

# **РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК**

Институт биоорганической химии имени академиков

М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова

Лаборатория сравнительной и функциональной геномики

Школа на Юго-Западе №1543

---

## **Инсерционный полиморфизм Alu-элементов населения города Москвы**

Н. Климанова, 10 «Б»

А. Заренкова, 10 «Б»

Научный руководитель:

доктор биологических наук

Ю. Б. Лебедев

Москва – 2019

## Оглавление

Введение.....	стр. 2
Обзор литературы.....	стр. 3
Материалы и методы.....	стр. 10
Результаты.....	стр. 13
Выводы.....	стр. 26
Список литературы.....	стр. 27

## Список сокращений

**млн** – миллион(ы)

**п.о.** – пара оснований

**ПЦР** – полимеразная цепная реакция

**МГМ** – молекулярно-генетический маркер

**EN** (*Endonuclease*) – эндонуклеаза

**LINE** (*Long Interspersed Element*) – длинный диспергированный повтор

**SINE** (*Short Interspersed Element*) – короткий диспергированный повтор

**SNP** (*Single nucleotide polymorphism*) – однонуклеотидный полиморфизм

## Введение

Молекулярно-генетические маркеры (МГМ) — это полиморфные участки генома с определенной локализацией на хромосомах, наследование которых можно изучить с помощью ПЦР. Изначально,

МГМ использовали для построения различных генетических карт. В настоящее время, МГМ используют в основном для быстрого определения наличия тех или иных аллелей у разных людей. Это помогает в изучении различных болезней, ассоциируемых с разными вариантами генов, в определении родственных связей, а также в идентификации личности. В качестве МГМ в генетике используют митохондриальную ДНК, Y-хромосому, различные SNP, а также и Alu-элементы. Как генетические маркеры они широко используются в молекулярной генетике, так как обладают высокой стабильностью, отсутствием механизма удаления из специфического локуса, низким уровнем инсерций *de novo* и главное, природа перемещения Alu-элементов позволяет достаточно точно выявлять начальное и конечное состояние локуса [1].

### **Цели и задачи работы**

Целью данной работы является изучение новой, ранее неизвестной, полиморфной инсерции Alu-элемента в геноме человека. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Создать молекулярно-генетический маркер для ПЦР анализа.
2. Определить частоту встречаемости полиморфной инсерции Alu-элемента у населения города Москвы.
3. Проверить возможные родственные связи нескольких семей, используя тройные образцы геномной ДНК.

### **Обзор Литературы**

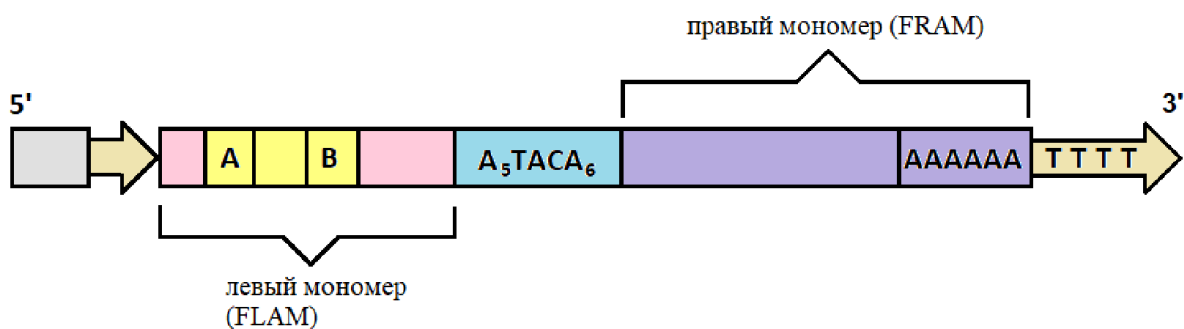
Alu-повторы представляют собой один из классов мобильных элементов, то есть последовательностей ДНК, способных размножаться и перемещаться внутри генома вида. Мобильные элементы составляют около 45% генома человека [2]. Их количество продолжает увеличиваться и, в результате негативных эффектов их транспозиции, они способствуют развитию значительного числа заболеваний человека. Все эукариотические геномы содержат

мобильные элементы, но количество и активность разных классов элементов сильно различается между геномами. Наиболее изученными группами мобильных элементов являются длинные диспергированные повторы (LINE), состоящие из нескольких тысяч п.о., и короткие диспергированные повторы (SINE), содержащие менее 500 п.о. SINE элементы подразделяются на несколько групп в зависимости от их строения и происхождения. Одним из многочисленных семейств SINE является семейство Alu-повторов, названное так из-за присутствия в их последовательности сайтов рестрикции *EN AluI*. Свыше 10% генома человека составляют именно Alu-элементы [3]. Транспозиционная активность Alu-повторов является важнейшим источником инсерционного мутагенеза в геноме человека.

#### *Происхождение и структура Alu-элементов.*

Распространение Alu-элементов по геному началось около 65 млн лет назад, поэтому можно утверждать, что происхождение и амплификация данных элементов эволюционно недавнее событие. Они возникли в период ранней эволюции приматов от 7SL РНК [3].

Alu-элемент представляет собой димер длиной примерно 300 п.о. Он состоит из двух повторов около 130 п.о. каждый, соединенных “голова-к-хвосту”. Левый мономер (*Free Left Alu Monomer* – FLAM), расположенный на 5’ конце, немного отличается от правого мономера (*Free Right Alu Monomer* – FRAM), расположенного на 3’ конце (Рис. 1). Правый мономер содержит вставку в 30 п.о. и не имеет промоторной области, состоящей из А и В боксов и узнаваемой РНК-полимеразой III. Alu-мономеры гомологичны 5’ и 3’ концам 7SL РНК [1].



**Рисунок 1.** Схема строения Alu-элемента.

A и B – бокс A и бокс B – части промотора для РНК-полимеразы III; A<sub>5</sub>TACA<sub>6</sub> – последовательность, разделяющая левый и правый мономеры; AAAAAA –поли(A)-последовательность на 3' конце. Стрелками обозначены прямые повторы, окружающие Alu-элемент.

