

**МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
ХРОМОСОМА 2015**



**ABSTRACTS OF THE
INTERNATIONAL CONFERENCE
CHROMOSOME 2015**



СОДЕРЖАНИЕ – TABLE OF CONTENTS

REGULATION OF REPLICATION FORK PROGRESSION AND ORIGIN FIRING <i>Alexander Jessica L., Hua Brian, Nordman Jared, and Orr-Weaver Terry L.</i>	12
CHROMOSOME 19 ENIGMA PURSUE: WHAT IS CURRENTLY UNRAVELED <i>Babenko Vladimir</i>	12
HYBRID INCOMPATIBILITIES AND HETEROCHROMATIN EVOLUTION <i>Barbash D.A.</i>	13
RESPONSES TO TELOMERE LOSS IN <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> <i>Bhandari Jay, Hill Hunter, Kurzhals Rebeccah, Fanti Laura, Titen Simon, Golic Mary, Lin Ho-Chen, Pimpinelli Sergio, Golic Kent</i>	14
FOUR DISTINCT TYPES OF EPIGENETIC DOMAINS IN <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> CHROMOSOMES <i>Boldyreva Lidiya V., Goncharov Fyodor P., Demakova Olga V., Zykova Tatyana Yu., Levitsky Victor G., Kolesnikov Nikolay N., Pindyurin Alexey V., Semeshin Valeriy F., Zhimulev Igor F.</i>	14
NEW MOLECULAR CYTOLOGICAL FEATURES OF THE STICK INSECTS (PHASMIDA) <i>Bugrov Alexander, Buleu Olesya, Karamysheva Tatyana, Liehr Thomas</i>	16
A ROLE FOR SEPARASE IN THE MAINTENANCE OF <i>DROSOPHILA</i> TELOMERES <i>Cipressa F., Borghi C., Morciano P., Bosso G., Mannini L., Galati A., Raffa G.D., Cacchione S., Musio A., Cenci G.</i>	17
FROM COLD WHITE HANDS TO THE EPIGENETIC LANDSCAPE OF THE HUMAN KINETOCHORE <i>Earnshaw W.C., Molina O., Martins N., Masumoto H., Kouprina N., Larionov V.</i>	17
COOPERATIVE ORGANISATION AND REGULATIN OF THE CHROMATIN IN CELL NUCLEI <i>Erenpreisa J and Giuliani A</i>	18
VISUALISATION OF CHROMATIN NETWORKS IN INTERPHASE CELL NUCLEI <i>Erenpreisa Je., Gerashchenko B.I., Salmina K., Krufczik M., Belyayev A., Pastova L., Hausmann M.</i>	19
THE MOLECULAR STRUCTURE AND INTERSPECIES VARIATION OF <i>CENH3</i> GENES IN THE <i>SECALE</i> GENUS <i>Evtushenko E.V., Gatskaya S.S., Lipikhina Yu.A., Houben A., and Vershinin A.V.</i>	20
IS SAC INSUFFICIENCY RESPONSIBLE FOR RECURRENT PREGNANCY LOSS IN HUMAN? <i>Fedorov Lev</i>	21
STUDYING KARYOTYPE EVOLUTION IN PARASITOID HYMENOPTERA: FROM CHROMOSOME NUMBERS TO DNA REPEATS <i>Gokhman V.E.</i>	22
INVADOLYSIN – AN ODYSSEY FROM CHROMOSOMES TO LIPID DROPLETS TO SERUM PROTEASE <i>Heck Margarete MS</i>	24

STRUCTURE AND REGULATION OF HOLOCENTRIC CHROMOSOMES <i>Houben A., Heckmann S., Marques A., Jankowska M., Schubert V., Fuchs J., Wei M., Pedrosa-Harand A., Macas J., Neumann P., Wanner G.</i>	25
FEATURES OF SUPRAMOLECULAR-GENETIC BIOCHEMISTRY OF INTERPHASE CHROMATIN DURING THE INDUCTION OF GROWTH MORPHOGENESIS OF MATURE EMBRYOS OF SPRING AND WINTER WHEAT <i>Ivanov R.S., Tereshenko L.M., Vafina G.H., Ivanova E.A.</i>	25
EVOLUTION OF NEO SEX CHROMOSOMES IN PAMPHAGIDAE GRASSHOPPERS <i>Jetybaev I.E., Bugrov A.G., Buleu O., Rubtsov N.B.</i>	27
EPIGENETIC REGULATION OF CHROMATIN STRUCTURE AND GENE EXPRESSION BY H3S10 PHOSPHORYLATION <i>Johansen J., Li Y., Wang C., Cai W., Sengupta S., Girton J., Johansen K.M.</i>	28
CHROMOSOMAL REARRANGEMENTS IN STATU NASCENDI OF VOLES "MAXIMOWICZII" GROUP (ALEXANDROMYS, RODENTIA) <i>Kartavtseva Irina, Sheremetyeva Irina, Gladkikh Olga, Lemskaya Natalia</i>	29
CHROMATIN STATES AND REPLICATION PATTERNS IN POLYTENE CHROMOSOMES OF <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> <i>Kolesnikova Tatyana D., Goncharov Fedor P., Boldyreva Lidiya V., Demakova Olga V., Zhimulev Igor F.</i>	30
FOX ASSEMBLY AND IDENTIFICATION OF GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH SELECTION FOR BEHAVIOR <i>Kukekova AV, Johnson JL, Rando HM, Liu S, Kharlamova AV, Herbeck YE, Gulevich RG, Vladimirova AV, Serdyukova NA, Beklemischeva VR, Graphodatsky AS, Shaohong F, Xiang X, Zhang G, Trut LN</i>	31
KARYOTYPE OF <i>MEGADENDROMUS NIKOLAUSI</i> DIETERLEN & RUPP, 1978, THE EXCEPTIONAL ENDEMIC ETHIOPIAN RODENT <i>Lavrenchenko L.A., Nadjafova R.S., Bulatova N.Sh.</i>	32
KARYOTYPICAL CHROMOSOME POLYMORPHISMS OF THE "ASIAN" LINEAGE OF <i>MICROTUS</i> VOLES <i>Lemskaya N.A., Kartavtseva I.V., Golenishchev F.N., Sheremetyeva I.N.</i>	33
BENIGN AND PATHOLOGICAL CHROMOSOMAL IMBALANCES - MICROSCOPIC AND SUBMICROSCOPIC COPY NUMBER VARIATIONS (CNVS) IN HUMAN GENETICS <i>Liehr Thomas</i>	34
ERRONEOUS ATTACHMENTS TO MICROTUBULES ARE PREVENTED BY THE ADAPTIVE CHANGES IN THE KINETOCHORE ARCHITECTURE <i>Magidson V., Paul R., Yang N., Ault J.G., O'Connell C.B., Tikhonenko I., McEwen B.F., Mogilner A. and Khodjakov A.</i>	34
PENDOLINO (PEO) A <i>DROSOPHILA</i> GENE REQUIRED FOR DNA REPLICATION AND TELOMERE PROTECTION <i>Marzullo M., Cenci G., Ciapponi L., Raffa GD., Morciano P., Raimondo D., Andreyeva EN., Burla R., Saggio I., Gatti M.</i>	35
GENOME RESPONSE OF MODEL INSECT SPECIES (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) TO ENVIRONMENTAL TRACE METAL POLLUTION <i>Michailova P., Ilkova J., Dean A., White K.</i>	36

GENETIC DISSECTION OF CHROMATIN REGULATION IN <i>DROSOPHILA</i> GERM LINE CELLS	
<i>Mietzsch S., Walther M., Rudolph T., Gebhardt K., Kessler J., Hause G., Reuter G.</i>	37
MECHANISMS OF TELOMERIC REPEAT SILENCING IN THE GERMLINE AND THEIR ROLE IN EARLY DEVELOPMENT IN <i>DROSOPHILA</i>	
<i>Morgunova Valeriya, Akulenko Natalia, Radion Elizaveta, Olovnikov Ivan, Kalmykova Alla</i>	38
MICROTUBULE FLUX IN THE MITOTIC SPINDLE OF <i>D. MELANOGASTER</i> S2 CELLS AND FRAP CURVE THEORY	
<i>Munzarova A.F., Bessmeltsev V.P., Vileyko V.V., Omelyanchuk L.V.</i>	39
DISSECTION OF THE MECHANISMS UNDERLYING KINETOCHORE-DRIVEN MICROTUBULE GROWTH: ANALYSIS OF THE ROLES OF MICROTUBULE DESTABILIZING KINESINS	
<i>Munzarova A.F., Pavlova G.A., Popova J.V., Razuvaeva A.V., Pindyurin A.V., Gatti M.</i>	39
WHAT KIND OF CHROMATIN MIGRATES BETWEEN CELLS DURING CYTOMIXIS?	
<i>Mursalimov Sergey, Sidorchuk Yuri, Permyakova Natalya, Demidov Dmitri, Houben Andreas, Deineko Elena</i>	40
MOUSE CHROMOCENTERS' DNA CONTENT IN SILICO AND IN SITU. LINE FRAGMENT AND ERVS ARE AN ESSENTIAL CHROMOCENTERS' COMPONENTS BESIDE TANDEM REPEATS	
<i>Ostromyshenskii D.I., Komissarov A.S., Kuznetsova I.S., Chernyaeva E.N., Vaysertreyger I., Podgornaya O.I.</i>	41
THE SF3A2 AND PRP31 SPLICING FACTORS ARE DIRECTLY REQUIRED FOR CHROMOSOME SEGREGATION	
<i>Pellacani C., Bucciarelli E., Renda F.; Hayward D., Palena A., Chen J., Bonaccorsi S., Wakefield J.G., Gatti M., Somma M.P.</i>	43
DISSECTION OF THE MECHANISMS UNDERLYING KINETOCHORE-DRIVEN MICROTUBULE GROWTH: ANALYSIS OF THE ROLES OF EB1, MAST/ORBIT, MARS/HURP AND MEI-38/TPX2	
<i>Popova J.V., Razuvaeva A.V., Munzarova A.F., Pavlova G.A., Pindyurin A.V., Gatti M.</i>	43
THE ROLE OF SUPPRESSOR OF UNDER-REPLICATION PROTEIN IN EPIGENETIC CONTROL AND REPLICATION OF THE REPRESSED REGIONS IN <i>Drosophila melanogaster</i> GENOME	
<i>Posukh O.V., Maksimov D.A., Skvortsova K.N., Koryakov D.E., Belyakin S.N.</i>	44
CHROMATIN STRUCTURE OF TELOMERIC piRNA CLUSTERS IN <i>DROSOPHILA</i> GERMLINE	
<i>Radion Elizaveta, Akulenko Natalia, Abramov Yuri, Kalmykova Alla</i>	45
B CHROMOSOMES IN <i>APODEMUS FLAVICOLLIS</i>	
<i>Rajičić Marija, Adnađević Tanja, Bugarski-Stanojević Vanja, Stamenković Gorana, Jojić Vida, Budinski Ivana, Jovanović Vladimir, Blagojević Jelena and Vujošević Mladen</i>	45
INT6 IS REQUIRED FOR PROPER MICROTUBULE DYNAMICS AT <i>DROSOPHILA</i> KINETOCHORES	
<i>Renda F., Pellacani C., Bucciarelli E., Sharp D.J., Gatti M., Somma M.P.</i>	47
CHROMOSOME MONO-ORIENTATION: MECHANISM AND RAMIFICATIONS	
<i>Rieder Conly L.</i>	47

MITOCHONDRIAL CHROMOSOME REARRANGEMENTS IN BAIKALIAN AMPHIPODS <i>Romanova E., Sirotinina E., Sherbakov D.</i>	48
TISSUE-TYPE SPECIFIC ELIMINATION OF B-CHROMOSOMES IN <i>AEGILOPS SPELTOIDES</i> TAUSCH <i>Ruban Alevtina, Macas Jiri, Schubert Veit, Badaeva Ekaterina, Houben Andreas</i>	48
GENOME MAPPING REVEALED SCAFFOLD MISASSEMBLIES AND ELEVATED GENE SHUFFLING ON THE X CHROMOSOME IN MALARIA MOSQUITOES <i>Sharakhov Igor V., Peery Ashley, Naumenko Anastasia N., Jiang Xiaofang, Hall A. Brantley, Artemov Gleb, Stegnyy Vladimir N., Sharakhova Maria V., Tu Zhijian</i>	50
ULTRASTRUCTURE OF MICROTUBULES DURING DIFFERENT STAGES OF DIVISION OF <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> S2 CELL CULTURE <i>Strunov A.A., Boldyreva L.V., Andreeva E.N., Omelyanchuk L.V., Pindyurin A.V., Gatti M., Kiseleva E.V.</i>	50
THE STUDY OF KARYOTYPE EVOLUTION HELPS TO IDENTIFY CRYPTIC SPECIES: A CASE STUDY IN <i>AGRODIAETUS</i> BUTTERFLIES <i>Vishnevskaya Maria S., Lukhtanov Vladimir A., Dantchenko Alexander V., Saifitdinova Alsu F.</i>	51
THE ROLE OF PHOSPHATASE INHIBITION BY UNFAIR COMPETITION IN CELL CYCLE PROGRESSION <i>Williams B.C., Filter J.J., Shalloway D., Goldberg M.L.</i>	52
CHROMOSOME FRAGILITY AND ABNORMAL REPLICATION IN FMR1 LOCUS IN FRAGILE X SYNDROME PATIENTS <i>Yudkin D.V., Kumari D., Usdin K.</i>	53
MTV, A TELOMERIC ssDNA-BINDING COMPLEX, PROTECTS <i>DROSOPHILA</i> TELOMERES AND RECRUITS RETRO-TRANSPOSON TO CHROMOSOME ENDS <i>Zhang Yi, Zhang Liang, Gao Guanjun, Rong Yikang S.</i>	54
ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНА В ЯДРАХ ЦИСТОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ <i>CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA</i> <i>Ананьина Т.В., Федоришин Д.А., Стегний В.Н.</i>	55
ТРАНСКРИПЦИОННО НЕАКТИВНЫЙ ХРОМАТИН В РАННЕМ РАЗВИТИИ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> <i>Андреева Е.Н.</i>	56
ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ <i>IN SITU</i> ГИБРИДИЗАЦИЯ МИКРОДИССЕКЦИОННЫХ ПРОБ Y-ХРОМОСОМЫ ПОЛОСАТОГО ОПЛЕГНАТА (<i>Oplegnathus fasciatus</i>) И ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РИБОСОМНОЙ РНК НА ПРЕПАРАТАХ МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМ <i>O. fasciatus</i> <i>Андреюшкова Д.А., Трифонов В.А., Хи Д., Сердюкова Н.А., Лемская Н.А., Беклемешева В.Р.</i>	58
МЕЖВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КОНТАКТОВ ХРОМОСОМ С ЯДЕРНОЙ ЛАМИНОЙ В ТРОФОЦИТАХ ЯИЧНИКОВ У ТРЕХ ВИДОВ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ <i>Артемов Г.Н., Широкова В.В., Сапунов Г.А., Стегний В.Н.</i>	59
ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ ГЕНА <i>CHD1</i> НА СТРУКТУРУ X-ХРОМОСОМЫ У САМЦОВ <i>D. MELANOGASTER</i> <i>Барановская И.Л., Макасе А.А., Конев А.Ю.</i>	60

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА ЛАСТОНОГИХ (PINNIPEDIA) <i>Беклемишева В.Р., Перельман П.Л., Лемская Н.А., Кулемзина А.И., Проскуракова А.Г., Графодатский А.С.</i>	61
СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИГАНТСКИХ ХРОМОСОМ ХИРОНОМИД (DIPTERA, CHIRONOMIDAE), ОБИТАЮЩИХ В ВОДОЁМАХ НА ЗАТРОНУТЫХ ЧЕРНОБЫЛЬСКИМ ВЫБРОСОМ ТЕРРИТОРИЯХ <i>Белянина С.И.</i>	62
ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР ADF-1 И ИНСУЛЯТОРНЫЙ БЕЛОК BEAF-32 НЕОБХОДИМЫ ДЛЯ ДЕКОМПАКТИЗАЦИИ ДНК МЕЖДИСКА 61C7/C8 ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ D. MELANOGASTER <i>Беркаева М.Б., Панкова Т.Е., Демаков С.А.</i>	64
КЛАССИЧЕСКАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА СТЕРЛЯДИ ACIPENSER RUTHENUS <i>Билтуева Л.С., Романенко С.А., Лемская Н.А., Гладких О.Л., Сердюкова Н.А., Кулемзина А.И., Воробьева Н.В., Графодатский А.С., Трифонов В.А.</i>	66
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МИТОЗА И ЭКСПРЕССИИ РЕПОРТЕРНЫХ ГЕНОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ <i>Бияшева З.М., Омелянчук Л.В., Темирбекова М.Н.</i>	67
ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ХРОМОСОМНЫХ ГИБРИДНЫХ ЗОН У МЛЕКОПИТАЮЩИХ <i>Булатова Н.Ш., Лавренченко Л.А.</i>	68
ВЛИЯНИЕ СПОНТАННОГО УРОВНЯ ФОКУСОВ γH2АХ НА РАДИАЦИОННО- ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОТВЕТ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА <i>Васильев С.А., Величевская А.И., Вишневская Т.В., Скрыбин А.А., Беленко А.А., Слетцов А.А., Грибова О.В., Старцева Ж.А., Лебедев И.Н.</i>	69
ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ДНК ИЗ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА DROSOPHILA VIRILIS НА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ КЛЕТОК СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ И ТРОФОЦИТОВ У БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ ГРУППЫ D. VIRILIS <i>Вассерлауф И.Э., Усов К.Е., Стегний В.Н.</i>	71
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА СОМАТИЧЕСКИХ И ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРЫСЫ <i>Васькова Е.А., Шерстюк В.В., Медведев С.П., Гопаненко А.В., Малыгин А.А., Кабилов М.Р., Карпова Г.Г., Закиян С.М.</i>	72
АМПЛИФИКАЦИЯ ДНК ХРОМОСОМЫ 6 В ВЫСОКОПОЛИПЛОИДНЫХ ЯДРАХ ТРОФОЦИТОВ CALLIPHORA ERYTHROCERHALA (CALLIPHORIDAE: DIPTERA) <i>Ведерников А.Е., Стегний В.Н.</i>	73
SWI/SNF КОМПЛЕКСЫ РАЗЛИЧНОГО СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА УЧАСТВУЮТ В РАЗНЫХ ЭТАПАХ ТРАНСКРИПЦИИ <i>Воробьева Н.Е., Мазина М.Ю., Николенко Ю.В., Краснов А.Н.</i>	74
ИССЛЕДОВАНИЕ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА: ХРОМОСОМНАЯ ПАТОЛОГИЯ ИЛИ РЕДКИЙ ВАРИАНТ НОРМЫ? <i>Гайнер Т.А., Матвеева В.Г., Каримова О.Г., Рубцов Н.Б., Карамышева Т.В.</i>	75
ВНУТРИВИДОВОЙ ХРОМОСОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ВИДА LASIOPRODOMYS MANDARINUS <i>Гладких О.Л., Романенко С.А., Лемская Н.А., Сердюкова Н.А., О'Брайен П., Картавцева И.В., Сморкачева А.В., Голенищев Ф.Н., Фергюсон-Смит М.А., Янг Ф., Графодатский А.С.</i>	77

ПЕТЕЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЕДИНИЦА ГЕНОВ HSP70 ЛОКУСА 87A7 D. MELANOGASTER <i>Глазков М.В., Шабарина А.Н.</i>	78
НОВЫЕ ДАННЫЕ О МЕХАНИЗМЕ ФОРМИРОВАНИЯ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА У DROSOPHILA MELANOGASTER <i>Головнин А.К., Мельникова Л.С., Костюченко М.В., Георгиев П.Г.</i>	79
ИНСТРУМЕНТЫ ЯДЕРНОЙ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИИ В АНАЛИЗЕ ФАЗ КИНЕТИКИ ЛОКАЛЬНОЙ УПАКОВКИ ХРОМАТИНА <i>Градов О.В.</i>	80
УСЛОВИЯ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЁВОК РОДА MICROTUS <i>Григорьева Е.В., Шевченко А.И.</i>	82
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ IN SILICO РАЗНЫХ ГРУПП ШУГОШИНОВ – ПРОТЕКТОРОВ КОГЕЗИИ ХРОМАТИД <i>Гришаева Т.М., Куличенко Д.А., Богданов Ю.Ф.</i>	82
ЛОКАЛИЗАЦИЯ G-КВАДРУПЛЕКСОВ В РАЙОНЕ ЛОМКОГО САЙТА FRAXA У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ЛОМКОЙ X-ХРОМОСОМЫ <i>Грищенко И.В., Дольский А.А., Усдин К., Юджин Д.В.</i>	84
СРАВНЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ РИБОСОМНЫЕ БЕЛКИ И рРНК, В ХРОМОСОМАХ ВИДОВ РОДА CHIRONOMUS <i>Гундерина Л.И., Голыгина В.В., Брошков А.В., Ермолаева О.В.</i>	85
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ДОМЕНОВ АКТИВНОГО И РЕПРЕССИРОВАННОГО ХРОМАТИНА ЧЕТВЁРТОЙ ХРОМОСОМЫ DROSOPHILA MELANOGASTER <i>Демидова Д.С., Сидоренко И.А., Зыкова Т.Ю.</i>	86
Р-ЭЛЕМЕНТЫ ВСТРАИВАЮТСЯ В 5' РЕГУЛЯТОРНЫЕ ОБЛАСТИ ГЕНОВ, ЛОКАЛИЗОВАННЫХ В МЕЖДИСКАХ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ D. MELANOGASTER <i>Демидова Д.С., Сидоренко И.А., Левицкий В.Г., Зыкова Т.Ю., Жимулев И.Ф.</i>	87
СТРУКТУРА КЛАСТЕРА ГЕНОВ рРНК ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ <i>Демин А.Г., Сайфитдинова А.Ф., Галкина С.А., Гагинская Е.Р.</i>	88
КЛОНАЛЬНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: СВЯЗЬ С ВНУТРИОПУХОЛЕВОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТЬЮ <i>Денисов Е.В., Скрябин Н.А., Геращенко Т.С., Васильев С.А., Паутова Д.Н., Завьялова М.В., Чердынцева Н.В., Перельмутер В.М.</i>	90
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ КЛЕТОК И ПОЛОВОГО РАЗМНОЖЕНИЯ У ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ РОДА VOLVOX <i>Десницкий А.Г.</i>	91
РАЗРУШЕНИЕ ЛАМИНА DMO В КЛЕТКАХ S2 ДРОЗОФИЛЫ ПРИВОДИТ К УДАЛЕНИЮ ХРОМАТИНА ОТ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ И К УВЕЛИЧЕНИЮ ЕГО ПЛОТНОСТИ В ЯДРЕ <i>Доронин С.А., Улянов С.В., Храмева Е.Е., Михалева Е.А., Флямер И.М., Гаврилов А.А., Гельфанд М.С., Разин С.В., Шевелев Ю.Я.</i>	93

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАСТИ ДРЕВНИХ ЛОШАДЕЙ АЛТАЯ И БУРЯТИИ: СРАВНЕНИЕ С СОВРЕМЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ <i>Дружкова А.С., Куслий М.А., Попова К.О., Юрлова А.А., Воробьева Н.В., Макунин А.И., Васильев С.К., Кабилов М. Р., Гуторова Н.В., Молодин В.И., Щербаков Д.Ю., Трифонов В.А., Графодатский А.С.</i>	94
КАРИОТИП МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ <i>Енукашвили Н.И., Галембо И.А., Шунькина К.В., Айзенштадт А.А., Смолянинов А.Б.</i>	95
СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОЛЕКУЛЯРНОЕ КАРИОТИПИРОВАНИЕ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА, ВНУТРЕННЕЙ КЛЕТОЧНОЙ МАССЫ И ДНК ИЗ ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ЖИДКОСТИ БЛАСТОЦИСТЫ ЧЕЛОВЕКА <i>Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н.</i>	96
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ Р ФАКТОРА В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> НЕ КОРРЕЛИРУЕТ С РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ Р МОБИЛЬНОГО ЭЛЕМЕНТА <i>Захаренко Л.П., Игнатенко О.М., Дорогова Н.В.</i>	98
ДИВЕРГЕНЦИЯ, КОНТАМИНАЦИЯ ИЛИ ПОЛИМОРФНОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ РЕФЕРЕНСНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЛИНИЙ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> <i>Захаренко Л.П., Игнатенко О.М., Илинский Ю.Ю.</i>	99
КООРДИНАЦИЯ СБОРКИ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ И ЯДЕРНЫХ ПОР В ИНТЕРФАЗЕ <i>Киселева Е.В.</i>	100
ЭВОЛЮЦИЯ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ В РОДЕ АНОЛИСОВ (ANOLIS) <i>Кичигин И.Г., Джиованотти М., Кабилов М.Р., Тупикин А.Е., Фергюсон-Смит М.А., Макунин А.И., Графодатский А.С., Трифонов В.А.</i>	103
ПОРА В АКТИНОВОМ КОРТЕКСЕ ДЕНДРИТА У СОЗРЕВАЮЩЕГО ОБОНЯТЕЛЬНОГО НЕЙРОНА: ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ МОНОАЛЛЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ОДОРАНТ-СВЯЗЫВАЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ <i>Клименков И.В., Судаков Н.П., Пастухов М.В.</i>	104
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ФАКТОРА СБОРКИ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОМАТИНА CHD1 В ОРГАНИЗАЦИИ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ <i>Конев А.Ю., Макасе А., Барановская И.Л., Игнатьева М.А.</i>	106
НОВАЯ ФУНКЦИЯ <i>JORC</i> - УЧАСТИЕ В ЭКСПОРТЕ мРНК <i>Копытова Д.В., Попова В.В., Куришакова М.М., Георгиева С.Г.</i>	107
ВЗАИМОРАСПОЛОЖЕНИЕ ХРОМОСОМ X И 4 В ПРОСТРАНСТВЕ ЯДЕР ТРОФОЦИТОВ <i>DROSOPHILA SIMULANS</i> НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПОЛИТЕНИЗАЦИИ <i>Коханенко А.А., Стегний В.Н.</i>	109
КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ЛОКУСОВ ФОРМИРОВАНИЯ ЯДЕРНЫХ ДОМЕНОВ <i>Красикова А.В., Куликова Т.В., Косякова Н., Лир Т., Злотина А.М.</i>	110
ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ БЕЛКА SU(HW) В ГЕНОМЕ ДРОЗОФИЛЫ <i>Краснов А.Н., Мазина М.Ю., Николенко Ю.В., Воробьева Н.Е.</i>	111

CHROMOSOMAL EVOLUTION OF AMNIOTES: COMPARING MAMMALS WITH BIRDS <i>Larkin D.M.</i>	112
БОЛЕЗНИ АРХИТЕКТУРЫ ГЕНОМА: ОТ ПРЕДСКАЗАНИЯ К ИНТЕРПРЕТАЦИИ КЛИНИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА <i>Лебедев И.Н.</i>	113
ПРОВЕРКА ГИПОТЕЗЫ О РОЛИ ПОЛИТЕНИИ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У РАСТЕНИЙ <i>Левитес Е.В., Кирикович С.С., Виниченко Н.А., Карташов М.Ю., Чаусов Е.В., Терновой В.А.</i>	114
ГЕН СФИНГОМИЕЛИНСИНТАЗЫ 1 ЧЕЛОВЕКА (SGMS1): ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И ЭКСПРЕССИИ <i>Лимборская С.А., Филиппенков И.Б., Рожкова А.В., Сударкина О.Ю., Дергунова Л.В.</i>	116
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ ЦЕНТРОМЕРНОГО ВАРИАНТА ГИСТОНА H3 (CENH3) У ТРИТИКАЛЕ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И УРОВНЯ ПЛОИДНОСТИ <i>Литихина Ю.А., Гацкая С.С.</i>	116
КИНЕТОХОРНЫЕ ПУЧКИ МИКРОТРУБОЧЕК РАСПРЕДЕЛЯЮТ ХРОМОСОМЫ В МЕЙОЦИТАХ В ОТСУТСТВИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО ВЕРЕТЕНА <i>Loginova D.B., Silkova O.G.</i>	118
ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОТИПА ПОСРЕДСТВОМ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И МЕЙОТИЧЕСКОЙ СЕГРЕГАЦИИ ХРОМОСОМ <i>Лухтанов В.А.</i>	119
РАННЕ-ПОЗДНИЕ ГЕНЫ ЭКДИЗОНОВОГО КАСКАДА КАК МОДЕЛИ ДЛЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ <i>Мазина М.Ю., Недилько П.Н., Фурсова Н.А., Николенко Ю.В., Краснов А.Н., Воробьева Н.Е.</i>	120
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРА CHN1 НА ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ В ХОДЕ РАЗВИТИЯ <i>Макасе А.А., Конев А.Ю.</i>	120
СЕКВЕНИРОВАНИЕ БИБЛИОТЕК СОРТИРОВАННЫХ В ХРОМОСОМ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ИХ ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ЭВОЛЮЦИИ <i>Макунин А.И., Кичигин И.Г., Ларкин Д.М., О`Брайен П.С.М., Фергюсон-Смит М.А., Янг Ф., Проскуракова А.А., Воробьева Н.В., Черняева Е.Н., О`Брайен С.Дж., Графодатский А.С., Трифонов В.А.</i>	122
РЕОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНА НА РАННИХ ЭТАПАХ РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ У ТРИТОНА <i>PLEURODELES WALTL</i> <i>Маркитантова Ю.В., Поплинская В.А., Григорян Э.Н.</i>	123
МЕХАНИЗМЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА <i>Маркитантова Ю.В., Смирнова Ю.А., Зиновьева Р.Д.</i>	124
АНАЛИЗ РЕКОМБИНАЦИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ И КОНФИГУРАЦИИ ХРОМАТИНА В ПРОФАЗЕ I МЕЙОЗА У СЛЕПУШОНОК <i>ELLOBIUS</i> <i>Матвеевский С.Н., Баклушинская И.Ю., Коломиец О.Л.</i>	126
БЕЛОК ЯДЕРНОГО МАТРИКСА EAST ВЛИЯЕТ НА ФОРМИРОВАНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО ИНСУЛЯТОРНОГО	

КОМПЛЕКСА У DROSOPHILA MELANOGASTER <i>Мельникова Л.С., Головнин А.К., Костюченко М.В., Георгиев П.Г.</i>	127
ПОИСК МЕЙОЗ-СПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВ У РЖИ <i>SECALE CEREALE L.</i> И МУТАНТОВ "ПЕТЕРГОФСКОЙ" ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ <i>Михайлова Е.И., Толкачева А.В., Мальцева А.Л., Волков К.В., Нижников А.А., Зыкин П.А.</i>	128
НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКА P1W1 В ЯДРЕ ДРОЗОФИЛЫ <i>Михалева Е.А., Столяренко А.Д., Якушев Е.Ю., Кленов М.С., Гвоздев В.А.</i>	129
КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ХРОМОСОМНЫМИ И СОМАТИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ <i>Натяганова А.В., Букин Ю.С., Тимошкин О.А.</i>	130
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ДВИЖЕНИЕ БОРДЮРНЫХ КЛЕТОК В ЯИЧНИКАХ ДРОЗОФИЛЫ <i>Огиенко А.А., Федорова Е.В., Пиндюрин А.В., Яринич Л.А., Баричева Э.М.</i>	132
БОЛЬШИЕ ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ В ГЕНОМАХ МЛЕОПИТАЮЩИХ IN SILICO И IN SITU <i>Остромышенский Д.И., Подгорная О.И.</i>	133
СОСТАВ ДНК ХРОМОЦЕНТРОВ МЫШИ IN SILICO И IN SITU. ФРАГМЕНТЫ LINE И ERV – ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ КОМПОНЕНТ ДНК ХРОМОЦЕНТРОВ КРОМЕ ТАНДЕМНЫХ ПОВТОРОВ <i>Остромышенский Д.И., Комиссаров А.С., Кузнецова И.С., Черняева Е.Н., Вайсертрейгер И., Подгорная О.И.</i>	135
НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ <i>Павлова Г.В., Пустогаров Н.А., Вергун А.А., Ревущин А.В., Рысков А.П.</i>	136
ПЕРВООПИСАНИЕ КАРИОТИПА МАЛОЙ ГИМНУРЫ <i>HYLOMYS SUILLUS MULLER, 1840 (EULIROTYRNHA, MAMMALIA)</i> ИЗ СЕВЕРНОГО ВЬЕТНАМА <i>Павлова С.В., Билтуева Л.С., Романенко С.А., Щинов А.В., Рожнов В.В.</i>	137
ОБЗОР УСПЕХОВ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ И ПРОБЛЕМ СБОРКИ ГЕНОМА ДО УРОВНЯ ХРОМОСОМ <i>Перельман П.Л., Графодатский А.С.</i>	138
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ СТЕРЛЯДИ <i>ASIPENSER RUTHENUS</i> В БЕССЕЙНЕ РЕКИ ОБЬ <i>Побединцева М.А., Кулемзина А.И., Воробьева Н.В., Сердюкова Н.А., Интересова Е.А., Корентович М.А., Зайцев В.Ф., Романенко С.А., Макунин А.И., Щербаков Д.Ю., Графодатский А.С., Трифонов В.А.</i>	139
ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК ПОМОЖЕТ ПРОЛИТЬ СВЕТ НА НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ ЭВОЛЮЦИИ <i>Подгорная О.И.</i>	140
ДЕКОНДЕНСАЦИЯ И ТРАНСКРИПЦИЯ ПРИЦЕНТРОМЕРНОЙ ДНК ПРИ ТЕПЛОВОМ ШОКЕ В КЛЕТКАХ ЛИНИИ U-937 И ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК <i>Пономарцев Н.В., Шилина М.А., Гринчук Т.М., Енукашвили Н.И.</i>	144

