

УДК 577.29

Дезаминирование остатков 5-метилцитозина в клетках млекопитающих

Е.В. Громенко¹, П.В. Спирин², Е.А. Кубарева³, Е.А. Романова³, В.С. Прасолов²,
О.В. Шпанченко^{1,2}, О.А. Донцова^{1,3}

¹ Химический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3, ГСП-1, МГУ

² Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

³ Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, МГУ, НИИФХБ

*E-mail: olgash@genebee.msu.ru

РЕФЕРАТ Деметилирование ДНК в клетках млекопитающих происходит после оплодотворения и во время эмбриогенеза, сопутствует клеточному старению и раковой трансформации. С помощью реакции удлинения праймера, MALDI MS и расщепления ДНК тимин-ДНК-гликозилазой показано, что обработка модельных метилированных ДНК-дуплексов ядерными экстрактами клеток линий CHO, HeLa и Skov3 приводит к дезаминированию остатков 5-метилцитозина. Высказано предположение о том, что дезаминирование 5-метилцитозина является первой стадией процесса деметилирования у млекопитающих.

Ключевые слова: дезаминирование 5-метилцитозина, деметилирование 5-метилцитозина, реакция удлинения праймера, MALDI MS, тимин-ДНК-гликозилаза.

Список сокращений: mC – 5-метил-2'-дезоксцитидин, ПЦР – полимеразная цепная реакция, ПААГ – полиакриламидный гель, TDG – тимин-ДНК-гликозилаза, MALDI MS – масс-спектрометрия с ионизацией методом лазерной матричной десорбции.

ВВЕДЕНИЕ

Активное деметилирование ДНК у млекопитающих необходимо для правильного развития организма, формирования иммунного ответа и памяти. Деметилирование ДНК сопровождается возникновением различных болезней и старением организмов.

Глобальное деметилирование наблюдается в отцовском пронуклеусе в эмбрионах мышей [1], крыс, свиней, коров и человека [2], а также в их гоноцитах. Оно обеспечивает эпигенетическое репрограммирование и специфическую экспрессию генов.

Метилирование и деметилирование ДНК в клетках нервной системы влияют на синаптическую пластичность и формирование памяти. Метилирование ДНК необходимо для инактивации гена *pp1*, подавляющего процессы памяти, в то время как активное деметилирование ДНК связано с активацией гена *рилина*, способствующего формированию памяти у крыс [3]. Также активное деметилирование ДНК необходимо для нормального нейрогенеза в эмбрионах рыб вида *Danio rerio*. Подавление экспрессии Gadd45a (Growth arrest and DNA-damage-inducible protein 45 alpha) или других белков, участвующих в процессе деметилирования, приводит к гибели нейронов в результате гиперметилирования и подавления экспрессии генов, обеспечивающих нейрогенез [4].

Метилирование и деметилирование ДНК является важной частью эпигенетического контроля при иммунном ответе [5]. Деметилирование промоторных участков генов цитокинов *il-2* и *ifn-γ* при контакте CD8 Т клеток с антигенами приводит к быстрой экспрессии цитокинов [6–8].

Деметилирование ДНК сопутствует клеточному старению [9]. При этом для крыс показана разница в степени деметилирования в различных тканях – в ткани мозга она выше, чем в ткани печени. Также было обнаружено возрастное снижение содержания 5-метилцитозина в ДНК для клеток легких и фибробластов кожи, причем для последних показана связь деметилирования со снижением возможности роста в культуре [10].

Глобальное деметилирование генома наблюдается во всех изученных раковых клетках [11–13]. При этом гипометилированными участками оказываются многочисленные повторы, импринтированные гены, тканеспецифические гены, онкогены и гены, связанные с процессами инвазии и метастазирования опухолей [14, 13]. В то же время некоторые локусы, включая многие гены опухолевых супрессоров, гиперметилированы, что приводит к подавлению их экспрессии [12, 15, 16].

