

СЕГРЕГАЦИЯ КЛАСТЕРОВ α - И β -ГЛОБИНОВЫХ ГЕНОВ В ХОДЕ ЭВОЛЮЦИИ ПОЗВОНОЧНЫХ – СЛУЧАЙНОСТЬ ИЛИ ЗАКОНОМЕРНОСТЬ?

Обзор

© 2022 О.В. Яровая^{1*}, С.В. Ульянов^{1,2}, Е.С. Юдинкова¹, С.В. Разин^{1,2}

¹ Институт биологии гена РАН,
119334 Москва, Россия; электронная почта: iarovaia@inbox.ru
² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119234 Москва, Россия

Поступила в редакцию 22.07.2022
После доработки 18.08.2022
Принята к публикации 19.08.2022

Обзор посвящен закономерностям эволюции доменов α - и β -глобиновых генов. Впервые представлена гипотеза, в соответствии с которой сегрегация предкового кластера α/β -глобиновых генов Amniota закономерна и обусловлена выполнением α -глобинами и β -глобинами неканонических функций, не связанных с транспортом кислорода.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эволюция α - и β -глобиновых генов, регуляция транскрипции, неканонические функции α - и β -глобинов.

DOI: 10.31857/S0320972522090093, **EDN:** BBEVGH

ВВЕДЕНИЕ

У позвоночных животных транспорт кислорода от органов дыхания к потребляющим кислород тканям обеспечивается гемоглобином. Молекула гемоглобина состоит из двух полипептидных цепей α -типа и двух полипептидных цепей β -типа, каждая из которых связана с протетической группой – железосодержащим гемом. Гены, кодирующие α - и β -глобины теплокровных, – классический модельный объект молекулярной биологии. Структура кластеров α - и β -глобиновых генов, механизмы регуляции их транскрипции в эритроидных клетках и эволюция изучены очень основательно [1–8]. Структура молекулы гемоглобина предполагает необходимость эквимолярной экспрессии

Принятые сокращения: CTC – циркулирующие опухолевые клетки; KLF1 и KLF4 – транскрипционные факторы, регулирующие транскрипцию α - и β -глобиновых генов; LCR – область контроля локуса, эритроид-специфичный суперэнхансер; MRE – главный регуляторный элемент локуса α -глобиновых генов, эритроид-специфичный энхансер; RIG-1 – рецептор распознавания патогенов; RNS – активные формы азота; ROS – активные формы кислорода.

* Адресат для корреспонденции.

α -глобиновых и β -глобиновых генов с тем, чтобы в эритроцитах количество α -глобиновых цепей и β -глобиновых цепей было примерно одинаковым. Избыток α - или β -глобиновых цепей, ассоциированный с генетическими заболеваниями, приводит к образованию нестабильных полипептидных агрегатов из избыточных белков, нарушающих нормальное функционирование эритроцитов, их разрушению и анемии [9–11]. Представляется очевидным, что проще всего координированная сбалансированная эквимолярная экспрессия достигается, когда α - и β -глобиновые гены соседствуют в составе единого локуса, транскрибируются с общего промотора и/или используют общий энхансер. Именно такую структуру, вероятнее всего, имел предковый локус, в котором α - и β -глобиновые гены, предположительно, локализовались в непосредственной близости друг от друга и находились в составе общего регуляторного домена [12].

Предковые α - и β -глобиновые гены произошли в результате дупликации прото-глобинового гена у общего предка челюстноротых и сохранили соседство после дивергенции. Тесное соседство α - и β -глобиновых генов и ко-

ординированная экспрессия в составе общего кластера сохранились в геномах современных рыб и земноводных. Однако, наряду со слитым доменом α/β -глобиновых генов, у некоторых групп земноводных в геноме присутствуют сегрегированные глобиновые гены. У рептилий, птиц и плацентарных млекопитающих α - и β -глобиновые гены сегрегированы полностью и располагаются на разных хромосомах. Транспозиция предкового гена β -глобина разрушила стройную и простую систему, обеспечивающую координированную экспрессию α - и β -глобиновых генов, и обусловила появление независимых систем регуляции транскрипции доменов α - и β -глобиновых генов. На первый взгляд, событие сегрегации, разрушающее сложившийся регуляторный контекст, контрпродуктивно, биологического смысла не имеет и не должно было закрепиться в эволюции. Представляется очевидным, что отбор должен быть направлен в сторону сохранения соседства и общих регуляторных механизмов для генов, кодирующих субъединицы одного белка. Однако давление естественного отбора в направлении сегрегации очевидно обеспечивало возможные эволюционные преимущества, окупающие «потери», сопровождающие разрушение регуляторного контекста предкового кластера α/β -глобиновых генов. Результатом сегрегации предкового кластера могла стать возможность независимой экспрессии α - и β -глобиновых генов в незритроидных тканях. Можно осторожно предположить, что первые попытки сегрегации α - и β -глобиновых генов совпали по времени с выходом на сушу общего предка Tetrapoda и окончательно закрепились в геномах Amniota вследствие полной утраты связи с водной средой обитания.

Выход на сушу был огромным эволюционным скачком. Изменение среды обитания потребовало решения многих, возникших в связи с этим, проблем развития новых физиологических функций, систем органов и адаптивных механизмов. Возможно, приобретение новых функций у общего предка наземных животных сопровождалось «плейотропизацией» генов и кодируемых ими полипептидов, причем не только регуляторных и сигнальных, но и части структурных белков; и именно в этом направлении шел отбор. Мы предполагаем, что независимо экспрессирующиеся α - и β -глобины у первых обитателей суши были приспособлены для выполнения неких особых функций, возможно, ассоциированных с решением проблем, возникших в связи с расширением среды обитания и прямо не связанных с эритроцитарным транспортом кислорода. Именно это сделало

не только возможным, но и необходимым сегрегацию α - и β -глобиновых генов и их независимую экспрессию. Можно предположить, что потери в результате произошедшей сегрегации оказались не очень существенными. Коррекция изолированных α - и β -глобиновых генов в эритроидных клетках — по всей видимости, задача легко разрешимая в силу того, что уровень экспрессии глобиновых генов выведен на максимальное значение, и весь метаболический потенциал эритробласта используется для достижения одной цели — синтеза максимально возможного количества гемоглобина. Возможные приобретения, возникшие после сегрегации, очень значительны. Одним из таких приобретений является возможность независимого участия только α - или только β -глобинов в формировании надмолекулярных комплексов, отличных от гемоглобина. Тогда сегрегация генов неслучайна, имеет биологический смысл и должна закрепиться в эволюции.

Гипотеза о закономерном характере сегрегации α - и β -глобиновых генов в ходе эволюции позвоночных представлена в научной литературе впервые.

ЭВОЛЮЦИЯ ГЛОБИНОВ, КОДИРУЮЩИХ ИХ ГЕНОВ И РЕГУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ

По общему мнению, глобиновые гены появились в геноме эукариот одновременно с митохондриями и пластидами в результате переноса генов, а возможно, и поглощения или слияния геномов. Вероятнее всего, функциями предковых глобинов были ферментативная, сигнальная и защитная [13], так как для древних анаэробных организмов кислород, вероятнее всего, был токсичен. Анализ экзон-интронной структуры глобинов позволяет утверждать, что почти все эукариотические глобины произошли от одного предка. Весь репертуар глобиновых генов современных позвоночных обязан своим появлением нескольким циклам полногеномных дупликаций и ряду сегментных дупликаций в ходе эволюции с последующей суб- и неофункционализацией. Полногеномные дупликации предоставили широкие возможности для быстрой специализации дочерних форм и функциональной диверсификации белков, кодируемых паралогичными генами.

В геномах современных позвоночных присутствует несколько групп глобиновых генов, кодирующих нейроглобин (Ngb), цитоглобин (Cygb), андроглобин (Adgb), гемоглобин (Hb), миоглобин (Mb), а также менее распространенные глобины X, Y и E (GbX, GbY

и GbE) [14–16]. Основными функциями этих глобинов являются запасание кислорода в тканях, а также защита от оксидативного стресса. В результате двух раундов полногеномных дупликаций и последующей неофункционализации появились глобины, приспособленные к запасанию кислорода в клетках разного типа (Mb, Cygb, GbE) [17]. Далее в ходе эволюции возникла возможность физиологического разделения труда между функциями запасания и транспорта кислорода; появились предшественники α -глобинов и β -глобинов челюстноротых и гемоглобины бесчелюстных [18], приспособленные к транспорту кислорода от органов дыхания к тканям, что дало неоценимые эволюционные преимущества позвоночным животным [19]. Уникальная способность гемоглобина транспортировать кислород из органов дыхания по всему организму обусловлена его способностью эффективно захватывать кислород в легких или жабрах и легко высвобождать в тканях. Оптимизация транспортных функций требовала усложнения молекулы-транспортера кислорода. Современный гемоглобин обязан своим появлением несколькими событиями: дупликации прото-глобинового гена, точечным мутациям в составе дочерних паралогов и дальнейшей дифференцировке α - и β -глобиновых генов [19]. Дупликация прото-глобинового гена произошла 450–500 млн лет назад у общего предка современных позвоночных [19, 20]. С использованием статистических и биохимических методов для реконструкции и экспериментальной характеристики древних белков были восстановлены мутации, которые привели к появлению около 400 млн лет назад тетрамерного гемоглобина. Всего две постдупликационные замены на поверхности глобулы реконструированного предкового глобина привели к появлению глобинов α -типа и β -типа и обеспечили возможность его тетрамеризации [21]. Появление сложной тетрамерной структуры гемоглобина современных позвоночных сделало возможным кооперативное связывание и высвобождение кислорода, а также аллостерическую регуляцию этого процесса, невозможную у древних мономерных или гомодимерных транспортеров кислорода [22].

Сравнение организации, геномной локализации и механизмов регуляции экспрессии глобиновых генов у филогенетически удаленных организмов может предоставить важные данные о закономерностях их эволюции, в том числе о механизмах и последствиях сегрегации α - и β -глобиновых доменов. Предполагается, что геномный контекст и структура постдупликационного предкового локуса схожа со струк-

турой главного локуса α/β -глобиновых генов современных рыб. В составе домена присутствуют как α -, так и β -глобиновые гены [23]. Ближайшее эволюционно консервативное окружение слитого домена обеспечивает регуляторный контекст, который остается актуальным на протяжении всей эволюционной истории позвоночных и сохраняется в геноме Tetrapoda (рис. 1). С одной стороны, локус фланкирован тремя генами домашнего хозяйства (*RHBDF*, *MPG* и *NPRL3*), и в одном из этих генов (*NPRL3*) расположен эритроид-специфичный энхансер (который у млекопитающих обладает характерными чертами суперэнхансера), контролирующей транскрипцию глобиновых генов. Необходимо отметить, что в ходе эволюции костистых рыб произошла телеост-специфическая полногеномная дупликация. В результате локус α/β -глобиновых генов дублировался, и в геномах современных костистых рыб чередующиеся α - и β -глобиновые гены располагаются на двух хромосомах в главном и минорном локусах. Минорный локус глобиновых генов синтенен главному, однако из трех фланкирующих генов домашнего хозяйства в нем присутствует только один – *RHBDF*. В минорном локусе *Danio rerio* картирован эритроид-специфичный энхансер, но его происхождение и эволюционные взаимоотношения с энхансером главного локуса остаются невыясненными [24].