ЭКТОПИЧЕСКОЕ СВЯЗЫВАНИЕ ИНСУЛЯТОРНОГО БЕЛКА CHROMATOR С ПОЗДНО РЕПЛИЦИРУЮЩИМИСЯ РАЙОНАМИ В ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> НЕ МЕНЯЕТ СТАТУС РЕПЛИКАЦИИ	
<i>Похолкова Г.В., Андреенков О.В., Андрееenkova Н.Г., Волкова Е.И., Беляева Е.С., Демаков С.А.</i>	146
КАРИОТИПИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ РЫБ СЕМЕЙСТВА GOBIIDAE	
<i>Праздников Д.В.</i>	147
ПОСТРЕПЛИКАЦИОННЫЙ ХРОМАТИН, КАК ПРИЧИНА ФОРМИРОВАНИЯ ХРОМОСОМ И ХРОМАТИНОВЫХ ГЛЫБОК ИНТЕРФАЗНОГО ЯДРА	
<i>Рафаилов А.М., Рафаилова М.А.</i>	149
SALOMYSCUS. КАЖДАЯ ОСОБЬ – НОВЫЙ ВИД?	
<i>Романенко С.А., Маликов В.Г., Дэзвиш Д., Махмуди А., Голенищев Ф.Н.</i>	151
ГЕНОМИКА ОДНОПОЛЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ – ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ВИДОВ ЯЩЕРИЦ РОДА <i>DAREVSKIA</i>	
<i>Рысков А.П., Вергун А.А., Гирнык А.Е., Осипов Ф.А., Семенова С.К., Омельченко А.В., Петросян В.Г., Корчагин В.И.</i>	152
ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ТАНДЕМНОГО ПОВТОРА В СОСТАВЕ W ХРОМОСОМЫ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ	
<i>Сайфитдинова А.Ф., Комиссаров А.С., Галкина С.А., Кошель Е.И., Кулак М.М., О'Брайен С.Д., Гагинская Е.Р.</i>	153
МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ РАСТЕНИЙ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ УСЛОВИЙ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА	
<i>Саматадзе Т.Е., Зоцук С.А., Амосова А.В., Зеленин А.В., Муравенко О.В.</i>	155
ХРОМОСОМНАЯ ПРИПИСКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ SSR МАРКЕРОВ НА МОНОСОМАХ ХЛОПЧАТНИКА <i>G. HIRSUTUM</i> L	
<i>Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Макамов А.Ш., Усмонов Д.Е., Абдурахмонов И.Ю.</i>	156
ОСОБЕННОСТИ ЗАГРУЗКИ БЕЛКОВ ASY1 И ZYP1 В СТРУКТУРУ МЕЙОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ РЖИ ДИКОГО ТИПА И МЕЙОТИЧЕСКИХ МУТАНТОВ <i>sy1</i> И <i>sy19</i>	
<i>Симановский С.А., Иорданская И.В., Коломиец О.Л., Богданов Ю.Ф.</i>	158
ОСОБЕННОСТИ КАРИОТИПА ТРЕМАТОДЫ <i>HIMASTHLA ELONGATA</i> (<i>DIGENEA, ECHINOSTOMATIDAE</i>)	
<i>Соловьева А.И., Стефанова В.Н., Подгорная О.И., Демин С.Ю.</i>	160
ЭВОЛЮЦИОННАЯ ГЕНОМИКА ОСЕТРОВЫХ (ACIPENSERIDAE)	
<i>Трифонов В.А., Романенко С.А., Побединцева М.А., Кулемзина А.И., Воробьева Н.В., Сердюкова Н.А., Интересова Е.А., Корентович М.А., Зайцев В.Ф., Беклемишева В.Р., Билтуева Л.С., Гладких О.Л., Лемская Н.А., Макунин А.И., Кудрявцева А.В., Комиссаров А.С., Кливер С., Графодатский А.С.</i>	162
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА У КУРИЦЫ	
<i>Трухина А.В., Смирнов А.Ф.</i>	163
ХРОМОТРИПСИС ПОД МИКРОСКОПОМ: СЛУЧАИ ЛОКАЛЬНОЙ ФРАГМЕНТАЦИИ ХРОМОСОМ ПРИ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗЕ	
<i>Урываева И.В., Делоне Г.В., Маршак Т.Л., Дашенкова Н.О., Микаелян А.С.</i>	165
ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ АССОЦИАЦИИ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ	

ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> В ПРОЦЕССЕ ООГЕНЕЗА	166
<i>Усов К.Е., Вассерлауф И.Э., Стегний В.Н.</i>	
ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ <i>CHIRONOMUS PLUMOSUS</i> (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) ИЗ ВОДОЕМОВ УРАЛА И ЗАУРАЛЬЯ	167
<i>Филинкова Т.Н.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДЕРНОГО И МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМОВ ЗС-МЕТОДАМИ	169
<i>Фишман В.С., Баттулин Н.Р., Миронова И.В., Помазной М.Ю., Афонников Д.А., Мазур А.М., Хабарова А.А., Прохорчук Е.Б., Серов О.Л.</i>	
АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ВАРИАЦИЙ ГЕНОМА У ПОЛУЧАВШИХ ХИМИОТЕРАПИЮ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИЗ КАЗАХСТАНА	170
<i>Хрунин А.В., Хансеитова А.К., Алиев А.М., Балмуханов Т.С., Айтхожина Н.А., Лимборская С.А.</i>	
ОРИДЖИНЫ РЕПЛИКАЦИИ ЦЕНТРА ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ ПОЛЕВКИ <i>MICROTUS LEVIS</i>	171
<i>Шерстюк В.В., Шевченко А.И., Закиян С.М.</i>	
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИЙ ЭНДОМЕТРИЯ	172
<i>Шилина М.А., Гринчук Т.М.</i>	
Авторский указатель Authors Index	174

REGULATION OF REPLICATION FORK PROGRESSION AND ORIGIN FIRING

Alexander Jessica L., Hua Brian, Nordman Jared, and Orr-Weaver Terry L.^{1,2}

¹Whitehead Institute and ²Dept. of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA, USA
weaver@wi.mit.edu

We have used differential DNA replication during *Drosophila* development to investigate regulation of fork progression and origin activation. Inhibition of replication fork progression can cause common fragile sites in chromosomes and lead to decreased copy number in polytene cells. We showed that the Suppressor of Underreplication protein travels with replication forks and acts to inhibit or destabilize them, blocking replication of genomic regions. It was proposed that repeated firing of a replication origin could cause genomic instability if the newer replication fork caught up with the older fork. We exploited developmental amplification in ovarian follicle cells, which results from re-replication from specific origins, to test this hypothesis. Double-strand breaks indeed are produced at sites of multiple replication forks in these amplicons, and double-strand break repair is necessary for continued fork progression. Unexpectedly, nonhomologous end joining rather than homologous recombination is employed as the mechanism to repair and restore replication forks. Amplicon origins of replication were used to identify steps at which surrounding chromatin can influence origin activation by examining the effect of chromatin on amplification origins inserted at ectopic genomic sites. We found that chromatin can enhance or inhibit origin firing. Surprisingly, the chromatin at one genomic site blocks origin activation downstream of localization of the Origin Recognition Complex, Cdc6, and the MCM-loader DUP (Cdt1), preventing binding of the MCM helicase to the origin.

CHROMOSOME 19 ENIGMA PURSUE: WHAT IS CURRENTLY UNRAVELED

Babenko Vladimir

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
bob@bionet.nsc.ru

Chromosome 19 is the “gene cluster sack” of human genome: the gene density and a number of the tightly located gene family clusters are at least two times higher than in any other human chromosome. Curiously, the number of genes in the multitude of clusters varies substantially between individuals, making the chromosome 19 outstanding in Copy Number Variation (CNV) rate.

Noteworthy, the highest gene density is accompanied with the highest CpG islands density. It was revealed that, along with highest CpG density, chromosome 19 maintains the highest absolute number of hypermethylated CpGs. This fact may be connected with mechanism of extensive gene duplications.

The intense expression of chromosome 19 led to its invasion with a volume of transposable elements, endogenous retroviruses in particular. KRAB-ZNF clusters that are abundantly presented with chromosome 19 form specific HP1 heterochromatin blocks. It was recently elucidated that they perform defense network against endogenous retroviruses expression genome wide. We describe specific KRAB-ZNF gene structure along with providing possible hypothesis on mechanism of their duplication.

Along with ancient conservative genes, chromosome 19 comprises newly arisen mammalian specific gene expansions, including primate specific 49 fold miRNA cluster close to telomeric region of q arm with paternal expression in placenta, as well novel KRAB-ZNF gene clusters and olfactory receptors clusters.

The stress will be made on CpG islands distribution. As a conclusion, we speculate that the abundance of gene clusters and their maintenance puts chromosome 19 to a unique genetic variation and epigenetic landscape standpoint with specific evolutionary implications.

HYBRID INCOMPATIBILITIES AND HETEROCHROMATIN EVOLUTION

Barbash D.A.

Department of Molecular Biology and Genetics, Cornell University, Ithaca, New York, 14850, USA
barbash@cornell.edu

As populations diverge they develop incompatibilities with each other that cause reproductive isolation and eventually can become distinct species. The study of the genetic basis of hybrid incompatibilities between species can reveal the underlying evolutionary factors that contribute to species formation.

The fruitfly *Drosophila melanogaster* separated from its sibling species *D. simulans* ~1-3 million years ago. F1 hybrids between these species show unisexual viability, with the viable sex depending on the direction of crossing. We have studied these 2 independent hybrid lethality systems, and discovered that both implicate heterochromatin divergence as a contributor or cause of lethality. In the cross of *D. simulans* females to *D. melanogaster* males, F1 hybrid daughters die as embryos. These lethal embryos show extensive mis-segregation of a large block of satellite DNA that is specific to the peri-centromeric region of the *D. melanogaster* X chromosome. In the other direction of crossing, F1 hybrid sons die as larvae. We have cloned and characterized two genes contributing to this lethality, *Hybrid male rescue* and *Lethal hybrid rescue*. Both encode rapidly evolving proteins that localize to heterochromatin. We have further discovered that mutations in both genes within *D. melanogaster* cause derepression of transposable elements and satellite DNAs.

These findings have motivated recent deeper investigations into heterochromatin variation and its potential phenotypic consequences. In collaboration with Prof. Andrew Clark, we have discovered significant variation among *D. melanogaster* populations for the presence and abundance of simple (2-10 bp) satellite DNA repeats. We are also investigating the potential biological consequences of variation in telomere length, including possible effects on meiotic segregation.

RESPONSES TO TELOMERE LOSS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Bhandari Jay*¹, *Hill Hunter*¹, *Kurzhals Rebeccah*², *Fanti Laura*³, *Titen Simon*¹, *Golic Mary*¹,
*Lin Ho-Chen*¹, *Pimpinelli Sergio*³, *Golic Kent*¹

¹ Dept. of Biology, University of Utah, Salt Lake City, UT, USA

² Department of Biology, Southeast Missouri State University, Cape Girardeau, MO 63701, USA

³ Department of Genetics and Molecular Biology, University of Rome, “La Sapienza”, Rome, 00185, Italy

To maintain chromosome stability, the linear chromosomes of eukaryotes must be capped with telomeres. Loss of a single telomere is a particularly challenging form of genome damage, and most often results in apoptosis, rather than successful repair. Two forms of repair are known for this type of damage: healing, which refers to the addition of a new telomere on the non-telomeric end of a chromosome; or Break-Induced Replication (BIR), in which the broken chromosome copies information from another chromosome to replace the end that it is missing. *Drosophila melanogaster* is capable of using both mechanisms to repair this form of damage. The genetic control of chromosome healing, and differences in its occurrence between male and female germlines will be discussed. Basic properties of BIR will be described. Finally, the characteristics of dicentric chromosome breakage will be examined, specifically the clustering of breakpoints in a few preferred regions.

FOUR DISTINCT TYPES OF EPIGENETIC DOMAINS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* CHROMOSOMES

*Boldyreva Lidiya V.*¹, *Goncharov Fyodor P.*¹, *Demakova Olga V.*¹, *Zykova Tatyana Yu.*¹,
Levitsky Victor G.^{2,3}, *Kolesnikov Nikolay N.*¹, *Pindyurin Alexey V.*^{1,2,3}, *Semeshin Valeriy F.*¹,
Zhimulev Igor F.^{1,3}

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russia

² Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk 630090, Russia

Recently we have reported the characteristic protein composition of a set of 32 reference interbands in polytene chromosomes. Using genome-wide protein profiling data generated by the modENCODE Consortium, we focused our attention on the distribution of twelve interband-

enriched proteins, and developed a bioinformatic pipeline, which partitioned the *Drosophila* genome into four major chromatin types. One of these chromatin types (cyan) apparently corresponds to the interbands of *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes, whereas the remaining three (referred to as blue, green and magenta) are predominantly found in bands.

We show that cyan (interband-enriched) chromatin type tends to harbor regions around TSSes including proximal promoters and 5'UTRs of genes. It is highly enriched in diverse “open” chromatin proteins, histone modifications, insulators, nucleosome remodeling complexes, and transcription factors. More, cyan chromatin encompasses most of the tRNA genes; it also shows enrichment for non-coding RNAs and miRNA genes. Blue chromatin typically localizes immediately adjacent to and downstream of the cyan chromatin and encompasses gene bodies. Transition points from cyan into blue chromatin types are predominantly found within the first two protein-coding exons. This chromatin type is rich in proteins and histone modifications known to be involved in transcription elongation step, and is depleted for insulator proteins. We show that the frequency of point mutations and deletions is elevated within the regions of blue chromatin. Much like cyan chromatin, blue chromatin is enriched with miRNA genes. Green chromatin type shows pronounced enrichment for the insulator protein Mod(mdg4), histone modifications H3K36me1 and H3K27me2, as well as higher frequency of insertions of natural transposons. Finally, magenta chromatin, which, is thought to correspond to the highly compacted bands in polytene chromosomes including those classified as intercalary heterochromatin, is moderately enriched for proteins and histone modifications characteristic of the “closed” chromatin and is significantly depleted for the vast majority of chromatin proteins analyzed so far. Overall, magenta chromatin has lower frequency of point mutations, and is essentially devoid of miRNA and tRNA genes.

We show that each of the four chromatin types has highly specific protein composition. Two of the chromatin types – cyan and magenta – have contrasting properties, and their positions are highly stable across different cell lines (S2, Kc, BG3, and Cl8). These chromatin types correspond to two structurally opposing features of salivary gland polytene chromosomes: interbands (cyan) and dense bands (magenta). The remaining two chromatin types (blue and green) also display characteristic sets of associated proteins and histone modifications, as well as enrichment for specific genomic features. In the context of polytene chromosomes, they correspond to the remaining great number of faint-most bands and dense thin bands, accordingly. We speculate that the four chromatin types identified may be implicated in the maintenance of epigenetic states of chromatin domains.

NEW MOLECULAR CYTOLOGICAL FEATURES OF THE STICK INSECTS (PHASMIDA)

Bugrov Alexander^{1,2}, Buleu Olesya², Karamysheva Tatyana³, Liehr Thomas⁴

¹Institute for Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 630091 Novosibirsk, Russia. bugrov04@yahoo.co.uk

²Novosibirsk State University, 630090 Novosibirsk, Russia

³Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 630090 Novosibirsk, Russia

⁴Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Kollegiengasse 10, D-07743 Jena, Germany

Stick insects are one of the least studied group of insects concerning especially the cytogenetic aspect. There is information on the number and morphology of chromosomes only for about 50 species. Karyotypes from $2n = 20$ to $2n = 74$ were described; $XO\♂/XX\♀$ based sex determination system was reported (Makino, 1951; Hughes-Schrader, 1959; Craddock, 1975; Pijnacker, Ferwerda, 1980; Bianchi, Melado, 1998; Passamonti et al., 1999, Milani et al., 2010). Chromosome C-banding studies were performed in not more than 5 species (Masetti, Scali, 1986, Marescalchi, Scali, 1990; Manaresi et al., 1992; Tintia, Scalia, 2010).

Phasmida karyotypes are sparse compared to other orthopteroid insects due to the fact that many of these species are known only as parthenogenetic females, and for chromosome preparation most often male testis is used. For the present work chromosome preparations were obtained from 30-40-day-old embryos. We have studied the karyotypes of 5 species of stick insects: *Medauroidea extradentata* ($2n\♀ = 38$), *Sungaya inexpectata* ($2n\♀ = 44$), *Sipyloidea sipyilus* ($2n\♀ = 63-71$), *Peruphasma schultei* ($2n\♀ = 44$), and *Phaenopharos khaoyaiensis* ($2n = 68-70$). In 4/5 studied species two pairs of large metacentric chromosomes were observed while the remaining chromosomes were small, with unclear morphology. *Phaenopharos khaoyaiensis* karyotype included one large, one medium and one small pair of metacentric chromosomes, while the remainder chromosomes were acrocentric.

C-positive regions of chromosomes were localized in the centromeric regions of all chromosomes in the five studied species. However, localization of telomeric and intercalary C-block was more diverse and varied in the different studied species. One common features of all five karyotypes was a very large C-block, or even an heterochromatic arm in one chromosome pair. In *Peruphasma schultei* C-positive arms were revealed in a few pairs of chromosomes.

Using the method of fluorescence in situ hybridization (FISH) (Pinkel et al., 1986) we firstly analyzed the distribution of telomeric (TTAGG)_n and 18S rDNA repeats in chromosomes of all five studied Phasmida species. Telomeric repeats (TTAGG)_n were located primarily on the ends of chromosome arms. 18S rDNA probe hybridized within the largest C-positive region in all the karyotypes.

The latter is a specific feature of Phasmida karyotypes compared with another Polyneoptera.

A ROLE FOR SEPARASE IN THE MAINTENANCE OF DROSOPHILA TELOMERES

Cipressa F.^{1,3}, Borghi C.^{1,3}, Morciano P.^{1,3}, Bosso G.^{1,3}, Mannini L.², Galati A.^{1,3}, Raffa G.D.^{1,3}, Cacchione S.^{1,3}, Musio A.^{2,4}, Cenci G.^{1,3}

¹Department of Biology and Biotechnology "Charles Darwin" Section of Genetics, SAPIENZA University of Rome, Italy

²Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pisa

³Istituto Pasteur, Fondazione Cenci-Bolognetti

⁴Istituto Toscano Tumori, Firenze

Drosophila telomeres are elongated by transposition of specialized retroelements rather than telomerase activity, and are assembled in a sequence independent fashion. *Drosophila* telomeres are capped by a complex, terminin, which localizes and functions only at telomeres, protecting them from fusion. It has been proposed that terminin is functionally analogous to the shelterin complex that protects human telomeres. *Drosophila* telomere protection is also achieved by additional and evolutionarily conserved factors, such as HP1, that do not localize only at telomeres and do not play telomere-specific functions. We show that mutations in the *Drosophila* Separase-encoding gene *Sse* lead not only to endoreduplication but also telomeric fusions (TFs). We demonstrate that *Sse* physically binds both terminin and HP1 and that it is enriched at telomeres. Interestingly, loss of *Sse* strongly reduces HP1 levels. Overexpression of HP1 in *Sse* mutants suppresses TFs suggesting that they are due to reduction of HP1. A catalytically inactive *Sse* fails to restore HP1 levels and to reduce TFs indicating that *Sse*-endopeptidase activity is required for telomere protection. We also find that *Sse* forms a complex with Lamin Dm0, the *Drosophila* ortholog of human B-type Lamins. Moreover, *Sse* colocalizes with Lamin Dm0 around the nuclear envelope on intact salivary gland nuclei. Loss of *Sse* causes a decrease of Dm0 levels indicating that it does not only bind Dm0, but it is also involved in its turnover. In addition, genetic and molecular analyses indicate that *Sse*-dependent Dm0 regulation may be required for telomere maintenance in *Drosophila*. Taken together our results highlight an unprecedented function for Separase in the regulation of different factors to protect telomeres.

FROM COLD WHITE HANDS TO THE EPIGENETIC LANDSCAPE OF THE HUMAN KINETOCHORE

Earnshaw W.C.¹, Molina O.¹, Martins N.¹, Masumoto H.², Kouprina N.³, Larionov V.³

¹Wellcome Trust Centre for Cell Biology, University of Edinburgh, Edinburgh, UK

²Kazusa DNA Institute, Chiba, Japan

³National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

bill.earnshaw@ed.ac.uk

I will start by describing the discovery of human centromere proteins using sera from patients with scleroderma-spectrum autoimmune disease. This led to the modern era of kinetochore studies in which over 100 proteins have now been identified at kinetochores. One

insight that came from the use of these antibodies was the discovery that kinetochore assembly is regulated by an epigenetic mechanism. In stable dicentric chromosomes with two copies of the centromeric DNA sequences, only one centromere locus nucleates formation of a kinetochore.

Our more recent studies have been aimed at determining the chromatin landscape that promotes kinetochore assembly. I will describe studies using a synthetic Human Artificial Chromosome (HAC) that enables us to adjust the chromatin composition within the centromeric chromatin. These studies have revealed that heterochromatin is incompatible with kinetochore function. Indeed nucleating heterochromatin within an active centromere rapidly inactivates that centromere. We have gone on to show that centromere function appears to require ongoing transcription of non-coding sequences. This transcription occurs even though centromeres exist in an environment flanked by “deep” heterochromatin. Centromeres can apparently function in this environment because they are able to resist normal pathways of transcriptional inactivation by both Polycomb and classic heterochromatin. I conclude that synthetic biology offers a powerful approach to study chromatin function at centromeres.

COOPERATIVE ORGANISATION AND REGULATION OF THE CHROMATIN IN CELL NUCLEI

Erenpreisa J¹ and Giuliani A²

¹Latvian Biomedical Research & Study Centre, Riga

²Istituto Superiore di Sanità, Rome

katrina@biomed.lu.lv

After discovery of the linear genetic code, there is a need to understand the material basis of whole genome regulation in development and differentiation. The chromatin Hi-capture techniques gave some hints about this issue confirming the inter-chromosome networking by transcription hubs. In turn, heterochromatin also forms ectopic links by homology of non-transcribed reiterated sequences, likely assisted by ssDNA breaks and LINE1 RNA. The model of integrative network of the transcription-splicing hubs converging lateral loops of active chromatin in the alveoles of the heterochromatin network, which are repulsing them (this network is edged by chromosome backbones) is suggested. It is also suggested that certain blocks of heterochromatin with nested clusters of transposable elements mark the permanent matrix of radial Rabl orientation of interphase chromosomes preserved through mitosis (by the Boveri rule). The 3D positional information necessary for regulation stems from ectopic links of intercalary heterochromatin unique for each tissue type superimposed to the Rabl spatially invariant matrix. This 3D order is established in S-phase by the spatial code of replication timing along individual chromosomes coupled to epigenetic chromatin profiling and becomes fixed through mitosis. The tandemly arranged along chromosomes invariant topological megadomains (TADs=

chromomeres=replicon clusters=co-expressing gene clusters) are the units, which cooperatively specify these unique settings of tissue-specific positional information provided by heterochromatin by the principles of self-organisation.

VISUALISATION OF CHROMATIN NETWORKS IN INTERPHASE CELL NUCLEI

Erenpreisa Je.¹, Gerashchenko B.I.^{1,2}, Salmina K.¹, Krufczik M.³, Belyayev A.⁴, Pastova L.⁴, Hausmann M.³

¹Latvian Biomedical Research&Study Centre, Riga

²R.E. Kavetsky Inst. Natl Acad Sci Ukraine, Kijev

³University of Heidelberg – Kirchhoff-Institute for Physics

⁴Botanical Inst. Czech Acad. Sci, Prague

katrina@biomed.lu.lv

In old cytological books the chromatin network in animal cell nuclei was considered an artifact of precipitating fixation. Still currently with renewal of the interest to the whole genome regulations, the supra-chromosomal nuclear organization and architecture are in focus of interest. We report the visualization of network-like image patterns observed in rat thymocytes, human cervix, breast and ovarian cancer cell lines microscopically resolved by several methods: (1) electron microscopy (EM) of whole nuclear mounts and in ultrathin sections by TEM; (2) super-resolution fluorescent microscopy of cells grown on coverslips, and (3) conventional fluorescent microscopy applying an image analysis algorithm based on filtration steps. Isolated rat thymocyte nuclei were studied after treatment with 1/10 Hanks solution, heparin or bleomycin/Hanks for 2-25 min treatments; ovarian embryonal carcinoma PA1 was treated with 8 μ M Etoposide (ETO) for 20h and studied after fixation on days 4 and 5. For fluorescent microscopy the cells were stained solely or in combinations of antibodies to inactive heterochromatin H3K9Me3, DNA strand breaks gamma-H2AX, lamin B1, epichromatin PI2-6 (from A.&D.Olins), 5'-Methyl-Cytosine, counterstained by DAPI. In addition, FISH for Alu transposable elements was performed on PA1_ETO model.

Surprisingly, in all cases we reveal an alveolar network edged by DAPI-positive material with a constant size of alveoles (1-2 μ m in diameter). It is not seen by eye in DAPI-stained nuclei of non-treated cells but is very well revealed by super-resolution microscopy with H3K9Me3 staining. Visualisation of the network by EM is favoured by heparin-induced solubilisation of euchromatin ‘precipitating’ the alveoli with characteristic knobby edges \sim 0.1 μ m thick in G1, while the knobs are seen as doublets in G2; these knobby strands with occasionally laterally originating transcripts are also well seen on ultrathin sections of the epoxy-embedded material (previously published, Erenpreisa 1990). After solubilisation of most chromatin by short bleomycin treatment, the thin carcasses of alveoli of the same size are still preserved. After ETO-treatment many deeply senescent cells are revealed on days 4-5. They display a network with the

same size of alveoli, however possessing thickened edges (0.5-0.8 μm), composed of tightly apposed H3K9Me3-knobs, readily seen in CFM. Alveolar network is also DAPI and 5'Methyl-cytosine-positive, contains multiple gamma-H2AX- and tandems of Alu-positive foci. The alveoles are nearly label-free inside. These cells arrested in G2, which were unable to repair DNA damage, show dissolution of lamin B1 and loss of contact of peripheral chromatin with it. On the contrary, rare polyploidising cells in S-phase retain homogenous DAPI-rich nuclei with decondensed chromatin, and do not display this network.

We conclude that our data indicate supra-chromosomal network-like structures closely correlated to the heterochromatic “backbones” of the chromosomes in nuclei of animal cells. These structures seem to be scaled in dimensions near or even below the diffraction-limit of resolution of light microscopes. Their integrity should be supported by very strong covalent bonds. Visualization in general seems to be favoured by inactivation of transcription or lysis of nuclease-labile DNA in parallel with compaction of inactive chromatin, as well as by disintegration of lamin B1. In fact, by all these features the observed alveolar network-like structure resembles image patterns known from premature chromosome condensation, confirming the hypothesis of its principle chromosomal origin.

THE MOLECULAR STRUCTURE AND INTERSPECIES VARIATION OF *CENH3* GENES IN THE *SECALE* GENUS

*Evtushenko E.V.*¹, *Gatskaya S.S.*¹, *Lipikhina Yu.A.*¹, *Houben A.*², and *Vershinin A.V.*¹

¹Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

²Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany
evt@mcb.nsc.ru

Rye (*Secale*) is a small cereal genus in the tribe *Triticeae* together with wheat (*Triticum*) and barley (*Hordeum*). Unlike most grain crops, rye is unique in that it is diploid and allogamous (Lundqvist, 1956). Traditional rye species are panmictic populations characterized by high levels of heterozygosity and heterogeneity (Chebotar et al., 2003) and relatively low reproductive barriers between species. It may have resulted from outcrossing pollination and easy interspecies hybridization. Some members of the *Secale* genus are inbreeding, e.g., *S.africanum* reported to be endemic in South Africa. Genus *Secale* includes allogamous and autogamous plants, annual and perennial species which have various ability to outcrossing. Therefore, it is of special interest to investigate the molecular organization of the centromere-specific variant of histone H3 (*CENH3*) and its variability among rye species with different reproduction habit, life cycle, and the degree of endemism.

We characterize coding *CENH3* sequences in five subspecies of the annual *Secale cereale* L. species (*S. afghanicum*, *S. ancestrale*, *S. dighoricum*, *S. segetale*, and *S. vavilovi*), two varieties

of the cultivated *S. cereale* subspecies, five subspecies of the perennial species *Secale strictum* C. Presl. (*S.africanum*, *S.anatolicum*, *S.ciliatoglume*, *S.kuprijanovii*, and *S.montanum*), and the annual species *S.sylvestre* Host. We determined boundaries of seven exons and six introns of the *CENH3* gene. Transcripts of two different *CENH3* copies were found: ScCENH3-1 and ScCENH3-2. Copies of ScCENH3-1 were found in all subspecies studied. Copies of ScCENH3-2 present in perennial (*S. strictum* and *S.anatolicum*) and annual (*S.cereale* and *S.afghanicum*) subspecies. The ScCENH3-2 sequence differs from ScCENH3-1 by a deletion in the N-terminal region and an insertion in the histone fold domain (HFD). It shows several silent and nonsynonymous mutations with 85% nucleotide identity. In addition to CENH3-1 and CENH3-2 the transcripts included variants with altered lengths of the N-terminal region and HFD which most likely resulted from alternative splicing. Comparison with the CENH3 sequences from wheat species revealed that most differences localize in the histone fold domain of CENH3-2.

No ScCENH3-2 copies or alternative splicing products were found in inbreeders: the *S. sylvestre* species and *S. vavilovii* subspecies. The perennial inbreeder *S. africanum* produces the ScCENH3-2 transcripts only from the N-terminal region. The wild *S. kuprijanovii*, grown in undisturbed environments, produced neither CENH3-2 transcripts nor alternative splicing products. We revealed positive selection of *CENH3* only in few sites of several rye subspecies. Therefore, it is more likely that the diversity in the *Secale* genus stems from two divergent *CENH3* copies, alternative splicing variants, and their combinations in various rye accessions. The presence of multiple *CENH3* forms may be part of the reproductive barrier between outbreeding species, which supports the existence of individual species and subspecies in the *Secale* genus.

IS SAC INSUFFICIENCY RESPONSIBLE FOR RECURRENT PREGNANCY LOSS IN HUMAN?

Fedorov Lev

Transgenic Mouse model Shared Resource, Oregon Health & Science University, Portland, OR, USA

Aneuploidy is currently considered the main cause of recurrent pregnancy loss (RPL), defined as the occurrence of three or more consecutive pregnancies that end in miscarriage in the early stages of prenatal development. Only 30% of human embryos develop up to live birth, whereas a majority of them die between conception and implantation or on initiation of implantation, prior to a woman becoming aware that she was pregnant (Macklon et al. 2002; Koot et al. 2011). Hundreds of cytogenetic studies of the IVF embryos from RPL parents and spontaneous abortions after several weeks of gestation revealed chromosomal abnormalities in at least 50% -85% of cases. Furthermore, a majority of abnormal embryos have diploid/aneuploid

mosaicism with different proportions of aneuploid cells. In spite of the significant bulk of accumulated cytogenetic information, little is known about the underlying molecular defects resulting in diploid/aneuploid mosaicism and subsequent failure of pre-and post-implantation embryo development.

Spindle assembly checkpoint (SAC) is an evolutionarily conserved mechanism regulating cell division in all eukaryotes, from unicellular organisms like yeast to mouse and human. We suggest that defects of the Spindle Assembly Checkpoint (SAC) are responsible for aneuploidy and the subsequent abortions. To develop our hypothesis we modeled this process in the mouse after inactivation of protein BubR1, one of the key players of SAC. We found that soon after implantation more than 50 % of cells of BubR1^{-/-} embryos were aneuploid and had an increased level of premature sister chromatid separation (PSCS). Aneuploid cells do not have a predominant gain or loss of some specific chromosomes, but they have mosaic variegated aneuploidy (MVA), which is characterized by random mixture of different chromosomes. MVA leads to growth retardation, stochastic massive apoptosis, disruption of bilateral symmetry and embryo death between embryonic days 7.5 to 13.5. Analysis of published human data revealed that human RPL embryos and rare infant patients carrying BubR1 mutations that have been described so far have the PSCS and MVA similar to BubR1 deficient/ insufficient mice. Based on this data we predict that deficiency/insufficiency of BubR1 and other components of the SAC in human are responsible for aneuploidy and the following abortions.

References

Tian Q et al., Complex cytogenetic analysis of early lethality mouse embryos. *Chromosome Res.*, (2011) 19: 567-74.

Schmid M et al., Mosaic variegated aneuploidy in mouse BubR1 deficient embryos and pregnancy loss in human *Chromosome Res.*, (2014) 22: 375-392.

STUDYING KARYOTYPE EVOLUTION IN PARASITOID HYMENOPTERA: FROM CHROMOSOME NUMBERS TO DNA REPEATS

Gokhman V.E.

Botanical Garden, Moscow State University, Moscow, Russia
vegokhman@hotmail.com

Parasitoid Hymenoptera are one of the most abundant, taxonomically complicated and economically important insect groups. Chromosomes of more than 470 parasitoid species are studied up to now; however, this value constitutes less than 0.1% of described species of this group. Among parasitoid Hymenoptera, the haploid chromosome number (n) varies from 3 to 23, with apparent modes at 6 and 11. Until recently, the maximum of two B chromosomes per diploid

set was recorded for this group, but we were able to find up to six B chromosomes in the karyotype of *Pnigalio gyamiensis* (Eulophidae; $2n = 12 + 0-6B$).

Closely related species of parasitoids can differ in their chromosome numbers and other karyotypic features. Specifically, in the genus *Leptopilina* (Figitidae), both *L. heterotoma* and *L. victoriae* have $n = 10$, whereas *L. boulandi* from another species group has $n = 9$. Moreover, haploid karyotype of *L. boulandi* contains a very large metacentric that lacks from chromosome sets of the two other species.

A number of similar cases can be found within the superfamily Chalcidoidea. For example, karyotypes of four species of the genus *Metaphycus* (Encyrtidae) were studied a few years ago. Among them, most closely related species, *M. flavus* and *M. luteolus* both have $n = 10$, whereas *M. angustifrons* and *M. stanleyi* have $n = 9$ and 5 respectively due to chromosomal fusions.

Several groups of closely related species that differ in karyotype structure can be found within the family Pteromalidae. Among these groups, an apparent correlation between the degrees of morphological and chromosomal similarity is observed. Specifically, only subtle differences in both external morphology and karyotype structure were found between three species of the genus *Nasonia*, i.e. *N. vitripennis*, *N. longicornis* and *N. giraulti*, all having $n = 5$. On the other hand, we have recently described a new cosmopolitan species, *Anisopteromalus quinarius*, which obviously differs from the apparently well-known *A. calandrae* in morphological, molecular and ecological features, with these species having $n = 5$ and 7 respectively. Moreover, another biologically similar parasitoid, *Lariophagus distinguendus*, also appeared to harbour two closely related species which have different chromosome numbers, $n = 5$ and 6. In addition, morphometric analysis of their karyotypes suggests that they differ by a centric fission and a pericentric inversion. However, these species, which can occasionally hybridize, are apparently closer to each other in terms of morphology and karyotype structure than those belonging to the genus *Anisopteromalus*.

