



УДК 577.113.5:578.828

ДЛИННЫЙ КОНЦЕВОЙ ПОВТОР ЭНДОГЕННОГО РЕТРОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА HERV-K В ИНТРОНЕ ГЕНА ZNF91

© 1998 г. П. П. Хиль, Ю. Б. Лебедев, Е. Д. Свердлов[#]Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 11.07.97 г. Принята к печати 23.09.97 г.

Произведено высокоразрешающее взаимное картирование экзон-интронной структуры гена *ZNF91* и длинного концевой повтора (LTR) эндогенного ретровируса человека HERV-K, который, как было показано нами ранее, находится в локусе этого гена, на метрической *EcoRI*-рестриктной карте 19-й хромосомы человека. Определено направление транскрипции гена *ZNF91* относительно теломер 19-й хромосомы. Показано, что LTR HERV-K находится в 4-м интроне гена *ZNF91*. Обсуждается вовлеченность ретровирусных последовательностей в эволюционный процесс семейства генов *ZNF91*.

Ключевые слова: LTR, HERV-K, ZNF91, картирование генов, 19-я хромосома,

Одной из задач, стоящих перед исследователями биохимической эволюции, является расшифровка функциональных последствий внедрения в геном регуляторных элементов, происшедшего в процессе эволюции, в частности в результате ретровирусных инфекций. Возникновение таких регуляторных последовательностей рядом с генами могло оказать значительное влияние на процесс эволюции. Один из этапов исследования такого влияния – определение взаимного положения сравнительно недавно появившихся в геноме регуляторных последовательностей и клеточных генов.

В наших предыдущих работах были картированы 72 полноразмерных LTR, принадлежащих эндогенному ретровирусу человека семейства HERV-K на 19-й хромосоме человека [1, 2]. LTR содержат кластер регуляторных элементов, способных модулировать экспрессию близлежащих генов, в частности *ZNF*. Часть LTR на 19-й хромосоме картирована в локусах известных генов, одним из которых является *ZNF91* [3], представитель большого семейства генов, кодирующих так называемые Zn-фингерные (ZNF) белки. Эти белки содержат специфические домены (Zn-пальцы), способные связывать ионы цинка благодаря взаимодействию с расположенными в определен-

ной последовательности остатками цистеинов и гистидинов [4]. Многие представители этого семейства являются регуляторами транскрипции. Геном человека содержит до 700 индивидуальных генов этого семейства [3, 5]. Одной из структурно наиболее изученных групп суперсемейства *ZNF* является подсемейство *ZNF91*. Близкородственные гены, принадлежащие к этому подсемейству, обнаружены у человека и приматов, но отсутствуют у низших обезьян и грызунов [6].

Гены, кодирующие белки подсемейства *ZNF91*, характеризуются выраженными структурными особенностями: содержат протяженный экзон, кодирующий до 35 тандемно расположенных Zn-фингерных доменов, а также два экзона, кодирующих близкородственные последовательности вне Zn-фингерной области. Эти последовательности гомологичны регуляторному KRAB-домену (от Kruppel-associated box [7]) и известны как KRAB-A и KRAB-B. Область, кодирующая KRAB-домен, соединяется с Zn-фингерной областью спейсерной последовательностью, консервативной для подсемейства *ZNF91*-генов. KRAB-домену приписывается функция негативной регуляции транскрипции [8]. Кластер из более чем 40 гомологичных генов и псевдогенов, содержащих KRAB-кодирующие последовательности, в геноме человека располагается на коротком плече 19-й хромосомы в области 19p12–19q13.1 [3]. Гомологичные последовательности найдены и на других хромосомах [3]. Поскольку ZNF-белки являются регуляторами транскрипции, изменения в регуляции их экспрессии могут иметь значительные функциональные следствия для организма, приводя к одновременным изменениям уровней

Сокращения: LTR – длинный концевой повтор, HERV-K – эндогенный ретровирус человека (семейство K), м.п.о. – миллион пар оснований.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 330-65-29, факс: (095) 330-65-38, e-mail: eds@glasnet.ru или svered@humgen.siobc.ras.ru).

