

Влияние нокаута гена *Zbtb33* и бактериального липополисахарида на поведение в домашней клетке у мышей

Н.В. Хоцкин , И.Е. Сорокин, Е.А. Куликова, А.В. Куликов

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Ген *Zbtb33* кодирует бимодальный репрессор транскрипции Kaiso, который вызывает эпигенетическую репрессию генов посредством связывания с метилированными островками mCpG в промоторах этих генов. Несмотря на то что Kaiso интенсивно экспрессируется в центральной нервной системе, его участие в регуляции поведения изучено слабо. Так, было показано только участие Kaiso в регуляции поведенческой реакции на эмоциональный стресс в тестах «открытое поле» и «принудительное плавание». Целью данного исследования является выяснение роли, которую играет Kaiso в регуляции суточной активности, а также поведенческого ответа на стимуляцию неспецифического иммунитета. Опыты проводились на половозрелых самцах мышей с нокаутом гена *Zbtb33* (KO) и животных линии C57BL/6 (дикий тип, WT). Все животные были в возрасте 11 недель, имели SPF (specific pathogen free) статус на протяжении всего эксперимента. Животных каждого генотипа разделяли на три выравненные по весу группы по восемь животных в каждой. Вначале измеряли суточную динамику двигательной активности, сна, потребления пищи и воды интактных животных с помощью программно-аппаратного комплекса PhenoMaster. Затем животным каждой группы внутривенно вводили физиологический раствор (контроль), 0.1 или 1.0 мг/кг бактериального липополисахарида (ЛПС), растворенного в физиологическом растворе, и вновь измеряли суточную активность, потребление пищи и воды. Интактные мыши KO и WT не различались по среднесуточным двигательной активности и продолжительности сна. Однако интактные мыши KO были менее активны в темное время суток, а также потребляли меньше пищи и воды по сравнению с интактными животными WT. Обе дозы ЛПС подавляли двигательную активность, увеличивали продолжительность сна и вызывали анорексию у мышей обоих генотипов. Однако эффект низкой дозы ЛПС (0.1 мг/кг) на потребление пищи и воды был более выражен у мышей KO, чем у животных WT. Полученные результаты проливают свет на биологическую значимость гена Kaiso и служат обоснованием необходимости нормального функционирования этого гена в природных популяциях.

Ключевые слова: ген Kaiso; нокаутные мыши; PhenoMaster; домашняя клетка; LPS.

Effect of *Zbtb33* gene knockout and bacterial lipopolysaccharide on home cage behavior in mice

N.V. Khotskin , I.E. Sorokin, E.A. Kulikova, A.V. Kulikov

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

The *Zbtb33* gene encodes the bimodal transcriptional repressor Kaiso, which causes epigenetic repression of genes by binding to methylated mCpG islets in the promoters of the genes. Despite the fact that Kaiso is intensively expressed in the central nervous system, its participation in the regulation of behavior is still poorly understood. Only the participation of Kaiso in the regulation of the behavioral response to emotional stress in the open field and forced swimming tests has been shown. The aim of this study is to elucidate the role that Kaiso plays in regulating daily activity, as well as the behavioral response to stimulation of nonspecific immunity. Experiments were performed on adult male mice with *Zbtb33* gene knockout (KO) and animals of the C57BL/6 line (wild type, WT). All animals were 11 weeks old, weighed 26 ± 1 g and had SPF (specific pathogen free) status throughout the experiment. The animals of each genotype were divided into three weighted groups of 8 animals each. Initially, the daily dynamics of motor activity, sleep, food and water intake of intact animals was measured using the PhenoMaster software-hardware complex. The animals of each group were then injected with saline (control), 0.1 or 1.0 mg/kg of bacterial lipopolysaccharide (LPS) dissolved in saline, and again measured for their daily activity, food and water intake. Intact KO and WT mice did not differ in the average daily motor activity and sleep duration. However, intact KO mice were less active in the dark time, and also consumed less food and water as compared to intact WT animals. LPS at both doses suppressed motor activity, prolonged sleep duration and caused anorexia in mice of both genotypes. However, the effect of low dose of LPS (0.1 mg/kg) on the food and water intake was more pronounced in KO mice than in WT animals. The results shed light on the biological significance of the Kaiso gene and serve as a justification for the necessity of the normal functioning of this gene in natural populations.