#### *Классификация Alu-элементов.*

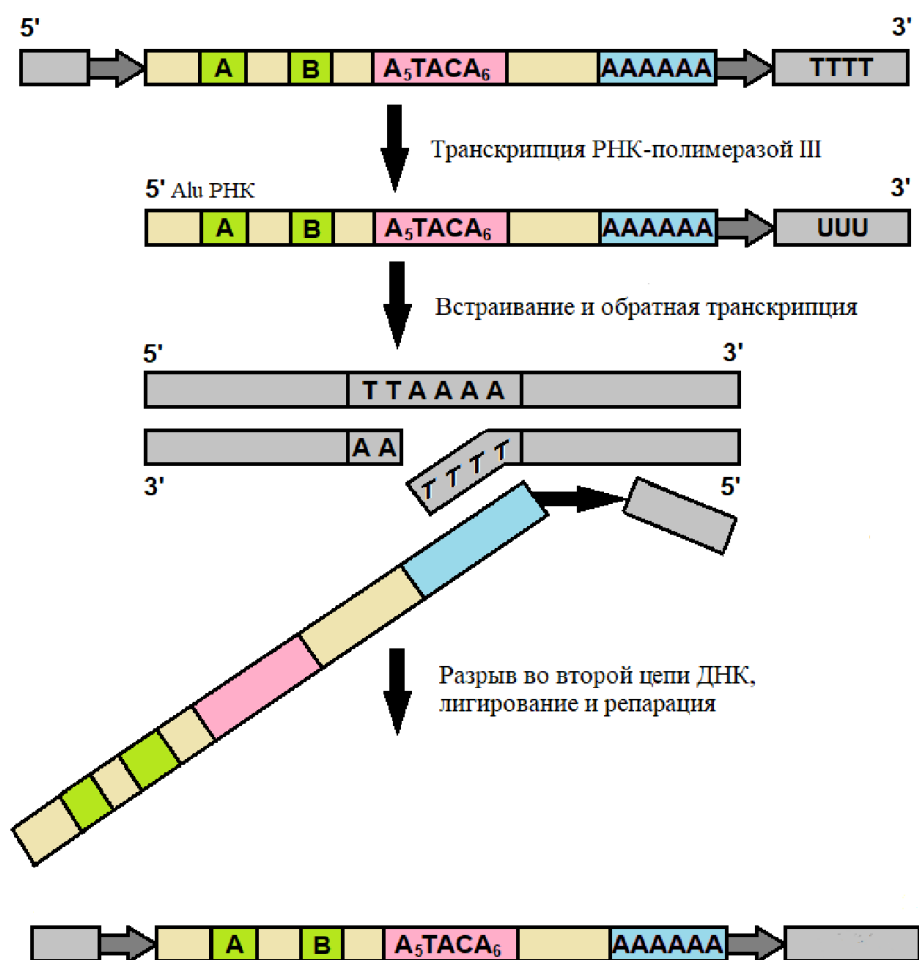
Все Alu-повторы делятся на три семейства, различающихся по времени происхождения: старое (J), среднее (S) и молодое (Y). А каждое семейство подразделяется на ряд подсемейств.

Семейство AluJ – это семейство самых старых представителей Alu-элементов, которое было активно в геномах приматов около 60 млн лет назад. Семейство AluS, среднее по генетическому возрасту семейство, возникло примерно 35 млн лет назад [4]. Представители среднего и старого семейств могут иметь мутации, характерные как для одной, так и для другой группы, поэтому данные семейства обладают гетерогенностью [3]. Молодое же семейство Alu-элементов отличается наиболее выраженной однородностью. Оно возникло около 20 млн лет назад, однако некоторые представители данного

семейства возникли настолько недавно, что не успели зафиксироваться в популяции, поэтому такие инсерции остаются полиморфными в популяциях человека.

#### *Аmplификация Alu-элементов.*

Аmplификация Alu-повторов происходит по механизму обратной транскрипции (Рис. 2). Как уже было сказано, на 5' конце Alu есть промотор к РНК-полимеразе III, которая и осуществляет транскрипцию Alu-элемента. Транскрипция начинается с первого нуклеотида на 5' конце и заканчивается после сигнала полиаденилирования на 3' конце элемента. Сам Alu не имеет последовательностей, кодирующих какие-либо белки или обратную транскриптазу. Поэтому в процессе транспозиции Alu-элемента задействован фермент, участвующий в амплификации LINE. LINE-повторы кодируют функционально активную ревертазу, которая также имеет и эндонуклеазный домен [3].



**Рисунок 2.** Схема амплификации Alu-элемента.

Эффективность амплификации Alu-элемента зависит от множества факторов, влияющих на транскрипцию РНК-полимеразы III, обратную транскрипцию и встраивание элемента в геном. Транскрипция Alu зависит от окружающих ее последовательностей, уровня метилирования, структуры хроматина, а также от внутренних мутаций и различных белков, влияющих на стабильности Alu-транскрипта и на функционирование транскрипционного аппарата. Известно, что копии Alu-элементов эффективнее считываются РНК-полимеразой III,

если они встроились в транскрипционно активный участок генома. Большую роль в амплификации Alu-элемента играет и поли(А)-последовательность. Она стабилизирует конец транскрипта и привлекает ревертазу, а после интеграции Alu-элемента в геном поли(А)-последовательность сразу мутирует [3]. Поэтому отдельные Alu-элементы редко сохраняют способность к транспозиции длительное время. Таким образом, только несколько Alu-повторов в геноме человека транспозиционно активны.

### *Полимеразная цепная реакция (ПЦР)*

Метод амплификации специфических участков ДНК путем множества циклов ее синтеза, после каждого из которых кратковременным нагреванием разделяют комплементарные цепи ДНК. Сейчас большая часть клонирований производится именно с помощью ПЦР. Метод широко применяется для создания большого числа копий любого гена из небольшого образца человеческой ДНК. Также ПЦР применяют в диагностических тестах по поиску наследственных заболеваний и в судебной медицине [5].

Для проведения ПЦР используют следующие компоненты:

1. ДНК-матрица
2. Пара праймеров
3. ДНК-полимераза
4. Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (dNTP)
5. Буферный раствор
6. Ионы  $Mg^{2+}$

Следует заметить, что пара праймеров должна соответствовать следующим пунктам:

- Длина каждого праймера должна составлять от 18 до 24 п.о.
- Праймеры должны содержать 40-60% G/C
- Быть комплементарными противоположным концам разных цепей данного фрагмента
- Температура отжига праймеров должна быть выше 60°C
- Оба праймера должны быть полностью комплементарны единственному участку во всем геноме
- У праймеров должны отсутствовать неспецифические вторичные структуры

Реакция проходит в 3 этапа (Рис. 3) [6]:

### 1. Денатурация

Двухцепочечную ДНК-матрицу нагревают до 94—96 °С на 0,5—2 мин. При плавлении водородные связи между двумя цепями ДНК разрушаются и цепи расходятся.

