

Молекулярно-генетические аспекты синдрома ломкой X-хромосомы (Мартина-Белла)

С. Г. Малярчук

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

Синдром ломкой X-хромосомы (Мартина-Белла) — наиболее распространенная форма умственной отсталости с X-сцепленным типом наследования с неполной пенетрантностью. Частота встречаемости составляет приблизительно 1 на 1500 мужчин и 1 на 2500 женщин. В данном обзоре представлены современные данные о структуре гена FMR1, природе динамических мутаций, связанных с экспансией внутрисенных CGG-повторов, а также других типов мутаций в этом гене.

Решающие успехи молекулярной биологии за последние несколько лет в расшифровке тонкой структурно-функциональной организации генома человека, картировании на хромосомах многих структурных генов привели к значительному прогрессу в области медицинской генетики, существенно расширили и обогатили наши знания о молекулярной природе наследственных заболеваний, способах их точной диагностики и профилактики. Одним из наиболее ярких событий в молекулярной генетике за минувшие три года явилось открытие принципиально нового типа мутаций — экспансии (увеличения) числа копий внутрисенных тринуклеотидных повторов, приводящей к проявлению наследственных заболеваний человека. Такой класс мутаций, связанный с нестабильностью данных повторов, некоторые авторы называют динамическими мутациями [1].

С каждым годом растет список наследственных заболеваний человека, связанных с динамическими мутациями вследствие увеличения количества тринуклеотидных повторов. На сегодняшний день уже установлено, что эти мутации являются причиной таких наследственных заболеваний человека, как миотоническая дистрофия, спиноцеребральная атаксия типа I, хорей Гентингтона, спинобульбарная мышечная атрофия (SBMA), FRAXE синдром [2].

Тринуклеотидные повторы представляют собой неотъемлемую часть генома человека и принадлежат к классу простых повторяющихся последовательностей, или микросателлитов. Характерной особенностью всех микросателлитных последовательностей является их полиморфизм, т. е. существование большого числа аллелей, различающихся количеством копий тандемных повторов и, следовательно, своей длиной. Новым этапом в изучении микросателлитных последовательностей явилось открытие их роли в мутагенезе человека, причем впервые это было показано на примере синдрома Мартина-Белла (ломкой X-хромосомы).

Синдром Мартина-Белла, или ломкой X-хромосомы, является наиболее распространенной формой умственной отсталости с X-сцепленным типом наследования с неполной пенетрантностью [3]. Частота встречаемости составляет приблизительно 1 на 1500 мужчин и 1 на 2500 женщин [4]. В большинстве случаев ломкость X-хромосомы связана с фрагильным участком в области Xq 27.3. В 1991 году основной вид мутаций, ответственных за синдром Мартина-Белла, был охарактеризован как увеличение количества CGG-повторов в 5'-нетранслируемой области гена *FMR1* (fragile X mental retardation 1) [5]. Благодаря работам по клонированию и секвенированию кДНК-последовательностей гена *FMR1* стало возможным изучение мутаций, приводящих к проявлению синдрома ломкой X-хромосомы.

Исследования показали, что количество три-

нуклеотидных CGG-повторов в 5'-нетранслируемой области гена *FMR1* является полиморфным в нормальной популяции человека и варьирует в пределах от 6 до 52 повторов, причем аллель, содержащий 29 повторов, оказался наиболее частым [6]. При последующем анализе нуклеотидной последовательности данного аллеля посредством секвенирующего анализа его размер был уточнен и показано наличие 30 CGG-повторов в данном аллельном варианте [7]. Кроме того, оказалось, что если аллель содержит более 50 повторов, то в последующих поколениях наблюдается нестабильность данного генного локуса [6].

Были определены две главные категории мутаций гена *FMR1*: 1) полная мутация, при которой у больных синдромом ломкой X-хромосомы выявляли множественную амплификацию CGG-повторов (более 230 копий); 2) премутация: количество данных повторов варьирует в пределах 50—230 CGG-единиц [6].

В ходе дальнейших исследований показано, что примерно половина женщин-носительниц и мужчины-трансммиттеры имеют премутацию, у больших же индивидуумов обоих полов всегда выявляли полную мутацию, хотя только около 53 % женщин с полной мутацией являются умственно отсталыми [8].