Key words: Kaiso gene; knockout mice; PhenoMaster; home cage; LPS.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Хоцкин Н.В., Сорокин И.Е., Куликова Е.А., Куликов А.В. Влияние нокаута гена *Zbtb33* и бактериального липополисахарида на поведение в домашней клетке у мышей. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(7):804-809. DOI 10.18699/VJ17.297

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Khotskin N.V., Sorokin I.E., Kulikova E.A., Kulikov A.V. Effect of *Zbtb33* gene knockout and bacterial lipopolysaccharide on home cage behavior in mice. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(7):804-809. DOI 10.18699/VJ17.297 (in Russian)

Метилирование цитозина в молекуле ДНК играет важную роль в процессе контроля экспрессии генов у позвоночных путем длительной фиксации транскрипционно неактивного состояния генов (Klose, Bird, 2006). Метилированные цитозины длительное время сохраняют изменения экспрессии генов в процессе онтогенеза (Bird, 2002). Стабильность метилированных цитозина лежит в основе гипотезы об эпигенетической пластичности нейронов и долговременной памяти, которая предполагает, что следы событий в жизни сохраняются в виде различных модификаций ДНК (Bali et al., 2011; Lubin et al., 2011).

Специализированные белки-репрессоры узнают метилированные районы ДНК и привлекают к ним белковые комплексы, репрессирующие транскрипцию (Wade, 2001; Bogdanovic, Veenstra, 2009). Одним из таких белков является Kaiso (кодируется геном *Zbtb33*) – бимодальный репрессор транскрипции. Kaiso входит в семейство белков VTB/POZ и содержит два функциональных домена: три «цинковых пальца» типа C2H2 на С-конце и N-концевой VTB/POZ домен. Своими цинковыми пальцами он связывается как с канонической последовательностью, так и с метилированными участками mCpGmCpG ДНК и привлекает репрессорные комплексы за счет взаимодействия с VTB/POZ доменом (Filion et al., 2006).

Ген Kaiso интенсивно экспрессируется в мозге млекопитающих (Della Ragione et al., 2006; Shumskaya et al., 2015; Kulikov et al., 2016), и можно ожидать, что он играет существенную роль в регуляции нервной системы и поведения. Однако роль Kaiso в регуляции поведения изучена очень слабо. Показано только, что у лишенных Kaiso мышей наблюдается повышенная моторная активность в условиях эмоционального стресса в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» (Коростина, Куликов, 2015; Kulikov et al., 2016). Кроме того, нокаут гена *Zbtb33* оказывал выраженный антидепрессантный эффект в тесте «принудительное плавание» у мышей (Коростина, Куликов, 2015).

Активация врожденного иммунитета бактериальным липополисахаридом (ЛПС) вызывает «синдром поведения больного» (sickness syndrome), выражающийся в снижении двигательной активности и анорексии (Dantzer, 2009). В то же время показано, что ЛПС подавляет экспрессию ДНК метилтрансферазы 3a и, следовательно, может влиять на интенсивность метилирования в клетках микроглии мышей C57BL/6 (Matt et al., 2016).

Целью нашей работы было изучение влияния нокаута гена *Zbtb33*, ЛПС и их взаимодействия на суточную динамику активности, сна, потребления пищи и воды в домашней клетке у мышей с нокаутом гена *Zbtb33* (KO) и дикого типа (WT).

Материалы и методы

Животные. Исследования проводили в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (RFMEFI161914X0005 и RFMEFI162114X0010). Опыты выполняли на половозрелых самцах мышей линий с нокаутом гена *Zbtb33* C57BL/6/Kaiso (KO, $n = 24$) и линии C57BL/6 (WT, $n = 24$), которая служила

генетическим фоном при создании линии C57BL/6/Kaiso. Последняя была создана Е.Б. Прохорчуком (Prokhortchouk et al., 2006) и получена в SPF-виварий ИЦиГ СО РАН из питомника лабораторных животных РАН «Пушино» (г. Пушино, Россия). Все животные были в возрасте 11 недель и имели массу тела 26 ± 1 г. С момента отсадки от матерей мышей содержали в группах по шесть особей в индивидуально вентилируемых пластиковых клетках (Optimice) при регулируемом 14-часовом освещении, температуре 23°C и влажности 60%. Полноценный корм и воду они получали без ограничения. Содержание мышей и все экспериментальные процедуры были выполнены в соответствии с международными правилами обращения с животными (Директива 86/309 Европейского сообщества от 24 декабря 1986 г.) и одобрены комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН.

