

Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН

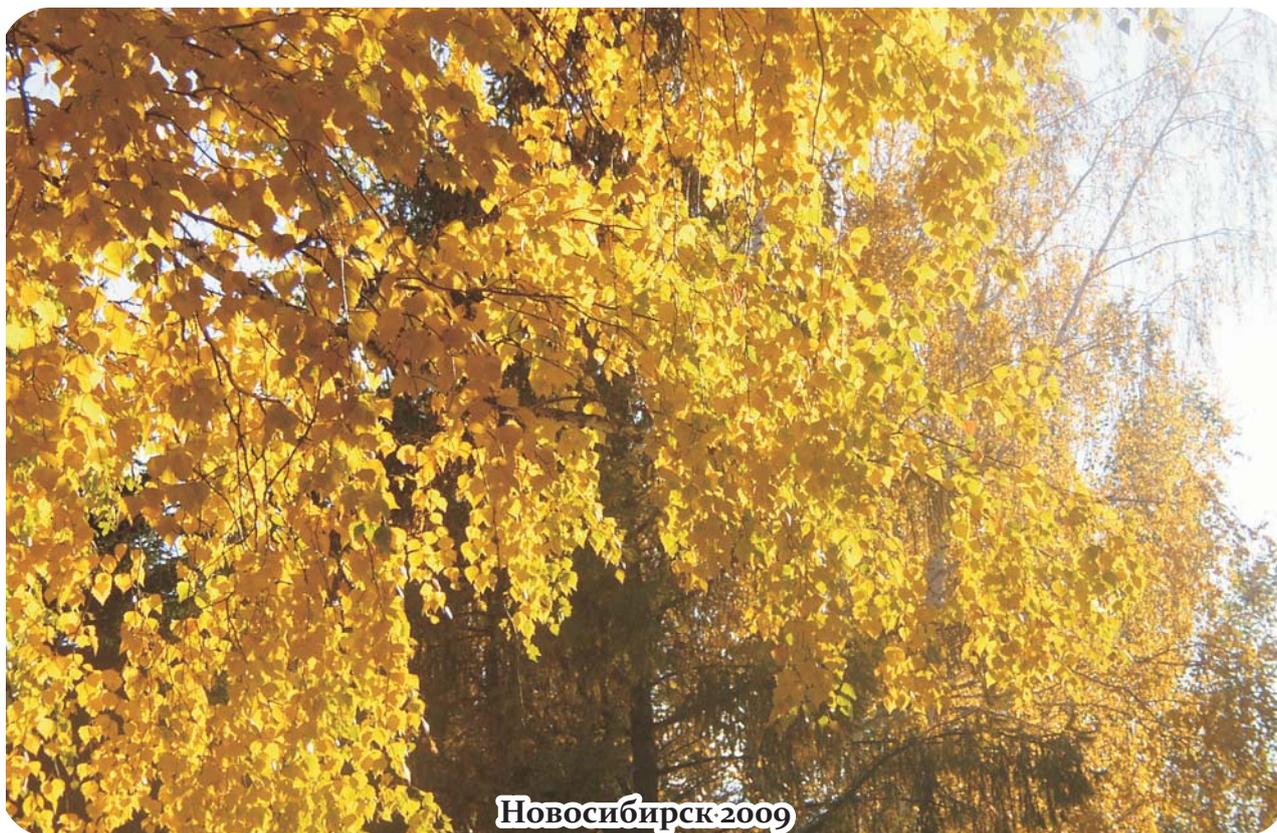


**The International Conference
Chromosome 2009**

Novosibirsk
August 31 – September 6, 2009

**Материалы международной
конференции «Хромосома 2009»**

**Abstracts of the International
Conference “Chromosome 2009”**



Новосибирск 2009

Конференция проводится при финансовой поддержке:



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И
НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО НАУКЕ И ИННОВАЦИЯМ

Федеральное агентство
по науке и инновациям
«РОСНАУКА»

OLYMPUS

ООО «ОЛИМПУС РУС»



ЗАО «Рош-Москва»



ООО «Лаборатория МЕДИГЕН»



Carl Zeiss



ООО «МетаСистемс»

Leica

MICROSYSTEMS

ООО «Лейка Микросистеме
Фертриб ГмбХ»



ООО «Биоген-Аналитика»

Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН

**Материалы международной
конференции «Хромосома 2009»**

Новосибирск 2009

The Institute of Chemical Biology and Fundamental
Medicine of SB RAS

**Abstracts of the International
Conference “Chromosome 2009”**

Новосибирск 2009

Содержание

СЕКЦИЯ I ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА, ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЯДРА И ХРОМОСОМ	1
ИНВЕРТИРОВАННАЯ АРХИТЕКТУРА ЯДРА И ЕЕ ФОРМИРОВАНИЕ В ХОДЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ФОТОРЕЦЕПТОРНЫХ КЛЕТОК-ПАЛОЧЕК МЫШИ	
<i>Соловей И.В., Иоффе Б.И.</i>	3
ПОЛОЖЕНИЕ ХРОМОСОМ В ЯДРЕ: ГДЕ И ПОЧЕМУ	
<i>Иоффе Б.И., Соловей И.В.</i>	3
АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ АКТИВАТОРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ДОМЕНА АЛЬФА-ГЛОБИНОВЫХ ГЕНОВ КУР	
<i>Филоненко Е.С. и др.</i>	5
NUCLEAR MATRIX: STRUCTURE, FUNCTION AND DYNAMICS	
<i>Kiseleva E.</i>	5
ALTERNATIVE LANDSCAPE IN DROSOPHILA	
<i>Vabenko V.N. et al.</i>	6
ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ИНТЕРФАЗНЫХ ХРОМОСОМ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА	
<i>Юров И.Ю. и др.</i>	7
ГЕНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМОСОМНЫХ УЧАСТКОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В НЕСБАЛАНСИРОВАННЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ, ПРИ АУТИЗМЕ: МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И IN SILICO АНАЛИЗЫ	
<i>Юров И.Ю. и др.</i>	8
РОЛЬ УЧАСТКОВ ПРИКРЕПЛЕНИЯ ХРОМОСОМ К ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКЕ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ	
<i>Глазков М.В. и др.</i>	10
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ИНДУКЦИИ ПЛЮРИПОТЕНТНОГО СОСТОЯНИЯ В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА	
<i>Лагарькова М.А. и др.</i>	11
УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ НИМИ	
<i>Глазко Т.Т.</i>	11
МАЛЫЕ ЯДРЫШКОВЫЕ РНК И ИХ ГЕНЫ У ПОЗВОНОЧНЫХ	
<i>Макарова Ю.А. и Крамеров Д.А.</i>	12
ГРУППИРОВКА ГЕНОВ И НЕКОТОРЫХ СЕМЕЙСТВ ПОВТОРОВ В ХРОМОСОМАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ	
<i>Томилин Н.В. и Усманова Н.М.</i>	13
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ У ОДНОПОЛЫХ И ДВУПОЛЫХ ВИДОВ ЯЩЕРИЦ РОДА <i>DAREVSKIA</i>	
<i>Рысков А.П. и др.</i>	15
ЦИТОМИКСИС У ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА	
<i>Сидорчук Ю.В. и др.</i>	16
ХРОМОСОМНЫЙ КОНТРОЛЬ АПОМИКСИСА У ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ С ГАМАГРАССОМ	
<i>Белова И.В. и др.</i>	17
НЕОБЫЧНЫЕ СВОЙСТВА ХРОМОСОМ ПРЕСНОВОДНЫХ ЦИКЛОПОВ (CRUSTACEA): СТРУКТУРНЫЕ И ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ	
<i>Гришанин А.К., Загоскин М.В.</i>	18
РЕОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА И ДИНАМИКА ТЕЛОМЕРНЫХ ПОВТОРОВ В ХОДЕ ДИМИНУЦИИ ХРОМАТИНА У ЦИКЛОПОВ	
<i>Зоткевич Е.А. и др.</i>	19
ГЕНОМ ИНФУЗОРИЙ: СТРОЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ	
<i>Раутиан М.С.</i>	19
ХРОМОСОМА КАК ЭВОЛЮЦИОННАЯ ПРОБЛЕМА	
<i>Мосолов А.Н.</i>	21
ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ ЖИВОГО И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА	
<i>Чадов Б.Ф.</i>	22
ТРАНСПОЗОНЫ КАК ИСТОЧНИК ПРОМОТЕРОВ В ГЕНОМЕ ДРОЗОФИЛЫ	
<i>Макунин И.В. и др.</i>	23
СЕКЦИЯ II СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ СТРУКТУРЫ ХРОМОСОМ	25
ЧЕТЫРЕ ФРАКЦИИ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА, ИХ ОРГАНИЗАЦИЯ В ЯДРЫШКЕ И МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМАХ	
<i>Ляпунова Н.А., Вейко Н.Н.</i>	27
МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА СУБТЕЛОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА РЖИ	
<i>Евтушенко Е.В. и др.</i>	28
СТРУКТУРА ЦЕНТРОМЕРЫ И КОНСТРУИРОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ ХРОМОСОМЫ РАСТЕНИЙ	
<i>Данилевская О.Н., Ананьев Е.В.</i>	29
ЦЕНТРОМЕРНЫЕ И ПЕРИЦЕНТРОМЕРНЫЕ ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ МЫШИ IN SILICO И IN SITU	
<i>Подгорная О.И. и др.</i>	30
TELOMERE CLUSTERING AROUND PML BODIES PROMOTES RECOMBINATION BETWEEN HETEROLOGOUS CHROMOSOMES IN HUMAN SOMATIC CELLS	
<i>Draskovic I. et al.</i>	31
UNUSUAL TELOMERES ON CHROMOSOMES OF ONE OF SHREW'S SPECIES, SOREX GRANARIUS	
<i>Zhdanova N.S. et al.</i>	31
МОБИЛЬНОСТЬ В-ХРОМОСОМ	
<i>Борисов Ю.М.</i>	33
ШИРОКИЕ И УЗКИЕ ГИБРИДНЫЕ ЗОНЫ ХРОМОСОМНЫХ РАС ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ SOREX ARANEUS	
<i>Борисов Ю.М., Орлов В.Н.</i>	33

PRIMATE CHROMOSOME EVOLUTION: MARKER ORDER AND NEOCENTROMERES <i>Stanyon R.</i>	34
ДОБАВОЧНЫЕ ХРОМОСОМЫ, СЕГМЕНТНЫЕ ДУПЛИКАЦИИ И ЭВОЛЮЦИЯ <i>Трифонов В.А. и др.</i>	35
ИССЛЕДОВАНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ У РЕСНИЧНЫХ ЧЕРВЕЙ (<i>PLATHELMINTHES, TURBELLARIA, TRICLADIDA</i>) ОЗЕРА БАЙКАЛ: СВЯЗЬ С ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ ЖИЗНИ И ЭВОЛЮЦИЕЙ <i>Королева А.Г. и др.</i>	36
ЛАЗЕРНАЯ МИКРОДИССЕКЦИЯ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ <i>Подгорный О.В.</i>	37
СЕКЦИЯ III ХРОМОСОМЫ МИТОХОНДРИЙ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИСКОПАЕМОЙ ДНК <i>CAPREOLUS PYGARGUS</i> ДЕНИСОВОЙ ПЕЩЕРЫ; ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ С СОВРЕМЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ <i>Воробьева Н.В. и др.</i>	39
МТДНА AND Y-CHROMOSOMAL VARIATION IN POPULATIONS OF САКНА (YAKUTIA) <i>Fedorova S.A. et al.</i>	41
СЕКЦИЯ IV ХРОМОСОМЫ И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕТЕРОХРОМАТИН И РЕКОМБИНАЦИЯ В ЭВОЛЮЦИИ КАРИОТИПОВ САРАНЧОВЫХ <i>Высоцкая Л.В., Корниенко О.С.</i>	43
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ В ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОВ: ПРИРОДНЫЙ СЕЛЕКЦИОННЫЙ ПРЕИМУЩЕСТВО ЦПГС В КОДИРУЮЩИХ РЕГИОНАХ ГЕНОВ <i>Rodin S. N. et al.</i>	46
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ЛАНДШАП И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ХРОМОСОМНЫХ АРМОВ В МАЛАРИИ НАСЕКОМЫХ <i>Sharakhov I.V. et al.</i>	46
ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОТИПОВ ВИДОВ РОДА <i>CHIRONOMUS</i> (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) В ГОЛАРКТИКЕ <i>Гундерина Л. И.</i>	47
СЕМЕЙСТВА ГЕНОВ <i>RMS2</i> И <i>POLR2J</i> КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ЭВОЛЮЦИИ ВЫСШИХ ПРИМАТОВ <i>Шпаковский Г.В. et al.</i>	48
ЧТО ГЕНЫ И ХРОМОСОМЫ ГОВОРЯТ О ПРОИСХОЖДЕНИИ И ЭВОЛЮЦИИ НАСЕКОМЫХ И ДРУГИХ ЧЛЕНИСТОНОГИХ? <i>Лухтанов В.А., Кузнецова В.Г.</i>	50
ДИНАМИКА ВЫСОКОПОВТОРЯЮЩЕЙСЯ ФРАКЦИИ ДНК КАК ИНДИКАТОР ПРОЦЕССА ВИДООБРАЗОВАНИЯ У ВИДОВ СЕМЕЙСТВА <i>ROSEAE</i> <i>Беляев А.А., Раскина О.М.</i>	50
ДИВЕРГЕНЦИЯ ХРОМОСОМ И ГЕНОМОВ ВИДОВ <i>AEGILOPS</i> И <i>TRITICUM</i> В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИИ <i>Адонина И.Г. et al.</i>	52
ХРОМОСОМНАЯ ПОЛИТИПИЯ ВИДОВ В СВЕТЕ ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРИНЦИПА ВАВИЛОВА — ДАРВИНА <i>Булатова Н.Ш.</i>	53
ГИБРИДИЗАЦИЯ ХРОМОСОМНЫХ РАС ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ (<i>SOLEX ARANEUS</i> L.) НА ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИИ: ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МЕЙОЗ У РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ КОМПЛЕКСНЫХ ГЕТЕРОЗИГОТ <i>Павлова С.В. и др.</i>	53
ДОМЕННАЯ КОНСЕРВАТИВНОСТЬ БЫСТРО ЭВОЛЮЦИОНИРУЮЩЕГО ГЕТЕРОХРОМАТИНОВОГО БЕЛКА SUUR ДРОЗОФИЛЫ <i>Юрлова А.А. и др.</i>	55
ДЕЛЕЦИОННОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ХРОМОСОМ КАК ОСНОВА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА ПШЕНИЦЫ И СЕЛЕКЦИИ НОВЫХ СОРТОВ <i>Хлесткина Е.К., Салина Е.А.</i>	55
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА НАСЕКОМОЯДНЫХ <i>Билтуева Л.С. и др.</i>	57
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА ОСНОВНЫХ ТАКСОНОВ ОТРЯДА CETARTIODACTYLA <i>Кулемзина А.И. и др.</i>	57
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА ДЕСЯТИ ВИДОВ ПОЛЕВОК РОДА <i>MICROTUS</i> (ARVICOLINAE, RODENTIA) <i>Лемская Н.А. и др.</i>	58
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ <i>Романенко С.А.¹ и др.</i>	58
ХРОМОСОМНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА <i>Картавецова И.В.</i>	59
РОЛЬ РОБЕРТСОНОВСКИХ ТРАНСЛОКАЦИЙ В ЭВОЛЮЦИИ СЛЕПУШОНОК РОДА <i>ELLOBIUS</i> (RODENTIA, MAMMALIA) <i>Баклушинская И.Ю. и др.</i>	60
CHROMOSOMES IN A HYBRID ZONE OF ISRAELI MOLE RATS (<i>SPALAX</i> , RODENTIA) <i>Ivanitskaya E. et al.</i>	61
CHROMOSOME PAINTING AND THE RESOLUTION OF THE UNIQUE SEX DETERMINING SYSTEM IN PLATYPUS AND ECHIDNA <i>Ferguson-Smith M.A.</i>	62
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ХРОМОСОМНЫЙ АНАЛИЗ БЕЛКОБРАЗНЫХ ГРЫЗУНОВ И ЗАЙЦЕОБРАЗНЫХ <i>Беклемишева В.Р. et al.</i>	62
Т-БЛОКИ ХРОМОСОМ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ИХ ПРОИСХОЖДЕНИЕ <i>Родионов А.В.^{1,2}, Галкина С.А.</i>	63
СЛУЧАЙНО ЛИ РАСПОЛОЖЕНИЕ ГЕНОВ В ХРОМОСОМАХ? <i>Захаров И.А.</i>	64
ХРОМОСОМЫ — ЛАМПОВЫЕ ЩЕТКИ ПТИЦ: ИССЛЕДОВАНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ <i>Гагинская Е.Р.</i>	64

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАРИОТИПОВ ПТИЦ НА МОДЕЛИ ХРОМОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК <i>Галкина С.А. и др.</i>	65
КАРИОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ РОДА <i>LINUM</i> L <i>Муравенко О.В. и др.</i>	66
ВЕРОЯТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЭВОЛЮЦИИ КАРИОТИПОВ КЕРЧАКОВ (<i>MYOXOSERNALUS</i> И <i>MEGALOCOTTUS</i>) ЯПОНСКОГО И ОХОТСКОГО МОРЕЙ <i>Рязанова И.Н.</i>	67
СЕКЦИЯ V ХРОМОСОМЫ ЧЕЛОВЕКА. ХРОМОСОМЫ ПРИ ПАТОЛОГИЯХ	71
COMBINED SIMULTANEOUS ANALYSIS OF MORPHOLOGY AND FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) AS A NOVEL METHOD TO DETECT A SMALL POPULATIONS OF MALIGNANT CELLS IN HIGH RISK PATIENTS, PREMALIGNANT LESIONS AND MINIMAL RESIDUAL DISEASE <i>Trakhtenbrot L. et al.</i>	73
KARYOTYPIC EVOLUTION IN CANCER: SKY ANALYSIS DEMONSTRATES A HIGH SUSCEPTIBILITY OF ABERRANT CHROMOSOMES TO FURTHER REARRANGEMENTS <i>Trakhtenbrot L. et al.</i>	73
НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ХРОМОСОМ В НЕРВНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ <i>Юров И.Ю. и др.</i>	74
ХРОМОСОМНЫЙ МОЗАИЦИЗМ КЛЕТОК МАТЕРИАЛА СПОНТАННЫХ АБОРТОВ: ИССЛЕДОВАНИЕ 650 СЛУЧАЕВ <i>Ворсанова С.Г.</i>	75
ПОЛИМОРФИЗМ ЯДЕРНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА В ИЗУЧЕНИИ ГЕНОФОНДА НАРОДОВ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОГО РЕГИОНА <i>Лимборская С.А.,</i> Институт молекулярной генетики РАН, Москва, limbor@img.ras.ru	76
КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ <i>Овсеян В.А., Виноградова Е.Ю.,</i> ФГУ «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», vovseryan@mail.ru.	77
СЕКЦИЯ VI ХРОМОСОМЫ В КЛЕТОЧНЫХ ДЕЛЕНИЯХ	79
ДНК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И ЭВОЛЮЦИЯ МЕЙОЗА <i>Богданов Ю.Ф. и др.</i>	81
TARGETING OF BUB1B LEADS TO LOSS OF SPINDLE CHECKPOINT FUNCTION AND EMBRYONIC LETHALITY <i>Fedorov L.M. et al.</i>	82
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА ВРЕДНЫХ (DELETERIOUS) МУТАЦИЙ И ИХ КОРРЕКЦИЯ В МЕЙОЗЕ <i>Чубыкин В.Л.</i>	82
НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ КЛЮЧЕВЫХ СОБЫТИЙ МЕЙОЗА У РЖИ И ЕЕ СИНАПТИЧЕСКИХ МУТАНТОВ <i>Михайлова Е.И.</i>	83
THE ROLE OF <i>DROSOPHILA</i> MERLIN FUNCTIONAL DOMAINS IN SPERMATOGENESIS <i>Yudina O.S. et al.</i>	84
КОРРЕКЦИЯ АНОМАЛИЙ ЦИТОСКЕЛЕТНЫХ СТРУКТУР В ДЕЛЕНИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ <i>Шамина</i>	85
ЭФФЕКТ КИСЛОЙ PH СРЕДЫ НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ЯДЕР И ЯДРЫШЕК КЛЕТОК ПОБЕГОВОЙ И КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЫ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ <i>Баранова Е.Н., Гулевич А.А.</i>	86
СЕКЦИЯ VII МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ	89
НЕКОДИРУЮЩИЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ РНК X ХРОМОСОМЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ. ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ <i>Колесников Н.Н. и Елисафенко Е.А.</i>	91
ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ И ПРОИСХОЖДЕНИЯ ГЕНА <i>TSI</i> <i>Жукова О.А. и др.</i>	92
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ РАЙОНОВ ГЕНА <i>XIST</i> ПОЛЕВКИ <i>MICROTUS ROSSIAEMERIDIONALIS</i> <i>Орищенко К.Е., Елисафенко Е.А.</i>	93
ТРОФОБЛАСТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ОБЫКНОВЕННОЙ ПОЛЕВКИ РОДА <i>MICROTUS</i> — МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИМПРИНТИРОВАННОЙ ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ <i>Григорьева Е.В. и др.</i>	93
МОДИФИКАЦИИ ХРОМАТИНА НЕАКТИВНОЙ X-ХРОМОСОМЫ У ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЕВОК <i>Васькова Е.А. и др.</i>	94
СТАТУСЫ ЭКСПРЕССИИ И МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ X-ХРОМОСОМЫ В СОМАТИЧЕСКИХ И ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЯХ ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЕВОК <i>Дементьева Е.В. и др.</i>	94
ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ И ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМ У СУМЧАТЫХ ОПОССУМОВ <i>Захарова И.С. и др.</i>	95
СЕКЦИЯ VIII ПОЛИТЕННЫЕ ХРОМОСОМЫ	97
GENE DENSITY IN THE LATE REPLICATED DOMAINS OF <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> <i>Belyakin S.N. et al.</i>	99
ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕННОЙ ПЛОТНОСТИ В РАЙОНАХ ПОЗДНЕЙ РЕПЛИКАЦИИ У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> <i>Белякин С.Н. и др.</i>	99
ЯДЕРНАЯ ЛАМИНА ПОДАВЛЯЕТ “ПОДТЕКАЮЩУЮ” ТРАНСКРИПЦИЮ <i>Шевелев Ю.Я. и др.</i>	100
ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПЛИКАЦИИ ДНК В ИЗОЛИРОВАННЫХ ОРГАНАХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМБИНА <i>Колесникова Т.Д. и др.</i>	101

РОЛЬ БЕЛКОВ ГРУПП POLYCOMB И TRITHORAX В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОМА <i>Шварц Ю.Б.</i>	102
LOST IN TRANSLATION? — THE FUNCTION OF HP1 β <i>Singh P.</i>	102
STRUCTURAL ORGANIZATION AND EVOLUTIONARY DYNAMICS OF THE MALARIA MOSQUITO HETEROCHROMATIN <i>Sharakhova M.V. et al.</i>	102
КАРТИРОВАНИЕ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА DROSOPHILA MELANOGASTER С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДВОЙНЫХ МУТАНТОВ SUURES SU(VAR)3-906 <i>Андреева Е.Н. и др.</i>	103
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖХРОМОМЕРОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ <i>Демаков С.А. и др.</i>	104
SAGA И НОВЫЙ ЭКСПОРТНЫЙ КОМПЛЕКС ОСУЩЕСТВЛЯЮТ ЭФФЕКТИВНУЮ ТРАНСКРИПЦИЮ И ЭКСПОРТ МРНК К NRC <i>Краснов А.Н. и др.</i>	105
НОВЫЙ МЕХАНИЗМ АКТИВАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ СУПЕРКОМПЛЕКСОМ BTFLY, СОДЕРЖАЩИМ КОМПЛЕКСЫ TFIID И BRAHMA <i>Воробьева Н.Е. и др.</i>	106
СТРУКТУРА ХРОМАТИНА ДРОЗОФИЛЫ ПРИ ЭКТОПИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SUUR <i>Зыков И.А. и др.</i>	107
COPING WITH D.MELANOGASTER RESOURCES EXPANSION: SOFTWARE IMPLEMENTATION <i>Zykov I.A. et al.</i>	107
DOSAGE COMPENSATION IN DROSOPHILA MELANOGASTER <i>Gorchakov A.A.</i>	109
ВНЕ ПРОГРАММЫ	111
U2 AND BRANCHPOINT SITE EVOLUTION <i>Goncharov F.P., Babenko V.N.</i>	113
KARYOTYPES OF SIX SPECIES OF SPHENOPTERA (COLEOPTERA, BUPRESTIDAE) AND PRESUMPTIVE ANCESTRAL STATE OF THE KARYOTYPE OF THE GENUS <i>Karagyan G.H.</i>	113
RBR CONTROLS GENOME INTEGRITY IN ARABIDOPSIS THALIANA <i>Matveeva E. et al.</i>	113
CHROMOSOMAL HOMOLOGIES AMONG SPECIES OF GENERA CHIRONOMUS MG, GLYPTOTENDIPES KIEFFER AND KIEFFERULUS (GOETGHEBUER) (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) ESTABLISHED BY IN SITU HYBRIDIZATION OF THE EVOLUTIONARY CONSERVED CRY/CTY GENE <i>Michailova P. et al.</i>	114
COMPARATIVE ANALYSIS OF THE KARYOTYPES OF LARGE BARB CAPOETA (CYPRINIDAE: BARBINAE) FROM ARMENIA AND NEARBY COUNTRIES <i>Stepanyan I.E. et al.</i>	114
ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПОЛОЖЕНИЕ XL ХРОМОСОМЫ В ЯДРАХ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ ANOPHELES MESSEAE FALL <i>Артемов Г.Н. и др.</i>	115
МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАЙОНА ПРИКРЕПЛЕНИЯ XL ХРОМОСОМЫ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ МАЛЯРИЙНОГО КОМАРА ANOPHELES ATROPARVUS <i>Артемов Г.Н. и др.</i>	116
РАЗРАБОТКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВЫХ ХРОМОСОМНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СЕЛЕКЦИИ ХЛОПЧАТНИКА <i>Ахмедов М.Б. и др.</i>	116
СПЕКТРАЛЬНЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭРИТРОБЛАСТОВ ПЛОДА ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МАТЕРИНСКОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И ИЗ КРОВИ ПУПОВИНЫ <i>Бабочкина Т.И. и др.</i>	118
МЕЖДИСКИ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ DROSOPHILA MELANOGASTER СОДЕРЖАТ ЭНХАНСЕРЫ <i>Беркаева М.Б. и др.</i>	119
МАТЕМАТИЧЕСКО-КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАРИОТИПИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ <i>Букин Ю. С., Натяганова А. В.</i>	120
ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ — ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ <i>Вайсфельд Л. И.</i>	121
БЕЛКИ ГЕТЕРОГЕННЫХ ЯДЕРНЫХ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИНОВ НА ХРОМОСОМАХ ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК ПТИЦ: ИССЛЕДОВАНИЕ КО-ТРАНСКРИПЦИОННОГО ПРОЦЕССИНГА НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК <i>Василевская Е.В., Красикова А.В. и др.</i>	122
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖДИСКОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ DROSOPHILA MELANOGASTER <i>Ватолина Т. Ю. и др.</i>	123
АНАЛИЗ ГОМОЛОГИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА CALLIPHORIDAE <i>Ведерников А.Е. и др.</i>	124
МЕЙОТИЧЕСКИЙ МУТАНТ SYNARTIC11 РЖИ SECALE CEREALE L <i>Голубцов С.В., Иорданская И.В.</i>	125
АНАЛИЗ ЧАСТОТ НЕРАСХОЖДЕНИЯ ХРОМОСОМ В ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МУЖЧИН НОСИТЕЛЕЙ СБАЛАНСИРОВАННЫХ РЕЦИПРОКНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ И МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ <i>Гордеева Е.Г. и др.</i>	126
ХРОМОСОМЫ-ЛАМПОВЫЕ ЩЕТКИ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА МИДИ- И МИКРОХРОМОСОМ В КАРИОТИПЕ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ GALLUS GALLUS DOMESTICUS <i>Дакс А.А. и др.</i>	126

ВРЕМЯ ОБРАЗОВАНИЯ ФИТОФИЛЬНЫХ ХИРОНОМИД ПОДСЕМЕЙСТВА CHIRONOMINAE (DIPTERA) НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА РИСУНКА ДИСКОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ	
<i>Демин А.Г. и др.</i>	127
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ТОЧЕК РАЗРЫВОВ В ХРОМОСОМЕ 3 У КУРИЦЫ И ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА	
<i>Злотина А.М. и др.</i>	128
МЕЖХРОМОСОМНЫЙ ЭФФЕКТ ПРИ НОСИТЕЛЬСТВЕ ТРАНСЛОКАЦИЙ	
<i>Зотова Н.В. и др.</i>	129
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ (<i>ABIES SIBIRICA</i> LEDEB.)	
<i>Квитко О.В.</i>	130
МЕТИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНА H1 В ЯДРАХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО АНТИБИОТИКА ДИСТАМИЦИНА	
<i>Коломийцева Г.Я. и др.</i>	131
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГИСТОНОВЫХ МОДИФИКАЦИЙ В ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫХ ГЕНАХ В ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ ДРОЗОФИЛЫ	
<i>Коряков Д.Е. и др.</i>	132
ВНУТРИЯДЕРНАЯ ДИНАМИКА ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩЕЙ ХРОМОСОМЫ В ТРОФОЦИТАХ <i>CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA</i> (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)	
<i>Коханенко А.А. и др.</i>	133
КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОВ <i>PPD</i> НА ВТОРОЙ ГРУППЕ ГОМЕОЛОГИЧНЫХ ХРОМОСОМ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. С ПОМОЩЬЮ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ	
<i>Кошкин В.А. и др.</i>	134
ТРАНСКРИПТЫ ТАНДЕМНО ПОВТОРЯЮЩЕЙСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ LL2R УЧАСТВУЮТ В ФОРМИРОВАНИИ SC35-ДОМЕНОВ В ЯДРАХ РАСТУЩИХ ООЦИТОВ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ	
<i>Красикова А.В., Гагинская Е.Р.</i>	135
ОСОБЫЕ ПЕТЛИ ХРОМОСОМ-ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК ПТИЦ И АМФИБИЙ КАК ВНУТРИЯДЕРНЫЕ ДОМЕНЫ, НАКАПЛИВАЮЩИЕ ПОЛИАДЕНИЛИРОВАННЫЕ ТРАНСКРИПТЫ	
<i>Куликова Т.В. и др.</i>	136
ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ КЛЕТОК, НАХОДЯЩИХСЯ В СИНТЕТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ПРИ ГИПОТОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ	
<i>Курчашова С. Ю. и др.</i>	137
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИЯ ХРОМОСОМ КАК ОСНОВА МНОГОМЕРНОГО КОДИРОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ	
<i>Левитес Е.В.</i>	138
ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ БЕЛКОВ СИНАПТОНОМНОГО КОМПЛЕКСА И ВЫЯВЛЕНИЕ ОСЕЙ МЕЙОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ У РЖИ	
<i>Ловцюс А.В. и др.</i>	139
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОРИЕНТАЦИИ И СЕГРЕГАЦИИ ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ РЖАНО-ТРИТИКАЛЬНЫХ ГИБРИДОВ F ₁ (RRABR, 5X=35)	
<i>Люсинов О.М., Гордей И.А.</i>	140
ЭКСПРЕССИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РАЙОНА ЦЕНТРА ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ ПОЛЕВОК РОДА <i>MICROTUS</i>	
<i>Малахова А.А. и др.</i>	141
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КОГЕЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА ПО ПОЛИТЕННЫМ И МЕЙОТИЧЕСКИМ ХРОМОСОМАМ ДРОЗОФИЛЫ	
<i>Марков А.В. и др.</i>	142
3D-АНАЛИЗ АРХИТЕКТУРЫ КАРИОТИПА В ЯДРАХ ООЦИТОВ ПТИЦ	
<i>Маслова А.В., Красикова А.В.</i>	143
АУТОЛОГИЧНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТЕВЛОВЫЕ КЛЕТКИ УСКОРЯЮТ ЗАЖИВЛЕНИЕ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ	
<i>Мороз Б.Б. и др.</i>	144
ВЛИЯНИЕ ПЛОИДНОСТИ ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ СЛИЯНИЕМ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ И ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК, НА ОРГАНИЗАЦИЮ ИХ ЯДРА И ЦИТОПЛАЗМЫ	
<i>Морозова К.Н. и др.</i>	144
БЕЛКИ ЯДЕРНОГО МАТРИКСА, ТРАНСПОРТИРУЕМЫЕ ХРОМОСОМАМИ В МИТОЗЕ	
<i>Мурашева М.И., Ченцов Ю.С.</i>	145
3D-РЕКОНСТРУКЦИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПОЛОЖЕНИЯ ХРОМОСОМЫ 2 В ТРОФОЦИТАХ ЯИЧНИКОВ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> (ЛИНИЯ OTU ¹¹)	
<i>Немирович-Данченко Н.М. и др.</i>	146
ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ ПЕРЕМЕЩЕНИЕ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРИЧИНОЙ ГИБРИДНОГО ДИСГЕНЕЗА У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ?	
<i>Перепелкина М.П., Захаренко Л.П.</i>	147
ВОВЛЕЧЕННОСТЬ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ RPAR, LXR, PXR, CAR В РАЗВИТИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНДУЦИРОВАННОЙ СТРЕССОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (НИСАГ)	
<i>Пивоварова Е.Н. и др.</i>	147
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ВИДОВ <i>CHIRONOMUS</i> (CHIRONOMIDAE, DIPTERA) С РАЗНЫМ СОЧЕТАНИЕМ ХРОМОСОМНЫХ ПЛЕЧ СОГЛАСНО ДАННЫМ АНАЛИЗА ГЕНА МТДНК — COI	
<i>Полуконова Н.В. и др.</i>	148
ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ УЧАСТКОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ В ПЕРИОД АККЛИМАЦИИ И ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХОЛИНОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ ОТ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ КОМБИНАЦИЙ ЛИЧИНКИ <i>CHIRONOMUS</i> (DIPTERA)	
<i>Полуконова Н.В., Федорова И.А.</i>	149
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕКСА БЕЛКА SUUR <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	
<i>Посух О.В. и др.</i>	150

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА НА ОБРАЗОВАНИЕ ПРОЧНЫХ ГИСТОН Н1-ДНК СШИВОК ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДЕР ВИДИМЫМ СВЕТОМ В ПРИСУТСТВИИ БРОМИСТОГО ЭТИДИЯ	
<i>Прусов А.Н. и др.</i>	151
РАЗМАХ ИЗМЕНЧИВОСТИ В-ХРОМОСОМ У ВОСТОЧНОАЗИАТСКОЙ МЫШИ <i>APODEMUS PENINSULAE</i> (RODENTIA) ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ	
<i>Рослик Г.В., Картавецова И.В.</i>	151
ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ <i>ANOPHELES MESSEAE</i> В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ	
<i>Русакова А.М. и др.</i>	152
ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО СОСТАВА ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА ХРОМОСОМЫ 2L DIPTERA, CULICIDAE	
<i>Сайджафарова А.О. и др.</i>	153
ЦИТОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОХРАНЕНИЯ И ЭМИССИИ ПРИВНЕСЕННЫХ ЧУЖЕГЕНОМНЫХ ГЕНОВ В САМО-И ПЕРЕКРЕСТНООПЫЛЯЮЩИХСЯ ИНТРОГРЕССИВНЫХ СИБС-ЛИНИЯХ ХЛОПЧАТНИКА	
<i>Семенухина Л.В., Ахмедова З.М.</i>	154
ИЗУЧЕНИЕ КАРИОТИПИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ РУКОКРЫЛЫХ (CHIROPTERA) МЕТОДОМ СРАВНИТЕЛЬНОГО ХРОМОСОМНОГО ПЭЙНТИНГА	
<i>Староселец Я.Ю. и др.</i>	156
ПЕРЕХОД ПОЛИПЛОИДНЫХ ГЕПАТОЦИТОВ ОТ МИТОТИЧЕСКОГО ЦИКЛА К ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИИ ХРОМОСОМ ПРИ МАССИВНЫХ ГЕНОМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ И СТАРЕНИИ	
<i>Урываева И.В. и др.</i>	157
ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДНК ХРОМОЦЕНТРА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ТРОФОЦИТОВ <i>DROSOPHILA ORENA</i> В ПРОЦЕССЕ ФИЛОГЕНЕЗА ПОДГРУППЫ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	
<i>Усов К.Е. и др.</i>	158
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ КОРОТКИХ ТАНДЕМНЫХ ПОВТОРОВ В ПЕРИЦЕНТРОМЕРНЫХ РАЙОНАХ ХРОМОСОМ МЫШИ	
<i>Федоров А.В., Подгорная О.И.</i>	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛЕКУЛЯРНОГО СОСТАВА ТЕЛЕЦ КАХАЛА В ЯДРАХ ООЦИТОВ ГОЛУБЯ СИЗОГО (<i>COLUMBIA LIVIA</i>)	
<i>Ходюченко Т.А. и др.</i>	159
ЛОКАЛИЗАЦИЯ ДОМЕНОВ ПОВЫШЕННОЙ И ПОНИЖЕННОЙ ПЛОТНОСТИ ГЕНОВ В РАЙОНЕ 19E1-4 ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	
<i>Хорошко В.А. и др.</i>	160
СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА СИСТЕМ ЦМС Р — И G — ТИПОВ ОЗИМОЙ РЖИ (<i>SECALE CEREALE</i> L.)	
<i>Шимко В.Е. и др.</i>	161
СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ ДОЗ ХИМИЧЕСКОГО СУПЕРМУТАГЕНА ЭТИЛЕНИМИНА НА ХРОМОСОМЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И НА РАЗНООБРАЗИЕ ПРИЗНАКОВ КОЛЛЕКЦИИ МУТАНТОВ	
<i>Эйгес Н.С. и др.</i>	162
ИССЛЕДОВАНИЕ КАРИОТИПОВ ОБЫКНОВЕННОГО ПОГОНЫША (<i>PORZANA PORZANA</i>) И БОЛЬШОЙ СИНИЦЫ (<i>PARUS MAJOR</i>) МЕТОДОМ ХРОМОСОМНОГО ПЭЙНТИНГА	
<i>Юдкин Д.В. и др.</i>	163
УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ	165
СПОНСОРСКИЕ СТРАНИЦЫ	167

Секция I
Организация генома,
пространственная организация ядра и хромосом

ИНВЕРТИРОВАННАЯ АРХИТЕКТУРА ЯДРА И ЕЕ ФОРМИРОВАНИЕ В ХОДЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ФОТОРЕЦЕПТОРНЫХ КЛЕТОК- ПАЛОЧЕК МЫШИ

© Соловей И.В., Иоффе Б.И., Antropology and Human Genetics, Dept of Biology II, Ludwig-Maximilian University of Munich, Germany, irina.solovei@lrz-uni-muenchen.de

Ядра клеток-палочек в сетчатке мыши и некоторых других млекопитающих имеют уникальную инвертированную архитектуру. В обычных („конвенциональных“) эукариотических ядрах гетерохроматин прилегает к ядерной оболочке и ядрышку, тогда как в инвертированных ядрах гетерохроматин формирует центральную массу, окруженную тонким слоем эухроматина; этот слой примыкает к ядерной оболочке и содержит все гены (независимо от их транскрипционного статуса). Инвертированная ядерная архитектура строго коррелирует с ночным образом жизни. У ночных млекопитающих перикарионы клеток-палочек собраны в ясно выраженные колонки, и их инвертированные ядра, функционирующие как собирающие микролинзы, передают свет по колонке с кардинально сниженными потерями на рассеяние. Распространение инвертированной и конвенциональной архитектуры в ядрах клеток-палочек среди млекопитающих показывает, что инвертированная архитектура, подчиненная оптимизации оптических свойств сетчатки, в остальных отношениях явно невыгодна. Она вновь заменяется на конвенциональную во всех группах млекопитающих, реадaptировавшихся к дневному образу жизни, доказывая эволюционные — и, тем самым, функциональные — преимущества конвенциональной ядерной архитектуры в отношении собственно ядерных функций.

Инвертированные ядра клеток-палочек мыши представляют собой идеальную модель для изучения роли, которую пространственная организация хроматина играет в выполнении ядерных функций, и того, как ядерная архитектура устанавливается в дифференцирующихся клетках. Инвертированная архитектура формируется посредством перестройки конвенциональной, которая свойственна клеткам-палочкам мыши в первые дни после рождения. Эта перестройка составляет

собой важный (и наиболее длительный) компонент терминальной дифференцировки клеток-палочек. Удивительным образом крайне высокой общий уровень транскрипции наблюдается не только в дифференцированных клетках-палочках, но и во время дифференцировки. В ходе дифференцировки (1) LINE-богатый гетерохроматин обособляется от ядерной оболочки и (2) хромоцентры, состоящие в контакте с ядерной оболочкой в конвенциональных ядрах, сливаются в один центральный хромоцентр, окруженный оболочкой LINE-богатого гетерохроматина и, далее, тонким слоем эухроматина (маркированного SINE-повторами). Таким образом различие между инвертированной и конвенциональной ядерной архитектурой представляет собой в первую очередь различие в макрофолдинге хроматина (large scale chromatin folding), а также в том, где „заякорены“ в ядре основные классы хроматина (сателлитная ДНК, LINE-богатая и SINE-богатая). Ясная пространственная сегрегация основных классов хроматина составляет важное достоинство сетчатки мыши как модельного объекта для изучения факторов, влияющих на положение хроматина в ядре. Хотя очень немного удалось пока узнать о механизмах формирования и функционирования инвертированных ядер, предварительные данные, которые будут представлены в докладе, показывают что исследования в этом направлении обещают заметно расширить наше понимание ядерной архитектуры.

ПОЛОЖЕНИЕ ХРОМОСОМ В ЯДРЕ: ГДЕ И ПОЧЕМУ

© Иоффе Б.И., Соловей И.В., Antropology and Human Genetics, Dept of Biology II, Ludwig-Maximilian University of Munich, Germany, boris.joffe@lrz-uni-muenchen.de

Пространственную организацию ядра приходится рассматривать как минимум на двух взаимосвязанных уровнях. Первый из них — это позиции хромосом (хромосомных территорий) в ядре; второй — это взаиморасположение хроматиновых районов с определенными свойствами внутри хромосомных территорий и в системе всего ядра. К настоящему времени уже твердо установлено, что хромосомы занимают в интерфазных ядрах и ядрах терминально дифференцированных клеток неслучайное

положение и что пространственная организация хроматина в ядре имеет важное значение для функциональной регуляции. Однако остаются почти неизвестными механизмы, реализующие пространственную регуляцию ядерных функций; не изучены различия в пространственной организации хроматина между разными типами клеток; не ясно, как устанавливается пространственная организация хроматина в ядре после митоза.

Наиболее существенное условие, которому удовлетворяет пространственная организация ядра, это разделение эу- и гетерохроматинового доменов. В ядрах практически всех эукариот основная часть гетерохроматина сосредоточена вдоль ядерной оболочки и вокруг ядрышка; эухроматин располагается между гетерохроматиновыми субдоменами. В ядрах клеток-палочек ретины млекопитающих — единственный до настоящего времени изученный пример существенной реорганизации ядра в G₀ — пространственное разобщение эу- и гетерохроматина поддерживается во все время дифференцировки несмотря на кардинальное ремоделирование ядерной архитектуры. Функциональное значение пространственного разобщения эу- и гетерохроматина, по-видимому, состоит в том, что в ядре создается область, где аккумулируются и активные гены и надмолекулярные структуры, связанные с транскрипцией и сплайсингом. Накапливается все больше данных о том, что перемещение генов с периферии ядра в его внутреннюю область в связи с инициацией транскрипции нужно не для транскрипции как таковой, а для обеспечения ее высокого уровня, по-видимому, за счет формирования устойчивых комплексов транскрибируемого хроматина с транскрипционными и/или сплайсинговыми комплексами.

В связи со сказанным выше не вызывает удивления второе правило, которому подчиняется ядерная архитектура: чем богаче генами хромосома, тем более центральную позицию занимает (статистически) соответствующая хромосомная территория в объеме ядра. Ген-бедные хромосомы, напротив, чаще прилегают к ядерной оболочке. Это правило было продемонстрировано преимущественно на клетках человека и мыши, но скорей всего справедливо для

много более широкого круга организмов. Интересно, что у человека существует корреляция между размером хромосом и содержанием генов в них: маленькие хромосомы в среднем богаче генами. Есть данные, что маленькие хромосомы чаще ассоциируются с ядрышком, чем большие (частота ассоциации с ядрышком или ядерной оболочкой предположительно объясняется при этом размером прицентромерных блоков сателлитной ДНК, а не размером самих хромосом). Этот механизм может в значительной степени отвечать за более центральное положение ген-богатых хромосом (независимо от размера), однако существенную роль могут играть и другие факторы.

Связь между содержанием генов и положением в объеме ядра лучше всего видна в сферических ядрах (например, ядрах лимфоцитов). В плоских ядрах культуральных клеток растущих на субстрате (как фибробласты) она вообще не имеет места. Там действует третье правило: маленькие хромосомы (и ген-богатые, и ген-бедные) преимущественно располагаются в центре дисковидного ядра, большие лежат по периферии диска. Такое расположение очевидным образом возможно потому, что в плоском ядре хромосомные территории достигают и ядерной оболочки, и внутренней части ядра (в смысле удаленности от оболочки) независимо от положения в „ядерном диске“. Размерно-зависимая организация ядра устанавливается в метафазе и переносится на интерфазу, когда анафазные розетки разворачиваются без деформации. Такая организация ядра представляет собой, по-видимому, поучительный, но чисто культуральный феномен.

В докладе мы проиллюстрируем описанные выше закономерности ядерной организации и обсудим некоторые оригинальные данные о пространственной организации ядра и механизмах ее установления.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ АКТИВАТОРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ДОМЕНА АЛЬФА-ГЛОБИНОВЫХ ГЕНОВ КУР

© Филоненко Е.С., Клочков Д.Б.,
Борунова В.В., Гаврилов А.А., Яровая О.В. и
Разин С.В., Институт биологии гена РАН,
Москва, sergey.v.razin@usa.net

Домены глобиновых генов позвоночных животных являются удобными моделями для изучения механизмов регуляции активности генов у высших эукариот. На протяжении 25 лет активного изучения этих доменов представления об их организации и регуляции экспрессии глобиновых генов неоднократно изменялись. Пожалуй, неизменным оставалось лишь представление о том, что домены глобиновых генов позвоночных содержат только гены, кодирующие глобиновые цепи. В настоящей работе мы продемонстрировали, что эритроид-специфичный домен альфа-глобиновых генов кур содержит ген ТМЕМ8, который кодирует трансмембранный белок. Этот ген предпочтительно экспрессируется в эритроидных клетках кур, и уровень его экспрессии существенно возрастает при терминальной дифференцировке эритробластов.

Ген ТМЕМ8 был перемещен в 3'-фланкирующую область домена альфа-глобиновых кур в результате инверсии относительно короткого хромосомного сегмента. В ходе эволюции этот ген приобрел эритроид-специфичные регуляторные элементы, которые обеспечили его включение в функциональный домен альфа-глобиновых генов.

Ранее мы продемонстрировали, что активация экспрессии глобиновых генов «взрослого типа» в эритробластах кур коррелирует со сборкой сложного активаторного комплекса, который включает промотор α^D гена и ряд регуляторных элементов (MRE, -9DHS, CpG островок, включающий промотор гена домашнего хозяйства, и энхансер домена альфа-глобиновых генов (Gavrilov and Razin, 2008)). Было бы логично предположить, что промотор гена ТМЕМ8 привлекается к данному активаторному комплексу. С целью проверки этого предположения мы охарактеризовали частоту взаимодействия гена ТМЕМ8 с различными регуляторными элементами домена альфа-глобиновых

генов. С использованием метода фиксации конформации хромосомы (3C) было продемонстрировано, что в терминально дифференцированных эритробластах кур ген ТМЕМ8 взаимодействует с -9DHS и энхансером домена альфа-глобиновых генов, но не взаимодействует с самими глобиновыми генами и главным регуляторным элементом домена альфа-глобиновых генов (MRE). Полученные результаты позволяют утверждать, что в терминально дифференцированных эритробластах собираются два альтернативных активаторных комплекса, необходимые для стимуляции экспрессии глобиновых генов и гена ТМЕМ8. Данные комплексы имеют динамическую природу, так как два регуляторных элемента (-9DHS и энхансер домена альфа-глобиновых) генов присутствуют в составе обоих комплексов и, следовательно, должны попеременно связываться с остальными компонентами этих комплексов.

NUCLEAR MATRIX: STRUCTURE, FUNCTION AND DYNAMICS

© Kiseleva E., Institute of Cytology and Genetics
SB RAN, Novosibirsk, Russia,
elka@bionet.nsc.ru

Up to now the nuclear matrix has remained a controversial structure because of non-physiological procedures used for its isolation (Lauren et al., 2008). Intranuclear space can be conventionally dividing to three tightly connecting regions: the nuclear envelope territory, 'chromosome territories' and interchromosomal space. It is believed that nuclear matrix is composed of proteinaceous RNA-rich network of thick and thin polymorphic fibers and is actively involved in non-random organization of these regions. Additionally the chromosome scaffold which represents a continuous protein substructure revealed in isolated metaphase chromosomes after harsh extraction plays an important role in the formation and maintenance of their structural integrity. Over 200 internal nuclear matrix proteins were determined in the nucleus, including A- and B-type lamins, emerin, topoisomerases, actin, myosin and others (Mika and Rost, 2005, Pederson, 2008, Albrethsen et al., 2009). These proteins contribute significantly to different nuclear function including chromatin remodeling and compartmentalization, DNA-replication, transcription, repair, pre-mRNA processing and

transport (Zeitz et al., 2009, Kantidze and Razin, 2009). The composition of the nuclear matrix is modified in some human diseases and matrix-associated proteins can be used now as diagnostic biomarkers in cancer (Leman and Getzenberg, 2008).

The real structure of a nuclear matrix is far from clear because the imaging the nuclear interior is technically challenging, given that there are rapidly mobile components, stable structural elements and chromosomes, which obscure all other structures and thwart direct visualization. We modified method of nuclei isolation from growing *Xenopus* oocytes and imaged the interiors of relatively intact nuclei using immunolabelling coupled with by Field Emission in lenz electron microscopy (Kiseleva et al., 2007, 2008). This allowed to visualize a network of two types of intranuclear filaments in the nucleus (Kiseleva et al., 2004). Filaments of first type, about 40nm in diameter, attach to nuclear pore complexes and extend throughout the nucleus. These pore-linked filament connect directly to Cajal bodies and appear to nucleoli and snurposomes both of which are abundant in *Xenopus* oocyte nuclei. Most these filaments were independent of chromatin, merged, bundled and forked, suggesting their architectural adaptability. The filamentous network was stained with falloidin and collapsed upon treatment with latrunculin A, which depolymerizes F-actin. Immuno-gold labeling revealed anti-actin and anti-myosin Abs localization on intranuclear filaments. The presence of mRNA on these filaments has been additionally demonstrated with anti-RNA-binding protein Abs. Filaments of second type, about 12nm in diameter, were uniform in structural organization, do not labeled with mentioned above Abs and localized presumably near the nuclear envelope. They can pass through the NPC between the baskets filaments and connect several neighbor pores. They were also observed over the border of nuclear envelope nascent fragments. Obtained data demonstrated that actin contributes to the structure of a network of heterogeneous filaments that link NPCs to subnuclear organelles. We suggested that described filaments are both the elements of a nuclear matrix and play important roles in nuclear envelope assembly, intranuclear molecular traffic and nuclear architecture.

ALTERNATIVE LANDSCAPE IN DROSOPHILA

© Babenko V.N.¹, Aitnazarov R.¹,

Goncharov F.P.², Belyaeva E.S.², Zhimulev I.F.²,

¹Institute of Cytology and Genetics SB RAS,

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS

With an advent of 12 *Drosophila* lineages sequencing and analysis it became obvious that alternative splicing is quite common in *Drosophila* (Stark et al., 2007). We approached the subject from the chromatin viewpoint.

We considered the polytene chromosomes under-replicated (UR) regions based on the previously described prediction method based on the gene density and tissue-specific gene distributions (Belyakin et al., 2009).

We analysed the extent of alternative splicing in the UR and UR flanks regions. We discovered that, while alternative splicing intensity, (e.g. average number of isoforms per gene) holds approximately the same in UR and UR flanks regions, there is a drastic difference in isoforms number per gene distribution. While in UR regions of chromatin the alternative splicing intensity has a bimodal distribution accounting for the abundance of genes with very few and quite many isoforms per gene, the flanks regions genes maintain unimodal distribution of alternative splicing intensity close to the genome average.

In particular, the Dscam (Down syndrome cell adhesion molecule) membrane associated receptor gene reported elsewhere (Olson et al., 2007) featured with tens of thousands isoforms resides in the low gene density valley predicted by our tool as intercalary domain. Though we didn't identify the region as late replicated by the replication timing assessment (Schwaiger et al., 2009), we noted its strong binding potential with B-type lamin (Shevelyov et al., 2009), characteristic for the condensed chromatin state. That makes us believe the expression of this region is tissue-specific: while expressing in embryonic axons, fat body cells and hemocytes (soluble isoforms found in hemolymph as well, Watson et al., 2005), the rest tissues maintain it condensed.

We believe this report underlines the various evolutionary modes of alternative splicing, as well as overall gene evolution in *Drosophila*. In the gene desert regions we observe quite relaxed mode of evolution (Stamatoyannopoulos et al., 2009), while in gene dense regions we see adaptively evolving

genes. We foresee the same holds true for all higher eukaryotes.

1. Belyakin et al., 2009, submitted.
2. Olson S., Blanchette M., Park J., Savva Y., Yeo GW, Yeakley JM, Rio DC, Graveley BR. A regulator of Dscam mutually exclusive splicing fidelity (2007) Nat. Struct. Mol. Biol. 14(27), 1134-1140.
3. Schwaiger M, Stadler MB, Bell O, Kohler H, Oakeley EJ, Schübeler D. Chromatin state marks cell-type- and gender-specific replication of the Drosophila genome. Genes Dev. 2009 Mar 1;23(5):589-601.
4. Shevelyov YY, Lavrov SA, Mikhaylova LM, Nurminsky ID, Kulathinal RJ, Egorova KS, Rozovsky YM, Nurminsky DI. The B-type lamin is required for somatic repression of testis-specific gene clusters. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009, 106(9):3282-3287
5. Stamatoyannopoulos JA, Adzhubei I, Thurman RE, Kryukov GE, Mirkin SM, Sunyaev SR, Human mutation rate associated with DNA replication timing. Nature Genetics, 2009, 41 (4), 383-395.
6. Stark A, et al., Discovery of functional elements in 12 Drosophila genomes using evolutionary signatures. Nature 2007, 450(7167): 219-232.
7. Watson FL, Puttmann-Holgado R, Thomas F, Lamar DL, Hughes M, et al. Extensive diversity of Ig-superfamily proteins in the immune system of insects. Science. 2005; 309:1874-1878.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ИНТЕРФАЗНЫХ ХРОМОСОМ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

© Юров И.Ю.^{1,2}, Ворсанова С.Г.^{1,2}, Лиер Т.³, Юров Ю.Б.^{1,2}, ¹ГУ НЦ психического здоровья РАМН, Москва, ²МНИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологий, Москва, ³Институт генетики человека и антропологии, Йена, Германия, ivan_iourov@yahoo.com

Одним из основных генетических феноменов, определяющих функциональную активность генома в соматических клетках, является пространственная организация хромосом в интерфазном ядре. Этот феномен практически не исследовался до эры разработки высокоразрешающих молекулярно-цитогенетических методов, позволяющих анализировать интерфазные хромосомы в соматических клетках

эукариот. До настоящего времени интерфазные хромосомы постмитотических и высокодифференцированных нервных клеток головного мозга человека не исследовались в контексте особенностей ядерной организации в норме и при патологии центральной нервной системы (Iourov et al., 2006; 2008; 2009; Yurov et al., 2005; 2007; 2008). Цель настоящей работы заключалась в разработке высокоразрешающих методов исследования интерфазных хромосом и их использовании для изучения ядерной организации в различных типах клеток головного мозга.

Анализ проводился на клетках постмортальных образцов головного мозга нормальных индивидуумов (без психических и неврологических заболеваний), так и при патологии мозга (шизофрения и болезнь Альцгеймера). Для изучения взаимного расположения гомологичных участков интерфазных хромосом был предложен метод количественной флюоресцентной гибридизации in situ (QFISH; Iourov et al., 2005). Разработка метода, позволяющего одновременное применение иммуноферментного анализа и многоцветовой FISH (ImmunoMFISH; Iourov et al., 2009), обеспечила проведение сравнительного анализа организации хромосом в различных типах клеток головного мозга (нейронах и глиальных клетках). Для изучения ядерной организации в клетках головного мозга был также усовершенствован метод многоцветового дифференциального окрашивания интерфазных хромосом (Interphase Chromosome Specific — MultiColor Banding, ICS-MCB; Iourov et al., 2006; 2007; Yurov et al., 2007; 2008), позволяющего определить структуру и расположение индивидуальных хромосом с точностью до определенного участка.

Использование вышеперечисленных методов показало, что гомологичные интерфазные хромосомы клеток головного мозга человека имеют тенденцию к ассоциации эухроматиновых и гетерохроматиновых участков (феномен соматического спаривания гомологичных хромосом). Этот феномен наблюдался преимущественно в нейронах (примерно 70% из всех обнаруженных клеток с ассоциированными хромосомами). В клетках коры головного мозга нормальных индивидуумов ассоциации эухроматиновых

участков наблюдались в 30-60% нервных клеток (в зависимости от хромосомы). Примечательно, что генонасыщенные эухроматиновые участки гомологичных хромосом спаривались в 2-3 раза чаще по сравнению с геноненасыщенными. Это также подтвердилось при использовании *in silico* анализа генного состава участков соматического спаривания эухроматина в хромосомах нейронов. Парадоксально, соматическое спаривание также наблюдалось в генетически инертных гетерохроматиновых участках, которые состоят из tandemно повторяющихся сателлитных ДНК и не содержат последовательности уникальных генов. Наиболее часто соматическое спаривание наблюдалось между гетерохроматиновыми районами хромосом 1, 9 и 16 (участки 1qh, 9qh, 16qh), содержащими высокоповторяющиеся последовательности классической сателлитной ДНК. Частота гомологичного спаривания участков, содержащих классическую сателлитную ДНК, составляла от 40 до 60%, а частота спаривания негомологичных хромосом (1-9, 1-16, 9-16) — от 10 до 30% в нейронах неокортекса. Ассоциации гетерохроматина этих хромосом наблюдались с повышенной до 80-90% частотой в нейронах мозжечка (клетки Пуркинье). Интересно то, что «спаренные» участки классической сателлитной ДНК часто ассоциировали с ядрышками нейронов, образуя «конгломераты» инертной ДНК и рибосомальной РНК. Гетерохроматиновые районы подавляющего большинства интерфазных хромосом нервных клеток, содержащие альфоидную сателлитную ДНК, спаривались значительно реже (от 15 до 30% клеток). Исключение составляла хромосома 17, для которой соматическое спаривание гомологов центромерными районами, содержащими альфа-сателлиты, наблюдалось в 40-50% нейронов. Спаривание альфа-сателлитов с ядрышками интерфазного ядра нейронов практически не наблюдалось.

Изучение мозга больных шизофренией показало, что частота ассоциаций эухроматиновых участков разных хромосом увеличена на 10-30% по сравнению с нормой. Частота ассоциаций гетерохроматиновых районов не отличалась от контрольных образцов. Напротив, анализ организации хромосом в клетках мозга у индивидуумов с

болезнью Альцгеймера показал, что соматическое спаривание гомологичных хромосом в данных образцах характеризуется пониженной частотой для эухроматиновых и гетерохроматиновых участков.

Настоящая работа демонстрирует, что интерфазные хромосомы дифференцированных нервных клеток головного мозга человека имеют специфические особенности ядерной организации. Молекулярная нейрцитогенетика позволяет идентифицировать эти специфические черты архитектоники интерфазного ядра в норме и при патологии мозга, представляя собой новое и перспективное направление генетики человека, клеточной генетики и нейрогенетики. Работа поддерживалась грантами INTAS 03-51-4060; DFG LI 820/18-1 и 436 RUS 17/88/06; DLR/BMBF (RUS 09/006); Philip Morris USA, Inc и РФНФ (090600603а).

ГЕНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМОСОМНЫХ УЧАСТКОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В НЕСБАЛАНСИРОВАННЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ, ПРИ АУТИЗМЕ: МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И IN SILICO АНАЛИЗЫ

© Юров И.Ю.^{1,2}, Ворсанова С.Г.^{1,2}, Саприна Е.А.¹, Юров Ю.Б.^{1,2}, ¹ГУ НЦ психического здоровья РАМН, Москва, ²МНИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологии, Москва, ivan_iourov@yahoo.com

Аутизм относится к одним из наиболее распространенных детских психических расстройств, возникающих в раннем возрасте с тяжелыми социальными последствиями. Согласно каталогу генетических нарушений при аутизме (www.geneticautism.org) не менее 40% случаев этого заболевания связаны с различными вариациями генома, среди которых самыми частыми являются хромосомные аномалии. Предполагается, что молекулярно-цитогенетические исследования имеют исключительное значение для картирования хромосомных локусов, в которых расположены гены-кандидаты аутизма. Цель настоящего исследования заключалась в молекулярно-цитогенетическом анализе лимфоцитов периферической крови у детей с аутизмом методом высокопроизводительной

сравнительной геномной гибридизации (HR-CGH) с последующим *in silico* анализом хромосомных участков, вовлеченных в обнаруженные несбалансированные перестройки. *In silico* анализ заключался в изучении геномной организации и экспрессии генов, расположенных в делетированных/дуплицированных участках, с помощью геномной (NCBI build) и эпигенетической (BioGPS) баз данных. Методом HR-CGH у 5 из 126 (4%) детей с аутизмом были выявлены несбалансированные хромосомные перестройки, среди которых были: *ishcgh dup(4)(q21.2q21.3)*; *ishcgh del(5)(p15.33pter)*; *ishcgh del(17)(q25q25)*; *ishcgh del(21)(q11.2q11.2)*; *ishcgh dup(22)(q11.2q11.2)*. Размер перестроек при следующих аномалиях составил: *dup(4)* — 9Mb; *del(5)* — 4,5Mb; *del(17)* — 10Mb; *del(21)* — 7Mb; *dup(22)* — 5Mb. Использование метода *in silico* позволило определить несколько генов-кандидатов у детей с аутизмом. В частности, при *dup(4)(q21.2q21.3)* в качестве гена-кандидата был выделен SCARB2, кодирующий лизосомный белок, экспрессирующийся преимущественно в головном мозге и связанный с эпилептиформными проявлениями при некоторых аутосомно-рецессивных заболеваниях. При делеции хромосомы 5 выделены следующие гены-кандидаты: TPPP (tubulin polymerization promoting protein) — белок, обеспечивающий полимеризацию белка тубулина, входящий в состав микротрубочек (участвует в регуляции деления клетки); PDCD6 (programmed cell death 6) — ген, участвующий в регуляции запрограммированной гибели клеток, который может быть причиной нейродегенерации. Анализ дупликации *dup(22)(q11.2q11.2)* позволил идентифицировать следующие гены-кандидаты: SEPT5 (кодирует белок, участвующий в секреторных процессах головного мозга), GRIIB (кодирует белок-рецептор, преимущественно экспрессирующийся в различных отделах мозга), PI4KA (кодирует фермент, катализирующий синтез фосфатидилинозитола-4,5-бисфосфата — компонента клеточных мембран). Исследование делеции *del(17)(q25q25)* выявило ген-кандидат NPTX1 (neuronal pentraxin I), кодирующий белок, необходимый для развития нейронов

головного мозга. При *del(21)(q11.2q21.2)* генами-кандидатами были STCH (stress 70 protein chaperone, microsome-associated, 60kDa), NRIP1 (nuclear receptor interacting protein 1) и CXADR (coxsackie virus and adenovirus receptor), имеющие повышенный уровень экспрессии в головном мозге в ходе пре- и постнатального развития. Поскольку ряд работ продемонстрировал специфику геномной организации, а именно наличие повторяющихся элементов или генных кластеров во фланкирующих областях, связанных с возникновением хромосомных перестроек (Vorsanova et al., 2008; Lupski, 2009), мы также провели соответствующий *in silico* анализ делеций и дупликаций, выявленных в настоящей работе. Было обнаружено, что дупликацию хромосомы 4 с проксимального конца фланкирует кластер генов хемокиновых лигандов (CXCL; 4 гена), а с дистального — кластер генов гидроксистероид-дегидрогеназы (HSD17B; 2 гена); делецию хромосомы 17 с проксимального конца фланкируют 3 генных кластера: гены рецепторов G-белка (GPR; 2 гена), гены семейства CD300 (5 генов), гены отопетрина (OTOP; 2 гена), а с дистального — кластер генов фруктозаминкиназы (FN3K; 2 гена); дупликацию хромосомы 22 с проксимального конца фланкирует альфа-сателлитный блок, а с дистального — кластер генов иммуноглобулинов лямбда (IGLV; 20 генов). Суммируя данные, полученные в настоящей работе, были выделены гены-кандидаты аутизма. Более того, было показано, что генные кластеры с определенной долей вероятности могут быть связаны с возникновением выявленных хромосомных перестроек. Таким образом, можно сделать вывод о том, что предлагаемое комбинированное применение молекулярно-цитогенетических и биоинформатических подходов может быть с успехом использовано для поиска генов-кандидатов различных заболеваний, включая аутизм, а также особенностей геномной организации сайтов хромосомных перестроек, ассоциированных с патологией. Работа поддерживалась грантом РФНФ (090600603а).

РОЛЬ УЧАСТКОВ ПРИКРЕПЛЕНИЯ ХРОМОСОМ К ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКЕ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ

© Глазков М.В., Шабарина А.Н., Дрозд С.Ф.,
Государственное учреждение Российской
академии наук Институт биологии развития
им. Н.К.Кольцова РАН, Москва,
mvglazkov@yandex.ru

На стадии интерфазы хромосомы различными своими участками прикреплены к ядерной оболочке, что обуславливает высокоупорядоченную организацию хромосом в объеме ядра. Это в свою очередь играет важную роль в функционировании генома (Mistelli, 2005; Cremer et al., 2006).

Мы имеем коллекцию фрагментов хромосомной ДНК, выделенных из ядерных оболочек гепатоцитов мыши (яоДНК) (Глазков и др., 1999). яоДНК являются обособленным классом «структурных» участков хромосомной ДНК, отличных от MARs/SARs, фрагментов ДНК, выделенных из сердцевин розеткоподобных структур и ДНК синаптонемного комплекса (Glazko et al., 2001). Из этой коллекции мы отобрали один фрагмент, EnvM₄, особенностью которого является необычайно высокая степень гомологии (до 100%) входящего в его состав полипуринового трека с геномами различных объектов (от микроорганизмов до человека, включая растения). Чаще всего эта эволюционно консервативная последовательность располагается в геномах различных организмов в межгенных участках, реже — в интронах генов (Шабарина и др., 2006).

Для изучения функциональной роли яоДНК мы использовали метод трансгеноза. Были созданы генетические конструкции для трансформации яйцеклеток мыши (5'-EnvM₄ — энхансер гена *Notch2* — промотор гена β -глобина — ген *LacZ* — EnvM₄ -3') и эмбрионов *Drosophila melanogaster* (5'P — EnvM₄ — E — P — yellow — white — EnvM₄ — 3'P, где E — энхансер гена yellow; P — промотор гена yellow; 5'P- и 3'P — концы P-элемента).

Первый вопрос, который мы исследовали: могут ли фрагменты яоДНК определять домен независимой экспрессии гена (трансгена)? Для проверки этого предположения была проведена серия экспериментов по P-опосредованной

трансформации эмбрионов *D. melanogaster* линии *utw1* трансгенной конструкцией, в которой упомянутые гены фланкированы последовательностями EnvM₄. В результате нами были получены 10 линий, содержащих трансген, в каждой из которых наблюдается высокий уровень экспрессии репортерных генов. Обнаружение у трансформантов стабильно высокой экспрессии трансгенов свидетельствует о преодолении эффекта положения, что может быть вызвано наличием специальных последовательностей ДНК (EnvM₄), фланкирующих репортерные гены.

Второй вопрос: обладают ли фрагменты яоДНК какой-либо регуляторной функцией? Для того чтобы проверить, влияют ли сами последовательности EnvM₄ на уровень экспрессии репортерных генов, мы провели вырезание *in vivo* энхансера гена *white* посредством сайт-специфической рекомбинации. В результате обнаружено, что экспрессия гена *white* во всех линиях упала до базового уровня. Уровень экспрессии гена *yellow* не претерпел изменений. Это свидетельствует о том, что изучаемые последовательности не влияют непосредственно на экспрессию, но способствуют поддержанию определенного уровня экспрессии трансгена независимо от места его интеграции.

Третий вопрос: могут ли фрагменты яоДНК снижать «мутагенный» эффект введения в ядро чужеродной ДНК (трансгена)? Для этого изучали выживаемость трансгенных эмбрионов мыши на стадии двух- и четырехклеточных эмбрионов, зародышей достигших стадии бластоцисты и эмбрионов на 9,5-11,5 сутки развития *in utero*. Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение в конструкцию трансгена (на флангах) яоДНК приводит к 3-х кратному повышению их жизнеспособности и увеличивает эффективность трансгеноза. Мы предполагаем, что это может быть связано с компарментализацией трансгена как в хромосомах, так и в целом в интерфазном ядре, не мешающей правильной реализации генетической программы развития. Следует отметить, что до 9,5 — 11,5 сут в развитии зародышей мыши есть несколько критических периодов, где происходит репрограммирование генома.

Мы предполагаем, что фрагменты EnvM₄, прикрепляясь к ядерной оболочке, образуют

независимый транскрипционный домен трансгенов, на который не влияет или слабо влияет хроматиновое окружение в месте встраивания в хромосому, с другой стороны, образующийся хроматиновый домен не влияет или мало влияет на функциональный статус генов, расположенных около места встраивания трансгена.

Работа поддержана грантом Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие», подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие».

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ИНДУКЦИИ ПЛЮРИПОТЕНТНОГО СОСТОЯНИЯ В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

© Лагарькова М.А., Шутова М.В., Богомазова А.Н., Васина Е.М., Честков И.В., Киселев С.Л., Институт общей генетики им Н.И. Вавилова РАН, Москва, kiselev@vigg.ru

В процессе развития организма реализуется онтогенетическая программа, в результате выполнения которой клетки индивидуального организма постепенно утрачивают потенциал дифференцировки. Однако, в целом ряде исследований было показано, что цитоплазматических и ядерных факторов, содержащихся в плюрипотентной клетке, достаточно для репрограммирования генома соматической клетки до плюрипотентного состояния (Kato et al., 1998; Matveeva et al., 1998). С помощью транскрипционных факторов, которые напрямую вовлечены в поддержание плюрипотентности, была разработана технология получения клеток с индуцированной плюрипотентностью (iPS) (Takahashi&Yamanaka, 2006). В случае использования клеток человека плюрипотентность удалось индуцировать в фибробластах, кератиноцитах и мобилизованных клетках крови. Для получения клеток с индуцированной плюрипотентностью нами были использованы эндотелиальные клетки пупочной вены человека. Полученные iPS клетки были схожи с эмбриональными стволовыми клетками человека по морфологическим, молекулярно-генетическим и функциональным параметрам. В женских iPS клетках наблюдался процесс активации X хромосомы, инактивированной в

дифференцированных эндотелиальных клетках. Полногеномный анализ метилирования ДНК промоторных участков 14 тысяч генов показал, что уровень и паттерн метилирования ДНК в iPS клетках и в эмбриональных стволовых клетках практически идентичны. Тем не менее, для отдельных генов были обнаружены различия в уровне метилирования между плюрипотентными клеточными линиями, которые не сказывались на функциональных особенностях плюрипотентных клеток человека.

УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ НИМИ

© Глазко Т.Т., Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва, vglazko@yahoo.com

Характеристики мутационных спектров до сих пор остаются недостаточно изученными, что приводит к отсутствию методов прогноза возникновения разных типов мутаций, а также их функциональной значимости. В наших исследованиях обнаружено, что у животных разных таксонов (клетки костного мозга — лабораторные линии мышей, полевка-экономка, рыжая полевка, обыкновенная полевка; клетки периферической крови — породы крупного рогатого скота) в метафазных пластинках выявляется подразделенность хромосом на гаплоидные наборы. Анализ динамики межхромосомных взаимодействий в процессе спонтанной неопластической эволюции клеточных популяций лабораторных линий мышей показал, что переход к пассивированию клеток в культуральных условиях сопровождается разрушением организации хромосом в гаплоидные наборы. Обнаружено, что главным событием в фенотипической эволюции клеток в системе *in vitro* является изменение копийности неперестроенных хромосом (анеуплоидия). Изменчивость по анеуплоидии клеток оказалась связанной с межхромосомными ассоциациями, меняющимися при адаптации клеток к условиям пассивирования, а также при соматической гибридизации клеток. У крупного рогатого скота выявлены статистически достоверные корреляции между частотой встречаемости анеуплоидных клеток и метафаз с удаленным расположением гомологов (на

примере пары половых хромосом) у разных пород и внутривидовых групп, в частности, инфицированных вирусом бычьего лейкоза. Выявленные связи между взаимным расположением гомологичных хромосом и стабильностью клеточных популяций по фенотипическим характеристикам (опухолеродность клеточных линий мышей), по доле анеуплоидных клеток (виды мышевидных грызунов, группы крупного рогатого скота) свидетельствуют о том, что взаимоотношения между гаплоидными наборами хромосом могут играть существенную роль в стабильности хромосомного аппарата. Полученные данные свидетельствуют о существовании надхромосомного уровня упорядоченности хромосом (элементов «надхромосомного генетического кода») и связи его разрушения с дестабилизацией кариотипа в условиях экологических изменений (вирусная инфекция, ионизирующее облучение). По-видимому, особую роль такой «надхромосомный генетический код» может играть в генетической изменчивости при переносе клеточной популяции из *in vivo* в *in vitro*, в результате которого клетки проходят период кризиса, характеризующийся увеличением доли полиплоидов, а также многополюсных митозов. Одним из механизмов формирования многополюсных митозов может быть нарушение синхронности конденсации хромосом и разрушения ядерной оболочки, синдром «опережающей конденсации хромосом». Следует подчеркнуть, что такие же изменения являются типичными для преднеопластических стадий опухолевого роста. Выполненный нами анализ кариотипических характеристик пассажей эмбриональной стволовой клеточной линии мышей R₁, полипотентность которой зависит от присутствия в культуральной среде цитокина — лейкоцит ингибирующего фактора (LIF₁), свидетельствует о генетической гетерогенности исследованных клеточных популяций. Преимущества для пролиферации получают клеточные клоны с увеличенной копийностью хромосомы (Xr) 8, в которой локализован ген *jasz* — продукт которого является посредником между LIF₁ и активацией ключевых генов клеточной пролиферации, а также ингибирования цитодифференцировки. В этой же Xr8

локализованы гены субъединиц анафаза-промотирующего комплекса, увеличение копийности которых может приводить к дальнейшему нарушению сегрегации Xr и способствовать нарастанию генетической изменчивости в клеточном потомстве (по известному популяционному механизму «путешествия автостопом»). Исследования популяций клеток стволовой герминативной клеточной линии, полученной из полового бугорка 12,5 дневного эмбриона мыши линии BALB/c, свидетельствуют о наличии отдельных кариотипических характеристик, общих для всех исследованных клеточных популяций. К ним относятся близость к пента-, гексаплоидному набору Xr, высокая частота Робертсоновских транслокаций и присутствие транслокации t(12;6), объединяющей ряд генов, экспрессия которых типична для полипотентных клеток и ассоциирована с подавлением процессов клеточной дифференцировки. Из этого следует, что рассмотренные клеточные линии могут существенно отличаться по механизмам генерации генетической изменчивости (нарушение сегрегации хромосом, полиплоидизация клеток) и достигать одного и того же фенотипа — блока цитодифференцировки, высокой скорости клеточных делений за счет преимущественного размножения клеточных клонов, несущих разные типы мутаций. Очевидно, что прогноз направления эволюции таких клеток возможен только при создании каталога вариантов преобладающих типов генетической изменчивости и их идентификационных признаков.

МАЛЫЕ ЯДРЫШКОВЫЕ РНК И ИХ ГЕНЫ У ПОЗВОНОЧНЫХ

© Макарова Ю.А. и Крамеров Д.А.,
Институт молекулярной биологии им. В.А.
Энгельгардта РАН, Москва,
makarova@eimb.ru

Малые ядрышковые РНК (мякРНК) — это одна из наиболее крупных групп некодирующих белок РНК. В комплексе с белками они осуществляют самые распространенные модификации рРНК, а именно псевдоуридилирование и 2'-О-метилирование рибозы (рРНК человека содержит примерно 100 модификаций каждого вида (Maden, 1990)). МякРНК благодаря комплементарному взаимодействию с рРНК определяет сайт

модификации, а связанные с ней белки осуществляют ее. В соответствии с видом осуществляемой модификации мякРНК делят на 2 класса: Н/АСА мякРНК, которые направляют псевдоуридилрование и С/Д мякРНК, направляющие 2'-О-метилование рибозы. С/Д мяк РНК содержат консервативные последовательности С (UGAUGA), D' (CUGA) и D (CUGA), с чем связано их название. В направлении 5'-конца от D и/или D' находятся т.н. антисенс-элементы – участки длиной 9-20 н., комплементарные соответствующим последовательностям рРНК и способные взаимодействовать с ними. Модификации подвергается остаток, входящий в такую РНК/РНК спираль и отделенный четырьмя нуклеотидами от последовательности D и/или D'. Модификации способны стабилизировать пространственную структуру рРНК и необходимы для нормального функционирования рибосомы (Kiss-Laczlo et al, 1996; Decatur and Fournier, 2002).

