

Мобильные генетические элементы в процессах мутагенеза, рекомбинации и злокачественной трансформации клеток человека

Л. Л. Лукаш, Л. П. Швачко*, Е. В. Костецкая

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

Одной из существенных стадий сложного многоэтапного процесса злокачественной трансформации клеток является мутагенез. Об этом свидетельствует тот факт, что все канцерогены являются мутагенами. Важной особенностью опухолей в последнее время признана нестабильность микросателлитной ДНК. В данном обзоре на примере Али-повторов из генома человека рассмотрена роль мобильных генетических элементов в возникновении наследственных и соматических заболеваний, в том числе злокачественных новообразований. Локализуясь в «горячих точках» мутационных и рекомбинационных событий, Али-повторы могут служить генетическими маркерами для оценки нестабильности генома человека.

В настоящее время мутагенезу отводится существенная роль в сложном многоэтапном процессе злокачественной трансформации [1—3]. Показано, что канцерогены различной природы — физические, химические и биологические — являются мутагенами, мишенями для которых служат всевозможные клеточные гены, в том числе протоонкогены и онкосупрессорные гены [4]. Мутации в протоонкогенах *ras* [5] и *тсх* [6, 7], по-видимому, имеют доминирующее значение в онкогенезе.

Молекулярный анализ опухолей человека, имеющих клональное происхождение, позволил выявить множественные генетические повреждения, а именно: хромосомные транслокации, амплификацию генов, точечные мутации и др. Мутации приводят к изменению функций протоонкогенов и онкосупрессорных генов, в результате чего они становятся действующими онкогенами [8, 9]. Наиболее четко способ активации протоонкогенов показан на примере хромосомных транслокаций, когда при перенесении фрагментов хромосом в новое микроокружение они попадают под действие сильной регуляторной области иммуноглобулиновых генов [10—12].

Клеточные протоонкогены являются эволюционно консервативными генами. Они контролируют важные регуляторные функции, имеющие отношение к процессам созревания, пролиферации и клеточной дифференцировки [13, 14]. До настоящего времени неизвестны регуляторные механизмы, поддерживающие спонтанную частоту мутаций этих генов на относительно

*Correspondence address.

низком уровне. Повышение общей мутабельности генома под влиянием тех или иных факторов увеличивает вероятность изменения генов, ответственных за процесс злокачественной трансформации. Длительное поддержание мутабельности генома на более высоком уровне существенно увеличивает риск злокачественной трансформации клеток.

Таким образом, мутагенез можно рассматривать как важный показатель в процессе канцерогенеза, а это в свою очередь служит основанием для поиска генетических маркеров при оценке предрасположенности клеток к злокачественному перерождению. Существенным аргументом в пользу этого положения служит тот факт, что все известные канцерогены являются мутагенами, но не все мутагены проявляют канцерогенную активность. Это позволяет допустить, что для мутационного процесса, связанного с канцерогенезом, существуют свои определенные мишени на уровне нуклеотидных последовательностей, которые наиболее уязвимы и важны для поддержания нормальных функций протоонкогенов и соответствующих супрессорных генов. Такими мишенями, на наш взгляд, могут быть мобильные генетические элементы, простые диспергированные повторы, представленные в геноме большим числом копий.

В данном обзоре рассматриваются следующие вопросы:

1) какова роль мобильных генетических элементов и простых диспергированных повторов в процессах мутагенеза, рекомбинации и злокачественной трансформации, происходящих в клетках человека?

2) обоснованно ли их использование в качестве генетических маркеров мутабельности генома при злокачественном перерождении клеток?

3) каковы молекулярные механизмы мутаций, обусловленных присутствием в геноме нестабильных генетических элементов?

Основное внимание уделяется простым диспергированным повторам, составляющим микросателлитную ДНК генома, и, в частности, *Alu*-элементам из генома человека, учитывая особенности их структуры и локализации в «горячих точках» на хромосомах, а также экспериментальный материал, полученный в нашей лаборатории и свидетельствующий об их мутагенной активности.

В последнее время накапливается все больше сведений о роли мобильных генетических элементов и простых повторяющихся последовательностей в основных генетических процессах, происходящих в клетке. Имеются три группы данных, подтверждающих это положение.

Во-первых, известно о собственной мутагенной активности мобильных генетических элементов как природной, так и индуцированной — явлении, называемом инсерционным мутагенезом [15]. Оно связано со способностью мобильных генетических элементов перемещаться и изменять свою локализацию в геноме, вызывая при этом мутации и нестабильное состояние соседних генов. Возможно, именно механизм активации мобильных генетических элементов лежит в основе феномена мутагенности чужеродных полинуклеотидов, введенных в про- и эукариотические клетки [16]. Недавно нами получены экспериментальные данные, свидетельствующие о мутагенной активности рекомбинантных ДНК, содержащих ретротранспозон *Alu*, при введении их в культивируемые клетки млекопитающих [17, 18] и бактерий [19]. При этом было показано, что именно *Alu*-элемент, а не векторная молекула или ген инсулина человека, имевшийся в составе рекомбинантной конструкции, был ответствен за достоверное повышение частоты генных мутаций в эукариотических клетках [18]. С помощью дот-блот-гибридизации на модели *Bacillus subtilis* была показана встройка фрагментов рекомбинантной ДНК с *Alu*-повтором в бактериальную хромосому, которая, по-видимому, произошла с помощью механизма незаконной рекомбинации [19].

Во-вторых, было обнаружено, что генетические изменения в ДНК опухолевых клеток имеют прямое отношение к нестабильности диспергированных повторов типа $(CA)_n \times (GT)_n$, представляющих собой микросателлиты, разбросанные по геному [20]. Авторами рассматриваются два независимых пути происхождения опухолей в результате: а) первичных мутаций в онкогенах и онкосупрессорных генах и б) вторичных мутаций, связанных с нестабильностью диспергированных повторов. На наш взгляд, эти два пути взаимосвязаны. Наиболее важным моментом здесь является причастность простых диспергированных повторов к мутационному изменению онкогенов и онкосупрессорных генов. С этой точки зрения вполне обоснованно предложение использовать микросателлитные ДНК в качестве прямых маркеров злокачественного перерождения клеток [21].

