

HEREDITABLE MUTATIONS AT SOME MINISATELLITE LOCI ANALYSIS IN CHILDREN OF LIQUIDATORS OF CHERNOBYL ACCIDENT CONSEQUENCES

АНАЛИЗ НАСЛЕДУЕМЫХ МУТАЦИЙ В НЕКОТОРЫХ МИНИСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСАХ У ДЕТЕЙ ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

L.A. Livshits¹, S.G. Malyarchuk¹, E.M. Luk'yanova², Y.G. Antipkin², L.P. Arabskaya²,
S.A. Kravchenko¹, G.H. Matsuka¹, E. Petit³, F. Giraudeau³, B. Le Guen⁴, G. Vergnaud³

¹Institute for Molecular Biology and Genetics of National Sciences Academy of Ukraine,
150 Zabolotnyi str., Kiev, Ukraine, 252627, E-mail: Livshits@imb.g.kiev.ua

²Institute for Paediatrics, Obstetrics & Gynaecology of Medical Sciences Academy of Ukraine,
13 Manuil'skiy str., Kiev, Ukraine

³Institut de Genetique et Microbiologie Universite Paris-Sud 91405 ORSAY IECH, Bat 400, France;

⁴Institut de Protection et de Surete Nucleaire, IPSN/DPHD/SDOS BP6 92265 Fontenay aux Roses, CEDEX, France

Л.А. Лившиц¹, С.Г. Малярчук¹, Е.М. Лукьянова², Ю.Г. Антипкин², Л.П. Арабская²,
С.А. Кравченко¹, Г.Х. Мацука¹, Э. Петит³, Ф. Жирадо³, Б. Ле Гуен⁴, Ж. Верньо³

¹Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, 252627, Украина, Киев, ул. Заболотного, 150
E-mail: Livshits@imb.g.kiev.ua

²Институт педиатрии акушерства и гинекологии АМН Украины, Украина, Киев, ул. Мануильского, 13

³Институт генетики и микробиологии, Университет Paris-Sud 91405 ORSAY IECH, Bat 400, Франция;

⁴Институт ядерной безопасности IPSN/DPHD/SDOS BP6 92265 Fontenay aux Roses, CEDEX, Франция

Abstract

Here we report the results of a pilot study of hereditary mutations at 7 minisatellite loci in children of Chernobyl nuclear power plant (ChNPP) accident consequences liquidators, held with blot-hybridization and PCR technique application. The highest mutability was marked in locus CEB1. For this locus the mutation rate of 14% was registered in the control group and 15% — in children of liquidators. The same trend was also observed for loci B 6.7 and CEB 36. But the observed increase of mutation rate in loci CEB 1 and B6.7 in children of liquidators compared with those from control group was not statistically reliable as for the remaining four loci. No dependence of paternal origin mutations genesis on fatherly age was revealed. In a group of children of liquidators the somatic and mental health indices analysis was held.

Keywords: minisatellite loci, mutation, ionizing radiation, liquidator, Chernobyl accident.

INTRODUCTION

The accident at Chernobyl Nuclear Power Plant (ChNPP) on April, 1986 was accompanied by radioactive substances release that led to pollution of wide territories of Ukraine, Belarus and the Russian Federation. The main population contingents exposed to ionizing radiation were people resident in those contaminated territories and clean-up workers (liquidators). The average gonadal exposure dose in liquidators was not exceeding 150 mSv according to calculations (Neel J.V., 1996).

One of the most important questions for scientists, physicians and the public are the radiation exposure genetic effects after the Chernobyl accident and its consequences for future generations' health. Obviously the most complete and exhaustive answer here could be received via wide-scale long-term epidemiological studies of congenital and hereditary malformations held within a system of population genetic monitoring. Such investigations

ВВЕДЕНИЕ

Авария на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) в апреле 1986 г. сопровождалась выбросом радиоактивных веществ, что привело к загрязнению значительных по площади территорий Украины, Беларуси и Российской Федерации. Основным контингентом, подвергшимся воздействию ионизирующего излучения, является население, проживающее на этих территориях и работники (ликвидаторы), занимавшиеся ликвидацией последствий аварии. Расчеты показали, что средняя гонадальная доза облучения для ликвидаторов не превышает 150 мЗв (Neel J.V., 1996).