Очевидно, что деметилирование ДНК играет огромную роль в жизнедеятельности клетки, при этом механизм деметилирования ДНК и участники этого процесса у млекопитающих до сих пор не установлены. Целью настоящей работы являлось изучение механизма деметилирования ДНК в клетках млекопитающих.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез олигодезоксирибонуклеотидов. Олигонуклеотиды I–III синтезированы амидофосфитным методом в автоматическом режиме на синтезаторе фирмы Applied Biosystems с использованием коммерческих реагентов и раство-

рителей по стандартному регламенту:

5'-CATGTCTAACmCGmCGmCGAGAAATGGTAATG TATGGAGT* (I)

5'-CATACATTACCATTCTmCGmCGmCGGTTAGACAT GGC* (II)

5'-CATACATTACCATTTC (III), где * – аминокгруппа, соединенная с 3'-концом олигодезоксирибонуклеотидов линкером.

Олигонуклеотиды

5'-TT(Biotin-T)TTTTTTTGTCTACGATCGAACmCGmCGmCGAGAAGCTTGTAT* (IV), 5'-ATACAAGCTTCTmCGmCGmCGGTTTCGATCGTAGACAAAAA* (V) – коммерческие препараты («Синтол»).

Культивирование клеточных линий и приготовление ядерных экстрактов. Перевиваемые клетки яичников китайского хомячка линии CHO, карциномы шейки матки человека линии HeLa и аденокарциномы яичников человека линии Skov3 выращивали на стандартной среде DMEM, содержащей 10 % эмбриональной сыворотки (FCS), 4 mM L-глутамина, 1 mM пирувата натрия, стрептомицин/пенициллин в концентрации 100 мкг/мл и 100 ед./мл, соответственно, при температуре 37 °C в атмосфере 5 % CO₂. Для пересева клеток клеточный монослой промывали буфером PBS (10 mM Na₂HPO₄, 1.5 mM KH₂PO₄, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, pH 7.4), добавляли стандартный раствор трипсин-ЭДТА (Sigma) и помещали в CO₂-инкубатор на 3–5 мин, добавляли среду с FCS и суспендировали пипетированием, клетки рассевали в необходимое количество культуральных флаконов. Клетки, выросшие до монослоя, собирали центрифугированием при 2300 об/мин в течение 10 мин при 4 °C. Затем клетки промывали несколько раз буфером PBS и лизировали в буфере L (20 mM Hepes (pH 7.6), 10 mM NaCl, 1.5 mM MgCl₂, 20 % глицерин, 0.1 % Triton X100, 1 mM DTT, коктейль ингибиторов протеиназ). Через 2 мин лизат суспендировали и центрифугировали 20–30 с при 10000 об/мин. К осадку добавляли равный объем буфера NE (20 mM Hepes (pH 7.6), 500 mM NaCl, 1.5 mM MgCl₂, 20 % глицерин, 0.1 % Triton X100, 1 mM DTT, коктейль ингибиторов протеиназ), тщательно суспендировали и помещали на качалку на 30–60 мин. Затем лизат центрифугировали 10 мин при 10 000 об/мин.

Формирование ДНК-дуплекса и обработка ядерным экстрактом клеток. Формирование ДНК-дуплекса I/II проводили на приборе для ПЦР, выдерживая 20 мкл реакционной смеси, содержащей 500 пмоль олигонуклеотида I и 550 пмоль олигонуклеотида II, при 95 °C 3 мин и далее охлаждая термостат с 95 до 35 °C со скоростью 0.5 °/мин и с 35 до 20 °C со скоростью 0.25 °/мин.

Далее 50 мкл реакционной смеси, содержащей буфер NE, 10 мкМ ДНК-дуплекса I/II и ядерный экстракт, соответствующий ~ 50 000 клеток, инкубировали при 37 °C в течение 1 ч. После трехкратной фенольной депротеинизации ДНК-дуплекс осаждали 2.5 объемами этанола с добавлением 1/10 объема 3 M NaOAc (pH 5.5) в течение 2 ч при –20 °C. Осадок отделяли центрифугированием при 14 000 об/мин в течение 10 мин, промывали 70 %-ным этанолом, высушивали в вакууме, растворяли в 20 мкл воды.