Синдром Мартина-Белла был первым описанным наследственным заболеванием человека с нестабильностью тринуклеотидных повторов. В ходе дальнейших исследований выявлено, что такая нестабильность бывает как мейотической, так и митотической [9]. Количество CGG-повторов на границе между нормальным и премутационным аллелями является мейотически нестабильным в процессе передачи (наследования) от одного поколения последующему [6].

Аллели с количеством CGG-повторов свыше 200 (полная мутация) так же, как и с премутацией, в дополнение к мейотической проявляют еще и митотическую нестабильность, приводящую к соматическому разнообразию [9]. При этом наблюдается варьирование количества тринуклеотидов в различных тканях одного и того же индивидуума. Такое явление называют соматическим мозаицизмом.

В целом ряде исследований проведен анализ вероятности экспансии CGG-повторов при наследственной передаче X-хромосомы с числом CGG-повторов, соответствующим премутации, от матерей-носительниц и мужчин-трансммиттеров. Было показано, что если наследование происходит от матери, которая имеет аллель с премутацией, то у ребенка может наблюдаться экспансия CGG-триплетов с

количеством, отвечающим либо премутации, либо полной мутации [10]. Интересно отметить, что вероятность экспансии, приводящей к полной мутации, зависит от количества таких триплетов на материнском аллеле с премутацией. Если размер премутации невелик (до 90 повторов), то вероятность экспансии низкая, но если аллель содержит более 90 тринуклеотидов, то премутация почти всегда переходит в полную мутацию [11]. В исследованиях, проведенных на большом количестве семей с синдромом Мартина-Белла (100 семей), было показано наличие строгой линейной зависимости между размером премутации у матери и вероятностью возникновения полной мутации у ее потомков [12].

С другой стороны, было выявлено, что при наследовании от мужчины-трансммиттера X-хромосомы с премутацией происходит небольшое увеличение количества данных тринуклеотидов [11]. Также обнаружено, что у более чем одной трети дочерей трансмиттеров наблюдается внутрисемейное уменьшение размера премутации, тогда как у дочерей матерей — носительниц премутации такое явление встречалось гораздо реже [12].

В ходе изучения варьирования числа копий тринуклеотидных CGG-повторов на нормальной и Fga X-хромосомах обнаружили, что аллель с более чем 50 CGG-повторами может наследоваться стабильно [7], но в то же время в некоторых семьях с синдромом ломкой X-хромосомы, а также и в здоровых семьях были идентифицированы нестабильные аллели с 34 повторами [13]. Эти наблюдения привели к разработке концепции о существовании так называемой «серой зоны» с количеством CGG-повторов от 35 до 55, в которой аллели могут быть как стабильными, так и нестабильными [14].

Как правило, умственно неполноценные больные мужчины с синдромом Мартина-Белла не имеют потомства. Описаны лишь пять случаев, когда у таких пациентов родились дети [15]. Ни у одной из восьми дочерей этих больных не было зафиксировано признаков умственных отклонений и не выявлено ломкости X-хромосомы при карiotипировании. Молекулярно-генетический анализ, проведенный в одной из этих семей, показал, что пациент с синдромом Мартина-Белла (мозаик по полной мутации и премутации в соматических клетках) имел клинически и цитогенетически нормальную дочь с премутацией в соматических клетках [16]. В другой семье больной мужчина имел только полную мутацию в лимфоцитах, тогда как две его дочери имели только премутации и не обнаруживали отклонений от нормы на уровне карiotипа и

при клиническом обследовании [17]. Исходя из этих данных можно предположить, что в половых и соматических клетках больных мужчин с синдромом Мартина-Белла может содержаться разное количество CGG-повторов гена *FMR1*. В дальнейшем было показано, что сперматозоиды больных мужчин содержат только аллель с премутацией, тогда как в их соматических клетках обнаруживают полную мутацию [15].

Существуют два независимых объяснения по поводу того факта, что в сперме больных мужчин с полной мутацией в соматических клетках наблюдали лишь аллели с премутацией [15]. Первое предполагает, что экспансия премутации в полную мутацию может происходить в процессе мейоза только у женщин. Поскольку анализ в ооцитах женщин крайне затруднителен, на сегодняшний день остается неизвестным состояние области CGG-повторов в ооцитах женщин, в лейкоцитарной ДНК которых наблюдается полная мутация. Согласно другой гипотезе, процесс экспансии также может происходить на ранних постзиготических стадиях развития эмбриона.

