

# Genomic Imprinting – Evolution eines neuen Konzepts der Genregulation bei Säugetieren

Jörn Walter und Martina Paulsen

Universität des Saarlandes  
FR 8.3 Biowissenschaften  
Genetik/Epigenetik  
Saarbrücken

## Zusammenfassung

Bei Säugetieren und Blütenpflanzen unterliegen einige Gene einer elterlichen Prägung (genomic imprinting), die zur Repression eines bestimmten elterlichen Allels und so zur mono-allelischen Expression führt. Die allelspezifische Repression lässt sich auf epigenetische Modifikationen zurückführen, die in der Keimbahn der Eltern gesetzt und nach der Befruchtung weitgehend beibehalten werden. Fehler in der allel-spezifischen Markierung geprägter Gene führen zur Fehl-expression und stehen im Zusammenhang mit einer Reihe von Imprinting-Syndromen und Tumorerkrankungen. Es ist bisher nicht bekannt, welche DNA-Elemente für die mono-allelische Expression geprägter Gene verantwortlich sind. Ein Weg, solche Schlüsselemente zu identifizieren, ist der Vergleich von DNA-Sequenzen geprägter Gene verschiedener Spezies unter Berücksichtigung der Entstehungsgeschichte von Imprinting. Neben der Evolution auf molekularer Ebene werden im Folgenden auch funktionelle Gesichtspunkte wie mögliche Selektionsvorteile des Imprinting und die Koevolution morphologischer Merkmale beleuchtet.

## Keywords

Elterliche Prägung, Imprinting, Evolution, DNA-Methylierung

## Summary

In mammals and flowering plants, genomic imprinting is a gene silencing mechanism that results in mono-allelic expression of some genes depending on the parental origin of the silenced allele. Allele-specific repression is mediated by epigenetic modifications that are set in the parental germlines and are kept after fertilisation. Failures in epigenetic marking result in loss of imprinted gene expression. They are the cause of human imprinting syndromes, and are also seen in some tumor types. The DNA key elements that are responsible for imprinted gene expression and that distinguish imprinted genes from biallelically expressed genes are still not known. A possible way to identify such elements is the comparison of imprinted DNA sequences in different species based on the evolutionary history of imprinted gene expression in mammals. In the following we will address molecular aspects of imprinted gene evolution, the advantages of imprinting, and the co-evolution of morphological features.

