



УДК 575.313

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КАРТИРОВАНИЕ НА ХРОМОСОМЕ 19 ЧЕЛОВЕКА ХРОМОСОМСПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОВТОРЯЮЩЕГОСЯ ЭЛЕМЕНТА, ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНО СВЯЗЫВАЮЩЕГОСЯ С ЯДЕРНЫМ МАТРИКСОМ

© 1999 г. И. П. Чернов[#], А. С. Поляков, С. Б. Акопов, Л. Г. Николаев,
Т. Л. Ажикина, М. Б. Костина, Е. Д. Сverdlov

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 17.07.1998 г.

Принята к печати 07.09.1998 г.

Из библиотеки последовательностей хромосомы 19 человека, специфически связывающихся с ядерным матриксом (MAR-последовательности), выделен и охарактеризован фрагмент длиной около 300 п.о. (CEA-MAR). CEA-MAR повторяется более 10 раз в локусах хромосомы 19, содержащих элементы, сходные с генами семейства канцероэмбрионального антигена (carcinoembryonic antigen – CEA). На других хромосомах человека, близких по первичной структуре, последовательностей не обнаружено. Секвенировано 2 локуса, содержащих CEA-MAR-последовательности, и еще 7 подобных локусов найдено в международной базе данных. Проведен сравнительный анализ CEA-MAR-элементов и прилежащих к ним последовательностей. На основании первичной структуры локуса хромосомы 19, содержащего семейство генов CEA, построена гипотетическая модель доменной структуры участка хромосомы длиной около 2 млн. п.о. и показано взаимное расположение последовательностей CEA-MAR и генов семейства CEA. CEA-MAR-элементы располагаются с 3'-стороны от генов CEA на расстоянии 5–20 т.п.о. Полученные данные позволяют предположить, что петлевые домены хроматина могут рассматриваться, как единицы дубликации генов семейства CEA.

Ключевые слова: ядерный матрикс; MAR (matrix attachment region); семейство генов канцероэмбрионального антигена (CEA – carcinoembryonic antigen).

В самое последнее время значительно увеличилась скорость определения нуклеотидной последовательности генома человека, составляющая только в одном из крупных геномных центров, Ливерморской национальной лаборатории (США), 600–700 т.п.о. в месяц (<http://bbrp.llnl.gov/test-bin/projqssummary>). К концу 1998 г. ожидается, что общая длина ДНК человека с известной первичной структурой составит более 80 млн. п.о. (http://www.ornl.gov/Tech-Resources/Human_Genome/home.html). Таким образом, одним из основных результатов программы “Геном человека” становится реализация функционального анализа геномных последовательностей значительной длины – сотен тысяч и миллионов пар оснований, которые могут включать в себя ряд согласованно работающих генов.

По современным представлениям, одним из основных уровней крупномасштабной регуляции

функционирования генома является уровень петлевых доменов – областей интерфазного хроматина, физически и функционально разделенных участками ДНК, прочно прикрепленными к ядерному матриксу [1–5]. Ядерный матрикс – основной ультраструктурный компонент клеточного ядра [1, 2], который, выполняя роль механического каркаса ядра, как полагают, вовлечен в инициацию и регуляцию репликации, транскрипцию и транспорт РНК (см. недавние обзоры [2–4]).

В геноме эукариот рассеяны короткие последовательности, избирательно связывающиеся с ядерным матриксом (matrix attachment regions или MARs) (см. обзоры [5, 6]). Биологическое значение этих последовательностей включает аспекты как структурные (организация и перестройки хроматиновых петель в интерфазном ядре), так и функциональные (участие в образовании репликативных комплексов и фиксации транскрипционно активных генов вблизи ядерной мембраны) [3, 4].

Ранее нами была сконструирована библиотека клонов, содержащих участки хромосомы 19 человека, предпочтительно связывающиеся с ядер-

Сокращения: MAR (matrix attachment region) – последовательность ДНК, связывающаяся с ядерным матриксом; CEA (carcinoembryonic antigen) – канцероэмбриональный антиген.

[#] Автор для переписки.