Олигонуклеотидные праймеры, использованные для получения гибридизационных проб с помощью ПЦР-амплификации

Праймер	Структура (5' → 3')	Положение мишени*	Аmplифицируемая последовательность
KRAB-Bfor	ATT GCT CTC TCT AAG CCA GAC C	254–275	Экзон 4, KRAB-B
KRAB-Brev	CTG TGG GTT CAT CCA CCA T	329–347	
5f8for	GTT TAA GTT ATC CTT ACC CAG G	128–149	Экзон 3, KRAB-A
5f8rev	GTT GAC ATT TAG GGA TGT GG	246–...**	
LTRfor	TAT AGA AAG AAG TAG ACA TAG GAG ACT	42–68	LTR HERV-K
LTRrev	AAA GAC ACA GAG ACA AAG TAT AGA	876–899	

* Координаты приведены по последовательности кДНК *ZNF91* (GenBank Accession L11672) для пар праймеров KRAB-B и 5f8 и по прототипной последовательности LTR HERV-K (GenBank Accession M12851) для праймеров LTRfor и LTRrev.

** Праймер 5f8rev комплементарен области экзон-интронной границы: 3'-концевой нуклеотид праймера соответствует координате 246 кДНК *ZNF91*, а 12 нуклеотидов 5'-конца праймера лежат в области интрона.

транскрипции всех тех генов, в регуляции экспрессии которых участвует данный ZNF-белок.

Настоящая работа посвящена определению ориентации гена *ZNF91* относительно теломер 19-й хромосомы и точного взаимного положения LTR HERV-K и гена *ZNF91*.

Современная физическая карта 19-й хромосомы человека представлена упорядоченным набором контигов космидных клонов с точно определенным положением *EcoRI*-рестриктных сайтов. Локус гена *ZNF91* занимает около 80 т.п.о. и расположен на расстоянии 20.75 м.п.о. от теломеры короткого плеча хромосомы ([9]; наиболее современная версия карты доступна через Интернет по адресу

<http://www-bio.llnl.gov/bbrp/genome/genome.html>).

Данный локус представлен несколькими перекрывающимися космидными клонами, четыре из которых (F7063, F14963, F21946 и R30472) были охарактеризованы нами ранее [1, 2] как LTR-содержащие. Для более точной локализации LTR HERV-K и экзонов *ZNF91* использовали ДНК космиды F21946. С этой целью ее подвергали исчерпывающему гидролизу эндонуклеазой *EcoRI* и последующей гибридизации по Саузерну с соответствующими зондами (таблица, рис. 1, 2).

Фрагменты гена *ZNF91*, соответствующие экзонам 3 и 4, получали ПЦР-амплификацией с помощью двух пар специфических праймеров (таблица). ПЦР с использованием пары праймеров 5f8for и 5f8rev амплифицирует практически весь 3-й экзон *ZNF91*, кодирующий KRAB-A-модуль KRAB-домена. С помощью второй пары олигонуклеотидных праймеров, KRAB-Bfor и KRAB-Brev, амплифицируется 4-й экзон *ZNF91*. Продукты ПЦР-амплификации с ДНК космиды F21946 в качестве матрицы были использованы для приготовления радиоактивных гибридизационных зондов. Результаты гибридизации позволили лока-

лизовать область гена, кодирующую KRAB-домен, в *EcoRI*-рестриктном фрагменте длиной 1.15 т.п.о. (рис. 2).

Пятый экзон гена *ZNF91* кодирует спейсерную область и непосредственно цинковые пальцы и имеет длину около 3 т.п.о. Он содержит тандемные повторы последовательности длиной 84 п.о. со степенью идентичности между повторами от 70 до 97%. Для его локализации на метрической карте 19-й хромосомы в качестве гибридизационного зонда был использован фрагмент кДНК длиной около 580 п.о., полученный в результате прямой селекции кДНК путем двух раундов гиб-

