

Аллель-специфическая экспрессия генов при канцерогенезе

О.М. Кривцова^{1,2}, Н.Л. Лазаревич^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт канцерогенеза ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24;

²Биологический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119234, Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр. 12

Контакты: Наталия Леонидовна Лазаревич lazarevich.nl@gmail.com

В результате масштабных исследований человеческого генома, проведенных в последние годы, было установлено наличие в геномах здоровых индивидов множества вариантов последовательностей ДНК, отличных от референсной последовательности. Среди этих вариантов, подавляющую часть которых составляют герминативные однонуклеотидные полиморфизмы, обнаруживают аллельные варианты, ассоциированные с развитием заболеваний, в том числе наследственных моногенных болезней, также регистрируются менее изученные потенциально патогенные варианты. Проявление таких вариантов в фенотипе зависит не только от функциональной значимости самой мутации и содержащего ее гена, но и от уровня экспрессии измененного аллеля и может быть обусловлено преобладанием экспрессии одного аллеля гена над другим, или аллель-специфической экспрессией.

По современным оценкам аллель-специфическая экспрессия затрагивает 20–30 % генов человека и носит тканеспецифичный характер. Аллель-специфическую экспрессию определяет действие ряда генетических и эпигенетических механизмов, включая цис-регуляторные полиморфизмы, аллель-специфическое связывание транскрипционных факторов, аллель-специфическое метилирование ДНК и регуляцию некодирующими РНК.

На сегодняшний день имеются данные о роли аллель-специфической экспрессии в развитии некоторых наследственных заболеваний, в том числе наследственных форм опухолей толстого кишечника. Результаты исследований последних лет, дающие приблизительную оценку распространенности этого явления в опухолях и определяющие широкий спектр проявляющих аллельный дисбаланс генов, указывают на то, что значение аллель-специфической экспрессии для развития опухолей, вероятно, недооценено. В перспективе оценка уровней экспрессии аллельных вариантов, приводящих к нарушению функции онкогенов или опухолевых супрессоров, может оказаться значимым фактором для выбора оптимальных схем противоопухолевой терапии.

В обзоре рассматриваются предпосылки к возникновению и механизмы аллель-специфической экспрессии, а также имеющиеся в литературе данные об аллельном дисбалансе в опухолях.

Ключевые слова: аллель-специфическая экспрессия, герминативные мутации, регуляция транскрипции, эпигенетические механизмы, однонуклеотидные полиморфизмы, канцерогенез, семейный аденоматозный полипоз, синдром Линча

DOI: 10.17650/2313-805X-2016-3-1-08-13

Allele-specific gene expression in carcinogenesis

O.M. Krivtsova^{1,2}, N.L. Lazarevich^{1,2}

¹Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia;

²Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University; Build. 12, 1 Leninsky Gory St., Moscow, 119234, Russia

Recent large-scale genomic studies established the occurrence of multiple DNA sequence variants in genomes of healthy individuals that differ from the reference sequence. Among these variants mostly represented by germline single nucleotide polymorphisms disease-related alleles are detected including alleles which are associated with monogenic disorders, and putative deleterious genetic variants. Apart from functional significance of a particular variant and of a gene harboring it, the penetrance of these allelic variants depends on their expression level and can be determined by preferential expression of a particular allele, or allele-specific expression. It is estimated that 20–30 % of genes present in the human genome display allelic bias in a tissue-specific manner. Allele-specific expression is defined by a range of genetic and epigenetic mechanisms including cis-regulatory polymorphisms, allele-specific binding of transcription factors, allele-specific DNA methylation and regulation through non-coding RNA.

Although the data on the issue are scarce, allele-specific expression has been reported to be implicated in several hereditary disorders including benign and malignant tumors of the large intestine. Recent studies that estimate allele-specific expression incidence in tumors and identify wide range of genes displaying allelic imbalance indicate that allele-specific expression might play a significant role in carcinogenesis. Eventually, estimation of transcriptional rate of allelic variants which cause dysfunction of oncogenes and tumor suppressors may prove to be essential for rational choice of antitumor therapeutic strategy. In this review, we outline the main concepts and mechanisms of allele-specific expression and the data on allelic imbalance in tumors.

