных ретровирусов во время сперматогенеза [45].

Второй тип перицентромерных piРНК-кластеров — это двухцепочечные кластеры, которые обеспечивают основную защиту про-

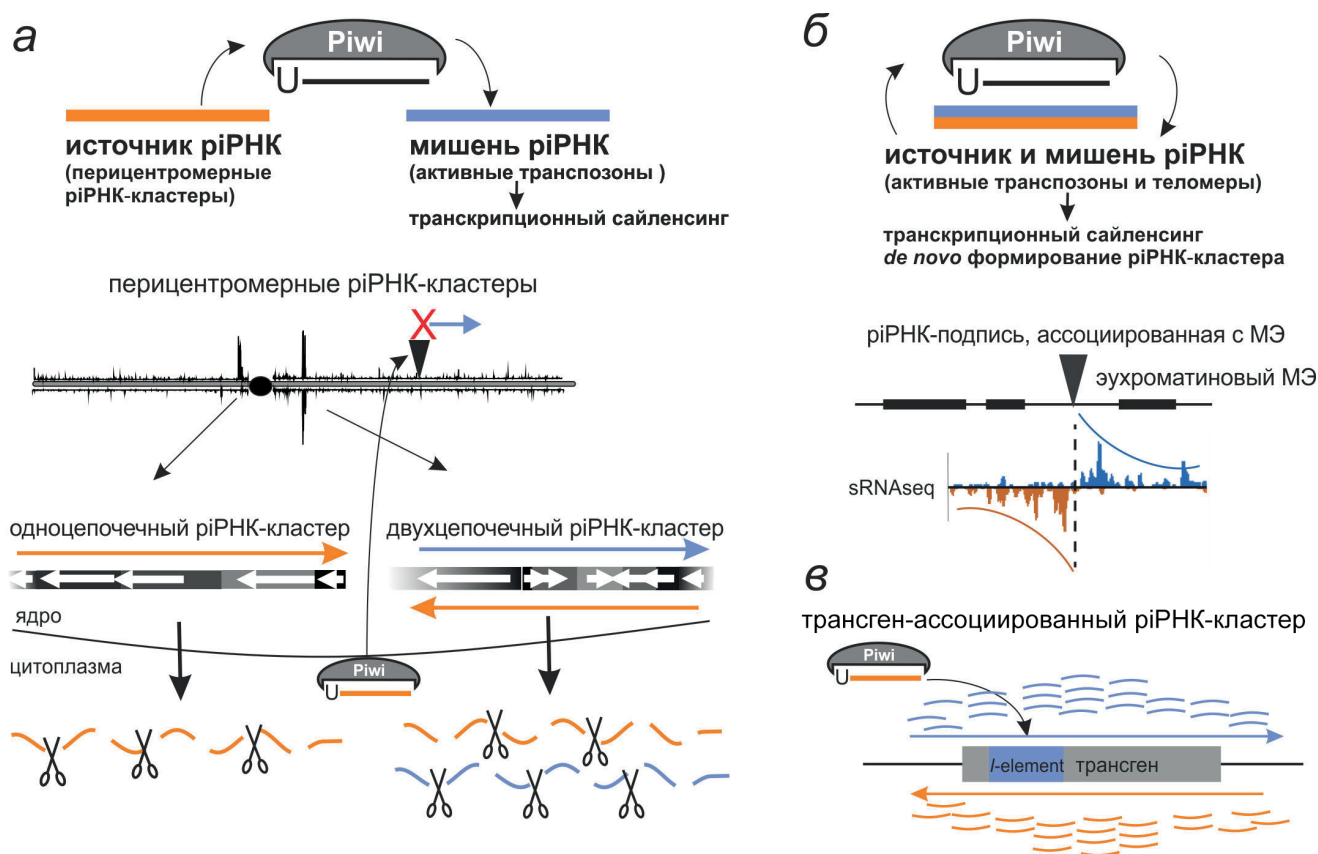


Рис. 1. В каких участках генома образуются предшественники piRNA? *а* – Гетерохроматические перичесентромерные кластеры piRNA являются источниками piRNA, которые нацелены на активные МЭ. Схематично показано картирование коротких РНК на хромосому. Показан принцип работы двух типов piRNA-кластеров – одно- и двухцепочечных. Образующийся комплекс Piwi–piRNA распознаёт и сайленсирует активные копии МЭ (чёрный треугольник). *б* – Активные копии МЭ формируют piRNA-кластеры. Схематически показана piRNA-«подпись» для кластеров piRNA, ассоциированных с МЭ. sRNAseq – сиквенсы коротких РНК. *в* – Трансгенная модель демонстрирует, как активные МЭ в эухроматине становятся кластерами piRNA. Piwi в комплексе с эндогенной piRNA к *I-element* распознаёт РНК в комплементарном трансгенном локусе, затем образуются транскрипты с обеих геномных цепей, а из них – короткие РНК

тив МЭ в клетках зародышевой линии дрозофилы. Эти локусы содержат сильно разрушенные копии МЭ, расположенные в случайных ориентациях. Двухцепочечные piRNA-кластеры транскрибируются в двух направлениях, что приводит к образованию длинных некодирующих предшественников piRNA из обеих геномных цепей [46]. Эти транскрипты экспортируются в цитоплазму, где процессируются с образованием зрелых piRNA. Процессинг piRNA является наиболее консервативным этапом piRNA-пути у разных видов. Внешняя митохондриальная мембрана и околоядерный компартмент служат платформой для процессинга piRNA, который происходит в результате действия цитоплазматических белков подсемейства Piwi, заряженных piRNA, и специализированных рибонуклеаз. Мишенями разрезания являются как транскрипты МЭ, так и piRNA-предшественники из кластеров, а в результате последовательного расщепления

смысловых и антисмысловых транскриптов МЭ образуются piRNA обеих ориентаций. Этот механизм, названный «пинг-понг», обнаружен в гонадах всех изученных видов животных и приводит не только к разрезанию мРНК МЭ (посттранскрипционному сайленсингу), но и продукции новых piRNA. Механизмы образования и амплификации piRNA, а также факторы их процессинга подробно описаны в недавних всеобъемлющих обзорах [36, 37, 47].

Считается, что двухцепочечные piRNA-кластеры – хранилища информации в геноме о ранее происходивших инвазиях МЭ и своеобразные ловушки для МЭ, т.к. их попадание туда приведёт к образованию piRNA и подавлению активности родственных копий в геноме [48]. Однако двухцепочечные piRNA-кластеры оказались видоспецифичными для *Drosophila* и некоторых видов членистоногих, т.к. они не были обнаружены у подавляющего числа изученных видов животных, включая

млекопитающих. Остаётся открытым вопрос: существует ли консервативный механизм образования рiРНК-предшественников, антисмысловых по отношению к МЭ. Например, у млекопитающих, несмотря на наличие огромного количества разрушенных копий МЭ в геноме, смысловые и антисмысловые рiРНК образуются из индивидуальных копий эволюционно молодых активных ретротранспозонов [45].

Действительно, рiРНК-путь, нацеленный на подавление распространения МЭ в геноме, должен быть в первую очередь направлен на активные копии МЭ. Более детальный анализ библиотек коротких РНК из яиц дрозофилы выявил, что не только гетерохроматиновые рiРНК-кластеры, но и полноразмерные эухроматиновые копии МЭ генерируют короткие РНК — как рiРНК, так и siРНК. Это говорит о том, что в местах недавних вставок МЭ происходит формирование новых локальных двухцепочечных рiРНК-кластеров [49], что напоминает сценарий образования рiРНК из активных копий LINE1 у человека [45]. Отличительной особенностью таких МЭ-ассоциированных рiРНК-кластеров является рiРНК-«подпись» — асимметричный профиль распределения коротких РНК до и после встройки МЭ, возникающий в результате сквозной транскрипции предшественников рiРНК в прилежащие к МЭ участки генома (рис. 1, б). Такая «подпись» очень характерна и может быть использована для предсказания неаннотированных встроек МЭ в геноме. Более того, распространение продукции коротких РНК за пределы МЭ может затрагивать соседние гены, подавляя их экспрессию [49]. Таким образом, активные МЭ служат не только мишенями рiРНК-системы, вызывающей компактизацию хроматина, но и источником коротких РНК, т.к. могут обеспечить продукцию siРНК и рiРНК *de novo*. Теломерные ретротранспозоны дрозофилы, расположенные в виде tandemных повторов в теломере, являются также источником и мишенью рiРНК, что обеспечивает регуляцию экспрессии теломерных ретротранспозонов по типу обратной связи, что будет обсуждаться более подробно в следующей главе.

Механизм, который лежит в основе формирования новых рiРНК-кластеров, ассоциированных с МЭ, и в особенности механизм генерации двунаправленной транскрипции, до конца неясен. Антисмысловые промоторы известны лишь для единичных представителей МЭ и являются, скорее, исключением. Например, антисмысловой промотор ретротранспозона человека LINE1 и образуемые с него транскрипты участвуют в siРНК-опосредован-

ном механизме супрессии транспозиций LINE1 [50, 51]. В случае узнавания комплексом Piwi–рiРНК комплементарных транскриптов, по-видимому, индуцируется необычный тип конвергентной транскрипции геномных локусов, содержащих активные копии МЭ. Этот процесс зависит от геномного контекста встройки; встречная транскрипция в локусе инсерции МЭ способствует формированию рiРНК-кластера [52]. Транскрипты, образующиеся с обеих геномных цепей, затем процессируются с образованием зрелых pi/siРНК. Такой сценарий имеет очевидное биологическое значение, заключающееся в амплификации защитных рiРНК, которые направлены против наиболее агрессивных транскрипционно активных копий МЭ. Исследование трансгенов, содержащих фрагмент ДНК, на который нацелены эндогенные рiРНК, позволило значительно продвинуться в понимании механизма формирования рiРНК-кластеров *de novo* [53–55]. Было показано, что трансгенные конструкции на основе МЭ — *I-element* — могут становиться новыми рiРНК-кластерами. Формирование таких рiРНК-кластеров *de novo* сопровождается возникновением низкого уровня транскрипции с минус-цепи и образованием смысловых и антисмысловых pi- и siРНК как из всего трансгена, так и из прилегающих геномных последовательностей на расстоянии от 1 до 10 т.п.н. от трансгена [56, 57] (рис. 1, в).

