

УДК:575.224.46

Изменение уровней УФ-индуцированного мутагенеза при комбинации мутаций по генам, кодирующим белки-модификаторы хроматина, с мутацией *rad54* у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Черненко А. Ю., Кожина Т. Н., Королев В. Г.

Гены *DOT1*, *HSM6* и *ASF1* кодируют ключевые белки-модификаторы хроматиновой структуры. Нами изучено влияние комбинации мутаций *dot1*, *hsm6* и *asf1* с мутацией *rad54*. Показано, что в двойных мутантах *dot1rad54*, *hsm6rad54* и *asf1rad54* наблюдается резкое повышение уровня мутирования под действием УФ лучей. Комбинации указанных мутаций приводят также к изменению выживаемости клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при облучении УФ.

Ключевые слова: дрожжи, мутагенез, хроматин, модификаторы.

The levels of UV-induced mutagenesis change in case of mutations in chromatin-remodeling proteins encoding genes are combined with the *rad54* mutation in yeast *Saccharomyces cerevisiae*

Chernenkov A.Yu., Kozhina T. N., Korolev V. G.

Yeast *Saccharomyces cerevisiae* *DOT1*, *HSM6* and *ASF1* genes encode crucial protein chromatin modifiers. We studied the effects of combining *dot1*, *hsm6* and *asf1* mutations with *rad54* mutation. It's demonstrated that the enormous increase of UV-induced mutagenesis is representative for *dot1rad54*, *hsm6rad54* and *asf1rad54* double mutants. Simultaneously the levels of survival of these double mutants change under the UV light action.

Keywords: yeast, mutagenesis, chromatin, modifiers.

Введение

У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* белок Rad52 является ключевым в процессе проведения репарации двунитевых разрывов (ДНР) ДНК с использованием механизма гомологичной рекомбинационной репарации (ГРР) [9]. Белок Rad54 индуцируется в ответ на ДНР ДНК, но привлекается на более поздних стадиях

ГРР, чем Rad52p. Мутанты по гену *RAD54* отличаются повышенной чувствительностью к летальному действию гамма-лучей и ультрафиолета (УФ) [9, 11].

Ранее нами установлено, что частоты спонтанного мутирования изменяются при комбинациях мутаций *hsm3* и *hsm6* с мутацией *rad52* [6]. Как показано в наших предыдущих работах, продукт гена *HSM3* принимает участие в стабилизации основного интермедиата пострепликативной репарации (ПРР) и ГРР — D-петли [4, 5].

Ген *HSM6* идентичен гену *PSY4* [3]. Мутации в этом гене влияют на мутационный процесс примерно так же, как и мутации *hsm3*. Белок Psy4 входит в состав трехсубъединичного фосфатазного комплекса Pph3—Psy2—Psy4, биохимическая функция которого состоит в дефосфорилировании гистона γ H2A [3]. При этом никаких изменений в частотах спонтанного мутирования при комбинации мутаций *hsm3* и *hsm6* с мутацией *rad54* выявлено не было.

Ген *DOT1* дрожжей *S. cerevisiae* кодирует гистон-метилазу, принимающую участие в модификации структуры хроматина в процессе чекпойнта, а также при репарации ДНР ДНК [8, 13].

Ген *ASF1* кодирует белок Asf1, отвечающий за сборку-разборку нуклеосом и структуры хроматина, а также способный влиять на уровень пула дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (дНТФ) в клетке [10, 14]. Мутанты *asf1* характеризуются замедленным ростом и повышенной чувствительностью к летальному действию ряда мутагенов [10].

В данной работе мы показали, что наблюдается изменение уровней УФ-индуцированного мутагенеза и выживаемости при комбинации мутаций *hsm6*, *dot1* и *asf1* с мутацией *rad54*.