Наиболее острыми вопросами, волнующими ученых, врачей и общественность, являются генетические эффекты радиоактивного облучения вследствие аварии на ЧАЭС и их последствия для здоровья последующих поколений. По-видимому, наиболее полный и исчерпывающий ответ на эти вопросы могли бы дать широкомасштабные долгосрочные эпидемиологические исследования врожденных и наследственных пороков развития, проводимые в системе генетического мониторинга на-

could, for example, be studies performed on children of A-bombing survivors in Hiroshima and Nagasaki (Neel J.V., 1958, 1995, 1998). But J.V. Neel considers that a substantial shortcoming of these studies was the absence of similar epidemiological research before the A-bombing i.e. an adequate control group. Similar epidemiological studies were held after the Chernobyl disaster in Belarus where congenital malformations genetic monitoring was carried out before the ChNPP accident too. According to 10-years research among the population resident in zones contaminated with radioactive waste products who received radiation exposure doses from 8 to 52 mSv, authors note the congenital malformations incidence increase compared to that during the period before the ChNPP accident. G.I. Lazjuk et al. (1998) connect such an increase not only and not so much to population additional radiation exposure as to a not yet revealed complex of factors. Among those nutritional imbalance could be the most significant.

Newly worked out methods of mutations registration in genome with nucleotide DNA sequences analysis, mutation identification in genes leading to hereditary diseases launched a new era in ionizing radiation impact on human heredity genetic consequences studies. In 1985 a group of 600 families was formed in Japan (mother/father/child trios) in which at least one parent was an atomic bombing survivor in Hiroshima or Nagasaki. The pilot study of mutations was held in that group i.e. the nucleotide bases substitution at human coagulation factor IX gene using denaturing gradient-gel electrophoresis (DGGE) technique (Satoh C. et al., 1993). A total of 6724 base pairs of DNA were examined in each of 100 children but no spontaneous mutations were detected. All the same one can say something concerning numerous attempts of the two-dimensional DNA gel-electrophoresis method application by Japanese researchers (Asakawa J. et al., 1994).

More recently (Dubrova Y.E. et al., 1993), hypermutable minisatellites were proposed as a potential new tools to investigate the effect of ionizing radiation at the DNA level. Minisatellites are regions of the DNA characterized by a variable number of tandem repeats of units varying from 6 to 100 bp in length (Jeffreys A.S. et al., 1985) which mutate predominantly in the germline probably as the result of DNA double strand breaks (Buard J., Vergnaud G., 1994). The evaluation of mutation rate at hypermutable minisatellite loci was used for the first time as an indicator of genetic effect of irradiation on human by two groups of researchers, with apparently conflicting results (Kodaira M. et al., 1995; Dubrova Y. et al., 1996).

Here the results of heritable mutations pilot study are presented for human genome 7 minisat-

селения. Например исследования детей, родители которых пережили атомную бомбардировку в Хиросиме и Нагасаки (Neel J.V., 1958, 1995, 1998). Однако J.V. Neel считает, что существенным недостатком этих исследований является отсутствие подобных эпидемиологических исследований после Чернобыльской катастрофы были проведены в Беларуси, где генетический мониторинг врожденных пороков развития проводили и до аварии на ЧАЭС. По данным 10-летних исследований среди населения, проживающего в зонах, загрязненных радиоактивными отходами, получивших дозы облучения от 8 до 52 мЗв, авторы отмечают увеличение частоты врожденных пороков развития по сравнению с таковой в период до аварии на ЧАЭС. Г.И. Лазюк и соавторы (1998) связывают такое увеличение не только и не столько с дополнительным облучением населения, сколько с комплексом еще не установленных факторов, наиболее существенным из которых может быть несбалансированное питание.

