

Дослідження структурно-функціональної організації гомо- та гетерологічних геномів і їхньої взаємодії в еукаріотичних системах

О. П. Соломко, Л. І. Строковська

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України
252143. Київ, вул. Академіка Заболотного, 150

Представлено огляд досліджень з проблеми структурно-функціональної організації і взаємодії вірусних та еукаріотичних геномів, виконаних за останні два десятиріччя у відділах механізмів реплікації нуклеїнових кислот та біохімічної генетики ІМБіГ НАН України. Аналізуються результати експериментальних досліджень структурно-функціональної організації геному бакуловірусів на моделях трьох вірусів ядерного поліедру, якими встановлено, що інфекційний геном бакуловірусів представлено ковалентно замкненою молекулою ДНК. Виявлено новий вид модифікації бакуловірусних геномів при взаємодії з геномом клітини. Створено нову експресійну систему для синтезу гетерологічних білків. Узагальнено матеріали дослідження міжгеномних взаємодій на таких моделях, як вірус—клітина, трансгенні миші, ранні зародки лінійних мишей, та вивчення проблеми регуляції раннього ембріогенезу.

Вступ. За останні десятиріччя дослідженнями в галузі генетики та молекулярної біології розвитку одержано дані, що свідчать про суворий генетичний контроль основних процесів розвитку організму. Реалізація в онтогенезі генетичної інформації здійснюється як наслідок безперервної взаємодії ядра та цитоплазми.

Нез'ясованим залишається питання про те, що і як поєднує батьківські геноми в єдину функціональну систему, якими є механізми, що забезпечують їхню структурно-функціональну взаємодію. Важливим аспектом цієї проблеми також є те, що реалізація спадкової інформації розпочинається з моменту дозрівання статевих клітин і потім, починаючи з першого поділу заплідненої яйцеклітини, відбувається за певних умов зовнішнього середовища. Це примушує розглядати розвиток організму як наслідок дії двох основних факторів — взаємодії батьківських геномів у процесі реалізації генетичної програми генотипу і впливу на особину факторів середовища. Особливо це стосується стадії ембріогенезу, коли структурно-функціональна організація геному зазнає суттєвих змін.

У зв'язку з цим важливого значення набуває дослідження структурно-функціональної організації геному еукаріот і, зокрема, проблема структурно-функціонального взаємовідношення гомологічних та гетерологічних геномів. На початку розробки цієї проблеми пошук підходів до детальнішого дослідження структурно-функціональної організації геному еукаріот знаходився на початковій стадії.

Одним із застосованих підходів було дослідження структурної організації та експресії геномів вірусів еукаріот, у тому числі бакуловірусів, які містять ДНК-геном. Використання цієї модельної системи багато дало для розуміння принципів регуляції експресії геному еукаріот і дозволило розпочати дослідження деяких аспектів проблеми геномної взаємодії. Подальший розвиток ці дослідження одержали за допомогою принципово нових підходів, серед яких особливе значення має розвиток методів мікрomanipуляцій, генної інженерії, трансгенозу та створення химерних ембріонів. Все це дозволило піднести на новий рівень дослідження структурно-функціонального аспекту міжгеномних взаємодій, стабільності геному вищих еукаріот, ролі ядра та цитоплазми, міжклітинних взаємодій на

перших етапах розвитку на модельній системі до-імплантаційних зародків лінійних мишей.

Вивчення цієї проблеми в Інституті молекулярної біології та генетики НАН України було розпочато у відділах, якими керували проф. І. П. Кок та проф. В. І. Євсіков, і продовжено у відділі біохімічної генетики, який пізніше (у 1983 році) було створено на їхній основі.