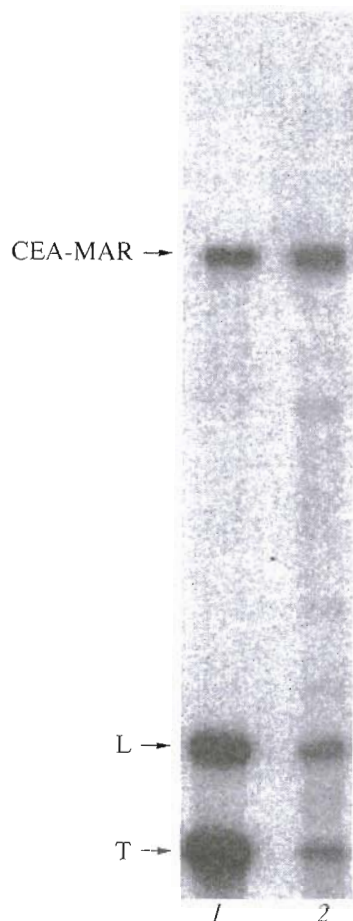


Рис. 1. Связывание CEA-MAR-последовательности с ядерным матриксом *in vitro*. Электрофорез в 6% ПА-АГ с 7 М мочевиной. Дорожка 1 соответствует несвязавшемуся материалу (супернатант), дорожка 2 – связанной с матриксом ДНК (осадок). Стрелками показаны отрицательные контроли: L – фрагмент ДНК фага λ (161 п.о.), T – фрагмент ДНК фага T7 (138 п.о.).

ным матриксом [7, 8]. Источником фрагментов ДНК для ее получения служила библиотека последовательностей хромосомы 19 человека в λ-векторе Charon 40, предоставленная Ливерморской национальной лабораторией (США). Для конструирования библиотеки была использована гибридная линия клеток китайского хомячка, содержащая хромосому 19 человека (линия UV5HL9-5B) [9]. В ходе картирования матрикссвязывающихся последовательностей на хромосоме 19 человека [10] нами было обнаружено, что одна из них повторяется на данной хромосоме не менее 10 раз и находится в тех же ее областях, где расположено семейство генов канцероэмбриональных антигенов (CEA).

Семейство генов канцероэмбриональных антигенов (CEA), принадлежащее к суперсемейству генов иммуноглобулинов, содержит приблизительно 30 генов и псевдогенов, основная часть которых расположена в локусе q13.2 хромосомы 19

человека [11, 12, 14]. Семейство генов CEA можно подразделить на два основных подсемейства. Одно из них содержит гены CGM (CEA-Gene family Members), BGP (Biliary Glycoproteins) и NCA (Non-specific Cross-reacting Antigens) [11, 13], другое состоит из генов PSG (Pregnancy-Specific Glycoproteins) [14]. Белковые продукты генов подсемейства CEA, как правило, связаны с клеточной мембраной либо же являются интегральными мембранными белками. В то же время молекулы PSG обычно секретируются за пределы клетки [11]. Продукты генов семейства CEA синтезируются в больших количествах в некоторых видах опухолей, в частности при карциномах легкого, молочной железы и толстой кишки [11, 15], и поэтому имеют большое клиническое и диагностическое значение в качестве опухолевых маркеров.

В настоящей работе нами с высокой точностью картирована хромосомспецифическая повторяющаяся последовательность, предпочтительно связывающаяся с ядерным матриксом и располагающаяся в непосредственной близости к генам семейства CEA. Предложена гипотетическая доменная структура локуса хромосомы 19 человека, содержащего семейство генов CEA.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВТОРЯЮЩЕГОСЯ MAR-ЭЛЕМЕНТА

Ранее нами был предложен новый подход к получению библиотек MAR-элементов, основанный на клонировании множества рестриктивных фрагментов геномной ДНК, способных специфически связываться с ядерным матриксом *in vitro* [7, 8]. 27 таких элементов было нанесено нами на метрическую карту хромосомы 19 человека [10]. При дальнейшем анализе библиотеки в ней была обнаружена последовательность, по ряду свойств существенно отличающаяся от охарактеризованных ранее MAR-элементов. При гибридизации соответствующего этой последовательности зонда с космидной библиотекой хромосомы 19 человека (методика гибридизации и картирования последовательностей на хромосоме 19 описана нами ранее [8, 10]) число положительных сигналов (т.е. количество гибридизующихся космид) в несколько раз превосходило полученное для большинства других клонов, что свидетельствовало о том, что данная последовательность относится к повторяющимся.