Nowadays, studies of karyotype evolution of parasitoids are often based on independent phylogenetic reconstructions, e.g. in the case of species groups of the genus *Aphelinus* (Aphelinidae). Nevertheless, chromosomal apomorphies can also define a number of clades. For example, most members of the genus *Eurytoma* (Eurytomidae) have $n = 10$, although *Eu. robusta*, *Eu. serratulae* and *Eu. compressa* have $n = 7$, 6 and 5 respectively. Karyotype structure of the studied *Eurytoma* species therefore suggests that the lineage *Eu. robusta* + (*Eu. serratulae* + *Eu. compressa*) is marked by at least three chromosomal fusions, the clade *Eu. serratulae* + *Eu. compressa* – by another rearrangement of the same kind, and the fusion process is completed in the latter species. However, our recent analysis using FISH with 18S rDNA probe demonstrated

that both *Eu. robusta* and *Eu. serratulae* have a single rDNA cluster whereas *Eu. compressa* shows two sites of this kind in the haploid set. Karyotypes of *Eu. robusta* and *Eu. serratulae* might therefore have resulted from parallel independent losses of the different rDNA clusters, contrary to most other parasitoids, in which the number of rDNA sites per karyotype generally correlates to the chromosome number. We also were able for the first time to show loss of the canonical insect telomeric repeat, TTAGG, in the superfamilies Ichneumonoidea, Cynipoidea and Chalcidoidea, and most likely in the parasitoid Hymenoptera in general.

INVADOLYSIN – AN ODYSSEY FROM CHROMOSOMES TO LIPID DROPLETS TO SERUM PROTEASE

Heck Margarete MS

University of Edinburgh, Centre for Cardiovascular Science

47 Little France Crescent, Edinburgh EH16 4TJ

Margarete.heck@ed.ac.uk

We have utilised *Drosophila* as a model system to identify novel and conserved genes essential for progression through the cell cycle and normal cellular physiology. Invadolysin is a zinc-metalloprotease that we have shown to link cell division and cell migration in *D. melanogaster* (McHugh *et al.*, 2004). Invadolysin localises to lipid droplets in mammalian cell lines, and *Drosophila invadolysin* mutants have a decreased triglyceride:protein ratio (Cobbe *et al.*, 2009). Invadolysin additionally interacts with mitochondrial ATP synthase subunits (Di Cara *et al.*, 2013) and plays a role in angiogenesis (Vass and Heck, 2013). As many proteases function in catalytic pathways, it is intriguing that the first genetic interactor of invadolysin is a ubiquitin protease – targeting histone H2B, and thereby linking to the chromosome defects we observe (Gururaja Rao *et al.*, 2015). Invadolysin is the first metalloprotease localised to lipid droplets, and physiological functions remain at this point speculative.

We have very recently discovered that a secreted form of invadolysin is present in vertebrate serum and *Drosophila* hemolymph. As the gene is essential for life, we hypothesise that the secreted form of invadolysin may be playing a role crucial to normal physiology. We aim to discover whether invadolysin is present in a particular serum compartment (such as exosomes or microvesicles) and whether proteolytic activity for invadolysin can be detected. Should activity be detected, we can begin to ask questions pertaining to the regulation of localization, levels and activity. Importantly, we will be able to address whether this novel form of invadolysin serves as a potential biomarker for any human disease states.

STRUCTURE AND REGULATION OF HOLOCENTRIC CHROMOSOMES

Houben A.¹, Heckmann S.¹, Marques A.², Jankowska M.¹, Schubert V.¹, Fuchs J.¹, Wei M.¹, Pedrosa-Harand A.², Macas J.³, Neumann P.³, Wanner G.⁴

¹Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben, Corrensstrasse 3, 06466 Stadt Seeland, Germany

²Laboratory of Plant Cytogenetics and Evolution, Department of Botany, Federal University of Pernambuco, Brazil

³Laboratory of Molecular Cytogenetics, Institute of Plant Molecular Biology, Biology Centre AS CR, Ceske Budejovice, Czech Republic

⁴Ultrastructural Research, Department Biology I, Biozentrum der Ludwig-Maximilians-Universität München, Großhadernerstr. 2-4, D-82152 Planegg-Martinsried, Germany
houben@ipk-gatersleben.de

Holocentric chromosomes lack a primary constriction and, in contrast to monocentrics, they form kinetochores distributed along almost the entire poleward surface of the chromatids. We report here on the first conserved centromere-specific repeats of a holocentric species, and propose a chromosome organization model for species with centromeric repeats distributed throughout the entire genome. Some holocentric species maintain a holocentric chromosome architecture and behavior throughout meiosis, and in contrast to monopolar sister centromere orientation, the unfused holokinetic sister centromeres behave as two distinct functional units during meiosis I, resulting in sister chromatid separation. Homologous non-sister chromatids remain terminally linked after metaphase I, by satellite DNA enriched chromatin threads, until metaphase II. They then separate at anaphase II. Thus, an inverted sequence of meiotic sister chromatid segregation occurs. This alternative meiotic process is most likely one possible adaptation to handle a holocentric chromosome architecture and behavior during meiosis.

FEATURES OF SUPRAMOLECULAR-GENETIC BIOCHEMISTRY OF INTERPHASE CHROMATIN DURING THE INDUCTION OF GROWTH MORPHOGENESIS OF MATURE EMBRYOS OF SPRING AND WINTER WHEAT

Ivanov R.S., Tereshenko L.M., Vafina G.H., Ivanova E.A.

Ufa institute of biology of the Russian Academy of Sciences, Ufa
evilina@anrb.ru

The significance of information about compartmentalization of cell nucleus as a fundamental factor that affects the organization of interphase chromosomes has become clear nowadays. Investigation of processes occurring in interphase chromatin during interaction with the environment is a progressive direction of understanding the fundamental problems of stress supramolecular biochemistry of developmental biology. The differential localization of specific chromosome loci in the nucleus is now well documented. However, the functional significance of intranuclear compartmentalization remains largely little known. We have carried out the first attempts to find the localization of the shielding from the proteolysis processing which is one of

the mechanism of supra-structural organization of interphase chromatin matrix which is carried out in the process of adaptation of the vegetative phase of wheat to stress factors of the environment [Ivanova, Vafina et al., 2014; Ivanova Vafina 2014, 2015]. We have shown that adaptation of spring wheat for many years to cold shock is capable to cause the formation of specific pattern in the form of total shielding of *Arg-X* sites to processing by proteases at the level of heteropolymer suprastructures of chromatin tightly bound with nuclear matrix during the morphogenetic period. Perhaps these are zones that affect the architectural organization of the cell nucleus, which will help to survive and persist in difficult environmental conditions.

The purpose of this work was the analysis of *Arg-X* proteolysis at the level of heteropolymer suprastructures of chromatin matrix germs of wheat in the state of maintaining the biological rest of air-dry seeds, in the process of imbibition and during the transition to the first wave of transcriptional activation of chromatin.

The object of the study were super-elite seeds of wheat (*Triticum aestivum L.*) varieties Artemovka (spring), transformed from it Mironovskaya 808 (winter) and transformed from the last Mironovskaya Spring. The seeds were obtained from the collection of the "All-Russian Research Institute of Plant Industry". In this study we were investigated the cell nuclei of mature wheat germ, which have been used as a model system of heteropolymer interphase chromatin matrix where the formation of functional groups of coordinating expressed genes were carried out. By using methods developed and patented in the laboratory (Ivanova, Vafina, 1992, 2011, 2012), from the cell nuclei of wheat germs were fractionated heteropolymeric suprastructures: nucleoplasm, chromatin loosely and tightly bound to the nuclear matrix and the nuclear matrix, from which then were highlighted nonhistone and histone (linker - H1, core - H2A + H2B, H3 + H4) blocks of proteins. It was shown that the features of the biological rest of air-dry seeds of winter variety appear at the molecular genetic level of the cell nuclei of embryos during seed imbibition and transition to the first wave of total chromatin transcriptional activation during the induction of *Arg-X* processing of non-histone proteins of chromatin suprastructures and core histones (H2A + H2B) of chromatin matrix "anchored" on the nuclear matrix.

The reported study was supported by RFBR, research project № 14-04-31243.

EVOLUTION OF NEO SEX CHROMOSOMES IN PAMPHAGIDAE GRASSHOPPERS

Jetybaev I.E.^{1,2}, Bugrov A.G.^{1,3}, Buleu O.³, Rubtsov N.B.²

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Frunze str. 11, 630091 Novosibirsk, Russia,

²Institute of Cytology and Genetics, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Pr. Lavrentjeva, 630090 Novosibirsk, Russia.

³Novosibirsk State University, Pirogov str., 2, 630090 Novosibirsk, Russia
jetybayev@mail.ru

The neo sex chromosomes are good model of sex chromosome evolution. Vast majority of grasshoppers have $XX_{\text{♀}}/X0_{\text{♂}}$ sex determination system (White, 1973; Hewitt, 1979). However presence of neo-XX/neo-XY sex determination system, which resulted from centric fusion of an autosome and the X chromosome, was shown for some species of grasshoppers. For instance in Melanoplinae subfamily this chromosome aberration occurs regularly and neo-Y chromosome exhibit signs evolutionary changes (Bidau et al., 2011). Previously it was shown that in some Pamphagid grasshoppers neo-Y chromosome exhibit dramatic degradation and heterochromatinisation which is similar to Y chromosome degradation of many other species (Bugrov, Warchalowska-Sliwa, 1997; Bugrov, Grozeva, 1998). Here we study evolution of sex determination in 31 species of different groups of Pamphagidae family from Anatolia, Balkan Peninsula, Central Asia, the Caucasus and Transcaucasia.

The neo sex chromosome in this group is significant cytogenetic event that accompanied evolution of Trinchinae subfamily and Nocarodeini tribe belonging to Pamphaginae subfamily. Up to date 25 of 54 studied species have neoXX/neoXY sex determination system. One species (*Paranothrotetes opacus*) was shown to have $\text{neo-X1X1X2X2}_{\text{♀}}/\text{neo-X1X2Y}_{\text{♂}}$ sex chromosome system.

Neo-X chromosome is submetacentric in all species. Short arm (XL) corresponds to ancestral X chromosome and long arm (XR) corresponds to translocated autosome. 4 types of neo-Y chromosome was observed. Type 1 is large euchromatic chromosome, with small pericentric C-positive block equal to XR arm of neo-X chromosome (*Saxetania cultricolis*). Type 2 of neo-Y chromosome is large mostly euchromatic chromosome with small pericentric C-positive block and small proximal interstitial C-positive blocks (*Asiotmethis*, *Glyphotmethis*). Type 3 of neo-Y chromosome is large chromosome mostly heterochromatic with C-negative blocks (*Atrichotmethis semenovi*). Type 4 is medium sized chromosome with large pericentric C-positive block and large proximal interstitial blocks (Nocarodeini)

FISH analysis of rDNA and telomeric repeats distribution were performs. Presence on interstitial telomeric sequences in pericentric region of 3 species of *Glyphotmethis* genus. It indicate recent fusion and early stage of neo sex chromosome evolution in Trinchinae subfamily. Almost all rest species with neo-Y chromosome lost telomeric sequences in fusion site. Type 4 of

neo-Y chromosome was observed in 14 species of Nocarodeini (Pamphaginae) grasshoppers. Most likely this indicates ancient chromosomal fusion and advanced evolutionary stage of neo-sex chromosomes in this group.

Cross-hybridization of microdissected DNA probes from neo sex chromosomes was performed on closely and distantly related species. Cross-hybridization image analysis data suggests that most likely neo sex chromosomes in Pamphaginae subfamily derived from fusion of same chromosome elements but further evolution of repetitive sequences in C-positive blocks of neo-Y chromosome was independent.

According to cytogenetic and zoogeographic analysis we propose that neo sex chromosome arose independently in Trinchinae and Pamphaginae subfamilies in the region of Southwest Asia.

Research was supported by RFBR grant 15-04-04816-a

EPIGENETIC REGULATION OF CHROMATIN STRUCTURE AND GENE EXPRESSION BY H3S10 PHOSPHORYLATION

Johansen J., Li Y., Wang C., Cai W., Sengupta S., Girton J., Johansen K.M.

Department of Biochemistry, Biophysics, and Molecular Biology, Iowa State University, Ames, Iowa 50011, USA
jorgen@iastate.edu

JIL-1 is the kinase responsible for histone H3S10 phosphorylation whereas Su(var)3-9 is a methyltransferase mediating H3K9 dimethylation at interphase in *Drosophila*. Mutational analyses have shown that *JIL-1* is essential for viability and that a reduction in JIL-1 kinase activity leads to a global disruption of polytene chromosome morphology. A genome-wide comparison of the transcriptome profiles of salivary glands from wild type and *JIL-1* null mutants revealed that the expression levels of 1539 genes changed at least two-fold in the mutant. Interestingly, out of these genes the expression of 66% of normally active genes was repressed, whereas the expression of most normally inactive genes (77%) was activated. Furthermore, we show that in the absence of H3S10 phosphorylation the H3K9me2 mark redistributes and becomes upregulated on ectopic sites on the chromosome arms, especially on the X-chromosome, and that this H3K9me2 redistribution correlates with the activation of silent genes and the repression of active genes. Taken together these results provide direct support for the model that H3S10 phosphorylation mainly facilitates gene expression of active genes by maintaining an open chromatin structure at promoter regions by counteracting H3K9 dimethylation. This is further corroborated by antibody labeling studies showing that H3S10 phosphorylation by the JIL-1 kinase mainly occurs at euchromatic interband regions of polytene chromosomes. However, a recent survey of commercially available H3S10ph antibodies suggested that some of these

antibodies, in contrast to previously used antibodies, could recognize the H3S10ph mark in pericentric heterochromatin and on the 4th chromosome in addition to in the euchromatic interbands. This raised the possibility that the binding of some H3S10ph antibodies may be occluded by the presence of the H3K9me2 mark. In this study, using an antibody to the double H3S10phK9me2 mark we demonstrate that this mark indeed is present in pericentric heterochromatin as well as on the 4th chromosome of wild-type polytene chromosomes with little or no labeling detectable on the chromosome arms. Thus, taken together our data implies the existence of a novel mechanism for regulating the interactions between kinase and methyltransferase activity in the context of pericentric heterochromatin and the 4th chromosome that promotes creation of the double H3S10phK9me2 mark in contrast to on the chromosome arms where the single marks are likely to reside on separate histone tails.

CHROMOSOMAL REARRANGEMENTS IN STATU NASCENDI OF VOLES “MAXIMOWICZII” GROUP (ALEXANDROMYS, RODENTIA)

*Kartavtseva Irina*¹, *Sheremetyeva Irina*¹, *Gladkikh Olga*², *Lemskaya Natalia*²

1 Institute of Biology and Soil Science, Far East of Russian Academy of Science, Vladivostok, 690022 (Russia)

2 Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of Russian Academy of Science, Novosibirsk, 630090 (Russia)

The “maximowiczii” species group of the genus *Alexandromys* Ognev, 1917 (= *Microtus* Schrank, 1798) include three species which have own chromosomal feature (2n and NF) and high level of chromosomal rearrangements: *A. evoronensis* (2n=38-40, NFa=51-54), *A. mujanensis* (2n=38, NFa=46-50) and *A. maximowiczii* (2n=36-44, NFa=50-60). Close kinship of the taxa was never challenged. The molecular, allozyme and morphological data indicate just subspecies level of their differentiation while karyological and experimental hybridization data indicate existence of three species. These very young species *in statu nascendi* and karyotype stabilization not finish still.

Chromosomal rearrangements, jointly with micro- and macroevolution processes in “maximowiczii” species group will be discussed.

CHROMATIN STATES AND REPLICATION PATTERNS IN POLYTENE CHROMOSOMES OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Kolesnikova Tatyana D.^{1,2}, Goncharov Fedor P.¹, Boldyreva Lidiya V.¹, Demakova Olga V.¹, Zhimulev Igor F.^{1,2}

Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk
Novosibirsk State University, Novosibirsk
trotsenko@mcb.nsc.ru

We developed a special algorithm to computationally partition the entire *Drosophila* genome into discrete chromatin states defined by the local enrichment for “open chromatin” proteins that are found predominantly in interbands (Zhimulev et al., 2014). As a result, we for the first time succeeded in linking this chromatin clustering to specific morphological structures in polytene chromosomes. This algorithm produced 4 major types of chromatin. The first one largely corresponds to polytene chromosome interbands. Combinations of the other three match various classes of bands (Zhimulev et al., 2014). Notably, the chromatin type which we color-coded as Magenta and which is defined as the chromatin devoid of interband-specific proteins, is a major constituent of intercalary heterochromatin (IH). In *D. melanogaster* polytene chromosomes, IH appears as large dense bands scattered in euchromatin and comprises clusters of repressed genes. Genes embedded in IH replicate very late in the S phase and become underreplicated in polytene chromosomes. This property helped perform accurately molecular mapping of these regions (Belyakin et al., 2005, Belyaeva et al., 2012). We hypothesized that other Magenta chromatin regions may also match late replication regions.

We combined the predictions of model with several datasets: gene expression profiling, FISH mapping data and replication progression across polytene chromosome bands. This has allowed us to accurately position all the large and many medium-sized bands (174 in total) detectable by light microscopy on molecular map of *drosophila* chromosome 2R.

Chromosomes were painted with antibodies against PCNA, and all bands belonging to Magenta class were found to display delayed replication in salivary gland polytene chromosomes. We noticed that the band tended to complete replication later, the more Magenta chromatin it encompassed. The size of bands encompassing Magenta chromatin type ranged 15-600kb.

We demonstrated that all black bands of polytene chromosomes, i.e. virtually all bands visible on Lefevre map (Lefevre, 1976) are significantly enriched for Magenta chromatin and “silent” chromatin types, as defined by recent genome-wide chromatin profiling studies (Filion et al., 2010, Kharchenko et al., 2011); they bind SUUR and are depleted for replication origins.

Interestingly, the borders of most bands or groups of bands typically correspond to the regions of topological domains identified by Sexton et al. 2012 and Hou et al., 2012. This in turn is in line with the observation that interbands (that by definition flank bands) are sites of CHRIZ

binding, and it is CHRIZ protein that has been identified as the major constituent of topological domains borders.

Thus, all black bands of salivary gland polytene chromosomes correspond to the domains of late replication and display characteristic enrichment of silent chromatin types, SUUR protein as well as depletion for replication origins. Replication origins are predominantly found in interbands, whereas bands, including those that are small and faint, consistently display delayed replication compared to the adjacent interbands.

FOX ASSEMBLY AND IDENTIFICATION OF GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH SELECTION FOR BEHAVIOR

Kukekova AV¹, Johnson JL¹, Rando HM¹, Liu S², Kharlamova AV³, Herbeck YE³, Gulevich RG³, Vladimirova AV³, Serdyukova NA⁴, Beklemischeva VR⁴, Graphodatsky AS⁴, Shaohong F², Xiang X², Zhang G², Trut LN³

¹Department of Animal Sciences, University of Illinois at Urbana-Champaign, IL 61801, USA

²China National Genebank, BGI–Shenzhen, Shenzhen, 518083, China

³Institute of Cytology and Genetics of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russia

⁴Institute of Cytology and Genetics of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russia

The tame and aggressive fox strains (*Vulpes vulpes*) developed by long-term selection for behavior offer an opportunity to study genetic regulation of complex social behaviors. To explore the potential of the fox model, the genome of a fox was sequenced with 93.9 coverage on Illumina HiSeq2000 using sequencing libraries with insertion sizes ranging from 170 bp to 20 Kb. The genome was assembled using SOAPdenovo2 software. The total length of the fox assembly was 2.49 Gb with the N50 scaffold length of 11.80 Mb. To identify genomic targets of selection for behavior, the genomes of ten foxes from each of three populations (tame, aggressive, and conventionally farm-bred) were sequenced using Illumina paired end technology. The fox reads were aligned against the fox scaffolds. To identify regions of increased homozygosity in the fox populations, pooled heterozygosity was calculated separately for each of three populations using a sliding window approach. The comparative alignment of the regions with increased homozygosity and the loci identified by mapping behavioral traits in fox cross-bred pedigrees pinpointed regions in the fox genome implicated in behavioral differences between the tame and aggressive strains.

**KARYOTYPE OF *MEGADENDROMUS NIKOLAUSI* DIETERLEN & RUPP, 1978,
THE EXCEPTIONAL ENDEMIC ETHIOPIAN RODENT**

Lavrenchenko L.A., Nadjafova R.S., Bulatova N.Sh.

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow,
Russia, renan8@yahoo.com

The Nikolaus's African Climbing Mouse (*Megadendromus nikolausi*) is one of the most enigmatic taxa among the other endemic mammals particularly numerous in Ethiopia. This very distinctive rodent with extremely limited distribution was described from Bale Mountains (type locality) and Mt Chilalo (Arsi Mountains) in Ethiopian Plateau (Dieterlen, Rupp, 1978; Demeter and Topal (1982). In 2013, after more than three decades since the last reported case, a female of *M. nikolausi* was trapped at the southern slope of the Sanetti Plateau, Bale Mountains during the Joint Ethiopian-Russian Biological Expedition, and the first karyotype description of this exceptionally rare species has been obtained.

Diploid chromosome set of *M. nikolausi* contains 18 pairs of obvious two-armed chromosomes (metacentrics, submetacentrics, subtelocentrics). $2N=36$, $FN=72$. Three pairs only are clearly distinguishable morphologically and dimensionally (the largest pair, which is subtelocentric, and the two last pairs, very small metacentrics), while all the rest chromosomes are medium-sized meta- and submetacentrics gradually descending in size. Which one of these pairs presents the female sex chromosomes (XX) remained uncertain. Anyway, this pair should be bi-armed, then, FNA is 68. The C-banding revealed centromeric heterochromatin of different extent in all chromosomes. Besides, the arms of at least 4 pairs disclosed rather dense C-staining, which might be the evidence of their fully heterochromatic nature. Nuclear organizing regions (AgNOR-staining) are located terminally in 3 pairs - on the short arm of the largest subtelocentric and on one of the two arms of 2 smaller metacentrics.

M. nikolausi was assigned to monotypic genus *Megadendromus* because this species differs from all representatives of Dendromurinae subfamily by larger size, relatively shorter tail and some dental characteristics. The evidences of deriving *Megadendromus* from *Dendromus* based on morphometric analysis were obtained by Denys et al. (1995). Molecular data on this matter are currently unavailable. It could make sense to try and find out if there are any cytogenetic correlations.

Totally, karyotypes of the seven taxa of *Dendromus* were ever described, $2N=52-30$, fundamental number of autosomes (FNA) changes from 100 to 46. The 36-chromosome karyotype was known also for *D. melanotis* from Central Africa, but it differs morphologically from *Megadendromus* karyotype due to the presence of 3 pairs of small acrocentrics in the set, $FN=66$ (Matthey 1970). The first study of differential stained chromosomes was carried out recently for four *Dendromus* karyotypes, including the karyotype of the new species *D. lachaisei*

from Guinea with the lowest diploid number in the genus ($2N=30$, $FN=60$, $FNA=56$) (Solano et al. 2014, Denys and Aniskine 2012). In the absence of chromosome homology data, only one pair classified as the very large submetacentric autosomes may be suggested as a chromosome marker for different *Dendromus* karyotypes (Denys, Aniskine, 2012). The largest subtelocentric pair presented in the karyotype of *M. nikolausi* seems homologous to this generic karyotypic marker. C-banding data show that each arm in bi-armed chromosomes of *D. lachaisei* ($2N=30$) is mainly euchromatic in spite of the exceeded amounts of pericentromeric heterochromatin in many pairs. Therefore, the two-armed chromosomes of this species might have been originated from fusion rearrangements between one-arm elements of ancient karyotype. Fully heterochromatic arms in some pairs of *M. nikolausi* ($2N=36$) might indicate a particular way to low chromosome number in the karyotype evolution of this endemic dendromurine rodent.

KARYOTYPICAL CHROMOSOME POLYMORPHISMS OF THE "ASIAN" LINEAGE OF *MICROTUS* VOLES

Lemskaya N.A.¹, Kartavtseva I.V.², Golenishchev F.N.³, Sheremetyeva I.N.²

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Biology and Soil Science Institute Far East Branch of RAS, Vladivostok, Russia

³ Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia

lemnat@mcb.nsc.ru

The "Asian" lineage of *Microtus* voles includes two subgenera: *Alexandromys* and *Pallasiinus* [Gromov and Erbaeva, 1995], that are suggested to be merged into a single subgenus *Alexandromys* in the taxonomy of Musser and Carleton, 2005 based on morphological, cytogenetic and molecular data. This subgenus is represented by nine species on the territory of the **R**ussian **F**ar **E**ast (RFE). Comparative analyses of conventionally stained and GTG-banded chromosomes of the group was performed for the first time by Meyer et al. 1996. We hybridized all *M. agrestis* chromosome-specific DNA-probes onto GTG-stained chromosomes of all species from this group. Both species with stable and with polymorphic karyotypes were described. We demonstrated that some voles have karyotypes that are polymorphic in diploid number and/or morphology of chromosomes. We presume that pericentric inversions and tandem fusion are the main type of karyotype rearrangements in this *Microtus* species.

This study was funded by the research grants of the RFBR.

BENIGN AND PATHOLOGICAL CHROMOSOMAL IMBALANCES - MICROSCOPIC AND SUBMICROSCOPIC COPY NUMBER VARIATIONS (CNVS) IN HUMAN GENETICS

Liehr Thomas

Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Kollegiengasse 10, D-07743 Jena, Germany

Copy number variations are nowadays most often understood as submicroscopic gains or losses of chromosomal material, either connected with a disease or just one of the many possible genetic variants in man. However, besides such submicroscopic copy number variations, already decades ago chromosome analysis revealed the existence of cytogenetic visible copy number variations; first discovered were the chromosomal heteromorphisms, more recently euchromatic variants and unbalanced chromosome abnormalities without phenotypic consequences. Recently, for submicroscopic copy number variations a so-called two-hit model suggested. This suggests that the combination of per se harmless size variants may be led to clinical aberrations if they are present together in a patient.

A literature based comparison of cytogenetic visible copy number variations and submicroscopic copy number variations revealed that, biologically, besides size, these two groups of copy number variations do not really differ. Both may be present as heterochromatic (gene-poor to gene-free) and euchromatic copy number variation-variants. Identical regions have even been reported as cytogenetic visible and submicroscopic copy number variations independently. This study reviews the differences between submicroscopic and microscopically visible CNVs.

Yet, cytogenetic visible copy number variations, especially chromosomal heteromorphisms are by far not considered enough in evaluation of routine cytogenetic analysis as well as in array-based comparative genomic hybridization analysis.

ERRONEOUS ATTACHMENTS TO MICROTUBULES ARE PREVENTED BY THE ADAPTIVE CHANGES IN THE KINETOCHORE ARCHITECTURE

Magidson V.^{1,}, Paul R.^{2,3}, Yang N.¹, Ault J.G.¹, O'Connell C.B.¹, Tikhonenko I.¹, McEwen B.F.¹, Mogilner A.³ and Khodjakov A.^{1,4}*

¹Wadsworth Center, New York State Department of Health, Albany, NY, USA

² Indian Association for the Cultivation of Science Jadavpur, Kolkata, India

³ Courant Institute and Department of Biology, New York University, New York, NY, USA

⁴ Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, NY USA

alexey.khodjakov@health.ny.gov

For proper segregation of genetic material during mitosis, sister kinetochores on each chromosome must establish connections with the opposite spindle poles. These connections are mediated by 'kinetochores', discrete macromolecular complexes residing at the centromere of each chromosome. Kinetochores 'capture' dynamically-unstable microtubules and become attached to the microtubule plus ends. The size and shape of kinetochores play fundamental roles

in determining the efficiency of spindle assembly and the fidelity of chromosome segregation. Larger kinetochores should increase the probability of encounters between kinetochores and microtubules which in turn accelerates spindle assembly. However, exceedingly large kinetochores would be overly exposed to microtubules and promote formation of erroneous attachments such as attachment of sister kinetochores to the same spin.

PENDOLINO (PEO) A DROSOPHILA GENE REQUIRED FOR DNA REPLICATION AND TELOMERE PROTECTION

Marzullo M.¹, Cenci G.¹, Ciapponi L.¹, Raffa GD.¹, Morciano P.¹, Raimondo D.², Andreyeva EN.³, Burla R.¹, Saggio I.¹, Gatti M.^{1,3}

¹ IBPM, CNR and Dept. Biology and Biotechnology, Sapienza University of Rome, Italy

² Dept. of Physics, Sapienza University of Rome, Italy

³ Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

maurizio.gatti@uniroma1.it

Although all *Drosophila* telomeres terminate with HTT arrays and are capped by the terminin complex, they differ in the type of subtelomeric chromatin; the Y, XR, and 4L HTT are juxtaposed to constitutive heterochromatin, while the XL, 2L, 2R, 3L and 3R HTT are linked to the TAS repetitive sequences; the 4R HTT is associated with a chromatin that has features common to both euchromatin and heterochromatin. We found that mutations in *pendolino (peo)* cause telomeric fusions (TFs) that preferentially involve the Y, XR and 4th chromosome telomeres, a TF pattern never observed in the other 10 telomere-capping mutants so far characterized. *peo* encodes a non-terminin protein homologous to the E2 variant ubiquitin-conjugating enzymes. The Peo protein directly interacts with the terminin components, but *peo* mutations do not affect telomeric localization of HOAP, Moi, Ver and HP1a, suggesting that the *peo*-dependent telomere fusion phenotype is not due to loss of terminin from chromosome ends. *peo* mutants are also defective in DNA replication and PCNA recruitment. However, the analysis of several mutants defective in DNA replication indicates that disturbances in DNA synthesis are unable to induce TFs in *Drosophila* cells. Moreover, mutations in *SuUR*, which facilitate heterochromatic DNA replication, partially suppress TF formation in a *peo* mutant background. We thus hypothesize that DNA replication in Peo-depleted cells results in specific fusigenic lesions concentrated in heterochromatin-associated telomeres.

GENOME RESPONSE OF MODEL INSECT SPECIES (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) TO ENVIRONMENTAL TRACE METAL POLLUTION

Michailova P.¹, Ilkova J.¹, Dean A.², White K.³

1. Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Tzar Osvoboditel 1, Sofia 1000, Bulgarian Academy of Sciences, Bulgaria

2. Department of Geography. The University of Sheffield, Sheffield, UK

3. Faculty of Life Sciences. The University of Manchester, Manchester, UK

Chironomids are a group of aquatic insects which provide a direct means of assessing the impact of pollutants as they are exposed to contaminants in both water and sediments. Studies were carried out on Chironomid larvae from heavy metal polluted sites in Bulgarian and UK rivers. Genome sensitivity was assessed in two sibling species: *Chironomus riparius* Mg. and *C. piger* Strenzke by an examination of somatic structural and functional alterations in the salivary gland chromosomes which we have previously shown to be a good bioassay of trace-metal-induced genome instability. Among somatic aberrations, especially interesting are deletions on the short chromosome G of both species. In most cases these aberrations convert the chromosome into a so called "pompon"- like form. Because it is the shortest chromosome it can be very easily identified and can be successfully used as a good biomarker for assessing the trace metal pollution. We applied for the first time cytogenetic and somatic indices on the basis of somatic rearrangements in the polytene chromosomes. Both indices revealed a high degree of chromosome damages: (*C.piger*, cytogenetic index (C), 0.06-0.13; somatic index (S), 1.92 - 4; *C.riparius* (C), 0.05-0.09; (S), 1-11.66 in comparison with controls: (C),1; (S), 0.25- 0.50. The transcription mechanism of the key structures: Balbiani rings and Nucleolar Organizer was also damaged as their activity was either partially or completely suppressed. Such genome instability of both species was detected in laboratory experiments in which both species were exposed to different concentrations of Pb (NO₃)₂. By applying the FISH method with different transposable elements (TE- two retroelements, the LINE - NLRCth1 and the SINE - CTRT1) a significant correlation ($p < 0.05$) was found between the break points of aberrations and sites of localization of the TE - most of the aberrations do not appear randomly but are concentrated in sites rich in these elements. Both species show a different response to stress agents in the environment based on different DNA organization of their genome. More sensitive is the genome of phylogenetically younger species *C.riparius*. The Chironomid genome is therefore a sensitive indicator of contamination and is a highly suitable candidate for ecotoxicological monitoring of running waters.

GENETIC DISSECTION OF CHROMATIN REGULATION IN *DROSOPHILA* GERM LINE CELLS

Mietzsch S., Walther M., Rudolph T., Gebhardt K., Kessler J., Hause G¹., Reuter G.

Institute of Biology, Developmental Genetics, Martin Luther University Halle-Wittenberg, 06120 Halle/Saale, Germany

¹Biocenter, Martin Luther University Halle-Wittenberg, 06120 Halle/Saale, Germany
reuter@genetik.uni-halle.de

In *Drosophila* epigenetic control of lineage commitment underlying stem cell development can best be studied at the end of cleavage when nuclei migrate to the egg periphery in order to originate the somatic blastoderm and the primary germ line stem cells at the posterior egg pole. Chromatin of primordial germ line stem cells is in a transcriptionally repressed state, shows abundant histone acetylation (H3K9ac, H4K8ac and H4K14ac) but only low levels of histone methylation. Somatic chromatin differentiation is initiated by global deacetylation followed by polar differentiation of eu- and heterochromatin and establishment of X chromosome dosage compensation. In primordial germ line stem cells histone deacetylation and transcriptional activation is significantly delayed and only initiated during germ cell migration. Like somatic nuclei also the nuclei of primordial germ line stem cells show polar chromatin differentiation. In germ line stem cells pericentromeric heterochromatin forms no chromocenter.