Характерное для рыб соседство и геномный контекст α - и β -глобиновых генов в составе единого кластера отчасти сохраняется и у земноводных (рис. 1) [25–27]. Предполагается, что у общего предка амфибий предковый локус имел следующую конфигурацию: 5'-*RHBDF1-MPG1-NPRL3- αE - αA - βT - βA -GbY-LUC7L-3'*. Ген *GBY* присутствует в геномах современных костистых рыб, шпорцевой лягушки, некоторых пресмыкающихся и утконоса [28, 29]. Его физиологическая роль на настоящий момент изучена мало. В ходе эволюции земноводных синтения в левой части кластера сохранилась, противоположный конец подвергся перестройкам, в результате чего возникли два локуса. Один локус содержал и α - и β -глобиновые гены (5'-*NPRL3- αE - αA - βT -3'*), а другой – ген(ы) β -глобина и ген глобина Y, *GBY* (5'-*LUC7L-GbY- βA -3'*). Таким образом, в результате перестройки предкового локуса у нескольких групп земноводных появляется сегрегированный ген β -глобина, причем у некоторых систематических групп слитый α/β -глобиновый домен и сегрегированный ген β -глобина располагаются на разных хромосомах. Анализ геномного окружения этого сегрегированного β -глобина

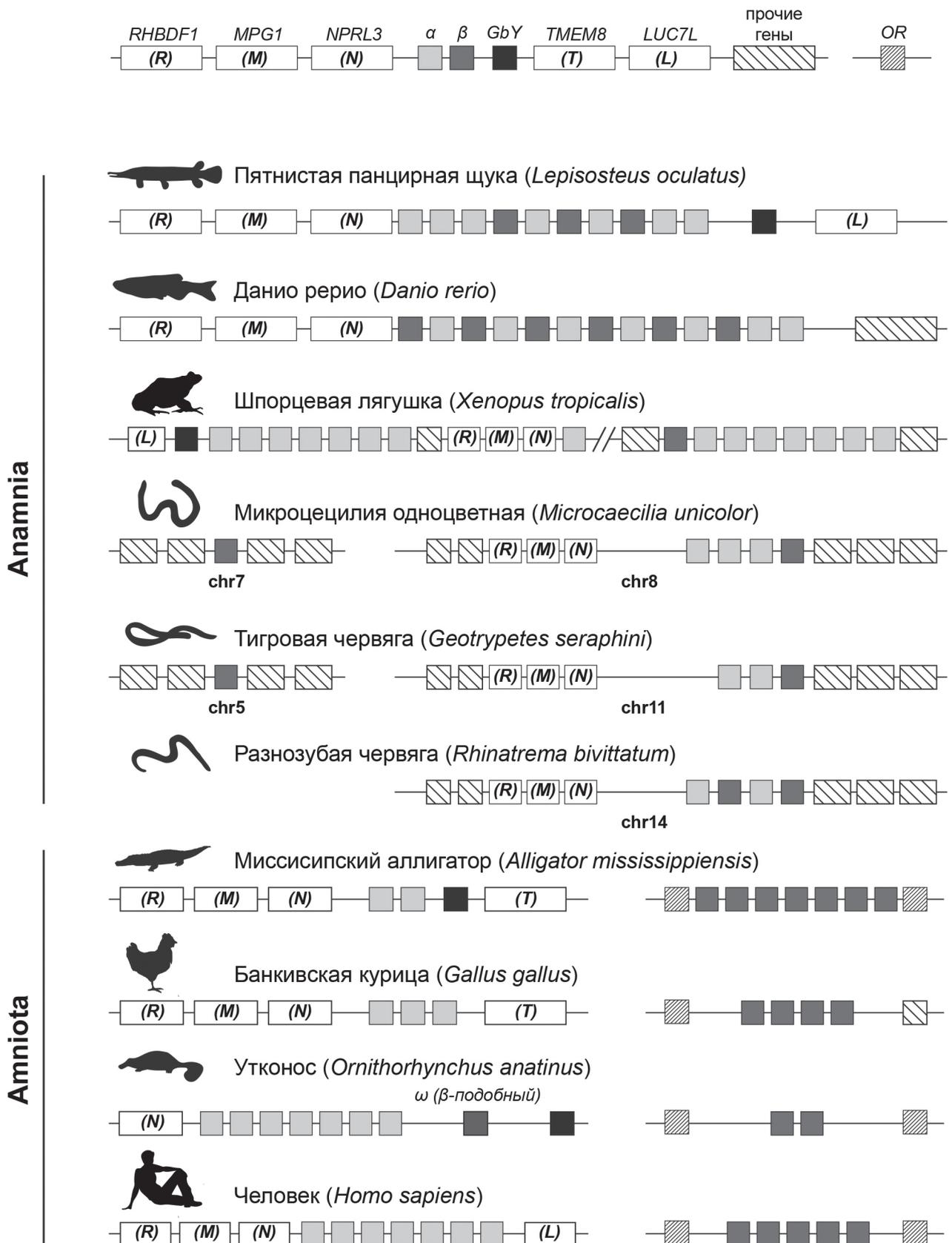


Рис. 1. Организация и геномное окружение слитых и сегрегированных генов гемоглобина позвоночных (с акцентом на геномах земноводных). Верхняя панель – названия генов

позволяет предположить, что события транспозиции части кластера происходили в эволюции несколько раз и независимо у разных таксономических групп земноводных. Было бы очень заманчиво предположить, что α - и β -глобиновые гены в составе сегрегированных кластеров дифференциально экспрессируются на разных стадиях индивидуального развития и именно сегрегация обеспечила их независимую стадиеспецифическую экспрессию, однако систематические данные о стадиеспецифическом характере экспрессии β -глобиновых генов в составе слитого или сегрегированного локуса у земноводных отсутствуют.

У общего предка Amniota происходит важное событие, существенно изменившее геномный контекст и механизмы регуляции α - и β -глобиновых генов – окончательная сегрегация α - и β -глобиновых генов. Если у рыб и земноводных по крайней мере часть α - и β -глобиновых генов колокализированы в едином кластере, то у подавляющего большинства современных рептилий, птиц и млекопитающих α - и β -глобиновые гены располагаются на разных хромосомах [4].

Геномное окружение α -глобиновых генов эволюционно очень консервативно. Практически у всех птиц и млекопитающих сохраняется соседство кластера глобиновых генов с генами *NPRL3*, *MPG1* и *RHBDF1*, характерное для главного локуса глобиновых генов рыб [30]. В геномах завропсид произошла инверсия на 3'-конце локуса [4], благодаря чему ген *TMEM8* оказался сближен с глобиновыми генами и, по крайней мере у птиц, вовлечен в регуляторную сеть глобиновых генов и приобрел эритроид-специфичный характер экспрессии [31, 32]. Гены *MPG1* и *RHBDF1* у пресмыкающихся не являются обязательной частью синтении, однако, возможно, их отсутствие связано с недостатками картирования.

Древняя ассоциация α -глобиновых генов и родственного β -глобину орфанного ω -глобинового гена в составе общего кластера – своеобразный генетический атавизм – сохраняется только у однопроходных и сумчатых млекопитающих (рис. 1) [29, 33–35]. У Amniota после окончательной сегрегации локусы α - и β -глобиновых генов оказались на разных хромосомах. В геномах млекопитающих и у части пресмыкающихся β -глобиновые гены находятся в окружении или фланкированы многочисленными генами одорантных рецепторов, которые экспрессируются в обонятельных нейронах [36]. Сегрегация β -глобиновых генов могла произойти в результате дупликации [35] или транспозиции целого предкового домена и последующей

утраты α -глобиновых генов или в результате транспозиции β -глобинового гена с соседствующим регуляторным элементом или только β -глобиновых генов на другую хромосому [29]. В результате этой перестройки была разрушена связь глобиновых генов с геном *NPRL3*, в составе которого находится энхансер глобиновых генов рыб и, предположительно, земноводных. Новое геномное окружение потребовало появления нового регуляторного контекста, в том числе новых регуляторных элементов.

ОРГАНИЗАЦИЯ СЛИТЫХ И СЕГРЕГИРОВАННЫХ ЛОКУСОВ α/β -ГЛОБИНОВЫХ ГЕНОВ У СОВРЕМЕННЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Анализ особенностей организации и механизмов регуляции экспрессии α - и β -глобиновых генов посвящено огромное количество экспериментальных статей и обзоров [2, 8, 37]. Поэтому мы остановимся на этом вопросе очень кратко. У костистых рыб α - и β -глобиновые гены расположены в двух синтенных кластерах, расположенных на разных хромосомах, в главном и минорном локусах, которые являются продуктами полногеномной телеост-специфической дупликации [23]. В главном локусе глобиновых генов *Danio rerio* (который близок по своей структуре к предковому) располагаются 13 α - и β -глобиновых генов, транскрибирующихся в противоположных направлениях (рис. 2). Локус разделен на два стадиеспецифичных субдомена, содержащих гены, транскрибирующиеся на взрослой и эмбрионально-личиночной стадиях развития. Взрослые гены находятся под контролем общего удаленного эритроид-специфичного энхансера (MRE), который расположен во фланкирующем кластер гена *NPRL3*. Эмбрионально-личиночные гены, предположительно, общего энхансера не имеют. Репрессия эмбрионально-личиночных генов во взрослых эритроцитах, вероятнее всего, обеспечивается сайленсером, расположенным в конце кластера. Стадиеспецифические субдомены разделены CTCF-зависимым инсулятором, обеспечивающим изоляцию эмбрионально-личиночных генов от энхансера MRE, направляющего экспрессию генов взрослого субдомена [38]. В результате сегрегации и транспозиции всего предкового локуса или его части и последующей независимой эволюции в синтенном предковом кластере остались исключительно α -глобиновые гены, β -глобиновые гены переместились у общего предка Amniota на другую хромосому. Локус α -глобиновых генов теплокровных

содержит несколько генов, которые являются продуктами дупликаций и кодируют разные изоформы α -глобина, в том числе экспрессирующиеся на разных стадиях онтогенеза. Главный эритроид-специфичный энхансер и у птиц, и у млекопитающих, так же, как и у рыб, находится в интроне гена *NPRL3*. У человека и мыши вместе с дополнительным энхансером, который также расположен в интроне *NPRL3*, MRE вхо-