После определения первичной структуры были исследованы характеристики этого повторяющегося элемента и его способность связываться с ядерным матриксом в сравнении с контрольной ДНК бактериофагов λ и T7 так, как это было описано нами ранее [8]. Количественные данные приведены в табл. 1, а картина связывания с ядерным матриксом – на рис. 1. Из данных табл. 1

Таблица 1. Характеристики MAR-элемента из локуса хромосомы 19, содержащего гены семейства CEA (CEA-MAR)

Длина вставки, п. о.	Структура внутренних праймеров, 5' → 3'	Длина ПЦР-фрагмента, п. о.	Коэффициент связывания с ядерным матриксом*	G + C, %	A + G, %	АТ-богатые участки, п. о.**	Обращенные повторы***
302	AAGGATTTCTTGTTGCATACA GCCACACTACCCATCTCT	119	5.0	46	62	56 и 21	6

* Коэффициент связывания с ядерным матриксом показывает, во сколько раз средство данной последовательности к ядерному матриксу выше по сравнению с контрольной ДНК [8].

** Длина АТ-богатых (более 75% А + Т) районов размером более 20 п. о.

*** Число обращенных повторов длиной более 6 п. о.

Таблица 2. Расположение CEA-MAR-элементов на хромосоме 19 человека

Номер космиды	30668	30749	33172	17002	25452	33496	17904	26425	23931	23110
Номер последовательности по Gen-Bank	—	—	—	—	—	AC004603	—	AC004784	—	—
Размер фрагмента <i>EcoRI</i> , содержащего CEA-MAR, т. п. о.	5.2	5.8	10.0	7.8	9.3	7.0	5.4	7.0	7.0	7.7
Положение на метрической карте*	45.8	45.9	46.70	46.81	46.95	47.07	47.14	47.3	47.40	59.3
Семейство прилежащих генов	не опр.	не опр.	не опр.	CGM	PSG	PSG	PSG	PSG	PSG	не опр.

* Расстояние в миллионах пар оснований от телеомерного конца Р-плеча хромосомы 19.

можно заключить, что по параметрам первичной структуры этот клон сходен с типичной последовательностью, способной связываться с ядерным матриксом [6] – он содержит большое число инвертированных повторов и довольно протяженные АТ-богатые участки.

что для большинства содержащих эту последовательность локусов в Ливерморской национальной лаборатории была построена карта их расщепления рестриктазой *EcoRI* [12], также доступная через Интернет по адресу: <http://www-bio.llnl.gov/rmar>. ДНК космид, давших положительный сигнал при

РАСПОЛОЖЕНИЕ ПОВТОРЯЮЩЕГОСЯ MAR-ЭЛЕМЕНТА НА ХРОМОСОМЕ 19 ЧЕЛОВЕКА

Предварительную картину расположения исследуемого MAR-элемента на хромосоме 19 получали, как описано нами ранее для других MAR-последовательностей [7, 8], с использованием метрической карты хромосомы 19 человека Геномного центра Ливерморской национальной лаборатории (США), доступной через Интернет по адресу: http://www-bio.llnl.gov/genome/html/chrom_map.html. Результаты картирования полностью подтвердили повторяющийся характер последовательности – было обнаружено по крайней мере 10 различных локусов хромосомы 19, содержащих искомую последовательность по данным гибридизации и ПЦР. Более того, было обнаружено, что эта последовательность локализована в тех же областях хромосомы 19, что и гены семейства CEA. В связи с этим последовательность была обозначена как CEA-MAR.