Почти все мякРНК позвоночных кодируются необычным способом: их гены локализованы в интронах других генов, т.н. “генов-хозяев”. Большинство генов-хозяев кодирует белки, однако известно несколько случаев, когда продуктом гена-хозяина оказывается РНК, не кодирующая белок. Одним из таких примеров являются описанные нами С/Д мякРНК SNORD87 и ее ген-хозяин U87HG (Gogolevskaya et al, 2002; Makarova and Kramerov, 2005). SNORD87 РНК человека кодируется однокопийным геном, который расположен в интроне U87HG. У плацентарных млекопитающих по сравнению с другими позвоночными число копий гена SNORD87 РНК уменьшено. Чтобы проверить, характерно ли такое явление и для других С/Д мякРНК, модифицирующих рРНК, мы исследовали их гены у разных классов позвоночных. Оказалось, что у плацентарных млекопитающих число копий генов большинства С/Д мякРНК действительно снижено. Таким образом, существует тенденция к уменьшению числа копий генов С/Д мякРНК у плацентарных млекопитающих (или к увеличению их числа у прочих позвоночных). Это может быть связано с тем, что яйцеклетки у плацентарных млекопитающих имеют меньшие размеры и, соответственно, содержат меньшее число рибосом.

Некоторые гены мякРНК представлены одной копией у всех исследованных позвоночных, другие — несколькими. Например, у плацентарных млекопитающих ~30% генов многокопийные. Поэтому возникает вопрос, с чем связано такое различие числа копий. Оказалось, что мишени мякРНК, которые кодируются многокопийными генами, локализованы в областях рибосомы, содержащих мало белков и сформированных главным образом самой рРНК. В частности, особенно обогащена такими мишенями внутренняя поверхность большой субъединицы, содержащая пептидилтрансферазный центр. Вероятно, в отсутствие стабилизирующего эффекта белков аналогичная роль модификаций в таких участках особенно важна (Makarova and Kramerov, 2009).

Паттерн метилирования рРНК у позвоночных достаточно консервативен (Maden, 1990). Однако существующие методы детекции 2'-О-метилованных нуклеотидов недостаточно чувствительны и точны. Мы обнаружили, что копии генов некоторых С/Д мякРНК имеют антисенс-элементы, различающиеся по длине. Благодаря этому в рРНК появляется дополнительный, расположенный рядом, сайт метилирования. Каждый из таких обнаруженных случаев специфичен только для одного класса позвоночных. Кроме того, нами найдены шесть новых С/Д мякРНК, присутствующие только у некоторых классов позвоночных (в частности, амфибий и рыб). Таким образом, наборы мякРНК и, вероятно, паттерн метилирования рРНК у разных классов позвоночных более разнообразны, чем предполагалось ранее.

ГРУППИРОВКА ГЕНОВ И НЕКОТОРЫХ СЕМЕЙСТВ ПОВТОРОВ В ХРОМОСОМАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© Томилини Н.В. и Усманова Н.М., Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, nvtom@mail.ru

Известно, что средняя плотность генов уменьшается с увеличением размера геномов, которое, в основном, обусловлено накоплением в процессе эволюции некодирующей ДНК (Koonin, 2009). Повидимому, первоначальное накопление некодирующей ДНК в геномах многоклеточных организмов было обусловлено нейтральными процессами и недостаточной интенсивностью

стабилизирующего отбора в небольших популяциях (Lynch and Conery, 2003). В хромосомах человека гены распределяются весьма неравномерно и плотность экзонов по всему геному положительно коррелирует с плотностью повторов семейства Alu (коэффициент корреляции ~0.7). Эти ретроэлементы концентрируются в GC-богатых районах и их плотность существенно выше среднегеномной в промоторах генов домашнего хозяйства (ДХ) (Ganapathi et al., 2005; Eller et al., 2007; Urrutia et al., 2008). Ретроэлементы семейства L1 (LINE-1) концентрируются в AT-богатых районах, однако их относительное содержание в генах ДХ и тканеспецифических (ТС) генах изучено недостаточно. Анализ пре-инсерционных сайтов для вставок L1 в клетках HeLa показал, что эти сайты (в окне 20 кб) являются GC-нейтральными (Gasiog et al., 2007). Ретроэлементы Alu для транспозиции используют эндонуклеазу-обратную транскриптазу, кодируемую элементами L1 (Feng et al., 1996), поэтому сайты для инсерций Alu также являются GC-нейтральными. Таким образом, группировка L1 в AT-богатых участках и Alu — в GC-богатых участках хромосом человека является следствием пост-инсерционных перестроек генома в процессе эволюции. В данной работе мы изучали концентрацию и ориентацию ретроэлементов в интронах больших групп генов ДХ и ЕС у трех видов млекопитающих: человека, мыши и крысы (всего ~12000 генов). Оказалось, что концентрация L1 и LTR элементов в интронах ДХ и ТС генов значительно меньше среднегеномной у всех трех видов. Эти элементы преимущественно находятся в ориентации, обратной по отношению к транскрипции генов (antisense), что свидетельствует об их негативном влиянии на нормальную транскрипцию. L1 и LTR элементы сами содержат точки инициации транскрипции (Speek, 2001; Buzdin et al., 2006), которая может интерферировать с нормальной транскрипцией гена (Mourier and Willerslev, 2008). Кроме того, эти ретроэлементы гиперметилированы (Rollins et al., 2006) и могут подавлять инициацию транскрипции генов за счет «расползания» метилирования на соседние промоторы. Содержание Alu (или V1+V2 повторов грызунов) в интронах ДХ генов значительно выше, чем в среднем по геному, однако в

интронах ТС генов их содержание примерно такое же, как в геноме. В прямой ориентации Alu в ТС генах представлены примерно с такой же частотой, как и в обратной, однако в интронах ДХ генов прямая ориентация Alu встречается немного реже, чем обратная. Таким образом, в отличие от L1 и LTR элементов, Alu/V1 элементы слабо влияют на нормальную транскрипцию. Повышенное содержание Alu/V1 в интронах и промоторах генов ДХ свидетельствует о том, что они каким-то образом стимулируют экспрессию этих генов. Мы предполагаем, что в процессе эволюции трех видов млекопитающих L1 и LTR элементы избирательно элиминировались из интронов генов, тогда как Alu/V1 элементы сохранялись или накапливались в интронах. Трудно представить, что эти процессы происходили путем нейтральной эволюции, а не за счет естественного отбора полезных хромосомных перестроек. Почему некоторые SINEs сохраняются или накапливаются в промоторах и интронах генов и каким образом они могут стимулировать генную экспрессию? Одна из гипотез (Tomilin, 2008) состоит в том, что многие SINEs содержат сайты связывания TFIIIC (В-боксы), транскрипционного комплекса для РНК полимеразы III, который препятствует «расползанию» репрессивных модификаций хроматина (Noma et al., 2006; Lunyak et al., 2007). По нашим данным, Alu-ассоциированные В-боксы лучше сохраняются в промоторах генов человека, чем в интронах, а связывание TFIIIC с этими В-боксами коррелирует с генной экспрессией.

Buzdin, A. et al. (2006) At least 50% of human-specific HERV-K (HML-2) long terminal repeats serve in vivo as active promoters for host nonrepetitive DNA transcription. *J. Virol.* 80, 10752-10762.

Eller, C.D. et al. (2007) Repetitive sequence environment distinguishes housekeeping genes. *Gene* 390, 153-165.

Feng, Q. et al. (1996) Human L1 retrotransposon encodes a conserved endonuclease required for retrotransposition. *Cell* 87, 905-916.

Ganapathi, M. et al. (2005) Comparative analysis of chromatin landscape in regulatory regions of human housekeeping and tissue specific genes. *BMC Bioinformatics* 26, 126.

Gasior, S.L. et al. (2007) Characterization of pre-insertion loci of de novo L1 insertions. *Gene* 390, 190-198.

Koonin, E.V. (2009) Darwinian evolution in the light of genomics. *Nucleic Acids Res.* 37, 1011-1134.

Lunyak, V.V. et al. (2007) Developmentally regulated activation of a SINE B2 repeat as a domain boundary in organogenesis. *Science* 317, 248-251.

Lynch, M. and Conery, J.S. (2003) The origins of genome complexity. *Science* 312, 97-101.

Mourier, T. and Willerslev, E. (2008) Does selection against transcriptional interference shape retroelement-free regions in mammalian genomes? *PLoS ONE* 3, e3760.

Noma, K. et al. (2006) A role for TFIIIC transcription factor complex in genome organization. *Cell* 125, 859-872.

Rollins, R.A. et al. (2006) Large-scale structure of genomic methylation patterns. *Genome Res.* 16, 157-163.

Speek, M. (2001) Antisense promoter of human L1 retrotransposon drives transcription of adjacent cellular genes. *Mol. Cell. Biol.* 21, 1973-1985.

Tomilin, N.V. (2008) Regulation of mammalian gene expression by retroelements and non-coding tandem repeats. *Bioessays* 30, 338-348.

Urrutia, A.O. et al. (2008) Do Alu repeats drive the evolution of the primate transcriptome? *Genome Biol.* 9, R25.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ У ОДНОПОЛЫХ И ДВУПОЛЫХ ВИДОВ ЯЩЕРИЦ РОДА *DAREVSKIA*

© Рысков А.П., Мальшева Д.Н., Корчагин В.И., Вергун А.А., Бадаева Т.Н., Мартиросян И.И., Омельченко А.В., Токарская О.Н., Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН (ИБГ РАН), Москва, gyskov@mail.ru.

Одними из наиболее интересных представителей клонольно размножающихся рептилий являются партеногенетические кавказские скальные ящерицы рода *Darevskia*, входящие в *saxicola*-комплекс (Murphy et al., 1997), включающий 17 двуполых и 7 однополых видов ящериц рода *Darevskia* (сем. Lacertidae) (Arribas, 1999). Партеногенетические ящерицы были открыты в Армении в 1958 г. И.С. Даревским (1958). Популяции партеногенетических

видов представляют собой клоны — группы генетически идентичных особей, происходящих от одного предка. При таком способе размножения отсутствует комбинаторная изменчивость, поэтому все изменения носят случайный характер и, вероятно, отражают мутационные процессы, происходящие в геноме партеногенетических особей. Эти виды ящериц представляют собой уникальную модель для генетических исследований, так как их клоны, в отличие от животных с обычным типом полового размножения, генетически стабильны в ряду поколений.

В настоящее время доказано, что 7 диплоидных партеногенетических видов ящериц рода *Darevskia* ($2n = 38$) возникли в результате сетчатой эволюции, т.е. путем гибридизации между 4 предковыми бисексуальными видами, причем гибридизация в разных сочетаниях одних и тех же родительских форм приводила к возникновению различных партеногенетических гибридных видов (Даревский, 1993). Эти виды рода *Darevskia* обнаруживают незначительную степень внутриклональной морфологической изменчивости, низкую вариабельность митохондриальной ДНК и, по оценкам аллозимных спектров, высокий фиксированный уровень гетерозиготности (Moritz et al., 1992; Murphy et al., 1997). Одной из центральных проблем в изучении таких видов является определение их генетической и клонольной изменчивости. Возможными источниками изменчивости и клонольного разнообразия в популяциях однополых позвоночных могут быть как происхождение клонов от разных особей основателей, так и мутации, возникающие в процессе эволюции однополых видов (Parker, 1979; Moritz et al., 1989, 1992).

Ранее с помощью мультилокусного ДНК-фингерпринтинга была выявлена популяционная неоднородность партеногенетических видов *D.dahli*, *D.armeniaca*, *D.unisexuialis* и *D.rostombekowi* (Канн и др., 1988; Рысков и др., 2000; Токарская и др., 2001; Мальшева и др., 2006).

В данной работе проведен анализ экспериментальных данных по молекулярной структуре и изменчивости индивидуальных микросателлитных локусов ряда представителей однополых и двуполых рептилий рода *Darevskia*. Показано, что

аллельные варианты изученных локусов различаются по числу мономеров и структуре микросателлитных кластеров, а также точковыми мутациями в самом кластере и прилежащих областях ДНК. При межвидовом сравнении аллелей этих локусов в структуре микросателлитов выявленных, наряду с вариабельными участками, эволюционно консервативные нуклеотидные группировки, характерные для определенных аллелей. Данные по гаплотипическому маркированию аллелей изученных партеновидов соответствуют схемам их происхождения от двуполых родительских видов.

Поиск *de novo* мутаций по локусу Du281 у партеногенетических потомков *D. unisexualis* проводили с помощью ПЦР и последующего электрофореза амплификантов в полиакриламидном геле. Было изучено 49 семей, включая 168 потомков первого поколения (всего 217 образцов ДНК). Показано, что в геноме *D. unisexualis* локус Du281 является высоко мутабельным, с частотой мутаций $\approx 10^{-1}$ событий на зародышевую ткань. Молекулярный анализ 15 мутантных аллелей, обнаруженных у 12 потомков в 4-х семьях, показал, что в большинстве случаев мутации происходят на ранней стадии эмбриогенеза, связаны с делециями и инсерциями микросателлитного мономера, могут возникать в одном или обоих аллелях потомка. Эти данные свидетельствуют о том, что мутации могут вносить существенный вклад в геномное разнообразие партеногенетических популяций.

В целом, сравнительный анализ структуры аллельных вариантов свидетельствует о высоком генетическом сходстве исследованных однополых и двуполых видов рода *Darevskia* и позволяет на новом уровне изучать межвидовую изменчивость микросателлитных локусов и филогенетические связи у представителей рода *Darevskia*.

ЦИТОМИКСИС У ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА

© Сидорчук Ю.В., Мурсалимов С.Р.,
Дейнеко Е.В., Институт цитологии и
генетики СО РАН, Новосибирск,
deineko@bionet.nsc.ru

Межклеточные перемещения хроматина, а также клеточных органелл и цитоплазмы по цитомиктическим каналам, известные в

литературе как цитомиксис, привлекают внимание многих исследователей вот уже более ста лет. Это явление описано преимущественно для генеративных тканей (материнских клеток пыльцы — МКП) у многих видов растений. Однако на основании данных, полученных за последние несколько лет, становится очевидным, что цитомиксис достаточно широко представлен и в клетках вегетативных тканей.

Технология создания трансгенных растений, основанная на случайном характере встраивания фрагментов экзогенных ДНК в ядерный геном, сопряжена с появлением мутантных форм, обусловленных инсерциями ДНК в районы расположения собственных генов. На основе случайной выборки независимо полученных трансгенных растений табака создана коллекция трансформантов с различными нарушениями на разных стадиях мейоза. Выделены отдельные линии, проявляющие высокий уровень (до 50%) цитомиксиса. Следует подчеркнуть, что контрольные растения (не трансгенная линия SR1 и растения-регенеранты, индуцированные из листовых эксплантов линии SR1), характеризовались низким уровнем цитомиксиса (около 4.0%). Выделенные линии послужили в качестве моделей для изучения цитологической картины и особенностей цитомиксиса.

Выявлена цитологическая картина цитомиксиса в МКП у трансгенных растений табака, динамика его проявления в мейотическом делении, а также выявлены пути формирования цитомиктических каналов. С применением методов электронной микроскопии установлены особенности структуры хроматина в реципиентных клетках при цитомиксисе. По результатам гибридизации *in situ* с использованием молекулярного зонда, специфического для теломерных районов хромосом, сделаны выводы о характере передвижения хроматина между МКП у трансгенных растений табака. Впервые на ультраструктурном уровне выявлена цитологическая картина перемещения по цитомиктическим каналам ядрышка.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 08-04-01046а.

ХРОМОСОМНЫЙ КОНТРОЛЬ АПОМИКСИСА У ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ С ГАМАГРАССОМ

© Белова И.В.¹, Блэки С.А.², Панихин П.А.¹,

Тараканова Т.К.¹, Соколов В.А.¹, ¹Институт
Химической Биологии и Фундаментальной
Медицины, Новосибирск, 630090.

²Университет Болла, Индиана, США.
sokolov@bionet.nsc.ru

Апомиктические размножение — это уникальный способ клонового размножения у растений осуществляемый через семена. При нем не происходит редукционного деления, и все потомки несут диплоидный набор хромосом, являющийся абсолютной копией материнского. К настоящему моменту такой способ бесполое семенного размножения показан более чем у 400 видов растений, охватывающих 42 семейства и наиболее часто обнаруживается у Gramineae, Compositae, Rosaceae и Rutaceae. Широкое внимание к нему, приковано в связи с перспективами использования для закрепления уникальных признаков в ряду поколений культивируемых растений — прежде всего гетерозиса. Кроме того, он интересен эволюционистам, так как не согласуется с принципами синтетической теории. Виды с бесполое семенным способом репродукции не только не выявляют инбредного вырождения, но и удерживают самые экстремальные ареалы в конкуренции с сексуально размножающимися формами. Наши исследования связаны с изучением генетического контроля апомиксиса у гамаграсса (*Tripsacum dactyloides*) и его передачей путем гибридизации кукурузе. Работа, проведенная на гамаграссе, позволила установить, что гены, контролирующие апомиктическое развитие косегрегируют с RFLP маркерами, локализованными в 6 хромосомах. Для передачи бесполое семенного размножения кукурузе проводили опыление ее тетраплоидной формы ($2n=4x=40$) пылью тетраплоидного гамаграсса ($2n=4x=72$). Часть полученных в 1965 году гибридов F₁ ($2n=56$; $20Zm + 36Td$) экспрессировали бесполое семенное размножение и поддерживаются нами до настоящего времени. Отсюда можно было сделать вывод, что признак апомиксиса доминантен и растения гамаграсса гетерозиготны по нему. Позднее нам удалось установить, что два элемента апомиксиса — апомейоз и

партеногенез сегрегируют, т.е. генетически контролируются независимо. Так как созданные апомиктические гибриды имели 36 хромосом гамаграсса и были далеки по хозяйственным признакам от кукурузы, то встала проблема редукции части генетического материала дикого родителя, не имеющей отношения к контролю признака апомиксиса. Это возможно, поскольку апомикты иногда дают половое потомство (V_{II}-гибриды), чему предшествуют: 1) нормальное протекание мейоза; 2) оплодотворение яйцеклетки. В этом случае у 56-хромосомных гибридов формируется зародышевый мешок, ядра которого имеют по 28 хромосом. При опылении диплоидной кукурузой они дают потомков с 38 хромосомами ($20Zm + 18Td$). В случае, когда нередуцированная яйцеклетка оплодотворяется, число хромосом в зиготе возрастает и такого типа половое потомство, называют V_{III}-гибридами. Используя эту возможность, удалось создать серию апомиктических гибридных линий, имеющих разное число (от 2 до 6) полных геномов кукурузы ($x=10$) и 18 хромосом гамаграсса (Соколов и др., 1998a; Blakey *et. al.*, 2007). Далее удалось выявить несколько 39-хромосомных апомиктических гибридов ($30Zm + 9Td$), которые получили так же, как и ранее выделенные 38-хромосомные ($20Zm + 18Td$), благодаря редкому половому размножению с редукцией хромосом — V_{II}-гибридизации (Соколов и др., 1998). Примечательно, что все независимо полученные 39-хромосомные линии имели идентичные наборы из 9 хромосом гамаграсса. В последующих исследованиях было установлено, что эти 9 хромосом являются минимально необходимыми для поддержания апомиксиса и потеря любой из них приводит к половому размножению. Отсюда следовало: признак апомиксиса имеет сложный генетический контроль и для его стабильного проявления необходимы 9 определенных хромосом дикого родителя; в дальнейшем работу по созданию апомиктической кукурузы надо строить с учетом этого обстоятельства. Сопоставляя результаты исследования генетического контроля апомиксиса у гамаграсса, где было выявлено шесть групп сцепления необходимых для его проявления, и девять хромосом дикого родителя у апомиктических гибридов, можно заключить, что кроме главных генов бесполое семенного

размножения требуются какие-то дополнительные наследственные элементы. Возможно, они являются компонентами признака бесполого размножения, но не исключается их роль в поддержании передачи хромосом гамегагруппой.

НЕОБЫЧНЫЕ СВОЙСТВА ХРОМОСОМ ПРЭСНОВОДНЫХ ЦИКЛОПОВ (CRUSTACEA): СТРУКТУРНЫЕ И ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ

© Гришанин А.К., Загоскин М.В.

Принято считать, что каждый вид организмов обладает характерным и постоянным набором хромосом в клетке, а его изменения происходят только в результате мутаций. Кариотип вида со всеми его особенностями: числом и размером хромосом, их морфологией, соотношением длин плеч, чередованием эу- и гетерохроматина обычно рассматривают как «паспортные» данные вида, неизменные в течение всей жизни организма. Исследование хромосом пресноводных циклопов заставляет исследователя изменить такие общепринятые представления при знакомстве с диминуцией хроматина — события происходящего у некоторых видов веслоногих ракообразных на ранних эмбриональных стадиях. Диминуция хроматина (ДХ) заключается в удалении части хромосомного материала из клеток соматической линии или соматического ядра путем элиминации отдельных хромосом или их фрагментов во время одного или двух последовательных делений дробления. В результате ДХ геном пресоматических клеток, уменьшается многократно по отношению к додиминуционному геному, при этом диплоидное число хромосом остается неизменным, хотя изменяется соотношение длин плеч некоторых хромосом (Beer mann, 1977; Гришанин и др., 1996). Исследования хромосом *Acanthocyclops vernalis* до и после ДХ (Standiford, 1989) показали, что в результате ДХ в основном удаляется конститутивный гетерохроматин. Молекулярный анализ последовательностей ДНК, удаленных из хромосом пресоматических клеток во время ДХ показал, что они являются АТ-богатыми и локализованы во всех додиминуционных хромосомах (Degtyarev et al., 2004). Среди фрагментов элиминируемой ДНК

обнаружены семейства повторов с высоким уровнем гомологии внутри семейств. Выявлено, что последовательности элиминируемой ДНК не полностью удаляются во время ДХ и присутствуют в постдиминуционном геноме циклопов из обеих популяций (Бойкова, 2007). Анализ структуры межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR) *C. kolensis*, фланкированных микросателлитом (GA)_n выявил ряд субповторов, имеющих между собой статистически значимое сходство, что может свидетельствовать о происхождении выявленных ISSR-фрагментов от исходно единичной копии ДНК (Загоскин и др., 2008). Удаление 94% ДНК у *C. kolensis* вследствие ДХ позволяют рассматривать элиминируемую ДНК как избыточную для клеток соматической линии, так как отсутствие в них этой части генома не препятствует нормальному ходу онтогенеза (Акифьев, Гришанин, 2005). Показано, что ДХ наблюдается у *C. kolensis* (1С=2,3пг) и *Paracyclops affinis* (1С=0,7пг), и не наблюдается у видов *C. insignis* (1С=2,15пг), *Acanthocyclops viridis* (1С=2,1пг), *A. vernalis* (1С=0,7пг), *Eucyclops serrulatus* (1С=0,55пг) (Grishanin et al., 2004). Следовательно, причина появления ДХ в онтогенезе не связана с необходимостью удаления из генома соматических клеток избыточной ДНК, так как феномен ДХ наблюдается у видов с относительно большим геномом, и с маленьким, равно как не наблюдается у видов с подобными по величине геномами. Это предположение подтверждается также фактом отсутствия ДХ у *C. insignis* из Марьинского пруда, исследованного нами, и наличием ДХ у *C. insignis* из Боденского озера, изученного Айнсле, при полном фенотипическом сходстве российской и германской популяций *C. insignis*. Внутривидовая изменчивость выявлена также у *Cyclops kolensis*, *C. s. strenuus*, *Termocyclops crassus* и *Acanthocyclops vernalis* по следующим признакам: диплоидное число хромосом, величина генома, картина и хронология диминуционных процессов. Высказана гипотеза, что процесс ДХ является механизмом генетической изоляции между криптическими видами, у одного из которых ДХ отсутствует (Акифьев, Гришанин, 2005). Предполагается, что особи предкового вида, который дивергировал на два криптических вида в ходе эволюции, имели возможность оптимального выбора

пути онтогенетического развития (сайленсинг избыточной ДНК путем компактизации хроматина или диминуции хроматина) в интересах целостной развивающейся системы — нового вида. Путь этот, возможно, определялся необходимостью создания надежных барьеров для генетической изоляции видов-двойников. Следствием предполагаемого эволюционного процесса стало появление видов двойников: циклопа с ДХ и циклопа без ДХ.

РЕОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА И ДИНАМИКА ТЕЛОМЕРНЫХ ПОВТОРОВ В ХОДЕ ДИМИНУЦИИ ХРОМАТИНА У ЦИКЛОПОВ

© Зоткевич Е.А., Трифонов В.А., Шевелева Н.Г., Жимулев И.Ф., ОМКБ ИХБФМ, СО РАН, Новосибирск, Россия. e-mail: zotkevich@bionet.nsc.ru

Диминуция хроматина (ДХ) — это процесс удаления части генома из соматических клеток на ранних этапах онтогенеза у некоторых групп организмов, в частности, циклопов. ДХ служит первым этапом дифференцировки клеток на клетки полового пути и соматические клетки и сопровождается значительными перестройками генома: изменением числа хромосом, удалением больших гетерохроматиновых блоков, уменьшением размера хромосом. ДХ у циклопов происходит, в отличие от других видов организмов, без изменения числа хромосом, и на цитологическом уровне характеризуется появлением в интерфазе 4-го деления гранул элиминируемого хроматина.

Для исследований ДХ нами были выбраны два вида циклопов — *Cyclops kolensis*, который характеризуется максимальным количеством удаляемой ДНК в ходе ДХ (до 94% от первоначального генома (Гришанин с соавт., 2006)), и близкородственный вид, не имеющий ДХ в ходе развития — *Cyclops insignis*. Мы провели полноразмерную амплификацию додиминуционной и соматической геномной ДНК вида *Cyclops kolensis* с помощью DOP-праймеров и использовали полученные библиотеки в качестве зонда для FISH. Результаты гибридизации *in situ* материала додиминуционного генома на до- и последиминуционные хромосомы и на гранулы хроматина показали, что

додиминуционная ДНК гибридизуется на додиминуционные хромосомы и на гранулы хроматина, но не гибридизуется на (постдиминуционные) хромосомы соматических клеток. Этот факт показывает, что у вида *C. kolensis* значительная часть генома удаляется в ходе ДХ и лишь небольшой процент генома необходим для нормального функционирования соматических клеток. При этом библиотеки соматической ДНК одинаково хорошо гибридизовались на хромосомы клеток зародышевого пути, на соматические хромосомы и на капли хроматина.

У *C. kolensis* элиминируемый хроматин расположен диффузно по длине хромосом (Гришанин с соавт., 2006) и, по-видимому, в ходе ДХ происходит не только разрезание, но и дальнейшее сшивание оставшихся фрагментов в соматическую хромосому. В связи с этим встал вопрос о структуре, организации и возможной роли теломерных повторов в реорганизации хромосом. ПЦР-анализ с праймером (TTAGG)₆ показал наличие теломерных повторов в геномной ДНК *C. kolensis* как до, так и после диминуции, а также их присутствие в геноме *C. insignis*. Саузерн-блот гибридизация повтора TTAGG с обработанной рестриктазами геномной ДНК до и после диминуции показала, что копияность данного повтора, по-видимому, меняется в ходе ДХ. Так, помимо крупного 20kb теломерного фрагмента в додиминуционной ДНК присутствуют еще три фрагмента, варьирующих от 0.7 до 1.3 kb. Такие теломерные фрагменты отсутствуют в соматической ДНК вида *C. kolensis* и в геномной ДНК *C. insignis*. На основе полученных результатов мы предполагаем, что в хромосомах клеток зародышевого присутствия теломерные интеркалярные повторы, удаляющиеся в процессе ДХ.

Гришанин А.К., Шеховцов С.В., Бойкова Т.В., Акифьев А.П., Жимулев И.Ф. Проблема диминуции хроматина на рубеже XX и XXI веков // Цитология, 2006, Т. 48. №5, С. 379-397.

ГЕНОМ ИНФУЗОРИЙ: СТРОЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ

© Раутян М.С., Санкт-Петербургский университет, С-Петербург; mrautian@mail.ru

Инфузории (тип Ciliophora) обладают огромным многообразием деталей строения

ядерного аппарата, при этом все они характеризуются генетической системой, включающей ядра двух типов: диплоидные или низко полиплоидные, транскрипционно инертные генеративные микронуклеусы (МИ) и полигеномные, транскрипционно активные соматические ядра — макронуклеусы (МА).

В каждом цикле полового размножения происходит воссоздание этого сложного двухкомпонентного ядерного аппарата. Инфузории образуют пары, МИ проходит мейоз, партнеры обмениваются гаплоидными ядрами. Образующееся в результате зиготическое ядро делится несколько раз, при этом часть образовавшихся ядер дифференцируются в МА, а часть становится МИ, в зависимости от того, в какую часть клетки они попадут. Старый МА разрушается и не принимает физического участия в формировании нового ядра.

Исследование молекулярного строения МИ и дифференцировки МА позволило вскрыть природу ядерного гетероморфизма инфузорий. МИ, как ядро неактивное, представляет собой идеальное поле для инвазии и последующей экспансии мобильных генетических элементов. Насыщение МИ такими последовательностями может быть очень велико, так у *Paramecium aurelia* на гаплоидный геном их приходится порядка 60000, причем они могут находиться как в некодирующих областях, так и внутри кодирующих генов и, следовательно, требуется механизм их точного удаления.

Эксцизия подобных последовательностей с последующим лигированием флангов определила их общее название — внутренние элиминирующиеся последовательности (IES — Internal Eliminated Sequences). Внутригеномная эволюция транспозонных последовательностей привела к значительному разнообразию IES, при этом часть из них сохранила транспозонную структуру и выявляются как умеренные повторы. Однако значительная часть дивергировала настолько, что большая часть IES попадает в класс уникальных последовательностей. В каждом половом процессе и только в нем, происходит реаранжировка генома, т.е. формирование зрелого МА из зиготического ядра (МИ). Этот процесс включает эксцизию IES, а

также фрагментацию хромосом МИ, которая происходит в местах, содержащих определенные сигналы (Yao et al., 1990) или в районах tandemно расположенных транспозонов (Le Mouel et al., 2003). Есть основания предполагать, что фрагментация хромосом происходит в сайтах, потерявших информацию, необходимую для точной эксцизии, иными словами, фрагментация хромосом — результат неправильной эксцизии. Формирование зрелого МА завершается присоединением к концам образовавшихся фрагментов ДНК теломерных последовательностей и амплификацией фрагментов. В процессе реаранжировки генома теряется от 10-15% нуклеотидных последовательностей (у *Tetrahymena*, *Paramecium*) до 95-98% (., у *Stylonychia*, *Euplotes*).

Половая ядерная реорганизация сопряжена с перестройкой микронуклеарного генома, генетическая сущность которой состоит в удалении чужеродных последовательностей и восстановлении «нативных» генов а также удалении значительной части межгенных некодирующих последовательностей.

Поиск сигналов, определяющих точность и специфичность эксцизии IES, показал, что последовательности, фланкирующие IES у *Paramecium*, (так же как у некоторых других инфузорий, например, *Euplotes*, *Stylonychia*) содержат очень короткие сигналы: — универсальным является только наличие прямого повтора ТА, входящего в состав несовершенного инвертированного повтора 5'- TA(C/T)AG(C/T)N(A/G)-3' (Klobatcher, Herrick, 1995; Gratias, Betermier, 2001). Одна копия ТА остается в МА после удаления IES.

Отсутствие протяженных консенсусных последовательностей, которые могли бы выполнять роль сайтов узнавания при реаранжировке, остро ставит вопрос о молекулярных механизмах узнавания и удаления IES. Многочисленные данные показывают, что важнейшую роль в этом процессе играют малые РНК (scnRNA), которые формируются при тотальной двунаправленной транскрипции генома МИ на ранних этапах полового процесса (Chalker, Yao, 2001). Согласно широко принятой в настоящее время модели, эта некодирующая РНК участвует в двух циклах геномного скрининга: сначала она взаимодействует с ДНК в старом МА. В результате этого ДНК оказывается

помеченной и вовлекается в процессы деградации, сходные с апоптозом. Однако РНК, транскрибированная с тех последовательностей МИ, которые не представлены в МА, т.е. с тех, которые были удалены при развитии МА в предыдущем половом цикле, остается «неиспользованной». Эта РНК транслируется в новый развивающийся МА, где проходит следующий тур взаимодействия ДНК/РНКi, в результате чего оказываются помеченными для удаления именно те последовательности ДНК, которые были удалены в предыдущем цикле (Mochizuki, Gorovsky, 2004). Такой механизм позволяет потомкам наследовать последовательности ДНК, которые находились в МА в родительском поколении, вне зависимости от того, какие новоприобретения появились в МИ, что особенно важно в том случае, когда новый ядерный аппарат восстанавливается из неактивного ядра, а значит, из ядра не проходящего через «чистилище» естественного отбора. Сравнение ортологичных генов МИ (Breuer et al., 1996; Meyer, Garnier, 2002), а также сравнение спектра молекул в геноме МА (Rautian, Potekhin, 2002) у близких видов инфузорий показывает, что приобретение новых IES и новых сайтов фрагментации хромосом действительно происходит на эволюционно очень коротких расстояниях.

ХРОМОСОМА КАК ЭВОЛЮЦИОННАЯ ПРОБЛЕМА

© Мосолов А.Н., Новосибирский государственный медицинский университет

20-й век в изучении хромосомы был периодом успехов и заблуждений, тупиков и прорывов. В 21-й век ученые пришли с твердым пониманием, что изучение хромосомы необходимо проводить с использованием определенных принципов и условий. Пришло понимание и то, что хромосома — проблема не только биологическая, но и математическая, физическая и техническая, а также эволюционная. Для дальнейших успехов в изучении хромосомы необходимо опираться на следующие принципы.

Первый принцип — эволюционный подход к проблеме. Полтора века назад Ч.Дарвин провозгласил, что человек и обезьяна имеют единого предка. Сейчас, опираясь на афоризм лауреата Нобелевской премии

Жака Моно: «что верно для бактерии — верно для слона», продвинутые биологи строят свои эволюционные схемы еще дальше. В них прослеживаются связи бактериальной хромосомы с хромосомами человека и млекопитающих.

Второй принцип — системный подход к проблеме. Обычно при исследовании генетического аппарата в клетке и организме отдельно изучаются ДНК, хромосома, ядро и т.д. Налицо формальный, даже формалистский подход, при котором ускользает единство в структурно-функциональной организации и работе единой информационной системы, частью которой является хромосома. Если исследования проводятся на системном принципе, то становятся более понятными все сложнейшие трансформации хромосомы в динамике клеточного цикла.

Третий принцип — трехмерная пространственная организация генетического аппарата, функционирующая во времени и пространстве многоклеточного организма. Пришло понимание того, что при каждом своем делении клетка решает сложнейшие топологические задачи превращения копий генетического аппарата из полярной ассиметричной структуры в зеркально-симметричную, а затем, вновь в полярную ассиметричную структуру в дочерних клетках. В этом состоит «тайна» сложного танца хромосом, в котором каждая хромосома знает свое место и работает безотказно.

Четвертый принцип — принцип фрактальности. Нерешенной проблемой двадцатого века является проблема механизмов морфогенеза. До сих пор нет полного ответа на вопрос: «Каким образом информация, записанная на линейном носителе (ДНК), реализуется в трехмерном пространстве многоклеточного организма, с точной укладкой клеток в его тканях и органах?».

Приходит понимание того, что многоклеточные сообщества в каждом организме представляют собой структуры типа математических множеств Гастона Жюлиа, т.е. серии подобий в подобиях. По-видимому, программу для этих построений задает пространственная организация клеточных ядер. Следовательно, ткани и органы имеют фрактально-голографический принцип организации. Вполне вероятно, что каждая многоклеточная структура

организма есть частный случай «фрактальной геометрии» — дальнейшего развития идей о подобиях и множествах Г.Жюлиа, что сделали Бенуа Мандельброт и другие в начале 80-х годов ушедшего века, используя персональный компьютер. Вот почему прослеживается подобие в пространственной организации клеточного ядра и содержащегося в нем комплекса хромосом с плодами растений и органами животных.

Пятый принцип. Хромосому нельзя изучать лишь в убитом и разрушенном состоянии. Только живая функционирующая хромосома способна полностью открыть исследователям свои тайны.

Современная биологическая система записи информации отличается от той, что используется человеком в цифровой информатике. Вместо привычной нам двоичной системы природа использует четверичную. Не исключено, что у древних ископаемых гигантов в коде ДНК было не четыре буквы нуклеотида, а только два, как в современной цифровой электронике. Вполне возможно, что у древних гигантов и клетки, из которых они состояли, были раз в десять больше, чем современные. Может и в вычислительной технике с двоичной системы, пора переходить на четверичную?

В течение двадцатого века математика в значительной степени трансформировалась в геометрию. Не исключено, что в течение двадцать первого века процесс этот продолжится и математика, как наука, полностью эволюционирует в топологию. Результатом его будет действительное, а не вспомогательное слияние математики с биологией.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ ЖИВОГО И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

© Чадов Б.Ф., Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Генетическая система организована в виде хромосом. Их функция — в сохранении, передаче и реализации генетической информации. Определение функции хромосом общепризнано, но не полно. Под видом реализации генетической информации проходит особый процесс — процесс циркуляции энергии, лежащий в основе живого.

В 2000 году был предложен новый (не менделевский) подход к выбору индуцированных мутаций: мутация должна

проявляться у одних и не проявляться у других особей того же вида [1].

*Предполагали, что отбором таких мутаций можно обнаружить гены, ответственные за образование признаков внутривидового сходства [2]. На *Drosophila melanogaster* были разработаны три методики получения летальных мутаций. Мутации назвали условными доминантными летальными. У особей одного генотипа мутация проявляла себя как доминантная леталь, у особей другого генотипа мутация леталью не являлась.*

*Кроме условной летальности, лежащей в основе обнаружения, мутации показали другие необычные свойства. Они переставали быть летальными в присутствии хромосомных перестроек. Демонстрировали родительский эффект в своем проявлении. Потомки мутантов часто имели не симметричные нарушения развития (морфозы). Способность образовать морфозы и условное проявление мутаций позволили считать, что выявленные гены относятся к группе регуляторных генов, управляющих онтогенезом. Наблюдение за культурами полученных у *Drosophila melanogaster* мутаций выявило еще одно необычное свойство: мутации делали геном нестабильным.*

Принципиальные различия полученных мутантов от менделевских мутаций позволило говорить о существовании, как минимум, двух групп генов. Виду того, что на уровне ДНК существование разных типов генов не возможно, генами назвали информационные продукты, образующиеся на ДНК (РНК разных типов, регуляторные белки, мобильные элементы).

Традиционные гены назвали *прогенами*. Вслед за переименованием встал вопрос о взаимоотношении между генами и прогенами как между автономными структурами.

Процесс активации геном прогена, который в свою очередь «продуцирует» другой ген, назвали квазициклом [3]. Циклом потому, что он начинается и кончается геном, а квазициклом («почти циклом») потому, что гены в начале и конце цикла — разные.

Представление о цикличности работы генетической системы меняет восприятие смысла ее работы. Им становится материальное оформление потока энергии в нескончаемую цепь химических

циклических и квазициклических реакций. По принципу циклов и квазициклов работает весь живой организм. Генетическая система предстает в виде инструмента, обеспечивающего материализацию энергетического потока. В плане материализации энергетического потока следует рассматривать и появление генетической системы, и ее строение, и ее эволюцию.

Энергетический аспект работы генетической системы, по всей видимости, многообразен. В качестве одного из них приведем изменение энергетического статуса у генетического мутанта. Исследовали четыре условных доминантных летали на двигательную активность и основной обмен. Двигательную активность у имаго оценивали в специальном приборе (*Drosophila Monitor Activity, Model DAM 2, TriKinetics Inc USA*). Обмен изучали методом непрямой калориметрии по выделению двуокиси углерода при дыхании. Оба теста показали превышение двигательной активности и уровня основного обмена у мутантов над уровнем у контрольных линий [4]. Диссипация энергии у мутантов оказалась выше нормы. С точки зрения неравновесной термодинамики такие мутанты могут быть перспективными для последующего видообразования. Можно предположить, что процесс перестройки генетической системы, лежащий в основе видообразования, происходит путем перестройки энергетики организма и приобретения, в конечном счете, генетически закрепленных новых циклов и квазициклов.

В живом организме не только генетические, но и не генетические биохимические процессы имеют циклический или квазициклический характер. Суммарно их именуют обменом веществ. Маловероятно, чтобы совпадение по форме протекания было случайным. Либо цикличность генетического процесса заставляет им управляемые процессы быть циклическими, либо, что более вероятно, и те, и другие возникали одновременно и по общему правилу.

Представление об энергозависимой цикличности живого хорошо вписывается в общую картину материального мира, построенную на принципах неравновесной термодинамики. Оно открывает новые возможности для биологического

эксперимента и создания целостного представления о живой материи.

Литература: [1] Чадов Б.Ф. и др. Докл.РАН, 2000, Т.373. №5. С.714-717; [2] Чадов Б.Ф. и др. Генетика, 2004, Т.40. №9. С.1157-1172; [3] Чадов Б.Ф. Философия науки, 2007. №1(36).129-156; [4] Федорова Н.Б. и др. Материалы V Съезда ВОГиС. Москва, 2009. Часть II. С.94.

Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-00094.

ТРАНСПОЗОНЫ КАК ИСТОЧНИК ПРОМОТЕРОВ В ГЕНОМЕ ДРОЗОФИЛЫ

© *Макунин И.В., Юрлова А.А., Жимулев И.Ф.*,
Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск.

Значительное число генов у человека и мыши транскрибируются с альтернативных промоторов, расположенных в LTR-содержащих мобильных элементах. Эти ретротранспозоны, как правило, расположены перед началом аннотированных генов, и их промоторы инициируют транскрипцию альтернативного первого экзона. В данной работе мы приводим данные, указывающие на то, что у дрозофилы лишь небольшое число генов, расположенных в эухроматиновых районах, использует промоторы LTR транспозонов. Используя базу данных сплайсированных EST, мы идентифицировали 14 генов, в которых потенциальные альтернативные промоторы, вероятно, находятся в LTR транспозонах, причем в 13 случаях EST начинается именно в длинном терминирующем повторе мобильного элемента. Анализ мутации гена *SuUR*, вызванной инсерцией ретротранспозона *diver*, показал, что у дрозофилы, как и у позвоночных, промотор, расположенный в 3' LTR ретротранспозона, способен транскрибировать прилегающий участок ДНК. Мы также проанализировали роль других классов транспозонов в инициации транскрипции в геноме дрозофилы, и идентифицировали 9 локусов, в которых сплайсированные EST начинаются в ДНК-транспозонах и продолжают в аннотированных генах.

Секция II
Специализированные структуры хромосом

ЧЕТЫРЕ ФРАКЦИИ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА, ИХ ОРГАНИЗАЦИЯ В ЯДРЫШКЕ И МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМАХ

© Ляпунова Н.А., Вейко Н.Н., ГУ Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, lyapunova@med-gen.ru

Рибосомные гены (РГ, гены 18S-, 28S- и 5.8S-рРНК) собраны в транскрибируемой области (ТО) рибосомного повтора (рДНК), который представлен в геномах эукариот многими копиями. В диплоидных клетках человека в среднем содержится около 420 копий повторов рДНК. В индивидуальных геномах число их варьирует в пределах от 250 до 670 копий [Вейко и др., 2003]. Копии рДНК неоднородны в функциональном отношении. Согласно нашим данным, в лимфоцитах периферической крови человека существуют четыре фракции рибосомных повторов: активные (А), потенциально активные (ПА), неактивные (НА) и кластеры «молчащих» РГ (КМРГ). Фракции различаются по ряду признаков и в геномах разных индивидов представлены в разном количестве. Фракции НА и КМРГ составляют до 70% копий рДНК, их ТО характеризуется «закрытой» конформацией (недоступна модифицирующим агентам). При этом КМРГ, в отличие от НА-копий, как правило, интенсивно метилированы по всей длине ТО, организованы в нуклеосомы, локализуются вне ядрышка и легко экстрагируются из выделенных ядер. Они выявляются в геномной ДНК примерно у 60% индивидов [Ляпунова и др., 1998], их количество варьирует от 0 до 130 копий. Фракция НА-копий характеризуется слабым метилированием ТО, в основном в области гена 18S-рРНК. Она локализована в фибриллярных центрах (ФЦ) ядрышка, которые в настоящее время принято рассматривать в качестве «депо» НА-копий рДНК в комплексе с резервной РНК полимеразой 1 [Зацепина, 2007]. Эта фракция слабо связана с матриксом ядрышка и экстрагируется при стандартном протеазном гидролизе ядер. В функциональном отношении наибольший интерес представляют фракции А (транскрибируемых) и ПА (способных к транскрипции, но не транскрибируемых в данное время, в данном типе клеток) копий РГ. На долю этих фракций приходится около 30% копий рДНК. Их ТО находится в

«открытой» конформации (доступна действию нуклеаз и других модифицирующих агентов [Вейко и др., 2001]). Копии этих фракций обладают прочной связью с матриксом ядрышка. Экстрагировать их удается только после «жесткого» протеазного гидролиза ядер (двукратное увеличение концентрации фермента и длительности обработки). Активные копии РГ локализованы в плотном фибриллярном компоненте (ПФК) ядрышка, копии ПА — на границе ФЦ и ПФК. В наших работах показано, что в определенных областях ТО рДНК части копий рДНК с «открытой» конформацией присутствуют прочно связанные с ДНК белки. Известно, что прочно связанные с ДНК белки могут предотвращать образование нуклеосом и обеспечивать сохранение активного («открытого») состояния участков ДНК в отсутствие транскрипции [Gustafson et al., 1989]. Мы показали, что относительное количество копий рДНК с прочно связанными белками тем выше, чем меньше физиологическая активность данного типа клеток. Это позволило предположить, что прочно связанные с ДНК белки свойственны фракции ПА-копий рДНК. В митозе кластеры тандемных повторов рибосомных генов разных размеров локализуются в коротких плечах пяти пар акроцентрических хромосом человека, формируя ядрышкообразующие районы (ЯОР) метафазных хромосом. При рутинной окраске они выявляются как т.н. «спутничные нити», вокруг которых располагается «рыхлый» хроматин рибосомных генов. Степень компактизации рДНК в метафазе митоза на порядок меньше, чем остальной геномной ДНК. В отличие от других генов генома эукариот, активные (транскрибировавшиеся в интерфазе) рибосомные гены, сохраняются в контакте с РНК-полимеразой 1 и комплексом белков, участвующих в регуляции транскрипции рДНК (UBF, SL1 и др.), на всех стадиях митоза. Способность этих белков в определенных условиях восстанавливать азотнокислое серебро до металлического серебра определяет возможность селективной окраски ЯОР метафазных хромосом (Ag-окраска) [Goodpasture, Bloom, 1975; Howell, Black, 1980]. В пролиферирующих клетках «работают» все А и ПА копии рДНК. Это — геномная доза активных рибосомных генов (АкРГ) —

постоянный признак данного генома. Она может быть определена как суммарный размер 10 AgЯОР (усл. ед) на препаратах метафазных хромосом после селективной окраски их азотнокислым серебром [Ляпунова и др., 2001]. При этом размер преципитата серебра над каждым изю ЯОР оценивается в 4-х балльной системе (от 0 до 3-х). Согласно нашим данным одной усл.ед. AgЯОР соответствует 8 ± 1 копия рДНК, а общее количество АкРГ в геномах разных индивидов варьирует от 120 до 190 копий, что соответствует 15 — 24 усл. ед. размера 10 AgЯОР. В настоящее время нет модели организации ЯОР хромосом человека. Даже использование современных методов конфокальной микроскопии и электронной томографии не дает однозначных результатов [см. Suja at al., 1997; Heliot at al., 1997]. Мы предлагаем модель, согласно которой ДНК активных рибосомных генов находится в метафазной хромосоме в виде «розетки», состоящей из 8 петель. Каждая петля соответствует одной копии рДНК. Вершину петли занимает транскрибируемая область рДНК (13.6 т.п.н.) «покрытая» аргентофильными белками. При Ag-окраске такая розетка будет выглядеть как окрашенное серебром кольцо, охватывающее находящийся в центре неокрашенный р-хроматин, состоящий из более плотно упакованных неактивных копий рДНК, формирующих спутничную нить. ЯОР может содержать одну, две или три таких розетки (размер ЯОР 1-3 усл.ед), либо активные, или даже все копии, могут быть делетированы.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА СУБТЕЛОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА РЖИ

© *Евтушенко Е.В.¹, Елисафенко Е.А.², Вершинин А.В.¹*, ¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, ²Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, evt@bionet.nsc.ru

Отличительной особенностью генома ржи являются большие блоки гетерохроматина, которые расположены около теломер всех хромосом и на долю которых приходится до 15% всего генома, что сопоставимо с размером генома арабидопсиса. В составе ДНК субтеломерного гетерохроматина описано несколько мультикопийных семейств

тандемно организованных последовательностей ДНК, для которых известны размеры мономеров и их первичная структура, копияность, распространенность среди различных видов злаков. Однако внутренняя структура тяжей мономеров и их геномное окружение остаются неизученными, и, как следствие, отсутствуют знания о крупномасштабной организации протяженных гетерохроматиновых участков генома ржи. Создание и исследование ВАС библиотек, содержащих вставки протяженных участков генома, позволяет достичь существенного прогресса в понимании молекулярной организации как отдельных семейств тандемных повторов, так и геномной ДНК, окружающей эти семейства. В настоящей работе мы использовали ВАС библиотеку, сконструированную (Simkova et al., BMC Genomics, 9: 237, 2008) из генетического материала короткого плеча первой хромосомы ржи (1RS) для изучения организации семейства тандемных повторов рSc200. Данное семейство является наиболее распространенным в геноме ржи и локализуется в субтеломерных районах каждого плеча всех хромосом. В составе гетерохроматина 1RS идентифицировано несколько тяжей тандемно организованных повторов рSc200. При этом каждый тяж содержит специфические блоки мультимеров, характеризующиеся различной периодичностью и различной степенью амплификации. Такая картина гетерогенной внутренней структурной организации тяжей тандемных повторов существенно отличается от распространенного в недавнем прошлом представления о тандемных тяжях как монотонном чередовании идентичных мономеров.

Анализ геномного окружения тандемных тяжей выявил присутствие различных классов повторяющихся последовательностей ДНК, как правило, имеющих гомологию к последовательностям, выделенным ранее из геномов пшеницы, ячменя и других видов злаков, включая производные ретротранспозонов. Участки гомологии имеют мозаичную структуру, указывая на вероятность частых хромосомных обменов и перестроек, происходивших в ходе эволюции злаков. В составе ДНК ВАС 126/C20 охарактеризовано новое семейство

тандемно организованных повторов *XbaI* с длиной мономера 576 н.п. Внутри мономеров данного семейства находится участок гомологии к известному ретротранспозону *cereba*. Анализ первичной структуры участка генома в 13 т.н.п. выявил прямое сочленение мономеров семейства рSc200 и *XbaI*-семейства. Факт прямого сочленения мономеров двух семейств тандемных повторов был впервые установлен для генома растительных видов.

Основным компонентом той части геномной ДНК в ВАС 126/С20, что не приходится на семейства тандемных повторов рSc200 и *XbaI*, являются последовательности со значительной гомологией к предполагаемому ретротранспозону класса *gypsy*, ранее обнаруженному в геноме тетраплоидной пшеницы *Triticum turgidum*. Этот результат является еще одним подтверждением мнения, что помимо тандемных повторов, другими наиболее распространенными компонентами гетерохроматиновых районов геномов эукариот являются различные классы повторяющихся последовательностей ДНК, в основном, мобильных элементов (Charlesworth et al., 1994). Одно из возможных объяснений их накопления в некодирующих районах генома, таких как тандемная ДНК, заключается в том, что в этом случае инсерции оказывают минимальные отрицательные последствия на жизнеспособность и, соответственно, отсутствует отрицательное давление отбора.

Работа поддерживается грантом Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ № 08-04-0074) и Программой интеграционных проектов фундаментальных исследований СО РАН (проект № 37).

СТРУКТУРА ЦЕНТРОМЕРЫ И КОНСТРУИРОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ ХРОМОСОМЫ РАСТЕНИЙ

© Данилевская О.Н., Ананьев Е.В., Pioneer Hi-Bred Int., (США)
olga.danilevskaya@pioneer.com

Этот доклад представляет собой обзор работ по структурным элементам хромосом кукурузы, которые были выполнены Е. В. Ананьевым в 1995-1998 годах в Университете Миннесоты США. Цикл работ был завершен созданием первой искусственной хромосомы растений в 2006 году.

Объектом исследования были хромосом-дополненные линии овса (*Avena sativa*), содержащие одну из 10 хромосом кукурузы (*Zea mays*). Задачей исследования было выделение специализированных элементов хромосом кукурузы таких, как гетерохроматические узелки (“knobs”) и центромеры. Выделив геномные клоны, содержащие “knobs”, Ананьев нашел новый тип тандемных повторов в их структуре. Используя новый повтор, он показал, что гетерохроматические узелки являются сайтами интеграции полноразмерных копий мобильных элементов и сами по себе могут перемещаться по геному как “мегатранспозоны” (Ananiev et al., Genetics 1998, 149:2025-37; Ananiev et al., PNAS 1998, 95:10785-90).

Однако наиболее актуальной задачей было выделение геномных клонов, содержащих центромеры. Ананьев удалось найти мобильный элемент *CentA*, который присутствовал только в центромерах. Используя *CentA* как зонд, он выделил из геномных библиотек хромосом-дополненных линий центромерные фрагменты, происходящие из индивидуальных хромосом кукурузы. Тщательно исследовав эти фрагменты, он пришел к выводу, что центромера составлена из сотен и тысяч копий короткой (156 нуклеотидных пар) повторяющейся последовательности ДНК, которую он назвал *CentC*. (Ananiev et al., PNAS 1998, 95:13073-8; Ананьев, Филлипс и Райнес. Цитология и Генетика, 2000 т. 34, стр. 11-15). Ананьев постулировал, что повторы *CentC* составляют ядро функциональной центромеры, которое необходимо для создания кинетохора в процессе расхождения хромосом при клеточном делении.

Завершающим этапом проекта было создание искусственной хромосомы кукурузы из отдельных клонированных элементов. Функциональная хромосома содержит три обязательных компонента: теломеры, участки начала репликации и центромеры. Эти компоненты и были «строительными блоками» для конструирования искусственной хромосомы. Если теломеры и участки начала репликации были известны и доступны, то поиск функциональной центромеры представлял трудную задачу. Из геномной библиотеки кукурузы, созданной в

бактериальном векторе (ВАС), было отобрано около 85 клонов, соответствующих критерию “функциональной центромеры”. Из них *in vitro* были созданы линейные молекулы ДНК, которые были трансформированы в культуру эмбриональных клеток кукурузы. Трансформированные линии цитологически проверялись на наличие новообразованных мини-хромосом. Среди 450 трансформированных линий было найдено семь линий, несущих мини-хромосомы (Ananiev et al., *Chromosoma* 2009 118:157-77). Собранные из элементарных «строительных блоков» искусственные хромосомы имели размер 15-50 Mb и стабильно наследовались при митотическом делении клеток.

На основании полученных результатов и анализа литературы Ананьев предложил модель структурной организации центромеры высших эукариот. Согласно этой модели элементарной единицей центромеры является короткий повтор ДНК. В случае кукурузы — это *CentC*. Повторы организованы в протяженные tandemные блоки, которые в области первичной перетяжки находятся в инвертированной ориентации по отношению друг к другу, определяя, таким образом, плечи хромосом.

Самосборка искусственной хромосомы из отдельных клонированных элементов является важнейшим этапом в понимании структуры и функции хромосомы как физической единицы наследственности. Искусственные хромосомы являются векторами большой генетической емкости, которые можно использовать для переноса протяженных фрагментов ДНК, для создания биохимических каскадов и привнесения ценных агрономических свойств в сельскохозяйственные растения. За искусственными хромосомами растений — большое будущее.

ЦЕНТРОМЕРНЫЕ И ПЕРИЦЕНТРОМЕРНЫЕ ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ МЫШИ *IN SILICO* И *IN SITU*

© Подгорная О.И., Кузнецова И.С., Федоров А.В., Комиссаров А.С., Институт цитологии РАН, Ст.Петербург 194064, opodg@yahoo.com

Центромеры (ЦЕН) и в значительной мере перицентромерные (периЦЕН) районы большинства эукариот состоят из сателлитной ДНК (сатДНК). Как происходит первичное маркирование центромера, до сих

пор неизвестно. Есть прогресс в описании кинетохорных белков, но отсутствие первичной последовательности ДНК ЦЕН затрудняет как теоретические исследования, так и работу по конструированию искусственных хромосом. История открытия и изучения сатДНК насчитывает почти 60 лет. Однако до сих пор функции сатДНК не очевидны. В проектах по чтению и сборке геномов используют преимущественно кДНК-технологии, а гетерохроматиновые, с трудом клонируемые и картируемые фрагменты, в лучшем случае попадают в базу данных «неизвестная хромосома» — Chromosome Unknown (ChrUn).

В базе данных генома мыши, в собранной части и в ChrUn, мы искали известные сатДНК — мажорный сателлит (MaSat) и минорный сателлит (MiSat), а также теломерные tandemные повторы (Тел) и их сочетания. Найдены однородные поля каждой сатДНК и переход поля МиСат в МаСат. Ни одна из сатДНК не переходит в Тел. Однородные поля сатДНК часто переходят в простые повторы или ретроэлементы семейства IAP. Поля МиСат и МаСат фланкируют разные представители семейства IAP. Обсуждается структура одного из МиСат содержащих фрагментов по сравнению с ЦЕН кенгуру. Ранее мы клонировали GC богатый сатДНК мыши — MS3 (*mouse satDNA 3*; Kuznetsova et al., 2005). MS3 картирован в ЦЕН полями размером ~2 т.п.н., перемежающимися с такого же размера полями МиСат методом fiberFISH (Kuznetsova et al., 2006). Консенсус MS3 пока не определен и нам долгое время не удавалось найти похожие фрагменты в базе данных генома мыши. Возможно, однако, что MS3 является коллекцией модифицированных фрагментов IAP и так и распознается поисковыми программами.

Растет количество свидетельств того, что как ЦЕН, так и периЦЕН хроматин необходим для нормально функционирующего ЦЕН. ПериЦЕН и прителомерные районы остаются “белыми пятнами” на картах хромосом, появившихся в результате чтения геномов человека и мыши. На каждой собранной хромосоме отводят по 3 млн.п.н. на пустой район — Golden Path Gap (GPG), где среди мегабаз периЦЕН расположен и собственно ЦЕН. Провели поиск всех tandemных повторов в ChrUn и области вблизи GPG программой *Tandem Repeat Finder* (TRF). Среди десятков

тысяч найденных повторов выделили 2 с величиной мономера 21 и 31 bp, как максимально представленные. Оба мономера GC обогащены — 57% и 52%. Есть случаи контакта MaCat с полями обоих мономеров. По компьютерным критериям tandemные повторы 21 и 31 bp являются основой сатДНК: (1) найдены программой TRF, следовательно tandemно повторены; (2) расположены длинными полями от 2 kb до 59 kb; (3) dotplot анализ показывает, что внутри полей есть иерархия повторов высшего порядка (HOR — *high order repeats*); (4) *in silico* находятся в периЦЕН некоторых хромосом, вблизи GPG. Экспериментальная проверка методом FISH показала, что 21 и 31 bp повторы действительно располагаются в периЦЕН хромосом, но далеко не только тех, на которых они найдены в собранном геноме мыши. При компьютерном анализе мы в основном задаемся вопросом о ДНК в составе гетерохроматина, не надеясь найти там истинно ЦЕН фрагменты. Найденные *in silico* классы tandemных повторов содержат как AT- так и GC-богатые и, соответственно, их структура, «кривизна», различаются. Кажется, что только выявление общих структурных особенностей последовательностей (Podgornaya et al., 2003) этих районов позволит разрешить парадокс, когда наборы белков, специфичных для ЦЕН или периЦЕН (гетерохроматина) связываются с абсолютно, казалось бы, несходными последовательностями.

Работа поддержана грантом МКБ.

TELOMERE CLUSTERING AROUND PML BODIES PROMOTES RECOMBINATION BETWEEN HETEROLOGOUS CHROMOSOMES IN HUMAN SOMATIC CELLS

© Draskovic I.¹, Arnoult N.¹, Steiner V.¹, Bacchetti S.², Lomonte P.³ and Londoño A.^{1,4},
¹Institut Curie, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris, France; UPMC Univ. Paris 06, 75005 Paris, France; CNRS UMR 3244. ²Istituto Regina Elena, 00158 Rome, Italy. ³Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, 69622 Villeurbanne, France; CNRS UMR5534 ⁴Correspondence: Arturo.Londono@curie.fr; Phone: +331 5624 6611; Fax: +331 56246674

PML bodies (also called ND10) are dynamic nuclear structures implicated in a wide variety of cellular processes. ALT-associated PML bodies (APBs) are specialized PML bodies found exclusively in telomerase-negative

tumors in which telomeres are maintained by recombination-based alternative (ALT) mechanisms. Although it has been suggested that APBs are directly implicated in telomere metabolism of ALT cells, their precise role and structure have remained elusive. Here we show that PML bodies in ALT cells associate with chromosome ends forming small, spatially well-defined clusters, containing on average 2-5 telomeres. Using an innovative approach that gently enlarges PML bodies in living cells while retaining their overall organization, we show that this physical enlargement of APBs spatially resolves the single telomeres in the cluster, but does not perturb the potential of the APB to recruit chromosome extremities. We show that telomere clustering in PML bodies is cell-cycle regulated and that unique telomeres within a cluster associate with recombination proteins. Enlargement of APBs induced the accumulation of telomere-telomere recombination intermediates visible on metaphase spreads and connecting heterologous chromosomes. The strand composition of these recombination intermediates indicated that this recombination is constrained to a narrow time window in the cell cycle following replication. These data provide strong evidence that PML bodies are not only a marker for ALT cells but play a direct role in telomere recombination, both by bringing together chromosome ends and by promoting telomere-telomere interactions between heterologous chromosomes.

UNUSUAL TELOMERES ON CHROMOSOMES OF ONE OF SHREW'S SPECIES, SOREX GRANARIUS

© Zhdanova N.S.¹, Minina Y.M.¹, Karamisheva N.V., Rubtsov N.B., Londoño A.²,
¹Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, Novosibirsk, Russia, ²Institute Curie, UMR7147, CNRS-UPMC, Paris, France, zhdanova@bionet.nsc.ru

Telomeres are the structures that cap the chromosome ends. They play an important role in maintaining chromosome integrity protecting them from degradation and end-to-end fusions. Telomere dysfunction and alterations in their length result in the instability of the genome, replicative senescence, apoptosis, and malignant transformation (Bolzan and Bianchi, 2006). Pairing of chromosomes in meiosis is beginning with telomere associations on the stage of bouquet formation (Harper et al, 2004).

However very little is known about telomere biology in other mammalian species, than human and mouse.

Using combined approach of chromosome and fiber FISH, Q-FISH, CO-FISH, 3D-FISH, Ag-NOR staining, immunostaining and TRF analysis, we studied telomere characteristics in shrews and showed that one species, *Sorex granarius*, has a telomere pattern uncommon for mammals while telomeres closely related species, *Sorex araneus*, are similar to telomeres of earlier studied species. Karyotypes of these species composed from near identical chromosomal arms. Robertsonian rearrangements played a major role in their karyotype evolution.

Our results demonstrate that *S. granarius* displays hyperlong telomeres in size up to 300 kb (213 kb telomeric repeats on average) specifically associated with the proximal ends of the all 32 acrocentrics and very small telomeres (3.8 kb) associated with the other chromosome ends. Telomere lengths in *S. araneus* are rather homogenous, in different chromosomal races they contain from 6.8 to 15.2 kb of telomeric repeats on chromosome ends including proximal regions of acrocentrics. In humans, telomere length in the different chromosomes of the cells of germ line varies from 9 to 17 kb in general and may be reduced to 2 kb in aging somatic cells (Riethman, 2008). In wild mammalian species, the variations in telomere length range from 5 to a few ten of kb (Bolzan and Bianchi, 2006). More long telomeres have been described in inbred mouse lines and mega long telomeres in size up to 3 Mb in birds (Delany et al., 2007).

Moreover in *S. granarius*, rDNA sequences form potentially active nucleolar organizing regions on the proximal ends of the all 32 acrocentrics. Blocks of 18S rDNA fully or partially coincide with telomere blocks both on chromosomes and in interphase nucleus. On some chromosomes, they are tightly adjacent. In contrast, *S. araneus* has only eight nucleolus-forming regions, located at distal chromosome ends of four chromosomal arms, independent of they are acrocentrics or combined with other arms in metacentrics in different chromosomal races.

At least in part of long *S. granarius* telomeres, rDNA are interspersed with the telomere tracts. In general, the length of telomere tracts in them doesn't exceed of 90-100 kb. This is the first time that such telomeric structures are observed in any mammalian

species. Up to now rDNA sequences has been only revealed in giant birds telomeres (Delany et al., 2007).

G-rich / C- rich asymmetry characterize the majority of telomere repeats in long telomere as functional telomeres. The frequency of sister telomere exchanges in long telomeres don't exceed 1.05 / cell. Described structures are stable and remaining intact under fibroblast culturing during two years. In contrast to long term mouse cultures, we didn't observe fusions acrocentrics by proximal ends in long term *S. granarius* culture.

As a rule, centromeres on proximal ends of *S. granarius* acrocentrics are tightly associate with blocks of rDNA and telomere DNA, which make short arms of acrocentrics and single chromosome domain in interphase. However improbable that in some chromosomes, rDNA can be also partially localized in pericentromeric regions of long acrocentric arms. At any rate, we observed regions in distinct fibres stained by both antibodies ANA CREST and probe to 18S rDNA.

It is possible that distal parts of long telomeres in which telomere repeats alternate with rDNA represent already a subtelomeric region in an initial stage of formation, in them telomeric repeats not yet degenerated for the most part and is revealed in FISH with PNA and LNA probes.

This data suggest that the major rearrangements that gave rise to today's karyotype in *S. granarius* were accompanied by a profound reorganization of chromosome ends, which comprised extensive amplification of telomeric and rDNA repeats on the proximal ends of acrocentrics and finally contributed to the stabilization of telomeres. It has been suggested that founder of shrews from *Sorex araneus* group had karyotype similar to *S. araneus*, Cordon races, (Hausser et al., 1998), and we think the structure of chromosome termini as in *S. araneus*. It is possible that fission of a few metacentrics during beginning of *S. granarius* karyotype (Hausser et al., 1998) provoked to exchanges between non-homologous chromosomal ends on the stage of chromosomal bouquet in meiosis, as proposed for segmental duplications in human subtelomeres (Linardopoulou et al., 2005).

МОБИЛЬНОСТЬ В-ХРОМОСОМ

© Борисов Ю.М., Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, boris@sevin.ru

При избытке ДНК в основной стабильной части А-хромосом, представляется еще более загадочной наличие у 1800 видов сверх этого вариабельной части В-генома в виде В-хромосом. В последние годы установлена определенная взаимосвязь гетерохроматических районов А-хромосом и В-хромосом. Они насыщены высокоповторяющимися последовательностями ДНК. Показано, что В-хромосомы происходят путем реорганизации (дубликации и амплификации) участков А-хромосом. Мобильные элементы генома перемещаются в основном по гетерохроматическим участкам хромосом. Благодаря мобильности гетерохроматических районов, В-хромосом и “прыгущим” генам создается разнообразие генома, ведущее к ускорению его эволюционных преобразований.

Ранее высказанные предположения об адаптивном значении В-хромосом остаются в какой-то мере спорными и новые факты, свидетельствующие о причастности В-хромосом к процессу регуляции работы генома, крайне необходимы. Поэтому изучение мобильности В-хромосом и взаимосвязи этого процесса с воздействием антропогенных факторов представляется достаточно актуальным.

У грызунов за счет быстрой смены поколений, эволюционные процессы происходят в десятки раз быстрее, чем у крупных млекопитающих. Восточноазиатская лесная (корейская) мышь *Apodemus peninsulae* занимает особое место по количеству и изменчивости В-хромосом. Почти все особи этого вида, населяющие обширный ареал восточноазиатской части материка Евразии, имеют В-хромосомы. Это единственный вид среди млекопитающих, имеющий разнообразные морфотипы В-хромосом, от точечных микро-В-хромосом до макро-В-хромосом, сопоставимых по размеру с самой большой А-хромосомой. В-хромосомы восточноазиатской мыши имеют морфологию, в основном отличную от 48 акроцентрических А-хромосом. При этом они образуют целую систему вариантов комбинаций, отличающихся по числу различной размерности двуплечих В-

хромосом (1-11) и точечных микро-В-хромосом (1-30). Сибирские популяции восточноазиатской мыши имеют широкий спектр изменчивости вариантов системы В-хромосом (1-30) и хорошо отличаются от популяций других мест ее ареала. При всем разнообразии и индивидуальности вариантов системы В-хромосом у отдельных особей, в каждой популяции складывается своя структура совокупности вариантов системы В-хромосом, которая поддерживается при стабильности природных условий на длительных отрезках времени. Для определенных регионов прослеживается закономерность их распределения. В целом данный процесс определяет пространственную мобильность В-хромосом.

Нами обнаружено, что в определенных случаях, при постоянном воздействии возмущающих факторов популяционный баланс вариантов системы В-хромосом может быть нарушен и происходит смена числа и морфотипов В-хромосом. Такой процесс трехкратного увеличения числа В-хромосом, сопровождающийся сменой их морфотипов мы наблюдаем в течение 28 лет в популяции Горного Алтая. Данный регион длительное время подвергается воздействию факторов антропогенной и техногенной природы.

Открытие явления мобильной смены числа и морфотипов В-хромосом в одной из популяций восточноазиатской мыши Горного Алтая за 28 летний период (1980-2008 годы), позволяет по-новому осмыслить их роль в микроэволюции вида и подтверждает значимость В-хромосом для работы генома. В конечном счете, по-видимому, путем изменчивости популяционной вариабельности генома, происходит регуляция численности вида в экосистеме.

ШИРОКИЕ И УЗКИЕ ГИБРИДНЫЕ ЗОНЫ ХРОМОСОМНЫХ РАС ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ *SOREX ARANEUS*

© Борисов Ю.М., Орлов В.Н., Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, boris@sevin.ru

Одним из наиболее продуктивных и широко распространенных подходов к изучению путей становления видовой изоляции является изучение внутривидовых гибридных зон хромосомных вариантов в пределах одного вида. У обыкновенной

Секция II Специализированные структуры хромосом

бурозубки возможное число зон вторичного контакта 18 мономорфных по кариотипам хромосомных рас Восточной Европы, исходя из известных ареалов рас, достигает 30 таких зон. Для большинства из них известно приблизительное расположение зон контакта и только с разной степенью подробности исследованы четыре зоны. В результате целенаправленного поиска на водоразделе рек Волги, Зап. Двины и Пола на юге Валдайской возвышенности мы впервые обнаружили контакт сразу трех хромосомных рас обыкновенной бурозубки: Москва, Зап. Двина и Селигер.

Раса Зап. Двина распространена западнее, раса Москва — восточнее. Раса Зап. Двина в этом районе образует самый северный отрезок зоны контакта с расой Москва. Совместное обитание этих рас отмечено в нескольких пунктах при очень узкой ширине перекрывания ареалов. В данном районе проведена диагностика кариотипов более 300 бурозубок трех рас. Их распространение близко к парапатрическому. В этом районе и севернее этих мест обитает и раса Селигер. Гибриды между ними редки. В исследованном районе граница расы Москва с расами Зап. Двина и Селигер проходит по линии ледниковых озер, следуя изгибу границы Вепсовского ледника, существовавшей 15 тыс. лет назад.

Совершенно иной тип широкой гибридной зоны обнаружен нами между расой Зап. Двина и местными популяциями с одноплечими хромосомами на южной границе расы Зап. Двина в междуречье Днепра и Березины. Всего проведена диагностика кариотипов 80 особей из полиморфных популяций. Популяции Оршанской возвышенности имеют все 5 диагностических двуплечих хромосом расы Зап. Двина, но в отличие от остальной известной части ареала этой расы, три метацентрика из них полиморфны.

Южнее этой возвышенности, в бассейне р. Бобр (левый приток Березины) в популяциях обыкновенных бурозубок не обнаруживается одной двуплечей хромосомы, характерной для расы Зап. Двина. Далее на юг в популяциях не обнаруживается 3-4 двуплечих хромосом Зап. Двины. Согласно международной номенклатуре этих бурозубок из окрестностей г. Борисов мы отнесли к новой хромосомной расе Борисов.

В популяции окрестностей Березино у нескольких бурозубок имеется метацентрик h/k расы Зап. Двина в гетерозиготном состоянии, т.е. ее кариотип аналогичен расе Туров, впервые описанной в бассейне реки Припять. У других бурозубок из этой популяции все диагностические хромосомы представлены акроцентриками.

Несомненный градиент убывания частоты метацентриков расы Зап. Двина с севера на юг на протяжении 150 км указывает на гибридный характер этого полиморфизма. Вероятно, раса Зап. Двина расселялась с севера в ареале местных популяций с акроцентрическими хромосомами и образовала гибридную зону.

Полиморфны не только исследованные нами популяции расы Зап. Двина, но и все изученные популяции на территории Белоруссии — расы Беловеж, Лепель, Туров и Бобруйск. Все они также могли формироваться в послеледниковье в процессе интрогрессии метацентриков в местные популяции с акроцентрическими хромосомами.

Таким образом, и в случае узкой и широкой зон гибриды плодovиты. На примере обыкновенной бурозубки мы видим, что изолирующие механизмы все еще остаются неясными.

PRIMATE CHROMOSOME EVOLUTION: MARKER ORDER AND NEOCENTROMERES

© Stanyon R., Department of Evolutionary Biology, University of Florence, Via del Proconsolo 12, Florence, Italy

The centromere has a pivotal role in structuring chromosomal architecture. Classically, centromere position was considered highly conserved and comparative cytogenetics emphasized Robertsonian fissions and fusions as well as pericentric inversions as the principle mechanisms in the transformation of species diploid ($2n$) and fundamental numbers (number of chromosome arms). However, we now know that centromeres can shift their position, activate and deactivate in different positions along the chromosomes. Neocentromeres are changes in the location of the functional centromere without any change in marker order. Over the last two decades over 90 clinical cases of neocentromeres have been described. As in neocentromeres Evolutionary New Centromeres (ENC) are those found in a novel chromosomal region without any change in marker order. ENC are always accompanied

by the inactivation of the old centromere. The new centromere usually then becomes fixed in the species. Studies now have demonstrated that centromere shifts in evolution are not rare and must be considered on a par with other chromosome rearrangements such as translocations, inversion, duplications and deletions. In cytogenetics chromosome breakpoint or centromere shifts can be initially identified on the basis of banding. Confirmation of centromere shifts normally uses molecular cytogenetic techniques mostly by establishing marker order with BAC-FISH. Using BAC-FISH in a phylogenetic array of primates species ENC were revealed in many human homologs and in particular chromosome 3, 6, 9, 10, 11, 14, 15, 20 and X. Recently, a comparison between human and macaque clarified how very frequent ENC are in primate evolution. Between macaques and humans which diverged about 25 million years ago there are 14 ENCs, nine ENCs occurred in macaque lineage and five occurred in the human lineage. Intriguingly, there is evidence that clinical neocentromeres and ENCs are related. From the human clinical data it is known that neocentromeres cluster at "hotspots": 3q, 8p, 13q, and 15q. Knowledge of evolutionary new centromeres, provides a cogent explanation for the unusual clustering of human clinical neocentromeres at 15q25; this is the domain of an inactivated ancestral centromere. Many human neocentromeres were found in 3q often near 3q26 chromosomal region where a ENC formed in New World primates. Recently there is a report on a neocentromere in chromosome 6; ChIP-on-chip exactly defined the neocentromere as lying at chr6:26,407-26,491 kb. We investigated in detail the evolutionary history of chromosome 6 in primates and found that the Primate ancestor had a homologous chromosome with the same marker order, with the centromere located at 6p22.1. Clearly, an evolutionary perspective can provide compelling underlying explicative grounds for contemporary genomic phenomena.