Если допустить, что процесс экспансии от премутации к полной мутации происходит на ранних стадиях эмбриогенеза, то в этом случае должно иметь место явление родительского импринтинга, позволяющего определить различия между материнской и отцовской хромосомами с премутацией [18], так как экспансия CGG-повторов происходит только в процессе наследования материнской X-хромосомы с премутацией [6]. В пользу этого допущения свидетельствует тот факт, что часто у больных мужчин среди аллелей с полной мутацией встречаются аллели с премутацией (так называемые мозаики по количеству повторов) [5, 6]. Если амплификация данных повторов действительно имеет место на постзиготической стадии, то это должно происходить до процесса деления первичной зиготы на две, из которых потом развиваются монозиготные близнецы, и до процесса дифференцировки тканей [15]. Подтверждением этому служит то обстоятельство, что размер полной мутации у больных близнецов с синдромом Мартина-Белла, а также в разных тканях больных практически совпадает [19, 20]. По данным некоторых авторов, экспансия может происходить между 5 и 20 днями после образования зиготы [20].

Если допустить возможность того, что процесс экспансии происходит только в женском оогенезе, то в этом случае должен осуществляться механизм редукции полной мутации с селективным преимуществом для гамет с премутацией в гаметах больных мужчин [15]. Теоретически можно допустить,

что при отборе имеют преимущество именно те гаметы, которые подверглись регрессии от полной мутации к премутации. Также было показано, что на уровне периферических лимфоцитов женщин-носительниц существует длительный отбор против клеток с полной мутацией [8].

Ричардсоном и Сазерлендом была предложена модель для объяснения процесса экспансии CGG-повторов в случаях аллелей с премутацией и полной мутацией [21]. Согласно данной модели, два одноцепочечных разрыва в отстающей цепи репликации приводят к тому, что фрагмент Оказаки, содержащий данные CGG-повторы, «не закорен» уникальной последовательностью ни на одном из концов, что в свою очередь приводит к процессу «скольжения» в ходе полимеризации. Система репарации неправильных замен (mismatch) эукариот подобно аналогичным бактериальным системам может различать родительскую и вновь синтезированную цепи ДНК [22]. Невозможность репарации таких структур способна вызывать экспоненциальное увеличение длины повторов [23]. Однако уникальные условия микросреды в процессе развития зиготы, такие как истощение пула АТФ [24], приводят к укорочению средней длины фрагментов Оказаки [25]. Кроме того, задержка активации метилазы эмбриона может ограничивать многократную экспансию на начальной стадии эмбрионального развития [25].

Одновременное существование стабильных и нестабильных аллелей со сходным количеством CGG-повторов предполагает наличие какого-то дополнительного фактора помимо амплификации данных повторов, существенного для самого аллеля в поддержании стабильности региона CGG-повторов [23]. Проведенные исследования неравновесия сцеплений между аллельными вариантами CGG-повторов Fga X-хромосом и полиморфизмами FRAXA C1—DXS 548—FRAXA C2 в северно-европейских популяциях позволили сделать предположение, что причиной нестабильности (стабильности) CGG-полиморфных аллелей является *cis*-действующий фактор, локализованный рядом или внутри самих повторов [26]. Анализ нуклеотидной последовательности CGG-повторов в гене *FMR1* показал, что она прервана двумя AGG-повторами [5]. Это наблюдение привело к мысли о том, что, возможно, именно эти AGG-повторы обеспечивают стабильность CGG-последовательности и что нестабильность является результатом потери AGG-триплетов [6, 17]. В поддержку данной модели служит тот факт, что в случае спиноцеребральной атаксии типа I (SCA1), связанной с экспансией CAG-повторов, потеря триплета CAT внутри CAG-повторов

отмечается только в аллелях больных [27].