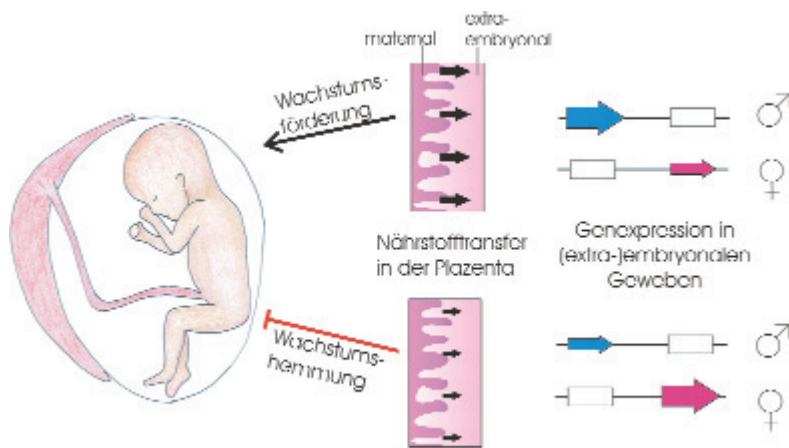
## Keywords

imprinting, evolution, DNA methylation

## Elterliche Prägung als Selektionsvorteil

Über den evolutionären Nutzen von Imprinting als Form der Genregulation insbesondere bei Säugetieren wurden in den letzten Jahren verschiedene Theorien aufgestellt. Unter anderem wird vermutet, dass eine Funktion der elterlichen Prägung die Verhinderung von Parthenogenese sein könnte, einem Fortpflanzungsmechanismus, bei dem sich die Nachkommen aus unbefruchteten Eizellen entwickeln. Eine der mechanistischen Theorien besagt, dass Genomic Imprinting als ein Nebenprodukt eines auf epigenetischen Mechanismen basierenden Verteidigungssystems gegen retrovirale Elemente entstanden sein könnte (Barlow, 1993). Im Säugergenom findet man eine große Anzahl retroviraler Elemente, die durch epigenetische Mechanismen transkriptionell stillgelegt werden. In den sich sehr unterschiedlich entwickelnden männlichen und weiblichen Keimbahnen entstanden Mechanismen unterschiedlicher Spezifität oder Effizienz zur Unterdrückung der Transkription retroviraler Elemente. Die keimbahn-spezifischen Markierungsunterschiede dieser Elemente werden möglicherweise nach der Befruchtung an einigen Stellen beibehalten und könnten als allelspezifische Markierung zur Regulation benachbarter geprägter Gene dienen.

Die Parental-Conflict-Hypothese geht davon aus, dass im Embryo die elterlichen Genome um die Ressourcen der Mutter konkurrieren (Moore, 1991). Da bei den meisten Säugetie-



**Abb 1 Parental-Conflict-Hypothese: Imprinting reguliert den Nährstofftransfer zwischen Mutter und Embryo**

Das Gleichgewicht zwischen maternalen (rot) und paternalen (blau) Transkripten im Embryo und in extraembryonalen Geweben reguliert den Nährstofffluss zwischen maternalem und extraembryonalem Plazentagewebe.

ren aufgrund der vorherrschenden Polygamie sich das Männchen nicht sicher sein kann, dass die weiteren Nachkommen des jeweiligen Weibchens auch die eigenen sind, ist es daran interessiert, dass die jeweiligen mütterlichen Ressourcen für seinen Nachkommen optimal ausgebeutet werden. Hingegen ist das Weibchen daran interessiert, dass auch nachfolgenden Nachkommen ihre Ressourcen zur Verfügung stehen. Aufgrund dieser unterschiedlichen Interessenlagen haben sich Genregulationsmechanismen entwickelt, die darauf basieren, dass das väterliche Genom die Expression von Wachstumsfaktoren unterstützt, während das mütterliche Genom die Bildung dieser Faktoren hemmt. Dies hat zur Folge, dass Wachstumsfaktorgene wie *Igf2* (insulin like growth factor 2) väterlich exprimiert und Wachstumsrepressorgene wie das antagonistisch wirkende *Igf2*-Rezeptorgen (*Igf2r*) vom mütterlichen Allel abgelesen werden. Die Parental-Conflict-Hypothese basiert darauf, dass zwischen Embryo und Mutter während der Embryonalentwicklung ein direkter Austausch von Nährstoffen besteht, der bei Plazentatieren durch die Plazenta vermittelt und durch die aktive Nachfrage des Embryos beeinflusst wird (Abb. 1). Bei den meisten übrigen Tierarten besteht der aktive Einfluss des Embryos auf das Nährstoffangebot nicht, weil sich beispielsweise der größte Teil der Embryonalentwicklung außerhalb des Mutterleibes abspielt oder eine physikalische Barriere wie die Eischale den direkten Kontakt zwischen Mutter und Embryo verhindert. Die Paren-

