



ФЕНОМЕН ВИРУСНОЙ ХРОМОСОМНОЙ ИНТЕГРАЦИИ

О.В. Голева¹, П.В. Черкасова¹, Е.В. Базиян¹, А.А. Иголкина¹, Ю.А. Эйсмонт¹, Н.В. Скрипченко^{1,2}, А.Б. Чухловин³, О.С. Глотов¹

¹Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

³Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

The phenomenon of viral chromosomal integration

O.V. Goleva¹, P.V. Cherkasova¹, E.V. Baziiian¹, A.A. Igolkina¹, Yu.A. Ejsmont¹, N.V. Skripchenko^{1,2}, A.B. Chukhlovinn³, O.S. Glotov¹

¹Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia

²Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia

³Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation named after R.M. Gorbacheva of First Saint-Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Литературный обзор посвящен вирусам, интегрирующимся в ДНК хромосом, у которых с использованием современных методов диагностики, в том числе высокопроизводительного секвенирования, выявлена способность к интеграции. В обзоре описаны различные типы интегрирующихся вирусов, таких как ретровирусы, аденовирусы, герпес-вирусы, папилломавирусы, гепатит В, SARS-CoV-2 и др., представлены сведения о молекулярных механизмах вирусной интеграции, методах дифференциальной диагностики, приведены данные о распространенности. Каждый из этих вирусов имеет свои уникальные пути взаимодействия с геномом клетки-хозяина для поддержания латентного состояния, что определяет специфику инфекционного процесса и патологические последствия для организма в связи возможностью эффективной реактивации.

Ключевые слова: вирусы, хромосомная интеграция, механизмы, диагностика.

Abstract

The literature review is devoted to the chromosomally integrating viruses, the integration property. These are revealed using modern diagnostic methods, including high-throughput sequencing. The review describes various types of viruses, such as retroviruses, adenoviruses, herpes viruses, papillomaviruses, hepatitis B, SARS-CoV-2 and others. These viruses have the ability to integrate their genomes into the host cell genomes and their prevalence. Modern information on the molecular mechanisms of viral integration and methods of differential diagnostics is presented. Each of these viruses has its own unique ways of interacting with the host cell genome to maintain a latent state, which determines the specifics of the infectious process and pathological consequences for the body due to the possibility of effective reactivation.

Key words: viruses, chromosomal integration, mechanisms, diagnostics.

Введение

Исследование свойств вирусов, способных интегрироваться в человеческий геном, и их распространенности в популяции, представляет одну из актуальных и значимых задач современной молекулярной биологии, геномики и медицины, т.к. напрямую связано с решением вопросов о характере распространения вирусных заболеваний, тяжести их течения, последствиях, а также диагностических подходах для их выявления. Встраивание вирусных геномов в хромосому человека может влиять на последующие соматические изменения в организме, в том числе потенциально вредоносные, которые могут быть использованы в качестве

биологической угрозы для отдельных наций или человечества в целом.

Большой интерес к изучению способности вирусов интегрироваться в геном человека, например, вируса иммунодефицита человека (HIV), вируса папилломы человека (HPV), вируса гепатита В (HBV), вирусов герпеса 4, 6 и 7 типа (HHV) и др., связан прежде всего с поиском причин, путей интеграции и участков инсерции, влияющих в дальнейшем на изменение экспрессии генов, геномной нестабильности, активации вирусов, или, напротив, к отсутствию функциональных последствий, требует постоянного усовершенствования стратегии дифференциальной диагностики, про-

филактики и модернизации терапии вызываемых ими заболеваний.

Несмотря на многолетний интерес к феномену вирусной хромосомной интеграции и мировые исследования в этой области, остаются неустановленными точная частота распространенности интегрированных форм различных вирусов с оценкой влияния на здоровье населения в течение всей жизни, механизмы встраивания и лабораторные возможности дифференциальной диагностики хромосомно-интегрированных форм непосредственно в клинической практике.

Встраивающиеся вирусы

Интеграция вирусного генетического материала в геном человека представляет собой сложный и многофакторный процесс, который играет ключевую роль как в вирусной эволюции, так и в развитии различных заболеваний у человека. Вирусы, способные интегрироваться в ДНК хозяина, могут изменять его генетическую структуру и иметь как краткосрочные, так и долгосрочные последствия, включая активацию онкогенов, инактивацию генов-супрессоров опухолей и устойчивость к вирусной инфекции. Свойство интеграции в хромосому человека доказательно описано как для РНК-, так и для ДНК-содержащих вирусов (табл. 1) [1].

РНК-содержащие вирусы

В доступной научной литературе способность РНК-содержащих вирусов встраиваться в хромосому человека показана для ретровирусов, борнавирусов и флавивирусов.

Эндогенные ретровирусы (ERV) являются древними представителями инфекций, которые поражали зародышевую линию приматов. По разным оценкам они составляют от 8 до 10% генома человека. Накопленные научные данные указывают на то, что ERV играли важную роль в эволюции позвоночных. Считается, что именно интеграция ERV явилась стартом геномных инноваций, сыграв ключевую роль в эволюции и формировании целых транскрипционных сетей, включая основные пути врожденного иммунитета [2]. Кроме того, признано, что именно благодаря ERV появились плацентарные млекопитающие [2]. Такое влияние на образование целой ветви эволюции хозяина побудило к изучению вклада ERV в развитие болезней человека, в попытке связать экспрессию различных групп ERV с патогенезом человека. В таблице 2 продемонстрированы некоторые функции ERV человека (HERV), играющие ключевую роль в репродуктивных функциях [4].

В настоящее время большое значение в изучении экспрессии HERV играет применение методов

Таблица 1

Вирусы, встраивающие свой генетический материал в ДНК хозяина, методы их выявления и возможные механизмы интеграции

Вирус	Метод выявления	Механизм интеграции
<i>РНК-вирусы</i>		
Ретровирусы	Наличие вирусных последовательностей в ДНК хозяина и клеточной ДНК в вирусе	Обратная транскрипция и интеграция провируса
Борнавирус	Секвенирование геномов человека и других млекопитающих	Эндогенный ретротранспозон (LINE-1)?
Флавивирусы	Гибридизация и анализ последовательности комаров-переносчиков	Эндогенный ретротранспозон?
<i>ДНК-вирусы</i>		
Бактериофаги	Генетическая сегрегация и наследование умеренных фагов	Интеграза
Аденоассоциированные вирусы (парвовирусы)	Саузерн-блот-анализ	Никирующая активность вирусных белков Rep
Аденовирусы	Маркировка вирусной ДНК с помощью ^3H и центрифугирования плотности CsCl_2 ДНК инфицированных клеток	Неизвестный
Папилломавирусы	Демонстрация интегрированной ДНК в карциномах и клеточных линиях	Двухцепочечные разрывы ДНК хозяина и «случайная» интеграция
Полиомавирусы	Гибридизация и градиентное центрифугирование (вирус обезьян 40)	Неизвестный
Герпес-вирусы (EBV, CMV, HHV-6 A/B, HHV-7)	Выделение вируса из волосяных фолликул и ногтевых пластин (ПЦП); флуоресцентная гибридизация <i>in situ</i> (FISH), передача зародышевой линии	Интеграция в теломеры через теломерные повторы, присутствующие в вирусе

Вирус	Метод выявления	Механизм интеграции
Гепатит В (HBV)	ДНК HNV-7 и ДНК HBV были обнаружены методом ПЦР в реальном времени в ногтях пациентов с хронической инфекцией HBV. NGS на основе захвата показал, что интеграция ДНК HBV и ДНК HNV-7 в геномную ДНК хозяина произошла в ногтях. Однако секвенирование по Сэнгеру не смогло подтвердить химерные последовательности вируса/хозяина	Установлено, что интеграция ДНК вируса во время хронической инфекции случайным образом распределена по геному хозяина в неопухолевых тканях. В исследованиях, анализирующих образцы опухолей печени, была выявлена своеобразная повторяемость интеграций ДНК вируса на уровне специфических генов, вовлеченных в канцерогенные пути. Среди них наиболее частыми мишенями интеграции ДНК HBV, связанными с гепатоцеллюлярной карциномой, являются: TERT (теломеразная обратная транскриптаза), MAPK1 (митоген-активируемая протеинкиназа 1), MLL2 и MLL4 (миелоидный/лимфоидный или смешанный лейкоз 2 и 4), CCNE1 и CCNA2 (циклин E1 и A2), TP53 (опухольный белок p53), CTNNB1 (катенин бета 1), FAR2 (жирный ацил-КоА-редуктаза 2), ITPR1 (инозитол 1,4,5-трифосфатный рецептор типа 1) и IRAK2 (ассоциированная с рецептором интерлейкина 1 киназа 2)