Введение ЛПС. ЛПС (*Escherichia coli*, Sigma-Aldrich, США) разводили в стерильном физиологическом растворе в концентрации 0.1 мг/10 мл или 1 мг/10 мл и вводили внутривентриально в объеме 0.1 мл на 10 г массы тела. Контрольным животным вводили внутривентриально 0.1 мл стерильного физиологического раствора на 10 г массы тела.

Измерение суточной активности. Суточную активность, сон и потребление пищи в домашней клетке исследовали с помощью программно-аппаратного комплекса PhenoMaster (TSE Systems) согласно инструкциям от производителя. Установка состоит из восьми индивидуальных клеток с инфракрасными датчиками, фиксирующими перемещение животного. Поилка и кормушка также подсоединены к датчикам для учета потребляемой пищи и воды. Каждую минуту информация с датчиков поступает на компьютер, где обрабатывается программным обеспечением, поставляемым фирмой-производителем. В результате получены данные по потреблению пищи и воды, пройденному пути, скорости животного и времени, проведенному во сне.

Самцов помещали по одному в клетку и в течение двух суток фиксировали все параметры. Первые сутки считались адаптационными и не учитывались при последующем обсчете. Таким образом, в конечном анализе для оценки базовой активности интактных животных использовались только вторые сутки. После окончания вторых суток животным внутривентриально вводили либо физиологический раствор, либо ЛПС в физиологическом растворе в дозе 0.1 или 1.0 мг/кг и активность животных регистрировали в течение последующих 24 ч в установке, с фиксированием вышеуказанных параметров. Согласно инструкции производителя, программа определяет состояние сна как отсутствие подвижности животного в течение 40 с и более.

В первом измерении (на вторые сутки после помещения в PhenoMaster) было две группы по 24 особи в каждой, соответствующие генотипам животных. На третьи сутки было шесть групп по 8 особей, соответствующих шести комбинациям генотипа и ЛПС.

Статистика. Пройденный путь (см), число эпизодов и суммарную длительность сна (мин) за час, количество выпитой воды (мл) и съеденного корма (г) за сутки представляли как средние значения \pm ошибки средних. Динамику