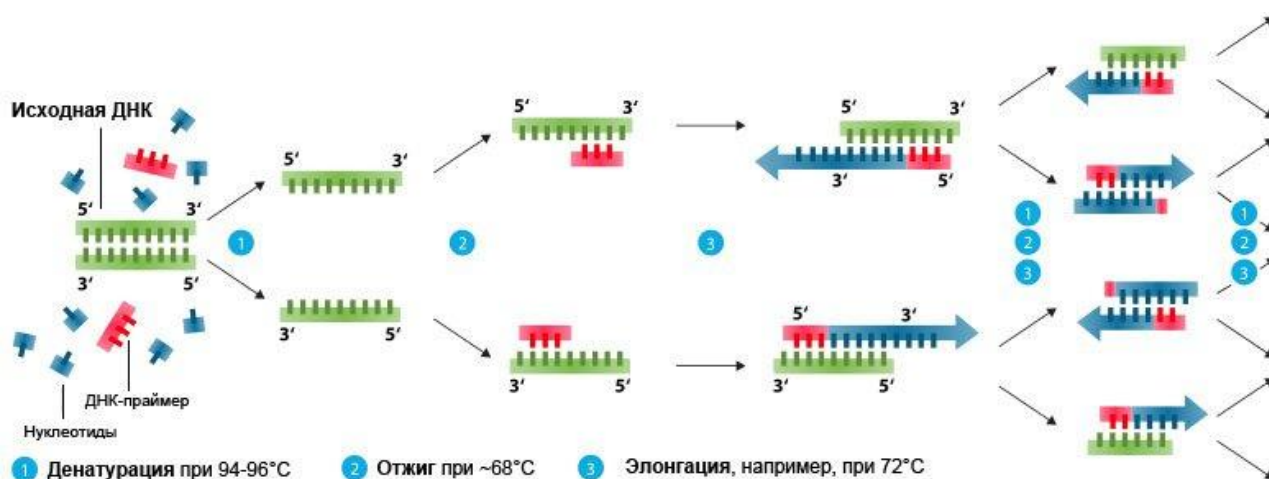
### 2. Отжиг праймеров

После того, как цепи ДНК разошлись, температуру в амплификаторе понижают до 60-68°C. Праймеры связываются с одноцепочечной матрицей. Время стадии отжига – 30 секунд.

### 3. Элонгация

ДНК-полимераза реплицирует матричную цепь, используя праймер в качестве затравки. Полимераза начинает синтез второй цепи от 3'-

конца праймера. Температура элонгации зависит от полимеразы. Обычно, время элонгации принимают равным одной минуте на каждую тысячу п.о.



**Рисунок 4.** Этапы ПЦР.

При диагностике методом ПЦР можно выявить самые разные инфекции, такие как ВИЧ, туберкулез, герпес, клещевой энцефалит и многие другие заболевания. Также ПЦР используют в криминалистике и при установлении отцовства. У данного метода много плюсов: он универсален, точен и высокочувствителен. Благодаря своему широкому охвату, оперативности и невысокой стоимости метод ПЦР является одним из эффективнейших диагностических инструментов в молекулярной биологии [5].

## Материалы и методы

### *Реактивы:*

ДНК-матрицы, mQ, дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (ThermoScientific, США), PRAMEF4\_For, PRAMEF4\_Rev,

PRAMEF4\_For2 (таблица 1), агароза LE 2 (Helicon, Россия), бромистый этидий, 4x Gel Loading Dye Blue, 100+ bp DNA Ladder NL002.

*Препараты ферментов:*

- HS Taq DNA-полимераза (Evrogen, Россия)

*Буферные растворы:*

- Буфер для проведения ПЦР-реакций: 10x Turbo buffer (Evrogen, Россия)
- Буфер TBE (0,5x)

Название праймера	Нуклеотидная последовательность (5' -> 3')	Длина праймера, нт	Расчетная температура отжига
PRAMEF4_For	TGAACCCCCCAGTAGCTGAC	20	62°C
PRAMEF4_Rev	CATGAGGAATCTTCAGAAACTC AT	24	61°C
PRAMEF4_For2	GTCTGCAGAGAAAGCTCACCCAC	22	62°C

**Таблица 1.** Структура праймеров.

*Постановка ПЦР*

В отдельной пробирке изготавливали master mix, рассчитывая количество компонентов относительно числа ДНК-матриц (таблица2). Пробирки с ДНК-матрицами нумеровали. В каждую пробирку с 1 мкл ДНК-матрицы добавляли 14 мкл master mix. Затем, содержимое

пробирок тщательно перемешивали и помещали в ПЦР-амплификатор, где происходила реакция при следующих условиях:

0. 95 °С, 3 min – не повторяющийся предварительный нагрев реакционной смеси для полной денатурации ДНК.
1. 95 °С, 20 sec – денатурация
2. 60 °С, 20 sec – отжиг праймеров
3. 72 °С, 40 sec – элонгация

Каждая реакция состояла из 32 циклов амплификации.

DNA	1	4	6	8
Master mix	14 мкл	56 мкл	84 мкл	112 мкл
10x Turbo buffer	1,5	6	9	12
dNTP	0,3	1,2	1,8	2,4
Primer mix	0,6	2,4	3,6	4,8
HS Taq	0,3	1,2	1,8	2,4
mQ	12	47	70	91

**Таблица 2.**Расчет для ПЦР.

### *Электрофорез ПЦР-продуктов*

Сначала изготавливался агарозный гель. Смешивали в колбе 60 мл буфера TBE (0,5x) и 0,7 г агарозы, затем доводили данную смесь до кипения, добавляли 6 мкл бромистого этидия и заливали данным раствором заранее подготовленную плочку. К каждому ПЦР-продукту добавляли 2 мкл 4x Gel Loading Dye Blue. Затем заливали подкрашенные ПЦР-продукты в лунки агарозного геля, а в первую лунку наносили маркер 100+ bp DNA Ladder NL002. Для получения

электрофореграмм использовали у/ф подсветку и компьютерную программу “GEL imager”.