Разработанные за последнее время методы учета мутаций в геноме с использованием анализа нуклеотидной последовательности ДНК, идентификация мутаций в генах, приводящих к развитию наследственных заболеваний, открыли новую эру в изучении генетических последствий влияния ионизирующих излучений на наследственность человека. Начиная с 1985 г. в Японии была сформирована группа из 600 семей (трио – мать–отец–ребенок), в которых хотя бы один из родителей пережил ядерную бомбардировку в Хиросиме и Нагасаки. В этой группе были проведены пилотные исследования мутаций, т.е. замен нуклеотидных оснований гена фактора коагуляции IX, с использованием метода DGGE – градиентного гель-электрофореза в денатурирующих условиях (Satoh C. et al., 1993). У каждого ребенка из 100 детей из обследуемых групп было проанализировано 6724 пары оснований ДНК. Однако не было выявлено ни одной спонтанной мутации. То же можно сказать и о многочисленных попытках использования японскими исследователями (Asakawa J. et al., 1994) методом двумерного электрофореза ДНК.

Недавно в качестве потенциальных маркеров для исследования генетических эффектов ионизирующих излучений на уровне ДНК были предложены гиперmutable минисателлитные локусы (Dubrova Y.E. et al., 1993). Минисателлиты – это последовательности ДНК, характеризующиеся варьирующим числом tandemных повторяющихся последовательностей (идентичных единиц), длина которых варьирует от 6 до 100 пар оснований (Jeffreys A.S. et al., 1985), мутации в которых возникают главным образом в половых клетках и предположительно в результате дуплетных разрывов ДНК (Buard J., Vergnaud G., 1994). Впервые мутации в минисателлитных локусах в качестве маркера генетических эффектов ионизирующих излучений у человека были использованы двумя группами ученых (Kodaira M. et al., 1995; Dubrova Y. et al., 1996).

В данной работе представлены результаты пилотных исследований наследуемых мутаций в семи минисателлитных ло-

ellite loci in children born after 1986 whose fathers were liquidators of the ChNPP accident. Somatic and mental health indices analysis was held in the study group.

SUBJECTS, MATERIAL AND METHODS OF RESEARCH

Families

In this study we analysed two groups of families (mother, father, children) from Ukraine. In the first, referred to as group of liquidators 183 children were selected for examination. They were born after 1986 of fathers who were ChNPP accident liquidators (1986–1987 period). 163 children were included in the control group. Their parents were not resident within the ChNPP accident zone and were not accident consequences clean-up participants. Health status indices analysis was held in both these groups. All the necessary information regarding liquidators' work period and character, means of individual protection used and received radiation doses was collected.

Material and Methods

DNA samples were isolated from peripheral blood specimens using the phenol-chloroform extraction method. Samples of DNA (5 µg) were hydrolysed with Alu I restriction endonuclease. Hydrolysis products separation was held via electrophoresis through a 40–cm-long 0.8% agarose gel (SeaKem, FMC) in 0.5x TBE buffer (44 mM Tris-borate pH 8.3, 1 mM EDTA). Separated DNA fragments were transferred to a nylon membrane filter (Hybond-Nfp, Amersham) and hybridised with ³²P-labelled probes (Feinberg A.P., Vogelstein B., 1984). 7 hypervariable single-locus minisatellite probes CEB1 (D2S90), CEB 15 (D1S172), CEB 72 (D17S888), CEB 42 (D8S358), CEB36 (D10S473), CEB 25 (D10S180) (Amarger V. et al., 1998) and B6.7 (located in chromosome 20q13) (Kimpton C.P. et al., 1992) were used. DNA fragment sizes were scored by two independent experts using a 1 kb DNA ladder (Gibco BRL). Biological paternity was confirmed in children with registered mutations both in the control and main study groups by DNA gene-typing with PCR using in following VNTR- and STR-loci: PMCT 118 (D1S80), pYNZ22 (D17S5), D21S11, DYS19, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS389A, DYS389B, HUMvWF, HUMTHO1.

RESULTS AND DISCUSSION

Results of the investigation of health status and physical development indices in children from both groups showed that the portion of practically healthy children from families of liquidators constituted only 2% whereas in the control group — 26,7%. Disharmonious physical development was observed in 30% of children from families of liquidators. Frequent infectious diseases (76%) are characteristic for this group of children. In 62,5% of children of liquidators

кусах генома человека у детей, родившихся после 1986г, отцы которых были участниками ликвидации аварии на ЧАЭС в 1986–1987 гг. В обследуемой группе был проведен анализ соматических и психических показателей здоровья детей.

ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Семьи

В данном исследовании мы проанализировали две группы семей (мать, отец, дети) из Украины. В первую группу, названную нами группой ликвидаторов, для исследования были отобраны 183 ребенка, родившихся от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС (1986–1987). В контрольную группу были включены 163 ребенка, родители которых не проживали в зоне аварии на ЧАЭС и не являлись участниками ликвидации ее последствий. В этих группах была проведена оценка показателей здоровья детей. В группе ликвидаторов мы собрали необходимую информацию о периоде и характере работы, средствах индивидуальной защиты и полученных отцами-ликвидаторами дозах облучения.

Материалы и методы

ДНК выделяли из образцов свежей крови, используя метод фенол-хлороформной экстракции. Образцы ДНК (5 мкг) гидролизировали эндонуклеазой рестрикции Alu I. Электрофоретическое разделение продуктов гидролиза проводили в 0,8% агарозном геле (SeaKem, FMC) длиной 40 см в буфере 0,5x TBE (44 mM Tris-borate pH 8,3, 1 mM EDTA), после чего их перенесли на нейлоновый фильтр (Hybond-Nfp, Amersham) и гибридизировали с ³²P-мечеными зондами (Feinberg A.P., Vogelstein B., 1984). Для анализа использовали 7 гипервариабельных однолокусных минисателлитных зондов: CEB1 (D2S90), CEB15 (D1S172), CEB72 (D17S888), CEB42 (D8S358), CEB36 (D10S473), CEB25 (D10S180) (Amarger V. et al., 1998) и B6.7 (локализованный на хромосоме 20q13) (Kimpton C.P. et al., 1992). Размер ДНК фрагментов определяли два независимых эксперта, при этом в качестве маркера использовали 1 т.п.н. ДНК ladder (Gibco BRL). Биологическое отцовство было подтверждено у детей с выявленными мутациями в контрольной и опытной группах путем генотипирования ДНК с использованием ПЦР в следующих VNTR- и STR-локусах: PMCT118 (D1S80), pYNZ22 (D17S5), D21S11, DYS19, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS389A, DYS389B, HUMvWF, HUMTHO1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате обследования показателей здоровья и физического развития детей из двух групп было выявлено, что доля практически здоровых детей из семей ликвидаторов составляла всего 2%, тогда как в контрольной группе – 26,7%. Дисгармоническое физическое развитие наблюдали у 30% детей из семей ликвидаторов. Для детей этой группы характерны частые инфекционные заболевания (76%). У 62,5% детей ликвидаторов частые заболевания сочетались с сис-

frequent diseases were combined with autonomous nervous system systemic affection, pathology torpid course and an early trend to chronic were observed. No kind of hereditary pathology was revealed in children from families of liquidators.

We created a collection of DNA samples (549 from families of liquidators and 489 from the control group) as well as a data bank with information about period of time spent working and work description of father-liquidators, means of personal protection used and radiation dose received. The results of mutation analysis in 7 minisatellite loci from children of liquidator families and control group are shown in the table. Only mutations of paternal origin were registered in this trial. The highest mutability was marked in locus CEB1. In the control group for this locus the mutation rate constituted 14%, corresponding to the data obtained for the populations in Europe (Vernaud G. et al., 1991; Dubrova Y. et al., 1997). In children of liquidators mutation level was over 15%. The same trend was observed for loci B6.7 and CEB36. However the observed increase of mutation rate in loci CEB1 and B6.7 in children of liquidators compared to that in control group was not statistically reliable. For the remaining four loci no statistically reliable differences were fixed between the control group and the group of families of liquidators.

We defined the mean paternal ages at the birth of their children with and without registered mutations in both groups. No statistically significant differences were fixed between average paternal age in control group (28.71 ± 0.7 , $\sigma = 6.92$, $p > 0.05$) and children of the liquidator group (29.51 ± 0.42 , $\sigma = 4.5$, $p > 0.05$). No statistically substantial differences were revealed concerning the named parameter in fathers of children in the control group with and without mutations (28.6 ± 1.37 , $\sigma = 6.12$; 28.74 ± 0.81 , $\sigma = 7.15$, $p > 0.05$), as well as in families of liquidators group (29.5 ± 0.91 , $\sigma = 4.25$; 29.52 ± 0.47 , $\sigma = 4.58$, $p > 0.05$). Thus no dependence between paternal age and mutation rise of paternal origin was revealed.