Сценарий, при котором активный МЭ является источником рiРНК, должен давать селективные преимущества и быть эволюционно выгодным. Вопрос о том, почему в ходе эволюции у *Drosophila* и других членистоногих сохранились протяжённые гетерохроматиновые рiРНК-кластеры, обслуживаемые особым транскрипционным аппаратом, остаётся открытым. Недавно появились данные о том, что удаление наиболее протяжённых перicen-тральных рiРНК-кластеров у *D. melanogaster* не приводит к дерепрессии МЭ [58]. Это указывает на то, что гетерохроматиновые рiРНК-кластеры не играют решающей роли в сайленсинге МЭ в стабильной лабораторной линии. С большой вероятностью эту функцию успешно выполняют МЭ-ассоциированные рiРНК-кластеры, которые формируются с помощью рiРНК, унаследованных от матери через цитоплазму ооцита [59].

По-видимому, ответ нужно искать в особенностях среды обитания разных видов. Природные популяции членистоногих подвергаются горизонтальному переносу МЭ, включая реинвазию родственных МЭ, ранее утраченных в геноме [60, 61]. Память о прежних инва-

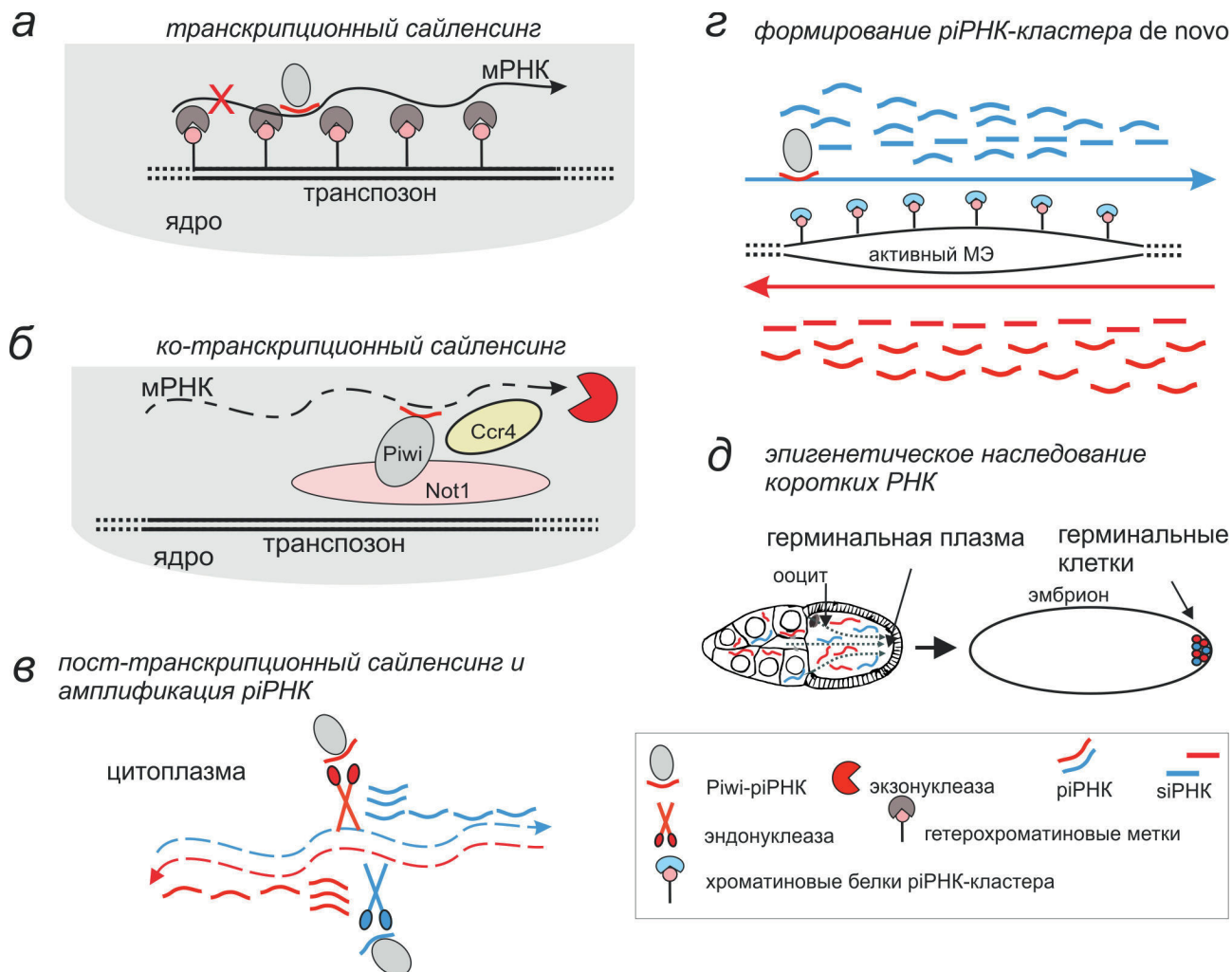


Рис. 2. Система с участием piRNA представляет собой многоуровневый механизм. У *Drosophila* piRNA могут индуцировать следующие процессы: (а) транскрипционную репрессию и компактизацию хроматина, (б) ко-транскрипционную деградацию новообразованной РНК в ядре с участием деаденилазного ядерного комплекса Ccr4-Not, (в) посттранскрипционную деградацию РНК, сопровождающуюся амплификацией piRNA, в цитоплазме, (г) продукцию piRNA de novo на активных МЭ за счёт активации антисмысловой транскрипции, (д) передачу материнских piRNA в комплексе с белками подсемейства Piwi потомству через герминальную плазму ооцита

зиях МЭ, хранящаяся в виде их фрагментов в составе piRNA-кластеров, может спасти популяцию при повторном заражении родственными МЭ за счёт наличия комплементарных piRNA и активации piRNA-опосредованного сайленсинга [39, 52, 57, 59, 62].

Идея о том, что активные копии МЭ служат первичными мишенями piRNA-пути, подтверждается недавно открытым механизмом ко-транскрипционной деградации транскриптов МЭ [63]. Несмотря на формирование гетерохроматина в локусах, содержащих активные копии МЭ, они тем не менее способны транскрибироваться в клетках зародышевой линии. Избыток транскриптов МЭ в ядрах клеток зародышевой линии дрозофилы удаляется за счёт активности ядерного комплекса Ccr4-Not, который обладает деаде-

нильной активностью [64]. Он привлекается ко-транскрипционно к транскриптам мобильных элементов за счёт взаимодействия с ядерным комплексом Piwi-piRNA. Скорее всего, за счёт деаденилазной активности комплекса Ccr4-Not происходит удаление поли(А)-хвоста на 3'-конце мРНК МЭ. Такие транскрипты могут распознаваться ядерной системой контроля качества РНК как aberrантные и подвергаться экзонуклеазному расщеплению. Примечательно, что мишенями ядерного комплекса Ccr4-Not в основном являются активные полноразмерные копии МЭ и теломерные ретротранспозоны [63].

Подводя итоги этого краткого обзора системы контроля МЭ с помощью piRNA, можно сказать, что piRNA могут индуцировать несколько важных процессов, которые направ-

лены на подавление активности МЭ (рис. 2). piРНК индуцируют транскрипционный сайленсинг в ядре, приводящий к сборке гетерохроматина в локусах МЭ [65–67]. Эта система также работает на ко-транскрипционном уровне, вызывая деградацию транскриптов МЭ в сайтах транскрипции с помощью ядерных нуклеаз [63]. piРНК-система осуществляет пост-транскрипционное расщепление транскриптов МЭ в цитоплазме, что сопровождается амплификацией piРНК и их последующим наследованием через цитоплазму ооцита [39, 59, 68–71]. Важно, что piРНК могут инициировать образование *de novo* piРНК-кластеров на полноразмерных эухроматиновых встройках МЭ, стимулируя антисмысловую транскрипцию МЭ и всплеск продукции piРНК против наиболее активных МЭ [49]. Более того, быстрая эволюция белков, участвующих в piРНК-пути, обеспечивает высокую адаптивность этой системы к новым мишеням [72–74]. Несмотря на огромный потенциал piРНК и других систем защиты от МЭ, паразитические МЭ успешно обходят их, продолжая размножаться, вызывая вредные мутации, заболевания и нарушения развития.

Таким образом, создаётся парадоксальная ситуация, при которой для подавления активности МЭ требуется его активность, за счёт которой работает piРНК-система. По всей видимости, далекая от 100% эффективность этой и других систем защиты позволяет МЭ размножаться в допустимых пределах, поставляя материал для эволюции генома и позитивного отбора, а также позволяя работать некоторым жизненно важным системам, например, теломерам. Подробнее на этом явлении остановимся ниже.

РОЛЬ КОРОТКИХ piРНК В РЕГУЛЯЦИИ ТЕЛОМЕР *Drosophila*

Нарушение piРНК-системы у дрозофилы приводит не только к активации МЭ, но и к чрезмерному удлинению теломер за счёт увеличения частоты присоединения ретротранспозонов к теломерам [75]. Это происходит потому, что в клетках зародышевой линии истощается пул коротких piРНК, специфичных к теломерным ретротранспозонам. Действительно, система piРНК не делает различий между теломерными и паразитическими ретротранспозонами и процессирует транскрипты теломерных ретротранспозонов с образованием piРНК в клетках зародышевой линии. Уменьшение количества таких piРНК, напри-

мер, при мутации генов, участвующих в этом пути, приводит к накоплению транскриптов теломерных МЭ, которые, в свою очередь, являются интермедиатами удлинения теломер. Теломеры дрозофилы образованы специализированными МЭ, которые не встречаются в других геномных локусах. Тандемные кластеры теломерных ретротранспозонов являются как источником piРНК, так и их мишенью, что представляет собой уникальный пример саморегулируемого piРНК-кластера. Теломерные ретротранспозоны дрозофилы обладают двунаправленными промоторами, что обеспечивает при расположении теломерных копий «голова-к-хвосту» образование как смысловых, так и антисмысловых транскриптов, из которых затем процессируют теломерные piРНК [76–79]. *Drosophila* не является единственным примером такой регуляции – белки Piwi также участвуют в регуляции транспозиций теломерных ретротранспозонов SART и TRAS у тутового шелкопряда *Bombyx mori* [80].