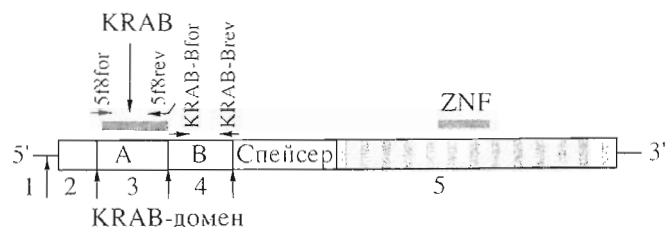


Рис. 1. Блок-схема первичной структуры кДНК гена *ZNF91* человека. Горизонтальным прямоугольником изображена кодирующая часть кДНК. Вертикальными отрезками внутри этого прямоугольника разделены сегменты, отвечающие функциональным доменам белка. Фрагменты прямоугольника с буквами А и В и надписью KRAB ниже прямоугольника соответствуют KRAB-A- и KRAB-B-модулям KRAB-домена. Фрагмент прямоугольника с надписью "спейсер" соответствует спейсерному участку этого белка. Штриховкой обозначена область, кодирующая ДНК-связывающие Zn-фингерные домены [3]. Вертикальными стрелками в нижней части рисунка обозначены экзон-интронные границы, а цифрами – номера экзона. Горизонтальными стрелками над схемой показано положение праймеров, использованных в работе, по отношению к кДНК гена *ZNF91*. Затемненными полосками над структурой кДНК с обозначениями ZNF и KRAB (с вертикальной стрелкой вниз) показано положение соответствующих зондов, использованных при проведении саузерн-блот-гибридизации. Рисунок выполнен без соблюдения масштаба.

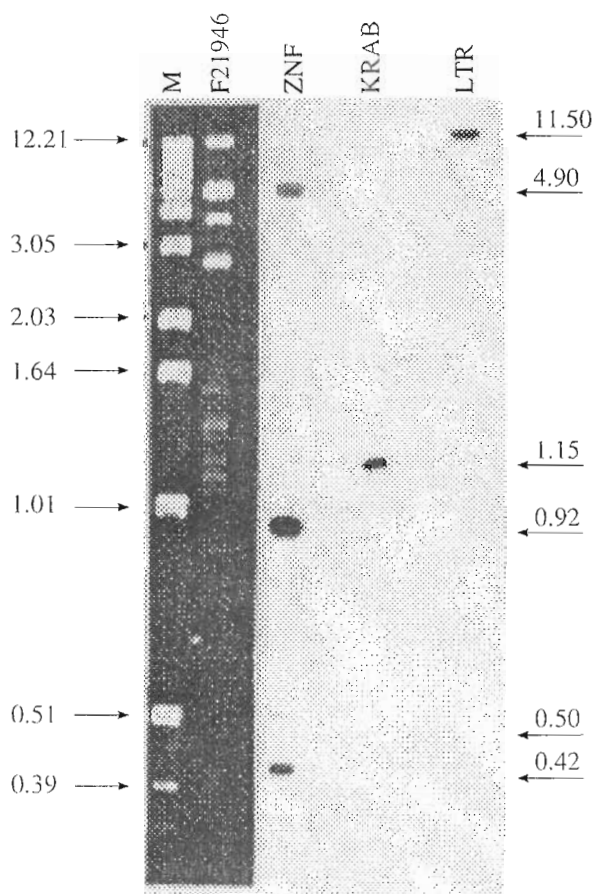


Рис. 2. Саузерн-блот-гибридизация. В левой части рисунка приведены результаты разделения в 1% агарозном геле *EcoRI*-рестриктных фрагментов гидролизованной рекомбинантной космидной ДНК F21946 (дорожка F21946). Дорожка LTR – результаты гибри-дизации LTR HERV-K-зонда, ZNF – зонда из области, кодирующей Zn-пальцы (ZNF на рис. 1), KRAB – зонда из области KRAB-A гена *ZNF91* (KRAB, см. рис. 1 и текст), M – маркер молекулярных масс (1 kb DNA Ladder (Gibco-BRL)). Цифры у стрелок указывают размер соответствующих рестриктных фрагментов (в т.п.о.).

ридизации ДНК космиды F21946 с кДНК-библиотеками из мозга и трахеи человека (CLONTECH). Первичная структура этой кДНК оказалась практически идентичной структуре tandemных повторов в составе гена *ZNF91*, кодирующих цинковые пальцы (рис. 1). Положение выделенного фрагмента кДНК соответствует координатам 1629–2031 последовательности кДНК гена *ZNF91* (GenBank Accession No. L11672). В результате гибри-дизации по Саузерну с *EcoRI*-фрагментами космиды F21946 были выявлены четыре фрагмента длиной 0.42, 0.50, 0.92 и 4.90 т.п.о. (рис. 2). Следовательно, эти фрагменты происходят из области tandemных повторов 5-го экзона. Поэтому в использованных для гибридизации условиях (двукратная отмывка $2 \times \text{SSC}$ при 65°C) зонд детекти-

рует практически всю область гена *ZNF91*, кодирующую цинковые пальцы.