Key words: allele-specific gene expression, germline mutations, transcriptional regulation, epigenetic mechanisms, single nucleotide polymorphisms, carcinogenesis, familial adenomatous polyposis, Lynch syndrome

Введение

Инициация и прогрессия опухолей являются результатом накопления мутаций в геноме клетки. Соматические мутации возникают *de novo* в соматических клетках организма и считаются основными драйверами канцерогенеза, в то время как герминативные мутации происходят в гаметах, передаются потомству и могут определять предрасположенность к развитию определенных форм опухолей. Мутации носят характер однонуклеотидных замен, инсерций и делеций сегментов ДНК различной протяженности (инделов), хромосомных перестроек в результате репарации двуниевых разрывов негомологичных хромосом, амплификаций и делеций участков хромосом [1].

Наиболее часто в геноме встречаются герминативные однонуклеотидные замены, или полиморфизмы, которые селективно поддерживаются в популяции. Частота встречаемости однонуклеотидных полиморфизмов в некодирующих участках генома выше, чем в кодирующих. По оценке проекта «1000 геномов» обнаруживается, что только в кодирующей части генома каждого индивида содержится в среднем 10–11 тыс. несинонимичных однонуклеотидных полиморфизмов (приводящих к замене аминокислоты в кодируемом белке) и примерно столько же синонимичных по сравнению с референсным геномом человека. Кроме того, в каждом геноме выявляется около 200 инделов, 80–100 вариантов, определяющих возникновение стоп-кодонов, 40–50 вариантов, нарушающих сайты сплайсинга, и 220–250 делеций, приводящих к сдвигу рамки считывания [2]. Частота встречаемости минорных аллелей, содержащих однонуклеотидные полиморфизмы, в популяции составляет чуть более 1 % [3].

Масштабные исследования последних лет с использованием высокопроизводительных методов секвенирования привели к обнаружению в геномах здоровых индивидов множества герминативных полиморфных вариантов последовательностей ДНК, приводящих к утрате белком, кодируемым затрагиваемым геном, своей функции (loss-of-function, LoF) или нонсенс-опосредованному разрушению и другим патогенным вариантам. По последним оценкам геном человека в среднем содержит около 100 герминативных LoF-вариантов в виде однонуклеотидных полиморфизмов и инделов, что приводит к полной инактивации примерно 20 генов. Среди таких полиморфизмов встречаются варианты, ассоциированные с развитием заболеваний, включая наследственные моногенные болезни, а также менее изученные потенциально патогенные варианты, функциональное значение которых может быть предсказано с помощью биоинформатических методов [4]. Поскольку организм человека гетерозиготен по 80 % таких полиморфных генов [4], конкретный фенотипический эффект LoF-варианта зависит не только от функциональной значимости гена, но и от уровня экспрессии его измененного аллеля.

В большинстве случаев экспрессия гена осуществляется в равной степени с обеих гомологичных хромосом. Для ограниченного числа генов характерен импринтинг, при котором эпигенетическими механизмами инактивируется один из родительских аллелей гена. Нарушение импринтинга некоторых генов, в частности инсулиноподобного фактора роста *IGF2* (например, его утрата), может приводить к развитию ряда заболеваний, включая колоректальный рак и рак молочной железы [5].

Помимо би- и моноаллельной экспрессии гена возможна аллель-специфическая экспрессия, под которой понимают неравновесное соотношение уровней экспрессии аллелей гена, когда один аллель экспрессируется в 2–4 раза интенсивнее другого [6].

Ниже мы рассмотрим предполагаемые механизмы аллель-специфической экспрессии, а также текущее состояние исследований по проблеме аллельного дисбаланса в опухолях.