Типичным свойством теломер является их гетерохроматиновое состояние. В клетках зародышевой линии дрозофилы гетерохроматиновые факторы привлекаются к теломерным ретротранспозонам с участием piРНК-системы [81]. При нарушении работы piРНК-системы на теломерных повторах происходит снижение количества основного белка гетерохроматина HP1 и гистоновой модификации H3K9me3. С таким глобальным изменением структуры теломерного хроматина связано смещение теломерных кластеров хромосом от периферии ядра, наблюдаемое в герминальных клетках яичников у piРНК мутантов дрозофилы [81]. Транскрипция наиболее представленного теломерного повтора дрозофилы – ретротранспозона *HeT-A* – также регулируется в ядре на ко-транскрипционном уровне с помощью привлечения деаденилазного комплекса Csr4-Not [63]. С помощью методов конфокальной микроскопии обнаружено формирование околотеомерных телец, содержащих белковый комплекс Csr4-Not, белок Piwi и факторы ядерного экспорта РНК [63]. Интересно параллель с биогенезом теломеразной РНК человека, в котором также принимают участие неканонические деаденилазы Csr4 и Caf1, сконцентрированные в ядерных тельцах Кахала [82]. Таким образом, piРНК-система и деаденилаза Csr4-Not участвуют как в подавлении активности паразитических МЭ, так и в регуляции функций теломер дрозофилы.

piРНК-система является негативным регулятором длины теломер у дрозофилы, т.е. чем активнее она работает, тем реже происходят

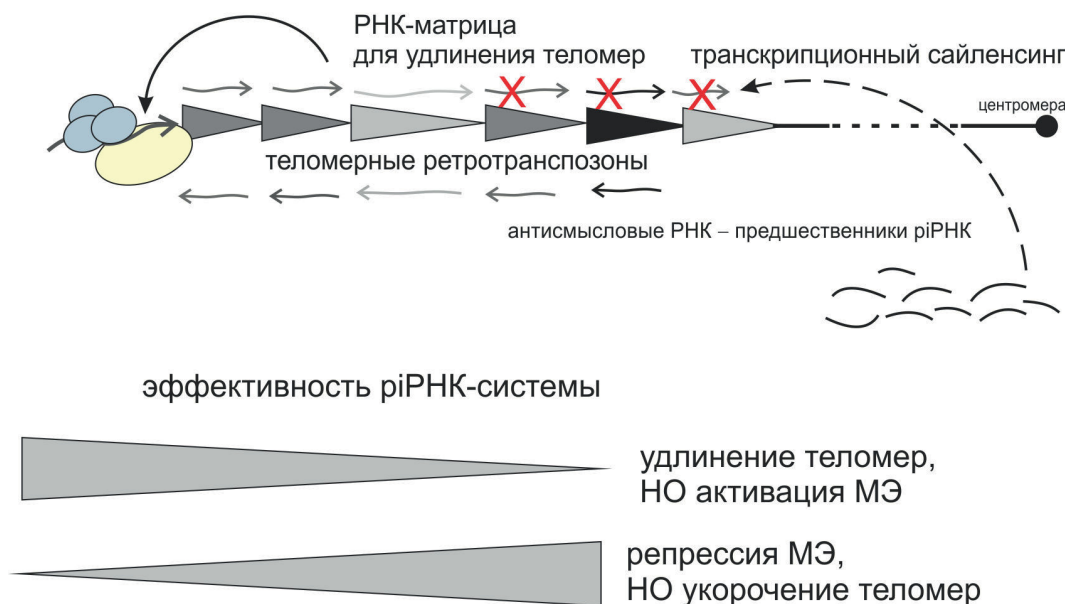
Drosophila melanogaster

Рис. 3. Механизмы, регулирующие поддержание теломер и контроль МЭ, тесно связаны. Система piРНК контролирует как активность паразитических МЭ, так и частоту присоединения теломерных ретроэлементов на концы хромосом в зародышевой линии дрозофилы

удлинения теломер. Сложная система обратной связи регулирует уровень теломерных транскриптов, теломерных piРНК, состояние теломерного хроматина, чтобы обеспечить необходимую для нормального развития частоту присоединений теломерных ретроэлементов к концам хромосом. Эту сложную систему контроля длины теломер ещё больше усложняет то, что механизм с участием piРНК должен успешно подавлять активность МЭ. Действительно, нарушение piРНК-системы приводит не только к повышенной частоте теломерных присоединений, но и к активации МЭ и стерильности [75]. Противоположную ситуацию, т.е. активацию piРНК-системы и чрезмерное укорочение теломер, удалось наблюдать на одной из природных линий дрозофилы. Дело в том, что из-за высокой вариабельности белков, участвующих в piРНК-пути, среди природных популяций дрозофил наблюдается различная эффективность процессинга piРНК, что определяет разную степень защиты генома от инвазии новых МЭ [83]. У мух, обладающих наиболее эффективным процессингом piРНК, отсутствовали полноразмерные копии основного структурного элемента теломер – ретро-транспозона *HeT-A*. Такая линия обладала сниженной фертильностью и жизнеспособностью. Вполне вероятно, что высокоэффективная работа piРНК-системы, приводящая к мощной репрессии МЭ, также должна вызы-

вать критическое укорочение теломер. На основе этих данных, пока ещё фрагментарных, хочется предположить, что защитная piРНК-система не может бесконечно повышать свою эффективность и успешно удалять из генома МЭ, а, скорее, должна быть хорошо сбалансирована, чтобы защитить геном от неконтролируемого размножения МЭ и обеспечить надлежащее поддержание длины теломер (рис. 3).

КОГДА И ПОЧЕМУ ПРОИСХОДИТ АКТИВАЦИЯ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РАЗВИТИИ?

Для понимания механизмов регуляции МЭ стоит посмотреть, на каких этапах жизненного цикла происходит их активация в ходе нормального развития (рис. 4, а, б, в). Кратковременная активация МЭ наблюдается на ранних стадиях гаметогенеза у различных видов [84]. У *Drosophila* существует короткий интервал на ранних стадиях оогенеза, когда снижается уровень ядерного белка Piwi и происходит активация транскрипции МЭ [85]. Транскрипты МЭ, образуемые на этой стадии, процессируются в цитоплазме с образованием коротких piРНК с помощью других белков подсемейства Piwi. Когда экспрессия Piwi выходит вновь на высокий уровень, piРНК МЭ обеспечивают подавление их собственной транскрипции