## Результаты

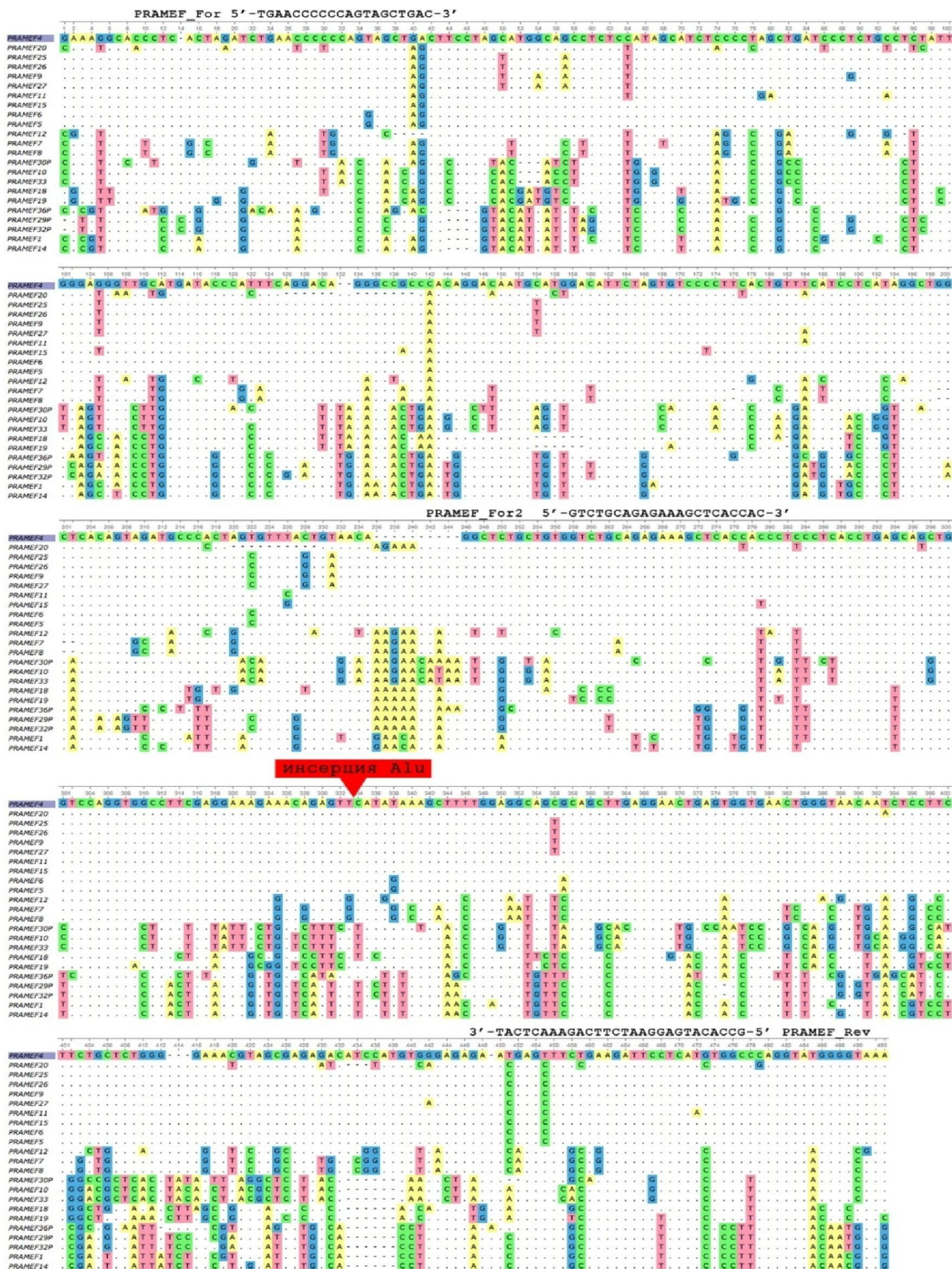
### *Подбор праймеров*

Alu находится в одном из генов генного семейства, поэтому нам нужно было подобрать праймеры, которые будут отжигаться только с одного гена, который содержит инсерцию Alu (рис. 5).

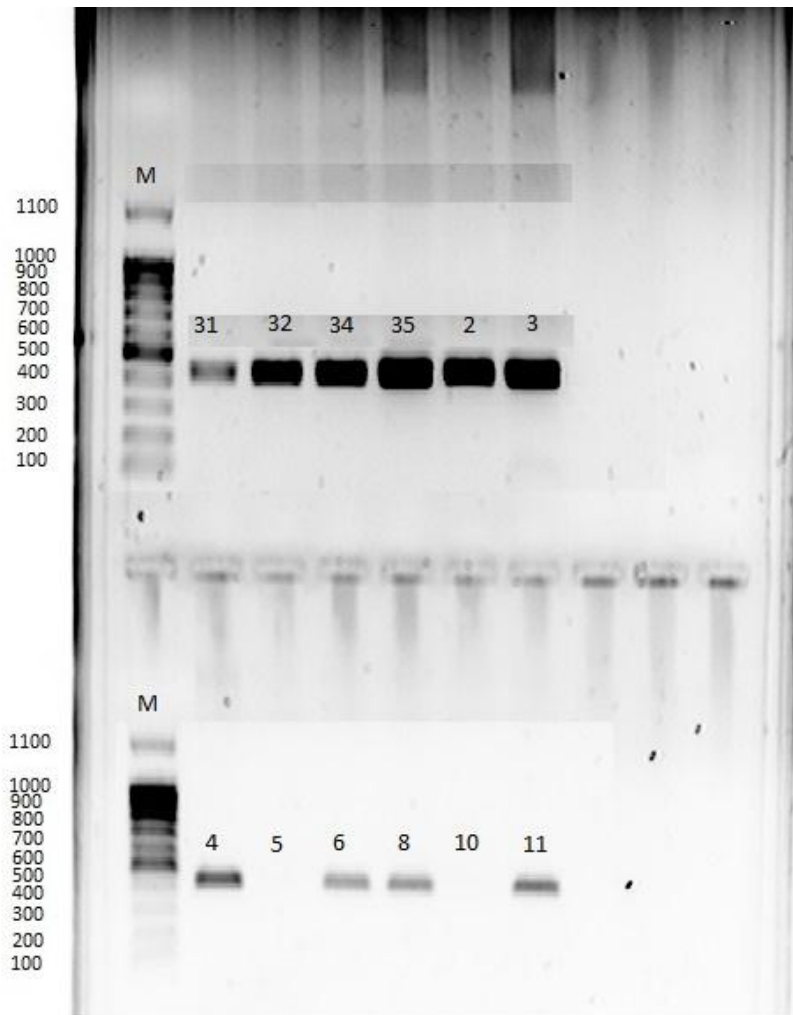
Первая пара праймеров, которую мы использовали (PRAMEF4\_For/PRAMEF4\_Rev), оказалась не селективной, т.к. при амплификации геномной ДНК от 12 неродственных людей мы не обнаружили Alu-содержащий фрагмент ни у одного из них. Почти у всех обнаружили предковый аллель, в котором нет Alu (рис.6). Это произошло из-за того, что при амплификации гена, амплифицировался не один, нужный нам ген с Alu, а несколько генов такого семейства, у которых в этих местах Alu- последовательности не было. В результате чего, мы не увидели длинного пробега.