Таблица 2

Эндогенные ретровирусы человека, играющие роль в репродуктивных функциях

HERV	Роль в репродукции
ERVWE1 (HERV-W)	Дифференцировка синцитиобластов и слияние клеток с образованием синцития (env = синцитин-1)
HERV-FRD	Образование синцитиобластов путём слияния (трофобластов). Также играют роль в плацентарной защите от отторжения плода материнской иммунной системы (env = синцитину-2). Преимущественно этот белок выполняет иммуносупрессивные функции в синцитиотрофобластах
ERV-3	Фьюжин, образование синцитиобластов и возможный вклад в развитие функционально активной плаценты. Оценивается как не очень важный компонент генома
HERV-K	Экспрессируется в синцитиотрофобластах. Возможен вклад в развитие плаценты и иммунную протекцию плода
HERV-E.PTN	HER, интегрированный в ген, кодирующий ростовой фактор плейотрофин. Инсерция приводит к появлению нового промотора, направляющего экспрессию функциональных HERV-PTN транскриптов, которые транскрибируются и накапливаются в пролиферирующих и инвазивных трофобластах в беременной матке, в злокачественных трофобластах хорионкарциномы (хорионэпителиомы)
LTR10A-HERV-1	Эксклюзивный плацентарный ген, кодирующий NO-синтазу (NOS3)
HERV-H7/F (XA34)	Специфический для трофобластов транскрипт с пониженной экспрессией в плаценте беременных женщин, страдающих гипертензией (преэклампсия), вызванной беременностью
HERV-Fb1	Специфический для трофобластов транскрипт с пониженной экспрессией в плаценте беременных женщин, страдающих гипертензией (преэклампсия), вызванной беременностью
HERV-HML6-c14	Специфический для трофобластов транскрипт. В отличие от синцитина, HERV-Fb1 и HERV-H7/F (XA34) этот транскрипт локализуется в ядре, и его экспрессия возрастает в плаценте у беременных женщин с гипертензией (преэклампсия)
Неизвестный HERV LTR	Специфический для плаценты человека ген инсулинов INSL4. В процессе дифференцировки цитотрофобластов в синцитий трофобласты ген INSL4 экспрессируется на высоком уровне под контролем HERV-3LTR
HERV-E LTR	Вносит вклад в экспрессию гена рецептора эндотелина В 1 из 2 рецепторов, опосредующих вазоконстрикторный эффект эндотелинов
HERV-E LTR	Альтернативный тканево-специфический транскрипционный регулятор гена человека Opitz (Mid11), кодирующего белок, ассоциированный с микротрубулярным аппаратом цитоскелета

на основе высокопроизводительного секвенирования, которое является эффективным инструментом оценки их влияния на дисрегуляцию с развитием патологических состояний организма.

Еще один известный и активно изучаемый представитель ретровирусов, род *Lentivirus* — вирус иммунодефицита человека (HIV). Геном HIV существует в виде геномной РНК и ДНК, интегри-

рованной в какую-либо хромосому клетки-хозяина. Латентно инфицированные клетки способны сохраняться в первую очередь потому, что интегрированный провирус не экспрессируется, что делает его неуязвимым для современных методов лечения. Таким образом, процесс интеграции лежит в основе неизлечимости HIV. Вирус содержит 3 больших гена структурных белков, обозначаемых gag, pol, env, а также дополнительные малые гены, кодирующие регуляторные белки, — tat, vif, nef, rev, vpr, vrc, vpx [5]. Он поражает клетки иммунной системы человека, обладающие рецепторами CD4: Т-хелперы, моноциты, макрофаги, клетки Лангерганса [6], дендритные клетки, клетки микроглии, тем самым угнетая иммунную систему с развитием синдрома приобретённого иммунного дефицита (AIDS). Вследствие этого организм теряет возможность защищаться от инфекций и опухолей, возникают вторичные оппортунистические заболевания, которые не характерны для людей с нормальным иммунным статусом.

Вирус Мейсона — Пфайзера (MPMV), род *Betaretrovirus*, является лимфотропным ретровирусом типа D, фрагменты ДНК которого обнаруживаются в лимфоцитах больных с В-клеточной Беркитт-подобной лимфомой. Компьютерный анализ сайта интеграции данного ретровируса в хромосому человека установил, что для последовательностей Seq_16-20, Seq_51, Seq_19, Seq_23 сайты интеграции провируса в геном человека локализовались в 10-й, 17-й, 7-й и 2-й хромосомах соответственно [7].

Т-лимфотропные вирусы человека (HTLV-I, HTLV-II) из рода *Deltaretrovirus* вызывают у людей такие злокачественные новообразования лимфоидной и кроветворной тканей, как Т-клеточный лейкоз и Т-клеточная лимфома. Вирус лейкемии человека HTLV-1 интегрируется в геном хозяина Т-лимфоцитов как провирус, связываясь с архитектурным белком хроматина CTCF. CTCF димеризуется, образуя петли хроматина, которые регулируют экспрессию генов. HTLV-1 заражает от 10^4 до 10^5 клонов Т-клеток у типичного хозяина: каждый из них несет сайт CTCF. Таким образом, HTLV-1 вызывает масштабную перестройку генома хозяина и нарушает на разном уровне экспрессию генов хозяина. Описаны подтверждения транскрипционной интерференции между провирусом и геномом хозяина, непосредственно фланкирующим провирус [8]. Также установлено, что провирус может взаимодействовать с удаленными локусами в геноме хозяина и увеличивать потенциал для инсерционного мутагенеза, охватывая область размером ~4 Мб. Эти структурные и функциональные эффекты интеграции провируса HTLV-1 могут изменять экспрессию генов хозяина. Таким образом, аномальная экспрессия

генов может влиять на скорость пролиферации и продолжительность жизни инфицированных клонов CD4+ Т-клеток, позволяя накапливать дальнейшие мутации и структурные изменения в геноме хозяина, которые в конечном итоге приводят к злокачественной трансформации.

Борнавирусы — это несегментированные вирусы, содержащие отрицательную РНК. Поражают разного рода млекопитающих и птиц, первоначально были обнаружены у лошадей и овец при выявлении негнойного менингоэнцефаломиелита [9]. Хотя информации об интеграции борнавирусов в геном человека в современной литературе не описано, но обнаружены последовательности ДНК в геномах позвоночных, включая человека, полученные из мРНК древних борнавирусов, которые были обозначены как эндогенные борнаподобные элементы [10].

Представитель рода *Flavivirus*, вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), является возбудителем природно-очаговых заболеваний на территории России и Евразии [11]. Геном вируса представлен одной положительной молекулой РНК длиной около 11 тыс. нуклеотидов. Потенциальная возможность интеграции такого рода вирусов в геном позвоночных и, следовательно, человека, считается доказанной [12]. Отечественные ученые провели поиск интеграции генома ВКЭ при помощи программы BLAST с использованием полногеномных нуклеотидных прототипных штаммов 3 генотипов вируса (Найдорф, Васильченко, Софьин), а также последовательностей штаммов 886-84 и 178-79, доступных в базе данных GenBank. Выполненный биоинформатический анализ показал наличие 34 достоверно совпадающих участков; длина фрагментов выравнивания не превышала 68 нуклеотидов, однако доля совпадающих остатков была очень велика (не менее 79%). 31 фрагмент был выявлен в геноме шимпанзе и мыши; 3 — в геноме человека. Фрагменты лежали вне известных генов, но иногда на границе с ними. В ходе предварительного поиска только в геноме шимпанзе с высоким значением достоверности ($p < 0,001$) были обнаружены гомологичные вирусу КЭ фрагменты большой (до 1500 нуклеотидов) протяжённости. То, что участки геномов у разных организмов не совпадали между собой, позволило авторам выдвинуть версию о независимой и сравнительно недавней интеграции ВКЭ [13].