In primordial stem cells the H3K4 demethylase dLSD1 and the H3K9 methyltransferase SETDB1 are required in maintenance of pluripotency and the corresponding mutations cause strong defects in ovarian stem cell development. Chromatin differentiation in primordial germ line stem cells is under the control of ecdysone signaling as revealed by an analysis of *taiman* and *EcR* mutations.

In order to assess directly chromatin differentiation in germ line stem cells we established genetic systems monitoring silencing processes in the female germ line. The assay is based on silencing of transgenes containing the germ line specific *fs(1)K10* gene. In these studies the functional role of the basic chromatin proteins HP1, SU(VAR)3-9, SU(VAR)3-3 (dLSD1), LID, SUV4-20, E(Z), RPD3 and SU(VAR)2-1 in germ line chromatin organization was evaluated. With SU(VAR)2-1 we identified a new abundant chromatin protein controlling histone acetylation levels by recruitment of histone deacetylases. Many of the studied epigenetic factors display strong intergenerational effects, which appear to depend on transfection processes.

Chromatin organization at synaptonemal complexes is specific and shows a preferential heterochromatic state. This is supported by chromosome-wide binding of HP1 and of other proteins controlling heterochromatin formation and heterochromatic gene silencing. The impact of chromatin organization on recombination frequency has been analyzed by chromosome wide crossover analysis in isogenic transgenic strains containing mutation or additional genomic copies of genes encoding different epigenetic factors. The data suggest that accessibility of chromatin

controls crossover frequencies genome wide. In addition, the dosage dependent control of chromosome-wide chromatin condensation at SCs by HP1 and other chromatin factors has been studied at the electron microscopic level. Our studies furthermore revealed impairment of SCs dissolution during oogenesis by signaling factors controlling heterochromatin formation in *Drosophila*.

MECHANISMS OF TELOMERIC REPEAT SILENCING IN THE GERMLINE AND THEIR ROLE IN EARLY DEVELOPMENT IN *DROSOPHILA*

Morgunova Valeriya, Akulenko Natalia, Radion Elizaveta, Olovnikov Ivan, Kalmykova Alla
Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
allakalm@img.ras.ru

Study of the role of telomeric complex during the early embryogenesis is crucial for understanding the genome integrity maintenance. However, basic aspects of the telomere biology in the germline are far from being understood. We present the results of a systematic analysis of the telomeric transcriptome and telomere homeostasis in the *Drosophila* female germline and early development. We identified a novel germline-specific function of the deadenylase complex Ccr4-Not in the telomeric transcript surveillance mechanism. Depletion of the Ccr4-Not complex components causes strong derepression of the *Drosophila* telomeric retroelement *HeT-A* in the germ cells, accompanied by elongation of the *HeT-A* poly(A) tail. Dysfunction of transcription factors Woc and Trf2, as well as RNA-binding protein Ars2, also result in the accumulation of excessively polyadenylated *HeT-A* transcripts in ovaries. Noteworthy, the majority of human TERRA (telomeric repeat-containing RNA) is poly(A)-negative, indicating a conservative mechanism of telomeric transcript turnover. We show that impairment of telomeric silencing in the germline by depletion of Ccr4, Not1, Trf2, Woc or Ars2 leads to abnormal mitosis in early embryos, characterized by chromosome missegregation, telomere fusions, centrosome (the main microtubule organizing center) dysfunction and spindle multipolarity. We suggest that loss of *HeT-A* silencing in the germline compromises the telomere protection complex, followed by the activation of the DNA repair system leading to mitotic catastrophe. Moreover, the observed phenotype was accompanied by the concentration of maternally deposited *HeT-A* transcripts around the centrosomes in early embryos, suggesting the putative relationship between the localization of telomeric transcripts and mitotic defects.

MICROTUBULE FLUX IN THE MITOTIC SPINDLE OF *D. MELANOGASTER* S2 CELLS AND FRAP CURVE THEORY

Munzarova A.F.^{1,2}, Bessmeltsev V.P.³, Vileyko V.V.³, Omelyanchuk L.V.^{1,2}

¹Institute of Molecular and Cellular Biology, 8/2 Acad. Lavrentyev ave., Novosibirsk 630090, Russia

²Novosibirsk State University, 2 Pirogov str., Novosibirsk 630090, Russia

³Institute of Automation and Electrometry, 1 Acad. Koptug ave., Novosibirsk, 630090, Russia

Current method of microtubule flux measurement involve the determination of a rate of photobleached stripe movement; however this method has had limited application because flux is masked by rapidly polymerizing non-kinetochore microtubules. We took advantage of deep photobleaching of cytoplasmic mCherry-tagged tubulin monomers, which allowed us to improve the dynamic range of the measurements. Using *Drosophila* S2 cell line, we show that our approach results in more accurate measurements of kinetochore and interpolar microtubule flux rate. We report on the correlation between flux rate and structure of the mitotic spindle.

We also construct chemical kinetics model for Fluorescence Recovery after Photobleaching for mitotic spindle that connect parameters of tubulin dimers polymerization with the observed parameters of FRAP curve.

DISSECTION OF THE MECHANISMS UNDERLYING KINETOCHORE-DRIVEN MICROTUBULE GROWTH: ANALYSIS OF THE ROLES OF MICROTUBULE DESTABILIZING KINESINS

Munzarova A.F.^{1,2,}, Pavlova G.A.^{1,3,*}, Popova J.V.^{1,4}, Razuvaeva A.V.^{1,2}, Pindyurin A.V.^{1,2,4}, Gatti M.¹*

¹Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³Kazan State University, Kazan, Russia

⁴Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*These authors contributed equally to this work

a.pindyurin@mcb.nsc.ru

Chromosome/kinetochore-driven microtubule (MT) formation is essential for proper spindle assembly, but to date little is known about the factors that govern this process. To dissect the mechanisms underlying kinetochore-driven MT growth we analyzed MT regrowth from chromosomes/kinetochores after cold-induced MT depolymerization (abbreviated with MTRAC) in *Drosophila* S2 cells. Current studies indicate that this process mimics kinetochore fibers (k-fibers) formation in normal cells that did not suffer from chilling. Specifically, we analyzed the roles of four MT destabilizing kinesins: Klp67A and Klp59C that mainly act at the kinetochores, Klp10A that functions at the spindle poles, and Klp59D that is thought to act at both the spindle poles and the kinetochores. RNAi against these kinesins produced different mitotic phenotypes. Klp67A depletion disrupted kinetochore-MT interactions resulting in long spindles and preventing anaphase. RNAi against Klp59D resulted in relatively short spindles and caused a partial block in

metaphase-to-anaphase transition. Irregular spindles were also observed in Klp59C- and Klp10A-depleted cells, which, however, entered anaphase and segregated the chromosomes. MTRAC experiments showed that of the four kinesins only Klp59D is required for this process. These results indicate that MTRAC is under specific control and delineate different roles for MT-depolymerizing kinesins in the process. They further suggest that proper kinetochore-MT attachment, which is disrupted in Klp67A-depleted cells, is essential for satisfying the spindle assembly checkpoint and mediate chromosome segregation but not for MTRAC.

WHAT KIND OF CHROMATIN MIGRATES BETWEEN CELLS DURING CYTOMIXIS?

*Mursalimov Sergey*¹, *Sidorchuk Yuri*¹, *Permyakova Natalya*¹, *Demidov Dmitri*²,
*Houben Andreas*², *Deineko Elena*¹

¹Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

²Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany
mursalimovsr@gmail.com

Cytomixis is migration of the nuclei between cells, widespread in various higher plant species. Most frequently, cytomixis takes place in microsporogenesis and is assumed to be a possible cause of unreduced gamete generation.

It is so far unknown what drives cytomixis and what is the functional state of the chromatin migrating between cells. In tobacco microsporogenesis we have analyzed the migrating chromatin with immunostaining and FISH. Using immunostaining, we have studied the distribution of main histone modification types: methylation (H3K4me2 and 3, H3K9me2, H3K27me2 and 3), acetylation (H3K9ac, H3K14ac, H3K18ac, and H3K27ac), and phosphorylation (H3S10ph, H3S28ph, H3T11ph, H2AT121ph, and H2A.XS139ph) that reflect the functional state of chromatin in the tobacco microsporocytes involved in cytomixis. Immunostaining and electron microscopy have allowed us to detect and examine the synaptonemal complex elements in the migrating chromatin. Cells involved in cytomixis have been analysed for signs of DNA damage using internucleosomal DNA fragmentation and TUNEL assays. In order to test is there any predominance of what part of nucleus migrates between cells during cytomixis we have analyzed distribution of five distinct repetitive DNA (18S and 5S rDNAs, HRS60, GRS, NTRS) with FISH and also S- and T-subgenomes with GISH in the migrating chromatin.

We have pioneered in demonstrating that the chromatin in the cytotoxic cells does not differ from the chromatin in intact microsporocytes according to all 14 analyzed histone modification types. We have also for the first time demonstrated that the migrating chromatin contains normal structures of the synaptonemal complex and lacks any signs of apoptosis. As has

been shown, the chromatin migrates between cells in cytomixis by random manner and it is neither selectively heterochromatized nor degraded both before its migration to another cell and after. We have also demonstrated that the cytotoxic chromatin retains a normal transcription activity level as well as the normal processes of condensation, conjugation, and recombination corresponding to the current meiotic stage.

The results admit the possibility that cytomixis may be the reason underlying a change in the karyotype of produced pollen.

The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant no. 14-04-00992 A).

**MOUSE CHROMOCENTERS' DNA CONTENT IN SILICO AND IN SITU.
LINE FRAGMENT AND ERVS ARE AN ESSENTIAL CHROMOCENTERS'
COMPONENTS BESIDE TANDEM REPEATS**

Ostromyshenskii D.I., Komissarov A.S., Kuznetsova I.S., Chernyaeva E.N., Vaysertreyger I., Podgornaya O.I.

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064, Russia

e-mail: necroforus@gmail.com

The DNA content of the mouse isolated chromocenters had been studied by (1) cloning the sequences amplified with DOP-primer; (2) bioinformatics analysis of the raw MiSeq reads.

(1) Chromocenters biochemically isolated and centromeric (CEN) region both went through DOP amplification procedure and fluorescent in situ hybridization (FISH) showed the resulting product belongs to the CEN region of chromosomes and chromocenters in interphase nuclei. 38 clones with the length more than 100bp have been selected from the initial library. Four clones represent mouse major satellite (MaSat); 16 clones absent in mouse assembled genome, but found in raw WGS database; 18 represent LINE fragments. 13 clones have been mapped to the metaphase plates. Three of them display the dispersed position, but the rest mapped in CEN region of chromosomes and chromocenters in interphase nuclei in spite of being LINE fragments (6 clones) or unknown sequences (4 clones). The majority of the LINE based clones (13) when mapped by bioinformatics to the full-length LINE went to the end of the 2d ORF and its' flanking region.

(2) Chromocenters' DNA library preparation was done by Nextera. The library were sequenced using Illumina MiSeq (insert size 220 bp) with short pair end reads of 35 bp. Raw reads were cleaned with Cookiecutter program. Bioinformatics comparison of chromocenters MiSeq (chcMiSeq) with whole genome sequencing on Illumina HiSeq (gnHiSeq) revealed content:

Family\Source	chcMiSeq	gnHiSeq
Tandem repeats (TR)	70%	10%
LINE	7%	4%
ERV	1.5%	1%

Among chcMiSeq TR the most abundant is MaSat (61%) and MiSat (4%). The reads with MaSat and MiSat removed from the future analysis. The rest of TR (5%) represents the TRs families previously described (Komissarov et al., 2011). The rest 20% of chcMiSeq dataset is mostly unannotated sequences, but some of them have been identified at the next step of analysis when part of chcMi-Seq dataset have been assembled into contigs by IDBA_UD program. In the contigs assembled there are many fragments of heterochromatic Y chromosome, rRNA and six other pseudo-genes and ncRNA gene. Full scale gene *sfi1* is found in contigs and it is localized to the chromosome 11 periCEN region. *Sfi1* is known to play a role in the dynamic structure of centrosome-associated contractile fibers via its interaction with CETN2 (centrin2), centrosomes' conserved calcium-binding proteins unique to eukaryotes.

The ERV based fragments from chcMiSeq assembled contigs went to all the possible locations being mapped to different ERV consensus from Repbase. This indicate that the whole ERV could be built in TR arrays. We suppose that fragment previously cloned and reported as MS3 (Kuznetsova et al., 2005, 2006, 2007) is the part of ERV derived sequence IAP due to its' abundance and sequence similarity. In contrast, there is very few full-length LINEs in chcMiSeq or in its' part assembled. Most of the LINE fragments collected in the same 2 kb region at the end of the 2nd ORF and its' flanking region. The same region of LINE is the origin for the L1-based TR (Komissarov et al., 2011). The search for L1 in the recently published human CEN revealed the same ~2kb end of 2d ORF fragments' enrichment (Chaisson et al., 2015). Full-length LINEs enrich facultative heterochromatin as evidenced by bioinformatics data (Waterston et al., 2002) and FISH (Solovei et al., 2013), but it is nearly absent in constitutive heterochromatin. The precise LINEs' segment of 2 kb is the necessary mouse constitutive heterochromatin component together with TR.

This work was supported by the granting program 'Molecular and cell biology' of the Russian Academy of Sciences.

THE SF3A2 AND PRP31 SPLICING FACTORS ARE DIRECTLY REQUIRED FOR CHROMOSOME SEGREGATION

Pellacani C.^{1,}, Bucciarelli E.^{2,*}, Renda F.¹; Hayward D.³, Palena A.², Chen J.³, Bonaccorsi S.¹, Wakefield J.G.³, Gatti M.^{1,2,4}, Somma M.P.²*

¹ Dipartimento di Biologia e Biotecnologie “C. Darwin”, Sapienza, Università di Roma, Italy

² Istituto di Biologia e Patologia Molecolari (IBPM) del CNR, Rome, Italy

³ Biosciences, University of Exeter, Exeter, UK

⁴ Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia.

* These authors contributed equally

Patrizia.somma@uniroma1.it

Several studies have shown that RNAi-mediated depletion of splicing factors (SFs) results in mitotic abnormalities. However, it is currently unclear whether these abnormalities reflect defective splicing of specific pre-mRNAs or a direct role of the SFs in mitotic division. We found that two highly conserved SFs, Sf3A2 and Prp31, are required for chromosome segregation in both *Drosophila* and human cells. RNAi against *Sf3A2* or *Prp31* resulted in a SAC-mediated metaphase arrest phenotype in both *Drosophila* S2 cells and HeLa cells. Injections of anti-Sf3A2 and anti-Prp31 antibodies into *Drosophila* embryos disrupted mitotic division within 1 minute, arguing strongly against a splicing-related mitotic function of these factors. Both SFs bind strongly the spindle microtubules (MTs) and the Ndc80 complex, the key factor in kinetochore-MT interaction. Cosedimentation experiments with taxol-stabilized MT further showed that Sf3A2 and Prp31 increase more than two-fold the binding of Ndc80 to MTs. Consistent with these findings, in Sf3A2 and Prp31 depleted cells, Ndc80/HEC1 does not tightly associate with the kinetochores but diffuses along the k-MTs. Collectively, our findings strongly suggest that Sf3A2 and Prp31 have a direct mitotic roles, promoting a stable association between the Ndc80 complex and the kinetochore MTs in both *Drosophila* and human cells.

DISSECTION OF THE MECHANISMS UNDERLYING KINETOCHORE-DRIVEN MICROTUBULE GROWTH: ANALYSIS OF THE ROLES OF EB1, MAST/ORBIT, MARS/HURP AND MEL-38/TPX2

Popova J.V.^{1,2,}, Razuvaeva A.V.^{1,3,*}, Munzarova A.F.^{1,3}, Pavlova G.A.^{1,4}, Pindyurin A.V.^{1,2,3}, Gatti M.¹*

¹Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴Kazan State University, Kazan, Russia

*These authors contributed equally to this work

a.pindyurin@mcb.nsc.ru

To understand the mechanisms underlying kinetochore-driven microtubule (MT) growth we analyzed MT regrowth from chromosomes/kinetochores after cold-induced MT depolymerization (abbreviated with MTRAC) in *Drosophila* S2 cells. This process is thought to mimic kinetochore fibers (k-fibers) formation in normal cells that were not exposed to cold. We

analyzed the roles of four factors that have been implicated in spindle assembly: Eb1, Mast/Orbit, Mars and Mei-38. Eb1 is an evolutionarily conserved protein that localizes at the MT the plus ends and favors MT growth. Mast/Orbit, the *Drosophila* orthologue of human CLASPs, is required for MT subunit incorporation into fluxing k-fibers and for kinetochore-MT attachment. Mars and Mei-38, the *Drosophila* orthologues of HURP and TPX2, respectively, are MT binding factors that stabilize the kinetochore MTs. RNAi against each of the four factors resulted in short spindles but not in identical mitotic phenotypes. Mast/Orbit depletion disrupted kinetochore-MT interaction, resulting in frequent monopolar spindles and in a complete prometaphase/metaphase arrest even in bipolar cells. RNAi against Eb1, Mars or Mei-38 delayed metaphase-to-anaphase transition but did not block all cells in prometaphase/metaphase. MTRAC experiments showed that Orbit/Mast or Eb1 depletion strongly inhibits kinetochore-driven MT regrowth, while loss of Mei-38 had only a mild inhibitory effect; RNAi against Mars did not affect MTRAC. These results indicate that MTRAC requires tubulin dimer incorporation at MT plus ends. The effect of Mei-38 depletion might reflect its interaction with augmin, whose loss completely suppresses MTRAC.

THE ROLE OF SUPPRESSOR OF UNDER-REPLICATION PROTEIN IN EPIGENETIC CONTROL AND REPLICATION OF THE REPRESSED REGIONS IN *Drosophila melanogaster* GENOME

Posukh O.V.¹, Maksimov D.A.¹, Skvortsova K.N.¹, Koryakov D.E.^{1,2}, Belyakin S.N.¹

¹Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

belyakin@mcb.nsc.ru

Replication of chromosomes is central to heredity. To become available for replication machinery, DNA invariably needs to dissociate from chromatin proteins. Yet, chromatin landscape must be promptly re-established during or soon after replication. Although this process underlies the epigenetic inheritance, little is known about its molecular mechanisms. This study is focused on *Drosophila melanogaster* SUppressor of UnderReplication (SUUR) protein, which is involved both in replication and chromatin maintenance in polytene tissues. Existing data suggest that it is involved in the regulation of chromatin renewal during replication. According to this model, SUUR protein moves along the chromosomes together with the replication complex. When the replication fork enters the repressed, H3K27me3- or H3K9me3-enriched, chromatin, SUUR-containing complex slows down the replisome until these histone modifications are properly placed on the newly-synthesized DNA strands. Suggested model provides an insight into the mechanism of epigenetic information inheritance. This hypothesis could be tested by further analysis of the interplay between local enrichment of repressive histone modifications and the replication fork progression rate.

CHROMATIN STRUCTURE OF TELOMERIC piRNA CLUSTERS IN DROSOPHILA GERMLINE

*Radion Elizaveta*¹, *Akulenko Natalia*¹, *Abramov Yuri*¹, *Kalmykova Alla*¹

¹ Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
radion-radion.90@mail.ru

Telomeric and subtelomeric regions contain potent Piwi interacting RNA (piRNA)-producing regions in *Drosophila melanogaster*. The telomeres of *Drosophila* are maintained as a result of the retrotransposition of specialized telomeric non-long terminal repeat retrotransposons, *TART*, *HeT-A* and *TAHRE*. Telomeric piRNAs were shown to be involved in the telomere length control and assembly of the telomere protection complex in the *Drosophila* germline. It is still unclear whether all telomeric sequences are equally efficient in the piRNA production. Chromatin structure of telomeric piRNA clusters located at different chromosomes was not yet analyzed. Transgenic constructs inserted in different sites of telomeric regions were chosen as the unique marks, which allowed us to monitor piRNA production from the repetitive telomeric sequences.

Ovarian small RNA library sequencing and their subsequent bioinformatic analysis have shown that transgenes inserted in retrotransposon arrays of 2nd and 3^d chromosomes produce predominantly piRNAs whereas transgene located at the telomere of 4th chromosome produces mainly siRNAs in *Drosophila* ovaries. Chromatin immunoprecipitation analysis (ChIP) revealed accumulation of trimethylated histone H3 lysine 9 (H3K9me3) at all studied telomeric transgenes irrespective of their location within telomeres. This chromatin mark is recognized by heterochromatic protein 1 (HP1) and its homologues. The germline-specific HP1 paralog Rhino is enriched at transgenes generating mainly piRNAs. These transgenes are located within retrotransposon array or telomere associated region (TAS). HP1 was shown to be enriched at siRNA-producing telomeric regions, such as a transgene located at chromosome 4. We suggest that the 4th chromosome embedded within HP1-enriched chromocentre provides conditions for the establishment of siRNA production at telomeres. Finally, we observed that insulator of *gypsy* transposon (Su(Hw)) located within telomeric transgenes prevents piRNA production from the locus suggesting that insulator proteins can disrupt transcription of piRNA clusters.

B CHROMOSOMES IN APODEMUS FLAVICOLLIS

Rajičić Marija, *Adnađević Tanja*, *Bugarški-Stanojević Vanja*, *Stamenković Gorana*, *Jojić Vida*,
Budinski Ivana, *Jovanović Vladimir*, *Blagojević Jelena* and *Vujošević Mladen*

Department of Genetic Research, Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, University of Belgrade, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Belgrade, Serbia

In genus *Apodemus*, the presence of B chromosome has been confirmed in six out of twenty-two species. One of them is yellow-necked field mouse *Apodemus flavicollis*. The presence of B chromosomes has been confirmed in almost all studied populations of *A. flavicollis*

in Serbia in a wide range of frequencies (0,07- 0,63). Five B chromosomes per animal was the highest number of Bs recorded in our analyzed populations.

These extra chromosomes in *A. flavicollis* are euchromatic and acrocentric, and by size and distribution of G- and C-bands can be sorted into the group of five smallest chromosomes in karyotype.

The absence of Bs accumulation in male meiosis, no significant difference in the mean number of scars and embryos between females with and without Bs, as well as the absence of significant difference in the presence of Bs among six age categories, speaks in favor of heterotic model of their maintenance, contrary to the model of parasitic behavior of these additional genomic elements.

In general, the number of Bs carriers is higher in environment that is not optimal for this species which indicates that those individuals have higher fitness. Seasonal variation of Bs frequencies has been recorded, in such a manner that highest frequencies are present before and after winter, with stable frequency fluctuations during successive years. Different frequency of Bs carriers is related to adaptive differentiation to diverse habitats mediated by environmental variables that directly and/or indirectly influence population dynamics of *A. flavicollis*. Changes in frequency follow up increase in population density in circumstances without food and space competition. Positive correlation between the frequency of Bs carriers and the average number of sub zero days, as well as with altitude increase, has been recorded.

Considering phenotypic effects, higher level of morphological integration of mandible in animals with Bs in *A. flavicollis* has been found. Furthermore, studies of the effects of Bs on nonmetric cranial traits, as well as on three components of cranial variability confirmed that Bs does not disturb developmental homeostasis in their carriers. Moreover, Bs play a significant role in structuring cranial variation.

Negative correlation between the expression of Tgf- β gene and the presence of Bs was also observed. This could be of great importance for B chromosome which has to pass through different mitotic and meiotic check points, and Tgf- β gene, through cell cycle regulation, influences development and homeostasis.

The existence of specific DNA profiles and differential expressions of three genes in the presence of Bs, testify about interaction of Bs with the rest of the genome. Absence of C-KIT exon 1 in more than one copy in specimens with 1, 2 and 3B chromosomes excludes the possibility that this gene is present on Bs. On the other hand, presence of S18 gene copy has been indicated on some Bs.

Considering the results of population studies, euchromatic structure of Bs and molecular studies that have been conducted so far, we can say that the contribution of Bs to overall genetic

diversity in this species is in sight, but there is still need for more specific evidence such as precise determination of Bs molecular structure, origin and function.

INT6 IS REQUIRED FOR PROPER MICROTUBULE DYNAMICS AT *DROSOPHILA* KINETOCHORES

Renda F.¹, Pellacani C.¹, Bucciarelli E.², Sharp D.J.³, Gatti M.^{1, 2, 4}, Somma M.P.²

¹ Dipartimento di Biologia e Biotecnologie “C. Darwin”, Sapienza, Università di Roma, Italy

² Istituto di Biologia e Patologia Molecolari (IBPM) del CNR, Roma, Italy

³ Department of Physiology and Biophysics, Albert Einstein College of Medicine, New York, USA

⁴ Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia.

Patrizia.somma@uniroma1.it

Our past RNAi-based screens identified several mitotic genes inclusive of *int6*, which encodes a component of the translation initiation complex that also interacts with both the 26S proteasome and the COP9 signalosome. Previous studies have shown that *Int6* is a proto-oncogene implicated in various types of cancer, but did not define its precise biological activity. We found that RNAi-mediated depletion of *Int6* in *Drosophila* S2 cells, results in several mitotic defects including particularly short spindles, persistent SAC activity, delayed metaphase-anaphase transition and defective chromosome segregation. FRAP analysis suggested that *Int6* enhances the turnover of microtubule (MT) plus-end at kinetochores without affecting the minus end dynamics at the spindle poles. This altered MT dynamics is due to an accumulation at kinetochores of *Klp67A*, a *Drosophila* kinesin-8 protein with MT-depolymerizing activity. In *int6* RNAi cells, *Klp67A* is less ubiquitinated than in control cells, suggesting the *Int6* controls ubiquitin-mediated degradation of *Klp67A* at kinetochores. Consistent with these results, we found that *Klp67A* overexpression in S2 cells mimics the *Int6* loss-of-function phenotype, although with milder effects. Collectively, our results suggest that *Int6* mediates proper *Klp67A* turnover during *Drosophila* mitosis; it remains to be established whether *Int6* regulates the turnover of other mitotic proteins. We also addressed the mitotic function of the highly conserved *Int6* homologue in human cells. RNAi-mediated depletion of *INT6/EIF3E* in HeLa cells led to frequent multipolar spindles and massive chromosome missegregation. We are now exploring the possibility that these phenotypes are caused by failure to degrade mitotic proteins, particularly *KIF18A*, the human homologue of *Klp67A*.

CHROMOSOME MONO-ORIENTATION: MECHANISM AND RAMIFICATIONS

Rieder Conly L.

Department of Biology, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York 12180, USA

I will illustrate, using high resolution time-lapse video phase-contrast and DIC light microscopy, the mono-orientation of chromosomes during the early stages of spindle assembly in

animal cells. I will then summarize our current understanding of the molecular mechanisms that power the resultant poleward chromosome motion which I argue is based on kinetochores-associated cytoplasmic dynein. I will then discuss the ramifications of chromosome mono-orientation and its relationship to the spindle assembly checkpoint. Although some of the information used to formulate my conclusions will come from work conducted through the years in my own lab, much will also be based on the findings of others.

MITOCHONDRIAL CHROMOSOME REARRANGEMENTS IN BAIKALIAN AMPHIPODS

Romanova E.¹, Sirotinina E.^{1,2}, Sherbakov D.^{1,2}

¹Limnological institute SB RAS, Irkutsk, Russia

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

sherb@lin.irk.ru

Full mitochondrial genomes of 10 species of Baikalian amphipods have been compared. It was shown that while the majority of genomes are arranged according to the «standard» amphipod pattern, three genomes appear to be rearranged considerably. In all cases the putative mitochondrial transcription units are broken. Phylogenetic analysis of the species sequenced based on merged protein-coding sequences suggests that the rearrangements occurred independently in different lineages and thus the gene order at least within this group of animals is not a conservative trait. This makes Baikalian amphipods an interesting model to study the pathways of mitochondrial genome evolution in absence of recombination machinery. Mapping the breakpoints onto the physical map of genomes shows that they tend to be bound to the A/T rich parts containing hairpins. Interestingly, the other parts of mitogenome contain long stretches from which the symmetrical elements are depleted.

TISSUE-TYPE SPECIFIC ELIMINATION OF B-CHROMOSOMES IN *AEGILOPS SPELTOIDES* TAUSCH

Ruban Alevtina^{1,2}, Macas Jiri³, Schubert Veit², Badaeva Ekaterina^{4,5}, Houben Andreas²

¹ Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Department of Genetics & Biotechnology, Moscow, Russia

² Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Chromosome Structure and Function Laboratory, Gatersleben, Germany

³ Biology Centre, Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Plant Molecular Biology, České Budejovice, Czech Republic

⁴ Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁵ Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
houben@ipk-gatersleben.de

Basic haploid chromosome set is essential for normal plant growth and development. The loss or gain of even one chromosome can cause changes of normal developmental course. However, some extra chromosomes exist, which may occur as an optional addition to the standard

chromosome set. These supernumerary B chromosomes (Bs) do not affect significantly on organism development and fitness and considered non-functional and without any essential genes. As a result, Bs follow their own species-specific evolutionary pathways.

In most cases the number of Bs is stable within individual organisms. However, also numerical instability of Bs was found in different plant and animal species. In B-carrying *Aegilops speltoides* plants Bs are constant in aerial tissues and totally absent in both types of roots (primary and adventitious roots). A similar situation was discovered also for *Aegilops mutica* and for plants from other genera, such as *Agropyron cristatum*, *Xanthisma texanum*, *Poa alpina*, *Sorghum purpureo-sericeum*.

To unravel the mechanism of B chromosome elimination we identified B-specific markers suitable for *in situ* hybridization first. *In silico* cluster analysis of Illumina sequence reads, which were generated from genomic DNA of plants without Bs (0B) and with 2 Bs (+B), revealed an almost similar sequence composition of +B and 0B DNA. However, four repeat clusters (CI126, 148, 183 and 205) revealed a higher copy number in +B material only. B-specific amplification of two clusters CI183 and 205 was confirmed by FISH and PCR. CI183 shows also a high sequence similarity to the rye B chromosome-specific repeat Sc26c38. Interestingly, Sc26c38 is part of the non-disjunction control region of the rye B. The B chromosomes in both species are characterized by a similar post-meiotic drive mechanism.

To test, whether the tissue-type specific B chromosome elimination occurs during embryogenesis or seed germination, we adapted a tissue section protocol suitable for the FISH and immunostaining analysis of developing seeds. *Ae. speltoides* embryos on different stages of development derived from crosses between B-positive parents were analyzed.

Based on our observations we conclude that the elimination of Bs starts with the beginning of radicle formation and occurs mostly in the meristematic area in the middle of embryo (in between apical and basal parts of embryo) via micronuclei formation.

The work was supported by the DFG Germany (HO 1779/14-1; HO 1779/23-1, <http://www.dfg.de/>) and the Russian Foundation for Basic Research (14-04-00142, <http://www.rfbr.ru/>).

GENOME MAPPING REVEALED SCAFFOLD MISASSEMBLIES AND ELEVATED GENE SHUFFLING ON THE X CHROMOSOME IN MALARIA MOSQUITOES

Sharakhov Igor V.¹, Peery Ashley¹, Naumenko Anastasia N.¹, Jiang Xiaofang¹, Hall A. Brantley¹, Artemov Gleb², Stegnyy Vladimir N.², Sharakhova Maria V.¹, Tu Zhijian¹

¹Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA 24060, USA

²Tomsk State University, Tomsk 634050, Russia

igor@vt.edu

The recently sequenced and assembled genomes of 16 anophelines (Neafsey et al. *Science*, 2015) allowed researchers to investigate the genomic basis of vectorial capacity. However, unmapped scaffolds may conceal gaps and misassemblies, which could cause incorrect or incomplete annotation of genomic sequences. Using a combination of cytogenetic and bioinformatics approaches we mapped the largest genomic scaffolds to chromosomes of *Anopheles arabiensis*, *An. stephensi*, *An. funestus*, *An. atroparvus*, and *An. albimanus*. This effort identified and corrected scaffold misassemblies in several species and developed chromosome-based genome assemblies. We estimated the number of chromosomal inversions between *An. gambiae* and each of the species and found that rearrangement rates are ~3 times higher on the X chromosome than on autosomes. The fast rate of X chromosome rearrangements is in sharp contrast with the paucity of polymorphic inversions on the X in anophelines. This finding could be indicative of a greater role of the X chromosome rearrangements in speciation of malaria mosquitoes.

ULTRASTRUCTURE OF MICROTUBULES DURING DIFFERENT STAGES OF DIVISION OF DROSOPHILA MELANOGASTER S2 CELL CULTURE

Strunov A.A.¹, Boldyreva L.V.², Andreeva E.N.², Omelyanchuk L.V.², Pindyurin A.V.², Gatti M.^{2,3}, Kiseleva E.V.¹

¹Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk

²Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk

³Sapienza University of Rome, Rome

strunov.anton@gmail.com

Drosophila melanogaster cell culture is a very useful model to study dynamics of microtubules, their molecular architecture and interactions with kinetochores during different stages of mitosis. A lot of data in the field of spindle organization is currently obtained with the help of various light microscopy techniques, however, little is known about fine structure of microtubules during different stages of mitosis. The lack of information could be partly explained by inability to synchronize insect cell culture.

In this work we applied transmission electron microscopy to study ultrastructure of spindle microtubules in *D. melanogaster* S2 cells undergoing different stages of mitosis. We examined two different methods of specimen preparation: (a) cells grown on a plastic film and undergoing a stage of division of interest were marked with a help of inverted microscope and processed for

standard EM fixation and embedding; (b) trypsinized cells were collected in a tube in a pellet and processed for standard EM fixation and embedding.

Using the method (a) did not preserve well the morphology of cell organelles and provided cells with more or less identical localization of a spindle. Using the method (b) we were able to obtain good preservation of cell structure, to analyze the bigger amount of cells undergoing mitosis and observe cells at various angles of spindle localization. The analysis of microtubule ultrastructure and dynamics during the prophase showed single microtubules penetrate the nucleus through envelope partly disassembled from each pole and contact chromosomes undergoing condensation process. During the prometaphase a lot of unorganized microtubules often contacting the chromosomes were detected. During the metaphase microtubules stretched to kinetochores as bundles (k-fibers). Each bundle had microtubules arranged at the same distance (25 nm) and sometimes bounded by short bridges presumably of protein origin. We observed two main groups of bundles on a basis of microtubule amount. The first group included small bundles consisting of 3-6 microtubules, the second one included big bundles with 12-16 microtubules. We also detected the microtubules having no contact with the kinetochores while directly contacting the chromosome. In anaphase the microtubule bundles move chromosomes to the poles. Small fragments of nuclear envelope around the chromosomes were detected during this stage. In telophase on each pole the chromosomes formed compacted material covered with newly formed nuclear envelope with irregular shape. Microtubules were detected mostly at cytokinesis area and rarely seen close to the chromosomes.