ДОБАВОЧНЫЕ ХРОМОСОМЫ, СЕГМЕНТНЫЕ ДУПЛИКАЦИИ И ЭВОЛЮЦИЯ

© Трифонов В.А.¹, Найдено П.В.¹,
Юдкин Д.В.¹, Воробьева Н.В.¹,
Нестеренко А.И.¹, Беклемишева В.Р.¹,
Рубцова Н.В.¹, Ларкин Д.В.², Фергюсон-
Смит М.А.³, Графодатский А.С.¹, ¹Институт
химической биологии и фундаментальной

медицины СО РАН, Новосибирск,
²Университет Иллинойса, США ³Центр
сравнительной геномики, Кембриджский
университет, Великобритания

Секвенирование новых видов видов эукариот выявило наличие неожиданно большого количества сегментных дупликаций генома. С одной стороны, амплификация крупных геномных сегментов является первым шагом к формированию семейств генов, с другой стороны, участки, обогащенные сегментными дупликациями, являются горячими точками хромосомный перестроек. Оба этих свойства свидетельствуют о значительной роли сегментных дупликаций в эволюции геномов эукариот.

В- или добавочные хромосомы присутствуют в кариотипах многих видов из разных таксонов эукариот и их функция в геноме так же, как и их молекулярный состав остаются в большинстве случаев неисследованными. После обнаружения консервативных копий гена C-KIT на добавочных хромосомах лисиц и енотовидных собак (Graphodatsky et al., 2006) встал вопрос о присутствии других генов в В-хромосомах этих и других видов. Мы разработали подход, основанный на отборе кДНК последовательностей, специфичных для добавочных хромосом, который заключается в гибридизации тотальной библиотеки последовательностей кДНК с библиотекой сортированных В-хромосом и последующем отборе гибридов. В результате были получены кДНК библиотеки В-хромосом лисицы (*Vulpes vulpes*, Canidae, Carnivora), сибирской косули (*Capreolus pygargus*, Cervidae, Artiodactyla), серой мазамы (*Mazama gouazoubira*, Cervidae, Artiodactyla) и копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*, Cricetidae, Rodentia). Анализ библиотек показал наличие в В-хромосомах этих видов копий различных протяженных аутосомных сегментов, а в некоторых случаях была обнаружена амплификация генов домашнего хозяйства.

Обнаружилось, что В-хромосомы сибирской косули (*Capreolus pygargus*, 2n=70+8В) содержат амплифицированный район размером около 900 тпн, гомологичный участку хромосомы 3 коровы и содержащий большую часть таких важных генов как TNNI3K и LRR44. Интересно, что данный район хромосомы 3 коровы

обогатен сегментными дупликациями. Добавочные хромосомы серой мазама (*Mazama gouazoubira*, $2n=70+3B$) содеожат гены из трех разных аутосомных участков, гомологичных участкам хромосом 7, 10 и 29 коровы. Кроме того, мы обнаружили новые классы повторяющихся последовательностей, присутствующих на добавочных хромосомах.

Феномен наличия В-хромосом у исследованных видов связан с амплификацией участков генома и их поддержания в автономной группе сцепления. Первоначальное накопление добавочных хромосом в популяции могло происходить при наличии благоприятного эффекта этих элементов либо в результате мейотического драйва.

Хотя вопрос об экспрессии В-хромосомых копий генов остается открытым, показанный нами феномен амплификации разнородных протяженных участков генома свидетельствует о новой форме эволюции кариотипа и согласуется с фактом наличия в секвенированных геномах неожиданно большой вариации числа копий протяженных последовательностей и сегментных дупликаций. Гетерогенность молекулярного состава добавочных хромосом у разных видов млекопитающих позволяет рассматривать их как автономно сегрегирующие блоки тандемных дупликаций генома. Автономность добавочных хромосом и наличие функционирующих центромер делает эти элементы потенциальными затравками для формирования новых групп сцепления, а также повышает общую нестабильность генома, тем самым повышая пластичность кариотипа и ускоряя его эволюцию. Вариабельность по копияности дублицированных сегментов в разных В-хромосомах значительно усиливается полиморфизмом по числу добавочных хромосом, делая В-хромосомные сегментные дупликации гипервариабельными элементами генома.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ У РЕСНИЧНЫХ ЧЕРВЕЙ (*PLATHELMINTHES*, *TURBELLARIA*, *TRICLADIDA*) ОЗЕРА БАЙКАЛ: СВЯЗЬ С ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ ЖИЗНИ И ЭВОЛЮЦИЕЙ

© Королева А.Г., Кирильчик С.В., Тимошкин, О.А., Лимнологический институт СО РАН, Иркутск E-mail: kir@lin.irk.ru

В последнее время возрос интерес к изучению структуры терминальных районов хромосом (теломер) в связи с их вероятным участием в процессах старения клетки. Существуют данные, подтверждающие корреляцию продолжительности жизни (ПЖ) разных организмов с размером их теломер: с каждым клеточным делением теломеры укорачиваются. Однако у некоторых организмов такой корреляции не обнаруживается. Целью данной работы явилось определение корреляции длины теломер с ПЖ у ресничных червей оз. Байкал. Эти организмы интересны тем, что длина их тела положительно коррелирует с возрастом: чем планария больше, тем она старше. Нами было исследовано 11 видов планарий, которые имеют разные размеры и находятся в разной степени родства. Для определения длины теломер использовали различные молекулярные методы — рестрикция ДНК эндонуклеазами, не имеющими сайтов рестрикции в теломерных районах, ПЦР, гель-электрофорез, Саузерн-блоттинг, гибридизация с теломерными зондами, мечеными биотином, детекция с использованием щелочной фосфотазы и др. Было обнаружено, что длина теломер у байкальских планарий варьирует от 25 до 50 тпн и не зависит от длины тела, то есть от возраста планарии. Как у видов-гигантов, так и у видов с нормальной длиной тела длина теломер имела близкие значения. Например, у *Baikaloplana valida*, которая может достигать 60 см, и у *Baikalobia copulatrix*, вырастающей до 2 см, длина теломер составила в среднем 50 тпн. Однако была выявлена необычная закономерность — у короткоживущих видов с длиной тела 2-3 см длина теломер в процессе онтогенеза уменьшается, как у большинства организмов, в том числе и у человека, а у потенциально долгоживущих видов-гигантов на определенном этапе развития она начинает увеличиваться. Так, у вида с

нормальной длиной тела *Baikalobia guttata* особи в размерном ряду 0,5, 1 и 2 см длина теломер составляла 40, 30 и 25 тпн соответственно. У гиганта *Sorocelis hepatizon* особь размером 2 см имела теломеры длиной 22 тпн, а особь размером 7 см имела более длинные теломеры — 25 тпн. Можно предположить, что механизм поддержания и даже увеличения длины теломер является неким приспособлением, позволяющим гигантам достигнуть своих размеров, стать половозрелыми и оставить потомство, то есть это некая вынужденная иммортализация всего организма, связанная с каким-то решающим событием в филогенезе этих организмов, а так же с условиями их обитания.

Для выявления возможной связи между размером теломер и эволюционной близостью организмов, были построены филогенетические деревья исследуемых видов на основе полученных нами последовательностей гена 18S рРНК. Последовательности были выровнены и имели длину 612 пн. Матрицу генетических расстояний получали с использованием модели Кимуры, и использовали для построения филогенетических деревьев методами: объединение ближайших соседей, минимальная эволюция, попарное невзвешенное кластирование с арифметическим усреднением и максимальная экономия. В итоге получали деревья близкой топологии. При анализе родственных отношений исследуемых видов и изменений длины теломер не выявлено закономерностей и коррелятивных связей этой характеристики с эволюционным возрастом. Разброс по длине теломер составил от 25 до 50 тпн во всех филогенетически обособленных группах. Межвидовые отличия в длине теломер были не столь значительными, нежели межродовые. Также выяснилось, что построенное нами филогенетическое дерево согласуется с последними морфологическими данными. Данные по скорости мутирования гена 18S рРНК указывают, что гигантские виды являются более молодыми. Вероятно, необычный механизм поддержания их теломер возник относительно недавно и может иметь адаптивную природу.

ЛАЗЕРНАЯ МИКРОДИССЕКЦИЯ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

© Подгорный О.В., Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Российское представительство Компании Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Москва. olegpodgorny@inbox.ru

В связи с возросшей в последнее время чувствительностью молекулярных методов исследования необходимым стало условие получения гомогенного начального материала. Среди различных способов получения такого материала лазерная микродиссекция является, пожалуй, одним из наиболее контролируемых подходов. С помощью современных методов лазерной микродиссекции можно выделить одну единственную клетку или даже хромосому для последующего анализа.

Недавно Компания Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH представила новую систему для лазерной микродиссекции Leica LMD7000. Принцип работы системы заключается в следующем. Образец, например срез ткани, помещается на специальную мембрану-носитель, которая обладает высокой поглощающей способностью в ультрафиолетовой области. Готовый препарат устанавливается на моторизованный предметный столик прямого микроскопа. С помощью CCD-камеры «живое» изображение препарата передается на компьютер. На полученном изображении задается область или несколько областей для микродиссекции. Сфокусированный объективом микроскопа луч импульсного ультрафиолетового лазера с помощью управляемых зеркал движется вдоль границ заданных областей, делая разрез путем так называемой «холодной абляции» мембраны-носителя и биологических тканей. Вырезанная таким образом область под действием силы тяжести свободно падает в коллектор для сбора материала, находящийся непосредственно под препаратом.

Система для лазерной микродиссекции, построенная по такому принципу, имеет целый ряд достоинств. Во-первых, она позволяет использовать набор объективов с широким диапазоном увеличений, начиная с объектива X5 для вырезания больших фрагментов со срезов тканей и заканчивая новым «сухим» объективом X150 для

Секция II Специализированные структуры хромосом

вырезания хромосом. Во-вторых, благодаря тому, что система интегрирована в универсальный микроскоп, то изучение образцов с целью поиска областей для микродиссекции можно проводить как с помощью обычных методов контрастирования (светлое поле, темное поле, фазовый контраст, контраст Номарского, поляризованный свет), так и с помощью флуоресценции. Более того, оптическая схема дает возможность «в живую» наблюдать процесс микродиссекции как в режиме проходящего света, так и в режиме флуоресценции. Это обеспечивает постоянный контроль процесса со стороны экспериментатора. В-третьих, благодаря тому, что коллектор расположен непосредственно под препаратом, его можно заполнять любым буферным раствором или культуральной средой. Последнее позволяет легко вырезать живые клетки из адгезивных клеточных культур для последующего рекультивирования. Кроме того, такая схема расположения обеспечивает легкую инспекцию коллектора с целью оценки результата микродиссекции.

Система для лазерной микродиссекции Leica LMD7000 полностью автоматизирована и имеет программное управление. Для исследуемых образцов и вырезанных объектов предусмотрен широкий спектр носителей и коллекторов, что дает возможность работать с парафиновыми, криостатными и вибраторными срезами, мазками, хромосомными препаратами, а также и с живыми клетками. Все это в совокупности с перечисленными выше достоинствами обеспечивает гибкость системы и простоту в решении широкого спектра фундаментальных и прикладных задач в таких областях как молекулярная и клеточная биология, цитогенетика и биохимия.

Секция III
Хромосомы митохондрий

**ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИСКОПАЕМОЙ
ДНК *CAPREOLUS PYGARGUS*
ДЕНИСОВОЙ ПЕЩЕРЫ;
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ВЗАИМООТНОШЕНИЯ С
СОВРЕМЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ**

© Воробьева Н.В.¹, Дружкова А.С.¹,
Бабенко В.Н.², Цыбанков А.А.³, Васильев С.К.³,
Шуныков М.В.³, Графодатский А.С.¹,
¹Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН,
²Институт цитологии и генетики СО РАН,
³Институт археологии и этнографии СО
РАН. Новосибирск

Комплексные исследования плейстоценовых отложений центрального зала Денисовой пещеры, начатые в 1993 году, наряду с археологическими и антропологическими исследованиями включали геохронологию, петрографию, палеогеографию, палинологию (изучение состава пыльцы и спор), а также морфологическое изучение костных останков млекопитающих и птиц. Обнаруженные костные останки 27 видов крупных млекопитающих принадлежали как ныне живущим (косуля, архар, лошадь, бизон), так и вымершим (пещерный медведь, пещерная гиена) животным. Представлялось интересным провести молекулярно-генетические исследования ДНК этих животных, с точки зрения филогенетических взаимоотношений с ныне живущими видами.

Основной проблемой подобных исследований является сохранность ДНК в костных образцах. Известно, что для выделения древней ДНК необходимы кости животных, обнаруженных либо в вечной мерзлоте, либо в сухих пещерах, что не относится к Денисовой пещере. Ситуация также сильно осложняется тем, что большинство костей, относящихся к позднему плейстоцену, прошли через пищеварительный тракт гиен. Тем не менее, существенное изменение условий выделения, применение полногеномной амплификации (WGA) и использование внутренних праймеров позволили нам выделить и генотипировать 11 образцов древней ДНК косуль из 2-5 слоев раскопа (II век н.э. — 3 тыс. лет до н.э.). Так как митотипы косули сибирской исследовались только в Китае, мы также выделили ДНК и

генотипировали 19 современных косуль Алтая, Якутии и Новосибирской области.

Анализ филогенетического древа митотипов древних и современных косуль Китая и Сибири показывает, что в период позднего голоцена в Горном Алтае произошла смена популяций косули, примерно совпадающая по времени с последним похолоданием. Популяция, филогенетически близкая якутским и манчжурским косулям, была замещена современной, более близкой к подвиду косули сибирской. Полученные нами результаты по генотипированию современных косуль Сибири ставят под сомнение принятые границы подвидовых ареалов косули сибирской.

**MTDNA AND Y-CHROMOSOMAL
VARIATION IN POPULATIONS OF SAKHA
(YAKUTIA)**

© Fedorova S.A.¹, Villems R.²,
Khusnutdinova E.K.³, ¹Department of Molecular
Genetics, Yakut Research Center of Complex
Medical Problems, Russian Academy of Medical
Sciences, Yakutsk, sardanafedorova@mail.ru
²Department of Evolutionary Biology,
University of Tartu and Estonian Biocentre,
Tartu, rvillems@ebc.ee ³Institute of
Biochemistry and Genetics, Ufa Research
Center, Russian Academy of Sciences, Ufa,
elzakh@rambler.ru.

Northeast Eurasia up high arctic was colonized by modern humans at least 30 thousand years ago. The consecutive archaeological cultures in the territory of Sakha (Yakutia) hint at multiple waves of migrations from southern territories surrounding upper reaches of Yenisey, Lake Baikal and Amur River. To elucidate the human colonization process in Northeast Eurasia mtDNA and Y chromosome lineages variation was analyzed in populations of Sakha (Yakutia). We have studied phylogeography of eastern Asian mtDNA haplogroups CZ and D, most frequent in Siberia, and a minor haplogroup R1. Complete mtDNA sequence data were used to find new informative markers for high-resolution genotyping of seven populations of Sakha: Evenks, Evens, Yukaghirs, Dolgans, Central, Vilyuy and Northern Yakuts. Extended analysis of mtDNA and Y chromosome variation confirms that Yakutia was colonized from the regions west and eastward of Lake Baikal with minor gene flow from Lower Amur/Southern Okhotsk region and/or Kamchatka. Traces of

gene flow to Yakutia from the Caucasus/Middle East area through southern Siberia was shown on the bases of mtDNA haplogroups HV1, H20, H8 and R1, respectively. The phylogeographic pattern of mtDNA haplogroups Z1a and D4e3 and Y-chromosomal haplogroup N1c indicates deep common ancestry of populations of circumpolar zone of Eurasia from Yakutia till Scandinavia.

Секция IV
Хромосомы и эволюция

ГЕТЕРОХРОМАТИН И РЕКОМБИНАЦИЯ В ЭВОЛЮЦИИ КАРИОТИПОВ САРАНЧОВЫХ

© Высоцкая Л.В., Корниенко О.С.,
Новосибирский государственный
университет, vysot@fen.nsu.ru

Сложилось устойчивое представление о том, что гетерохроматин препятствует внутрихромосомной рекомбинации или значительно снижает ее. Об этом убедительно свидетельствуют как результаты гибридологического анализа многих объектов, в первую очередь *Drosophila melanogaster*, так и микроскопические наблюдения за расположением хиазм. Одна из часто цитируемых работ принадлежит М.Уайту и сделана она на саранчовом *Bryodema tuberculatum* (White, 1954). У этого вида формируются так называемые, локализованные хиазмы: в пятом и одиннадцатом бивалентах хиазма всегда расположена дистально, в остальных наблюдаются проксимальные хиазмы. Именно для пятой и одиннадцатой пар хромосом характерны крупные блоки прицентромерного гетерохроматина, по мнению М.Уайта, «отодвигающего хиазмы к дистальному району».

Исследование мейотического синапсиса и рекомбинации хромосом у многих видов саранчовых демонстрирует разнообразие вариантов отношений между гетерохроматином и мейотической рекомбинацией.

Прежде всего, крупные блоки гетерохроматина не всегда «отодвигают» хиазму. Начнем с примера, описанного М.Уайтом. У изученных нами 6 видов трибы *Bryodemini*, в том числе и *B. tuberculatum*, расположение рекомбинационных обменов одинаково и совпадает с направлением синапсиса гомологов: в пятом и одиннадцатом бивалентах с дистального района, в остальных — с проксимального, причем, в десятом и одиннадцатом бивалентах синапсис распространяется на всю длину бивалентов, в то время как в остальных биалентах остается несинаптированной значительная часть хромосом. Интересно, что десятая и одиннадцатая пары хромосом у разных видов трибы могут отличаться по размерам прицентромерного С-гетерохроматинового блока. Однако обмены

у них локализованы по-разному вне зависимости от размеров С-блока.

Детальный анализ расположения хиазм у этих видов показал, что проксимальная хиазма в некоторых бивалентах располагается в непосредственной близости от прицентромерных С-блоков. В случае, когда прицентромерный С-гетерохроматин представлен двумя блоками, хиазма может формироваться между ними. В этом случае мы обнаруживаем, что при образовании осей хромосом прицентромерный гетерохроматин оказывается в составе боковых петель и не препятствует синапсису и последующей рекомбинации в близлежащих районах.

Аналогичная ситуация у многих видов с двуплечими хромосомами в наборе, например у *Glyptobothrus biguttulus*, где прицентромерный С-гетерохроматин не влияет на образование синаптонемного комплекса (СК), и он оказывается единым для всего бивалента, что, по-видимому, приводит к распространению интерференции через центромерный район. В то время как в крупных (до 30% длины плеча) прицентромерных С-блоках у *Stauroderus scalaris* ось прерывается и, таким образом, синаптонемный комплекс в бивалентах, образованных двуплечими хромосомами, оказывается разорванным. Это приводит к тому, что интерференция не распространяется через центромерный район и плечи хромосом в отношении формирования хиазм ведут себя как акроцентрики.

Сравнительный анализ многих кариотипов видов саранчовых в сопоставлении с известными представлениями об их филогенетических связях позволил прийти к выводу, что в эволюция семейства сопровождается снижением рекомбинационной изменчивости. Один из механизмов уменьшения количества обменов связан с ограничением синапсиса гомологов и возникновением протяженных эухроматиновых районов хромосом, исключенных из рекомбинации. Второй механизм заключается в уменьшении числа хромосом за счет Робертсоновских транслокаций. Возникшие двуплечие хромосомы отличаются по характеру распределения рекомбинационных обменов от акроцентриков, вступивших в слияние, при этом число обменов у метацентриков

становится меньше. Возникновение крупных блоков гетерохроматина, разрывающих СК, возвращает акроцентрический тип распределения обменов и увеличивает их число, что мы наблюдаем у видов с крупными блоками С-гетерохроматина.

EPIGENETIC MECHANISMS IN EVOLUTION BY GENE DUPLICATIONS: NATURAL SELECTION FAVORS CPGS IN CODING REGIONS OF HOX GENES

© Rodin S. N., Branchiamore S., Riggs A.,
Division of Theoretical Biology, Beckman
Research Institute of City of Hope, Duarte, CA
91010, USA srodin@coh.org

Since 1975, CpG methylation is widely accepted as a heritable (yet flexible) epigenetic mechanism for gene regulation (Holliday, Pugh, 1975; Riggs, 1975). Furthermore, our genome-wide analyses show that epigenetic stage/tissue non-overlapping silencing may greatly assist in evolutionary shaping new function(s), in the first place due to saving extra gene copy from otherwise inevitable degradation in a pseudogene, often this survival being associated with translocations and significant mutational asymmetry (Rodin & Riggs, 2003; Rodin & Parkhomchuk, 2004; Rodin et al., 2005, 2006). In this message, we report the results of comprehensive study of CpG dinucleotides in coding regions of mammalian HOX genes that strongly support and further develop the idea. The main new result is that the CpG frequency at silent positions of HOX genes dramatically exceeds the value that one would expect for such mutable sites. Especially telling in this regard are the cases of two neighboring codons XCG-GXX and XCC-GXX for which an unusually high rate of G↔C transversions (compared to G→T, C→A, and C→T, G→A) is observed at the third (synonymous) position of the first codon. Remarkably, this is the only type of base substitutions that does not change the CpG density. Moreover, these G↔C mutations preserve CpGs virtually at the same sites. We have analyzed these cases in detail, along with some other (also the genetic code-based) tests, in a number of genome-wide comparisons: HOX vs. other genes, paralogs vs. orthologs, exons vs. introns, 5'UTR vs. 3'UTR, etc. These comparisons unambiguously show that neither the G+C content, nor codon bias, nor potential constraints from anti-sense strands (both regulatory and caused by in-frame antisense translation) — none of these and some other well-known factor(s) is likely to

be responsible for this CpG maintenance in silent positions of coding regions. Furthermore, this CpG maintenance seems to be a quite distinctive feature of HOX genes that correlates with their high methylation (Rauch et al., 2009). Taken together, our results suggest very strong natural selection acting in a favor of CpG methylation in coding regions of HOX genes. Furthermore, flexible epigenetic mechanisms (such as CpG methylation) that can radically change the gene duplicates' fate, shifting evolution from loss to gain of new functions, and the corresponding form of selection seem to be critically important just for genomes of organisms with a relatively small N_e , i.e. higher organisms with complex, slow development and a long reproductive cycle. Interestingly, the most "distinguished" in this respect is a human genome. In the CpG methylation-mediated epigenetic regulation of developmentally important genes such as HOX, we also see the resolution of the proverbial G-value paradox. Moreover, the methylation-sensitive CGN code for arginine, the amino acid that most often provides direct interactions of regulatory proteins with DNA targets. At the same time, enzymatic methylation makes CpG a highly mutagenic site. It may not be a simple coincidence inasmuch as life experimenting with epigenetic silencing can easily embody an advantage (if found) by mutations at the same location of regulatory genes thus notably promoting adaptive evolution. Again, this mechanism looks critically important just for higher organisms with a small N_e .

MOLECULAR LANDSCAPE AND EVOLUTIONARY PLASTICITY OF CHROMOSOME ARMS IN MALARIA MOSQUITOES

© Sharakhov I.V., Xia A., Sharakhova M.V.,
Tu Z., Bailey J., Leman S., Virginia Tech,
Blacksburg, USA, igor@vt.edu

The non-uniform distribution of genome rearrangements between closely related species and among chromosomal arms within a species is now well documented. In malaria mosquitoes, the high level of 2R arm inversion polymorphism results in diverse ecological adaptations and behaviors. The evolutionary forces responsible for the non-uniform distribution of polymorphic and fixed inversions are unknown. To gain a better understanding of the evolutionary forces that affect origin, maintenance, and subsequent fixation of inversions, conserved synteny blocks

and breakpoint regions were identified among *Anopheles gambiae*, *An. funestus*, and *An. stephensi*. Genomic landscapes of each chromosomal arm were characterized using a variety of Bayesian statistical methods. The analysis of the inversion fixation pattern revealed the highest rates on the sex (X) chromosome, which contrast with the absence of polymorphic inversions on X in all three species and agrees with the underdominance model. The molecular analysis of the *An. gambiae* genome identified the highest densities of microsatellites, minisatellites, satellites, and transposable elements (TEs) on the X chromosome suggesting the rapid inversion generation on the sex chromosome. The inversion fixation rates on autosomes correlated with the distribution of polymorphic inversions and were the fastest on 2R. Among autosomes, 2R had the highest overall density of microsatellites and segmental duplications, indicating that this arm is prone to breakage. In contrast, 2L, 3R, and 3L arms had greater densities of matrix attachment regions (MARs), suggesting a role of nuclear architecture in restricting intrachromosomal interactions. Moreover, the 2R arm had the lowest rate of across-three-species synteny block preservation, which indicates its tolerance to gene order disruption. Finally, 2R had the highest density of genes—material for natural selection—and only 2R polymorphic inversions captured similar sets of genes in distant species: *An. gambiae*, *An. funestus*, and *An. stephensi*, suggesting that natural selection frequently acted on 2R inversions creating parallel epidemiologically important adaptations. These results demonstrate that chromosomal arms can have very different evolutionary histories and that the propensity for generating rearrangements and adaptive selection are responsible for the high evolutionary plasticity of chromosomes.

ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОФОНДОВ ВИДОВ РОДА *CHIRONOMUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) В ГОЛАРКТИКЕ

© Гундерина Л. И., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, gund@bionet.nsc.ru

В настоящее время в роде *Chironomus* насчитывается 94 вида. 63 из них обитают в Голарктике: 42 вида в Палеарктике, 13 — в Неарктике. 8 видов являются голарктическими — их ареалы охватывают как Палеарктическую, так и Неарктическую

зоогеографические зоны. Географические барьеры, разделяющие палеарктическую и неарктическую части ареала голарктических видов — Тихий и Атлантический океаны — в современных условиях являются непреодолимыми для хирономид. Поэтому палеарктические и неарктические популяции этих видов географически изолированы друг от друга. Не влияя на скорость мутационного процесса, географическая изоляция способствует накоплению мутаций, специфических для каждой из популяций, что приводит к появлению генетического разнообразия популяций в ареале вида. Усиление генетической дифференциации географически изолированных популяций может вызвать их репродуктивную изоляцию и последующее преобразование в новые виды. Однако в более отдаленные геологические времена хирономиды могли перемещаться из Евразии в Северную Америку и обратно по Берингову мосту или через Гренландию. В этих условиях степень дифференциации палеарктических и неарктических популяций голарктических видов является следствием разнонаправленных процессов. С одной стороны, изоляция на разных континентах приводит к увеличению генетической дифференциации палеарктических и неарктических популяций, с другой, миграции хирономид с одного континента на другой вызывают ее снижение.

Изучение кариофондов (наборов последовательностей дисков в хромосомах кариотипа) пяти голарктических видов рода *Chironomus* (*C. anthracinus*, *C. entis*, *C. plumosus*, *C. tentans*, *C. pallidivittatus*) показало значительное различие их состава в палеарктических и неарктических популяциях. В состав кариофондов голарктических видов хирономид входят последовательности дисков (BS) трех географических типов: палеарктические (pBS) (25.0-65.5%), неарктические (nBS) (17.2-39.1%) и голарктические (hBS) (10.0-50.0%). hBS поддерживают цитогенетическую целостность видов, pBS и nBS обеспечивают межконтинентальную дифференциацию популяций. В кариофондах палеарктических популяций голарктических видов хирономид отсутствуют nBS, а в неарктических популяциях — pBS. Голарктические виды существенно отличаются от палеарктических и

неарктических (эндемичных) видов по составу кариофондов. В кариофондах эндемичных видов представлены последовательности двух типов — эндемичные (pBS или nBS) (80-100%) и hBS (0-20%). Ни у одного из голарктических видов доли pBS и nBS в кариофонде не достигают уровня, характерного для палеарктических или неарктических видов.

Сравнение кариофондов показало, что общим для всех голарктических видов хирономид является то, что в Евразии кариофонды популяций дифференцированы в той же степени, что и в Северной Америке, а кариофонды популяций с разных континентов дифференцированы значительно сильнее, чем на каждом из континентов. Вместе с тем степень межконтинентальной цитогенетической дифференциации у разных голарктических видов хирономид не одинакова. У одних видов (*C. tentans*) цитогенетические различия были столь велики, что в разных зоогеографических зонах эти популяции были выделены в самостоятельные виды — *C. tentans*, обитающий в Евразии, и *C. dilutus*, населяющий Северную Америку. У других видов (*C. plumosus*, *C. entis* и *C. pallidivittatus*) различия между палеарктическими и неарктическими популяциями были больше, чем в каждой из зоогеографических зон, но не достигали уровня межвидовых различий. У третьих (*C. anthracinus*) — цитогенетические различия между палеарктическими и неарктическими популяциями не превышали уровня, характерного для популяций внутри каждой из зоогеографических зон.

Различие степени цитогенетической дифференциации палеарктических и неарктических популяций голарктических видов хирономид может быть обусловлено такими факторами, как частота мутирования, уровень цитогенетической изменчивости популяций, «эффект основателя», интенсивность потока генов между популяциями, эффективная численность, продолжительность географической изоляции популяций. Проведенный анализ показал, что частоты мутирования у голарктических видов рода *Chironomus* сходны; что палеарктические и неарктические популяции голарктических видов хирономид были географически изолированы примерно в одно геологическое время; что в настоящее время

поток генов между палеарктическими и неарктическими популяциями отсутствует; что уровень цитогенетической изменчивости в неарктических популяциях ниже, чем в палеарктических; что эффективная численность неарктических популяций голарктических видов хирономид различна. Следовательно, можно полагать, что основные факторы, влияющие на степень межконтинентальной дифференциации кариофондов у голарктических видов рода *Chironomus*, это — эффективная численность популяций, заселяющих Неарктику, и «эффект основателя».

СЕМЕЙСТВА ГЕНОВ *PMS2* И *POLR2J* КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ЭВОЛЮЦИИ ВЫСШИХ ПРИМАТОВ

© Шпаковский Г.В., Шематорова Е.К., Прошкин С.А., Шпаковский Д.Г., Институт биоорганической химии им М.М. Шемякина и Овчинникова Ю.А., РАН, Москва, gvs@ibch.ru

Одной из важнейших проблем биологии является происхождение и эволюция человека как живого существа. Хотя начало научному осмыслению этого вопроса было положено в 1871 г. Ч. Дарвином в рамках симиальной гипотезы происхождения человека от высоко развитых обезьян третичного периода [1], только через столетие, с середины 70-ых годов прошлого века, начали предлагаться возможные объяснения биологической эволюции человека с позиций молекулярной генетики. Пожалуй, все существующие на сегодняшний день представления о специфических особенностях человека на генетическом уровне и соответствующие им гипотезы о возможных путях молекулярного антропогенеза можно свести к следующим:

1. существенные различия в структуре хромосом человека и других приматов, обнаруживаемые уже на цитологическом и еще более ясно различимые на молекулярном уровне их организации (гипотеза хромосомных различий) [2];
2. множественные различия в регуляции активности генов, прежде всего на уровне транскрипции (регуляторная гипотеза М-К. Кинг и А. Уилсона) [3];
3. утрата целого ряда генов и/или их превращение в неактивные псевдогены («псевдогенизация»), как

необходимые стадии ускорения («спрямления») эволюции предков человека (редукционная “less is more” гипотеза М. Олсона) [4];

4. наличие небольшого числа специфичных для человека или просто адаптивно эволюционировавших генов, функция которых так или иначе связана с развитием мозга и других специфических характеристик человека как биологического вида (гипотеза человек-специфичных генов) [5-7].

Несомненным достижением наступившей постгеномной эры стало осознание того, что одним из важнейших молекулярных механизмов прогрессивной эволюции сложных геномов являются сегментные дубликации, способствующие возникновению новых генных семейств. С точки зрения антропогенеза наибольший интерес представляют относительно недавние, специфичные для высших приматов, дубликации [8].

Мы изучили молекулярную эволюцию двух таких «молодых» генных семейств: генов *POLR2J* системы транскрипции и *PMS2* системы репарации MMR. Выяснилось, что появление и совершенствование генной структуры обоих этих генных семейств четко коррелируют с основными этапами биологической эволюции высших приматов. Именно в течение первого из них, начавшегося около 20 Муа (миллионов лет назад) и приведшего к отделению линии гоминид от эволюционной ветви марьшешек Старого Света (OWM), произошло умножение, дробление и начало диверсификации *PMS2*-подобных генов, обеспечивших в конечном итоге (по-видимому, только у представителей рода *Homo*) возможность разделения некоторых из *PMS2*-опосредованных функций между тремя разными компонентами, способными к формированию аналогов *PMS2*-подобных белков *de novo* по модульному (блочному) принципу из небольших *PMS2L*-полипептидов [9].

Второй этап (с важными общими стадиями, произошедшими 12 и 8 Муа, и специфичными для эволюционной линии, приведшей к роду *Homo*, событиями давностью ~5.7 и 2 Муа) характеризовался возникновением и эволюционным развитием семейства генов *POLR2J* системы

регуляции транскрипции [10]. Он начался у общего предка гориллы, шимпанзе и человека и, вероятно, сыграл важную роль в дивергенции систем регуляции генной экспрессии у этих видов: с помощью дрожжевой двухгибридной системы и биохимических подходов нами обнаружены уникальные взаимодействия новых изоформ субъединицы hRPВ11 РНК-полимеразы II человека с рядом специфических факторов транскрипции и некоторыми компонентами важнейших сигнальных путей эукариотической клетки [11].

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы РАН «Молекулярная и клеточная биология» (направление «Функциональная геномика») и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 07-04-0167).

ЛИТЕРАТУРА

1. Darwin C.R. “The descent of man, and selection in relation to sex” // London: John Murray — 1871 (Volumes 1 & 2; 1st edition).
2. Yunis J.J., Prakash O. Science. 1982, 215, 1525-1530.
3. King M.C., Wilson A.C. Science. 1975, 188, 107-116.
4. Olson M.V. Am. J. Hum. Genet. 1999, 64, 18-23.
5. Nahon J.-L. Genetica. 2003, 118, 193-208.
6. Zhang J. Genetics. 2003, 165, 2063-2070.
7. Evans P.D., Gilbert S.L., Mekel-Bobrov N., Vallender E.J., Anderson J.R. et al. Science. 2005, 309, 1717-1720.
8. Marques-Bonet T., Kidd J.M., Ventura M., Graves T.A., Cheng Z. et al. Nature. 2009, 457, 877-881.
9. Шпаковский Д.Г., Шематорова Е.К., Шпаковский Г.В. Доклады Академии наук. 2006, 408, 699-703.
10. Шпаковский Д.Г., Шематорова Е.К., Шпаковский Г.В. Биоорганическая химия. 2004, 30, 621-625.
11. Прошкин С.А., Шпаковский Г.В. Цитология. 2005, 47, 828-829.

ЧТО ГЕНЫ И ХРОМОСОМЫ ГОВОРЯТ О ПРОИСХОЖДЕНИИ И ЭВОЛЮЦИИ НАСЕКОМЫХ И ДРУГИХ ЧЛЕНИСТОНОГИХ?

© Лухтанов В.А.^{1,2}, Кузнецова В.Г.¹,
¹Зоологический институт РАН и ²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, lukhtanov@mail.ru; karyo@zin.ru

Изучение хромосом на молекулярном (нуклеотидные последовательности) и надмолекулярном (структурные перестройки) уровнях, проводившееся в последние годы в разных лабораториях мира, привело к революционным изменениям в представлениях о происхождении и эволюции насекомых и других членистоногих (Arthropoda).

До начала 90-тых годов 20-го века классической считалась точка зрения, согласно которой класс Hexapoda, объединяющий собственно насекомых (Insecta), а также похожих и, вероятно, родственных им диплур (Diplura), протур (Protura) и коллембол (Collembola), является сестринской группой по отношению к многоножкам (Myriopoda) и имеет лишь отдаленное родство с ракообразными (Crustacea). Однако в конце 20-го и начале 21-го веков анализ ядерных и митохондриальных генов, а также изучение структурных перестроек митохондриальной хромосомы дали убедительное подтверждение гипотезы Pancrustacea, согласно которой насекомые происходят непосредственно от ракообразных, а многоножки не являются их ближайшими родственниками.

Обнаружение одного и того же теломерного мотива TTAGG подтверждает монофилию членистоногих в составе, включающем морских пауков, хелицеровых, многоножек, ракообразных и насекомых, и исключает принадлежность к членистоногим онихофор (Onychophora) и тихоходок (Tardigrada). Данные по строению теломер и митохондриальной ДНК показывают, что пятиустки (Pentastomida), положение которых в системе было неясным и для которых предполагалось родство с такими филогенетически удаленными группами как цестоды, трематоды, аннелиды и членистоногие, являются крайне специализированной группой ракообразных.

Первоначально считалось, что теломеры всех членистоногих организованы сходным образом. Однако затем было показано, что мотив TTAGG отсутствует у некоторых ракообразных и некоторых пауков, а у насекомых он преобладает, но в отдельных группах не выявляется. Планомерные исследования теломерной организации насекомых только начинаются, однако уже ясно, что они вносят вклад в разработку филогении этого класса, в частности, могут выявить родственные отношения между отрядами Diptera, Siphonaptera и Mecoptera, а также пролить свет на происхождение таких энigmatических групп как отряды Strepsiptera и Zoraptera и подотряд Coleorrhyncha.

ДИНАМИКА ВЫСОКОПОВТОРЯЮЩЕЙСЯ ФРАКЦИИ ДНК КАК ИНДИКАТОР ПРОЦЕССА ВИДООБРАЗОВАНИЯ У ВИДОВ СЕМЕЙСТВА POACEAE

© Беляев А.А., Раскина О.М., Институт Эволюции, университет Хайфы, Хайфа, belyayev@research.haifa.ac.il

Динамика высокоповторяющейся фракции ДНК, составляющей до 99% крупных геномов злаков, является ключом к пониманию процессов микроэволюции и видообразования на молекулярном уровне. Нами изучались составляющие этой фракции, и, в первую очередь, мобильные элементы (МЭ), у диплоидных предков культурной пшеницы, в частности, у видов группы Sitopsis (*Aegilops*, *Poaceae*). Одной из первых задач было нахождение на хромосомах «горячих точек» эволюции, т.е. определение районов с повышенным содержанием видоспецифичных нуклеотидных последовательностей. Для выявления в пределах хромосом *Ae. speltoides* районов различной степени консервативности и их физического картирования применялась модификация GISH метода, разработанная нами (Belyayev, Raskina 1998, 2001a). Идея данного подхода заключается в одновременной гибридизации с хромосомами модельного вида смеси двух по-разному меченых геномных ДНК — собственной и другого вида. В результате районы хромосом модельного вида, обогащенные видоспецифичными повторами, флюоресцируют в зеленом спектре. Метод позволил выявить наиболее нестабильные

районы хромосом *Ae. speltoides* первыми меняющие свой нуклеотидный состав в процессе эволюции. Ими оказалось большинство терминальных гетерохроматиновых районов. *A priori* было предположено, что МЭ могут вызывать значительные изменения в нуклеотидном составе этих районов хромосом.

Последующие *in situ* гибридизационные эксперименты, как со смесью фрагментов обратной транскриптазы МЭ, так и с клонированными фрагментами обратной транскриптазы и транспозазы, подтвердили данные GISH и показали, что: (1) МЭ типа *Tu1-copia* и *LINE* образуют крупные кластеры в гетерохроматиновых районах хромосом обогащенных видоспецифичными нуклеотидными повторами, т.е. могут играть определенную роль в преобразовании высокоповторяющейся фракции ДНК при видообразовании; (2) внутривидовая изменчивость хромосомного распределения *Tu3-gypsy* и *Ac* элементов дает возможность предположить, что активность МЭ может вызывать хромосомные аномалии, особенно в популяциях с экстремальными для данного вида условиями внешней среды, и, в первую очередь, в краевых популяциях; (3) возникновение части нерегулярных кластеров рДНК наиболее вероятно связано с активизацией *En/Spm* транспозонов в мейозе.

Основываясь на полученных данных, моделировались реальные процессы, протекающие в небольшой краевой популяции *Ae. speltoides*, когда при неблагоприятных внешних условиях, перекрестно опыляемые растения переходят к самоопылению. Прослежена динамика МЭ, относящихся к разным классам, во время трех циклов самоопыления в геномах модельных растений, характеризующиеся хромосомными aberrациями и несущие дополнительные В-хромосомы (Raskina *и др.* 2004 а, в). Для определения копийности мобильных элементов использовалось два типа ДНК — из листьев и из колосков на стадии микроспорогенеза. Данные по копийности МЭ получены RT PCR, и результаты проверялись методом dot-blot и 454 пиросеквенированием. Было отмечено, что: (1) копийность различных МЭ значительно варьирует у различных генотипов одной популяции и их потомков; (2) обнаружена существенная разница в копийности МЭ между генеративными и

вегетативными тканями одного растения; (3) IRAP-анализ показал, что небольшой процент МЭ может быть транспозиционно активен. Повышенный уровень изменчивости копийности МЭ в ряду поколений при переходе к самоопылению сопровождался интенсивными перестройками кариотипа, что свидетельствует в пользу гипотезы о значительной роли мобильных элементов в стимулировании хромосомных aberrаций.

Принимая во внимание, что изменения паттерна рДНК связано с активностью мобильных элементов и, в то же время, является индикатором видообразования у пшениц (Dubkovsky и Dvorak 1995; Badaeva *и др.* 1996), было проведено сравнительное исследование рДНК хромосомного паттерна растений из двух небольших краевых популяций видов секции *Sitopsis* — перекрестноопыляемого *Ae. speltoides* и самоопыляемого *Ae. sharonensis*. На основе многолетних полевых наблюдений над данными популяциями нами была выдвинута гипотеза о том, что *Ae. sharonensis* является производным видом от *Ae. speltoides* адаптированным к специфичным почвенным условиям. Полученные цитогенетические и молекулярно-генетические данные говорят в пользу этого предположения: в небольшой периферической популяции *Ae. speltoides*, с высоким уровнем активности мобильных элементов классов I и II, постоянно возникают определенные хромосомные перестройки, приводящие к образованию новых геномных форм с *sharonensis*-типом рДНК хромосомного паттерна. Эти формы способны колонизировать близлежащие песчаные почвы недоступные для материнского вида. Таким образом, на основе анализа динамики высокоповторяющейся фракции ДНК можно заключить, что под воздействием меняющихся климатических условий Голоцена в краевых, стрессированных популяциях *Ae. speltoides* идет интенсивный процесс формо- и видообразования.

ДИВЕРГЕНЦИЯ ХРОМОСОМ И ГЕНОМОВ ВИДОВ *AEGILOPS* И *TRITICUM* В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИИ

© Адонина И.Г., Сергеева Е.М., Щербань А.Б., Салина Е.А., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, adonina@bionet.nsc.ru

Кодирующие последовательности ДНК у родственных видов и родов в значительной степени консервативны. Наиболее изменчивую часть геномов составляют различные повторяющиеся элементы, содержание которых у растений варьирует от 15% до 80% генома (Lapitan, 1992; Shapiro and von Sternberg, 2005). Комплементарные взаимодействия между разнообразными повторами лежат в основе изменений (рекомбинация; различные хромосомные перестройки), ведущих к дивергенции хромосом и геномов родственных видов. Индивидуальный «рисунок» повторов служит не только для селективного распознавания гомологичных хромосом во время мейоза в пределах одного вида, но и препятствует скрещиванию близкородственных видов, предотвращая спаривание их хромосом. Важным событием, стимулирующим модификации генома с участием повторяющихся последовательностей, является полиплоидизация. На ее фоне происходят такие изменения, которые невозможны на диплоидном уровне, например межгеномный перенос сегментов хромосом. Для изучения организации и эволюции растительного генома привлекательна модель взаимоотношений близких родов пшениц (*Triticum L.*) и эгилопсов (*Aegilops L.*) На примере их представителей можно изучать изменения «рисунка» повторов хромосом родственных видов и гомеологичных геномов в процессе полиплоидизации, поскольку современные пшеницы и эгилопсы представляют собой естественные полиплоидные ряды. Причем, полиплоидные пшеницы унаследовали А-геном от вида *T. urartu*. Донором В и G геномов с наибольшей вероятностью послужил дикорастущий вид *Ae. speltoides* (один из пяти видов секции Sitopsis). Гексаплоидная пшеница (*T. aestivum*) появилась в результате гибридизации тетраплоидной культурной пшеницы *T. dicocum* с дикорастущим видом *Ae. tauschii* (донор генома D).

Повторяющиеся последовательности *Triticum* и *Aegilops* очень разнообразны. Одни из них собраны в кластеры, другие рассеяны по геному. Крупные кластеры: центромерные, субтеломерные и интеркалярные образованы в основном макросателлитами. Так, например, последовательность рAs1 (Rayburn and Gill, 1986), выделенная из генома *Ae. tauschii*, имеет субтеломерную и интеркалярную локализацию на хромосомах данного вида и на хромосомах D-генома *T. aestivum*. FISH с клоном рScn9.2 (Bedbrook et al., 1980) выявляет множественные субтеломерные и интеркалярные сайты локализации этих повторов на всех хромосомах *Ae. speltoides* (Badaeva et al., 1996) и преимущественно на хромосомах генома В *T. aestivum*. В целом распределение блоков повторов рAs1 и рScn9.2 на хромосомах *T. aestivum* сходно с их распределением в геномах предковых видов *Aegilops*, однако отмечается тенденция к сокращению числа и уменьшению размера блоков этих повторов у гексаплоидной пшеницы (Badaeva et al., 1996; Salina et al., 2006).

Важную роль в узнавании гомологичных хромосом в ходе митоза и мейоза играют их субтеломерные районы. Успешное функционирование генома при образовании аллополиплоида невозможно без изменений в этих районах. Нами показано, что у трех видов *Aegilops* секции Sitopsis субтеломерные районы хромосом образованы главным образом макросателлитами Spelt1 (*Ae. speltoides*) и Spelt52 (*Ae. speltoides*, *Ae. logissima*, *Ae. sharonensis*). Обнаружен полиморфизм распределения повторов между индивидуальными растениями и между гомологичными хромосомами. Число сайтов локализации Spelt1 сокращается до 3-6 на гаплоидный геном у тетраплоидных видов *Triticum*, до 0-1 у *T. aestivum*; 1-3 сайта локализации Spelt52 выявляются только у видов группы Thimopheevi (GA) (Salina et al., 2006). Показано, также, что последовательность, характерной для субтеломерных районов хромосом полиплоидных пшениц и их диплоидных предков является транспозон Caspar (Salina et al., 2009).

Микросателлиты (SSR) — короткие tandemные повторы, которые у злаков диспергированы по геному. Нами показано, что более 80% SSR-маркеров *T. aestivum*

амплифицируются у предковых видов секции *Sitopsis* (Adonina et al., 2005) и занимают главным образом гомеологичное положение в геноме *S* относительно *T. aestivum*. Однако у *Aegilops* на месте SSR-локусов часто выявляются последовательности, не содержащие микросателлита, либо с очень коротким микросателлитным мотивом. Для гексаплоидной пшеницы характерны множественные SSR-локусы, в том числе и в негемеологичных позициях. Их появление можно объяснить сегментными дупликациями.

Основную часть диспергированных повторов у злаков составляют различные мобильные элементы. Нами показана дифференциальная амплификация разных классов мобильных элементов в геномах диплоидных видов *Aegilops* и *Triticum*, которая сохраняется и при полиплоидизации, сопровождаясь частичной гомогенизацией повторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда Президиума РАН по программе «Биологическое разнообразие», проект № 23.28.

ХРОМОСОМНАЯ ПОЛИТИПИЯ ВИДОВ В СВЕТЕ ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРИНЦИПА ВАВИЛОВА — ДАРВИНА

© Булатова Н.Ш., Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, admin@sevin.ru

2009 год отмечен 200-летним юбилеем Дарвина и 150-летием выхода в свет его «Происхождения видов», с которого ведет свое начало современная эволюционная теория. В экспериментальной биологии вторая половина этого периода связана с освоением методов прямого изучения генома и выяснения основных эволюционно-генетических принципов. По Н.И. Вавилову (1932: Процесс эволюции культурных растений // Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Л. Наука. 1987. С. 216-218), важнейшим наследием Дарвина в этом направлении считается географический принцип. Для изучения возможностей применения этого принципа подходят кариологически хорошо изученные группы млекопитающих.

В этом году российская сравнительная цитогенетика млекопитающих достигла своего 40-летия. В ротапринтном сборнике,

изданном ИЦИГ СО РАН под редакцией Н.Н.Воронцова (Млекопитающие. Эволюция, кариология, систематика, фаунистика // Новосибирск. 1969), были представлены первые описания кариотипов большого числа видов диких млекопитающих разных таксономических групп из фауны России и республик СССР. Аккордно возникла школа национальной сравнительной кариологии, создавшая фундамент для новых современных направлений (Раджабли, Графодатский, 1977: Эволюция кариотипа млекопитающих (структурные перестройки хромосом и гетерохроматин). В сб. Цитогенетика гибридов, мутаций и эволюция кариотипа // Новосибирск. СО Наука; Орлов, Булатова, 1983: Сравнительная цитогенетика и кариосистематика млекопитающих // М. Наука), вплоть до молекулярной цитогенетики и сравнительной хромосомики (Графодатский, 2007: Молекулярная Биология. 41). В докладе рассмотрена проблема географического разделения вида на части (хромосомная и геномная политипия) в сравнительном анализе хромосомных и геномных маркеров и данных их совпадения и расхождения на ряде модельных групп (*Mus*, *Microtus*, *Sorex*).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (07-04-00102), и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» по теме: «Экологические и генетические механизмы устойчивости популяций, сохранения редких видов и биоразнообразия» (2009-1.1-141-063-021)

ГИБРИДИЗАЦИЯ ХРОМОСОМНЫХ РАС ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ (*SOREX ARANEUS* L.) НА ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИИ: ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МЕЙОЗ У РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ КОМПЛЕКСНЫХ ГЕТЕРОЗИГОТ

© Павлова С.В., Булатова Н.Ш., Щипанов Н.А., Институт экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, swpavlova@mail.ru

Обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus* L., 1758) является одним из уникальных видов млекопитающих, который в силу особенностей хромосомного полиморфизма образует огромное число внутривидовых хромосомных рас (ХР). В неизменяемой части хромосомного набора *S*.

araneus присутствуют четыре варианта Робертсоновских соединений плеч метацентриков, обозначаемых буквами латинского алфавита, из них три исключительно гомозиготных (*af*, *bc*, *tu*) и одно (*j/l*) подвержено Робертсоновскому полиморфизму. Другие 10 плеч (*g*, *h*, *i*, *k*, *m*, *n*, *o*, *p*, *q*, *r*) у разных рас соединяются в различной последовательности в метацентрики (*gm*, *gi*, *go*, *gr* или *hi*, *hk*, *hn* и т.д., всего 37 вариантов), обнаруживают как внутривидовой, так и Робертсоновский межвидовой полиморфизм и являются диагностическими для ХР. Не менее 70 ХР распространены парapatрично по ареалу вида, от Британских островов до Байкала. В местах контакта ХР образуются различные по типу и структуре гибридные зоны (ГЗ). 23 ХР распространены в пределах России, из них 17 в Европейской части (Павлова и др., 2006: Биogeография, 13). Первый пример гибридизации на европейской территории России открыт на стыке ХР «Москва» (*gm*, *hi*, *kr*, *no*, *pq*) и «Селигер» (*g*, *hn*, *ik*, *mq*, *o*, *pr*), кариологически наиболее удаленных друг от друга в связи с отсутствием гомологичных метацентриков в группе диагностических хромосом. В зоне контакта этих рас обнаружено два варианта кариотипа расы «Москва» (*g/m*), 7 — расы «Селигер» (*g/o*, *m/q*, *p/r*, *j/l*), 5 кариотипических вариантов гибридов F₁ и 2 более сложных рекомбинантных варианта (Павлова и др., 2007: Генетика, 43; Bulatova et al., 2007: Rus. J. Theriol., 6; Pavlova et al., 2008: Comp. Cytogenet., 2). У гибридов, помимо общих с родительскими расами вариантов (*g/m*, *j/l*), отмечены необычные простые (*b/c*) и комплексные (*hm*, *qn* — *hn*, *qm*) гетерозиготы. В мейозе на стадии диакинез-метафаза I у гибридов F₁ (*g/gm/mq/qp/pr/rk/ki/ih/hn/no/o*) обнаружена теоретически ожидаемая и ненарушенная мейотическая конфигурация в виде цепи из 11 элементов (CXI). В отсутствие общих хромосом в кариотипах родительских ХР и при наличии акроцентриков у расы «Селигер» (*g*, *o*) гибридная мейотическая цепь оказывается самой длинной среди известных до сих пор у межрасовых гибридов *S. araneus*. Длинная цепь теоретически подвержена большему риску нарушений сегрегации, чем цепи меньшего размера или кольцевые конфигурации, и это может быть причиной стерильности

гибридов — комплексных гетерозигот по перестройкам Робертсоновского типа. Однако электронно-микроскопическое исследование мейотических делений в распластанных клетках сперматоцитов I порядка на стадии пахитены у гибрида F₁ с дополнительной перестройкой типа WART (*hm,nq*) обнаруживает упорядоченное формирование осевых элементов и синопсис хромосом, составляющих цепочку CXI (*g/gm/mh/hi/ik/kr/rp/pq/qn/no/o*). Образование синаптонемных комплексов (СК) наблюдается также вдоль всей длины аутосомных бивалентов (*bc*, *af*, *tu*, *jl*) и полового тривалента (XY₁Y₂) без видимых участков асинапсиса. Таким образом, материал, полученный в ГЗ «Москва-Селигер», показывает, что формирование мейотической цепи, даже очень длинной (CXI), не может однозначно приводить к стерильности гибридного потомства. Этот вывод также может быть подтвержден присутствием в мейотических препаратах у всех исследованных кариотипических вариантов (гомозигот, простых и комплексных гетерозигот) сформированных сперматозоидов (Pavlova et al., 2008: цит.).

Целенаправленные исследования зон контактов ХР *S. araneus* на европейской территории России привели к обнаружению новых вариантов смешанных кариотипов с диагностическими метацентриками соседних ХР. В мейозе у гибрида F₁ (*gm*, *no*, *hi/hk/ik/kr/rq/pq*) рас «Москва» и «Западная Двина» обнаружен теоретически ожидаемый и ненарушенный мультивалент в виде кольца из 6 элементов (RVI). В другом случае, в мейозе гибрида F₁ (*go*, *hn*, *ip*, *km/mq/qr/kr*) между ХР «Серов» и «Юрюзань» выявлено кольцо из 4 элементов (RIV). Гибридные кариотипы, также связанные с формированием мейотических колец RIV-RVI, найдены для ХР «Кириллов» × «Мантурово» (*gm/mn/no/go*, *hi*, *kq*, *pr*), «Кириллов» × «Печора» (*gi/gm/mo/no*, *hi*, *kq*, *pr*), «Мантурово» × «Сок» (*hi/hn/mn/mr/pr/ip*, *go*, *kq*). Таким образом, перестройки, вызывающие внутривидовой кариотипический полиморфизм ХР *S. araneus*, вне зависимости от числа полиморфных хромосом, по-видимому, не оказывают существенного влияния на ход мейоза.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (08-04-00553), программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие» и ФЦП

«Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» по теме:

«Экологические и генетические механизмы устойчивости популяций, сохранения редких видов и биоразнообразия» (2009-1.1-141-063-021)

ДОМЕННАЯ КОНСЕРВАТИВНОСТЬ БЫСТРО ЭВОЛЮЦИОНИРУЮЩЕГО ГЕТЕРОХРОМАТИНОВОГО БЕЛКА SUUR ДРОЗОФИЛЫ

© Юрлова А.А., Макунин И.В., Колесникова Т.Д., Посух О.В., Беляева Е.С., Жимулев И.Ф., Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, annush@bionet.nsc.ru

Репликация различных районов генома во время S-фазы происходит в разное время. Мутация по гену *SuUR* приводит к изменению времени репликации и уровня политенизации районов интеркалярного и прицентромерного гетерохроматина политенных хромосом слюнных желез *D. melanogaster*, которые в линиях дикого типа поздно реплицируются. Ген *SuUR* кодирует белок, размером 962 аа, имеющий умеренную гомологию в N-концевой части к АТФ-азному домену белков хроматинового ремоделинга группы SNF2/SWI2.

Ортологи *SuUR* были обнаружены у всех отсиквенированных видов дрозофилы, кроме этого, в геноме комара (*Anopheles gambiae*) также был выявлен ортолог со слабой гомологией к гену. Анализ белка (по идентичным аминокислотам) показал, что у него высокая скорость эволюции, сравнимая со скоростью белка Transformer, что позволяет отнести SUUR к руппе быстро эволюционирующих белков. Стоит отметить, что верхняя рамка (uORF), расположенная в 5'-нетранслируемой области гена (5' UTR) у дрозофил более консервативна по сравнению с основным белком SUUR, но она отсутствует у комара. У дрозофилы, несмотря на высокий уровень замен в SUUR, доменная структура и заряд белка сохраняются практически неизменными. Наиболее консервативной является N-концевая часть белка SUUR. Замена двух консервативных аминокислот в этом районе приводит к тому, что белок слабее связывается с хромосомами, также ослабевает его способность вызывать недорепликацию ДНК. В средней части белка, взаимодействующей с белком HP1 в

дрожжевой двугибридной системе, содержится максимальное количество замен, что не мешает сохранению в этом районе положительно и отрицательно заряженных кластеров и сигналов ядерной локализации. С-концевая часть белка представлена перемежающимися консервативными и неконсервативными мотивами, точечные мутации в этом районе не привели к детектируемым изменениям свойств белка в системе эктопической экспрессии. Наши результаты показали, что домены белка SUUR эволюционируют с разной скоростью, но при этом сохраняют свои свойства.

ДЕЛЕЦИОННОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ХРОСОМ КАК ОСНОВА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА ПШЕНИЦЫ И СЕЛЕКЦИИ НОВЫХ СОРТОВ

© Хлесткина Е.К., Салина Е.А., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, khlest@bionet.nsc.ru

Сравнительный анализ геномных карт организмов является основой для понимания процессов дивергенции видов, для изучения структурной организации и эволюции хромосом, для анализа функционально-активных локусов. Клонирование отдельных генов растений на основе их позиции на хромосомной карте, интеграция генов в единую сеть, ответственную за проявление того или иного фенотипического признака, служит основой для дальнейшей селекции новых сортов. Мягкая пшеница является естественным аллополиплоидом с геномной формулой BBAADD (Feldman 2001, The world wheat book, pp. 3-58), в образовании которого принимали участие три диплоидных вида. Сирс (1966, Chromosome Manipulations and plant genetics, pp. 29-45) показал, что хромосомы трех геномов мягкой пшеницы можно разбить на 7 гомеологических групп, внутри которых одна хромосома в экстремальной дозе компенсирует нарушения, обусловленные отсутствием другой. Способность гомеологичных хромосом служить буфером при потере хромосом или их фрагментов привело к созданию коллекций анеуплоидных и делеционных линий. Анеуплоидные линии используют для определения хромосомной локализации молекулярных маркеров и

генов, что значительно облегчает дальнейшее составление молекулярно-генетических хромосомных карт. В свою очередь, насыщение молекулярно-генетических карт новыми локусами часто бывает затруднено ввиду низкого межсортового полиморфизма пшеницы. Поэтому важным дополнением к молекулярно-генетическим картам пшеницы стали построенные в последнее время высоко-насыщенные делеционные карты, получение которых основано не на скрещивании разных сортов, а на анализе набора делеционных линий пшеницы (Qi et al. 2004, *Genetics* 168:701-712). В том числе, в делеционные карты были интегрированы маркеры, получившие широкое применение в молекулярно-генетическом картировании (микросателлитные маркеры), что позволяет в настоящее время сопоставлять и проводить сравнительный анализ между разными типами карт пшеницы: как делеционными, так и генетическими (Sourdille et al. 2004, *Genomics* 4:12-25). Микросателлитные генетические карты были построены как для мягкой пшеницы (Ganal and Röder 2007, *Genomics Applications in Crops*, pp. 1-24), так и для родственных ей видов злаков, являющихся потенциальными донорами агрономически важных признаков, а именно для тетраплоидной пшеницы *T. timopheevii* (Salina et al. 2006, *Funct. Integr. Genomics* 6:71-80) и посевой ржи *Secale cereale* (Khlestkina et al. 2004, *Theor. Appl. Genet.* 109: 725-732). Наличие микросателлитных карт позволяет проводить точное картирование признаков и отбор маркеров для дальнейшей селекции по этим признакам (данный процесс называют MAS — marker-assisted selection). В ходе настоящего исследования проведено молекулярно-генетическое и (или) делеционное картирование более 30 генов мягкой пшеницы и ржи. В частности, были картированы гены, контролирующие устойчивость пшеницы к желтой ржавчине (*Yrns-B1*, хромосома 3BS; Khlestkina et al. 2007, *Euphytica* 153:1-10) и септориозу (*QStb.ipk-7D*, 7DS; Simon, Khlestkina et al. 2009 *Europ. J. Plant Pat.* In press), чувствительность к фотопериоду (*Ppd-B2*, 7BS) и высокое содержание белка в зерне (*QGpc.ipk-7B*, 7BS) (Khlestkina et al. 2009, *Euphytica* 165:579-585). Обсуждается возможность дальнейшего применения полученных результатов в MAS-селекции.

Более 20 картированных нами генов относятся к системе генов биосинтеза флавоноидов, которые известны как своим участием в неспецифической защите растений в условиях абиотического и биотического стресса, так и представляют удобную модель для изучения функциональной организации генов в растительных геномах (Khlestkina et al. 2006 *TAG* 13:801-807; 2008 *MBC Plant Biol* 8:88; 2009 *Ser. Res. Com.* 37: 37-43, 391-398). Для 15 структурных генов биосинтеза флавоноидов нами были выделены полные или частичные нуклеотидные последовательности. При сравнении полученных последовательностей пшеницы и ржи, установлено, что уровень дивергенции как нуклеотидных, так и аминокислотных последовательностей достоверно ниже для генов, задействованных на начальных этапах, по сравнению с генами, участвующими в завершающей стадии биосинтеза. На примере генов биосинтеза флавоноидов (регуляторных генов серии *Rc-1* [red coleoptile] и структурных генов *F3h-1*, кодирующих флавонон-3-гидроксилазу) изучены особенностей функционирования генов в аллополиплоидном геноме пшеницы, где каждый ген представлен как минимум тремя похожими, но не идентичными копиями, а также в гибридных формах, созданных на основе пшеницы, в которых вынуждены “прилаживаться” друг к другу системы генов разных родов злаков. В целом, было выявлено, что в ходе образования аллополиплоидного генома пшеницы, а также геномов отдаленных гибридов на основе пшеницы имела место вполне успешная интеграция систем генов различных видов/родов злаков. Однако на основе сделанных наблюдений мы заключили, что даже если перенос чужеродного гена в геном реципиента и обеспечивает проявление целевого признака у вновь созданной формы, уровень экспрессии может отличаться от такового у исходной донорской формы, в силу структурно-функциональных различий между геномами донора и реципиента.

Работа поддержана грантами: РФФИ 08-04-00368-а, Госконтракт 02.512.11.2256, Интеграционный проект СО РАН № 129.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА НАСЕКОМОЯДНЫХ

© Билтуева Л.С., Воробьева Н.В.,
Перельман П.Л., Графодатский А.С.,
Институт химической биологии и
фундаментальной медицины РАН,
Новосибирск, bilar@bionet.nsc.ru

Базальное положение таксона на филогенетическом древе млекопитающих обуславливает особый интерес к отряду насекомоядных. Большое разнообразие уровней хромосомной изменчивости в отряде представляет собой удобную модель для изучения закономерностей эволюции млекопитающих. Мы исследовали кариотипические взаимоотношения внутри родов и семейств отряда методами современной молекулярной цитогенетики — флуоресцентной *in situ* гибридизацией, где пробами служили наборы сортированных хромосом. На основании анализа 19 видов выявлены точки хромосомных разрывов и установлены блоки консервативных сегментов для каждого вида. Полученные данные позволили провести реконструкцию возможных предковых кариотипов как для отдельной группы видов, так и для отряда в целом.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА ОСНОВНЫХ ТАКСОНОВ ОТРЯДА CETARTIODACTYLA

© Кулемзина А.И., Трифонов В.А.,
Перельман П.Л., Рубцова Н.В., Волобуев В.Т.,
Фергюсон-Смит М.А., Станион Р., Янг Ф.,
Графодатский А.С., Институт химической
биологии и фундаментальной медицины СО
РАН, г. Новосибирск zakal@bionet.nsc.ru

Филогенетические отношения внутри отряда Cetartiodactyla, несмотря на огромное количество работ и постоянный интерес ученых к этому таксону, до сих пор однозначно не установлены. Изучение хромосом видов из ключевых семейств в экспериментах по сравнительному хромосомному пэйнтингу позволило проследить эволюцию кариотипов отряда Cetartiodactyla. Для анализа гомологичных районов в кариотипах представителей пяти семейств китопарнокопытных: Cetacea, Hippopotamidae, Giraffidae, Moschidae и Bovidae были использованы пэйнтинг-пробы человека и верблюда. На основании полученных результатов в совокупности с ранее опубликованными данными нами был реконструирован предковый кариотип

китопарнокопытных (ПКК) с $2n=52-54$. Варьирование числа хромосом связано с неоднозначным статусом ассоциации хромосом, соответствующей CDR1/17(HSA3/21). Показано, что ПКК отличается от предка *Vogelutherian* 4 разрывами и 1 слиянием хромосом. Предложена наиболее вероятная последовательность перестроек хромосом, которая привела к образованию кариотипов современных представителей отряда.

Из молекулярных и морфологических данных известно, что отряд Cetartiodactyla включает в себя Cetacea, в качестве семейства сестринского с семейством Hippopotamidae. В то же время, методом сравнительного хромосомного пэйнтинга не были обнаружены ассоциации хромосом, характерные только для кариотипов гринды (*Globicephala melas*, Cetacea) и гиппопотама (*Hippopotamus amphibius*, Hippopotamidae). Кариотип гринды отличается удивительным консерватизмом и практически не изменился за время эволюции, сохранив все предковые ассоциации. Напротив, кариотип обыкновенного бегемота претерпел множественные перестройки после разделения Cetacea и Hippopotamidae. Возможно, период между появлением Cetartiodactyla и дивергенцией Cetacea и Hippopotamidae оказался слишком мал, чтобы зафиксировались общие ассоциации хромосом для этих семейств.

В ходе работы была выявлена ассоциация HSA 8/9, которая характерна не только для Cetacea, но и для других семейств китопарнокопытных, исключая Camelidae, что подтверждает объединение Cetaceae и Artiodactyla в один таксон Cetartiodactyla. Установлено, что множественные перестройки (4 слияния, 9 разрывов и 16 инверсий) сформировали из ПКК кариотип общего предка группы семейств Rocoга, который существовал примерно 45 млн. лет назад. Предковый кариотип Rocoга сохранился без изменений у домашней коровы (*Bos taurus*, Bovidae) и кабарги (*Moschus moschiferus*, Moschidae), а кариотипы окапи (*Okapia johnstoni*, Giraffidae) и жирафа (*Giraffa camelopardalis*, Giraffidae) образовались в результате центрических и тандемных слияний.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА
ДЕСЯТИ ВИДОВ ПОЛЕВОК РОДА
MICROTUS (ARVICOLINAE, RODENTIA)**

© Лемская Н.А.¹, Рубцова Н.В.²,
Голенищев Ф.Н.³, Саблина О.В.⁴,
Романенко С.А.¹, Графодатский А.С.¹, ¹Отдел
молекулярной и клеточной биологии
Института химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН, г.
Новосибирск, ²Институт цитологии и
генетики СО РАН, г. Новосибирск,
³Зоологический институт РАН, г. Санкт-
Петербург, ⁴Специализированный учебно-
научный центр НГУ, г. Новосибирск

Виды рода *Microtus* представляют значительный интерес межвидовыми контрастами базовых кариотипических характеристик: локализация и размеры блоков С-гетерохроматина, широкая вариабельность диплоидных чисел, нестандартная система определения пола у некоторых видов. Род *Microtus* является весьма интересным объектом для исследования закономерностей хромосомной эволюции, так как объединяет виды, обладающие одними из самых перестроенных и быстро эволюционирующих геномов в классе млекопитающих. Кариотипы большинства представителей этого рода описаны с помощью методов классической цитогенетики: рутинной и дифференциальных окрасок. Вследствие значительной перестроенности хромосом выявление гомологичных элементов в кариотипах некоторых видов часто оказывалось затруднительным без применения современных молекулярно-цитогенетических методов, таких как хромосомный пэйнтинг.

На основе использования метода сравнительного хромосомного пэйнтинга было изучено 10 видов полевок рода *Microtus*, построена хромосомная карта. Для выявления районов гомологии был использован набор сортированных хромосом темной (пашенной) полевки *M. agrestis*. Анализ полученных нами и опубликованных ранее данных позволил предположить, что в состав гипотетического предкового кариотипа рода *Microtus* (AMiK) входило 54 хромосомы. Только 2 ассоциации хромосомных элементов темной полевки (1/17 и 2/8) присутствовали в кариотипе предка. Определено минимальное число

хромосомных перестроек, отделивших кариотипы исследованных видов от AMiK.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА
МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ**

© Романенко С.А.¹, Сердюкова Н.А.¹,
Перельман П.Л.¹, Трифонов В.А.¹, Фергюсон-
Смит М.А.², Янг Ф.³, Графодатский А.С.¹,
¹Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, rosa@bionet.nsc.ru, ²Центр
ветеринарии, Кэмбридж, Великобритания,
³Институт Сэнгера, Кэмбридж,
Великобритания

Подотряд мышевидных грызунов *Myomorpha* (Rodentia, Mammalia) объединяет около 40% всех живущих млекопитающих и представляется одной из лучших моделей исследования кариотипической эволюции. Кариотипы мышевидных грызунов характеризуются существенными вариациями диплоидных чисел хромосом, вариациями по количеству гетерохроматина, наличием добавочных или В-хромосом и наличием отличных от XX/XY систем определения пола у некоторых видов. Для таксона показаны самые высокие темпы кариотипической эволюции среди млекопитающих. Изучение геномов мышевидных грызунов с помощью традиционно-используемых пэйнтинг-проб человека крайне затруднено, поэтому установление кариотипических взаимоотношений между видами и реконструкция предкового кариотипа мышевидных грызунов оставались до недавних пор недостижимой целью сравнительных геномных исследований.

В ходе работы проведено сравнение кариотипов различных видов мышевидных грызунов с использованием пэйнтинг-проб золотистого и китайского хомячков, мыши и копытного лемминга. Использование разных наборов позволило нам выполнить детальное сравнение кариотипов 27 видов мышевидных грызунов, включая 17 видов из подсемейства *Cricetinae*, 1 вид подсемейства *Murinae*, 7 видов из подсемейства *Arvicolinae*, 1 вид подсемейства *Calomyscinae* и 1 вид подсемейства *Neotominae*. Построены сравнительные хромосомные карты для каждого подсемейства. Определены ассоциации хромосом, характерные для каждого подсемейства, рода и вида.

Проведен филогенетический анализ данных сравнительного хромосомного пэинтинга. В качестве внешней группы выбран мышевидный хомячок. Дополнительно включены ранее опубликованные данные по исследованию кариотипов 10 представителей подсемейства Murinae. В результате построено древо, отражающие кариотипические отношения между исследованными видами. 37 изученных видов разделены на 4 группы: 1). Представители подсемейства Cricetinae, 2). Виды подсемейства Murinae, 3). Представители подсемейства Arvicolinae, 4). Представители подсемейства Neotominae.

Подсемейства Cricetinae и Arvicolinae ближе друг к другу, чем к другим таксонам. Внутри подсемейства Cricetinae выявлено 4 подклады: а) род *Phodopus*, б) род *Mesocricetus*, в) *Tscherskia triton* и г) представители родов *Cricetulus*, *Cricetus* и *Allocricetulus*. Род *Phodopus* занимает базальную позицию внутри подсемейства.

Три подклады выявлены в подсемействе Muridae: а) род *Apodemus*, б) род *Mus*, в) *Rattus*. Род *Dicrostonyx* занимает базальную позицию внутри подсемейства Arvicolinae, другие виды не удалось разделить с помощью анализа на подклады.

Для восстановления сценария хромосомной эволюции необходима реконструкция вероятного предкового кариотипа таксона. Ранее были предложены предковые кариотипы для подотряда мышевидных грызунов с $2n=52$ и 54 (Stanyon et al., 2004; Engelbrecht et al., 2006). По результатам нашей работы кажется более вероятным, что предковый кариотип мышевидных грызунов (Ancestral Muroidea Karyotype, АМК) имел $2n=56$.

АМК был положен в основу древа, чтобы определить типы и количество хромосомных перестроек, сформировавших кариотипы исследованных видов. Для каждого узла древа было определено диплоидное число хромосом. Установлено, что эволюция кариотипов мышевидных грызунов сопровождалась множественными разрывами, слияниями различных сегментов хромосом, большим числом инверсий и возникновением добавочных блоков гетерохроматина.

Данные молекулярных и морфологических исследований были использованы для оценки скорости кариотипической эволюции таксона.

Скорость сильно варьирует в различных ветвях древа: от экстремально высокой у *Tscherskia triton* среди Cricetinae, *Mus musculus* среди Murinae и *Ellobius lutescens* среди Arvicolinae до крайне низкой у мышей рода *Apodemus*.

Отдельной задачей, решаемой в ходе исследования, являлось установление положения таксона Muomorpha на общем древе грызунов. Анализ хромосомных перестроек для *S. betulina* (Dipodidae, Muomorpha) проводился с помощью пэинтинг-проб мыши и человека. Ранее с помощью пэинтинг-проб человека были исследованы пять видов грызунов: *Menetes berdmorei*, *Petaurista albiventer*, *Sciurus carolinensis* (Sciuridae, Sciuromorpha) (Richard et al., 2003; Li et al., 2004), *Castor fiber* (Castoridae, Castorimorpha) и *Pedetes capensis* (Pedetidae, Anomaluroomorpha). При анализе данных пэинтинга в качестве внешней группы был выбран *Oryctolagus cuniculus* — представитель отряда Lagomorpha (Korstanje et al., 1999). Установлено, что Sciuromorpha представляет собой базальное ответвление, а Castorimorpha и Muomorpha филогенетически более близки друг другу, чем Anomaluroomorpha.

ХРОМОСОМНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

© Картавцева И.В., Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, irina-kar52@rambler.ru

Видовой состав млекопитающих Дальнего Востока (ДВ) определен и составляет: на территории ДВ России — 104 (Млекопитающие... 1984), Кореи — 79 (Won, Smith, 1999) и Японии — 110 (Abe et al., 2005) видов, включая 1, 3 и 3 исчезнувших видов соответственно. Число и таксономическое положение некоторых видов и морфологических форм до конца не определено. Роль хромосомных исследований неоспоримо вносит вклад в разработку систематики, а исследование хромосомной изменчивости — пониманию роли микро и макро эволюции, уточнению путей расселения видов. Исследование хромосомных наборов млекопитающих на данной территории не равномерно. Наиболее полно изучены виды японских островов, по данным M. Iwasa в Data Base Japanese Wild Mammals (<http://hp.brs.nihon-u.ac.jp/~wildlife/iwasa/chromosome/CDdataba>

se.html). Менее изучены кариотипы млекопитающих ДВ России, информация о которых частично представлена в www базы данных ИЦиГ СО РАН, составленная под руководством А.С. Графодатского (<http://www.bionet.nsc.ru/labs/chromosomes>) и, почти не исследованы млекопитающие Кореи.

Территория ДВ России обширна и включает Чукотскую АО, Камчатский, Хабаровский и Приморский края, Магаданскую и Амурскую область, Еврейскую АО. Виды млекопитающих, обитающие здесь, могут быть как эндемиками, так и широко распространенные в Евразии. Северная часть региона включает большое число голарктических видов, центральная — сибирских, южная — азиатских (Маньчжурских). Чтобы судить о внутривидовой хромосомной изменчивости того или иного вида в каждой части региона необходимы данные более чем одной особи, взятой из природной популяции. Для северных и центральных регионов сбор материала более чем из одной точки крайне сложен т.к. на большей части территории отсутствуют дороги.

Анализ литературных данных кариологических исследований показал хромосомную изменчивость аутосом, половых хромосом и В-хромосом для представителей ряда видов отряда грызунов (Rodentia). Для многих видов других отрядов млекопитающих ДВ России отмечена низкая хромосомная изученность, не позволяющая говорить о наличии хромосомного полиморфизма.