В дальнейшем было показано, что нестабильные аллели с 34—55 CGG-повторами (премутация) содержат только один, прерывающий их, AGG-триплет или вообще утратили оба AGG-повтора, при этом лишь 70 % премутационных аллелей носителей имеют всего один AGG-триплет в данной области CGG-повторов [23]. Исследования области CGG-повторов гена *FMR1*, проведенные на 518 нормальных X-хромосомах, обнаружили, что 6 % хромосом не содержат ни одного прерывающего AGG-повтора, 27,4 % — один, 62,4 % — два, 4 % — три и 0,2 % — четыре AGG-повтора в этой области [28].

Данное явление имеет важное диагностическое значение, поскольку, если количество CGG-повторов попадает в «серую зону» (35—60 повторов), то их стабильность строго зависит от количества прерывающих AGG-повторов. Полученные этими авторами данные поддерживают гипотезу о том, что потеря AGG-триплета в 3'-нестабильном регионе дестабилизирует CGG-область и приводит к ее стремительной экспансии [28]. Таким образом, существует строгая корреляция между потерей одного или двух AGG-триплетов и проявлением нестабильности аллелей, при этом порог стабильности лежит в пределах 34—37 непрерывных («чистых») CGG-повторов, аллели же с 56—74 «чистыми» CGG-триплетами наиболее подвержены гиперамплификации [23]. Также показано, что «прерванные» динуклеотидные повторы менее полиморфны по сравнению с «чистыми» («непрерывными») той же длины [29]. Примечательными являются данные о том, что варьирование в количестве «чистых» CGG-повторов наблюдается предпочтительно в 3'-конце нестабильной области, т. е. существует так называемая «полярная вариабельность» [30]. Данная полярность в гене *FMR1* сходна с таковой в гипервариабельных минисателлитных локусах человека и мыши, где аллельное разнообразие связывают с изменением в последовательностях на одном из концов данной области [31, 32].

Данные, полученные для шести наследственных заболеваний, вызванных нестабильностью тринуклеотидных повторов и исследованных на сегодняшний день, показали, что по крайней мере 95 % нормальных аллелей содержат менее чем 25 непрерывных триплетов [27, 33—38]. Таким образом, общие признаки протяженности и «чистоты» повторяющихся последовательностей, по-видимому, существенны для всех наследственных заболеваний человека, связанных с нестабильностью триплетов.

На сегодняшний день наряду с экспансией тринуклеотидов описаны случаи обратного уменьшения количества повторов. Для одной семьи с синдромом ломкой X-хромосомы была показана редукция количества CGG-повторов от 110 повторов у матери (премутация) до 44 — у ее дочери [39]. Также был описан больной (мозаик по количеству повторов), имевший в лимфоцитах аллели с нормальным количеством повторов в сочетании с полной мутацией [40]. В этом случае ни один из его нормальных аллелей не соответствовал по количеству CGG-повторов нормальному материнскому аллелю, что свидетельствует о редукции данных повторов. Еще в одной семье наблюдали полную мутацию у матери, тогда как у ее плода мужского пола была выявлена премутация [6]. Премутационный аллель плода был меньшего размера, чем премутация у его бабушки-носительницы. В лейкоцитарной ДНК матери данного плода были обнаружены только аллели с полной мутацией, но, возможно, она являлась мозаиком по количеству повторов в X-хромосоме в других тканях.

Подобная редукция числа повторов наблюдается также для других заболеваний с экспансией тринуклеотидов. Несколько случаев обратной мутации при миотонической дистрофии было выявлено у потомков мужчин [42]. Внутрисемейное уменьшение размера мутации в последующих поколениях также обнаружено в семьях с хореей Гентингтона и в случае ломкости сайта FRAXE, ген которого отвечает за развитие более мягкой по сравнению с синдромом ломкой X-хромосомы формы умственной отсталости [43, 44]. С другой стороны, ни систематического увеличения, ни уменьшения количества CAG-повторов не наблюдается в последующих поколениях семей с болезнью Кеннеди [45].