На рис. 3 приведена карта расположения *EcoRI*-рестриктных фрагментов в данной области хромосомы (использован фрагмент карты, составленной в Национальной лаборатории им. Лоуренса (Ливермор, США [9])). Зонд, соответствующий KRAB-домену, гибридизуется с фрагментом длиной 1.15 т.п.о., который расположен в проксимальной к центромере части карты. KRAB-домен находится в N-концевой части белка. Следовательно, соответствующая часть гена направлена в сторону центромеры.

С другой стороны, последовательность ДНК, кодирующая цинковые пальцы в С-концевой части белка, гибридизуется с рядом коротких рестриктных фрагментов и с фрагментом длиной 4.9 т.п.о., которые расположены в части карты, более близкой к теломере короткого плеча хромосомы. Эти данные позволяют ориентировать положение гена *ZNF91* на 19-й хромосоме человека так, что транскрипция гена идет в направлении к теломере (стрелка с подписью “Транскрипция” на рис. 3).

Дополнительный ПЦР-анализ с использованием в качестве матрицы ДНК космиды F21946 и праймеров 5f8for и KRAB-Brev, соответствующих началу 3-го и концу 4-го экзонов (см. рис. 1 и 3), позволил оценить в 1000 п.о. размер участка гена, который включает в себя оба этих экзона, кодирующих KRAB-A- и KRAB-B-модули KRAB-домена, и разделяющий их интрон. Поскольку длины участков, кодирующих экзоны, известны [5], размер 3-го интрона можно оценить в 800 п.о. Весь рассматриваемый участок гена находится в рестриктном фрагменте длиной 1.15 т.п.о.

Таким образом, рестриктный фрагмент длиной 1.15 т.п.о. содержит целиком 4-й экзон, а 5-й экзон находится во фрагменте длиной 4.9 т.п.о. и примыкающих к нему коротких рестриктных фрагментах. Из этого следует (рис. 3), что область гена *ZNF91*, разделяющая 4-й и 5-й экзоны, находится во фрагментах длиной 2.90, 1.32, 11.50 и 1.51 т.п.о.

Для локализации LTR в данной области использовали блот-гибридизацию по Саузерну. В качестве гибридизационного зонда, гомологичного длинному концевому повтору HERV-K, использовали радиоактивно меченный ПЦР-продукт длиной около 860 п.о., полученный с использованием олигонуклеотидных праймеров, соответствующих 5'- и 3'-концевым областям консенсусной последовательности LTR, и образцов ДНК LTR-содержащих космид. Выбор структуры праймеров подробно описан нами ранее [10]. Зонд представляет собой эквимольную смесь фрагментов LTR, амплифицированных с помощью праймеров LTRfor и LTRrev (таблица) с