Материалы и методы

Штаммы

Генотипы штаммов *S. cerevisiae*, использованных в работе, приведены в таблице 1. Одиночные мутанты (нуль-аллели) *rad52*, *rad54*, *dot1*, *asf1* были получены замещением соответствующих генов в штамме дикого типа (2D-3034) при помощи вставки маркерных генов ауксотрофных потребностей, а также генетициновой (GEN) и NAT-кассет, в рамки считывания исходных генов в штамме дикого типа (см. *Таблицу*). Одиночный мутант *hsm6* происходит из генетической коллекции лаборатории. Двойные мутанты *dot1rad52*, *dot1rad54*, *hsm6rad52*,

hsm6rad54, *asf1rad52* и *asf1rad54* были получены делетированием генов *RAD52* и *RAD54*, в указанных выше одиночных мутантах. Корректность вставок контролировалась при помощи ПЦР с использованием комбинаций двух внешних и/или внешнего и внутреннего праймеров для каждого из указанных генов, что позволяет контролировать фланги и замещение гена внутри рамки считывания.

Таблица 1 — Генотипы штаммов дрожжей, использованные в работе

Штамм	Генотип
<i>wt</i> (2D-3034)	<i>MATα ade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1</i>
<i>rad52</i>	<i>MATα ade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1rad52::URA3</i>
<i>rad54</i>	<i>MATαade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1rad54::LEU2</i>
<i>dot1</i>	<i>MATαade2Δ-248 leu2-3.112 ura3-160.188 trp1dot1::GEN^R</i>
<i>hsm6</i>	<i>MATα ade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1 hsm6-1</i>
<i>asf1</i>	<i>MATαade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1 asf1::NAT</i>
<i>dot1rad52</i>	<i>MATαade2Δ-248 leu2-3.112 ura3-160.188 trp1dot1::GEN^R rad52::URA3</i>
<i>dot1rad54</i>	<i>MATαade2Δ-248 leu2-3.112 ura3-160.188 trp1dot1::GEN^R rad54::LEU2</i>
<i>hsm6rad52</i>	<i>MATα ade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1 hsm6-1 rad52::URA3</i>
<i>hsm6rad54</i>	<i>MATα ade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1 hsm6-1 rad54::LEU2</i>
<i>asf1rad52</i>	<i>MATα ade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1 asf1::NAT rad52::URA3</i>
<i>asf1rad54</i>	<i>MATαade2Δ-248 leu2-3,112 ura3-160,188trp1 asf1::NAT rad54::LEU2</i>

Среды

В работе использовались стандартные среды полного и минимального состава [1]. При работе с ауксотрофными мутантами в минимальную среду добавляли необходимые для роста метаболиты из расчета 20 мг/л для аминокислот и 3 мг/л для азотистых оснований. При учете частоты индуцированных мутаций по пяти *ADE* локусам использовалась среда со спиртом, состав которой описан ранее в [2].

Мутационные тесты

Источником УФ-лучей служила лампа БУФ-30П с мощностью дозы 1, 4 Дж/м²сек. Чувствительность к летальному действию УФ лучей определяли, снимая кривые выживаемости в зависимости от дозы [2]. Чувствительность к мутагенному действию УФ лучей определяли по индукции прямых мутаций в пяти *ADE* локусах (*ADE4*—*ADE8*) [12]. Было поставлено не менее 4—5 повторностей каждого опыта, на графиках приведены средние значения частот с 95 % доверительными интервалами.

Результаты и обсуждение

Нами проведены тесты чувствительности одиночных (штамм дикого типа (*wt*), *rad52*, *rad54*, *hsm6*, *dot1*, *asf1*) и двойных (*dot1rad52*, *dot1rad54*, *hsm6rad52*, *hsm6rad54*, *asf1rad52* и *asf1rad54*) мутантов к летальному и мутагенному действию УФ лучей.

На рисунке 1 представлены графики УФ-индуцированного мутагенеза и выживаемости для штаммов *wt*, *rad52*, *rad54*, *dot1*, *dot1rad52*, *dot1rad54*. Как видно из рисунка 1, одиночные мутанты *rad52*, *rad54*, и *dot1* и двойной мутант *dot1rad52* отличаются по уровню УФ-индуцированного мутагенеза незначительно от штамма дикого типа (*wt*). При этом выживаемость одиночного мутанта *dot1* снижена по сравнению с *wt* при средних дозах облучения. Двойной мутант *dot1rad54* по чувствительности к летальному действию УФ лучей статистически не отличается от одиночных родительских мутантов *dot1* и *rad54*, однако уровень мутагенеза, индуцированного УФ, отличается от штамма дикого типа в ~15—20 раз, и в ~7—8 раз от одиночных родительских мутантов.