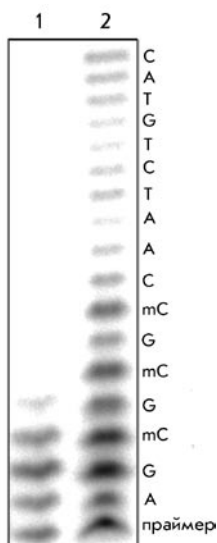
Реакция удлинения праймера. Предварительно вводили радиоактивную метку на 5'-конец праймера III. Для этого 20 мкл реакционной смеси, содержащей буферный

раствор для T4 полинуклеотидкиназы (500 mM Tris-HCl (pH 7.6), 100 mM MgCl₂, 50 mM DTT, 1 mM спермидин, 1 mM ЭДТА, 1 mM ADP), 10 мкМ праймера III, 5 единиц T4-полинуклеотидкиназы (MBI Fermentas, 10 ед./мкл) и 10 мкМ [³²P]АТР (GE Healthcare, удельная активность 220 ТБк/ммоль или 6000 Ки/ммоль), инкубировали при 37 °C в течение 1 ч. Фермент инактивировали нагреванием в течение 15 мин при 75 °C. ³²P-меченный праймер III очищали электрофорезом в денатурирующем 12 %-ном ПААГ. Зону с праймером III, содержащим радиоактивную метку, визуализовали с помощью радиоавтографии и вырезали. Праймер III элюировали из геля 400 мкл буфера GES (10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 % SDS, 0.5 % Triton X100, 50 mM ЭДТА) с добавлением 400 мкл фенола при интенсивном перемешивании в течение ночи. Водную фазу отделяли центрифугированием при 14 000 об/мин в течение 5 мин, праймер III осаждали, как описано выше, и растворяли в 20 мкл воды. Количество праймера III оценивали либо по радиоактивности, либо спектрофотометрически по поглощению раствора при длине волны 260 нм. Далее к 3 мкл ³²P-меченного очищенного праймера III (3.3 мкМ) добавляли 4 мкл раствора ДНК-дуплекса I/II (2.5 мкМ) и 1 мкл 10x реакционного буфера (500 mM Tris-HCl (pH 8.0), 50 mM MgCl₂, 10 mM DTT), гибридизацию проводили на приборе для ПЦР при охлаждении термостата с 70 до 42 °C со скоростью 0.4 °/мин с выдерживанием температуры 21 с и увеличением каждого следующего времени цикла на 1 с. Затем к реакционной смеси добавляли 5 единиц фрагмента Кленова, лишённого экзонуклеазной активности (MBI Fermentas, 10 ед./мкл), и 1 мкл смеси dATP, dCTP, dTTP (1 mM каждого), ddNTP (0.01 mM). Реакционную смесь инкубировали при 37 °C в течение 10 мин. Реакцию останавливали нагреванием до 75 °C в течение 10 мин. Анализ продуктов реакции удлинения праймера проводили электрофорезом в денатурирующем 10 %-ном ПААГ. Гель высушивали под вакуумом, экспонировали на экран BAS CASSETTE 2340, информацию с экрана считывали на приборе FUJIFILM FLA 3000 с помощью программы BASReader 3.14.

Обработка ДНК-дуплексов тимин-ДНК-гликозилазой (TDG). 20 мкл реакционной смеси, содержащей 0.5 мкМ ДНК-дуплекса I/II, ³²P-меченного по одной из цепей, 10 единиц TDG (R&D Systems, 5 ед./мкл) и буфер (10 mM Hepes (pH 7.4), 100 mM KCl, 10 mM ЭДТА), инкубировали при 65 °C в течение 1 ч. Далее добавляли 10 мкл 3-кратного щелочного буфера (300 mM NaOH, 97 % формамид, 0.2 % бромфеноловый синий), инкубировали при 95 °C в течение 10 мин и быстро охлаждали до 2–8 °C. Продукты реакции анализировали электрофорезом в 20 %-ном ПААГ. Гель высушивали с помощью вакуумной сушилки, экспонировали на экран BAS CASSETTE 2340, информацию с экрана считывали на приборе FUJIFILM FLA 3000 с помощью программы BASReader 3.14.

Анализ фрагментов ДНК с помощью масс-спектрометрии. Биотинилированный ДНК-дуплекс IV/V формировали, как описано выше, для дуплекса I/II, обрабатывали ядерным экстрактом клеток и проводили очистку на стрептавидин-сефарозе. Стрептавидин-сефарозу предварительно уравновешивали в буфере R (100 mM Tris-HCl (pH 7.5), 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 0.1 мг/мл БСА). Для этого смешивали 100 мкл 50 %-ной суспензии стрептавидин-сефарозы

Рис. 1. Реакция удлинения праймера без dGTP для метилированного олигодезоксирибонуклеотидного дуплекса, обработанного буфером для экстрактов (контроль) (1), ядерным экстрактом клеток линии CHO (2). Справа приведен фрагмент последовательности модельного олигодезоксирибонуклеотида I