РОЛЬ РОБЕРТСОНОВСКИХ ТРАНСЛОКАЦИЙ В ЭВОЛЮЦИИ СЛЕПУШОНОК РОДА *ELLOBIUS* (RODENTIA, MAMMALIA)

© Баклушинская И.Ю.¹, Романенко С.А.²,
Графодатский А.С.², Матвеевский С.Н.³,
Коломиец О.Л.³, Ляпунова Е.А.¹, ¹Институт
биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,
Москва, irina.bakl@gmail.com. ²Отдел
молекулярной и клеточной биологии
Института химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск ³Учреждение РАН Институт
общей генетики им Н.И. Вавилова РАН,
Москва

Слепушонки являются одним из благодарных модельных объектов для

изучения роли изменений хромосомных наборов при видообразовании. Видовой статус всех пяти современных видов был обоснован с привлечением анализа хромосомных наборов, для трех видов-двойников этот критерий остается единственным. Помимо различных перестроек аутосом, необычный для млекопитающих путь развития претерпела система половых хромосом: в пределах рода сформировались три типа хромосомного определения пола (XX самки — XY самцы у *E. fuscocapillus*, Xo самки и самцы у *E. lutescens*, XX самки и самцы у трех видов-двойников *E. talpinus*, *E. tancrei*, *E. alaicus*). В группе видов-двойников наблюдаются изменения структуры кариотипа от полностью акроцентрического к почти полностью метацентрическому. При этом для *E. talpinus* ($2n=NF=54$) неизвестна какая-либо хромосомная изменчивость, а для двух остальных видов этой группы описана широкая хромосомная изменчивость робертсоновского типа: *E. tancrei* $2n=54-31$, $NF=56$; *E. alaicus* $2n=52-50$, $NF=56$. На основной части ареала *E. tancrei* имеет 54-хромосомный набор, но в горах Памиро-Алая и Тянь-Шаня нами описана хромосомная изменчивость, обусловленная множественными робертсоновскими транслокациями, особенно велика эта изменчивость в Сурхобской долине, где локализован так называемый робертсоновский веер (Ляпунова, 1974; Ляпунова и др., 1984, 1985). Распространение кариоморф внутри зоны робертсоновского веера исходно было описано на основе подсчета числа хромосом, вначале обнаружили крайние формы робертсоновского веера (53, 52, 51 и 32), затем были найдены все промежуточные варианты с диплоидными числами от 54 до 31. В дальнейшем изучение кариотипов животных с помощью дифференциальной G-окраски выявило различия структуры кариотипов при одинаковом числе хромосом, что значительно увеличило число хромосомных форм в пределах веера (Bakloushinskaya, Lyapunova, 2001). Анализ природных популяций показал, что робертсоновский веер слепушонок в Памиро-Алае образован, в основном, за счет гибридизации высоко- и низкохромосомных форм, за исключением одного варианта негомлогичной транслокации в пределах зоны веера в изолированной группе демов.

Многолетние эксперименты по скрещиванию разнохромосомных форм позволили смоделировать робертсоновский веер и выявить ряд интересных закономерностей. Оказалось, что «вклад» транслокаций в формирование репродуктивной изоляции различен. Благодаря электронно-микроскопическому исследованию синаптонемных комплексов на распластанных препаратах сперматоцитов были обнаружены триваленты и цепочки хромосом у гибридов разных хромосомных форм *E. tancrei* и гибридов *E. tancrei* с *E. alaicus*. Именно эти эксперименты позволили обосновать видовой уровень *E. alaicus*, в кариотипе которых описаны негомологичные по сравнению с *E. tancrei* робертсоновские транслокации. Новый материал, полученный в 2008 г., позволил применить современные методики, такие как сравнительный хромосомный пэинтинг, иммуноцитохимическое исследование хромосом профазы мейоза и др. Были выявлены негомологичные транслокации, не различимые на уровне G-окраски, наличие таких перестроек приводит к резкому снижению плодовитости гибридов форм с $2n=50$ и $2n=48$, которое мы не могли объяснить ранее. Это меняет наши представления о том, что вся центральная часть веера сформирована в результате гибридизации крайних хромосомных форм. По-видимому, группы популяций, расположенные на разных берегах реки Сурхоб, имеют разную историю, важную роль в которой, несомненно, играла гибридизация. Возникновение негомологичных робертсоновских транслокаций, как оказалось, явление более частое и важное для слепушонок, чем мы полагали ранее. Дальнейшее изучение полученных нами гибридов разных хромосомных форм, в том числе с негомологичными транслокациями, а также межвидовых гибридов *E. talpinus* x *tancrei*, позволит прояснить ряд спорных вопросов по структуре кариотипа и динамике мейоза, обусловленной изменчивостью хромосом.

Исследование частично поддержано грантами РФФИ № 08-04-00937а, № 08-04-01725а и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие», подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие».

CHROMOSOMES IN A HYBRID ZONE OF ISRAELI MOLE RATS (*SPALAX*, RODENTIA)

© Ivanitskaya E., Rashkovetsky L., Nevo E.,
Institute of Evolution, Haifa University, Haifa,
Israel, lenaiva@research.haifa.ac.il.

Hybrid zones are of interest to evolutionary geneticists because they allow us to explore the genetic interactions of populations differentiated in a varying degree. Genetic and cytogenetic analyses of animal hybrid populations have revealed numerous cases of novel alleles, private sites, mosaic on the DNA content, and chromosome rearrangements that occurred in hybrid zones but were absent from the populations of parental types. Although mechanisms of these phenomena are still unclear, it is very likely that the increase in genomic instability produced by hybridization could have an impact on the appearance of genetic and cytogenetic novelties.

The aims of our research were estimation of the level of meiotic and mitotic abnormalities and identification of chromosomal novelties in a hybrid zone between two chromosomally differentiated *Spalax* cytotypes of $2n=58$ and $2n=52$. These cytotypes differ by five Rb fusions, four centromeric shifts accompanied by heterochromatin deletion, one paracentric inversion, and the Y-chromosome reorganization.

The studied hybrid zone is located in the region of Upper Galilee, and covers approximately 2 km². Among 149 specimens studied, 82 were hybrids with 64 different karyotypes ranging in diploid numbers from $2n = 50$ to $2n = 60$. The inter-cytotype difference in arm combination of Rb chromosomes resulted in a new for Israeli *Spalax* karyotype of $2n=50$. Two parental and 14 hybrid specimens had 1-3 B-chromosomes. All specimens carrying the Bs were found to be mosaics because of varied B numbers.

Nine hybrid specimens were mosaics for the chromosome numbers due to occurrence of cell lines with different Robertsonian chromosome arrangements. Occurrence of Rb mosaics only in hybrids with high diploid numbers ($2n=58-60$), and extended arrays of telomeric repeats in the centromeric area in variable Rb banded chromosomes are indicative of spontaneous Rb fusions in hybrid specimens giving rise to the mosaic cell lines. Both Rb mosaic karyotypes and karyotypes with an unstable number of B-chromosomes have not been found in parental karyotypes outside the hybrid zone. These

findings could be referred to as a result of genomic instability in the hybrid population.

Mosaicism of B-chromosomes was found also in meiotic cells, however

chromatid breaks and abnormal chromosome pairing during meiosis occurred very rarely. Among more than 120 scored meiotic spreads we found only five cells (one spread with B-chromosomes, and four — without Bs) with these types of abnormalities.

CHROMOSOME PAINTING AND THE RESOLUTION OF THE UNIQUE SEX DETERMINING SYSTEM IN PLATYPUS AND ECHIDNA

© *Ferguson-Smith M.A.*, Cambridge Resource Centre for Comparative Genomics, Department of Veterinary Medicine, Cambridge University, UK.

The identification of conserved blocks of synteny by cross-species chromosome painting has now contributed to the taxonomy of all mammalian orders. This simple technique provides excellent Darwinian characters for determining the lines of descent of species from a common progenitor. However, this method is applicable only to species within, but not between the major groups of the animal kingdom despite a few examples of success between birds and reptiles. The construction of chromosome homology maps *between* placental mammals and marsupials, monotremes, birds and reptiles thus must depend on genetic mapping and sequencing.

A most striking example of the power of chromosome painting has been the resolution of the male platypus karyotype and the pairing relationships of the chain of ten sex chromosomes. We have extended our analysis to the nine sex chromosomes of the male echidna. Cross-species painting with platypus shows that the first five chromosomes in the chain are identical in both, but the order of the remainder are different and, in each species, a different autosome replaces one of the five X chromosomes.

As the therian X is homologous to platypus autosome 6 and echidna 16, and as SRY is absent in both, the sex determination mechanism in monotremes is currently unknown. Several of the X and Y chromosomes contain genes orthologous to those in the avian Z but the significance of this is also unknown. It seems likely that a novel testis determinant is carried by a Y chromosome common to platypus and echidna. We have searched for

candidates for this determinant among the many genes known to be involved in vertebrate sex differentiation. So far twelve such genes have been mapped, nine are autosomal, two map to the differential regions of X chromosomes, and one maps to a pairing segment and is likewise excluded. Extensive mapping of the platypus sex chromosomes continues and comparative mapping between platypus and birds and reptiles may shed light on the ancestral origin of monotreme sex chromosomes.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ХРОМОСОМНЫЙ АНАЛИЗ БЕЛКООБРАЗНЫХ ГРЫЗУНОВ И ЗАЙЦЕОБРАЗНЫХ

© *Беклемишева В.Р.¹, Графодатский А.С.¹, Билтуева Л.С.¹, Воробьева Н.В.¹, Сердюкова Н.А.¹, Yang Fentang², Ferguson-Smith M.A.³*, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск 630090; ²Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SA, UK; ³Centre for Veterinary Science, Department of Veterinary Medicine, University of Cambridge, Madingley Road, Cambridge, CB3 0ES, UK. bekl@bionet.nsc.ru;

Хромосомоспецифичные пэинтинг-пробы сибирского бурундука (*Tamias sibiricus* Laxmann, 1769), (TSI) были использованы для изучения геномной эволюции в семействах Беличьи и Зайцеобразные. На основании хромосомного пэинтинга и GTG-окраски построены сравнительные хромосомные карты для девяти видов Белкообразных грызунов (*M.baibacina*, *M.bobak*, *M.kastschekoi*, *S.vulgaris*, *S.erythrognys*, *S.major*, *S.suslicus*, *S.undulatus*, *S.fiber*) и двух видов Зайцеобразных (*L.timidus*, *O.cuniculus*).

Сопоставление полученных данных с ранее опубликованными результатами (Korstanje et al., 1999; Robinson et al., 2002; Roscoe et al., 2003; Richard et al., 2003; Li et al., 2004; 2006) выявило новые тенденции в эволюции геномов Sciurotophila. Показано, что от 3 до 5 синтенных групп, которые считались типичными консервативными элементами для всех Белкообразных, расщепились в кариотипах земляных белок — сусликов и сурков. Геном европейского бобра претерпел гораздо большие изменения в ходе эволюции, чем геномы белок. Кариотипы Зайцеобразных также

существенно перестроены относительно кариотипа сибирского бурндука. Половина хромосомных проб библиотеки TSI расщепились на 2 либо 3 фрагмента в геномах зайца-беляка и домашнего кролика.

Т-БЛОКИ ХРОМОСОМ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ИХ ПРОИСХОЖДЕНИЕ

© Родионов А.В.^{1,2}, Галкина С.А.²,

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, avrodionov@mail.ru; ²Кафедра цитологии и гистологии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург

Т-блоки, как особый класс R-сегментов в хромосомах человека, впервые обнаружил В. Dutrillaux (1973). Он показал, что если перед окрашиванием красителем Романовского-Гимза или акридиновым оранжевым (АО) хромосомы инкубировать в растворе NaH_2PO_4 при pH 5 и 87°C, то в них окрашиваются от 22 до 40 сегментов (около 15% материала хромосом), большей частью расположенных около теломеров (отсюда и название Т-блоки). После Дютрелло было предложено еще несколько вариантов Т-бэндинга из которых наиболее эффективным является предложенный Ambros & Sumner (1987) способ выявления Т-блоков путем совместного окрашивания хромосомы АТ-специфичным красителем DAPI и GC-специфичным хромомицином Аз (СМА). При этом Т-блоки выглядят СМА-позитивными на фоне в разной степени яркой DAPI-флуоресценции плеч хромосом. Т-блоки привлекли к себе особое внимание, когда выяснилось, что около 80% физически картированных в хромосомах генов локализуется в R-блоках (Родионов, 1985), а среди R-блоков наиболее обогащены генами (прежде всего housekeeping-генами) Т-блоки ((Holmquist, 1990). Т-блоки реплицируются в самом начале S-фазы, с ними гибридизуется фракция тяжелых изомеров Нз. G-блоки, особенно «темные» G-блоки, наоборот, не содержат Нз-изомеров, но гибридизуются с обедненной генами фракцией легких изомеров L1 и L2 (Saccione et al., 1999; Federico et al., 2000).

Проведя сравнительное исследование СМА/DAPI-окрашивания хромосом птиц и человека мы показали, что в кариотипах птиц большая часть Т-блоков лежит в микрохромосомах (МИ) (Galkina et al., 2001). По своим цитохимическим характеристикам

большинство крупных МИ курицы, назовем их мидихромосомами (МИДИ), ближе к МА, чем к большинству МИ. Также как Т-блоки млекопитающих, Т-блоки МИ птиц и немногочисленные Т-блоки макрохромосом птиц (МА) гибридизуются с фракцией тяжелых изомеров Нз (Galkina et al., 2001; Andreocci et al., 2002), Также как Т-блоки хромосом млекопитающих (Federico et al., 2008), МИ птиц располагаются в центральной части ядра, в то время как МА предпочтительно лежат около ядерной оболочки (Haberman et al., 2001). Данные сравнительной геномики показывают, что в МИ птиц располагаются гены, которые у млекопитающих лежат в Т-блоках. Ортологи генов лежащих на периферии ядра МА кур у человека располагаются в G-блоках и тех R-блоках, которые не выявляются как GC-богатые после СМА/DAPI-окрашивания и не содержат Нз-изомеров.

Принято считать, что G-сегментам в мейозе соответствуют хромомеры мейотических хромосом (Sumner, 1980; Comings, 1978; Jagiello, Fang, 1982; Holmquist, 2006). Тогда какой вид на стадии пахитены принимает хроматин R- и, в частности, Т-блоков? Luciani et al. (1977) предположили, что ДНК R-сегментов лежит между пахитенными хромомерами и выглядит как межхромомерные нити и небольшие темные хромомеры, окруженные более или менее диффузным хроматином. Однако напомним, что в состав R-блоков входит около половины хроматина плеч хромосом! Для того, чтобы изучить особенности строения хромомеров Т-блоков мы исследовали их строение в хромосомах — ламповых щетках птиц. На стадии ЛЩ хромосомы примерно в 33 раза длиннее митотических и в 15 раз длиннее пахитенных хромосом. «Привязка» рисунка G/R-блоков митотических хромосом к рисунку хромомеров ЛЩ проводилась путем картирования ВАС-клонов и внутренних сайтов TTAGGG на митотических хромосомах и хромосомах-ЛЩ кур. Комплексное окрашивание хромосом-ЛЩ СМА/DAPI показало, что все хромомеры в районах, соответствующих Т-блокам, DAPI-негативны/СМА-позитивны. Районы, соответствующие G-сегментам митотических хромосом, наоборот, содержат яркие DAPI-позитивные хромомеры и кластеры таких хромомеров.

Мы предполагаем, что яркость хромомеров G-блоков и тусклость Т-

хромомеров после окрашивания DAPI может быть связана с тем, что в G-блоках «классические» SAR'ы, обогащенные AATATT и ATATTT мотивами (Saitoh, Laemmli, 1994), а в T-блоках другие SAR'ы — обогащенные GA и CT мотивами (см.: Boulikas, 1993; Liebich et al., 2002). Двум типам M/SAR-ов могут соответствовать два типа матрикса/скэффолда. При этом особенности M/SAR-ов могут определять положение хромосом и отдельных хромосомных районов в интерфазном ядре (Rodionov et al., 2004) — AT-богатые SAR'ы, по-видимому, характерны для обедненных генами ламина-ассоциированных районов генома (Guelen et al., 2008), а иные SAR'ы — для обогащенных генами T-блоков, «заякоренных» во внутренних районах ядра. Разные ключики — разные замочки. Есть все основания полагать, что именно различное насыщение T-, R- и G-блоков AT-богатыми SAR'ами лежит в основе фракционирования генома в градиенте Cs₂SO₄ в присутствии имеющего высокое сродство к очень AT-богатым последовательностям антибиотика VAMD, много лет используемого Бернарди и соавт. для препаративного разделения генома на изохоры.

В кариотипах рыб, амфибий и рептилий с помощью CMA/DAPI T-блоки не выявляются, фракцию тяжелых изохор из их геномов препаративно выделить не удается (Bernardi, 2000). Однако фракции H₃ изохор птиц у рептилий и амфибий гибридизуются у них с определенными, преимущественно прителомерными районами хромосом и с немногочисленными МИ, в интерфазе лежащими во внутренних районах ядра (Federico et al., 2006). Отсюда следует, что после дивергенции филогенетических линий млекопитающих и птиц с одной стороны и рептилий, амфибий, рыб с другой, в кариотипах предков Mammalia и Aves произошла дивергенция молекулярной композиции SAR, одним из побочных результатов которой стало появление Q-, а затем G-исчерченности хромосом.

СЛУЧАЙНО ЛИ РАСПОЛОЖЕНИЕ ГЕНОВ В ХРОМОСОМАХ?

© Захаров И.А., Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва

Эволюция геномов совершается на двух уровнях — на уровне нуклеотидных последовательностей и на уровне

хромосомном, когда происходит перетасовывание генов внутри и между хромосомами. Изменения на этих уровнях происходят независимо и ряд примеров показывает, что скорости этих изменений могут не коррелировать. Случайным ли образом перетасовываются гены в ходе эволюции, иными словами, есть ли какие-либо закономерности в их расположении в хромосомах? Рассматриваются такие примеры неслучайного расположения генов как концентрация генов жизненно важных функций близ точки начала репликации в хромосомах бактерий, расположение локусов типа спаривания близ центромеров в хромосомах грибов и генов сбраживания сахаров в теломерных областях хромосом дрожжей. Длительное сохранение групп сцепленных генов в эволюции также указывает на то, что, по крайней мере в некоторых случаях, расположение генов контролируется естественным отбором.

С.А.Ларионов, М.С.Попцова и др. (при участии автора) провели биоинформационное изучение 671 про- и эукариотических хромосом (524 бактерий, 36 архей, 87 хромосом разных видов грибов, 24 хромосомы человека)(в печати). Выявлены две общие закономерности в расположении и нуклеотидном составе генов одного генома.

ХРОМОСОМЫ — ЛАМПОВЫЕ ЩЕТКИ ПТИЦ: ИССЛЕДОВАНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

© Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский государственный университет, spbchromas@gmail.com

Классические исследования, выполненные на хромосомах типа ламповых щеток (ЛЩ) из ооцитов хвостатых и бесхвостых амфибий, внесли существенный вклад в понимание многих общих проблем структуры и функционирования эукариотического генома (обзоры: Callan, 1986; Macgregor, 1986; Morgan, 2002; Gall, 2002). В то же время, значение самого феномена преобразования хромосом в растущих ооцитах в гигантские, транскрипционно активные ламповые щетки до сих пор не имеет адекватного объяснения. Разработанная техника выделения ЛЩ из ооцитов птиц, характеризующихся иными, чем у амфибий, организацией генома и типом оогенеза (Кропотова, Гагинская, 1984; Solovei et al.,

1994), способствовала введению нового объекта и развитию сравнительных исследований в этой области. Доклад представляет обзор работ, выполняющихся в Биологическом НИИ Санкт-Петербургского государственного университета на протяжении последних 25-ти лет и посвященных комплексному изучению хромосом птиц в фазе ЛЩ.

Методами цитогенетического анализа, световой, электронной и лазерной конфокальной микроскопии, иммуноцитохимии, гибридизации *in situ* (включая FISH, zoo-FISH, chromosome painting), компьютерного анализа и др. исследованы ЛЩ у нескольких видов. Идентифицированы все макро- и часть микробивалентов курицы и перепела, определены маркеры центромерных районов, необходимые для цитогенетического анализа. Описан и охарактеризован новый класс внутриядерных телец — так называемые центромерные белковые тела, составлена схема функциональной организации центромерных районов хромосом на стадии ЛЩ. Важное направление — исследование 3D-структуры клеточного ядра и роли центромерных районов в поддержании ядерной архитектуры и обеспечении ее динамики в растущем ооците. Проблема функциональной компартиментализации ядра ооцита тесно связана с описанием и исследованием ассоциированных с определенными локусами ЛЩ и экстрахромосомных доменов, содержащих РНК и факторы созревания (сплайсинга и процессинга) пре-мРНК. Анализ транскрипции повторяющихся последовательностей на ЛЩ представителей отряда Galliformes позволил сделать вывод о значении этой транскрипции в оогенезе и внести существенные уточнения в так называемую «классическую» гипотезу ЛЩ. Дальнейшее исследование транскрибирующихся на ЛЩ как кодирующих, так и не кодирующих ДНК и выяснение судьбы и функции транскриптов открывает перспективы для полного понимания биологической значимости феномена хромосом типа ЛЩ. Работа выполняется с использованием экспериментальной базы ЦКП «ХРОМАС» при поддержке Российского фонда экспериментальных исследований (проект 08-04-01328).

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАРИОТИПОВ ПТИЦ НА МОДЕЛИ ХРОМОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК

© Галкина С.А., Злотина А.М., Дакс А.А.,
Красикова А.В., Дерюшева С.Е.,
Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский
государственный университет, Санкт-
Петербург, spbchromas@gmail.com

Кариотипы птиц — сложные для цитогенетического анализа объекты. Как правило, они состоят из 78-80 хромосом. Первые 6-10 пар наиболее крупных хромосом принято называть макрохромосомами, а остальные — микрохромосомами. Размер наибольших макрохромосом в метафазе митоза — 6-8 мкм, что соответствует средним по размеру хромосомам в кариотипе человека. Большинство микрохромосом у птиц настолько малы (2,5-0,2 мкм), что их идентификация без привлечения молекулярных зондов затруднена, а исследование детального строения невозможно. При этом известно, что именно микрохромосомы обогащены генами (Schmid et al., 2005).

Гигантские хромосомы типа ламповых щеток из растущих ооцитов могут служить удобным инструментом для исследования небольших по размеру хромосом птиц. Так, более точное, по сравнению с метафазными хромосомами, физическое картирование последовательностей на ламповых щетках, совместно с детекцией положения центромерных районов, предоставляют редкую возможность для интегрального анализа генома путем объединения с данными, полученными при секвенировании геномов. Один из вариантов использования этого преимущества — заполнение существующих пробелов и локализация центромерных районов в сборках секвенированных последовательностей хромосом птиц. Так, сочетая метод иммуноцитохимической детекции центромеры антителами к белкам когезинового комплекса STAG2 на хромосомах-ламповых щетках (Krasikova et al., 2006) с FISH-картированием ВАС-клонов, содержащих фрагменты генома курицы, мы показали, что пропуск в сборке секвенированных последовательностей хромосомы 3 курицы, символизирующей центромерный район, в действительности соответствует нецентромерному кластеру повтора CNM. Центромер же должен

располагаться в положении 2,4 млн.п.н. в текущей версии карты расшифрованных фрагментов ДНК куриной хромосомы 3. Аналогичным образом может быть определено и положение центромерных районов на картах секвенированных последовательностей микрохромосом.

Хромосомы-ламповые щетки могут быть использованы и для сравнительного цитогенетического анализа кариотипов птиц. Так, высокоразрешающее сравнительное картирование ВАС-клонов со вставками последовательностей куриного генома на ламповых щетках курицы и японского перепела не подтвердило существование перицентрической инверсии на хромосоме 4 у этих видов: порядок и расстояния между последовательностями 14-ти ВАС-клонов идентичны на хромосомах-ламповых щетках 4 этих видов (Galkina et al., 2006). Ложное предположение о наличии инверсии могло возникнуть из-за того, что материал короткого плеча хромосомы 4 перепела сформирован прицентромерным гетерохроматином (повтор ССО). С помощью сравнительного картирования ВАС-клонов, маркирующих околоцентромерные районы хромосом 1 и 2 курицы, на ламповых щетках курицы и перепела, мы проанализировали положения центромер, локализованных иммуноцитохимическим способом, относительно генетических маркеров. Результаты свидетельствуют о том, что различия в положении центромер на гомологичных хромосомах перепела и курицы нельзя объяснить только возникновением перицентрических инверсий: центромеры на исследованных хромосомах фланкированы различными маркерами и, по-видимому, формировались *de novo* при изменении кариотипов в процессе дивергенции видов отряда Galliformes. Подтверждением тому служит и выявление инверсии, различающей куриную и перепелиную хромосомы 3. Такие эволюционно новые центромеры, также называемые «перемещенными центромерами», описаны у плацентарных млекопитающих, сумчатых, некоторых растений (Carbone et al., 2006; Rocchi et al., 2009). Наши наблюдения вместе с полученными ранее сведениями о «перемещенных центромерах» у красноногий куропатки (Kasai et al., 2003)

добавляют в этот перечень представителей класса Птицы.

Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-00493.

КАРИОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ РОДА LINUM L

© Муравенко О.В., Большева Н.Л., Носова И.В., Юркевич О.Ю., Рачинская О.А., Попов К.В., Саматадзе Т.Е., Зеленин А.В., Институт молекулярной биологии им.В.А.Энгельгардта РАН. Москва, omur@eimb.ru

При исследовании хромосомной организации геномов мелкохромосомных растений особое значение приобретает использование всего арсенала методов, позволяющих повысить разрешение хромосомного анализа. При исследовании хромосом различных видов льновых был применен комплексный подход, включающий задержку конденсации хромосом с помощью интеркалятора ДНК 9-аминоакридина, совмещение нескольких методов бэндинга и FISH, использование специализированных компьютерных программ для получения, обработки и анализа изображений.

Были исследованы геномы возделываемого вида льна (*L. usitatissimum* L.) и 24 дикорастущих видов из 6 секций рода *Linum* L., произрастающих в Евразии и Африке. В хромосомах изученных видов самые крупные C/DAPI-бэнды, располагались преимущественно в прицентромерных районах хромосом, а средние и небольшие — в теломерных и интеркалярных районах. Геномы большинства исследованных видов льнов содержат по 1-2 основных локуса 45S рДНК, ко-локализованных с 5S рДНК, а также и 1-3 отдельных локуса 5S рДНК. Исключение составляют два вида секции *Linopsis* (syn.=*Linastrum*), в геномах которых 5 из 9 пар хромосом несут ко-локализованные сайты 45S и 5S рДНК и одна — 5S рДНК. На основании морфологии хромосом, рисунков C/DAPI-окрашивания и результатов FISH-анализа удалось провести полную идентификацию хромосом в кариотипах всех исследованных видов. По сходству кариотипов все изученные виды льнов разделились на 8 групп. Незначительные межвидовые различия внутри этих групп были представлены хромосомными

транслокациями или перичентрическими инверсиями.

Виды секции *Linum* по кариотипическим признакам разделились на три группы. Первую группу составили 16-хромосомные диплоидные виды *L. grandiflorum* и *L. decumbence*. Ко второй группе были отнесены культурный вид — *L. usitatissimum* и близкородственные тетраплоидные виды с 30 хромосомами. Эти две группы видов льна хотя и различаются плоидностью, сходны по рисункам C/DAPI-окраски и расположению рибосомных генов, что свидетельствует об общности происхождения их геномов. К третьей группе был отнесен вид *L. parbonense*, систематическое положение которого спорно. Обнаружено, что этот вид значительно отличается от других видов секции *Linum*, как по числу и размерам хромосом, так и по рисунку их C/DAPI-окраски и расположению рибосомных генов, и, вероятно, филогенетически далек от них.

В четвертую группу вошли 18-хромосомные, диплоидные виды секции *Adenolinum* и вид *L. stelleroides* ($2n=18$) из монотипной секции *Stelerolinum*. Следует подчеркнуть, что кариотип *L. stelleroides* не отличается от кариотипов видов секции *Adenolinum* ни по рисунку дифференциального окрашивания хромосом, ни по локализации рибосомных генов, что указывает на близкое родство этих секций.

Пятую группу составили 7 (из 8 изученных) видов секции *Syllinum*: *L. flavum*, *L. capitatum*, *L. campanulatum*, *L. thracicum*, *L. tauricum*, *L. elegans* и *L. szernaevii*. В кариотипах этих видов впервые у льновых обнаружены и охарактеризованы В-хромосомы. Установлено, что эти виды являются тетраплоидными, их основные хромосомные наборы содержат по 28 морфологически сходных хромосом. В то же время, восьмой вид секции — *L. nodiflorum* резко отличается от других видов как по числу ($2n=26$) и размерам хромосом, так и по количеству локусов рибосомных генов. В-хромосом у этого вида не обнаружено. Выявленные нами кариотипические различия подтверждают мнение некоторых систематиков о необходимости выделения *L. nodiflorum* в отдельную секцию.

Кариотипы видов секций *Dasylinum* и *Linopsis* резко отличаются от видов других секций, и были отнесены к 7 и 8 карио-группам соответственно.

Параллельно с молекулярно-цитогенетическим анализом был проведен RAPD- анализ геномов этих же видов льна. Результаты RAPD-анализа хорошо согласуются с данными кариологического исследования. Обнаружено, что группы видов, имеющие сходную структуру кариотипа, имеют и низкий уровень межгеномной дивергенции. Исключение составили два вида секции *Linopsis*: *L. suffruticosum* и *L. tenuifolium*, обладающие высоким уровнем межгеномной дивергенции, несмотря на то, что их кариотипы различаются лишь одной реципрокной транслокацией. Этот результат подтверждает, что *L. suffruticosum* и *L. tenuifolium* являются самостоятельными видами, а не подвидами, как считают некоторые систематики.

Таким образом, проведенное сравнительное молекулярно-кариологическое исследование видов рода *Linum* L. позволило выявить филогенетические связи отдельных таксономических групп. В то же время, обнаружено, что систематика рода не вполне совершенна, систематическое положение некоторых видов нуждается в уточнении. Изучение геномов различных видов льновых продолжается, однако уже сейчас можно утверждать, что полученные нами сведения заложили цитогенетические основы для начала тотального секвенирования генома культурного льна *L. usitatissimum* L.

ВЕРОЯТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЭВОЛЮЦИИ КАРИОТИПОВ КЕРЧАКОВ (МУОХОСЕРНАЛУС И МЕГАЛОКОТТУС) ЯПОНСКОГО И ОХОТСКОГО МОРЕЙ

© Рязанова И.Н., Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, itguz@yandex.ru

Рода *Muohocerphalus* и *Megalocottus* принадлежат большой группе морских бычков — керчаков подсемейства *Muohocerphalinae*. Для исследования филогенетических отношений видов родов *Muohocerphalus* и *Megalocottus* привлекались большей частью морфологические методы (Cowan, 1971, 1972; Неелов, 1979). Кариологически виды рода изучены крайне слабо. Наши исследования показали, что данные о кариотипах позволяют не только надежно дифференцировать исследованные виды, но и делать заключения о степени

дивергенции и направлениях эволюции их кариотипов.

Кариотипы дальневосточных видов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* состоят: снежного керчака *Myoxocephalus brandtii* из Японского моря — $2n = 44$, $NF = 46+2$, (2 М, 2 СМ-СТ, 18 СТ и 22 А хромосомы), дальневосточного керчака *M. stelleri* из Японского моря — $2n = 40$, $NF = 44+2$ (2 М, 2 СМ, 2 СМ-СТ, и 34 СТ и А хромосомы), дальневосточного керчака *M. stelleri* из Охотского моря — $2n = 44$, $NF = 44+2$ (2 СМ-СТ, 28 СТ и 14 А хромосом), охотского керчака *M. ochotensis* из Охотского моря — $2n = 42$, $NF = 44+2$ (2 М, 2 СМ-СТ, 18 СТ и 20 А хромосом), дальневосточной широколобки *Megalocottus platycephalus* из Охотского моря — $2n = 42$, $NF = 44+2$ (2 М, 2 СМ-СТ, 30 СТ и 8 А хромосом), керчака яок *M. jaok* из Охотского и Японского морей — $2n = 24$, $NF = 44$ (16 М, 4 СМ и 4 А хромосомы) (Миллер (Рязанова), 1999, 2000; Рязанова, 2005, 2007; Рязанова, Фролов, 2007, 2009; Рязанова и др., 2008). В сравнительном плане проанализирован кариотип европейского керчака *M. scorpius* из Белого моря (Васильев, 1985).

Результаты проведенного анализа показали, что кариотипы всех дальневосточных видов керчаков стабильны по числу хромосом. Кариотип *M. scorpius* изменчив — $2n = 36-38$. Обнаруженный у *M. scorpius* робертсоновский полиморфизм, возможно, указывает на незавершенность формирования его кариотипа и является показателем молодости этого вида.

Кариотипы всех исследованных видов (за исключением *M. jaok*), имеют общие признаки, указывающие на их таксономическую близость. Сходные маркерные хромосомы в их кариотипах — пара М хромосом (за исключением охотоморского *M. stelleri*), пара СМ-СТ хромосом (за исключением *M. scorpius*), две пары крупных СТ хромосом одинаковых размеров, большое число одноплечих хромосом. Для кариотипов большинства исследованных видов керчаков характерно одинаковое число хромосомных плеч ($NF = 44+2$).

Наряду с общими признаками кариотипов существуют и их различия. Кариотипы охотоморского ($2n = 44$, $NF = 44+2$) и япономорского ($2n = 40$, $NF = 44+2$) *M. stelleri* существенно различаются по числу и морфологии хромосом. При

одинаковом $NF = 44+2$, данное различие может быть объяснено робертсоновскими транслокациями. Кариотипы *M. jaok* из Японского и Охотского морей идентичны ($2n = 24$, $NF = 44$). Кариотип *M. jaok* резко отличается от кариотипов исследованных видов по числу и морфологии хромосом. Эти различия могут быть объяснимы большим числом робертсоновских транслокаций, значительно уменьшивших число хромосом в его кариотипе. Кариотипы исследованных видов керчаков различаются по числу хромосомных плеч. Охотоморские виды и япономорский *M. stelleri* — $NF = 44+2$, в отличие от них у *M. scorpius* и *M. jaok* — $NF = 44$, в их кариотипах нет пары СМ-СТ хромосом. Предположительно данная пара хромосом могла быть вовлечена в робертсоновскую транслокацию. Отличие кариотипа *M. brandtii* ($NF = 46+2$) по числу хромосомных плеч от кариотипов всех исследованных видов керчаков возможно обусловлено тем, что его формирование происходило посредством перичентрической инверсии. Различаются кариотипы исследованных видов по числу и морфологии хромосом, что может быть объяснено (за исключением *M. brandtii*) большим или меньшим числом робертсоновских транслокаций. В кариотипах исследованных видов маркерные М хромосомы различаются по размеру, что может указывать на принадлежность видов к разным эволюционным линиям.

Согласно гипотезе об эволюции кариотипов рыб в направлении уменьшения числа хромосом ($2n$) путем робертсоновских транслокаций, наименее дивергировавшим и близким к предковому является кариотип охотоморского *M. stelleri* ($2n = 44$). К наиболее рано дивергировавшим видам относятся *M. brandtii* ($2n = 44$), *M. ochotensis* ($2n = 42$) и *Megalocottus platycephalus* ($2n = 42$). Более продвинутыми в сравнении с ними являются *M. stelleri* ($2n = 40$) из Японского моря и *M. scorpius* ($2n = 36-38$). Резкое отличие кариотипа *M. jaok* ($2n = 24$) от кариотипов других видов рода *Myoxocephalus* указывает на значительную и, возможно, быструю дивергенцию этого вида. Учитывая различия основных характеристик кариотипов керчаков, а также различия размеров маркерных М хромосом, можно предположить, что эволюция кариотипов исследованных видов керчаков

Myoxocephalus и *Megalocottus*, от охотоморского *M. stelleri*, могла идти в четырех направлениях: 1) *M. ochotensis*; 2) *Megalocottus platycephalus*; 3) япономорский *M. stelleri* + *M. scorpius*; 4) *M. brandtii*. Положение *M. jaok* в предложенной схеме не ясно. Согласно гипотезе об эволюции кариотипов в направлении уменьшения числа хромосом ($2n$) путем Робертсоновских транслокаций, *M. jaok* может являться заключительным звеном любого из представленных эволюционных направлений, либо отдельной эволюционной ветвью, эволюционировавшей от охотоморского *M. stelleri* независимо от видов рода.

Секция V
Хромосомы человека. Хромосомы при патологиях

COMBINED SIMULTANEOUS ANALYSIS OF MORPHOLOGY AND FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) AS A NOVEL METHOD TO DETECT A SMALL POPULATIONS OF MALIGNANT CELLS IN HIGH RISK PATIENTS, PREMALIGNANT LESIONS AND MINIMAL RESIDUAL DISEASE

© *Trakhtenbrot L., Hirshberg A., Rechavi G. and Amariglio N.*, The Cancer Research Center, The Chaim Sheba Medical Center, Tel-Hashomer 52621, and Sackler School of Medicine, Tel-Aviv University, Tel-Aviv, Israel

Fluorescence in situ hybridization (FISH) is a valuable tool in clinical practice of malignancies. However, high false positive and false negative rates complicate the interpretation of the results. These limitations are important in detection and quantitation of small populations of pathological cells, especially in premalignant conditions, high risk patients and in follow-up examinations. The past decade has brought new technologies to the study of minimal residual disease (MRD) in malignancies because the currently used methodologies are far from being accurate and sensitive.

We developed and introduced into the clinical practice a new method of combined simultaneous analysis of morphology and fluorescence in situ hybridization (FISH) on the same cell. We applied this method for 4000 routine analyses in various hematological malignancies for the determination of the clonality and maturity of the residual recipient/donor cells in the follow-up of bone marrow transplantations, for the determination of the maturity of the cells carrying the chromosome aberrations in MRD and for the detections of important prognostic chromosome markers of patients with Multiple Myeloma (MM). We also applied this method for 1000 analyses of epithelium cells collected by non-invasive brush sampling from head and neck precancerous lesions and normal looking mucosa from oral cavity of high risk patients (smokers).

We found that:

1) identification of residual leukemic or recipient cells as blasts predicts imminent relapse and these patients need interventional treatment. Conversely, detection of mature residual leukemic or recipient cells with no proliferative capacity predicts a reduced risk for relapse of hematological malignancy and these

patients needs only follow-up by serial testing, thus avoiding the hazards of unnecessary treatment.

2) the combined technique increases the specificity of detection of chromosome alterations in MM patients and enables to overcome the high background and false positivity of previously available methods, particularly in samples with a small proportion of pathological plasma cells and borderline FISH results.

3) the supplement of a brush biopsy and the combined morphological and FISH analysis enables early detection of non-diploid, potentially malignant cells which may be overlooked by traditional histomorphological methods. Moreover this non-invasive technology could be applied to the monitoring of high risk patients in clinical practice.

KARYOTYPIC EVOLUTION IN CANCER: SKY ANALYSIS DEMONSTRATES A HIGH SUSCEPTIBILITY OF ABERRANT CHROMOSOMES TO FURTHER REARRANGEMENTS

© *Trakhtenbrot L., Rechavi G. and Amariglio N.*, The Cancer Research Center, The Chaim Sheba Medical Center, Tel-Hashomer 52621, and Sackler School of Medicine, Tel-Aviv University, Tel-Aviv, Israel

Spectral karyotyping (SKY) technique based on the simultaneous hybridization of 24 fluorescently labeled chromosome painting probes provides additional chromosome information in the characterization of marker chromosomes, complex chromosomal rearrangement and cryptic translocations. In this study we used this advantage of SKY to estimate the likelihood of rearranged aberrant chromosomes to accumulate further alterations by analyses of childhood neural tumors and $t(12;21)(p13;q22)$ positive ALL. In childhood neural tumors, characterized by poor chromosome morphology and complex karyotypes, the SKY technique allows definition of aberrant chromosomes that are indefinable by G-banding alone and subsequently a better definition of the sub-clones present, hence, revealing different evolution pathways of chromosome rearrangements. In $t(12;21)(p13;q22)$ positive ALL SKY analysis distinguishes a $der(12)t(12;21)$ chromosome from a 'non-rearranged' chromosome 12.

We found that in childhood neural tumors chromosomes that contain a primary aberration are significantly (p -value < 0.001) more likely to

gain further structural rearrangements or to undergo numerical changes than chromosomes with no initial aberration. Moreover, we found that often the same chromosome can be affected by more than one subsequent rearrangement or duplication. We found that in TEL/AML1 positive ALL the rearranged chromosome 12, der(12)t(12;21), which by definition harbor a primary aberration, is more prone to additional rearrangements. These structural alterations may affect both the p and q arms.

Therefore we could suggest that individual aberrant chromosomes containing structural rearrangements have a higher susceptibility to accumulate further changes. This may imply an associated mechanism both for structural and numerical chromosome instability. Furthermore, unstable chromosomes with an elevated rate of alterations may not only be a key generator in the formation of genetic variability in cancer cells, but might also harbor crucial events involved in tumor development. We suggest that this phenomenon represents a common pattern of karyotypic evolution in many cancer cells and the mechanisms involved warrant further investigation.

НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ХРОМОСОМ В НЕРВНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

© Юров И.Ю.^{1,2}, Ворсанова С.Г.^{1,2},
Соловьев И.В.¹, Юров Ю.Б.^{1,2}, ¹ГУ НЦ
Психического здоровья РАМН, Москва,
²МНИИ педиатрии и детской хирургии
Росмедтехнологии, Москва,
yurov@yahoo.com

Анеуплоидия и структурные хромосомные перестройки являются важными биологическими маркерами геномной нестабильности, позволяющими выявлять вариации генома методами классической и молекулярной цитогенетики. Многие заболевания центральной нервной системы (ЦНС) связаны с аномалиями или вариациями генома (хромосом). В частности, патогенез таких широко распространенных заболеваний ЦНС как аутизм, шизофрения, болезнь Альцгеймера и др., по-видимому, тесно связан с нестабильностью соматического генома, которая наблюдается в клетках разных тканей в виде мозаичной анеуплоидии. Тем не менее, до настоящего времени исследования хромосом нервных

клеток головного мозга в норме и при патологии ЦНС остаются за пределами методических возможностей современной цитогенетики. Этот факт, вероятно, связан с ограниченными возможностями стандартных молекулярно-цитогенетических методов для анализа клеток ЦНС. Для заполнения данного пробела нами были разработаны новые модификации молекулярно-цитогенетических методов (интерфазная MFISH; QFISH; ICS-MCB), которые позволяют проводить исследования организации и функционирования генома ЦНС на клеточном уровне с молекулярным разрешением до нескольких десятков тысяч пар нуклеотидов (Iourov et al., 2005; 2006; 2007; 2008; 2009; Soloviev et al., 1995; 1997; 1998; Vorsanova et al., 1994; 2003; 2005; Yurov et al., 1996; 2001; 2002; 2003; 2005; 2007; 2008). Нами была проведена серия поисковых исследований нестабильности хромосом в клетках ЦНС мозга человека в норме, а также при следующих болезнях ЦНС — атаксия-телангиектазия (АТ) или синдром Луи-Барр, болезнь Альцгеймера (БА) и шизофрения (ШЗ). Помимо этого, были также исследованы дети с аутизмом на наличие соматического хромосомного мозаицизма в клетках крови.

При АТ выявлен новый генетический феномен — глобальная анеуплоидизация мозга, охватывающая до 20-50% нервных клеток разных его отделов. Выявлено, что прогрессирующая нейродегенерация в мозжечке дополнительно сопровождалась ярко выраженной нестабильностью хромосомы 14 (анеуплоидия и хромосомные разрывы), частота которой достигала 40%. Рекуррентные перестройки хромосомы 14 вовлекали участок 14q12. При дальнейшем анализе этого хромосомного участка было обнаружено, что разрывы с наибольшей вероятностью локализованы в генах FOXG1B и NOVA1, которые, как известно, отвечают за эпигенетическую регуляцию транскрипции генов в клетках головного мозга в пре- и постнатальных периодах. Таким образом, нестабильность генома является возможной причиной гибели нервных клеток при мозжечковой дегенерации. Молекулярно-цитогенетическое исследование БА выявило 10-ти кратное (по сравнению с контролем) увеличение числа клеток с анеуплоидией по хромосоме 21, и, в меньшей степени — хромосом 18 и X, в коре головного мозга и

гиппокампе — отделов мозга, которые подвержены нейродегенерации. Другие отделы мозга (мозжечок) не содержали анеуплоидные клоны нервных клеток. Таким образом, подтверждается гипотеза о том, что БА и синдром Дауна имеют сходный генетический дефект нервных клеток в виде трисомии 21. При шизофрении обнаружено достоверное повышение уровня спонтанной анеуплоидии, а также моносомия и трисомия хромосом 1, 18 и X (процентное содержание анеуплоидного клона достигает 5%, достоверно превышая нормальный уровень; $P < 0,001$). Это наблюдение свидетельствует о нестабильности кариотипа нервных клеток при этой болезни и мозаичной низкопроцентной анеуплоидии в коре головного мозга. Молекулярно-цитогенетические исследования детей с аутизмом и идиопатической умственной отсталостью показали, что низкопроцентный мозаицизм (мозаичная анеуплоидия хромосом 9, 15, 16, 18 и X) наблюдается у 16% индивидуумов. Примечательно, что у 10% наблюдались дополнительная хромосома X в мужском кариотипе. Последнее может быть использовано для объяснения преобладания мальчиков среди больных аутизмом, а также о том, что соматическая нестабильность генома может приводить к аутизму.

Изучение анеуплоидии в клетках ЦНС подтверждает гипотезу о том, что нестабильность генома может быть одной из генетических причин болезней головного мозга не только при синдромах хромосомной нестабильности (АТ), но также и при таких широко распространенных психических заболеваниях неясной этиологии как аутизм, идиопатическая умственная отсталость, болезнь Альцгеймера и шизофрения. Полученные данные демонстрируют то, что геномная (хромосомная) нестабильность мозаичного типа является одним из возможных механизмов нейродегенеративных и психических заболеваний, а также позволяют выдвинуть гипотезу о том, что данный феномен приводит к нарушению физиологических процессов нервной клетки при нервных и психических заболеваниях. Работа поддерживалась грантами INTAS 03-51-4060; AT Children's Project (RUB-16-18-MO-06), DFG LI 820/18-1 и 436 RUS 17/88/06; DLR/BMBF (RUS 09/006); Philip Morris USA, Inc и РФНФ (0906060а).

ХРОМОСОМНЫЙ МОЗАИЦИЗМ КЛЕТОК МАТЕРИАЛА СПОНТАННЫХ АБОРТОВ: ИССЛЕДОВАНИЕ 650 СЛУЧАЕВ

© Ворсанова С.Г.^{1,2}, Колотий А.Д.¹, Юров И.Ю.^{1,2}, Куринная О.С.^{1,2}, Берешева А.К.^{1,2}, Демидова И.А.^{1,2}, Кравец В.С.¹, Монахов В.В.², Соловьев И.В.², Юров Ю.Б.^{1,2}

¹МНИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологий, Москва, ²ГУ НЦ психического здоровья РАМН, Москва, svorsanova@mail.ru

Геномная (хромосомная) нестабильность, обусловленная численными хромосомными аномалиями (анеуплоидия и полиплоидия) является одной из наиболее частых причин внутриутробной гибели плода. По разным данным более 50% случаев спонтанных абортусов являются следствием анеуплоидии и полиплоидии (Ворсанова и др., 2006; 2008; Hassold, 1982; Hassold, Hunt, 2001; Iourov et al., 2006; 2008; Vorsanova et al., 2003; 2005; 2008). Анеуплоидия, вызванная мейотическим нерасхождением хромосом, является превалирующей среди численных хромосомных аномалий и наблюдается в 40-80% спонтанных абортусов (Ворсанова и др., 2006; Hassold, Hunt, 2001; Iourov et al., 2006). Долгое время считалось, что митотическое нерасхождение хромосом, приводящее к мозаичным формам хромосомных аномалий, вносит незначительный вклад в этиологию спонтанных абортусов, редко превышая 5% (Hassold, 1982; Hassold, Hunt, 2001). Однако, ряд исследований с использованием новых разработок в области интерфазной флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) показали, что частота спонтанных абортусов с мозаичными (митотическими) численными хромосомными аномалиями может быть значительно выше, чем считалось до сих пор (Vorsanova et al., 2005). В настоящей работе был проведен анализ частоты хромосомных нарушений в материале спонтанных абортусов с использованием многоцветовой интерфазной FISH и QFISH (Ворсанова и др., 2006; 2008; Iourov et al., 2005; 2009; Yurov et al., 2005; 2007; 2008) и для определен вклад митотического нерасхождения хромосом в возникновение численных хромосомных аномалий у человека.

С помощью молекулярно-цитогенетических методов были исследованы 650 спонтанных абортусов в сроке от 6 до 15 недель (средний срок — 8,6

недель) у женщин в возрасте от 16 до 47 лет (средний возраст — 31 год). Многоцветовая интерфазная FISH проводилась с использованием ДНК проб на хромосомы 1, 9, 13/21, 14/22, 15, 16, 18, X и Y из оригинальной коллекции лаборатории цитогенетики ГУ НЦПЗ РАМН (Соловьев и др., 1998; Iourov et al., 2008; 2009; Soloviev et al., 1994; 1995; 1997; 1998; Vorsanova et al., 1994; 2002; 2003; 2005; Yurov et al., 1996; 1997; 2002; 2005). Были исследованы от 500 до 1000 клеток для каждой хромосомы/образца.

Численные хромосомные аномалии были обнаружены в 58,2% (378 случаев из 650). Среди них сочетанные хромосомные аномалии (анеуплоидия нескольких хромосом или анеуплоидия + полиплоидия в одном образце) наблюдались в 7,7% (29 случаев), аутосомная трисомия — в 45%, среди которых трисомия хромосомы 16 — 18,2%; трисомия хромосом 14/22 — 8,9%; трисомия хромосом 13/21 — 7,9%; трисомия хромосомы 15 — 5,5%; трисомия хромосомы 18 — 3,1%; трисомия хромосомы 9 — 1,4%. Анеуплоидия хромосомы X была обнаружена в 27% случаев, из которых 9,6% представляли моносомию хромосомы X. Полиплоидия была обнаружена в 22,9% случаев. В 5,1% была обнаружена мозаичная форма аутосомной моносомии. Среди всех случаев спонтанных абортусов с хромосомными аномалиями хромосомный мозаицизм был обнаружен в 50,3%. Наиболее часто хромосомный мозаицизм наблюдался в случаях анеуплоидии хромосомы X и полиплоидии (тетраплоидии). Настоящая работа демонстрирует высокую эффективность интерфазной молекулярной цитогенетики для диагностики численных хромосомных аномалий в материалах спонтанных абортусов. Учитывая, что мозаичные формы наблюдались примерно в 25% случаев среди всех спонтанных абортусов, включая более половины всех случаев с хромосомными аномалиями, была выдвинута гипотеза о существовании феномена митотической хромосомной нестабильности в пренатальном периоде, следствием которой может быть гибель плода. Работа поддерживалась грантом Philip Morris USA, Inc. и РФНФ 0900600603А.

ПОЛИМОРФИЗМ ЯДЕРНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА В ИЗУЧЕНИИ ГЕНОФОНДА

НАРОДОВ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОГО РЕГИОНА

© Лимборская С.А., Институт молекулярной генетики РАН, Москва, limbor@img.ras.ru

Анализ геномного разнообразия, наблюдаемого в генофонде различных популяций и этносов, является важнейшим инструментом исследований в области этнической геномики.

Основной наш интерес связан с изучением маркеров ДНК в генофонде народонаселения Восточно-Европейского региона. Мы используем маркеры ДНК, относящиеся к различным типам полиморфизма — диаллельные (точковые замены и инсерционно-делеционный полиморфизм), мультиаллельные (мини- и микросателлиты).

Анализ маркеров ДНК показал, что их частоты и спектры частот существенно различаются в популяциях, относящихся к разным расам. В наших исследованиях мы имеем дело с популяциями европеоидными, монголоидными и смешанного происхождения. Многие из используемых нами маркеров обладают не только расово-диагностическими, но и высокодифференцирующими свойствами, т.к. позволяют различать не только отдаленные популяции, но и близкородственные. С их помощью можно оценить генетическую историю, происхождение и дифференцировку этнических групп. Но в геноме имеются и другие маркеры, изменчивость которых может определяться не только этнической историей, но и воздействием естественного отбора. Их изучение позволит уточнить особенности этногенеза, происходящего в условиях адаптации к различным факторам внешней среды.

Исследования с использованием технологии микрочипов показали положение в пространстве главных компонент русских относительно других европейских этнических групп.

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ

© Овсепян В.А., Виноградова Е.Ю., ФГУ
«Кировский научно-исследовательский
институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического
агентства», vovsepyan@mail.ru.

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — 3-фазное клональное миелопролиферативное заболевание, пусковыми механизмами развития которого является специфическая транслокация t(9;22). В результате этой транслокации на укороченной (так называемой «филадельфийской», Ph) хромосоме 22 образуется химерный онкоген *BCR-ABL*, приводящий к продукции тирозинфосфокиназы с повышенной активностью и цитоплазматической локализацией (Gordon M.Y., Goldman J.M., 1996; Fialkow P.J. et al., 1997). Патогномичность химерного белка *BCR-ABL* делает ее идеальной мишенью для направленной терапии, что, собственно говоря, в конце 90-ых годов прошлого столетия было реализовано разработкой препарата направленного действия STI 571 (signal transduction inhibitor), получившего название «Гливек» (“Novartis Pharma FG”, Швейцария). Указанное соединение, встраиваясь в АТФ-связывающий карман тирозинфосфокиназы, ингибирует фосфорилирование ее многочисленных субстратов, что, в конечном счете, вызывает остановку пролиферации или индукции апоптоза в клетках с химерной тирозинкиназой (Druker D.J., Talpaz M. et al., 2001).. В настоящее время, несмотря на впечатляющие успехи таргетной терапии ХМЛ, для части больных характерна резистентность к ней и низкая выживаемость, причем доля таких больных по мере прогрессирования заболевания значительно возрастает. Принято считать, что прогрессирование ХМЛ связано с приобретением дополнительных к онкогену *BCR-ABL* молекулярных и хромосомных аномалий, что может отразиться на эффективности таргетной терапии гливеком. Кроме того, имеются данные, что определенный вклад в развитие злокачественных новообразований и формирование их чувствительности к противоопухолевой терапии могут вносить

конституциональные особенности генома, в частности, полиморфизм генов системы биотрансформации ксенобиотиков, участвующих, как известно, в детоксикации экзогенных и эндогенных мутагенов (Krajinovic M., Labuda D., Richer Ch. et al. 1999). В свете вышесказанного мы провели исследование возможной роли полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков, таких как *CYP1A1*, *GSTM1* и *GSTT1*, в патогенезе ХМЛ, анализировали частоту и спектр хромосомных нарушений, дополнительных к t(9;22), а также возможное влияние этих нарушений и полиморфизма перечисленных выше генов на эффективность терапии к гливеку. Материалом для цитогенетического исследования послужили клетки костного мозга 157 больных ХМЛ, а для анализа полиморфизма — образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови 86 больных и 205 практически здоровых доноров. Генотипирование полиморфизмов генов *GSTM1* и *GSTT1* проводилось методом ПЦР, а гена *CYP1A1* — методом ПЦР-ПДРФ. Исследование кариотипа проводили до начала терапии гливеком и каждые 6-12 мес во время терапии. Хромосомные препараты анализировали с помощью GTG-метода с учетом рекомендаций ISCN (2005). Эффективность терапии гливеком оценивали по цитогенетическому ответу (содержание Ph-положительных клеток в пунктате костного мозга).

В результате проведенных исследований была установлена более высокая частота встречаемости гомозигот по «нулевому» аллелю *GSTT1* по сравнению с контрольной группой (13.17% против 24.1% у больных, $p < 0,05$). Оценка отношений шансов указывает на повышенный риск ($OR = 2.09 > 1$, 95% $CI = 1.10 \div 3.99$) развития ХМЛ у гомозиготных носителей «нулевого» аллеля. Возможная патогенетическая роль гомозиготного носительства делеции, приводящей к подавлению глутатион-S-трансферазной активности, скорее всего, обусловлено снижением уровня детоксикации экзогенных и эндогенных мутагенов. В то же время не было выявлено статистически значимых различий между группами здоровых лиц и больных ХМЛ в распределении частот гомозигот по делеции гена *GSTM1* и полиморфных вариантов гена *CYP1A1*, вызванных мутацией *462Ile>Val*.

Кроме того, не было обнаружено достоверных различий между разными полиморфными аллелями указанных генов по цитогенетическому ответу.

У 17 (11%) из 157 больных ХМЛ были обнаружены дополнительные клональные цитогенетические нарушения (клональная эволюция, КЭ). При этом до начала терапии гливекком КЭ была выявлена у 11 (7%) пациентов, а на фоне терапии — у 6 (4%). Наиболее часто встречались дополнительная Ph-хромосома, трисомия 8 и i(17q). При отсутствии признаков фазы акселерации заболевания не было обнаружено достоверных различий между группами больных с КЭ и без него. В то же время в фазе акселерации наличие КЭ ухудшал цитогенетический ответ.

Секция VI
Хромосомы в клеточных делениях

ДНК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И ЭВОЛЮЦИЯ МЕЙОЗА

© Богданов Ю.Ф., Дадашев С.Я.,
Спангенберг С.Е., Матвеевский С.Н.,
Коломиец О.Л., Институт общей генетики
им Н.И. Вавилова РАН, Москва,
yubogdanov@vigg.ru

Считается, что в ходе эволюции древних эукариот мейоз возник на основе митоза (см. Богданов Ю.Ф. Ж. общ. биол. 2008. 69: 102-117). Одним из преобразований, которые претерпел аппарат клеточного деления в ходе становления мейоза, было появление специфичных для мейоза белковых осей хромосом. Эти оси оказались выгодными для узнавания, синапсиса и рекомбинации гомологичных хромосом, и для подготовки хромосом к редукционному делению у примитивных диплоидов (в том числе, у современных дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*). У высших эукариот мейоз-специфичные оси хромосом явились основой для формирования синаптонемных комплексов (СК). Для этого потребовалось соединение хромосомных осей с помощью белковой застежки «молнии». СК сыграли роль ароморфоза в организации полового процесса одноклеточных, а потом и многоклеточных эукариот. На их основе сложился современный классический мейоз у грибов, протистов, растений и животных.

В разных таксономических типах эукариот СК построены по одинаковому плану, но из негомологичных белков. Однако ключевые белки СК имеют сходную блочную организацию и одинаковую вторичную, и третичную структуру функциональных доменов (Богданов и др. 2002; Bogdanov et al; 2003; 2007). Проблемы состоят в том, (1) каким образом негомологичные белки строят одинаковые ультраструктуры СК у эволюционно далеких организмов и (2) каким образом ДНК разных организмов прикрепляется к синаптонемным комплексам, состоящим из разных белков? Вторая проблема уже подвергается экспериментальному исследованию.

В профазе I мейоза хроматин прикреплен к латеральным элементам СК. Ранее в нашей лаборатории было установлено, что остаточная ДНК, выделенная из изолированных СК мыши и золотистого хомячка, которые были обработаны ДНКазой II, (СКАР ДНК) обогащена

простыми повторами GT/CA и последовательностями B1 (Карпова и др., 1989; 1995). Пирлман и др. (Pearlman et al., 1992) нашли обогащение СКАР ДНК крысы повторами SINE и LINE. Недавно было установлено, что повторы SINE и LINE ассоциируют с белком SYCP3 латеральных элементов СК и возможно прикрепляют ДНК к СК (Hernandez-Hernandez et al., 2008). В нашей лаборатории (Дадашев и др. в печати) ДНК-зонды последовательностей B1 (SINE), MALR (LTR), MER (DNA-элемент) и (GT)₂₂ генома мыши, меченные флюорохромами TAMRA или R6G, гибридизовали *in situ* с клеточными ядрами микроспредов пахитенных сперматоцитов мыши, а затем «окрашивали» СК этих ядер антителами к белку SYCP3, меченному флюорохромом FAM. Было установлено, что сигналы ДНК-зондов MALR, MER и (GT)₂₂ диспергированы в кариоплазме, в то время как сигналы B1 повторов ко-локализуются с СК. Эти результаты согласуются с моделью организации СК (Дадашев и др., 2005), которая построена на основе данных компьютерного исследования распределения горячих и холодных точек рекомбинации в геноме человека. Модель предсказывает, что *Alu*-повторы генома человека (сходные с B1 ДНК-повторами мыши) прикрепляют хроматин к латеральным элементам СК, в то время как простые повторы GT/CA локализуются в петлях хроматина и фланкируют горячие точки рекомбинации.

TARGETING OF BUB1B LEADS TO LOSS OF SPINDLE CHECKPOINT FUNCTION AND EMBRYONIC LETHALITY

© Fedorov L.M.^{1,6}, Zoeller B.¹, Steinlein C.², Avdievich E.⁵, Rosenwald A.⁴, Leimeister C.¹, Gessler M.¹, Edelmann W.⁵, Schmid M.², Kneitz B.^{1,3}, ¹Theodor-Boveri-Institute, Physiological Chemistry I, University of Wuerzburg, Germany, ²Department of Human Genetics, Biocenter, University of Wuerzburg, Germany, ³Zentrum Operative Medizin, Urologische Klinik und Poliklinik, University of Wuerzburg, Germany, ⁴Institute of Pathology, University of Wuerzburg, Germany, ⁵Department of Cell Biology, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, USA, ⁶Transgenic Mouse models Shared Resources, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, USA fedorovl@ohsu.edu

The correct segregation of chromosomes into daughter cells during cell division is monitored by a mechanism known as the mitotic spindle checkpoint (MSC). To determine the function of the mitotic spindle checkpoint protein BUB1B in vivo the gene was knocked out in mice. Null mutant embryos revealed protracted embryonic lethality (from E8.5 to E12.5) caused by severe abnormal development, growth retardation and apoptosis. To our surprise, Bub1B^{-/-} embryos survived for 2-3 days longer than embryos lacking Mad2, Bub3 or Rae1 genes, which are probably connected with unique proapoptotic functions of Bub1B. Cultivation of Bub1B^{-/-} embryos with spindle inhibitors did not increase their mitotic index, in contrast to wild type and heterozygous embryos. Direct karyotyping of metaphase spreads and Fluorescence in situ hybridization (FISH) of E8.5 embryonic cells revealed a high rate of aneuploidy and metaphases with premature sister chromatid separation in null mutants. Spectral karyotyping (SKY) of the metaphases of Bub1B^{-/-} embryos did not reveal any form of major chromosome alterations other than aneuploidy. Furthermore, haplo-insufficiency of BUB1B results in an increased frequency of lung adenomas after a long latency in adult mice. Thus, our results support multifunctional roles of BUB1B in the spindle checkpoint, embryonic development and cancer.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА ВРЕДНЫХ (DELETERIOUS) МУТАЦИЙ И ИХ КОРРЕКЦИЯ В МЕЙОЗЕ

© Чубыкин В.Л., Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва, chubykin@vigg.ru

Важнейшей проблемой биологии является эволюция пола. Его эволюционные преимущества до конца не поняты. Большое значение придается так называемым вредным (deleterious) мутациям, приводящим к гибели лишь части потомства в гомозиготах и, поэтому, наследуемых и сохраняющихся в популяциях. Предполагается, что они элиминируются во время мейоза. Механизм элиминации и ее связь с мейотическими процессами не ясны, так как не выяснена природа вредных мутаций — это и является задачей нашего исследования. Идея и метод накопления и регистрации вредных мутаций у дрозофилы принадлежит Меллеру. Она заключается в супрессии спаривания и рекомбинации изучаемых хромосом в мейозе на протяжении многих генераций, для чего использовали для размножения только гетерозигот с соответствующими балансерными хромосомами. Так после 200 генераций гибло около 6% потомства. Наш подход оригинален и заключается в изучении выживаемости потомства в линиях дрозофилы, содержащих мейотические мутации и ведущихся на балансерах или передающихся от отца сыну (изучены линии с мутациями *C(3)G*, *mei-W68*, *-P22*, *-41*, *-218*). Для накопления вредных мутаций не нужен отбор для размножения только гетерозигот по балансерам, так как мей-мутации в гомозиготах сами, не влияя на жизнеспособность особей-носителей, нарушают у них процессы мейоза, снижающие их плодовитость. Нарушение в мейозе способствуют накоплению и фиксации вредных мутаций в малых популяциях изученных линий дрозофилы. Выживаемость изучалась в потомстве от скрещивания гетерозигот (хромосома с мей-мутацией/"балансер"). Оказалось, что потомство *C(3)G/C(3)G*, гибнет полностью через ~2000 генераций, а для гомозигот по мей-мутациям *W68* и *P22* необходимо соответственно ~720 и ~400 генераций. Зависимость жизнеспособности от числа поколений, накапливающих вредные

мутации, предполагает их взаимодействие по типу отрицательного синергизма. Установлена трехкратная насыщенность вредными мутациями прицентромерного района аутосомы 2 по сравнению с дистальными районами. Также впервые показано восстановление жизнеспособности потомства после прохождения хромосом с накопленными вредными мутациями нормального мейоза (с кроссинговером и без). Гетерозиготы по хромосомам с независимо возникшими и накопленными вредными мутациями *C(3)G/mei-P22* выживают в два раза чаще по сравнению с ожидаемой гибелью потомства при предполагаемой некомплементарности вредных мутаций. Наши данные, наряду с высокой частотой появления вредных мутаций, их вероятностным проявлением в потомстве, неиндуцируемостью их мутагенами, схожестью с влиянием на жизнеспособность мобильных элементов указывают на изменение в регуляции экспрессии кластера генов (как в сторону увеличения, так и уменьшения) — предположительно располагающихся в петлевом домене хромосом. Известно, что экспрессия генов зависит от его положения в петле. Предполагается эпигенетическая природа вредных мутаций — изменения в жизненном цикле (про)генеративных клеток петлевой укладки (потенциально поливариантной) хроматина, подвергающейся в норме коррекции в мейозе.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ КЛЮЧЕВЫХ СОБЫТИЙ МЕЙОЗА У РЖИ И ЕЕ СИНАПТИЧЕСКИХ МУТАНТОВ

© Михайлова Е.И., Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербургский государственный университет, Elena.Mikhailova@paloma.spbu.ru

Секвенирование геномов и создание генетических моделей способствовали выявлению гомологии ключевых генов мейоза у разных организмов. Это подтвердило консерватизм отдельных этапов мейоза и позволило осуществлять сравнительные геномные и протеомные исследования, в том числе с использованием организмов с большими геномами и с низкой плотностью генетических карт, каковым является рожь (*Secale cereale* L.).

Геном ржи велик, в 64 раза больше генома арабидопсиса, и вырожден, только 1% его составляют кодирующие последовательности. Поскольку, осуществить секвенирование такого генома в ближайшем будущем не реально, то единственно возможной стратегией изучения мейоза у ржи, в настоящее время, является составление фенотипических портретов спонтанных мутантов, и детальное их сравнение с фенотипами мутантов по известным генам, например дрожжей и арабидопсиса.

«Петергофская» коллекция спонтанных мейотических мутантов ржи использована в качестве модели для изучения закономерностей взаимодействия гомологичных хромосом, что является уникальной особенностью мейоза. Применение флуоресцентной гибридизации ДНК-ДНК *in situ* и иммуноцитохимическое изучение белков мейоза позволило получить характеристики фенотипических особенностей микроспорогенеза как у растений дикого типа, так и у синаптических мутантов. Расположение хромосом в ядре, а также их поведение на ранних стадиях мужского мейоза было изучено путем выявления доменов хромосом, помеченных флуорохромами. Выявлены нарушения кластеризации центромеров и теломеров (формирования букета) у асинаптического мутанта *su1*, а также специфичность в образовании хиазм и случаи негомологичной рекомбинации у десинаптического мутанта *su10*. Антитела к рекомбиногенным белкам Rad51/Dmc1 томатов образовывали многочисленные фокусы на ранних стадиях мейоза у ржи дикого типа и у мутантов, асинаптика *su9* и десинаптика *su10*, но не взаимодействовали с белками мишенями у асинаптического мутанта *su1*. Фенотипические особенности мутанта *su1*: отсутствие фокусов Rad51/Dmc1 в профазе I, униваленты в метафазе I, нарушение формирования букета — свидетельствуют, прямо или косвенно, что мутация *su1* оказывает влияние на события рекомбинации.

Метод иммуноцитохимии с использованием антител, выработанных к ключевым белкам мейоза арабидопсиса, был применен для обнаружения у ржи ортологичных белков синаптонемного комплекса Asy1p и Zyr1p. В сочетании с трехмерным (3D) анализом мейоцитов

посредством световой и лазерной конфокальной флуоресцентной микроскопии, он позволил выявить особенности рекрутирования и сборки этих белков на осях мейотических хромосом у ржи и ее синаптических мутантов.

При рассмотрении полученных результатов, особое внимание будет уделено выявлению признаков универсальности и специфичности ключевых событий мейоза у ржи, а также связи событий мейоза с особенностями устройства генома у эволюционно различных видов растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 04-04-81006, №06-04-48419, 09-04-00636), Фонда Leverhulm Trust Великобритании, программы “Научные школы” и программы Президиума РАН “Биоразнообразие и динамика генофондов” (проект №06-11П-11-3.1). Авторы выражают благодарность Е.Р. Гагинской и сотрудникам центра коллективного пользования “Хромас” СПбГУ за квалифицированную помощь при работе на конфокальном микроскопе Leica TCS SP5.

THE ROLE OF *DROSOPHILA* MERLIN FUNCTIONAL DOMAINS IN SPERMATOGENESIS

© Yudina O.S.¹, Golovnina K.A.¹, Dorogov N.V.¹, Kopyl S.A.¹, Bolobolova E.U.¹, Dubatolova T.D.¹, Shilova I.E.¹, Omelyanchuk L.V.¹, Blinov A.G.¹ and Chang Long-Sheng², ¹Institute of Cytology and Genetics, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia, and ²Center for Childhood Cancer, Children’s Research Institute, and Department of Pediatrics, The Ohio State University College of Medicine, Columbus, Ohio, USA

Neurofibromatosis type 2 (NF2) is a highly penetrant, autosomal dominant disorder. Individuals affected by NF2 are predisposed to the development of bilateral vestibular schwannomas and other nervous system tumors. NF2 is associated with homozygous inactivation of the *Neurofibromatosis 2* gene (NF2), which encodes the Merlin tumor suppressor protein. Merlin shares a high degree of homology with ezrin, moesin, and radixin, a family of proteins linking the actin cytoskeleton to the cell membrane. *Drosophila melanogaster* provides a genetic and developmental system that is amenable to experimental manipulation and has been very valuable for studying tumor genetics. The Merlin homolog in *Drosophila*

shares sequence similarity with the human protein.

The spermatogenesis process of normal flies and *Merlin* mutants was studied by conventional, fluorescent and electron microscopy analyses. Transgenic flies were obtained by microinjection of the wild-type, Myc fused truncated, and point-mutated Merlin constructs cloned in germline expressing vectors. Immunoassaying with anti-Myc antibody demonstrated this characteristic binding pattern in wing imaginal discs for all those constructs when constructs were overexpressed by *1096-GAL4* driver.

We overexpressed different forms of the Merlin protein by using the ubiquitous driver *da-Gal4* in hemizygous *Mer*⁴ males and check analyzed the spermatogenesis phenotype in testes. The transgenes *pUASp-mycMer*¹⁻¹⁶⁹, *pUASp-mycMer*^{ΔBB}, *pUASp-mycMer*³⁴⁵⁻⁶³⁵, and *pUASp-mycMer*³ are were not able to rescue the *Mer*⁴ spermatogenesis phenotype (abnormal cytokinesis, abnormal nebenkern formation) when overexpressed by a *da-Gal4* driver. The *pUASp-mycMer*¹⁻³⁷⁹ transgene was also unable to the rescue also was absent the *Mer*⁴ phenotype. The overexpression of *pUASp-Mer*^{T518A} was unable to restore the cytokinesis and cyst polarization phenotype but was able to partially restore the abnormal mitochondria, normally found in *Merlin* mutants. *mycMer*⁺ completely restore spermatogenesis. In the case of *pUASp-Mer*^{T518D} spermatogenesis was almost completely restored.

The ectopic expression of *mycMer*³, *mycMer*^{ΔBB} and *mycMer*¹⁻³⁷⁹ constructs in the genetically normal germ line by *nanos-GAL4* driver show high level of cytokinesis abnormalities but did not affect the fertility. Both DAPI and Mito-taker staining can visualize the spermatid mitochondrial body. Normally at the beginning of elongation a cyst contains a continuous stick-like nebenkerns while in the case of overexpression of *mycMer*⁺, *Mer*^{T518A}, *mycMer*³⁴⁵⁻⁶³⁵ proteins the mitochondrial bodies look like “loaf” shape — are less elongated than the entire spermatids. Similar “loaf” shape nebenkern is characteristic to the earlier stage of elongation, suggesting the nebenkern elongation delayed relative to the elongation of a whole cyst. At the later stages of elongation the mitochondrial material become dispersed over the cyst length, showing that the asynchrony between nebenkern and entire cyst elongation results from lost of mitochondrial body elasticity in the overexpression conditions.

Ultrastructural analysis of elongating cysts in the case of *mycMer⁺* overexpression reveals the presence of mitochondrial bulges and thinning at the spermatid cross-sections additionally supporting “loaf” phenotype initially found by light microscopy. Those bulges and thinning can be found on both major and minor mitochondrial derivatives.

It appears that only entire *Mer⁺* protein can completely rescue the spermatogenesis defects. With the exclusion of the process of cyst polarization *Mer^{T518D}* protein (that mimics phosphorylated Merlin protein), also restores *Mer⁴* spermatogenesis. Those two facts can be explained if *Mer⁺* restoration is mainly related with the activity of phosphorylated form of Merlin protein that is transcribed from *mycMer⁺* transgene. Partial restoration of *Mer⁴* nebenkern defects by *Mer^{T518A}* is giving the evidence that non-phosphorylated form of Merlin also has some role in mitochondrial derivative formation. If so, the nebenkern defects that were observed after ectopic expression of *mycMer⁺* and *Mer^{T518A}* by *nanos-Gal4* driver in the presence of endogenous Merlin protein can be considered as a consequence of excess of non-phosphorylated Merlin transcribed from those transgenes. The truncated protein *mycMer³⁴⁵⁻⁶³⁵*, showing similar overexpression phenotype, must be considered as non-phosphorylated Merlin fragment. This probably reflects the destruction of Merlin kinase binding site by the truncation made.

Since *Mer^{T518D}* rescue also *Mer⁴* cytokinesis defects, it is clear that phosphorylated form performs leading role in execution of this function also. However, the ectopic expression experiments show that *nanos-Gal4* mediated ectopic expression of *mycMer³*, *mycMer^{ABB}*, and *mycMer¹⁻³⁷⁹* in the presence of endogenous normal Merlin results in dominant cytokinesis defects. Since those forms do not demonstrate similar effect on nebenkern formation, the proteins *mycMer³*, *mycMer^{ABB}*, and *mycMer¹⁻³⁷⁹* qualitatively differ from conventional Merlin T518 phosphorylated or T518 non-phosphorylated forms. It looks those proteins represent some special form of Merlin protein that is refractory to activation, as it was proposed earlier (Lajeunesse et al. 1998).

КОРРЕКЦИЯ АНОМАЛИЙ ЦИТОСКЕЛЕТНЫХ СТРУКТУР В ДЕЛЕНИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

© Шамина, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Такой фундаментальный биологический процесс, как деление эукариотной клетки, непосредственно осуществляется цитоскелетом. Для изучения функции цитоскелета в делении растительной клетки мы использовали анализ широкого спектра аномалий мейотического деления материнских клеток пыльцы у отдаленных гибридов первого поколения, мейотических мутантов, гаплоидов и т.п. В процессе этой работы мы обнаружили, что в ряде случаев аномалии цитоскелетных систем (таких, как веретено деления и фрагмопласт) исправляются в ходе клеточного деления. Коррекция может подвергаться как аномальная структура, так и аномальная функция цитоскелетных систем. В первом случае аномальная цитоскелетная система разбирается на составляющие элементы (фибриллы цитоскелета) и строится вновь, уже нормальной морфологии. Во втором случае, при дисфункции цитоскелетной системы, может формироваться дополнительная аналогичная система, выполняющая нарушенную функцию.

Корректирующие механизмы первой группы обнаруживаются в асинаптическом мейозе при аресте хромосом в конфигурации «букета», а также при массовом формировании трехполюсных веретен.

Согласно нашим данным, арест хромосом в зиготенной конфигурации «букета» — широко распространенное явление в асинаптическом мейозе. Из проанализированных нами 83 различных генотипов гаплоидов и аллогиплоидов злаков у 45 наблюдался «арест в букете» с частотой от 30 до 100%. Мейотическое деление 25 из них было детально проанализировано с визуализацией цитоскелета. У всех генотипов в прометафазе 1 формировалась монополярная фигура, где все униваленты оказывались приведенными к одному полюсу. У двух генотипов это приводило к монополярной сегрегации унивалентов. В остальных 23 генотипах сформированный монополюс разрушался и превращался в хаотическую сеть фибрилл, из которой строилось биполярное веретено с равномерным

распределением унивалентов между полюсами. В части клеток коррекционный процесс происходил в виде расщепления монополюса на два и их перемещения с формированием биполярного веретена.

Процесс, обратный такому расщеплению полюса, наблюдается при коррекции трехполюсных веретен в фенотипе меймутанта *mei025*. При этом третий полюс (полуверетено) поворачивается в пространстве клетки и сливается с одним из двух оставшихся, в результате чего трехполюсное веретено преформируется в биполярное.

Корректирующие механизмы второй группы обнаруживаются при дисфункции фрагмопласта и веретена деления.

У изученных нами 26 различных генотипов пшенично-пырейных и пшенично-ржаных гибридов первого поколения с «гамма»-фенотипом (неспособность фрагмопласта к симметричному центробежному движению) блок цитокинеза наблюдался лишь у трех генотипов. У остальных 23 дисфункция фрагмопласта компенсировалась формированием дополнительного фрагмопласта. Это происходило посредством механизма, характерного для формирования неподвижного фрагмопласта в симультанном цитокинезе в мейозе у двудольных, то есть за счет полимеризации микротрубочек от полюсов телофазного веретена. Новый фрагмопласт формировал клеточную пластинку и, двигаясь центробежно, совершал цитокинез.