Недавно для объяснения вариабельности в VNTR-локусах был предложен механизм неравного обмена между сестринскими хроматидами и генной конверсии [32]. Было показано, что наиболее часто обнаруживаемые микросателлиты $poly(CA) \cdot poly(GT)$ могут усиливать процесс рекомбинации [46]. Исследователями из Нидерландов и США был описан случай необычного наследования дочерью материнской X-хромосомы с премутацией, отвечающей 80 CGG-копиям [41]. Проведенный анализ по гаплотипу с использованием фланкирующих полиморфных маркеров (DXS369, DXS539, DXS297, DXS463 и DXS52) показал, что дочь унаследовала материнскую Fra X-хромосому. При этом с помощью анализа последовательности CGG-повторов, осуществленного с использованием блот-гибридизации (зонд *pP2*) и ПЦР, установлено, что

28 CGG-повторов на одной X-хромосоме дочь получила от отца, а 29 CGG-триплетов на другой соответствовали количеству повторов нормальной материнской X-хромосомы. Дальнейшее исследование нуклеотидной последовательности данной нестабильной области гена *FMR1* выявило, что указанные 29 повторов были унаследованы дочерью от нормальной материнской хромосомы, а не вследствие процесса редукции материнского аллеля с пре-мутацией.

Анализ с помощью дополнительных, фланкирующих данный CGG-регион гена, маркеров (DXS548, FRAXAC1 и DXS465) указывал на риск по гаплотипу в каждом из данных локусов X-хромосомы дочери. Поэтому были проанализированы другие внутригенные полиморфные маркеры. Изучение двух внутригенных FMRa полиморфизма — локализованного на расстоянии 6 тыс. п. н. дистальнее области CG-повторов в 1-м интроне гена *FMR1*, и FRAXAC2, находящегося во 2-м интроне гена, показало, что дочь унаследовала нормальный отцовский и материнский с риском аллели. При этом анализ с помощью еще одного внутригенного маркера FMRb, локализованного в 5-м экзоне гена, показывал, что дочь получила нормальный материнский аллель. Поскольку маркеры FMRa и FRAXAC2 локализованы между последовательностями CGG-повторов и маркера FMRb, было доказано, что ген *FMR1* дочери содержит как нормальные, так и Fga X-последовательности X-хромосомы матери-носительницы. Авторы работы [41] для объяснения механизма наблюдаемого явления выдвигают гипотезу о генной конверсии, происходящей в данном гене.

Некоторые исследователи выступают против данной гипотезы, аргументируя это тем, что если генная конверсия — доминирующий вид экспансии CGG-повторов в случае Fga X, то ожидаемые аллели с увеличенным количеством повторов должны были бы содержать три или четыре AGG-повтора, формируя кассетоподобные структуры вследствие конверсии или неравного кроссинговера, но, как было установлено, такие аллели встречаются очень редко [23]. Напротив, для нестабильных аллелей существует тенденция к уменьшению AGG-повторов из-за делеции или замены A на C [23, 27]. Подобная периодическая потеря AGG-повторов может также объяснить наличие различных гаплотипов для аллелей Fga X [23, 26].

Наряду с экспансией CGG-повторов описаны и другие типы мутаций в гене *FMR1*, приводящие к различной степени фенотипической экспрессии синдрома Мартина-Белла. В 1992 году впервые описан пациент с наличием субмикроскопической

делеции длиной 2500 тыс. п. н., полностью затрагивающей локус *FMR1*. Мать этого пациента была носительницей данной мутации [47]. В последнее время у больных с синдромом Мартина-Белла описан ряд случаев делеций *de novo* разной протяженности. Делеции длиной 250 тыс. п. н., включая пять первых экзонов гена *FMR1*, и 100 тыс. п. н., затрагивающая промоторную область гена, были описаны у пациентов с типичными признаками данного синдрома [48, 49]. Небольшая делеция *de novo* (660 п. н.) обнаружена у пробанда с синдромом Мартина-Белла, причем у этого индивидуума наблюдался соматический мозаицизм: только 40 % периферических лимфоцитов имели данную делецию [50]. Недавно делеция длиной 1,6 тыс. п. н., полностью захватывающая промоторную область гена, выявлена в семье с большим числом больных [51]. В этом случае она передавалась в ряду нескольких поколений, в том числе и через мужчин, что в свою очередь свидетельствует о том, что продукт гена *FMR1*, возможно, не является существенным для процесса сперматогенеза [51]. Была найдена точечная мутация *de novo*, приводящая к замене изолейцина-367 на аспарагин, у пациента с характерными признаками синдрома Мартина-Белла [52]. Обнаружено также наличие транзиции и инсерции в CpG-островках гена *FMR1* у больных с синдромом Мартина-Белла [53]. Таким образом, на сегодняшний день открыты различные типы мутаций в гене *FMR1*, вызывающие проявление синдрома Мартина-Белла (ломкой X-хромосомы).