и 200 мкл буфера R, инкубировали при слабом перемешивании в течение 10–15 мин. Стрептавидин-сефарозу осаждали центрифугированием при 3000 об/мин в течение 3–4 мин, заменяли буфер и ресуспендировали. Вышеописанную процедуру повторяли 5 раз. К уравновешенной сефарозе добавляли 500 пмоль биотинилированного ДНК-дуплекса IV/V. Связывание дуплекса с сефарозой проводили при мягком перемешивании при 4 °С в течение 2–12 ч. После этого смолу промывали 6 раз 1 мл буфером R, как описано выше. Далее к реакционной смеси добавляли по 30 единиц эндонуклеаз рестрикции HindIII (MBI Fermentas, 10 ед./мкл) и PvuI (MBI Fermentas, 10 ед./мкл) и выдерживали при слабом перемешивании при 37 °С в течение 16 ч. Стрептавидин-сефарозу осаждали центрифугированием при 5000 об/мин в течение 5 мин. Полученные фрагменты разделяли электрофорезом в денатурирующем 20 %-ном ПААГ. Гель окрашивали SYBR Green в буферном растворе TBE (100 мМ Tris-HCl, 100 мМ H₃BO₃, 2 мМ ЭДТА). Анализируемый фрагмент элюировали из геля согласно методике, описанной для праймера. Далее образцы концентрировали и обессоливали на ZipTip C18 (Millipore). Промывку сорбента проводили 50 мМ водным раствором цитрата аммония, олигонуклеотид элюировали 25 мМ раствором цитрата аммония в 50 %-ном ацетонитриле. На матрице для MALDI MS смешивали по 1 мкл образца, 0,5 мкл 50 мМ раствора цитрата аммония и 0,5 мкл раствора 3-гидроксипиколиновой кислоты (Fluka, 20 мг/мл в ацетонитриле), полученную смесь высушивали на воздухе. Масс-спектры были получены на tandemном MALDI-времяпролетно-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex II BRUKER (Германия), оснащенном УФ-лазером (Nd). Масс-спектры получены в режиме положительных ионов в линейной моде.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДЫ

Для изучения процесса деметилирования ДНК были сконструированы и синтезированы комплементарные олигодезоксирибонуклеотиды I и II, которые содержали по 3 остатка 5-метилцитозина в составе динуклеотидов 5'-mCpG, что

характерно для генома млекопитающих. Для защиты от нуклеаз, содержащихся в лизатах клеток, на выступающих 3'-концах образующийся ДНК-дуплекс I/II имел защитные группы.

Для наблюдения за изменениями в последовательности нуклеотидов использовали реакцию удлинения праймера III, комплементарного 3'-концевой области олигонуклеотида I. При проведении реакции в отсутствие в среде dGTP и в присутствии ddNTP удлинение праймера должно проходить до первого остатка 5-метилцитозина (дорожка 1, рис. 1). Обработка ДНК-дуплекса I/II ядерным экстрактом клеток линии CHO приводит к появлению более длинных продуктов удлинения праймера (дорожка 2, рис. 1). Это явление можно объяснить превращением 5-метилцитозина в тимин, т.е. протеканием процесса дезаминирования при обработке ДНК-дуплекса I/II экстрактом клеток CHO.

Для проверки этого предположения ДНК-дуплекс I/II с тремя участками 5'-mCpG последовательно обрабатывали ядерным экстрактом клеток линий (CHO, HeLa или Skov3) и тимин-ДНК-гликозилазой, которая узнает T/G-мисматчи и разрезает цепь ДНК, содержащую T (рис. 2, дорожки 2, 3, 4, соответственно). После разделения продуктов реакции на радиоавтографе геля наблюдается появление полос, соответствующих положению остатков 5-метилцитозина, что свидетельствует об их дезаминировании.

Дезаминирование ДНК-дуплексов при обработке ядерными экстрактами клеток было показано методом MALDI MS. Для этого был использован олигодезоксирибонуклеотидный дуплекс IV/V, содержащий динуклеотиды 5'-mCpG, участки узнавания эндонуклеаз рестрикции HindIII и PvuI, фланкирующие анализируемый фрагмент (подчеркнут), а также остаток биотина на 5'-конце для возможности очистки ДНК-дуплекса на стрептавидин-сефарозе.