При блоке формирования кинетохорных микротрубочек в МКП у 7 изученных нами генотипов отдаленных гибридов злаков формировалось дополнительное мини-веретено, которое осуществляло сегрегацию хромосом и служило основой для формирования фрагмопласта и осуществления цитокинеза. Лишь в одном генотипе ППГ с этой аномалией формирования таких дополнительных веретен не происходило.

Обнаруженные нами корректирующие механизмы отличаются от описанного в литературе *spindle assembly checkpoint* — точки контроля веретена. SAC предотвращает наступление анафазы в случае неправильного прикрепления хотя бы одной хромосомы к веретену деления, просто продлевая прометафазу. В случае же обнаруженных нами корректирующих

процессов происходит либо разрушение и перестройка аномальной структуры, либо формирование дублирующей, что предполагает иные механизмы исправления нарушений.

ЭФФЕКТ КИСЛОЙ РН СРЕДЫ НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ЯДЕР И ЯДРЫШЕК КЛЕТОК ПОБЕГОВОЙ И КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЫ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ

© Баранова Е.Н., Гулевич А.А.,
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН

Верхушечная (побеговая) и корневая меристематические ткани — это недифференцированная растительная ткань, клетки которой способны многократно делиться и предоставлять материал для образования различных специализированных тканей. В меристематической ткани происходят как обычные для делящихся клеток процессы, связанные с клеточным циклом, так и специфические процессы, связанные с реакцией на вызовы окружающей среды, которые могут, в конечном счете, приводить даже к наследуемым эпигенетическим изменениям адаптивного характера, связанным с метилированием, ацетилизацией гистонов и другими, регулирующими экспрессию механизмами.

Одной из реакций клеток на действие абиотических факторов может быть замедление или полное блокирование делений, путем задержки клеточного цикла на определенной стадии, вероятнее всего профазе. Следствием этого является накопление клеток в G₂ фазе, а также нарушение митоза — аномальный митоз, изменение митотического индекса и другие нарушения. Другим проявлением должно быть изменение экспрессии генов, вызванных сигнальным ответом, связанным с генетически детерминированными ответами на воздействия. И, наконец, изменения, проявляющиеся в эпигенетических изменениях хроматина, структурных или регуляторных компонентах ядра. В верхушечной меристеме могут проявляться также изменения, связанные с блокированием FLC и вызывающие изменения, индуцирующие переход к генеративному развитию.

В литературе описаны изменения ультраструктуры ядерного компартмента и ядрышек под действием абиотических воздействий. Так, описано увеличение количества необычных ядрышек “амебоидной” формы в апикальной меристеме побега пшеницы при яровизации. Также этот тип ядрышек был описан в побеговом апексе яровой пшеницы на ранних этапах замачивания и при прорастании в условиях щелочного рН. Методом световой микроскопии подобные структуры были выявлены при изучении преобразований ядрышка в процессе клеточного цикла. Выявление ультраструктурных параметров в ядерных компартментах апикальных меристем побега и корня на фоне действия факторов имитирующих природные абиотические стрессоры, в частности кислой рН, являющейся одним из наиболее значимых ограничивающих рост и урожайность абиотических факторов в частности в нечерноземной зоне РФ, позволит ответить на некоторые вопросы, связанные с отличиями ядер клеток этих двух активно пролиферирующих зон и происходящих в них преобразованиях. Воздействие кислого рН с учетом влияния таких токсичных при их низких значениях ионов как Al на различные физиологические и биохимические параметры изучены недостаточно и наиболее тщательно проанализированы в работе Э.Л. Климашевского. Неоптимальные значения рН могут предположительно индуцировать ряд сигнальных путей, аналогичных проявляющимся при холодовом стрессе (токсическом и оксидативным), однако, вероятнее всего, не запускает ответ на осмотический компонент воздействия, характерный для многих абиотических стрессоров, таких как холод, засуха, засоление.

Секция VII
Молекулярно-генетические механизмы инактивации
X-хромосомы у млекопитающих

НЕКОДИРУЮЩИЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ РНК X ХРОМОСОМЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ. ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ

© Колесников Н.Н. и Елисафенко Е.А.,
Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирский государственный
университет, г.Новосибирск, Россия.
kolesnikov@bionet.nsc.ru

Некодирующие РНК (нкРНК) представляют собой разнообразный класс молекул РНК, которые не кодируют белок, но функционально активны, и участвуют в регуляции многих клеточных процессов. Исследования последних лет, позволяют предположить, что большая часть генома млекопитающих транскрибируется в нкРНК, многие из которых подвергаются альтернативному сплайсингу и процессингу. Точное число нкРНК генов в геноме человека неизвестно, но по последним данным по транскриптому, речь может идти о тысячах генов, играющих важную регуляторную роль в клетке (Mattick, Makunin, 2006; Furuno et al., 2006, <http://www.noncode.org/>). Некодирующие РНК гены можно подразделить по размеру на малые и длинные. Малые нкРНК гены включают разнообразные классы, в том числе и микроРНК гены; к известным длинным нкРНК генам относятся гены XIST, AIR, H19 и тысячи других длинных транскриптов, со сложной картиной взаимодействия и перекрывания смысловых и антисмысловых транскриптов. Однако, функция большинства из них пока не выяснена. Отдельный интерес представляет вопрос происхождения и эволюции некодирующих РНК генов, что и составило предмет нашего исследования, на модели нкРНК генов центра инактивации X хромосом млекопитающих. Инактивация одной из двух X-хромосом самок млекопитающих представляет собой яркий пример эпигенетического сайленсинга генов целой хромосомы при участии нкРНК гена XIST, играющего в этом сложном процессе ключевую роль. Ген XIST локализован в X хромосоме в, так называемом, центре инактивации — (XIC), в котором также выявлены еще два нкРНК гена, JPX и FTX, с неизвестной функцией, и кластер микроРНК генов (<http://cegg.unige.ch/mirortho>).

Мы провели исследование происхождения и эволюции нкРНК генов центра инактивации X хромосомы плацентарных

млекопитающих с использованием комплекса бionформационных программ и подходов. На основе сравнительного анализа структуры гена XIST представителей всех основных групп плацентарных млекопитающих (12 видов) мы реконструировали консенсусную последовательность предкового гена, оценили пути эволюции структуры в разных группах млекопитающих, показали существенный вклад различных классов мобильных элементов в его происхождении и других нкРНК генов и кластера микроРНК генов.

Мы показали, что ключевой ген XIST центра инактивации XIC возник на основе белок кодирующего гена Lnx3 в период 140-105 млн. лет тому назад, после расхождения от общего предка сумчатых и плацентарных млекопитающих. Предковый ген плацентарных млекопитающих состоял из 10 экзонов, шесть из которых произошли из мобильных элементов. Дальнейшая эволюция гена шла различными путями в разных группах млекопитающих, за счет видоспецифических tandemных повторов и мобильных элементов. Кроме того, мы показали, что два других нкРНК гена — JPX и FTX, также возникли на основе белок кодирующих генов синтенного района центра инактивации, путем их псевдогенизации, за счет мутаций и колонизации мобильными элементами разных типов. Причем необходимо отметить, что у разных видов млекопитающих, разные типы повторов лежат в основе происхождения видоспецифических экзонов этих нкРНК генов. Более того, ген FTX человека содержит в интроне два кластера микроРНК генов и эти гены произошли из L2 последовательностей. Один кластер микроРНК генов обладает эволюционной консервативностью и выявляется у мыши и человека, другой подвергся мутационным изменениям и не функционален у мыши. Сравнительный анализ показал, что оба кластера возникли в тот же период, что и ген XIST. Любопытно, что эти кластеры микроРНК лежат внутри «центра нуклеации», горячей точке H3K9 метилирования, участвующей в распространении X-инактивационного сигнала (Morey, Avner 2004).

Таким образом, транспозабельные элементы сыграли существенную роль в происхождении длинных и малых нкРНК генов центра инактивации X хромосомы. Ген

XIST и XIST- зависимая инактивация X хромосомы, нкРНК центра инактивации XIC, включая кластер из 4 микроРНК, возникли в период 140-105 млн. лет тому назад, после разделения от общего предка ветвей сумчатых и плацентарных млекопитающих. На примере трех нкРНК генов XIC (XIST, JRX,FTX) можно предложить следующую схему возникновения длинных нкРНК генов. Процесс происходил в несколько этапов: дупликация локуса, содержащего несколько белок кодирующих генов; потеря функциональной активности за счет инсерций и делеций в одном из локусов и образование псевдогенов; колонизация локуса мобильными элементами, транскрипция и возникновение новых экзонов на основе последовательностей транспозонов; возникновение нового нк РНК гена. Белок кодирующий ген умер и вернулся к жизни в качестве регуляторного гена.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ И ПРОИСХОЖДЕНИЯ ГЕНА TSI

© Жукова О.А., Елисафенко Е.А., Закиян С.М.,
Институт Цитологии и Генетики СО РАН,
Новосибирск, antares@bionet.nsc.ru

Большинство генов одной из двух X хромосом самки млекопитающих транскрипционно подавляются в результате процесса, названного инактивацией X хромосомы. Этот процесс контролируется определенным генетическим локусом — центром инактивации (*Xic* — X chromosome inactivation center), содержащим элементы, отвечающие за подсчет, выбор и инициацию инактивации. В этом локусе расположены гены *Xist* и *Tsix*. Ген *Xist* (X inactive specific transcript) кодирует нетранслируемую, ядерную РНК, которая играет ключевую роль в инициации инактивации X хромосомы. Ключевой регулятор экспрессии *Xist* — его антисмысловой транскрипт ген *Tsix*.

Целью данной работы является исследование происхождения гена *Tsix* у плацентарных млекопитающих и транскрипционной регуляции на ранее не изученном объекте полевке *Microtus rossiaemeridionalis*. Промотор гена *Tsix* не содержит ТАТА-боксы, Inr-элемента и т.п., более того регуляция этого гена по-видимому отличается у разных видов. Ген *Tsix* у мыши и полевки сходен, однако у полевок произошла перестройка локуса, в результате которой

этот ген имеет более короткую регуляторную область по сравнению с мышинным аналогом.

С помощью метода DNase I *in vitro* футпринтинга, в области прилегающей к точке старта были выявлены защищенные мотивы, с которыми взаимодействуют белки. Компьютерный анализ показал наличие множества потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов. Наиболее вероятными регуляторными белками, взаимодействующими с данной областью, являются факторы AP1, AP4, BTE, SP1, CAAT box, т.к. мотивы для связывания с этими факторами частично или полностью совпадают с защищенными районами, определенными экспериментально

Также регуляция гена *Tsix* изучалась с использованием репортерных конструкций на основе вектора pGL 4.10 *luc2*, что позволило более точно определить регуляторные элементы, влияющие на транскрипцию. Данные конструкции содержат ген люциферазы под контролем различных частей 5'-области гена *Tsix*. Экспрессия репортерных конструкций была исследована в перевиваемой клеточной культуре фибробластов самки линии SD10. В результате была выявлена область минимального промотера, три потенциальных энхансерных регуляторных элемента и один подавляющий транскрипцию элемент. В районах энхансеров расположены потенциальные сайты связывания транскрипционных факторов обозначенных выше, а в области предполагаемого сайленсера расположен потенциальный сайт связывания белка ARP1 (NR2F2), который может выступать как в качестве активатора, так и репрессора в зависимости от контекста промотера.

Для того чтобы установить происхождение гена *Tsix* был проведен сравнительный анализ локуса центра инактивации у представителей различных таксонов млекопитающих. Ген *Tsix* у грызунов регулирует *Xist*. Некий аналог его найден и у человека. Несмотря на эволюционную близость, грызуны — мышь, крыса и полевка — существенно отличаются друг от друга по структуре и организации этого гена. При их сравнении с другими видами млекопитающих не удалось выявить участки гомологичные первым экзонам *Tsix* и регуляторному элементу DXPas34. Очевидно, что район, содержащий мажорный старта транскрипции, основные экзоны *Tsix* и

DXPas34 у грызунов возник в результате транспозиции из другого участка генома с последующей амплификацией отдельных последовательностей и образованием блоков tandemных повторов. Следовательно, регуляция Tsix, а значит и всего центра инактивации у грызунов существенным образом отличается от других видов *Eutheria*.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ РАЙОНОВ ГЕНА *XIST* ПОЛЕВКИ *MICROTUS ROSSIAEMERIDIONALIS*

© Орищенко К.Е., Елисафенко Е.А., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, keor@bionet.nsc.ru

Компенсация дозы генов у самок высших млекопитающих происходит за счет транскрипционной инактивации одной из двух X-хромосом. Инактивация X-хромосомы — это сложный многостадийный процесс, начинающийся в раннем эмбриогенезе и контролируемый определенным генетическим локусом — Xic (*X*-chromosome inactivation center). Ген *Xist* (*X* inactivate specific transcript) является ключевым фактором в инициации инактивации. Он экспрессируется только на неактивной X-хромосоме и кодирует гигантскую, (размером более 17 т.н.) нетранслируемую, ядерную РНК, которая, распространяясь по X-хромосоме, приводит к транскрипционному молчанию расположенных в ней генов.

В данной работе исследована регуляторная область гена *Xist* полевки *Microtus Rossiaemeridionalis*. В результате анализа 5' области гена *Xist* у семи видов млекопитающих, были обнаружены два наиболее консервативных района. Первый, размером около 100 п.н. (ECR1 — evolution conservative region) соответствует району минимального промотора и второй, размером 80 п.н. (ECR2) располагается в области от -480 п.н. до -400 п.н. относительно точки старта транскрипции у полевки. Для определения ДНК-мотивов, с которыми взаимодействуют регуляторные белки, данные районы были исследованы методом *in vitro* футпринтинга с ДНКазой I. В реакциях связывания использовался радиоактивно меченый ДНК-зонд и ядерные белковые экстракты, выделенные из перевиваемой клеточной культуры фибробластов самки, линии SD10. В результате в ECR1 было обнаружено девять защищенных районов на “+” цепи и шесть на

“-” цепи. В ECR2 на “+” цепи были выявлены шесть защищенных районов.

Для поиска потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов была использована программа MatInspector (www.genomatix.de). В результате в ECR1 обнаружены потенциальные сайты связывания таких широко распространенных транскрипционных факторов как TBP, AP2, YY1, SP1, CAAT box связывающего фактора и других. В ECR2 выявлены потенциальные сайты связывания факторов: SRY, ER, RAR, AP1 и других. Часть из обнаруженных сайтов практически полностью перекрывается с защищенными районами, определенными в экспериментах по футпринтингу.

Чтобы определить какое влияние на экспрессию гена *Xist* оказывает ECR2 и выявить другие функциональные районы, были построены репортерные конструкции. Различные части 5' области гена *Xist* полевки были амплифицированы при помощи ПЦР с праймерами, содержащими сайты рестрикции, и клонированы в вектор pGL4.10[luc2], содержащий ген люциферазы без собственного промотора. Активность полученных конструкций исследована в клеточной линии SD10. Показано, что минимальный промотор гена *Xist* у полевки локализуется в районе от -100 п.н. до +67 п.н. Также, в 5' области в районе от -100 п.н. до -200 п.н. и от -300 п.н. до -400 п.н. могут располагаться репрессоры, а в районах от -200 п.н. до -300 п.н. и от -400 п.н. до -500 п.н. могут располагаться активаторы транскрипции.

Кроме этого, методами иммунопреципитации хроматина (ChIP) и задержки в геле (EMSA) показано, что транскрипционные факторы CTCF и AP2 взаимодействуют с промотором гена *Xist* полевки. Было сделано предположение, что мутация в районе связывания этих факторов может влиять на эффективность связывания, что в свою очередь может быть ассоциировано с неслучайной инактивацией X-хромосомы, наблюдающейся у межвидовых гибридов обыкновенных полевок.

ТРОФОБЛАСТНЫЕ СТЕЛОВЫЕ КЛЕТКИ ОБЫКНОВЕННОЙ ПОЛЕВКИ РОДА *MICROTUS* — МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИМПРИНТИРОВАННОЙ ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ

© Григорьева Е.В., Шевченко А.И., Мазурок Н.А., Закиян С.М., Институт

цитологии и генетики Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск,
Россия, evlana@bionet.nsc.ru

Трофобластные стволовые (ТС) клетки являются производными клеток трофобластной эктодермы — первой клеточной линией, формирующейся в зародышах млекопитающих, благодаря которой происходит имплантация зародышей в стенку матки и развитие плаценты. Известно, что трофобластная эктодерма представляет собой наиболее раннюю клеточную линию эмбриона, в которой происходит неслучайная инактивация X-хромосомы, унаследованной от отца, и, вероятно, может наиболее адекватно отражать начальные стадии этого процесса. Ранее на ТС клетках самок мыши, также как и клетках предшественниках, была показана импринтированная инактивация X-хромосомы.

Нами были получены ТС клетки обыкновенной полевки рода *Microtus* в отсутствие факторов, являющихся критическими для выделения и неограниченной пролиферации ТС клеток мыши. Несмотря на разницу в способе получения, ТС клетки полевки имеют ряд признаков схожих с ТС клетками мыши, таких как морфология, экспрессия маркеров экстраэмбриональной эктодермы, способность образовывать гематомы при инъекции мышам линии *nude*. Мы показали, что инактивация X-хромосомы в полученных ТС клетках полевки, как и у мыши, происходит импринтированно, однако, наблюдается ряд существенных отличий. Таким образом, полученные ТС клетки представляют интерес в качестве модели для изучения механизма импринтированной инактивации X-хромосомы у обыкновенных полевок рода *Microtus*, сравнения с мышью и выявления различий и общих закономерностей данного процесса.

МОДИФИКАЦИИ ХРОМАТИНА НЕАКТИВНОЙ X-ХРОМОСОМЫ У ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЕВОК

© Васькова Е.А., Шевченко А.И., Павлова С.В.,
Дементьева Е.В., Григорьева Е.В., Закиян С.М.,
Институт Цитологии и Генетики СО РАН,
Новосибирск, antares@bionet.nsc.ru

У млекопитающих существует три формы инактивации X-хромосомы: мейотическая, импринтированная и случайная. Мейотическая инактивация происходит в

сперматогенезе у самцов на стадии пахитены в мейозе, когда обе половые хромосомы становятся транскрипционно неактивными. Транскрипционный сайленсинг половых хромосом сохраняется и на постмейотических стадиях. На предимплантационных стадиях развития у самок имеет место импринтированная инактивация, когда инактивации подвергается X-хромосома, унаследованная от отца. На стадии бластоцисты в клетках эпибласта происходит ее реактивация, после чего выбор неактивной X-хромосомы происходит случайным образом. Было высказано предположение, что импринтированная инактивация является следствием мейотической инактивации. Т.е., в результате мейотической инактивации X-хромосома сохраняет маркеры неактивного хроматина в зиготе и поэтому предетерминирована в отношении инактивации.

В данной работе на примере полевки *Microtus rossiaemeridionalis* для целого ряда модификаций гистонов показан сходный паттерн распределения на неактивной X-хромосоме в составе полового тельца и на ранних стадиях процесса импринтированной инактивации. На данных стадиях развития работает HP1/H3K9me3 система сайленсинга. На более поздних стадиях процесса импринтированной инактивации подключается PRC2-зависимая (H3K27me3) система сайленсинга. На неактивной X-хромосоме в фибробластах, где произошел процесс случайной инактивации, выявляются две системы сайленсинга: HP1/H3K9me3 и H3K27me3/uH2A. Таким образом, сходство модификаций хроматина в процессе мейотической инактивации половых хромосом и на ранних стадиях предимплантационного развития свидетельствует в пользу гипотезы о том, что при импринтированной инактивации X-хромосома, унаследованная от отца, имеет преинактивированное состояние, которое устанавливается в результате мейотической инактивации.

СТАТУСЫ ЭКСПРЕССИИ И МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ X- ХРОМОСОМЫ В СОМАТИЧЕСКИХ И ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЯХ ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЕВОК

© Дементьева Е.В., Шевченко А.И.,
Вагнер Т.В., Закиян С.М., Институт цитологии

и генетики СО РАН, Новосибирск,
dementyeva_elen@mail.ru

В раннем развитии самок млекопитающих одна из двух X-хромосом подвергается инактивации, что позволяет установить равный уровень экспрессии генов X-хромосомы между полами. Несмотря на то, что неактивное состояние распространяется вдоль всей X-хромосомы, ряд генов избегает инактивации. Транскрипционный профиль генов неактивной X-хромосомы изучен только у человека и мыши, и почти ничего не известно об экспрессии генов на неактивной X-хромосоме у других видов млекопитающих. Интерес представляет также сравнение статусов экспрессии генов X-хромосомы при случайной и импринтированной инактивации, которые происходят в соматических и экстраэмбриональных тканях соответственно.

Найдены различия нуклеотидных последовательностей кДНК 15 генов X-хромосомы для двух видов обыкновенных полевок рода *Microtus*: *M. arvalis* и *M. rossiaemeridionalis*. Определен их статус экспрессии в фибробластах и экстраэмбриональных тканях гибридных самок от скрещивания *M. rossiaemeridionalis* и *M. arvalis*. В фибробластах гены *Atrx*, *Chm*, *Hprt*, *Midi*, *Nap13*, *Pgk1*, *Rab9*, *Rbbp7*, *Slc7a3*, *Sybl1*, *Ube1x* подвергаются инактивации и экспрессируются лишь на активной X-хромосоме. Ген *Xist* транскрибируется только с неактивной X-хромосомы. Ген *Utx* избегает инактивации и стабильно экспрессируется на обеих X-хромосомах. Гены *Sbl.8*, *Ddx3x* имеют гетерогенную экспрессию, то есть инактивируются в одних линиях фибробластов и экспрессируются на неактивной X-хромосоме в других. В экстраэмбриональных тканях инактивирующиеся в фибробластах гены *Atrx*, *Chm*, *Midi*, *Ube1x* экспрессируются на неактивной X-хромосоме, по крайней мере, в одном из типов экстраэмбриональных тканей. Следовательно, уровень экспрессии генов на неактивной X-хромосоме в экстраэмбриональных тканях выше, чем в соматических. Вероятно, импринтированная инактивация X-хромосомы является менее полной и/или стабильной, чем случайная.

Исследован статус метилирования различных по характеру экспрессии генов X-хромосомы полевок в фибробластах и экстраэмбриональных тканях самцов и самок

обыкновенных полевок. В фибробластах статус метилирования гена полностью согласуется с характером его экспрессии. Инактивирующиеся гены метилированы на неактивной X-хромосоме, ген *Xist*, напротив, метилирован на активной X-хромосоме, а избегающий инактивации ген *Utx* не подвергается метилированию. В экстраэмбриональных тканях соответствия между статусами экспрессии и метилирования наблюдаются не для всех исследуемых генов X-хромосомы, что согласуется с меньшей стабильностью импринтированной инактивации, а также может свидетельствовать о меньшей роли метилирования ДНК в поддержании импринтированной инактивации по сравнению со случайной.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ И ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМ У СУМЧАТЫХ ОПОССУМОВ

© Захарова И.С., Шевченко А.И.,
Елисафенко Е.А., Шилов А.Г. и Закиян С.М.,
Институт цитологии и генетики СО РАН
zakharova.is@gmail.com

У плацентарных млекопитающих дозовая компенсация обеспечивается посредством инактивации одной из двух X-хромосом у самок. Ключевую роль в этом процессе играет ген *Xist*, располагающийся на X-хромосоме в локусе, называемом центром инактивации. У сумчатых дозовая компенсация генов половых хромосом также происходит за счет инактивации X-хромосомы у самок. В отличие от плацентарных млекопитающих, инактивация X-хромосомы у сумчатых импринтированная, неполная, обратимая и тканеспецифичная. Однако обнаружить у них ортолог гена *Xist* с помощью молекулярной гибридизации не удалось. Известно, что у всех исследованных видов плацентарных млекопитающих ген *Xist* фланкируют два консервативных белок-кодирующих гена: *Chic1* и *Slc1b2*. Сцепление этих генов выявляется также на 4-ой хромосоме у курицы, между ними располагаются два белок-кодирующих гена: *Fip1* и *Lnx3*. Ген *Lnx3* имеет частичную гомологию с РНК *Xist* и рассматривается как предшественник гена *Xist*. В данной работе показано, что гены *Chic1* и *Slc1b2* у двух видов американских опоссумов *Monodelphis domestica* и *Didelphis virginiana* удалены друг от друга в результате хромосомных перестроек, и у *D. virginiana* — вообще располагаются на разных плечах X-

хромосомы. При анализе последовательностей ДНК в окружении гена *Chic1* сумчатых обнаружена гомология с белок-кодирующими генами *Fip1* и *Lnx3*. Ген *Lnx3* сумчатых продуцирует мРНК, имеет нативную открытую рамку считывания, и, очевидно, функционирует как белок-кодирующий ген, а не как нетранслируемая ядерная РНК, подобная *Xist*. Полученные результаты свидетельствуют, что у опоссумов не существует прямого ортолога гена *Xist*, и инактивация X-хромосомы у сумчатых, в отличие от плацентарных млекопитающих, происходит без участия данного гена. Проведено исследование модификаций хроматина X-хромосом в культуре клеток *M. domestica*. На неактивной X-хромосоме сумчатых выявлены следующие модификации гистонов: гипoaцетилирование H3K9, гипометилирование H3K4, триметилирование H3K9 и показано, что она является поздно реплицирующейся. Т.о, несмотря на отсутствие прямого ортолога гена *Xist*, у *M.domestica* на неактивной X-хромосоме присутствуют модификации хроматина, которые характерны для неактивной X-хромосомы плацентарных, а также для инактивированных аутосомных генов с импринтированной моноаллельной экспрессией, сайленсинг которых связан с транскрипцией некодирующей РНК. Показано, что активная X хромосома сумчатых, в отличие от плацентарных, имеет сниженный уровень ацетилирования H3K9 и метилирования H3K4 по сравнению с аутосомами, что может быть связано с необходимостью частичного снижения уровня транскрипции с активной X хромосомы в связи с неполной инактивацией генов на неактивной X хромосоме.

Секция VIII
Политенные хромосомы

GENE DENSITY IN THE LATE REPLICATED DOMAINS OF DROSOPHILA MELANOGASTER

© *Belyakin S.N.¹, Babenko V.N.², Maksimov D.A.¹, Shloma V.V.¹, Kvon E.Z.², Belyaeva E.S.¹ & Zhimulev I.F.¹*, ¹Department of molecular and cellular biology at the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS, Novosibirsk, Russia ²Institute of Cytology and Genetics SD RAS, Novosibirsk, Russia

Distribution of genes in eukaryotic genomes appears to be non-random. For example in humans, gene dense regions contain highly, ubiquitously expressed genes with short introns and often coincide with putative origins of replication. These regions alternate with the areas of dispersed, long genes that have tissue-specific expression. These findings suggest that organization of genes and their relative positions might be allied to mechanisms of genome regulation. However, the functionality of this genomic structure is still obscure. Here we show that in *Drosophila melanogaster* similar but not identical features are characteristic for the late replicated regions. We found that areas of low gene density coincide with late replicating and under-replicated regions (URs) in salivary gland polytene chromosomes. Short genes are over-represented in URs in comparison to their flanks and demonstrate a pronounced testis-specific expression. Gene density in the flanks is considerably higher than in URs. Based on these observations, we developed a genome scanning algorithm and identified 98 regions possessing analogous gene density and transcriptional profiles. Of these, 75 coincided with cytologically defined late replicated regions of the polytene chromosomes and 62 demonstrated weak spots. Moreover, according to the published data, their replication timing in Kc cells is shifted towards the end of the S-phase. In a randomly picked sample of predicted regions, we show that they have the potential to be under-replicated in the polytene chromosomes. Our results demonstrate that late replicated regions and their borders form stable genomic structures and may be identified by gene distribution patterns.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕННОЙ ПЛОТНОСТИ В РАЙОНАХ ПОЗДНЕЙ РЕПЛИКАЦИИ У DROSOPHILA MELANOGASTER

© *Белякин С.Н.¹, Бабенко В.Н.², Максимов Д.А.¹, Шлома В.В.¹, Квон Е.З.², Беляева Е.С.¹, Жимулев И.Ф.¹*, ¹Отдел

молекулярной и клеточной биологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия, ²Институт цитологии и генетики СО РАН Новосибирск, Россия

Распределение генов в эукариотическом геноме не случайно. Например, у человека, районы с высокой плотностью генов содержат повсеместно активно экспрессирующиеся гены с короткими интронами, а также часто совпадают с ориджинами репликации. Такие айоны чередуются с областями, в которых длинные, редко расположенные гены проявляют тканеспецифичную активность. Эти наблюдения позволяют предположить, что организация генов и их относительное расположение могут иметь отношение к механизмам регуляции генома. Однако функции такой геномной организации пока малоизучены. В нашей работе мы показываем, что сходные, но не идентичные свойства присущи районами поздней репликации у *Drosophila melanogaster*. Мы обнаружили, что зоны низкой генной плотности часто совпадают с поздно реплицирующимися, недореплицированными районами (НР) в политенных хромосомах. Короткие гены занимают заметно большую долю в НР по сравнению с их фланкирующими участками и демонстрируют ярко выраженную специфическую активность в семенниках. Плотность генов во фланкирующих районах значительно выше, чем в НР. Основываясь на этих наблюдениях, мы разработали алгоритм для поиска районов со сходными свойствами. В результате сканирования генома *Drosophila melanogaster* мы выявили 98 районов, отвечающих нашим критериям. Из них 75 совпали с цитологически определенными районами поздней репликации, а в 62 районах находятся так называемые “слабые точки”. Более того, согласно опубликованным данным, время из репликации смещено к концу S-фазы. На случайно выбранной выборке предсказанных районов мы показываем, что они могут недореплицироваться в политенных хромосомах. Наши результаты показывают, что поздно реплицирующиеся районы и их границы имеют характерную структуру, и могут быть выявлены при анализе локальной плотности генов в геноме.

ЯДЕРНАЯ ЛАМИНА ПОДАВЛЯЕТ “ПОДТЕКАЮЩУЮ” ТРАНСКРИПЦИЮ

© Шевелев Ю.Я., Лавров С.А., Розовский Я. М.,
Учреждение Российской академии наук
Институт молекулярной генетики РАН,
Москва, shevelev@img.ras.ru

Гипотеза о периферии ядра, как о компартменте, в котором происходит подавление транскрипции генов, до недавнего времени основывалась преимущественно на корреляции между нахождением ряда генных локусов у ядерной оболочки и их “молчанием”, и перемещением этих локусов внутрь ядра при активации их транскрипции (Kosak et al (2002) *Science* 296:158-162; Williams et al (2006) *J Cell Sci* 119:132-140). В недавних работах, выполненных на культурах клеток млекопитающих, было показано, что при искусственном “вытаскивании” хромосомы со встроенным геном-репортером к ядерной ламине (сети промежуточных филаментов, состоящих из ламин и ламин-ассоциированных белков, выстилающих периферию ядра изнутри) происходило (Reddy et al (2008) *Nature* 452:243-247; Finlan et al (2008) *PLOS Genet* 4:e1000039) или не происходило (Kumaran and Spector (2008) *JCB* 180:51-65) подавление транскрипции репортерного и/или расположенных по соседству генов. С чем связаны различия в ответе генов на перемещение к периферии ядра оставалось неясным.

Как устроены районы хромосом, находящиеся у ядерной периферии? Группой Баса ван Стинсела в культуре клеток дрозофилы было картировано около 500 участков контакта интерфазных хромосом с ядерной ламиной и показано, что в этих участках преимущественно расположены “молчащие”, поздно-реплицирующиеся гены, обогащенные метками “репрессивного” хроматина (Pickersgill et al (2006) *Nat Genet* 38:1005-1014). Затем в фибробластах человека с использованием полногеномных олигонуклеотидных микроэкренов было выявлено 1300 ламин-ассоциированных доменов хромосом (далее ЛАДов), которые на всем своем протяжении контактировали с ядерной ламиной. Величина доменов варьировала от 100 т.п.н. до 10 м.п.н.; в этих районах, как и у дрозофилы, были расположены преимущественно “молчащие” гены (Guelen et al (2008) *Nature* 453:948-951). Оставалось неясным, подвергаются ли

репрессии со стороны ядерной ламины эндогенные гены, находящиеся в ЛАДах, и если подвергаются, то все ли, а если не все, то какие и почему.

Мы исходили из того, что искусственно вызванное разрушение ядерной ламины (в культуре клеток в результате РНКи “нокдаун” по гену, кодирующему основной компонент ядерной ламины — ламин DmO, или у мух на фоне мутаций по гену ламин DmO) может вызывать снижение на периферии ядра локальной концентрации транскрипционных репрессоров, в норме связанных с ламиной (например, HDAC3 (Somech et al (2005) *J Cell Sci* 118:4017-4025)), HP1 (Polioudaki et al (2001) *EMBO Rep* 2:920-925) или ряда других), а это, в свою очередь, может привести к дерепрессии транскрипции генов, расположенных в ЛАДах. Основываясь на таком подходе, мы показали, что кластеры семенник-специфичных генов, т.е. генов, экспрессирующихся исключительно в герминальных клетках самцов, в соматических клетках репрессированы ядерной ламиной (Shevelyov et al (2009) *PNAS* 106:3282-328).

В ходе дальнейшей работы при анализе транскрипции генов ЛАДа из сайта 60D величиной около 100 т.п.н. было обнаружено, что в культуре клеток S2 дрозофилы при искусственно вызванном истощении ламин DmO: 1) происходит усиление транскрипции 17 расположенных подряд тканеспецифичных генов этого района; 2) все эти гены являются “молчащими”; 3) как показал трехмерный DNA-FISH-анализ, нарушение ламин сопровождается примерно двукратным снижением числа клеток, в которых данный район локализуется вблизи ядерной периферии. Экстраполируя эти данные на все ЛАДы можно полагать, что в ЛАДах расположены в основном тканеспецифичные гены, которые не экспрессируются в данном типе клеток и при этом дополнительно “подавлены” ядерной ламиной. Кроме того, ламин, судя по всему, участвует в поддержании архитектоники хромосом в ядре.

Используя RNA-FISH-анализ мы обнаружили, что один из тканеспецифичных генов ЛАДа из района 60D активно экспрессируется в мозге взрослых мух. При этом в РНК, выделенной из голов и тораксов мух, мутантных по ламину DmO, не наблюдается изменения количества транскриптов этого гена по сравнению с

контролем. В то же время, транскрипция соседних генов остается зависимой от мутации по ламину *DmO* (усиливается при мутации), что свидетельствует о локализации соседних районов хромосом рядом с ламинной. Как показал ОТ-ПЦР анализ, ряд генов в культуре клеток *S2* также может экспрессироваться на умеренном уровне, находясь в ЛАДах, и при этом на транскрипции этих генов никак не сказывается искусственное разрушение ламинны. Можно предположить, что существует механизм, позволяющий экспрессирующимся в той или иной ткани генам, находящимся в ЛАДах, избегать репрессии ламинной.

В клетках зародышевой линии самцов дрозофилы на определенном этапе дифференцировки происходит открепление исследуемого ЛАДа из сайта 60D от ядерной периферии, что совпадает с началом активной транскрипции генов этого района. Таким образом, связь ламинно-ассоциированных участков хромосом с ядерной периферией может теряться в ходе дифференцировки клеток.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПЛИКАЦИИ ДНК В ИЗОЛИРОВАННЫХ ОРГАНАХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМБИНГА

© Колесникова Т.Д., Демаков С.А.,
Иванкин А.В., Андреенков О.В.,
Андрееenkova Н.Г., Жимулев И.Ф., ИХБФМ
СОРАН trotsenk@bionet.nsc.ru

В 1994 году Аарон Бенсимон впервые опубликовал, что при равномерном движении специально обработанного стекла в растворе ДНК, на границе раздела фаз воздух-жидкость нити ДНК расправляются и равномерно растягиваются. На основании этого явления был разработан метод молекулярного комбинга, суть которого заключается в растягивании и выравнивании одиночных очищенных от белков молекул ДНК на покровном стекле, в результате чего образуются отдельные нити ДНК расположенные параллельно друг другу (Bensimon *et al.*, 1994 *Science*. 265: 2096-2098). Флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) на таких нитях дает возможность с высоким разрешением картировать последовательности ДНК, а использование импульсного включения галоген-производных аналогов дезоксиуридина (BrdU, JdU и CldU) и их выявление с

помощью флуорохром-конъюгированных антител позволяет визуализировать процесс репликации. Наблюдаемый в последние годы прорыв в исследованиях регуляции репликации ДНК в значительной степени обязан появлению метода молекулярного комбинга.

Мы впервые адаптировали этот метод для исследования репликации ДНК в изолированных органах *D. melanogaster*. Был сконструирован аппарат, позволяющий растягивать нити ДНК по стеклам со скоростью 0,5 мм/сек, были отработаны все этапы метода молекулярного комбинга для исследования параметров репликации в полиплоидных (слюнные железы и жировое тело) и диплоидных (имагинальные диски и нервные ганглии) тканях личинок третьего возраста *D. melanogaster*. Кластер гистоновых генов оказался прекрасной моделью для отработки метода. Этот кластер имеет протяженность около 500 т.п.н., содержит чуть более сотни повторенных единиц, по 4-9 т.п.н. каждая. В качестве зондов мы использовали меченные ПЦР фрагменты ДНК длиной 550 п.н. и 960 п.н., картируемые на расстоянии 650 п.н. друг от друга в пределах единицы повтора. На препаратах мы увидели строго периодически повторяющиеся пары точек, что указало на высокую эффективность мечения, а так же позволило определить степень растяжения ДНК на стеклах и сравнить ее на препаратах, полученных из разных тканей.

С помощью отработанного метода мы проверили гипотезу, может ли мутация гена *Suppressor of UnderReplication (SuUR)* влиять непосредственно на скорость движения репликационных вилок. Этот ген контролирует недорепликацию районов прицентромерного и интеркалярного гетерохроматина в политенных хромосомах слюнных желез *D. melanogaster* (Belyaeva *et al.*, 1998 *Proc Natl Acad Sci USA*. 95: 7532-7537). Скорость репликации анализировали методом молекулярного комбинга. Результаты показали, что средние скорости движения репликационных вилок в хромосомах слюнных желез личинок дикого типа и мутантов *SuUR* достоверно не отличаются. При анализе скорости репликации в отдельно взятом районе интеркалярного гетерохроматина, содержащем кластер генов гистонов, достоверных различий между мутантами *SuUR* и нормой также обнаружено не было.

Полученные данные свидетельствуют, что мутация *SuUR* не влияет непосредственно на скорость движения репликационных вилок.

Адаптированный нами метод может стать универсальным инструментом для решения широкого круга задач в области молекулярной цитогенетики дрозофилы.

РОЛЬ БЕЛКОВ ГРУПП POLYCOMB И TRITHORAX В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОМА

© Шварц Ю.Б., Department of Molecular Biology and Biochemistry, Rutgers University, NJ, USA. schwartz@biology.rutgers.edu

Белки группы Polycomb (PcG) жизненно необходимы для развития всех высших многоклеточных организмов. Они осуществляют свою функцию посредством транскрипционной репрессии ключевых генов, контролирующих основные морфогенетические процессы. В отличие от «обычных» репрессоров, действие PcG белков на ген-мишень напрямую зависит от его транскрипционного состояния в предыдущем клеточном цикле. Таким образом, репрессия регулируемого гена эпигенетически наследуется в ряду клеточных поколений. Белки группы Trithorax (TrxG) необходимы для предотвращения aberrантной репрессии генов, контролируемых PcG белками, в тех клетках, где эти гены должны быть активны. Аналогично действию PcG белков, действие TrxG белков на активный ген приводит к тому, что в следующем клеточном цикле данный ген сохраняет дерепрессированное состояние и остается чувствительным к активации транскрипционными факторами.

Результаты геномного анализа указывают на то, что все гены, регулируемые PcG белками, также регулируются белками TrxG. Сравнительный анализ геномного распределения компонентов PcG и TrxG в различных клеточных линиях показал, что хроматин генов, регулируемых PcG/TrxG, может находиться в нескольких альтернативных состояниях. Наряду с «репрессированным» состоянием хроматина, характеризующимся связыванием PcG белков и присутствием протяженного домена, обогащенного гистонами H3, триметилированным по лизину 27, хроматин генов-мишеней PcG/TrxG может находиться в «активном» состоянии, маркированным протяженным доменом связывания белка ASH1, N-терминального фрагмента белка TRX (TRX N-ter) и гистона H3, ацетилизованного

по лизину 27. Иногда ASH1/ TRX N-ter домены и транскрипция сосуществуют с марками PcG репрессии, давая основу «сбалансированного» состояния хроматина. В ряде случаев, потеря репрессии приводит к транскрипционно неактивному «вакантному» состоянию, при котором отсутствует связывание как PcG так и TrxG компонентов. Способность хроматина к переходу из одного состояния в другое зависит от относительных клеточных уровней PcG, TrxG и транскрипционных активаторов.

LOST IN TRANSLATION? — THE FUNCTION OF HP1 β

© Singh P., Division of Immunoepigenetics, Department of Immunology and Cell Biology, Research Center Borstel, D-23845 Borstel, GERMANY e-mail: psingh@fz-borstel.de

The recognition of the methylated lysine 9 of histone H3 (MeK9H3) by the evolutionary conserved chromodomain found in HP1 proteins is often given as an example of how the histone code is translated. *in vivo* evidence in support of this notion comes from the observation that in cells taken from double null *KMT1A/B* mutant mice, which are viable albeit runted, the enrichment of MeK9H3 at centromeric heterochromatin is lost and HP1 proteins appear homogeneously distributed throughout both eu- and hetero-chromatin. To test the strictest form of this model, where HP1 proteins act as simple adapter molecules that recognise and bind MeK9H3, we have produced HP1 mutant mice for all three mammalian isotypes, HP1 α , β and γ . Here, we will describe the HP1 β null mutant, which is non viable. This result shows, first, that the three mammalian isotypes are not functionally redundant and, second, that the HP1 β phenotype is more severe than the double null *KMT1A/B* mutant indicating that the essential function of HP1 β is lies outside a simple role as an adapter whose sole function is to recognise the heterochromatic MeK9H3. Instead, we suggest that the essential function of HP1 β is due to loss of the “immobile” fraction of HP1 β that is thought to bind to H3 through the “histone-fold”.

STRUCTURAL ORGANIZATION AND EVOLUTIONARY DYNAMICS OF THE MALARIA MOSQUITO HETEROCHROMATIN

© Sharakhova M.V.¹, Brusentsova I. V.², Scotland L.³, Sharakhov I.V.¹, ¹Department of Entomology, Virginia Tech, Blacksburg, VA,

USA; ²Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, ³Department of Statistics, Virginia Tech, Blacksburg, VA, USA
msharakh@vt.edu

Malaria mosquitoes *Anopheles gambiae* and *A. stephensi* are the major vectors of malaria in Africa and Asia. The development of genome-based vector control strategies requires detailed knowledge about the organization and function of the mosquito genome. Heterochromatin represents a significant, functionally important, and rapidly evolving part of the malaria mosquito genome. The availability of the genome sequence for *A. gambiae* provides an opportunity to analyze the molecular structure of the heterochromatin in a malaria vector. In this study, heterochromatin has been mapped in the chromosomes of both species and characterized using bioinformatics in *A. gambiae* genome.

Based on morphology, two distinct types of the heterochromatin have been identified in ovarian nurse cell polytene chromosomes of mosquitoes: condensed organized in blocks α -heterochromatin, and diffuse light granulated β -heterochromatin. Regions contained both types of the heterochromatin in close proximity were defined as a mixed type. Immunostaining of the chromosomes with antibodies against *Drosophila* Heterochromatin Protein 1 and nuclear envelope protein lamin Dm₀ revealed the strongest hybridization with diffuse β -type and mixed type of heterochromatin in both species. No antibodies were detected in intercalary α -heterochromatin.

Bioinformatic analysis revealed the presence of 230 genes in assembled part of the heterochromatin. The interspread repeats were the major components in the pericentromeric regions of the chromosomes. Comparison of transposable elements showed the difference in proportion of DNA transposons and retroelements between morphological types of the heterochromatin. DNA transposons were more abundant in β -intercalary heterochromatin. Tandem repeat analysis demonstrated very low variability of repeats among chromatin types. Comparative analysis of the heterochromatin location and morphology revealed extensive evolutionary transformations and euchromatin—heterochromatin transitions between *A. gambiae* and *A. stephensi*.

КАРТИРОВАНИЕ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА DROSOPHILA MELANOGASTER С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ

ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДВОЙНЫХ МУТАНТОВ SUURES SU(VAR)3-906

© Андреева Е.Н.¹, Демакова О.В.¹,
Болдырева Л.В.¹, Villasante A.², Dimitri P.³,
Hoskins R.⁴, Karpen G.⁴, Жимулев И.Ф.¹,

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, ²Centro de Biología Molecular 'Severo Ochoa', Madrid, Spain ³Universita 'La Sapienza', Roma, Italy ⁴Life Sciences Division, Lawrence Berkeley National Laboratory Berkeley, California, USA
asd@bionet.nsc.ru

К настоящему времени проблема секвенирования генома *D. melanogaster* практически решена для его эухроматиновой части. Однако у *D. melanogaster* больше трети генома представлено гетерохроматином, насыщенность которого повторенными последовательностями значительно затрудняет сборку отсеквенированных фрагментов в единую последовательность. По-прежнему остается неизвестным для многих скаффолдов и контигов, в каких хромосомах они локализуются, каков порядок их расположения относительно друг друга и какова их ориентация относительно центромеры. В связи с этим одной из важных задач *Drosophila* Heterochromatin Genome Project (DHGP) является соотнесение физической (молекулярной) и цитогенетической карт прицентромерного гетерохроматина. Для цитологического картирования гетерохроматиновой ДНК традиционно используется метод FISH на митотических хромосомах. К сожалению, малые размеры метафазных хромосом ограничивают разрешение этого метода примерно 1 млн.п.н., а этого зачастую бывает недостаточно для разделения сигналов и точного картирования проб ДНК. Политенные хромосомы, имеющие намного большие размеры ввиду многокopianности ДНК, дают уникальные возможности цитологического картирования методом FISH, обеспечивая его высокое разрешение. Однако в норме районы прицентромерного гетерохроматина в политенных хромосомах в высокой степени недопредставлены и к тому же объединены в бесструктурный хромоцентр. Перспективным подходом к решению этой проблемы может быть использование для FISH-картирования политенных хромосом мутантов, у которых значительно супрессирована недорепликация протяженных участков прицентромерного

гетерохроматина. Недавно в нашей лаборатории была получена линия, несущая две мутации: *SuUR^{ES}* и *Su(var)3-9^{o6}*. Мы обнаружили, что удаление двух важнейших компонентов гетерохроматина, белков SUUR и SU(VAR)3-9, не влияет на жизнеспособность мух, но приводит к повышению степени политенизации многих участков прицентромерного гетерохроматина. В результате этого на препаратах политенных хромосом в прицентромерных областях появляются новые структурированные участки, и это открывает возможность картирования проб ДНК из гетерохроматина (Andreyeva et al., 2007, PNAS 2007 104-31: 12819–12824; Demakova et al., 2007, Genetics, 175: 609–620).

Для построения интегрированной карты гетерохроматина дрозофилы мы предложили использовать одновременное картирование ДНК проб методом FISH на двух типах хромосом: митотических — из линии *y; cn bw sp* (Patrizio Dimitri and Maria Carmela Accardo, Universita 'La Sapienza', Roma) и политенных — из линии *SuUR^{ES}Su(var)3-9^{o6}* (наша лаборатория). В данной работе в качестве источника проб ДНК гетерохроматина были использованы ВАС библиотеки, полученные Life Sciences Division, LBNL, USA в рамках Drosophila Heterochromatin Genome Project (DHGP). Мы проанализировали 22 скаффолда. Большая часть данных была получена с проведением двухцветной FISH гибридизации парных проб из каждого скаффолда. Это позволило выяснить их ориентацию на хромосомах относительно центромер. В результате мы точно прокартировали местоположение и направление 15 скаффолдов:

1). Для скаффолдов СР000188, СР000225, СР000224, СР000192, СР000217 и СР000220 были определены как их порядок расположения на хромосомах относительно друг друга, так и их ориентация относительно центромер.

2). Для скаффолдов СР000210, СР000190, СР000218 и СР000219 был определен порядок расположения на хромосомах относительно друг друга

3). 4 скаффолда в двух ВАС контигах, СР000196/СР000177/СР000183 и СР000206 (принадлежность которых тому или иному хромосомному плечу оставалась неизвестной в Release 5 BDGP) были нами впервые локализованы. Для СР000206 был также

определен порядок расположения на хромосоме относительно других скаффолдов.

Полученные данные будут использованы для уточнения базы данных BDGP.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖХРОМОМЕРОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ

© Демаков С.А.¹, Андреев О.В.¹, Беркаева М.Б.¹, Ватолина Т.Ю.¹, Волкова Е.И.¹, Квон Е.З.², Семешин В.Ф.¹, Жимулев И.Ф.¹,
¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, ²Research Institute of Molecular Pathology (I.M.P.), 1030 Vienna, Austria

Структурная и функциональная дифференцированность интерфазного хроматина эукариот наиболее наглядно проявляется в политенных хромосомах дрозофилы как воспроизводимый рисунок плотно упакованных хромомеров (дисков) и менее плотных межхромомеров (междисков) и пuffed. Если пuffed формируются вследствие деконденсации хроматина при локальной активации транскрипции, то причины декомпактизации хроматина междисков и их функциональное значение во многом остаются загадкой. Решение этих вопросов осложнено незначительными размерами междисков и низким содержанием ДНК в них (в среднем 0.12 мкм и 2 т.п.н., соответственно), что не позволяет использовать рутинные молекулярно-генетические методы.

Ранее с помощью электронно-микроскопического (ЭМ) картирования было показано, что встройки Р-транспозонов в составе политенных хромосом в большинстве случаев приводят к образованию новых дисков в районах междисков, что позволило использовать ДНК этих транспозонов для клонирования ДНК из прилежащих междисков. Кроме того, была исследована последовательность ДНК из района междиска 3С6/С7 X-хромосомы: известная мутация *fa^{swb}* удаляет в этом районе фрагмент ДНК размером 880 п.н., что на цитологическом уровне приводит к слиянию соседних дисков за счет полного удаления междиска между ними. Таким образом, последовательности ДНК из 13 междисковых районов стали доступны для всесторонних исследований.

Сравнительный анализ ДНК из этих районов в совокупности с информацией, доступной из генетических баз данных всего генома дрозофилы, показал следующее: 1) не

найден существенной гомологии между сравниваемыми последовательностями; 2) значительная часть междисков образована некодирующими участками генома: межгенными спейсерами, 5'- и 3'- концами генов, интронами и некодирующими экзонами генов. Лишь в одном междиске обнаружен постоянно активный ген (*RpL19*). Гены в этих районах различаются по функциям и особенностям экспрессии в онтогенезе; 3) во всех исследованных междисках обнаружены участки с высоким потенциалом связывания с белками ядерного матрикса. Для ДНК из 3 междисков связывание с ядерным матриксом показано экспериментально; 4) некоторые междиски могут иметь инсуляторные или барьерные функции: в этих районах обнаружены участки возможного связывания белка BEAF-32 (boundary element-associated factor); для ДНК из междиска 3С6/С7 эти функции показаны экспериментально.

Данные об информационном содержании междисков и анализ их транскрипционной активности позволили выделить два функционально различных типа организации этих структур. Междиски первого типа образованы небольшими постоянно активными белок-кодирующими генами "домашнего хозяйства". Междиски второго типа проявляют очень низкую транскрипционную активность и представлены регуляторными районами генов, неактивных в слюнных железах. Для этого типа междисков отсутствие связи между декомпактным состоянием хроматина и наблюдаемым в них низким уровнем транскрипции подтверждено методом количественной ПЦР.

Предложен новый подход к детальному изучению механизмов формирования хромомерного рисунка хромосом с помощью моделирования междисковых структур в составе политенных хромосом трансгенными методами в комбинации с сайт-специфичными системами рекомбинации. Полученные данные свидетельствуют об автономности декомпактного состояния исследованных междисков: 1) встраивание протяженных фрагментов, содержащих ДНК из междисков 3С6/С7 и 61С7/С8, в другие районы хромосом в составе транспозона *rISop* приводит к образованию новых междисков. Точная эксцизия этих фрагментов вызывает удаление данных междисков и слияние

дисков, сформированных из материала транспозона; 2) особенности организации хроматина в районах междисков 3С6/С7 и 61С7/С8 воспроизводятся и в составе инсерций, содержащих ДНК из этих районов. С помощью нового подхода показана принципиальная возможность точного определения последовательностей ДНК, ответственных за образование междисков, что позволяет начать поиск конкретных белковых факторов, связывающихся с данными последовательностями ДНК и ответственных за формирование декомпактного состояния междисков.

SAGA И НОВЫЙ ЭКСПОРТНЫЙ КОМПЛЕКС ОСУЩЕСТВЛЯЮТ ЭФФЕКТИВНУЮ ТРАНСКРИПЦИЮ И ЭКСПОРТ МРНК К NPC

© Краснов А.Н., Куршакова М.М., Копытова Д.В., Набировкина Е.Н., Николенко Ю.В., Шидловский Ю.В., Георгиева С.Г., Институт биологии гена РАН, Москва, krasnov@go.ru

Различные процессы вовлеченные в синтез, биогенез и экспорт мРНК, тесно связаны между собой. Общие факторы транскрипции РНК полимеразы II и сама полимеразы II играют центральную роль во всех этих процессах. Недавние исследования выявили дополнительные факторы экспорта мРНК, которые связывают РНК полимеразу II и экспорт мРНК. Фактор Sac3 дрожжей был выявлен при скрининге летальных мутаций как компонент TREX (transcription and export) комплекса экспорта мРНК. Sac3 формирует комплекс с Thr1 и делеция Sac3 или Thr1 приводит к нарушениям в экспорте поли(А)+РНК. Интересны результаты экспериментов, полученные на дрожжах: связывание группы генов с комплексом ядерных пор (NPC) может значительно изменять их активность. Таким образом, NPC можно считать новым интеграционным участником экспрессии генов.

E(y)₂ был выявлен в процессе поиска генов, участвующих во взаимодействии между энхансером и промотором. E(y)₂ кодирует небольшой эволюционно консервативный белок Drosophila, состоящий из 101 аминокислоты, который присутствует во всех тканях, локализован в ядре и ассоциирован со многими сайтами политенных хромосом, что позволяет предположить, что он играет важную роль в регуляции экспрессии генов. Генетические и

биохимические эксперименты показали, что E(y)2 у *Drosophila* является компонентом SAGA/TFTC гистон ацетил трансферазного коактиваторного комплекса, участвующего в ремоделировании хроматина и активации группы генов. Гомолог E(y)2 у дрожжей, позднее названный Sus1, как было установлено является как компонентом SAGA, так и Sac3-Thr1 комплекса экспорта мРНК. Эти данные позволили предположить связь между экспрессией SAGA-зависимых генов и экспортом мРНК у дрожжей.

В данной работе мы исследовали локализацию гена в ядре, его транскрипцию и экспорт мРНК у метазоа на примере *Drosophila*. Нами была исследована важность положения гена в ядре для его транскрипции и последующего экспорта образованной мРНК. Было показано, что белок E(y)2, гомолог Sus1 у *Drosophila* является субъединицей SAGA/TFTC — гистон ацетил трансферазного комплекса и что E(y)2 располагается на периферии ядра. Также было продемонстрировано взаимодействие между E(y)2 и комплексом ядерных пор (NPC) и что SAGA/TFTC — комплекс также контактирует с NPC на периферии ядра. Кроме того, NPC формирует комплекс с белком Xmas-2 (X-linked male sterile 2) как при нормальных условиях, так и после теплового шока. Необходимо отметить, что при «выключении» синтеза E(y)2 и Xmas-2 снижается контакт между локусами гена, кодирующего белок теплового шока 70 (hsp70), и оболочкой ядра до и после активации и препятствует транскрипции. Таким образом, E(y)2 и Xmas-2 вместе с SAGA/TFTC комплексом участвуют в прикреплении группы сайтов транскрипции к NPC, что обеспечивает эффективную транскрипцию и экспорт мРНК.

НОВЫЙ МЕХАНИЗМ АКТИВАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ СУПЕРКОМПЛЕКСОМ BTFLY, СОДЕРЖАЩИМ КОМПЛЕКСЫ TFIID И БРАХМА

© Воробьева Н.Е.¹, Сошникова Н.В.¹,
Николенко Ю.В.¹, Кузьмина Ю.Л.¹,
Шидловский Ю.В.¹, Набирочкина Е.Н.¹ и
Георгиева С.Г.^{1,2}, ¹Институт биологии гена
РАН, Москва, ²Институт молекулярной
биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
nvorobyova@gmail.com

Первым этапом экспрессии большинства генов высших эукариот является транскрипция, осуществляемая РНК-

полимеразой II. Для активированной транскрипции гена требуется воздействие различных коактиваторных комплексов, которые привлекаются ген-специфическими активаторами. Одной из основных задач коактиваторов является ремоделирование и модификация хроматина. Для множества генов, транскрибируемых РНК-полимеразой II, такую функцию выполняет хроматин ремоделирующий комплекс Brahma (Mohrman, Verrijzer, 2005). Другим важным свойством коактиваторов является привлечение на промотор общих факторов транскрипции (GTFs), которые формируют преинициаторный комплекс. Для большинства генов РНК-полимеразы II таким коактиватором является общий фактор транскрипции TFIID (Muller, Tora, 2004).

Процесс привлечения коактиваторных комплексов на промотор до сих пор остается не до конца изученным. Самой популярной является модель последовательного привлечения коактиваторов при инициации транскрипции гена. Она подтверждается данными о том, что обычно привлечение хроматин ремоделирующих комплексов предшествует появлению общих факторов транскрипции на промоторе (Cosma, 2002). По другой модели в процессе активации транскрипции коактиваторы привлекают совместно в составе уже предварительно сформировавшихся суперкомплексов (Parvin, Young, 1998; Nakatsuma, 2002).

В настоящей работе охарактеризован новый суперкомплекс BTFLy (Vorobyeva et al, 2009). Он включает в себя коактиваторные комплексы TFIID и Brahma, соединенные при помощи коактиваторного белка SAYP. На промотор активируемого гена данный суперкомплекс привлекается уже предварительно сформированным и удаление любого из трех коактиваторов нарушает его работу. Описанный суперкомплекс BTFLy способен сам по себе обеспечивать выполнение двух ключевых этапов подготовки промотора для формирования преинициаторного комплекса, а значит и последующей активации транскрипции.

Показано, что основным доменом коактиватора SAYP, связывающим транскрипционные комплексы TFIID и Brahma, является эволюционно консервативный домен SAY. Он взаимодействует одновременно с субъединицей TAF5 комплекса TFIID и BAP170 компонентом комплекса Brahma. SAY

домен является высоко консервативной областью белка и входит в состав всех гомологов SAYP у различных организмов, в том числе и у человека. Можно предположить, что представленный механизм функционирования коактиватора SAYP будет характерен и для гомологов этого белка.

СТРУКТУРА ХРОМАТИНА ДРОЗОФИЛЫ ПРИ ЭКТОПИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SUUR

© Зыков И.А., Колесникова Т.Д.,
Калашникова Д.А., Кокоза Е.Б.,
Андреевкова Н.Г., Болтенгаген М.И.,
Демаков С.А., Семешин В.Ф., Беляева Е.С.,
Жимулев И.Ф., Институт химической
биологии и фундаментальной медицины СО
РАН, г. Новосибирск, zykov@bionet.nsc.ru

Сверхэкспрессию гена SuUR возможно запустить при помощи системы транспозонов UAS/SUUR-Sgs3/GAL4. Мы обнаружили, что резкое увеличение количества белка SUUR приводит к необычным обратимым изменениям в политенной хромосоме: районы гетерохроматина декомпактизируются и образуют в своих пределах хроматиновые структуры, названные нами «пузыри» (swellings), представляющие собой хорошо заметные вздутия с четкой границей и сложной внутренней структурой (Zhimulev и др. 2003). Нами также установлено, что ДНК внутри «пузырей» нуклеосомно организована.

Используя методы электронно-микроскопического анализа, мы установили, что структура «пузырей» зависит от используемого фиксатора. Фиксация в 45% уксусной кислоте при сверхэкспрессии гена SuUR приводит к возникновению в гетерохроматиновых районах гигантских «пузырей», обладающих декомпактизированной внутренней структурой с четкой плотной оболочкой. При использовании фиксации этанолом и уксусной кислотой пузыри меньше в размерах и выглядят более плотно конденсированными. Использование глутаральдегида в качестве фиксатора приводит к заметному уменьшению размера «пузырей» и выявлению в их структуре пузырьков, образующих «пену». Исследованными нами «пузыри» четко отличаются от других деконденсированных хромосомных структур — пухов: «пузыри» более компактизованы и имеют плотную оболочку. Используя бензамид как

ингибитор декомпактизатора хроматина PARP, обеспечивающего процессы декомпактизации в пухах, мы установили, что процессы возникновения «пузырей», их развития и поддержания структуры не требуют участия активированной PARP. Таким образом, здесь задействован новый механизм деконденсации хроматина. Возможно, необычное действие больших доз белка SUUR на гетерохроматиновые районы объясняется вытеснением им белков, поддерживающих компактное состояние этих участков хромосомы в норме.

Чтобы исследовать распределение ДНК внутри структур возникающих «пузырей», мы провели FISH, используя различные зонды из района 75C, в пределах которого образуется один из наиболее крупных «пузырей», а также из района 39DE, где локализованы кластеры гистоновых генов. Установлено, что ДНК внутри пузыря в основном сохраняет линейное расположение, при этом сигнал не выявляется на оболочке, которая имеет, судя по всему белковый состав — антитела на белок SUUR локализуются только на оболочке, не проникая внутрь структуры «пузырей». В результате цитологических измерений, по нашей оценке, уровень компактизации ДНК в районе 75C снижается со 150-кратной (в норме) до 36-кратной укладки при возникновении «пузыря». Изучение необычного феномена «пузырей» и понимание его механизмов может стать одним из новых подходов к исследованию структурной организации районов гетерохроматина.

COPING WITH D.MELANOGASTER RESOURCES EXPANSION: SOFTWARE IMPLEMENTATION

© Zykov I.A., Kokoza E.B., Babenko V.N.¹,
Belyaeva E.S., Zhimulev I.F., Institute of Chemical
Biology and Fundamental Medicine of SB RAS,
¹Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk

There is currently an avalanche of the whole genome screen data based on Chip on Chip technologies and others (Orlan et al., 2009). With an advent of modENCODE project (www.modencode.org) it became obvious that there would be high volumes of various data for genome-wide markers within the short time span in future (Celniker et al., 2009).

We attempted to apprehend the data within the frame of ucsc genome browser annotation concept (Fig.1). For that we created mysql database schema and annotated data of interest

on the drosophila genome map in the form of designated tables interlinked appropriately (Fig.2). All of the data from the database have been also converted to ucsc genome browser custom tracks suitable for joint visualization.

Currently we deposited following data into the database:

1. Replication timing ratio profile (Schwaiger et al., 2009)
2. Polytene chromosome replication ratio profile (Belyakin et al., 2009)
3. Cell cycle expression profile (Arbeitman et al., 2002)
4. Tissue — specific expression profile (Chintapally et al., 2007, www.flyatlas.org)
5. B-lamin association profile (Shevelyov et al., 2009)
6. Testis-specific gene profile map (Shevelyov et al., 2009)
7. BEAF protein marker DNA footprint map (Emberly et al., 2008)
8. H4K16 acetylation (by msL complex) profile (Gelbart et al., 2009)
9. Deficiency hemizygotes regions map (Stenberg et al., 2009).
10. piRNA whole genome map (Li et al., 2009)
11. miRNA whole genome map (Lau et al., 2009)
12. Salt fraction ratio profile (Henikoff et al., 2009)

Currently we are compiling many other profiles including DNA methylation and acetylation profiles from modENCODE listed in www.modencode.org/cgi-bin/gbrowse/fly.

We found such a tool accommodated immensely for the analysis and visualization of the auxiliary data within Underreplicated domains (Belyakin et al., submitted).

We sought introducing such a computing frame would be of help in gaining insight into the genome structure, for the genome wide chromatin state dynamics analysis in particular.

References

1. Arbeitman M.N., Furlong E.E., Imam F., Johnson E., Null B.H., Baker B.S., Krasnow M.A., Scott M.P., Davis R.W. and White K.P. (2002) Gene expression during the life cycle of *Drosophila melanogaster*. *Science*, **297**, 2270-2275.
2. Belyakin, S.N. Christophides G.K., Alekseyenko A.A., Kriventseva E.V., Belyaeva E.S., Nanayev R.A., Makunin I.V., Kafatos F.C. and Zhimulev I.F. (2005) Genomic analysis of *Drosophila* chromosome underreplication reveals a

link between replication control and transcriptional territories. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**, 8269-8274.

3. Emberly E, Blattes R, Schuettengruber B, Hennion M, Jiang N, Hart CM, Käs E, Cuvier O. BEAF regulates cell-cycle genes through the controlled deposition of H3K9 methylation marks into its conserved dual-core binding sites. *PLoS Biol.* 2008, **6**(12):2896-910
4. Chintapalli V.R., Wang J. and Dow J.A. (2007) Using FlyAtlas to identify better *Drosophila melanogaster* models of human disease. *Nat Genet*, **39**, 715- 720.
5. Shevelyov Y.Y., Lavrov S.A., Mikhaylova L.M., Nurminsky I.D., Kulathinal R.J., Egorova K.S., Rozovsky Y.M. and Nurminsky D.I. (2009) The B-type lamin is required for somatic repression of testis-specific gene clusters. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **106**, 3282-3287
6. Gelbart ME, Larschan E, Peng S, Park PJ, Kuroda MI. *Drosophila* MSL complex globally acetylates H4K16 on the male X chromosome for dosage compensation. *Nat Struct Mol Biol.* 2009
7. Stenberg P, Lundberg LE, Johansson AM, Rydén P, Svensson MJ, Larsson J. Buffering of segmental and chromosomal aneuploidies in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet.* 2009 May;**5**(5):e1000465
8. Li C, Vagin VV, Lee S, Xu J, Ma S, Xi H, Seitz H, Horwich MD, Syrzycka M, Honda BM, Kittler EL, Zapp ML, Klattenhoff C, Schulz N, Theurkauf WE, Weng Z, Zamore PD. Collapse of germline piRNAs in the absence of Argonaute3 reveals somatic piRNAs in flies. *Cell.* 2009, **137**(3):509-21.
9. Lau NC, Robine N, Martin R, Chung WJ, Niki Y, Berezikov E, Lai EC. Abundant primary piRNAs, endo-siRNAs, and microRNAs in a *Drosophila* ovary cell line. *Genome Res.* 2009 Jul 14.
10. Orian A, Abed M, Kenyagin-Karsenti D, Boico O. DamID: A Methylation-Based Chromatin Profiling Approach. *Methods Mol Biol.* 2009;**567**:155-69
11. Henikoff S, Henikoff JG, Sakai A, Loeb GB, Ahmad K. Genome-wide profiling of salt fractions maps physical properties of chromatin. *Genome Res.* 2009 Mar;**19**(3):460-9.
12. Celniker SE, Dillon LA, Gerstein MB, Gunsalus KC, Henikoff S, Karpen GH, Kellis M, Lai EC, Lieb JD, MacAlpine DM,

Micklem G, Piano F, Snyder M, Stein L,
White KP, Waterston RH; modENCODE
Consortium. Unlocking the secrets of the
genome. Nature. 2009 Jun
18;459(7249):927-30.

**DOSAGE COMPENSATION IN DROSOPHILA
MELANOGASTER**

© Gorchakov A.A., Brigham and Womens
Hospital/Harvard Medical School

The MSL complex is required for dosage compensation of the *Drosophila* male X chromosome. It associates specifically with active X-linked genes, acetylating histone H4 at lysine 16 and increasing expression approximately two-fold. Previously, identification of a sequence associated with X recognition had been unsuccessful. Here, we used ChIP-chip and ChIP-seq to discover a set of ~150-300 “chromatin entry sites” (CES), containing a GA-rich MSL recognition element (MRE). We propose that MRE-dependent initial targeting is followed by a second, sequence-independent “spreading” step that remains enigmatic. We are currently testing the idea that transcription is the guiding determinant for MSL targeting to the majority of active genes on the X chromosome.

Вне программы

U2 AND BRANCHPOINT SITE EVOLUTION

© Goncharov F.P.¹, Babenko V.N.², ¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS, ²Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk

During initial recognition of an intron in pre-mRNA, the 3' end of the intron is bound by essential splicing factors. Notably, the consensus RNA sequences are highly degenerate in humans. This raises the question of 3' splicing factor function in introns lacking canonical binding sites. Investigating the introns of the model organism *Neurospora crassa* revealed a different organization at the 3' end of the intron compared to most eukaryotic organisms.

We approached the issue of U2 binding to the branch area in eukaryotes, namely in yeast, worm, fly, *Arabidopsis*, human and *Neurospora*. We found out that branch point is quite species specific and differ drastically from species to species, as well as within species. Besides, there are several distinct branching sites in 3' mRNA regions. Binding to the specific one apparently depends on U2 alternative conformation.

We also identified human U2 functional paralogous set and show that their binding sites differ.

As far as alternative splicing concerned, we did not find any specific differences between consutive and skipping exons whenever intron definition or exon definition model involved.

We found though that BPSs crucially depends on the length of intron: in case of very short introns, U2 apparently binds to the Py tract, and the major sites go to the loop IIa, b with increasing intron length.

KARYOTYPES OF SIX SPECIES OF SPHENOPTERA (COLEOPTERA, BUPRESTIDAE) AND PRESUMPTIVE ANCESTRAL STATE OF THE KARYOTYPE OF THE GENUS

© Karagyan G.H., Institute of Zoology, Scientific Centre of Zoology and Hydroecology, Armenian Academy of Sciences, P. Sevak str. 7, Yerevan 0014, Armenia. E-mail: gaykaragyan@yahoo.com

The family of jewel-beetles (Buprestidae) includes about 14500 described species in the world fauna (Volkovitsh, 2001; Bellamy, 2003). Heretofore, karyotypes of 88 species (34 from Armenia) of jewel-beetles belonging to 22 genera and 14 tribes of the subfamilies Julodinae, Polycestinae, Chrysochroinae, Buprestinae and Agrilinae are known (Smith & Virkki, 1978; Karagyan & Kuznetsova, 2000; Karagyan, 2001;

Karagyan et al., 2004; Karagyan & Lachowska, 2007). The diploid chromosome numbers (2n) in the family are ranging from 12 to 46, most species show XX/XY sex chromosome system. The mode karyotype of the family is $2n = 20 (18 + X_{Yp})$.

Within the family special attention is drawn towards the genus *Sphenoptera* Dejean (Chrysochroinae, Sphenopterini), which is one of the largest genera among jewel-beetles. Over 1000 species have been described in the fauna of Old World (except of Australia) (Bellamy, 2007). However, only 5 species of *Sphenoptera* have been studied cytogenetically till now (Karagyan, 2001; Karagyan et al., 2004, Karagyan & Lachowska, 2007).

New data on meiotic male karyotypes of six buprestid species belonging to genus *Sphenoptera* are given in the present paper. The diploid chromosome numbers (2n) for the species studied are as follows: *S. canescens* Motsch., *S. puberula* Jak. and *S. smyrneensis* Gory — 24; *S. anthracina* Jak. — 30; *S. antiqua* Ill. — 36, and *S. hypocrita* Mnnh. — 40. The Xy (most probably X_{Yp}) sex chromosome system was revealed in *S. smyrneensis*, *S. anthracina* and *S. hypocrita*, in three other species remained obscure.

The genus *Sphenoptera* is characterized by a great karyotype heterogeneity. Although, the karyotypes of the total 11 species have been studied, two "groups" with quite different chromosome numbers could be distinguished. One "group" is presented by *S. mesopotamica* Mars., *S. artemisiae* Reitt., *S. canescens*, *S. puberula* and *S. smyrneensis* which are characterized by a diploid chromosome number $2n=24$ (close to ancestral for Coleoptera-Polyphaga). On the opposite, the second "group" demonstrates high chromosome numbers: in *S. tragacanthae* Klug. and *S. hypocrita* $2n=40$, in *S. scovitzii* Fald. — $2n=38-46$, in *S. antiqua* — $2n=36$. *S. tamarisci beckeri* Dohrn. and *S. anthracina* have an intermediary chromosome number — $2n=30$. Presumably, the low chromosome number $2n=24$ represents the ancestral state of the genus *Sphenoptera*. The mechanism of this drastic increase is not clear and additional studies are necessary.

RBR CONTROLS GENOME INTEGRITY IN ARABIDOPSIS THALIANA

© Matveeva E.¹, Johnston A.², Kirioukhova O.¹, Kovalchuk I.³, Sekine M.⁴ and Grisse W.⁴, ¹Plant Biotechnology, ETH Zurich; Universitaetstrasse 2 Zurich 8192 Switzerland;

Department of Biology; ²Institute of Plant Biology Zurich Switzerland; ³University of Lethbridge, Canada; ⁴Nara Institute of Science and Technology (NAIST), Nara, Japan

Retinoblastoma related protein is well-known as a cell cycle regulator in *Arabidopsis thaliana*. Using generated inducible *RBR RNAi* lines we identified a novel function of RBR protein in genome integrity and chromosome stability. We observed that the protein is involved in homologous recombination and functions in DNA repair machinery. Furthermore we show that RBR maintains heterochromatin probably via binding to MET1.

CHROMOSOMAL HOMOLOGIES AMONG SPECIES OF GENERA *CHIRONOMUS* MG, *GLYPTOTENDIPES* KIEFFER AND *KIEFFERULUS* (GOETGHEBUER) (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) ESTABLISHED BY IN SITU HYBRIDIZATION OF THE EVOLUTIONARY CONSERVED *CPY/CTY* GENE

© Michailova P.¹, Krastanov B.¹, Hankeln T.², Schmidt E.², Kraemer C.², ¹Institute of Zoology, Bulgarian Academy of Sciences, b.Tzar Osvoboditel 1, Sofia, Bulgaria: e-mail: michailova@zoology.bas.bg, ²Institute of Molecular Genetics, Biosafety Research and Consulting, J.Gutenberg University, Mainz, Germany: e-mails: hankeln@uni-mainz.de; eschmidt@uni-mainz.de, ckraemer@uni-mainz.de

Abstract

Chromosomal homologies among the species of two cytochromes (*thummi* and *pseudothummi*) of genus *Chironomus*, five sibling species of genus *Glyptotendipes* and one species of genus *Kiefferulus* were established by in situ hybridization using the evolutionary conserved *Cpy/Cty* gene. The clone Cla1.1 which used in the study contains the gene *Cty*, closely linked to the male specific Cla element cluster hybridized within the sex determining region of *Chironomus riparius*. In the species of genera *Chironomus* and *Kiefferulus*, the *Cpy/Cty* gene is located on arm F of the chromosome EF. The detailed cytogenetical analysis in the cytochromes of genus *Chironomus*, showed that some simple or complex homozygous inversions have moved the *Cpy/Cty* gene from a position close to the telomere in the species *C. riparius*, *C. piger*, *C. balatonicus*, *C. annularius* and *Chironomus* sp. to a more proximal position (*C. plumosus*, *C. nudatarsis* and *C. luridus*) or near to the centromere region (*C. salinarius*). In *K. tendipediformis* the strong fluorescence was

observed at the site in the middle of arm F. In sibling species of genus *Glyptotendipes* the *Cpy/Cty* gene was found on a chromosome arm previously defined as arm E. Considering that almost no similarities in chromosomal banding patterns between the three genera studied are recognizable, it is really difficult to homologize the chromosome arms on this basis. However, using in situ hybridization of the evolutionary conserved *Cpy/Cty* gene is a reliable way for identification of homologous chromosomal regions. The results obtained indicate that the arm F of genera *Chironomus* and *Kiefferulus* and arm E of genus *Glyptotendipes* might be homologous.

This study was supported by a grant of Bulgarian Ministry of Education and Science, KT 1601B

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE KARYOTYPES OF LARGE BARB *CAPOETA* (CYPRINIDAE: BARBINAE) FROM ARMENIA AND NEARBY COUNTRIES

© Stepanyan I.E.¹, Vasilyan D.Z.¹, and Pipoyan S.Kh.², ¹Scientific Center of Zoology and Hydroecology, National Academy of Sciences of Armenia (SCZH), Yerevan, Armenia, ²Armenian State Pedagogical University (ASPU), Yerevan, Armenia ilona_stepanyan@yahoo.com

Two large barbs *Capoeta capoeta* and *Capoeta sevangi* (synonym *Varicorhinus sevangi*) inhabit in the water bodies of Armenia. The karyotype of *C. capoeta* (1 male, 2 female) from river Vorotan, which belongs to the basin of Araks river, was studied. The diploid set of the chromosomes was 150, the fundamental number (NF) of arms — 248. The karyotype includes 98 metacentric/submetacentric (M/SM) and 52 subtelocentric/acrocentric (ST/A) chromosomes. The largest pair of metacentric chromosomes is marked in the karyotype of *C. capoeta*.