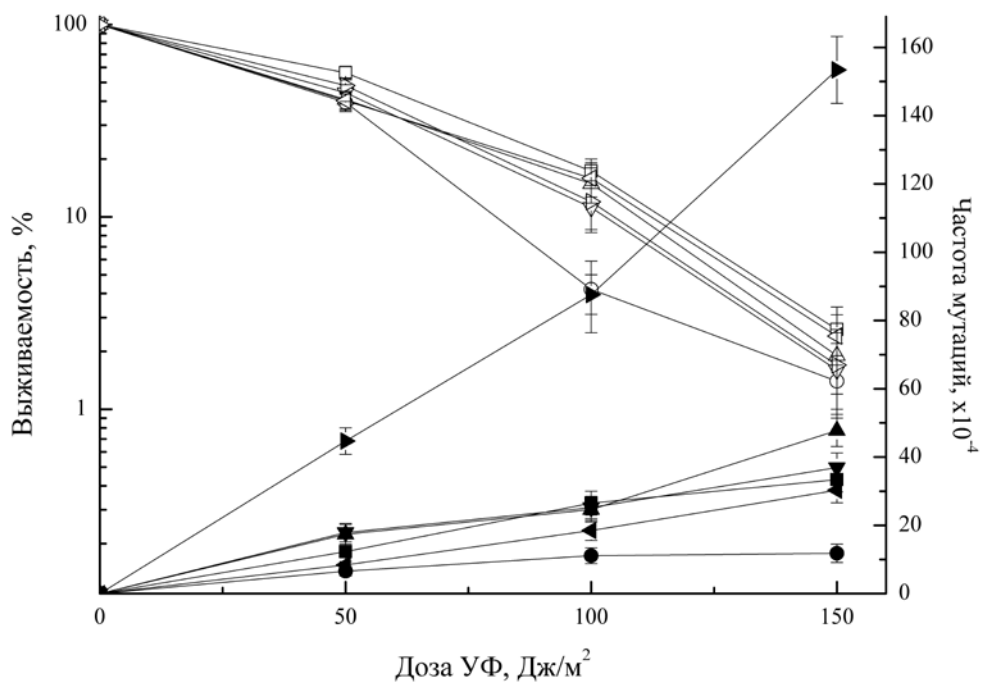


Рисунок 1 — Выживаемость и частота мутаций по 5 ADE локусам у штаммов *wt* (■- ; -□-), *dot1* (-●- ; -○-), *rad52* (-▲- ; -△-), *rad54* (-▼- ; -▽-), *dot1rad52* (-◀- ; -◁-), *dot1rad54* (-▶- ; -▷-) под действием УФ лучей. Закрытые символы — мутагенез, открытые символы — выживаемость.

На рисунке 2 представлены графики УФ-индуцированного мутагенеза и выживаемости для штаммов *wt*, *rad52*, *rad54*, *hsm6*, *hsmbrad52*, *hsmbrad54*. Как видно из рисунка 2, одиночные мутанты *hsm6*, *rad52* и *rad54* статистически близки по уровню УФ-индуцированного мутагенеза и отличаются от штамма дикого типа в ~2 раза. При этом двойной мутант *hsmbrad52* по уровню мутагенеза, индуцированного УФ лучами, отличается в ~3—4 раза от контрольного штамма *wt* и в ~2—2,5 раза от одиночных родительских мутантов *hsm6* и *rad52*. Двойной мутант *hsmbrad54* показал значительное увеличение уровня УФ-индуцированного мутагенеза (~5—6 раз по сравнению со штаммом дикого типа и ~3—4 раза по сравнению с родительскими штаммами), более чем 10-кратное падение выживаемости по сравнению с контрольным штаммом и более чем 5-кратное по сравнению с исходными одиночными мутантами.