Структурно-функціональна організація геномів бакуловірусів та створення геноінженерної експресійної системи. Узагальнюючи результати досліджень, які було виконано під керівництвом проф. І. П. Кок на вірусах ядерного поліедрозу (ВЯП) великої вошинної молі та тутового шовкопряду, необхідно відмітити, що на той час це були піонерські роботи з структури та біологічних властивостей бакуловірусних ДНК. Було встановлено, що нативні препарати геномної ДНК є інфекційними для комах та культур клітин [1]. Встановлено також, що макромолекулярна структура нативного зрілого інфекційного геному вірусів ядерного поліедрозу — це дволанцюгова ковалентно замкнена суперспіральна кільцева молекула ДНК, яка не має білкових та рибонуклеотидних вставок [2]. Кільцеві молекули вірусної ДНК гетерогенні за формою: виявлено дві форми суперспіральних ковалентно замкнених, різних за третинною структурою молекул — відкриті кільцеві форми та так звані «катенани», що складаються з двох або трьох зчеплених кільцевих молекул [3]. Катенани виявлено в препаратах вірусу, збагачених вірусними частками подвійної та потрійної довжини [4]. Наявність катенанів свідчить на користь реплікації вірусної ДНК, за моделлю Кернса, через проміжні реплікативні тета-структури і це добре пов'язується з виявленням кількох місць ініціації реплікації. При цьому катенани можна віднести до молекул ДНК, що пізно реплікуються, як і катенани вірусів групи папова.

Але на відміну від них бакуловірусні катенани входять до складу подовжених вірусних часток — можливо, це пов'язано з особливостями репродукції бакуловірусів і може відбуватися внаслідок недостатньої дії топоізомераз на етапі термінації реплікації і комплексоутворення катенанів з білком [5].

Дослідження взаємозв'язку структури і функції бакуловірусних геномів вперше дозволило виявити інфекційність ковалентно замкнених і відкритих кільцевих форм ДНК, лінійні молекули такого самого розміру виявились неінфекційними [1].

Аналіз первинної структури геномної ДНК бакуловірусів за допомогою ряду фізико-хімічних методів засвідчив відсутність блочної будови гено-

му та унікальність нуклеотидної послідовності, що не містить значних або множинних повторів [1].

Логічним розвитком досліджень з молекулярної біології бакуловірусів у відділі біохімічної генетики стало визначення фізичних карт геномів вірусів ядерного поліедрозу *Galleria mellonella* (*Gm*), *Bombyx mori* (*Bm*) та *Malacosoma neustria* (*Mn*), локалізації у геномах двох з них гена поліедрину та його функціонально важливих ділянок [6]. У процесі цих досліджень було виявлено нестабільність геному ВЯП *Mn* та новий тип природної модифікації бакуловірусного геному [7]. Для бакуловірусів відомо кілька типів геномних перебудов при тривалому пасируванні в культурі клітин. Деякі з них після серії пасажів мали вставки у вигляді транспозоноподібних елементів геному клітин-хазяїв [8] чи дуплікованих ділянок вірусного геному [9] або з'являлися делеційні мутанти [10]. Виявлена модифікація геному ВЯП *Mn* проявлялася через 3—5 пасажів у виникненні «гарячої точки» — ділянки геному, специфічної для дії всіх досліджуваних рестриктаз. Ця модифікація, скоріше за все, є наслідком взаємодії вірусу з непермісивним хазяїном.

Локалізація гена поліедрина та його промоторної ділянки дозволила перейти до створення вітчизняної векторної бакуловірусної геноінженерної системи на базі ВЯП *Mn* та культури клітин дубового шовкопряду МСАР-1.

Починаючи з 1983 року все більшого розповсюдження набувають бакуловірусні експресійні системи (БЕС), що являють собою лінії клітин або організми комах, інфіковані рекомбінантними бакуловірусами з інтегрованими гетерологічними генами [11]. Слід відмітити, що багато білків, для яких не було досягнуто високого рівня експресії в інших геноінженерних системах, у БЕС експресуються в кількостях, що в 10—100 разів перевищують такі, одержані в згаданих системах [12].