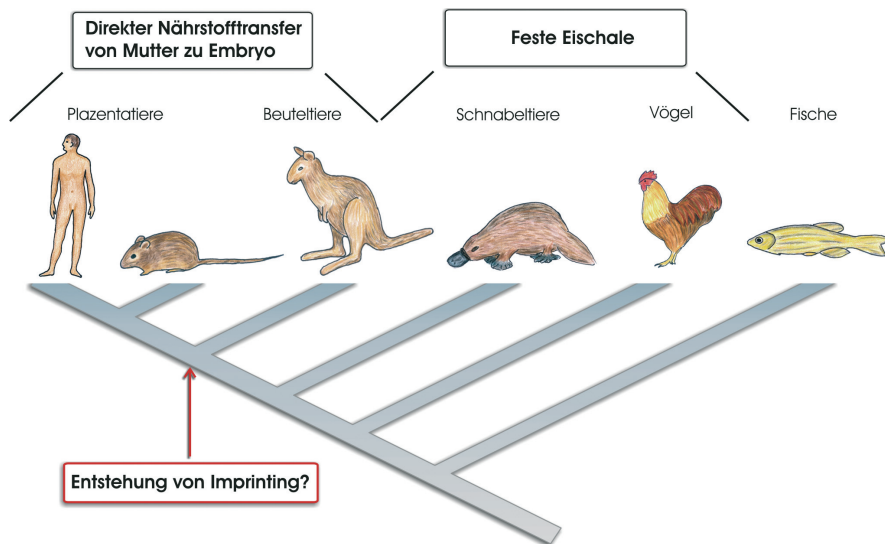
tal-Conflict-Hypothese impliziert, dass elterlich geprägte Gene vor allem für die Funktion der Plazenta eine Rolle spielen. Experimente, in denen geprägte Gene, wie *Igf2* und *Peg10* aus Mäusen entfernt wurden, führten tatsächlich zu einer Fehlentwicklung der Plazenta und unterstützen somit die Parental-Conflict-Hypothese.

Die Attraktivität dieser Hypothese besteht auch darin, dass Effekte, die auf elterlicher Prägung basieren und sich erst nachgeburtlich zeigen, „erklärbar“ werden. Nach der Geburt steht die elterliche Fürsorge im Mittelpunkt und geprägte Gene spielen hier eine wichtige Rolle. So führt beispielsweise die Deletion des väterlich exprimierten *Peg1*-Gens in Mäusen zu einer verminderten Brutpflege bei weiblichen Tieren. Auf diese Weise könnten geprägte Gene einen weitreichenden Einfluss auf die Überlebenschancen der zweiten Generation besitzen. Diese Erweiterung der Parental-Conflict-Hypothese impliziert einen Einfluss von Imprinting auf das menschliche Verhalten, insbesondere auf das Sozialverhalten (Walter, 2003). Anhaltspunkte, dass dies tatsächlich der Fall sein könnte, lieferte eine Studie, die Ende der 90er Jahre an Turner-Syndrom-Patientinnen durchgeführt wurde (Skuse, 1997). Die Studie zeigte, dass Patientinnen, denen das väterliche X-Chromosom fehlte, charakteristische Verhaltensauffälligkeiten aufwiesen, die bei Patientinnen mit fehlendem mütterlichen X-Chromosom nicht auftraten. Diese Studie gab außerdem erste Hinweise, dass sich auch auf dem menschlichen X-

Chromosom elterlich geprägte Gene befinden, was durch neuere Studien in der Maus bestätigt wurde (Davies, 2005). Inwieweit Imprinting tatsächlich einen Einfluss auf das Verhalten und die Funktion des Gehirns des Menschen hat, wird sicherlich in den nächsten Jahren eine spannende Frage für die Forschung sein.