Дальнейшие исследования молекулярно-генетической природы мутаций, приводящих к проявлению синдрома Мартина-Белла, позволят пролить свет на механизмы возникновения нестабильности таких участков генома, одним из которых является ген *FMR1*. Эти исследования также будут способствовать разработке надежных методов диагностики, включая пренатальную и доимплантационную, и поиску терапии данного заболевания.

С. Г. Малярчук

Молекулярно-генетичні аспекти синдрому ламкої X-хромосоми (Мартина-Белла)

Резюме

Синдром ламкої X-хромосоми (Мартина-Белла) — найрозповсюдженіша форма розумової відсталості з X-зчепленням типом успадкування з неповною пенетрантністю. Частота розповсюдження складає близько 1 на 1500 чоловіків та 1 на 2500 жінок. У даному огляді наведено сучасні дані про структуру гена *FMR1*, природу динамічних мутацій, пов'язаних з експансією інтрагенних CGG-повторів, а також інших типів мутацій у цьому гені.

S. G. Malyarchuk

Molecular and genetic aspects of fragile X syndrome (Martin-Bell)

Summary

Fragile X syndrome (Martin-Bell) is a common cause of mental retardation that is inherited as an X-linked dominant disorder with reduced penetrance. The incidence of fragile X syndrome is estimated to be approximately one per 1500 males and one per 2500 females. This review represents the modern data about FMR1 gene structure, dynamic mutations caused by expansion of intragenic CGG-trinucleotide repeats as well as other types of mutations at that gene.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Richards R. I., Sutherland G. R. Dynamic mutations: a new class of mutations causing human disease // *Cell*.—1992.—70.—P. 709—712.
2. Willems P. J. Dynamic mutations hit double figures // *Nat. Genet.*—1994.—8.—P. 213—215.
3. McKusick V. A., Francomano C. A., Antonarakis S. E. Mendelian inheritance in man // *Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes*.—Baltimore: The Johns Hopkins Univ. press, 1994.—P. 2452—2461.
4. Webb T. P., Buncy S. E., Thake A. J., Todd J. Population incidence and segregation ratios in the Martin-Bell syndrome // *Amer. J. Med. Genet.*—1986.—23.—P. 573—580.
5. Verkerk A. J. M. H., Pieretti M., Sutcliffe J. S. et al. Identification of a gene (*FMR-1*) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome // *Cell*.—1991.—65, N 5.—P. 905—914.
6. Fu Y. H., Kuhl D. P., Pizzuti A. et al. Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox // *Ibid.*—67.—P. 1047—1058.
7. Snow K., Doud L. K., Hagerman R. et al. Analysis of a CGG sequence at the *FMR1* locus in fragile X families and in the general population // *Amer. J. Hum. Genet.*—1993.—53.—P. 1217—1228.
8. Rousseau F., Heitz D., Biancalana V. et al. Direct diagnosis by DNA analysis of the fragile X syndrome of mental retardation // *N. Engl. J. Med.*—1991.—325.—P. 1673—1681.
9. Richards R. I., Sutherland G. R. Heritable unstable DNA sequences // *Nat. Genet.*—1992.—1.—P. 7—9.
10. Warren S. T., Nelson D. L. Advances in molecular analysis of fragile X syndrome // *JAMA*.—1994.—271, N 7.—P. 536—542.
11. Heitz D., Devys D., Imbert G. et al. Inheritance of the fragile X syndrome: size of the fragile X premutation is a major determinant of the transition to full mutation // *J. Med. Genet.*—1992.—29.—P. 794—801.
12. Fisch G. S., Snow K., Thibodeau S. N. et al. The fragile X premutation in carriers and its effect on mutation size in offspring // *Amer. J. Hum. Genet.*—1995.—56.—P. 1147—1155.
13. Reiss A. L., Kazazian H. H., Krebs C. M. et al. Frequency and stability of the fragile X premutation // *Hum. Mol. Genet.*—1994.—3.—P. 393—398.
14. Nelson D. L. Characterization of the FRAX(A) locus in man // *Amer. J. Hum. Genet.*—1992.—51.—P. A186.