В-третьих, простые диспергированные повторы ДНК высокополиморфны, что указывает на их подверженность мутационной изменчивости [22]. Высокая степень полиморфизма послужила основой для использования названных повторов наряду с митохондриальными ДНК при изучении популяционной дивергенции [23]. Сейчас показано, что разнообразные гены (если не все) содержат диспергированные полиморфные повторы как интегральный компонент своей структуры [24]. Вследствие этого такие повторяющиеся последовательности ДНК уже стали незаменимыми маркерами в генетическом картировании и клонировании генов [24, 25].

Мутации в микросателлитах, простых диспергированных повторах ДНК, рассматриваются как новый тип так называемых динамических мутаций [26]. Они возникают в результате действия механизма, приводящего к изменению числа копий повторяющихся последовательностей. Подобные мутации в микросателлитах в последнее время становятся предметом пристального изучения в молекулярной генетике, поскольку появляются сведения о том, что они могут влиять на регуляцию активности широкого спектра генов.

Показано, что присутствие нестабильных повторов внутри генов изменяет и их функциональную активность. Так, нестабильные ДНК-элементы недавно идентифицированы как основа болезни, по крайней мере, в случае четырех наследственных заболеваний: синдрома хрупкой Х-хромосомы [27], синдрома Kennedy [28], миотонической дистрофии [29] и болезни Huntington [30]. Указанные заболевания связаны с мутациями нестабильных тринуклеотидных повторов в результате их амплификации в 3'- или 5'-нетранслируемых участках соответствующих генов. Этот генетический элемент представлен разным числом копий в соответствующих генах. Тот факт, что амплификация повторов происходит не только в половых, но и в соматических клетках, указывает на то, что динамические мутации могут быть причиной как наследственных, так и соматических болезней, в том числе таких, как рак.

Действительно, мутации простых диспергированных повторов обнаружены в малигнизированных клетках человека [26, 31, 32]. Таким образом, нестабильность микросателлитной ДНК, по-видимому, — это общее свойство опухолей.

По данным литературы, нестабильность ди- и тринуклеотидных повторов в опухолях обусловлена, с одной стороны, нарушениями репликации при наличии ошибок в структуре ДНК [3], с другой — согласно мутаторной гипотезе, мутациями в генах, ответственных за репарацию повреждений ДНК [34, 35]. Такие гены-мутаторы кодируют специфические белки, участвующие в узнавании, связывании и элиминации ошибочных нуклеотидных оснований в процессе репликации ДНК. В работе [36] приводится схематическая модель ранних событий при репарации эукариотической ДНК. Система репарации ДНК у высших эукариот имеет значительное

сходство с аналогичной системой репарации повреждений ДНК у *Escherichia coli* и *Saccharomyces cerevisiae* [37].

Очевидно, существует прямая связь между мутациями в генах, ответственных за репарацию повреждений, и нестабильностью микросателлитной ДНК в опухолях [36, 38]. Мутаторная гипотеза построена на допущении, что существует ключевой ген или гены, которые наиболее чувствительны к нарушениям системы репарации. Складывается впечатление, что первыми кандидатами на эту роль могут быть гены, содержащие нестабильные микросателлитные ДНК (ДНК-повторы). Состояние их относительной стабильности контролируется основным белком репарации *hMSH2* [39]. Так, например, оптимальный уровень мутагенеза в онкосупрессорном гене, содержащем микросателлитные ДНК-повторы, поддерживается при наличии функционально активного белка *hMSH2*. В гетерозиготных клетках содержатся одновременно мутантный и нормальный аллели этого гена. При этом клетки сохраняют нормальный фенотип, и так продолжается до тех пор, пока в результате вновь возникшей мутации нормальный аллель не станет мутантным. Действительно, опухолевые клетки несут только мутантные аллели [39]. Потеря гетерозиготности по локусу, кодирующему белок *hMSH2*, приводит к повышению мутабельности не только онкосупрессорного, но и других генов, и прежде всего это проявляется в мутациях нестабильных генетических структур, таких как ДНК-повторы.

Таким образом, простые диспергированные повторы могут быть маркерами общей мутабельности генома и предрасположенности к злокачественному перерождению. Для приобретения клетками полностью трансформированного или злокачественного фенотипа, по-видимому, требуется целая цепь мутационных и/или рекомбинационных событий, в результате которых происходит так называемая прогрессия опухоли [34, 40].

Уже отмечалось, что *Alu*-элементы входят в состав обширного класса коротких повторяющихся последовательностей ДНК, составляющих основу микросателлитной ДНК в геноме человека. Коротко этот класс генетических элементов называется SINE (short interspersed elements). Они отличаются особыми свойствами, характерными для мобильных генетических элементов, и наличием в их составе различных функциональных сайтов. Рассмотрим подробнее структуру, возможные функции и роль *Alu*-повторов в процессах мутагенеза, рекомбинации и злокачественной трансформации клеток человека.

Впервые они были исследованы авторами работы [41] и получили свое название от эндонуклеазы рестрикции *AluI* [42], узнающей тетра-нуклеотид AGCT в составе их нуклеотидной последовательности и для которой он является субстратом [43].

Alu-элементы из генома человека составляют отдельное подсемейство специфических нуклеотидных последовательностей. В геноме человека находится от 300 000 до 500 000, а по некоторым данным — до 900 000 копий на геном, что составляет 3—6 % от общего количества ДНК [42—45].

Alu-элемент представляет собой димер из 300 пар нуклеотидов (п. н.), состоящий из правой и левой субъединиц [42, 44—46], причем правая часть на 31 п. н. длиннее левой. Все *Alu*-элементы можно свести к одной общей, родственной всем элементам семейства, последовательности.

Впервые эта общая последовательность для *Alu*-повторов опубликована Делнгером и соавт. в 1981 по результатам анализа 10 *Alu*-последовательностей (цит. по [44]). Впоследствии она была доработана и несколько модифицирована на основе базы данных по 50 последовательностям [44]. Авторы выделяют в структуре *Alu* консервативные и переменные районы. Консервативные районы представлены двумя мономерами, переменными являются олиго-dA-хвост (A-богатый район) и направленные фланкирую-

шие повторы (A+T-богатые районы) [44, 45]. Длина коротких направленных повторов варьирует от 5 до 16 п. н., а олиго-dA-хвоста — от 11 до 37 п. н. По мнению многих авторов, именно эти вариабельные структуры играют активную роль в сайт-специфической интеграции и характеризуют *Alu*-повтор как ретротранспозон [43, 45]. *Alu*-элементы имеют гомологию с 7S РНК [45, 46].