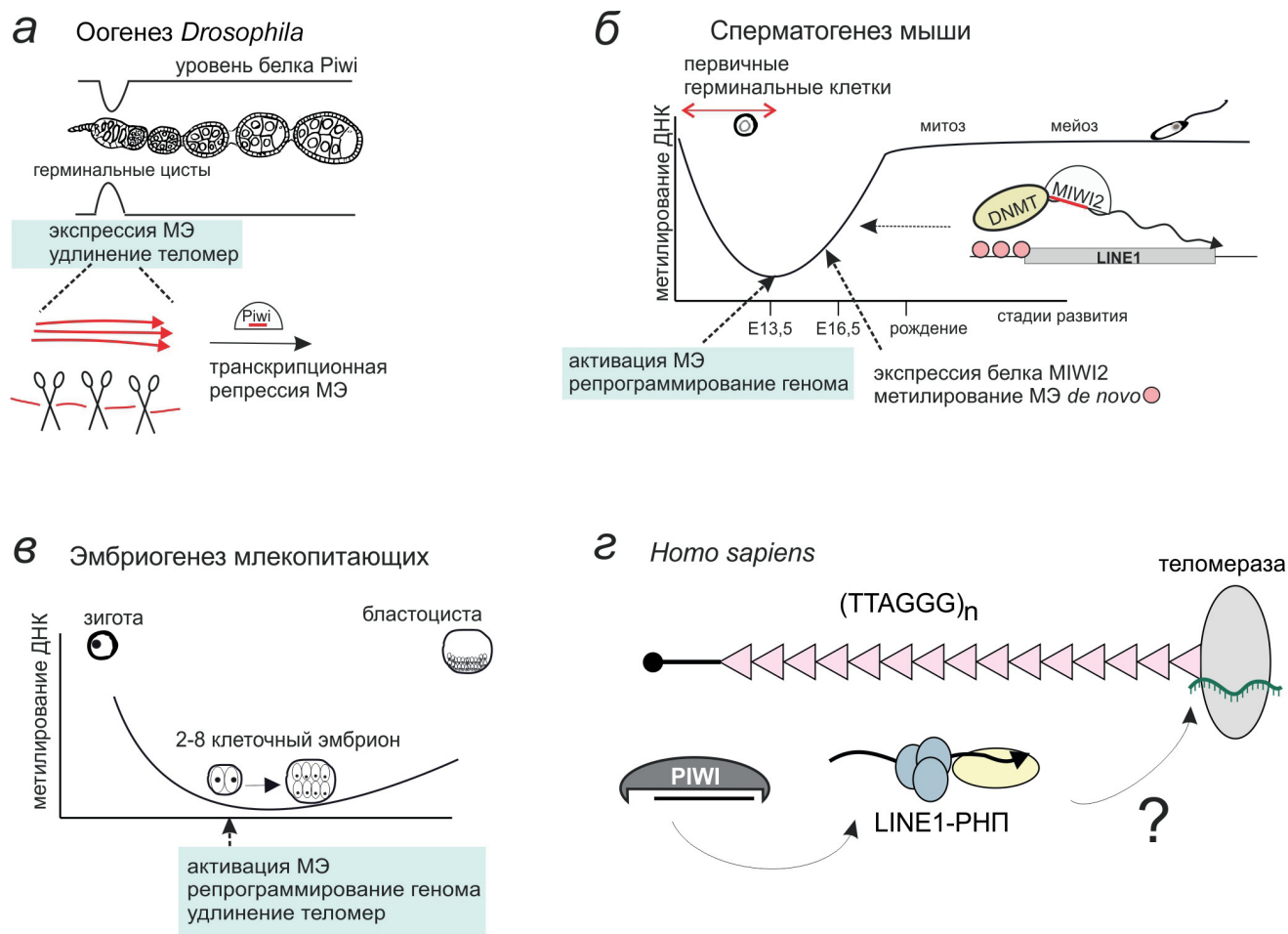


Рис. 4. Стадии развития, на которых происходит активация МЭ. *а* – В оогенезе дрозофилы активация МЭ и теломерных ретротранспозонов происходит в герминальных цистах, когда снижается уровень белка Piwi. На этой стадии образуются piRNA, которые запускают транскрипционный сайленсинг на последующих стадиях оогенеза. Предполагается, что на этой же стадии происходит удлинение теломер за счёт ретротранспозиций теломерных ретроэлементов. *б* – Глобальное деметилирование ДНК в первичных зародышевых клетках во время сперматогенеза у мышей сопровождается активацией МЭ. Затем устанавливается piRNA-опосредованное *de novo* ДНК-метилирование эволюционно молодых активных копий LINE1. *в* – Мобилизация МЭ и удлинение теломер наблюдаются также во время первых зиготических делений в эмбриогенезе млекопитающих. *г* – Репрессия LINE1 с помощью piRNA может опосредованно влиять на его теломерные функции в герминальных клетках млекопитающих (гипотеза)

на более поздних стадиях оогенеза [86]. На ранних стадиях оогенеза, где отсутствует белок Piwi, также наблюдали активацию транскрипции теломерных ретроэлементов *HeT-A* и *TART*, которая приводила к образованию интермедиатов удлинения теломер [66, 87, 88]. Такими интермедиатами у *D. melanogaster* являются сферические рибонуклеопротеиновые (РНП) частицы, состоящие из белка Gag, кодируемого ретротранспозоном *HeT-A*, заполненные РНК *HeT-A* и способные направленно локализоваться на теломере [89, 90]. Впервые такие *HeT-A*-сферы были обнаружены в активно пролиферирующих клетках мозга у личинок, а их появление на теломерах совпадало с репликацией теломер [89]. Основным структурный компонент теломер дрозофилы, *HeT-A*, является неавтономным, а обратная транскрип-

таза предоставляется другими теломерными ретроэлементами – *TART* и/или *TANRE*. Действительно, ревертаза *TART* была обнаружена также в составе *HeT-A*-сфер в нейробластах [91]. Такие РНП, вероятно, и осуществляют ретротранспозиции теломерных элементов на концы хромосом, удлиняя теломеры дрозофилы. В норме транскрипция теломерных ретротранспозонов *HeT-A* и *TART* наблюдается в герминальных цистах яичника, а при нарушении системы piRNA появляются сферические частицы, состоящие из РНК и белка Gag, кодируемых *HeT-A* [87]. По-видимому, удлинение теломер происходит на тех же стадиях, на которых активируются МЭ. Наиболее вероятно, что это связано с ослаблением piRNA-защиты и накоплением транскриптов теломерных элементов, а также с глобальной декомпактизацией

гетерохроматина и большей доступностью концов хромосом в дробящихся клетках-предшественниках гамет. Действительно, нарушения таких факторов гетерохроматина, как HP1, деметилазы гистонов Lsd1 и её кофактора Ova, метилтрансфераз dSetdB1 и Suvar3-9, приводят как к активации МЭ, так и накоплению транскриптов теломерных повторов [92–98], а у мутантов по гену *Su(var)2-5*, кодирующему HP1, и к удлинению теломер [98]. Похожий сценарий можно наблюдать у других животных. У млекопитающих активация экспрессии эволюционно молодых подсемейств ретроэлемента LINE1 происходит в примордиальных клетках мужской зародышевой линии в период пренатального развития и совпадает с глобальным деметилированием геномной ДНК [99]. У мышей на более поздних стадиях сперматогенеза появление белка подсемейства Piwi, MILI2, запускает продукцию piРНК, рекрутирование ДНК-метиلاзы и установление piРНК-опосредованного *de novo* метилирования ДНК на последовательностях LINE1 [100].

В развитии млекопитающих происходит две волны деметилирования и реметилирования ДНК — в первичных герминальных клетках и на ранней стадии эмбриогенеза [101]. Считается, что глобальное деметилирование генома в первичных зародышевых клетках гонад во время пренатального развития млекопитающих необходимо для перепрограммирования эпигенома и установления паттерна метилирования ДНК *de novo*, в том числе на последовательностях активных ретротранспозонов [102, 103]. Деметилирование ДНК также необходимо для удлинения теломер на ранней эмбриональной стадии, что сопровождается повышенным уровнем транскрипции многих ретротранспозонов на этой стадии развития [104–106]. Важную роль в поддержании деметилированного состояния ДНК и дерепрессии гетерохроматина в культивируемых эмбриональных стволовых клетках, индуцированных плюрипотентных стволовых клетках и 2-клеточных эмбрионах играет транскрипционный фактор Zscan4 (Zinc finger and SCAN domain containing 4) [107]. Zscan4 активирует экспрессию генов, участвующих в гомологичной рекомбинации, что стимулирует рекомбинационный механизм удлинения теломер в эмбриональных стволовых клетках, 2-клеточных эмбрионах и опухолевых клетках типа ALT (alternative lengthening of telomeres), использующих рекомбинацию для удлинения теломер [105, 106, 108]. В преимплантационных эмбрионах наблюдается также активация ретротранспозона LINE1 и эндогенных ретрови-

русов [109–112]. Интересно, что ингибирование LINE1 приводит к нарушению экспрессии факторов плюрипотентности, в том числе Zscan4, и блокирует удлинение теломер в эмбриональных стволовых клетках [113]. В свою очередь, РНК LINE1 играет роль репрессора транскрипции гена *Dux*, что необходимо для выхода клеток из состояния 2С и продолжения развития [114]. Также обнаружено, что промоторы генов ранней дифференцировки содержат регуляторные участки эндогенных ретровирусов и регулируются кодируемыми ими белками [115]. Таким образом, активация МЭ происходит во время коротких периодов развития, связанных с перепрограммированием генома и удлинением теломер у млекопитающих. Более того, эти процессы взаимосвязаны тонкой регуляторной сетью, правильный баланс которой необходим для нормального развития.

В процессе естественного старения, как и при синдромах преждевременного старения, наблюдаются сходные для МЭ и теломерных повторов декомпактизация хроматина и активация экспрессии, приводящие к повреждениям ДНК и клеточной гибели [116, 117], что ещё раз подчёркивает общность эпигенетической регуляции теломер и МЭ на разных этапах развития.

УЧАСТИЕ LINE1 В ПОДДЕРЖАНИИ ТЕЛОМЕР МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Сходство механизмов контроля МЭ и регуляции теломер кажется очевидным для дрозофилы, где теломеры поддерживаются за счёт присоединений ретротранспозонов к концам хромосом. У большинства организмов теломеры поддерживаются за счёт активности теломеразы — узкоспециализированной обратной транскриптазы, компоненты которой кодируются обычными генами. Накапливается всё больше данных, которые говорят об участии ретротранспозонов в функционировании теломер у млекопитающих. При дисфункции компонентов защитного теломерного комплекса — шелтерина — ретротранспозон LINE1 способен присоединяться с помощью обратной транскрипции к теломере в клетках человека и становиться структурной частью теломерной ДНК [17]. Кроме того, LINE1 также способен играть роль в функционировании теломер. В раковых клетках человека на фоне нокдауна LINE1 наблюдалось снижение экспрессии белков шелтерина, падение активности теломеразы и укорочение теломер [118]. Как уже упоминалось, ингибирование активности LINE1 у 2-клеточных эмбрионов мышей блокирует

удлинение теломер и перепрограммирование генома [113]. Более того, РНП-частицы, состоящие из РНК и белков, кодируемых LINE1, были обнаружены непосредственно на концах теломер в раковых клетках человека и в 2-клеточных эмбрионах мыши. Наконец, LINE1-РНП были выявлены в комплексе с РНК, содержащей теломерные повторы (TERRA) [113, 119]. Похоже, что LINE1 является активным участником биогенеза теломер, хотя остаются открытыми вопросы о том, как LINE1 туда попадает и какие компоненты теломер он распознаёт. Учитывая существенную роль LINE1 в функционировании теломер, можно предположить наличие опосредованной связи между рРНК-системой, регулирующей экспрессию LINE1 в герминальных клетках, и теломерами у видов, использующих теломеразу (рис. 4, з).

Изложенные данные обнаруживают удивительное сходство во временных интервалах и в механизмах, регулирующих поддержание теломер и контроль МЭ в геноме у млекопитающих. Изучение такой связи открывает новые перспективы в возможностях регуляции теломер в развитии, старении и в опухолевых клетках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отношения между геномом хозяина и МЭ часто определяют как геномный конфликт, и механизмы, лежащие в основе этого конфликта, сложны и противоречивы [120]. В те годы, когда ещё не были известны молекулярные механизмы контроля МЭ, анализ популяционной динамики МЭ выявил, что существует баланс между скоростью размножения МЭ и механизмами, которые ограничивают этот процесс, что приводит к поддержанию стабильного числа копий МЭ в геноме [121]. По-видимому, чрезмерное подавление активности МЭ не даёт селективного преимущества хозяину, что подтверждено современными методами анализа геномных данных природных популяций дрозофилы. Так, например, количество рРНК не коррелирует с транспозиционной активностью МЭ, т.е. рРНК-система неоптимально адаптирована к защите генома от МЭ [122].