#### Imprinting-Effekte zeigen sich nicht bei Schnabeltieren

Im Tierreich scheint die Existenz von geprägten Genen auf Plazenta- und Beuteltiere beschränkt zu sein (Abb. 2). Elterliche Prägung trat vermutlich zuerst in einem Vorläufer der Plazenta- und Beuteltiere auf. Diese These wird von der Parental-Conflict-Hypothese gestützt, die einen direkten Kontakt von Mutter und Embryo als Grund für die Evolution von Prägung voraussetzt. Untermauert wird diese These auch durch Untersuchungen an eierlegenden Säugetieren, den Monotremen, wie z.B. dem Schnabeltier. Hier besteht aufgrund einer festen Eischale kein direkter Kontakt zwischen Embryo und maternalem Gewebe. Dies schließt einen parentalen Konflikt um Nährstoffe während der Embryonalentwicklung aus. In der Tat zeigen erste Studien, dass Gene wie *Igf2* und *Igf2r*, die wichtig für die Embryonalentwicklung sind, bei Beuteltieren, jedoch nicht bei Schnabeltieren, elterlich geprägt sind. Es ist noch unklar, ob andere geprägte Gene, die die mütterliche Fürsorge und das Fütterungsverhalten nach der Geburt beeinflussen, bei Beuteltieren entsprechend aktiv sein könnten.



**Abb 2 Entstehung des Imprinting im Laufe der Entwicklung der Arten**

(Die Entwicklungslinien sind in Bezug auf phylogenetische Distanzen nicht maßstabsgerecht.)

### Imprinting beruht auf allelspezifischen epigenetischen Modifizierungen

Geprägte Gene zeichnen sich durch allelspezifische Chromatinmodifikationen aus: eines der beiden Allele ist heterochromatinisiert und transkriptionell inaktiv, das andere ist in einer euchromatischen, transkriptionell aktiven Konfiguration. Verursacht werden diese Chromatin-Unterschiede durch DNA-Methylierung an Cytosinen und Modifikationen der Histone H3 und H4. Interessant ist, dass sämtliche der bislang gefundenen epigenetischen Modifikationen an geprägten Genen auch bei vielen anderen Eukaryoten, die kein genomisches imprinting aufweisen, zu beobachten sind und dort zur (biallelischen) Genregulation genutzt werden. Es ist daher davon auszugehen, dass im Verlauf der Evolution „alte“ epigenetische Mechanismen für Imprinting „neu“ definiert worden sind, d.h. diese Modifikationen werden lediglich auf eine ganz spezielle Art und Weise benutzt. Im Fall von elterlicher Prägung dienen sie als eine Markierung der elterlichen Allele in der Keimbahn.

Eine zentrale Modifikation für Imprinting ist die differentielle, allelspezifische DNA-Methylierung an kurzen DNA-Abschnitten, die man als „differentially methylated regions“ (DMRs) bezeichnet. Innerhalb der Imprinting-Regionen sorgen diese Elemente für eine stabile Prägung der hier lokalisierten Gene. Die DMRs werden daher auch als Imprinting-Center (IC) bezeichnet. Der Verlust von DNA-Methylierung (insbesondere an ICs) führt

zum Auslösen von Imprinting-Effekten in Säugern und Pflanzen, d.h. in beiden Kladen ist die DNA-Methylierung ein Kern-Element der Prägung. Die neben der DNA-Methylierung beobachteten Histon-Modifikationen (Acetylierungs- und Methylierungsunterschiede spezifischer Lysine der Histone H3 und H4) sind darüber hinaus vermutlich von großer Bedeutung für die Etablierung der allelspezifischen DNA-Methylierung in der Keimbahn, sicher aber an der regionalen Ausbreitung von Imprinting-Effekten innerhalb von Imprinting-Clustern (s.u.) beteiligt (Lewis, 2004). Zusammenfassend kann man sagen, dass eine Reihe epigenetischer Modifikationen der DNA und Histone essentiell für Imprinting bei Pflanzen und Säugern sind. Bislang konnte jedoch noch nicht abschließend geklärt werden, wie und in welcher Reihenfolge diese Modifikationen an den Imprinting-Kontrollelementen zum Einsatz kommen.

In jüngster Zeit mehren sich die Hinweise, dass kurze RNA-Moleküle in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle spielen könnten. Bei Pflanzen, Hefe und dem Fadenwurm *C. elegans* wurde gezeigt, dass kleine ca. 20 bis 25nt lange RNAs, die zu RNA-Interferenz-Mechanismen führen, auch einen Einfluss auf die Etablierung epigenetischer Modifikationen haben. Jüngste Befunde deuten an, dass auch bei Säugern RNA-vermittelte DNA-Methylierung an (sequenz-) spezifischen Positionen im Genom stattfinden kann (Kawasaki, 2004).