Размер анализируемого участка, содержащего три сайта 5'-mCpG, составляет 14 нуклеотидов, расчетная молекулярная масса – 4404,8 Да (рис. 3, а).

Спектры анализируемого фрагмента, полученного из ДНК-дуплекса после обработки ядерным экстрактом клеток линий (CHO, HeLa или Skov3), содержат сигнал 4408 Да (рис. 3, б-г), соответствующий дезаминированию трех остатков 5-метилцитозина.

Клеточные линии CHO, HeLa и Skov3 являются производными раковых клеток, в которых, как известно, наблюдается глобальное деметилирование всего генома. Возможно, наблюдаемое в результате обработки ядерными экстрактами клеток этих линий дезаминирование 5-метилцитозина

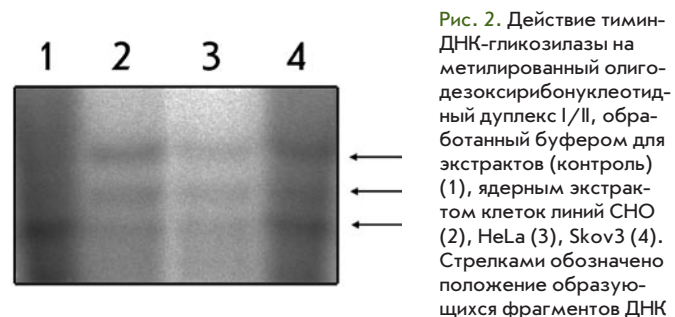


Рис. 2. Действие тимин-ДНК-гликозилазы на метилированный олигодезоксирибонуклеотидный дуплекс I/II, обработанный буфером для экстрактов (контроль) (1), ядерным экстрактом клеток линий CHO (2), HeLa (3), Skov3 (4). Стрелками обозначено положение образующихся фрагментов ДНК

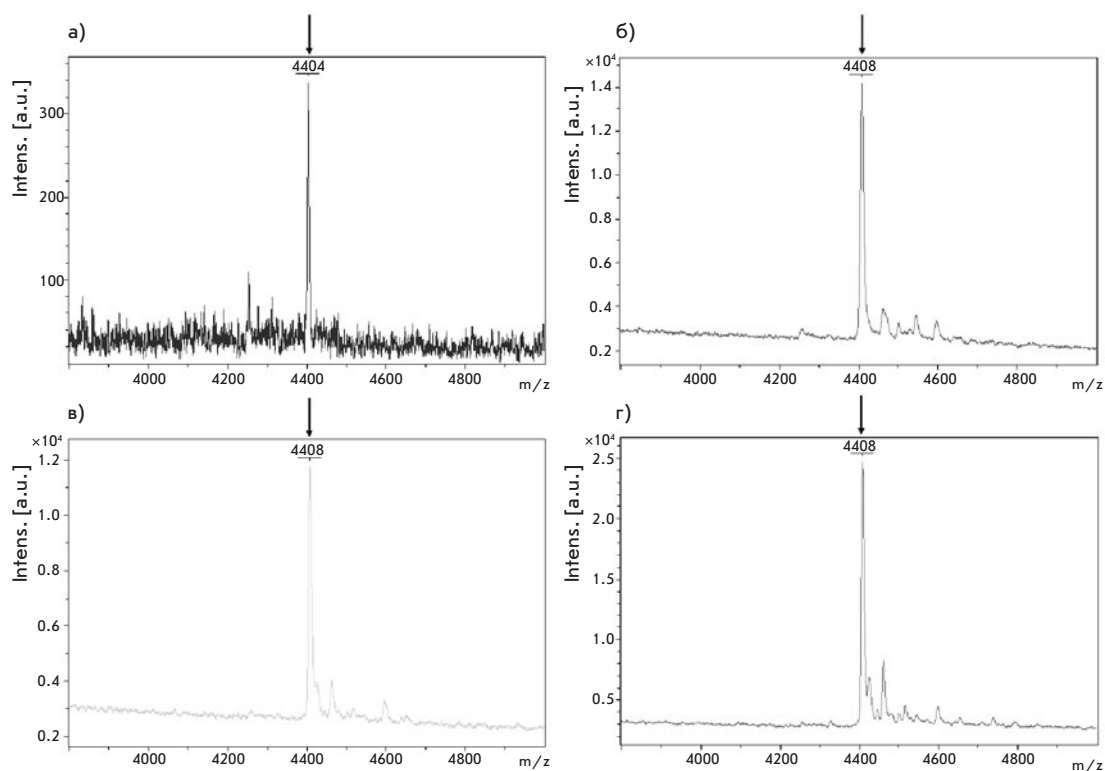


Рис. 3. Масс-спектры MALDI метилированного фрагмента ДНК, обработанного буфером для экстрактов (контроль) (а), ядерным экстрактом клеток линий CHO (б), HeLa (в), Skov3 (г)