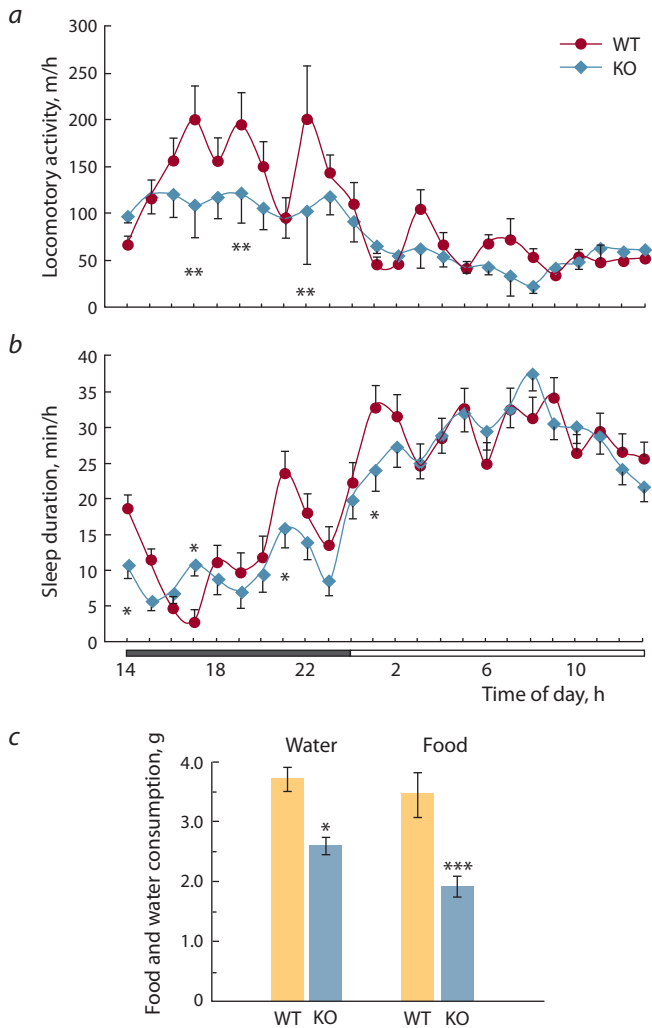


Fig. 1. Daily variation of (a) locomotory activity (m/h), (b) sleep duration (min/h) and (c) water and food consumption in the home cage in WT ($n = 24$) and KO ($n = 24$) mice. The dark time from 14 to 0 hrs.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

двигательной активности и сна интактных животных (на второй день) анализировали с помощью двухфакторного ANOVA для повторных измерений (генотип и время суток как повторяющийся фактор), а после воздействия (на третий день) анализировали с помощью трехфакторного ANOVA для повторных измерений (генотип, воздействие и время суток как повторяющийся фактор). В случае достоверного влияния взаимодействия генотип \times время или воздействие \times время проводили множественное сравнение по Фишеру. Количество выпитой воды и съеденного корма анализировали с помощью однофакторного (интактные животные) и двухфакторного (после воздействия) ANOVA с последующим множественным сравнением по Фишеру в случае достоверного влияния факторов.

Результаты

Не обнаружено влияния генотипа на средние значения суточной двигательной активности (97.85 ± 11.65 м/ч WT и 78.34 ± 11.65 м/ч KO; $F_{1,46} = 1.4$, $p > 0.05$) и продолжительности сна (22.21 ± 0.95 мин/ч WT и 20.57 ± 0.95 мин/ч KO; $F_{1,46} = 1.5$, $p > 0.05$). В то же время выявлен значительный эффект времени суток ($F_{23,1058} = 10.27$, $p < 0.0001$ – двигательная активность; $F_{23,1058} = 33.18$, $p < 0.0001$ – продолжительность сна) и взаимодействия время суток \times генотип ($F_{23,1058} = 1.72$, $p < 0.05$ – двигательная активность; $F_{23,1058} = 1.72$, $p < 0.05$ – продолжительность сна) по этим признакам. Мыши обоих генотипов больше двигались и меньше спали в темное время (рис. 1 а, б). Активность в темное время суток была ниже у мышей KO по сравнению с животными WT (см. рис. 1, а). Суточное потребление воды ($F_{1,46} = 6.64$, $p < 0.05$) и пищи ($F_{1,46} = 50.74$, $p < 0.001$) было снижено у мышей KO по сравнению с животными WT (см. рис. 1, в).

Выявлен значительный эффект ЛПС, но не генотипа или взаимодействия генотип \times ЛПС, на двигательную активность в домашней клетке (см. таблицу). Обе дозы ЛПС приводили к аналогичному снижению локомоции у мышей WT и KO в течение 11–12 ч после введения по

ANOVA results on the effects of genotype, LPS, and their interaction on locomotion and sleep duration in the home cage in WT and KO mice

Factor	Locomotion (m/h)	Sleep duration (min/h)
Genotype	$F_{1,42} < 1$	$F_{1,42} = 4.62$, $p < 0.05$
WT	44.93 ± 4.11	29.34 ± 1.0
KO	43.69 ± 4.11	16.26 ± 1.0
LPS	$F_{2,42} = 49.2$, $p < 0.0001$	$F_{2,42} = 28.0$, $p < 0.0001$
Saline	83.86 ± 5.03	21.07 ± 1.22
0.1 LPS	33.26 ± 5.03 ***	28.38 ± 1.22 ***
1.0 LPS	15.81 ± 5.03 *** ^	34.00 ± 1.22 *** ^^
Genotype \times LPS	$F_{2,42} < 1$	$F_{2,42} < 1$
Hour	$F_{23,966} = 2.93$, $p < 0.0001$	$F_{23,966} = 6.65$, $p < 0.0001$
Hour \times Genotype	$F_{23,966} < 1$	$F_{23,966} = 1.97$, $p < 0.01$
Hour \times LPS	$F_{46,966} = 5.22$, $p < 0.0001$	$F_{46,966} = 5.28$, $p < 0.0001$
Hour \times Genotype \times LPS	$F_{46,966} < 1$	$F_{46,966} = 1.3$, $p > 0.05$