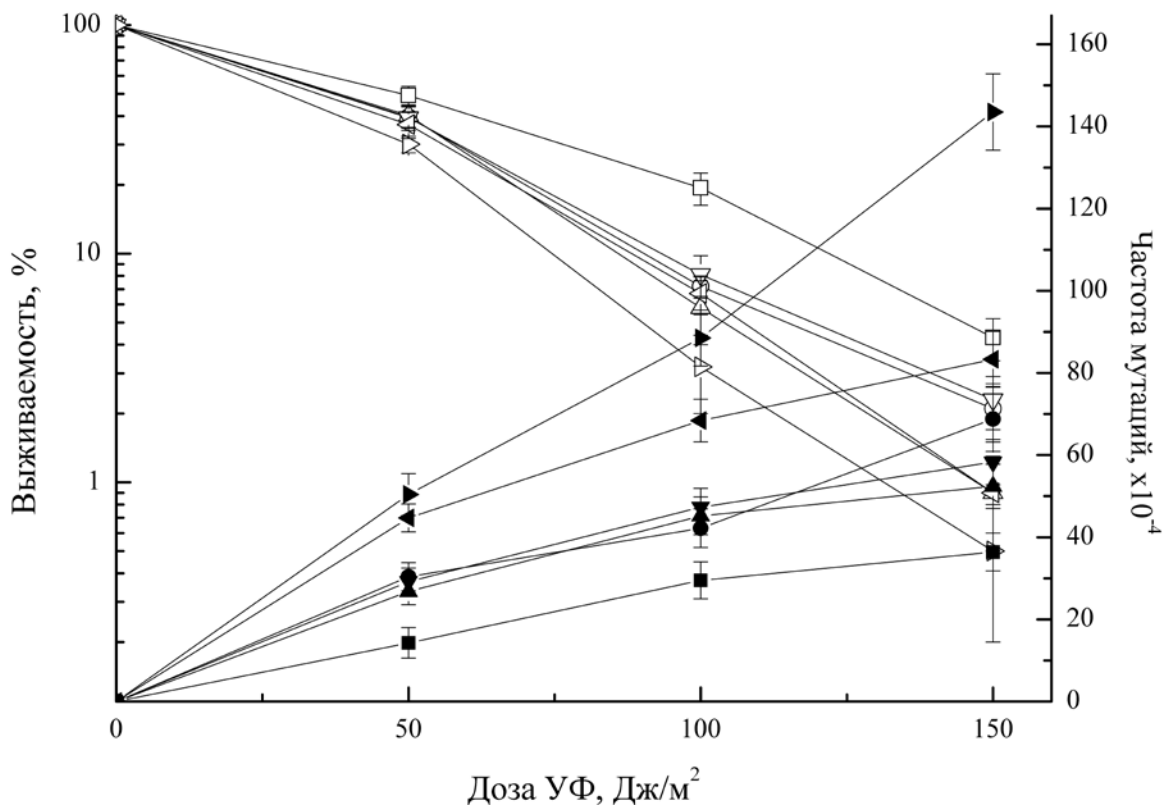


Рисунок 2 — Выживаемость и частота мутаций по 5 ADE локусам у штаммов *wt* (■- ; □-), *hsm6* (●- ; ○-), *rad52* (▲- ; △-), *rad54* (▼- ; ▽-), *hsmbrad52* (◀- ; ▷-), *hsmbrad54* (▶- ; ▸-) под действием УФ лучей. Закрытые символы — мутагенез, открытые символы — выживаемость.

На рисунке 3 представлены графики УФ-индуцированного мутагенеза и выживаемости для штаммов *wt*, *rad52*, *rad54*, *asf1*, *asf1rad52*, *asf1rad54*. Как видно из рисунка 3, одиночный мутант *asf1* отличается от контрольного штамма сниженной жизнеспособностью при средних и больших дозах облучения УФ (в ~8—10 раз). При этом обладает повышенным уровнем УФ-индуцированного мутагенеза (в ~7—8 раз выше, чем у штамма дикого типа). Летальность также сильно повышена у двойного мутанта *asf1rad54*: более чем в 10—12 раз по сравнению со штаммом *wt*, и более чем в 3—5 раз по сравнению с одиночными мутантами *asf1* и *rad54*. Указанный двойной мутант характеризуется также сверхвысоким мутагенезом (при всех дозах УФ): уровень мутаций в 8—10 раз выше, чем у штамма дикого типа. Следует отметить, что частоты индуцированных мутаций у двойного мутанта *asf1rad52* статистически близки к таковым у одиночного мутанта *asf1*.