The comparison of the karyotypes of *C. capoeta* and *C. sevangi* (2n = 150; 40 MSM+110A, NF=190. Krysanov, 1999) reveals similarity in the diploid number of the chromosome, in the morphology of the 10 M, 30 SM and 52 STA chromosomes and in the size of first pairs of metacentric and acrocentric chromosomes. However, the number of the ST/A chromosomes of the *Capoeta capoeta* lower than in ones of *Capoeta sevangi*, but the number of the M/SM chromosomes is higher.

The chromosome sets comparison of *C. capoeta capoeta* from Armenia (river Vorotan) and *C. capoeta gracilis* (2n=150; 24M +60SM+66STA, Darestani et al., 2006) from

Northern Iran revealed a similarity in the morphology of the chromosomes (24 M, 46 SM, 52 STA), as well as in the size of the first pairs of the metacentric, submetacentric and subtelocentric chromosomes. The studied subspecies of *C. capoeta capoeta* and *C. capoeta gracilis* distinguish from each other by the number of 14 M/SM and ST/A chromosomes. These variations of the M/SM and ST/A chromosomes could be a result of pericentric inversions or translocations.

The comparative analysis of the diploid sets of the *Capoeta* fishes from Armenia (*C. capoeta capoeta* and *C. sevangi*, Krysanov, 1999), Turkey (*C. capoeta umbla*: $2n=150$, 86M/SM+64STA Demirok & Ünlü, 2001) and Northern Iran (*C. capoeta gracilis*, Darestani et al., 2006) shows similarity in the diploid number of chromosomes, in the number of M/SM, ST/A chromosomes and in morphology of the chromosomes among *C. capoeta* subspecies. The karyotype of *Capoeta sevangi* is differ from others by the highest number of ST/A chromosomes, which more then three time exceeded the number of bi-armed chromosomes. The karyotype of *C. sevangi* is closer to Eurasian barbs genus *Barbus* by chromosome set morphology, then to other species of the large barbs (Krysanov, 1999). The distinction the chromosome complement of *C. sevangi* from the other species of genus *Capoeta* is analogous to differences of sevan barbel *Barbus goktschaicus* karyotype (Krysanov, 1999) from ones of Eurasian barbs (genus *Barbus*). These differences may be related with the endemism of the both fish species, which evolute in comparatively closed and stable environmental conditions of the Lake Sevan, which is also known for numerous endemic species of the Lake Baikal.

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПОЛОЖЕНИЕ XL ХРОМОСОМЫ В ЯДРАХ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ ANOPHELES MESSEAE FALL

© Артемов Г.Н., Ананьина Т.В., Стегний В.Н.,
НИИ биологии и биофизики ТГУ, Томск,
center_cu@res.tsu.ru

Флуоресцентная *in situ* гибридизация в клетках с сохраненной трехмерной пространственной структурой является важным шагом для изучения организации хромосом в интерфазном ядре. Изучение хромосомных территорий и отдельных субхромосомных районов, проводимое на диплоидных клетках выявило ряд принципов организации интерфазного ядра. Хромосомы трофоцитов Diptera являются удобной

моделью для изучения интерфазного ядра и роли их пространственной организации в формировании ооплазматической сегрегации.

Методом микродиссекции политенных хромосом трофоцитов были получены районспецифичные ДНК-пробы из районов 2bc и 5a XL хромосомы *An. messeae*. 2bc — район прикрепления XL-хромосомы к ядерной оболочке (Стегний, 1991), а 5a — прицентромерная область этой хромосомы. Изучалась локализация района прикрепления хромосомы в трофоцитах относительно передне-задней оси фолликула. 5a район был использован для определения расположения XL-хромосомы в отдельных ядрах. Анализ проводили со стороны ооцита, то есть ориентируя группу трофоцитов таким образом, чтобы три трофоцита, контактирующие с ооцитом, находились на переднем плане.

Анализ графической реконструкции оптических срезов фолликулов, полученных после проведения двухцветной 3D флуоресцентной *in situ* гибридизации, позволил определить положение XL-хромосомы во всех трофоцитах фолликула. Район прикрепления XL-хромосомы к оболочке ядра выглядит как область интенсивного мечения на периферии ядра. Прицентромерный район в большинстве исследованных ядер также локализуется на периферии. В редких случаях прицентромерный район был ориентирован к центру ядра, что свидетельствует о возможных вариациях в положении хромосомы в пространстве ядра. Об этом же говорит и различная ориентация этих районов друг относительно друга в трофоцитах одного фолликула и в разных фолликулах.

Позиция XL-хромосомы различалась в ядрах одного фолликула, и не было обнаружено точной корреляции при ее анализе в разных фолликулах. Преимущественно XL-хромосома локализовалась на противоположной от ооцита стороне ядра трофоцита. В некоторых ядрах можно было наблюдать сигналы на ближней к ооциту стороне или к периферии фолликула. Объяснение таких вариаций, возможно, кроется в смещении трофоцитов друг относительно друга при увеличении объема ооцита.

Исследование проводилось при поддержке гранта РФФИ № 07-04-01484,

проектов ФЦП № 02.740.11.0278,
Рособразования № 2.1.1/774.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ
АНАЛИЗ РАЙОНА ПРИКРЕПЛЕНИЯ XL
ХРОМОСОМЫ ТРОФОЦИТОВ
ЯИЧНИКОВ МАЛЯРИЙНОГО КОМАРА
*ANOPHELES ATROPARVUS***

© Артемов Г.Н., Фисенко О.Ю., Стегний В.Н.,
НИИ биологии и биофизики ТГУ, Томск,
center_cu@res.tsu.ru

Пространственная организация генетического материала в ядре интересна не только с позиции выявления закономерностей регуляции экспрессии, но и в ключе функционирования тканей, органов.

Интересным объектом для изучения роли архитектуры ядра является генеративная система малярийного комара *Anopheles*. Ранее было показано, что организация политенных хромосом этого насекомого отличается в клетках соматической и генеративной системы (Стегний, 1987). Кроме того, было обнаружено, что хромосомы трофоцитов яичников у комаров филогенетически близких видов имеют особенности в расположении во внутриядерном пространстве (Стегний, 1979). Оказывается, что решающую роль в этом явлении играет способность отдельных хромосом образовывать жесткие контакты с ядерной оболочкой. Изучение районов, посредством которых происходит определение пространственной ориентации отдельных хромосом, имеет общебиологический смысл.

Район прикрепления XL хромосомы к оболочке ядра *An. atroparvus* (5ab) образован β-гетерохроматином. Для изучения этого района была получена методом микродиссекции районспецифичная ДНК и проведена флуоресцентная *in situ* гибридизация районспецифичной пробы на хромосомах того же вида и на хромосомах близкородственных видов *An. messeae* и *An. beklemishevi*.

При гибридизации на хромосомах *An. atroparvus* была обнаружена гомология изучаемого района с прицентромерными районами всех хромосом и интеркалярными районами хромосомы 2 и XL.

При гибридизации на хромосомах *An. messeae* помеченными оказались прицентромерные районы всех хромосом, кроме того, интеркалярные районы хромосом

2, 3L и 2bc XL, которым эта хромосома крепится к оболочке.

Результатом гибридизации на хромосомы *An. beklemishevi* явилось обнаружение сигнала в прицентромерном районе всех хромосом, в тоже время метка выявлена в интеркалярных областях хромосом 2, 3 и районе прикрепления хромосомы XL 2b.

Таким образом, в исследуемом районе 5ab *An. atroparvus* находятся последовательности ДНК гомологичные последовательностям, которые характерны для районов прикрепления других хромосом вида *An. atroparvus* и хромосом близкородственных видов.

Работа была выполнена при поддержке грантов при поддержке гранта РФФИ № 07-04-01484, проектов ФЦП № 02.740.11.0278 и Рособразования № 2.1.1/774.

**РАЗРАБОТКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
НОВЫХ ХРОМОСОМНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
В СЕЛЕКЦИИ ХЛОПЧАТНИКА**

© Ахмедов М.Б., Ахмедов Х.М.,
Муталова М.К., Ахмедова Х.З., Институт
Генетики и экспериментальной биологии
растений АН РУз, г. Ташкент, Республика
Узбекистан, E-mail: inst@gen.org.uz

Результаты цитогенетических и кариологических исследований рода *Gossypium* L. (сем. Malvaceae) показывают, что существует закономерность состоящая в том, что любые преобразования в хромосомах хлопчатника приводят к образованию либо «гармоничного кариотипа» (ГК), либо «дисгармоничного кариотипа» (ДГК).

Данные исследований показывают, что ГК такой кариотип, который сбалансирован по числу хромосом и на идиограмме которого хромосомы имеют равномерную градацию по длинам, образуя «цепь постепенных переходов». И наоборот — ДГК это такой кариотип, который несбалансирован по числу хромосом (анеуплоиды), или он может быть сбалансированным по числу хромосом, но в этом случае хромосомы могут иметь неравномерную градацию по длинам на идиограмме.

Согласно этому была выдвинута новая точка зрения на происхождение полиплоидных видов хлопчатника основанная на особенности комплектации их хромосомных наборов — т.е. «гармоничном» сочетании-соответствии хромосом наборов двух исходных родительских видов перед полиплоидизацией гибрида

Вне программы

(Ахмедов М.Б., 1993, 2002). На существование ГК указывают полученные кариологические данные исследованного разнообразия видов рода *Gossypium* L. (исследованы кариотипы 26 видов и 15 подвидов этого рода). Существование гармоничного кариотипа (ГК) объясняется тем, что изменчивость структуры хромосом ограничивается их упорядоченной пространственной организацией в интерфазном ядре (Мосолов, 1972; Bennett, 1986; Монахова, 1990). Существование ГК согласуется с правилом Беннетта (M. Bennett, 1982), которое гласит, что существует закономерность, определяющая пространственный порядок хромосом в ядре. У диплоидов базовой единицей является гаплоидный геном, в котором отдельные хромосомы располагаются в строго определенной последовательности по размеру своих плеч. Крупные структурные изменения, нарушающие пространственную последовательность хромосом, представляются неблагоприятными с точки зрения селекции. Таким образом, значимой тенденцией для любого вида хлопчатника является сохранение формы отдельных хромосом, а, следовательно, структуры гаплоидного кариотипа в ходе эволюционного развития. Такая структура хромосом благоприятствует их конъюгации в мейозе таким образом, что в пределах хромосом каждой геномной группы формируются ассоциации с максимальной балансировкой плеч хромосом. Проведенные кариологические исследования в *Gossypium* L. показали, что особенности комплекта хромосомных наборов, которыми обладают ГК, сохраняются для всех диплоидных и тетраплоидных видов хлопчатника. В связи с этим, кариологические исследования приобретают большое значение для прогнозирования и синтеза новых, константных, эффективных полиплоидов (аллополиплоидов) хлопчатника. Анализ хромосомного механизма видообразования хлопчатника показал, что гармоничная кариоструктура (ГК) в *Gossypium* L. поддерживается в ходе эволюции: а) равномерным распределением между хромосомами в наборах увеличивающегося количества гетерохроматина, б) избирательным сочетанием наборов перед полиплоидией (аллополиплоидией), в) подчинением процесса перераспределения хромосомного

материала (в результате прохождения разнообразных хромосомных перестроек типа инверсий, транслокаций, делеций, дупликаций и т.д.), г) возможным сочетанием механизмов, указанных в пунктах: а, б, в. Таким образом, ГК обеспечивает видам хлопчатника единое эволюционное направление развития.

И наоборот — ДГК хлопчатника образуется вследствие неравномерного распределения в наборе хромосом гетерохроматина, случайного сочетания наборов при гибридизации и происходящих при этом хромосомных перестроек. Предполагаем, что ГК и ДГК — это две основные функционирующие в природе формы кариотипа хлопчатника и лежащих в основе его общей кариотипической эволюции. В процессе эволюции *Gossypium* L., они могли переходить один — в другой, а также распадаться или объединяться в новые ГК и ДГК. Используя эти знания, можно будет прогнозировать новые более эффективные полиплоидные виды и формы хлопчатника с ГК, избегать получения форм с ДГК, проводить диагностику имеющегося селекционного материала и др. На основании полученных кариологических данных для рода *Gossypium* L. составлена периодическая таблица кариотипов, при помощи которой можно:

- а) прогнозировать результаты гибридизации и экспериментальной полиплоидии хлопчатника,
- б) составлять селекционные программы для конструирования — создания новых синтетических полиплоидных видов и форм хлопчатника,
- в) эффективнее вовлекать генофонд мирового разнообразия хлопчатника в селекционный процесс и др.

С использованием этой таблицы, для тетраплоидных ($2n=4x=52$) видов секции *Magnibracteolata* Tod. рода *Gossypium* L. были подобраны пары для гибридизации и получения от них колхицинированием новых аллополиплоидов хлопчатника с ГК. Таким образом, после колхицинирования F_1 гибридов были получены следующие октоплоиды хлопчатника: *G. hirsutum* L. var. *morili* x *G. tomentosum*, *G. mustelinum* x *G. tomentosum*, *G. tomentosum* x *G. hirsutum* L., *G. barbadense* L. ssp. *ruderales* x *G. tomentosum* Nutt., которые в наборе

имели $8n=104$ хромосом. Большинство полученных октоплоидных растений в первом поколении имели правильную морфоструктуру, однако фертильность у них была пониженной. У некоторых октоплоидов (таких как у *G. barbadense* L. ssp. *ruderae* x *G. tomentosum*) в первом поколении длина волокна достигала 55-65 мм, однако волокно было тонкое и слабое. Во втором поколении у полученных октоплоидных растений проявилась крупность коробочки, которая 1,5 — 2 раза превосходила размеры коробочек исходных родительских видов.

Проведенный подсчет хромосом у растений второго и третьего поколений полученных от октоплоидов показал, что по числу хромосом наблюдалось расщепление в потомстве. Так, в этих поколениях у части растений наблюдался возврат на тетраплоидный ($2n=4x=52$) уровень плоидности, а у другой части растений стабильно сохранялось октоплоидное число хромосом ($8n=104$). Встречались растения и с гексаплоидным ($6n=78$) числом хромосом.

В последующих поколениях расщепления по числу хромосом у этих популяций растений не наблюдалось. Эти факты дают основание считать, что в ранних поколениях полиплоидов происходила стабилизация кариотипов по числу хромосом.

Цитогенетический анализ полученных новых синтетических форм нами продолжается.

Таким образом, в нашей работе хромосомные — кариологические показатели сыграли решающую и прогнозирующую роль при получении новых синтетических и полиплоидных форм хлопчатника обладающих рядом важных хозяйственно-ценных признаков. Предполагаем, что они могут послужить источником при создании новых синтетических сортов, обладающих принципиально новыми генетическими возможностями. Предполагаем, что интересными будут проведение аналогичных исследований и на других растениях.

СПЕКТРАЛЬНЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭРИТРОБЛАСТОВ ПЛОДА ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МАТЕРИНСКОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И ИЗ КРОВИ ПУПОВИНЫ

© Бабочкина Т.И.¹, Мергенталлер С.², Холзгреве В.², Хан С.², ¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО

РАН, Новосибирск, babochkinat@yahoo.com.

²Женская клиника Университета, Базель.

Спектральное морфометрическое изображение позволяет получить большую информацию, чем обычный анализ изображения при помощи световой микроскопии. При спектральном морфометрическом анализе изображений в дополнение к стандартным морфометрическим параметрам, для каждого пиксела изображения анализируются спектры в диапазоне 400-850 nm (Malik и др., 1996; Malik и др., 1997; Rothmann и др., 1997; Rothmann и др., 1998; Barshack и др., 1999; Greenspan и др., 2002). В данной работе мы подробно исследовали хроматиновую организацию ядра и цитоплазмы эритробластов плода, выделенных из крови беременных женщин и пуповины, используя спектральный морфометрический анализ изображения, и затем сравнили полученные результаты. Многие исследователи предполагают, что определенная природа компартиментализации ядра может отражать метаболический и физиологический статус данной клетки (Popp и др., 1990; van Dekken и др., 1990; Sorensen, 1992; Vouc'h и др., 1993; Zirbel и др., 1993) В процессе эритропоэза, главные ядерные компоненты, водное и цитоплазматическое содержания, например, гемоглобина, так же как ядерно-цитоплазматическое соотношение (N/C) могли подвергнуться изменениям. Эти изменения могут быть различны в эритроблестах выделенных из материнском кровообращении и из крови пуповины, и как результат они демонстрируют разные спектральные изображения в этих клетках.

Спектральный морфометрический анализ, выполненный нами, подтвердил различия между эритроблестами плода, выделенными из материнской и пуповинной крови. Спектральные изображения были выполнены на MGG-окрашенных препаратах крови. Используя библиотеку спектров, были просмотрены все клетки в базе данных, и к каждой ядерной области там был использован цвет спектра библиотеки, наиболее сходного по его спектральным особенностям. Используя алгоритм классификации создавалось классификационное изображение для каждой клетки. Спектральные классификационные изображения показали различимые спектральные области в каждом клеточном

компарimente и продемонстрировали, что эритробласты из материнской и пуповинной крови проявляют разные спектральные особенности. Анализ цветных гистограмм площадей выявленных спектров ядер показал, что доминирующий спектр (67 % ядерной площади) в эритроблестах из материнской крови был спектром, определяемым как Номер 1 в спектральной библиотеке, в то время как в эритроблестах из крови пуповины спектр Номер 1 составлял только 40 %. Спектральный домен Номер 1 был найден в 97 % эритроблестов из крови пуповины и в 100 % эритроблестов из материнской крови. Статистический анализ (Т-тест) показал существенные различия ($p \leq 0.0001$) в распределении спектра Номер 1 между эритроблестами из материнской и пуповинной крови. Анализ спектра распределения Номера 4 как маркера цитоплазматического содержания, для тех же клеток, показал, что этот спектр был найден для 93 % эритроблестов из крови пуповины (в среднем 26 % площади цитоплазмы) и для 99 % эритроблестов из материнской крови (в среднем 45 % площади цитоплазмы). Отличия в распределении спектра Номер 4 в клетках из этих двух классов статистически существенно (t -Test, $p \leq 0.0001$).

Мы полагаем что референтный спектр Номер 1 может быть связан с высокой степенью уплотнения ядер в материнской крови, тогда как в крови пуповины ядра менее конденсированны. Эти данные находятся в хорошей корреляции с результатами морфометрических измерений и с результатами FISH анализа (Бабочкина и др. 2005). Референтный спектр Номер 4 может быть связан с накоплением гемоглобина и других молекул или может произойти вследствие накопления деградированной ДНК в цитоплазме эритроблестов (Hendzel и др., 1998). Мы предполагаем, что в эритроблестах из материнской крови ядро более конденсированно, и ДНК в цитоплазме накапливается в результате апоптоза.

Мы продемонстрировали, что спектральный морфометрический анализ расширяет информацию, полученную при световой микроскопии и может служить дополнительным диагностическим инструментом для детекции эритроблестов в материнском кровообращении.

МЕЖДИСКИ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ *DROSOPHILA MELANOGASTER* СОДЕРЖАТ ЭНХАНСЕРЫ

© Беркаева М.Б.¹, Демаков С.А.¹, Шварц Ю.Б.², Жимулев И.Ф.¹, ¹Институт цитологии и генетики СО РАН, ²Rutgers University, USA, berkaeva@bionet.nsc.ru

Дифференциальная компактизация ДНК в интерфазных ядрах эукариот связана с регуляцией таких процессов, как транскрипция, репликация, репарация. Неравномерную упаковку ДНК легко наблюдать в политенных хромосомах слюнных желез дрозофилы, где более компактные участки – диски – чередуются с менее компактными пучками и междисками. Считается, что междиски политенных хромосом содержат гены, активно транскрибирующиеся в слюнных железах. На данный момент клонированы и охарактеризованы последовательности ДНК шести междисков, но только один из них содержит транскрипционно активный «ген домашнего хозяйства». Возникает вопрос, чем объяснить декомпактизацию ДНК в остальных – «нетранскрибирующихся» междисках?

Одно из возможных объяснений заключается в том, что такие междиски образованы инсуляторной ДНК, с которой связываются специфические белки. Таким образом, функцией междисков является определение границ независимых друг от друга доменов. Все известные инсуляторные белки дрозофилы локализуются в междисках политенных хромосом или на границе диск/междиск. Ранее, в междиске 3С6/С7 был обнаружен инсулятор, расположенный в промоторной области гена *Notch*. Большая часть инсулятора удаляется при мутации *fa^{swb}*, и это приводит к исчезновению междиска. Также было показано, что ДНК междиска 3С6/С7 остается декомпактной после перенесения в другой район хромосомы в составе транспозона. Это говорит о том, что причина декомпактности заключена в самой ДНК, а не в генетическом окружении. Это позволяет предположить, что именно наличие инсулятора является причиной декомпактности ДНК в этом районе.

Принимая во внимание эти наблюдения, мы решили проверить идею о том, что наличие инсулятора является характерной чертой междисков, декомпактизацию

которых нельзя объяснить транскрипционной активностью. Мы исследовали ДНК двух междисков на наличие в них инсуляторов в модельной системе гена *miniwhite* в составе транспозона. Оба междиска – 85D9/D10 и 61C7/C8 – транскрипционно неактивны в слюнных железах. Для междиска 61C7/C8 было показано, что его ДНК декомпактна независимо от генетического окружения. Мы обнаружили, что ни один из исследованных междисков не содержит инсуляторов. Однако, оба междиска проявляют энхансерные свойства. Энхансер, содержащийся в междиске 61C7/C8, функционален в различных тканях. Этот энхансер состоит из двух элементов, которые способны действовать независимо друг от друга. Причем, один из элементов связывает транскрипционный фактор Adf-1, а другой – белок BEAF-32. Исходя из генетической организации района 85D9/D10, можно сделать вывод, что выявленный в этом междиске энхансер, контролирует транскрипцию тестис-специфического гена.

Наши данные позволяют сделать вывод о том, что инсуляторная функция не является универсальной причиной декомпактизации ДНК транскрипционно неактивных междисков. Такие междиски обладают сложной функциональной организацией и образованы различными регуляторными элементами, в том числе и энхансерами.

МАТЕМАТИЧЕСКО-КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАРИОТИПИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

© Букин Ю. С., Натяганова А. В.,
Лимнологический институт Сибирского
отделения РАН, Иркутск

Кариотип — совокупность характеристик (число, форма хромосом и др.) хромосомного набора организма. Кариологические данные свидетельствуют, что в одних группах организмов кариотип выступает как видовой признак, в других — дифференцирует более крупные таксоны (роды, семейства). То есть, видообразование может сопровождаться интенсивными преобразованиями в хромосомных наборах, а может происходить и без существенных изменений в этих генетических структурах. Что является причиной этой ситуации?

Для исследования причин интенсивной кариотипической эволюции было предпринято математическо-компьютерное

моделирование. Мы использовали метод индивидуально-ориентированного моделирования адаптивной динамики (Diekmann et al., 1999; 2004; Doebeli. et al., 2000). Эти модели оперируют характеристиками каждого организма в модельной популяции и, таким образом, воспроизводят их «судьбы». В нашей работе мы построили подобные компьютерные модели популяционной динамики и с их помощью исследовали влияние двух параметров вероятности (ВХП) и масштаба хромосомных перестроек (МХП) на степень асимметрии кариотипов. При этом моделировались две ситуации: наличие и отсутствие отбора по этому интеграционному показателю морфологии хромосомных наборов. В нашей модели за основу также было взято предположение об адаптивной значимости симметричности кариотипов (Горлов, Горлова, 2000).

Все проведенные компьютерные симуляции (и при наличии, и при отсутствии отбора на симметрию кариотипа) показали, что значение асимметрии хромосомных наборов в ходе эволюции возрастает только до определенного предела (стационарного состояния).

В результате моделирования с фиксированным параметром МХП и разной величиной ВХП было выяснено, что вероятность хромосомных перестроек определяет только эволюционное время до достижения значения асимметрии в прямо-пропорциональной зависимости.

При моделировании с фиксированным параметром ВХП и разной величиной МХП выяснилось, что масштаб хромосомных перестроек определяет как эволюционное время, так и значения стационарного состояния асимметрии кариотипа. При этом, при наличии отбора на симметричность это значение намного меньше, чем в его отсутствии.

Таким образом, наше моделирование интенсивности кариотипической эволюции выявило ведущую роль масштаба хромосомных перестроек в этом процессе. Очевидно, что этот параметр связан со структурно-функциональными особенностями хромосом. В таком случае, наш результат согласуется с выводом, сделанным при исследовании особенностей трехмерной организации хромосомных наборов у малярийных комаров о том, что особенности внутренней организации

хромосомного аппарата детерминируют «способность (или неспособность) его к реорганизации в видообразовательном аспекте» (Стегний, 1993). Понятия «лабильного» и «консервативного» геномов, предложенные В.Н. Стегнием мы расцениваем, как весьма выразительные характеристики для объяснения степени видовых дивергенций.

ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ — ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ

© Вайсфельд Л. И., Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Москва
livii@yandex.ru

Проблемы эффекта мутагенных воздействий, в частности химического мутагенеза, и вопросы оценки загрязнения окружающей среды тесно связаны. В 50-е-70-е годы прошлого века за границей и потом у нас осуществлялись активные исследования цитогенетического действия мутагенных факторов. С возрождением генетики в СССР началось широкое изучение химического мутагенеза, его закономерностей, цитогенетических эффектов в клетках меристемы растений и культивируемых фибробластов. Изучались повреждения хромосом, обозначаемые или как перестройки хромосом или как структурные мутации.

Серия работ по изучению различных химических мутагенов была проведена на дрозофиле, традесканции, микроорганизмах И. А. Рапопортом и под его руководством. Были открыты супермутагены (этиленимин — ЭИ и другие). Применение химических мутагенов на сельскохозяйственных растениях было им внедрено в селекцию, на этой основе получено много сортов.

Обширные работы проводились в лаборатории Н. П. Дубинина. Исследовались ЭИ, тиотеф, метилметансульфонат и другие. Дубинин пришел к выводу, что мутаген повреждает хромосомы на любой стадии митотического цикла, при этом возникают потенциальные повреждения, которые проявляются в виде перестроек хромосом в последующих поколениях делящихся клеток и с этой точки зрения Дубининым и сотрудниками проводились дальнейшие исследования. В этой лаборатории мною было начато изучение алкилирующего агента — производного ЭИ и пиримидинового основания: — ди-(этиленимид)-пиримидил-

2-амидофосфорной кислоты под названием фосфазин (синоним — фосфемид). Препарат был предложен как противоопухолевый (Чернов В.А., 1963; 1964). Предполагалось включение его в ДНК благодаря пиримидиновому основанию с последующей гибелью делящихся клеток опухоли. Анализ проводился по анафазному критерию на асинхронной культуре эмбриональных фибробластов человека и мыши. Фосфемид тормозил митотическую активность, вызывал высокий процент хроматидных перестроек и перестройки хромосомного типа — двойные мосты (Вайсфельд, 1965). Двойные мосты выявлялись в мышинных фибробластах после 23 час. вплоть до 250 час. от обработки мутагеном, в клетках человека — начиная с 35 час. Их можно объяснить двояко — повреждением хромосом в фазе G_1 или удвоением хроматидных мостов во втором митозе в клетках, поврежденных фазе S (с учетом подавления митотического цикла). Поскольку на асинхронном объекте анафазным методом невозможно выявить стадию повреждения хромосом, был применен метафазный метод на сравнительно синхронном объекте. Работа продолжена в лаборатории Б.Н. Сидорова (ИБР АН СССР). Мутагеном обрабатывали воздушно-сухие семена *Crepis capillaris*, зародышевые клетки которых находятся в фазе G_1 , хотя переходят к синтезу ДНК не одновременно в зависимости от времени появления проростков (Протопова, Шевченко, Генералова, 1967). Отбирали проростки, «проклюнувшиеся» через 24, 27, 31, 36 часов после начала обработки, помещали в раствор колхицина. Каждый «проклев» фиксировали в разные промежутки времени от 3 до 12 часов после проклева. Анализировали перестройки на метафазных пластинках (2n-кариотип). Подсчитывали все метафазы в каждом проростке. При воздействии фосфемидом ($10^{-3}M$) на семена урожая 1967 года проанализировано 929 проростков, 15138 метафаз в них. В контроле проанализировано 9156 метафаз в 217 проростках семян урожая 1966, 1967, 1969 гг., из них 89 проростков урожая 1967 года. Приводим только те результаты, которые получены на семенах урожая 1967 года. После фосфемидом по всем концентрациям и срокам фиксации проростков на 17513 изученных метафаз в среднем было обнаружено 2306 метафаз с хроматидными перестройками (13,17%) и

Вне программы

меньше одного процента (0,13%) перестроек хромосомного типа, как при естественном мутационном процессе и даже меньше. Естественный уровень перестроек хромосом в проростках урожая 1967 года в разные сроки хранения семян 8, 10-11 и 19-20 мес. не превышал 3%. Фосфемид при воздействии на семена, как и в культуре фибробластов, тормозил митотическую активность в проростках: из 113 исследованных проростков с митозами было почти вдвое меньше — 610 (54,8%) против 96% в контроле. Вероятно, алкилирующий агент подавляет генетический контроль прохождения клеток по фазам митотического цикла.

Соколовым Н.Н., Сидоровым Б.Н. и их сотрудниками и учениками была проведена серия опытов по изучению механизма действия этиденимина на хромосомы *S. capillaris*. Они показали, что ЭИ дает в проростках перестройки хроматидного типа в течение нескольких поколений. Кашица из обработанных ЭИ проростков вызывала высокий процент перестроек. Тиамин, уротропин, некоторые предшественники ДНК в смеси с ЭИ давали больше перестроек, чем ЭИ. Авторы объясняли это тем, что мутаген сохраняется в клетке, взаимодействуя с ее компонентами и образуя вторичные мутагены.

Работы этих коллективов выполнялись на наивысшем тогда уровне, который однако не дал возможности раскрыть механизм возникновения хромосомных перестроек при естественном и искусственном мутагенезе. Возможно, современные методы позволят метить мутагены и выявить их локализацию в ядре. Однако для оценки радиационного и химического загрязнения окружающей среды прежние методы доступны и эффективны.

БЕЛКИ ГЕТЕРОГЕННЫХ ЯДЕРНЫХ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИНОВ НА ХРОМОСОМАХ ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК ПТИЦ: ИССЛЕДОВАНИЕ КО-ТРАНСКРИПЦИОННОГО ПРОЦЕССИНГА НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК

© Василевская Е.В., Красикова А.В., Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург (Россия) e-mail: spbchromas@gmail.com

В результате стрессорного воздействия в соматических клетках активируется транскрипция ДНК тандемных повторов в прицентромерном гетерхроматине. В

настоящее время значение транскрипции сателлитных последовательностей ДНК, судьба некодирующих транскриптов, особенности регуляции экспрессии и процессинга продуктов транскрипции некодирующей ДНК в половых клетках, также как и формирование внутриядерных стресс-доменов, остаются мало изученными.

Одной из наиболее адекватных моделей для изучения динамики транскрипции, экспрессии конкретных участков генома в оогенезе в условиях *in vivo* являются хромосомы типа ламповых щеток (ЛЩ), которые характеризуются гигантскими размерами, выраженной хромомерно-петлевой организацией и высокой транскрипционной активностью. Хромосомы типа ЛЩ позволяют проводить исследование комплексов гетерогенной ядерной РНК с белками гетерогенных и малых ядерных рибонуклеопротеинов (РНП), ассоциированных с хроматином, с высоким уровнем разрешения. Более того, для хромосом — ЛЩ как птиц, так и амфибий характерна транскрипция не только уникальных, но и высокоповторяющихся последовательностей ДНК, расположенных в прицентромерных и субтеломерных районах хромосом.

В ходе данного исследования был использован метод 3D-FISH с прямо меченными олигонуклеотидами к субтеломерным и прицентромерным тандемным повторам ДНК длиной 41 п.н. из геномов домашней курицы (*Gallus gallus domesticus*) и японского перепела (*Coturnix coturnix japonica*). При последующем анализе с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии в ядрах растущих ооцитов птиц отряда Galliformes были обнаружены домены, содержащие новосинтезированную некодирующую РНК тандемно повторяющихся последовательностей *Bg/II*- и *PO41*. На препаратах хромосом-ЛЩ вновь синтезированная С-богатая РНК тандемных повторов CNM и *PO41* была ранее выявлена на латеральных петлях, обогащенных белком К гетерогенных ядерных РНП (гяРНП) (*Deryusheva et al.*, 2007). В настоящей работе был проведен анализ распределения белков *C1/C2*, L и M гяРНП относительно транскрипционных единиц, содержащих РНК некодирующих последовательностей в прицентромерных и субтеломерных районах

Вне программы

хромосом типа ЛЩ доместичированных видов птиц.

После непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания хромосом с помощью антител против белков С₁/С₂, L и М гяРНП проводили флуоресцентную ДНК/(ДНК+РНК-транскрипт) *in situ* гибридизацию с повторами РO₄₁ и *BgIII*- из геномов японского перепела и домашней курицы. В субтеломерных районах хромосом в РНП-матрикс, обогащенном белком С₁/С₂, присутствуют транскрипты повтора РO₄₁. В то же время, в латеральных петлях с высоким содержанием белка L выявлены транскрипты прицентромерного *BgIII*-повтора. Интересно отметить, что обогащение белком L некоторых транскрипционных единиц коррелирует с отсутствием в них белка С₁/С₂. Можно говорить о наличии характерных наборов белков гяРНП как для субтеломерных, так и для прицентромерных районов микробивалентов домашней курицы и японского перепела. В РНП-матрикс ЛЩ домашней курицы концентрация эпитопа, узнаваемого антителами против белка М гяРНП, была равномерна по всей длине петель бивалентов и не отличалась в тех петлях, которые содержали транскрипты повтора РO₄₁.

Сравнение локализации различных белков гяРНП на микрохирургически изолированных хромосомах типа ламповых щеток и в интактном ядре ооцита позволяет нам сделать вывод о соответствии внутриядерных доменов, обогащенных определенными белками гяРНП, транскрипционным единицам tandemных повторов в субтеломерных и прицентромерных районах хромосом. Таким образом, в половых клетках одним примером структур, образующихся на основе продуктов транскрипции сателлитных последовательностей ДНК, являются домены, обогащенные белками гяРНП на хромосомах типа ламповых щеток. Сходным образом, в соматических клетках линии HeLa человека специфический набор белков гяРНП характерен для ядерных «стресс-телец», в состав которых входит РНК сателлита III (*Jolly, Lakhotia, 2006*). Действительно, РНП-состав транскрипционных единиц, концентрирующих определенные белки гяРНП, и ядерных «стресс-телец» практически идентичен; локусы формирования и тех, и других структур

соответствуют районам «конститутивного» гетерохроматина; и те, и другие домены содержат активную форму РНК-полимеразы II и транскрипты сателлитной ДНК.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№08-04-01328) с использованием приборной базы ЦКП «ХРОМАС».

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖДИСКОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© *Ватолина Т. Ю., Семешин В.Ф.,
Демаков С.А.*, Институт химической
биологии и фундаментальной медицины СО
РАН, Новосибирск.

Ранее с помощью электронно-микроскопического (ЭМ) анализа политенных хромосом со встройками R-транспозонов было показано, что в большинстве случаев встройки происходят в районы междисков. Молекулярно-генетическая организация встроженных конструкций позволяет клонировать геномную ДНК прилежащих к ним междисков, исследовать их свойства и, таким образом, приблизиться к пониманию как функций междисков, так и принципов хромомерной организации политенных хромосом в целом. Учитывая полученные ранее данные, всего было клонировано тринадцать последовательностей ДНК из междисковых районов.

Следует отметить следующие особенности организации последовательностей ДНК изучаемых районов: 1) все исследованные последовательности являются уникальными в геноме дрозофилы; 2) практически во всех случаях транспозоны встроились в некодирующие области генома дрозофилы — межгенные спейсеры, интроны и 5' некодирующие области генов; 3) с помощью Genome Browser UCSC показано, что исследуемые последовательности являются слабо консервативными между видами *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. sechellia*, *D. yakuba*, *D. ananassae*, *D. pseudoobscura*, *D. persimilis*, *D. willistoni*, *D. virilis*, *D. mojavensis* и *D. grimshawi*. Также показано, что ДНК из районов междисков эволюционирует со скоростью, близкой к скорости нейтральной эволюции; 4) все изученные последовательности ДНК содержат MAR (Matrix Attachment Region) — участки, имеющие высокий потенциал связывания с белками ядерного матрикса. Для трех

районов наличие MAR показано экспериментально. 5) в некоторых исследуемых районах обнаружены мотивы для возможного связывания белков BEAF-32 (boundary element-associated factor) и DREF (DNA replication-related element-binding factor); 5) изучаемые районы также были проанализированы на возможность встраивания других Р-элементов. В большинстве районов в пределах 500 пн от встроок транспозонов находятся «горячие точки» встраивания Р-элементов.

Кроме того, используя метод картирования ДНКазы I гиперчувствительных (DHS) (DNase hypersensitive sites) сайтов с помощью непрямого концевое мечения, мы исследовали организацию хроматина в нативных междисках 3A5/A6, 3C6/C7, 6oE7/E8-9, 6iC7/C8(), 85D9/D1o и 87C8/C9. Картирование DHS- открытых областей хроматина — исторически использовалось для определения локализации регуляторных элементов генов. Показано, что с DHS ассоциированы промоторы, энхансеры, супрессоры, инсуляторы, локус-контролирующие области (Gross & Garrard, 1988). Оказалось, что область междисков, за которую мы принимаем 4 т.п.н. (по 2 т.п.н. в обе стороны от транспозонов) обогащена DHS размерами 50-100 п.н. Кроме того, во всех изученных случаях места локализации транспозонов совпадают с DHS.

При картировании DHS в нативном междиске 3C6/7 в эксперимент была взята линия fa^{swb} , содержащая делецию, которая приводит к исчезновению междиска 3C6/7 (Vasquez & Schedl, 1986) для сравнения организации хроматина в этих линиях. Оказалось, что проксимальная область последовательности, формирующей междиск, содержит два мажорных и ряд минорных DHS. При этом в линии с делецией fa^{swb} сохраняются проксимальные DHS не входящие в область, формирующую междиск и, вероятно, относящиеся к регуляторной области гена *Notch*, а DHS на границе делеции становится менее выраженным. Кроме того, наши данные, выполненные на клеточных ядрах личинок третьего возраста из линии мух дикого типа, совпали с данными (Vasquez & Schedl, 1986), полученными на клеточных ядрах эмбрионов. Особенности организации DHS в эндогенных районах междисков 3C6/C7 и 6iC7/C8 воспроизводятся и в составе

инсерций, содержащих данные последовательности.

АНАЛИЗ ГОМОЛОГИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА CALLIPHORIDAE

© Ведерников А.Е., Ананьина Т.В., Коханенко А.А., Стегний В.Н., ОСП «НИИ Биологии и биофизики при ТомГУ»

У представителей сем. Calliphoridae в ходе развития в трофоцитах происходит политенизация хромосом, при этом отмечены последовательные морфологические преобразования структуры хроматина: из первичных ретикулярных ядер, через ряд промежуточных стадий формирования политенных хромосом, образуется вторичная ретикулярная структура хроматина.

Исключение составляет половая хромосома, которая характеризуется сохранением своей неизменной целостной структуры на протяжении всего процесса политенизации и даже после формирования вторичной ретикулярной структуры ядра. Очевидно, это обусловлено уникальной структурой хроматина и в первую очередь содержанием особых нуклеотидных последовательностей ДНК. С целью подтверждения этой гипотезы и с целью выявления гомологии этих хромосом у близких видов была проведена межвидовая *in-situ* гибридизация ДНК-библиотеки половой хромосомы *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) на хромосомы трофоцитов *Protophormia terranova* Mg. (Diptera: Calliphoridae).

В результате анализа флуоресцентно окрашенных препаратов обнаружен сигнал ДНК-зонда половой хромосомы *C. erythrocephala* на половой хромосоме *P. terranova*. Для центральной части половой хромосомы обоих видов характерно сужение и более плотная упаковка хроматина. На периферии хроматин веерообразно расплетен и имеет более рыхлую структуру. В остальных хромосомах сигнал отсутствовал.

Полученные данные свидетельствуют о гомологии половой хромосомы *C. erythrocephala* и половой хромосомы *P. terranova*. Это указывает на эволюционную консервативность и высокую значимость этих участков генома. Вероятно, общие для различных видов районы половых хромосом обеспечивают интактность этих хромосом на протяжении развития трофоцитов.

Вне программы

С целью выявления общих гомологичных последовательностей у близкородственных видов так же была проведена in-situ гибридизация ДНК-библиотеки половой хромосомы *C. erythrocephala* на хромосомы трофоцитов *Lucilia sp* (Diptera: Calliphoridae). В результате анализа полученных препаратов с использованием тотальной окраски хромосом был выявлен яркий блок хроматина в первичных ретикулярных ядрах, в который происходила гибридизация ДНК-зонда. В остальной области ядра метка отсутствовала. Это указывает на гомологию ДНК-последовательностей половых хромосом рассматриваемых видов.

Полученные результаты согласуются с имеющимися данными о пространственной организации ретикулярных ядер трофоцитов *C. erythrocephala*, согласно которым, наряду с общей диспергированностью хроматина половая хромосома сохраняет свою интактность и на протяжении всего процесса политенизации выявляется в виде плотного ярко окрашиваемого DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндол) хроматина.

Таким образом, при помощи метода FISH выявлена гомология между ДНК последовательностями половых хромосом видов *Calliphora erythrocephala*, *Lucilia sp.* и *Protophormia terranova*. При этом отмечен сходный характер распределения ДНК-зонда на половых хромосомах анализируемых видов. Эти данные свидетельствуют об эволюционной консервативности половых хромосом у представителей сем. *Calliphoridae*.

Исследования проводились при поддержке грантов: грант РФФИ №07-04-01484, проект ФЦП №02.740.11.0278, проект Рособразования № 2.1.1/774.

МЕЙОТИЧЕСКИЙ МУТАНТ SYNAPTIC₁₁ РЖИ SECALE CEREALE L

© Голубцов С.В., Иорданская И.В., Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН e-mail: serggolubtsov@gmail.com

Мейоз — универсальный клеточный механизм передачи наследственной информации, который контролируется десятками специфичных генов. Выделяют несколько групп мутаций генов, однако большинство из них проявляются в профазе I и прямо или косвенно влияют на синапсис гомологичных хромосом. В работе исследуется ранее неизученный мутант *synaptic₁₁(su1)* из Петергофской коллекции

мейотических мутантов ржи *Secale cereale* ($2n=2x=14$), созданной С.П. Соснихиной в Санкт-Петербургском университете. На данный момент она включает в себя более 20 в той или иной степени изученных мутаций специфичных генов мейоза, тем самым являясь прекрасной моделью для изучения генетических механизмов регуляции мейоза.

Мутация *su1* была выделена в инбредной линии и поддерживается в потомствах от самоопыления. По данным проведенного генетического анализа мутация моногенна и рецессивна ($\chi^2_{3:1}=0.36$, $n=62$). Мейоз у мутантных растений исследовали методами световой и электронной микроскопии. Проявление мутации в метафазе I выжалось в пониженном числе хиазм на клетку (в 1,7 раз в сравнении с диким типом), в наличии унивалентов ($2,2 \pm 0,1$ унивалента на клетку) и мультивалентов. Анализ синаптомных комплексов (СК) показал, что причиной этого являются нарушения строгости гомологии синапсиса в профазе I: смена латеральных элементов (switches) и синапсис латеральных элементов СК “на себя” (foldbacks). Также были выявлены зоны асинанпсиса. На данном этапе работы проводится подробный анализ динамики изменения числа таких нарушений по субстадиям профазы I.

Все вышеописанные нарушения мейоза позволяют отнести новую мутацию *su1* к группе мутаций гетерологичного синапсиса. Эта группа мутаций самая многочисленная. Ранее было изучено проявление и проведено картирование генов *su2*, *su6*, *su7*, *su8*, *su10*, *su18* и *su19*, которые неаллельны и локализуются в различных хромосомах. Мутация *su1* — самая слабая в этом списке по всем цитогенетическим показателям. Наличие большого числа генов говорит о том, что процессы попарного узнавания гомологов и вовлечения их в синапсис возможно состоят из нескольких этапов, которые находятся под строгим генетическим контролем.

Работа поддержана п/программой Президиума РАН “Генофонды и генетическое разнообразие”.

АНАЛИЗ ЧАСТОТ НЕРАСХОЖДЕНИЯ ХРОМОСОМ В ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МУЖЧИН НОСИТЕЛЕЙ СБАЛАНСИРОВАННЫХ РЕЦИПРОКНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ И МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ

© Гордеева Е.Г., Курило Л.Ф., Шилейко Л.В., Сорокина Т.М., Лаборатория генетики нарушений репродукции, Медико-генетический научный центр, Москва. Адрес для переписки (e-mail): reprolab@gmail.com

15-20% супружеских пар репродуктивного возраста страдают бесплодием. Репродуктивная недостаточность может быть обусловлена как мужским так и женским факторами. В ~ 30% случаев причину мужского бесплодия установить не удается, несмотря на доступность и широкий диапазон разработанных методов клинической и генетической диагностики. Определенная доля случаев бесплодия неясного генеза может относиться к патологии мейоза, нарушения дифференцировки и созревания сперматид в зрелую половую клетку. При патозооспермии наблюдается нарушение сегрегации хромосом, с высокой частотой обнаруживается нерасхождение X-Y бивалента. Хромосомные аномалии половых клеток являются причиной спонтанных аборт, привычного невынашивания беременности.

Наличие конституционных числовых и/или структурных хромосомных аномалий в кариотипе также приводит к патологии сперматогенеза (Курило и др., 1991, 2000, 2002, 2007). Отмечается частичный или полный блок мейоза на стадии профазы мейоза I — в предпахитене, пахитене, вследствие асинопсиса хромосом вовлеченных в перестройку и их гомологов. Обсуждается явление ассоциации X-Y бивалента с транслокационным квадριвалентом на данных стадиях и, так называемый, «межхромосомный эффект» (interchromosomal effect) (Martin, 1993; Pellestor et al., 2001; Shi et al., 2001; Vozdova et al., 2008).

Несмотря на возможность теоретического определения соотношения образующихся гамет с аберрантным кариотипом и моделей нерасхождения хромосом, при медико-генетическом консультировании семейных форм структурных аномалий хромосом

оценка репродуктивного риска производится по эмпирическим данным.

Анализ частот нерасхождения хромосом, составляющих наиболее частые трисомии (хромосомы 13, 18, 21, X, Y) и вовлеченных в перестройку хромосом, позволит получить дополнительную информацию о риске образования несбалансированной по генетическому материалу зиготы.

ХРОМОСОМЫ-ЛАМПОВЫЕ ЩЕТКИ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА МИДИ- И МИКРОХРОМОСОМ В КАРИОТИПЕ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ *GALLUS GALLUS DOMESTICUS*

© Дакс А.А., Красикова А.В., Галкина С.А., Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, spbchromas@gmail.com

Домашняя курица имеет «типичный» для класса Птицы кариотип, состоящий из крупных по размеру макрохромосом (аутосомы 1-10, половые хромосомы ZW) и большого количества мелких микрохромосом (хромосомы 11-38). Хотя на микрохромосомы приходится около трети всей ДНК генома, в них содержится более 75% от общего количества кодирующих последовательностей. Несмотря на очевидный прогресс в реализации проекта по секвенированию генома курицы, микрохромосомы представлены в нем неполно: лишь менее половины (около 180 Mb) секвенированных микрохромосомных последовательностей привязано к определенным хромосомам, а о хромосомах 29-31, 33-38 никакой информации не представлено. Кроме этого, такие привязанные последовательности перемежаются пропусками в местах повторов, в том числе и центромерных. Данные сложности обусловлены отсутствием информации о физическом картировании секвенированных последовательностей и генетических групп сцепления на небольших по размеру хромосомах (размер самых маленьких микрохромосом на стадии метафазы митоза в кариотипе курицы приближается к пределу разрешения светового микроскопа — 0,2 мкм).

Перспективным инструментом для исследования небольших по размеру хромосом в кариотипах птиц являются хромосомы типа ламповых щеток. Во-первых, эти хромосомы из растущих ооцитов почти в

Вне программы

30 раз превышают длину соответствующих митотических хромосом, что позволяет увеличить разрешение физического картирования ДНК-зондов. Во-вторых, на ламповых щетках с помощью иммуноцитохимического окрашивания антителами к белку когезинового комплекса STAG2 можно точно локализовать центромерные районы. В ситуации, когда центромерные последовательности хромосом курицы неизвестны, сочетание методов иммуноцитохимии и FISH позволяет определять положение центромер относительно генетических маркеров, присутствующих в сиквенсе. И, в-третьих, присутствие хиазм, объединяющих гомологичные хромосомы в ламповую щетку, дает возможность локализовать события кроссинговера на хромосомах относительно маркеров и определять частоту рекомбинации (выявлять горячие и холодные точки рекомбинации).

Опираясь на вышеперечисленные преимущества, мы использовали хромосомы на стадии ламповых щеток для исследования небольших по размеру макрохромосом (т.н. мидихромосом) и некоторых микрохромосом. Ядрышкообразующая микрохромосома 16 — одна из самых интригующих в кариотипе курицы. Ее размер оценивается в 15 млн.п.н., тогда как секвенировано всего 230 т.п.н. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Кроме генов рРНК, в ее состав входят два генетически не сцепленных между собой кластера генов главного комплекса гистосовместимости (МНС) курицы — В и RFP-Y. Мы идентифицировали эту хромосому на стадии ламповых щеток с помощью FISH с ДНК ВАС-клонов, содержащих фрагменты основных генных кластеров хромосомы 16 (ВАС-библиотека г. Вагенинген, Нидерланды). Результаты иммуноцитохимического окрашивания ламповых щеток антителами к белку STAG2, используемых в качестве маркера центромеры на хромосомах ламповых щетках птиц, а также FISH с ДНК повторяющихся последовательностей CNM и PO41, позволяют построить физическую карту хромосомы 16. Как и все микрохромосомы в кариотипе курицы, хромосома 16 — акроцентрик; на стадии ламповых щеток ее материал укладывается в 7 хромомеров: два яркие DAPI-позитивные хромомера, содержащие последовательности прицентромерного гетерохроматина и CNM; два хромомера с генами рРНК и МНС RFP-Y;

два хромомера тускло флуоресцирующие после окрашивания DAPI; хромомер с генами МНС В и повтор PO41.

Аналогичным образом нами были идентифицированы хромосомы 10, 14, и 28 на стадии ламповых щеток в кариотипе курицы и построены их рабочие физические карты.

Работа поддержана грантом РФФИ №08-04-00493.

ВРЕМЯ ОБРАЗОВАНИЯ ФИТОФИЛЬНЫХ ХИРОНОМИД ПОДСЕМЕЙСТВА CHIRONOMINAE (DIPTERA) НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА РИСУНКА ДИСКОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ

© Демин А.Г.¹, Дурнова Н.А.²,
Полуконова Н.В.², Мюге Н.С.², ¹Саратовский
государственный университет им. Н.Г.
Чернышевского ²Саратовский
государственный медицинский университет
³Институт Биологии Развития РАН, Москва

Одной из трудноразрешимых задач при исследовании эволюции комаров-звонцов (Diptera) является датировка эволюционных событий, т.к. палеонтологические исследования затруднены сложностью родовой и видовой идентификации хирономид и носят единичный характер (Калугина, Жерихин, 1975; Walker, Mathewes, 1987; Ильяшук, Ильяшук, 2002).

Цель работы — установить время и последовательность возникновения фитофильных хирономид подсемейства Chironominae на основе анализа рисунка дисков политенных хромосом (ПХ) клеток слюнных желез личинок и молекулярно-генетических данных.

Использованы личинки комаров-звонцов, собранные в 2007 — 2008 гг. в водоемах Саратовской области. Также использована информация GeneBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Препараты ПХ готовили по этилоорсеиновой методике (Демин, 1989). Секвенирование проводилось на базе ВНИРО г. Москва на секвенаторе ABI 3100 с использованием набора BigDye v1.1. Коррекцию последовательностей проводили в программе ChromasPro (www.technelysium.com), выравнивание — в ClustalW (www.genebee.msu), филогенетические построения и время дивергенции рассчитывались в Mega4 (www.megasoftware.net). Дендрограмма была построена методом Neighbor-Joining по

Вне программы

транслированным из ДНК аминокислотным последовательностям. Генетические дистанции рассчитывались методом *p-distance*. Калибровка молекулярных часов проводилась с использованием данных о времени возникновения хирономид — 213 млн.л.н. (Bertone, 2008) и времени молекулярной дивергенции рода *Sergentia* — 39 — 40 млн.л.н. (Paroucheva et al., 2002).

Полученные нами данные свидетельствуют, что первые представители подсемейства *Chironominae* появились в меловой период около 102 млн. л.н., однако активный процесс видообразования начался лишь в кайнозойскую эру с появлением цветковых растений и водных систем эвтрофного типа, что в целом согласуется с мнением Калугиной и Ковалева (1985).

Исследован рисунок дисков ПХ *Glyptotendipes manciunianus*, *Gl. glaucus*, *Endochironomus albipennis*, *Endochironomus sp.* (2n=8) и других. Анализ рисунка дисков ПХ показывает отсутствие гомологии хромосомных плеч у видов одного рода, что свидетельствует о далеко зашедшей внутривидовой дивергенции и, возможно, искусственности объединения видов в рода только на основе морфологических признаков, которые у личинок, как известно, имеют приспособительное значение и поэтому часто носят конвергентный характер. По результатам анализа изменчивости гена мтДНК — COI такие виды *Glyptotendipes*, как изученный нами *Gl. manciunianus* наиболее близок *Gl. lubiferus* (DQ648213) и видам рода *Kiefferulus*, в то время, как *Gl. glaucus* входит в отдельный кластер с видами *Microchironomus sp.* (AY752674), *Benthalia dessidens* (DG648198) и др.

На дендрограмме, построенной на основе анализа гена COI, время возникновения изученных нами филогенетических видов *Endochironomus albipennis* о. Сазанка и *Endochironomus sp.*, а также *Gl. manciunianus* и *Gl. lubiferus* разное. По-нашему мнению, филогения возникла в разное время и, по-видимому, неоднократно в разных группах бентосных хирономид, в результате чего давно дивергировавшие виды (по данным рисунка дисков ПХ) могли приобретать сходный эколого-морфологический облик и, в связи с этим, могли быть отнесены специалистами-морфологами к одному роду.

Таким образом, разнородность видовой состава *Endochironomus* и *Glyptotendipes*,

выявляемая на основе анализа рисунка дисков политенных хромосом и молекулярно-генетических данных затрудняет исследования систематики и филогении хирономид.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ТОЧЕК РАЗРЫВОВ В ХРОМОСОМЕ 3 У КУРИЦЫ И ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА

© Злотина А.М., Галкина С.А., Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, spbchromas@gmail.com

Эволюция кариотипов птиц характеризуется низкой частотой межхромосомных перестроек, сопровождавших дивергенцию видов в классе Птицы. Вместе с тем частота внутривидовых перестроек — разного типа инверсий — у птиц значительно выше. Так, методами дифференциального окрашивания, физического и генетического картирования были выявлены крупные инверсии, отличающие ряд макрохромосом в кариотипах двух близких видов — домашней курицы (*Gallus gallus domesticus*) и японского перепела (*Coturnix coturnix japonica*), представителей отряда Курообразные (*Galliformes*). К настоящему моменту молекулярные механизмы образования этих инверсий, положение точек разрывов/воссоединений, а также природа ДНК последовательностей, представленных в этих районах, мало изучены.

Сравнительное цитогенетическое картирование ВАС-клонов, содержащих фрагменты геномной ДНК курицы, на гигантских хромосомах типа ламповых щеток курицы и японского перепела позволяет с высоким разрешением картировать точки разрывов при хромосомных перестройках. С помощью флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) на хромосомах ламповых щетках курицы и японского перепела были картированы ВАС-клоны, содержащие фрагменты ДНК хромосомы 3 курицы (GGA3), и выявлена инверсия, различающая хромосому 3 у этих двух видов. Нижняя граница данной инверсии на хромосоме 3 курицы располагается между молекулярными маркерами с положением 5,4 и 5,8 млн.п.н. на карте упорядоченных секвенированных последовательностей GGA3 (<http://ncbi.nlm.nih.gov>, версия 2.1), то есть в районе локализации длинного кластера

тандемного повтора CNM курицы. Сравнительный анализ расположения генов из данного района хромосомы 3 курицы с ортологичными генами человека и зебровой амадины (*Taeniopygia guttata*), выполненный *in silico* («E-painting», electronic chromosome painting), показал, что здесь находится «стык» двух групп сцепления. Также, анализ распределения хиазм в районе от 0 до 23 млн.п.н. хромосомы-ламповой щетки 3 курицы выявил повышенную частоту рекомбинации в области тандемного повтора CNM. Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу гипотезы о существовании нестабильных участков в геноме, многократно участвующих в качестве точек разрывов при хромосомных перестройках в ходе эволюции кариотипов. Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-00493.

МЕЖХРОМОСОМНЫЙ ЭФФЕКТ ПРИ НОСИТЕЛЬСТВЕ ТРАНСЛОКАЦИЙ

© Зотова Н.В., Тимофеева И.Ю., Маркова Е.В., Казанцева О.М., Селезнева С.С., Махалова Н.А., Новосельцева А.В., Зайцева Т.А., Светлаков А.В., Центр репродуктивной медицины, Красноярск, krasivf@kcrfm.ru

Межхромосомный эффект (МЭ; Interchromosomal effect (ICE)) представляет собой влияние структурных хромосомных перестроек на сегрегацию других хромосом, не связанных с перестройкой, что приводит к нерасхождению и формированию анеуплоидных гамет (Gutierrez-Mateo et al., 2005; Kirkpatrick et al., 2008; Vozdova et al., 2008). МЭ впервые описан на человеке J. Lejeune (1963). При проведении преимплантационной генетической диагностики (ПГД) в случае носительства транслокаций в кариотипе рекомендуется дополнительный анализ анеуплоидий по хромосомам 13, 16, 18, 21 и 22 (иногда до 10 хромосом) (Kuliev, Verlinsky 2002; Pujol et al., 2006; Gianaroli et al., 2002). В настоящий момент механизмы МЭ мало изучены. МЭ может обнаруживаться при FISH-анализе деконденсированных ядер сперматозоидов носителей хромосомных перестроек (Estop et al., 2000, Pellestor et al., 2001, Oliver-Bonet et al., 2002, Anton et al., 2007). В то же время некоторые исследования показывают отсутствие МЭ у носителей хромосомных перестроек (Pellestor et al., 2001; Oliver-Bonet

et al., 2004; Douet-Guilbert et al., 2005; Kirkpatrick et al., 2008).

В нашей работе представлено молекулярно-цитогенетическое исследование МЭ у 14-и пациентов с транслокациями (возраст 35,92±1,73 лет), проходивших обследование в Центре репродуктивной медицины г. Красноярск. Носительство транслокаций установлено на основании стандартного цитогенетического исследования клеток крови. В ряде случаев проводилось дополнительные молекулярно-цитогенетические исследования для идентификации точек разрывов. У девяти пациентов установлены Робертсоновские транслокации (5 случаев — 45,XY,der(13;14)(q10;q10); 2 — 45,XY,der(14;15)(q10;q10); 1 — 45,XY,der(14;21)(q10;q10); 1 — 45,XY,9ph,der(13;14)(q10;q10)), у трех — сбалансированные транслокации (46,XY,t(2;8)(q32;q24), 46,XY,t(8;10)(q22;q26), 46,XY,t(9;14)(q22;q32)), у двух — несбалансированные транслокации (46,XY,der(5)t(Y;5)(q12;q35) и 46,XY,der(15)t(Y;5)(q11;p12)). Все пациенты характеризовались наличием патоспермии различной степени тяжести.

Группу сравнения составили 10 здоровых мужчин репродуктивного возраста (возраст 32,00±2,28 лет), отобранных согласно критериям для доноров сперматозоидов: соматическое здоровье, возраст от 20 до 40 лет, концентрация сперматозоидов в эякуляте более 80 млн/мл (Приказ МЗ РФ №67 от 26.02.2003г).

Анализ уровня анеуплоидии проводился с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) на культивированных клетках крови с набором зондов “Multy Vysion” (Abbott Molecular Inc.) на хромосомы 13, 18, 21, X и Y. Дополнительно анализировалась частота нерасхождения по хромосомам, включенным в перестройки, с использованием зондов на хромосомы 2, 8, 9, 10, 14, 15 (Abbott Molecular Inc.) для носителей соответствующих транслокаций. В каждом случае анализировалось по 1000 интерфазных и метафазных ядер. Для всех мужчин контрольной группы и трех пациентов с транслокациями проведен анализ МЭ на сперматозоидах.

Средняя частота анеуплоидии по половым хромосомам у пациентов с транслокациями в клетках крови составила 0,41±0,04% и достоверно не отличалась от таковой в

группе контроля $0,31 \pm 0,03\%$. Аналогичная ситуация наблюдалась и в отношении не вовлеченной ни в одну перестройку хромосомы 18: $0,24 \pm 0,04\%$ против $0,29 \pm 0,05\%$ в контрольной группе. Представленные данные свидетельствуют о том, что МЭ по хромосомам 18, X и Y в лимфоцитах обследованных пациентов с транслокациями не обнаружен. В сперматозоидах пациентов с транслокациями частота анеуплоидии по половым хромосомам составила $0,79 \pm 0,14\%$ и была выше, чем в контрольной группе $0,42 \pm 0,08\%$. Это может свидетельствовать о мейотических нарушениях сегрегации хромосом.

При исследовании анеуплоидии по хромосомам, вовлеченным в перестройку, у 8-и пациентов из 14-и частота нерасхождения в лимфоцитах превышала норму. В сперматозоидах у 3-х обследованных пациентов также наблюдалось повышение частоты нарушений по хромосомам, участвующим в перестройке.

Всем обследованным пациентам была предложена ПГД и разработан индивидуальный алгоритм диагностики несбалансированных хромосомных нарушений на интерфазных ядрах и дополнительный скрининг на анеуплоидии по хромосомам 13, 18, 21, X и Y на эмбрионах.

Таким образом, в нашем исследовании МЭ обнаружен только в сперматозоидах пациентов с транслокациями. Каждый случай носительства транслокации требует индивидуального диагностического подхода, в том числе с использованием FISH на сперматозоидах и медико-генетического консультирования по вопросу планирования потомства.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ (*ABIES SIBIRICA* LEDEB.)

© Квитко О.В., Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, kvitko@ksc.krasn.ru

Пихта сибирская (*Abies sibirica* Ledeb.) является одним из основных лесообразующих видов Сибири. Она обладает высоким репродуктивным потенциалом, однако жизнеспособность ее семян крайне низкая, что затрудняет процесс естественного возобновления вида (Горчаковский, 1956; Савченко, 1970; Бажина, 2007). Особенно актуальна эта проблема в

настоящее время, когда во многих регионах Сибири происходит интенсивное усыхание пихтовых лесов (Третьякова, Бажина, 1994, 1999). Одной из основных причин формирования стерильных семян пихты является недостаточное количество и слабая жизнеспособность пыльцы. Повышенная чувствительность пихты сибирской, как и других видов хвойных, к экстремальным факторам различной природы определяет перспективность ее использования в качестве объектов цитогенетического мониторинга для анализа и прогноза состояния экосистем (Калашник и др., 1997, 1999; Шафикова, Калашник, 1997; Druskovic, 1997; Micjeta, Murin, 1998; Шафикова, 1999).

Настоящее исследование посвящено цитогенетическому изучению особенностей мейоза при микроспорогенезе у деревьев пихты сибирской разных категорий жизненного состояния (морфологически здоровых и с признаками усыхания) в природных популяциях Восточного и Западного Саяна и искусственно созданном насаждении в дендрарии Института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН. Кариологический и цитогенетический анализ семенного потомства пихты сибирской проводился в пяти популяциях Средней Сибири.

Мейоз у пихты сибирской проходит по классическому типу. Продолжительность собственно мейотических делений (без учета ранних стадий профазы I) в естественных популяциях составляет 2-3 суток (Бажина и др., 2006). В искусственном насаждении выявлены специфические особенности развития микроспороцитов: увеличение продолжительности мейотических делений до 13-17 суток и их сильная асинхронность в пределах микроспорангия (Бажина и др., 2007).

Установлено увеличение количества и расширение спектра нарушений на некоторых стадиях мейоза у усыхающих и произрастающих в дендрарии деревьев пихты сибирской по сравнению с морфологически здоровыми деревьями из оптимальных условий произрастания. Выявлено, что большая часть патологий мейоза у пихты сибирской связана с нарушением процесса расхождения отдельных хромосом. К ним относится асимметричное и хаотическое расхождение, отставания и забегания хромосом. Характер подобных аномалий определяется степенью повреждения веретена деления, которое может быть

Вне программы

полным или частичным. При благоприятных погодных условиях в период подготовки и протекания мейоза такие аномалии, как правило, элиминируются до стадии тетрад и практически не влияют на качество формирующихся микроспор. Анализ пыльцы выявил преобладание нормально развитых пыльцевых зерен у всех деревьев. Доля патологически развитой пыльцы сильно варьирует в разные годы исследования: у морфологически здоровых деревьев — от 0,4 до 2,8 %, у слабо- и средне усыхающих — от 0,4 до 5,5 %, у сильно усыхающих — от 0,7 до 9,2 %.

Кариологический анализ пихты сибирской из пяти местопроизрастаний Средней Сибири показал низкий уровень кариологического полиморфизма пихты сибирской в исследуемой части ареала, что согласуется с данными, полученными с помощью методов биохимической генетики (Ларионова, Экарт, 2005; Экарт, 2006; Lagionova et al., 2007). Кариотипы изученных популяций содержат 24 хромосомы: 7 пар метацентрических (I-VII), 4 пары субметацентрических (VIII и X-XII) и 1 пару интерцентрических (IX) хромосом и слабо различаются по количеству и особенностям локализации ЯОР.

Во всех местопроизрастаниях обнаружены миксплоидные растения, частота их встречаемости составляет 9,1-14,6 %. В семенном потомстве пихты из заповедника «Столбы» обнаружен триплоидный ($2n=3x=36$) проросток, а также выявлены отдельные случаи соматической редукции хромосом. Известно, что лесные насаждения заповедника испытывают сильное воздействие аэротехногенных выбросов г. Красноярска (Степень и др., 1996).

В оптимальных условиях для семенного потомства пихты сибирской характерен невысокий уровень нарушений в митозе. Так, хромосомные перестройки (кольцевые и дицентрические хромосомы, ацентрические кольца, фрагменты) были отмечены в 1,9-4,2 % клеток; частота встречаемости патологий митоза варьировала от 2,3 до 4,1 % на стадии ана-телофазы; 0,03-0,10 % клеток на стадии интерфазы содержали микроядра. Достоверно ($P<0,05$) более высокая частота нарушений отмечена только у семенного потомства усыхающих деревьев из окрестностей метеостанции «Оленья речка» — 7,5 % клеток с хромосомными перестройками; 5,7 % клеток с

патологическими митозами; 0,20 % клеток с микроядрами. Вероятно, это является результатом длительного воздействия экстремальных факторов и отражает высокую степень нарушенности экосистем в данном регионе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 08-04-90001 и 09-04-98000).

МЕТИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНА H₁ В ЯДРАХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО АНТИБИОТИКА ДИСТАМИЦИНА

© Коломийцева Г.Я.¹, Прусов А.Н.¹, Смирнова Т.А.^{1,2}, ¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова электронная почта: kolom@genebee.msu.su, ²ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, Москва, электронная почта: smirnova@genebee.msu.su

В последнее десятилетие сделано много открытий по посттрансляционной ковалентной модификации кор-гистонов и роли этого явления в структурных изменениях и функционировании хроматина. Установлено по меньшей мере 8 типов различных модификаций, среди которых наиболее частыми и значимыми для кор-гистонов, кроме ацетилирования, является метилирование. Существование многочисленных лизиновых и аргининовых остатков в гистонах в сочетании с различными уровнями метилирования обеспечивает мощный регуляторный потенциал. Полагают, что гистоновые модификации могут создавать информационный, так называемый «гистоновый код», который считывается эффекторными белками. Что касается линкерного гистона H₁, то знания о его модификациях остаются ограниченными, в основном, фосфорилированием. Долгое время полагали, что гистон H₁ в ядре вообще не метилируется как *in vivo*, так и *in vitro*. В нашем исследовании путем тщательного измерения радиоактивности с использованием различных способов подготовки препаратов удалось установить, что при инкубации ядер печени крысы с [³H]-S-аденозилметионином метка включается в гистон H₁. Метил-³H включался также в гистоны H₃ и H₄. Удельные активности препаратов составили для H₁ — $1,2 \cdot 10^6$, для H₃

— $28,7 \cdot 10^6$ и для H4 — $3,8 \cdot 10^6$ Бк/ммоль. Добавление в среду инкубации антибиотика дистамицина (Д), специфичного к минорной бороздке АТ-последовательностей ДНК, привело к концентрационно-зависимому от Д возрастанию уровня метилирования гистонов H1 и H3. При Д/ДНК = 0,1 включение метки в гистон H1 возросло примерно в 6 раз, а в H3 — в 1,5-2 раза. Мы показали также, что Д повышает экстрагируемость H1 из ядра полиглутаминовой кислотой. По-видимому, Д ослабляет взаимодействие гистона H1 с ДНК и тем самым может способствовать сдвигу молекул гистона H1 на другие места на нуклеосомах. Последнее может приводить к доступности молекул гистона H1 для эндогенной гистоновой лизинметилтрансферазы, локализованной в хроматине. Повышение уровня метилирования гистона H3 возможно объяснить аналогичным сдвигом гистона H3 непосредственным действием Д или изменением взаимодействия гистона H1 с С-концом гистона H3. Представленные данные не только указывают на возможность участия гистона H1 в «гистоновом коде», но и позволяют предположить влияние на этот код экзогенных факторов. Предполагаемые механизмы участия H1 в гистоновом коде основаны на динамическом взаимодействии гистона H1 с хроматином и повышенном связывании некоторых белков, например, белка гетерохроматина HP1 с метилированным H1.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 09-04-01352а и № 08-04-00012а.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГИСТОНОВЫХ МОДИФИКАЦИЙ В ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫХ ГЕНАХ В ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ ДРОЗОФИЛЫ

© Коряков Д.Е.^{1,2}, Лайн С.², Ройтер Г.², Жимулев И.Ф.¹, ¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия. ²Институт генетики, Университет Мартина Лютера, Халле, Германия.

Состояния хроматина, а также процессы, происходящие в нем, находятся под контролем пост-трансляционных модификаций гистонов или, как минимум, тесно связаны с ними. В число модификаций, наиболее изученных на текущий момент, входят ацетилирование лизина, метилирование лизина, фосфорилирование

серина и треонина и убиквитилирование лизина. Метилирование остатков лизинов в положениях H3K4, H3K36 и H3K79 связаны с процессами транскрипции, тогда как метилирование остатков H3K9, H3K27 и H4K20 участвуют в установлении и поддержании инактивированного состояния. Сейчас для исследования распределения белков на хромосомах активно используют метод хроматин-иммунопреципитации (ChIP). Из гистоновых модификаций, участвующих в формировании неактивного хроматина, этим методом подробно исследованы геномное распределение три-метилированного остатка H3K27, а также ди-метилированного остатка H3K9 в нескольких гетерохроматиновых генах. Данный метод отличается высокой точностью и позволяет оценить количество того или иного белка в данном сайте. Однако в силу технических сложностей подобные работы проводят либо на эмбрионах, либо на культуре клеток эмбрионального происхождения, а сведения о том, как белки распределены в хромосомах дифференцированных клеток крайне скудны.

С помощью ChIP и Real-Time PCR мы исследовали как в хромосомах слюнных желез распределены tri-met-H3K27 и di-met-H3K4 на участке гена *BX-C* (интеркалярный гетерохроматин), а также di-met-H3K9 и di-met-H3K4 в гене *rolled* (прицентромерный гетерохроматин хромосомы 2R). Мы сравнили наши данные с результатами других авторов, полученных на хромосомах из эмбрионов и культуры клеток.

Наши данные показали, что уровень tri-met-H3K27 в хроматине гена *BX-C* высок, значительно выше, чем в контрольном районе (ген тубулина), его распределение неравномерно и в целом хорошо повторяет распределение этой модификации в данном районе хроматина из культуры клеток. Количество же метилированного остатка H3K4, наоборот, низко, как и должно быть в неактивном районе, значительно ниже, чем в активном гене тубулина. Эти данные говорят о том, что распределение и количество tri-met-H3K27, установившееся на эмбриональной стадии поддерживается на одном уровне в течение нескольких клеточных поколений. Ранее район гена *BX-C* был подробно исследован на предмет степени недорепликации ДНК и, используя эти данные, мы проанализировали связь между степенью политенизации ДНК и количеством модифицированных остатков.

Оказалось, что уровень недорепликации не коррелирует ни с метилированием H3K27, ни H3K4.

Исследование гена *rolled* выявило необычное сочетание модификаций, характерных как для активного и неактивного хроматина. Данный ген, будучи расположенным в прицентромерном гетерохроматине, тем не менее, активен в клетках слюнных желез. Распределение tri-met-H3K4 хорошо соответствует данному факту, и эта модификация в наибольшем количестве присутствует в 5' области и равномерно распределена в кодирующей части гена. Кроме модификации, характерной для активного хроматина, ген *rolled* обогащен di-met-H3K9, т.е. модификацией, характерной для неактивного гетерохроматина. Ее наибольшее количество приходится, наоборот, на 3' область гена, а наименьшее на 5'. Наши данные хорошо коррелируют с результатами других авторов по распределению этих модификаций в других генах из гетерохроматина хромосомы 2L. Множество данных, полученных ранее, говорят о том, что гетерохроматиновым генам необходимо особое окружение для их нормальной работы, однако природа этого окружения не была известна. Данные, полученные нами и другими авторами, говорят о том, что таким окружением может служить особая комбинация модификаций, характерная и для активного и для неактивного хроматина. Также мы исследовали связь между степенью политенизации ДНК и модификациями гистонов. Мы сравнили количество di-met-H3K9 в полностью политенизованном гене *rolled* и сильно недореплицированной последовательности сателлитной ДНК. Оказалось, что количество данной модификации не связано со степенью политенизации ДНК.

**ВНУТРИЯДЕРНАЯ ДИНАМИКА
ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩЕЙ ХРОМОСОМЫ
В ТРОФОЦИТАХ *CALLIPHORA
ERYTHROCEPHALA* (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE)**

© Коханенко А.А., Ананьина Т.В.,
Стегний В.Н., НИИ биологии и биофизики
ТГУ, Томск, center_cu@res.tsu.ru

В настоящее время одно из важных направлений в изучении генома — это изучение пространственной организации хромосом и их отдельных районов. Данных о

последовательности нуклеотидов в ДНК явно недостаточно для понимания функционирования генома — необходимо детальное изучение трехмерной организации интерфазных ядер. Трудности визуального наблюдения организации интерфазных ядер в значительной мере преодолены благодаря анализу ядер с гигантскими политенными хромосомами. Прекрасным объектом для изучения пространственной организации интерфазного ядра являются ядра трофоцитов *C. erythrocephala*, в которых политенизация хромосом сопровождается морфологическими преобразованиями.

Хромосома 6 является ядрышкообразующей (Boyes J.W. et al, 1975) и самой маленькой хромосомой в кариотипе *C. erythrocephala*. ДНК хромосомы 6 была получена методом микроманипуляционного сбора материала с воздушно-высушенного препарата. Методом 2D FISH ДНК-зонда на политенные хромосомы было показано, что полученный зонд является хромосома-специфичным. С помощью 3D FISH нами была изучена локализация хромосомы 6 в трехмерном пространстве ядра. Были проанализированы ядра трофоцитов *C. erythrocephala* с различной морфологией хроматина.

В цистоцитах гермария хроматин организован в тонкие фибриллы. Анализ оптических срезов и их графическая реконструкция показали, что хромосома 6 имеет компактную структуру и занимает центральное положение в ядре. В фолликуле, в результате дальнейшей политенизации, хроматин трофоцитов приобретает ретикулярную структуру. Хромосома 6, так же как и в гермарии, занимает центральное положение в ядре. На этой стадии в центре ядра вокруг хромосомы 6 начинает выявляться темный участок ядра, не окрашенный DAPI. Поскольку хромосома 6 является ядрышкообразующей, вероятно, на этой стадии начинается формирование ядрышка, ассоциированного с хромосомой 6. Следующей стадией морфофункциональных преобразований хроматина в трофоцитах *C. erythrocephala* является стадия политенных хромосом. На этой стадии в ядрах трофоцитов хромосома 6 по-прежнему сохраняет центральное положение в ядре. Постепенно политенные хромосомы начинают компактизоваться и переходят на стадию помпоновидных хромосом. На этой стадии происходят значительные изменения

во внутриядерной локализации хромосомы 6. На стадии компактных помпоновидных хромосом, хромосома 6 и ассоциированное с ней ядрышко продолжает располагаться в центральной части ядра. Процесс декомпактизации помпонов сопровождается постепенным перемещением хромосомы 6 к периферии ядра. На завершающей стадии декомпактизации помпоновидных хромосом, когда хроматин имеет рыхлую, клочковатую структуру и отдельные хромосомы не выявляются, хромосома 6 расположена на периферии ядра. Материал хромосомы в других областях ядра не выявляется. На завершающем этапе морфологических преобразований ядра, на стадии вторичных ретикулярных ядер основная часть материала хромосомы 6 располагается на периферии ядра и приобретает кольцеобразную форму. Наряду с этим небольшие участки мечения ДНК-зонда хромосомы 6 выявляются по всему объему ядра. В центральной области крупное одиночное ядрышко не обнаруживается. Вместо этого во всем объеме ядра выявляются многочисленные неокрашенные области, которые совпадают с мелкими сигналами ДНК-зонда, рассредоточенными по объему ядра.