*** $p < 0.001$ vs физиологический раствор; ^ $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$ vs 0.1 ЛПС.

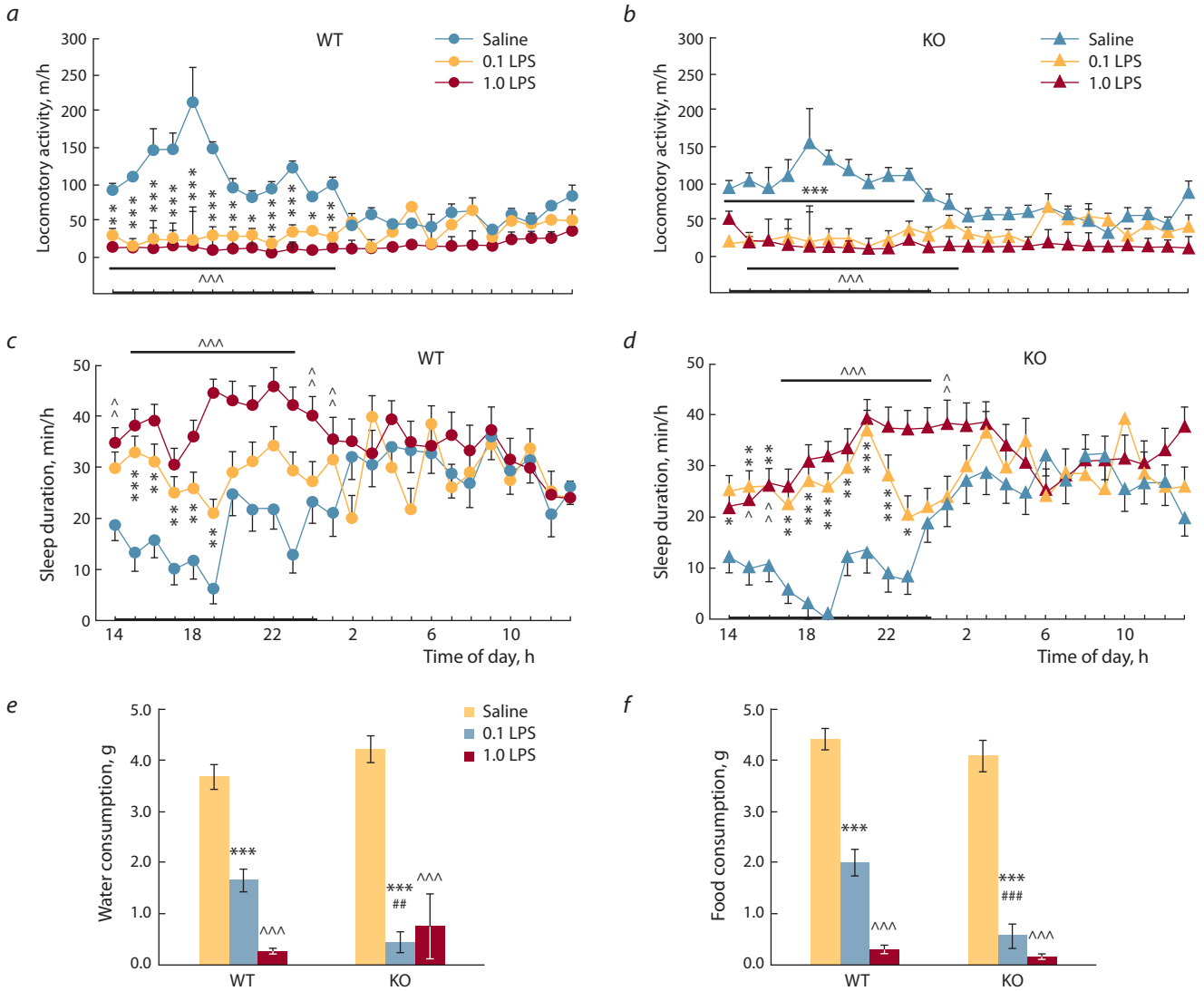


Fig. 2. Effects of saline and LPS treatments on the daily variation of locomotion (a, b) and sleep (c, d) and on daily water (e) and food (f) consumption in WT and KO mice. Each group consisted of eight animals.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ sal vs 0.1 mg/kg of LPS of the same genotype; ^ $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$, ^^^ $p < 0.001$ sal vs 1.0 mg/kg of LPS of the same genotype; ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs WT.