Пандемия коронавирусной инфекции способствовала накоплению новых данных об этой группе РНК-содержащих вирусов. В последнее время стали появляться сообщения о потенциальной возможности коронавируса встраиваться в геном. Пока данные неоднозначны, так как эксперименты проводились на клеточных линиях, что не может гарантировать воспроизводимость результа-

тов в реальных условиях. Тем не менее, авторы одного исследования утверждают, что обнаружили дубликации целевых участков, фланкирующие вирусные последовательности и консенсусные последовательности распознавания эндонуклеазы LINE1 в сайтах интеграции, что согласуется с механизмом обратной транскрипции и ретропозиции, опосредованным ретротранспозоном LINE1. Исследования проводились на клеточной линии почки эмбриона HEK293T [14]. В то же время на этой же линии клеток был проведен эксперимент другой группой ученых с применением аналогичных методов секвенирования, отвергающих возможность интеграции коронавируса [15]. В аналогичных исследованиях еще одной научной группы проанализировали транскриптом клеток легких человека (Calu-3, клетка рака легких человека; MRC5, штамм легких плода человека; A549, клетка базального эпителия альвеолы аденокарциномы человека; NHBE, первичная клетка бронхиального эпителия человека), инфицированных MERS-CoV, SARS-CoV и SARS-CoV-2, и обнаружили, что заражение этими коронавирусами вызвало увеличение экспрессии ретротранспозонов с повышением регуляции генов TET, отвечающих за процесс метилирования ДНК при дифференцировке клеток. В своей работе они предполагают, что взаимодействие между последовательностями коронавируса и эндогенным ретротранспозоном может быть потенциальным механизмом вирусной интеграции [16].

ДНК-содержащие вирусы

Интеграция ДНК-содержащих вирусов в геном хозяина для бактериофагов описана еще в 1950-е гг. Исследователями была продемонстрирована способность умеренных бактериофагов (в том числе λ , P1 и P2) встраивать свой геном в бактериальную хромосому через рекомбинацию между гомологичными последовательностями вирусной ДНК и ДНК хозяина [17–20]. Было установлено, что данный феномен не только позволяет инициировать репликацию фага в определенные периоды, но и используется для трансдукции генетических элементов хозяина в новые клетки хозяина [21]. Эти наблюдения позволили выдвинуть гипотезу о способности вирусов животных также интегрировать свою ДНК в геномы клеток-хозяев [22], что и было показано спустя 20 лет в исследованиях вируса папилломы человека (ВПЧ) типов 16 и 18, установивших их интеграцию в клеточные линии, полученные из карцином шейки матки [23, 24].

Полиомавирусы как близкородственные папилломавирусам также способны к интеграции в ДНК хозяина, что было продемонстрировано в экспериментах, сочетавших гибридизацию РНК-ДНК с центрифугированием в щелочном градиен-

те CsCl₂ [25, 26]. Этим же методом была установлена интеграция аденовируса в геном хозяина [27], хотя онкогенный потенциал аденовирусов на современном этапе остается спорным вопросом.

В случае другого представителя ДНК-содержащего вируса, гепатита В (HBV), было показано, что интеграция ДНК во время хронической инфекции случайным образом распределена по геному хозяина. При анализе образцов опухолей печени была выявлена повторяемость интеграций ДНК вируса на уровне специфических генов, вовлеченных в канцерогенные пути. Наиболее частыми мишенями интеграции ДНК HBV, связанными с гепатоцеллюлярной карциномой, явились гены, кодирующие TERT-теломеразную обратную транскриптазу, MAPK1-митоген-активируемую протеинкиназу 1, MLL2 и MLL4 – миелоидный/лимфоидный или смешанный лейкоз 2 и 4, CCNE1 и CCNA2-циклин E1 и A2, TP53-опухолевый белок p53, CTNNB1-катенин бета 1, FAR2-ацил-КоА-редуктаза 2, ITPR1-инозитол 1,4,5-трифосфатный рецептор типа 1 и IRAK2-ассоциированная с рецептором интерлейкина 1 киназа 2 [28, 29]. Кроме того, установлено, что более 90% интеграции ДНК HBV в TERT, CCNE1 или CCNA2 было в образцах опухолей печени по сравнению с неопухолевыми образцами, что может явиться объяснением канцерогенеза, вызванного HBV [28].

О вирусах герпеса человека 6 типа А/В (HHV-6А, HHV-6 А/В) известно, что их интеграция может происходить в теломерной области хромосомы 7p13.3, 18q23, 22q13.3, 9q34.3, 10q26.3, 11p15.5, 19q13.4, 1q44 или 18q2р, однако данные по-прежнему недостаточно изучены [1]. Геном HHV-6А и HHV-6В длиной от 160 до 162 кб состоит из U-области длиной 143–145 кб, фланкированной ~8-кб терминальными DR слева (DR L) и справа (DR R). Анализ последовательностей хромосомно-интегрированных HHV-6А (сi HHV-6А) показал, что интеграция вируса начинается с региона правых прямых повторов (DR R) [30]. Экспериментально было установлено, что для интеграции необходимы совершенные теломерные повторы (pTMR), в то время как отсутствие несовершенных теломерных повторов (impTMR) лишь незначительно снижает частоту интеграции HHV-6 в хромосомы человека [31]. Таким образом, pTMR в области DR R имеет решающее значение для интеграции.

Был проведен сравнительный анализ pTMR в DR R хромосомно-интегрированных и неинтегрированных HHV-6А, который не обнаружил закономерности в выборе хромосомы для интеграции. Показано, что для HHV-6А невозможно определить хромосому, в которую он интегрирован, так как они имеют сродство к нескольким хромосомам человека. Таким образом, интегрирование вируса в определенной хромосоме остается неподтвер-

денным [32]. Одним из важных биологических аспектов, связанных с интеграцией HHV-6A/B, является то, что вирусная интеграция может происходить в половых клетках. Когда оплодотворение происходит с гаметой, содержащей сiHHV-6 A/B, это приводит к тому, что индивидуумы несут одну (или более) интегрированную копию вирусного генома в каждой соматической клетке. Остается неизвестным, происходит ли интеграция в зародышевой линии во время первичной инфекции или после реактивации латентного вируса. Наследственная интеграция может происходить в яйцеклетке или клетках-предшественниках сперматозоидов, что увеличивает вероятность переноса генома HHV-6 A/B в эмбрион [32–35]. HHV-6 A/B может инфицировать различные ткани *in vivo* и был обнаружен в мозге, миндалинах, слюнных железах, почках, печени, лимфатических узлах, а также в эндотелиальных клетках, моноцитах и макрофагах. HHV-6A/B инфицирует ряд линий клеток человека *in vitro*, но оптимально размножается в активированных CD4+ Т-лимфоцитах и нескольких линиях Т-клеток [32–35]. Установлено, что сiHHV-6A/B встречается с разной частотой в различных географических регионах и варьирует от 0,6–0,9% до 1,5–3,0% в анализируемой популяции [36, 37]. Случаи реактивации сiHHV-6A/B из интегрированного состояния были описаны на фоне иммунодефицитов, развившихся, например, на фоне беременности с развитием клинически манифестных форм [38]. Теломеры с сiHHV-6 склонны к внезапным делециям и их укорочению, в результате чего может происходить преждевременное старение клеток с нарушением гомеостаза тканей [39, 40].