Авторами [45] предложена следующая формула структуры *Alu*-элементов подсемейства, образованного нуклеотидными последовательностями из генома человека (в дальнейшем мы ограничимся рассмотрением только этого подсемейства):

$$P1 [Alu] A_n P2,$$

где [*Alu*] — центральный район элемента; P1, P2 — направленные повторы; A — олиго-dA-хвост; *n* — количество аденинов.

В определении функций *Alu*-последовательностей до сих пор нет единого мнения. Ряд авторов считает их нефункциональными и называет «псевдогенами» или «shear genes» [43, 47, 48]. Однако есть сообщения о РНК-полимераза-III-зависимой транскрипции для *Alu*-последовательностей [49]. Найдена последовательность в первом мономере, являющаяся промотором для этой полимеразы [43, 44, 49], а также последовательность, терминирующая транскрипцию, в олиго-dA-хвосте [42]. Для нескольких членов *Alu*-семейства была обнаружена РНК-полимераза-II-зависимая транскрипция *Alu*-последовательностей в составе отдельных генов [44]. Но все эти данные не дают ответа на вопрос о том, какие же функции могут выполнять эти элементы в геноме? Для понимания возможных функций *Alu*-последовательностей следует рассмотреть локализацию этих элементов в геноме человека и участие их в процессах мутагенеза и рекомбинации.

Известно, что число *Alu*-повторов и расстояние между ними в геноме человека варьируют [42]. При этом они могут находиться как внутри нуклеотидной последовательности, кодирующей отдельный ген, так и вне ее. Так, глобиновый локус содержит семь *Alu*-последовательностей, и среднее расстояние между ними 8000 п. н. В ряде случаев *Alu*-элементы обнаруживаются на гораздо более близком расстоянии друг от друга: 700—800 п. н. [42]. Протоонкоген *c-sis* имеет всего три (один в экзоне и два в интронах) [50], ген инсулина — только один [51], а ген *hprt* — 49 *Alu*-элементов в своем составе [52].

Интересная работа по определению мест локализации *Alu*-последовательностей была выполнена при помощи технологии гибридизации *in situ* [53]. Авторы показали наличие *Alu*-повторов в R-полосах метафазных хромосом и связали их локализацию с возможными функциями.

Известно, что хромосомный материал имеет три качественно различные зоны: 1) G-полосы (Giemsa bands); 2) R-полосы (Reverse bands); 3) C-полосы (Centromeric bands). Эти полосы выявляются на метафазных хромосомах при помощи флюоресцентного окрашивания, протеолитического расщепления и подбора дифференциальных условий денатурации [54].

R-полосы обогащены гуанином и цитозином (G+C). Репликация ДНК этой зоны происходит в раннем синтетическом периоде, а конденсация хроматина — в поздней митотической профазе. R-полосы являются предпочтительными сайтами для хромосомных перестроек (спонтанных и индуцированных X-облучением, а также химическими соединениями), спонтанных и индуцированных сестринских хроматидных обменов [55], митотического кроссинговера [56]. Все девять «горячих точек» митотического кроссинговера были обнаружены в районе, где наиболее часто встречаются *Alu*-последовательности. И в довершение характеристики R-полос они являются, по мнению отдельных авторов, местами сосредоточения активно

транскрибирующихся генов [56, 57], а их структурные элементы, *Alu*-повторы, служат точками начала репликации клеточной ДНК [58].

Анализ всей совокупности данных указывает на то, что именно *Alu*-элементы могут выступать в качестве «горячих точек» рекомбинационных и мутационных событий и медиаторов гомологических и негомологических рекомбинаций [59].

Из изложенного выше следует, что *Alu*-последовательностям принадлежит активная роль в мутационном процессе, который ведет к появлению наследственных и соматических заболеваний у человека. Рассмотрим молекулярные механизмы мутаций, вызванных присутствием в геноме *Alu*-повторов.

Учитывая характеристики *Alu*-последовательностей как ретротранспозонов, предложены три основные стратегии, по которым могут появляться наследственные и соматические заболевания, связанные тем или иным образом с названными элементами [60]:

- 1) обеспечение сайтов для гомологической рекомбинации, результатом которой являются делеции и хромосомные перестройки;
 - 2) появление *de novo Alu*-инсерций в генах;
 - 3) появление антисмысловых *Alu*-инсерций в генах, когда транскрипция гена и *Alu*-последовательности идет в противоположных направлениях.
- Исходя из имеющихся в настоящее время данных можно добавить еще один путь возникновения мутаций с участием *Alu*-элементов:
- 4) возникновение дупликаций или динамических мутаций, о которых уже упоминалось выше.

Для иллюстрации первого механизма можно привести достаточное количество исследований различных наследственных заболеваний. Были обнаружены делеции в генах, возникшие в результате гомологической и негомологической рекомбинации между двумя *Alu*-последовательностями, у пациентов, страдающих теми или иными наследственными болезнями. Существует довольно большой перечень работ по изучению делеций в генах, кодирующих рецептор липопротеина низкой плотности (LDL) [61, 62], рецептор инсулина [63], α -цепь β -гексозаминидазы [64], гипоксантингуанин-фосфорибозилтрансферазу [66, 67], аденозиндеаминазу [68], а также в глобиновых генах [62], гене нейрофиброматоза 1-го типа [69] и др.

Данные показали, что из 17 делеций, найденных в гене рецептора LDL, 12 имели точку соединения в 1-м левом мономере *Alu*-элемента. Подобные данные были получены в отношении делеций в составе глобиновых генов [62]. В связи с этим важно отметить, что в реакции *in vitro* транскрипция отдельных *Alu*-элементов посредством РНК-полимеразы III была инициирована именно в этом 1-м (левом) мономере [70]. Во многих случаях сайты рекомбинационных соединений также локализовались в районе промотора для РНК-полимеразы III [64, 68, 71]. Все это подтверждает важную роль данного промотора в процессе возникновения *Alu*-делеций.