### Ähnlichkeiten zwischen X-Chromosom-Inaktivierung und Imprinting deuten auf eine gemeinsame Evolution

Bei Säugetieren und Fliegen sind untranslatierte, strukturelle mRNAs essentiell für die Etablierung von Dosiskompensationsmechanismen der (überzähligen) X-Chromosomen. Im Menschen spielt die *XIST*-RNA, die im X-Chromosom-Inaktivierungs-Center (XIC) transkribiert wird, eine maßgebliche Rolle im Prozess der Heterochromatinisierung und Inaktivierung des überzähligen X-Chromosoms. Diese RNA wird ausschließlich vom inaktiven X-Chromosom transkribiert und ummantelt das inaktive X-Chromosom. Als Folge dieses „Coating“ finden eine Reihe weiterer epigenetischer Modifizierungen entlang des inaktiven X-Chromosoms statt, wie z.B. Histon-Deacetylierung gefolgt von Histon-Methylierungen und DNA-Hypermethylierungen von Promotoren, die zur Repression der Transkription in weiten Bereichen des X-Chromosoms führen. Auch in geprägten Genen findet man eine Reihe transkribierter, nicht-kodierender RNAs, deren Funktion im Imprinting-Prozess noch unklar ist. Zu diesen gehören *Air* und *Kcnq1ot1* (*Lit1*), die Antisense-RNAs der geprägten *Igf2r*- und *Kcnq1*-Gene sind. In einem Knockout-Modell der Maus konnte die essentielle Bedeutung von *Air* für den Inaktivierungsprozess nachgewiesen werden (Sleutels, 2002).

Interessanterweise werden auch bei der X-Chromosomen-Inaktivierung Imprinting-Effekte beobachtet. Wäh-

### Prader-Willi/Angelman-Syndrom-Region

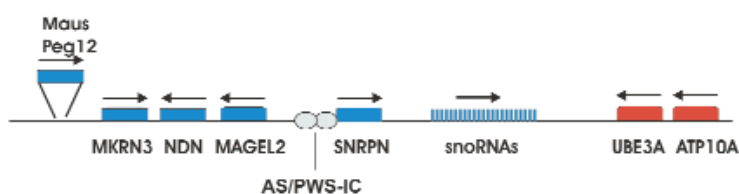
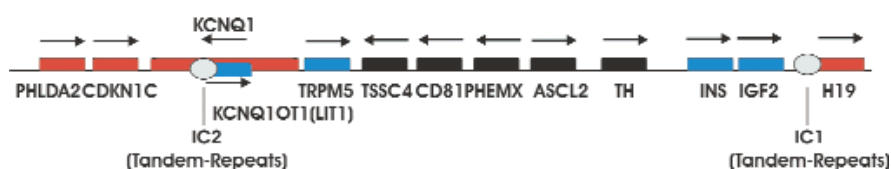


Abb 3 Organisation der Beckwith-Wiedemann-Syndrom- und Prader-Willi/Angelman-Syndrom-Regionen im menschlichen Genom

Gene sind als Boxen dargestellt; blau: paternal exprimiert, rot: maternal exprimiert, schwarz: bi-allelesch exprimiert. Graue Ovale stellen die Imprinting-Center in beiden Regionen dar.

(Die Karte ist nicht maßstabsgerecht.)