служит первой стадией процесса деметилирования ДНК у млекопитающих. Известно, что в эмбрионах рыб вида *Danio rerio* деметилирование ДНК является многоступенчатым процессом, включающим дезаминирование 5-метилцитозина с помощью дезаминаз AID (Activation Induced deaminase)/Arobec (Apolipo-protein B RNA-editing catalytic component), удаление тимина с помощью гликозилазы MBD4 и BER-репарацию [4, 17]. В клетках млекопитающих существуют подходящие кандидаты из семейства цитозиндезаминаз – AID и Arobec1, которые коэкспрессируются с полипотентными генами в ооцитах, эмбриональных зародышевых клетках и эмбриональных стволовых клетках [18]. Однако известно, что эти ферменты осуществляют дезаминирование только в одноцепочечных РНК (Arobec1) или ДНК (AID). Кроме того, AID и Arobec дезаминируют остатки цитозина намного эффективнее, чем 5-метилцитозина. ДНК-метилтрансфераза Dnmt3b также может выполнять роль 5-метилцитозиндезаминазы в условиях низкой концентрации S-аденозилметионина (AdoMet) [19], но эта реакция проходит с очень низкой эффективностью, что делает маловероятным ее участие в глобальном деметилировании. Более того, концентрация AdoMet в клетке обычно достаточно высока.

Хорошим кандидатом на роль тимингликозилазы является гликозилаза MBD4, которая содержит метилсвязывающий и гликозилазный домен и обеспечивает удаление тимина из T/G-мисматча [20]. Хотя мыши с недостатком MBD4 жизнеспособны, у них чаще встречаются мутации в CpG-сайтах [21]. Однако MBD4 удаляет тимины из T/G-мисматчей с образованием апуриновых сайтов, которые

сразу разрезаются эндонуклеазой AP. В симметрично метилированных CpG-сайтах дезаминирование в обеих цепях ДНК должно приводить к образованию участка TG/GT. Даже если MBD4 может узнать такой участок, то после действия эндонуклеазы AP должен образоваться двойной разрыв, что привело бы к потере генетического материала. Кроме того, MBD4 удаляет урацил из U/G-мисматча быстрее, чем тимин из T/G [20].

Известен и другой механизм деметилирования ДНК, который наблюдается у растений вида *Arabidopsis thaliana* и предполагает прямое удаление основания 5-метилцитозина с помощью бифункциональных гликозилаз/лиаз (ROS1, DML2, DML3, DME) и последующую BER-репарацию [22–25]. У млекопитающих существуют две подходящие гликозилазы на эту роль: тимин-ДНК-гликозилаза (TDG) и метилсвязывающий белок MBD4. Однако и TDG, и MBD4 обладают слабой 5-метилцитозин-гликозилазной активностью по сравнению со способностью вырезать тимин [26]. Кроме того, активное деметилирование отцовского хроматина наблюдали в мышинных эмбрионах с нокаутированным геном *mbd4* [21].

Следует также сказать о других теоретически возможных механизмах деметилирования 5-метилцитозина. Это прямое удаление метильной группы с образованием цитозина и вырезание одного или более нуклеотидов, в составе которых есть 5-метилцитозин (NER-репарация). У позвоночных существуют ортологи бактериальной деметилазы (оксидоредуктазы) AlkB, осуществляющей прямое удаление метильной группы у 1-метиладенина и 3-метилцитозина в прокариотах [2]. Однако нет никаких сведений о

том, что хотя бы один из ортологов может осуществлять деметилирование 5-метилцитозина. Также бактериальной AlkB гомологично семейство гистоновых деметилаз (HDMs) [27], но ни одна из них не участвует в деметилировании ДНК. Ранее в работе [28] было показано, что метилсвязывающий белок MBD2b может непосредственно удалять метильную группу 5-метилцитозина с образованием С и метанола в качестве продуктов реакции. Однако этот результат не удалось воспроизвести в других лабораториях. Более того, мыши, лишённые MBD2b, имели нормальный фенотип и нормальный паттерн метилирования ДНК. Что касается механизма деметилирования ДНК через NER-репарацию,

то нет никаких данных, подтверждающих протекание такого процесса *in vivo*.