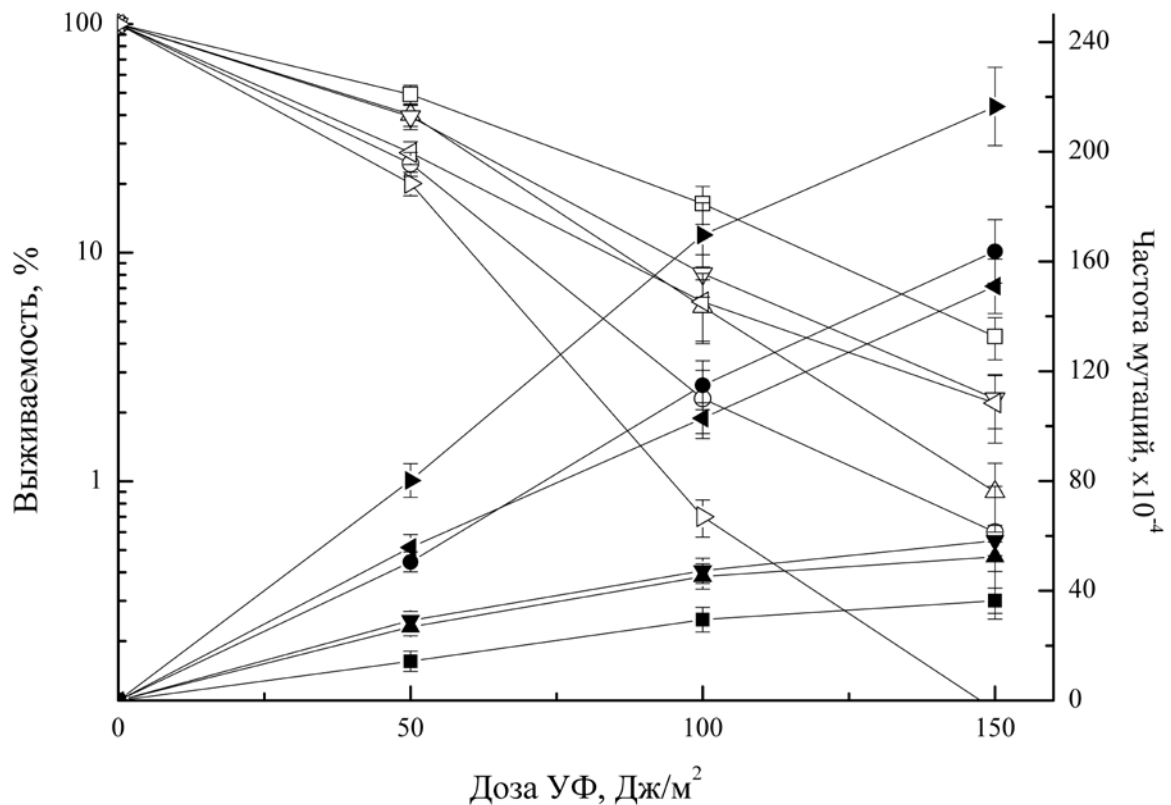


Рисунок 3 — Выживаемость и частота мутаций по 5 ADE локусам у штаммов *wt* (■- ; □-), *asf1* (●- ; ○-), *rad52* (▲- ; △-), *rad54* (▼- ; ▽-), *asf1rad52* (◀- ; ▷-), *asf1rad54* (▶- ; ▹-) под действием УФ лучей. Закрытые символы — мутагенез, открытые символы — выживаемость.

Большинство жизненно важных процессов, связанных с ДНК, таких как транскрипция, репликация, рекомбинация и репарация, включают в себя изменения структуры ДНК и организации хроматина. Гистоновые белки образуют кор хроматина, и их пост-трансляционные модификации критичны для регуляции различных матричных процессов, таких как репарация и мутагенез.