Для более точной локализации CEA-MAR-элементов на хромосоме 19 мы воспользовались тем,

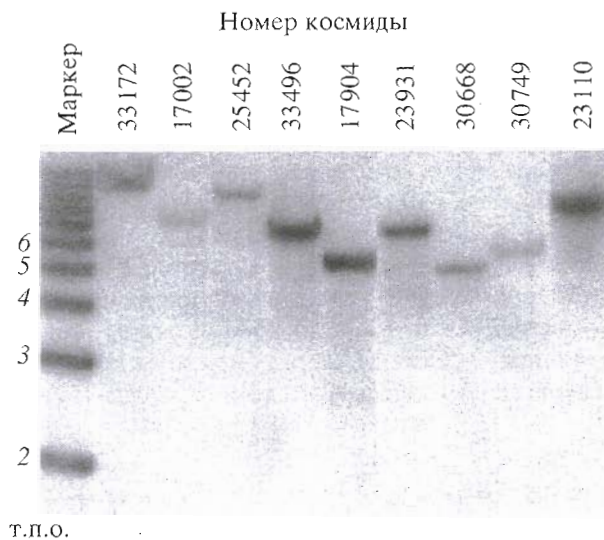


Рис. 2. Гибридизация расщепленных *EcoRI* космид с зондом CEA-MAR. Для каждой космиды виден единственный гибридизующийся фрагмент. Номера космид помещены над соответствующими дорожками.