При дослідженні репродукції ВЯП *Gm* та *Mn* у культурах клітин комах нами було отримано індивідуальні клони цих вірусів. Здійснене порівняння інфекційності та швидкості репродукції дозволило виявити, що клон W-1 ВЯП *Mn* у культурі клітин дубового шовкопряду (МСАР-1) має найбільший титр та найвищу швидкість репродукції [13]. Саме цей вірус і ці клітини було обрано для побудови експресійної системи. Було створено серію так званих «транспортних» векторів для клонування гетерологічних генів під сильним промотором гена поліедрина та сконструйовано рекомбінантний вірус з геном бактеріальної β -галактозидази [14].

Дослідження ефективності новоствореної бакуловірусної експресійної системи з модельним геном

бактеріальної β -галактозидази показало її високу ефективність та перспективність як базової для синтезу рекомбінантних білків. Подальші зусилля було зосереджено на одержанні рекомбінантного білка — гормону людини пролактину. Використовуючи один з модифікованих транспортних векторів — плазмиду *pM1.2*, вдалося одержати високопродуктивний рекомбінантний бакуловірус, який у культурі клітин комах синтезував гормон людини пролактин в технологічних кількостях [15].

Результати досліджень макромолекулярної структури геному ряду бакуловірусів, виконаних у відділі біохімічної генетики разом з результатами досліджень бакуловірусних білків хіміками нашого інституту дозволили завершити багаторічну дискусію про морфологію бакуловірусів створенням моделі структури бакуловірусного віріону, яка дійсна й сьогодні. Отримані дані стали основою для розвитку нового напрямку — дослідження молекулярних механізмів репродукції бакуловірусів.

Інший напрямок, який розвивається у відділі, полягає в дослідженні на різних модельних системах структурно-функціональної взаємодії гомо- та гетерологічних геномів. Одним з підходів є дослідження експресії геномів вірусів еукаріот, зокрема бакуловірусів, що дуже важливо для розуміння принципів регуляції експресії еукаріотичного геному. Подальший розвиток ці дослідження одержали за допомогою принципово нових підходів, серед яких особливе значення має розвиток методів мікрomanipуляції, генної інженерії та трансгенозу. Все це дозволило піднести на новий рівень дослідження структурно-функціонального аспекту міжгеномних взаємодій, стабільності геному, ролі ядра та цитоплазми на перших етапах розвитку зародка на модельній системі доімплантаційних зародків миші.

Взаємодія гетерологічних геномів у системі вірус—клітина. Взаємодія вірусу та клітини призводить до виникнення нової, самостійної системи «вірус—клітина», в якій процеси синтезу та розпаду макромолекул, їхнього транспорту та функціонування визначаються властивостями двох взаємодіючих геномів. Для дослідження було обрано модельну систему вірусу ядерного полідрозу великої воцичної молі (ВЯП *Gm*) та його природного хазяїна.

При дослідженні взаємодії гетерологічних геномів бакуловірусу та клітини комах було встановлено їхній тісний функціональний зв'язок — під дією продуктів експресії геному вірусу змінилася функціональна програма геному клітини. Про це виразно свідчили зміна темпу реплікації геномної ДНК, підвищення гетерогенності клітинних РНК у процесі розвитку інфекції [16]. Дослідження ди-

наміки зміни набору вірусспецифічних транскриптів при взаємодії гетерологічних геномів вірусу та клітини дозволило зробити висновок щодо регуляції експресії вірусного геному на рівні транскрипції, а наявність великих вірусспецифічних транскриптів у препаратах тотальної та ядерної РНК при їхній відсутності в складі полісом призвела до думки стосовно регуляції процесу трансляції вірусспецифічних РНК на рівні процесингу та транспорту [17].

У цей же час дуже суттєвим є те, що регуляція експресії вірусного геному відбувається за специфікою клітини-хазяїна. Тобто в цьому випадку два гетерологічних геноми функціонують як єдине ціле — вірусний геном, використовуючи регуляторні системи свої та клітини, виступає одночасно активатором нової програми клітинного геному. В цих же дослідках було вперше вказано на наявність у геномі бакуловірусів генів, транскрипти яких піддаються процесингу та сплайсингу, що пізніше було підтверджено в ряді закордонних лабораторій [18].