Усовершенствование быстро адаптируемой рРНК-системы, вероятно, ограничено её участием в ключевых регуляторных функциях, что создаёт конфликт между МЭ и геномом. Можно предположить, что механизмы, приводящие к уменьшению числа копий эгоистичных МЭ, отрицательно влияют на критические клеточные функции, выполняемые одомашненными МЭ, и именно эта связь обеспечивает выживание эгоистичных МЭ в геноме. Каков механизм этого геномного компромисса? Мы думаем, что часть ответа можно найти в ретротранспозонном происхождении теломер и теломеразы. Активация МЭ в развитии совпадает с перепрограммированием генома, стиранием эпигенетических меток и удлинением теломер. У *Drosophila* двойственная роль рРНК-системы в поддержании целостности теломер и репрессии МЭ обусловлена природой теломер, которые образованы ретротранспозонами. Однако теломеразу также можно рассматривать как специализированный ретроэлемент, который унаследовал функциональную связь с ретротранспозонами, населяющими геном. Таким образом, мы приходим к выводу, что защитные механизмы могут лишь частично подавить активность эгоистичных МЭ, будучи сбалансированы для выполнения жизненно важных функций, например, связанных с поддержанием теломер. Однако нет худа без добра — растущий объём данных указывает на огромный вклад одомашненных МЭ в разнообразие регуляторных механизмов, которые в конечном итоге приносят эволюционные преимущества геному хозяина.

Вклад авторов. А.И. Калмыкова — концепция и написание текста статьи; О.А. Соколова — написание и редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-24-00025, рук. О.А. Соколова).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fueyo, R., Judd, J., Feschotte, C., and Wysocka, J. (2022) Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **23**, 481-497, doi: 10.1038/s41580-022-00457-y.
2. Modzelewski, A. J., Gan Chong, J., Wang, T., and He, L. (2022) Mammalian genome innovation through transposon domestication, *Nat. Cell Biol.*, **24**, 1332-1340, doi: 10.1038/s41556-022-00970-4.

3. Almojil, D., Bourgeois, Y., Falis, M., Hariyani, I., Wilcox, J., and Boissinot, S. (2021) The structural, functional and evolutionary impact of transposable elements in eukaryotes, *Genes (Basel)*, **12**, 918, doi: 10.3390/genes12060918.
4. Nishihara, H. (2020) Transposable elements as genetic accelerators of evolution: contribution to genome size, gene regulatory network rewiring and morphological innovation, *Genes Genet. Syst.*, **94**, 269-281, doi: 10.1266/ggs.19-00029.
5. Hartley, G., and O'Neill, R. J. (2019) Centromere repeats: hidden gems of the genome, *Genes (Basel)*, **10**, 223, doi: 10.3390/genes10030223.
6. Chang, C. H., Chavan, A., Palladino, J., Wei, X., Martins, N. M. C., Santinello, B., Chen, C. C., Erceg, J., Beliveau, B. J., Wu, C. T., Larracuenta, A. M., and Mellone, B. G. (2019) Islands of retroelements are major components of *Drosophila* centromeres, *PLoS Biol.*, **17**, e3000241, doi: 10.1371/journal.pbio.3000241.
7. Chueh, A. C., Northrop, E. L., Brettingham-Moore, K. H., Choo, K. H., and Wong, L. H. (2009) LINE retrotransposon RNA is an essential structural and functional epigenetic component of a core neocentromeric chromatin, *PLoS Genet.*, **5**, e1000354, doi: 10.1371/journal.pgen.1000354.
8. Nelson, J. O., Slicko, A., and Yamashita, Y. M. (2023) The retrotransposon R2 maintains *Drosophila* ribosomal DNA repeats, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **120**, e2221613120, doi: 10.1073/pnas.2221613120.
9. Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides [in Russian], *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **201**, 1496-1499.
10. Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
11. Blackburn, E. H. (1992) Telomerases, *Annu. Rev. Biochem.*, **61**, 113-129, doi: 10.1146/annurev.bi.61.070192.000553.
12. Garavis, M., Gonzalez, C., and Villasante, A. (2013) On the origin of the eukaryotic chromosome: the role of noncanonical DNA structures in telomere evolution, *Genome Biol. Evol.*, **5**, 1142-1150, doi: 10.1093/gbe/evt079.
13. Gladyshev, E. A., and Arkhipova, I. R. (2007) Telomere-associated endonuclease-deficient *Penelope*-like retroelements in diverse eukaryotes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 9352-9357, doi: 10.1073/pnas.0702741104.
14. Nakamura, T. M., and Cech, T. R. (1998) Reversing time: origin of telomerase, *Cell*, **92**, 587-590, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81123-x.
15. Eickbush, T. H. (1997) Telomerase and retrotransposons: which came first? *Science*, **277**, 911-912, doi: 10.1126/science.277.5328.911.
16. Kordyukova, M., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2018) Transposon control mechanisms in telomere biology, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **49**, 56-62, doi: 10.1016/j.gde.2018.03.002.
17. Morrish, T. A., Garcia-Perez, J. L., Stamato, T. D., Taccioli, G. E., Sekiguchi, J., and Moran, J. V. (2007) Endonuclease-independent LINE-1 retrotransposition at mammalian telomeres, *Nature*, **446**, 208-212, doi: 10.1038/nature05560.
18. Roth, C. W., Kobeski, F., Walter, M. F., and Biessmann, H. (1997) Chromosome end elongation by recombination in the mosquito *Anopheles gambiae*, *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 5176-5183, doi: 10.1128/MCB.17.9.5176.
19. Compton, A., Liang, J., Chen, C., Lukyanchikova, V., Qi, Y., Potters, M., Settlege, R., Miller, D., Deschamps, S., Mao, C., Llaca, V., Sharakhov, I. V., and Tu, Z. (2020) The beginning of the end: a chromosomal assembly of the new world malaria mosquito ends with a novel telomere, *G3 (Bethesda)*, **10**, 3811-3819, doi: 10.1534/g3.120.401654.
20. Mason, J. M., Randall, T. A., and Capkova Frydrychova, R. (2016) Telomerase lost? *Chromosoma*, **125**, 65-73, doi: 10.1007/s00412-015-0528-7.
21. Pardue, M. L., and DeBaryshe, P. G. (2008) *Drosophila* telomeres: a variation on the telomerase theme, *Fly*, **2**, 101-110, doi: 10.4161/fly.6393.
22. Casacuberta, E. (2017) *Drosophila*: retrotransposons making up telomeres, *Viruses*, **9**, 192, doi: 10.3390/v9070192.
23. Fujiwara, H., Osanai, M., Matsumoto, T., and Kojima, K. K. (2005) Telomere-specific non-LTR retrotransposons and telomere maintenance in the silkworm, *Bombyx mori*, *Chromosome Res.*, **13**, 455-467, doi: 10.1007/s10577-005-0990-9.
24. Guerra, M., Kenton, A., and Bennett, M. D. (1996) rDNA sites in mitotic and polytene chromosomes of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. and *Phaseolus coccineus* L. revealed by *in situ* hybridization, *Ann. Botany*, **78**, 157-161, doi: 10.1006/anbo.1996.0108.
25. Iwata-Otsubo, A., Lin, J. Y., Gill, N., and Jackson, S. A. (2016) Highly distinct chromosomal structures in cowpea (*Vigna unguiculata*), as revealed by molecular cytogenetic analysis, *Chromosome Res.*, **24**, 197-216, doi: 10.1007/s10577-015-9515-3.
26. Zhimulev, I. F. (1996) Morphology and structure of polytene chromosomes, *Adv. Genet.*, **34**, 1-497, doi: 10.1016/s0065-2660(08)60533-7.
27. Jedlicka, P., Tokan, V., Kejnovska, I., Hobza, R., and Kejnovsky, E. (2023) Telomeric retrotransposons show propensity to form G-quadruplexes in various eukaryotic species, *Mob. DNA*, **14**, 3, doi: 10.1186/s13100-023-00291-9.
28. Wells, J. N., and Feschotte, C. (2020) A field guide to eukaryotic transposable elements, *Annu. Rev. Genet.*, **54**, 539-561, doi: 10.1146/annurev-genet-040620-022145.