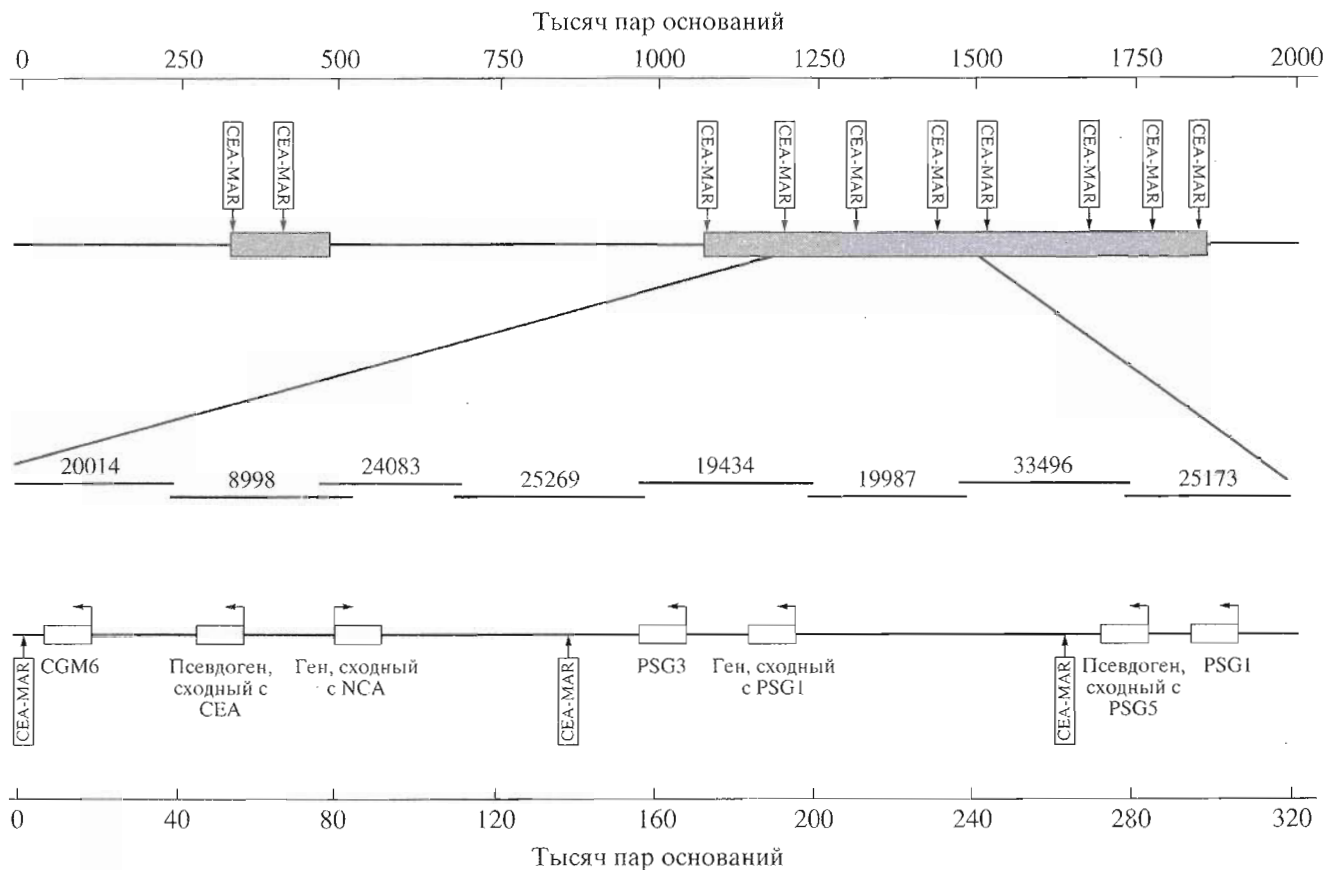


Рис. 3. Карта локуса хромосомы 19 человека, содержащего семейство генов CEA. На верхней карте серыми прямоугольниками выделены участки непосредственного расположения генов CEA. Положение CEA-MAR-элементов определено по рестриктивной карте. Нижняя карта построена в соответствии с известной первичной структурой перекрывающихся космид (номера космид по номенклатуре Ливерморской национальной лаборатории указаны для каждого космидного клона). Положение CEA-MAR-элементов и генов семейства CEA определено в соответствии с нуклеотидной последовательностью.

гибридизации на фильтрах высокой плотности [8] с зондом CEA-MAR, расщепляли *EcoRI*, разделяли в агарозном геле, переносили на фильтр и гибридизовали с тем же меченым зондом. Результаты блот-гибридизации приведены на рис. 2. Видно, что во всех 9 космидах последовательность CEA-MAR локализована в единственном фрагменте. Сравнение длин фрагментов, определенных по данным электрофореза (табл. 2), с картой *EcoRI*-фрагментов соответствующих локусов хромосомы 19 позволило расположить последовательности CEA-MAR на метрической карте хромосомы 19 человека с точностью 5–10 т.п.о.

(рис. 3, верхняя карта). Расстояние между CEA-MAR-элементами составляет 70–160 т.п.о. в областях генов CEA, что находится в пределах оценки длин петлевых доменов (5–450 т.п.о., [16]). Можно предположить, что петельно-доменная структура этой области определяется в основном CEA-MAR-элементами.

Оставался открытым вопрос, можно ли обнаружить последовательности CEA-MAR на других хромосомах человека. Для ответа на него на панели ДНК гибридных клеток, содержащих индивидуальные хромосомы человека, был проведен ПЦР-анализ с использованием специфической

Рис. 4. Сравнение нуклеотидных последовательностей CEA-MAR-элементов и окружающих их последовательностей из различных локусов хромосомы 19 человека. Слева указаны номера космид и ВАС (Bacterial Artificial Chromosome) клона (bc338531), содержащих соответствующие CEA-MAR-элементы. Последовательность исходного CEA-MAR из библиотеки [8] обозначена как CEA-MAR (выделена серым цветом). Внизу приведена консенсусная последовательность. Буквами указаны отличающиеся от консенсуса нуклеотиды, точками – совпадающие, тире обозначает отсутствие соответствующего нуклеотида. Для CEA-MAR из космиды 20014 стрелкой указано место внедрения рассеянного повторяющегося элемента MIR (Mammalian-wide Interspersed Repeat). Последовательность MIR обозначена звездочками.

26785
 33496 A G A
 21645
 25269 G T
 26425 T T C
 23931 G . T A G
 bc338531 A . T A G . G
 20014 *****
 CEA-MAR
 консенсус CACCCGGCCCGGATGTGGACATTTTAAAGAGGCCATTATTCTGCCTCATACGGGTCACCTTTCATAAACATCACCCACAACAAAATGTTTGCCTTCCTCCATGTCTCACTT

26785
 33496 G T
 21645 T
 25269 C . T A
 26425 G A
 23931 T
 bc338531 G G T A
 20014 *****MIR..... C C T A C . C TA -G . T CAC . A
 CEA-MAR
 консенсус TTCTGTCTGCACAAACCACAGTGAACACACAGTCTCTGCTATGAAGTGGCTGGATGACCCCTGGGCCACTATTGACCTCCCTCAGCCCTTTCTCTCATCTGCAGTGTAAAGG