Взаємодія гетерологічних геномів при трансгенезі у мишей. Мікроін'єкування екзогенних ДНК у пронуклеус запліднених яйцеклітин миші дозволило створити модельну систему, за допомогою якої можна досліджувати перенесені гени в процесі розвитку організму, вивчати стабільність їхньої структури і успадкування та взаємодію вірусного та мишачого геномів у непермісивній для вірусу системі.

Нами було досліджено специфіку взаємодії геномів миші та провірусу саркоми Рауса птахів [19]. З'ясувалося, що ця взаємодія призводить до суттєвої модифікації векторної молекули. Виявлено дві форми стабільних генетичних структур на базі трансгеному: кільцева екстрахромосомна ДНК та ДНК, інтегрована до геному миші. Причому у випадку інтеграції відмічено повну втрату послідовностей провірусної ДНК і частини структури бактеріальної векторної плазмиди та часткову втрату вірусних генів у випадку, коли трансгеном знаходився в автономному стані [20, 21]. Подальші спостереження дозволили встановити, що наявність екзогенної ДНК у клітинах трансгенних мишей суттєво впливає на функціонування їхнього геному, що характеризувалося підвищеною частотою пухлиноутворення та зниженням плодючості. Скоріше за все, ці ефекти викликані дестабілізацією частини геному у трансгенних мишей [20, 22].

Цю думку поділяє багато дослідників, які працюють з трансгенними мишами, вважаючи, що серед вторинних ефектів інтеграції чужорідних послідовностей може бути порушення метаболізму та

диференціювання деяких типів клітин, що призводить до індукції утворення пухлин [23]. Тим більше, що встановлено значну перебудову структури геномної ДНК у сайтах інтеграції трансгеному. Це, в свою чергу, впливає на функціонування всього геному [24, 25].

У той же час в наших дослідках було показано існування в деяких сублініях трансгенних мишей екстрахромосомного трансгеному, похідного від введеної рекомбінантної плазмиди. Аналіз його структури засвідчив суттєву модифікацію провірусної частини при збереженні у нативному стані бактеріального гена стійкості до ампіциліну та стартової точки реплікації. Регулярна мітотична і мейотична сегрегація, що спостерігалася у дослідках, а також стабільна реплікація екстрахромосомного трансгеному залежать, найвірогідніше, від придбаного фрагмента геномної ДНК миші. Подібна адаптація трансгенів показана рядом дослідників [26–28].

Таким чином, у цих модельних дослідках показано, що введення в зародкову лінію мишей геному чужорідного провірусу призводить до дуже активної реакції мишачого геному — в результаті серії рекомбінаційних процесів відбувається переведення залишків введеної молекули під контроль геному клітини. Це забезпечується або інтеграцією її до геному клітини, або транспозицією керуючих елементів клітинного геному до залишків векторної молекули, яка має статус автономно існуючої.

Взаємодія гомологічних геномів. Біологічний годинник. Нез'ясованим є питання про те, що і як поєднує батьківські геноми в єдину функціональну систему, якими є механізми, що забезпечують їхню специфічну взаємодію. Ця проблема вирішується у відділі на моделі доімплантаційного розвитку ембріонів миші.

Основним змістом етапів доімплантаційного розвитку ссавців є взаємодія головних клітинних компонентів — ядра та цитоплазми. У зв'язку з цим вирішення питання про рівень взаємовідносин, що відбуваються на найперших етапах цитодиференціювання та морфогенезу, може бути одним з підходів до з'ясування механізмів, через які програма, що записана в геномі зиготи, реалізує себе в процесі онтогенезу.

Одним з найважливіших результатів цих досліджень є висвітлення того, що у цитоплазмі зигот миші немає прелокалізації морфогенетичних детермінант, які відповідали б за перші етапи цитодиференціювання, а міжклітинні взаємодії виявляються єдиним механізмом, що відповідає за предестермінацію бластомерів до різних напрямків диференціювання [29]. Виходячи з цього,

суттєвого значення набуває проблема вивчення механізмів диференційної експресії генів. На сьогоднішній день регуляція активності генів «в часі» (біологічний годинник) — це одна з найголовніших невирішених проблем питань розвитку ссавців.