Для таких образцов геномной ДНК, где и предкового аллеля не нашли, мы поставили проверочную ПЦР-реакцию с другой парой праймеров. Обратный праймер оставили тот же самый (PRAMEF4\_Rev), а вместо прямого праймера использовали кусочек, комплементарный Alu-повтору в нужном направлении. По результатам такого ПЦР мы выяснили, что длина получившегося пробега — это длина Alu-содержащего ПЦР-фрагмента (рис. 7). Так мы доказали, что геномы этих людей гомозиготны по Alu-содержащему аллелю.

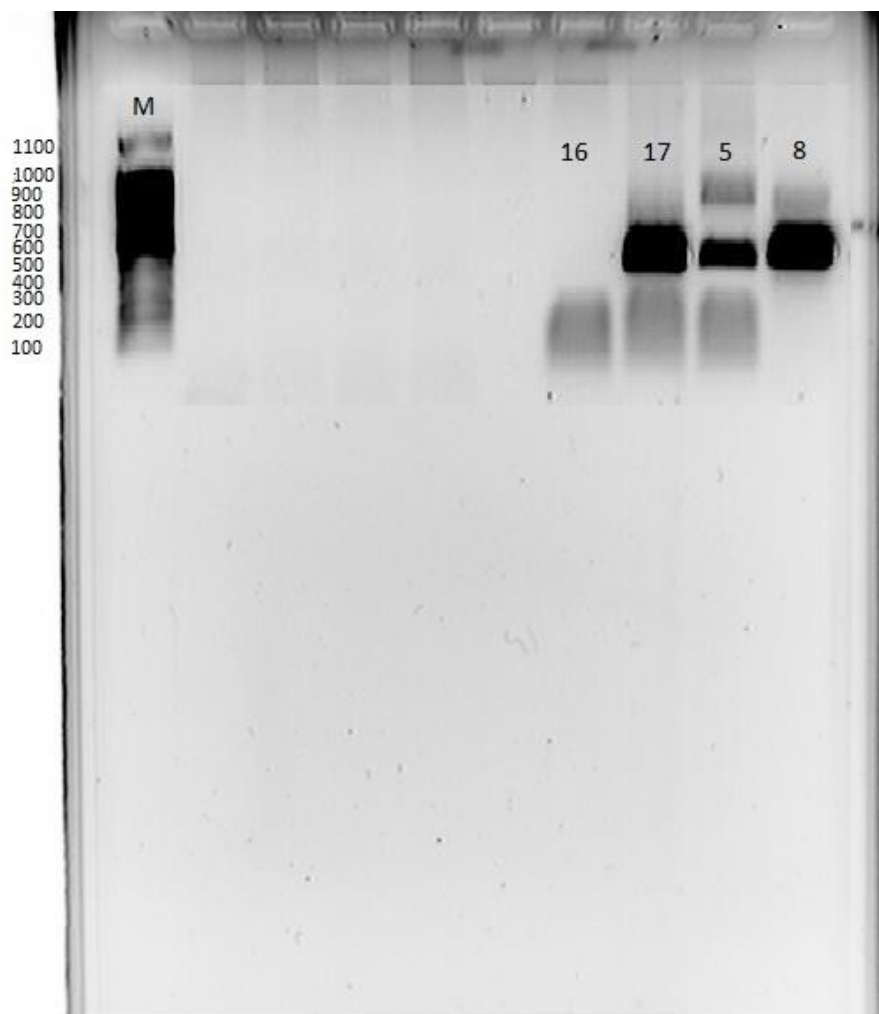
Поэтому мы выбрали другой встречный праймер (PRAMEF4\_For2), который полностью соответствовал участкам нескольких генов семейства PRAMEF, а также участку гена, содержащему инсерцию Alu. Таким образом, в проведении дальнейших экспериментов мы использовали пару праймеров PRAMEF4\_For2/PRAMEF4\_Rev (рис.8).