дит в состав протяженного суперэнхансера [39]. Регуляторная оснастка домена α -глобиновых генов птиц устроена несколько более сложно. Помимо MRE, в регуляции транскрипции α -глобиновых генов *Gallus gallus* принимают участие два дополнительных энхансера, один из которых фланкирует локус и, предположительно, обеспечивает экспрессию эмбрионального α -глобинового гена [40]. Помимо этого,

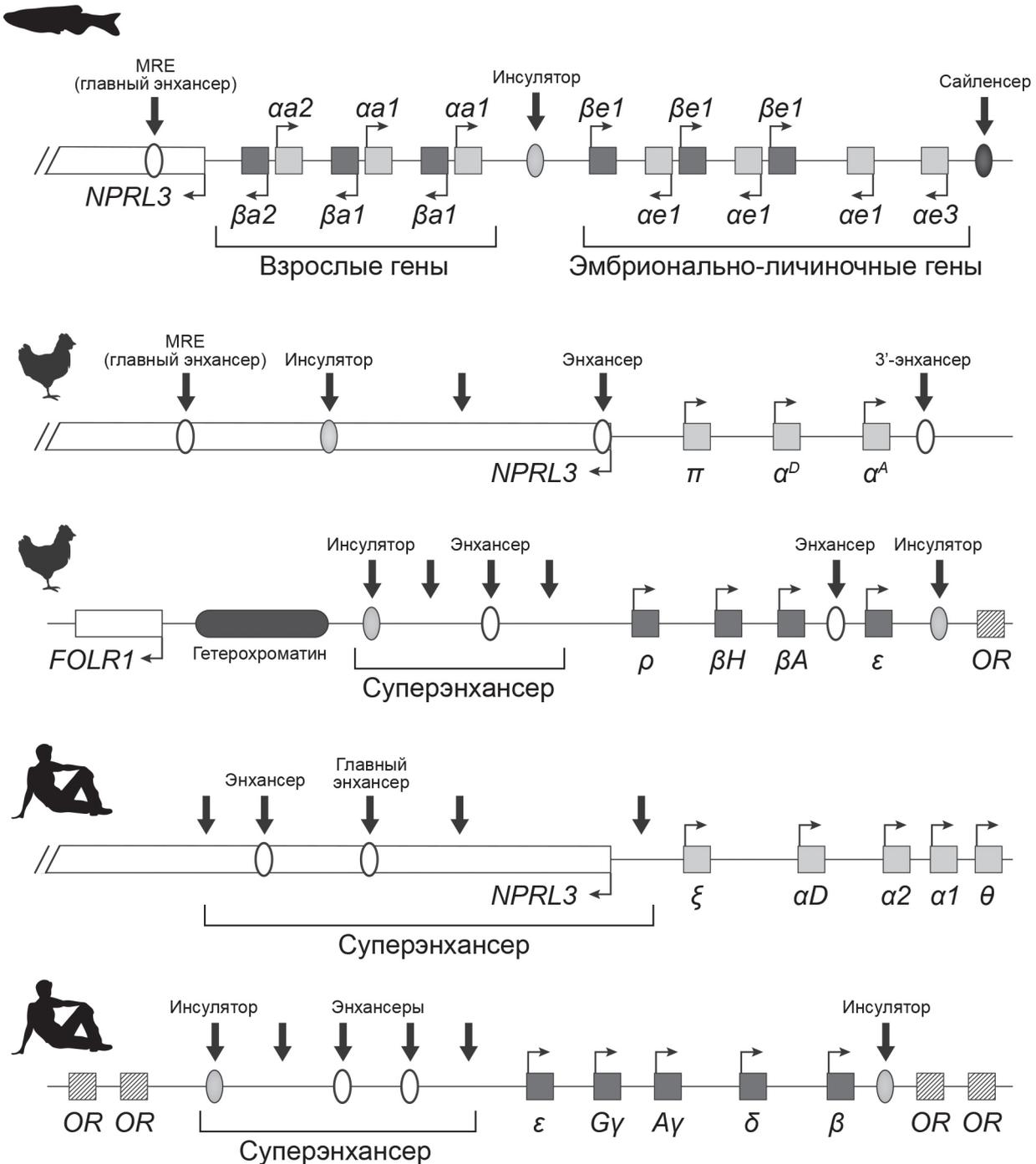


Рис. 2. Организация кластеров α - и β -глобиновых генов и их регуляторных элементов у разных видов позвоночных. Черными стрелками обозначены участки, гиперчувствительные к ДНКазе I, овалами – регуляторные элементы, прямоугольниками – транскрипционные единицы

в регуляторную сеть эритроид-специфичных регуляторных элементов оказался вовлечен эритроидный энхансер гена *TMEM8*, который фланкирует домен с 3'-конца и очутился там в результате инверсии небольшого участка, специфичной для завропсид [31, 32]. Таким образом, регуляторный контекст главного локуса α/β -глобиновых генов рыб и локусов α -глобиновых генов теплокровных, различаясь в ассортименте регуляторных элементов, остается в части наличия главного энхансера (MRE) очень консервативным на протяжении всей эволюции позвоночных. Более того, MRE-подобный энхансер, расположенный в одном из интронов *NPRL3*, картирован в локусе глобиновых генов круглоротых [18]. Глобиновые гены круглоротых паралогичны α/β -глобиновым генам челюстноротых, но эволюционно гораздо ближе гену цитоглобина и, скорее всего, являются продуктом эволюции общего предка генов цитоглобина, α -глобина и β -глобина. Таким образом, регуляторный контекст глобиновых генов мог сформироваться раньше дивергенции цитоглобина и гемоглобина, что выглядит достаточно парадоксально.

После транспозиции на другую хромосому домен β -глобиновых генов оказался фланкирован (у завропсид) или окружен генами обонятельных рецепторов (у млекопитающих) [12, 36, 41]. У современных Tetrapoda в составе домена присутствуют несколько β -глобиновых генов, кодирующих разные, в том числе стадийспецифические, изоформы гемоглобина. Локус находится под контролем сложного, протяженного удаленного регуляторного элемента (LCR) [42–44]. В состав LCR входят энхансеры, сайленсеры, инсулятор и регуляторы хроматинового статуса и времени репликации β -глобиновых генов. У птиц, по сравнению с млекопитающими, в дополнение к LCR картирован еще один энхансер, расположенный между глобиновыми генами [45]. Важным эволюционным приобретением в ассортименте регуляторных элементов β -глобиновых генов после транспозиции явились инсуляторы, изолирующие домен эритроид-специфичных β -глобиновых генов от нейрональных генов одорантных рецепторов [6, 46–48]. Именно изоляция, присутствие инсуляторов на границах домена, определяет границы хроматиновых доменов и позволяет защитить соседствующие гены от «чужих» энхансеров. И в случае α -, и в случае β -глобиновых генов важным этапом их активации в эритроблестах является сближение в пространстве ядра и формирование контактов между кодирующими единицами и удаленными регуляторными элементами доменов [49–51].

Сегрегация α - и β -глобиновых генов у общего предка Amniota сопровождалась появлением и быстрой эволюцией нового сложно устроенного многофункционального регуляторного элемента – LCR. Присутствие инсулятора в составе LCR можно объяснить наличием некоего прото-инсулятора в составе транслоцированной на другую хромосому части домена либо «удачным приземлением» транслоцированного сегмента в область, уже защищенную инсуляторами. Последнее маловероятно; при любых обстоятельствах при отсутствии такого изолирующего элемента трудно себе представить механизмы сохранения эритроид-специфичного характера экспрессии β -глобина в новой геномной локации и в окружении нейрональных генов. Предположительно, предковый α/β -глобиновый домен уже был сегрегирован на два или несколько структурно и функционально независимых субдомена (такое устройство кластера и даже присутствие CTCF-зависимого инсулятора мы видим в главном локусе глобиновых генов *Danio rerio* [38]). Вероятнее всего, похожая сегрегация предкового локуса могла быть обусловлена экспрессией дивергировавших изоформ гемоглобина (например, приспособленных к дыханию в водной среде и на суше). Однако достаточных материалов для анализа этого вопроса с использованием современных экспериментальных моделей нет. Закljučая, необходимо еще раз отметить, что сегрегация и транспозиция части предкового домена на другую хромосому сопровождалась формированием нового, независимого от предкового, регуляторного контекста перемещенного локуса. В то же время регуляция транскрипции α -глобиновых генов, синтенных предковому домену, сохранила эволюционно древние особенности, вероятно, присущие общему предку челюстноротых и бесчелюстных позвоночных [18].

Филогенетический анализ и анализ синтений локусов α - и β -глобиновых генов у разных таксономических групп позволяет с осторожностью заключить, что сегрегация общего α/β -глобинового предкового локуса коррелировала с освоением суши общими предками Tetrapoda и окончательным разрывом с водной средой обитания у общего предка Amniota. Изменение среды обитания сопровождалось, прежде всего, изменениями в физиологии дыхания – от жаберного дыхания у рыб к смешанному легочному и кожному дыханию у земноводных и легочному дыханию у Amniota. Мы предполагаем, что приобретение новых функций у общего предка наземных животных, в том числе принципиальные изменения

в физиологии дыхания, сопровождалось «плейотропизацией» α - и β -глобинов и участием их в формировании альтернативных гемоглобину надмолекулярных комплексов в неэритроидных клетках. Это, в свою очередь, повлекло за собой необходимость независимой экспрессии α - и β -глобиновых генов и формирования независимых регуляторных механизмов. Именно поэтому отбор мог быть направлен в сторону сегрегации доменов α - и β -глобиновых генов и их регуляторных сетей.

ФУНКЦИИ ГЕМОГЛОБИНА В НЕЭРИТРОИДНЫХ ТКАНЯХ

Есть ли какие-то основания полагать, что у современных амниот возможность независимой экспрессии α - и β -глобиновых генов действительно реализуется? Независимая экспрессия имеет явный биологический смысл в неэритроидных тканях и, возможно, независимо экспрессирующиеся α - или β -глобины действительно выполняют некие важные функции, отличные от транспортировки кислорода. В этом случае промежуточным логическим звеном является принципиальная возможность экспрессии α - и β -глобинов в неэритроидных тканях. Действительно, не так давно феномен неэритроидной экспрессии глобинов был обнаружен как на транскрипционном уровне, так и на уровне синтеза белка. При этом синтез гемоглобина в неэритроидных клетках имеет неожиданно распространенный характер, что и отражено в литературных обзорах [14, 15, 52]. В целом ряде случаев гемоглобин неэритроидных клеток обеспечивает запасание кислорода в клетке и тем самым отчасти дублирует функции миоглобина и цитоглобина. Такое дублирование особенно актуально для клеток, имеющих высокую чувствительность к гипоксии или резко увеличенную потребность в кислороде: в нейронах разного типа, в клетках эндометрия, пигментных клетках сетчатки [53–59]. Неэритроцитарный гемоглобин способен удерживать и секвестрировать кислород в тканях, для которых нормой являются высокогипоксические условия. Так, удержание кислорода гемоглобином в хрусталике имеет протективную роль, т.к. избыток кислорода в хрусталике опасен с точки зрения возможного окисления белков и продукции активных форм кислорода (ROS) [60, 61].