Дослідження розвитку мікрохірургічно модифікованих ранніх зародків миші дозволило зробити припущення, що програма раннього розвитку мишей, яка по суті на перших етапах базується на взаємодії продуктів експресії материнського геному та геному зародків забезпечується двома типами регуляції основних циклів розвитку: на рівні цитоплазми відбувається регуляція тривалості клітинних циклів (цитоплазматичний годинник), а ядро є відповідальним за проходження процесів цитодиференціювання та індукцію морфогенетичних перетворень (генетичний годинник) [30].

Суттєве значення для розуміння механізму, за яким працює «біологічний годинник» мишачого зародка, має дослідження змін, які виникають у ньому на рівнях транскрипції та трансляції і які є відображенням розвитку, що реалізується в часі та просторі. Вивчення трансляційної активності доімплантаційних зародків миші, цитокінез яких було пригнічено цитохалазином D, дозволило нам дійти висновку, що час морфогенетичних переходів у доімплантаційного зародка миші визначається не тільки (або не стільки) досягненням визначеної концентрації продуктів кожного етапу, скільки певним складом стадійспецифічних факторів, що і є сигналом до подальшого розвитку [31].

Як вже було нами відмічено, важливу роль в ранньому розвитку ссавців відіграють міжклітинні взаємодії, які є одним з головних механізмів диференціювання та підтримання диференційованого стану клітин. Однією з найкращих моделей для з'ясування питання про вплив міжклітинних взаємодій на ранній онтогенез ссавців є так звані химерні зародки.

Виконані в нашому відділі дослідження на химерних зародках, які склалися з клітин двох різних ліній мишей, продемонстрували наявність «химерного гетерозису», тобто прискорення доімплантаційного морфогенезу. Подібний ефект «химерного гетерозису» для ранніх стадій розвитку миші показано вперше [32]. Можливо, що якісь фактори, які забезпечують взаємовідносини гетерологічних бластомерів химерного ембріона, індують позитивний зворотний зв'язок при взаємодії генетично різних частин зародка.

Відкриття останніх десятиріч у сфері досліджень розвитку ссавців ставлять ряд питань, відповіді на які повинні допомогти змалювати більш цілісну картину механізмів регуляції ранньо-

го розвитку, в тому числі вивчення механізмів взаємовідносин ядра та цитоплазми, співвідношення цитоплазматичної та міжклітинної регуляції, роль так званої «геномної пам'яті» в контролюванні оптимальної взаємодії материнського та батьківського геномів, що так важливо для забезпечення повноцінного розвитку організму.

А. П. Соломко, Л. И. Строчковская

Исследование структурно-функциональной организации гомо- и гетерологических геномов и их взаимодействия в эукариотических системах

Резюме

Представлен обзор исследований по проблеме структурно-функциональной организации и взаимодействия вирусных и эукариотических геномов, выполненных за последние два десятилетия в отделах механизмов репликации нуклеиновых кислот и биохимической генетики ИМБГ НАН Украины. Анализированы результаты экспериментальных исследований структурно-функциональной организации генома бакуловирусов трех вирусов ядерного полиэдрома. Установлено, что инфекционный геном бакуловирусов представлен ковалентно-замкнутой молекулой ДНК, обнаружен новый вид модификации бакуловирусных геномов при взаимодействии с геномом клетки создана новая экспрессивная система для синтеза гетерологических белков. Обобщены материалы исследования межгеномных взаимодействий на таких моделях, как вирус-клетка трансгенные мыши, ранние зародыши линий мышей, и изучения проблемы регуляции раннего эмбриогенеза.