Таким образом, полученные данные дают основание полагать, что в процессе политенизации и морфофункциональных преобразований хроматина трофоцитов *S. erythrocephala* в ядрах происходят крупномасштабные перемещения материала хромосомы 6, вероятно связанные с увеличением общей экспрессионной активности в ядрах при переходе к ретикулярной структуре и сопровождающиеся изменением морфологии хромосомной территории.

Исследование проводилось при поддержке гранта РФФИ № 07-04-01484, проектов ФЦП № 02.740.11.0278, Рособразования № 2.1.1/774 и гранта компании Carl Zeiss.

КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОВ PPD НА ВТОРОЙ ГРУППЕ ГОМЕОЛОГИЧНЫХ ХРОМОСОМ TRITICUM AESTIVUM L. С ПОМОЩЬЮ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

© Кошкин В.А.¹, Ситников М.Н.¹,
Матвиенко И.И.¹, Егорова Е.М.²,
Потокина Е.К.¹, Салина Е.А.², Мережко А.Ф.¹,

¹Институт растениеводства им. Н. И. Вавилова РАСХН, Санкт-Петербург, e.potokina@vir.nw.ru; ²Институт Цитологии и Генетики Сибирского Отделения РАН, Новосибирск, salina@bionet.nsc.ru

Контроль продолжительности вегетационного периода у пшеницы в основном осуществляют системы генов Vrn (реакция на яровизацию) и Ppd (чувствительность к фотопериоду). Слабая фотопериодическая чувствительность (ФПЧ) контролируется доминантными аллелями генов Ppd, сильная — рецессивными (Стельмах и др., 1987). Сорта, обладающие слабой ФПЧ, как правило, являются скороспелыми, поэтому слабая ФПЧ считается важным свойством современных широко адаптированных сортов со стабильно высокой продуктивностью. Ранее высказывались предположения, что гены Ppd локализованы на коротких плечах гомеологичных хромосом второй группы, соответственно — 2D, 2B и 2A (Scarth, Law, 1984). Ген Ppd-D1 действительно удалось локализовать на хромосоме 2D, недавно была установлена его нуклеотидная последовательность (Beales et al., 2007). Для более точной локализации генов Ppd на хромосомах, а также для оценки их прямых и плейотропных эффектов была создана серия почти изогенных линий, различающихся по реакции на длину дня. Исходным материалом для создания линий послужили три контрастных по ФПЧ родительских генотипа яровой мягкой пшеницы, не реагирующие на яровизирующие температуры: сорт Фотон, сорт Sonoga 64 и линия ФЧЛ 2 (Мережко и др., 1997). Созданная серия включает шесть линий, полученных в результате пяти беккроссов и 3-кратного индивидуального отбора. Каждая линия несет доминантную аллель только одного гена Ppd. Линии Ppd-s, Ppd-m и Ppd-w, несущие доминантные аллели разных генов Ppd, различаются по ФПЧ; в частности, начинают колоситься на коротком фотопериоде (12 ч) раньше рекуррентного родителя, соответственно, на 44, 33 и 21 сут.

Предполагалось, что рекордное ускорение колошения на коротком дне у линии Ppd-s объясняется тем, что линия унаследовала доминантную аллель сильного гена Ppd-D1 от родительского сорта Фотон. Ген Ppd-D1 был недавно клонирован; установлено, что различие между доминантной и рецессивной

аллелями гена определяется делецией размером приблизительно в две тысячи нуклеотидных пар (н.п.) (Beales et al., 2007). Для идентификации генотипов с доминантной и рецессивной аллелями гена Ppd-D1 были разработаны аллель-специфичные праймеры (Yang et al., 2009), с помощью которых мы показали, что одна из почти изогенных линий Ppd-s является носителем доминантной аллели гена Ppd-D1, локализованного на хромосоме 2D. Установлено, что изогенная линия Ppd-s унаследовала доминантную аллель Ppd-D1 от сорта Фотон, которому, как и предполагалось ранее, эта аллель была передана от индийского сорта Sonalika (Мережко и др., 1997).

Дополнительное исследование с использованием SSR-маркеров также показало, что фрагмент хромосомы 2D в интервале 73.4-81 сМ унаследован линией Ppd-s от родительского сорта Фотон — донора доминантной аллели «сильного» гена Ppd-D1. Чувствительная к длине дна сестринская линия Ppd-o^s («рецессивный сибс»), отобранная параллельно с Ppd-s, и несущая рецессивные аллели всех генов Ppd, по результатам микросателлитного анализа унаследовала этот хромосомный фрагмент от рекуррентного родителя ФЧЛ 2.

ТРАНСКРИПТЫ ТАНДЕМНО ПОВТОРЯЮЩЕЙСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ LL2R УЧАСТВУЮТ В ФОРМИРОВАНИИ SC35- ДОМЕНОВ В ЯДРАХ РАСТУЩИХ ООЦИТОВ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ

© Красикова А.В., Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, e-mail: spbchromas@gmail.com

Известно, что в геномах животных и растений лишь небольшая часть транскрибируемых последовательностей ДНК содержит открытые рамки считывания (ORF), кодирующие белки. Многие синтезируемые длинные и короткие РНК не кодируют белковые продукты, но важны для регуляции экспрессии генов и реализации генетической информации. Изучение клеточных функций регуляторных, некодирующих РНК в развивающихся женских половых клетках, особенно важно с точки зрения участия такой РНК в передаче наследуемой информации. В настоящей работе проведен анализ особенностей

функционирования новой тандемно повторяющейся последовательности ДНК в ооцитах домашней курицы (*Gallus gallus domesticus*) на стадии высокой транскрипционной активности.

С использованием биоинформатического анализа данных проекта «Геном курицы» (Chicken genome project), мы идентифицировали новую тандемно повторяющуюся последовательность ДНК длиной ~ 440 п.н. В единственном кластере повтора, расположенном на длинном плече расшифрованных последовательностей хромосомы 2 курицы (GGA2), а также в секвенированных последовательностях, не привязанных к определенной хромосоме (ChrUn), все повторяющиеся элементы ориентированы в одном направлении и имеют гомологию ~ 87,25 %. С помощью ПЦР со специфичными праймерами мы подтвердили тандемную организацию идентифицированной повторяющейся последовательности в геноме курицы. Физическое картирование повтора на микрохирургически изолированных из ядер ооцитов домашней курицы хромосомах типа ламповых щеток позволило локализовать его кластер на длинном плече GGA2, на расстоянии 5-10 хромомеров от терминального района. Кластер идентифицированного повтора был локализован в локусе формирования так называемых «глыбчатых петель», обладающих особой морфологией и необычным составом РНП-матрикса. Так например, анализ микрохирургически изолированных ядер ооцитов домашней курицы, окрашенных флуоресцентным красителем Sytox green, показал, что «глыбчатые петли» производят крупные агрегаты РНП-частиц, которые радиально располагаются вокруг хромосомы 2. Таким образом, идентифицированная тандемно повторяющаяся последовательность ДНК ответственна за формирование «глыбчатых петель» («lumpy loops») на хромосоме-ламповой щетке 2 в растущих ооцитах курицы, и получила название LL2R (lumpy loop 2 repeat). При проведении флуоресцентной ДНК/РНК-транскрипт *in situ* гибридизации мы обнаружили транскрипты повтора LL2R в составе РНП-матрикса «глыбчатых петель» на GGA2. Транскрипционная активность тандемно повторяющейся последовательности LL2R на стадии ламповых щеток также была

подтверждена с помощью обработок препаратов РНКазой А. В результате работы впервые определены источники РНК-транскриптов в особых транскрипционных единицах («глыбчатых петлях») на хромосомах-ламповых щетках домашней курицы.

Ранее проведенный компьютерный анализ первичной последовательности молекул РНК, кодируемых короткими и длинными tandemными повторами в геномах домашней курицы, японского перепела и голубя сизого, показал, что все известные к настоящему времени транскрибируемые прицентромерные последовательности в геномах этих видов не содержат канонических сайтов сплайсинга. В то же время, мы обнаружили, что продукты транскрипции tandemно повторяющейся последовательности LL2R содержат потенциальные сайты связывания компонентов сплайсосомы. О транскрипционных этапах процессинга вновь синтезируемых транскриптов сателлитных повторов ДНК можно судить по компонентам, входящим в состав РНП-матрикса латеральных петель хромосом-ламповых щеток. Используя этот подход, мы показали, что малые ядерные (мя) РНК, содержащие ТМГ-кэп, Sm-белки мяРНП и SR-белок SC35, участвующие в сплайсинге, взаимодействуют с транскриптами tandemного повтора LL2R в «глыбчатых петлях» на хромосоме 2. С помощью специально адаптированного для микрохирургически изолированных из растущих ооцитов птиц гигантских ядер метода 3D-иммунофлуоресценции, мы провели количественный анализ распределения фактора сплайсинга SC35, зрелых мяРНК и Sm-белков мяРНП. Было обнаружено, что РНП-матрикс глыбчатых и гигантских терминальных петель на хромосомах значительно обогащен фактором сплайсинга SC35 по сравнению с нуклеоплазмой и большинством транскрипционных единиц. Таким образом, установлено, что взаимодействующая с факторами сплайсинга некодирующая РНК сателлитного повтора LL2R формирует в ядре растущего ооцита домены, аккумулирующие белок SC35.

Работа выполнена с использованием приборной базы ЦКП «ХРОМАС».

ОСОБЫЕ ПЕТЛИ ХРОМОСОМ-ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК ПТИЦ И АМФИБИЙ КАК ВНУТРИЯДЕРНЫЕ ДОМЕНЫ, НАКАПЛИВАЮЩИЕ ПОЛИАДЕНИЛИРОВАННЫЕ ТРАНСКРИПТЫ

© Куликова Т.В., Красикова А.В., Дерюшева С.Е., Злотина А.М., Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский государственный университет, spbchromas@gmail.com

Хромосомы-ламповые щетки (ЛЩ) представляют собой диплотенные мейотические биваленты, формирующиеся в растущих ооцитах хрящевых рыб, земноводных, яйцекладущих млекопитающих, рептилий, птиц, а также беспозвоночных животных с солитарным типом оогенеза. ЛЩ имеют характерную хромомерно-петлевую организацию: хроматин каждой хромосомы упакован в линейный ряд компактных гранул (хромомеров), из которых симметрично выпетливаются участки сестринских хроматид (боковые петли). На осях боковых петель происходит интенсивная транскрипция. Образующиеся транскрипты в комплексе с РНК-связывающими белками, как правило, формируют поляризованный РНП-матрикс петли, объем которого увеличивается по направлению синтеза в транскрипционной единице. Масштабы транскрипции на боковых петлях ЛЩ позволяют исследовать как сам процесс, так и котранскрипционные события на цитологическом уровне.

Для хромосом-ламповых щеток большинства исследованных видов птиц и амфибий характерно формирование петель с необычной морфологией РНП-матрикса. РНП-матрикс этих петель обычно не имеет выраженной полярности, в связи с его формой и размерами такие петли получали название глыбчатых, гигантских или особых. Особые петли обычно немногочисленны и формируются в строго определенных локусах, благодаря чему служат надежными маркерами для идентификации хромосом и построения цитологических карт. На осях особых петель ЛЩ амфибий и птиц не выявляется элонгирующая форма РНК-полимеразы II, а для РНП-матрикса особых петель некоторых видов амфибий была показана очень низкая, по сравнению с простыми боковыми петлями, скорость включения меченых предшественников РНК.

Кроме того, в отличие от простых боковых петель, особые петли не чувствительны к ингибированию транскрипции и сохраняются на вителлогенной стадии оогенеза, когда происходит сокращение простых боковых петель и конденсация хромосом.

Мы провели сравнительное исследование особых петель на ЛЩ птиц и амфибий на примере хромосом из ооцитов домашней курицы и шпорцевой лягушки.

Инъецированный в ооциты курицы Bg-УТФ интенсивно включался в образующиеся транскрипты на простых боковых петлях уже в течение первого часа инкубации, тогда как особые петли оставались свободными от включения даже через четыре часа инкубации. Ранее Саллакц и Янч показали, особая петля на биваленте 3 шпорцевой лягушки начинает включать инъецированный Bg-УТФ только спустя три дня инкубации ооцитов (Sallacz, Jantsch, 2005). Таким образом, особые петли птиц и амфибий, по-видимому, имеют сходную динамику обновления РНК. Учитывая, что массовая транскрипция на ЛЩ осуществляется РНК-полимеразой II, мы предположили, что в особых петлях накапливаются ее полиаденилированные продукты. Для выявления поли(А)⁺РНК мы использовали FISH с биотинилированным олигонуклеотидом (dT)₃₀ в качестве зонда. Как и ожидалось, зонд не гибридизовался с транскриптами, синтезирующимися на простых боковых петлях, однако, в особых петлях на ЛЩ курицы и на биваленте 3 шпорцевой лягушки наблюдалась интенсивная гибридизация.

Гибридизационный сигнал был чувствителен к обработке препаратов нуклеазой S7, но не к обработке РНКазой А, что характеризует последовательности-мишени как поли(А) «хвосты» гетерогенной ядерной РНК. Более того, мы подтвердили наличие поли(А)⁺ РНК в особых петлях с помощью обратной транскрипции *in situ*, используя олигонуклеотид (dT)₃₀ в качестве праймера. Таким образом, нами впервые показано, что особые петли амфибий и птиц представляют собой универсальные внутриядерные домены, аккумулирующие поли(А)⁺РНК.

Для того, чтобы определить, обогащены ли особые петли поли(А)⁺РНК по сравнению с окружающей нуклеоплазмой, мы адаптировали метод 3D-FISH к целым ооцитам домашней курицы и сизого голубя.

Анализ трехмерных изображений, полученных с помощью лазерной конфокальной сканирующей микроскопии, показал, что особые петли не обогащены, а обеднены поли(А)⁺РНК по сравнению с нуклеоплазмой ооцита. Сопоставление двумерных и трехмерных картин распределения поли(А)⁺РНК позволяет предполагать, что в особых петлях накапливаются специфические транскрипты, возможно, последовательностей, локализованных в районе формирования особых петель. Через накопление и удержание транскриптов этих последовательностей в ядре ооцита может регулироваться их функция в цитоплазме.

Работа выполнена с использованием экспериментальной базы ЦКП «ХРОМАС» при поддержке РФФИ (проект 08-04-01328) и Роснауки (контракт № 02.552.п.7044 от 19.06.2008 г.).

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ КЛЕТОК, НАХОДЯЩИХСЯ В СИНТЕТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ПРИ ГИПОТОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

© Курчашова С. Ю.¹, Куреев И.И.¹,
Поляков В. Ю.¹ и Гозак П.², ¹Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет.
²Институт Молекулярной Генетики Академии Наук Чешской Республики, Прага.
svetlanak@mail.genebee.msu.ru

Упорядоченное расположение интерфазных хромосом в ядре и координированное перемещение отдельных локусов хроматина в связи с событиями клеточного цикла определяется взаимодействием хроматина с ядерной оболочкой, в частности, с ядерной ламиной. В настоящее время показано, что гипотоническая обработка живых клеток с последующим возвратом в среду культивирования индуцирует образование в некоторых клетках (около 3%) выпячиваний ядерной оболочки — «ядерных почек». В экспериментах с импульсным мечением клеток бромдезоксисуридином было показано, что почки образуются в клетках, находящихся в синтетическом периоде клеточного цикла. В экспериментах с отложенной меткой наблюдалось накопление в ядерной оболочке меченого хроматина, что позволяет предположить направленную

миграцию в ядерную почку завершившего репликацию хроматина. 6-часовая инкубация клеток с афидиколином до гипотонического воздействия ингибировала накопление меченого хроматина в области почки.

Электронно-микроскопическое исследование зон контактов между хроматином и ядерной оболочкой выявило в почке наличие областей, в которых хроматин не был связан с ядерной оболочкой. Иммуноцитохимически, ламины В и нуклеопорины не выявлялись на периферии ядра в почке, а содержание ламина А в составе ядерной оболочки в почке было значительно снижено после возврата клеток в среду культивирования, а затем возрастало. В остальных областях ядра распределение указанных белков ядерной оболочки не отличалось от контрольных клеток. По-видимому, образование ядерных почек после гипотонического шока объясняется существованием локальных зон разборки ламины, связанных с пререпликативной реорганизацией взаимодействия хроматина с ядерной оболочкой. Последующее перераспределение реплицирующегося хроматина в ядерную почку свидетельствует в пользу его активного транспорта в эту зону.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 09-04-01352-а.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИЯ ХРОМОСОМ КАК ОСНОВА МНОГОМЕРНОГО КОДИРОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

© *Levites E.V.*, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, levites@bionet.nsc.ru

Полиморфизм и необычные соотношения фенотипических классов в агамоспермных потомствах сахарной свеклы, образовавшихся на основе генома одного родителя из клеток, не прошедших мейотических преобразований генома, позволили выдвинуть гипотезу о роли дифференциальной эндоредупликации хромосом в многомерном кодировании наследственной информации (Levites, 2005, 2007). Гипотеза заключается в следующем. В клетках тканей, окружающих зародышевый мешок, хромосомы эндоредуплицированы. Степень эндоредупликации разных участков в пределах одной хромосомы, а также гомологичных участков гомологичных хромосом может быть разной. В силу этого аллели гетерозиготных локусов могут быть

представлены в геноме разным числом копий. Вступающая в эмбриогенез путем агамоспермии клетка может содержать лишь по одной копии каждого аллеля, поэтому излишние копии аллелей из генома элиминируются. Элиминация избыточных копий участков хроматид идет в сочетании с комбинаторным процессом, который заключается в выборе случайной пары из множества имеющихся копий хроматид. Сохранение каждой отобранной пары копий участков хроматид в ряду последующих делений эмбриогенеза определяется тем, что эти две копии прикрепляются либо к ядерной мембране, либо к ядерному матриксу. Если, например, один из аллелей маркерного локуса эндоредуплицирован и представлен в геноме тремя копиями, а второй аллель — только одной (*FFFS*), то теоретическое соотношение агамоспермных потомков будет следующим: $1FF : 1FS$. Такие соотношения наблюдались в наших экспериментах.

Гипотеза опирается на следующие факты. Увеличение под влиянием колхицина доли агамоспермных потомств растений сахарной свеклы с дигенными и аномальными соотношениями фенотипических классов (Levites et al., 2000). Существование способных к агамоспермному размножению как диплоидных растений сахарной свеклы с высоким содержанием ДНК в клеточных ядрах (Maletskaya, Maletskaya, 1999), так и диплоидных растений *Allium tuberosum* с эндоредупликационным мейозом (Kojima, Nagato, 1992). Высокий уровень содержания ДНК в ядрах клеток тканей, окружающих зародышевый мешок, а также в клетках самого зародышевого мешка у большого числа видов растений (Ермаков и др., 1981; Морозова, 2002) и снижение этого уровня до 2С в ходе первых делений эмбриогенеза (Mericle, Mericle, 1970), показанные на фасоли различия в степени эндоредупликации аллельных участков хромосом (Cionini et al., 1982), прикрепление хромосом зукариот к ядерной мембране, впервые показанное А.Н. Мосоловым (1972).

Независимость эндоредупликации отдельных участков хромосом может иметь следующие проявления. Например, нами было обнаружено агамоспермное потомство сахарной свеклы, в котором наблюдалось полное единообразие по гетерозиготному спектру алкогольдегидрогеназы, контролируемой локусом *Adhi*, и наличие

двух фенотипических классов FF и FS по изоцитратдегидрогеназе, контролируемой локусом *Idh3* (Левитес и др., 1998). Наличие гетерозигот в таком потомстве указывало на гетерозиготность материнского растения по двум маркерным ферментным локусам, а единообразие по гетерозиготному фенотипу одного из ферментов подтверждает соматическое происхождение зародыша. Проведенный генетический анализ показал, что в таких потомствах растения, фенотипически сходные с гомозиготами, действительно являются гомозиготами (Levites, 2002; Levites, Kirikovich, 2003). Мономорфизм по гетерозиготному спектру АДН1 и диморфизм по IDH3 в рассматриваемом потомстве можно объяснить следующим образом. У исходного материнского растения аллели локуса *Adh1* не были эндоредуплицированы, а у локуса *Idh3* был эндоредуплицирован аллель *Idh3-F*. Характер полиморфизма и принадлежность локусов *Adh1* и *Idh3* одной хромосоме (17% перекреста) указывают на то, что сцепленные локусы эндоредуплицируются независимо, и процессы элиминации избыточных копий их аллелей у них происходят независимо. Независимость фенотипов по этим ферментам, а следовательно независимость эндоредупликации и элиминации (диминуции) избыточных копий аллелей подтверждалась и в других экспериментах (Levites, 2005). Влияние степени эндоредупликации на характер расщепления в потомствах растений позволяет рассматривать эндоредупликацию как один из способов кодирования наследственной информации во втором измерении, а зависимость степени эндоредупликации от внешних факторов (колхицин, питание) позволяют рассматривать ее как способ записи информации о приобретенных признаках.

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ БЕЛКОВ СИНАПТОНЕМНОГО КОМПЛЕКСА И ВЫЯВЛЕНИЕ ОСЕЙ МЕЙОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ У РЖИ

© Ловцюс А.В.^{1,2}, Филлипс Д.³,
Михайлова Е.И.^{1,2}, Соснихина С.П.²,
Дженкинс Г.³, Джонс Р.Н.³, ¹Санкт-
Петербургский филиал Института общей
генетики им Н.И. Вавилова РАН, ²Кафедра
генетики Санкт-Петербургского
государственного университета, Санкт-

Петербург, alexandra1982@mail.ru,
³Абериствский Университет, Уэльс,
Великобритания

Использование антител, выработанных на мейотические белки *Arabidopsis thaliana*, флуоресцентной и конфокальной микроскопии позволило обнаружить ортологичные белки в микроспорах ржи дикого типа, у двух асинаптических мутантов (*su1* и *su9*), а также у десинаптического мутанта *su10*, свойством которого является индискриминантный синапсис или переклочения синапсиса с гомологичных партнеров на негомологичные. Иммуноцитохимические эксперименты были направлены на выяснение характера взаимодействия белков-ортологов в процессе сборки синаптонемного комплекса (СК). Белок *Asu1p*, ассоциированный с СК у арабидопсиса (Armstrong et al. 2002), появляется в ядрах микроспорозитов на стадии ранней лептотены и исчезает в диакинезе у ржи дикого типа, а также у мутантов *su1* и *su10*. Антитела к белку *Asu1p* позволили проследить за образованием и деградацией осей мейотических хромосом у мутантов *su1* и *su10*, а также выявить фрагменты осей у мутанта *su9*. Ассоциированность данного белка с СК подтверждена в результате колокализации его с белком *Zur1* (Higgins et al. 2005) на осях хромосом ржи дикого типа. Одновременное инкубирование с антителами, выработанными на оба белка, позволило выявить разобщенные линейные структуры, образованные *Asu1p* и *Zur1p*, как в лептотене, так и на стадиях раннего синапсиса, независимо от того, какое антитело к *Zur1p* было использовано, выработанное на N- или C- концевой полипептид. В поздней зиготене линейные тракты двух белков оказываются в большой степени ковыровнены. В пахитене у растений дикого типа сигнал преобразуется в трехслойную ленту, в которой белок *Asu1* образует две полосы, выровненные друг относительно друг друга на расстоянии, сравнимом с шириной СК. Разделяющее их неизменное по ширине пространство оказывается заполненным линейной, непрерывной структурой, образованной белком *Zur1*, что хорошо согласуется с данными, полученными на арабидопсисе. Структуры, образованные как белком *Asu1*, так и *Zur1*, в диплотене приобретают спиральную конформацию по мере

разрушения СК, что было продемонстрировано и на ультраструктурном уровне (Fedotova et al. 1989).

Иммуноцитохимическая локализация двух белков позволила обнаружить у мутанта *su10* непрерывные осевые элементы. На стадии пахитены линейные сигналы *Asu1* и *Zur1* в избытке присутствовали в ядрах, но, в отличие от дикого типа, были ковырнены в двухполосые ленты. Другой особенностью мутанта *su10*, по сравнению с растениями дикого типа, было не спиральное закручивание линейных структур, образованных обоими белками, а их фрагментация. Таким образом, нарушения синапсиса у мутанта *su10*, скорее всего, не связаны со сборкой и взаимодействием только белков *Asu1* и *Zur1*, равно как не обусловлены их дефектностью. Полученные результаты позволяют заключить, что СК ржи образуется и разбирается не просто путем укладки и удаления белка *Zur1* между синаптированными гомологичными хромосомами. Скорее всего, линейные оси *Zur1* формируются у ржи до синапсиса и участвуют в образовании центрального элемента уже находясь в комплексе с белками осевых элементов. Белок *Zur1* ржи несомненно может быть охарактеризован не только как белок центрального пространства, но и как белок осевых/латеральных элементов.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОРИЕНТАЦИИ И СЕГРЕГАЦИИ ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ РЖАНО-ТРИТИКАЛЬНЫХ ГИБРИДОВ F_1 (RRABR, $5X=35$)

© Люсиков О.М., Гордей И.А., ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: O.Lyusikov@igc.bas-net.by

Механизмы клеточного деления на хромосомном уровне организации генетического материала обеспечивают регулярное протекание двух основных взаимосвязанных процессов: деления и сегрегации (распределения) хромосом. В настоящее время получены обширные данные о молекулярно-биохимической структуре и функциях специализированных молекул (регуляторные белки, ферменты, нуклеопротеины и др.) и клеточных образований (центросомы, центромеры, кинетохор, веретено, СК и др.) на отдельных

этапах митоза и мейоза [Sybenga, 1999; Tanaka, 2008]. Однако целостная цитогенетическая картина деления, отражающая хронологическую взаимообусловленность и связь ключевых этапов (механизмы check-point и т.п. [O'Connell et al., 2008]), еще не создана. Практически неизученными остаются механизмы упорядоченной сегрегации продуктов деления. По нашему мнению, существующие гипотезы биполярной ориентации хромосом (геометрическая, тензионная, регуляции-реориентации и др. [Azimzadeh and Bornens, 2007; Tanaka, 2008; Tanaka and Desai, 2008; Jelluma et al., 2008]) не обеспечивают известный для митоза и мейоза низкий уровень аномалий. Вероятно, стабильно однотипные результаты сегрегации (регулярное биполярное распределение продуктов деления) скрывают особенности составляющих ее этапов. По-видимому, информативны исследования на объектах с генетически обусловленным неслучайным характером распределения хромом в мейозе [Lukaszewski et al, 1981; Люсиков и др., 2005].

Цитогенетический анализ формирования гамет различного хромосомного состава у ржано-тритикальных гибридов F_1 ($R^S R^S A^{Tr} B^{Tr} R^{Tr}$, $5x=35$), полученных от скрещивания тетраплоидной ржи (RRRR, $2n=4x=28$) с гексаплоидными тритикале (AABBRR, $2n=6x=42$) в процессе создания секалотритикум (RRAABB, $2n=6x=42$) [Гордей и др., 1996] и анализ хромосомного состава гибридов $F_1 BC_1$, показали:

- высокий уровень гомо- и гомеологичного спаривания ($10,6I + 6,6IIз + 4,5IIо + 0,7III$);
- би-тривалентный синапсис гомологов ржи;
- 4 типа ориентации центромер: монополярные (монотелик и синтелик) и биполярные (амфителик и меротелик) [по Hauf and Watanabe, 2004];
- эквационное, редуционное и смешанное деление хромосом (гомо- и гомеологичных бивалентов, асинаптических унивалентных и десинаптических псевдоунивалентных);
- равномерное и неравномерное (частичная мейотическая нередукция) распределение и

Вне программы

- элиминацию хромосом (1 или 2 на клетку в среднем)
- с варьированием по комбинациям скрещиваний.

Полиплоидное (триплоидное) состояние R-генома является фактором нормализации мейоза и формирования функциональных (жизнеспособных и фертильных) гамет R{RAB} с различным составом хромосом у пентаплоидов F₁. Вероятно, различия в сегрегации и элиминации хромосом обуславливались не только структурой (степенью гомологии), но и особенностями спаривания, синапсиса и полярной ориентации центромер в зависимости от генотипической специфичности конкурентного взаимодействия систем контроля мейоза пшеницы (Ph-гены, I/Edu и др.) и ржи (Sy, P/Edu и др.) [Mikhailova et al., 1998; Vega and Feldman, 1998; Соснихина и др., 2001; Щапова и др., 1998].

Полученные нами результаты свидетельствуют, что полярная ориентация центромер хромосом в мейозе связана с особенностями их конъюгации (спаривания и синапсиса) в профазе, и гипотетически могут объясняться следующим образом:

- один первичный клеточный центр (КЦ) в начале мейоза [Kitamura et al., 2007]; центромеры неразделены, имеют один кинетохор, их изначальная ориентация — монополярная;
- спаривание хромосом — ослабление (дестабилизация) полярных связей кинетохор-КЦ;
- все хромосомы и хромосомные ассоциации монополярно связаны с первичным КЦ;
- отсутствие свободных кинетохоров — check point I [Vorozhko, 2007]: старт репликации центромер и сборки на них новых кинетохоров, образование вторичного КЦ;
- биполярная ориентация унивалентных хромосом;
- в бивалентах 2 сблизившихся кинетохора скрыты; синапсис (формирование СК?) — разрушает полярные связи одной из хромосом в биваленте, а осцилляция (ослабленный синапсис гомеологов (без СК?) под контролем Ph⁺-системы пшеницы) — не разрушает, чем препятствует возникновению биполярной ориентации бивалентов гомеологов;

- отсутствие свободных кинетохоров (метафаза I)- check point II: старт деления (анафаза I); преждевременный десинапсис ассоциаций гомеологов.

Отличительные особенности предлагаемой модели: 2 точки «check point» и сохранение гомополярной ориентации гомеологов. Она полностью объясняет наблюдаемые эквационное деление асинаптических унивалентов и редукционное — бивалентов и десинаптических псевдоунивалентов, а также — явление частичной мейотической нередуции гамет у ржано-тритикальных гибридов F₁ (RAB, 3x=21 + RR, 2x=14) в комбинациях скрещиваний с преобладанием генетического контроля систем пшеницы (Ph-гены, I/Edu и др.). В гибридных генотипах ржано-тритикальных пентаплоидов F₁ с преобладанием экспрессии ржаных генетических систем контроля мейоза (Sy, P/Edu и др.) наблюдали равномерное распределение хромосом различного происхождения (R{RAB}, преимущественно 16-17-хромосом).

ЭКСПРЕССИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РАЙОНА ЦЕНТРА ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ ПОЛЕВОК РОДА MICROTUS

© Малахова А.А., Шевченко А.И., Елисафенко Е.А., Закиян С.М., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, antares@bionet.nsc.ru

В центре инактивации X-хромосомы мыши сосредоточено большое количество белок-некодирующих генов (*Xist*, *Tsix*, *Enox*, *Ftx*), а также обнаружена межгенная транскрипция (*Xite*, *antiEnox*). Последние результаты, полученные на мыши, показывают, что важную роль в инициации инактивации X-хромосомы у самок млекопитающих играет общий баланс смысловой и антисмысловой транскрипции, который определяется экспрессией генов *Xist* и *Tsix* и последовательностей, их окружающих. У полевок проведен поиск последовательностей, способных транскрибироваться в окружении генов *Xist* и *Tsix*, и исследована поло-, цепь- и хромосомоспецифичность экспрессии на всем протяжении локуса от гена *Slc7a3* до гена *Enox*.

Ген *Slc7a3* экспрессируется в направлении, противоположном гену *Xist*. Результаты экспериментов RACE показали, что этот ген имеет 13 экзонов. Это позволяет заключить,

что *Slc7a3*, привнесенный в центр инактивации у полевок в результате хромосомной перестройки, представляет собой функциональный ген. У самок в плацентах и эмбрионах 12,5 дней и у взрослых особей ген подвергается инактивации на неактивной X-хромосоме и экспрессируется с активной X-хромосомы.

В промежутке между 3'-областью гена *Slc7a3* и точкой старта транскрипции гена *Tsix*, установленной на основании RACE экспериментов, экспрессии не выявлено, причем экспрессия отсутствует даже у эмбрионов на стадии 3,5 дней. У мыши в данной области до инактивации X-хромосомы наблюдается транскрипция регуляторного элемента *Xite*. Таким образом, у полевки отсутствуют как последовательности данного элемента, так и транскрипция в данном районе, которая у мышей играет роль в регуляции экспрессии *Tsix*.

Экспрессия гена *Tsix* выявлена на всех стадиях развития, в том числе у взрослых особей, как у самок, так и у самцов. На всех стадиях выявляются как несплайсированные, так и сплайсированные транскрипты. После инактивации у самок ген экспрессируется с активной X-хромосомы. Для плацент самок характерна импринтированная инактивация гена *Tsix* на X-хромосоме, унаследованной от отца. Непосредственно за самой дальней точкой терминации гена *Tsix*, установленной методом RACE, транскрипции не наблюдается. *Tsix* сохраняется активным на активной X-хромосоме.

Следующая транскрипционно активная область расположена между генами *Enox* и *Xist* в районе CpG островка, свободного от мобильных элементов. Экспрессия в данном районе обнаруживается как в направлении, совпадающем с *Xist*, так и в противоположном. Экспрессия наблюдается у особей обоего пола на всех стадиях развития. У мыши в данной области наблюдается только экспрессия в направлении гена *Xist*.

В районе первого экзона гена *Enox* обнаруживается транскрипция, которая имеет направление, противоположное экспрессии гена *Xist*. После инактивации у самок ген *Enox* экспрессируется с активной X-хромосомы. Промотор гена *Enox*, вероятно, может служить также точкой старта для транскрипции в противоположной ориентации по другой цепи.

Эти результаты позволяют предположить, что баланс смысловой и антисмысловой транскрипции в окружении гена *Xist* у разных видов (даже в пределах сем. Rodentia) может обеспечиваться неодинаково, за счет экспрессии разных последовательностей. В результате этого определяющая роль в выборе X-хромосомы для инактивации может переходить от одной последовательности к другой, транскрипция которой вносит больший вклад в установление баланса.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КОГЕЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА ПО ПОЛИТЕННЫМ И МЕЙОТИЧЕСКИМ ХРОМОСОМАМ ДРОЗОФИЛЫ

© Марков А.В., Родионова Н.С., Смирнов А.Ф., Санкт-Петербургский государственный университет

Когезин белковый комплекс, контролирующий сегрегацию хромосом в митозе и мейозе, влияющий на генетическую активность и репарацию. Появились данные о связи когезина у млекопитающих с локализацией в геноме транскрипционного фактора CTCF (CCCTC связывающий фактор) в районе инсуляторных последовательностей (Wendt K.S., Peters J.M. Chrom. Res. 17, 201-214, 2009) у дрозофилы, у которой CTCF также функционируют как инсуляторы такой зависимости не найдено. У этого вида когезин и Nipped B связываются преимущественно с активными генами, но не всеми активными генами. (Dorsett D. Chrom. Res.17, 185-200, 2009).

Политенные хромосомы — интерфазные хромосомы с четко визуализируемой когезией особенно удобные для исследования распределения когезина по хромосомам. Первоначально нами было продемонстрировано иммунохимически, что белок DRad21 связан преимущественно с междисками. Далее проведена колокализация распределения двух регуляторных субъединиц комплекса когезии в политенных хромосомах *Dr. melanogaster*: DSA1 и DRAD21. Подтверждено местоположение этого белкового комплекса в междисках политенных хромосом.

Продемонстрировано перераспределение когезиновых комплексов после формирования пухов теплового шока

Проведен анализ локализации гистонов H3, метилированных по лизинам в 9, 36 и 79 положениях, гиперацетилированного гистона H4 и субъединицы когезинового комплекса

DRAD₂₁ относительно компактизации хроматина политенных хромосом *Drosophila melanogaster*. Предложена гипотеза каскадной регуляции транскрипционной активности, определяемой модификациями гистонов и адаптивной роли когезии сестринских хроматид в транскрипции высокоактивных и протяженных генов.

Проводилась также окраска яичника и овариол, из которых он состоит, антителами к белку DSA. Оказалось, что окрашивается только одна клетка на овариолу и эта клетка, согласно структуре и локализации, очевидно, ооцит.

3D-АНАЛИЗ АРХИТЕКТУРЫ КАРИОТИПА В ЯДРАХ ООЦИТОВ ПТИЦ

© Маслова А.В., Красикова А.В., Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия) e-mail: spbchromas@gmail.com

Положение хромосом в пространстве ядра, которое все чаще применяется для описания крупномасштабной архитектуры генома, отражает эволюционно-консервативное распределение обедненного и обогащенного кодирующими последовательностями хроматина. Согласно установленной закономерности, наиболее богатые генами хромосомные территории интерфазных ядер располагаются в центральной области ядра, а обедненные генами — на его периферии. Значение и механизм возникновения подобного радиального распределения хромосом остается до конца невыясненным. В соответствии с последними данными, радиальное положение хромосом может изменяться в процессе терминальной дифференцировки клеток, что имеет функциональное значение. В настоящей работе было исследовано пространственное распределение хромосом-ламповых щеток из зародышевых пузырьков (ядер) ооцитов птиц, находящихся в фазе первого деления мейоза. На этом этапе транскрипционно-активные ядра, содержащие в 30 раз более деконденсированные по сравнению с митотическими хромосомы, представляют собой наиболее удобную систему для изучения трехмерной организации кариотипа дифференцирующихся половых клеток.

Зародышевые пузырьки созревающих ооцитов птиц отряда Galliformes (домашней курицы *Gallus gallus domesticus* и японского перепела *Coturnix coturnix japonica*) имеют

кариотип ($2n=78$), представленный тремя группами хромосом, отличающихся плотностью генов и размером: макрохромосомами (обедненные генами), мидихромосомами и микрохромосомами (богатые генами, в 2-3 раза более геноплотные, чем макрохромосомы). Пространственную архитектуру генома растущих мейоцитов изучали при помощи методов лазерной сканирующей конфокальной микроскопии целых ядер, окрашенных флуоресцентным красителем Sytox Green и компьютерного анализа полученных изображений. Оценку положения хромосом (бивалентов) проводили двумя взаимодополняющими методами: измерением расстояния от центра ядра до теломерных районов каждого бивалента и вычислением расстояния от центра ядра до центра массы объема, ограничивающего одинаковый по интенсивности флуоресцентный сигнал от каждой хромосомы (изоповерхность).

Терминальные районы хромосом-ламповых щеток в профазе I мейоза не имеют связи с ядерной оболочкой, поэтому свободнолежащие хромосомы занимают сферическую область ядра, отделенную от ядерной мембраны 10-15 мкм свободной нуклеоплазмы. С целью нормирования условий измерений для ядер разного диаметра, вычисляли расстояние от центра ядра до каждого теломера (или центра массы изоповерхности) бивалента относительно радиуса области нуклеоплазмы, занимаемой хромосомами-ламповыми щетками (R) и подсчитывали среднее количество теломеров (центров масс) хромосом разных групп в трех зонах ядра, составляющих 0,1R-0,4R (1), 0,4R-0,8R (2), 0,8R-1R (3). В результате количественного анализа было установлено, что относительная «концентрация» терминальных районов хромосом наиболее высока в объеме от 1R до 0,8R, где и составляет 56,5%-72,7% для теломеров макробивалентов, 78,0%-82,6% для микробивалентов и 78,9%-85% для мидибивалентов. Для уточнения положения бивалентов относительно центра ядра с учетом распределения флуоресцентного сигнала от всей хромосомы был проведен анализ распределения центров масс изоповерхностей хромосом, вычисленных и построенных компьютерными методами. Анализ локализации хромосом с помощью данного метода показал, что большинство

макрохромосом обнаруживается в области ядра от 0,4R до 1R и составляет в среднем $5,5 \pm 0,55$ из 6 бивалентов, включая половой бивалент ZW. Аналогичным характером распределения обладают мидихромосомы, занимающие промежуточное положение между макро- и микрохромосомами как по содержанию кодирующих последовательностей, так и по размеру: в объеме зоны от 0,4R до 1R расположено $4,5 \pm 0,55$ мидибивалентов. Микрохромосомы, составляющие 72% кариотипа и содержащие 50% генов также обнаруживаются, главным образом, на периферии ядра, в пределах зоны 3, на которую приходится, в среднем, $24,7 \pm 2,16$ микробивалента. В промежуточной 2-й зоне микробиваленты встречаются реже ($4,2 \pm 1,60$). В центральной области ядра, ограниченной 0,1R-0,4R, распределено наименьшее количество макро-, миди- и микрохромосом, их содержание варьирует от 0 до 2.

Проведенный впервые 3D-анализ архитектуры кариотипа ядер из растущих ооцитов птиц, с применением разных методов оценки положения хромосом относительно центра ядра, позволяет заключить, что распределение хромосом в зародышевых пузырьках не соответствует радиальному принципу организации хромосомных территорий в ядрах соматических клеток. В частности, большинство терминальных районов и центров масс изоповерхностей макро- и микробивалентов локализовалось на периферии ядра, имея сходный характер распределения, без предпочтительного расположения микрохромосом в центре ядра, а макрохромосом на периферии. Наоборот, в центральной области ядра располагалось наименьшее количество хромосом всех трех морфологических групп. Возможно, установленный характер пространственной организации транскрипционно-активных бивалентов имеет функциональное значение для последующих событий оо- и эмбриогенеза. Работа выполнена при поддержке РФФИ (№08-04-01328-а и №08-04-90821-моб_ст) с использованием приборной базы ЦКП «ХРОМАС».

АУТОЛОГИЧНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ УСКОРЯЮТ ЗАЖИВЛЕНИЕ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ

© Мороз Б.Б., Онищенко Н.А., Лебедев В.Г., Дешевой Ю.Б., Еремин И.И., Расулов М.Ф., Сидорович Г.И. ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, НИИ Трансплантологии и Искусственных Органов МЗ РФ cd105@mail.ru

Впервые было исследовано влияние мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК), выделенных из аллогенного костного мозга на течение местных лучевых поражений у крыс после локального облучения источником бета-излучения $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ в дозе 140 Гр.

Установлено, что трансплантация ММСК, иммобилизованных на биодеградируемых мембранах, проведенная на 21-е сутки после облучения (в период сформировавшейся лучевой язвы) в условиях хирургического иссечения язв, приводила к уменьшению площади лучевых поражений по сравнению с контрольной группой животных. Введение ММСК на 8-е сутки после облучения (в период проявления влажного дерматита) подкожно вокруг очага поражения достоверно уменьшало тяжесть поражения и ускоряло заживление лучевых язв.

В настоящее время отрабатываются оптимальные условия применения ММСК при тяжелых местных лучевых поражениях, способы и сроки трансплантации в зависимости от степени тяжести и динамики патологического процесса. Полученные в данном исследовании результаты, дают основания полагать, что использование аутологичных ММСК, выделенных из костного мозга, может быть эффективной альтернативой хирургическому лечению радиационных ожогов в клинике.

ВЛИЯНИЕ ПЛОИДНОСТИ ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ СЛИЯНИЕМ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ И ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК, НА ОРГАНИЗАЦИЮ ИХ ЯДРА И ЦИТОПЛАЗМЫ

© Морозова К.Н., Короткевич Е.Ю., Круглова А.А., Матвеева Н.М., Киселева Е.В., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, morozko@bionet.nsc.ru

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) широко используются в настоящее время в различных лабораториях благодаря их плюрипотентному статусу и способности

Вне программы

дифференцироваться в различные типы клеток. Возможности использования ЭСК охватывают такие ключевые области, как клеточная терапия и трансплантация, что делает актуальным исследование их структурной реорганизации. В процессе дифференцировки ЭСК теряют свой плюрипотентный статус. Показано также, что дифференцированные соматические клетки могут быть репрограммированы и индуцированы к плюрипотентному эмбриональному состоянию. Механизм, вовлеченный в процесс репрограммирования клеток, до сих пор остается неизвестным. Для изучения этого процесса используются различные подходы, в частности, молекулярный и цитологический анализ гибридных клеток, полученных слиянием ЭСК с соматическими клетками. При образовании гибридных клеток происходит объединение ядерных геномов, а также цитоплазматических органелл различного происхождения.

Целью данной работы являлся сравнительное исследование структурной организации гибридных клеток, полученных в результате слияния, и анализ возможных изменений их ядерных компонентов и цитоплазматических органелл вследствие репрограммирования. В работе изучались стабильные клеточные гибриды, полученные слиянием эмбриональных стволовых клеток мыши с дифференцированными соматическими клетками (ди- или тетраплоидными эмбриональными фибробластами мыши; гибриды 1-го и 2-го типа, соответственно). С использованием просвечивающей электронной микроскопии и морфометрического анализа изучались особенности структурной организации двух типов гибридных клеток, и проводилось сравнение их морфологии с родительскими клетками. Установлено, что гибридные клетки существенно отличаются от родительских по таким параметрам, как ядерно-цитоплазматические соотношения, форма клеток, размер ядра, плотность органелл в цитоплазме. Были также зарегистрированы изменения морфологии цитоплазматических органелл и ядерной оболочки.

У гибридов обоих типов наряду со специфическими чертами родительских клеток появляются новые общие для обоих гибридов признаки. Электронно-микроскопический анализ показал, что

гибридные клетки резко отличаются друг от друга по морфологии. Гибриды 1-го типа схожи с ЭСК, а гибриды 2-го типа ближе к фибробластам по многим клеточным параметрам. Полученные данные согласуются с результатами цитогенетических и молекулярно-биологических исследований и предоставляют новую информацию об ультраструктурных проявлениях репрограммирования клеток. Предполагается, что выявленные различия в структурной организации анализируемых гибридных клеток обусловлены их плоидностью.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и МКБ.

БЕЛКИ ЯДЕРНОГО МАТРИКСА, ТРАНСПОРТИРУЕМЫЕ ХРОСОСОМАМИ В МИТОЗЕ

© Мурашева М.И., Ченцов Ю.С.,

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, marinak-m@mail.ru

Ядерный белковый матрикс — гетерогенный компонент, который выявляется после экстракции из ядра ДНК, РНК и гистонов (Chaly et al., 1984; McKeon et al., 1984; Dundr et al., 1997; Vega-Salas, Salas, 1996; Ченцов и др., 1999; Косых, Ченцов, 2002). В структурном отношении он представлен внутриядерной белковой сетью, остаточными ядрышками и ламиной, и играет большое значение в пространственной организации синтеза ДНК и РНК в интерфазном ядре (Berezney et. al., 1995). Известно, что некоторые белки, входящие в состав ядра в течение интерфазы, после диссоциации ядра и ядрышка в профазе мигрируют и обнаруживаются в составе периферического хромосомного материала (ПХМ) (Van Hooser, et al., 2005). ПХМ представляет собой поверхностный слой на митотических хромосомах клеток животных и растений. Он не содержит ДНК и состоит из белков и РНК ядрышек, а также белков матрикса интерфазного ядра, за исключением ламинов (Hernandez-Verdun et. al., 1994; Gautier et. al., 1994; Ченцов, 2000; Van Hooser, et al., 2005). В настоящее время у многих ядрышковых белков, входящих в состав ПХМ, описаны функции, в то время как неядрышковых белков выявлено значительно меньше, и у большей их части функции остаются невыясненными (Hernandes-Verdun, Gautier,

Вне программы

1994; Ченцов и др., 1999; Ченцов и др. 1999; Косых, Ченцов, 2002; Van Hooser, et al., 2005). Вместе с тем, неизученной остается также природа и химизм связи белковых компонентов с хромосомой.

В нашей работе методом иммуноблоттинга показано, что в сыворотке М68, полученной из крови больных аутоиммунными заболеваниями, обнаружены антитела к белку с мол. массой 50 кДа, а в аутоиммунной сыворотке К43 — антитела к полипептиду с мол. массой 38 кДа.

Для выявления ядерного белкового матрикса клетки обрабатывали 2М NaCl, ДНКазой I и РНКазой А. После этого антитела к белку с мол. массой 38 кДа окрашивали только периферию ядрышек интерфазных клеток, а антитела к белку с мол. массой 50 кДа окрашивали не только периферию ядрышек, но и все ядро. Это говорит о том, что из всех компонентов ядерного матрикса (ламина, внутренняя белковая сеть, остаточное ядрышко) белок с мол. массой 38 кДа входит в состав остаточных ядрышек, а полипептид с мол. массой 50 кДа не только входит в состав остаточных ядрышек, но и участвует в образовании ядерной белковой сети.

В необработанных клетках во время митоза белок с мол. массой 50 кДа выявляется на периферии хромосом в виде чехла или муфты, а белок с мол. массой 38 кДа располагается на митотических хромосомах в виде отдельных фрагментов и гранул вокруг них. В условиях искусственной деконденсации хромосом антитела к обоим белкам окрашивают интерфазные ядра диффузно, а в митотических клетках локализуются на поверхности набухших хромосом. Белок с мол. массой 50 кДа сохраняет прочную связь с хромосомами как в норме и при гипотонической деконденсации, так и при последующей реконденсации в изотонической среде. В то же время белок с мол. массой 38 кДа при реконденсации частично теряет связь с хромосомой, образуя по периферии групп хромосом чехол или муфту и одновременно появляется в виде гранул в цитоплазме.

Из представленных данных можно сделать вывод, что белки ядерного матрикса переносятся в митозе периферическим хромосомным материалом и могут иметь различную устойчивость связи с периферией хромосом, также как и основные белки ядрышка, такие как фибрилларин, В-23

(Мухарьямова и др., 1998; Косых, Ченцов, 2002), нуклеолин (Utama et al. 2002).

3D-РЕКОНСТРУКЦИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПОЛОЖЕНИЯ ХРОМОСОМЫ 2 В ТРОФОЦИТАХ ЯИЧНИКОВ DROSOPHILA MELANOGASTER (ЛИНИЯ OTU¹¹)

© Немирович-Данченко Н.М., Артемов Г.Н., Ананьина Т.В., Стегний В.Н., НИИ биологии и биофизики ТГУ, Томск, center_cu@res.tsu.ru

В современной клеточной биологии давно признана важность исследования пространственной организации ядра. Интересным представляется вопрос о связи расположения хромосом в ядре с функциональным состоянием клетки, а также о взаимной ориентации хромосом разных клеток одного органа, ткани.

Объектом данного исследования являются трофоциты яичников *Drosophila melanogaster* (линия otu¹¹), в которых развиваются политенные хромосомы с четкой дисковой исчерченностью. Методом микродиссекции и полимеразной цепной реакции были получены ДНК-библиотеки правого и левого плеч хромосомы 2. Путем проведения полимеразной цепной реакции с добавлением меченых нуклеотидов (TAMRA для правого и Флуоресцеин для левого плеча) из библиотек были получены два ДНК-зонда, которые затем использовались при проведении 3D-флуоресцентной *in situ* гибридизации (3D FISH) на яичниках мух. Исследовалась ориентация плеч хромосомы 2 в трофоцитах отдельных фолликулов. Для анализа расположения плеч в пространстве ядра был использован метод реконструкции оптических срезов.

Установили, что взаимное расположение плеч хромосомы 2 варьирует в пределах фолликула: плечи могут располагаться параллельно или под углом друг к другу. Соединение плеч в прицентромерном районе наблюдается не во всех ядрах, что можно объяснить разной степенью компактизации прицентромерного гетерохроматина. Поскольку при проведении 3D FISH фолликул и ядра трофоцитов не деформировались, можно предположить, что вариации в пространственном положении плеч хромосомы 2 обусловлены различным функциональным состоянием трофоцитов в пределах одного фолликула.

Исследование проводилось при поддержке гранта РФФИ № 07-04-01484,

проектов ФЦП № 02.740.11.0278,
Рособразования № 2.1.1/774.

**ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ ПЕРЕМЕЩЕНИЕ
МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРИЧИНОЙ
ГИБРИДНОГО ДИСТЕНЕЗА У
DROSOPHILA MELANOGASTER?**

© Перепелкина М.П., Захаренко Л.П.,
Институт цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирск, zakharlp@bionet.nsc.ru

ГД — явление, обнаруженное у *Drosophila melanogaster* в середине прошлого века при скрещивании особей из географически и/или генетически удаленных популяций. ГД проявляется лишь в одном из направлений скрещивания в виде различных генетических нарушений, прежде всего в стерильности гибридных самок. Считается, что ГД вызван активным перемещением некоторых МГЭ, таких как транспозоны *P* (P-M ГД), *hobo* (H-E ГД) и ретротранспозон *I* (I-R ГД), несмотря на ряд исключений, не вписывающихся в это представление, и сомнений о существовании H-E системы ГД (Bazin and Higuët, 1996).

Мы исследовали активность перемещения *P*- и *hobo*-элементов у *Drosophila melanogaster*, при дисгенном и недисгенном скрещиваниях особей из маркерных для P-M (Canton S и Harwich-white) и H-E (Canton S и 23,5 MRF) ГД линий. Несмотря на высокий уровень стерильности самок (98%) при P-M дисгенном скрещивании, мы не обнаружили повышенной частоты перемещения *P*-элемента на политенных хромосомах слюнных желез личинок согласно FISH-анализу. Полиморфизм по распределению *P*-элементов у гибридных самок как в дисгенном так и в недисгенном направлении скрещиваний не отличался друг от друга и от полиморфизма родителей, то есть “горячих точек” новых внедрений мобильных элементов при дисгенном скрещивании, когда большая часть гибридных самок стерильна, мы не обнаружили. Сходный результат был получен для H-E системы ГД.

По нашему мнению значимость мобильных элементов как возможная причина гибридного дистенеза преувеличена. Кажется сомнительным, что перемещение транспозабельных элементов (TE) даже со скоростью 10^{-2} в произвольные сайты генома, содержащем не более 100 копий каждого конкретного TE у дрозофилы, при каждом новом скрещивании маркерных линий будет вызывать одни и те же фенотипические проявления.

Дополнительным аргументом в пользу предположения, что не TE — ключевой фактор ГД, служит тот факт, что мутации по генам, ответственным за формирование малых РНК, обеспечивающих сайленсинг TE, не приводят к появлению дисгенных событий.

Более вероятной возможной причиной ГД на наш взгляд может являться асинхронность родительских геномов по времени функционирования генов, ответственных за формирование гонад при P-M ГД или появление яиц, неспособных к развитию, как в случае I-R ГД. Эта версия требует анализа паттерна экспрессии генов на стадиях развития, критических для проявления ГД.

Благодарности: работа поддержана грантами РФФИ № 09-04-00213а и программой РАН «Биологическое разнообразие» № 23.29 и № 23.30

**ВОВЛЕЧЕННОСТЬ ФАКТОРОВ
ТРАНСКРИПЦИИ PPAR, LXR, PXR, CAR В
РАЗВИТИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО
СИНДРОМА У КРЫС С
НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНДУЦИРОВАННОЙ
СТРЕССОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ
ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (НИСАГ)**

© Пивоварова Е.Н.¹, Перепечеева М.Л.³,
Душкин М.И.², Маркель А.Л.¹, ¹Институт
цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,
pivelena@bionet.nsc.ru; ²Институт терапии СО
РАМН, Новосибирск; ³Институт
молекулярной биологии и биофизики СО
РАМН.

Известно, что метаболический синдром (МС), характеризующийся гипертензией, дислипидемией, толерантностью к глюкозе и ожирением приводит к серьезным заболеваниям сердечно-сосудистой системы, занимающим первое место по смертности в развитых странах мира. Молекулярные механизмы позволяющие понять причину комплексных нарушений, наблюдающихся при МС остаются практически неизученными. Было показано, что в регуляции экспрессии генов, вовлеченных в липидный и углеводный обмен, принимают участие белки — транскрипционные факторы, относящиеся к суперсемейству ядерных рецепторов: рецепторы, активирующие пролиферацию пероксисом (PPAR) (Michalik et al., 2006; Lefebvre et al., 2006), X рецепторы печени (LXR) (Herzog et al., 2007), прегнановые X рецепторы (PXR),

Вне программы

конститутивные андростановые рецепторы (CAR) (Moreau et al., 2008).

Данная работа была выполнена на 4-5 – месячных самцах крыс гипертензивной линии НИСАГ и контрольной нормотензивной линии WAG. Было проведено сравнительное исследование липидного спектра, измерены уровень глюкозы в крови, масса тела животных. Методом ретардации была оценена функциональная активность транскрипционных факторов PPAR, LXR, PXR, CAR в печени.

Было показано, что для крыс линии НИСАГ по сравнению с контрольной линией WAG характерно повышенное содержание триглицеридов, повышенное содержание холестерина (ХС) липопротеинов очень низкой плотности и низкой плотности, сниженное содержание ХС липопротеинов высокой плотности, пониженный уровень аполипопротеина А-I и повышенный уровень аполипопротеина В-100. Средняя масса тела крыс линии НИСАГ превышала аналогичный показатель крыс линии WAG, содержание глюкозы в крови также превышало содержание глюкозы у крыс линии WAG. Таким образом, у крыс НИСАГ гипертензия сопровождается дислипидемией, повышенным содержанием глюкозы в крови и повышенной массой тела, что демонстрирует весь симптомокомплекс, характерный для МС (NCEP-ATP III, 2001). Основным органом, контролирующим энергетический гомеостаз организма, является печень. В данной работе была оценена функциональная активность PPAR, LXR, PXR, CAR в печени по их способности связываться с олигонуклеотидами, имитирующими сайты связывания в регуляторных участках генов-мишеней. Было показано что, ДНК-связывающая активность PPAR, LXR, PXR и CAR повышена в экстрактах ядер печени крыс линии НИСАГ по сравнению с линией WAG. Ядерные рецепторы, к суперсемейству которых принадлежат PPAR, LXR, PXR и CAR, активируются после взаимодействия с лигандом. Эндогенными лигандами для PPAR являются жирные кислоты, эйкозаноиды, простагландины, простациклины. Эндогенными лигандами для LXR являются окисленные производные ХС — окистеролы, лигандами для PXR — стероиды и желчные кислоты. Однако PXR и CAR известны, прежде всего, как сенсоры

ксенобиотиков. Было показано, что существует перекрест сигнальных путей между PPAR, LXR, PXR и CAR (Woods et al., 2007). В условиях неконтролируемого приема лекарственных препаратов, являющихся ксенобиотиками, а также загрязнения окружающей среды изучение роли данных факторов транскрипции в развитии МС становится особенно актуальным.

Таким образом, наблюдаемые признаки МС у крыс линии НИСАГ, ассоциированные с повышенной ДНК-связывающей активностью PPAR, LXR, PXR и CAR, свидетельствуют о вовлеченности данных транскрипционных факторов в развитие МС. Комплексное исследование регуляторных механизмов, сигнальных путей и транскрипционных мишеней PPAR, LXR, PXR, CAR может существенно облегчить понимание патогенеза МС и даст ценную информацию для разработки соответствующих лекарственных препаратов для терапии МС.

Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-00832.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ВИДОВ CHIRONOMUS (CHIRONOMIDAE, DIPTERA) С РАЗНЫМ СОЧЕТАНИЕМ ХРОМОСОМНЫХ ПЛЕЧ СОГЛАСНО ДАННЫМ АНАЛИЗА ГЕНА МТДНК — COI

© Полуконова Н.В.¹, Демин А.Г.¹, Мюге Н.С.²,
¹Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, ²Саратовский государственный медицинский университет, ³Институт Биологии Развития РАН, Москва

Виды *Chironomus* (Chironomidae, Diptera) обладают гомологией хромосомных плеч, что характеризует их, как представителей одного из наиболее эволюционно молодых родов. Наряду со сходством рисунка диска политенных хромосом, сочетание хромосомных плеч может быть различным. Анализ таких сочетаний у 20 *Chironomus* позволил Кейлу (Keyl, 1962) сделать заключение об эволюции внутри рода за счет реципрокных транслокаций целых плеч хромосом. В настоящее время на основании комбинации хромосомных плеч выделено 17 цитологических комплексов (Keyl, 1962; Wülker et al., 1968; Martin, 1974, 1979; Wülker, Martin, 1974; Wülker, Klötzli, 1973; Martin et al., 1974; Петрова, Максимова, 1978; Lentzios, Stocker, 1979; Максимова, Петрова, 1980 и др.). Дискуссия относительно времени возникновения видов *Chironomus* с разным

сочетанием хромосомных плеч продолжается.

В настоящем сообщении приводятся результаты о последовательности возникновения различных цитоккомплексов на основе анализа гена мтДНК — цитохром оксидазы 1 (COI), который подходит для применения гипотезы молекулярных часов (Zuckercandl, Pauling, 1965; Knowlton et al., 1993; Russo et al., 1995; Hoeh et al., 1996; Paroucheva et al., 2002).

Использованы личинки комаров-звонцов, собранные в 2005 — 2009 гг. Также использована информация GeneBank. Секвенирование проводилось на секвенаторе ABI 3100 использованием набора BigDye v1.1. Филогенетические построения и время дивергенции рассчитывались с использованием пакета программ реализованного в Mega4 (www.megasoftware.net).

Калибровку часов для Chironomus проводили с использованием данных о скоростях эволюции, рассчитанных для гена COI у других Diptera (Desalle et al., 1987; Jamnongluk et al., 2003; Mark et al., 2006; Hou et al., 2007 и др.), с учетом рамок скоростей дивергенции последовательности гена в интервале от 1.5% до 2.3% в 1 млн. лет — скорости эволюции ДНК от 0.0075 до 0.0115 замен на сайт за 1 млн. лет. Тест на относительность скорости эволюции — «relative rate test», проведенный нами для пары видов *Ch. plumosus* — *Ch. dorsalis*, с использованием в качестве внешней группы *Drosophila angor*, с высокой достоверностью показал равенство скоростей эволюции. Усредненное для 20 видов Chironomus отношение несинонимических замен (N) к синонимическим (S) — $(N/S = 4,88/54,45 = 0,0896 \ll 1)$ свидетельствует об отсутствии влияния отбора на эволюцию гена COI в пределах рода и позволяет построить ультраметрическое дерево эволюции Chironomus.

Результаты проведенного анализа показали следующее. Исходным, по нашему мнению, был цитоккомплекс thummi, т.к., на дендрограммах, построенных по рисунку дисков и молекулярным данным, *Baeotendipes (B. noctivaga)* — внешняя к видам Chironomus группа, обладает цитоккомплексом modified thummi, являющимся производным от thummi-комплекса. Следующий по времени возникновения был цитоккомплекс

pseudothummi, его виды возникли от предковых видов цитоккомплекса thummi. Все другие цитоккомплексы — более молодые и возникли также на базе цитоккомплекса thummi (у видов с $2n=8$) и в разное время. Наиболее молодые — модифицированные цитоккомплексы у видов с $2n=6$. Кроме того, молекулярно-генетические данные подтвердили возможность возникновения обратной мутации (Шобанов, Зотов, 2002) — образование цитоккомплекса thummi от pseudothummi у *Ch. piger* и *Ch. riparius*.

ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ УЧАСТКОВ ПОЛИГЕННЫХ ХРОМОСОМ В ПЕРИОД АККЛИМАЦИИ И ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХОЛИНОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ ОТ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ КОМБИНАЦИЙ ЛИЧИНОК CHIRONOMUS (DIPTERA)

© Полуконова Н.В., Федорова И.А.,

Государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского, 410012, Саратов, Б. Казачья, 112, e-mail: irina-genet@rambler.ru

Модельным объектом для исследования функциональной активности (ФА) интерфазных хромосом эукариот служат полигенные хромосомы (ПХ) слюнных желез личинок двукрылых насекомых (Жимулев, 1994), обладающие крупными размерами и содержащие ряд активных участков — ядрышковые организаторы (НО), кольца Бальбиани (BR) и пуфы. Ранее рассматривались зависимость уровня инверсионного полиморфизма от глубины обитания личинок хирономид (Krieger-Wolff, Wuelker, 1971; Ильинская и др., 1999), кислородного и температурного режима водоема (Michailova, 1979; Ильинская и др., 1988; Ильинская и др., 1999; Шобанов, 1994; Matena, 1991), ФА ПХ — от солености воды (Michailova, 1973; 1979; Балущкина, Петрова, 1989; Полуконова, Беянина, 2003). Однако характер изменений ФА ПХ в зависимости от зиготических комбинаций личинок Chironomus и возможность использования генотипически неоднородных выборок личинок в генотоксикологических исследованиях оставались неясными.

Цель работы — выявить закономерности изменения активности участков ПХ слюнных желез личинок комара-звонца Chironomus plumosus с разными генотипическими комбинациями при акклимации к лабораторным условиям и под влиянием

Вне программы

холинотропных препаратов — атропина и пилокарпина *in vivo* в остром эксперименте.

Использованы личинки *Ch. plumosus* IV возраста 7 фазы зрелости оз. Сазанка Саратовской обл. Исследовано 760 личинок, в т. ч. 100 — в опыте на акклимацию (50 — зафиксированных у проруби, 50 — акклимированных в течение суток) и 660 — в экспериментах по воздействию: 210 — в контроле, 250 — под воздействием атропина, 200 — пилокарпина. Эксперименты проводили в стандартных условиях (РД 52.24.635-2002) при экспозиции 12-96 ч. Препараты ПХ готовили по этилоорсеиновой методике (Демин, 1989). Изменения ФА ПХ исследовали по индексам: NOR* — отношение максимального диаметра ядрышка к ширине интактного района 6 ПХ IV, BR₁GR* и BR₂GR* — максимального диаметра, соответственно, BR₁G и BR₂G к ширине интактного района 6 ПХ IV, BRB* — максимального диаметра BR плеча В к ширине интактного района 17 и PBR* — максимального диаметра пуфа к ширине интактного района 21. Данные нормировались на контроль (значения индексов в контроле принимались за единицу). Для анализа различий дисперсий использовали Ф-тест Фишера при $P < 0.05$.

ФА BRB была увеличена у гетерозиготных по последовательности *plu B2* акклимированных личинок (*plu B1.2*) по сравнению с гомозиготными (*plu B1.1* и *plu B2.2*). ФА BR₂G уменьшалась с увеличением числа инверсий в кариотипе от 1,88 при одной инверсии до 1,59 при трех. Обнаружены различия в активности NO на основе естественного генетического полиморфизма, выявленные между группами личинок в период акклимации с разными генотипическими комбинациями:

plu A1.2 B1.1 C1.1 D1.4 E1.1 F1.1 G1.1 и *plu A1.1 B1.2 C1.1 D1.4 E1.1 F1.1 G1.1*;

plu A1.2 B1.2 C1.1 D1.4 E1.1 F1.1 G1.1 и *plu A1.1 B1.2 C1.1 D1.4 E1.1 F1.1 G1.1*;

plu A1.2 B1.2 C1.1 D4.4 E1.1 F1.1 G1.1 и *plu A1.1 B1.2 C1.1 D1.4 E1.1 F1.1 G1.1*.

Наибольшая активность NO наблюдалась у личинок с *plu A1.1 B1.2 C1.1 D1.4 E1.1 F1.1 G1.1*. Отмечена общая тенденция к уменьшению разброса значений индексов ФА ПХ в группе личинок под действием холинотропных препаратов по сравнению с акклимированными. Снижение разнородности работы активных участков ПХ личинок в условиях стрессового воздействия

токсикантов свидетельствует о мобилизации внутриклеточных ресурсов, подавляющих проявление индивидуальных реакций особей на основе естественного генотипического полиморфизма, и позволяет в экспериментах на генотоксичность пренебречь индивидуальными различиями ФА ПХ особей с разными зиготическими комбинациями.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕКСА БЕЛКА SUUR DROSOPHILA MELANOGASTER

© Посух О.В.¹, Горчаков А.А.^{1,2}, Алексеев А.А.², Юрлова А.А.¹, ¹Институт цитологии и генетики, Новосибирск, Россия, ²HHMI/ Harvard-Partners Center for Genetics and Genomics, Boston, MA, USA
olga.posukh@gmail.com

Ген *Suppressor of UnderReplication (SuUR)* контролирует время завершения репликации и недорепликацию ДНК в гетерохроматиновых районах политеменных хромосом *D. melanogaster*. Мутация в гене *SuUR* приводит к тому, что районы интеркалярного гетерохроматина и часть прицентромерного гетерохроматина заканчивают репликацию существенно раньше, чем в норме, и становятся полностью политенизированными. Несмотря на большой объем данных об эффектах белка SUUR, механизм его участия в контроле репликации до сих пор остается невыясненным. Наша работа направлена на поиск белков-партнеров и изучение функциональных комплексов белка SUUR.

Нами был выбран метод двойной аффинной очистки (TAP — Tandem Affinity Purification), который позволяет выделять белковые комплексы в условиях наиболее близких к *in vivo*. Работа по созданию такой системы для SUUR включала следующие этапы: (i) получение генетических конструкций, обеспечивающих экспрессию в организме дрозофилы белка SUUR и полипептида TAP в одной рамке считывания; (ii) получение линии культуры клеток дрозофилы S₂, стабильно экспрессирующей белок SUUR-TAP; (iii) получение линий мух, экспрессирующих белок SUUR-TAP. Для проверки функциональности системы был проведен ряд тестов. Была продемонстрирована способность химерного белка SUUR-TAP восстанавливать фенотип дикого типа в мутантной линии мух и оказывать специфические эффекты на хромосомы в системе экспрессии GAL4-UAS.

Вне программы

Полученный результат свидетельствует в пользу того, что химерный белок SUUR-TAP способен взаимодействовать с теми же белками-партнерами, что и эндогенный SUUR.

В результате фракционирования по размеру (FPLC) белковых комплексов из полученной линии культуры клеток и последующей детекцией белка SUUR-TAP было показано, что SUUR-TAP находится в составе крупных белковых комплексов (>440 кДа). Нами была проведена двойная аффинная очистка комплексов SUUR-TAP из белковых экстрактов полученной линии культуры клеток. Компоненты комплекса проанализировали при помощи масс-спектрометрии и выявили ряд белков — кандидатов в партнеры SUUR.

На следующем этапе работы предстоит проверка полученных взаимодействий генетическими методами. А также будет проведена двойная аффинная очистка комплексов белка SUUR-TAP из эмбриональных экстрактов дрозофилы, так как наибольшее количество SUUR обнаружено именно в эмбрионах.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА НА ОБРАЗОВАНИЕ ПРОЧНЫХ ГИСТОН H₁-ДНК СШИВОК ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДЕР ВИДИМЫМ СВЕТОМ В ПРИСУТСТВИИ БРОМИСТОГО ЭТИДИЯ

© Прусов А.Н., Смирнова Т.А., Коломийцева Г.Я., Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, электронная почта: prusov@genebee.msu.ru

Для изучения структуры высших уровней упаковки хроматина использовался метод фиксации хроматина интерфазных ядер печени крысы облучением видимым светом (400-550 nm) в присутствии бромистого этидия, приводящий к образованию белок-белковых и ДНК-белковых сшивок. При облучении изолированных в буфере с низкой ионной силой и 5 mM Mg⁺⁺ ядер, в конденсированном хромомерном хроматине происходит образование прочно-связанного с хроматином гистона H₁, не экстрагируемого хлорной кислотой и составляющего до 1% от тотального гистона H₁ (в зависимости от дозы облучения). Однако после гидролиза ДНК эта фракция гистона экстрагируется.

Уменьшение концентрации Mg⁺⁺ до 1 mM и соответствующее разворачивание хроматина до 30 нм-вой нуклеомерной фибриллы снижает количество прочно-связанного H₁. Разворачивание хроматина до растянутых нуклеосомных фибрилл в результате полного удаления Mg⁺⁺ с помощью ЭДТА препятствует образованию прочно-связанного H₁. При последующем возврате ядер в среду с 5 mM Mg⁺⁺ способность к образованию прочно-связанного H₁ не восстанавливается. Неполное удаление Mg⁺⁺ однократным переводом ядер в среду 20 mM триэтаноламина без магния и последующим возвратом в 5 mM Mg⁺⁺ приводит к частичному восстановлению образования прочно-связанного H₁. При этом разворачивании хроматин представлен не растянутой нуклеосомной фибриллой, а свернутой в кольца небольшого диаметра. Таким образом, разрушение первоначальной компактной структуры хроматина изменяет взаимодействие определенной части гистона H₁ с хроматином. При разворачивании и обратном сворачивании первоначальная структура конденсированного хроматина полностью не восстанавливается.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-04-01352а.

РАЗМАХ ИЗМЕНЧИВОСТИ В-ХРОМОСОМ У ВОСТОЧНОАЗИАТСКОЙ МЫШИ *APODEMUS PENINSULAE* (RODENTIA) ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ

© Рослик Г.В., Картавецва И.В., Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, roslik_g@mail.ru

Восточноазиатская мышь *Apodemus peninsulae* является уникальным объектом для исследования, т.к. в ее кариотипе, помимо 48 акроцентрических хромосом основного набора, имеются добавочные (В-) хромосомы, представленные разнообразными размерно-морфологическими типами и варьирующие от 0 до 30 в числе (см. Kartavtseva, Roslik, 2004; Борисов, 2008). Для этого вида установлено также явление мозаицизма, когда число В-хромосом варьирует в разных клетках одной особи (Волобуев, 1979; Раджабли, Борисов, 1979; Bekasova et al., 1980).

При исследовании хромосомных препаратов клеток костного мозга материковых популяций восточноазиатской мыши (n = 355) из 41 точки отлова Дальнего Востока России нами выявлено, что большая

часть особей (87.9 %) оказалась полиморфной, вследствие присутствия в их кариотипах В-хромосом. Из них 61.7 % животных оказались особями-мозаиками, имеющими от 2 до 5 клеточных клонов. Вариации чисел В-хромосом у животных со стабильными кариотипами составили от 0 до 4, а у особей-мозаиков — от 0 до 7. Среднее число В-хромосом на особь (индекс xV) в разных популяциях варьировало от 0 до 4, а в целом для мышей Дальнего Востока индекс xV составил 1.65. Показано непостоянство частот встречаемости животных с В-хромосомами и особей-мозаиков между разными выборками. Характерной особенностью кариотипов изученных мышей является преобладание клеток, в которых имеются 1-2 метацентрические В-хромосомы мелких и средних размеров, а также клетки, в которых В-хромосомы отсутствуют. Всего найдено 78 вариантов системы В-хромосом, различающихся сочетаниями числа, размеров и морфологии В-хромосом, причем наибольшее разнообразие вариантов (до 76) отмечено в группе особей-мозаиков. Часто сочетания и соотношения В-хромосом разных размерно-морфологических классов у особей-мозаиков были уникальными.

Предполагается адаптивная роль невысоких чисел В-хромосом (1–2), а также несбалансированность системы В-хромосом для вида в целом. По-видимому, распределение мышей со сходными вариантами системы В-хромосом в дальневосточных популяциях вида имеет хаотичный характер и не связано с географической дифференциацией популяций исследованного региона.

ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ *ANOPHELES MESSEAE* В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

© Русакова А.М.¹, Артемов Г.Н.¹,
Потапова Н.К.², Стегний В.Н.¹, ¹Научно-
исследовательский институт биологии и
биофизики ТГУ center_cu@res.tsu.ru
²Институт биологических проблем
криолитозоны СО РАН
n.k.potapova@ibpc.ysn.ru

В популяциях малярийных комаров *Anopheles* широко распространено явление инверсионного полиморфизма. Инверсионный полиморфизм обеспечивает адаптивную гибкость вида и именно поэтому его можно наблюдать в популяциях, охватывающих большие ареалы как у *An.*

gambiae (Coluzzi, 1972), *An. atroparvus* (Frizzi, 1954), *An. arabiensis*, *An. stephensi* (Coluzzi, 1972), *An. darlingi* (Baimai, 1998) *An. messeae* (Стегний, 1976а), *An. beklemishevi* (Стегний, 1976б). Инверсионный полиморфизм в популяциях вида *An. messeae* на территории бывшего СССР всесторонне был изучен в 70-е годы. В ходе проведения этих работ было показано, что в популяциях этого вида происходят сезонное и межгодовое изменение частот инверсий, а также показана клинальная изменчивость изменения частот инверсионных вариантов (Стегний, 1991).

В настоящей работе впервые был проведен анализ инверсионного полиморфизма в популяциях Республики Саха (Якутия): п. Сангар (360 км к северу от Якутска) и трех популяций из окрестностей г. Якутска — п. Сырдах (23 км от Якутска), п. Кильдямцы (30 км от Якутска) и п. Тулагино (27 км от Якутска). Дата сбора 17-20 июля 2007. Цитогенетические препараты политенных хромосом готовили по стандартной лактоацетоорсеиновой методике (Кикнадзе, 1967; Кабанова, 1972).

В популяциях *An. messeae* распространены следующие парацентрические инверсии: две в XL хромосоме (XL_1 , XL_2) и по одной в хромосомах 2R ($2R_1$), 3R ($3R_1$), 3L ($3L_1$) (Стегний, 1991). По XL хромосоме во всех популяциях с частотой 100% преобладал генотип XL_1 характерный для восточносибирских популяций. По хромосоме 2R наиболее представлены особи с генотипом $2R_{00}$, однако если в смежных популяциях частота этого варианта составляла более 90%, то в более северной популяции Сангар вклад варианта $2R_{00}$ был не столь значителен из-за присутствия гетерозигот $2R_{01}$ (35%) и гомозигот $2R_{11}$ (8%). По хромосоме 3R распределение частот было сходным во всех популяциях с преобладанием особей с генотипом $3R_{11}$. В популяции Сангар доля этих особей составила 100%, а в смежных популяциях 93–98%. Гомозиготы $3R_{00}$ встречались только в популяции Сырдах с частотой 5%, а особей гетерозиготных по инверсии можно было наблюдать в популяциях Сырдах, Кильдямцы и Тулагино в виде единичных. По хромосоме 3L в северной популяции Сангар все генотипы были представлены равных долей, тогда как в популяциях Сырдах и Кильдямцы преобладали гетерозиготы $3L_{01}$ с частотами соответственно 70% и 50%. В Тулагино особи

с генотипами $3L_{II}$ и $3L_{OI}$ наблюдались с примерно одинаковыми долями — около 40%.