Неэритроцитарный гемоглобин может обеспечивать целый ряд функций, никак не связанных с удержанием, запасанием или транспортом кислорода. Связывание и диссоциация

кислорода и углекислого газа гемоглобином не сопровождаются изменением степени окисления железа. Однако при определенных условиях железо в составе гемоглобина может окисляться или восстанавливаться, и это свойство обеспечивает возможность участия гемоглобина в метаболизме NO и H₂S, детоксикации ROS и активных форм азота (RNS), обеспечении сенсорных функций и участия в передаче сигнала [62]. Приобретая возможность эффективного транспорта кислорода, современный гемоглобин позвоночных сохранил эволюционно более древние функции глобинов. Так, гем-Fe(II)-O₂ способен реагировать с пероксинитритом с образованием нитрата и Fe(III). Гем обладает пероксидазной активностью, причем способность гемоглобина утилизировать H₂O₂ даже выше, чем у ферментативной системы глутатионпероксидазы/глутатионредуктазы [63–65]. В целом ряде оригинальных исследований была продемонстрирована важная роль гемоглобина не только в запасании кислорода, но и в антиоксидантной защите неэритроидных клеток, в том числе нейронов, клеток мезангиального эпителия и гепатоцитов [66–68]. Не исключено, что гемоглобин выполняет роль сенсора энергетического статуса нейронов и даже принимает участие в регуляции биогенеза рибосом, аутофагии и эпигенетической регуляции экспрессии [69, 70]. Гемоглобин может играть важную роль в митохондриальном дыхании, предположительно, взаимодействуя с компонентами электрон-транспортной цепи митохондрий, участвуя в регуляции окислительно-восстановительных реакций и защите митохондриальных белков от оксидативного и нитрозативного стресса [58, 71, 72].

В альвеолярных клетках Hb не только обеспечивает пограничный транспорт кислорода между воздушной средой и кровью, но и выполняет роль сенсора содержания кислорода и скавенджера ROS и RNS при окислительном и нитрозативном стрессе [73, 74]. В условиях гипоксии уровень экспрессии HIF-2 α (транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией) увеличивается, что, в свою очередь вызывает одновременное увеличение синтеза гемоглобина и уменьшение синтеза про-сурфактантных белков в альвеолярных клетках. Это обеспечивает поддержание гомеостаза легочного эпителия и защиту его от повреждения и отека в условиях гипоксии [75].

Гемоглобин экспрессируется в целом ряде раковых клеток [76–79], предположительно, обеспечивая их устойчивость к оксидативному стрессу, в том числе в ходе химиотерапии.

Свободный гемоглобин и гемоцидины (биологически активные продукты протеолиза Hb) являются сильными антибактериальными агентами. Экспрессия гемоглобина в вагинальном и цервикальном эпителии [79–81] обеспечивает защиту клеток от бактериальной инфекции и воспаления. Продемонстрирована важная роль гемоглобина и гемоцидинов в модуляции иммунного ответа [82]. Лизис эритроцитов, ассоциированный с травмами и рядом инфекций, ведет к появлению свободного гемоглобина в плазме крови. Взаимодействуя с патоген-ассоциированными молекулами, Toll-подобными рецепторами, белками теплового шока, гемоглобин стимулирует проинфламаторную экспрессию цитокинов [83–85] и таким образом выполняет сигнальную функцию.

НЕЗАВИСИМАЯ ЭКСПРЕССИЯ α - И β -ГЛОБИНОВЫХ ГЕНОВ

Обнаружение экспрессии гемоглобина в неэритроидных клетках позволило предположить, что α - и β -глобины могут использоваться для выполнения неканонических функций как в виде мономерных белков, так и в составе негемоглобиновых надмолекулярных комплексов. Независимая экспрессия α - и β -глобиновых генов тем более облегчается их сегрегацией на разных хромосомах у Amniota, использованием независимых механизмов регуляции транскрипции и вследствие этого возможностью их независимой активации и репрессии. Хочется еще раз подчеркнуть, что давление отбора в направлении закрепления сегрегации может быть обусловлено именно возможностью и необходимостью независимой экспрессии α - и β -глобинов в связи с выполнением α -глобином и β -глобином самых неожиданных функций, не связанных с транспортом, запасанием или удержанием кислорода. Обнаружение независимой экспрессии α - и β -глобинов у современных позвоночных существенно расширило наши представления о спектре неканонических функций α - и β -глобинов.

Было обнаружено, что β -глобин является мощным противовирусным агентом, причем его противовирусное действие реализуется с привлечением нескольких независимых механизмов. При инфекции свиней флавивирусом β -глобин связывает капсидный белок и ингибирует репликацию вирусной РНК, что уменьшает инфекционность вируса [86]. Кроме того, β -глобин индуцирует синтез интерферона по RIG-зависимому сигнальному пути, т.е. в данном случае β -глобин выступает в качестве одно-

го из факторов врожденного противовирусного иммунитета. Также β -глобин индуцирует продукцию ROS, что вызывает убиквитинирование RIG-1 и усиление противовирусного ответа [82, 87]. Таким образом, в ходе вирусной инфекции β -глобин функционирует независимо от α -глобина в качестве плейотропного противовирусного агента и регулятора иммунного ответа.

Независимая экспрессия α -глобина как на уровне РНК, так и на уровне белка обнаруживается в синцитиотрофобластах и стромах плаценты в условиях гипоксии, а также при преэклампсии – патологическом состоянии, ассоциированном с дисфункцией плаценты [88]. Выполняет ли α -глобин защитную функцию или, напротив, является патологическим фактором, остается неясным. Накопление β -глобина было обнаружено в митохондриях нейронов больных рассеянным склерозом [69, 89]. Возможно, накопление β -глобина является протективным механизмом, защищающим нейроны от гибели, а не пассивным следствием патологического процесса.

Продукция минорной формы β -глобина была обнаружена в мышечных макрофагах, обработанных липополисахаридом и интерфероном (т.е. в условиях, моделирующих активацию лимфоцитов при встрече с патогеном) [90]. Высокий уровень продукции RNS и ROS активированными макрофагами является важной составляющей их бактерицидного действия и сопровождается индукцией NO-синтазы, NADPH-оксидазы и ингибированием клеточного дыхания. Не исключено, что мономерный β -глобин функционирует в качестве сенсора содержания NO и O₂ и запускает механизмы защиты макрофагов от оксидативного стресса, при этом не участвуя прямо в метаболизме NO. Интересно, что индукции экспрессии *Hbb-b1* в этих условиях не происходит. Возможно, избирательная индукция объясняется наличием разного количества сайтов связывания одного из активаторов транскрипции β -глобиновых генов – KLF1. В регуляторных последовательностях *Hbb-b1* присутствуют три таких сайта, против одного – в *Hbb-b2*.

Экспрессия β -глобина, но не α -глобина, была обнаружена в циркулирующих опухолевых клетках (СТС) [91]. Механизмы выживания СТС в кровотоке в условиях постоянного оксидативного стресса изучены плохо. В модельной системе индукция ROS в культивируемых СТС сопровождалась KLF4-зависимой транскрипцией гена β -глобина, причем деплеция β -глобина существенно увеличивала уровень апоптоза в раковых клетках. Предположительно, в СТС β -глобин выполняет роль цитопротектора

и обеспечивает выживание метастазирующих клеток в условиях постоянного взаимодействия с иммунными клетками и хронического окислительного стресса.

Помимо способности транспортировать и запасать кислород, гемоглобин сохранил эволюционно более древние функции глобинов — сенсорную и сигнальную. В случае тетрамерного гемоглобина эти функции обеспечиваются, в частности, его способностью взаимодействовать с NO. NO является одной из наиболее важных сигнальных молекул в организме теплокровных и эффектором редокс-регулируемой передачи сигнала, обусловленной наличием неспаренного электрона. Образование NO связано с энзиматической активностью NO-синтазы, нитрат- и нитрит-редуктазы и неэнзиматическим восстановлением нитрита. Молекула NO свободно проникает через мембраны синтезировавшей его клетки, диффундирует через межклеточное пространство и попадает в клетки-мишени. В клетках-мишенях NO, будучи высокореактивным радикалом, легко вступает в реакции с другими соединениями и выступает в качестве сигнальной молекулы, вызывая модификации белков, в том числе нитрозилируя цистеиновые остатки или связываясь с гемом растворимой гуанилатциклазы и запуская соответствующие сигнальные пути [92, 93].

Особую роль в регуляции тонуса сосудов играет экспрессия α -глобина в местах контакта (myoendothelial junction, MEJ) эндотелиальных клеток с миоцитами сосудистой стенки периферических артерий [94–97]. Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) обеспечивает присутствие пула NO в клетках эндотелия. NO свободно диффундирует через MEJ и поглощается клетками мышечной стенки сосудов. В этих клетках NO запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге вызывает вазодилатацию, увеличение оксигенации тканей и понижение давления. α -Глобин регулирует биодоступность NO посредством редокс-зависимого шаттлинга α -глобина между NO-синтазой и AHSP — специализированным шапероном, препятствующим преципитации мономерного α -глобина. В условиях гипоксии или ацидоза AHSP секвестрирует Fe^{3+} α -глобин в инертном, но стабильном состоянии. Вследствие этого прекращается деградация глобином NO, обеспечивается вазодилатация и увеличивается оксигенация тканей. Эндотелиальная цитохром b_5 -редуктаза обеспечивает переход железа из окисленного в восстановленное состояние. Когда железо находится в восстановленном состоянии (Fe^{2+}), eNOS замещает AHSP в комплексе с глобином, синтезированный ею NO деградируется α -глобином,

что вызывает прерывание сигнального каскада и последующую вазоконстрикцию. В этом случае α -глобин является участником сложного надмолекулярного комплекса, который обеспечивает передачу сигнала между разными типами клеток, образующими стенку периферических артерий. Интересно, что гиперпродукция α -глобина в клетках эндотелия легочных альвеолярных сосудов ассоциирована с развитием легочной гипертензии [98].

Таким образом, мономерный α -глобин входит в состав сложных надмолекулярных комплексов, отличных от тетрамерного эритроцитарного гемоглобина. α -Глобин в составе негемоглобинового надмолекулярного комплекса «вспоминает» эволюционно более древние функции, связанные с процессами окисления и восстановления низкомолекулярных веществ и передачи сигналов. Нельзя исключить, что сходным образом происходит образование комплексов α - или β -глобина с другими тканеспецифичными формами eNOS.