The received results do not lead to an exact solution to ionizing radiation impact problem concerning hereditary mutations at minisatellite loci in ChNPP accident liquidators exposed in 1986. Probably, there is a selective sensibility to mutagenic impact of irradiation in some minisatellite loci. However, one should not draw direct analogies of our results neither with results of Japanese researchers (Kodaira M. et al., 1995) nor with those received by Y. Dubrova and other authors during mutation studies among children of Belarus resident within territories with soil high contamination density after the ChNPP accident (Dubrova Y. et al., 1997). Firstly, the studied person contingents differ with radiation exposure doses. Secondly, not only paternal but also maternal origin mutations

темным поражением вегетативной нервной системы, наблюдалось торпидное течение заболеваний и ранняя их хронизация. Какой-либо наследственной патологии у детей из семей ликвидаторов выявлено не было.

Мы создали коллекцию образцов ДНК (549 из семей ликвидаторов и 489 — из контрольной группы), а также банк данных, содержащий информацию о периоде и характере работы отцов-ликвидаторов, средствах их индивидуальной защиты и полученной дозе. В таблице представлены результаты анализа мутаций в 7 минисателлитных локусах у детей из семей ликвидаторов и контрольной группы. В данном исследовании учитывали мутации только отцовского происхождения. Наиболее высокая мутабельность была отмечена в локусе СЕВ1. Для этого локуса в контрольной группе уровень мутаций составлял 14%, что соответствует данным, полученным для популяций Европы (Vernaud G. et al., 1991; Dubrova Y. et al., 1997). У детей ликвидаторов уровень мутаций был более 15%. Такая же тенденция наблюдалась и для локусов В6.7 и СЕВ36. Однако наблюдаемое увеличение уровня мутаций в локусах СЕВ1 и В6.7 у детей ликвидаторов по сравнению с таковым у детей из контрольной группы не было статистически достоверным. Для остальных четырех локусов также не было установлено статистически достоверных различий между контрольной группой и группой семей ликвидаторов.

Мы определили средний возраст отцов в двух группах на момент рождения их детей с выявленными мутациями и без них. Статистически достоверных различий между средним возрастом отцов на момент рождения детей из контрольной группы семей ($28,71 \pm 0,7$, $\sigma = 6,92$, $p > 0,05$) и семей ликвидаторов ($29,51 \pm 0,42$, $\sigma = 4,5$, $p > 0,05$) установлено не было. Статистически достоверных различий по этому показателю не было выявлено для отцов детей с зарегистрированными мутациями и без мутаций как в контрольной группе ($28,6 \pm 1,37$, $\sigma = 6,12$; $28,74 \pm 0,81$, $\sigma = 7,15$, $p > 0,05$), так и в группе семей ликвидаторов ($29,5 \pm 0,91$, $\sigma = 4,25$; $29,52 \pm 0,47$, $\sigma = 4,58$, $p > 0,05$). Таким образом, зависимости между возрастом отцов и возникновением мутаций отцовского происхождения в обеих группах не обнаружено.

Полученные результаты не дают однозначного ответа на вопрос о влиянии ионизирующих излучений, воздействию которой подверглись ликвидаторы на ЧАЭС в 1986 г, на уровень наследуемых мутаций в минисателлитных локусах. Возможно, существует избирательная чувствительность отдельных локусов к мутагенному воздействию ионизирующих излучений. Однако не следует проводить прямые аналогии между данными, полученными нами, результатами исследований японских ученых (Kodaira M. et al., 1995) и полученными Ю. Дубровой и другими авторами при исследовании мутаций у детей из Беларуси, проживающих на территориях с высоким уровнем загрязнения радионуклидами вследствие аварии на ЧАЭС (Dubrova Y. et al., 1997). Во-первых, исследуемые контингенты лиц различаются по дозам облучения. Во-вторых, как в немногочисленной

were registered both in the not numerous group of studied families in Japan and in the group of families from Belarus, as both parents were exposed to radiation there. But in our study group of families only fathers were exposed to ionizing radiation — the ChNPP accident consequences liquidators.