Аллель-специфическая экспрессия и ее механизмы

По разным оценкам аллель-специфическая экспрессия затрагивает от 20 до 30 % генов человека [6, 7]. Она может носить тканеспецифичный характер, при этом паттерны такой экспрессии ближе всего в тканях, имеющих сходную функцию или общее происхождение [6].

Главным образом аллель-специфическая экспрессия зависит от положения полиморфизма и типа замены. Вероятно, что экспрессия аллелей, играющих роль в патогенезе заболеваний, в норме может быть снижена вне зависимости от других характеристик, влияющих на их экспрессию. Например, полиморфизм в экзоне 4 гена *FMO3*, кодирующего флавиносодержащую монооксигеназу — фермент, необходимый для метаболизма ксенобиотиков, — приводит к нарушению каталитической активности фермента и ассоциирован с развитием триметиламинурии. Экспрессия полиморфного аллеля снижена во всех тканях организма здорового человека, причем наименьший ее уровень наблюдается в печени [6].

Аллель-специфическая экспрессия может быть вызвана рядом причин. Наиболее распространенными, по-видимому, являются цис-регуляторные полиморфизмы в некодирующих участках гена (промоторах, интронах или 3'-нетранслируемых областях). Такие полиморфизмы способны влиять на инициацию, скорость транскрипции, альтернативный сплайсинг или стабильность транскрипта конкретного аллеля [7]. В литературе описано аллель-специфическое связывание транскрипционных факторов, в частности NF-κB и CTCF, в случаях, когда полиморфизм затрагивает связывающие их мотивы, повышая аффинность транскрипционного фактора к сайту связывания и тем самым изменяя уровень экспрессии гена [8, 9].

Полиморфизмы, находящиеся за сайтом терминации транскрипции, способны влиять на аллель-спе-

цифичность экспрессии путем посттранскрипционной регуляции экспрессии гена, поскольку потенциально способны препятствовать связыванию микроРНК, комплементарной участку в 3'-нетранслируемой области мРНК, приводя к увеличению уровня экспрессии содержащего такой полиморфизм аллеля либо образовывать новые сайты связывания [10].

Примечательно, что, по данным проектов полногеномного поиска ассоциаций (Genome-Wide Association Studies, GWAS), большинство однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с развитием известных заболеваний, находятся в межгенных участках и интронах (43 и 45 % соответственно), а также в 3'-нетранслируемых областях [11].

Гены, имеющие LoF-вариант в одном из аллелей, часто проявляют аллель-специфический характер экспрессии. Образовавшийся в результате возникновения обусловленного полиморфизмом преждевременного стоп-кодона укороченный вариант транскрипта может подвергнуться нонсенс-опосредованному разрушению, привести к нарушению альтернативного сплайсинга или транслироваться в доминантно-негативную изоформу белка [12]. Например, не подверженные нонсенс-опосредованному разрушению транскрипты нескольких редких аллелей гена, кодирующего β -глобин, транслируются в укороченный нефункциональный белок, преципитируются и, будучи нерастворимыми, перегружают протеолитическую систему [13]. К выраженным клиническим проявлениям заболеваний чаще приводит образование подобных изоформ по сравнению со снижением экспрессии гена вследствие нонсенс-опосредованного разрушения, поскольку продукция доминантно-негативных укороченных белков может иметь более явные функциональные нарушения, нежели вызываемое разрушением транскриптов снижение экспрессии генов [14]. В случае гаплонедостаточности гена, имеющего LoF-вариант или преждевременный стоп-кодон в одном из аллелей, вероятность развития патологии существенно возрастает. Так, при нейрофиброматозе 1-го типа — аутосомно-доминантном заболевании, обусловленном LoF-полиморфизмом одного из аллелей гена *NFI*, кодирующего опухолевый супрессор нейрофибромин, — у 80 % пациентов обнаруживается преобладание экспрессии полиморфного аллеля. В клиническую картину заболевания входят развитие нейрофибром, глиом зрительного нерва, дисплазии костной ткани и некоторые другие проявления. Исследование наследственной формы нейрофиброматоза 1-го типа, на долю которой приходится 50 % случаев заболевания, позволяет предположить наличие зависимости между степенью выраженности симптомов у конкретного пациента и соотношением уровней экспрессии нормального и полиморфного аллелей *NFI* [15].