К сожалению, молекулярные механизмы избирательной активации α -глобиновых генов или β -глобиновых генов неясны. Возможно, в обоих случаях одним из факторов активации может быть транскрипционный статус фланкирующих генов. Возможность избирательной активации тесно связана с тем, что механизмы репрессии α -глобиновых и β -глобиновых генов в неэритроидных тканях существенно различаются [99–102]. α -Глобиновые гены находятся в окружении генов домашнего хозяйства. Нельзя исключить, что низкоуровневая транскрипция α -глобина может обеспечиваться простым их привлечением к рядом расположенной активно работающей в большинстве типов клеток транскрипционной фабрике. В эритроидных клетках такая ассоциация описана [103]. Уровень транскрипции α -глобиновых генов в неэритроидных клетках может находиться в прямой зависимости от уровня транскрипции окружающих его генов, который, в свою очередь, может существенно отличаться в разных типах клеток. β -Глобин, в отличие от α -глобина, в неэритроидных тканях гетерохроматизирован и окружен генами одорантных рецепторов, имеющими нейрональный характер экспрессии [36]. Активация генов одорантных рецепторов, которая в том числе возможна в ненейрональных тканях [104], может распространяться на соседствующий с ними домен β -глобиновых генов — в основном за счет изменения хроматинового статуса всего локуса, включая гены одорантных рецепторов.

Промоторы и энхансеры α - и β -глобиновых генов связывают целый ряд общих транскрип-

ционных факторов, в том числе GATA1, KLF1, SCL, NF-E2, LMO2, NF-Y и другие [51, 105, 106]. Канонические активаторы транскрипции глобиновых генов в эритроблестах (GATA1, NFE2, KLF1), а также HIF-1 α часто обнаруживают в неэритроидных клетках как в норме, так и при воздействии разных стимулов (например, в условиях гипоксии или в ходе воспалительной реакции) [107–110].

Некоторые универсальные активаторы транскрипции и α - и β -глобиновых генов могут действовать селективно в силу того, что механизмы репрессии α - и β -глобиновых генов в неэритроидных тканях принципиально различаются. Поэтому конкуренция эпигенетического сайленсинга с универсальными активирующими транскрипционными факторами может иметь разные последствия для возможной селективной экспрессии α -глобиновых и β -глобиновых генов.

Возможны альтернативные и более специфические механизмы активации независимой экспрессии глобиновых генов. Избирательная активация β -глобинового гена может быть связана с наличием ARE (ARE-antioxydant response elements) в составе β -глобина – регуляторных элементов, связывающих активатор транскрипции NRF2 [111]. Продукция NRF2 индуцируется в условиях оксидативного стресса [112]. Селективная экспрессия α -глобиновых генов может индуцироваться NF- κ B – фактором транскрипции, контролирующим экспрессию генов иммунного ответа, регуляторов апоптоза и клеточного цикла [113]. Индукция синтеза тетрамерного гемоглобина и связывание NF- κ B в промоторе гена α -глобина были продемонстрированы при обработке нормальных и трансформированных клеток цервикального эпителия липополисахаридами (LPS) [81]. Интересно, что в эритроидных клетках NF- κ B, напротив, является репрессором транскрипции эмбрионального α -глобина [114]. Таким образом, один и тот же транскрипционный фактор в зависимости от типа тканей и регуляторного контекста может иметь разнонаправленное действие.

Уровень экспрессии α -глобина в клетках эндотелия коронарных артерий находится под контролем KLF2 и KLF4, причем KLF4 связывается с промотором α -глобиновых генов [115]. Дополнительная механическая нагрузка на стенки артерий при гипертонии повышает уровень экспрессии этих транскрипционных факторов, в результате увеличивается содержание α -глобина в эндотелии и падает эффективная концентрация NO. Это вносит свой вклад в развитие патологического процесса при гипертонии [116].

Высокий уровень транскрипции α - и β -глобиновых генов в эритроидных клетках обусловлен в первую очередь удаленными энхансерами, которые взаимодействуют с индивидуальными промоторами. Уровень как координированной, так и селективной экспрессии глобиновых генов в эритроблестах и неэритроидных тканях несопоставим. Представляется интересным выяснить, участвуют ли удаленные энхансеры в регуляции экспрессии глобиновых генов в неэритроидных клетках и связана ли независимая экспрессия α - и β -глобина с селективным вовлечением энхансеров в регуляцию транскрипции.

ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ СЕГРЕГАЦИИ α - И β -ГЛОБИНОВЫХ ГЕНОВ У ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ Tetrapoda И Amniota

Из приведенных примеров очевидно, что у современных млекопитающих (а возможно и других Tetrapoda) возможна не только неэритроцитарная экспрессия гемоглобина, но и независимая экспрессия α - и β -глобиновых генов в неэритроидных тканях по поводу выполнения ими функций, никак не связанных ни с транспортом, ни с запасанием, ни с удерживанием кислорода. Возможно, важным условием независимой транскрипции и обусловленным этим обстоятельством расширением функционала явилась сегрегация эволюционно-древнего слитого локуса, в котором α - и β -глобиновые гены корегулировались. Предположительно, сегрегация слитого домена в ходе эволюции происходила неоднократно и независимо у отдельных систематических групп земноводных, у общего предка птиц и пресмыкающихся и у млекопитающих. Это позволяет заключить, что существовали общие условия, которые определили давление отбора в направлении сегрегации. Сегрегация α - и β -глобиновых генов у Tetrapoda коррелировала с выходом позвоночных на сушу. Коренное изменение физиологии в связи с выходом на сушу потребовало развития дополнительных сенсорных возможностей и/или сигнальных путей, и именно это обусловило плейотропизацию протеома и усложнение многих сложившихся регуляторных сетей. С другой стороны, принципиальное изменение условий обитания сопровождалось расширением ассортимента стрессовых факторов: вынужденными периодами гипоксии и дегидратации, расширением диапазона температур среды обитания, ультрафиолетовым облучением и пр. Возможно, защита от оксидативного стресса для первых обитателей суши и первых Amniota

имела первостепенное значение не только из-за стрессовых факторов, но также из-за развития принципиально новых форм дыхания – кожного и легочного, в дополнение или альтернативно жаберному. Можно предположить, что вместе эти обстоятельства повлекли за собой временную (зависящую от стадии жизненного цикла или климатических условий) и/или локальную (зависящую от смены среды обитания) дисфункцию потребления кислорода как на физиологическом, так и на биохимическом уровнях, гиперпродукцию ROS и RNS, хронический оксидативный стресс и необходимость привлечения дополнительных механизмов антистрессовой защиты. В нормальных условиях примерно 90% ROS в клетке образуются в митохондриях из-за утечки 1–2% электронов в дыхательной цепи [117]. Активные формы кислорода представляют собой гетерогенный класс соединений, которые способны окислять все известные биомолекулы. В нормальных физиологических условиях ROS принимают участие в передаче внутриклеточных и межклеточных сигналов, а также играют важную роль в иммунном ответе. Координированная работа дыхательной цепи митохондрий, комплекса оксидаз и антиоксидантной системы обеспечивает поддержание окислительно-восстановительного гомеостаза клетки [118]. Нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза клетки под действием внешних (гипероксия, ионизирующая радиация и т.п.) или внутренних факторов (активация оксидаз, нарушение функции антиоксидантов) приводит к гиперпродукции ROS и их производных (нитрозилирующие агенты, гипогалогениты, карбонилы и др.), что вызывает окислительные повреждения всех важнейших биологических макромолекул (ДНК, белки, липиды и углеводы) и приводит к развитию окислительного стресса, лежащего в основе многих патологических состояний. Токсическое действие высоких концентраций ROS предотвращается широким спектром низкомолекулярных антиоксидантов и комплексом специализированных антиоксидантных ферментов [119]. Как тетрамерный гемоглобин, так и мономерные α - и β -глобины могут участвовать в нейтрализации ROS в условиях оксидативного стресса, когда и если канонические факторы нейтрализации оказываются недостаточными. Интересно, что в условиях сезонного перехода от гипоксии к нормальному дыханию и связанного с этим переходом оксидативного стресса, гемоглобин некоторых видов черепах полимеризуется за счет образования дисульфидных связей между молекулами тетрамерного гемоглобина и таким образом участвует в нейтрализации активных

форм кислорода [120]. Антиоксидантная защита – только одна из возможных неканонических функций мономерных α - и β -глобинов. К сожалению, мы можем только догадываться о том, какие конкретно условия изменившейся среды обитания потребовали независимой экспрессии α - и β -глобиновых генов у предковых форм Amniota в связи с их окончательным разрывом с водной средой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегрегация предкового домена α/β -глобиновых генов, которая повторялась неоднократно в ходе эволюции позвоночных, по всей видимости, носила закономерный характер. Сегрегация сделала возможной независимую экспрессию α - или β -глобиновых генов и была важной составной частью грандиозного «проекта плейотропизации» генов и возникновения инновационных приспособительных механизмов в связи с выходом на сушу и полным разрывом с водной средой обитания. Кластеризация корегулируемых генов может в ходе эволюции утрачиваться в силу того, что преимущества кластеризации постепенно нивелируются, тогда как сегрегация предоставляет новые регуляторные и функциональные возможности. Соответственно, давление отбора может быть разнонаправленным – как в сторону сохранения кластеризованной организации дублированных корегулируемых паралога, так и в направлении изоляции и последующей сегрегации генов. Начинаясь на уровне мультипликации регуляторных элементов и сегрегации функциональных субдоменов, изоляция может завершиться разрывом кластера дублированных генов, транслокацией на другую хромосому, принципиальным изменением геномного и регуляторного контекста транслоцированного локуса, а, возможно, и характера тканеспецифической экспрессии. Именно эта логика направляла эволюцию α - и β -глобиновых генов позвоночных. По нашему предположению, обусловленная сегрегацией независимая экспрессия α - и β -глобиновых генов могла играть важную роль у предков Amniota, в том числе обеспечивая защиту первых сухопутных позвоночных от стрессовых факторов новой среды обитания.

Вклад авторов. Все авторы участвовали в выработке концепции и написании обзора.