сравнению с соответствующими контрольными группами, которым вводили физиологический раствор (рис. 2, а, б).

Обнаружено влияние генотипа и ЛПС, но не их взаимодействия, на продолжительность сна (см. таблицу). Высокая доза ЛПС (1.0 мг/кг) значительно увеличивает продолжительность сна у мышей WT и KO в течение 12 ч после введения. В то же время низкая доза ЛПС (0.1 мг/кг) увеличивает время сна в течение 6 ч у мышей группы WT и в течение 10 ч у мышей KO (см. рис. 2, в, г).

Было продемонстрировано отсутствие значимого влияния генотипа на дневное потребление воды ($F_{1,42} < 1$). В то же время ЛПС ($F_{2,42} = 69.29$, $p < 0.0001$) и взаимодействие генотип \times ЛПС ($F_{2,42} = 4.96$, $p < 0.01$) оказывали существенное влияние на этот признак. Факторы генотип ($F_{1,42} = 13.19$, $p < 0.001$), ЛПС ($F_{2,42} = 201.3$, $p < 0.0001$) и взаимодействия генотип \times ЛПС ($F_{2,42} = 5.73$, $p < 0.01$) влияют на потребление пищи. Высокая доза ЛПС вызывала резкое сокращение потребления воды и пищи у животных

обоих генотипов, в то время как низкая доза ЛПС приводила к более заметному снижению этих признаков у животных KO по сравнению с мышами WT (см. рис. 2, д, е).

Обсуждение результатов

Интактные мыши обеих линий больше двигаются и меньше времени проводят во сне в темный период суток. Это соответствует наблюдениям других авторов и обусловлено тем, что мыши – сумеречные и ночные животные, и светлое время проводят в укрытиях. Мы не обнаружили различий по средним значениям двигательной активности и продолжительности сна за один час между мышами WT и KO. Однако динамика суточной активности у мышей данных линий различается, о чем свидетельствует значимый вклад взаимодействия генотип \times время суток в изменчивость двигательной активности и времени сна. Действительно, в темный период мыши KO менее активны и меньше времени проводили во сне по сравнению с

животными WT, тогда как в светлое время суток различий по данным показателям между мышами обеих линий выявлено не было. В течение суток интактные мыши КО потребляют меньше пищи и воды по сравнению с мышами WT. Иными словами, в домашней клетке общая активность, включающая двигательную активность и потребление пищи, у мышей с нокаутом гена *Zbtb33* несколько снижена по сравнению с животными дикого типа.

Полученный результат контрастирует с ранее опубликованными данными, демонстрирующими более высокую локомоторную активность животных КО в тесте «открытое поле» (Коростина, Куликов, 2015; Kulikov et al., 2016). Однако в упомянутом эксперименте двигательная активность была измерена в течение короткого промежутка (5 мин) и в светлое время, когда активность животных минимальна и, как показано в настоящей работе, не различается у мышей этих линий. Кроме того, в тесте «открытое поле» животное помещают в незнакомую ему обстановку, и оно находится под воздействием двух противоположных мотиваций: стремится исследовать незнакомую территорию и одновременно испытывает страх, который может подавлять двигательную активность и вызывать реакцию замирания. Действительно, в более ранних работах было показано, что в тесте «открытое поле» мыши КО испытывают меньше страха и больше времени проводят в центре арены по сравнению с животными WT (Коростина, Куликов, 2015; Kulikov et al., 2016). Поэтому можно предполагать, что наблюдаемая разница в активности мышей в тесте «открытое поле» обусловлена снижением активности животных WT из-за их повышенной чувствительности к стрессу, вызванному помещением в новую обстановку.