In conclusion, this work describes for the first time the ultrastructure of spindle microtubules during different stages of mitosis of *Drosophila* S2 cells obtained with the help of transmission electron microscopy.

THE STUDY OF KARYOTYPE EVOLUTION HELPS TO IDENTIFY CRYPTIC SPECIES: A CASE STUDY IN *AGRODIAETUS* BUTTERFLIES

*Vishnevskaya Maria S.*¹, *Lukhtanov Vladimir A.*^{1,2}, *Dantchenko Alexander V.*¹,
*Saifitdinova Alsu F.*¹

¹ Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

² Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia

wishm@yandex.ru

Despite the fact that butterflies of the subgenus *Agrodiaetus* (genus *Polyommatus*, Lepidoptera, *Lycaenidae*) are model systems in evolutionary research, its taxonomy is poorly elaborated since, as a rule, most of its species are morphologically poorly differentiated. However, the majority of the species can be identified by their karyotypes, particularly by chromosome numbers that appear to be species-specific characters. In our study we analyzed the karyotype evolution in *Agrodiaetus* by mapping the data on chromosome number and karyotype structure on

molecular phylogeny of the subgenus. First, we demonstrate that different lineages of *Agrodiaetus* can independently evolve the same (or nearly the same) chromosome number. Thus, the similarity in karyotype can be a homoplasy that makes difficult the karyotype-based species identification. Then, using a combination of chromosomal and molecular markers, we demonstrate that the traditionally recognized *P.(A). valiabadi* is a triplet of cryptic species, strongly differentiated by their karyotypes and mitochondrial haplotypes.

The work was supported by grants from the Russian Science Foundation (14-14-00541) and RFBR (15-29-02533, 15-04-01581, 14-04-00139, 14-04-01051, 14-04-00770, 14-04-31726). Postdoctoral fellowship was provided to A. Dantchenko from St. Petersburg State University.

The work was made on the base of “Chromas” Core Facility, Centre for Molecular and Cell Technologies (Saint-Petersburg State University Research Park), and Department of Karyosystematics (Zoological Institute, RAS).

THE ROLE OF PHOSPHATASE INHIBITION BY UNFAIR COMPETITION IN CELL CYCLE PROGRESSION

Williams B.C., Filter J.J., Shalloway D., Goldberg M.L.

Department of Molecular Biology and Genetics, Cornell University, Ithaca NY USA
mlg11@cornell.edu

M phase-specific phosphorylations must be reversed when cells exit M phase; one of the phosphatases involved is PP2A associated with a B55 regulatory subunit (PP2A-B55). During M phase entry and M phase proper, PP2A-B55 activity is suppressed through a pathway involving Cdk1-Cyclin B, Greatwall kinase, and the small phosphoprotein pEndosulfine (pEndos). M phase exit requires PP2A-B55 activity to be reset through the dephosphorylation of pEndos.

We found that PP2A-B55 is the enzyme responsible for the dephosphorylation of pEndos. This result was surprising for two reasons: First, PP2A-B55 activity against its normal substrates is completely shut down during M phase; how could a dead enzyme reactivate itself? Second, how can pEndos be simultaneously an inhibitor and a substrate of PP2A-B55?

By analyzing the kinetic constants that determine the association of PP2A-B55 and pEndos, we were able to resolve these questions through a model we call *inhibition by unfair competition*. In essence, PP2A-B55 and pEndos bind so tightly to each other that they sequester each other from other molecules: PP2A-B55's active site is shielded from other substrates, while pEndos is protected from other phosphatases. pEndos is continuously dephosphorylated by PP2A-B55, and this reaction becomes significant during M phase exit, when pEndos cannot be replenished because Cdk1-Cyclin B and Greatwall are inactivated. Inhibition by unfair competition is necessary for the observed rapidity of pEndos dephosphorylation at M phase exit.

This mechanism is also sufficient to account for the speed of these events because each molecule of PP2A-B55 needs only to dephosphorylate a few molecules of pEndos.

The inhibition by unfair competition model is attractive because it is very simple and because it means that PP2A-B55 has an auto-reset mechanism that allows the enzyme to turn itself back on automatically when cellular conditions dictate. We have thus recently investigated whether other phosphatases might be controlled in the same way.

Myosin phosphatase (PP1-MYPT1) is down-regulated during the contraction of smooth muscles by the small phosphoprotein pCPI-17. When the muscles relax, pCPI-17 must be dephosphorylated. The literature to date maintains that phosphatases other than PP1-MYPT1 dephosphorylate pCPI-17. However, our kinetic analyses demonstrate that PP1-MYPT1 is indeed the enzyme that is responsible for the physiologically significant component of pCPI-17 dephosphorylation. The mechanism that allows pCPI-17 to be both an inhibitor and a substrate of PP1-MYPT1 is again that of unfair competition.

The catalytic subunits of both PP2A and PP1 are members of the PPP family of protein phosphatases. The kinases Greatwall and PKC, which phosphorylate Endos and CPI-17, respectively, are members of the AGC family of protein kinases. Our results suggest that inhibition by unfair competition is an ancient mechanism that allows AGC kinases to regulate PPP phosphatases in a highly responsive manner.

CHROMOSOME FRAGILITY AND ABNORMAL REPLICATION IN FMR1 LOCUS IN FRAGILE X SYNDROME PATIENTS

Yudkin D.V.^{1,2}, Kumari D.³, Usdin K.³

¹Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

³National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney disease, NIH, Bethesda, USA

dim@mcb.nsc.ru

Fragile sites on metaphase chromosomes appear as common elements of human genome and visible as breaks or constrictions. Chromosome fragile sites are divided into two groups: common fragile sites (CFS) and rare fragile sites (RFS). CFSs are elements of normal human karyotype and observed in every individual. RFSs vice versa are result of mutation and can be observed in about 5% of individuals. CFSs and RFSs appear after induction by 5-fluorodeoxyuridine (FdU), bromodeoxyuridine, distamycin A or aphidicolin [1].

Majority of CFSs are aphidicolin (APH) induced. APH is inhibitor of DNA polymerase α . Anticancer alkaloid camptothecin (CPT) can reduce chromosome fragility induced by APH. CPT is topoisomerase I inhibitor. It inhibits DNA unwinding during replication. If APH present alone and DNA polymerase is inhibited the long unstable single strand DNA appears and leads to chromosome fragility. This long DNA can't come in presence of CPT because TopoI is inhibited

and chromosome fragility will be reduced [2]. A lot of CFSs are coinciding with origin pure regions of genome [3].

In our study we have analyzed RFSs expression in presence of CPT. One of the most widespread RFS is FRAXA. This site is FdU inducible. FRAXA is located in Xq27.3 and related to Fragile X syndrome (FXS), the main type of inherited mental retardation in human.

FRAXA is result of CGG repeat expansion in 5' promoter region of FMR1 gene. Normal gene contains no more than 55 triplets, if repeat size between 55 and 200 triplets it leads to premutation, and repeat size more than 200 triplets is full mutation which leads to chromosome fragility and FXS. In full mutation FMR1 gene doesn't express.

In this work we have studied replication activation in 5' promoter region of FMR1 gene in FXS and normal cell cultures in presence or absence of FdU. We find replication activation inhibition in FRAXA region is independent of FdU presence. The model of chromosome fragility for FRAXA was suggested.

FdU is inhibitor of thymidylate synthase – important enzyme for synthesis of pyrimidines. FdU presence in cells disturbs the nucleotide synthesis pathways and nucleotide balance. It leads to inhibition of replication. CGG repeat tract is hard for replication and in conditions of replicative stress can't be replicated. Insufficient replication leads to fragile site appearing.

References:

1. Durkin S., Glover T. Chromosome fragile sites // *Annu. Rev. Genet.* 2007. V. 41. P. 169-192.
2. Arlt M., Glover T. Inhibition of topoisomerase I prevents chromosome breakage at common fragile sites // *DNA Repair.* 2010. V. 9. N. 6. P. 678-689.
3. Ozeri-Galai E., et. al. Failure of origin activation in response to fork stalling leads to chromosomal instability at fragile sites // *Mol. Cell.* 2011. V. 43. N. 1. P. 122-131.

MTV, A TELOMERIC ssDNA-BINDING COMPLEX, PROTECTS DROSOPHILA TELOMERES AND RECRUITS RETRO-TRANSPONON TO CHROMOSOME ENDS

Zhang Yi, Zhang Liang, Gao Guanjun, Rong Yikang S.
LBMB, NCI, NIH, USA

Telomeres are protected by multiple protein complexes. In telomerase-maintained organisms, the Shelterin complex occupies primarily the duplex region of the telomere while the CST complex binds the single stranded region. *Drosophila* uses a transposon-based mechanism for end protection. We showed that the HipHop-HOAP complex occupies the duplex region. The revelation by the Gatti group that the Ver protein shares significant sequence similarities with Stn1 suggests that a similar ssDNA-binding complex exists in *Drosophila*. Using yeast 2-hybrid and recombinant proteins, we identified a trimeric complex consisting of Ver and Moi, two known capping proteins, as well as TEA, a novel capping protein that we identified. The Moi-TEA-Ver

(MTV) complex purified in vitro binds and protects ssDNA in a sequence-independent manner. In vivo, MTV components are specifically enriched at chromosome ends where they prevent telomere fusion. Their telomeric localization is inter-dependent, and point mutations disrupting MTV interaction in yeast 2-hybrid assays behave as nulls in *Drosophila*, consistent with these proteins functioning as a complex in vivo. Interestingly, MTV as a complex may regulate end-elongation by participating in the recruitment of telomeric transposon RNPs to chromosome ends. MTV thus shares functional similarities with both the CST and the Tpp1-Pot1 complex in telomerase-maintained organisms, highlighting a possible conserved feature between telomerase-based and transposon-based telomere protecting mechanisms.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНА В ЯДРАХ ЦИСТОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ *CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA*

Ананьина Т.В., Федоришин Д.А., Стегний В.Н.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, НИИ биологии и биофизики, г. Томск

tany_a@list.ru

Пространственная организация интерфазных ядер циклирующих недифференцированных клеток является той основой, с которой начинается реорганизация хроматина во время клеточной дифференцировки. Однако, часто бывает трудно проследить изменения, происходящие в ядрах при дифференцировке клеток, потому что эти события происходят в сложных трехмерных тканях. Удобной моделью для изучения этих процессов являются клетки генеративной линии в овариолах двукрылых насекомых. В нашем исследовании мы изучали пространственную организацию ядер цисточитов *Calliphora erythrocephala* (Diptera: Calliphoridae). Цисточиты образуются на переднем полюсе овариолы (в гермариин) в результате деления цистобласта (образовавшегося после деления стволовой клетки) и клеток, производных от него. При этом образуется сначала 2-х, затем – 4-х, 8 и 16-ти клеточный синцитий (циста) из цисточитов. Митотические деления в цисте происходят синхронно и все клетки вступают в интерфазу одновременно. Сохраняется ли синхронность протекания процессов в интерфазе?

Для реконструкции связей между клетками цист, овариолы *C. erythrocephala* окрашивали фаллоидином, конъюгированным с FITC. При этом интенсивно окрашиваются кольцевые каналы. Окрашивая кольцевые каналы, мы получили возможность реконструировать связи между клетками цисты и определить, к какой цисте относится та или иная клетка. Для анализа морфологии хроматина в интерфазных диплоидных ядрах цисточитов, овариолы окрашивали флуоресцентным красителем DAPI. После программной коррекции интенсивности сигнала DAPI в ядрах проявляются интенсивно окрашенные,

компактные DAPI-позитивные районы хроматина. 3D-реконструкция ядер цистоцитов показала, что клетки в цисте отличаются количеством, размером и расположением в ядре DAPI-позитивных районов. Причем, по этим признакам отличались даже клетки, произошедшие в результате одного митоза. Для анализа морфологии хроматина в ядрах цистоцитов, находящихся на S-стадии интерфазы, клетки метили BrdU.

Различия в расположении и количестве DAPI-позитивных районов и характере мечения BrdU в ядрах цистоцитов из одной цисты говорят о рассинхронизированности процессов репликации ДНК цистоцитов и различиях в пространственной организации их ядер. В процессе дифференцировки один из цистоцитов становится ооцитом, в ядрах остальных клеток начинается процесс полиплоидизации и они начинают выполнять трофическую функцию, поставляя в ооцит различные типы РНК и белки. Во время функционирования питающих клеток происходит кардинальная перестройка пространственной организации их ядер – политенная организация сменяется на полиплоидную ретикулярную. На этой стадии оогенеза различия в темпах репликации между питающими клетками одной цисты становятся более заметными. Так в одной яйцевой камере *C. erythrocephala* можно наблюдать несколько вариантов организации хромосом: политенные хромосомы, помпоны, их распад на отдельные пары хроматид и формирование ретикулярной структуры ядра, что, по данным, полученным на дрозофиле (Dej, Spradling, 1999) может соответствовать разнице как минимум в 2 эндомитотических цикла.

Исследование проводилось при финансовой поддержке программы «Научный фонд им. Д.И. Менделеева Томского Государственного Университета».

ТРАНСКРИПЦИОННО НЕАКТИВНЫЙ ХРОМАТИН В РАННЕМ РАЗВИТИИ DROSOPHILA MELANOGASTER

Андреева Е.Н.¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск
andreeva@mcb.nsc.ru

В настоящее время активно изучаются состав и структура белковых комплексов, контролирующих процессы экспрессии и репрессии генов. У *Drosophila* эти процессы тесно связаны с поздней репликацией инактивированных районов в S-фазе клеточного цикла. Недавно был открыт особый тип гетерохроматина, в состав которого входят белки ламин Dm0, SUUR, гистон H1, D1, SU(HW) и EFF. Отличительным свойством этого транскрипционно неактивного хроматина, названного «черным», является отсутствие других известных белков-репрессоров, таких как HP1 или PcG, а также любых известных гистоновых модификаций. Целью работы было проанализировать последовательность и

время сборки транскрипционно неактивного хроматина в раннем развитии *D. melanogaster* (0-5 часов) с учетом взаимовлияния белков-компонентов на этот процесс.

Ряд белков черного хроматина начинает свою работу в онтогенезе очень рано. Так, ламин В типа у дрозофилы (*Lamin Dm0*) работает во всех типах клеток и участвует в формировании внутренней ядерной оболочки ядра спермия при декомпактизации его и трансформации в мужской пронуклеус сразу после оплодотворения. На первых этапах развития в хроматине содержится особый набор ювенильных гистонов. Так гистон H1 появляется в хроматине только после 7 деления дробления, а до этого вместо него работает белок Hmg-D. Мы впервые показали, что белки SUUR и D1 не являются компонентами хроматина ядра спермия и детекция этих белков в мужском пронуклеусе дикого типа связана с изменением состава хроматина при декомпактизации ядра спермия. Отсутствие белка SUUR не влияет на локализацию белка D1 в эмбрионах. У дрозофилы при оплодотворении яйца женский пронуклеус еще не сформирован, и женский мейоз продолжается со стадии метафазы I деления. В продуктах женского мейоза белок SUUR детектируется на всех стадиях, кроме метафазы. Мы выявили, что в процессе формирования зиготы у мутантов *SuUR[ES]* происходит несинхронная конденсация хромосом у мужского и женского пронуклеусов в прометафазе I деления дробления. Несмотря на это, процесс расхождения хромосом в анафазе у мутантов происходит без значительных нарушений. Поскольку мы ранее детектировали белок SUUR в ядре спермия при его декомпактизации в мужской пронуклеус, то возник вопрос: не меняется ли распределение специфических белков для мужского пронуклеуса? Известно, что в процессе декомпактизации ядра спермия происходит включение варианта гистона H3.3 в хроматин, и хроматин мужского пронуклеуса обогащен ацетилированным гистоном H4 (AcH4). Мы использовали линию мух, экспрессирующие химерный белок H3.3-Flag на фоне мутации *SuUR[ES]*, и показали, что в этой линии распределение белков H3.3 и AcH4 не отличается от нормы. Мы проанализировали распределение белка PCNA в ядрах пронуклеусов во время удвоения ДНК и обнаружили, что у мутантов *SuUR[ES]* происходит потеря синхронности завершения репликации ДНК пронуклеусов. Мы обнаружили, что разрушение ядерной оболочки у мутантов *SuUR[ES]* в прометафазе первого деления происходит не синхронно. Далее мы выявили, что с 1 по 10 деление дробления белок SUUR детектируется в хроматине уже на стадии анафазы клеточного цикла, но отсутствует в метафазе. Отсутствие белка SUUR приводит к тому, что белок PCNA (компонент комплекса с SUUR и маркер вилки репликации) начинает детектироваться в анафазных хромосомах в прицентромерных областях.

Таким образом, полученные нами данные позволяют считать белок SUUR образом влияет на процесс репликации ДНК в клетках эмбрионов, находящихся на стадиях делений дробления.

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ *IN SITU* ГИБРИДИЗАЦИЯ МИКРОДИССЕКЦИОННЫХ ПРОБ Y-ХРОМОСОМЫ ПОЛОСАТОГО ОПЛЕГНАТА (*Oplegnathus fasciatus*) И ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РИБОСОМНОЙ РНК НА ПРЕПАРАТАХ МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМ *O. fasciatus*

Андреюшкова Д.А.^{1,2}, Трифонов В.А.^{1,3}, Хи D.⁴, Сердюкова Н.А.¹, Лемская Н.А.¹, Беклемишева В.Р.¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

³Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

⁴Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang Province

ada@mcb.nsc.ru

Полосатый оплегнат (*Oplegnathus fasciatus*) является представителем отряда Окунеобразные (Perciformes) и семейства Оплегнатовые (Oplegnathidae). Кариотип данного вида состоит из $2n=48$ (2 метацентрика и 46 акроцентриков) у самки и $2n=47$ (3 метацентрика и 44 акроцентрика) у самца. Различия обусловлены наличием системы хромосомного определения пола $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$. Хромосомы X_1 и X_2 являются акроцентрическими, в то время как Y представляет собой метацентрическую хромосому, размер которой значительно превышает размеры других хромосом в кариотипе. В связи с этим представляет интерес поиск участков гомологии между половыми хромосомами данного вида.

Суспензии метафазных хромосом полосатого оплегната были предоставлены коллегами из Китая. С помощью микродиссекции метафазных хромосом были получены пробы Y-хромосомы, дающие специфические сигналы на при флуоресцентной *in situ* гибридизации на препаратах метафазных хромосом полосатого оплегната. Впоследствии будет осуществлено секвенирование данных проб.

Путём флуоресцентной *in situ* гибридизации были также локализованы последовательности, кодирующие рРНК, на метафазных хромосомах полосатого оплегната (*Oplegnathus fasciatus*). Специфический сигнал был выявлен на 1 паре хромосом данного вида, являющихся единственной парой метацентрических хромосом в кариотипе, за исключением Y-хромосомы самца.

МЕЖВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КОНТАКТОВ ХРОМОСОМ С ЯДЕРНОЙ ЛАМИНОЙ В ТРОФОЦИТАХ ЯИЧНИКОВ У ТРЕХ ВИДОВ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ

Артемов Г.Н., Широкова В.В., Сапунов Г.А., Стегний В.Н.

Томский государственный университет, г. Томск,

g-artemov@mail.ru

Политенные хромосомы трофоцитов яичников малярийных комаров обладают видоспецифичной системой взаимодействия хромосом с ядерной оболочкой (Стегний, 1979; Артемов и др., 2013). Особенность хромосом трофоцитов проявляется в меньшей недорепликацией гетерохроматина, отсутствием хромоцентра и рандомным расположением прицентромерных районов к ядерной оболочке друг относительно друга (Artemov et al., 2015). Иммуноокрашивание давленных препаратов хромосом трофоцитов антителами к ламину В типа, основному компоненту ядерной ламины, позволило выявить контакты хромосом с ядерной ламиной. Фокусы ламина обнаруживались нами в определенных районах хромосом и с разной частотой. Так, например, во всех наблюдаемых нами ядрах трофоцитов *An. atroparvus* районы 2В-С, 3С, 6В содержали фокусы ламина, тогда как в других, как, например, 31В – с частотой 87%, 5А – 25%, 37А – 13% и так далее. Частота и локализация некоторых контактов хромосом трофоцитов видоспецифичны у трех видов комаров *Anopheles atroparvus*, *An. beklemishevi* и *An. messeae*. Показано, что наблюдаемые различия хромосом по локализации контактов не вызваны только хромосомными инверсиями, которые сопровождали видообразование в этой группе насекомых. Например, 2L хромосома имеет одинаковый порядок дисков у трех видов, однако паттерн контактов хромосом с ядерной ламиной существенно различается. Для поиска гомеологичных районов X-хромосом у трех видов малярийных комаров были получены микродиссекционные пробы районов локализации фокусов ламина и проведена FISH. В результате было обнаружено, что некоторые гомеологичные районы обладают общим свойством контакта хромосом с ядерной ламиной, тогда как другие нет. Этот эксперимент подтверждает, что не все районы хромосом могут сохранять свойство контактов с ядерной ламиной, но могут приобретать или утрачивать его в ходе эволюции.

Подсчет числа контактов вдоль хромосомных плеч аутосом показало, что в основном эти контакты представлены в прицентромерной и прителомерной областях. Несмотря на это были найдены хромосомоспецифичные особенности, которые проявляются как в числе таких контактов, так и в их распределении. Так в правом плече хромосомы 2 контактов в среднем в 1,2-1,8 раза меньше, чем в левом плече и их значительно меньше в прицентромерном районе. Хромосома 3 отличается большим числом контактов в прицентромерном районе обоих плеч. Выявлены также видоспецифичные

особенности распределения этих контактов. Так хромосома 2 *An. messeae* имеет в 2 раза меньше контактов с ядерной ламиной, при этом наиболее выраженный контакт (50-100%) 2R расположен в середине плеча. 3L хромосома *An. beklemishevi* образует выраженные прикрепления в прителомерной области, что не наблюдается у двух других видов. Интересно, что фиксированные хромосомные перестройки в хромосоме 3, по которым различаются три вида комаров, не изменяют кардинально плотность контактов этой хромосомы с ядерной ламиной. Однако, инверсия в 2R, характерная для *An. beklemishevi*, несколько «усиливает» контакт в прицентромерной области хромосомы этого плеча.

В настоящем исследовании было продемонстрировано, что число и распределение сигналов с различной частотой встречаемости является важной видоспецифичной характеристикой ядерной архитектуры хромосом трофоцитов малярийных комаров, а хромосомные перестройки, по-видимому, не являются главным двигателем эволюции пространственной организации трофоцитов.

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ ГЕНА *CHD1* НА СТРУКТУРУ X-ХРОМОСОМЫ У САМЦОВ *D. MELANOGASTER*

Барановская И.Л.^{1,2}, Макасе А.А.¹, Конев А.Ю.¹

¹ Петербургский институт ядерной физики НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский государственный Политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия

irina.baranovskaja.1992@gmail.com

Сборка хроматина представляет собой принципиально важный процесс, необходимый для дупликации хроматина после репликации ДНК. Кроме того, удаление и включение гистонов происходит постоянно в течении клеточного цикла, в ходе таких процессов метаболизма ДНК, как, например, транскрипция, репарация или рекомбинация. В таких преобразованиях хроматина принимают участие множество белковых факторов, часть из которых принадлежит к семействам АТФ-зависимых хроматин-ремоделирующих белков, таких как CHD1 и ISWI. CHD1 является первым АТФ – зависимым фактором сборки хроматина, для которого продемонстрировано участие в сборке хроматина *in vivo* [1]. Считается, что белок CHD1 является одним из ключевых факторов в независимой от репликации сборке хроматина, содержащего вариантный гистон H3.3.

Хроматин-ремодулирующий фактор CHD1 регулирует различия между плюрипотентным и мультипотентным состоянием эмбриональных стволовых клеток [2]. Отмечена роль *CHD1* в подавлении латентной транскрипции вируса иммунодефицита человека 1-го типа. Гены человека *Chd1* и *Chd2*, гомологичные *Chd1* дрозофилы, являются онкогенами. Было показано, что гомозиготные делеции по *Chd1* являются одними из самых распространенных мутаций у больных раком простаты [3]. Таким образом, изучение

факторов, участвующих в процессе сборки хроматина, таких как CHD1, является предпосылкой для разработки новых методов антираковой терапии, терапии ВИЧ-инфекции и для репрограммирования стволовых клеток.

Целью данной работы является изучение роли фактора CHD1 в процессах сборки хроматина *in vivo* и в контроле структурной организации хромосом дрозофилы. Для достижения данных целей были получены мутантные особи *D.Melanogaster*, несущие мутацию гена *Chd1* и делецию одного из двух генов, кодирующих вариантный гистон H3.3. Основными результатами данной работы является обнаружение изменения структуры X-хромосомы у самцов, несущих нуль-мутацию по гену *Chd1*. X-хромосома у таких самцов становится укороченной, деконденсированной и утолщенной. При этом продукт гена *Chd1* материнского происхождения концентрируется у самцов в X-хромосоме, вызывая ее специфическое окрашивание. Морфология X-хромосомы у самок не изменяется и в них не наблюдается аккумуляции материнского продукта гена *Chd1*. Таким образом нами впервые обнаружена роль *Chd1* в регуляции структуры X-хромосомы самцов, связанной с феноменом дозовой компенсации. При этом замечено усиление данного эффекта в отсутствие одного из двух генов, кодирующий вариантный гистон H3.3.

Литература

1. Konev, A.Y. et al. CHD1 motor protein is required for deposition of histone variant H3.3 into chromatin *in vivo*. // *Science*. 2007 Aug 24;317(5841):1087-90.
2. Gaspar-Maia, A., Alajem, A., Polesso, F., Sridharan, R., Mason, M.J., Heidersbach, A., Ramalho-Santos, J., McManus, M.T., Plath, K., Meshorer, E., and Ramalho-Santos, M. Chd1 regulates open chromatin and pluripotency of embryonic stem cells // *Nature*, – 2009. – V. 460. – No. (7257). – P. 863-8.
3. Liu W. et al. Identification of novel CHD1-associated collaborative alterations of genomic structure and functional assessment of CHD1 in prostate cancer // *Oncogene*. – 2011. – Т. 31. – №. 35. – С. 3939-3948.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА ЛАСТОНОГИХ (PINNIPEDIA)

Беклемишева В.Р.¹, Перельман П.Л.¹, Лемская Н.А.¹, Кулемзина А.И.¹, Проскуракова А.Г.¹, Графодатский А.С.¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск
bekl@mcb.nsc.ru

Геномы представителей большинства семейств Хищных изучены достаточно подробно методами классической и молекулярной цитогенетики. Среди наименее изученных – Ластоногие. На основании анализа диплоидных чисел и дифференциальных окрасок хромосом некоторых видов этой группы млекопитающих ранее было высказано

предположение о консерватизме геномов у представителей Pinnipedia. Методом Zoo-FISH с использованием сортированных хромосомных проб человека был изучен только один вид – настоящий тюлень (*Phoca vitulina*).

В данном исследовании получены сравнительные хромосомные карты для представителей трех ветвей Ластоногих: моржа (*Odobenus rosmarus*, Odobenidae - моржи), северного морского льва (*Eumetopias jubatus*, Otariidae – ушастые тюлени) и байкальской нерпы (*Pusa sibirica*, Phocidae – настоящие тюлени). Для проведения сравнительного хромосомного пэинтинга были использованы хромосомные библиотеки домашней собаки и человека (HSA). Кроме того, были поставлены эксперименты с отдельными аутосомными пробами каменной куницы для подтверждения слияний элементов, гомологичных элементам предкового кариотипа (ACK - Ancestral Carnivore Karyotype).

В кариотипах изученных видов с использованием хромосомных проб человека и собаки выявлено 32 и 68 гомологичных аутосомных сегментов соответственно. Помимо ассоциаций, общих для всех Eutheria - HSA 3/21, 4/8, 7/16, 10/12/22, 14/15 и 16/19, - описаны слияния консервативных элементов, маркерных для разных групп Ластоногих. Слияние HSA 7/16/1 (ACK 16/18) является общим для сивуча и моржа. Также у моржа выявлены слияния HSA 5/10 и 9/17 (ACK 5/11 и 14/15). Ассоциации HSA 5/17, 7/16/10/12/22 и 10/1 (ACK 5/15, 8/18 и 11/16) обнаружены в геноме байкальской нерпы.

Данные молекулярной цитогенетики подтвердили консервативность геномов Ластоногих. Топология филогенетического древа, реконструирующего преобразования кариотипов трех ветвей Pinnipedia, совпадает с топологией древа, основанного на анализе последовательностей ядерных и митохондриальных генов (Nyakatura & Bininda-Emonds 2012).

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИГАНТСКИХ ХРОМОСОМ ХИРОНОМИД (DIPTERA, CHIRONOMIDAE), ОБИТАЮЩИХ В ВОДОЁМАХ НА ЗАТРОНУТЫХ ЧЕРНОБЫЛЬСКИМ ВЫБРОСОМ ТЕРРИТОРИЯХ

Белянина С.И.

Медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов
microtus43@mail.ru

В период с 2009 по 2015 г.г. нами проведен анализ состояния гигантских хромосом и кариофондов хирономид из водоёмов Белоруссии (у г.г. Минска, Витебска, Ивацевичей, Гомеля, Добруша, Речицы) и Брянской области в России (Новозыбковский, Клинцовский, Злынковский, Гордеевский, Стародубский районы). В пробах бентоса доминируют личинки *Chironomus plumosus*, другие виды или отсутствовали или крайне редки.

Фитофильные хирономиды изучены только из водоемов Брянской области и представлены *Glyptotendipes glaucus*.

В изученных популяциях у многих личинок *Ch. plumosus* наблюдался мозаицизм морфотипов хромосом в клетках одной и той же слюнной железы – от хромосом с обычной дисковой структурой, хромосом с разрыхленными или размытыми дисками до бесструктурных размазанных хромосомных масс. Особенно резко выражено это явление у брянских личинок *G. glaucus* из отчужденной зоны у сел Несвоевка и Святское в Новозыбковском районе. Возможно, что разная морфологическая выраженность структуры хромосом личинок из этих водоёмов относится к категории неканонической изменчивости, которая, как известно, на хромосомном уровне может проявляться в изменении упаковки хроматина без повреждения ДНК. В популяциях *Ch. plumosus* и *G. glaucus* в хромосомах личинок встречены разрыхленные или зернистые теломерные районы, что имело мозаичный характер. Возможно, что нарушения теломер ведут к недорепликации ДНК в ряде клеток и, в итоге, – к вариации морфотипов хромосом в пределах слюнной железы. В популяции *Ch. plumosus* из Добруша часто нарушение конъюгации гомологов в хромосоме III – гомологи полностью расходятся, хотя и удерживаются рядом. Функциональные изменения хромосом у *Ch. plumosus* и *G. glaucus* проявлялись в сблоченности дисков, появлении пухов *de novo* (часто в гетерозиготном состоянии), у *Ch. plumosus* к тому же, как правило, было репрессировано кольцо Бальбиани в хромосоме I.

Встреченные гетерозиготные инверсии у *Ch. plumosus* и *Gl. glaucus* относятся к уже известным для этих видов в их ареалах перестройкам. Между изученными популяциями обнаружены различия в спектре и частотах одних и тех же инверсий. Среднее число инверсий на особь из разных популяций: у *Ch. plumosus* – от 0.30 до 1.20, у *Gl. glaucus* – от 0.61 до 1.1. В большинстве популяций как *Ch. plumosus*, так и *G. glaucus* зарегистрированы структурно малые изменения хромосом, затрагивающие небольшое число дисков и отмеченные не во всех клетках слюнной железы. Возможно, что эти изменения хромосом являются радиационно индуцированными.

В белорусских популяциях *Ch. plumosus* из Витебска, Ивацевичей, Гомеля, Добруша в кариотипах найдены В-хромосомы, особенно частые (18,6%) у личинок из водоёма у г. Ивацевичи. В брянских водоемах В-хромосомы у *Ch. plumosus* отсутствовали или очень редки. У *G. glaucus* В-хромосомы не обнаружены. У *Ch. plumosus* из ряда популяций с разной частотой обнаружена полиплоидия (3n). В реке Ипуть у Новозыбкова более 15% особей этого вида были триплоидными, при этом у 1,8% из них наблюдался соматический мозаицизм по степени политении в хромосомах в пределах слюнной железы, что, вероятно,

связано с нарушением нормального хода репликации хромосомного материала. У *G. glaucus* полиплоидия редка.

Цитогенетический анализ брянских и белорусских популяций *Chironomus plumosus* и брянских популяций *Glyptotendipes glaucus* свидетельствует о нестабильности хромосомного аппарата этих видов из исследованных водоемов в сложившихся экологических условиях.

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР ADF-1 И ИНСУЛЯТОРНЫЙ БЕЛОК BEAF-32 НЕОБХОДИМЫ ДЛЯ ДЕКОМПАКТИЗАЦИИ ДНК МЕЖДИСКА 61C7/C8 ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ *D. MELANOGASTER*

Беркаева М.Б.¹, Панкова Т.Е.^{1,2}, Демаков С.А.¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

berkaeva@mcb.nsc.ru

Для того, чтобы ДНК могла поместиться в ядро, ей необходимо упаковаться в тысячи раз, и при этом остаться функциональной с точки зрения реализации генетической функции. На первой стадии упаковки ДНК образуются нуклеосомы, а затем нуклеосомная нить складывается в петли, в результате чего образуется хромосома, вдоль которой ДНК упакована неравномерно. Увидеть неравномерность упаковки в диплоидных интерфазных хромосомах невозможно, однако её можно наблюдать на политенных хромосомах слюнных желёз личинок дрозофилы. Политенные хромосомы имеют огромный размер и образуются за счет многократных раундов репликации, которые не сопровождаются делением клетки. При этом хроматиды не расходятся, а располагаются рядом параллельно друг другу. Благодаря этому можно увидеть участки хромосомы, где ДНК упакована более плотно, - они формируют темные диски и участки с меньшей плотностью упаковки ДНК – светлые междиски. Возникают вопросы, во-первых, какие факторы определяют степень упаковки ДНК на том или ином участке хромосомы? Во-вторых ли взаимосвязь между начальным нуклеосомным уровнем упаковки хроматина и конечным уровнем – видимыми структурами хромосом?