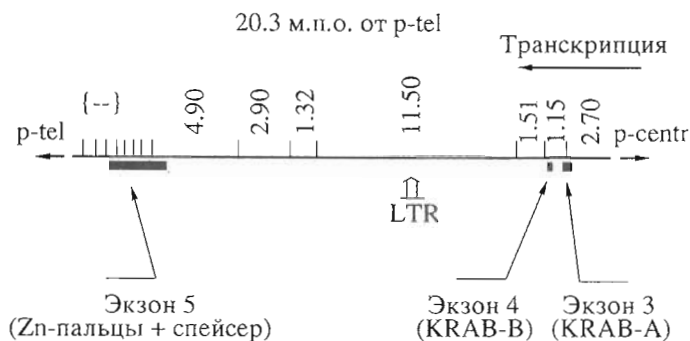


Рис. 3. Фрагмент метрической карты 19-й хромосомы человека [9], соответствующий ДНК рекомбинантной космиды F21946, содержащей часть гена *ZNF91* человека. Вертикальными штрихами обозначено положение *EcoRI*-рестриктных сайтов, а над картой приведен размер соответствующих рестриктных фрагментов в т.п.о. Символом {--} обозначена группа небольших (менее 1 т.п.о.) рестриктных фрагментов, порядок расположения которых и точный размер не определены. Затемненными прямоугольниками под рестриктной картой отмечено положение соответствующих экзонов гена *ZNF91*. Горизонтальной стрелкой с надписью "Транскрипция" указано направление транскрипции гена *ZNF91*. Светлая стрелка с подписью "LTR" указывает на рестриктный фрагмент, в составе которого находится LTR *HERV-K*. Ориентация приведенного фрагмента относительно центромеры (p-centr) и теломеры короткого плеча (p-tel) 19-й хромосомы обозначена стрелками с соответствующими подписями.

шести различных областей 19-й хромосомы человека. Таким образом, он является практически полноразмерным LTR *HERV-K* усредненного для этой структуры нуклеотидного состава. По результатам гибридизации (рис. 2) LTR был локализован внутри рестриктного фрагмента размером 11.50 т.п.о., т.е. в интроне между 4-м и 5-м экзонами (рис. 3).

LTR эндогенных ретровирусов, как отмечалось, способны влиять на регуляцию экспрессии соседних генов, однако их реальная функциональная роль в составе генома мало изучена. Известны два примера взаимодействия последовательностей эндогенных ретровирусов с *ZNF*-генами: в одном случае участок 5'-нетранслируемой области представлен фрагментом *env*-гена эндогенного ретровируса *HERV-H* [11], во втором – LTR эндогенного ретровируса *ERV9* выполняет функцию промотора клеточного гена *ZNF80* [12]. Вместе с тем интеграция ретровируса в интронные области клеточных генов может приводить к существенным изменениям в их регуляции.

Предполагают, что интеграция ретровирусных последовательностей может играть эволюционную роль. Например, полноразмерный эндогенный провирус *HERV-K(C4)* был найден в 9-м интроне гена *C4A* и некоторых генов *C4B* человека и высших приматов [13]. Дальнейшие исследования показали, что структурные особенности этого элемента в геномах человека и высших обезьян могут использоваться как эволюционно-диагностический признак, а сама интеграция *HERV-K(C4)* в локус гена, по-видимому, была частью процесса амплификации генов главного комплекса гистосовместимости [14]. Интеграция одиночного ретровирусного LTR в интрон одного из генов, кодирующих цепи миозина, способна

приводить к изменению тканеспецифичности экспрессии гена, как это было показано при изучении инбредных линий мышей [15].

Подобные примеры позволяют предполагать, что обнаруженный нами LTR в интроне регуляторного гена *ZNF91* модулирует специфичность экспрессии гена и связан с эволюцией генов этого семейства.

Проведенный нами ранее сравнительный анализ известных последовательностей LTR *HERV-K* выявил две группы LTR [10]. Одна из них содержит существенно более дивергировавшие последовательности, тогда как вторая значительно более гомогенна. Было высказано предположение о двух волнах интеграции *HERV-K* в геном человека [10]. Определение первичной структуры LTR из изучаемого локуса *ZNF91* (рис. 4) позволило отнести данный LTR ко второй, более "молодой" группе последовательностей. Возникновение этой группы можно условно отнести ко времени 10–12 млн. лет назад, что приблизительно соответствует периоду дивергенции гоминид и высших приматов от остальной группы обезьян. Эволюционный анализ структур кДНК семейства генов *ZNF91* показывает консервативность области кДНК, расположенной между KRAB-домейнами и первыми тандемными повторами цинковых пальцев для человека, шимпанзе и гориллы [6], но не орангутанга и более низших обезьян. Это означает, что время формирования окончательной структуры 5-го экзона *ZNF91*-гена человека можно относить ко времени разделения предков орангутанга и других приматов, что примерно соответствует 10–15 млн. лет назад. Таким образом следует отметить приблизительное совпадение времени возникновения современного гена *ZNF91* и LTR эндогенного ретровируса, об-