Тем не менее результаты исследования, проведенного М.А. Rivas и соавт. на выборке, которая включала более 600 человек, указывают на то, что компенсатор-

ное повышение экспрессии функциональных аллелей генов человека, содержащих LoF-мутации, не способно в достаточной степени восстановить необходимый уровень экспрессии гена [12].

Описана возможность эпигенетической регуляции аллель-специфической экспрессии путем аллель-специфического метилирования ДНК, частота которого близка к частоте аллель-специфической экспрессии, наблюдаемой в геноме человека. Это позволяет предположить, что в качестве их причин выступают одни и те же цис-регуляторные варианты. Кроме того, показано, что 38–88 % сайтов аллель-специфического метилирования зависят от наличия в CpG-островках полиморфизмов, нарушающих метилирование этих участков [16, 17]. Поскольку мутации в CpG-островках являются достаточно частым событием [17], аллель-специфическое метилирование может определять индивидуальные различия в паттернах аллель-специфической экспрессии.

К аллель-специфической экспрессии также может приводить аллель-специфическая модификация гистонов, однако с большей частотой участки такой модификации колокализуются с импринтированными генами [18].

Аллель-специфическая экспрессия генов в опухолях

Впервые роль аллель-специфической экспрессии в процессе канцерогенеза была установлена для гена *APC*, кодирующего негативный регулятор сигнального каскада Wnt, у пациентов, страдающих семейным аденоматозом толстой кишки. Семейный аденоматоз толстой кишки — аутосомно-доминантное заболевание, причиной которого является герминативная мутация в *APC*, приводящая к развитию множества аденоматозных полипов в толстой кишке и их прогрессии в колоректальный рак в молодом возрасте. При данном заболевании можно наблюдать образование полипов в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, десмоидов и других внекишечных новообразований [19]. Известно более 700 вариантов герминативных мутаций в гене *APC*, большинство из которых приводит к появлению преждевременного стоп-кодона. Тем не менее у части пациентов мутации в экзонах, 3'-нетранслируемой области или промоторе гена не обнаруживаются [19]. Н. Yan и соавт. описали двукратное снижение экспрессии одного из аллелей гена *APC*, которое повышает предрасположенность к развитию опухолей у людей, страдающих семейным аденоматозом толстой кишки. Посредством секвенирования в указанном аллеле *APC* были выявлены только ранее описанные полиморфизмы. При прогрессировании заболевания в большинстве неопластических опухолей происходила утрата гетерозиготности за счет характеризующегося высоким уровнем экспрессии аллеля при сохранении в геноме варианта с низким уровнем экспрессии [20].

В нескольких работах рассматривается влияние эпигенетических механизмов на развитие синдрома Линча — наследственного колоректального рака без

полипоза. Это аутосомно-доминантное заболевание характеризуется ранним (у 1/3 пациентов мультифокальным) развитием колоректального рака. В спектр ассоциированных с синдромом Линча патологий также входит рак эндометрия, почечной лоханки, мочевого пузыря, желудка, тонкой кишки, яичников, мозга и билиарного тракта [21]. Синдром Линча обычно обусловлен мутациями в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, отвечающих за репарацию неправильно спаренных оснований [22, 23].