29. Merel, V., Boulesteix, M., Fablet, M., and Vieira, C. (2020) Transposable elements in *Drosophila*, *Mob. DNA*, **11**, 23, doi: 10.1186/s13100-020-00213-z.
30. Anwar, S. L., Wulaningsih, W., and Lehmann, U. (2017) Transposable elements in human cancer: causes and consequences of deregulation, *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, 974, doi: 10.3390/ijms18050974.
31. Huang, C. R., Burns, K. H., and Boeke, J. D. (2012) Active transposition in genomes, *Annu. Rev. Genet.*, **46**, 651-675, doi: 10.1146/annurev-genet-110711-155616.
32. Lomberk, G., Wallrath, L., and Urrutia, R. (2006) The heterochromatin protein 1 family, *Genome Biol.*, **7**, 228, doi: 10.1186/gb-2006-7-7-228.
33. Lyko, F. (2018) The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation, *Nat. Rev. Genet.*, **19**, 81-92, doi: 10.1038/nrg.2017.80.
34. Ecco, G., Cassano, M., Kauzlaric, A., Duc, J., Coluccio, A., Offner, S., Imbeault, M., Rowe, H. M., Turelli, P., and Trono, D. (2016) Transposable elements and their KRAB-ZFP controllers regulate gene expression in adult tissues, *Dev. Cell*, **36**, 611-623, doi: 10.1016/j.devcel.2016.02.024.
35. Yang, P., Wang, Y., and Macfarlan, T. S. (2017) The role of KRAB-ZFPs in transposable element repression and mammalian evolution, *Trends Genet.*, **33**, 871-881, doi: 10.1016/j.tig.2017.08.006.
36. Czech, B., Munafo, M., Ciabrelli, F., Eastwood, E. L., Fabry, M. H., Kneuss, E., and Hannon, G. J. (2018) piRNA-guided genome defense: from biogenesis to silencing, *Annu. Rev. Genet.*, **52**, 131-157, doi: 10.1146/annurev-genet-120417-031441.
37. Ozata, D. M., Gainetdinov, I., Zoch, A., O'Carroll, D., and Zamore, P. D. (2019) PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions, *Nat. Rev. Genet.*, **20**, 89-108, doi: 10.1038/s41576-018-0073-3.
38. Andreev, V. I., Yu, C., Wang, J., Schnabl, J., Tirian, L., Gehre, M., Handler, D., Duchek, P., Novatchkova, M., Baumgartner, L., Meixner, K., Sienski, G., Patel, D. J., and Brennecke, J. (2022) Panoramix SUMOylation on chromatin connects the piRNA pathway to the cellular heterochromatin machinery, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **29**, 130-142, doi: 10.1038/s41594-022-00721-x.
39. Brennecke, J., Aravin, A. A., Stark, A., Dus, M., Kellis, M., Sachidanandam, R., and Hannon, G. J. (2007) Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*, *Cell*, **128**, 1089-1103, doi: 10.1016/j.cell.2007.01.043.
40. Aravin, A., Gaidatzis, D., Pfeffer, S., Lagos-Quintana, M., Landgraf, P., Iovino, N., Morris, P., Brownstein, M. J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Chien, M., Russo, J. J., Ju, J., Sheridan, R., Sander, C., Zavolan, M., and Tuschl, T. (2006) A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes, *Nature*, **442**, 203-207, doi: 10.1038/nature04916.
41. Sarot, E., Payen-Groschene, G., Bucheton, A., and Pelisson, A. (2004) Evidence for a piwi-dependent RNA silencing of the gypsy endogenous retrovirus by the *Drosophila melanogaster* flamenco gene, *Genetics*, **166**, 1313-1321, doi: 10.1534/genetics.166.3.1313.
42. Aguiar, E., de Almeida, J. P. P., Queiroz, L. R., Oliveira, L. S., Olmo, R. P., de Faria, I., Imler, J. L., Gruber, A., Matthews, B. J., and Marques, J. T. (2020) A single unidirectional piRNA cluster similar to the *flamenco* locus is the major source of EVE-derived transcription and small RNAs in *Aedes aegypti* mosquitoes, *RNA*, **26**, 581-594, doi: 10.1261/rna.073965.119.
43. Rozhkov, N. V., Zelentsova, E. S., Shostak, N. G., and Evgen'ev, M. B. (2011) Expression of *Drosophila virilis* retroelements and role of small RNAs in their intrastrain transposition, *PLoS One*, **6**, e21883, doi: 10.1371/journal.pone.0021883.
44. Van Lopik, J., Alizada, A., Trapotsi, M. A., Hannon, G. J., Bornelöv, S., and Czech Nicholson, B. (2023) Unistrand piRNA clusters are an evolutionarily conserved mechanism to suppress endogenous retroviruses across the *Drosophila* genus, *Nat Commun.*, **14**, 7337, doi: 10.1038/s41467-023-42787-1.
45. Aravin, A. A., Sachidanandam, R., Bourc'his, D., Schaefer, C., Pezic, D., Toth, K. F., Bestor, T., and Hannon, G. J. (2008) A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice, *Mol. Cell*, **31**, 785-799, doi: 10.1016/j.molcel.2008.09.003.
46. Andersen, P. R., Tirian, L., Vunjak, M., and Brennecke, J. (2017) A heterochromatin-dependent transcription machinery drives piRNA expression, *Nature*, **549**, 54-59, doi: 10.1038/nature23482.
47. Sato, K., and Siomi, M. C. (2020) The piRNA pathway in *Drosophila* ovarian germ and somatic cells, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.*, **96**, 32-42, doi: 10.2183/pjab.96.003.
48. Khurana, J. S., Wang, J., Xu, J., Koppetsch, B. S., Thomson, T. C., Nowosielska, A., Li, C., Zamore, P. D., Weng, Z., and Theurkauf, W. E. (2011) Adaptation to P element transposon invasion in *Drosophila melanogaster*, *Cell*, **147**, 1551-1563, doi: 10.1016/j.cell.2011.11.042.
49. Shpiz, S., Ryazansky, S., Olovnikov, I., Abramov, Y., and Kalmykova, A. (2014) Euchromatic transposon insertions trigger production of novel Pi- and endo-siRNAs at the target sites in the *Drosophila* germline, *PLoS Genet.*, **10**, e1004138, doi: 10.1371/journal.pgen.1004138.
50. Speck, M. (2001) Antisense promoter of human L1 retrotransposon drives transcription of adjacent cellular genes, *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 1973-1985, doi: 10.1128/MCB.21.6.1973-1985.2001.
51. Yang, N., and Kazazian, H. H., Jr. (2006) L1 retrotransposition is suppressed by endogenously encoded small interfering RNAs in human cultured cells, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **13**, 763-771, doi: 10.1038/nsmb1141.

52. Komarov, P. A., Sokolova, O., Akulenko, N., Brassat, E., Jensen, S., and Kalmykova, A. (2020) Epigenetic requirements for triggering heterochromatinization and Piwi-interacting RNA production from transgenes in the *Drosophila* germline, *Cells*, **9**, 922, doi: 10.3390/cells9040922.
53. De Vanssay, A., Bouge, A. L., Boivin, A., Hermant, C., Teyssset, L., Delmarre, V., Antoniewski, C., and Ronsseray, S. (2012) Paramutation in *Drosophila* linked to emergence of a piRNA-producing locus, *Nature*, **490**, 112-115, doi: 10.1038/nature11416.
54. Josse, T., Teyssset, L., Todeschini, A. L., Sidor, C. M., Anxolabehere, D., and Ronsseray, S. (2007) Telomeric trans-silencing: an epigenetic repression combining RNA silencing and heterochromatin formation, *PLoS Genet.*, **3**, 1633-1643, doi: 10.1371/journal.pgen.0030158.
55. Muerdter, F., Olovnikov, I., Molaro, A., Rozhkov, N. V., Czech, B., Gordon, A., Hannon, G. J., and Aravin, A. A. (2012) Production of artificial piRNAs in flies and mice, *RNA*, **18**, 42-52, doi: 10.1261/rna.029769.111.
56. Akulenko, N., Ryazansky, S., Morgunova, V., Komarov, P. A., Olovnikov, I., Vauray, C., Jensen, S., and Kalmykova, A. (2018) Transcriptional and chromatin changes accompanying de novo formation of transgenic piRNA clusters, *RNA*, **24**, 574-584, doi: 10.1261/rna.062851.117.
57. Olovnikov, I., Ryazansky, S., Shpiz, S., Lavrov, S., Abramov, Y., Vauray, C., Jensen, S., and Kalmykova, A. (2013) De novo piRNA cluster formation in the *Drosophila* germ line triggered by transgenes containing a transcribed transposon fragment, *Nucleic Acids Res.*, **41**, 5757-5768, doi: 10.1093/nar/gkt310.
58. Gebert, D., Neubert, L. K., Lloyd, C., Gui, J., Lehmann, R., and Teixeira, F. K. (2021) Large *Drosophila* germline piRNA clusters are evolutionarily labile and dispensable for transposon regulation, *Mol. Cell*, **81**, 3965-3978, doi: 10.1016/j.molcel.2021.07.011.
59. Brennecke, J., Malone, C. D., Aravin, A. A., Sachidanandam, R., Stark, A., and Hannon, G. J. (2008) An epigenetic role for maternally inherited piRNAs in transposon silencing, *Science*, **322**, 1387-1392, doi: 10.1126/science.1165171.
60. Blumenstiel, J. P. (2019) Birth, school, work, death, and resurrection: the life stages and dynamics of transposable element proliferation, *Genes (Basel)*, **10**, 336, doi: 10.3390/genes10050336.
61. Wallau, G. L., Vieira, C., and Loreto, E. L. S. (2018) Genetic exchange in eukaryotes through horizontal transfer: connected by the mobilome, *Mob. DNA*, **9**, 6, doi: 10.1186/s13100-018-0112-9.
62. Jensen, S., Gassama, M. P., and Heidmann, T. (1999) Taming of transposable elements by homology-dependent gene silencing, *Nat. Genet.*, **21**, 209-212, doi: 10.1038/5997.
63. Kordyukova, M., Sokolova, O., Morgunova, V., Ryazansky, S., Akulenko, N., Glukhov, S., and Kalmykova, A. (2020) Nuclear Ccr4-Not mediates the degradation of telomeric and transposon transcripts at chromatin in the *Drosophila* germline, *Nucleic Acids Res.*, **48**, 141-156, doi: 10.1093/nar/gkz1072.
64. Collart, M. A., and Panasenko, O. O. (2012) The Ccr4-Not complex, *Gene*, **492**, 42-53, doi: 10.1016/j.gene.2011.09.033.
65. Rozhkov, N. V., Hammell, M., and Hannon, G. J. (2013) Multiple roles for Piwi in silencing *Drosophila* transposons, *Genes Dev.*, **27**, 400-412, doi: 10.1101/gad.209767.112.
66. Shpiz, S., Olovnikov, I., Sergeeva, A., Lavrov, S., Abramov, Y., Savitsky, M., and Kalmykova, A. (2011) Mechanism of the piRNA-mediated silencing of *Drosophila* telomeric retrotransposons, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 8703-8711, doi: 10.1093/nar/gkr552.
67. Sienski, G., Donertas, D., and Brennecke, J. (2012) Transcriptional silencing of transposons by piwi and maelstrom and its impact on chromatin state and gene expression, *Cell*, **151**, 964-980, doi: 10.1016/j.cell.2012.10.040.
68. Akkouche, A., Mugat, B., Barckmann, B., Varela-Chavez, C., Li, B., Raffel, R., Pelisson, A., and Chambeyron, S. (2017) Piwi is required during *Drosophila* embryogenesis to license dual-strand piRNA clusters for transposon repression in adult ovaries, *Mol. Cell*, **66**, 411-419, doi: 10.1016/j.molcel.2017.03.017.
69. Gunawardane, L. S., Saito, K., Nishida, K. M., Miyoshi, K., Kawamura, Y., Nagami, T., Siomi, H., and Siomi, M. C. (2007) A slicer-mediated mechanism for repeat-associated siRNA 5' end formation in *Drosophila*, *Science*, **315**, 1587-1590, doi: 10.1126/science.1140494.
70. Han, B. W., Wang, W., Li, C., Weng, Z., and Zamore, P. D. (2015) Noncoding RNA. piRNA-guided transposon cleavage initiates Zucchini-dependent, phased piRNA production, *Science*, **348**, 817-821, doi: 10.1126/science.aaa1264.
71. Mohn, F., Handler, D., and Brennecke, J. (2015) Non-coding RNA. piRNA-guided slicing specifies transcripts for Zucchini-dependent, phased piRNA biogenesis, *Science*, **348**, 812-817, doi: 10.1126/science.aaa1039.
72. Lewis, S. H., Salmela, H., and Obbard, D. J. (2016) Duplication and diversification of dipteran argonaute genes, and the evolutionary divergence of Piwi and aubergine, *Genome Biol. Evol.*, **8**, 507-518, doi: 10.1093/gbe/evw018.
73. Parhad, S. S., Tu, S., Weng, Z., and Theurkauf, W. E. (2017) Adaptive evolution leads to cross-species incompatibility in the piRNA transposon silencing machinery, *Dev. Cell*, **43**, 60-70 e65, doi: 10.1016/j.devcel.2017.08.012.
74. Vermaak, D., Henikoff, S., and Malik, H. S. (2005) Positive selection drives the evolution of *rhino*, a member of the heterochromatin protein 1 family