▼¹

ATTCCTTCTGCSTTGAGATTCTGTTAATCTATGA CCAAACCCCAACCCCGTGCTCTCTGAAACATGT
 GCTGTGTCCACTCAGGGTTAAATGGATTAAGGGCTGTGCAAGATGTGCTTTGTAAACAAATGCTTGA
 AGGCAGCATGCTCCTTAAGAGTCAACCACTCCCTAATCTCAAGTACCCAGGGACACAAACACTGCA
 GAAGGCCGCAGGGACCTCTGCSTAGGAAAGCCAGGTATTGTCCAAGGTCTCTCCCCATGTGATAGTCT
 GAAATATGGCCTCGTGGGAAGGGAAAGACCTGACCGTCCCCCAGCCGACACCCATAAAGGGTCTGTG
 CTGAGGAGGATTAGTATAAGAGGAAGGCCTCTTGCAGTTGAGATAAGAGGAAGGCATCTGTCTCCTGC
 CCGTCCCTGGGCAAATGGAATGTCTCGGTATAAAAACCCGATTGTATGCTCCATCTACTGAGATAGGGAA
 AAACCGCCTTAGGGCTGGAGGTGGGACATGCGGACAGCAATACTGC TTTGTAAAGCATTTGGGATATT
 TATATG TATGCGTGTCTAAGGCGCAGCACTTAATTTCTTTACCTTGTCTGTGCTGCAGAGACCTTTGT
 TCACCTGTTTATCTGCTGACCCCTCTCTCCASTATTATCCTATGACCCCTGACACATCCCCCTTTCCGAG
 AAACACCCAAGGATGATCAATAAATACTAAGGGAACCTCAGAGGCCGGCG ▼²
 GGATCCTCCGATGCTGA
 AACGCTGGTTCCCCGGG ▼³ ▼⁴

Рис. 4. Нуклеотидная последовательность фрагмента LTR HERV-K в составе 4-го интрона гена *ZNF91* человека. Стрелками с номерами указаны положения “диагностических” делеций, характерных для более “молодых” представителей этого семейства повторяющихся элементов. У представителей подсемейства “старых” LTR в соответствующих положениях находятся консенсусные последовательности: 1 – TTTGCCCCAGCAC; 2 – YTTGTTAY; 3 – RAGW-GAAACATAAATCTGGCYTA; 4 – CCGGYGC. Подчеркнута область “диагностических” точечных замен [10].

наруженного в его интроне. Данные факты свидетельствуют о вовлеченности ретроэлементов в эволюцию генов семейства *ZNF91*. Интересно, что время интеграции другого типа ретровируса, ERV9, в локус гена *ZNF80* оценивается в тех же пределах (т.е. 10–15 млн. лет назад) [16].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали акриламид, бисакриламид (Bio-Rad, США), трис-гидроксиметиламинометан (трис) (Merck, США), этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA, динатриевая соль) (Sigma, США), [α -³²P]dATP (5000 Ки/ммоль) (Обнинск), нейлоновую мембрану Zeta-Probe (Bio-Rad, США), эндонуклеазу рестрикции *EcoRI* (New England Biolabs, США), *Taq*-ДНК-полимеразу (Promega, США).

ПЦР-амплификация производилась в объеме 25–50 мкл в следующих условиях: 1xThermo-буфер (Promega, США) (10 mM трис, pH 9.0; 50 mM KCl; 0.1% Triton X-100), 2 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP (каждый), 0.5 мкМ праймеры, 0.02 ед./мкл *Taq*-полимеразы (Promega, США), 1–10 нг ДНК матрицы. Режимы амплификации: 94°C – 15 с; 60°C – 15 с; 72°C – 20–60 с; 25 циклов на ДНК-термоциклере (Perkin-Elmer, США).

Саузерн-блот-гибридизация. *EcoRI*-гидролизованная ДНК космиды F21946, фракционированная электрофорезом в 1% агарозном геле, бы-

ла перенесена на положительно заряженную мембрану Zeta-Probe в соответствии с рекомендациями производителя. Мечение гибридизационных зондов [α -³²P]dATP производилось с помощью системы для мечения статистической затравкой “Prime-a-Gene” (Promega, США) в соответствии с рекомендациями производителя (для зондов ZNF и LTR) и ПЦР-амплификацией (для зонда KRAB). Мечение путем ПЦР производилось в стандартных условиях, приведенных выше для ПЦР-амплификации, за исключением того, что реакционная смесь содержала 5 мкМ dTTP, dGTP и dCTP; 0.5 мкМ dATP и 1 мкКи/мкл [α -³²P]dATP. Гибридизация и отмывки производились в соответствии с рекомендациями производителя мембраны. Прочие манипуляции производили по стандартным методикам [17].