26785 TGTT
 33496
 21645
 25269
 26425
 23931 G
 bc338531 G A T
 20014 A T CA G GT A G A C . A . G
 CEA-MAR
 консенсус CTGACTTTACTGCTATCAGAAATGACAGTGAAGAGTAAATTAACATGTGTAAGACATTAGTCACAGAGCCCTGGTACCTGAGGAGCCCTGGTAAACATTCTCTTCAGTCC

26785 G CTC A
 33496 G A A
 21645 A A
 25269
 26425
 23931
 bc338531
 20014 G . T . T . TA C . CAT T . C TCG AT . C T T . TG . C .
 CEA-MAR G G C
 консенсус TTTCCTTCACCTTCGCATTTTCTTGGCCCTCACCCATCTTCTCTCAACTCCTTTCTCTTCAGTAACTTACTCAGTCTTAACTGGCCATTAGAAAGAGCCACACTACC

26785 G A
 33496 G A
 21645 GGA A
 25269 C . T A A
 26425 G . T C A C . A . C
 23931 A C
 bc338531 G A G A A
 20014 G A AGA C A . GCCAC . T CAB C . AA G . C . A
 CEA-MAR A C A
 консенсус ATTCTCTCATGACTCTGCTGGAATGTTCTTGATGCGGGTCTGCTATCCACTCAAGGCAATGGGTATTATTATATGGAGAGGTCTGTTGCAACAAGAAATCCTTTTCTGT

26785 C T
 33496 T C T
 21645 A . T T . G T G
 25269 A . T T . G G T - G
 26425 T . G C C - G
 23931 C - G
 bc338531 T - G
 20014 T . T TG . C GA C G A C . CG . C . CA T
 CEA-MAR T
 консенсус TCACACAAAATTTATACACAATTTCTCTTAACCTACAGTACCAGTCTCAATTCTACCCCTGTTATTTCATACATGACTTCATTATTTTATTCTCTTCAGTCTTTCTCCTTA

26785 T T A
 33496 T T A
 21645 C T
 25269 G A
 26425 G
 23931 T
 bc338531 C A T
 20014 AAC . T . CA . A TG . G AA . A T . C . T A T AA TT . T . CT . TGA .
 CEA-MAR
 консенсус CACSTTAAAAATAGGATAGTACAAAAACAAAAATATGGCCTGGGCCAGAAGAGGGGATTCCTTTAGCAAGATGAATGCTTTCTTTTCAAGATGAATGAATGCTATGTGC

26785 C T
 33496 C T
 21645 A
 25269 CA C
 26425 C
 23931 C T
 bc338531 A A A
 20014 ATGAATGCT . T . TG AGG . A . CCC C G C T A G
 CEA-MAR
 консенсус AAGGCAGCCCTGAAGCCCATTTCTGGGTTGAAGCCCTTTTCTGTACTTGGCTTACATCAAGCCATTTGACTCTAGGACACATCTTAGATTCCAGGAGATAATGATTGTCA

26785
33496
21645
25269	T.....C.....
26425TC...G..
23931
bc338531C.....
20014	..A.....C.....
CEA-MAR
консенсус	CGGAAGACACACC

Рис. 4. Окончание.

для CEA-MAR пары праймеров (табл. 1). Результаты показали, что последовательность CEA-MAR обнаруживается только на хромосоме 19 человека (данные не приведены).

В связи с появлением частичной нуклеотидной последовательности CEA-содержащих локусов хромосомы 19 (последовательность определена в Ливерморской национальной лаборатории (США) и доступна через Интернет по адресу: <http://www-bio.llnl.gov/sequence/html/seq19.html>) открылась возможность как более точной локализации CEA-MAR-элементов, так и идентификации генов, расположенных между этими элементами. Для этого на основании определенных на сегодняшний день первичных структур составляющих космид мы собрали полную нуклеотидную последовательность части локуса CEA общей длиной 320 т.п.о. (рис. 3). Область содержит 7 генов и псевдогенов семейства CEA и три элемента CEA-MAR. На рис. 3 видно, что гены семейства CEA в исследованной области сгруппированы парно в соответствии с подсемейством (PSG с PSG и CEA с CEA), причем направление их транскрипции и тип подсемейства совпадают. Одна из пар содержит два гена или псевдогена подсемейства CEA, а две другие пары – гены/псевдогены подсемейства PSG. Исключение составил одиночный ген NCA, транскрибирующийся в противоположном направлении. Во всех трех случаях последовательность CEA-MAR располагалась на расстоянии 5–20 т.п.о. с 3'-стороны (по направлению транскрипции) от пары генов семейства CEA. Таким образом, вполне вероятно, что петлевые домены в этой области генома включают в себя работающие согласованно пары генов различных подсемейств семейства CEA.

ПЕРВИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ CEA-MAR-ЭЛЕМЕНТОВ

Нуклеотидные последовательности двух CEA-MAR-элементов, определенные нами (исходный CEA-MAR из библиотеки [8] и CEA-MAR, присутствующий на космиде 26785), и еще 7 последовательностей CEA-MAR, содержащихся в секвенированных в Ливерморской национальной лаборатории космидах локуса CEA, сравнивались между собой при помощи программы ClustalW v. 1.6 [17].

Результаты (рис. 4) показали, что 8 из 9 последовательностей гомологичны между собой более чем на 96%. Лишь одна последовательность, сходная с CEA-MAR, и находящаяся на космиде 20014, отличалась от консенсусной на 19% (рис. 4). Эта последовательность связана с парой генов подсемейства CEA (CGM6), в то время как остальные CEA-MAR-элементы (кроме CEA-MAR из космиды 26785, содержащей ген CEA, первичная структура которого пока не определена) прилежат к генам подсемейства PSG. Эти результаты позволяют предположить, что CEA-MAR-элементы, связанные с генами PSG, возникли в результате относительно недавней (20 млн. лет) мультимпликации. Эта цифра хорошо совпадает со временем появления семейства PSG – 18 млн. лет, рассчитанным на основании гомологии их экзонных последовательностей [18].

Таким образом, на основании полученных данных можно предположить, что дупликация генов семейства CEA могла произойти по границам петлевых доменов хроматина, содержащих пары этих генов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Культивирование и трансформацию клеток *E. coli*, выделение плазмидных и космидных ДНК, электрофорез в агарозном и полиакриламидном геле, блот-гибридизацию и другие стандартные процедуры проводили по описанным методикам [19, 20]. В качестве маркера длин при электрофорезе использовали смесь фрагментов ДНК (1 kb ladder, Gibco-BRL).

Получение библиотеки MAR-последовательностей, картирование и характеристика матрикс-связывающих фрагментов и радиоактивное мечение ДНК с использованием ПЦР было описано нами ранее [7, 8].

Нуклеотидную последовательность вставок определяли с использованием составного модифицированного праймера, как описано нами ранее [21].

Хромосомную локализацию CEA-MAR-элементов определяли при помощи ПЦР на панели ДНК гибридных клеток (Quantum Biotechnologies) в соответствии с рекомендациями изготовителя.

Компьютерный анализ последовательностей осуществляли с помощью пакета программ DNAsis и GeneRunner v. 3.0 (Hastings Software). Множественное выравнивание последовательностей проводили при помощи программы ClustalW v. 1.6 [17].

Авторы благодарны Ю.О. Шевченко, а также Л.К. Эшворт (L.K. Ashworth), А.В. Каррано (A.V. Carrano), Е. Бранскомбу (E. Branscomb) и другим коллегам из Ливерморской национальной лаборатории за неоценимую помощь при картировании. Работа выполнена при финансовой под-