- in *Drosophila*, *PLoS Genet.*, **1**, 96-108, doi: 10.1371/journal.pgen.0010009.
75. Savitsky, M., Kwon, D., Georgiev, P., Kalmykova, A., and Gvozdev, V. (2006) Telomere elongation is under the control of the RNAi-based mechanism in the *Drosophila* germline, *Genes Dev.*, **20**, 345-354, doi: 10.1101/gad.370206.
 76. Danilevskaya, O. N., Traverse, K. L., Hogan, N. C., DeBaryshe, P. G., and Pardue, M. L. (1999) The two *Drosophila* telomeric transposable elements have very different patterns of transcription, *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 873-881, doi: 10.1128/MCB.19.1.873.
 77. Maxwell, P. H., Belote, J. M., and Levis, R. W. (2006) Identification of multiple transcription initiation, polyadenylation, and splice sites in the *Drosophila melanogaster* TART family of telomeric retrotransposons, *Nucleic Acids Res.*, **34**, 5498-5507, doi: 10.1093/nar/gkl709.
 78. Radion, E., Ryazansky, S., Akulenko, N., Rozovsky, Y., Kwon, D., Morgunova, V., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2017) Telomeric retrotransposon *HeT-A* contains a bidirectional promoter that initiates divergent transcription of piRNA precursors in *Drosophila* germline, *J. Mol. Biol.*, **429**, 3280-3289, doi: 10.1016/j.jmb.2016.12.002.
 79. Shpiz, S., Kwon, D., Rozovsky, Y., and Kalmykova, A. (2009) rasiRNA pathway controls antisense expression of *Drosophila* telomeric retrotransposons in the nucleus, *Nucleic Acids Res.*, **37**, 268-278, doi: 10.1093/nar/gkn960.
 80. Tatsuke, T., Sakashita, K., Masaki, Y., Lee, J. M., Kawaguchi, Y., and Kusakabe, T. (2010) The telomere-specific non-LTR retrotransposons SART1 and TRAS1 are suppressed by Piwi subfamily proteins in the silkworm, *Bombyx mori*, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **15**, 118-133, doi: 10.2478/s11658-009-0038-9.
 81. Radion, E., Morgunova, V., Ryazansky, S., Akulenko, N., Lavrov, S., Abramov, Y., Komarov, P. A., Glukhov, S. I., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2018) Key role of piRNAs in telomeric chromatin maintenance and telomere nuclear positioning in *Drosophila* germline, *Epigenetics Chromatin*, **11**, 40, doi: 10.1186/s13072-018-0210-4.
 82. Wagner, E., Clement, S. L., and Lykke-Andersen, J. (2007) An unconventional human Ccr4-Caf1 deadenylase complex in nuclear Cajal bodies, *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 1686-1695, doi: 10.1128/MCB.01483-06.
 83. Ryazansky, S., Radion, E., Mironova, A., Akulenko, N., Abramov, Y., Morgunova, V., Kordyukova, M. Y., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2017) Natural variation of piRNA expression affects immunity to transposable elements, *PLoS Genet.*, **13**, e1006731, doi: 10.1371/journal.pgen.1006731.
 84. Maupetit-Mehouas, S., and Vauray, C. (2020) Transposon reactivation in the germline may be useful for both transposons and their host genomes, *Cells*, **9**, 1172, doi: 10.3390/cells9051172.
 85. Dufourt, J., Dennis, C., Boivin, A., Gueguen, N., Theron, E., Goriaux, C., Pouchin, P., Ronsseray, S., Brasset, E., and Vauray, C. (2014) Spatio-temporal requirements for transposable element piRNA-mediated silencing during *Drosophila* oogenesis, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 2512-2524, doi: 10.1093/nar/gkt1184.
 86. Theron, E., Maupetit-Mehouas, S., Pouchin, P., Baudet, L., Brasset, E., and Vauray, C. (2018) The interplay between the Argonaute proteins Piwi and Aub within *Drosophila* germline is critical for oogenesis, piRNA biogenesis and TE silencing, *Nucleic acids Res.*, **46**, 10052-10065, doi: 10.1093/nar/gky695.
 87. Kordyukova, M., Morgunova, V., Olovnikov, I., Komarov, P. A., Mironova, A., Olenkina, O. M., and Kalmykova, A. (2018) Subcellular localization and Egl-mediated transport of telomeric retrotransposon *HeT-A* ribonucleoprotein particles in the *Drosophila* germline and early embryogenesis, *PLoS One*, **13**, e0201787, doi: 10.1371/journal.pone.0201787.
 88. Sokolova, O., Morgunova, V., Sizova, T. V., Komarov, P. A., Olenkina, O. M., Babaev, D. S., Mikhaleva, E. A., Kwon, D. A., Erokhin, M., and Kalmykova, A. (2023) The insulator BEAF32 controls the spatial-temporal expression profile of the telomeric retrotransposon *TART* in the *Drosophila* germline, *Development*, **150**, dev201678, doi: 10.1242/dev.201678.
 89. Zhang, L., Beaucher, M., Cheng, Y., and Rong, Y. S. (2014) Coordination of transposon expression with DNA replication in the targeting of telomeric retrotransposons in *Drosophila*, *EMBO J.*, **33**, 1148-1158, doi: 10.1002/embj.201386940.
 90. Rashkova, S., Karam, S. E., Kellum, R., and Pardue, M. L. (2002) Gag proteins of the two *Drosophila* telomeric retrotransposons are targeted to chromosome ends, *J. Cell Biol.*, **159**, 397-402, doi: 10.1083/jcb.200205039.
 91. Lopez-Panades, E., Gavis, E. R., and Casacuberta, E. (2015) Specific localization of the *Drosophila* telomere transposon proteins and RNAs, give insight in their behavior, control and telomere biology in this organism, *PLoS One*, **10**, e0128573, doi: 10.1371/journal.pone.0128573.
 92. Lepesant, J. M. J., Iampietro, C., Galeota, E., Auge, B., Aguirrenbengoa, M., Merce, C., Chaubet, C., Rocher, V., Haenlin, M., Waltzer, L., Pelizzola, M., and Di Stefano, L. (2020) A dual role of dLsd1 in oogenesis: regulating developmental genes and repressing transposons, *Nucleic Acids Res.*, **48**, 1206-1224, doi: 10.1093/nar/gkz1142.
 93. Yang, F., Quan, Z., Huang, H., He, M., Liu, X., Cai, T., and Xi, R. (2019) Ovaries absent links dLsd1 to HP1a for local H3K4 demethylation required for heterochromatic gene silencing, *Elife*, **8**, e40806, doi: 10.7554/eLife.40806.
 94. Sienski, G., Batki, J., Senti, K. A., Donertas, D., Tirian, L., Meixner, K., and Brennecke, J. (2015) Silencio/CG9754 connects the Piwi-piRNA complex