A. P. Solomko, L. I. Strokovskaya

Study of the structure-functional organization of homo- and heterologous genomes and their interactions in eukaryotic systems

Summary

Review focuses on the results of studies of structural and functional organization and interactions of the viral and eukaryotic genomes, which were conducted during these 20 years in the Department of biochemical genetics (formerly Department of mechanisms of nucleic acid replication). Experimental results on structural and functional organization of baculovirus genomes of three nuclear polyhedrosis viruses are analyzed. It was established that infectious baculovirus genome is the supercoiled DNA molecule. A new type of baculovirus genome modification has been detected and the new expression system for the synthesis of heterologous proteins has been created. The materials on the study of intergenomic interactions on the models of cell-virus, transgenic mice and early mouse embryos and investigation on the problem of development regulation in early mouse embryo are generalized.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кок И. П., Скуратовская И. Н., Строчковская Л. И. Молекулярные основы репродукции бакуловирусов.—Київ: Наук. думка, 1980.—175 с.
2. Strokovskaya L. I., Skuratovskaya I. N., Gudz-Gorban A. P., Kok I. P. Macromolecular of nuclear polyhedrosis virus genome // Arch. Virol.—1979.—59, N 1/2.—P. 331—343.
3. Строчковская Л. И., Скуратовская И. Н., Гудзь-Горбань А. П., Кок И. П. Кольцевые олигомерные формы молекул ДНК вируса ядерного полиэдрома большой вошинной моли // Докл. АН СССР.—1979.—245, № 2.—С. 486—489.
4. Skuratovskaya I. N., Fodor I., Strokovskaya L. I. Properties of the nuclear polyhedrosis virus of the great wax moth: oligomeric circular DNA and the characteristics of the genome // Virology.—1982.—120, N 2.—P. 465—471.
5. Кок И. П., Скуратовская И. Н. Кольцевой реплицирующийся бакуловирусный геном // Цитология и генетика.—1988.—22, № 5.—С. 39—43.
6. Petrenko A. I., Strokovskaya L. I., Solomko A. P. Nucleotide sequences of *Malacosoma neustria* nuclear polyhedrosis virus polyhedrin gene // Биополимеры и клетка.—1994.—10, № 3—4.—С. 105.
7. Строчковская Л. И., Кихно И. М., Соломко А. П. Новый вид модификации бакуловирусных геномов в культуре клеток насекомых // Доповіди НАН України.—1997.—№ 7.—С. 174—179.
8. Miller D. W., Miller L. K. A virus mutant with an insertion of a copia-like transposable element // Nature.—1982.—299, N 9.—P. 562—564.
9. Burand J. P., Summers M. D. Alteration of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus DNA upon serial passage in cell culture // Virology.—1982.—119, N 2.—P. 223—229.
10. Kumar S., Miller L. K. Effects of serial passage of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus in cell culture // Virus Res.—1987.—7, N 2.—P. 335—349.
11. Smith G. E., Summers M. D., Fraser M. J. Production of human β -interferon in insect cells infected with a baculovirus expression vector // Mol. Cell. Biol.—1983.—3, N 12.—P. 2156—2165.
12. Arp J., Ford C. M. Expression and immunogenicity of the entire human T cell leukaemia virus type I envelope protein produced in a baculovirus system // J. Gen. Virol.—1993.—74, N 2.—P. 211—222.
13. Скуратовская И. Н., Строчковская Л. И., Комиссаренко С. В., Менделева Н. В. Структура и функционирование генома вируса ядерного полиэдрома кольчатого шелкопряда // Цитология и генетика.—1986.—20, № 1.—С. 31—36.
14. Строчковская Л. И., Веселовский О. В., Кихно И. М. и др. Экспрессивный бакуловирусный вектор на основе вируса ядерного полиэдрома кольчатого шелкопряда *Malacosoma neustria* // Биополимеры и клетка.—1990.—6, № 3.—С. 84—90.
15. Строчковская Л. И., Калинина Н. О., Кихно И. М., Соломко А. П. Экспрессия рекомбинантного человеческого гена пролактина в клетках насекомых с использованием бакуловирусного вектора на основе вируса ядерного полиэдрома кольчатого шелкопряда // Доповіди НАН України.—1997.—№ 1.—С. 166—169.
16. Соломко О. П., Курлянд В. А., Кок И. П. Седиментаційні властивості вірусспецифічних РНК при ядерному поліедрозі великої вошинної моли // Мікробіол. журн.—1975.—37, № 3.—С. 351—355.
17. Соломко О. П. Вивчення гомології між ядерними та полісомними вірусспецифічними РНК при ядерному поліедрозі великої вошинної моли // Там же.—№ 1.—С. 113—114.
18. Chisholm G. E., Henner D. J. Multiple early transcripts and splicing of the *Autographa californica* NPV IE-1 gene // J. Virol.—1988.—62, N 6.—P. 3193—3200.
19. Solomko A. P., Morozova L. M., Vagina I. N. et al. Transgenic mice with integrated sequence of RSV provirus DNA // Genome.—1988.—30, Suppl. 1.—P. 481.
20. Чащина Л. И., Петренко А. И., Вагина И. Н. и др. Модификация структуры ДНК плазмиды pATV8 у транс-