**Рисунок 5.**Схема множественного выравнивания праймеров PRAMEF4\_For, PRAMEF4\_For2 и PRAMEF4\_Rev.

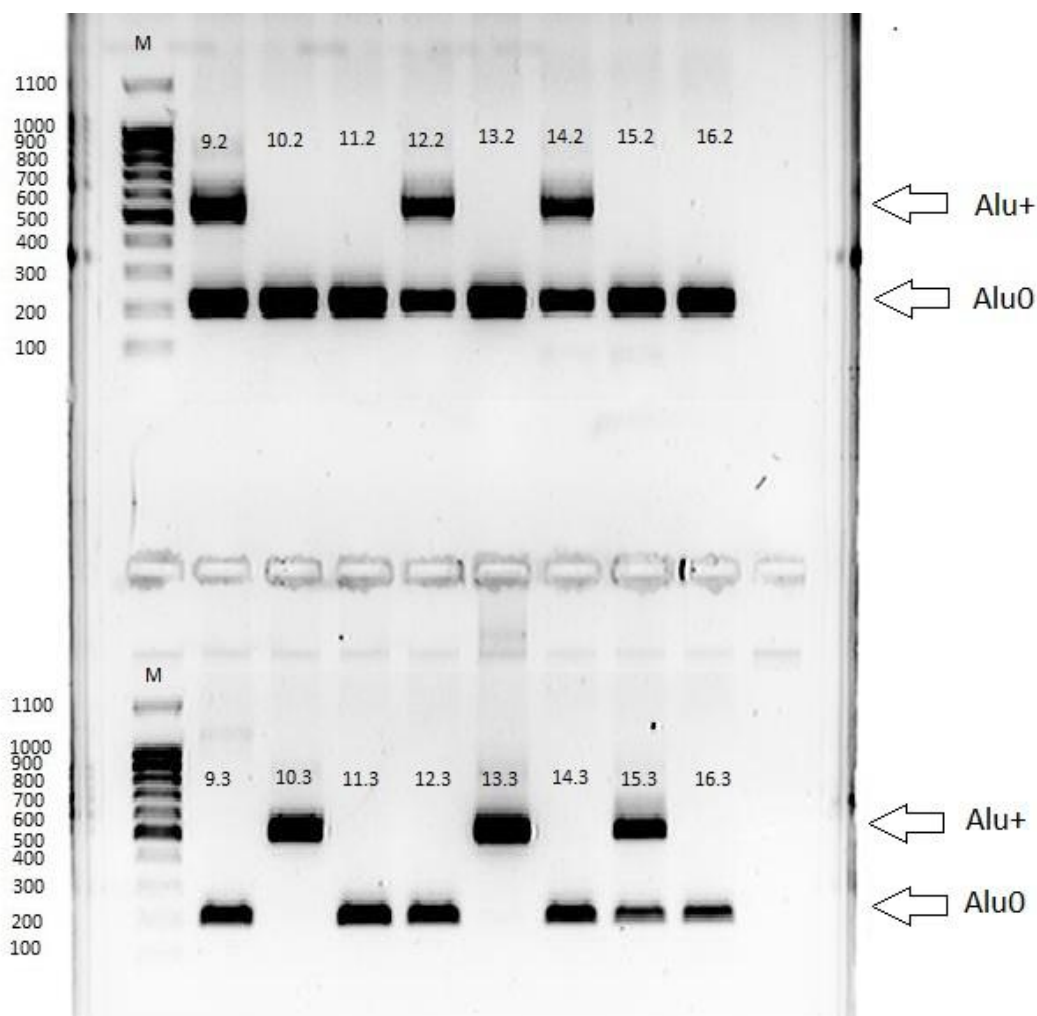


**Рисунок 6.** Электрофореграмма ПЦР-продуктов, с использованием пары праймеров PRAMEF4\_For/PRAMEF4\_Rev.



**Рисунок 7.** Электрофореграмма ПЦР-продуктов с использованием праймера PRAMEF4\_Rev и кусочка, комплементарного Alu-повтору.

ПЦР - фрагменты гена, содержащего инсерцию Alu, должны быть равны или длиннее 300 п.о.



**Рисунок 8.** Результаты генотипирования с новой парой праймеров PRAMEF4\_For2/PRAMEF4\_Rev.

*Определение частоты встречаемости полиморфной инсерции Alu у современного населения Москвы*

Во время проведения работы мы использовали ДНК, взятую у 87 различных доноров, 63 из которых были взяты у членов 21 семьи, по 3 человека каждая (ребенок, родитель 1, родитель 2). Однако при проведении эксперимента, ПЦР-продукт, выделенный из ДНК трех детей (9.1,15.1,19.1), одного родителя (3.3) и четырех взрослых людей (14,22,25,30) не был виден на электрофореграмме, поэтому при подсчете частоты встречаемости Alu+ мы их не учитывали (таблица 3).

№ образца ДНК	Восстановленный генотип
1.1	Alu+/Alu0
2.1	Alu0/Alu0
3.1	Alu+/Alu0
2.1	Alu0/Alu0
2.2	Alu0/Alu0
2.3	Alu+/Alu0
3.1	Alu0/Alu0
3.2	Alu+/Alu0
3.3	-
4.1	Alu+/Alu0
4.2	Alu+/Alu0
4.3	Alu+/Alu0
5.1	Alu+/Alu0
5.2	Alu+/Alu0
5.3	Alu+/Alu0
6.1	Alu0/Alu0
6.2	Alu0/Alu0
6.3	Alu0/Alu0
7.1	Alu0/Alu0
7.2	Alu0/Alu0
7.3	Alu0/Alu0
8.1	Alu0/Alu0
8.2	Alu0/Alu0
8.3	Alu+/Alu0

9.1	-
9.2	Alu+/Alu0
9.3	Alu+/Alu0
10.1	Alu+/Alu0
10.2	Alu0/Alu0
10.3	Alu+/Alu+
11.1	Alu0/Alu0
11.2	Alu0/Alu0
11.3	Alu0/Alu0
12.1	Alu+/Alu0
12.2	Alu+/Alu0
12.3	Alu0/Alu0
13.1	Alu+/Alu0
13.2	Alu0/Alu0
13.3	Alu+/Alu+
14.1	Alu0/Alu0
14.2	Alu+/Alu0
14.3	Alu0/Alu0
15.1	-
15.2	Alu0/Alu0
15.3	Alu+/Alu0
16.1	Alu0/Alu0
16.2	Alu0/Alu0
16.3	Alu0/Alu0
17.1	Alu0/Alu0
17.2	Alu0/Alu0
17.3	Alu0/Alu0

18.1	Alu0/Alu0
18.2	Alu0/Alu0
18.3	Alu0/Alu0
19.1	-
19.2	Alu0/Alu0
19.3	Alu0/Alu0
20.1	Alu0/Alu0
20.2	Alu0/Alu0
20.3	Alu0/Alu0
21.1	Alu0/Alu0
21.2	Alu0/Alu0
21.3	Alu+/Alu0
2	Alu0/Alu0
3	Alu+/Alu0
4	Alu+/Alu0
5	Alu+/Alu+
6	Alu0/Alu0
8	Alu+/Alu0
10	Alu0/Alu0
11	Alu0/Alu0
13	Alu+/Alu0
14	-
16	Alu+/Alu+
17	Alu+/Alu+
22	-
23	Alu+/Alu0
24	Alu+/Alu0
25	-
27	Alu+/Alu0
28	Alu+/Alu0
29	Alu0/Alu0
30	-

31	Alu0/Alu0
32	Alu0/Alu0
34	Alu0/Alu0
35	Alu0/Alu0

**Таблица 3.** Результаты генотипирования.

При подсчете частоты встречаемости Alu мы не брали ПЦР-продукты, выделенные из ДНК ребенка и одного из его родителей одновременно, чтобы избежать неточности в результатах из-за наследственной передачи материала в связи с родственными связями.

Частота встречаемости Alu+ среди взрослых людей (таблица 4)

Всего людей: 61

Аллелей: 122

Длинных аллелей (с Alu+): 27

Частота встречаемости инсерции Alu среди взрослых = 0.26

Размер выборки(чел.)		61
Число найденных генотипов	Alu+/Alu+	5
	Alu+/ Alu0	22
	Alu0/ Alu0	34
Частота встречаемости аллеля Alu+		0.26

**Таблица 4.** Частота встречаемости Alu+ среди взрослых людей.

Частота встречаемости Alu+ среди детей из исследуемых семей и взрослых, не входящих в эти семьи (таблица 5).

Всего людей: 38

Аллелей: 76

Длинных аллелей (с Alu+): 17

Частота встречаемости инсерции Alu среди детей из исследуемых семей и взрослых, не входящих в эти семьи = 0.26

Размер выборки(чел.)		38
Число найденных генотипов	Alu+/Alu+	3
	Alu+/ Alu0	14
	Alu0/ Alu0	21
Частота встречаемости аллеля Alu+		0.26

**Таблица 5.** Частота встречаемости Alu+ среди детей из исследуемых семей и взрослых, не входящих в эти семьи.

Частота встречаемости Alu+ среди детей из исследуемых семей (таблица 6)