Метилирование гистона H3 является одним из ключевых событий в регуляции репарационных процессов у дрожжей. Одной из таких модификаций является метилирование белком Dot1 лизина 79 (K79) гистона H3 [8]. В течение роста клеток дрожжей около 90 % нуклеосом содержат метилированный остаток H3—K79. Штаммы дрожжей, делетированные по гену *DOT1*, или штаммы, в которых K79 заменен на другую аминокислоту, показывают ярко выраженную радиочувствительность [8, 13]. Монометилирование K79 не индуцируется в ответ на повреждения ДНК, хотя необходимо для ускорения репарационного процесса [13]. Мутация *dot1* приводит к увеличенному мутагенезу, индуцированному метилметансульфонатом (ММС), что свидетельствует о том, что Dot1 негативно регулирует мутагенный путь обхода повреждений ДНК. Мутант *dot1* более устойчив, чем дикий тип, к высоким дозам ММС. Белок Dot1 требуется также для мейотического и митотического рекомбинационного чекпойнта [8].

Анализ эпистатического взаимодействия гена *DOT1* с ключевым геном *RAD52*, контролирующим ГРР, показал, что УФ чувствительность мутанта *dot1* определяется его влиянием на ГРР, так как оба мутанта *dot1* и *rad52* показали одинаковую чувствительность к мутагену (рисунок 1). Таким образом, наши данные подтверждают полученный ранее результат об участии гена *DOT1* в контроле рекомбинационной репарации [8, 13]. В то же время, в случае взаимодействия мутаций *dot1* и *rad54* мы наблюдали резкое повышение уровня УФ-индуцированного мутагенеза. Известно, что ген *RAD54* активируется после *RAD52* в механизме ГРР, но, в основном, отвечает за репарацию ДНР ДНК, возникших при УФ облучении клеток [7, 9, 11]. Однако не так давно появились данные о том, что Rad54p является одним из модификаторов структуры хроматина: входит в семейство SWI/SNF транслоказ, изменяющих топологию хроматина в том числе и в случае репарации ДНР ДНК [11]. Мы предполагаем, что изменение шаблона метилирования гистона H3 (при выключении *DOT1*) и частичная блокировка репарации ДНР по механизму ГРР (при выключении *RAD54*) приводят к усилению роли ошибочного пути ГРР, что, с одной стороны, повышает выживаемость клеток (большее количество повреждений ДНК репарируется ошибочным синтезом через повреждения), а с другой, как результат, — ведет к сильному росту индуцированного мутагенеза. Такой характер зависимости инактивации клеток может отражать дефект пострепликативной репарации в мутанте *dot1*, действие которой наиболее выражено у непочкующихся клеток

(начальный участок кривой на рисунке 1). В то же время в почкующихся клетках потеря активности пострепликативной репарации компенсируется активацией рекомбинационной репарации.

Ранее нами показано, что ген *HSM6* принимает участие в контроле мутационного процесса у дрожжей *S. cerevisiae*. Мутации в указанном гене приводят к увеличению скорости спонтанного мутирования, обусловленного репарационным синтезом ДНК. Также наблюдалось увеличение частот мутагенеза, индуцированного различными ДНК повреждающими агентами. Делеция гена *RAD52* также увеличивает темп спонтанного мутирования. Комбинация мутаций в этих генах приводит к еще большему уровню спонтанного мутагенеза, что отрицательно сказывается на жизнеспособности клеток, которая значительно понижена и в одиночном мутанте *rad52* [3, 6].

Мы ранее также показали, что ген *HSM6* идентичен гену *PSY4*, белок *Hsm6* (*Psy4*) работает в составе комплекса Pph3-Psy2-Psy4, дефосфорилирующего гистон γ H2A. То есть, *Hsm6* также относится к белкам-модификаторам структуры хроматина: мутации *hsm6/psy4* изменяют шаблон фосфорилирования-дефосфорилирования Rad53p и γ H2A, что отражается на длительности чекпойнта и эффективности репарации ДНК [3].