Исследование эпителия слизистой оболочки прямой кишки 12 членов одной семьи, носителей 2 полиморфизмов в позициях –118 и –433 от сайта начала транскрипции гена *MSH2*, в 10 случаях выявило метилирование промотора *MSH2*, которое не наблюдалось в образцах слизистой оболочки людей, страдающих sporadic формой колоректального рака, имеющих колоректальные аденомы, а также здоровых людей. Метилирование промотора *MSH2* носило аллель-специфический характер и было связано с аллелем Т в –118 и аллелем Г в –433 положении. Наличие аллеля Г в позиции –433 от сайта начала транскрипции гена *MSH2* приводило к метилированию аллеля в 43–75 % случаев в толстом кишечнике в нормальной ткани и в 82 % случаев в опухолевой ткани. При этом в лейкоцитах носителей полиморфизмов наблюдали низкий уровень метилирования указанного аллеля, сравнимый с уровнем метилирования промотора *MSH2* у здоровых лиц [22].

При герминативных делециях последних экзонов одного из аллелей гена *TACSTD1*, расположенного с 5'-конца от гена *MSH2*, происходит отмена нормальной терминации транскрипции, также приводящая к метилированию промотора *MSH2*. *TACSTD1* кодирует белок ЕрСAМ, формирующий гомотипические адгезионные контакты между эпителиальными клетками. Поскольку экспрессия *TACSTD1* тканеспецифична, метилирование одного из аллелей *MSH2*, вызванное делецией в *TACSTD1*, обнаруживается только в ЕрСAМ-положительных тканях и повышает вероятность развития опухолей в них [23].

Масштабное исследование аллель-специфической экспрессии генов при остром лимфобластном лейкозе проведено L. Milani и соавт. Дифференциально экспрессируемые аллельные варианты, выявленные при исследовании образцов клеток костного мозга и крови 197 пациентов (дети с впервые диагностированным заболеванием), были отобраны по следующим критериям: отсутствие хромосомных aberrаций в соответствующих им локусах и наличие дисбаланса в экспрессии одинаковых аллелей в 8 и более образцах. Из 400 выбранных таким образом генов, содержащих 470 полиморфизмов, экспрессия примерно половины из них, в том числе расположенных на X-хромосоме, носила моноаллельный характер. Только у 45 % проявивших аллель-специфическую экспрессию генов во всех образцах оказался гиперэкспрессирован один и тот же

аллель, что указывает на наличие в них цис-регуляторных полиморфизмов. Большинство генов, при экспрессии которых выявлялся аллельный дисбаланс, кодировали белки, обеспечивающие процессирование и представление (презентацию) антигенов, процессы межклеточной адгезии и контакты с внеклеточным матриксом (например, синдекан-2, гиперэкспрессию которого наблюдают в нескольких типах опухолей), а также матриксные белки. Высокая корреляция аллельного дисбаланса экспрессии генов и метилирования CpG-островков в их промоторах или первых интронах указывает на способность полиморфизмов влиять на аллель-специфическое метилирование [16].

При исследовании 3 случаев плоскоклеточного рака полости рта выявлена аллель-специфическая экспрессия генов белков клеточной адгезии, промежуточных филаментов, регуляторов дифференцировки. Так, аллельный дисбаланс описан для экспрессии гена *PERP*, кодирующего р53-зависимый эффектор апоптоза; гена *MALAT1*, транскрипт которого является предшественником длинной некодирующей РНК, регулирующей транскрипцию генов, ответственных за миграцию, метастазирование и контроль клеточного цикла; гена *RUNX1*, кодирующего транскрипционный фактор, регулирующий дифференцировку гемопоэтических клеток и ассоциированный с развитием острого миелоидного лейкоза; гена *ZFP36L1*, кодирующего транскрипционный фактор, который предположительно модулирует экспрессию мишеней в ответ на воздействие факторов роста. Некоторые аллель-специфически экспрессирующиеся при плоскоклеточном раке полости рта гены описаны в литературе как дифференциально экспрессирующиеся гены при меланоме, фолликулярной лимфоме и плоскоклеточном раке легкого [24].