Финансирование. Работа С.В. Разина поддержана Российским научным фондом (грант № 21-64-00001). Работа О.В. Яровой поддержа-

на Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 20-04-00003).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- De Simone, G., Quattrocchi, A., Mancini, B., di Masi, A., Nervi, C., et al. (2022) Thalasseмии: from gene to therapy, *Mol. Aspects Med.*, **84**, 101028, doi: 10.1016/j.mam.2021.101028.
- Fromm, G., and Bulger, M. (2009) A spectrum of gene regulatory phenomena at mammalian beta-globin gene loci, *Biochem. Cell Biol.*, **87**, 781-790, doi: 10.1139/O09-048.
- Hardison, R. C. (2012) Evolution of hemoglobin and its genes, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, **2**, a011627, doi: 10.1101/cshperspect.a011627.
- Hoffmann, F. G., Vandeweghe, M. W., Storz, J. F., and Opazo, J. C. (2018) Gene turnover and diversification of the alpha- and beta-globin gene families in sauropsid vertebrates, *Genome Biol. Evol.*, **10**, 344-358, doi: 10.1093/gbe/evy001.
- Iarovaia, O. V., Ioudinkova, E. S., Petrova, N. V., Dolgushin, K. V., Kovina, A. V., et al. (2014) Evolution of alpha- and beta-globin genes and their regulatory systems in light of the hypothesis of domain organization of the genome, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1141-1150, doi: 10.1134/S0006297914110017.
- Kattamis, A., Kwiatkowski, J. L., and Aydinok, Y. (2022) Thalassaemia, *Lancet*, **399**, 2310-2324, doi: 10.1016/S0140-6736(22)00536-0.
- Mettananda, S., Gibbons, R. J., and Higgs, D. R. (2016) Understanding alpha-globin gene regulation and implications for the treatment of beta-thalassaemia, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1368**, 16-24, doi: 10.1111/nyas.12988.
- Oudelaar, A. M., Beagrie, R. A., Kassouf, M. T., and Higgs, D. R. (2021) The mouse alpha-globin cluster: a paradigm for studying genome regulation and organization, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **67**, 18-24, doi: 10.1016/j.gde.2020.10.003.
- Philipsen, S., and Hardison, R. C. (2018) Evolution of hemoglobin loci and their regulatory elements, *Blood Cells Mol. Diseases*, **70**, 2-12, doi: 10.1016/j.bcmd.2017.08.001.
- Razin, S. V., Ulianov, S. V., Ioudinkova, E. S., Gushchanskaya, E. S., Gavrilov, A. A., et al. (2012) Domains of alpha- and beta-globin genes in the context of the structural-functional organization of the eukaryotic genome, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 1409-1423, doi: 10.1134/S0006297912130019.
- Recillas-Targa, F., and Razin, S. V. (2001) Chromatin domains and regulation of gene expression: familiar and enigmatic clusters of chicken globin genes, *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Express.*, **11**, 227-242.
- Hardison, R. C. (2008) Globin genes on the move, *J. Biol.*, **7**, 35, doi: 10.1186/jbiol92.
- Vinogradov, S. N., and Moens, L. (2008) Diversity of globin function: enzymatic, transport, storage, and sensing, *J. Biol. Chem.*, **283**, 8773-8777, doi: 10.1074/jbc.R700029200.
- Burmester, T., and Hankeln, T. (2014) Function and evolution of vertebrate globins, *Acta Physiol.*, **211**, 501-514, doi: 10.1111/apha.12312.
- Keppner, A., Maric, D., Correia, M., Koay, T. W., Orlando, I. M. C., et al. (2020) Lessons from the post-genomic era: Globin diversity beyond oxygen binding and transport, *Redox Biol.*, **37**, 101687, doi: 10.1016/j.redox.2020.101687.
- Song, S., Starunov, V., Bailly, X., Ruta, C., Kerner, P., et al. (2020) Globins in the marine annelid *Platynereis dumerilii* shed new light on hemoglobin evolution in bilaterians, *BMC Evol. Biol.*, **20**, 165, doi: 10.1186/s12862-020-01714-4.
- Hoffmann, F. G., Opazo, J. C., and Storz, J. F. (2012) Whole-genome duplications spurred the functional diversification of the globin gene superfamily in vertebrates, *Mol. Biol. Evol.*, **29**, 303-312, doi: 10.1093/molbev/msr207.
- Miyata, M., Gillemans, N., Hockman, D., Demmers, J. A. A., Cheng, J. F., et al. (2020) An evolutionarily ancient mechanism for regulation of hemoglobin expression in vertebrate red cells, *Blood*, **136**, 269-278, doi: 10.1182/blood.2020004826.
- Storz, J. F., Opazo, J. C., and Hoffmann, F. G. (2013) Gene duplication, genome duplication, and the functional diversification of vertebrate globins, *Mol. Phylogenet. Evol.*, **66**, 469-478, doi: 10.1016/j.ympev.2012.07.013.
- Pelleg, A., and Porter, R. S. (1990) The pharmacology of adenosine, *Pharmacotherapy*, **10**, 157-174.
- Pillai, A. S., Chandler, S. A., Liu, Y., Signore, A. V., Cortez-Romero, C. R., et al. (2020) Origin of complexity in haemoglobin evolution, *Nature*, **581**, 480-485, doi: 10.1038/s41586-020-2292-y.
- Weber, R. E., and Fago, A. (2004) Functional adaptation and its molecular basis in vertebrate hemoglobins, neuroglobins and cytoglobins, *Respirat. Physiol. Neurobiol.*, **144**, 141-159, doi: 10.1016/j.resp.2004.04.018.
- Ganis, J. J., Hsia, N., Trompouki, E., de Jong, J. L., DiBiase, A., et al. (2012) Zebrafish globin switching occurs in two developmental stages and is controlled by the LCR, *Dev. Biol.*, **366**, 185-194, doi: 10.1016/j.ydbio.2012.03.021.
- Nefedochkina, A. V., Petrova, N. V., Ioudinkova, E. S., Kovina, A. P., Iarovaia, O. V., et al. (2016) Characterization of the enhancer element of the *Danio rerio* minor globin gene locus, *Histochem. Cell Biol.*, **145**, 463-473, doi: 10.1007/s00418-016-1413-z.
- Hosbach, H. A., Wyler, T., and Weber, R. (1983) The *Xenopus laevis* globin gene family: chromosom-

- al arrangement and gene structure, *Cell*, **32**, 45-53, doi: 10.1016/0092-8674(83)90495-6.
26. Jeffreys, A. J., Wilson, V., Wood, D., Simons, J. P., Kay, R. M., et al. (1980) Linkage of adult alpha- and beta-globin genes in *X. laevis* and gene duplication by tetraploidization, *Cell*, **21**, 555-564, doi: 10.1016/0092-8674(80)90493-6.
 27. Queiroz, J. P. F., Lima, N. C. B., and Rocha, B. A. M. (2021) The rise and fall of globins in the amphibia, *Compar. Biochem. Physiol. D Genom. Proteom.*, **37**, 100759, doi: 10.1016/j.cbd.2020.100759.
 28. Fuchs, C., Burmester, T., and Hankeln, T. (2006) The amphibian globin gene repertoire as revealed by the *Xenopus* genome, *Cytogenet. Genome Res.*, **112**, 296-306, doi: 10.1159/000089884.
 29. Patel, V. S., Cooper, S. J., Deakin, J. E., Fulton, B., Graves, T., et al. (2008) Platypus globin genes and flanking loci suggest a new insertional model for beta-globin evolution in birds and mammals, *BMC Biol.*, **6**, 34, doi: 10.1186/1741-7007-6-34.
 30. Hughes, J. R., Cheng, J. F., Ventress, N., Prabhakar, S., Clark, K., et al. (2005) Annotation of cis-regulatory elements by identification, subclassification, and functional assessment of multispecies conserved sequences, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 9830-9835, doi: 10.1073/pnas.0503401102.
 31. Filonenko, E. S., Gavrilov, A. A., Razin, S. V., and Iarovaia, O. V. (2010) Expansion of the functional domain of chicken alpha-globin genes [in Russian], *Genetika*, **46**, 1164-1167.
 32. Filonenko, E. S., Klochkov, D. B., Borunova, V. V., Gavrilov, A. A., Razin, S. V., et al. (2009) TMEM8 — a non-globin gene entrapped in the globin web, *Nucleic Acids Res.*, **37**, 7394-7406, doi: 10.1093/nar/gkp838.
 33. De Leo, A. A., Wheeler, D., Lefevre, C., Cheng, J. F., Hope, R., et al. (2005) Sequencing and mapping hemoglobin gene clusters in the Australian model dasyurid marsupial *Sminthopsis macroura*, *Cytogenet. Genome Res.*, **108**, 333-341, doi: 10.1159/000081528.
 34. Opazo, J. C., Hoffmann, F. G., and Storz, J. F. (2008) Genomic evidence for independent origins of beta-like globin genes in monotremes and therian mammals, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 1590-1595, doi: 10.1073/pnas.0710531105.
 35. Wheeler, D., Hope, R. M., Cooper, S. J., Gooley, A. A., and Holland, R. A. (2004) Linkage of the beta-like omega-globin gene to alpha-like globin genes in an Australian marsupial supports the chromosome duplication model for separation of globin gene clusters, *J. Mol. Evol.*, **58**, 642-652, doi: 10.1007/s00239-004-2584-0.
 36. Bulger, M., van Doorninck, J. H., Saitoh, N., Telling, A., Farrell, C., et al. (1999) Conservation of sequence and structure flanking the mouse and human beta-globin loci: the beta-globin genes are embedded within an array of odorant receptor genes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 5129-5134, doi: 10.1073/pnas.96.9.5129.
 37. Palstra, R. J., de Laat, W., and Grosveld, F. (2008) Beta-globin regulation and long-range interactions, *Adv. Genetics*, **61**, 107-142, doi: 10.1016/S0065-2660(07)00004-1.
 38. Kovina, A. P., Petrova, N. V., Gushchanskaya, E. S., Dolgushin, K. V., Gerasimov, E. S., et al. (2017) Evolution of the genome 3D organization: comparison of fused and segregated globin gene clusters, *Mol. Biol. Evol.*, **34**, 1492-1504, doi: 10.1093/molbev/msx100.
 39. Hay, D., Hughes, J. R., Babbs, C., Davies, J. O. J., Graham, B. J., et al. (2016) Genetic dissection of the alpha-globin super-enhancer *in vivo*, *Nat. Genet.*, **48**, 895-903, doi: 10.1038/ng.3605.
 40. Garcia-Gonzalez, E., and Recillas-Targa, F. (2014) A regulatory element affects the activity and chromatin structure of the chicken alpha-globin 3' enhancer, *Biochim. Biophys. Acta*, **1839**, 1233-1241, doi: 10.1016/j.bbagr.2014.09.009.
 41. Bulger, M., Bender, M. A., van Doorninck, J. H., Wertman, B., Farrell, C. M., et al. (2000) Comparative structural and functional analysis of the olfactory receptor genes flanking the human and mouse beta-globin gene clusters, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 14560-14565, doi: 10.1073/pnas.97.26.14560.
 42. Bulger, M., and Groudine, M. (1999) Looping versus linking: toward a model for long-distance gene activation, *Genes Dev.*, **13**, 2465-2477, doi: 10.1101/gad.13.19.2465.
 43. Levings, P. P., and Bungert, J. (2002) The human beta-globin locus control region, *Eur. J. Biochem.*, **269**, 1589-1599, doi: 10.1046/j.1432-1327.2002.02797.x.
 44. Li, Q., Peterson, K. R., Fang, X., and Stamatoyannopoulos, G. (2002) Locus control regions, *Blood*, **100**, 3077-3086, doi: 10.1182/blood-2002-04-1104.
 45. Choi, O. R., and Engel, J. D. (1986) A 3' enhancer is required for temporal and tissue-specific transcriptional activation of the chicken adult beta-globin gene, *Nature*, **323**, 731-734, doi: 10.1038/323731a0.
 46. Chung, J. H., Bell, A. C., and Felsenfeld, G. (1997) Characterization of the chicken beta-globin insulator, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 575-580, doi: 10.1073/pnas.94.2.575.
 47. Rival-Gervier, S., Pantano, T., Viglietta, C., Maeder, C., Prince, S., et al. (2003) The insulator effect of the 5'HS4 region from the beta-globin chicken locus on the rabbit WAP gene promoter activity in transgenic mice, *Transgenic Res.*, **12**, 723-730, doi: 10.1023/b:trag.0000005242.72076.d1.
 48. Wallace, J. A., and Felsenfeld, G. (2007) We gather together: insulators and genome organization, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **17**, 400-407, doi: 10.1016/j.gde.2007.08.005.
 49. De Laat, W., and Grosveld, F. (2003) Spatial organization of gene expression: the active chromatin hub, *Chromosome Research: An International Journal on the Molecular, Supramolecular and Evolutionary Aspects of Chromosome Biology*, **11**, 447-459, doi: 10.1023/a:1024922626726.
 50. Oudelaar, A. M., Harrold, C. L., Hanssen, L. L. P., Telenius, J. M., Higgs, D. R., et al. (2019) A revised model for promoter competition based on multi-way chromatin interactions at the alpha-globin locus, *Nat. Commun.*, **10**, 5412, doi: 10.1038/s41467-019-13404-x.
 51. Vernimmen, D., Marques-Kranc, F., Sharpe, J. A., Sloane-Stanley, J. A., Wood, W. G., et al. (2009) Chromosome looping at the human alpha-globin