Известно, что рекомбинация может проходить как между *Alu*-последовательностями на гомологичных хромосомах [62, 64, 66], так и между *Alu*-элементами на одной и той же хромосоме [62]. Для объяснения последнего случая Лерман и соавт. предлагают гипотетический механизм образования структуры (двухнитчатой или однонитчатой) петли ДНК, при помощи которой два участка одной хромосомы могут соединиться и образовать делецию [61, 62]. Исследователи отмечают, что делеции в LDL рецепторе чаще связаны с *Alu*-элементом, находящимся в 15-м интроне гена. По их мнению — это результат нестабильности *Alu*-последовательности в 15-м интроне [62]. Показано также, что *Alu*-последовательности, участвующие в рекомбинации, могут быть как однонаправленными, так и инвертированными [62].

Во всех вышеупомянутых случаях в результате делеции *Alu*-повторов нарушалась нативная последовательность гена, и кодируемый белок или вообще не продуцировался вследствие нарушения структуры промотора гена (как в случае с α -цепью β -гексозаминидазы) [64], или же он был дефектным (как в случае LDL рецептора, глобиновых белков, гипоксантинфосфорибозилтрансферазы) [62, 66, 67].

Что касается хромосомных перестроек, связанных с *Alu*-элементами, можно выделить несколько интересных сообщений, посвященных изучению неопластического заболевания крови [72] и синдрома 46XX с мужским фенотипом [65].

Было показано, что острая лимфобластная лейкемия тесно коррелирует с перестройками в онкогене *bcr* (breakpoint cluster region), причем именно в первом интроне [72]. Интересно, что разрывы были расположены не случайно, а локализовались в 3'-конце 1-го интрона гена *bcr* и в двух кластерах, названных *bcr-2* и *bcr-3*, разделенных расстоянием 10 п. н. [73].

Чен с соавт. [72] обнаружили, что у больных острой лимфобластной лейкемией встречаются транслокации между хромосомами 9 и 22, причем при этом в перестройки вовлечены районы *bcr-2* и *bcr-3*. Разрывы названных хромосом находились в районах инвертированных *Alu*-элементов на 22-й хромосоме и в районе трех *Alu*-элементов, расположенных тандемно на 9-й хромосоме. Для объяснения полученных данных авторы предложили гипотезу о том, что третичная структура ДНК, ассоциированная с *Alu*-элементами, может быть важным звеном в сложной цепи рекомбинационного процесса [72]. Присутствие этих третичных структур на каждом конце разрывов хромосом могло бы способствовать образованию некой симметричной топологии, которую распознавали бы ферментативные комплексы, вовлеченные в рекомбинацию. В соответствии с этой моделью, авторы считают, что *Alu*-элементы служат не столько сайтами для образования разрывов ДНК, сколько важны для формирования третичной структуры, так называемого «кармана», в котором могут размещаться протеиновые комплексы [72].

Относительно же синдрома 46XX с мужским фенотипом, то Фергюсон-Смит в 1966 г. предложил гипотезу о том, что появление XX-мужчин происходит вследствие аномального обмена между X- и Y-хромосомами во время родительского мейоза. XX-мужчины стерильны, так как в результате аномального обмена X — Y часть Y-хромосомы, включающая гены дифференциации гонад, оказывается перенесенной на X-хромосому.

Позже было установлено, что район разрыва на Y-хромосоме имеет протяженность 35 п. н. [74]. А Роджер и др. [71] предложили механизм, с помощью которого формируется 46XX-кариотип с мужским фенотипом. Вследствие аномального кроссинговера между локусом DXYS5 на Y-хромосоме и псевдоаутосомальным локусом на X-хромосоме во время мейоза возникает X-хромосома, несущая часть Y-хромосомы. Сиквенс-анализ района соединения показал, что гомологическая рекомбинация произошла между двумя *Alu*-элементами, локализованными в нехомологичных участках. Причем сайт рекомбинации находился в районе транскрипционного промотора *Alu*-последовательности.

Этот механизм, по мнению авторов, позволяет объяснить причину и других отклонений от нормы, например, возникновение 46XY-кариотипа с женским фенотипом как результат делеции в дистальной Y-специфической последовательности [75]. Что же касается *Alu*-элементов, то *Alu-Alu* рекомбинация могла бы лежать в основе и других хромосомных перестроек, таких как транслокации и инверсии [71].

По-видимому, *Alu*-элементы играют немаловажную роль в рекомбинационных событиях, но все же не универсальную, поскольку существуют

сообщения о возникновении делеций в результате рекомбинации между участками, не содержащими *Alu*-последовательностей [76].

Следующим не менее важным механизмом, приводящим к возникновению наследственных болезней у человека, является образование *de novo Alu*-инсерций в эукариотических генах [60]. *Alu*-инсерции могут иметь направленность как совпадающую с генной [77—79], так и противоположную ей. В последнем случае такие инсерции называют *Alu*-антисенс-инсерциями [60, 80]. Исследованные сенс- и антисенс-*Alu*-инсерции представляют собой последовательности протяженностью 140—340 п. н., включающие поли-А-хвост и фланкированные с двух сторон направленными повторами протяженностью 3—15 п. н. [60, 77—81]. Отмечено, что эти инсерции расположены в А+Т-богатых районах [78]. В качестве инсерций чаще встречаются одиночные *Alu*-повторы [60, 77—81], хотя есть сообщение об инсерции, состоящей из трех *Alu*-повторов, расположенных тандемно [79].

Следует подчеркнуть, что *Alu*-инсерции, обнаруженные в генах нейрофиброматоза I типа и орнитин-8-амино-трансферазы, приводили к сдвигу рамки считывания и нарушению сплайсинга. Как правило, при этом наблюдалась также делеция в структурной части белка, и он получался укороченным и нефункциональным [77, 80, 81].

Что же касается механизма возникновения *Alu*-инсерций в геноме человека, в литературе дискутируются различные гипотезы. Одним из наиболее вероятных механизмов считают интеграцию вследствие ретротранспозиции. В защиту этой стратегии приводят структурные особенности *Alu*-элементов: наличие фланкирующих направленных повторов и поли-А-хвоста. Большинство нуклеотидных последовательностей из генома человека, способных к транспозиции, является SINE- или LINE-элементами и может быть отнесено именно к категории ретротранспозонов [77, 79].

Следующий дискутируемый механизм встраивания *Alu*-элементов в геномные сайты — это механизм никирования (*staggered nick*), при котором образуются разрывы ДНК с «липкими» концами. Образование подобных разрывов в нитях ДНК является основной составляющей репарационного процесса и может играть важную роль в формировании фланкирующих направленных повторов в сайтах интеграции нуклеотидных последовательностей. Но существование такого механизма пока не подтверждено. Во-первых, до сих пор неизвестен специфический фермент, участвующий в никировании ДНК и распознающий именно А+Т-богатые районы. Во-вторых, неизвестен и фермент, активирующий лигирование *Alu*-элемента и сайта интеграции в геномной ДНК [77].