15. Reintiers E., Vits L., De Boule K. et al. The full mutation in the *FMR1* gene of male fragile X patients is absent in their sperm // *Nat. Genet.*—1993.—4.—P. 143—146.
16. Willems P. J., Van Roy B., De Boule K. et al. Segregation of the fragile X mutation from an affected male to his normal daughter // *Hum. Mol. Genet.*—1992.—1, N 7.—P. 511—515.
17. Mulley J. C., Yu S., Gedeon A. K. et al. Experience with direct molecular diagnosis of fragile X // *J. Med. Genet.*—1992.—29, N 5.—P. 368—374.
18. Wohrle D., Henning I., Vogel W., Steinbach P. Mitotic stability of fragile X mutations in differentiated cells indicates early post-conceptual trinucleotide repeat expansion // *Nat. Genet.*—1993.—4.—P. 140—142.
19. Wohrle D., Hirst M. C., Kennerknecht I. et al. Genotype mosaicism in fragile X fetal tissues // *Hum. Genet.*—1992.—89, N 1.—P. 114—116.
20. Devys D., Biancalana V., Rousseau F. et al. Analysis of full fragile X mutations in fetal tissues and monozygotic twins indicate that abnormal methylation and somatic heterogeneity are established early in development // *Amer. J. Med. Genet.*—1992.—43.—P. 208—216.
21. Richards R. I., Sutherland G. R. Simple repeat DNA is not replicated simply // *Nat. Genet.*—1994.—6.—P. 114—116.
22. Parsons R. Hypermutability and mismatch repair deficiency in RER tumor cells // *Cell*.—1993.—75.—P. 1227—1236.
23. Eichler E. E., Holden J. J. A., Popovich B. W. et al. Length of uninterrupted CGG repeats determines instability in the *FMR1* gene // *Nat. Genet.*—1994.—8.—P. 88—94.
24. Alexiou M., Leese H. J. Purin utilisation, *de novo* synthesis and degradation in mouse preimplantation embryos // *Development*.—1992.—114.—P. 185—192.
25. Nathanel T., Zlotkin T., Kaufmann G. Assembly of simian virus 40 Okazaki pieces from DNA primers is reversibly arrested by ATP depletion // *J. Virol.*—1992.—66.—P. 6634—6640.
26. Macpherson J. N., Bullman H., Youings S. A. et al. Insert size and flanking haplotype in fragile X and normal populations: possible multiple origins for the fragile X mutation // *Hum. Mol. Genet.*—1994.—3.—P. 399—405.
27. Chung M. Y., Ranum L. P. W., Duvick L. A. et al. Evidence for a mechanism predisposing to intergenerational CAG repeat instability in spinocerebellar ataxia type 1 // *Nat. Genet.*—1993.—5.—P. 254—258.
28. Zhong N., Yang W., Dobkin C., Brown W. T. Fragile X gene instability: anchoring AGGs and linked microsatellites // *Amer. J. Hum. Genet.*—1995.—57.—P. 351—361.
29. Weber J. L. Informativeness of human (dC-dA)_n-(dG-dT)_n polymorphisms // *Genomics*.—1990.—7.—P. 524—530.
30. Kunst C. B., Warren S. T. Cryptic and polar variation of the fragile X repeat could result in predisposing normal alleles // *Cell*.—1994.—77.—P. 853—861.
31. Armour J. A. L., Harris P. C., Jeffreys A. J. Allelic variation at minisatellite MS205 (D16S309): evidence of polarized variability // *Hum. Mol. Genet.*—1993.—2.—P. 1137—1145.
32. Jeffreys A. J., Tamaki K., MacLeod A. et al. Complex gene conversion events in germline mutation at human minisatellites // *Nat. Genet.*—1994.—6.—P. 136—144.
33. Knight S. J. L., Flannery A. V., Hirst M. C. et al. Trinucleotide repeat amplification and hypermethylation of a CpG island in FRAXE mental retardation // *Cell*.—1993.—74.—P. 127—130.
34. La Spada A. R., Wilson E. M., Lubahn D. B. et al. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy // *Nature*.—1991.—352.—P. 77—79.
35. Koide R., Ikeuchi T., Onodera O. et al. Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidolucyian atrophy (DRPLA) // *Nat. Genet.*—1994.—6.—P. 9—13.
36. Brook J. D., McCurrach M. E., Harley H. G. et al. Molecular

- basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member // *Cell*.—1992.—68.—P. 799—808.
37. Huntington's disease collaborative research group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes // *Ibid.*—1993.—72.—P. 971—983.
 38. Nagafuchi S., Yanagisawa H., Sato K. et al. Dentatorubral and pallidoluysian atrophy expansion of an unstable CAG trinucleotide on chromosome 12p // *Nat. Genet.*—1994.—6, N 1.—P. 14—17.
 39. Vits L., De Boulle K., Reyniers E. et al. Apparent regression of the CGG repeat in *FMRI* to an allele of normal size // *Hum. Genet.*—1994.—94, N 5.—P. 523—526.
 40. Van den Ouweland A. M. W., De Vries B. B. A., Bakker P. I. G. et al. DNA diagnosis of the fragile X syndrome in a series of 236 mentally retarded subjects and evidence for a reversal of mutation in the *FMRI* gene // *Amer. J. Med. Genet.*—1994.—51, N 4.—P. 482—485.
 41. Van den Ouweland A. M. W., Deelen W. H., Kunst C. B. et al. Loss of mutation at the *FMRI* locus through multiple exchanges between maternal X chromosomes // *Hum. Mol. Genet.*—1994.—3, N 10.—P. 1823—1827.
 42. Brunner H. G., Jansen G., Nillesen W. et al. Brief report: revers mutation in myotonic dystrophy // *N. Engl. J. Med.*—1993.—328.—P. 476—480.
 43. Andrew S. E., Goldberg Y. P., Kremer B. et al. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease // *Nat. Genet.*—1993.—4.—P. 398—403.
 44. Knight S. J. L., Voelckel M. A., Hirst M. C. et al. Triple repeat expansion at the FRAXE locus and X-linked mild mental handicap // *Amer. J. Hum. Genet.*—1994.—55.—P. 81—86.
 45. Amato A. A., Prior T. W., Burohn R. J. et al. Kennedy's disease: a clinicopathologic correlation with mutations in the androgen receptor gene // *Neurology*.—1993.—43.—P. 791—794.
 46. Gaillard C., Strauss F. Association of poly(CA)·poly(TG) DNA fragments into four-stranded complexes bound by HMG1 and 2 // *Science*.—1994.—264, N 5157.—P. 433—436.
 47. Gedeon A. K., Baker E., Robinson H. et al. Fragile X syndrome without CGG amplification has an *FMRI* deletion // *Nat. Gen.*—1992.—1, N 5.—P. 341—344.
 48. Wohrle D., Kotzot D., Hirst M.C. et al. A Microdeletion of less than 250 kb, including the proximal part of the *FMRI* gene and the fragile-X site, in a male with the clinical phenotype of fragile X syndrome // *Amer. J. Hum. Genet.*—1992.—51.—P. 299—306.
 49. Trottier Y., Imbert G., Poustka A. et al. Male with typical Fragile X phenotype is deleted for part of the *FMRI* gene and for about 100 kb of upstream region // *Amer. J. Med. Genet.*—1994.—51.—P. 454—457.
 50. Hirst M., Grewal P. K., Flannery A. et al. Two new cases of *FMRI* deletion associated with mental impairment // *Amer. J. Hum. Genet.*—1995.—56.—P. 67—74.
 51. Meijer H., de Craff E., Merckx D. et al. A deletion of 1.6 kb proximal to the CGG repeat of the *FMRI* gene causes the clinical phenotype of the fragile X syndrome // *Hum. Mol. Genet.*—1994.—3.—P. 615—620.
 52. De Boulle K., Verkerk A. J. M. H., Reyniers E. et al. A point mutation in the *FMRI* gene associated with fragile X mental retardation // *Nat. Genet.*—1993.—3.—P. 31—35.
 53. Mila M., Castellvi-Bel S., Barcelo A. et al. Mutations in the CpG island of the *FMRI* gene: are they responsible for the Fragile X Syndrome?: Abstrs. of 1995 Ann. Meet. of the Amer. Soc. of Hum. Genet. // *Amer. J. Hum. Genet.*—1995.—57, N 4.—P. A220.

Поступила в редакцию 27.03.97