Вирус герпеса человека 7 типа (HHV-7) является лимфотропным и нейротропным вирусом; имеет тропизм к CD4+ Т-лимфоцитам и передается через слюну. HHV-7 поражает лимфоидную ткань, слюнные железы, миндалины, печень, почки, легкие и кожу, вызывает такие заболевания, как фебрильные судороги, эпилептический статус, энцефалит и кожная сыпь. Широко распространен в человеческой популяции: 75–90% здоровых взрослых являются носителями вируса. HHV-7 часто присутствует в слюне здоровых людей. Геном вируса размером 145–153 кб имеет схожую с HHV-6 структуру [1]. Однако, в отличие от HHV-6A/B, мало что известно о механизмах персистенции и латентности HHV-7. Интересно, что ДНК HHV-7 совместно с ДНК HBV были обнаружены методом ПЦР в реальном времени в ногтевых пластинах пациентов с хронической инфекцией HBV. NGS на основе захвата показал, что интеграция ДНК HBV и ДНК HHV-7 в геномную ДНК хозяина произошла в ногтевых пластинах [41]. Однако секвенирование по Сэнгеру не смогло подтвердить химерные последовательности вируса/хозяина.

Напротив, в другом исследовании ученые идентифицировали возможный случай интеграции в зародышевую линию вируса HHV-7 как в периферических клетках крови, так и в волосяных фолликулах. Хромосомная интеграция HHV-7 у этих людей была подтверждена анализом флуоресцентной гибридизации *in situ*. Интеграция зародышевой линии HHV-7 была дополнительно подтверждена обнаружением ~2,6 копий HHV-7 в волосяных фолликулах одного из родителей (FISH) [42].

Хромосомная интеграция цитомегаловируса (CMV) в геном хозяина до сих пор не доказана. В ходе литературного поиска удалось найти 2 сообщения о возможной интеграции вируса. Сообщалось об обнаружении CMV в ногтях новорожденного ребенка методом RT-PCR. Авторы выдвигают две возможные причины: первая – проникновение амниотической жидкости в ногтевые пластины инфицированных плодов в амниотической полости, так как по сравнению с кожей ногтевая пластина является более проницаемой; вторая – обнаружение непосредственно ДНК CMV в ногтях в связи с хромосомной интеграцией вируса [43]. В другом исследовании авторы, применив метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), доказали, что геномы CMV связываются с поверхностью митотических хромосом человека после инфицирования как непермиссивных миелоидных, так и пермиссивных фибробластных клеток. Эта ассоциация хромосом происходит с меньшей частотой в отсутствие белков immediate-early 1 (IE1), которые связываются с гистонами и участвуют в поддержании эписом CMV. Авторы считают, что эти результаты указывают на механизм поддержания генома CMV через митоз и предполагают вспомогательную, но несущественную роль IE1 в этом процессе [44]. На современном этапе данная теория остается дискуссионной и требует дополнительных доказательств.

Для вируса герпеса 4 типа, или вируса Эпштейна – Барр (EBV), точный механизм интеграции также пока неясен. Установлено, что в латентно инфицированных клетках ДНК EBV в основном сохраняется в эписомальной форме, но также может быть интегрирована в геном хозяина; возможно одновременное присутствие обеих форм в инфицированных клетках [45]. Недавние исследования сообщают, что EBV демонстрирует неслучайное предпочтение интегрироваться именно в регионы, бедные генами и CpG, но обогащенные регионами LINE1-повторов [46]. Установлено, что только один белок принимает активное участие в латентной репликации EBV – EBNA-1, это важное отличие от литической репликации. Доказано, что геном EBV с делецией в гене, кодирующем этот белок, не может существовать как внехромосомная эписома и вынужден интегрироваться [47].

Методы детекции вирусной интеграции

Для поиска интеграций вирусов в геноме используются различные лабораторные методы. Один из основных методов — полимеразная цепная реакция (ПЦР). ПЦР позволяет амплифицировать специфические фрагменты ДНК, что делает возможным выявление даже небольших количеств вирусной ДНК в образцах. Этот метод является высокочувствительным и специфичным, дает возможность диагностики не только острых, но и хронических, скрытых инфекций; на его выполнение требуется всего несколько часов. Однако в случае возникновения мутации вируса или другого исследуемого организма ПЦР-анализ не сможет уловить новые штаммы возбудителя. Не исключена ситуация, когда геном, идентичный исследованному, может присутствовать у неизвестных на данный момент возбудителей. Также метод чувствителен к контаминациям, возможно получение ложноположительных и ложноотрицательных результатов [48].

Метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) имеет чрезвычайно большой потенциал как инструмент не только в исследовательской работе, но и в клинической практике: в частности, в пренатальной диагностике, цитогенетике, канцерогенезе при развитии опухолей [49]. Принцип метода достаточно прост. В процессе гибридизации помечаются геномные последовательности-мишени таким образом, что можно наблюдать их местоположение и размер. Последовательности ДНК или РНК из подходящих, в зависимости от хромосомы зондов, сначала помечаются репортерными группами, которые позже идентифицируются с помощью флуоресцентной микроскопии. Помеченный ДНК или РНК зонд гибридизируется с метафазными хромосомами или покоящимися ядрами на предметном стекле. После промывания и усиления сигнала образец исследуется по репортерным группам с помощью флуоресцентной микроскопии [50].

FISH — это метод довольно быстрый, простой в осуществлении и характеризующийся высокой стабильностью красителей. Он позволяет достигать качественного пространственного разрешения морфологических и геномных структур. В зависимости от используемого зонда можно определить геном отдельной особи, целые хромосомы, участки хромосом и последовательности уникальных копий [51, 52].

Методы секвенирования играют ключевую роль в этом процессе идентификации интеграций. Классическое секвенирование по Сэнгеру обеспечивает высокую точность, но ограничено по длине прочтений, требует значительных затрат времени и ресурсов [53]. Основные недостатки секвенирования по Сэнгеру включают его низкую произ-

водительность и высокую стоимость при анализе большого количества образцов.

Методы секвенирования нового поколения (NGS) позволяют одновременно секвенировать миллионы фрагментов ДНК, обеспечивая высокую чувствительность и масштабируемость анализа [54–56]. Более новые методы NGS-секвенирования, такие как секвенирование с использованием нанопор, предлагают еще большую чувствительность и возможность анализа на уровне отдельных клеток [57–59].

Для анализа данных, полученных в результате секвенирования, применяются различные биоинформатические методы и инструменты. Алгоритмы выравнивания последовательностей, такие как BWA [60], Bowtie [61], STAR [62] и др. [32], позволяют сопоставлять полученные фрагменты с референтным геномом, что помогает выявлять участки интеграции вирусной ДНК. Эти алгоритмы эффективны и хорошо поддерживаются различными инструментами и базами данных, но могут давать ложноположительные результаты из-за ошибок на этапах пробоподготовки, в процессе выравнивания и зависят от качества референтных геномов. Существуют также специализированные инструменты для поиска интеграций, такие как VirusSeq [63] и RetroSeq [64], которые предоставляют дополнительные возможности для анализа вирусных интеграций.

Заключение

Общепризнанно, что в ходе эволюции человеческого генома в состав ДНК включались фрагменты некоторых вирусов, которые впоследствии явились основой кодирования новых признаков. Например, известно, что эндогенные ретровирусы чаще выявляются в регуляторных областях генов человека, контролируя функционирование различных органов и систем организма, мутации в которых влияют на развитие тяжелых заболеваний.

С другой стороны, полный спектр интегрирующихся вирусов до сих пор не уточнен; не у всех вирусов, имеющих способность к интеграции, раскрыт механизм и выявлены точные места инсерции. Особый научный интерес представляет изучение интеграции широко распространенных ДНК-вирусов, в том числе входящих в семейство герпес-вирусов (HHV-6, HHV-7) и др., геномы которых содержат теломерные повторы, идентичные человеческим. В этой связи наибольшее опасение вызывает способность перечисленных вирусов к наследственной передаче по зародышевой линии с возможностью их активации, например, под воздействием экзогенных факторов, или к участию в развитии соматических патологий с течением времени, способных привести к инвалидизирующим состояниям.