В работе [77] предложен еще один механизм интеграции *Alu*-элементов в геномную ДНК. По мнению исследователей, это может происходить посредством гомологической рекомбинации, когда *Alu*-элемент содержит последовательность, идентичную сайту интеграции, и, кроме того, приобретает специфическую конформационную форму так называемой *spc* ДНК — малой полидисперсной кольцевой молекулы [77].

Таким образом, точный механизм встраивания *Alu*-элементов в клеточный геном пока не выяснен. По-видимому, выбор можно будет сделать при наличии новых данных, подтверждающих существование одного из этих механизмов или их сочетания.

К мутациям, лежащим в основе наследственных заболеваний и к появлению которых причастны *Alu*-элементы, следует добавить еще дубликации. Ранее было опубликовано много случаев дубликаций, ассоциированных с наследственными заболеваниями, такими как синдром Леш-Нихана [82], гемофилия А и В [83], семейная гиперхолестеринемия [84], мышечная дистрофия Дюшенна и Беккера [85, 86]. В последнее время появились сообщения о дубликациях в гене *hprt*, в образовании которых непосред-

венно участвовали *Alu*-элементы [87, 88]. Найденные мутации были ассоциированы с синдромом Леш-Нихана и представляли собой дубликации двух соседних экзонов вследствие неравной гомологической рекомбинации между двумя *Alu*-последовательностями, фланкирующими экзоны и находящимися в интронах [87, 88]. Безусловно, сделать заключение о механизме этих процессов пока еще рано. Но, по всей видимости, ген *hprt* является перспективным объектом для подобных исследований, поскольку имеет в своем составе 49 *Alu*-элементов (что составляет 25% от всей последовательности гена), расположенных в сенс- и антисенс-направлении [52]. Учитывая существующие на сегодня данные, можно предположить, что структура гена *hprt* и позиция его на X-хромосоме могут обуславливать в той или иной мере высокую частоту мутационных и рекомбинационных событий. Поэтому он действительно представляет интерес как генетический маркер при изучении различных типов мутаций, в которых участвуют *Alu*-элементы, для выяснения их функций и механизмов действия на геном человека.

Следует отметить еще один аспект возможного участия *Alu*-элементов в процессе интеграции вирусной и клеточной ДНК. Получен ряд новых данных, показывающих, что ретровирусы и вирус гепатита В предпочитают для интеграции *Alu*-богатые районы [89—92], для которых характерна ранняя репликация [53]. Показано также, что вирусная последовательность была метилирована *de novo* и при этом продуцировался полноценный вирус [91]. Тем не менее, эти данные не дают ответа на вопрос о непосредственном участии *Alu*-последовательностей в процессе вирусной интеграции. Но все же можно предположить, что *Alu*-элементы служат «горячими точками» для встраивания вирусов в геном хозяина.

Безусловно, *Alu*-последовательности являются многочисленными и неотъемлемыми компонентами генома человека, участвующими в генетических процессах рекомбинации и мутагенеза. Они активны при образовании делеций, инсерций и хромосомных перестроек, которые в свою очередь вызывают появление наследственных и соматических заболеваний у человека. Сейчас еще не совсем понятно, каким образом происходят эти процессы, поскольку не обнаружены ферменты, обслуживающие их, не изучены конкретные механизмы этих процессов. Тем не менее, имеющиеся данные свидетельствуют в пользу того, что *Alu*-элементы нельзя отнести к нефункциональной, эгоистической ДНК в геноме человека [93]. Мобильные генетические элементы, по-видимому, определяют характер спонтанного мутационного процесса в природе. Их активация приводит к «мутационным взрывам», появлению новых генетических конструкций и перестроек [94].

В настоящем обзоре мы попытались обосновать роль простых диспергированных повторов как специфических нестабильных мишеней в мутационном и рекомбинационном процессах, имеющих непосредственное отношение к возникновению наследственных и соматических заболеваний человека, в том числе злокачественных новообразований. Повышение частоты мутаций в ДНК-повторах следует рассматривать в единой причинно-следственной взаимосвязи с нарушением функционирования репаративных клеточных систем. Наиболее продуктивным является в настоящее время изучение мутаций в местах наибольшего сосредоточения простых диспергированных повторов, например, в гене *hprt*, который содержит 49 *Alu*-элементов в нормальном состоянии, в некоторых онко- и онкосупрессорных генах, а также в генах, ответственных за репарацию повреждений ДНК.

В заключение мы хотим поддержать то мнение, что загадочные механизмы канцерогенеза не могут быть поняты без учета роли простых диспергированных повторов в общей мутабельности генома.

Л. Л. Лукаш, Л. П. Швачко, К. В. Костецька

Мобільні генетичні елементи у процесах мутагенезу, рекомбінації і злоякісної трансформації клітин людини

Резюме

Однією з суттєвих стадій складного багатоступового процесу злоякісної трансформації клітин є мутагенез. Про це свідчить той факт, що всі канцерогени є мутагенами. Важливою особливістю пухлин останнім часом визнана нестабільність мікросателітної ДНК. У представленому огляді на прикладі Alu-повторів з геному людини розглянуто роль мобільних генетичних елементів у виникненні спадкових і соматичних захворювань, у тому числі злоякісних новоутворень. Alu-повтори, які локалізуються у «гарячих точках» мутаційних та рекомбінаційних подій, можуть бути генетичними маркерами для оцінки нестабільності геному людини.