Было показано снижение двигательной активности у мышей, гетерозиготных по нокауту гена *Mecp2*, кодирующего одноименный белок, который, как и Kaiso, связывается с метилированными цитозинами в молекуле ДНК и вызывает репрессию генов (Kondo et al., 2008; Jiang et al., 2011). Это сходство в действии нокаутов генов *Zbtb33* и *Mecp2* на общую двигательную активность свидетельствует об участии метилирования ДНК в регуляции данного признака. В данной работе мы впервые показали влияние нокаута гена *Zbtb33* на динамику сна и потребление пищи и воды.

Острое введение ЛПС вызывает «синдром поведения больного» (sickness syndrome), сопровождающийся продолжительным снижением двигательной активности, сонливостью и анорексией (Dantzer, 2009). Действительно, ЛПС приводил к дозозависимому снижению двигательной активности и увеличению времени сна у мышей обоих генотипов по сравнению с соответствующими контрольными животными, которым вводили физиологический раствор. Двигательная активность у мышей, которым вводили ЛПС, вне зависимости от дозы токсина у обеих линий была ниже таковой у соответствующих контролей в течение всего темного периода, когда эти животные особенно активны.

Нокаут гена *Zbtb33* модифицировал действие маленькой дозы ЛПС на продолжительность сна. Об этом свидетельствует статистически значимое значение взаимодействия генотип × время. Маленькая доза токсина повышала время сна в течение 5 ч у животных WT и 10 ч у мышей КО.

Однако большая доза ЛПС вызывала повышенную сонливость у мышей обоих генотипов по сравнению с соответствующим контролем в течение всего темного периода.

Интактные мыши КО потребляли меньше пищи и воды по сравнению с животными WT. В то же время мы не выявили межлинейных различий в этих показателях у мышей, которым вводили физиологический раствор. Этому видимому противоречию есть два объяснения. Во-первых, в двух группах интактных мышей было втрое больше животных (по 24 особи), чем в двух группах животных, получавших физиологический раствор (по 8 особей). Во-вторых, введение физиологического раствора является стрессом, который может изменить поведение животных. Важнейший результат нашей работы – демонстрация эффекта взаимодействия генотип × ЛПС на суточное потребление пищи и воды. Введение малой дозы ЛПС (0.1 мг/кг) сильнее подавляло потребление пищи и воды у мышей КО по сравнению с WT. Большая доза ЛПС вызывала одинаково глубокое подавление потребления пищи и воды у мышей обоих генотипов.

Полученные результаты свидетельствуют, что мыши группы КО более чувствительны к ЛПС, чем животные WT, по таким характеристикам, как продолжительность сна и потребление пищи и воды. Провоспалительный цитокин IL-1 β является основным медиатором эффекта ЛПС на поведение (Dantzer, 2009). Показано, что метилирование промотора гена *Il1 β* снижает уровень экспрессии гена провоспалительного цитокина в клетках микроглии мышей C57BL/6 (Matt et al., 2016). Поэтому можно предположить, что отсутствие белка Kaiso у мышей КО затрудняет считывание метилированных участков ДНК в промоторе гена *Il1 β* и увеличивает экспрессию данного цитокина в ответ на введение ЛПС. Этот гипотетический механизм может лежать в основе повышенной чувствительности мышей КО к ЛПС.

Ранее было показано, что нокаут гена *Zbtb33* снижает риск развития рака кишечника (Prokhortchouk et al., 2006), увеличивает двигательную активность и снижает тревожность в тесте «открытое поле» (Kulikov et al., 2016) и оказывает выраженный антидепрессантный эффект в тесте «принудительное плавание» (Коростина, Куликов, 2015). Принимая во внимание эти многочисленные «выгоды» дефицита гена Kaiso, мы задаемся закономерным вопросом: почему данный ген не был элиминирован естественным отбором в ходе эволюции? Прежде всего следует учитывать, что условия в тестах «открытое поле» и «принудительное плавание» искусственные и редко встречаются в жизни животного в природе (нормальное животное постарается избежать подобных ситуаций). В то же время для понимания роли белка Kaiso необходимо проанализировать эффекты его дефицита на рутинные реакции животного – суточную активность, сон, потребление пищи, устойчивость к стрессу и инфекциям. В проведенном исследовании впервые выявлены такие негативные эффекты дефицита Kaiso, как снижение двигательной активности, продолжительности сна, потребления пищи и воды, а также повышенная реакция на токсин (ЛПС). Эти негативные эффекты служат экспериментальным доказательством важности белка Kaiso для нормальной жизни мышей.