В данной работе мы показали, что комбинация мутации *hsm6* с мутациями *rad52* и *rad54* приводит к резкому снижению выживаемости (что согласуется с ранее полученными данными) и увеличению уровня индуцированного мутагенеза (рисунок 2). Таким образом, изменение шаблона дефосфорилирования (инактивация *HSM6*) вкпе с нарушениями в работе системы ГРР (инактивация *RAD52* и/или *RAD54*) имеет более тяжелые последствия для клетки, чем в предыдущем случае — комбинации мутаций *dot1* и *rad54*.

Ген *ASF1* кодирует один из основных факторов сборки нуклеосом, а также сборки-разборки хроматина, в том числе и в случаях чекпойнта и репарации поврежденной ДНК [10, 14]. Мутанты *asf1* отличаются замедленной (в ~2—4 раза) скоростью роста, повышенной чувствительностью к большинству физических и химических агентов, повреждающих ДНК [14]. Также известно, что *Asf1p* способен регулировать уровень пула дНТФ в клетке [10].

Наблюдаемая нами картина (рисунок 3) хорошо согласуется со сказанным выше: выживаемость одиночного мутанта *asf1* сильно снижена по сравнению со штаммом дикого типа. Мы предполагаем, что *Asf1p* работает на пути ГРР совместно с Rad52p: из рисунка 3 видно, что частоты индуцированных мутаций у штаммов *asf1* и *asf1rad52* статистически совпадают. В двойном мутанте

asf1rad52 механизм ГРР полностью блокирован, и бреши в структуре ДНК будут заполняться с использованием ПРР, эффективность которой ухудшена из-за снижения концентрации дНТФ, обусловленного мутацией *asf1*. При этом время, отводимое на каждый акт репарации, значительно повысится из-за задержки чекпойнта, и будет наблюдаться повышение уровня, как выживаемости, так и УФ-индуцированного мутагенеза. В случае двойного мутанта *asf1rad54* снижение выживаемости и увеличение уровня мутирования объясняется переключением на склонный к ошибкам путь ГРР.

Выводы

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что комбинации мутаций основных генов, кодирующим белки-модификаторы хроматиновой структуры — *dot1*, *hsm6* и *asf1*, с мутацией *rad54* приводят к резкому повышению уровня УФ-индуцированного мутагенеза вследствие переключения механизма репарации на ошибочный путь гомологичной рекомбинационной и пострепликативной ветвей, а также снижению выживаемости (в случае двойных мутантов *hsm6rad54* и *asf1rad54*) и изменению времени чекпойнта (мутанты *asf1* и *asf1rad52*). Причем, чем более широкое системное действие имеет модификатор хроматина, тем сильнее для клетки последствия комбинации мутаций в нем с мутацией *rad54*.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ: проект №12-04-01467-а.

Литература

1. Захаров И.А., Кожин С.А., Кожина Т.Н., Федорова И.В. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромицетов // Л. Наука. 1984. 144 с.
2. Ковальцова С.В., Королев В.Г. Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для тестирования мутагенов окружающей среды, основанный на взаимодействии мутаций *rad2* и *him1* // 1996. Генетика. Т.32(3). с.366—372.
3. Федоров Д.В., Ковальцова С.В., Евстюхина Т.А., Пешехонов В.Т., Черненко А.Ю., Королев В.Г. // Ген *HSM6* идентичен гену *PSY4* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // 2013. Генетика. Т.49(3). с.328—336.
4. Черненко А.Ю., Грачева Л.М., Евстюхина Т.А., Ковальцова С.В., Пешехонов В.Т., Федорова И.В., Королев В.Г. // Взаимодействие гена *HSM3c* генами эпистатической группы *RAD6* у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // 2012. Генетика. Т.48(2). с.160—167.