L. L. Lukash, L. P. Shvachko, K. V. Kostetskaya

Mobile genetic elements in mutagenic process, recombination and malignization of human cells

Summary

Mutagenesis is known as the major stage of the complicated process of malignization. There are a lot of data in support of this idea, for example, all known cancerogenes are mutagenes. During several years microsatellite DNA instability was recognized as important trait of tumours. In this paper we reviewed the contribution of mobile genetic elements (human Alu repetitive sequences) in appearance of heritable and somatic diseases, including malignization. Localizing in «hot spot» of mutagenic and recombination events Alu sequences appear to be genetic markers for the estimation of human genome instability.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шаниро Н. И. Мутагенез и канцерогенез // Успехи соврем. биологии.—1967.—63, № 2.—С. 163—183.
2. Barrett J. C., Ts'o P. O. P. Relationship between somatic mutation and neoplastic transformation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1978.—75, N 7.—P. 3297—3301.
3. Лукаш Л. Л. Взаимосвязь мутагенеза и злокачественной трансформации. Эволюционные аспекты // Генетические последствия загрязнения окружающей среды.— Киев: Наук. думка, 1989.—С. 144—164.
4. Spandidos D. A., Anderson M. L. M. Oncogenes and oncosuppressor genes: their involvement in cancer // J. Pathol.—1989.—57, N 1.—P. 1—10.
5. McCormick F. Ras oncogenes in oncogenesis and molecular origin of cancer / Ed. R. A. Weinberg.—New York: Cold Spring Harbor Lab., 1989.—P. 125—145.
6. Cole M. D. The myc oncogene: its role in transformation and differentiation // Annu. Rev. Genet.—1986.—20, N 2.—P. 361—384.
7. Ramsay G. M., Moscovici G., Moscovici C., Bishop J. M. Neoplastic transformation and tumorigenesis by the human protooncogene myc // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1990.—87, N 6.—P. 2102—2106.
8. Bishop J. M. Molecular themes in oncogenesis // Cell.—1991.—64, N 2.—P. 235—248.
9. Hanter T. Cooperation between oncogenes // Ibid.—P. 249—270.
10. Halushka F. G., Tsujimoto Y., Croce C. M. Oncogene activation by chromosome translocation in human malignancy // Annu. Rev. Genet.—1987.—21, N 2.—P. 321—345.
11. Cory S. Activation of cellular oncogenes in hemopoietic cells by chromosome translocation // Adv. Cancer Res.—1986.—47, N 3.—P. 189—234.
12. Cleary M. L. Oncogenic conversion of transcription factors by chromosomal translocations // Cell.—1991.—66, N 4.—P. 619—622.
13. Урываева И. В. Проліферація кліток в ключевих подіях канцерогенеза // Клеточная репродукция и процессы дифференцировки.— Л.: Наука, 1990.—С. 94—109.
14. Oncogenes and the molecular origins of cancer / Ed. R. A. Weinberg.— New York: Cold Spring Harbor Lab., 1989.—367 p.
15. Хесин Р. Б. Непостоянство генома.— М.: Наука, 1984.—472 с.
16. Айзензон М. Г., Александров Ю. Н., Бужиевская Т. И. и др. Мутагенное действие природных и синтетических полинуклеотидов — Киев: Наук. думка, 1990.—124 с.
17. Рубашевский Е. Л., Пацковский Ю. В., Подольская С. В. и др. Индукция мутаций

- резистентности к 6-меркаптопурину в клетках китайского комьячка под действием рекомбинантной плазмиды *pAins*, содержащей ген инсулина человека // Цитология и генетика.—1993.—2, № 3.—С. 63—68.
18. Лукаш Л. Л., Подольская С. В., Сухорада Е. М. и др. Влияние алкилирующего агента МННГ на мутагенный эффект экзогенной рекомбинантной ДНК // Биополимеры и клетка.—1995.—11, № 1.—С. 87—91.
 19. Карпова И. С., Пидпала О. Б., Шульженко В. Н. и др. Мутагенная активность ДНК рекомбинантных плазмид в компетентной культуре *Bacillus subtilis* // Цитология и генетика.—1994.—28, N 1.—С. 66—73.
 20. Thibodeau S. N., Bren G., Schaid D. Microsatellite instability in cancer of proximal colon // Science.—1993.—260, N 5109.—P. 816—819.
 21. Mao L., Lee D. J., Tockman M. S et al. Microsatellite alterations as clonal markers for the detection of human cancer // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1994.—91, N 21.—P. 9871—9875.
 22. Weber J. L. Informativeness of human (dC-dA)_n × (dG-dT)_n polymorphisms // Genomics.—1990.—7, N 4.—P. 524—530.
 23. Rienzo A. D., Peterson A. C., Garza J. C. et al. Mutational process of simple-sequence repeat loci in human populations // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1994.—91, N 8.—P. 3166—3170.
 24. Bowcock A., Osborne-Lawrence S., Sarnes R. Microsatellite polymorphic linkage map of human chromosome 13q // Genomics.—1993.—15, N 2.—P. 376—386.
 25. Zabarovsky E. R., Kashuba V. I., Pokrovskaja T. S. et al. *Alu*-PCR approach to isolating NotI-linking clones from 3p14-p21 region frequently deleted in renal cell carcinoma // Ibid.—16, N 3.—P. 713—719.
 26. Richards R. I., Sutherland G. R. Dynamic mutations: a new class of mutations causing human disease // Cell.—1992.—70, N 5.—P. 709—712.
 27. La Spada A. R., Wilson E. H., Lubahn D. B. et al. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy // Nature.—1991.—352, N 6330.—P. 77—79.
 28. Kremer E. Y., Pritchard M., Lynch M. et al. Mapping of DNA instability at the fragile X to a trinucleotide repeat sequence p(CCG)_n // Science.—1991.—252, N 5013.—P. 1711—1714.
 29. Harley H. G., Brook Y. D., Rundle S. A. et al. Expansion of an unstable DNA region and phenotypic variation in myotonic dystrophy // Nature.—1992.—355, N 6360.—P. 545—546.
 30. Stine O. C., Pleasant N., Franz M. L. et al. Correlation between the onset age of Huntington's disease and length of the trinucleotide repeat in IT-15 // Human Mol. Genet., GDR.—1993.—2.—P. 1547—1549.
 31. Rienzo A. D., Peterson A. C., Gorza Y.C. et al. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1994.—91, N 8.—P. 3166—3170.
 32. Lonov Y. M., Peinado A., Malkhosyan S. et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis // Nature.—1993.—363, N 6429.—P. 558—561.
 33. Wallace S. S., van Houten B., Wah Kow Y. DNA damage. Effects on DNA structure and protein recognition.—Ann. N. Y. Acad. Sci.—1994.—726.—385 p.
 34. Sweezy M. A., Fishel R. Multiple pathways leading to genomic instability and tumorigenesis // Ibid.—P. 165—177.
 35. Medrich P. Mechanism and biological effects of mismatch repair // Annu. Rev. Genet.—1991.—25, N 1.—P. 229—253.
 36. Prollo T. A., Pang Q., Alani E., Kolodner R. D. Mlh1, Pms1 and Msh2 interactions during the initiation of DNA mismatch repair in yeast // Science.—1994.—265, N 5187.—P. 1091—1093.
 37. Fang W., Modrich P. Human strand-specific mismatch repair occurs by a bidirectional mechanism similar to that of the bacterial reaction // J. Biol. Chem.—1993.—268, N 16.—P. 11838—11844.
 38. Parsons R. Li., Longley H. J., Fang W-H. et al. Hypermutability and mismatch repair deficiency in RER tumor cells // Cell.—1993.—75, N 6.—P. 1227—1236.
 39. Orth K., Hung Y., Gardar A. et al. Genetic instability in human ovarian cancer cell lines // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1994.—91, N 20.—P. 9495—9499.
 40. Stanbridge E. Y. Human tumor suppressor genes // Annu. Rev. Genet.—1990.—24, N 5.—P. 615—657.
 41. Houch C. M., Rinehart F. P., Schmid C. W. A ubiquitous family of repeated DNA sequences in the human genome // J. Mol. Biol.—1979.—132.—P. 289—306.
 42. Schmid C. W., Jelinek W. R. The *Alu* family of dispersed repetitive sequences // Science.—1982.—216, N 7.—P. 1065—1070.
 43. Zuckerkandl E., Latter G., Jurka J. Maintenance of function without selection: *Alu* sequences as «cheap genes» // J. Mol. Evol.—1989.—P. 504—512.
 44. Kariya Y., Kato K., Hajashizaki Y. et al. Revision of consensus sequence of human *Alu* repeats — a review // Gene.—1987.—53, N 1.—P. 1—10.
 45. Batzer M. A., Kilroy G. E., Richard P. E. et al. Structure and variability of recently inserted *Alu* family members // Nucl. Acids Res.—1990.—18, N 23.—P. 6793—6798.