Несомненно, интеграция вирусного генома в геном клетки-хозяина является многофакторным и сложным природным явлением. Поэтому использование современных методов молекулярной биологии и геномики способствует расширению понимания молекулярных механизмов хромосомной интеграции, ее последствий для человека и разработке быстрой дифференциальной диагностики для использования в лабораторной практике. Полученные в ходе комплексных исследований данные будут востребованы в различных социально значимых отраслях, в том числе в плане здоровья народонаселения для мониторинга возможных биологических угроз с созданием своевременных эффективных диагностических и терапевтических стратегий, направленных на предотвращение заболеваний и улучшение качества жизни.

Литература

- Osterrieder N, Wallaschek N, Kaufer BB. Herpesvirus Genome Integration into Telomeric Repeats of Host Cell Chromosomes. *Annu Rev Virol.* 2014 Nov;1(1):215-35.
- Grandi N, Pisano MP, Pessiu E, Scognamiglio S, Tramtano E. HERV-K(HML7) Integrations in the Human Genome: Comprehensive Characterization and Comparative Analysis in Non-Human Primates. *Biology (Basel).* 2021 May 14;10(5):439.
- Lavialle C, Cornelis G, Dupressoir A, Esnault C, Heidmann O, Vernochet C, Heidmann T. Paleovirology of 'syncytins', retroviral env genes exapted for a role in placentation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013 Aug 12;368(1626):20120507.
- Киселёв, О.И. Эндогенные ретровирусы: структура и функции в геноме человека / О.И. Киселёв // Вопросы вирусологии. — 2013. — № 1. — С. 102–115.
- Курс лекций по микробиологии, вирусологии, иммунологии для студентов 2-3 курсов факультета по подготовке специалистов для зарубежных стран: учеб. Пособие / Д.В. Тапальский [и др.]. — М.: Изд-во. ГомГМУ, 2012. — С. 282
- Kawamura T, Kurtz SE, Blauvelt A, Shimada S. The role of Langerhans cells in the sexual transmission of HIV. *J Dermatol Sci.* 2005 Dec;40(3):147-55.
- Мяндина, Г.И. Компьютерный анализ сайта интеграции ретровируса типа d Мейзона-Пфайзера в хромосомы человека / Г.И. Мяндина [и др.] // Вестник РУДН. Медицина. — 2003. — № 5. — С. 41–46.
- Cook L, Melamed A, Yaguchi H, Bangham CR. The impact of HTLV-1 on the cellular genome. *Curr Opin Virol.* 2017 Oct;26:125-131.
- Ludwig H, Bode L. Borna disease virus: new aspects on infection, disease, diagnosis and epidemiology. *Rev Sci Tech.* 2000 Apr;19(1):259-88.
- Horie M, Kobayashi Y, Suzuki Y, Tomonaga K. Comprehensive analysis of endogenous bornavirus-like elements in eukaryote genomes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013 Aug 12;368(1626):20120499.
- Адельшин, Р.В. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита европейской части России и некоторых стран Балтии, Восточной и Юго-Восточной Европы / Р.В. Адельшин [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2006. — № 2. — С. 27–34.
- Crochu S, Cook S, Attoui H, Charrel RN, De Chesse R, Belhouchet M, Lemasson JJ, de Micco P, de Lamballerie X. Sequences of flavivirus-related RNA viruses persist in DNA form integrated in the genome of *Aedes* spp. mosquitoes. *J Gen Virol.* 2004 Jul;85(Pt 7):1971-1980
- Парамонов, А.И. Выявление интеграции генетического материала вируса клещевого энцефалита в геномы человека и других млекопитающих / А.И. Парамонов, Ю.П. Джиоев // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. — 2011. — Т. 4, № 4. — С. 3–8.
- Zhang L, Richards A, Barrasa MI, Hughes SH, Young RA, Jaenisch R. Reverse-transcribed SARS-CoV-2 RNA can integrate into the genome of cultured human cells and can be expressed in patient-derived tissues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2021 May 25;118(21):e2105968118.
- Smits N, Rasmussen J, Bodea GO, Amarilla AA, Gerdes P, Sanchez-Luque FJ, Ajikuttira P, Modhiran N, Liang B, Faivre J, Deveson IW, Khromykh AA, Watterson D, Ewing AD, Faulkner GJ. No evidence of human genome integration of SARS-CoV-2 found by long-read DNA sequencing. *Cell Rep.* 2021 Aug 17;36(7):109530.
- Yin Y, Liu XZ, He X, Zhou LQ. Exogenous Coronavirus Interacts With Endogenous Retrotransposon in Human Cells. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021 Feb 25;11:609160.
- Bertani G, Six E. Inheritance of prophage P2 in bacterial crosses. *Virology.* 1958 Oct;6(2):357-81.
- Appleyard RK. Segregation of Lambda Lysogenicity during Bacterial Recombination in *Escherichia Coli* K12. *Genetics.* 1954 Jul;39(4):429-39.
- Lennox ES. Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. *Virology.* 1955 Jul;1(2):190-206.
- Lederberg EM, Lederberg J. Genetic Studies of Lysogenicity in *Escherichia Coli*. *Genetics.* 1953 Jan;38(1):51-64.
- CAMPBELL A. Transduction and segregation in *Escherichia coli* K12. *Virology.* 1957. Oct;4(2):366-84.
- Kohn A. Possible Integration of Viral Nucleic Acid Into the Genome of Animal Cells. *Prog Med Virol.* 1963;5:169-218.
- Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, zur Hausen H. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature.* 1985 Mar 7-13;314(6006):111-4.
- Gissmann L, Wolnik L, Ikenberg H, Koldovsky U, Schnrck HG, zur Hausen H. Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983 Jan;80(2):560-3.
- Sambrook J, Westphal H, Srinivasan PR, Dulbecco R. The integrated state of viral DNA in SV40-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1968 Aug;60(4):1288-95.
- Hirai K, Lehman J, Defendi V. Integration of simian virus 40 deoxyribonucleic acid into the deoxyribonucleic acid of primary infected Chinese hamster cells. *J Virol.* 1971 Nov;8(5):708-15.
- Doerfler W. Integration of the deoxyribonucleic acid of adenovirus type 12 into the deoxyribonucleic acid of baby hamster kidney cells. *J Virol.* 1970 Nov;6(5):652-66.
- Salpini R, D'Anna S, Benedetti L, Piermatteo L, Gill U, Svicher V, Kennedy PTF. Hepatitis B virus DNA integration as a novel biomarker of hepatitis B virus-mediated pathogenetic properties and a barrier to the current strategies for hepatitis B virus cure. *Front Microbiol.* 2022 Sep 2;13:972687.
- Komatsu H, Inui A, Hoshino H, Umetsu S, Fujisawa T. Integration of Viral Genome to Human Genomic DNA in Nails of Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. *JMA J.* 2023;6(4):426-436.
- Aimola G, Beythien G, Aswad A, Kaufer BB. Current understanding of human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration. *Antiviral Res.* 2020 Apr;176:104720