- to the cellular heterochromatin machinery, *Genes Dev.*, **29**, 2258-2271, doi: 10.1101/gad.271908.115.
95. Penke, T. J., McKay, D. J., Strahl, B. D., Matera, A. G., and Duronio, R. J. (2016) Direct interrogation of the role of H3K9 in metazoan heterochromatin function, *Genes Dev.*, **30**, 1866-1880, doi: 10.1101/gad.286278.116.
 96. Teo, R. Y. W., Anand, A., Sridhar, V., Okamura, K., and Kai, T. (2018) Heterochromatin protein 1a functions for piRNA biogenesis predominantly from pericentric and telomeric regions in *Drosophila*, *Nat. Commun.*, **9**, 1735, doi: 10.1038/s41467-018-03908-3.
 97. Wang, S. H., and Elgin, S. C. (2011) *Drosophila* Piwi functions downstream of piRNA production mediating a chromatin-based transposon silencing mechanism in female germ line, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 21164-21169, doi: 10.1073/pnas.1107892109.
 98. Savitsky, M., Kravchuk, O., Melnikova, L., and Georgiev, P. (2002) Heterochromatin protein 1 is involved in control of telomere elongation in *Drosophila melanogaster*, *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 3204-3218, doi: 10.1128/MCB.22.9.3204-3218.2002.
 99. Molaro, A., Falcatori, I., Hodges, E., Aravin, A. A., Marran, K., Rafii, S., McCombie, W. R., Smith, A. D., and Hannon, G. J. (2014) Two waves of de novo methylation during mouse germ cell development, *Genes Dev.*, **28**, 1544-1549, doi: 10.1101/gad.244350.114.
 100. Zoch, A., Auchynnikava, T., Berrens, R. V., Kabayama, Y., Schopp, T., Heep, M., Vasiliauskaite, L., Perez-Rico, Y. A., Cook, A. G., Shkumatava, A., Rappsilber, J., Allshire, R. C., and O'Carroll, D. (2020) SPOCD1 is an essential executor of piRNA-directed *de novo* DNA methylation, *Nature*, **584**, 635-639, doi: 10.1038/s41586-020-2557-5.
 101. Zeng, Y., and Chen, T. (2019) DNA methylation reprogramming during mammalian development, *Genes (Basel)*, **10**, 257, doi: 10.3390/genes10040257.
 102. Shirane, K., Kurimoto, K., Yabuta, Y., Yamaji, M., Satoh, J., Ito, S., Watanabe, A., Hayashi, K., Saitou, M., and Sasaki, H. (2016) Global landscape and regulatory principles of DNA methylation reprogramming for germ cell specification by mouse pluripotent stem cells, *Dev. Cell*, **39**, 87-103, doi: 10.1016/j.devcel.2016.08.008.
 103. Kohlrausch, F. B., Berteli, T. S., Wang, F., Navarro, P. A., and Keefe, D. L. (2022) Control of LINE-1 expression maintains genome integrity in germline and early embryo development, *Reprod. Sci.*, **29**, 328-340, doi: 10.1007/s43032-021-00461-1.
 104. Akiyama, T., Xin, L., Oda, M., Sharov, A. A., Amano, M., Piao, Y., Cadet, J. S., Dudekula, D. B., Qian, Y., Wang, W., Ko, S. B., and Ko, M. S. (2015) Transient bursts of Zscan4 expression are accompanied by the rapid derepression of heterochromatin in mouse embryonic stem cells, *DNA Res.*, **22**, 307-318, doi: 10.1093/dnares/dsv013.
 105. Dan, J., Rousseau, P., Hardikar, S., Veland, N., Wong, J., Autexier, C., and Chen, T. (2017) Zscan4 inhibits maintenance DNA methylation to facilitate telomere elongation in mouse embryonic stem cells, *Cell Rep.*, **20**, 1936-1949, doi: 10.1016/j.celrep.2017.07.070.
 106. Zalzman, M., Falco, G., Sharova, L. V., Nishiyama, A., Thomas, M., Lee, S. L., Stagg, C. A., Hoang, H. G., Yang, H. T., Indig, F. E., Wersto, R. P., and Ko, M. S. (2010) Zscan4 regulates telomere elongation and genomic stability in ES cells, *Nature*, **464**, 858-863, doi: 10.1038/nature08882.
 107. Thool, M., Sundaravadivelu, P. K., Sudhagar, S., and Thummer, R. P. (2022) A comprehensive review on the role of ZSCAN4 in embryonic development, stem cells, and cancer, *Stem Cell Rev. Rep.*, **18**, 2740-2756, doi: 10.1007/s12015-022-10412-1.
 108. Dan, J., Zhou, Z., Wang, F., Wang, H., Guo, R., Keefe, D. L., and Liu, L. (2022) Zscan4 contributes to telomere maintenance in telomerase-deficient late generation mouse ESCs and human ALT cancer cells, *Cells*, **11**, 456, doi: 10.3390/cells11030456.
 109. Peaston, A. E., Evsikov, A. V., Graber, J. H., de Vries, W. N., Holbrook, A. E., Solter, D., and Knowles, B. B. (2004) Retrotransposons regulate host genes in mouse oocytes and preimplantation embryos, *Dev. Cell.*, **7**, 597-606, doi: 10.1016/j.devcel.2004.09.004.
 110. Kigami, D., Minami, N., Takayama, H., and Imai, H. (2003) MuERV-L is one of the earliest transcribed genes in mouse one-cell embryos, *Biol. Reprod.*, **68**, 651-654, doi: 10.1095/biolreprod.102.007906.
 111. Fadloun, A., Le Gras, S., Jost, B., Ziegler-Birling, C., Takahashi, H., Gorab, E., Carninci, P., and Torres-Padilla, M. E. (2013) Chromatin signatures and retrotransposon profiling in mouse embryos reveal regulation of LINE-1 by RNA, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **20**, 332-338, doi: 10.1038/nsmb.2495.
 112. Eckersley-Maslin, M. A., Svensson, V., Krueger, C., Stubbs, T. M., Giehr, P., Krueger, F., Miragaia, R. J., Kyriakopoulos, C., Berrens, R. V., Milagre, I., Walter, J., Teichmann, S. A., and Reik, W. (2016) MERV1/Zscan4 network activation results in transient genome-wide DNA demethylation of mESCs, *Cell Rep.*, **17**, 179-192, doi: 10.1016/j.celrep.2016.08.087.
 113. Wang, F., Chamani, I. J., Luo, D., Chan, K., Navarro, P. A., and Keefe, D. L. (2021) Inhibition of LINE-1 retrotransposition represses telomere reprogramming during mouse 2-cell embryo development, *J. Assist. Reprod. Genet.*, **38**, 3145-3153, doi: 10.1007/s10815-021-02331-w.
 114. Percharde, M., Lin, C. J., Yin, Y., Guan, J., Peixoto, G. A., Bulut-Karslioglu, A., Biechele, S., Huang, B., Shen, X., and Ramalho-Santos, M. (2018) A LINE1-nucleolin partnership regulates early development and ESC identity, *Cell*, **174**, 391-405, doi: 10.1016/j.cell.2018.05.043.
 115. Macfarlan, T. S., Gifford, W. D., Driscoll, S., Lettieri, K., Rowe, H. M., Bonanomi, D., Firth, A.,

- Singer, O., Trono, D., and Pfaff, S. L. (2012) Embryonic stem cell potency fluctuates with endogenous retrovirus activity, *Nature*, **487**, 57-63, doi: 10.1038/nature11244.
116. Ghosh, S., and Zhou, Z. (2014) Genetics of aging, progeria and lamin disorders, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **26**, 41-46, doi: 10.1016/j.gde.2014.05.003.
117. Gorbunova, V., Seluanov, A., Mita, P., McKerrow, W., Fenyo, D., Boeke, J. D., Linker, S. B., Gage, F. H., Kreiling, J. A., Petrashen, A. P., Woodham, T. A., Taylor, J. R., Helfand, S. L., and Sedivy, J. M. (2021) The role of retrotransposable elements in ageing and age-associated diseases, *Nature*, **596**, 43-53, doi: 10.1038/s41586-021-03542-y.
118. Aschacher, T., Wolf, B., Enzmann, F., Kienzl, P., Messner, B., Sampl, S., Svoboda, M., Mechtcheriakova, D., Holzmann, K., and Bergmann, M. (2016) LINE-1 induces hTERT and ensures telomere maintenance in tumour cell lines, *Oncogene*, **35**, 94-104, doi: 10.1038/onc.2015.65.
119. Aschacher, T., Wolf, B., Aschacher, O., Enzmann, F., Laszlo, V., Messner, B., Turkcan, A., Weis, S., Spiegel-Kreinecker, S., Holzmann, K., Laufer, G., Ehrlich, M., and Bergmann, M. (2020) Long interspersed element-1 ribonucleoprotein particles protect telomeric ends in alternative lengthening of telomeres dependent cells, *Neoplasia*, **22**, 61-75, doi: 10.1016/j.neo.2019.11.002.
120. Cosby, R. L., Chang, N. C., and Feschotte, C. (2019) Host-transposon interactions: conflict, cooperation, and cooption, *Genes Dev.*, **33**, 1098-1116, doi: 10.1101/gad.327312.119.
121. Charlesworth, B., and Langley, C. H. (1989) The population genetics of *Drosophila* transposable elements, *Annu. Rev. Genet.*, **23**, 251-287, doi: 10.1146/annurev.ge.23.120189.001343.
122. Kelleher, E. S., and Barbash, D. A. (2013) Analysis of piRNA-mediated silencing of active TEs in *Drosophila melanogaster* suggests limits on the evolution of host genome defense, *Mol. Biol. Evol.*, **30**, 1816-1829, doi: 10.1093/molbev/mst081.

RETROTRANSPOSONS AND TELOMERES

Review

A. I. Kalmykova* and O. A. Sokolova

*Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences,
119334 Moscow, Russia; e-mail: allakalm@idbras.ru*

Transposable elements (TEs) comprise a significant part of eukaryotic genomes being a major source of genome instability and mutagenesis. Cellular defense systems suppress the TE expansion at all stages of their life cycle. Piwi proteins and Piwi-interacting RNAs (piRNAs) are key elements of the anti-transposon defense system, which control TE activity in metazoan gonads preventing inheritable transpositions and developmental defects. In this review, we discuss various regulatory mechanisms by which small RNAs combat TE activity. However, active transposons persist, suggesting these powerful anti-transposon defense mechanisms have a limited capacity. A growing body of evidence suggests that increased TE activity coincides with genome reprogramming and telomere lengthening in different species. In the *Drosophila* fruit fly, whose telomeres consist only of retrotransposons, a piRNA-mediated mechanism is required for telomere maintenance and their length control. Therefore, the efficacy of protective mechanisms must be finely balanced in order not only to suppress the activity of transposons, but also to maintain the proper length and stability of telomeres. Structural and functional relationship between the telomere homeostasis and LINE1 retrotransposon in human cells indicates a close link between selfish TEs and the vital structure of the genome, telomeres. This relationship, which permits the retention of active TEs in the genome, is reportedly a legacy of the retrotransposon origin of telomeres. The maintenance of telomeres and the execution of other crucial roles that TEs acquired during the process of their domestication in the genome serve as a type of payment for such a "service."

Keywords: retrotransposons, telomeres, telomerase, polyploidy, Piwi, piRNA, germline, chromatin, LINE1, *Drosophila*