Little is known up-to-now about the germline mutability at minisatellite loci taking place in humans. Recently data were obtained pointing to gene conversion and crossing-over processes in minisatellites having a common mechanism, perhaps consisting of alternative processing of a meiotic recombination initiation complex (Buard J., Vergnaud G., 1994; Jeffreys A. et al., 1994; Jeffreys A. et al., 1998). In case of such a mutation genesis mechanism the question arises concerning our ability to detect genetic effects of irradiation in children whose parents were exposed long before their conception. If such an effect really exists it is very likely being detected under mutation analysis in children who were conceived during their fathers exposure to considerable radiation doses. We hope to obtain an answer to this question of our research following completion.

группе обследованных семей из Японии, так и в группе семей из Беларуси учитывали мутации не только отцовского, но и материнского происхождения, поскольку оба родителя подвергались облучению, тогда как в обследованной нами группе семей воздействию ионизирующих излучений были подвергнуты только отцы — ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС.

На сегодняшний день немного известно о мутабельности минисателлитных локусов, происходящих в половых клетках человека. Недавно были получены данные, указывающие на то, что процессы кроссинговера и геномной конверсии, происходящие в минисателлитах, имеют общий механизм, заключающийся, возможно, в альтернативном включении иницирующего комплекса рекомбинации (Buard J., Vergnaud G., 1994; Jeffreys A. et al., 1994; Jeffreys A. et al., 1998). В случае такого механизма происхождения мутаций возникает вопрос: сможем ли мы зарегистрировать генетический эффект ионизирующих излучений у детей, родители которых подвергались облучению задолго до их зачатия? Если такой эффект и существует, то наиболее четко его можно будет зафиксировать при анализе мутаций у детей, которые были зачаты во время получения их отцами существенных доз радиации. Мы надеемся получить ответ на данный вопрос по завершению наших исследований.

MUTATION RATE IN FAMILIES OF LIQUIDATORS AND CONTROL GROUP

TABLE

ТАБЛИЦА

МУТАЦИОННЫЙ УРОВЕНЬ В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ И В ГРУППЕ СЕМЕЙ ЛИКВИДАТОРОВ

| Loci | Control Group | | | Liquidators | | | Liquidators/ Control Ratio | p* |
|--------|-------------------------------|------------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------|-------------------|-------------------------------|------|
| | Number of Paternal Meioses | Number of Mutations | Mutation Level | Number of Paternal Meioses | Number of Mutations | Mutation Level | | |
| CEB 1 | 163 | 23 | 0.1411 | 183 | 28 | 0.1530 | 1.08 | 0.76 |
| CEB 15 | 153 | 5 | 0.0327 | 169 | 2 | 0.0118 | 0.36 | 0.27 |
| CEB 72 | 161 | 4 | 0.0248 | 168 | 2 | 0.0119 | 0.48 | 0.44 |
| CEB 42 | 150 | 1 | 0.0067 | 171 | 2 | 0.0117 | 1.75 | 1.0 |
| CEB 36 | 160 | 0 | 0 | 181 | 4 | 0.0221 | — | 0.13 |
| CEB 25 | 123 | 8 | 0.065 | 138 | 3 | 0.0217 | 0.33 | 0.12 |
| B6.7 | 126 | 10 | 0.0794 | 144 | 12 | 0.0833 | 1.05 | 1.0 |

Note. * - Probability using Fisher's exact test.

Примечание. * Вероятность рассчитана по критерию Фишера.