31. Wallaschek N, Sanyal A, Pirzer F, Gravel A, Mori Y, Flamand L, Kaufer BB. The Telomeric Repeats of Human Herpesvirus 6A (HHV-6A) Are Required for Efficient Virus Integration. *PLoS Pathog.* 2016 May 31;12(5):e1005666.
32. Kusakin AV, Goleva OV, Danilov LG, Krylov AV, Tsay VV, Kalinin RS, Tian NS, Eismont YA, Mukomolova AL, Chukhlovov AB, Komissarov AS, Glotov OS. The Telomeric Repeats of HHV-6A Do Not Determine the Chromosome into Which the Virus Is Integrated. *Genes (Basel).* 2023 Feb 18;14(2):521.
33. Kaufer BB, Flamand L. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology. *Curr Opin Virol.* 2014 Dec;9:111-8.
34. Lohi O, Arola M, Lautenschlager I, Nacheva EP, Vettentranta K. A high circulating copy number of HHV-6 due to chromosomal integration in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2010 Dec 1;55(6):1236-8.
35. Miura H, Kawamura Y, Hattori F, Kozawa K, Ihira M, Ohye T, Kurahashi H, Yoshikawa T. Chromosomally integrated human herpesvirus 6 in the Japanese population. *J Med Virol.* 2018 Oct;90(10):1636-1642.
36. Prusty BK, Krohne G, Rudel T. Reactivation of chromosomally integrated human herpesvirus-6 by telomeric circle formation. *PLoS Genet.* 2013;9(12):e1004033.
37. Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, Kurahashi H, Yoshikawa T, Katano H, Inoue N, Imai K, Takagi M, Morio T, Mizutani S. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. *Clin Infect Dis.* 2014 Aug 15;59(4):545-8.
38. Gaccioli F, Lager S, de Goffau MC, Sovio U, Dopierala J, Gong S, Cook E, Sharkey A, Moffett A, Lee WK, Delles C, Venturini C, Breuer J, Parkhill J, Peacock SJ, Charnock-Jones DS, Smith GCS. Fetal inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 predisposes the mother to pre-eclampsia. *Nat Microbiol.* 2020 Jul;5(7):901-908.
39. Huang Y, Hidalgo-Bravo A, Zhang E, Cotton VE, Mendez-Bermudez A, Wig G, Medina-Calzada Z, Neumann R, Jeffreys AJ, Winney B, Wilson JF, Clark DA, Dyer MJ, Royle NJ. Human telomeres that carry an integrated copy of human herpesvirus 6 are often short and unstable, facilitating release of the viral genome from the chromosome. *Nucleic Acids Res.* 2014 Jan;42(1):315-27.
40. Gravel A, Sinnett D, Flamand L. Frequency of chromosomally-integrated human herpesvirus 6 in children with acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One.* 2013 Dec 26;8(12):e84322.
41. Komatsu H, Inui A, Hoshino H, Umetsu S, Fujisawa T. Integration of Viral Genome to Human Genomic DNA in Nails of Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. *JMA J.* 2023;6(4):426-436.
42. Prusty BK, Gulve N, Rasa S, Murovska M, Hernandez PC, Ablashi DV. Possible chromosomal and germline integration of human herpesvirus 7. *J Gen Virol.* 2017 Feb;98(2):266-274.
43. Komatsu H, Tamaki K, Hirabayashi M. Cytomegalovirus DNA in the nails of an infant diagnosed with a congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Neonatol.* 2020 Aug;61(4):459-460.
44. Mauch-Mücke K, Schön K, Paulus C, Nevels MM. Evidence for Tethering of Human Cytomegalovirus Genomes to Host Chromosomes. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Sep 30;10:577428.
45. Ohshima K, Suzumiya J, Kanda M, Kato A, Kikuchi M. Integrated and episomal forms of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV associated disease. *Cancer Lett.* 1998 Jan 9;122(1-2):43-50.
46. Janjetovic S, Hinke J, Balachandran S, Aky z N, Behrmann P, Bokemeyer C, Dierlamm J, Murga Penas EM. Non-Random Pattern of Integration for Epstein-Barr Virus with Preference for Gene-Poor Genomic Chromosomal Regions into the Genome of Burkitt Lymphoma Cell Lines. *Viruses.* 2022 Jan 4;14(1):86.
47. Якушина, С.А. Вирус Эпштейна-Барр (Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Лymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4): репликативные стратегии / С.А. Якушина, Л.Б. Кистенева // Вопросы вирусологии. — 2020. — Т. 65, № 4. — С. 191 — 202.
48. Стратегия и методическое обеспечение диагностики инфекционных заболеваний : учеб. пособие для врачей / Т.И. Долгих — М.: Изд-во ОмГМА, 2007.
49. Volpi EV, Bridger JM. FISH glossary: an overview of the fluorescence in situ hybridization technique. *Biotechniques.* 2008 Oct;45(4):385-6, 388, 390.
50. Shah JS, Ramasamy R. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Tests for Identifying Protozoan and Bacterial Pathogens in Infectious Diseases. *Diagnostics (Basel).* 2022 May 21;12(5):1286.
51. Gerami P, Jewell SS, Morrison LE, Blondin B, Schulz J, Ruffalo T, Matushek P 4th, Legator M, Jacobson K, Dalton SR, Charzan S, Kolaitis NA, Guitart J, Lertsbarapa T, Boone S, LeBoit PE, Bastian BC. Fluorescence in situ hybridization (FISH) as an ancillary diagnostic tool in the diagnosis of melanoma. *Am J Surg Pathol.* 2009 Aug;33(8):1146-56.
52. Stammler R, Vacher L, Fournier B, Lemaire P, Chauvel C, Silvestrini MA, Knapp S, de Frémont GM, Meignin V, Salmona M, Legoff J, Vanjak A, Dunogué B, Urbain F, Lambotte O, Noël N, Gérard L, Oksenhendler E, Galicier L, Lathour S, Boutboul D. Combined Flow-Fluorescence in situ hybridization to HHV-8 and EBV reveals the viral heterogeneity of primary effusion lymphoma. *J Med Virol.* 2024 Aug;96(8):e29836.
53. Al-Shuhaib MBS, Hashim HO. Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis. *J Genet Eng Biotechnol.* 2023 Nov 13;21(1):115.
54. Голева, О.В. Выявленный в Санкт-Петербурге случай наследуемой хромосомной интеграции бетагерпесвируса 6A и филогенетический анализ / О.В. Голева [и др.] // Дни вирусологии 2022 : Сборник тезисов III Международного форума, посвященного 55-летию со дня основания ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, 03 – 05 октября 2022 года. — СПб.: Санкт-Петербургская общественная организация «Человек и его здоровье», 2022. — С. 25 – 26.
55. Fang M, Weng X, Chen L, Chen Y, Chi Y, Chen W, Hu Z. Fulminant central nervous system varicella-zoster virus infection unexpectedly diagnosed by metagenomic next-generation sequencing in an HIV-infected patient: a case report. *BMC Infect Dis.* 2020 Feb 19;20(1):159.
56. Wang D, Tao X, Fei M, Chen J, Guo W, Li P, Wang J. Human encephalitis caused by pseudorabies virus infection: a case report. *J Neurovirol.* 2020 Jun;26(3):442-448.
57. Satam H, Joshi K, Mangrolia U, Waghoo S, Zaidi G, Rawool S, Thakare RP, Banday S, Mishra AK, Das G, Malonia SK. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology (Basel).* 2023 Jul 13;12(7):997.
58. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Hum Immunol.* 2021 Nov;82(11):801-811.
59. Kumar KR, Cowley MJ, Davis RL. Next-Generation Sequencing and Emerging Technologies. *Semin Thromb Hemost.* 2019 Oct;45(7):661-673.
60. Li H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. arXiv: Genomics. 2013 Mar.
61. Langmead B, Wilks C, Antonescu V, Charles R. Scaling read aligners to hundreds of threads on general-purpose processors. *Bioinformatics.* 2019 Feb 1;35(3):421-432.

62. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, Batut P, Chaisson M, Gingeras TR. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013 Jan 1;29(1):15-21.

63. Chen Y, Yao H, Thompson EJ, Tannir NM, Weinstein JN, Su X. VirusSeq: software to identify viruses and their integration sites using next-generation sequencing of human cancer tissue. *Bioinformatics*. 2013 Jan 15;29(2):266-7.

64. Keane TM, Wong K, Adams DJ. RetroSeq: transposable element discovery from next-generation sequencing data. *Bioinformatics*. 2013 Feb 1;29(3):389-90.

References

1. Osterrieder N, Wallaschek N, Kaufer BB. Herpesvirus Genome Integration into Telomeric Repeats of Host Cell Chromosomes. *Annu Rev Virol*. 2014 Nov;1(1):215-35.

2. Grandi N, Pisano MP, Pessiu E, Scognamiglio S, Trantomano E. HERV-K(HML7) Integrations in the Human Genome: Comprehensive Characterization and Comparative Analysis in Non-Human Primates. *Biology (Basel)*. 2021 May 14;10(5):439.