При исследовании клеточных линий миеломы, Т-клеточного лейкоза, мелкоклеточного рака легкого, гистиоцитарной лимфомы, рака шейки матки и их производных, обладающих лекарственной устойчивостью, L. Milani и соавт. обнаружили аллельный дисбаланс экспрессии ряда ассоциированных с канцерогенезом и определяющих лекарственную устойчивость генов, в том числе *APC*, *ABCC3*, *BCL2*, *BRCA1*, *CCND2*, *MLH1*, *SLIT2*, *PARP1*, *TNFRSF12A* и *YES1*. В промоторах *APC*, *BCL2*, *CCND2*, *MLH1*, *PARP1*, *SLIT2* и *YES1* выявлены цис-регуляторные полиморфизмы, обуславливающие аллель-специфическое связывание транскрипционных факторов [25].

В рамках другой работы было проведено секвенирование генома и транскриптома 18 линий клеток немелкоклеточного рака легкого и нескольких пар образцов нормальной и опухолевой ткани пациентов с немелкоклеточным раком легкого и гепатоцеллюлярной карциномой. Доля генов, для которых выявлена аллель-специфическая экспрессия, в опухолях и линиях опухолевых клеток оказалась значительно выше, чем в нормальной ткани. Тем не менее более 65 % ге-

нов, проявляющих аллель-специфический характер экспрессии в культурах опухолевых клеток, и более 55 % таких генов в образцах опухолевой ткани находились в дуплицированных и амплифицированных участках хромосом или, напротив, наблюдалось снижение их копийности. Обнаружен аллельный дисбаланс экспрессии *TP53*, *KRAS*, *MTOR* и ряда других онкогенов и опухолевых супрессоров, нарушение функции которых ассоциировано с канцерогенезом [26].

Заключение

Хотя проблема аллель-специфической экспрессии остается малоизученной, имеющиеся в литературе данные о масштабах аллельного дисбаланса (в том числе не связанного с хромосомными aberrациями) в опухолях указывают на то, что это явление может играть значимую роль в канцерогенезе, и в первую очередь в развитии наследственно обусловленных форм опухолей. Неравномерность экспрессии аллельных вариантов в опухолевых клетках свидетельствует о том, что помимо анализа клинически значимых нарушений структуры ДНК целесообразно проводить оценку уровней экспрессии мутантных аллелей, прежде всего в случаях, когда нарушение функции затрагиваемого ими гена является показанием для назначения той или иной схемы противоопухолевой терапии.

Развитие этой области исследований на сегодняшний день ограничено рядом факторов, к которым, помимо технических, связанных со сложностью выявления низкоэкспрессируемых аллелей [26], относятся следующие.

- Небольшие выборки панелей образцов, доступные исследователям, не позволяют обнаруживать значимые для канцерогенеза редко встречаемые аллели.
- Отсутствуют унифицированные алгоритмы выявления аллель-специфической экспрессии, что приводит к существенным различиям в результатах, затрудняющим их сопоставление (например, доля генов, экспрессия которых в норме носит аллель-специфический характер, по разным данным, варьирует от 0,5 [26] до 20–30 % [6, 7]).
- Подобные исследования редко сопровождаются экспериментальной верификацией результатов как в части подтверждения соотношения уровней экспрессии аллелей методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции, так и в части установления функционального значения гиперэкспрессированных аллелей и аллелей со сниженной экспрессией.