Авторы благодарны В.К. Потапову и Н.В. Скапцовой (ИБХ РАН) за синтез олигонуклеотидных праймеров.

Работа выполнена при частичной поддержке ННМИ 75195-544201 и ГНТП “Геном человека” (договор № 58к/96).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lebedev Y.B., Volik S.V., Obradovich D., Ermolova O.D., Ashworth L., Lennon G.G., Sverdlov E.D. // Mol. Gen. Genet. 1995. V. 247. P. 742–748.

2. Vinogradova T., Volik S., Lebedev Yu., Shevchenko Yu., Lavrentyeva I., Khil P., Grzeschik K.-H., Ashworth L.K., Sverdlov E.D. // *Gene*. 1997. In press.
3. Bellefroid E.J., Marine J.-C., Ried T., Lecocq P.J., Riviere M., Amemiya C., Poncelet D.A., Coulie P.G., Jong P., Szipiper C., Ward D.C., Martial J. // *EMBO J.* 1997. V. 12. P. 1363–1374.
4. Nelson H.C. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1995. V. 5. P. 180–189.
5. Crossely P.H., Little P.F.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. P. 7923–7927.
6. Bellefroid E.J., Marine J.-C., Matera A.G., Bourguignon C., Desai T., Healy K.C., Bray-Ward P., Martial J., Ihle J.N., Ward D.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. P. 10757–10761.
7. Bellefroid E.J., Poncelet D.A., Lecocq P.J., Revelant O., Martial J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. P. 3608–3612.
8. Pengue G., Calabro V., Cannada Bartoli P., Pagliuca A., Lania L. // *Nucl. Acids Res.* 1995. V. 22. P. 2908–2914.
9. Ashworth L.K., Batzer M.A., Brandiff B., Branscomb E., de Jong P., Garcia E., Garnes J.A., Gordon L.A., Lamerdin J.E., Lennon G., Mohrenweiser H., Olsen A.S., Slezak T., Carrano A.V. // *Nature Genet.* 1995. V. 11. P. 422–427.
10. Хиль П.П., Костина М.Б., Ажикина Т.Л., Колесник Т.Б., Лебедев Ю.Б., Сverdlov E.D. // *Биоорганическая химия*. 1997. Т. 23. С. 434–440.
11. Baban S., Freeman J.D., Mager D.L. // *Genomics*. 1996. V. 33. P. 463–472.
12. Di Cristofano A., Strazzulo M., Longo L., Mantia G. // *Nucl. Acids Res.* 1995. V. 23. P. 2823–2830.
13. Tassabehji M., Strachan T., Anderson M., Campbell R.D., Collier S., Lako M. // *Nucl. Acids Res.* 1994. V. 22. P. 5211–5217.
14. Dangel A.W., Baker B.J., Mendoza A.R., Yu Y.C. // *Immunogenetics*. 1995. V. 42. P. 41–52.
15. Seperack P.K., Mercer J.A., Strobel M.C., Copeland N.G., Jenkins N.A. // *EMBO J.* 1995. V. 14. P. 2326–2332.
16. Di Cristofano A., Strazzullo M., Parisi T., La Mantia G. // *Virology*. 1995. V. 213. P. 271–275.
17. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

The Human Endogenous Virus HERV-K Long Terminal Repeat in an Intron of the *ZNF91* Gene

P. P. Khil, Yu. B. Lebedev, and E. D. Sverdlov

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

The relative positions of the *ZNF91* gene (exon–intron organization) and the HERV-K human endogenous virus long terminal repeat (LTR), which was earlier found to be located in the *ZNF91* gene locus, on the *EcoRI* restriction metric map of the human chromosome 19 were determined with a high resolution. The direction of the *ZNF91* gene transcription relative to the chromosome 19 telomeres was determined. The HERV-K LTR was localized to the *ZNF91* gene intron 19. The role of retroviral sequences in the evolution of the *ZNF91* gene family is discussed.

Key words: LTR, HERV-K, *ZNF91*, gene mapping, chromosome 19