Популяция Сангар, расположенная севернее всех исследуемых популяции, отличалась отсутствием особей с генотипами $3R_{OI}$, $3R_{OO}$ и $2R_{II}$ и значимо большей долей особей с $2R_{OI}$, что согласуется с полученными в 70-годы данными по инверсионному полиморфизму северных популяций. Популяции, находящиеся в пригороде Якутска были сходны по распределению частот инверсионных вариантов. Среди значимых отличий можно выделить присутствие в популяции Сырдах особей с генотипом $3R_{II}$ и генотипов $3L_{II}$ и $3L_{OI}$ с равной частотой в популяции Тулагино.

Таким образом, полученные данные являются еще одним подтверждением адаптивной роли инверсионного полиморфизма у малярийного комара *An. messeae*.

Исследование проводилось при поддержке гранта РФФИ № 07-04-01484, проектов ФЦП № 02.740.11.0278 и Рособразованию № 2.1.1/774.

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО СОСТАВА ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА ХРОМОСОМЫ 2L DIPTERA, CULICIDAE

© Сайджафарова А.О.¹, Стегний В.Н.², Елисафенко Е.А.¹, ¹Научно-исследовательский институт биологии и биофизики Том.ГУ, gene@res.tsu.ru, sa_o_bio@ngs.ru, ²Институт генетики и цитологии СО РАН, Новосибирск, antares@bionet.nsc.ru

Гетерохроматин ассоциирует в себе ряд различных последовательностей ДНК, и является источником их изменчивости, что предусматривает его важную роль в эволюции эукариот (Hennig, 1999). В настоящее время известно, что изменения, относящиеся к составу, к его количеству, структуре и распределению, характеризуют гетерохроматин, как фактор, сопутствующий видообразованию (Корочкин, 1983; Стегний, 1991). Не смотря на успешное изучение различных механизмов работы гетерохроматина, остается вопрос о характере влияния изменений прицентромерного гетерохроматина (ПГ) на пространственную структуру интерфазного ядра.

Изучение ПГ политенных хромосом малярийных комаров рода *Anopheles*

комплекса *maculipennis* позволяет расширить знания о влиянии изменений состава гетерохроматина на пространственную структуру ядра. Политенные хромосомы в ядрах трофоцитов яичников восьми видов комаров комплекса «*Anopheles maculipennis*» имеют четкие различия по наличию, либо отсутствию облигатного прикрепления к ядерной оболочке, по морфологии участков прикрепления и по расположению области прикрепления на оболочке ядра. (Стегний, 1991). Представляет интерес исследование структурных особенностей участков прикрепления хромосом к ядерной оболочке некоторых видов комплекса «*Anopheles maculipennis*»: *Anopheles atroparvus* van Thiel, *Anopheles messeae* Fall. и *Anopheles beklemishevi* Stegnii et Kabanova. Ранее, при помощи метода микродиссекции политенных хромосом трофоцитов яичников, с последующей амплификацией и мечением был получен зонд Atr2R из ДНК ПГ хромосомы 2R (не имеющий жесткого прикрепления к оболочке ядра) для сравнительной *in situ* гибридизации проведенную на данных видах (Грушко и др., 2004). В результате выявили наличие консервативных последовательностей и гомологичных последовательностей ДНК во всех районах ПГ исследуемых видов, кроме ПГ хромосомы 2L *An. beklemishevi* (Грушко и др., 2004). Так как, этот участок имеет жесткое прикрепление к оболочке ядра, была предпринята попытка подробного изучения структуры ДНК ПГ хромосомы 2L *An. beklemishevi*. При помощи метода микродиссекции политенных хромосом с последующей *in situ* гибридизацией была получена проба данного района Abek12L. В результате локализации районспецифичной ДНК-пробы Abek12L на политенных хромосомах видов *An. atroparvus*, *An. messeae*. и *An. beklemishevi*, установлено, что последовательности ДНК, гомологичные пробе прицентромерного участка гетерохроматина хромосомы 2L *An. beklemishevi*, присутствуют у всех видов на хромосомах 2 и 3 в прицентромерных участках и районах прикрепления, кроме участков прикрепления хромосомы XL *An. beklemishevi* и *An. messeae* и прицентромерной области 2R *An. messeae*. Результаты были сопоставлены с полученными ранее данными по локализации видоспецифичной пробы Atr2R на хромосомах видов изучаемых видов

Вне программы

(Грушко и др., 2004). Выявленные межвидовые различия в местах локализации проб и интенсивности свечения, указывают на наличие индивидуального сочетания последовательностей в районах прикрепления хромосом. Далее, из ДНК диссектированного района хромосомы 2L *An. beklemishevi* путем клонирования была получена хромосомная минибiblioteca, фрагменты которой затем были просеквенированы и проверены на гомологию с геномами *DIPTERA*. Поиск последовательностей, гомологичных фрагментам библиотеки Abekl2L, выявил ряд значимых гомологий с последовательностями из геномов *An. gambiae*, *Aedes aegypti* Linnaeus и *D. melanogaster*. Гетерохроматин пробы Abekl2L содержит повторяющиеся последовательности ДНК, гомологичные разнообразным мобильным элементам и небольшое количество простых tandemных повторов, сателлитов, а также интронным последовательностям и некоторым генам указанных выше видов. Отсутствие абсолютной гомологии фрагментов с последовательностями *An. gambiae* и *Ae. aegypti* и *D. melanogaster* говорит о том, что они являются "осколками" LTR-ретротранспозонов и LINE-элементов, а также генов из генома *D. melanogaster*, и о присутствии в ПГ хромосомы 2L *An. beklemishevi*, данных классов последовательностей. Молекулярный состав ПГ характеризуется наличием большого количества мобильных элементов среди прочих классов последовательностей. У *An. gambiae* среди всех мобильных элементов обнаружено преобладание ретротранспозонов (Tu, Coates, 2003). Предполагается, что обилие gypsy-подобных ретротранспозонов обуславливает способность гетерохроматина политенных хромосом к прикреплениям к ядерной оболочке (Gerasimova, 2000). Известно, что ПГ видов *D. melanogaster* и *An. gambiae* содержит такие последовательности, и политенные хромосомы питающих клеток яичников образуют прочные контакты с ядерной оболочкой у *D. melanogaster* (Стегний, Вассерлауф, 1994) и в составе хромоцентра у *An. gambiae* (Sharakhov et al., 2001). Возможно, что способность района прицентромерного гетерохроматина к прикреплениям к оболочке зависит от присутствия в нем в достаточном количестве

встроенных gypsy-подобных LTR-ретротранспозонов.

Таким образом, в изучаемой пробе из левого плеча хромосомы 2 *An. beklemishevi* найдены последовательности, характерные для прицентромерного гетерохроматина двукрылых.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 07-04-01484), государственного контракта (проект № 02-740-11-0278).

ЦИТОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОХРАНЕНИЯ И ЭМИССИИ ПРИВНЕСЕННЫХ ЧУЖЕГЕНОМНЫХ ГЕНОВ В САМО-И ПЕРЕКРЕСТНООПЫЛЯЮЩИХСЯ ИНТРОГРЕССИВНЫХ СИБС-ЛИНИЯХ ХЛОПЧАТНИКА

© Семенихина Л.В., Ахмедова З.М., Институт Генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз, Ташкент, Узбекистан, 11226 Ташкентский вилоят Кибрайский туман пос. Юкори –Юз, тел.264-22-30, факс (371) 264-23-90. geed@sato.gov.us.

При возрастающей аридности климата регионов Средней Азии особое значение приобретают клейстогамные линии и сорта хлопчатника, способные независимо от высоких температур и сухости воздуха, небольшим количеством пыльцы осуществлять нормальное завязывание коробочек и обеспечивать урожайность.

При этом, высокий уровень устойчивости хлопчатника к ограниченному поливу обеспечивается отдаленной гибридизацией с дикими видами, произрастающими в экстремальных условиях обитания. К настоящему времени получены отдаленные гибриды, их амфидиплоиды и интрогрессивные линии со всеми известными 50 дикими видами хлопчатника. Однако, крупным недостатком таких интрогрессивных линий и отдаленно гибридных сортов хлопчатника является то, что при ослаблении искусственного отбора при введении в производство у них происходит быстрая утрата привнесенных ценных признаков.

Согласно гипотезе (Семенихина, 2007) причиной скоротечной жизни интрогрессивных линий и отдаленногибридных сортов в производственных условиях является свободный (неконтролируемый) перекрест с

Вне программы

фоновым сортовым окружением, который провоцирует лавинообразный процесс эмиссии чужегеномных генов и участков хромосом путем образования несбалансированных, не участвующих в оплодотворении гамет.

Гипотезу проверяли на генетически близких по происхождению, первоначально идентичных по морфофизиологическим признакам трехвидовых интрогрессивных линиях хлопчатника варианта F_1 (*G.hirsutum* L. x *G.barbadense* L.) x *G.bickii* Prokh, различающихся по типу цветения: Л-11 является перекрестноопыляющейся хазмогамной с преобладанием морфологических признаков *G.hirsutum* L, а Л-12- самоопыляющейся клейстогамной с большинством морфологических признаков *G.barbadense* L. Обе линии отличаются высокой устойчивостью к экстремальным, биотическим и абиотическим факторам, унаследованным от австралийского родительского компонента дикого 2б-хромосомного вида *G.bickii* Prokh.

Фиксация корешков семян и молодых бутончиков проводилась по Карнуа (3:1). Монохромное окрашивание (Паушева, 1974) митотических хромосом — ацетокармином и ацетоарсеином; определение жизнеспособности пыльцы проводилось по Шардакову. Измерение длины хромосом проводили по микрофотографиям с использованием объект-микрометра МОВ-15, формулы кариотипов геномов составляли по методике М.Абрамовой (1972) по 10 метафазным пластинкам.

В результате проведенного изучения морфологии и размеров митотических хромосом и жизнеспособности пыльцы было установлено, что к 10 поколению у интрогрессивных трехвидовых гибридных линий наблюдались ярко выраженные различия.

Так, у клейстогамной сибс-линии Л-12 была установлена формула кариотипа $K=2n=52=2(2Lm+3Lst+1Lat+3M+9Ms+1Mat+7Sm)$. Суммарная длина всех хромосом набора 154,8±1,5 микрон. Средняя длина хромосомы 1 $sr=2,98 \pm 0,04$ мкм; тип спутников

$S_1S_1S_3S_3$. Формула кариотипа хазмогамной сибс-линии $K=2n=52=2(1Lst+1Lat+3Ls+1Mat+3Ms+1Ss+16Sm)$; суммарная длина всех хромосом набора 129,8±1,3 мкм; средняя длина хромосом набора 1 $sr=2,5 \pm 0,03$ мкм; тип спутников $S_1S_1S_1S_1S_2S_2S_2S_2S_2$. Таким образом, в геноме

хазмогамной линии Л-11 наблюдается убывание длины хромосом генома и средней длины хромосом по сравнению с клейстогамной линией Л-12. Кроме того, у клейстогамной линии также присутствует, специфический для вида *G.barbadense*, спутник хромосомы S_3 , у хазмогамной — спутник S_2 .

Таким образом, изучение размеров и морфологии митотических хромосом и анализ жизнеспособности пыльцы у хазмо- и клейстогамных трехгеномных интрогрессивных сибс-линий (Л-11 и Л-12) хлопчатника показывает, что к 10 поколению у интрогрессивных сибс-линий наметилась тенденция к разделению их геномов как по морфологическим видовым признакам, так и по морфологии хромосом на исходные родительские аллотетраплоидные виды:

У клейстогамной линии Л-12 в сторону *G.barbadense* L;

У хазмогамной линии Л-11 в сторону *G.hirsutum* L.

Однако и у Л-11, и Л-12 не имеется полного соответствия размеров и формы хромосом и пониженная жизнеспособность пыльцы по сравнению с исходными аллотетраплоидными родительскими видами; что, по-видимому, происходит из-за наличия остаточных транслокационных вставок, в том числе и от дикого диплоидного родительского компонента *G.bickii* Prokh. Причем, сохранение большего размера хромосом и характерного для *G.barbadense* L. спутника хромосомы S_3 наблюдается только у клейстогамной линии Л-12, а спутника S_2 у хазмогамной линии.

ВЫВОДЫ

Сравнительное изучение размеров и морфологии митотических хромосом геномов хазмо- и клейстогамных трехгеномных интрогрессивных сибс-линий Л-11 и Л-12 выявило:

1. Хазмогамная сибс-линия Л-11, имеющая открытую систему перекрестного переопыления с окружающими посевами *G.hirsutum* L к 10 поколению показывает значительную эмиссию части привнесенных чужегеномных генов и участков хромосом, и повышение жизнеспособности пыльцы.
2. Клейстогамная сибс-линия Л-12, имеющая закрытую самоопыляющуюся систему, за тот же срок сохранила относительно обогащенный

отдаленной гибридизацией крупнохромосомный геном; но, вследствие длительного инцухта, обусловленного типом самоопыляющегося цветения, значительно снизила жизнеспособность пыльцы.

3. Полученные результаты подтверждают предложенную гипотезу о фоновом влиянии перекреста, при ослаблении давления искусственного отбора, на лавинообразную эмиссию чужегеномных генов и участков хромосом у перекрестно-опыляющихся интрогрессивных линий и отдаленно-гибридных сортов хлопчатника.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ригер Р., Михаэлис А. Генетический и цитогенетический словарь. М., 1967, стр. 607.
2. Семенихина Л.В. Скрытые цитогенетические механизмы эмиссии, привнесенных в аллотетраплоидные интрогрессивные линии и отдаленногибридные сорта, ценных генов-признаков диких диплоидных видов хлопчатника. Матер. научно-практической конференции «Современное состояние селекции и семеноводства хлопчатника, проблемы и пути их решения». Ташкент, 2007, стр. 63-66.
3. Jjhrі В.М., Рао Р.С. Эмбриология растений: Экспериментальная эмбриология. М. Агропромиздат, 1990, 420 с.

ИЗУЧЕНИЕ КАРИОТИПИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ РУКОКРЫЛЫХ (CHIROPTERA) МЕТОДОМ СРАВНИТЕЛЬНОГО ХРОМОСОМНОГО ПЭЙНТИНГА

© Староселец Я.Ю., Юдкин Д.В., Янг Ф., Васенков Д.А., Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, staroselec@ngs.ru

Для выявления консервативных сегментов между кариотипами разных видов в последнее время широко применяется метод сравнительного хромосомного пэинтинга. С использованием данного метода были решены важнейшие вопросы филогении почти всех отрядов млекопитающих, в частности, отряда рукокрылых (Chiroptera). Исследованиями охвачены представители важнейших семейств отряда рукокрылых, что

позволило решить спорные вопросы филогении на уровне отношений между семействами. Однако отношения внутри отдельных семейств, в том числе, самого крупного семейства рукокрылых, кожановых (Vespertilionidae) остаются, во многом, невыясненными.

Целью данной работы является исследование преобразований кариотипов в семействе кожановых (Vespertilionidae). Была поставлена задача сравнить кариотипы представителей различных родов семейства Vespertilionidae, опираясь на собственные и литературные данные.

Проведена локализация пэинтинг проб *Aselliscus stoliczkanus* (Ast) на метафазных хромосомах представителей семейства кожановых: прудовой ночницы *Myotis dasycneme* (Mda), сибирского трубконоса *Murina leucogaster* (Mle), двуцветного кожана *Vespertilio murinus* (Vmu) и бурого ушана *Plecotus auritus* (Pau). Между кариотипом Ast и кариотипами исследуемых видов было выявлено по 25 консервативных сегментов. Были выявлены перестройки, отличающие кариотипы исследуемых видов, большая часть является Роберсоновскими транслокациями. В кариотипе Pau выявлены слияния AST 13+6q, 3r+7q, 2r+12, 9q+9r+6r, 10q+14q+3q и 4r+11q, в кариотипе Vmu слияния AST 6q+14q+3q, 3r+9r+6r и 11q+12.

Всего были сравнены кариотипы 10 видов: *Myotis dasycneme*, *Murina leucogaster*, *Plecotus auritus*, *Vespertilio murinus*, (исследованы нами); *Hypsugo pulveratus* (HPU), *Nyctalus velutinus* (NVE), *Tylonycteris robustula* (TRO), *Tylonycteris sp.*, *Miniopterus fuliginosus* (MFU), *Pipistrellus pygmaeus* (PPY). Показано, что для этих видов характерны слияния AST 5q+8q, 2q+4q, 9r+6r, 14q+3q и сохранение хромосомы AST 1. Единственное исключение — *Miniopterus fuliginosus* — в кариотипе которого отсутствует слияние AST 2q+4q. Полученные данные не позволяют сделать новых выводов относительно филогении рукокрылых, однако, подтверждают ранее сделанные выводы. Во-первых, что основным механизмом кариотипической эволюции кожановых являются Роберсоновские транслокации. Во-вторых, предковый кариотип кожановых $2n=44$, характерный для рода *Myotis*.

ПЕРЕХОД ПОЛИПЛОИДНЫХ ГЕПАТОЦИТОВ ОТ МИТОТИЧЕСКОГО ЦИКЛА К ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИИ

ХРОМОСОМ ПРИ МАССИВНЫХ ГЕНОМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ И СТАРЕНИИ

© Урываева И.В., Маршак Т.Л., Делоне Г.В.,
Захидов С.Т.¹, Институт биологии развития
им. Н.К.Кольцова РАН, ¹каф. эмбриологии
МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва.
uryvaeva.idb@bk.ru

Гепатоциты у млекопитающих во время роста и при регенерации печени склонны к митотической полиплоидизации. Полиплоидные ядра образуются путем полиплоидизирующих митозов и могут содержать 4, 8, 16 и более сегрегированных наборов нормально сегрегированных хромосом. Митотическая полиплоидизация включает два модифицированных митоза: первый — без цитокинеза с образованием двуядерной клетки и следующий со слиянием сестринских ядер в метафазе. Образующиеся при этом монополиплоиды способны к неограниченному размножению нормальным митозом. Предполагается, что полиплоидный геном повышает при пролиферации толерантность гепатоцитов к накопленным повреждениям ДНК.

Эндоредупликация не свойственна нормальным соматическим клеткам за исключением трофобласта плаценты. Между тем, было показано, что в регенерирующей печени гепатоциты переходят на эндоцикл при затруднении анафазной сегрегации хроматид. У трансгенных мышей, нокаутированных по аллелям сепаразы, а также с делецией гена протективного белка теломер печень успешно регенерирует при полном отсутствии митозов (Wirth et al., 2006; Denchi et al., 2006). При массивных генетических повреждениях переход на эндоцикл может быть следующей ступенью адаптации митотического цикла, повышающей выживаемость гепатоцитов за счет выпадения критической фазы — митоза. Эндоредуплицированные диплохромосомы в метафазах гепатоцитов были обнаружены нами в регенерирующей печени ускоренно стареющих мышей линий SAM (senescence accelerated mice), характеризующихся признаками необычайно высокой нестабильности генома, в том числе, высокой частотой цитогенетических aberrаций в печени и генеративных тканях.

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения процесса трансформации митотического цикла

исходно полиплоидных гепатоцитов в эндоредупликационный у мышей СВА/С57В1 при регенерации печени, поврежденной генотоксическим препаратом дипином.

Дипин, алкилирующий агент, вызывает двухнитевые разрывы ДНК. Согласно нашей модели дипин, введенный животным перед операцией частичной резекции печени, поражает всю популяцию покоящихся гепатоцитов (в фазе G₀ клеточного цикла), которые в конечном счете погибают и в течение нескольких месяцев заменяются новыми клетками, происходящими из стволового резерва. Тем не менее, благодаря адаптациям клеточного цикла тяжело поврежденные гепатоциты длительного выживания, циклируют, восстанавливают утраченную массу и обеспечивают функционирование органа.

В работе использованы методы цитологии и цитогенетики, препараты-отпечатки клеток, препараты метафазных пластинок, колхицинированных *in vivo* и выделенных в суспензии с помощью коллагеназы. Для цитофотометрии содержания ДНК в интерфазных ядрах и определения уровня плоидности метафазных пластинок препараты окрашивали по Фельгену. Для анализа параметров клеточного цикла проводили автордиографию с ³H-тимидином, также и в сочетании ее с цитофотометрией ДНК. Препараты интерфазных клеток и метафазных пластинок окрашивали с помощью импрегнации AgNO₃ аргентафильных белков, маркирующих активные ядрышки интерфазных клеток и ядрышкообразующие районы хромосом.

Было установлено, что в первом после индукции пролиферации клеточном цикле длительность фазы G₁ не изменяется по сравнению с регенерацией неповрежденной печени. Синтез ДНК (период S-I эндоцикла) протекает замедленно и занимает около 20 ч. G₂ период блокирован, фаза митоза (M-I) исключена из последовательности событий первого цикла. Клетка с реплицированной ДНК переходит в G₁/G₀ фазу. Следующий митотический цикл начинается с повторной репликации ДНК (S-II). Важно отметить, что временные параметры его нормализуются. Практически все митозы несут разнообразные и множественные aberrации хромосом. Часты картины апототической гибели по типу “митотической катастрофы”. В настоящей работе было впервые показано, что показателем эндоцикла кроме

формирования диплохромосом может быть также персистенция (вследствие выпадения митоза) характерной для исходного ядра структуры рибосомного генома. Таким образом, в интерфазных ядрах структура рибосомного генома определяется по числу и размеру ядрышек, а в метафазных пластинках — по числу и размеру т. наз. “остаточных ядрышек” — персистирующих ассоциаций ядрышкообразующих хромосом. Число остаточных ядрышек в эндоредуплицированных метафазах соответствовало числу ядрышек — показателю класса пloidности исходной клетки, проработавшей двойную репликацию хромосом.

**ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДНК
ХРОМОЦЕНТРА ПОЛИТЕННЫХ
ХРОМОСОМ ТРОФОЦИТОВ *DROSOPHILA
ORENA* В ПРОЦЕССЕ ФИЛОГЕНЕЗА
ПОДГРУППЫ *DROSOPHILA
MELANOGASTER***

© Усов К.Е., Шелковникова Т.А., Стегний В.Н.,
Научно-исследовательский Институт
Биологии и Биофизики при Томском
Государственном Университете, Томск,
gene@res.tsu.ru

К настоящему времени накоплено достаточное количество экспериментальных данных подтверждающих, что видообразование может происходить за счет изменения количества гетерохроматина, а также перераспределения его в геноме (Корочкин Л.И., 2002). Поэтому огромный интерес представляет изучение различий в количестве и распределении гетерохроматина у филогенетически близких видов. Удобным объектом для этой цели являются политенные хромосомы ядер трофоцитов яичников у девяти видов подгруппы *Drosophila melanogaster*: *D. orena*, *D. erecta*, *D. teisseria*, *D. yakuba*, *D. santomea*, *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. sechellia*, *D. mauritiana*. Стволовым видом в данной подгруппе является *D. orena*, имеющий локальный хромоцентр в ядрах трофоцитов яичников (Стегний В.Н., 1993). С целью изучения перераспределения прицентромерного гетерохроматина в ходе филогенеза подгруппы *Drosophila melanogaster* был диссектирован хромоцентр *D. orena*. ДНК диссектированного района амплифицирована при помощи DOP-ПЦР, помечена дигоксигенином и использована

для *in situ* гибридизации с политенными хромосомами ядер трофоцитов всех видов данной подгруппы.

Гибридизационные сигналы были выявлены у *D. orena* в хромоцентре, объединяющем прицентромерные районы всех хромосом, у остальных видов подгруппы *Drosophila melanogaster* — в прицентромерных районах всех хромосомных плеч с некоторыми исключениями. Так, у *D. simulans* одно из плеч хромосомы 2 не содержит сигнала; у *D. erecta* последовательности хромоцентра были обнаружены в прителомерном районе одного из плеч хромосомы 3; у *D. yakuba*, *D. santomea*, *D. teissieri* мечение обнаружено в районах, прилегающих к плотным ярко окрашивающимся DAPI прицентромерным блокам гетерохроматина хромосом 2 и 3. Также было изучено распределение ДНК-пробы у всех видов подгруппы на стадии вторичных ретикулярных ядер и показано, что только у *D. orena* меченый хроматин выявляется преимущественно в пределах строго определенной территории, а именно в районе хромоцентра, который на данной стадии эндоцикла не распадается и четко визуализируется в ядре. У всех остальных видов подгруппы *Drosophila melanogaster* меченый хроматин на стадии вторичных ретикулярных ядер распределен диффузно по всему пространству ядра.

Таким образом, ДНК-проба оказалась довольно консервативна в плане своего распределения в прицентромерных районах всех хромосом у видов подгруппы *Drosophila melanogaster*.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 07-04-01484), государственного контракта (проект № 02-740-11-0278).

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ
КОРОТКИХ ТАНДЕМНЫХ ПОВТОРОВ В
ПЕРИЦЕНТРОМЕРНЫХ РАЙОНАХ
ХРОМОСОМ МЫШИ**

© Федоров А.В., Подгорная О.И., Институт
цитологии РАН, Санкт-Петербург
antonfedorow@gmail.com

Геномы высших эукариот содержат огромное количество повторяющихся последовательностей ДНК. Тандемно повторяющиеся последовательности являются одним из функционально важных классов повторов, которые участвуют в

организации центромерных районов хромосом. Вследствии высокой копийности tandemные повторы встречаются среди последовательностей прочитанных в ходе секвенирования геномов. Идентификация и комплексный анализ новых tandemных повторов в секвенированных контигах поможет при построении карт центромерных районов, а также будет способствовать созданию современной модели организации центромерной ДНК.

В настоящей работе с помощью компьютерного анализа секвенированной части генома мыши мы обнаружили два новых некодирующих tandemных повтора с длиной мономера 21 и 31 п.н., названных MSH₂₁ и MSH₃₁, соответственно. ПЦР и гибридизационный анализ подтвердили tandemную организацию выявленных повторов. Повторы MSH₂₁ и MSH₃₁ не гомологичны друг другу и известным мышинным сателлитам. В секвенированных контигах проекта “Геном мыши” выявленные повторы организованы в протяженные однородные массивы, редко прерываемые короткими фрагментами ретротранспозонов. Компьютерный анализ локализации повторов MSH₂₁ и MSH₃₁ в собранных контигах хромосом мыши показал, что эти последовательности расположены в перицентромерных районах нескольких хромосом и часто примыкают к массивам мажорного сателлита. Картирование выявленных повторов на метафазных хромосомах с помощью FISH показало, что эти последовательности являются специфичными маркерами перицентромерных районов групп хромосом мыши. В интерфазных ядрах повторы MSH₂₁ и MSH₃₁ формируют кластеры на границе хромоцентров, причем перицентромерные районы хромосом маркированные повтором MSH₂₁ или MSH₃₁ не принадлежат к одному хромоцентру.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛЕКУЛЯРНОГО СОСТАВА ТЕЛЕЦ КАХАЛА В ЯДРАХ ООЦИТОВ ГОЛУБЯ СИЗОГО (*COLUMBIA LIVIA*)

© Ходюченко Т.А., Красикова А.В., Гагинская Е.Р., Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург (Россия), spbchromas@gmail.com

Тельца Кахала (ТК), образующиеся в ядрах половых и соматических клеток, принимают участие в биогенезе малых ядерных (мя) и

ядрышковых РНК, которые необходимы для осуществления сплайсинга пре-мРНК и процессинга рРНК. Эти специализированные внутриядерные органеллы также содержат компоненты транскрипционных комплексов, такие как факторы транскрипции и субъединицы РНК-полимераз. ТК претендуют на роль универсальных ядерных органелл и имеют модульную организацию, свидетельствующую об изменчивости молекулярного состава и функций этих телец в зависимости от потребностей клетки. Считается, что аутоантиген коилин и мяРНК U7 служат маркерными компонентами, характерными именно для ТК. В то же время, хотя коилин и необходим для формирования единого ТК, ни коилин, ни ТК не важны для выживания организма. Таким образом, вопрос об универсальной природе ТК остается открытым. Удобным объектом для исследования функциональных внутриядерных компартментов являются гигантские ядра ооцитов птиц, которые характеризуются высоким транскрипционным статусом хромосом в форме ламповых щеток (ЛЩ). В ядрах таких ооцитов ТК до сих пор не были охарактеризованы. Однако, ранее описанные в ядрах ооцитов голубя сферические внутриядерные структуры — так называемые полые сферы (ПС) и плотные шары (ПШ), претендуют на роль аналогов ТК у птиц.

Проведенный анализ трехмерной архитектуры интактных ядер ооцитов голубя показал, что расположение ПШ и ПС внутри зародышевого пузырька не равномерное, а их общее количество может варьировать от нескольких структур до дюжины и более. Как правило, в более крупных ооцитах увеличение количества ПС коррелирует с уменьшением числа ПШ. Выявлены структуры, обладающие промежуточными мофологическими признаками между ПС и ПШ. ПШ и ПС редко ассоциированы с хромосомами и на макрохромосомах-ЛЩ 1, 2 и 3 не найдено локусов их формирования. В ходе исследования ядер ооцитов с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии мы обнаружили, что ПС и ПШ содержат нуклеиновые кислоты, так как окрашиваются высоко специфичным флуоресцентным красителем Sytox green. Вместе с тем, иммунофлуоресцентный анализ с использованием специфичных антител показал, что эти внутриядерные органеллы не содержат ДНК. Таким образом,

Вне программы

полученные результаты свидетельствуют о том, что в отличие от центромерных белковых тел, ПС и ПШ в ядрах ооцитов голубя обогащены РНК.

Исследование молекулярного состава обогащенных РНК внутриядерных телец ооцитов голубя проводили с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания как внутриядерных структур, так и целых ядер. На препаратах микрохирургически изолированного содержимого ядер ПС и ПШ специфически окрашивались с помощью антител R288 против консервативного С-концевого домена белка коилина. Таким образом, ПС и ПШ представляют собой возможные аналоги ТК в ядрах ооцитов голубя. С помощью программы LAS AF (Leica-Microsystems) проведено измерение интенсивности свечения внутриядерных структур после иммуноокрашивания, что позволяет говорить о сравнительных концентрациях белков в данных структурах и нуклеоплазме. Так, концентрация коилина в ПШ в среднем в шесть раз выше, чем в нуклеоплазме. В ПС основная часть белка локализована на поверхности структуры, а внутри нее уровень флуоресценции практически не отличается от нуклеоплазматического.

Мы обнаружили, что данные структуры также содержат Sm-белки, входящие в состав мяРНК, и триметилгуанозинный кэп, характерный для зрелых мяРНК, но не фактор сплайсинга SC35. Помимо ПШ и ПС, мяРНК выявляются на петлях хромосом ЛЩ, как и фактор сплайсинга SC35. Содержание мяРНК в ПШ и гигантских терминальных петлях, по сравнению с нуклеоплазмой, в среднем в три раза выше. Распределение мяРНК внутри ПС сходно с локализацией коилина в этих же структурах. Таким образом, характерный молекулярный состав ПС и ПШ позволяет предположить участие этих внутриядерных структур в биогенезе мяРНК U7.

Вместе с тем, аналоги ТК в ядрах ооцитов голубя не содержат белки ядрышек (NO38, Норр140 и фибрилларин), которые выявляются в ТК в ооцитах шпорцевой лягушки. При этом известно, что в ядрах ооцитов половозрелых самок голубя инактивирован ядрышковый организатор. Возможно, что формирование ТК, содержащих все характерные для этих структур компоненты, в ядрах ооцитов не является обязательным, что может

свидетельствовать о том, что они не являются универсальными внутриядерными органеллами. Присутствие в ядре тех или иных функциональных модулей ТК, по-видимому, отражает интенсивность процессинга продуктов транскрипции определенных групп генов. Работа выполнена при поддержке РФФИ (№08-04-01328-а) с использованием приборной базы ЦКП «ХРОМАС».

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ДОМЕНОВ ПОВЫШЕННОЙ И ПОНИЖЕННОЙ ПЛОТНОСТИ ГЕНОВ В РАЙОНЕ 19E1-4 ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© Хорошко В.А.^{1,2}, Демакова О.В.¹,
Болдырева Л.В.¹, ¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СОРАН, ²Новосибирский государственный университет asd@bionet.nsc.ru

В политенных хромосомах дрозофилы кроме прицентромерного гетерохроматина (ПГХ), содержащего в основном высокоповторенные последовательности ДНК, имеется около 250 районов так называемого интеркалярного гетерохроматина (ИГХ) (см. обз. Belyaeva *et al.*, 2008, *Chromosoma*, 117: 411–418). Эти районы располагаются в плечах хромосом и имеют много общих свойств с ПГХ, таких как плотная упаковка хроматина, задержка завершения репликации и связывание с белком SUUR. Белок SUUR, связываясь с гетерохроматиновыми районами политенных хромосом слюнных желез *D. melanogaster*, вызывает недорепликацию ДНК в этих районах. На препаратах политенных хромосом недорепликация в ИГХ приводит к образованию видимых «разломов». Удаление белка SUUR вызывает супрессию недорепликации гетерохроматина, в результате чего у мутантов *SuUR* районы ИГХ становятся полностью политенизированными, и «разломы» в районах ИГХ исчезают. Кроме того, у мутантов *SuUR* также частично повышается степень политенизации районов прицентромерного гетерохроматина и изменяется его цитологическая структура (Belyaeva *et al.*, 1998 *PNAS*, 95: 7532–7537; Makunin *et al.*, 2002, *Genetics*, 160: 1023–1034). Недавно у *D. melanogaster* были выявлены особенности распределения генов в районах поздней репликации и недорепликации в ИГХ политенных хромосом слюнных желез

(Бабенко и др., 2009, ДАН, 2009, 3: 407-410, Belyakin *et al.*, в печати). Авторы обнаружили, что по краям зоны недорепликации зачастую располагаются зоны повышенной плотности генов, в которых находятся короткие и часто перекрывающиеся гены. В самой зоне недорепликации располагаются длинные гены с большими интронами, перемежающиеся длинными межгенными промежутками. Кроме этого, в зонах недорепликации содержатся очень короткие гены, и значительная их часть представляет собой гены, экспрессирующиеся в семенниках самцов.

Целью данной работы было выявить соответствие границ зон недорепликации, зон повышенной и пониженной плотности генов дисковому рисунку политенных хромосом слюнных желез *D. melanogaster* методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) на примере района ИГХ 19E1-4. В работе мы использовали линию *D. melanogaster*, мутантную по гену *SuUR*, и контрольную линию дикого типа *Oregon-R*. Методом ПЦР с геномной ДНК, используя специфические праймеры, мы получили зонды из краев зоны недорепликации, участков максимальной плотности генов и зонды, ограничивающие зоны повышенной плотности генов и провели флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) на препараты политенных хромосом. В результате, мы установили, что зона недорепликации в этом районе точно соответствует диску 19E1-4, а внешние границы зон повышенной плотности генов приближаются к 19D району с дистальной стороны и к 19F с проксимальной стороны соответственно. Таким образом, мы впервые выяснили соответствие цитологической структуры и молекулярной карты в районе ИГХ. Разработанный нами подход даёт возможность построения подробных карт районов ИГХ, отражающих взаимное расположение всех проанализированных функциональных элементов в районах ИГХ. Дальнейшее изучение распределения генов в районах ИГХ и построение подробных карт даст дополнительный удобный инструмент для изучения закономерностей расположения генов в районах интеркалярного гетерохроматина *D. melanogaster* и откроет возможность изучения корреляции структурных особенностей гетерохроматиновых районов и

закономерностей расположения генов и функциональных элементов генома в них.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА СИСТЕМ ЦМС Р — И G — ТИПОВ ОЗИМОЙ РЖИ (*SECALE CEREALE L.*)

© Шимко В.Е.¹, Аксенова Е.А.¹, Ярмолинский Д.В.¹, Гордей И.А.¹, Картель Н.А.¹, Давыденко О.Г.¹, Гордей С.И.²,
¹ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», г. Минск e-mail: V.Shimko@igc.bas-net.by, ²РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», г.Жодино

Практическое использование эффекта гетерозиса у озимой ржи стало возможным после открытия Гейгером и Кобылянским в начале 70-х цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) (Geiger & Schnell, 1970; Кобылянский, 1982). ЦМС обусловлена специфической мутацией плазмогенов и наследуется по материнской линии. Восстановление фертильности осуществляется при взаимодействии цитоплазмы с плазмогенами стерильности (цит-s) и Rf генов восстановления фертильности. В настоящее время для практической селекции гибридных сортов озимой ржи используются два типа ЦМС: Р («Пампа») и G. Установлено, что ЦМС у ржи связана с реорганизацией митохондриального (мт) генома, приводящей к образованию химерных генов (или новых полицистронных транскриптов), которые обнаружены практически у всех исследованных ЦМС-форм. В ряде случаев удалось установить происхождение всех фрагментов химерных генов, однако чаще всего источник ряда последовательностей неизвестен. Установлено также, что мутантный мт геном корректируют ядерные Ms (Rf) гены — восстановители фертильности. Поэтому наши исследования направлены на изучение структурных особенностей мт генома ЦМС-форм G- и Р-типа с целью создания гетерозисных и высокопродуктивных гибридов диплоидной озимой ржи.

Объектами исследований являлись четыре линии озимой диплоидной ржи с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС) типа Р («Pampa») и G («Guelzow»). Известно, что митохондриальная ДНК(мтДНК) *Triticum timopheevi* (источник ЦМС для пшеницы) имеет химерный ген *orf256*, локализованный рядом с геном 1

субъединицы цитохром с оксидазы *coxI*. Нами был проанализирован участок мтДНК гомологичный району *orf256* *Triticum timopheevi*. Выделение тотальной ДНК проводилось из листьев ржи линий закрепителей стерильности, обладающих фертильной цитоплазмой, и их стерильных аналогов по методу [Draeger et al., 1991] в нашей модификации. Для каждой линии была взята ДНК отдельных растений. ПЦР анализ мтДНК исследуемых форм выполнен с двумя парами праймеров, разработанными Hedgcoth с соавторами (Hedgcoth, et.al., 2002), захватывающие участки генома длиной 482 и 719 п.о. Сравнение сиквенсов проводили с известными нуклеотидными последовательностями Интернет баз данных GenBank U93502.1 *Secale cereale*.

При сравнении первичных нуклеотидных последовательностей, была обнаружена одна нуклеотидная замена G₅₁₂T, приводящая к замещению валина на лейцин (V₁₃₆L) в консервативном домене. Для растений, имеющих мт геном Р-ЦМС и для закрепителей стерильности G-типа ЦМС (нормальная цитоплазма), в позиции 512 п.о. детектируется G₅₁₂ нуклеотид (V₁₃₆). Для ЦМС форм G- типа и закрепителей стерильности Р-типа ЦМС (нормальная цитоплазма) выявлен T₅₁₂ нуклеотид (L₁₃₆). При проведении сравнительного поиска ДНК базам данных не выявлено как полных, так и частичных гомологичных сиквенсов для вида *Secale cereale* (за исключением вышеупомянутого гена гипотетического белка 256 (ELF), проанализированного Hedgcoth с соавторами). Обнаруженные нуклеотидные замены (G — T), приводящие в результате к замене аминокислоты (V — L), послужат удобным инструментом поиска новых маркеров митохондриального генома *Secale cereale* для создания гетерозисных и высокопродуктивных гибридов диплоидной озимой ржи.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ ДОЗ ХИМИЧЕСКОГО СУПЕРМУТАГЕНА ЭТИЛЕНИМИНА НА ХРОМОСОМЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И НА РАЗНООБРАЗИЕ ПРИЗНАКОВ КОЛЛЕКЦИИ МУТАНТОВ

© Эйгес Н.С., Волченко Г.А., Волченко С.Г.,
Учреждение Российской академии наук
Институт биохимической физики им. Н.М.
Эмануэля РАН, Москва liv11@yandex.ru

Данная работа касается изучения коллекции мутантов озимой пшеницы, полученной с помощью химического этиленимина (ЭИ). Был использован широкий диапазон доз от 0,01 до 0,12% с интервалами через 0,01% при экспозиции 24 часа. Исходным материалом служил высокомутабильный сорт ППГ 186. В зависимости от цитогенетического эффекта дозы были нами подразделены на низкие 0,01-0,04%, средние 0,05-0,08% и высокие 0,09-0,12%. Низкие дозы оказались наиболее эффективными в отношении широты спектра мутационной изменчивости (выявлено более 50 типов мутантов), частоты хозяйственно-ценных мутантов. Исследование мейоза у этих мутантов показало, что он более нормализован по сравнению с мейозом у исходного сорта. У сорта ППГ 186, представляющего собой константный отдаленный гибрид, полученный при скрещивании озимой пшеницы с пыреем, в первой метафазе мейоза наблюдается гетероморфный бивалент и 1-2 бивалента открытого типа. Хромосомы этих бивалентов часто расходятся к полюсам преждевременно. Они или включаются в ядра диад первого деления мейоза, или определяют возникновение микроядер в диадах и тетрадах. У мутантов, возникающих при действии низких доз ЭИ, подобные нарушения в мейозе чаще отсутствуют, а также отсутствуют биваленты открытого типа. Более нормализованный мейоз у мутантов, возникающих при действии низких доз ЭИ, вероятно, можно объяснить появлением в результате мутации или мутаций генетического контроля мейоза. Хозяйственная ценность мутантов, возникающих при низких дозах ЭИ, вероятно, связана с более нормализованным мейозом, лучше озерненным продуктивным колосом и константностью. Все это определяется возникновением исключительно генных мутаций в данном

диапазоне доз. Каждый мутант этой группы несет не одну, а несколько мутаций. Генетический анализ показывает отсутствие плейоторопии. Репарационный процесс при действии диапазона низких доз ЭИ отсутствует, так как отсутствуют структурные нарушения в хромосомах. При действии высоких доз ЭИ спектр мутационной изменчивости, напротив, узок и включает в себя до 5-6 иных по сравнению с низкими дозами типов мутантов. Для этих доз характерны разрывы хромосом, приводящие к нарушениям генетического баланса, к нехваткам частей хромосом. Для мутантов этой группы характерны трисомии, моносомии и нуллисомии. Буферный компенсирующий эффект гомеологичных хромосом пшеничного генома позволяет выживать этим мутантам с многочисленными нарушениями ядерного аппарата, но выживаемость их понижена. Так же как мутанты, возникающие при действии низких доз ЭИ, мутанты в вариантах с высокими дозами характеризуются несколькими измененными признаками, однако их отличительной чертой является плейотропия, правда ложная, связанная с нарушениями хромосомного баланса. Для мутантов этой группы характерны пониженная фертильность, невысокая продуктивность колоса, отсутствие константности. Репарационные процессы при действии высоких доз ЭИ отсутствуют и отсутствуют конфигурации в мейозе, свидетельствующие о соединении разорванных концов хромосом. В вариантах со средними дозами мутагена возникают мутанты с генными мутациями, однако их спектр более узкий по сравнению с мутантами, полученными при действии низких доз. Имеются отличия по фенотипу и генотипу. Здесь имеются мутанты с селекционно-ценными признаками, которые могут быть использованы в селекции. Мутанты с нарушениями хромосомного баланса здесь также присутствуют, однако их спектры отличаются от таковых у мутантов, полученных при действии высоких доз. При действии средних доз было выделено 10-12 типов мутантов, включающих мутанты как с генными мутациями, так и с нарушениями ядерного аппарата. В отличие от действия высоких доз ЭИ, где отсутствует репарационный процесс по отношению к разрывам хромосом и нет соединений их разорванных концов, при действии средних

доз мутагена имеет место репарационный процесс. Он выражается в соединении разорванных концов и возникновении вследствие этого определенных типов мутаций — показатель наличия репарационного процесса. Помимо фрагментов, вызванных разрывами хромосом, в результате репарационных процессов возникают конфигурации хромосом, которые в мейозе в гетерозиготном состоянии имеют фигуры транслокаций и инверсий. Наличие подобных соединений разорванных концов хромосом мы считаем показателем возможности воссоединения и возвращения хромосом к исходной целостной структуре. Благодаря сходству влияния ЭИ в высоких дозах с влиянием быстрых нейтронов (плотноионизирующая радиация жесткого действия) в отношении частоты и спектра повреждений хромосом мы делаем заключение о радиомиметическом эффекте ЭИ в высоких дозах. В средних дозах ЭИ оказывает промежуточное действие на хромосомы, сходное с действием гамма-лучей (редкоионизирующая радиация, менее жесткого действия по сравнению с быстрыми нейтронами). В низких дозах ЭИ действует наиболее специфично, вызывая только генные мутации и широкий их спектр.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРИОТИПОВ ОБЫКНОВЕННОГО ПОГОНЫША (*PORZANA PORZANA*) И БОЛЬШОЙ СИНИЦЫ (*PARUS MAJOR*) МЕТОДОМ ХРОМОСОМНОГО ПЭЙНТИНГА

© Юдкин Д.В.¹, Ну В.², Волобуев В.Т.³, Фергюсон-Смит М.А.⁴, Ф.Янг⁵,

Графодатский А.С.¹, ¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск; ²Институт зоологии Куньмина, КНР; ³Музей естественной истории, Париж, Франция; ⁴Кембриджский университет, Великобритания; ⁵Институт Сэнгера, Великобритания, yudkin@ngs.ru

Класс Птицы (*Aves*) один из наиболее многочисленных классов позвоночных животных. В настоящее время насчитывается около 10000 видов птиц. Это самые яркие и заметные организмы на нашей планете. Значение птиц огромно, как в природных системах, так и в экономической и хозяйственной деятельности человека. Несмотря на это птицы очень слабо вовлечены в молекулярно-цитогенетические исследования. Это, в первую очередь связано с тем, что большая часть кариотипа

Вне программы

птиц представлена микрохромосомами. Они не подвергаются сортированию, поэтому все работы по сравнительному пэинтингу проводятся только с помощью проб макрохромосом. Используются макрохромосомы домашней курицы (*Gallus gallus*), как наиболее изученного и доступного вида птиц (Guttenbach et al., 2003, Kasai et al., 2003, de Oliveira et al., 2005 и другие).

Обыкновенная авдотка (*Burhinus oedicnemus*), один из немногих видов птиц, кариотип которого представлен только макрохромосомами. Если использовать набор пэинтинг-проб хромосом авдотки, можно провести очень подробный пэинтинг кариотипов разных видов птиц, построить сравнительные хромосомные карты и филогенетические деревья. И к настоящему времени сортированные хромосомы

обыкновенной авдотки получены (Nie et al., 2009).

В данной работе мы проводим описание кариотипов двух видов птиц, ранее не исследованных цитогенетически: обыкновенного погоныша (отряд журавлеобразные) и большой синицы (отряд воробьинообразные). И для синицы, и для погоныша показаны высокие числа хромосом (характерные для большинства видов птиц) и наличие большого числа микрохромосом. Получены дифференциальные окраски. Оба кариотипа исследованы с помощью проб хромосом авдотки. Выявлен высокий консерватизм птичьих кариотипов. Построены сравнительные хромосомные карты обыкновенной авдотки, обыкновенного погоныша и большой синицы.

Указатель авторов

Aitnazarov R.....	6	Stepanyan I.E.....	114	Галкина С.А.....	63, 65, 126, 128
Amariglio N.....	73	Trakhtenbrot L.....	73	Георгиева С.Г.....	105, 106
Arnoult N.....	31	Tu Z.....	46	Глазко Т.Т.....	11
Avdievich E.....	82	Vasilyan D.Z.....	114	Глазков М.В.....	10
Babenko V.N.....	6, 99, 107, 113	Villasante A.....	103	Гозак П.....	137
Bacchetti S.....	31	Villems R.....	41	Голенищев Ф.Н.....	58
Bailey J.....	46	Xia A.....	46	Голубцов С.В.....	125
Belyaeva E.S.....	6, 99, 107	Yang Fentang.....	62	Гордеева Е.Г.....	126
Belyakin S.N.....	99	Yudina O.S.....	84	Гордей И.А.....	140, 161
Blinov A.G.....	84	Zhdanova N.S.....	31	Гордей С.И.....	161
Bolobolova E.U.....	84	Zhimulev I.F.....	6, 99, 107	Горчаков А.А.....	150
Branchiamore S.....	46	Zoeller B.....	82	Графодатский А.С.35, 41, 57, 58, 60, 62, 163	
Brusentsova I. V.....	102	Zykov I.A.....	107	Григорьева Е.В.....	93, 94
Chang Long-Sheng.....	84	Адонина И.Г.....	52	Гришанин А.К.....	18
Dimitri P.....	103	Аксенова Е.А.....	161	Гулевич А.А.....	86
Dorogov N.V.....	84	Алексеев А.А.....	150	Гундерица Л. И.....	47
Draskovic I.....	31	Ананьев Е.В.	29	Давыденко О.Г.....	161
Dubatolova T.D.....	84	Ананьина Т.В.....	115, 124, 133, 146	Дадашев С.Я.....	81
Edelmann W.....	82	Андреев О.В.....	101, 104	Дакс А.А.....	65, 126
Fedorov L.M.....	82	Андреев Н.Г.....	101, 107	Данилевская О.Н.....	29
Fedorova S.A.....	41	Артемьев Г.Н.....	115, 116, 146, 152	Дейнеко Е.В.....	16
Ferguson-Smith M.A.....	62	Ахмедов М.Б.....	116	Делоне Г.В.....	157
Gessler M.....	82	Ахмедов Х.М.....	116	Демаков С.А. ..	101, 104, 107, 119, 123
Golovkina K.A.....	84	Ахмедова З.М.....	154	Демакова О.В.....	103, 160
Goncharov F.P.....	6, 113	Ахмедова Х.З.....	116	Дементьева Е.В.....	94
Gorchakov A.A.....	109	Бабенко В.Н.....	41, 99	Демидова И.А.....	75
Gruissem W.....	113	Бабочкина Т.И.....	118	Демин А.Г.....	127, 148
Hankeln T.....	114	Бадаева Т.Н.....	15	Дерюшева С.Е.....	65, 136
Hirshberg A.....	73	Баклушинская И.Ю.....	60	Дешевой Ю.Б.....	144
Hoskins R.....	103	Баранова Е.Н.....	86	Дженкинс Г.....	139
Ivanitskaya E.....	61	Беклемишева В.Р.....	35, 62, 163	Джонс Р.Н.....	139
Johnston A.....	113	Белова И.В.....	17	Дрозд С.Ф.....	10
Karagyan G.H.....	113	Беляев А.А.....	50	Дружкова А.С.....	41
Karamisheva N.V.....	31	Беляева Е.С.....	55, 99, 107	Дурнова Н.А.....	127
Karpen G.....	103	Белякин С.Н.....	99	Душкин М.И.....	147
Khusnutdinova E.K.....	41	Берешева А.К.....	75	Евтушенко Е.В.....	28
Kirioukhova O.....	113	Беркаева М.Б.....	104	Егорова Е.М.....	134
Kiseleva E.....	5	Билтуева Л.С.....	57, 62	Елисафенко Е.А.28, 91, 92, 93, 95, 141, 153	
Kneitz B.....	82	Блэки С.А.....	17	Еремин И.И.....	144
Kopyl S.A.....	84	Богданов Ю.Ф.....	81	Жимухев И.Ф.19, 23, 55, 99, 101, 103, 104, 107, 119, 132	
Kovalchuk I.....	113	Богомазова А.Н.....	11	Жукова О.А.....	92
Kraemer C.....	114	Болдырева Л.В.....	103, 160	Загоскин М.В.....	18
Krastanov B.....	114	Болтенгаген М.И.....	107	Зайцева Т.А.....	129
Kvon E.Z.....	99	Большева А.Л.....	66	Закиан С.М.....	92, 93, 94, 95, 141
Leimeister C.....	82	Борисов Ю.М.....	33	Захаренко Л.П.....	147
Leman S.....	46	Борунова В.В.....	5	Захаров И.А.....	64
Lomonte P.....	31	Букин Ю. С.....	120	Захарова И.С.....	95
Londño A.....	31	Булатова Н.Ш.....	53	Захидов С.Т.....	157
Maksimov D.A.....	99	Вагнер Т.В.....	94	Зеленин А.В.....	66
Matveeva E.....	113	Вайсфельд Л. И.....	121	Злотина А.М.....	65, 128, 136
Michailova P.....	114	Васенков Д.А.....	156	Зоткевич Е.А.....	19
Minina Y.M.....	31	Василевская Е.В.....	122	Зотова Н.В.....	129
Nevo E.....	61	Васильев С.К.....	41	Зыков И.А.....	107
Omelyanchuk L.V.....	84	Васина Е.М.....	11	Иванкин А.В.....	101
Pipoyan S.Kh.....	114	Васькова Е.А.....	94	Иорданская И.В.....	125
Rashkovetsky L.....	61	Ватолина Т. Ю.....	123	Иоффе Б.И.....	3
Rechavi G.....	73	Ведерников А.Е.....	124	Казанцева О.М.....	129
Riggs A.....	46	Вейко Н.Н.....	27	Калашникова Д.А.....	107
Rodin S. N.....	46	Вергун А.А.....	15	Картавцева И.В.....	59, 151
Rosenwald A.....	82	Вершинин А.В.....	28	Картель Н.А.....	161
Rubtsov N.B.....	31	Виноградова Е.Ю.....	77	Квитко О.В.....	130
Schmid M.....	82	Волкова Е.И.....	104	Квон Е.З.....	99, 104
Schmidt E.....	114	Волобуев В.Т.....	57, 163	Киреев И.И.....	137
Scotland L.....	102	Волченко Г.А.....	162	Кирильчик С.В.....	36
Sekine M.....	113	Волченко С.Г.....	162	Киселев С.Л.....	11
Sharakhov I.V.....	46, 102	Воробьева Н.В.....	35, 41, 57, 62	Киселева Е.В.....	144
Sharakhova M.V.....	46, 102	Воробьева Н.Е.....	106	Клочков Д.Б.....	5
Shilova I.E.....	84	Ворсанова С.Г.....	7, 8, 74, 75	Кокоза Е.Б.....	107
Shloma V.V.....	99	Высоцкая Л.В.....	45	Колесников Н.Н.....	91
Singh P.....	102	Гаврилов А.А.....	5	Колесникова Т.Д.....	55, 101, 107
Stanyon R.....	34	Гагинская Е.Р.64, 65, 122, 126, 128, 135, 136, 159			
Steiner V.....	31				
Steinlein C.....	82				

Коломиец О.Л.	60, 81	Мурашева М.И.	145	Соловей И.В.	3
Коломийцева Г.Я.	131, 151	Мурсалимов С.Р.	16	Соловьев И.В.	74, 75
Колотий А.Д.	75	Муталова М.К.	116	Сорокина Т.М.	126
Комиссаров А.С.	30	Мюге Н.С.	127, 148	Соснихина С.П.	139
Копытова Д.В.	105	Набурочкина Е.Н.	105, 106	Сошников Н.В.	106
Корниенко О.С.	45	Найденко П.В.	35	Спангенберг С.Е.	81
Королева А.Г.	36	Натяганова А. В.	120	Станион Р.	57
Короткевич Е.Ю.	144	Немирович-Данченко Н.М.	146	Староселец Я.Ю.	156
Корчагин В.И.	15	Нестеренко А.И.	35	Стегний В.Н.115, 116, 124, 133, 146, 152, 153, 158	
Коряков Д.Е.	132	Ни В.	163	Тараканова Т.К.	17
Коханенко А.А.	124, 133	Николенко Ю.В.	105, 106	Тимофеева И.Ю.	129
Кошкин В.А.	134	Новосельцева А.В.	129	Тимошкин О.А.	36
Кравец В.С.	75	Носова И.В.	66	Токарская О.Н.	15
Крамеров Д.А.	12	Овсепян В.А.	77	Томилин Н.В.	13
Красикова А.В.65, 122, 126, 135, 136, 143, 159		Овчинникова Ю.А.	48	Трифонов В.А.	19, 35, 57, 58
Краснов А.Н.	105	Омельченко А.В.	15	Урываева И.В.	157
Круглова А.А.	144	Онищенко Н.А.	144	Усманова Н.М.	13
Кузнецова В.Г.	50	Орищенко К.Е.	93	Усов К.Е.	158
Кузнецова И.С.	30	Павлова С.В.	53, 94	Федоров А.В.	30, 158
Кузьмина Ю.Л.	106	Панихин П.А.	17	Федорова И.А.	149
Кулемзина А.И.	57	Перельман П.Л.	57, 58	Фергюсон-Смит М.А. ...	35, 57, 58, 163
Куликова Т.В.	136	Перепелкина М.П.	147	Филлипс Д.	139
Курило Л.Ф.	126	Перепечева М.Л.	147	Филоненко Е.С.	5
Куриная О.С.	75	Пивоварова Е.Н.	147	Фисенко О.Ю.	116
Курчашова С. Ю.	137	Подгорная О.И.	30, 158	Хан С.	118
Куршакова М.М.	105	Подгорный О.В.	37	Хлесткина Е.К.	55
Лавров С.А.	100	Полуконова Н.В.	127, 148, 149	Ходюченко Т.А.	159
Лагарькова М.А.	11	Поляков В. Ю.	137	Холзгреве В.	118
Лайн С.	132	Попов К.В.	66	Хорошко В.А.	160
Ларкин Д.В.	35	Посух О.В.	55, 150	Цыбанков А.А.	41
Лебедев В.Г.	144	Потапова Н.К.	152	Чадов Б.Ф.	22
Левитес Е.В.	138	Потокина Е.К.	134	Ченцов Ю.С.	145
Лемская Н.А.	58	Прошкин С.А.	48	Честков И.В.	11
Лиер Т.	7	Прусов А.Н.	131, 151	Чубыкин В.Л.	82
Лимборская С.А.	76	Разин С.В.	5	Шабарина А.Н.	10
Ловцюс А.В.	139	Расулов М.Ф.	144	Шамина Н.В.	85
Лухтанов В.А.	50	Раутиан М.С.	19	Шварц Ю.Б.	102, 119
Люсигов О.М.	140	Рачинская О.А.	66	Шевелев Ю.Я.	100
Ляпунова Е.А.	60	Родионов А.В.	63	Шевелева Н.Г.	19
Ляпунова Н.А.	27	Родионова Н.С.	142	Шевченко А.И.	93, 94, 95, 141
Мазурок Н.А.	93	Розовский Я.М.	100	Шелковникова Т.А.	158
Макарова Ю.А.	12	Ройтер Г.	132	Шематорова Е.К.	48
Максимов Д.А.	99	Романенко С.А.	58, 60	Шидловский Ю.В.	105, 106
Макунин И.В.	23, 55	Рослик Г.В.	151	Шилейко Л.В.	126
Малахова А.А.	141	Рубцова Н.В.	35, 57, 58	Шилов А.Г.	95
Мальшева Д.Н.	15	Русакова А.М.	152	Шимко В.Е.	161
Маркель А.Л.	147	Рысков А.П.	15	Шлома В.В.	99
Марков А.В.	142	Рязанова И.Н.	67	Шпаковский Г.В.	48
Маркова Е.В.	129	Саблина О.В.	58	Шпаковский Д.Г.	48
Мартиросян И.И.	15	Сайджафарова А.О.	153	Шуныхов М.В.	41
Маршак Т.Л.	157	Салина Е.А.	52, 55, 134	Шутова М.В.	11
Маслова А.В.	143	Саматадзе Т.Е.	66	Щербань А.Б.	52
Матвеева Н.М.	144	Саприна Е.А.	8	Щипанов Н.А.	53
Матвеевский С.Н.	60, 81	Светлаков А.В.	129	Эйгес Н.С.	162
Матвиенко И.И.	134	Селезнева С.С.	129	Юдкин Д.В.	35, 156, 163
Махалова Н.А.	129	Семенихина Л.В.	154	Юркевич О.Ю.	66
Мергенталлер С.	118	Семешин В.Ф.	104, 107, 123	Юрлова А.А.	23, 55, 150
Мережко А.Ф.	134	Сергеева Е.М.	52	Юров И.Ю.	7, 8, 74, 75
Михайлова Е.И.	83, 139	Сердюкова Н.А.	58, 62	Юров Ю.Б.	7, 8, 74, 75
Монахов В.В.	75	Сидорович Г.И.	144	Янг Ф.	57, 58, 156, 163
Мороз Б.Б.	144	Сидорчук Ю.В.	16	Ярмолинский Д.В.	161
Морозова К.Н.	144	Ситников М.Н.	134	Яровая О.В.	5
Мосолов А.Н.	21	Смирнов А.Ф.	142		
Муравенко О.В.	66	Смирнова Т.А.	131, 151		
		Соколов В.А.	17		

Спонсорские страницы

Компания **ООО "Биоген-Аналитика"** основана в 2004 году и является

- авторизованным дилером **Beckman Coulter Int.S.A.** на территории России и стран СНГ - крупного производителя широкого спектра аналитического, молекулярно-биологического, биотехнологического и медицинского диагностического оборудования;
- официальным дилером фирмы **SEQUENOM, Inc.** – уникальное оборудование для качественного и количественного генетического анализа с применением метода масс-спектрометрии;
- официальным дилером фирмы **FUJIFILM** - оборудование и реактивы для выделения нуклеиновых кислот на спин-картриджах методом сорбции на революционной мембране.

Основными направлениями деятельности компании **ООО "Биоген - Аналитика" (БГА)** являются поставка, гарантийное и послегарантийное обслуживание, методическая поддержка, проведение тематических семинаров.

Компания **БГА** имеет обученный персонал, методистов, специалистов по продажам. Все сервисные инженеры проходят ежегодную переподготовку в центрах фирм-производителей **Beckman Coulter Int.S.A.**, **FUJIFILM**, **SEQUENOM**.

Высококвалифицированный персонал компании помогает найти решение поставленных научных задач на современном уровне с использованием инновационных технологий и продуктов, обеспечивает высокий уровень технической поддержки и обслуживания клиентов. Наши клиенты — ведущие научно-исследовательские организации и медицинские центры России, стран СНГ.

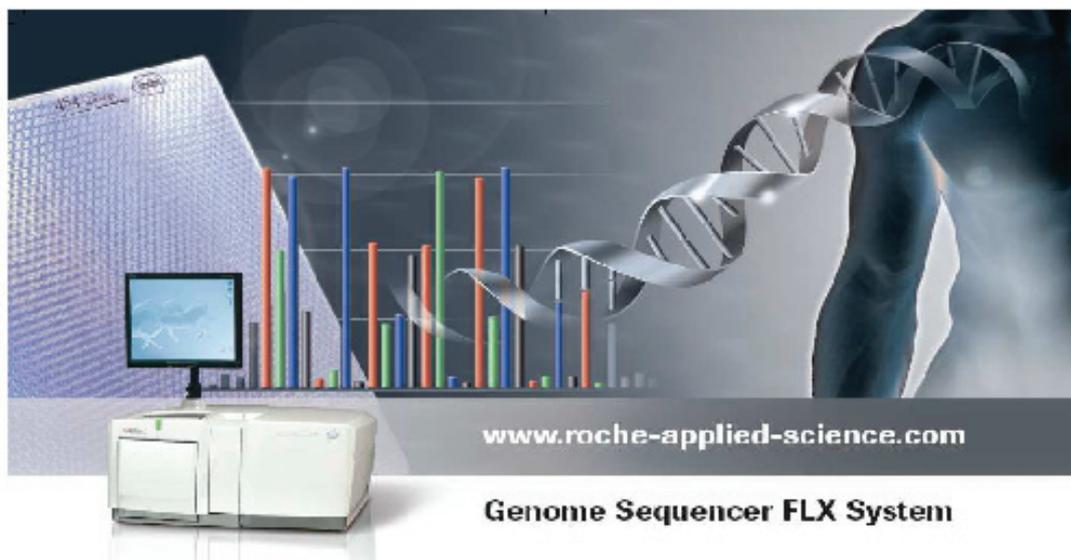
Компания **БГА** осуществляет таможенную очистку и доставку оборудования до лаборатории клиента. У нас можно приобрести не только приборы, но и любые запасные части, расходные материалы и реагенты.

Сайт компании <http://www.bga.su/>

Контакты в Москве:
E-mail: 6609780@bga.su
Тел.: (495) 6609780, 6609781, 2209485, 9267632
Адрес: 115093 Москва, Партийный пер., д.1,
корп. 58, стр.1, офис 34.

Контакты в Новосибирске:
E-mail: bga@academ.org
Тел./факс: (383) 3320749
Адрес: 630128 Новосибирск,
Демакова, д.30, офис 413.





Геномный секвенатор GS FLX

Полная картина генома

Уникальная высокоскоростная и высокопроизводительная система пиросеквенирования, основанная на технологии "454 Sequencing" от компании 454 Life Sciences

- Полногеномное секвенирование *de novo* и секвенирование ВАС
- Полногеномное ресеквенирование
- Секвенирование транскриптомов *de novo*
- Секвенирование EST (маркеров экспрессирующихся последовательностей)
- Секвенирование ампликонов
- Метагеномика и микробное разнообразие
- Исследования некодирующих РНК

ЗАО «Рош-Москва»
 Россия, 107031, Москва, Трубная пл., 2
 Бизнес-центр «Неглинная Плаза»
 Тел / факс: (495) 229-62-50 / 229-79-99
www.roche.ru
www.roche-applied-science.com
www.genome-sequencing.com

Технические характеристики системы GS FLX

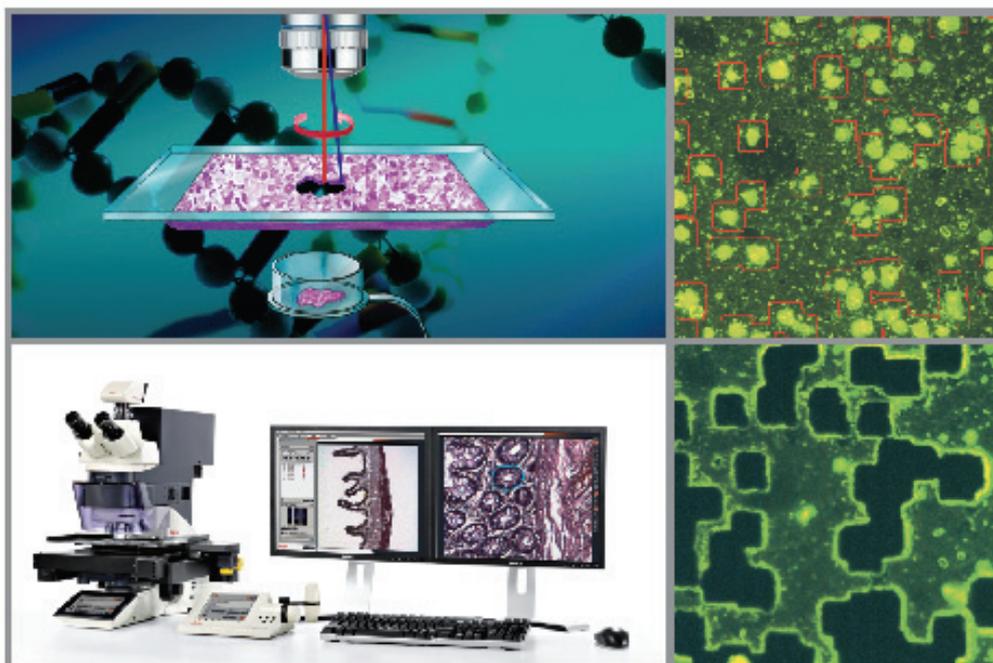
Общая производительность системы за постановку	= 500 млн. нуклеотидов (к концу 2009 года – 1 млрд. нуклеотидов)
Длительность постановки	9 часов
Количество читаемых фрагментов из библиотеки фрагментов ДНК или ампликонов	не менее 1 млн.
Количество считываемых нуклеотидов в каждом фрагменте с одного конца	= 400 нуклеотидов (к концу 2009 г. – 800 нуклеотидов)
Количество считываемых нуклеотидов в каждом фрагменте с двух концов (парные прочтения)	2 x 140-180 нуклеотидов
Расстояния между парными прочтениями	3, 8 или 20 тыс. нуклеотидов
Точность определения последовательности каждого фрагмента	не менее 99 %
Точность определения полной последовательности	не менее 99,99 %
Количество исследуемых образцов ДНК за одну постановку	до 192 образцов



454
 SEQUENCING

Living up to Life

Leica
MICROSYSTEMS



Идеальная микродиссекция

Система лазерной микродиссекции Leica LMD7000

- Луч лазера проходит через оптику микроскопа — разрезы делаются быстро и точно
- Препарат извлекается при помощи гравитации — без повреждений и загрязнения
- Адаптация лазера под различные препараты — для толстых, тонких, твёрдых и мягких тканей

Представительство Leica Microsystems в России:

123317, г. Москва,
ул. 3-я Красногвардейская, д. 3
тел. (495) 234-23-32
E-mail: leicam@dol.ru

199406, г. Санкт-Петербург,
В.О., ул. Наличная, д. 16А, оф. 219
тел. (812) 356-24-46
E-mail: leicas@ctinet.ru

630128, г. Новосибирск,
ул. Кутателадзе, д. 4г, оф. 510
тел. (383) 363-02-44
E-mail: office@leica-nsk.ru



OLYMPUS

Your Vision, Our Future

Компания Olympus, один из мировых лидеров в производстве оптических микроскопов, цифровых камер и аксессуаров, рада предложить Вам следующее высококачественное оборудование:

Лабораторные микроскопы

- Высокое качество изображения
- Равномерное освещение
- Модульная конструкция
- Эргономичный и компактный дизайн
- Простота в обращении

Исследовательские микроскопы

- Уникальная оптика UIS2, свободная от хроматических aberrаций и скорректированная в диапазоне от УФ до ИК
- Высокий контраст, разрешение и естественная цветопередача
- Отличное соотношение сигнал/шум
- Эргономичные и устойчивые штативы
- Моторизация – частичная или полная
- Специализированные модули и принадлежности

Конфокальные системы

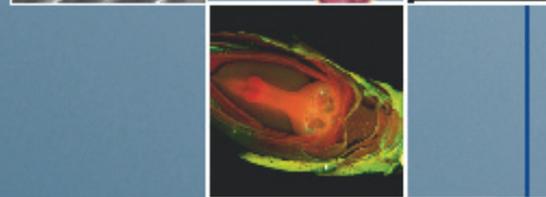
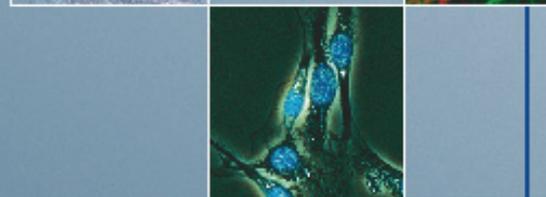
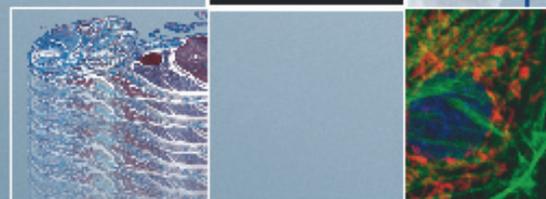
- Революционная концепция SIM сканера
 - Высокая разрешающая способность системы спектральной детекции – разрешение 2 нм
 - Непревзойденная чувствительность регистрации изображения
 - Широкий выбор лазеров
 - Специально разработанные конфокальные объективы
 - Легкость в обучении и управлении системой
- Новая революционная конфокальная система FV10iIII (см.оборот)

Цифровые камеры и анализ изображений

- Широкий выбор камер и программных продуктов self предоставляет многообразие решений для регистрации и обработки изображений в простых и сложных экспериментах

Специализированные системы

- LV200 – сверхчувствительная биолюминесцентная система для исследования живых клеток
- DotSlide – виртуальная микроскопия, система автоматического сканирования лабораторных препаратов
- scal^{AR} – интеллектуальная станция биоскрининга клеточных культур
- TIRFM – специализированная система флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения
- DSU – конфокальная система на основе вращающегося диска
- CellCut/SmartCut – системы лазерной микродиссекции



www.olympus.com.ru

Открыты представительства Olympus в Санкт-Петербурге и Новосибирске

OLYMPUS

За более подробной информацией обращайтесь:

OLYMPUS RUSS

Москва, ул. Электрозаводская, д.27, стр.8
тэл: +7 (495) 663 84 77, факс: +7 (495) 926 70 72
microscopy@olympus-rus.ru

Контактный телефон:
в Санкт-Петербурге: +7 (812) 925 94 14
в Новосибирске: +7 (383) 377 69 68

Metafer, Ikaros, Isis

www.metasytems.su

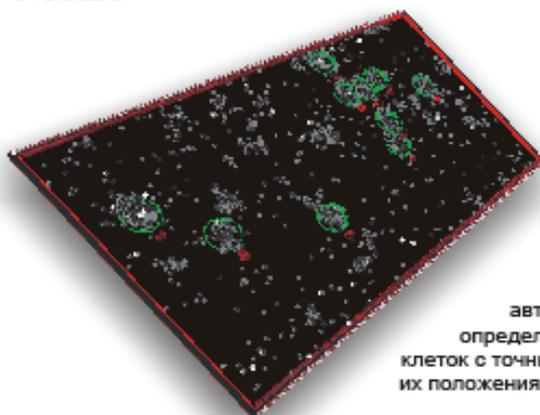
Достигните
непревзойденной
степени
автоматизации в
работе:

Платформа
Metafer является
самой
универсальной
системой
сканирования
препаратов



Система сканирования предметных стекол **Metafer** с опцией поиска метафазных хромосом **MSearch** и возможностью автоматической съемки на 630x или 1000x увеличении **Autocapt** полностью автоматизирует процесс поиска, сортировки и съемки метафазных пластинок при любых условиях окрашивания, таких как G-, Q-, R- и DAPI окрашивание.

Далее, высококачественные изображения могут быть открыты на станциях кариотипирования **Ikaros** или FISH анализа **Isis**, соединенных с **Metafer**, на которых можно приступить к анализу полученных изображений, в то время как **Metafer** продолжит поиск на следующих стеклах.



Возможность
автоматического
определения колоний
клеток с точным указанием
их положения на препарате

ООО "МетаСистемс"
119619, Россия, Москва
Производственная ул., 5

тел: +7 495 6 490 470
факс: +7 499 7 923 725

info@metasytems.su
www.metasytems.su

LSM 710 NLO/ LSM 7MP

LSM 710 NLO и LSM 7 MP идеально подходят для высокочувствительных исследований живых образцов или организмов. Обе системы отличаются непревзойденной чувствительностью. Прецизионные установки фемтосекундного лазера и максимально эффективное детектирование Non-Descanned обеспечивают качественное изображение в глубоких слоях ткани. Эксперименты по фотоотбеливанию и манипуляции можно проводить с очень большой точностью благодаря заданной 3D зоне возбуждения.

Превосходство в чувствительности



На правах рекламы

Carl Zeiss

в России и СНГ

www.zeiss.ru

105 005, **Москва**, Денисовский пер., 26 тел.: (495) 933 51 51 тел.: 8 800 2000 567, факс: (495) 933 51 55
E-mail: office@zeiss.ru; 197 022, **Санкт-Петербург**, ул. Академика Павлова, 5, литер «Е» тел.: (812) 702 08 11 факс: (812) 702 08 12 E-mail: office-spb@zeiss.ru; 630 058, **Новосибирск**, ул. Русская, 41/1, к.4 тел.: (383) 330 00 34 факс: (383) 330 00 35 E-mail: office-nsk@zeiss.ru; 620 028, **Екатеринбург**, ул. Татищева, 98, оф. 14 Тел./факс: (343) 251 52 62 E-mail: office_ural@zeiss.ru; 04070, **Киев**, ул. Ильинская, 14/6 тел.: +38 (044) 581 29 00 факс: +38 (044) 581 29 02 e-mail: office@zeiss.ua; 050 008, **Алматы**, ул. Шевченко, 146, оф.1 тел./ факс: + (727) 328-74-40 E-mail: office-kz@zeiss.ru; 700000, **Ташкент**, квартал Ц-1, 32/1а, тел.: +998 (71) 236-77-88, факс: +988 (71) 236-08-53, e-mail: info@zeiss.uz



We make it visible.

Материалы международной конференции «Хромосома 2009»
Конференция проводится при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям «РОСНАУКА» (государственный контракт №02.517.12.2006)

The conference is supported by the Federal Agency for Science and Innovation “ROSNAUKA” (government contract N02.517.12.2006)

Формат 60×84 1/8, 25 п. л. Тираж 200 экз.

Заказ № 516. 20.08. 2009

Отпечатано ЗАО РИЦ «Прайс-курьер» ул. Кутателадзе, 4г, т. 330-7202

SPONSORSHIP



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И
НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО НАУКЕ И ИННОВАЦИЯМ

The Federal Agency
for Science and Innovation “
ROSNAUKA”

OLYMPUS

Olympus



Roche Moscow Ltd.



MEDIGEN



Carl Zeiss



MetaSystems»



Leica Microsystems



Grohmann Ges.m.b.H.
BIOGEN-ANALITIKA