3. Laviolle C, Cornelis G, Dupressoir A, Esnault C, Heidmann O, Vernochet C, Heidmann T. Paleovirology of 'syncytins', retroviral env genes adapted for a role in placentation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2013 Aug 12;368(1626):20120507.

4. Kisel'jov O. I. *Voprosy virusologii*. 2013; 1: 102-115 (in Russian)

5. Tapal'skij D.V., Il'inskaja T.N., Shevcova L.V., Lagun L.V. Course of lectures on microbiology, virology, immunology for students of 2-3 courses of the faculty of training specialists for foreign countries. Gomel. 2012 (in Russian)

6. Kawamura T, Kurtz SE, Blauvelt A, Shimada S. The role of Langerhans cells in the sexual transmission of HIV. *J Dermatol Sci*. 2005 Dec;40(3):147-55.

7. Mjandina G. I. *Vestnik RUDN. Medicina*. 2003; 5: 41-46. (in Russian).

8. Cook L, Melamed A, Yaguchi H, Bangham CR. The impact of HTLV-1 on the cellular genome. *Curr Opin Virol*. 2017 Oct;26:125-131.

9. Ludwig H, Bode L. Borna disease virus: new aspects on infection, disease, diagnosis and epidemiology. *Rev Sci Tech*. 2000 Apr;19(1):259-88.

10. Horie M, Kobayashi Y, Suzuki Y, Tomonaga K. Comprehensive analysis of endogenous bornavirus-like elements in eukaryote genomes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2013 Aug 12;368(1626):20120499.

11. Adel'shin R.V. *Jepidemiologija i vakcinoprofilaktika*. 2006; 2: 27 – 34. (in Russian).

12. Crochu S, Cook S, Attoui H, Charrel RN, De Chesse R, Belhouichet M, Lemasson JJ, de Micco P, de Lamballerie X. Sequences of flavivirus-related RNA viruses persist in DNA form integrated in the genome of *Aedes* spp. mosquitoes. *J Gen Virol*. 2004 Jul;85(Pt 7):1971-1980

13. Paramonov A. I. *Izvestija Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Biologija. Jekologija*. 2011; 4: 3-8. (in Russian).

14. Zhang L, Richards A, Barrasa MI, Hughes SH, Young RA, Jaenisch R. Reverse-transcribed SARS-CoV-2 RNA can integrate into the genome of cultured human cells and can be expressed in patient-derived tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2021 May 25;118(21):e2105968118.

15. Smits N, Rasmussen J, Bodea GO, Amarilla AA, Gerdes P, Sanchez-Luque FJ, Ajikuttira P, Modhiran N, Liang B, Faivre J, Deveson IW, Khromykh AA, Watterson D, Ewing AD, Faulkner GJ. No evidence of human genome integration of SARS-CoV-2 found by long-read DNA sequencing. *Cell Rep*. 2021 Aug 17;36(7):109530.

16. Yin Y, Liu XZ, He X, Zhou LQ. Exogenous Coronavirus Interacts With Endogenous Retrotransposon in Human Cells. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Feb 25;11:609160.

17. Bertani G, Six E. Inheritance of prophage P2 in bacterial crosses. *Virology*. 1958 Oct;6(2):357-81.

18. Appleyard RK. Segregation of Lambda Lysogenicity during Bacterial Recombination in *Escherichia Coli* K12. *Genetics*. 1954 Jul;39(4):429-39.

19. Lennox ES. Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. *Virology*. 1955 Jul;1(2):190-206.

20. Lederberg EM, Lederberg J. Genetic Studies of Lysogenicity in *Escherichia Coli*. *Genetics*. 1953 Jan;38(1):51-64.

21. CAMPBELL A. Transduction and segregation in *Escherichia coli* K12. *Virology*. 1957. Oct;4(2):366-84.

22. Kohn A. Possible Integration of Viral Nucleic Acid Into the Genome of Animal Cells. *Prog Med Virol*. 1963;5:169-218.

23. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, zur Hausen H. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature*. 1985 Mar 7-13;314(6006):111-4.

24. Gissmann L, Wolnik L, Ikenberg H, Koldovsky U, Schnürch HG, zur Hausen H. Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983 Jan;80(2):560-3.

25. Sambrook J, Westphal H, Srinivasan PR, Dulbecco R. The integrated state of viral DNA in SV40-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1968 Aug;60(4):1288-95.

26. Hirai K, Lehman J, Defendi V. Integration of simian virus 40 deoxyribonucleic acid into the deoxyribonucleic acid of primary infected Chinese hamster cells. *J Virol*. 1971 Nov;8(5):708-15.

27. Doerfler W. Integration of the deoxyribonucleic acid of adenovirus type 12 into the deoxyribonucleic acid of baby hamster kidney cells. *J Virol*. 1970 Nov;6(5):652-66.

28. Salpini R, D'Anna S, Benedetti L, Piermatteo L, Gill U, Svicher V, Kennedy PTF. Hepatitis B virus DNA integration as a novel biomarker of hepatitis B virus-mediated pathogenetic properties and a barrier to the current strategies for hepatitis B virus cure. *Front Microbiol*. 2022 Sep 2;13:972687.

29. Komatsu H, Inui A, Hoshino H, Umetsu S, Fujisawa T. Integration of Viral Genome to Human Genomic DNA in Nails of Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. *JMA J*. 2023;6(4):426-436.

30. Aimola G, Beythien G, Aswad A, Kaufer BB. Current understanding of human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration. *Antiviral Res*. 2020 Apr;176:104720

31. Wallaschek N, Sanyal A, Pirzer F, Gravel A, Mori Y, Flamm L, Kaufer BB. The Telomeric Repeats of Human Herpesvirus 6A (HHV-6A) Are Required for Efficient Virus Integration. *PLoS Pathog*. 2016 May 31;12(5):e1005666.

32. Kusakin AV, Goleva OV, Danilov LG, Krylov AV, Tsay VV, Kalinin RS, Tian NS, Eismont YA, Mukomolova AL, Chukhlov AB, Komissarov AS, Glotov OS. The Telomeric Repeats of HHV-6A Do Not Determine the Chromosome into Which the Virus Is Integrated. *Genes (Basel)*. 2023 Feb 18;14(2):521.

33. Kaufer BB, Flamand L. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology. *Curr Opin Virol*. 2014 Dec;9:111-8.

34. Lohi O, Arola M, Lautenschlager I, Nacheva EP, Vettentranta K. A high circulating copy number of HHV-6 due to chromosomal integration in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2010 Dec 1;55(6):1236-8.

35. Miura H, Kawamura Y, Hattori F, Kozawa K, Ihira M, Ohye T, Kurahashi H, Yoshikawa T. Chromosomally integrated human herpesvirus 6 in the Japanese population. *J Med Virol*. 2018 Oct;90(10):1636-1642.