Важнейшими задачами в области аллель-специфической экспрессии являются решение перечисленных проблем, накопление информации о встречающихся с низкой частотой аллелях и ее интеграция с данными об экспрессии и функциональной значимости полиморфных вариантов. Сопоставление полученных результатов с клиническими характеристиками опухолей и результатами лечения в будущем позволит выявить неблагоприятные, ассоциированные с развитием наследственных заболеваний и имеющие прогностическую ценность аллельные варианты и более глубоко исследовать механизмы развития наследственно обусловленных форм опухолей.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Stratton M.R., Campbell P.J., Futreal P.A. The cancer genome. *Nature* 2009;458(7239):719–24.
2. 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010;467(7319):1061–73.
3. Erichsen H.C., Chanock S.J. SNPs in cancer research and treatment. *Br J Cancer* 2004;90(4):747–51.
4. MacArthur D.G., Balasubramanian S., Frankish A. et al. A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding genes. *Science* 2012;335(6070):823–8.
5. Lee M.P. Allele-specific gene expression and epigenetic modifications and their application to understanding inheritance and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012;1819(7):739–42.
6. Kukurba K.R., Zhang R., Li X. et al. Allelic expression of deleterious protein-coding variants across human tissues. *PLoS Genet* 2014;10(5):e1004304.
7. Gaur U., Li K., Mei S., Liu G. Research progress in allele-specific expression and its regulatory mechanisms. *J Appl Genet* 2013;54(3):271–83.
8. McDaniel R., Lee B.K., Song L. et al. Heritable individual-specific and allele-specific chromatin signatures in humans. *Science* 2010;328(5975):235–9.
9. Tycko B. Allele-specific DNA methylation: beyond imprinting. *Hum Mol Genet* 2010;19(R2):R210–20.
10. Zhang W., Edwards A., Zhu D. et al. miRNA-mediated relationships between Cis-SNP genotypes and transcript intensities in lymphocyte cell lines. *PLoS One* 2012;7(2):e31429.
11. Hindorf L.A., Sethupathy P., Junkins H.A. et al. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(23):9362–7.
12. Rivas M.A., Pirinen M., Conrad D.F. et al. Human genomics. Effect of predicted protein-truncating genetic variants on the human transcriptome. *Science* 2015;348(6235):666–9.
13. Holbrook J.A., Neu-Yilik G., Hentze M.W., Kulozik A.E. Nonsense-mediated decay approaches the clinic. *Nat Genet* 2004;36(8):801–8.
14. Inoue K., Khajavi M., Ohya T. et al. Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat Genet* 2004;36(4):361–9.
15. Jentarra G.M., Rice S.G., Olfers S. et al. Skewed allele-specific expression of the *NF1* gene in normal subjects a possible mechanism for phenotypic variability in neurofibromatosis type 1. *J Child Neurol* 2012;27(6):695–702.
16. Milani L., Lundmark A., Nordlund J. et al. Allele-specific gene expression patterns in primary leukemic cells reveal regulation of gene expression by CpG site methylation. *Genome Res* 2009;19(1):1–11.
17. Shoemaker R., Deng J., Wang W., Zhang K. Allele-specific methylation is prevalent and is contributed by CpG-SNPs in the human genome. *Genome Res* 2010;20(7):883–9.

18. Prendergast J.G., Tong P., Hay D.C. et al. A genome-wide screen in human embryonic stem cells reveals novel sites of allele-specific histone modification associated with known disease loci. *Epigenetics Chromatin* 2012;5(1):6.
19. Galiatsatos P., Foulkes W.D. Familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol* 2006;101(2):385–98.
20. Yan H., Dobbie Z., Gruber S.B. et al. Small changes in expression affect predisposition to tumorigenesis. *Nat Genet* 2002;30(1):25–6.
21. Vasen H.F., Watson P., Mecklin J.P., Lynch H.T. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999;116(6):1453–6.
22. Chan T.L., Yuen S.T., Kong C.K. et al. Heritable germline epimutation of MSH2 in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 2006;38(10):1178–83.
23. Ligtenberg M.J., Kuiper R.P., Chan T.L. et al. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of *TACSTD1*. *Nat Genet* 2009;41(1):112–7.
24. Tuch B.B., Laborde R.R., Xu X. et al. Tumor transcriptome sequencing reveals allelic expression imbalances associated with copy number alterations. *PloS One* 2010;5(2):e9317.
25. Milani L., Gupta M., Andersen M. et al. Allelic imbalance in gene expression as a guide to cis-acting regulatory single nucleotide polymorphisms in cancer cells. *Nucleic Acids Res* 2007;35(5):e34.
26. Mayba O., Gilbert H.N., Liu J. et al. MBASED: allele-specific expression detection in cancer tissues and cell lines. *Genome Biol* 2014;15(8):405.