В данной работе мы изучали факторы, отвечающие за формирование междиска, на примере конкретного района политенной хромосомы – 61C7/C8. Фрагмент ДНК из этого междискового района был перенесен в новое генетическое окружение, где мы исследовали его цитологическую структуру, нуклеосомную организацию и набор белков, который связывается с этим фрагментом в слюнных железах. Также мы внесли ряд мутаций, которые нарушают связывание транскрипционных факторов и инсуляторных белков с данным фрагментом, и исследовали, как это отражается на нуклеосомной организации района и на способности данного фрагмента ДНК формировать междиск.

Мы показали, что для формирования междиска необходимо связывание транскрипционного фактора Adf-1 и инсуляторного белка BEAF-32. Мутации, нарушающие связывание любого из этих двух белков, приводят к исчезновению междиска. Ещё два транскрипционных фактора – DREF и dMyc, которые в норме связываются с этим районом, оказались несущественными для формирования междиска. Мы сравнили нуклеосомные профили нативного района 61C7/C8 и эктопического междиска, сформированного из той же ДНК в новом генетическом окружении. Оказалось, что в эктопическом междиске нуклеосомы стали почти в два раза стабильнее, чем в нативном. Также мы построили нуклеосомные профили для встроек с мутациями по сайтам связывания Adf-1 и BEAF-32. Несмотря на то, что обе мутации приводят к исчезновению междиска, в случае Adf-1, стабильность нуклеосом значительно возросла, а в случае BEAF-32 – значительно снизилась по сравнению с контролем. Из этого следует, что общий уровень стабильности нуклеосом не коррелирует с декомпактизацией ДНК в районе 61C7/C8. Вероятно, для формирования междиска определяющим фактором является связывание белков, которые обеспечивают взаимодействие регуляторных элементов на больших расстояниях.

**TRANSCRIPTION FACTOR ADF-1 AND INSULATOR PROTEIN BEAF-32
ARE REQUIRED FOR DNA DECOMPACTION IN 61C7/C8 INTERBAND REGION
OF *D. MELANOGASTER* POLYTENE CHROMOSOMES**

Berkaeva M.¹, Pankova T.^{1,2}, Demakov S.A.¹

¹Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

berkaeva@mcb.nsc.ru

To fit DNA into the nucleus it should be packed thousand times, but still remain functional in terms of the genetic function. At the first step of packaging DNA is wrapped into nucleosomes and then nucleosomal thread is folded into the loops, thereby forming a chromosome with uneven DNA packaging. It is impossible to see this differential packaging in diploid interphase chromosomes, but it can be observed in the polytene chromosomes of *Drosophila* larvae. Polytene chromosomes have great size and are formed as a result of multiple rounds of replication which are not accompanied by cell division. Chromatids are not segregated and remain in parallel to each other. This makes it possible to see areas of chromosome, wherein the DNA is densely packed – dark discs – and regions where DNA is less packed – light interbands. The questions are, first, what factors determine the degree of DNA packaging in a particular area of the chromosome? And second, if there is a relationship between the initial nucleosomal level of chromatin packaging and the final level - the visible structure of chromosomes?

Here we studied the factors responsible for the DNA decompaction in the particular interband region of polytene chromosomes – 61C7/C8. A DNA fragment from this region was inserted in a new genomic locus, and we investigated its cytological structure, nucleosomal organization and proteins that binds this fragment in the new position in salivary glands. We also made a number of mutations that disrupt the binding of transcription factors and insulator proteins and analyze how the mutations affect nucleosomal organization and the ability of the DNA fragment to form inerband.

We showed that binding of Adf-1 transcription factor and insulator protein BEAF-32 is necessary for the formation of the interband. Disrupting of any of two proteins binding site led to the disappearance of interband. Two other transcription factors - DREF and dMyс, which are normally associated with this region, were insignificant for the formation of inerband. We compared the nucleosomal profiles of native region 61C7/C8 and ectopic inerband formed from the same DNA in a new genetic environment. It was found that in ectopic inerband nucleosomes were almost twice more stable than in the native region. We also studied nucleosomal organization of the insertions with mutations of Adf-1 and BEAF-32 binding sites. Despite the fact that both mutations led to the disappearance of inerband, in the case of Adf-1 stability of nucleosomes significantly increased, and in the case of BEAF-32 - significantly decreased, as compared to control. So we concluded that the total level of nucleosome stability did not correlate with the DNA decompaction in 61C7/C8 region. Probably the determining factor for the formation of interbands is the binding of the proteins that enable long-range interactions between such regulatory elements as enhancers and promoters.

КЛАССИЧЕСКАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS*

Билтуева Л.С.¹, Романенко С.А.^{1,2}, Лемская Н.А.¹, Гладких О.Л.¹, Сердюкова Н.А.¹, Кулемзина А.И.¹, Воробьева Н.В.^{1,2}, Графодатский А.С.^{1,2}, Трифонов В.А.¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

bilar@mcb.nsc.ru

Нами описан хромосомный набор сибирской стерляди *Acipenser ruthenus* из бассейна реки Обь. Диплоидное число хромосом в кариотипе $2n=120$. Кариотип представляет собой равномерно убывающий ряд двуплечих хромосом за исключением 2 пар акроцентриков (хромосомы № 14 и № 50).

Гетерохроматиновые блоки в прицентромерных районах выявляются не у всех хромосом стерляди. Так у первых восьми пар хромосом отмечаются только интерстициальные блоки гетерохроматина при почти полном отсутствии видимых С-блоков в прицентромерных районах хромосом.

С помощью стандартного GTG-метода проведено дифференциальное окрашивание кариотипа, позволяющее ранжировать пары хромосом. Надо отметить, что в кариотипе стерляди отсутствуют четко выраженные G-блоки, какие обычно наблюдаются в кариотипах теплокровных позвоночных, что, вероятно, обусловлено композиционной гомогенностью генома рыб.

Сайты локализации рибосомных генов определяли с помощью зондов содержащих как 18S и 28S, так и 5S рРНК. Так 5S рРНК проба метит прицентромерную область одной из мелких пар набора (№№ 41-50). Проба, содержащая 18S и 28S рРНК, распределилась по трем парам хромосом, значительно различаясь по местоположению: короткое плечо хромосомы (№№ 21-30), прицентромерный район и длинное плечо двух небольших пар хромосом (№№ 31-40).

Теломерные последовательности были локализованы в терминальных районах всех хромосом, интерстициальных и крупных блоков повторов не обнаружено.

Данный подход не показал отличий в хромосомных наборах самца и самки. Представленное нами стандартное описание кариотипа стерляди дает цитологическую базу для дальнейших молекулярно-генетических работ на данном объекте.

Данная работа поддержана грантом РФФ № 14-14-00275

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МИТОЗА И ЭКСПРЕССИИ РЕПОРТЕРНЫХ ГЕНОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Бияшева З.М.¹, Омелянчук Л.В.², Темирбекова М.Н.¹

THE USAGE OF MITOTIC PARAMETERS AND GFP-REPORTER GENES EXPRESSION IN ENVIRONMENTAL STUDIES

Biyasheva Z.M.¹, Omelyanchuk L.V.², Temirbekova M.N.¹

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы;

²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г.Новосибирск
zarbiya@mail.ru

Для цитогенетических исследований качества воды в водоемах для сточных вод теплоэнергетики был использован объект *Allium cepa*. Растения выращивали на воде, имеющей разную степень загрязнений в течение пяти суток. В контрольном опыте вода не содержала загрязнений. Определяли относительное число клеток на стадии профазы, метафазы, анафазы и телофазы митоза. Показали, что относительное число профаз под действием загрязнений снижается, в то время как относительное число метафаз, анафаз и телофаз увеличивается. Такой результат действия загрязнений на митоз объяснили тем, что исследуемые поллютанты вызывают остановку клеток в точках контроля клеточного цикла (G1-S, G2-M, M-A). В течение времени обработки клетки скапливаются в этих точках

контроля. Профазы в клеточном цикле следуют за G2-M точкой контроля, располагаясь перед точкой контроля M-A. Динамика числа клеток в интервале между точками контроля G2-M и M-A в условиях остановки клеток в точках контроля будет следующей: клетки начнут собираться в точке контроля M-A, а их количество на других стадиях (в том числе и в профазе) будет убывать. Именно такая обратная зависимость числа клеток в профазе и числа клеток на других мобильных стадиях митоза и наблюдается в эксперименте.

Цитогенетический метод тестирования требует много времени для его проведения – проходит около 10 дней между началом и получением результата. Перспективным решением для экологического мониторинга было бы нахождение GFP маркеров, индуцирующихся в ответ на загрязнения окружающей среды. Использовать эту возможность позволяло наличие коллекции разнообразных генетических конструкций *D. melanogaster*. Были проведены эксперименты, в которых показали, что у особей, содержащих в геноме два трансгена Gadd45-Gal4 и UAS-GFP, наблюдается индукция GFP репортера в ответ на облучение в дозе 176 рентген и на цитостатик цисплатин в концентрации 100 мг/мл. Таким образом, возникает возможность быстрого тестирования наличия мутагенов в окружающей среде.

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ХРОМОСОМНЫХ ГИБРИДНЫХ ЗОН У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Булатова Н.Ш., Лавренченко Л.А.

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

Удобство использования хромосомных рас в качестве модельных объектов определяется практически “нулевым” уровнем их молекулярно-генетической дифференциации и однозначностью различий между ними, обычно связанных исключительно с хромосомными перестройками. Многообразные комплексы хромосомных рас млекопитающих являются практически идеальной моделью для изучения роли гибридизации в микроэволюции. Исследование хромосомных Робертсоновских систем некоторых модельных видов, таких как *Sorex araneus* и *Mus domesticus*, вносит особый вклад в развитие представлений о многообразии связей процессов гибридизации и видообразования и изучение таких эволюционных феноменов, как “усиление” репродуктивных барьеров в зонах гибридизации, диверсификация форм до достижения ими видового статуса без прерывания потока генов между ними или “зональное расообразование”. Возможность изучения широких спектров Робертсоновского веера при ограниченной гибридизации в межрасовых зонах контакта дает подход к анализу эволюции

линнеевского вида как системы (в понимании Н.И. Вавилова) на кариологическом материале.

EVOLUTIONARY ASPECTS OF CHROMOSOMAL HYBRID ZONES IN MAMMALS

Bulatova N.Sh., Lavrenchenko L.A.

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Moscow

admin@sevin.ru

The chromosome races are characterized by almost zero level of genetic differentiation and well-defined distinctions, usually induced by chromosome rearrangements only. The diverse complexes of chromosome races, though of rather rare occurrence for mammals, present virtually ideal models for estimation of the impact of hybridization on the process of microevolution. Studies of chromosome Robertsonian systems of model species such as *Sorex araneus* and *Mus domesticus* are here surveyed showing different impacts of hybridization on the speciation process. Particularly, it helps us to understand better such evolutionary phenomena as “reinforcement” of reproductive isolation in secondary contact zones between divergent populations, speciation without geographic separation (“divergence with gene flow”), and “zonal raiation”. The possibility of studies of a fully developed Robertsonian fan in the presence of limited hybridization in interracial zones of contact gives the researchers the particular approach to the analysis of evolution of the Linnean species as a system (sensu N.I. Vavilov) based on karyological materials.

ВЛИЯНИЕ СПОНТАННОГО УРОВНЯ ФОКУСОВ γ H2AX НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОТВЕТ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Васильев С.А.^{1,2}, Величевская А.И.², Вишневская Т.В.², Скрябин А.А.^{1,2}, Беленко А.А.², Слепцов А.А.^{1,2}, Грибова О.В.³, Старцева Ж.А.³, Лебедев И.Н.^{1,2}

¹ НИИ медицинской генетики, г. Томск

² Томский государственный университет, г. Томск

³ Томский НИИ онкологии, г. Томск

stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Разрабатываемые в мире способы определения индивидуальной радиочувствительности человека в основном базируются на определении генетической компоненты (мутации и полиморфизмы генов репарации ДНК). В настоящей работе исследовалась радиочувствительность клеток человека в зависимости от эпигенетического фона в клетках, являющегося промежуточным звеном реализации генетической информации и объединяющим в себе как генетически-детерминированные эффекты, так и влияние факторов внутренней и внешней среды. В качестве компоненты эпигенетического фона исследовался спонтанный уровень фокусов фосфорилированного гистона H2AX в

клетках, формирующихся на нерепарированных двунитевых разрывах ДНК, укороченных теломерах и сайтах с измененной конформацией хроматина. Наличие таких постоянных фокусов γ H2AX в клетке является важным компонентом эпигенетического фона и потенциально может приводить к активации системы репарации ДНК и определять реакцию клеток на мутагенное воздействие. В работе проведен анализ влияния спонтанного уровня фокусов γ H2AX на частоту радиационно-индуцированных микроядер в лимфоцитах периферической крови 54 здоровых индивидов после воздействия ионизирующего излучения в дозе 2 Гр *in vitro*. Обнаружена обратная зависимость частоты микроядер после облучения от спонтанного уровня фокусов γ H2AX в клетках ($R = -0,37$, $p = 0,025$), что указывает на возможность использования спонтанного уровня фокусов γ H2AX в качестве маркера индивидуальной радиочувствительности нормальных клеток человека.

С целью дальнейшего анализа был проведен полнотранскриптомный анализ экспрессионных профилей с помощью микрочипов (Agilent) в лимфоцитах двух подгрупп индивидов: 1) радиочувствительные индивиды с низким спонтанным уровнем фокусов γ H2AX ($n=3$) и 2) радиорезистентные индивиды с высоким спонтанным уровнем фокусов γ H2AX ($n=3$). В подгруппе радиорезистентных индивидов были выделены отдельные гены, дифференциальная экспрессия которых может быть ассоциирована с повышенной эффективностью репарации ДНК и сниженной радиочувствительностью. Так, в подгруппе радиорезистентных индивидов была значимо снижена экспрессия гена XRRA1 с неизвестными функциями, ассоциированного с радиорезистентностью в опухолевых линиях. Кроме того, в контрольных образцах была повышена экспрессия гена HERC2, играющего важную роль в сборке фокусов белков репарации ДНК, генов гистоновых белков (H1, H2A, H4) и регуляторов конформации хроматина SMARCA1 и SMARCA2. После облучения в дозе 2 Гр в подгруппе радиорезистентных индивидов наблюдалась значимо более высокая экспрессия генов репарации ДНК (WHSC1, POLN, ERCC5, DCLRE1C) и сниженная экспрессия генов апоптоза и аутофагии (EIF2A, PNPLA5), что согласуется с низким уровнем апоптоза и повышенной пролиферацией в клетках этих лиц. Полученные результаты указывают на влияние высокого спонтанного уровня фокусов γ H2AX на активацию системы репарации ДНК и открывают возможности по выяснению роли экспрессии выявленных генов в формировании хромосомных aberrаций в клетках человека после воздействия радиации.

Работа выполнялась при поддержке гранта Президента № МК-14.122.13.6806 и гранта РФФИ № 14-04-31867.

ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ДНК ИЗ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА *DROSOPHILA VIRILIS* НА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ КЛЕТОК СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ И ТРОФОЦИТОВ У БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ ГРУППЫ *D. VIRILIS*

Вассерлауф И.Э., Усов К.Е., Стегний В.Н.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск
I-2811-na@yandex.ru

Известно, что близкородственные виды группы *D. virilis* филлады *montana* отличаются от видов филлады *virilis* по количеству гетерохроматина в хромосомах, а также наличием в кариотипе метацентрической хромосомы 2, возникшей в результате перичентрической инверсии при видообразовании. В связи с этим, целью настоящей работы являлось исследование реорганизации последовательностей ДНК прицентромерного гетерохроматина *D. virilis* на политенных хромосомах трофоцитов и клеток слюнных желез близкородственных видов группы *D. virilis* (филлада *virilis* – *D. virilis*, *D. texana*, *D. lummei*, *D. americana* и филлада *montana* – *D. kanekoi*, *D. ezoana*, *D. borealis*, *D. littoralis*). Для этого была проведена микродиссекция хромоцентра политенных хромосом *D. virilis*. На основе микродиссекционной ДНК-библиотеки («DvirIII») был получен флуоресцентно меченый ДНК-зонд и проведена его *in situ* гибридизация (FISH) с политенными хромосомами клеток слюнных желез и трофоцитов видов группы *D. virilis*. У всех изученных нами видов были выявлены общие черты по локализации зонда DvirIII, как в хромосомах трофоцитов, так и в хромосомах слюнных желез. Так, у видов филлад *virilis* и *montana* была установлена локализация DvirIII в прицентромерных районах всех хромосом и в теломерном районе хромосомы 5, как в ядрах слюнных желез, так и в ядрах трофоцитов. Однако, в отличие от компактных политенных хромосом трофоцитов, только в политенных хромосомах слюнных желез проявлялась видовая специфика локализации DvirIII в прителомерном районе хромосомы 5. Также в политенных хромосомах слюнных желез DvirIII был локализован в некоторых интеркалярных районах, что не проявлялось в компактных политенных хромосомах ядер трофоцитов.

В тоже время, в отличие от видов филлады *virilis* у видов филлады *montana* DvirIII был локализован и в прителомерном районе метацентрической хромосомы 2. В отличие от политенных хромосом трофоцитов, в политенных хромосомах слюнных желез проявлялась видовая специфичность по локализации DvirIII в прителомерном районе хромосомы 2.

Полученные нами результаты позволяют считать, что хромосомные перестройки играют важную роль в перераспределении последовательностей ДНК гетерохроматина в геноме, которые являются одним из механизмов видообразования, что, в целом, может повлиять и на изменение ориентации хромосом в трехмерном пространстве ядра. В связи с этим нами была проведена 3D FISH у анцестральных видов группы *D. virilis* – *D. virilis* и *D.*

kanekoi. В результате выявлена видовая специфичность в распределении сигналов DvirIII в пространстве ядра. Так у *D. virilis* сигнал был обнаружен в локальном хромоцентре на одном полюсе ядра, а на другом полюсе выявлялся сигнал, принадлежащий теломерному району хромосомы 5, в то время как у *D. kanekoi* сигналы DvirIII в пространстве ядра занимают две обособленные области. Одна, из которых принадлежит прицентромерному району хромосомы 2, а другая прицентромерным районам остальных хромосом. Таким образом, нами было установлено, что у *D. virilis* на одном полюсе ядра располагается локальный хромоцентр, а на противоположном полюсе прителомерные районы хромосом, а у *D. kanekoi* хромосома 2 в пространстве ядра располагается обособленно от диффузного хромоцентра. По-видимому, такое различие в трехмерной организации политенных хромосом в ядрах трофоцитов у *D. virilis* и *D. kanekoi* связано с видоспецифичностью распределения гетерохроматина на хромосомах и его количеством в геноме.

Работа выполнена в рамках базовой части государственного задания Министерства образования и науки РФ № 2142.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА СОМАТИЧЕСКИХ И ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРЫСЫ

Васькова Е.А.^{1,2,3}, *Шерстюк В.В.*^{1,2,3}, *Медведев С.П.*^{1,2,3,4}, *Гопаненко А.В.*², *Малыгин А.А.*², *Кабиров М.Р.*², *Карпова Г.Г.*², *Закиян С.М.*^{1,2,3,4}

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

³Новосибирский научно-исследовательский институт патологии и кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск

⁴Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск
zakian@bionet.nsc.ru

Изменения эпигенетических параметров клетки, таких как ковалентные модификации гистонов, уровень метилирования ДНК, конформация хроматина и ряд других, сопровождаются изменением транскрипции определенного набора генов. Одним из ярких примеров таких процессов является репрограммирование соматических клеток к плюрипотентному состоянию.

Крыса является одним старейших лабораторных объектов, тем не менее, данных об эпигеноме, метиломе и транскриптоме, а также реализации плюрипотентного состояния и поддержании самообновления в клетках крысы, на сегодняшний день, практически нет.

В данной работе было проведено репрограммирование эмбриональных фибробластов к плюрипотентному состоянию двух линий крыс - WAG и Brattleboro. Для того, чтобы выявить весь спектр генов, экспрессия которых изменяется в процессе

репрограммирования было проведено массовое параллельное секвенирование (RNA-Seq) эмбриональных стволовых клеток, эмбриональных фибробластов и полученных из них линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток крыс. На основе полученных данных был проведен сравнительный анализ уровня экспрессии генов, являющихся компонентами хроматин-ремоделирующих комплексов, генов, вовлеченных в организацию компонентов внеклеточного матрикса, а также компонентов ряда сигнальных каскадов, которые потенциально могут участвовать в процессах поддержания самообновления и плюрипотентности у крыс (LIF/STAT3, LIF/PI3K/AKT, LIF/SHP2/MAPK, Wnt- β -катенин и TGF- β суперсемейство).

Работа поддержана РНФ 14-14-00271

АМПЛИФИКАЦИЯ ДНК ХРОМОСОМЫ 6 В ВЫСОКОПОЛИПЛОИДНЫХ ЯДРАХ ТРОФОЦИТОВ CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA (CALLIPHORIDAE: DIPTERA)

Ведерников А.Е., Стегний В.Н.

Научно-исследовательский институт биологии и биофизики Томского государственного университета, г. Томск
tomsk181@yandex.ru

Изучение особенностей пространственной организации хромосом и их функционирования в разных фазах клеточного цикла является одним из актуальных направлений исследований клеточной биологии. Удобной моделью для этих исследований служат питающие клетки генеративной системы самок двукрылых насекомых с мероистическим типом оогенеза. В ходе своего развития питающие клетки (трофоциты) проходят серию эндоредупликативных циклов, сопровождающихся морфологическими преобразованиями структуры хроматина: формируются политенные хромосомы, которые затем декомпактизуются и хроматин принимает ретикулярную структуру. Первые работы по исследованию морфологических преобразований хромосом трофоцитов мясной мухи *Calliphora erythrocephala* с применением микроскопии проходящего света были проведены Риббертом (Ribbert, Bier, 1969). Им были выделены основные морфотипы ядер трофоцитов, показано протекание серии циклов эндоредупликации, а так же отмечена дополнительная амплификация рибосомальных генов ядрышкообразующей хромосомы 6 *C. erythrocephala*. В последующих работах были представлены доказательства о неслучайном перераспределении индивидуальных хромосом в объёме ядра в ходе развития питающих клеток, при помощи метода FISH выявлены хромосомные территории (Стегний В.Н., 1999; Ананьина Т.В., 2005; Ведерников А.Е. 2006).

В рамках данного исследования при помощи метода BrdU-окрашивания, позволяющего *in vivo* регистрировать репликационные события в клетках, а так же с

применением конфокальной микроскопии было показано, что в ядрах трофоцитов *S. erythrocephala* на стадиях высокополиплоидного вторичного ретикулярного ядра происходит дополнительная амплификация ДНК хромосомы 6. Это показано высоким уровнем интенсивности сигнала BrdU в области хромосомы 6 по сравнению с остальным объемом ядра. При этом отмечено, что продукты амплификации хромосомы 6 не распределяются по всему объему ядра, а сохраняют компактную локализацию внутри хромосомной территории, окруженной сетью плотно структурированного хроматина.

Работа выполнена в рамках базовой части государственного задания Министерства образования и науки РФ №2142.

SWI/SNF КОМПЛЕКСЫ РАЗЛИЧНОГО СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА УЧАСТВУЮТ В РАЗНЫХ ЭТАПАХ ТРАНСКРИПЦИИ

Воробьева Н.Е.¹, Мазина М.Ю.¹, Николенко Ю.В.¹, Краснов А.Н.¹

¹Отдел регуляции транскрипции и динамики хроматина, Институт биологии гена РАН,
г. Москва

nvorobyova@gmail.com

Участие комплекса ремоделирования хроматина SWI/SNF в привлечении РНК полимеразы II к промоторам генов было обнаружено у многих организмов. Недавно было показано, что участие комплекса SWI/SNF в транскрипции генов не ограничивается его ролью в инициации, а также включает в себя вовлечение в более поздние стадии, в частности элонгацию транскрипции. Мы обнаружили, что состав комплексов SWI/SNF, участвующих в различных этапах транскрипционного процесса, различен. Наши выводы основаны на результатах экспериментов по иммунопреципитации хроматина, выполненных в модельных системах индуцибельной транскрипции генов, активируемых тепловым шоком и гормоном 20-гидроксиэксдиеном. Мы обнаружили, что Polybromo, Var170 и SAYP субъединицы SWI/SNF, а также АТФаза Brm привлекаются на промотор гена на ранних стадиях инициации транскрипции. Индукция процесса транскрипции стимулирует привлечение на промотор гена Snr1 и Var60 субъединиц. Субъединица Var111 встраивается в состав SWI/SNF комплекса позднее, уже на стадии элонгации РНК полимеразы II, при его переходе в кодирующую область гена. Таким образом, мы показали, что в привлечении РНК полимеразы II на промотор гена участвует частично сформированный комплекс ремоделирования хроматина SWI/SNF. Образование полноценного комплекса SWI/SNF, содержащего все охарактеризованные субъединицы этого комплекса происходит после перехода транскрипционного комплекса в кодирующую область гена, то есть в процессе элонгации.

SWI/SNF COMPLEXES OF VARIOUS SUBUNIT COMPOSITION PARTICIPATE AT DIFFERENT STAGES OF TRANSCRIPTION

Vorobyeva N.E.¹, Mazina M.Yu.¹, Nikolenko J. V.¹, Krasnov A. N.¹

¹Department of transcription regulation and chromatin dynamic, Institute of Gene Biology RAS, Moscow, 119334

nvorobyova@gmail.com

SWI/SNF chromatin remodeling complex participation in RNA polymerase II recruitment at the promoters of the genes was demonstrated in various organisms. Rather recently it was shown that SWI/SNF complex influence on transcription is not limited to its role in initiation, but also includes participation at further stage, particularly elongation. We have discovered that composition of SWI/SNF complexes, involved in various transcription stages, differs. Our findings are based on results of chromatin immunoprecipitation experiments performed on heat shock and 20-hydroxyecdysone-dependent genes with inducible transcription. We have shown that Polybromo, Bap170 and SAYP subunits of SWI/SNF, together with Brm ATPase are recruited on the promoter at early stages of transcription initiation. Induction signal stimulates promoter binding with the Snr1 and Bap60 subunits. And Bap111 subunit is incorporated into SWI/SNF complex later, during RNA polymerase II elongation at the coding regions of genes. Thus, partial SWI/SNF chromatin remodeling complex is supposed to participate in RNA polymerase II recruitment. While, full SWI/SNF complex included all described subunits is organized at the coding regions of genes during transcription elongation process.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА: ХРОМОСОМНАЯ ПАТОЛОГИЯ ИЛИ РЕДКИЙ ВАРИАНТ НОРМЫ?

Гайнер Т.А.^{1,2}, Матвеева В.Г.^{1,2}, Каримова О.Г.^{1,2}, Рубцов Н.Б.³, Карамышева Т.В.³

¹ ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск, tatyana@cnmt.ru

² АНО «ЦНМТ в Академгородке», г. Новосибирск

³ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск

В большинстве российских лабораторий медицинской генетики для исследования кариотипа используется GTG-окрашивание хромосом. Применение дополнительных методов анализа (CBG- и Ag-NOR- окрашивание, молекулярно-цитогенетические методы) позволяет уточнить кариотип пациента и дать ему обоснованный медико-генетический прогноз.

Случай 1. У плода в одной из лабораторий г. Новосибирска была выявлена хромосома 21 с дополнительным материалом на р-плече, подозревалась несбалансированная транслокация. Такая же хромосома была найдена у первого ребенка в семье (10 лет, умственная отсталость) и у отца. Дополнительные виды окрашивания не использовались, семья склонялась к прерыванию беременности. В цитогенетической лаборатории ЦНМТ при исследовании хромосом отца было выполнено Ag-NOR-

окрашивание, выявившее на коротком плече хромосомы 21 двойные спутничные нити и двойные спутники (экстремальный вариант нормального полиморфизма хромосом). Вопрос о транслокации был снят, беременность у супруги сохранена.

Случай 2. У пациента с бесплодием при кариотипировании в одной из лабораторий г. Новосибирска был выявлен добавочный материал на р-плече хромосомы 20. Дополнительные виды окрашивания не использовали, семье отказали в проведении экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и рекомендовали пациенту проведение молекулярной додиагностики. В цитогенетической лаборатории ЦНМТ было выполнено CBG-окрашивание, которое показало, что дополнительный материал – это увеличенный прицентромерный гетерохроматин (редкий нетипичный вариант). Кариотип пациента нормальный: 46,XY,20cenh+. Молекулярная диагностика не потребовалась, в семье планируется деторождение с применением ЭКО.

Случай 3. У ребенка 2 лет с предварительным диагнозом «расщелина мягкого неба, трисомия хромосомы 22» (кариотипировали в г. Благовещенске) при исследовании в цитогенетической лаборатории ЦНМТ была выявлена сверхчисленная маркерная хромосома (MX), несколько похожая на хромосому 22, вероятно, являющаяся инвертированной дубликацией одной из акроцентрических хромосом. Это подтвердили два дополнительных вида дифференциального окрашивания хромосом (CBG- и Ag-NOR-) (кариотип 47,XY,+?invdup(13 or 14 or 15 or 21 or 22)). Для додиагностики в ИЦиГ провели супрессионную гибридизацию *in situ* микродиссекционных ДНК-проб, приготовленных ранее из двух MX invdup(15)(q11) и invdup(15)(q13). Полученные данные указывают на происхождение маркерной хромосомы из хромосомы 15 и наличие в ее составе материала эухроматинового района хромосомы 15(q11→q13). Кариотип пациента: 47,XY,+invdup(15)(q13). Дополнительные виды окрашивания позволили выбрать недорогой, простой и быстрый метод додиагностики.

Случай 4. У пациента с бесплодием была обнаружена транслокация с вовлечением трех хромосом (рисунок). Кариотип: 46,XY,t(4;17;12)(p15.1;q25;q12). Кроме того, анализ прометафазных хромосом показал, что во фрагменте, транслоцированном с хромосомы 4 на хромосому 17, с большой вероятностью присутствует парацентрическая инверсия в пределах двух бэндов. Поскольку подобные инверсии, как правило, не имеют клинического проявления, проведение молекулярно-цитогенетической диагностики в данном случае не потребовалось.

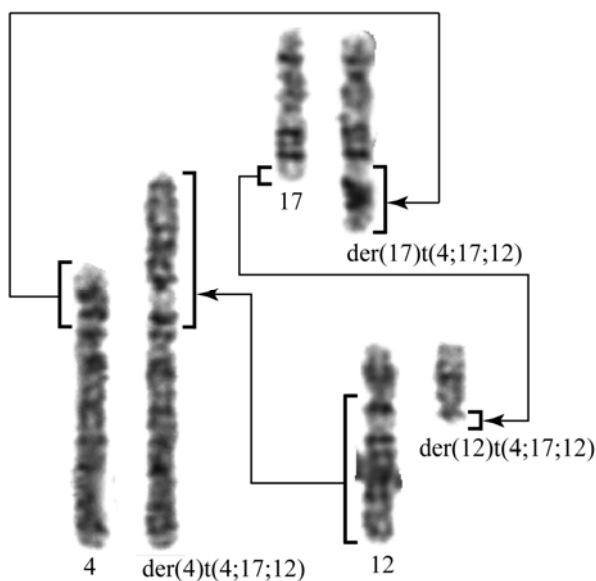


Рисунок. Нормальные и аномальные гомологи хромосом 4,12 и 17 пациента - носителя транслокации между тремя хромосомами.

ВНУТРИВИДОВОЙ ХРОМОСОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ВИДА *LASIPODOMYS MANDARINUS*

Гладких О.Л.¹, Романенко С.А.^{1,2}, Лемская Н.А.¹, Сердюкова Н.А.¹, О'Брайен П.³, Картавцева И.В.⁴, Сморгачева А.В.⁵, Голенищев Ф.Н.⁶, Фергюсон-Смит М.А.³, Янг Ф.⁷, Графодатский А.С.^{1,2}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Центр ветеринарии, Кэмбридж, Великобритания

⁴Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток

⁵Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

⁶Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург

⁷Институт Сэнгера, Кэмбридж, Великобритания

olga_gladkikh@mcb.nsc.ru

Хромосомный полиморфизм - частный случай генетической изменчивости организмов, выражающейся в варьировании числа и формы хромосом у представителей одного и того же вида.

Ранее для китайской полевки (*Lasiopodomys mandarinus* Milne-Edwards, 1871) с использованием методов классической цитогенетики был описан сложный внутривидовой хромосомный полиморфизм, затрагивающий как аутосомы, так и половые хромосомы [1, 2, 3, 4]. Диплоидное число хромосом варьирует в зависимости от географического распространения популяции: в популяциях из Монголии и Бурятии $2n=47-48$ [1], в популяциях из Китая $2n=49-52$ [3, 4].

В нашем исследовании методом хромосомного пэйнтинга с использованием хромосомных проб темной полевки (*Microtus agrestis*) и копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*) проанализированы кариотипы 9 особей китайских полевок (7 самок и 2 самца), потомков животных из популяций Монголии и Бурятии.

Проанализированные животные имели $2n=47$ (самки) и $2n=48$ (самцы). Использование двух наборов сортировочных проб позволило получить новые данные об особенностях хромосомного полиморфизма у китайских полевок.

Показано, что полиморфизм, затрагивающий аутосомы, является результатом транслокаций и инверсий не целых хромосом, а их частей. Так, у трех проанализированных животных наблюдалась инверсия в прицентромерном районе пары хромосом 2. Так же у семи из девяти проанализированных животных показана гибридизация небольшого участка хромосомы 13 темной полевки с прицентромерным районом длинного плеча пары хромосом 1 китайской полевки.

Впервые показана транслокация аутосом на половые хромосомы китайской полевки. Впервые детально описаны две системы половых хромосом китайской полевки (X_1X_2Y и XY_1Y_2).

[1] Kovalskaya, Yu. M. and Orlov, V. N. (1974) Cytology (Russia) 16: 497 – 503.

[2] Zhu B. et al. (1993). Acta Genet. Sinica, 20: 135–140.