36. Prusty BK, Krohne G, Rudel T. Reactivation of chromosomally integrated human herpesvirus-6 by telomeric circle formation. *PLoS Genet*. 2013;9(12):e1004033.
37. Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, Kurahashi H, Yoshikawa T, Katano H, Inoue N, Imai K, Takagi M, Morio T, Mizutani S. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. *Clin Infect Dis*. 2014 Aug 15;59(4):545-8.
38. Gaccioli F, Lager S, de Goffau MC, Sovio U, Dopierala J, Gong S, Cook E, Sharkey A, Moffett A, Lee WK, Delles C, Venturini C, Breuer J, Parkhill J, Peacock SJ, Charnock-Jones DS, Smith GCS. Fetal inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 predisposes the mother to pre-eclampsia. *Nat Microbiol*. 2020 Jul;5(7):901-908.
39. Huang Y, Hidalgo-Bravo A, Zhang E, Cotton VE, Mendez-Bermudez A, Wig G, Medina-Calzada Z, Neumann R, Jeffreys AJ, Winney B, Wilson JF, Clark DA, Dyer MJ, Royle NJ. Human telomeres that carry an integrated copy of human herpesvirus 6 are often short and unstable, facilitating release of the viral genome from the chromosome. *Nucleic Acids Res*. 2014 Jan;42(1):315-27.
40. Gravel A, Sinnert D, Flamand L. Frequency of chromosomally-integrated human herpesvirus 6 in children with acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One*. 2013 Dec 26;8(12):e84322.
41. Komatsu H, Inui A, Hoshino H, Umetsu S, Fujisawa T. Integration of Viral Genome to Human Genomic DNA in Nails of Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. *JMA J*. 2023;6(4):426-436.
42. Prusty BK, Gulve N, Rasa S, Murovska M, Hernandez PC, Ablashi DV. Possible chromosomal and germline integration of human herpesvirus 7. *J Gen Virol*. 2017 Feb;98(2):266-274.
43. Komatsu H, Tamaki K, Hirabayashi M. Cytomegalovirus DNA in the nails of an infant diagnosed with a congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Neonatol*. 2020 Aug;61(4):459-460.
44. Mauch-Mücke K, Schön K, Paulus C, Nevels MM. Evidence for Tethering of Human Cytomegalovirus Genomes to Host Chromosomes. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Sep 30;10:577428.
45. Ohshima K, Suzumiya J, Kanda M, Kato A, Kikuchi M. Integrated and episomal forms of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV associated disease. *Cancer Lett*. 1998 Jan 9;122(1-2):43-50.
46. Janjetovic S, Hinke J, Balachandran S, Akyüz N, Behrmann P, Bokemeyer C, Dierlamm J, Murga Penas EM. Non-Random Pattern of Integration for Epstein-Barr Virus with Preference for Gene-Poor Genomic Chromosomal Regions into the Genome of Burkitt Lymphoma Cell Lines. *Viruses*. 2022 Jan 4;14(1):86.
47. Jakushina S.A. *Voprosy virusologii*. 2020; 65;4:191-202.
48. Dolgih T.I. Strategy and methodological support of diagnostics of infectious diseases: Guidelines for Physicians. Omsk; 2007 (in Russian).
49. Volpi EV, Bridger JM. FISH glossary: an overview of the fluorescence in situ hybridization technique. *Biotechniques*. 2008 Oct;45(4):385-6, 388, 390.
50. Shah JS, Ramasamy R. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Tests for Identifying Protozoan and Bacterial Pathogens in Infectious Diseases. *Diagnostics (Basel)*. 2022 May 21;12(5):1286.
51. Gerami P, Jewell SS, Morrison LE, Blondin B, Schulz J, Ruffalo T, Matushek P 4th, Legator M, Jacobson K, Dalton SR, Charzan S, Kolaitis NA, Guitart J, Lertsbarapa T, Boone S, LeBoit PE, Bastian BC. Fluorescence in situ hybridization (FISH) as an ancillary diagnostic tool in the diagnosis of melanoma. *Am J Surg Pathol*. 2009 Aug;33(8):1146-56.
52. Stammler R, Vacher L, Fournier B, Lemaire P, Chauvel C, Silvestrini MA, Knapp S, de Frémont GM, Meignin V, Salmona M, Legoff J, Vanjak A, Dunogué B, Urbain F, Lambotte O, No I N, G rard L, Oksenhendler E, Galicier L, Latour S, Boutboul D. Combined Flow-Fluorescence in situ hybridization to HHV-8 and EBV reveals the viral heterogeneity of primary effusion lymphoma. *J Med Virol*. 2024 Aug;96(8):e29836.
53. Al-Shuhaib MBS, Hashim HO. Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis. *J Genet Eng Biotechnol*. 2023 Nov 13;21(1):115.
54. Goleva O.V., Kalinin R.S., Caj V.V., Babachenko I.V., Tjan N.S., Kusakin A.V., Chuhlovina A.B., Jejsmont Ju.A., Mukomolova A.L., Sharipova E.V., Krylov A.V., Glotov O.S. Vyjavlenyj v Sankt-Peterburge sluchaj nasleduej hromosomnoj integracii betagerpesvirusa 6a i filogeneticheskij analiz [A case of inherited chromosomal integration of beta-herpesvirus 6a identified in St. Petersburg and phylogenetic analysis]. In *Dni virusologii 2022 : Sbornik tezisov III Mezh-dunarodnogo foruma, posvjashhennogo 55-letiju so dnja osnovanija FGBU "NII grippa im. A.A. Smorodinceva" Minzdrava Rossii [Days of Virology 2022 : Collection of abstracts of the III International Forum dedicated to the 55th anniversary of the founding of FGBU "A.A. Smorodintsev Research Institute of Influenza" of the Ministry of Health of Russia]; 2022 October 03-05; St. Petersburg, Russia. St. Petersburg (Russia). p. 25-26. (in Russian).*
55. Fang M, Weng X, Chen L, Chen Y, Chi Y, Chen W, Hu Z. Fulminant central nervous system varicella-zoster virus infection unexpectedly diagnosed by metagenomic next-generation sequencing in an HIV-infected patient: a case report. *BMC Infect Dis*. 2020 Feb 19;20(1):159.
56. Wang D, Tao X, Fei M, Chen J, Guo W, Li P, Wang J. Human encephalitis caused by pseudorabies virus infection: a case report. *J Neurovirol*. 2020 Jun;26(3):442-448.
57. Satam H, Joshi K, Mangrolia U, Waghoo S, Zaidi G, Rawool S, Thakare RP, Banday S, Mishra AK, Das G, Malonia SK. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology (Basel)*. 2023 Jul 13;12(7):997.
58. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Hum Immunol*. 2021 Nov;82(11):801-811.
59. Kumar KR, Cowley MJ, Davis RL. Next-Generation Sequencing and Emerging Technologies. *Semin Thromb Hemost*. 2019 Oct;45(7):661-673.
60. Li H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv: Genomics*. 2013 Mar.
61. Langmead B, Wilks C, Antonescu V, Charles R. Scaling read aligners to hundreds of threads on general-purpose processors. *Bioinformatics*. 2019 Feb 1;35(3):421-432.
62. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, Batut P, Chaisson M, Gingeras TR. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013 Jan 1;29(1):15-21.
63. Chen Y, Yao H, Thompson EJ, Tannir NM, Weinstein JN, Su X. VirusSeq: software to identify viruses and their integration sites using next-generation sequencing of human cancer tissue. *Bioinformatics*. 2013 Jan 15;29(2):266-7.
64. Keane TM, Wong K, Adams DJ. RetroSeq: transposable element discovery from next-generation sequencing data. *Bioinformatics*. 2013 Feb 1;29(3):389-90.

Авторский коллектив:

Голева Ольга Владимировна — старший научный сотрудник НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, к.б.н.; тел.: 8(812)234-07-40, e-mail: golev.ao@mail.ru

Черкасова Полина Владимировна — младший научный сотрудник НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; тел.: + 7-982-449-02-84, e-mail: cherkasovav@yandex.ru

Базиян Елена Владимировна — младший научный сотрудник НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; тел.: + 7-911-229-07-85, e-mail: waz2107gen@yandex.ru

Иголкина Александра Александровна — аспирант НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; тел.: 8(981)151-60-10, e-mail: gribanovaalal@bk.ru

Эйсмонт Юрий Александрович — старший научный сотрудник НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, к.б.н.; тел.: 8(812)234-07-40; e-mail: y-eis@inbox.ru

Скрипченко Наталья Викторовна — профессор, заместитель директора по научной работе Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; заведующая кафедрой инфекционных заболеваний у детей ФП и ДПО Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, д.м.н.; тел.: 8(812)234-10-38, e-mail: snv@niidi.ru

Чухловин Алексей Борисович — заведующий лабораторией трансплантологии Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова, д.б.н., профессор; тел.: + 7-921-325-00-94, e-mail: alexei.chukh@mail.ru

Глотов Олег Сергеевич — заведующий НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, д.б.н., старший научный сотрудник; тел.: 8(812)234-07-40, + 7-921-756-78-09, e-mail: olglotov@mail.ru