держке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 96-04-49033), Государственной научно-технической программы "Геном человека" и частично International Research Scholar's award from the Howard Hughes Medical Institute (№ 76195-544201). Работа в Ливерморской национальной лаборатории (Lawrence Livermore National Laboratory) выполнялась в соответствии с контрактом W-7405-ENG-48 с Министерством энергетики США (US Department of Energy).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Збарский И.Б., Кузьмина С.Н. Скелетные структуры клеточного ядра. М.: Наука, 1991.
2. Berezney R., Mortillaro M.J., Ma H., Wei X., Samarabandu J. // *Int. Rev. Cytol.* 1995. V. 162A. P. 1–65.
3. Bode J., Schlake T., Rios-Ramirez M., Mielke C., Stengert M., Kay V., Klehr-Wirth D. // *Int. Rev. Cytol.* 1995. V. 162A. P. 389–454.
4. Dijkwel P.A., Hamlin J.L. // *Int. Rev. Cytol.* 1995. V. 162A. P. 455–484.
5. Razin S.V., Gromova I.I., Iarovaia O.V. // *Int. Rev. Cytol.* 1995. V. 162B. P. 405–448.
6. Boulikas T. // *Int. Rev. Cytol.* 1995. V. 162A. P. 279–388.
7. Николаев Л.Г., Цогтхушиг Ц., Акопов С.Б., Свердлов Е.Д. // *Биоорганич. химия.* 1995. Т. 21. С. 954–958.
8. Nikolaev L.G., Tsevegiyn T., Akopov S.B., Ashworth L.K., Sverdlov E.D. // *Nucl. Acids Res.* 1996. V. 24. P. 1330–1336.
9. Carrano A.V., de Jong P.J., Branscomb E., Slezak T., Watkins B.W. // *Genome.* 1989. V. 31. P. 1059–1065.
10. Николаев Л.Г., Акопов С.Б., Чернов И.П., Глотов Б.О., Эиворт Л.К., Свердлов Е.Д. // *Докл. РАН.* 1998. Т. 361. С. 409–411.
11. Thompson J.A. // *Tumour Biol.* 1995. V. 16. P. 10–16.
12. Ashworth L.K., Batzer M.A., Brandriff B., Branscomb E., de Jong P., Garcia E., Garnes A., Gordon L.A., Lamerdin J.E., Lennon G. et al. // *Nature Genet.* 1995. V. 11. P. 422–427.
13. Teglund S., Olsen A., Khan W.N., Frangmyr L., Hammarstrom S. // *Genomics.* 1994. V. 23. P. 669–684.
14. Nagel G., Grunert F. // *Tumour Biol.* 1995. V. 16. P. 17–22.
15. Von Kleist S. // *Int. J. Biol. Markers.* 1992. V. 3. P. 132–136.
16. Pienta K.J., Coffey D.S. // *J. Cell Sci. Suppl.* 1984. V. 1. P. 123–135.
17. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. // *Nucl. Acids Res.* 1994. V. 22. P. 4673–4680.
18. Streydio C., Swillens S., Georges M., Szpirer C., Vas-sart G. // *Genomics.* 1990. V. 6. P. 579–592.
19. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. // *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* 2nd Ed. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989.
20. Short Protocols in Molecular Biology / Eds F.M. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, K. Struhl. N. Y.: Wiley, 1992.
21. Azhikina T., Kostina M., Skaptsova N., Potapov V., Berg D., Sverdlov E. // *DNA Seq.* 1996. V. 6. P. 211–216.

Identification and Human Chromosome 19 Mapping of a Chromosome-specific Repeated Element Binding Preferentially to Nuclear Matrix

I. P. Chernov[#], A. S. Polyakov, S. B. Akopov, L. G. Nikolaev, T. L. Azhikina, M. B. Kostina, and E. D. Sverdlov

Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, GSP-7 Moscow, 117871 Russia

From a library of sequences binding preferentially to nuclear matrix (matrix attachment regions, MARs), a fragment of about 300 bp in length (CEA (carcinoembryonic antigen)–MAR) was isolated and characterized. The CEA–MAR sequence was found in more than ten loci of chromosome 19 containing elements similar to genes of the CEA family. No sequences of this group were found on other human chromosomes. Two CEA–MAR-containing loci were sequenced, and sequences for another seven loci were found in GenBank. A comparative analysis of CEA–MARs and the flanking sequences is reported. Based on the sequence of the CEA-containing chromosome 19 loci, a hypothetical model of the domain structure of a 2-Mb chromosome region was constructed and the mutual arrangement of CEA–MARs and genes of CEA family was elucidated. The CEA–MARs were located 5–20 kb downstream of the CEA genes. These results suggest that the duplication unit of the CEA family may coincide with chromatin domains containing these genes.

Key words: nuclear matrix, MAR (matrix attachment region), CEA (carcinoembryonic antigen) gene family

[#] To whom correspondence should be addressed.