REFERENCES

Лазюк ГИ, Николаев ДЛ, Миненко ВФ. Облучение населения Беларуси выбросами ЧАЭС и динамика врожденных пороков развития. В кн.: Отдаленные медицинские последствия Чернобыльской катастрофы. Материалы 2-й Международной конференции. Киев, Украина, 1998, с. 70–71.
[Lazjuk G.I., Nikolayev D.L., Minenko V.F. Belarussian population irradiation by Chernobyl Npp releases and congenital malformations dynamics. In Long-term consequences of the Chernobyl disaster. Proceedings 2-nd International Conference. Kyiv, Ukraine, 1998, pp. 70–71.]
Amarger V., Gauguier D., Yérle M., Apiou F., Pinton P., Giraudeau F., Monfouilloux S., Lathrop M., Dutrillaux B., Buard J., Vergnaud G. Analysis of the human, pig, and rat genomes supports a universal telomeric origin of minisatellite sequences. *Genomics*, 1998, 52: 62–71.
Asakawa J., Kuick R., Neel J.V., Kodaira M., Satoh C., Hanash S.M. Genetic variation detected by quantita-

tive analysis of end-labeled genomic DNA fragments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91: 9052–9056.

Buard J., Vergnaud G. Complex recombination events at the hypermutable minisatellite CEB1 (D2S90). *EMBO J.*, 1994, 13 (13): 3203–3210.

Dubrova Y.E., Jeffreys A.J., Malaschenko A.M. Mouse minisatellite mutations induced by ionising radiation. *Nature Genet.*, 1993, 5: 92–94.

Dubrova Y., Nesterov V., Krouchinsky N., Ostapenko V., Neumann R., Neil D.L., Jeffreys A.J. Human minisatellite mutation rate after the Chernobyl accident. *Nature*, 1996, 360: 683–686.

Dubrova Y., Nesterov V., Krouchinsky N., Ostapenko V., Vergnaud G., Giraudeau F., Buard J., Jeffreys A. Further evidence for elevated human minisatellite mutation rate in Belarus eight years after the Chernobyl accident. *Mutation Research*, 1997, 381: 267–278.

Feinberg A.P., Vogelstein B. Addendum: a technique for radiolabeling DN restriction endonuclease fragments to

high specific activity. *Anal. Biochem.*, 1984, 137: 266–267.

Jeffreys A, Neil DL, Neumann R. Repeat instability at human minisatellites arising from meiotic recombination. *EMBO J.*, 1998, 17 (14): 4147–4157.

Jeffreys AJ, Royle NJ, Wilson V, Wong Z. Spontaneous mutation rate to new length alleles at tandem-repeat hypervariable loci in human DNA. *Nature*, 1985, 332: 278–291.

Jeffreys A, Tamaki K, MacLeod A, Monckton D, Neil D, Armour J. Complex gene conversion events in germline mutation at human minisatellites. *Nature Genet.*, 1994, 6: 136–145.

Kimpton CP, Hopgood R, Watson SK, Gill P, Sullivan K. Cloning and characterization of novel single locus probes for forensic purposes. *Advances in Forensic Haemogenetics*. 1992, 4: 129–131.

Kodaira M, Satoh C, Hiyama K, Toyama K. Lack of effects of atomic bomb radiation on genetic instability of tandem-repetitive elements in human germ cells. *Am. J. Hum. Genet.*, 1995, 57:1275–1283.

Neel JV. A study of major congenital defects in Japanese infants. *Am. J. Hum. Genet.*, 1958, 10:398–445.

Neel JV. The genetic effects of human exposures to ionizing radiation. In: J.P. Young, R.S. Yalow (eds.). *Radiation and Public Perception: Benefits and Risks*, American Chemical Society, Washington, D.C., 1995, p.115–131.

Neel JV. The genetic effects of ionizing radiation on humans. A presentation read at “Chornobyl: Implications of a Decade” held at the IX International Congress of Human Genetics, 1996.

Neel JV. Genetic studies at the atomic bomb casualty commission- radiation effects research foundation:1946–1997. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95: 5432–5436.

Satoh C, Takahashi N, Asakawa J, Hiyama K, Kodaira M. Variations among Japanese of the factor IX gene (F9) detected by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Am. J. Hum. Genet.*, 1993, 52: 167–175.

Vergnaud G, Mariat D, Apiou F, Aurias A, Latbrop M, Lauthier V. The use of synthetic tandem repeats to isolate new VNTR loci: cloning of a human hypermutable sequence. *Genomics*, 1991, 11: 135–144.