Таким образом, необходимо дальнейшее изучение деметилирования ДНК у млекопитающих для понимания механизма этого жизненно важного процесса. ●

Данная работа была выполнена при содействии Благотворительного фонда поддержки научных исследований «Наука за продление жизни» и при частичной поддержке гранта РФФИ 07-04-00545. Авторы выражают благодарность д.х.н. Серебряковой М.В. за проведение MALDI MS анализов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Mayer W, Niveleau A, Walter J, Fundele R, Haaf T. // Nature. 2000. V. 403. P. 501–502.
- Morgan H.D., Santos F, Green K., Dean W, Reik W. // Hum. Mol. Genet. 2005. V. 14. P. 47–58.
- Miller C.A., Sweatt J.D. // Neuron. 2007. V. 53. P. 857–869.
- Rai K., Huggins I.J., James S.R., et al. // Cell. 2008. V. 135. P. 1201–1212.
- Reiner S.L. // Hum. Mol. Genet. 2005. V. 14. P. 41–46.
- Bruniquel D., Schwartz R.H. // Nat. Immunol. 2003. V. 4. P. 235–240.
- Kersh E.N., Fitzpatrick D.R., Murali-Krishna K., et al. // J. Immunol. 2006. V. 176. P. 4083–4093.
- Northrop J.K., Thomas R.M., Wells A.D., Shen H. // J. Immunol. 2006. V. 177. P. 1062–1069.
- Vanyushin B.F., Nemirovsky L.E., Klimenko V.V., Vasiliev V.K., Belozersky A.N. // Gerontologia. 1973. V. 19. P. 138–152.
- Wilson V.L., Jones P.A. // Science. 1983. V. 220. P. 1055–1057.
- Ehrlich M. // Oncogene. 2002. V. 21. P. 5400–5413.
- Feinberg A.P., Ohlsson R., Henikoff S. // Nat. Rev. Genet. 2006. V. 7. P. 21–33.
- Wilson A.S., Power B.E., Molloy P.L. // Biochim. Biophys. Acta. 2007. V. 1775. P. 138–162.
- Kisseljova N.P., Kisseljov F.L. // Biochemistry (Mosc). 2005. V. 70. P. 743–752.
- Jones P.A., Baylin S.B. // Nat. Rev. Genet. 2002. V. 3. P. 415–428.
- Jones P.A., Laird P.W. // Nat. Genet. 1999. V. 21. P. 163–167.
- Barreto G., Schafer A., Marhold J., et al. // Nature. 2007. V. 445. P. 671–675.
- Morgan H.D., Dean W., Coker H.A., Reik W., Petersen-Mahrt S.K. // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 52353–52360.
- Metivier R., Gallais R., Tiffoche C., et al. // Nature. 2008. V. 452. P. 45–50.
- Hendrich B., Hardeland U., Ng H.H., Jiricny J., Bird A. // Nature. 1999. V. 401. P. 301–304.
- Millar C.B., Guy J., Sansom O.J., et al. // Science. 2002. V. 297. P. 403–405.
- Gehring M., Huh J.H., Hsieh T.F., et al. // Cell. 2006. V. 124. P. 495–506.
- Gong Z., Morales-Ruiz T., Ariza R.R., et al. // Cell. 2002. V. 111. P. 803–814.
- Morales-Ruiz T., Ortega-Galisteo A.P., Ponferrada-Marin M.I., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 6853–6858.
- Penterman J., Zilberman D., Huh J.H., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 6752–6757.
- Cortazar D., Kunz C., Saito Y., Steinacher R., Schar P. // DNA Repair (Amst.). 2007. V. 6. P. 489–504.
- Ozer A., Bruick R.K. // Nat. Chem. Biol. 2007. V. 3. P. 144–153.
- Bhattacharya S.K., Ramchandani S., Cervoni N., Szyf M. // Nature. 1999. V. 397. P. 579–583.