- locus is mediated via the major upstream regulatory element (HS-40), *Blood*, **114**, 4253-4260, doi: 10.1182/blood-2009-03-213439.
52. Saha, D., Patgaonkar, M., Shroff, A., Ayyar, K., Bashir, T., et al. (2014) Hemoglobin expression in nonerythroid cells: novel or ubiquitous? *Int. J. Inflamm.*, **2014**, 803237, doi: 10.1155/2014/803237.
 53. Russo, R., Zucchelli, S., Codrich, M., Marcuzzi, F., Verde, C., and Gustinich, S. (2013) Hemoglobin is present as a canonical $\alpha_2\beta_2$ tetramer in dopaminergic neurons, *Biochim. Biophys. Acta*, **1834**, 1939-1943, doi: 10.1016/j.bbapap.2013.05.005.
 54. Tezel, T. H., Geng, L., Lato, E. B., Schaal, S., Liu, Y., et al. (2009) Synthesis and secretion of hemoglobin by retinal pigment epithelium, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **50**, 1911-1919, doi: 10.1167/iovs.07-1372.
 55. Wu, C. W., Liao, P. C., Yu, L., Wang, S. T., Chen, S. T., et al. (2004) Hemoglobin promotes A β oligomer formation and localizes in neurons and amyloid deposits, *Neurobiol. Disease*, **17**, 367-377, doi: 10.1016/j.nbd.2004.08.014.
 56. Biagioli, M., Pinto, M., Cesselli, D., Zaninello, M., Lazarevic, D., et al. (2009) Unexpected expression of alpha- and beta-globin in mesencephalic dopaminergic neurons and glial cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 15454-15459, doi: 10.1073/pnas.0813216106.
 57. Schelshorn, D. W., Schneider, A., Kuschinsky, W., Weber, D., Kruger, C., et al. (2009) Expression of hemoglobin in rodent neurons, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **29**, 585-595, doi: 10.1038/jcbfm.2008.152.
 58. Richter, F., Meurers, B. H., Zhu, C., Medvedeva, V. P., and Chesselet, M. F. (2009) Neurons express hemoglobin alpha- and beta-chains in rat and human brains, *J. Compar. Neurol.*, **515**, 538-547, doi: 10.1002/cne.22062.
 59. Dassen, H., Kamps, R., Punyadeera, C., Dijcks, F., de Goeij, A., et al. (2008) Haemoglobin expression in human endometrium, *Hum. Reprod.*, **23**, 635-641, doi: 10.1093/humrep/dem430.
 60. Babalola, O. E., Danboyi, P., and Abiose, A. A. (2000) Hereditary congenital cataracts associated with sickle cell anaemia in a Nigerian family, *Tropic. Doc.*, **30**, 12-14, doi: 10.1177/004947550003000107.
 61. Wride, M. A., Mansergh, F. C., Adams, S., Everitt, R., Minnema, S. E., et al. (2003) Expression profiling and gene discovery in the mouse lens, *Mol. Vis.*, **9**, 360-396.
 62. Alayash, A. I., Patel, R. P., and Cashon, R. E. (2001) Redox reactions of hemoglobin and myoglobin: biological and toxicological implications, *Antioxid. Redox Signal.*, **3**, 313-327, doi: 10.1089/152308601300185250.
 63. Goldstein, S., and Samuni, A. (2005) Intra- and intermolecular oxidation of oxymyoglobin and oxyhemoglobin induced by hydroxyl and carbonate radicals, *Free Radic. Biol. Med.*, **39**, 511-519, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.04.003.
 64. Masuoka, N., Kodama, H., Abe, T., Wang, D. H., and Nakano, T. (2003) Characterization of hydrogen peroxide removal reaction by hemoglobin in the presence of reduced pyridine nucleotides, *Biochim. Biophys. Acta*, **1637**, 46-54, doi: 10.1016/s0925-4439(02)00213-2.
 65. Reeder, B. J. (2017) Redox and peroxidase activities of the hemoglobin superfamily: relevance to health and disease, *Antioxid. Redox Signal.*, **26**, 763-776, doi: 10.1089/ars.2016.6803.
 66. Franco, R., Navarro, G., and Martinez-Pinilla, E. (2019) Antioxidant defense mechanisms in erythrocytes and in the central nervous system, *Antioxidants*, **8**, doi: 10.3390/antiox8020046.
 67. Liu, W., Baker, S. S., Baker, R. D., Nowak, N. J., and Zhu, L. (2011) Upregulation of hemoglobin expression by oxidative stress in hepatocytes and its implication in nonalcoholic steatohepatitis, *PLoS One*, **6**, e24363, doi: 10.1371/journal.pone.0024363.
 68. Nishi, H., Inagi, R., Kato, H., Tanemoto, M., Kojima, I., et al. (2008) Hemoglobin is expressed by mesangial cells and reduces oxidant stress, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **19**, 1500-1508, doi: 10.1681/ASN.2007101085.
 69. Brown, N., Alkhayer, K., Clements, R., Singhal, N., Gregory, R., et al. (2016) Neuronal hemoglobin expression and its relevance to multiple sclerosis neuropathology, *J. Mol. Neurosci.*, **59**, 1-17, doi: 10.1007/s12031-015-0711-6.
 70. Codrich, M., Bertuzzi, M., Russo, R., Francescatti, M., Espinoza, S., et al. (2017) Neuronal hemoglobin affects dopaminergic cells' response to stress, *Cell Death Disease*, **8**, e2538, doi: 10.1038/cddis.2016.458.
 71. Shephard, F., Greville-Heygate, O., Marsh, O., Anderson, S., and Chakrabarti, L. (2014) A mitochondrial location for haemoglobins – dynamic distribution in ageing and Parkinson's disease, *Mitochondrion*, **14**, 64-72, doi: 10.1016/j.mito.2013.12.001.
 72. Shirai, T., Imori, H., Konomi, G., Ikuta, T., Minoda, H., et al. (1989) Trace elements in patients on chronic hemodialysis. 1. Plasma aluminium, *Fukuoka Shika Daigaku Gakkai zasshi*, **16**, 1-10.
 73. Bhaskaran, M., Chen, H., Chen, Z., and Liu, L. (2005) Hemoglobin is expressed in alveolar epithelial type II cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **333**, 1348-1352, doi: 10.1016/j.bbrc.2005.06.042.
 74. Newton, D. A., Rao, K. M., Dluhy, R. A., and Baatz, J. E. (2006) Hemoglobin is expressed by alveolar epithelial cells, *J. Biol. Chem.*, **281**, 5668-5676, doi: 10.1074/jbc.M509314200.
 75. Grek, C. L., Newton, D. A., Spyropoulos, D. D., and Baatz, J. E. (2011) Hypoxia up-regulates expression of hemoglobin in alveolar epithelial cells, *Am. J. Respirat. Cell Mol. Biol.*, **44**, 439-447, doi: 10.1165/rcmb.2009-0307OC.
 76. Emará, M., Turner, A. R., and Allalunis-Turner, J. (2014) Adult, embryonic and fetal hemoglobin are expressed in human glioblastoma cells, *Int. J. Oncol.*, **44**, 514-520, doi: 10.3892/ijo.2013.2186.
 77. Funnell, A. P., Vernimmen, D., Lim, W. F., Mak, K. S., Wienert, B., et al. (2014) Differential regulation of the alpha-globin locus by Kruppel-like Factor 3 in erythroid and non-erythroid cells, *BMC Mol. Biol.*, **15**, 8, doi: 10.1186/1471-2199-15-8.