5. Черненко А.Ю., Федоров Д.В., Грачева Л.М., Евстюхина Т.А., Ковальцова С.В., Пешехонов В.Т., Федорова И.В., Королев В.Г. // Взаимодействие гена *HSM3* с генами, инициирующими гомологичную рекомбинационную репарацию у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // 2012. Генетика. Т.48(3). с. 333—339.
6. Черненко А.Ю., Федоров Д.В., Косарева А.А., Кожина Т.Н., Королев В.Г. // Изменение частот спонтанного мутагенеза при комбинациях мутаций *hsm3* и *hsm6* с мутацией *rad52* в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // 2014. Генетика. Т.50(2). с.243—245.
7. Alexeev A., Mazin A., Kowalczykowski S.C. Rad54 protein possesses chromatin-remodeling activity stimulated by the Rad51-ssDNA nucleoprotein filament // 2003. Nat. Struct. Biol. 10(3):182—6
8. Chaudhuri S., Wyrick J.J., Smerdon M.J. Histone H3 Lys79 methylation is required for efficient nucleotide excision repair in a silenced locus of *Saccharomyces cerevisiae* // 2009. Nucl. Ac. Res. V.37. p.1690—1700.
9. Cole G.M., Schild M., Lowett S.T., Mortimer R.K. Regulation of *RAD54*- and *RAD52-lacZ* gene fusions in *Saccharomyces cerevisiae* in response to DNA damage // 1987. Mol. Cell. Biol. V.19877. Iss.3. p.1078—1084.
10. Kats E.S., Albuquerque C.P., Zhou H., Kolodner R.D. Checkpoint functions are required for normal S-phase progression in *Saccharomyces cerevisiae* RCAF- and CAF-I-defective mutants // 2006. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103(10):3710—5
11. Petukhova G., van Komen S., Vergano S., Klein H., Sung P. Yeast Rad54 promotes Rad51-dependent homologous DNA pairing via ATP hydrolysis-driven change in DNA double helix conformation // 1999. J. Biol. Chem. 274(41):29453—62
12. Roman H. A system selective for mutations affecting the synthesis of adenine in yeast // 1956. Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg. Ser. Physiol. V.26. p.299—314.
13. vanLeeuwen F., Gafken P.R., Gottschling D.E. Dot1p modulates silencing in yeast by methylation of the nucleosome core // 2002. Cell. V.109. p.745—756.
14. Yamaki M., Umehara T., Chimura T., Horikoshi M. Cell death with predominant apoptotic features in *Saccharomyces cerevisiae* mediated by deletion of the histone chaperone ASF1 // 2001. Genes Cells 6(12):1043—54.

Literature

1. Zaxarov I.A., Kozhin S.A., Kozhina T.N., Fedorova I.V. Sbornik metodik po genetike drozhzhej-saxaromicetov // L. Nauka. 1984. 144 s.

2. Koval'cova S.V., Korolev V.G. Shtamm drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* dlya testirovaniya mutagenov okruzhayushhej sredy, osnovannyj na vzaimodejstvii mutacij *rad2* i *him1* // 1996. Genetika. T.32(3). s.366—372.
3. Fedorov D.V., Koval'cova S.V., Evstyuxina T.A., Peshexonov V.T., Chernenkov A.Yu., Korolev V.G. // Gen *HSM6* identichen genu *PSY4* drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* // 2013. Genetika. T.49(3). s.328—336.
4. Chernenkov A.Yu., Gracheva L.M., Evstyuxina T.A., Koval'cova S.V., Peshexonov V.T., Fedorova I.V., Korolev V.G. // Vzaimodejstvie gena *HSM3* s genami e'pistaticheskoy gruppy RAD6 u drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* // 2012. Genetika. T.48(2). s.160—167.
5. Chernenkov A.Yu., Fedorov D.V., Gracheva L.M., Evstyuxina T.A., Koval'cova S.V., Peshexonov V.T., Fedorova I.V., Korolyov V.G. // Vzaimodejstvie gena *HSM3* s genami, iniciiruyushhimi gomologichnuyu rekombinacionnuyu reparaciju u drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* // 2012. Genetika. T.48(3). s. 333—339.
6. Chernenkov A.Yu., Fedorov D.V., Kosareva A.A., Kozhina T.N., Korolev V.G. // Izmenenie chastot spontannogo mutageneza pri kombinacijax mutacij *hsm3* i *hsm6* s mutaciej *rad52* v kletkax drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* // 2014. Genetika. T.50(2). s.243—245.