[3] Zhu, B. et al. (2003) Hereditas 139: 90 – 95.

[4] Wang, et al. (2003) Hereditas 138: 47 – 53.

Исследование частично поддержано грантами РФФИ, грантами программ президиума РАН

ПЕТЕЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЕДИНИЦА ГЕНОВ HSP70 ЛОКУСА 87A7 D. MELANOGASTER

Глазков М.В., Шабарина А.Н.

ФГБУН Институт биологии развития им.Н.К.Кольцова РАН

mvglazkov@yandex.ru

Принцип петельно-доменной организации эукариотических хромосом (Gasser, Laemmli, 1987) сыграл важную роль в понимании организации генов в хромосоме. С развитием технологии 3C (*Chromosome Conformation Capture*) и ее модификаций, появились данные о широком распространении взаимодействий между отдельными хромосомными участками, расположенными даже на большом расстоянии друг от друга с «выпетливанием» участка хроматина, расположенного между ними. Как правило, в такие взаимодействия вовлечены различные белковые молекулы.

Ранее нами была предложена модель компактизации хромосомной ДНК при участии 3-х цепочечных структур ДНК (Глазков, 1999, 2011). С использованием дигенной трансгенной системы *D.melanogaster*. было показано, что один из участков ДНК, обуславливающих прикрепление интерфазных хромосом к ядерной оболочке способен

защищать репортерный ген от эффекта положения, и особенно хорошо этот эффект достигается в присутствии инсулятора *Wari* (Шабарина, Глазков, 2010, 2012, 2013).

Используя эти исходные данные мы провели моделирование возможного формирования различных типов петельных структур хроматина в локусе 87A7 *D.melanogaster*, содержащего гены теплового шока *hsp70Aa* и *hsp70Ab*, длиной более 100 тпн. с целью выяснения механизма формирования домена независимой экспрессии генов теплового шока. Выявлены петельные структуры, потенциально способные образовываться при ассоциации интерфазных хромосом с ядерной оболочкой, петельные структуры, образуемые *scs/scs'*-элементами (с участием белков *Zw5* и *BEAF32*), а также петельные структуры, образующиеся при участии 3-х цепочечных структур ДНК. Образующаяся система больших и малых петель соответствует цитологической картине активации генов *hsp70* при тепловом шоке (пуффинг), а также выявленной (*Blanton et al.*, 2003) локализации *scs/scs'*-элементов внутри пуффа, а не на его границах.

Проводится сравнение возможных механизмов формирования домена независимой экспрессии (транс)гена, вытекающие из результатов моделирования и наших экспериментальных данных, полученных с использованием трансгенной дигенной системы.

Работа поддержана грантом Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем», Подпрограмма «Генофонды живой природы и их сохранение»

НОВЫЕ ДАННЫЕ О МЕХАНИЗМЕ ФОРМИРОВАНИЯ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА У DROSOPHILA MELANOGASTER

Головнин А.К., Мельникова Л.С., Костюченко М.В., Георгиев П.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН), г. Москва
agolovnin@mail.ru

Инсуляторы – это сложные ДНК-белковые комплексы, которые участвуют в формировании архитектуры внутриядерного пространства. Они играют центральную роль в разделении хромосом на серию отдельных топологически независимых доменов и обеспечивают непосредственный контакт энхансеров и сайленсеров с их целевыми генами. У *Drosophila* наиболее изучен инсулятор Su(Hw), в формировании и функционировании которого участвуют белки Su(Hw), Mod(mdg4)-67.2 и CP190. Однако детальный механизм взаимодействий между этими белками и влияние таких взаимодействий на активность Su(Hw)-инсулятора изучены далеко не полно.

С помощью дрожжевой двугибридной системы, соосаждения белков на глутатионсефарозе, колокализации изучаемых белков на политенных хромосомах, иммунопреципитации хроматина и фенотипического анализа трансгенных линий дрозофил, экспрессирующих белки Su(Hw), Mod(mdg4)-67.2 и их делеционные производные, нам удалось точно картировать домены основных инсуляторных белков, необходимые для формирования Su(Hw)-зависимых белковых комплексов на различных сайтах генома, а также показать их функциональную роль в активности Su(Hw)-инсулятора. Впервые были выявлены домены белка Su(Hw) способные димеризоваться. Результаты работы позволяют предположить участие белка Mod(mdg4)-67.2 в транс-взаимодействиях между Su(Hw)-зависимыми инсуляторами. Такие взаимодействия могут стабилизироваться за счёт димеризации выявленных доменов белка Su(Hw).

Полученные данные позволяют пересмотреть существующую в настоящий момент модель формирования Su(Hw)-зависимого инсуляторного комплекса.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-14-01067).

ИНСТРУМЕНТЫ ЯДЕРНОЙ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИИ В АНАЛИЗЕ ФАЗ КИНЕТИКИ ЛОКАЛЬНОЙ УПАКОВКИ ХРОМАТИНА

Градов О.В.

Институт энергетических проблем химической физики РАН, г. Москва
o.v.gradov@gmail.com

Общеизвестно и очевидно, что различные состояния ядерной мембраны, характеризующиеся различными поверхностными свойствами и различными электрофизическими свойствами последней, соответствуют различным фазам упаковки хроматина. Это сопряжено, в частности, с тем, что ионный статус в локальных зонах ядерной мембраны изменяется в корреляции с изменением компактизации хроматина – по крайней мере, во временном интервале фаз, в которых доступно прямое или опосредованное измерение электрофизических свойств ядерной мембраны. Как следствие этого, возможно непосредственно анализировать состояние упаковки и детектировать переходы между фазами клеточного цикла (в пределах метрологической определенности) методами и математико-статистическими средствами ядерной электрофизиологии, равно как и фитированием к моделям электробиофизики нуклеолеммы.

В процессе развития ядерная электрофизиология как дисциплина прошла путь от «nuclear electrophysiology» [1] через «nuclear pore electrophysiology» («ядерно-поровую электрофизиологию») [2] к новейшей «nuclear patch-clamp electrophysiology» («ядерной патч-кламп-электрофизиологии») [3]. Методы и программные средства анализа данных

локальной фиксации потенциала уже достаточны для автоматизированной эвристической кластеризации данных с различными специфическими особенностями сигнала, т.е. могут применяться в систематизации данных, установлении функциональных зависимостей и их взаимно-однозначном сопоставлении биофизическим состояниям клетки или ядра, а значит – и идентификации конкретных фаз. Следовательно, логично и рационально использовать методы ядерного патч-клампа с вычислением ряда сопряженных дескрипторов спектра сигнала (PSD, Re, Im, ϕ etc.) для анализа фазовых закономерностей и кинетики упаковки в целом и в локальных зонах, в которых осуществима локальная фиксация потенциала. Методологическая трудность состоит в том, что техника «nuclear patch-clamp» предусматривает вывод ядра из клетки с захватом фрагмента клеточной мембраны пипеткой за счет её срабатывания как поверхностно-активного агента, иммобилизующего выводимое при энуклеации ядро. Вследствие этого прямых данных / записей ядерно-электрофизиологического значения в этой версии «инвертированной» / «outside-out»-технологии, как правило, не получают: необходимо учитывать поправки на захваченный фрагмент. Это критично на стадии интерпретации данных, так как контрольный эксперимент с тем же фрагментом фактически не осуществим. Возможно только автоматизированное вычитание из спектра массива данных в целом компонент, свойственных только мембране клетки с её специфическими каналами. Компаративная обработка «кариологических» и «мембранологических» данных локальной фиксации потенциала могла бы быть реализуема на указанных принципах, а также с использованием методов адаптивной фильтрации с применением согласованных фильтров.

Нами создан программно-аппаратный комплекс для регистрации-анализа сигнала локальной фиксации потенциала в режиме TRT (true real time; своего рода эквивалент *in situ*), предполагающий возможность регистрации данных ядерного патч-клампа / ядерной электрофизиологии. Реализованы тестовые и контрольные прогоны ядерного спектрального анализа и сопоставление его с модельными данными *in silico*. Сделан вывод о принципиальной вероятности детектирования отдельных фаз и «кариоэлектрофизиологических» состояний методами расширенного анализа с использованием данного DAQ-комплекса в пределах описанной модели с дифференциальной фильтрацией.

[1] Bustamante J.O. Nuclear electrophysiology // Journ. Membr. Biol., 138(2), 105-112 (1994).

[2] Bustamante J.O. Current concepts in nuclear pore electrophysiology // Can. Journ. Physiol. Pharm., 84(3-4), 347-365 (2006).

[3] Mak D.O., Vais H., Cheung K.H., Foskett J.K. Nuclear patch-clamp electro-physiology of Ca^{2+} channels // CSH Prot., 2013(9), 885-891 (2013).

УСЛОВИЯ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЁВОК РОДА *MICROTUS*

Григорьева Е.В., Шевченко А.И.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК) являются уникальным современным инструментом для изучения *in vitro* различных процессов, протекающих в эмбриогенезе у млекопитающих. Ранее нами предпринимались многочисленные попытки по получению ПСК обыкновенных полёвок из ранних предимплантационных эмбрионов, в результате чего были получены лишь стволовые клетки экстраэмбриональной экто- и эндодермы. В последнее десятилетие появился принципиально новый способ получения ПСК благодаря повышенной экспрессии транскрипционных факторов (Oct4, Sox2 в комбинации с Klf4 и с-Мус или Lin28 и Nanog) в различных типах соматических клеток, что вызывает индукцию к плюрипотентному состоянию и появлению индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). При помощи трансдукции соматических клеток межвидовых гибридов *Microtus levis* x *Microtus arvalis* лентивирусом, экспрессирующим транскрипционные факторы Oct4, Sox2, Klf4 и с-Мус мыши, нами впервые были получены и охарактеризованы ИПСК гибридов обыкновенных полёвок. Показано, что поддержание недифференцированного состояния в полученных линиях ИПСК обыкновенных полёвок обеспечивается за счёт присутствия в культуральной среде цитокина LIF, основного фактора роста фибробластов bFGF, аскорбиновой кислоты и эмбриональной бычьей сыворотки. В данных условиях культивирования в ИПСК происходит активация собственных генов плюрипотентности: *Nanog*, *Oct4*, *Sox2*, *Sall4*, *Esrrb*. Изучаемые клетки способны поддерживать недифференцированное состояние на протяжении более 30 пассажей, экспрессировать щелочную фосфатазу, а при дифференцировке – образовывать производные трех первичных зародышевых листков: экто-, мезо- и энтодерму. Полученные ИПСК обыкновенных полёвок делают вклад в изучение и понимание механизмов индуцирования и поддержания плюрипотентности у млекопитающих.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-03947.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO* РАЗНЫХ ГРУПП ШУГОШИНОВ – ПРОТЕКТОРОВ КОГЕЗИИ ХРОМАТИД

Гришаева Т.М., Куличенко Д.А., Богданов Ю.Ф.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва

grishaeva@vigg.ru

Когезия («склеивание») сестринских хроматид необходима для правильной коориентации кинетохоров и правильного расхождения хромосом к противоположным

полюсам в митозе и мейозе. Особую роль играет когезия прицентромерных областей хромосом. Её обеспечивают специальные белки-шугошины. Семейство белков-шугошинов было открыто в 2004 г. и исследовано как экспериментально, так и методами биоинформатики. Шугошины (SGO) выявлены почти у 20 видов эукариот. Было показано, что у семи видов имеются две формы – SGO1 и SGO2, у остальных видов – только SGO1. При этом роль мейотической формы у дрожжей и растений играет SGO1, а у позвоночных – SGO2. Причины этого не установлены. Показано, что две формы различаются по длине. Было также установлено, что белки-шугошины имеют небольшую степень консервативности. В их молекулах были определены альфа-спиральные домены на N-конце и консервативные основные домены ближе к C-концу. В литературе отсутствуют сведения о сравнительном исследовании разных форм шугошинов: мейотической и митотической, с одной стороны, а также SGO1 и SGO2, с другой. Такое сравнительное исследование стало задачей настоящей работы.

Работа проведена с помощью методов биоинформатики. Создана выверенная база аминокислотных последовательностей белков-шугошинов. Выявление функциональных доменов белков проводили с помощью программы CDART, затем выявляли консервативные аминокислотные мотивы (программа MEME). Для каждого белка получали данные о его возможной вторичной структуре (программа COILS), а также о распределении электростатического заряда вдоль молекул белков (программа Mobile portal – charge).

Мы показали, что мейотические шугошины не имеют отличительных черт и не выделяются среди других шугошинов по наличию функциональных доменов, а также по набору консервативных аминокислотных мотивов. Гораздо больше общих черт прослеживается у шугошинов группы SGO1, в число которых входят и мейотические, и митотические формы. Для этих белков можно говорить о консервативности N- и C-концевых фрагментов. При этом большее сходство наблюдается в пределах групп позвоночных животных, грибов и растений. Можно предположить, что пять линий развития эукариот, независимо приобретавших многоклеточность (зелёные растения/водоросли, красные и бурые водоросли, грибы и животные), так же независимо выбирали для себя мейотические формы среди шугошинов SGO1 и SGO2.

Мы выявили диагностические признаки шугошинов. Фрагмент белка, несущий C-концевой функциональный домен, независимо от его локализации несёт положительный заряд. В зоне расположения N-концевого домена формируется альфа-спиральная структура, ей предшествует положительно заряженный фрагмент белка. Это правило имеет всего два исключения. У дрозофилы и гриба *Villosiclava virens* (Sordariomycetes) альфа-

спиральный участок расположен в самом начале белка, поэтому заряженный участок перед ним отсутствует. Такая особенность шугошинов позволила предсказать наличие N-концевых функциональных доменов в тех случаях, когда они не выявлялись стандартными методами, например, в молекулах SGO1 растения *Oriza sativa* и нематоды *Brugia malayi*, SGOL2 змеи *Ophiophagus hannah* и ещё в семи случаях.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ G-КВАДРУПЛЕКСОВ В РАЙОНЕ ЛОМКОГО САЙТА FRAXA У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ЛОМКОЙ X-ХРОМОСОМЫ

Грищенко И.В.¹, Дольский А.А.¹, Усдин К.², Юдкин Д.В.^{1,3}

¹Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

²The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, United States

³Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

E-mail: dim@mcb.nsc.ru

Экспансия повторенных микросателлитных последовательностей это особый тип мутаций, который заключается в резком увеличении количества повторов на сотни и даже тысячи единиц. Это явление приводит к ряду генетических заболеваний человека таких, как болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз, миотоническая дистрофия первого типа и др. На сегодняшний день причина развития этой мутации неизвестна. Существуют различные теории, объясняющие данное явление. Согласно одной из них экспансия связана с образование вторичных термодинамически устойчивых структур ДНК, обогащенных гуанином – G-квадруплексов. На участках с этими структурами происходит сбой работы систем репарации, а также ДНК-полимераз, что приводит к нарушению репликации и к резкому увеличению размера повтора. Одним из распространенных заболеваний, связанных с экспансией является синдром ломкой X-хромосомы. Он обусловлен экспансией повтора CGG в 5' промоторной области гена *fmr1*. Данное заболевание приводит к развитию у пациентов наследственной умственной отсталости. Количество этих повторов в норме варьирует от 5 до 54 единиц, синдром развивается при количестве повторенных триплетов более 200. Ранее была показана способность олигонуклеотидов состава GAAT(CG₂₀)CTCGAG формировать такие структуры *in vitro*. В 2013 году в Кембриджском университете был сконструирован scFv фрагмент антитела специфичный к G-квадруплексам. Авторы подтвердили его сродство к этим структурам ДНК *in vitro*. Целью нашей работы являлось показать возможность формирования G-квадруплексов в районе вероятной экспансии повторов в живой клетке. Работа была проведена на культурах immortalized В-лимфоцитов пациентов (GM04025, GM06897, GM06891, GM 03200) и контрольных клеточных линиях (GM 06865, GM 06895), полученных из клеточного банка Института Кориелла (США). В ходе исследования нами проведен анализ колокализаций сигналов антител и ВАС клона (RP11-489K19),

содержащего полную копию гена *fmg1* на фиксированных и нефиксированных препаратах ядер и метафазных хромосом клеток пациентов и контрольных линий.

СРАВНЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ РИБОСОМНЫЕ БЕЛКИ И рРНК, В ХРОМОСОМАХ ВИДОВ РОДА *CHIRONOMUS*

Гундерина Л.И.¹, Голыгина В.В.^{1,2}, Брошков А.В.^{1,2}, Ермолаева О.В.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск
gund@bionet.nsc.ru

В состав цитоплазматических рибосом эукариотических клеток входят четыре рибосомных РНК (28S, 18S, 5,8S и 5S) и около 80 рибосомных белков (RP). Эти белки представлены в рибосомах одной копией. Они обеспечивают сборку и функционирование рибосом. Некоторые из RP-белков участвуют также в репарации ДНК и регуляции транскрипции. Многие RP-белки и их нуклеотидные последовательности консервативны и потому удобны для филогенетических исследований. Однако тогда как эволюция хромосомной локализации генов рРНК изучена достаточно подробно во многих таксонах, сведений о локализации и эволюционной динамике генов, кодирующих рибосомные белки, чрезвычайно мало.

Цель настоящей работы - изучить хромосомную локализацию генов, кодирующих три рибосомных белка (RPL11, RPL13 и RPL15), у видов рода *Chironomus* с использованием метода FISH (флуоресцентной *in situ* гибридизации), а также сравнить локализацию генов *RPL* и *5,8S rRNA* на хромосомах кариотипов изученных видов.

Зонды для FISH – фрагменты генов *RPL11*, *RPL13*, *RPL15* и *rRNA* видов рода *Chironomus* – были получены путем полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров, специфичных для каждого из генов, и геномной ДНК каждого из видов, а в качестве метки применяли 11-dUTP дигоксигенин или 11-dUTP биотин (Roche, Germany).

Для изготовления препаратов хромосом слюнных желез для FISH использовали личинок IV возраста видов рода *Chironomus* из подродов *Chironomus* и *Camptochironomus*.

Изучение хромосомной локализации генов, кодирующих рибосомные белки, у видов рода *Chironomus* позволило установить, что ген, кодирующий рибосомный белок RPL11, локализован в плече В вблизи центромеры, в районе 25-26, ген рибосомного белка RPL13 – в плече D, в районе 5, а ген белка RPL15 – в плече В, в районе 6-7. При этом расположение районов локализации генов RPL13 (в плече D) и RPL15 (в плече В) относительно

центромеры может различаться у разных видов, вследствие видоспецифических инверсий в хромосомных плечах. Локализация генов rRNA на хромосомах видов рода *Chironomus* более вариабельна. В кариотипах изученных видов хирономид наблюдается от 1 до 6 сайтов локализации генов rRNA, и эти гены могут размещаться на всех семи плечах хромосом. Локализация генов rRNA на хромосомах видов рода *Chironomus* не совпадает с локализацией ни одного из трех генов, кодирующих рибосомные белки.

Полученные результаты позволяют сделать заключение, что локализация генов, кодирующих рибосомные белки RPL11, RPL13 и RPL15, в хромосомах видов рода *Chironomus* консервативна, специфична для каждого из генов и не коррелирует с локализацией генов, кодирующих рибосомную РНК.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ДОМЕНОВ АКТИВНОГО И РЕПРЕССИРОВАННОГО ХРОМАТИНА ЧЕТВЁРТОЙ ХРОМОСОМЫ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Демидова Д.С.¹, Сидоренко И.А.^{2,3}, Зыкова Т.Ю.¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

dashademidova@mail.ru

Генетическая активность интерфазных хромосом связана с их структурной организацией, однако механизм этой взаимосвязи до сих пор не выяснен. Удобной моделью для этих исследований являются гигантские политенные хромосомы. Упорядоченное расположение материала их хроматид приводит к образованию чередующихся компактных темных дисков (репрессированный хроматин) и менее плотных светлых междисков (активный хроматин). Несмотря на интенсивное изучение политенных хромосом *Drosophila melanogaster*, точное соответствие дисков и междисков молекулярной карте генома остается в большинстве случаев неизвестным.

Секвенирование генома *D. melanogaster* дало новые возможности для исследования организации структурных и функциональных элементов хромосом. Последние несколько лет перед исследователями стояла задача преобразовать полученную информацию в функциональные карты, характеризующие процессы регуляции транскрипции, репликации, сплайсинга и эпигенетических изменений. Для этого мы наложили генетическую карту и молекулярные характеристики хроматина на дисковый рисунок четвёртой хромосомы *D. melanogaster*.

Четвёртая хромосома является самой маленькой хромосомой в геноме *D. melanogaster* и кардинально отличается от остальных аутосом. Она представляет собой специфический домен хроматина, содержащий активные гены, но по своим свойствам во

многом схожий с гетерохроматином. Четвёртая хромосома является уникальным доменом хроматина *D. melanogaster*, эпигенетическое состояние которого устанавливается специфическими белками, в том числе, HP1, POF и EGG. На данный момент нет общепризнанной цитологической карты и карты состояний хроматина этой хромосомы.

При помощи FISH нами было проведено сопоставление цитологической и физической карт четвёртой хромосомы. Установлены геномные координаты дисков и междисков, исследованы некоторые их молекулярные характеристики и генетическое содержание по данным полногеномных проектов. В целом, диски и междиски четвёртой хромосомы организованы сходным образом с остальными аутосомами. Междиски содержат белки открытого хроматина, в них расположены 5'-концы повсеместно активных генов. Р-элементы преимущественно локализуются в междисках. Диски либо содержат структурные части генов, либо полигенны. Однако есть некоторые отличия. В четвёртой хромосоме *D. melanogaster* не наблюдается такого выраженного, как в больших плечах хромосом, чередования открытого и закрытого хроматина, приблизительно соответствующего дискам и междискам. Пространства между крупными дисками на препаратах для световой микроскопии выглядят как разрыхленный серый хроматин, который содержит и тонкие неразличимые диски, а не только чёткие междиски. Это подтверждает нетипичную организацию хроматина четвёртой хромосомы и сложность её картирования.

Таким образом, дальнейший комплексный анализ особенностей хроматина четвёртой хромосомы и, в частности, анализ расположения генов, распределения белков «открытого» и «закрытого» хроматина, мобильных генетических элементов, белков репликации позволит понять, каким образом гены могут функционировать в гетерохроматиновом окружении.

Р-ЭЛЕМЕНТЫ ВСТРАИВАЮТСЯ В 5' РЕГУЛЯТОРНЫЕ ОБЛАСТИ ГЕНОВ, ЛОКАЛИЗОВАННЫХ В МЕЖДИСКАХ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ *D. MELANOGASTER*

Демидова Д.С.¹, Сидоренко И.А.³, Левицкий В.Г.³, Зыкова Т.Ю.¹, Жимулев И.Ф.^{1,2}

P-ELEMENTS INSERT IN 5' ENDS OF GENES LOCATED IN POLYTENE CHROMOSOME INTERBANDS IN *D. MELANOGASTER*

Demidova D.S., Sidorenko I.A., Levitsky V.G., Zyкова T.Yu., Zhimulev I.F.

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

vatolina@mcb.nsc.ru

Политенные хромосомы слюнных желёз *Drosophila melanogaster* широко используются в качестве модели интерфазных активно функционирующих хромосом

эукариот. Наиболее заметным признаком политенной хромосомы является поперечная исчерченность, которая связана с чередованием плотных темных дисков и светлых деконденсированных междисков. Этот рисунок стабилен в ряду поколений и отражает функциональное состояние интерфазных хромосом. Однако механизмы такой взаимосвязи до конца непонятны. В последнее время с использованием данных полногеномных проектов обнаружены закономерности в локализации белков, характерных для дисков и междисков. В нашем институте на основе этих данных был разработан алгоритм для определения локализации этих структур в геноме *D. melanogaster*. В данной работе мы исследовали специфику встраивания Р-элементов, ДНКазы I гиперчувствительных сайтов и белков Origin Recognition Complex относительно дисков и междисков, локализованных на молекулярной и цитологической картах генома *D. melanogaster*, а также предсказанных при помощи разработанного алгоритма участков открытого хроматина (междисков). Мы обнаружили, что распределение инсерций Р-элементов в геноме *D. melanogaster* не случайно. Р-элементы преимущественно встраиваются в участки хроматина, предсказанные моделью как междиски политенных хромосом. Плотность инсерций Р-элементов в дисках компактного интеркалярного гетерохроматина значительно ниже. Р-элементы неравномерно распределены в участках хроматина, соответствующих междискам. Наибольшее число встроек происходит в участок длиной 400 п. н. выше и ниже 5' нетранслируемой области гена. Локализация Р-элементов коррелирует с сайтами гиперчувствительности к ДНКазе I и распределением белка репликационного комплекса ORC2. Возможно, что участок размером 400 п. н., содержащий максимальное число Р-элементов, сайтов гиперчувствительности к ДНКазе I и белка ORC2, является ответственным за образование участка открытого хроматина (междиска).

СТРУКТУРА КЛАСТЕРА ГЕНОВ рРНК ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ

Демин А.Г., Сайфитдинова А.Ф., Галкина С.А., Гагинская Е.Р.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
rustle.reed@gmail.com

Одними из наиболее важных и, вместе с тем, плохо изученными элементами генома многоклеточных животных являются повторяющиеся кластеры 18S-5.8S-28S рибосомных генов (гены рРНК). На хромосомах они формируют ядрышкообразующие районы (ЯОР), функциональное состояние которых является важнейшим маркером для оценки физиологического состояния клеток и тканей. Несмотря на широкомасштабные исследования геномов позвоночных, выполненные за последние годы (Коефли et al., 2014), первичная структура кластеров генов рРНК остается неясной даже для таких крупных

таксонов как птицы. Так, например, среди многообразия молекулярно-генетической информации о классе Aves, последовательности межгенных спейсеров (*ITS1* и *ITS2*) рибосомного кластера представлены в базе данных GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) только для домашней курицы и лишь одной исследовательской группой (Tang et al., 2005). Однако детальный анализ аннотированных сиквенсов выявил их высокую (до 99%) гомологию с последовательностью *ITS2* окуня *Siniperca chuatsi*.

В ходе настоящей работы нами на основе неаннотированных последовательностей контигов из находящейся в свободном доступе сборки генома *Gallus gallus* 4.0 (AADN00000000) (Hillier et al., 2004), с привлечением ранее опубликованных независимыми авторами сиквенсов отдельных участков рибосомного кластера курицы и других позвоночных были собраны полные последовательности генов *18S*-, *5.8S*- и *28S-pPHK* последовательности межгенных спейсеров *ITS1* и *ITS2*, а также часть последовательности 3'-концевого участка *5'-ETS* (см. таблицу). Для спейсеров *5'-ETS* и *ITS1*, а так же гена *18S pPHK* достоверность сборки была подтверждена амплификацией отдельных фрагментов, их последующим секвенированием, и флуоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) на метафазных хромосомах курицы.

Таблица

Элемент кластера	Номера сиквенсов в GenBank использованные при сборке	Длина п.о.	Нуклеотидный состав А/Т/Г/С %
<i>5'-ETS partial</i>	AADN03001785, AADN03001786, AADN03001788	209	16/6/46/32
<i>18S-pPHK complite</i>	AADN03001785, AADN03001786, AADN03001788, AADN03001677, AADN03026634, AADN03000430, FM165414, DQ018752, DQ018754	1832	23/22/29/26
<i>ITS1 complite</i>	AADN03001782, AADN03001670, AADN03001783, DQ018752, DQ018754, AADN03026634, AADN03000430,	2094	8/11/42/39
<i>5.8S pPHK complite</i>	AADN03001783, AADN03001670, DQ018754	157	21/22/28/29
<i>ITS2 complite</i>	AADN03001783, AADN03001784	734	6/12/40/42
<i>28S pPHK complite</i>	AADN03001784, AADN03001774, AADN03001775, AADN03001776, AADN03022685, AADN03019346, DQ018756, DQ018757, FM165415, JN639848, EF552813, Shao et al., 2009	4444	17/15/37/31

Получены данные о том, что у домашней курицы последовательности *ITS1* и *ITS2* характеризуются наибольшей длиной и наиболее высоким (порядка 80%) содержанием GC по сравнению с другими Вторичноротыми. Очевидно, что указанные особенности транскрибируемых межгенных спейсеров затрудняют применение ПЦР, увеличивают

опасность контаминации АТ-богатыми матрицами и являются основной причиной, осложняющей исследование структуры кластера 18S-5.8S-28S рибосомных генов у птиц.

Работа выполняется при финансовой поддержке СПбГУ (тема № 1.50.1043.2014) и РФФИ (проект № 15-04-05684) с использованием оборудования Научного парка СПбГУ.

КЛОНАЛЬНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: СВЯЗЬ С ВНУТРИОПУХОЛЕВОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТЬЮ

Денисов Е.В.^{1,2}, Скрыбин Н.А.³, Геращенко Т.С.^{1,2}, Васильев С.А.³, Паутова Д.Н.², Завьялова М.В.^{1,2}, Чердынцева Н.В.^{1,2}, Перельмутер В.М.¹

¹Томский НИИ онкологии, г. Томск

²Томский государственный университет, г. Томск

³НИИ медицинской генетики, г. Томск

d_evgeniy@oncology.tomsk.ru

Рак молочной железы (РМЖ) демонстрирует значительную внутриопухолевую генетическую гетерогенность и морфологическое разнообразие. Ранее в опухолях молочной железы было описано пять различных типов морфологических структур и охарактеризован их вклад в эффективность химиотерапии и метастазирование заболевания (Zavyalova et al., 2013; Denisov et al., 2014). Однако механизмы формирования внутриопухолевой морфологической гетерогенности при РМЖ еще не установлены. Целью данного исследования было изучение сопряженности клональной эволюции РМЖ и внутриопухолевого морфологического разнообразия.

В исследование было включено четыре случая РМЖ люминального В подтипа: инвазивная микропапиллярная карцинома (n=1) и инвазивная карцинома неспецифического типа (n=3). Из трех участков каждой опухоли с помощью лазерной микродиссекции (PALM, Carl Zeiss, Germany) получали различные морфологические структуры опухолевых клеток: тубулярные, альвеолярные, трабекулярные, солидные структуры и дискретные группы. Микродиссектированный материал подвергали полногеномной амплификации (PicoPLEX WGA, Rubicon, USA), полученные образцы ДНК (n=60) использовались для постановки микроматричной сравнительной геномной гибридизации (SurePrint G3 Human CGH 8x60K, Agilent, USA).

Изученные случаи РМЖ различались по количеству и спектру хромосомных нарушений. Для инвазивной микропапиллярной карциномы было характерно большее число aberrаций, среди которых наиболее частыми были амплификации регионов 8q, 17q, 20p и 20q. Напротив, меньшее число хромосомных нарушений детектировалось в инвазивной карциноме неспецифического типа, в которой самыми распространенными aberrациями были амплификация региона 1q и делеции 16q и 22q. Филогенетический анализ показал, что каждый случай РМЖ демонстрирует своё собственное "древо"

клональной эволюции с наличием специфических драйверных aberrаций. Значительная вариабельность хромосомных нарушений была характерна и для различных морфологических структур. Различия детектировались между разными типами структур. Структуры одного типа показывали различия в количестве и типе нарушений как в пределах разных участков одной опухоли, так и между различными опухолями молочной железы. Не было идентифицировано хромосомных нарушений, специфических для каждого типа морфологических структур. Проведенный кластерный и филогенетический анализы позволили предположить, что образование различных морфологических структур происходит либо локально в пределах каждого опухолевого участка, что характерно для инвазивной микропапиллярной карциномы, либо носит хаотический незакономерный характер (инвазивная карцинома неспецифического типа).

Таким образом, можно заключить, что клональная эволюция специфична для каждой опухоли молочной железы и не сопряжена с внутриопухолевой морфологической гетерогенностью. Формирование морфологического разнообразия в пределах опухоли молочной железы не обусловлено специфическими хромосомными aberrациями.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ КЛЕТОК И ПОЛОВОГО РАЗМНОЖЕНИЯ У ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ РОДА *VOLVOX*

Десницкий А.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
adesnitskiy@mail.ru

Колониальные вольвоксовые водоросли, включающие более 60 видов, интенсивно изучаются в отношении эволюции, дифференциации клеток, морфогенеза и геномики (Ferris et al., 2010; Umen, Olson, 2012; Nozaki, 2014; Herron, Nedelcu, 2015). Основное внимание привлечено к серии *Gonium* – *Pandorina* – *Eudorina* – *Pleodorina* – *Volvox*, показывающей усложнение организации и развития колоний, а также к самому роду *Volvox*, включающему около 20 видов, у которых имеется стойкая дифференциация на несколько сотен или тысяч маленьких соматических клеток и небольшое число крупных репродуктивных клеток.

Сопоставление данных по секвенированию ядерных геномов *Volvox carteri*, колония которого состоит примерно из 2000 клеток (Prochnik et al., 2010), и одноклеточной вольвоксовой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* (Merchant et al., 2007) показало, что эти организмы имеют почти одинаковое число генов (в обоих случаях около 14500). Таким образом, эволюционный переход до уровня организации вольвокса был осуществлен путем относительно небольших генетических изменений (Pennisi, 2010). Однако размер генома у

V. carteri на 17% больше, чем у *C. reinhardtii* (в основном за счет повторяющихся последовательностей ДНК).

Род *Volvox* является полифилетическим: в частности, согласно данным молекулярной филогении (Herron et al., 2009), *V. carteri* и *V. globator* дивергировали от общего одноклеточного предка около 200 миллионов лет назад, а соматические клетки возникли независимо в разных эволюционных линиях. У *V. carteri*, наиболее изученного, модельного вида вольвокса, центральную роль в формировании соматических клеток играет ген *regA*, который подавляет биогенез хлоропластов, рост репродуктивных клеток и их дифференциацию (Kirk et al., 1999; Babinger et al., 2006). Ортолог этого гена имеется также у *V. ferrisii*, находящегося в одной эволюционной линии с *V. globator* (Hanschen et al., 2014). Предполагается, что *regA*-подобный ген, связанный с реакцией на внешние стрессовые воздействия, имелся уже у общего одноклеточного предка разных эволюционных линий вольвокса, поскольку он присутствует в геноме одноклеточной водоросли *C. reinhardtii* (Nedelcu, Michod, 2006; Nedelcu, 2009).