Всего детей: 18

Аллелей: 32

Длинных аллелей (с Alu+): 6

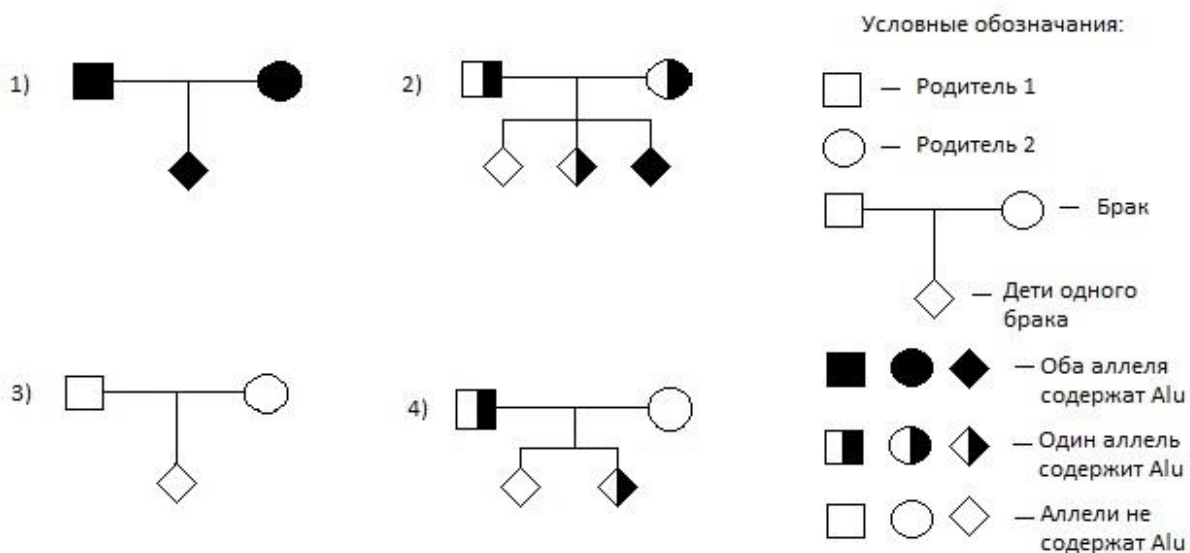
Частота встречаемости инсерции Alu среди детей из исследуемых семей = 0.17

Размер выборки(чел.)		18
Число найденных генотипов	Alu+/Alu+	0
	Alu+/ Alu0	6
	Alu0/ Alu0	12
Частота встречаемости аллеля Alu+		0.17

**Таблица 6.** Частота встречаемости Alu+ среди детей из исследуемых семей.

*Проверка родственных связей в нескольких семьях*

Во время проведения работы мы использовали образцы ДНК, взятые у представителей 21 семьи по три человека каждая (ребенок, родитель 1, родитель 2).



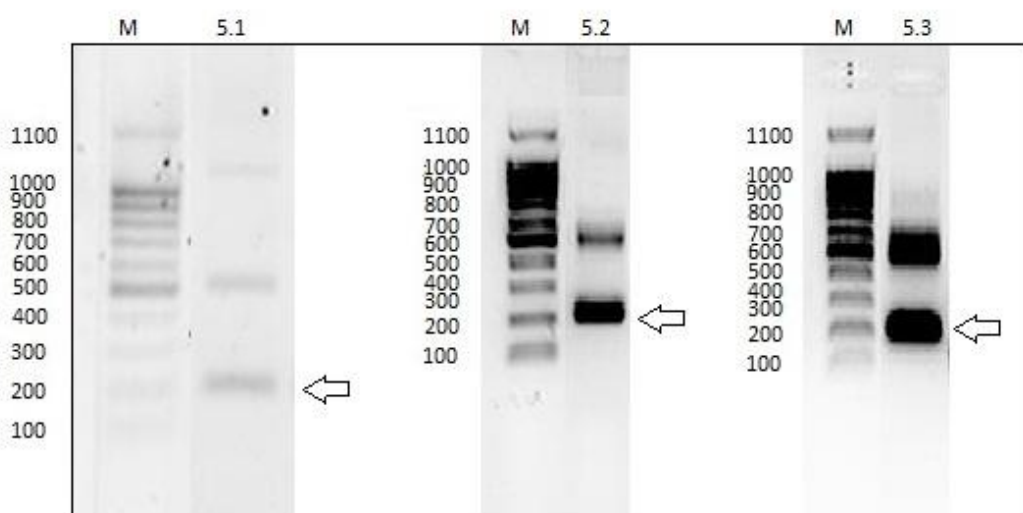
**Рисунок 9.** Рисунок генеалогии (возможного) потомства для родительских пар.

Согласно рис.9 очевидно, что у родительской пары с генотипами 1) и 3), ребенок будет иметь тот же генотип, что его родители. Это подтверждено полученными нами электрофореграммами ПЦР-продуктов ДНК членов семьи №5 и семьи №7 (рис. 10-11).

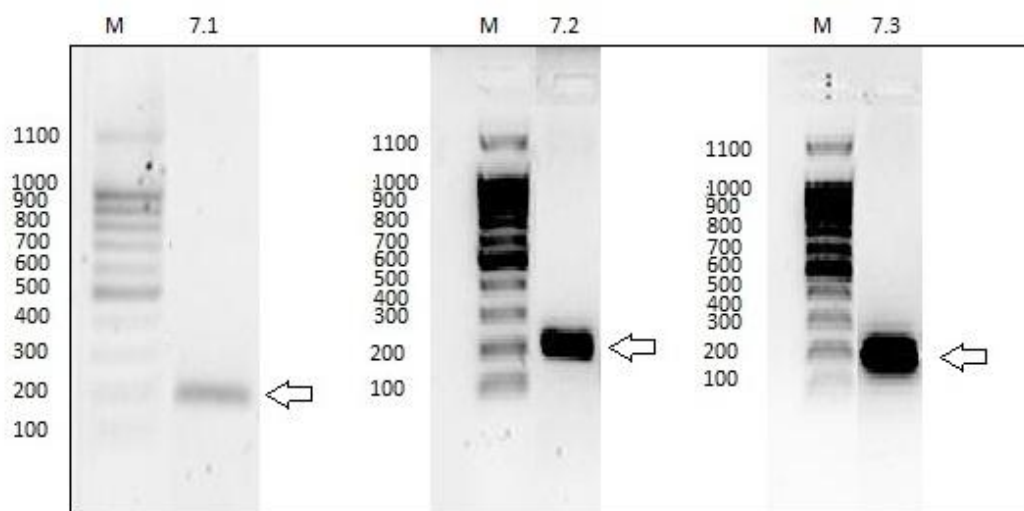
Однако, у родительских пар с генотипами 2) и 4) (рис. 9), мы не можем точно предсказать генотип ребенка, т.к. он может быть таким же как у одного из родителей, или отличаться от генотипа обоих родителей. Примером такой ситуации могут являться полученные нами электрофореграммы ПЦР- продуктов ДНК членов семьи №8 и семьи №13 (рис.12-13).