- генных мышей. 1. Исследование структуры интегрированного трансгена и биологические эффекты трансгеноза. // Биополимеры и клетка.—1997.—13, № 4.—С. 323—327.
21. Чащина Л. И., Крисан К. В., Мотковский В. Й., Соломко А. П. Модификация структуры ДНК плазмиды рATV8 у трансгенных мышей. 2. Физическое картирование автономного трансгена и сиквенирование клонированных фрагментов его модифицированного участка // Там же.— № 5.— С. 1—6.
 22. Соломко А. П., Рындич А. В., Титок Т. Г. и др. Трансгенные мыши, полученные на основе плазмид рATV8 и рBR322 // Там же.—1988.—4.—№ 5.—С. 267—269.
 23. Wagner E. F., Covarrubia L., Stewart T. A. Prenatal lethality in mice homozygous for human growth hormone gene sequences integrated in germ line // Cell.—1988.—35.—Р. 647—655.
 24. Кузнецова Е. Д., Андреева Л. Е., Серова В. А. Новые данные о характере структурных изменений ДНК аденовируса обезьян, микроинъектированной в зиготы мышей // Молекуляр. генетика.—1989.—4.—С. 6—10.
 25. Газарян К. Г. Микроинъекционирование генов в зиготы и эмбрионы: интеграция в геном и генетические эффекты // Успехи соврем. генетики.—1985.—13.—С. 75—88.
 26. Ruzzaque A., Mizusawa H., Seidman M. M. Rearrangement and mutagenesis of a shuttle vector plasmid after passage in mammalian cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1983.—80, N 10.—P. 3015—3019.
 27. Rassoulzadegan M., Leopold P., Vailly J., Cuzin F. Germ line transmission of autonomous genetic elements in transgenic mouse strain // Cell.—1986.—46.—N 4.—P. 513—519.
 28. Николаев А. И., Чюгоня Т. Т., Эристави-Кафиани К. А., Гаришвилл В. З. Анализ спасенной плазмиды из трансгенного тутового шелкопряда // Биополимеры и клетка.—1992.—33.—С. 76—86.
 29. Evsikov S. V., Morozova L. M., Solomko A. P. Role of ooplasmic segregation in mammalian development // Roux's Arch. Develop. Biol.—1994.—№ 203.—P. 199—204.
 30. Evsikov S. V., Morozova L. M., Solomko A. P. Role of the nucleocytoplasmic ratio in development regulation of the early mouse embryo // Development.—1990.—109, N 2.—P. 323—328.
 31. Евсиков А. В., Соломко А. П. Уровень и характер трансляции доимплантационных зародышей мыши с подавленным цитокинезом // Онтогенез.—1998.—№ 4 (в печати).
 32. Евсиков А. В., Соломко А. П. Изменение времени запуска кавитации у химерных зародышей СВ6F1↔ВА1В/с // Цитология и генетика.—1998.—№ 3 (в печати).

Надійшла до редакції 12.03.98