46. Labuda D., Striker G. Sequence conservation in *Alu* evolution // *Ibid.*—1989.—17, N 17.—P. 2477—2491.
47. Paulson K. E., Schmid C. W. Transcriptional activity of *Alu* repeats in HeLa cells // *Ibid.*—1986.—14, N 14.—P. 6145—6159.
48. Jurka J., Smith T. A fundamental division in the *Alu* family of repeated sequences // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1988.—85, N 2.—P. 4775—4778.
49. Fuhrman S. A., Deininger P. L., La Porte P. et al. Analysis of transcription of the human *Alu* family ubiquitous repeating element by eukaryotic RNA polymerase III // *Nucl. Acids Res.*—1981.—9.—P. 6439—6457.
50. Favera R. D., Gelmann E. P., Gallo R. C., Wong Staal F. A human *onc* gene homologous to the transforming gene (*v-sis*) of simian sarcoma virus // *Nature.*—1981.—292, N 1.—P. 31.
51. Bell G. I., Pictet R., Rutter W. J. Analysis of the regions flanking the human insulin gene and sequence of an *Alu* family member // *Nucl. Acids Res.*—1980.—8, N 13.—P. 4091—4109.
52. Edwards A., Voss H., Rice P. et al. Automated DNA Sequencing of the human HPRT locus // *Genomics.*—1990.—6, N 3.—P. 593—608.
53. Korenberg J. R., Rykowski M. C. Human genome organization: *Alu*, LINES and the molecular structure of metaphase chromosome bands // *Cell.*—1988.—53.—P. 391—400.
54. Comings D. E. Mechanisms of chromosome banding and implication for chromosome structure // *Annu. Rev. Genet.*—1978.—12, N 12.—P. 25—46.
55. Morgan W. F., Crossen P. E. The frequency and distribution of sister chromatid exchanges in human chromosomes // *Hum. Genet.*—1977.—38, N 3.—P. 271—278.
56. Kuhn E. M., Therman E. Cytogenetics of Bloom's syndrome // *Can. Genet. and Cytogenet.*—1986.—22, N 1.—P. 1—18.
57. Goldman M. A., Holmquist G. R., Gray M. C. et al. Replication timing of genes and middle repetitive sequences // *Science.*—1984.—224, N 9.—P. 686—692.
58. Johnson E. M., Jelinek W. R. Replication of a plasmid bearing a human *Alu*-family repeat in monkey COS-7 cell // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1986.—83, N 10.—P. 4660—4664.
59. Nicholls R. D., Fischel Ghodsi N., Higgs D. R. Recombination at the human α -globin gene cluster: sequence features and topological construction // *Cell.*—1987.—49, N 4.—P. 369—378.
60. Mitchell G. A., Labuda D., Fontaine G. et al. Splice-mediated insertion of an *Alu* sequence inactivates ornithine α -aminotransferase: a role for *Alu* elements in human mutation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1991.—88, N 1.—P. 815—819.
61. Lehrman M. A., Schneider W. J., Scidhof T. C. Mutation in low density lipoprotein receptor: *Alu-Alu* recombination deletes exons encoding transmembrane and cytoplasmic domain // *Science.*—1985.—227, N 2.—P. 140—146.
62. Lehrman M. A., Russell D. W., Goldstein J. L., Brown M. S. *Alu-Alu* recombination deletes splice acceptor sites and produces secreted low density lipoprotein receptor in a subject with familial hypercholesterolemia // *J. Biol. Chem.*—1987.—262, N 27.—P. 3354—3361.
63. Shimada F., Taira M., Suzuki Y. Insulin-resistant diabetes associated with partial deletion of insulin-receptor gene // *Lancet.*—1990.—335, N 7.—P. 1179—1181.
64. Myerowitz R., Hogikyan N. D. A deletion involving *Alu* sequence in the β -hexosaminidase α -chain gene of French Canadian with Tay-Sachs disease // *J. Biol. Chem.*—1987.—262, N 38.—P. 15396—15399.
65. Buckle V. J. et al. Localization of Y chromosome sequences in normal and XX males // *J. Med. Genet.*—1987.—24.—P. 197—203.
66. Morris T., Thacker J. Formation of large deletions by illegitimate recombination in the HPRT gene of primary human fibroblasts // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1993.—90, N 4.—P. 1392—1396.
67. Monnat R. J., Hackmann A. F., Chiaverotti T. A. Nucleotide sequence analysis of human hypoxanthine phosphoribosyltransferase (HPRT) gene deletion // *Genomics.*—1992.—13.—P. 777—787.
68. Markert M. L., Hutton J. J., Wiginton D. A. et al. Adenosine deaminase (ADA) deficiency due to deletion of the ADA gene promoter and first exon by homologous recombination between two *Alu* elements // *J. Clin. Invest.*—1988.—81.—P. 1323—1327.
69. Lazaro C., Gregory P., Alover T. et al. Novel alleles, hemizyosity and deletions at an *Alu* repeat within the neurofibromatosis type I (NFI) gene // *Hum. Mol. Genet.*—1993.—2, N 5.—P. 725—730.
70. Elder J. T., Pan J., Duncan C. H., Weissman S. M. Transcriptional analysis of interspersed repetitive polymerase III transcription units in human DNA // *Nucl. Acids Res.*—1981.—9, N 15.—P. 1171—1189.
71. Rouger F., Simmler M., Page P. C. et al. A sex chromosome rearrangement in a human XX male caused by *Alu-Alu* recombination // *Cell.*—1987.—51, N 6.—P. 417—425.
72. Chen S. J., Berger R., Taylor J. M. et al. Structural alterations of the BCR and ABL genes in PhI positive acute leukemias with rearrangements in the BCR gene first intron: further evidence implicating *Alu* sequences in the chromosome translocation // *Nucl. Acids Res.*—1989.—17,