### Beckwith-Wiedemann-Syndrom-Region



rend im Embryo von Plazenta-Tieren eine zufällige, vom elterlichen Ursprung des jeweiligen X-Chromosoms unabhängige Inaktivierung erfolgt, wird bei Mäusen in extraembryonalen Geweben, wie dem Dottersack und der Plazenta, die Inaktivierung des väterlichen X-Chromosoms bevorzugt. Bei Beuteltieren tritt dieser Imprinting-Effekt auch im Embryo auf. Zudem gibt es, wie bereits erwähnt, geprägte Gene auch auf dem X-Chromosom. Im Genom von weiblichen Nachkommen wird daher die Information des paternalen und maternalen X-Chromosoms unterschiedlich genutzt.

#### Imprinting-Regionen enthalten zentrale Regulationselemente

Eine Besonderheit von geprägter Gene ist ihre Häufung in eng umgrenzten Regionen des Säugetiergenoms. Im Zentrum dieser Regionen stehen im Allgemeinen ein einzelnes Regulationselement bzw. wenige von ihnen, die die allelspezifische Expression der umliegenden Gene bewirken. Zu den besonders gut untersuchten Regionen gehören die Beckwith-Wiedemann-Syndrom-(BWS)-Region und die Prader-Willi/Angelman-Syndrom-(PWS/AS)-Region (Abb. 3) (Nicholls, 2001). Die BWS-Region liegt beim Menschen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 11. Diese Region besitzt zwei Imprinting Center: IC1 und IC2. Das Regulationselement IC1 liegt im Bereich des nicht protein-kodierenden *H19*-Gens und reguliert die allelspezifische Expression des *IGF2*-Gens. Es wird angenommen, dass wesentliche physiologische Imprin-

ting-Effekte (Wachstum) über das väterlich exprimierte *IGF2*-Gen, einen Insulin ähnlichen Wachstumsfaktor, vermittelt werden. Weitere physiologisch wichtige Gene der BWS-Region, wie z.B. das maternal exprimierte *CDKN1C*-Gen werden über ein zweites Imprinting Center (IC2) reguliert. IC2 liegt im Bereich einer CpG-Insel im 10. Intron des *KCNQ1*-Gens ca. 0,5 Mb entfernt von IC1. Im Gegensatz zum väterlich geprägten IC1 besitzt das IC2 eine mütterliche Prägung. Es dient als Promoter-Element des väterlich transkribierten nicht kodierenden *KCNQ1OT1(LIT1)*-Transkripts, das mit *KCNQ1* überlappt, jedoch in umgekehrter Orientierung (antisense) transkribiert wird. Interessanterweise scheint das IC2 sowohl die Regulierung von Genen zu steuern, die im Embryo bestimmten Imprintingphänomen unterliegen, als auch benachbarte Gene, die ausschließlich in der Plazenta „imprinted“ werden.

Auch in der PWS/AS-Region befinden sich zwei zentrale Regulationselemente, das Angelman-Imprinting Center (AS-IC) und das Prader-Willi-Imprinting-Center (PWS-IC). Das AS-IC ist für die Aufrechterhaltung der Expression maternal transkribierter Gene, wie dem *UBE3A*-Gen, auf dem mütterlichen Allel verantwortlich. Ein Verlust der *UBE3A*-Funktion aufgrund von Mutationen innerhalb des Gens oder aufgrund einer aberranten Repression verursacht das Angelman-Syndrom. Das PWS-IC-Element aktiviert dagegen auf dem väterlichen Allel die Expression väterlich transkri-

bierter Gene. Deletion des PWS-IC-Elements oder fehlerhafte epigenetische Modifikationen des Regulationselements sind mit dem Prader-Willi-Syndrom verbunden.

Für beide PWS/AS- und BWS-Regionen konnte gezeigt werden, dass die räumliche Anordnung geprägter Gene um zentrale Imprinting-Center für eine korrekte allelspezifische Expression unabdinglich ist. Dies legt nahe, dass die Evolution der räumlichen Anordnung von geprägten Genen in einem engen Zusammenhang mit der Evolution elterlicher Prägung steht. Betrachtet man die BWS-Region bei Säugern mit Imprinting und beim Huhn ohne Imprinting, so findet man für die Protein-kodierenden Gene dieser Region eine ähnliche Anordnung (Paulsen, 2005). Der grundsätzliche Aufbau der Imprinting-Regionen erfolgte also bereits vor der Trennung der Säugetier- und Vogellinien, d.h. vor der eigentlichen Entstehung des Imprinting.