Условные обозначения:

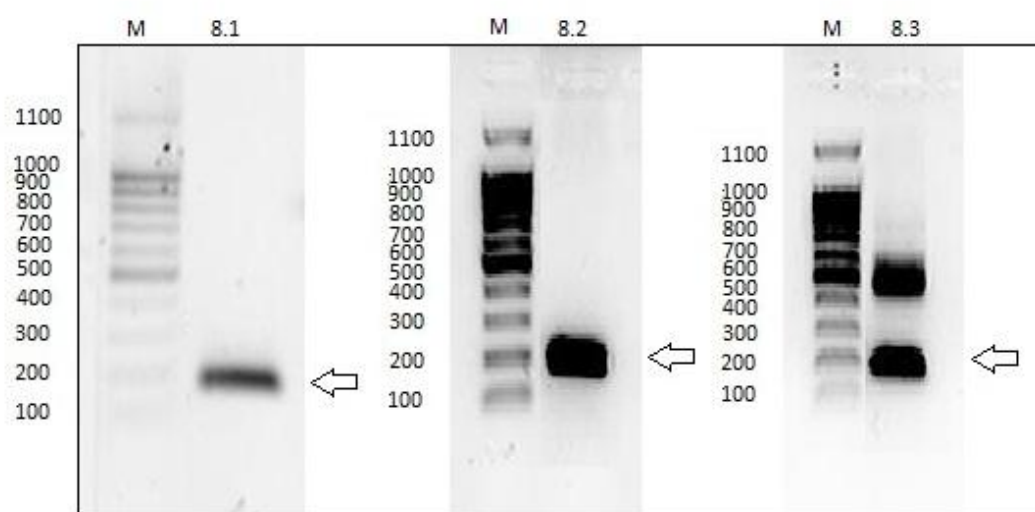
← - положение ПЦР - фрагмента аллеля "Alu-".



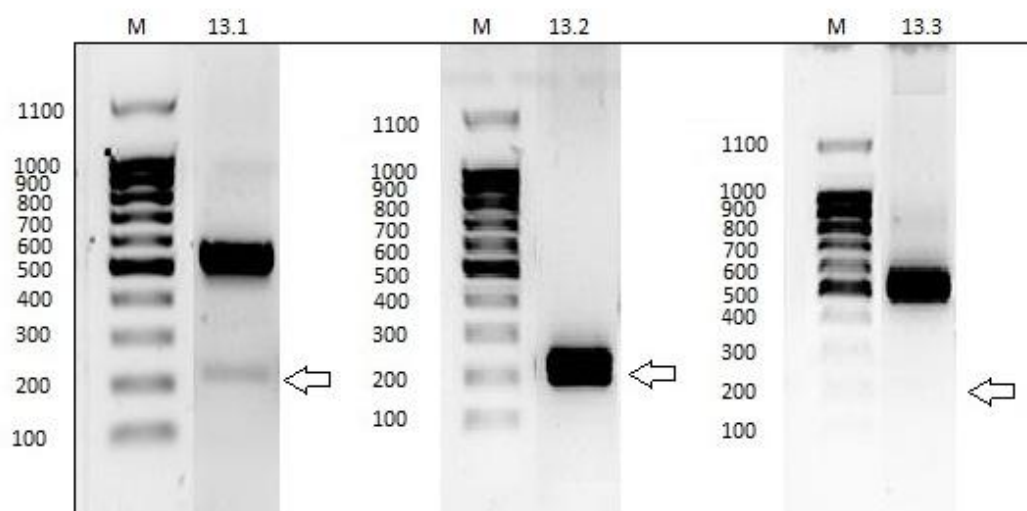
**Рисунок 10.** Семья №5 с инсерцией Alu. Слева направо: ребенок, родитель 1 и родитель 2.



**Рисунок 11.** Семья №7 без инсерции Alu. Слева направо: ребенок, родитель 1 и родитель 2.



**Рисунок 12.** Семья №8. Слева направо: ребенок, родитель 1 и родитель 2. Инсерция Alu есть только у родителя 2, а у ребенка и родителя 1 ее нет.



**Рисунок 13.** Семья №13. Слева направо: ребенок, родитель 1 и родитель 2. Инсерция Alu есть у ребенка и родителя 2, а у родителя 1 ее нет.

### Выводы

1. Создан новый МГМ на основе открытой в лаборатории полиморфной инсерции Alu в гене PRAMEF4, меланомного семейства генов.
2. При использовании полиморфной Alu-инсерции в качестве МГМ, мы смогли установить между тремя выявленными родственниками родственные связи. Таким образом, данный молекулярно-генетический маркер может применяться для установления возможных родственных связей между ближайшими родственниками (мать, отец, ребенок).
3. Частота встречаемости данной инсерции Alu в геномах представителей населения Москвы колеблется в пределах от 0.17 до 0.26. Наименьшее значение у нас получилось в небольшой выборке (18 человек), а в двух других бóльших выборках (38 и 61 человек) значения оказались одинаковыми, что позволяет считать их более точными.

## Благодарности

Мы благодарим С. М. Глаголева и Н. С. Глаголеву за организацию биологической практики; Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова (Лаборатория сравнительной и функциональной геномики) за предоставленное место работы, оборудование и помощь в постановке экспериментов. Особую благодарность хотим выразить нашему научному руководителю Ю. Б. Лебедеву за помощь в проведении и написании работы, а также А. Ю. Комкову за предоставленные ДНК-матрицы и помощь в постановке ПЦР и подборе праймеров.

## Литература

1. Batzer M.A., Deininger P.L., 2002. Alu repeats and human genomic diversity. Nature Publishing Group, volume 3, p. 370-380.
2. Амосова А.Л., 2007. Инсерционный полиморфизм Alu-ретроэлементов и его влияние на транскрипционную активность генов человека: дис. ... канд. техн. наук: 25.00.15. - Моск. гос. университет, Москва, 2017 - 260 с.
3. Устюгова С.В., 2007. Исследование влияния LINE 1 элементов в интронах генов человека на их транскрипцию: дис. ... канд. техн. наук: 25.00.15. - Моск. гос. университет, Москва, 2017 - 260 с.
4. Жумина А.Г., 2011. Применение полимеразной цепной реакции в медицине [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://articlekz.com/article/12066>
5. Ткаченко В., 2016. Установление родственных связей с помощью молекулярно-генетических маркеров на основе полиморфных инсерций Alu-элементов [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.bioclass.ru/files/def16/tkachenko.pdf>
6. Хитринская И.Ю., Степанов В.А., Пузырев В.П. и др., 2003. Alu-повторы в геноме человека. Молекулярная биология, том 37, №3, стр. 382-391.