78. Gorr, T. A., Wichmann, D., Pilarsky, C., Theurillat, J. P., Fabrizius, A., et al. (2011) Old proteins — new locations: myoglobin, haemoglobin, neuroglobin and cytoglobin in solid tumours and cancer cells, *Acta Physiol.*, **202**, 563-581, doi: 10.1111/j.1748-1716.2010.02205.x.
79. Li, X., Wu, Z., Wang, Y., Mei, Q., Fu, X., and Han, W. (2013) Characterization of adult alpha- and beta-globin elevated by hydrogen peroxide in cervical cancer cells that play a cytoprotective role against oxidative insults, *PLoS One*, **8**, e54342, doi: 10.1371/journal.pone.0054342.
80. Patgaonkar, M., Aranha, C., Bhone, G., and Reddy, K. V. (2011) Identification and characterization of anti-microbial peptides from rabbit vaginal fluid, *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **139**, 176-186, doi: 10.1016/j.vetimm.2010.10.012.
81. Saha, D., Koli, S., Patgaonkar, M., and Reddy, K. V. (2017) Expression of hemoglobin-alpha and beta subunits in human vaginal epithelial cells and their functional significance, *PLoS One*, **12**, e0171084, doi: 10.1371/journal.pone.0171084.
82. Coates, C. J., and Decker, H. (2017) Immunological properties of oxygen-transport proteins: hemoglobin, hemocyanin and hemerythrin, *Cell. Mol. Life Sci.*, **74**, 293-317, doi: 10.1007/s00018-016-2326-7.
83. Jeney, V., Eaton, J. W., Balla, G., and Balla, J. (2013) Natural history of the bruise: formation, elimination, and biological effects of oxidized hemoglobin, *Oxid. Med. Cellular Longev.*, **2013**, 703571, doi: 10.1155/2013/703571.
84. Shaver, C. M., Upchurch, C. P., Janz, D. R., Grove, B. S., Putz, N. D., et al. (2016) Cell-free hemoglobin: a novel mediator of acute lung injury, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **310**, L532-541, doi: 10.1152/ajplung.00155.2015.
85. Zhong, Q., Zhou, K., Liang, Q. L., Lin, S., Wang, Y. C., et al. (2016) Interleukin-23 secreted by activated macrophages drives gamma delta T cell production of interleukin-17 to aggravate secondary injury after intracerebral hemorrhage, *J. Am. Heart Assoc.*, **5**, doi: 10.1161/JAHA.116.004340.
86. Li, D., Dong, H., Li, S., Munir, M., Chen, J., et al. (2013) Hemoglobin subunit beta interacts with the capsid protein and antagonizes the growth of classical swine fever virus, *J. Virol.*, **87**, 5707-5717, doi: 10.1128/JVI.03130-12.
87. Yang, Q., Bai, S. Y., Li, L. F., Li, S., Zhang, Y., et al. (2019) Human hemoglobin subunit beta functions as a pleiotropic regulator of RIG-I/MDA5-mediated antiviral innate immune responses, *J. Virol.*, **93**, doi: 10.1128/JVI.00718-19.
88. Masoumi, Z., Erlandsson, L., Hansson, E., Magnusson, M., Mezey, E., et al. (2021) Hypoxia-induced alpha-globin expression in syncytiotrophoblasts mimics the pattern observed in pre-eclamptic placentas, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, doi: 10.3390/ijms22073357.
89. Derakhshani, A., Safarpour, H., Abdoli Shadbad, M., Hemmat, N., Leone, P., et al. (2021) The role of hemoglobin subunit delta in the immunopathology of multiple sclerosis: mitochondria maters, *Front. Immunol.*, **12**, 709173, doi: 10.3389/fimmu.2021.709173.
90. Liu, L., Zeng, M., and Stamler, J. S. (1999) Hemoglobin induction in mouse macrophages, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 6643-6647, doi: 10.1073/pnas.96.12.6643.
91. Zheng, Y., Miyamoto, D. T., Wittner, B. S., Sullivan, J. P., Aceto, N., et al. (2017) Expression of beta-globin by cancer cells promotes cell survival during blood-borne dissemination, *Nat. Commun.*, **8**, 14344, doi: 10.1038/ncomms14344.
92. Tuteja, N., Chandra, M., Tuteja, R., and Misra, M. K. (2004) Nitric oxide as a unique bioactive signaling messenger in physiology and pathophysiology, *J. Biomed. Biotechnol.*, **2004**, 227-237, doi: 10.1155/S1110724304402034.
93. Kleschyov, A. L. (2017) The NO-heme signaling hypothesis, *Free Radic. Biol. Med.*, **112**, 544-552, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.025.
94. Lechavue, C., Butcher, J. T., Freiwang, A., Biwer, L. A., Keith, J. M., et al. (2018) Endothelial cell alpha-globin and its molecular chaperone alpha-hemoglobin-stabilizing protein regulate arteriolar contractility, *J. Clin. Invest.*, **128**, 5073-5082, doi: 10.1172/JCI99933.
95. Parikh, J., Kapela, A., and Tsoukias, N. M. (2017) Can endothelial hemoglobin-alpha regulate nitric oxide vasodilatory signaling? *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **312**, H854-H866, doi: 10.1152/ajpheart.00315.2016.
96. Shu, X., Ruddiman, C. A., Keller, T. C. S. 4th., Keller, A. S., Yang, Y., et al. (2019) Heterocellular contact can dictate arterial function, *Circ. Res.*, **124**, 1473-1481, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313926.
97. Straub, A. C., Lohman, A. W., Billaud, M., Johnstone, S. R., Dwyer, S. T., et al. (2012) Endothelial cell expression of haemoglobin alpha regulates nitric oxide signalling, *Nature*, **491**, 473-477, doi: 10.1038/nature11626.
98. Alvarez, R. A., Miller, M. P., Hahn, S. A., Galley, J. C., Bauer, E., et al. (2017) Targeting pulmonary endothelial hemoglobin alpha improves nitric oxide signaling and reverses pulmonary artery endothelial dysfunction, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **57**, 733-744, doi: 10.1165/rcmb.2016-0418OC.
99. Cao, A., and Moi, P. (2002) Regulation of the globin genes, *Pediatr. Res.*, **51**, 415-421, doi: 10.1203/00006450-200204000-00003.
100. Garrick, D., De Gobbi, M., Samara, V., Rugless, M., Holland, M., et al. (2008) The role of the polycomb complex in silencing alpha-globin gene expression in nonerythroid cells, *Blood*, **112**, 3889-3899, doi: 10.1182/blood-2008-06-161901.
101. Iarovaia, O. V., Kovina, A. P., Petrova, N. V., Razin, S. V., Ioudinkova, E. S., et al. (2018) Genetic and epigenetic mechanisms of beta-globin gene switching, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 381-392, doi: 10.1134/S0006297918040090.
102. Petrova, N. V., Klimenko, N. S., Kovina, A. P., Ioudinkova, E. S., Gavrilov, A. A., et al. (2021) Mechanisms mediating suppression of globin gene transcription in *Danio rerio* nonerythroid cells, *Biochimie*, **181**, 96-99, doi: 10.1016/j.biochi.2020.11.021.

103. Zhou, G. L., Xin, L., Song, W., Di, L. J., Liu, G., et al. (2006) Active chromatin hub of the mouse alpha-globin locus forms in a transcription factory of clustered housekeeping genes, *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 5096-5105, doi: 10.1128/MCB.02454-05.
104. Feldmesser, E., Olender, T., Khen, M., Yanai, I., Ophir, R., et al. (2006) Widespread ectopic expression of olfactory receptor genes, *BMC Genom.*, **7**, 121, doi: 10.1186/1471-2164-7-121.
105. Cantor, A. B., and Orkin, S. H. (2002) Transcriptional regulation of erythropoiesis: an affair involving multiple partners, *Oncogene*, **21**, 3368-3376, doi: 10.1038/sj.onc.1205326.
106. Higgs, D. R., Vernimmen, D., and Wood, B. (2008) Long-range regulation of alpha-globin gene expression, *Adv. Genet.*, **61**, 143-173, doi: 10.1016/S0065-2660(07)00005-3.
107. Palazon, A., Goldrath, A. W., Nizet, V., and Johnson, R. S. (2014) HIF transcription factors, inflammation, and immunity, *Immunity*, **41**, 518-528, doi: 10.1016/j.immuni.2014.09.008.
108. Imtiyaz, H. Z., and Simon, M. C. (2010) Hypoxia-inducible factors as essential regulators of inflammation, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **345**, 105-120, doi: 10.1007/82_2010_74.
109. Hasselbalch, H. C. (2014) A role of NF-E2 in chronic inflammation and clonal evolution in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis? *Leuk. Res.*, **38**, 263-266, doi: 10.1016/j.leukres.2013.07.002.
110. Jain, M. K., Sangwung, P., and Hamik, A. (2014) Regulation of an inflammatory disease: Kruppel-like factors and atherosclerosis, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **34**, 499-508, doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301925.
111. Kasai, S., Mimura, J., Ozaki, T., and Itoh, K. (2018) Emerging regulatory role of Nrf2 in iron, Heme, and hemoglobin metabolism in physiology and disease, *Front. Vet. Sci.*, **5**, 242, doi: 10.3389/fvets.2018.00242.
112. Ma, Q. (2013) Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **53**, 401-426, doi: 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320.
113. Taniguchi, K., and Karin, M. (2018) NF-kappaB, inflammation, immunity and cancer: coming of age, *Nat. Rev. Immunol.*, **18**, 309-324, doi: 10.1038/nri.2017.142.
114. Hou, C. H., Huang, J., and Qian, R. L. (2002) Identification of a NF-kappaB site in the negative regulatory element (epsilon-NRAII) of human epsilon-globin gene and its binding protein NF-kappaB p50 in the nuclei of K562 cells, *Cell Res.*, **12**, 79-82, doi: 10.1038/sj.cr.7290113.
115. Sangwung, P., Zhou, G., Lu, Y., Liao, X., Wang, B., et al. (2017) Regulation of endothelial hemoglobin alpha expression by Kruppel-like factors, *Vasc. Med.*, **22**, 363-369, doi: 10.1177/1358863X17722211.
116. Nayak, L., Lin, Z., and Jain, M. K. (2011) "Go with the flow": how Kruppel-like factor 2 regulates the vasoprotective effects of shear stress, *Antioxid. Redox Signal.*, **15**, 1449-1461, doi: 10.1089/ars.2010.3647.
117. McCord, J. M. (2000) The evolution of free radicals and oxidative stress, *Am. J. Med.*, **108**, 652-659, doi: 10.1016/s0002-9343(00)00412-5.
118. Heinrich, J. (1988) Cardiotocography practice. Case 16, *Zentralblatt fur Gynakologie*, **110**, 1604-1605.
119. He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., and Ma, X. (2017) Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species, *Cell. Physiol. Biochem.*, **44**, 532-553, doi: 10.1159/000485089.
120. Petersen, A. G., Petersen, S. V., Frische, S., Drakulic, S., Golas, M. M., et al. (2018) Hemoglobin polymerization via disulfide bond formation in the hypoxia-tolerant turtle *Trachemys scripta*: implications for antioxidant defense and O2 transport, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **314**, R84-R93, doi: 10.1152/ajpregu.00024.2017.

SEGREGATION OF α - AND β -GLOBIN GENE CLUSTERS IN VERTEBRATE EVOLUTION: CHANCE OR NECESSITY?

Review

O. V. Iarovaia^{1*}, S. V. Ulianov^{1,2}, E. S. Ioudinkova¹, and S. V. Razin^{1,2}

¹ Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia; E-mail: iarovaia@inbox.ru

² Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia

The review is devoted to the patterns of evolution of α - and β -globin gene domains. A hypothesis is presented according to which the segregation of the ancestral cluster of α/β -globin genes in Amniota is due to the performance by α -globins and β -globins of non-canonical functions not related to oxygen transport.

Keywords: evolution of α - and β -globin genes, regulation of transcription, non-canonical functions of α - and β -globins