Acknowledgments

This study was supported by State Budgeted Project 0324-2016-0002 and the Russian Foundation for Basic Research, project 17-04-00266. Work in the Shared Access Center was supported by the Russian Ministry of Education and Science, project RFMEFI62117X0015.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Bali P., Im H.I., Kenny P.J. Methylation, memory and addiction. *Epi-genetics*. 2011;6:671-674.
- Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*. 2002;16:6-21.
- Bogdanovic O., Veenstra G.J. DNA methylation and methyl-CpG binding proteins: developmental requirements and functions. *Chromosoma*. 2009;118:549-565.
- Dantzer R. Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunol. Allergy Clin. North Am*. 2009;29:247-264.
- Della Ragione F., Tiunova A., Vacca M., Strazzullo M., González E., Armstrong J., Valero R., Campanile C., Pineda M., Hulten M., Monros E., D'Esposito M., Prokhortchouk E. The X-linked methyl binding protein gene *Kaiso* is highly expressed in brain but is not mutated in Rett syndrome patients. *Gene*. 2006;373:83-89.
- Filion G.J., Zhenilo S., Salozhin S., Yamada D., Prokhortchouk E., Desfossez P.A. A family of human zinc finger proteins that bind methylated DNA and repress transcription. *Mol. Cell. Biol*. 2006;26:169-181.
- Jiang Y., Matevossian A., Guo Y., Akbarian S. Setdb1-mediated histone H3K9 hypermethylation in neurons worsens the neurological phenotype of *Mecp2*-deficient mice. *Neuropharmacology*. 2011;60:1088-1097.
- Klose R.J., Bird A.P. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem. Sci*. 2006;31:89-97.
- Kondo M., Gray L.J., Pelka G.J., Christodoulou J., Tam P.P.L., Hannan A.J. Environmental enrichment ameliorates a motor coordination deficit in a mouse model of Rett syndrome – *Mecp2* gene dosage effects and BDNF expression. *Eur. J. Neurosci*. 2008;27:3342-3350. DOI 10.1111/j.1460-9568.2008.06305.x.
- Korostina V.S., Kulikov A.V. Behavioral phenotyping of *Kaiso*-deficient mice. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(4):399-403. DOI 10.18699/VJ15.051. (in Russian)
- Kulikov A.V., Korostina V.S., Kulikova E.A., Fursenko D.V., Akulov A.E., Moshkin M.P., Prokhortchouk E.B. Knockout *Zbtb33* gene results in an increased locomotion, exploration and pre-pulse inhibition in mice. *Behav. Brain Res*. 2016;297:76-83.
- Lubin F.D., Gupta S., Parrish R.R., Grissom N.M., Davis R.L. Epigenetic mechanisms: critical contributors to long-term memory formation. *Neuroscientist*. 2011;17:616-632.
- Matt S.M., Lawson M.A., Johnson R.W. Aging and peripheral lipopolysaccharide can modulate epigenetic regulators and decrease IL-1 β promoter DNA methylation in microglia. *Neurobiol. Aging*. 2016;47:1-9.
- Prokhortchouk A., Sansom O., Selfridge J., Caballero I.M., Salozhin S., Aithozhina D., Cerchiatti L., Meng F.G., Augenlicht L.H., Mariadason J.M., Hendrich B., Melnick A., Prokhortchouk E., Clarke A., Bird A. *Kaiso*-deficient mice show resistance to intestinal cancer. *Mol. Cell. Biol*. 2006;26:199-208.
- Shumskaya V.S., Zhigalova N.A., Prokhorchouk A.V., Prokhorchouk E.B. Distribution of *Kaiso* protein in mouse tissues. *Histochem. Cell Biol*. 2015;143(1):29-43.
- Wade P.A. Methyl CpG-binding proteins and transcriptional repression. *BioEssays*. 2001;23:1131-1137.