Genauere Analysen von Imprinting-Regionen innerhalb der Gattung der Säugetiere verdeutlichen allerdings, dass auch hier schnelle evolutionäre Veränderungen auftraten. So wurde in der PWS/AS-Region der Maus das väterlich exprimierte *Peg12(Frat3)*-Gen im Grenzbereich zu bi-allelesch exprimierten Nachbargenen inseriert und geriet nachträglich unter die Kontrolle der Imprinting-Center in dieser Region. Ein interessantes Beispiel für einen Verlust von Imprinting ist das *IGF2R*-Gen im menschlichen Genom. Hier beobachtet man zwar immer

noch allel-spezifische DNA-Methylierungsmuster, das *IGF2R*-Gen wird allerdings bi-allelisch exprimiert. Während die generelle strukturelle und funktionelle Organisation von Imprinting-Clustern sehr gut konserviert zu sein scheint, unterliegt die mono-allelische Expression einzelner geprägter Gene offenbar einer schnellen evolutionären Veränderbarkeit.

#### **Imprinting-Motive: Nichtkodierende RNAs, Tandem-Repeats und retrotransponierte Elemente**

Es wird vermutet, dass im Zusammenhang mit der Evolution des Imprinting DNA-Elemente im Bereich von „imprinted cluster“ evolvierten, die für das Imprinting wichtig sind. Die primären Kandidaten hierfür sind die sogenannten „Imprinting Center“ (ICs). Die genaue molekulare Funktion und Evolution dieser teilweise sehr unterschiedlichen ICs ist aber noch weitgehend ungeklärt. Eine sehr interessante Beobachtung ist, dass ICs bei z.B. Maus und Mensch teilweise sehr unterschiedliche Sequenzen aufweisen – aber offensichtlich gleiche Funktionen ausüben. Es ist daher anzunehmen, dass zusätzliche genomische Veränderungen zur Evolution des Imprinting beigetragen haben. Als potentielle weitere Regulationselemente werden nicht-kodierende RNAs, kurze Sequenz-Wiederholungsmotive (Tandem-Repeats) und eine ungewöhnliche Verteilung von retrotransponierten Elementen (LINEs und SINEs/ALUs) angesehen. In allen drei Fällen, wird davon ausgegangen, dass diese typischen Charakteristika erst mit der Regulierung des Imprinting entstanden sind und daher nur bei Plazenta- und Beuteltieren auftreten. Diese Annahme wird durch die Tatsache untermauert, dass beim Huhn zwar die Protein-kodierenden Gene der BWS-Region in ähnlicher Anordnung vorliegen, ein Homolog für die nicht-kodierende *H19*-RNA jedoch nicht gefunden worden ist.

Auf der Suche nach charakteristischen DNA-Elementen in Imprinting-Regionen machte man die Beobachtung, dass in der Nähe von ICs häufig kurze Sequenzwiederholungen zu finden waren (Paulsen, 2005). Diese Tandem-Repeats (meist direkte „head-to-tail“-

Anordnungen von 20-50nt langen DNA-Elementen) fand man in etwa 25% der identifizierten geprägten Gene. Versuche, in denen Tandem-Repeats bei der Maus deletiert wurden, deuten allerdings an, dass jene allein für die Auslösung von Imprinting-Effekten nicht ausreichen, sondern in Kombination mit weiteren noch unbekannten Elementen vorliegen müssen.