- N 18.—P. 7631—7642.
73. *Chen S. J., Chen Z., Berger R.* Phi-positive, *bcr*-negative acute leukemias: clustering of breakpoints on chromosome 22 in the 3'-end of the *BCR* gene first intron // *Blood*.—1989.—73, N 10.—P. 1312—1315.
 74. *Vergnaud G., Page D. C., Simmler M. et al.* A deletion map of human Y chromosome based on DNA hybridization // *Amer. J. Hum. Genet.*—1986.—38, N 2.—P. 109—124.
 75. *Disteche C.M., Casanova M., Saal H. et al.* Small deletions of the short arm of the Y chromosome in 46XY females // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1986.—83, N 21.—P. 7841—7844.
 76. *Vnencak-Jones C. L., Phillips J. A.* Hot spots for growth hormone gene deletions in homologous regions outside of *Alu* repeats // *Science*.—1990.—250, N 8.—P. 1745—1748.
 77. *Muratani K., Hada T., Yamamoto Y. et al.* Inactivation of the cholinesterase gene by *Alu* insertion: possible mechanism for human gene transposition // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1991.—88, N 12.—P. 11315—11319.
 78. *Goldberg Y. P., Rommens J. M., Andrew S. E. et al.* Identification of an *Alu* retrotransposition event in close proximity to asrong candidate gene for Huntington's disease // *Nature*.—1993.—362, N 4.—P. 370—373.
 79. *Ma T. S., Ijegwu J., Watts L. et al.* Serial *Alu* sequence transposition interrupting a human b-creatine kinase pseudogene // *Genomics*.—1991.—10, N 2.—P. 390—399.
 80. *Wallace M. P., Andersen L. B., Saulino A. M. et al.* A *de novo Alu* insertion results in neurofibromatosis type I // *Nature*.—1991.—353, N 9.—P. 864—866.
 81. *Nguen T., Marchese A., Kennedy J. L.* An *Alu* sequence interrupts a human 5-hydroxytryptamine id receptor pseudogene // *Gene*.—1993.—124, N 6.—P. 295—301.
 82. *Yang T. P., Stout J. T., Konecki D. S. et al.* Spontaneous reversion of novel Lesch-Nyhan mutation by HPRT gene rearrangement // *Somat. Cell Mol. Genet.*—1988.—14, N 2.—P. 293—303.
 83. *Murru S., Casula L., Pecorara M. et al.* Illegitimate recombination produced a duplication within the FVII gene in a patient with mild hemophilia // *Genomics*.—1990.—7, N 1.—P. 115—118.
 84. *Lehrman M.A., Goldstein J. L., Russel P. M., Brown M. S. et al.* Duplication of seven exons in LDL receptor gene caused by *Alu-Alu* recombination in a subject with familial hypercholesterolemia // *Cell*.—1987.—48, N 8.—P. 827—835.
 85. *Hu X., Burghes A. H. M., Thompson P. N. et al.* Partial gene duplication in Duchenne and Becker muscular dystrophies // *J. Med. Genet.*—1988.—25, N 4.—P. 369—376.
 86. *Hu X., Ray P. N., Worton R. G.* Mechanism of tandem duplication in the Duchenne muscular dystrophy gene include both homologous and nonhomologous recombination // *EMBO J.*—1991.—10, N 1.—P. 24710—2477.
 87. *Marcus S., Hellgren D., Lambert B.* Duplication in the HPRT gene caused by *Alu-Alu* recombination in a patient with Lesch-Nyhan syndrome // *J. Hum. Genet.*—1993.—90, N 5.—P. 477—482.
 88. *Monnat R. J., Chiaverotti T. A., Hackmann A. F. M., Grace A. N.* Molecular structure and genetic stability of human HPRT gene duplication // *Genomics*.—1992.—13, N 3.—P. 788—796.
 89. *Qin Z., Schuller I., Diamantstein T., Blankenstein T.* The interleukin-6 gene locus seem to be a preferred target site for retrotransposon integration // *Immunogenetics*.—1991.—33, N 13.—P. 260—266.
 90. *Taruscio D., Manuelidis L.* Integration site preferences of endogenous retroviruses // *Chromosoma*.—1991.—101, N 2.—P. 141—156.
 91. *Singh M. K., Dauza C. D.* Extrachromosomal human immunodeficiency virus type I sequences are methylated in latently infected U 937 cells // *Virology*.—1992.—188, N 4.—P. 451—458.
 92. *Matsumoto H., Yoneyama T., Mitamura K. et al.* Analysis of integrated hepatitis B virus DNA and cellular flanking sequences cloned from a hepatocellular carcinoma // *Int. J. Cancer*.—1988.—42, N 1.—P. 1—6.
 93. *Гершензон С. М.* Эгоистичная ДНК, молекулярный драйв и проблемы эволюции // *Цитология и генетика*.—1993.—27, № 3.—P. 85—94.
 94. *Golubovsky M.* Mobile genetics and forms of heritable changes in eukaryotes // *Биополимеры и клетка*.—1995.—11, № 2.—P. 29—38.