Eine weitere interessante Beobachtung ist, dass sowohl das X-Chromosom als auch Gene, die einem Imprinting unterworfen sind, im Vergleich zu den übrigen Regionen des Säugetiergenoms eine ungewöhnliche Verteilung von retrotransponierten Elementen aufweisen. Diese Elemente sind in Imprinting-Regionen nur leicht angereichert, wesentlich auffälliger ist hier eine starke Unterrepräsentation von SINE-Elementen (short interspersed nucleotide elements) (Greally, 2002). Während für das X-Chromosom angenommen wird, dass LINE-Elemente als Ankerstationen bei der Interaktion von *Xist*-RNA und Chromosom dienen könnten, gibt es noch keine Anhaltspunkte für eine Funktion des geringen SINE-Gehalts von „imprinted genes“. Es ist allerdings denkbar, dass der ungewöhnlich niedrige SINE-Gehalt einen Einfluss auf die Prägung bestimmter Gene in der Keimbahn hat.

#### **Ausblick**

In dem hier präsentierten Überblick wird deutlich, dass es zwar eine Reihe von Hypothesen zu funktionellen Aspekten der Imprinting-Evolution gibt, der molekulare Ursprung von Imprinting-Regulationselementen jedoch noch weitgehend im Dunkeln liegt. Dies wird sich wahrscheinlich mit der Sequenzierung von Beuteltier- und Schnabeltiergenomen ändern. Die Bedeutung von evolutionären Studien für das Verständnis von Imprinting als Regulationsmechanismus zeigt, wie wichtig auch die Genomsequenzierung von vermeintlich exotischen Spezies sein kann.

#### **Literatur**

Barlow DP (1993) Methylation and imprinting: from host defense to gene regulation? *Science* 260:309-310.

Davies W, Isles A, Smith R, Karunadasa D, Burrmann D, Humby T, Ojarikre O, Biggin C, Skuse D, Burgoyne P, Wilkinson L (2005) *Xlr3b* is a new imprinted candidate for X-linked parent-of-origin effects on cognitive function in mice. *Nat Genet* 37:625-629.

Greally JM (2002) Short interspersed transposable elements (SINEs) are excluded from imprinted regions in the human genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:327-332.

Kawasaki H, Taira K (2004) Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature* 431:211-217.

Killian JK, Byrd JC, Jirtle JV, Munday BL, Stoskopf MK, MacDonald RG, Jirtle RL (2000) *M6P/IGF2R* imprinting evolution in mammals. *Mol Cell* 5:707-716.

Lewis A, Mitsuya K, Umlauf D, Smith P, Dean W, Walter J, Higgins M, Feil R, Reik W (2004) Imprinting on distal chromosome 7 in the placenta involves repressive histone methylation independent of DNA methylation. *Nat Genet* 36:1291-1295.

Moore T, Haig D (1991) Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends Genet* 7:45-49.

Nicholls RD, Knepper JL (2001) Genome organization, function, and imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2:153-175.

Paulsen M, Khare T, Burgard C, Tierling S, Walter J (2005) Evolution of the Beckwith-Wiedemann syndrome region in vertebrates. *Genome Res* 15:146-153.

Skuse DH, James RS, Bishop DV, Coppin B, Dalton P, Aamodt-Leeper G, Bacarese-Hamilton M, Creswell C, McGurk R, Jacobs PA (1997) Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature* 387:705-708.

Sleutels F, Zwart R, Barlow DP (2002) The non-coding Air RNA is required for silencing autosomal imprinted genes. *Nature* 415:810-813.

Walter J, Paulsen M (2003) Imprinting and disease. *Semin Cell Dev Biol* 14:101-110.

#### **Korrespondenzadresse**

Dr. Martina Paulsen  
Universität des Saarlandes  
FR 8.3 Biowissenschaften  
Genetik/Epigenetik  
Campus Saarbrücken Gebäude 6  
Postfach 151150  
D-66041 Saarbrücken  
Tel. 0049-(0)681-302 2795  
Fax. 0049-(0)681-302 2703  
m.paulsen@mx.uni-saarland.de