Ключевым этапом морфогенеза вольвокса и большинства других колониальных вольвоксовых является инверсия – выворачивание зародыша наизнанку через фиалопор (небольшое отверстие на переднем полюсе). На *V. carteri* было проведено исследование гена *invA*, который кодирует белок кинезин, локализованный в межклеточных цитоплазматических мостиках и обеспечивающий движущую силу для осуществления выворачивания (Nishii et al., 2003). В геноме одноклеточной *C. reinhardtii* присутствует ген *iar* (ортолог *invA*), который тоже кодирует кинезин (Kirk, 2005). Однако функции этого белка у хламидомонады, не имеющей инверсии, пока остаются неясными.

Недавно у гетероталличного *V. carteri* обнаружили регуляторный ген *MID*, определяющий пол, и показали, что он приобрел новые функции (связанные с процессами сперматогенеза и оогенеза) по сравнению с родственным геном у *C. reinhardtii* (Sa Geng et al., 2014). Ген *MID* присутствует только в геноме мужского клона вольвокса, и подавление его экспрессии приводит к формированию в следующем поколении колоний с яйцеклетками. Напротив, экспрессия этого гена после его введения в женский клон вольвокса приводит к формированию колоний с пакетами сперматозоидов. В свете данных по экспериментальному изменению пола у *V. carteri* была предложена гипотеза о механизмах формирования однодомных или двудомных колоний у гомоталлических видов рода *Volvox*.

РАЗРУШЕНИЕ ЛАМИНА DmO В КЛЕТКАХ S2 ДРОЗОФИЛЫ ПРИВОДИТ К УДАЛЕНИЮ ХРОМАТИНА ОТ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ И К УВЕЛИЧЕНИЮ ЕГО ПЛОТНОСТИ В ЯДРЕ

Доронин С.А.^{1*}, Ульянов С.В.^{2,3*}, Храмева Е.Е.^{4*}, Михалева Е.А.¹, Флямер И.М.^{2,3}, Гаврилов А.А.², Гельфанд М.С.^{5,6}, Разин С.В.^{2,3}, Шевелев Ю.Я.¹

¹Институт молекулярной генетики РАН, г. Москва

²Институт биологии гена РАН, г. Москва

³Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва

⁴Институт науки и технологии, Сколково

⁵Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, г. Москва

⁶Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва

* равный вклад авторов

shevelev@img.ras.ru

Ранее методом FISH мы показали, что при нокдауне гена ламина *DmO* в клетках S2 дрозофилы происходит удаление двух районов неактивного хроматина (60D и 22A) от ядерной оболочки внутрь ядер (Shevelyov et al, 2009). Этот результат может быть объяснен утратой связи между определенными районами хромосом (ламина-ассоциированными доменами, ЛАДами) и ядерной ламиной после искусственного разрушения основного ее компонента – ламина DmO, что приводит к тотальному смещению хроматина внутрь ядер. Чтобы проверить эту гипотезу, было проанализировано положения хроматина *en masse* относительно ядерной оболочки в клетках S2 после искусственного снижения в них количества ламина DmO. Для визуализации хроматина и ядерной оболочки проводили иммуноокрашивание клеток антителами к гистону H4 и к ламин-В-рецептору, соответственно. Анализ профилей интенсивности флуоресценции вдоль диаметров интерфазных ядер в программе ImageJ показал, что при разрушении ламина DmO в клетках S2 дрозофилы происходит увеличение среднего расстояния между хроматином и ядерной оболочкой. Это свидетельствует не просто о существовании контактов между хроматином и ламином, а о связывании определенных районов хромосом с ядерной ламиной и о том, что в норме хроматин растянут на ядерной ламине.

Чтобы проверить вышеописанную модель с применением альтернативного подхода, был проведен нокдаун гена ламина *DmO* в клетках S2, после чего пространственная структура хроматина в этих клетках была проанализирована методом Hi-C. Построенные карты хромосомных контактов показали, что при разрушении ядерной ламины не происходит заметного изменения структуры или расположения топологически ассоциированных доменов (ТАДов), однако неспецифически увеличивается число контактов между ТАДами, что свидетельствует об увеличении плотности хроматина в ядре. Полученные результаты указывают на роль ядерной ламины как фактора,

сдерживающего спонтанную и неспецифическую компактизацию хроматина, вызываемую силами молекулярного краудинга.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-КОМФИ № 13-00-40086-К.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАСТИ ДРЕВНИХ ЛОШАДЕЙ АЛТАЯ И БУРЯТИИ: СРАВНЕНИЕ С СОВРЕМЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ

Дружкова А.С.^{1,2}, Куслий М.А.¹, Попова К.О.^{1,2}, Юрлова А.А.², Воробьева Н.В.^{1,2},
Макунин А.И.¹, Васильев С.К.³, Кабилов М. Р.⁴, Гуторова Н.В.⁵, Молодин В.И.³,
Щербаков Д.Ю.⁶, Трифонов В.А.^{1,2}, Графодатский А.С.^{1,2}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Институт археологии и этнографии СО РАН, Новосибирск

⁴Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

⁵Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

⁶Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

E-mail: rada@mcb.nsc.ru

Домашние лошади (*Equus caballus*) представители рода *Equus* один из наиболее значимых видов для человека. Определение времени и места одомашнивания для которого остается открытым до настоящего времени. Сравнение митохондриальных геномов помогает воссоздать филогенетические отношения между древними и современными представителями, динамику изменения популяций во времени. Изучая ядерные гены окраски древних и современных лошадей, можно выяснить, какие изменения в цвете шерсти произошли в процессе одомашнивания. В то время как современные домашние лошади имеют большое разнообразие гаплотипов митохондриальной ДНК, наследуемой по материнской линии, изменчивость Y-хромосомы очень мала. Целью исследования является генотипирование и определение масти древних лошадей Алтая и Бурятии и установление их филогенетических отношений с современными лошадьми. Исследование разнообразия гаплотипов по отцовской линии среди древних и современных представителей рода *Equus*.

В ходе данной работы выделена ДНК из 24 костных образцов древних лошадей (40 тыс. лет до н.э. – 5 век н.э.) из республик Бурятия, Алтай, Якутия, из Забайкальского края, Ульяновской области, сделаны библиотеки для секвенирования. Мы разработали зонды, для обогащения древней ДНК фрагментами Y-хромосомы, семи генов окраски и полной мтДНК. По результатам секвенирования были определены гаплогруппы (E, N, R) древних лошадей и их позиция на филогенетическом древе, а также масти, отличные от дикого типа, у четырех древних лошадей. Один из образцов относится к вымершему виду *Equus ovodovi*, а не к домашней лошади *Equus caballus*, и имеет уникальный гаплотип, не описанный ранее для семейства лошадиных.

У 88 современных лошадей Алтая (Улаганский и Кош-Агачинский районы) секвенирован фрагмент гипервариабельного района мтДНК и построена филогенетическая сеть. Исходя из замен в этом фрагменте, мы отнесли исследованных нами современных лошадей к 10 гаплогруппам (А, В, D, F, I, К, К3, Х2, Х3, Х4), а древних лошадей Бурятии, с плато Укок и из Денисовой пещеры к гаплогруппам Х3, К и Х7, соответственно. Для современных представителей домашних лошадей Алтая мы получили Y-хромосомные маркеры для 14 образцов и определили, что эти образцы принадлежат гаплотипам НТ1 и НТ2, являющимися самыми распространенными в лошадиной популяции.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00723.

КАРИОТИП МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Енукашвили Н.И.^{1,2}, Галембо И.А.¹, Шунькина К.В.¹, Айзенштадт А.А.^{1,3}, Смолянинов А.Б.^{1,3}

¹ ООО «Покровский банк стволовых клеток», г. Санкт-Петербург

² Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург

³ СЗГМУ им. И.И.Мечникова, г. Санкт-Петербург

aizendt@gmail.com

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) - мультипотентные стволовые клетки, обладающие способностью к самоподдержанию популяции и дифференцировке в клетки мезенхимного ряда. В настоящее время разработаны методики культивирования этих клеток, как для научных целей, так и для клинического применения. При этом в ходе культивирования могут значительно изменяться свойства и характеристики клеток, что в свою очередь может влиять на безопасность и эффективность их применения.

Цель работы заключалась в выявлении изменений кариотипа МСК пупочного канатика (ПК) при их длительном культивировании.

МСК выделяли из периваскулярного пространства пупочной вены образцов ПК, полученных при неосложненных родах (при наличии подписанного информированного согласия). Поверхностные маркеры МСК выявляли с помощью меченных флуорохромами антител против CD34, CD45, CD90, CD105, CD73, CD13, CD10, CD44, CD14, CD117 на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США). Препараты метафазных хромосом окрашивали раствором Hoechst 33258 с последующим контрастированием актиномицином D при уровне разрешения 450-550 сегментов (ISCN). Для оценки кариотипа каждого образца проводили анализ 15 метафазных пластинок на 4 и более поздних пассажах, в зависимости от длительности поддержания пролиферативного потенциала. Флюоресцентную гибридизацию in situ (FISH) проводили по стандартным протоколам, используя в качестве зонда клонированный фрагмент прицентромерного сателлита 3 (HS3) хромосомы 1 человека

Результаты. В ходе работы была получена и проанализирована 31 культура МСК ПК. 22 культуры МСК сохраняли пролиферативную активность в течение 8 пассажей, 5 культур – до 9 и 3 культуры – до 10 пассажа. Процентное содержание клеток с иммунофенотипом МСК - положительных по экспрессии поверхностных антигенов CD90, CD105, CD44, CD73, и отрицательных по экспрессии CD45, CD34, CD117, CD14 - в данных культурах МСК было схожим и превышало 90%. Для 30 культур МСК пупочного канатика на 4 и 8 пассажах не было обнаружено каких-либо изменений кариотипа.

В тоже время МСК ПК одной из проанализированных культур сохраняли пролиферативный потенциал в течение более чем 50 пассажей. При этом иммунофенотипические и морфологические характеристики клеток в течение всего периода культивирования не изменялись и соответствовали таковым для МСК. Однако, в ходе цитогенетического анализа показано, что начиная с 9 пассажа в МСК этой культуры произошло увеличение гетерохроматинового блока перицентромерного района одного из гомологов 1 хромосомы. Методом FISH в интерфазных ядрах показана деконденсация HS3-1 – основного компонента ДНК прицентромерного хроматина хромосомы 1. Деконденсация этого участка в интерфазных ядрах свидетельствует об эпигенетических изменениях в клетках. При последующем культивировании дальнейших изменений этого участка хромосом обнаружено не было. В остальном МСК этой культуры сохраняли стабильный кариотип без изменения количества структуры хромосом на всем сроке культивирования.

Таким образом, была получена длительно пролиферирующая культура МСК ПК со стабильным кариотипом, особенностью которого был увеличенный гетерохроматиновый блок на одном из гомологов 1 хромосомы.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОЛЕКУЛЯРНОЕ КАРИОТИПИРОВАНИЕ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА, ВНУТРЕННЕЙ КЛЕТОЧНОЙ МАССЫ И ДНК ИЗ ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ЖИДКОСТИ БЛАСТОЦИСТЫ ЧЕЛОВЕКА

Жигалина Д.И.^{1}, Скрыбин Н.А.^{1,2}, Артюхова В.Г.³, Светлаков А.В.³, Лебедев И.Н.^{1,2}*

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г. Томск

³ Общество с ограниченной ответственностью «Красноярский центр репродуктивной медицины»

darya.zhigalina@medgenetics.ru

Развитие молекулярно-цитогенетических методов и активное использование преимплантационной генетической диагностики (ПГД) в рамках циклов экстракорпорального оплодотворения дало уникальную возможность изучать хромосомные аномалии на ранних стадиях эмбрионального развития человека. Ключевым вопросом при

этом является исследование цитогенетических причин высокого уровня числовых хромосомных нарушений у эмбрионов, определяющих невозможность наступления беременности или ее раннее прерывание. Вместе с тем, ранняя коррекция хромосомных аномалий может приводить к нормализации хромосомного набора, предоставляя тем самым шансы для дальнейшего успешного развития зародыша. Однако механизмы такой коррекции оставались до настоящего времени во многом гипотетическими, что было связано с отсутствием реальной возможности экспериментально проследить элиминацию анеуплоидных клеток на ранних этапах эмбриогенеза человека.

Обнаружение в 2013 г. ДНК во внутриполостной жидкости бластоцисты (Palini et al., 2013) позволило впервые реконструировать кариотипы клеток, подвергшихся апоптозу. Очевидно, что сравнительный анализ клеток самой бластоцисты с данными молекулярного кариотипирования внеклеточной ДНК в её полости позволит проиллюстрировать модели тканеспецифичной компартиментализации клеток с аномалиями кариотипа в раннем эмбриогенезе человека (Lebedev, 2011).

В настоящей работе мы впервые сообщаем о результатах сравнительного цитогенетического анализа клеток трофобласта, внутренней клеточной массы (ВКМ) и внеклеточной ДНК из полостной жидкости трех бластоцист 5-го дня развития, проведенного с помощью сравнительной геномной гибридизации. Показано, что в одном случае из эмбриональных тканей исключаются аномальные клетки, и ДНК из них попадает в жидкость. Так, во внутриполостной жидкости бластоцисты были обнаружены моносомии по хромосомам 7 и 16 и трисомия по хромосоме 4, тогда как в трофобласте и ВКМ не было найдено хромосомных нарушений. Во втором случае выявлены моносомии по хромосомам 16, 17 и 19 в жидкости бластоцисты. В то же время во ВКМ обнаружены трисомии по хромосомам 16, 17, 19 и 22, а в трофобласте, напротив, моносомии по хромосомам 16 и 19. Таким образом, клетки с моносомиями, как продукты хромосомного нерасхождения или отставания, могут элиминироваться из ВКМ, дающей начало всем эмбриональным структурам, но частично сохраняться в трофобласте, обеспечивающем имплантацию бластоцисты. В третьем случае в образце внутриполостной жидкости не было обнаружено ДНК, тогда как во ВКМ были выявлены трисомии по хромосомам 17, 19, 22 и моносомия по хромосоме 13, а в трофобласте – трисомия по хромосоме 17 и моносомия по хромосоме 12. Очевидно, что анализ внеклеточной ДНК может внести заметный вклад в понимание цитогенетических механизмов формирования хромосомного мозаицизма, а с практической точки зрения способствовать уменьшению вероятности ошибок ПГД из-за высокой частоты постзиготических аномалий сегрегации хромосом в эмбриогенезе человека.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 15-04-08265.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ Р ФАКТОРА В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* НЕ КОРРЕЛИРУЕТ С РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ *P* МОБИЛЬНОГО ЭЛЕМЕНТА

Захаренко Л.П.^{1,2}, Игнатенко О.М.², Дорогова Н.В.¹

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

zakharlp@bionet.nsc.ru

Явление внутривидового гибридного дисгенеза (ГД) обнаружено у потомства некоторых пар линий *D. melanogaster* в одном из направлений скрещивания. ГД индуцируется за счет взаимодействия материнской цитоплазмы (линии с М цитотипом (**M**aternal)) с отцовским фактором (линии с Р цитотипом (**P**aternal)). Предполагается, что *P* транспозон появился в геноме *D.melanogaster* путем горизонтального переноса примерно в то же время, что и Р фактор. Считается, что отсутствие *P* элемента в материнском геноме и его наличие в отцовском геноме индуцирует активное перемещение *P* элемента и приводит к проявлению симптомов ГД. Предполагалось, что детерминанты ГД получают распространение в популяциях *D.melanogaster* вместе с распространением с *P* элемента.

Однако, мы не обнаружили корреляции между распространенностью Р фактора и распространенностью *P* элемента в современных популяциях. Например, большая часть Евразийских линий имеет не Р, а Q или М цитотип несмотря на то, что полноразмерный *P* элемент присутствует практически во всех геномах *D.melanogaster* из природных популяций. По нашим данным линии, выделенные из природы в последнее десятилетие, имеют то же соотношение цитотипов, что и в 1975 году независимо от содержания в их геномах *P* элемента.

МГЭ могут перемещаться не только в гибридных геномах, но и в изогенных линиях. В линии *y; cn bw sp* скорость перемещения мобильных генетических элементов (МГЭ), которые считают ответственными за IR (*I* элемент) и HE (*hobo*) варианты гибридного дисгенеза, сопоставима со скоростью перемещения *P* элемента при РМ ГД и может составлять одно перемещение на геном за поколение. Между тем в этой линии симптомов ГД не замечено.

По нашим данным у дисгенных самок увеличивается деградация ювенильного гормона, у взрослых самок в яичниках отсутствуют стволовые генеративные клетки (СГК), хотя на ранних стадиях эмбриогенеза СГК закладываются в равных количествах в дисгенном и недисгенном направлении.

Итак, распространенность *P* элемента в природных популяциях *D.melanogaster* не коррелирует с распространенностью Р фактора. Отсутствие *P* элемента в старых лабораторных линиях и его наличие в свежесвыделенных линиях из природы скорее показатель генетической дистанции между линиями, чем причина ГД. Значимость *P*

элемента в индукции ГД преувеличена еще и потому, что частота перемещения и специфичность внедрения *P* элемента недостаточно велики, чтобы со 100% вероятностью индуцировать у гибридов одни и те же симптомы.

Причина гибридного дисгенеза, проявляющегося при скрещивании особей из маркерных линий, скорее всего кроется в дивергенции регуляции генов материнского эффекта и генов, ответственных за формирование яичников, чем в активности МГЭ.

Благодарности: работа частично финансировалась грантом РФФИ 14-04-00929 и Базовым проектом VI.53.1.2.

ДИВЕРГЕНЦИЯ, КОНТАМИНАЦИЯ ИЛИ ПОЛИМОРФНОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ РЕФЕРЕНСНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЛИНИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Захаренко Л.П.^{1,2}, Игнатенко О.М.², Илинский Ю.Ю.^{1,2}

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск
zakharlp@bionet.nsc.ru

Около 100 лет назад благодаря исследованиям на дрозофиле Т. Морганом с учениками была сформулирована хромосомная теория наследственности. Некоторые лабораторные линии *Drosophila melanogaster* имеют почти такую же давнюю историю и относятся к числу референсных. Линии с одним и тем же названием поддерживаются в разных лабораториях многие годы и могут отличаться друг от друга по ряду параметров за счет дивергенции, генетического загрязнения или полиморфного происхождения.

Мы сравнили 5 отводок линии Canton-S (выделена К. Бриджесом из популяции Canton, Ohio, USA, в 1930 гг.) и 3 отводки линии Harwich (выделена из природы в году в Harwich, Massachusetts, USA, 1967г.) по фенотипу, реакции на гибридный дисгенез, распределению мобильных генетических элементов на политенных хромосомах слюнных желез (*P* транспозон и *blood* ретротранспозон), статусу инфицированности *Wolbachia* и митотипу.

Некоторые отводки содержат по одной спонтанно возникшей видимой мутации. Все отводки различаются по паттерну распределения исследованных мобильных элементов в политенных хромосомах слюнных желез, тем не менее, все отводки обеих линий сохранили свои характеристики в тесте на гибридный дисгенез. Геном одних отводок линии Canton-S не содержит *P* элемент, другие отводки обнаруживают по два сайта гибридизации *P* элемента разной локализации. Количество *P* элемента в отводках линии Harwich составляет десятки копий (в том числе полноразмерных). Мобильный элемент *blood* представлен в геномах обеих линий 1-2 десятками копий, большая часть которых имеет уникальную локализацию.

Часть отводок инфицирована вольбахиями. Все отводки линии Harwich и линии CantonS кроме одной имеют M митотип, но относятся к разным подкладам этой клады.

Если митохондриальные гаплотипы образовались более 100 лет назад, то референсные линии могли брать начало не от одной самки. Загрязнение генетическим материалом других линий также нельзя исключить, но в этом случае загрязнение отводок линии Cantons-S должно было случиться давно, от других старых лабораторных линий, где нет *P* элемента или он присутствует в небольшом числе копий. Если же загрязнение шло от линий, насыщенных *P* элементом, то придется предположить, что *P* элемент элиминировался из генома этих отводок за время хранения в лаборатории. В одной из лабораторий отводки Canton-S и Harwich имеют одинаковый митотип, что может быть косвенным свидетельством генетического загрязнения.

Таким образом, лабораторные линии *Drosophila melanogaster* с одним и тем же названием из разных лабораторий могут по разным причинам отличаться друг от друга по генетическим характеристикам.

Благодарности: работа частично финансировалась грантом РФФИ 14-04-00929 и Базовым проектом VI.53.1.2.

КООРДИНАЦИЯ СБОРКИ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ И ЯДЕРНЫХ ПОР В ИНТЕРФАЗЕ

Киселева Е.В.

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН
elka@bionet.nsc.ru

Сборка ядерной оболочки (ЯО) и ядерных пор (ЯП) в процессе митоза подробно исследованы. Однако новые фрагменты ЯО собираются также в растущих ядрах на стадии интерфазы, при дифференцировке клеток, либо изменении их метаболической активности. Важными аспектами этого процесса являются механизмы регуляции увеличения объема ядер, пути и источники формирования новых фрагментов наружной (НМ) и внутренней (ВМ) мембран ЯО, а также их сплавления и инициация сборки ЯП в этих участках. Принцип сборки ЯО и ЯП в митозе и на стадии интерфазы отличаются тем, что первом случае они образуются путем реформирования разобранных ранее предшественников, тогда как во втором- собираются *de novo* в интактном ядре (Doucet et al. 2010). Помимо обеспечения транспорта молекул, ЯП принимают участие в организации хроматина и регуляции экспрессии генов. В состав ЯП входят 30 разных белков-нуклеопоринов (Nups), сформированных в комплексы. Скаффолд –каркас ЯП сформирован копиями комплексов Nup107/160, которые закрепляются в ЯО тремя трансмембранными Nups: POM121, Ndc1 и

gp210. Восемь симметрично расположенных филаментов отходят от поры в цитоплазму, а внутри ядра пора содержит basket структуру сформированную также из 8 филаментов.

Мы исследовали биогенез ЯО и ЯП в растущем ядре ооцита *Xenopus laevis* используя сканирующую просвечивающую и иммуно-электронную микроскопию электронную микроскопию (ЭМ). После деления клетки транскрипция генов, кодирующих белки комплекса Nup107/160 прекращается, однако они выявляются в цитоплазме. Так как плотность ЯП в ЯО остается постоянной на протяжении интерфазы (Dultz et al. 2009), число ЯП должно увеличиваться в соответствии с ростом ядра. ЭМ показала, что источником новых фрагментов ЯО в растущем ядре являются мембранные компоненты ЭПР, активно сливающиеся с НМ (этап-1). Далее часть **слившихся** мембран перетекает на ВМ через мембранный компартмент ЯП (этап-2) и формирует везикулярные выпячивания на ВМ часто связанные с basketами ЯП (этап-3). Это объясняется невозможностью быстрой деполимеризации ламины связанной с ВМ ядра. Согласно нашим данным белок ЭПР ретикулон 4, способный изгибать мембраны, принимает активное участие в регуляции этапов 1-2. Показано, что рост ядра сопровождается накоплением мембран-связанных NUPs (POM121, gp210, Nup153 и Nup53), а также SUN1 белка, ламин и ламин-связанных белков (King et al. 2006). Слившиеся с ЯО мембраны ЭПР уплощаются (этап 4), вероятно, вследствие деполимеризации ламины, и сближаются (этап-5). Параллельно идет сборка комплексов Nup107/160, в виде Y-подобных структур, на обеих сторонах ЯО (этап-6), а также происходит точечное сплавление мембран и формирование ямок и отверстий – начальных промежуточных структур ЯП. Ведущую роль в сборке комплекса Nup107/160 в ЯП играет POM121, а Nup153 и Nup53 способствуют росту ВМ оболочки ядра (Bastos et al. 1996). Сборка цитоплазматического и внутриядерного компартментов ЯП идет синхронно с обеих сторон оболочки ядра (этап 7) до стадии появления филаментов, формирующихся далее асинхронно (этап-8). Затем ламина восстанавливается в новых участках ЯО, закрепляя ЯП (этап 9). Таким образом, мы впервые визуализировали 9 этапов сборки новых фрагментов ЯО в интерфазном ядре и продемонстрировали высокую степень координации процессов формирования мембран в новых участках ЯО и «интерфазных» ЯП. Однако, многие вопросы о механизмах регуляции этих процессов все еще остаются открытыми.

COORDINATION OF NUCLEAR ENVELOPE AND NUCLEAR PORE ASSEMBLY IN INTERPHASE

Kiseleva E.V.

The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS

elka@bionet.nsc.ru

Assembly of nuclear envelope (NE) and nuclear pore complexes (NPC) in mitosis is well investigated. However new NE formation also occurs in interphase nuclei, during cell differentiation and in response to changes of cell metabolic activities. Important aspects of this process are the regulation of nuclear expansion, store of outer (ONM) and inner (INM) in new NE fragments, membranes fusion and NPCs formation. The assembly of “mitotic” and “interphase” NPCs differ because the first assemble in reforming NE while the second in an intact NE (Doucet et al. 2010). Besides of their role in nuclear trafficking the NPCs takes part in chromatin organization and gene regulation. Each NPC is composed of 30 different nucleoporins (Nups) that form a protein scaffold, mainly composed of Nup107/160 complex, which is anchored in the NE by three transmembrane Nups: POM121, Ndc1, and gp210. Eight filaments extend from this core into the cytoplasm and nucleoplasm, where form the nuclear basket.

We investigated the NE and NPC biogenesis in growing *Xenopus* oocytes using transmission, scanning and immune electron microscopy (EM). When cells stop dividing, the scaffold Nups, are no longer transcribed, however they are present in the cytoplasm. The NPC density remains constant during interphase (Dultz et al. 2009), suggesting that NPC assembly is tightly linked to NE expansion. Blocking NPC assembly or nuclear/cytoplasmic transport inhibits NE expansion and results in pore-free patches of NE. Our and other data demonstrated that the NE expansion requires fusion of intact ER vesicles with the ONM (Step 1) and subsequent movement of ER membrane through NPC membrane compartment to the INM (Step 2). We found that transported to the INM fragments of ER form the vesicle-like protrusions (Step 3) at the beginning because of lamina protection of these membranes flattening. It was suggested that NE growth is likely coordinated by the expression levels of some ER and membrane interacting Nups (POM121, gp210, Nup153, yNup53) as well as SUN1, lamins and lamin-related proteins. According to our EM data the reticulon 4 is involved into bending of ER membrane during fusion. It is possible that new INM and ONM proteins are translated in the rough ER and diffuse throughout the ER network until they reach the ONM. INM proteins could then passively diffuse through NPCs or actively transported with import factors. POM121 appears to play a critical role for subsequent recruitment of the Nup107/160 complexes into NPC and Nup153 or yNup53p also induces intranuclear membrane growth (Bastos et al.1996). At step 4 fused ER reshapes into flat NE sheets at cytoplasmic and nucleoplasmic sides due to temporal lamina disassembly and two nascent NE regions approach to each other (Step 5). Then Y-shaped structures formed by

Nup107/160 complexes visualized at both sides of new NE fragments and the NPC intermediates such as dimples and holes start to form due to fusion of the NE bilayers at these regions (Step 6). Assembly of cytoplasmic and nucleoplasmic NPC compartments follows synchronously at both sides of new NE fragment (Step 7) until formation of basket filaments. After that the “interphase” NPC formation continues by appearing of 8 particles with filaments at the cytoplasmic NPC ring, while the basket filaments asymmetrically assemble at the nucleoplasmic ring (Step 8). Finally the lamina is polymerized and anchor the “interphase” NPCs to the nascent NE membranes (Step 9). Thus, we visualized for the first time 9 steps of new NE fragments assembly in interphase nucleus and have shown that there is structural and functional coordination between NE expansion and nascent NPC insertion, although exact underlying mechanisms of this crosstalk regulation remain an open questions.

ЭВОЛЮЦИЯ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ В РОДЕ АНОЛИСОВ (*ANOLIS*)

SEX CHROMOSOME EVOLUTION IN ANOLE LIZARDS

Кичигин И.Г.¹, Джюванотти М.², Кабилов М.Р.³, Тупикин А.Е.³, Фергюсон-Смит М.А.⁴, Макунин А.И.¹, Графодатский А.С.^{1,5}, Трифонов В.А.^{1,5}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Политехнический университет Марке, г. Анкона, Италия

³Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

⁴Кембриджский университет, г. Кембридж, Великобритания

⁵Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

E-mail: kig@mcb.nsc.ru

В порядке чешуйчатых зафиксировано удивительное разнообразие систем определения пола в которые входят определения пола по генотипу (системы XY и ZW) и определение пола в зависимости от температуры. Что интересно внутри чешуйчатых змеи обладают крайне консервативной ZW системой, а близкородственные ящерицы всеми возможными типами определения пола. Чешуйчатые с точки зрения геномов изучены недостаточно хорошо: геном только одного вида был секвенирован, проанализован и отчасти собран (*Anolis carolinensis*). Несмотря на высокое покрытие только макрохромосомы *A. carolinensis* удалось полностью собрать, а некоторые части микрохромосом (включая часть X) были собраны в виде групп сцепления, причем содержимое большинства микрохромосом оставалось неизвестным. Род *Anolis* является разнообразным таксоном ящериц состоящий из более чем 400 видов, который часто используют в качестве модельного рода рептилий. Большинство видов этого рода обладают гомоморфными половыми хромосомами, причем система XY по-видимому эволюционировала из одной и той же пары аутосом и является общей для всего рода.

В этой работе мы обнаружили основные тенденции эволюции половых хромосом у анолисов, проанализировав 9 видов. Особо интересными случаями оказались виды *A. sagrei* и *A. pogus*. С помощью проточного сортирования мы получили хромосом-специфические библиотеки *A. carolinensis*, *A. sagrei* и *A. pogus*. Сравнительный пэйнтинг между *A. carolinensis* (ACA) и *A. sagrei* показал наличие сигнала нескольких аутосом ACA на половых хромосомах *A. sagrei*, тогда как у *A. pogus* была обнаружена система X₁X₂Y, также включающая районы гомологии с аутосомами ACA. С помощью секвенирования нового поколения хромосомспецифических библиотек мы охарактеризовали содержание и структуру микрохромосом *A. carolinensis* и *A. sagrei*. Это позволило нам картировать как минимум 189 Мбр незаякоренных скэффолдов *A. carolinensis* на микрохромосомы ACA и около 10 Мбр на X-хромосому ACA (по сравнению с 3 Мбр группы сцепления с X хромосомы из проекта по секвенированию *A. carolinensis*). Мы провели целевой поиск генов-кандидатов, вовлеченных в определение пола, на X-хромосоме, но таких кандидатов найдено не было, так как гомологи генов, участвующих в половом каскаде других позвоночных, по-видимому, располагаются на аутосомах анолиса.

Сравнительный анализ показал, что половые хромосомы *A. sagrei* претерпели слияние с тремя микроаутосомами, а часть материала Y-хромосомы была потеряна в результате вырождения. Мы предполагаем, что в роде *Anolis*, возможно, появился новый, пока что не обнаруженный, ген, контролирующий каскад определения пола.

Работа поддержана грантом МКБ 6.13.

ПОРА В АКТИНОВОМ КОРТЕКСЕ ДЕНДРИТА У СОЗРЕВАЮЩЕГО ОБОНЯТЕЛЬНОГО НЕЙРОНА: ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ МОНОАЛЛЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ОДОРАНТ-СВЯЗЫВАЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ

Клименков И.В.^{1,2}, Судаков Н.П.^{2,3,4}, Пастухов М.В.⁵

¹ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

²Иркутский государственный университет, г. Иркутск

³ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», г. Иркутск

⁴ФГБУН Иркутский научный центр СО РАН, г. Иркутск

⁵ФГБУН Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, г. Иркутск

iklimen@mail.ru

Известно, что в процессе дифференцировки обонятельного нейрона из всего мультигенного семейства, кодирующего одорант-связывающие белки, выбирается только один ген, экспрессия которого будет обеспечивать его моноспецифичность (Buck, Axel, 1991). Согласно модели Shykind (2005), механизм такого отбора предполагает попеременную стохастическую активацию генов, каждый из которых кодирует только один тип рецепторов.

Если рецептор специфически взаимодействует с молекулами одоранта, запускается внутриклеточный сигнал, который «закрепляет» его экспрессию. До настоящего времени не известно – каким образом запаховые сигналы внешней среды могут влиять на формирование рецепторного профиля чувствительных клеток на ранних этапах их развития.

С помощью методов конфокальной микроскопии на представителях ихтиофауны семейства Cottoidei (оз. Байкал) показано, что в процессе роста и дифференцировки обонятельной клетки в дендрите формируется хорошо выраженный актиновый кортекс. Он придает жесткость переднему участку дендрита, обеспечивая его перемещение и встраивание между вершинами соседних клеток. В отличие от зрелых клеток, у молодого нейрона актин сплошным широким (150-250 нм) слоем закрывает все примембранное пространство вдоль дендрита и под поверхностной мембраной апикального участка клетки за исключением "поры", через которую он взаимодействует с внешней средой. Судя по диаметру (300-400 нм), такая пора обеспечивает функционирование только небольшого фрагмента поверхностной мембраны клетки, где могут быть сосредоточены рецепторные белки. Другие участки мембраны из-за подлежащего под ней плотного слоя актиновых филаментов вероятно не могут поддерживать механизмы трансдукции внеклеточных обонятельных сигналов. Это говорит о том, что после закрепления дендрита в поверхностных структурах эпителия он не сразу включается в сложные процессы хеморецепции. Через пору созревающая клетка впервые взаимодействует с минимальной порцией пахучих веществ внешней среды, что может иметь определяющее значение для заключительных этапов настройки ее хемочувствительного аппарата. Можно предположить, что посредством поры с помощью рецепторов и/или в результате локальной интернализации лиганд-рецепторного комплекса формируется специфический внутриклеточный сигнал, запускающий процессы «отбора и закрепления» гена, который далее будет экспрессировать одорант-связывающие белки только к данному образцу запаховых молекул. Цитохимические данные показывают, что по окончании процессов такой первичной стимул-зависимой настройки рецепторных свойств клетки плотный примембранный слой актиновых филаментов дендрита и его вершины утрачивается. Это обеспечивает встраивание рецепторных белков по всей площади чувствительного участка нейрона и завершение его функциональной специализации. Таким образом, установленный нами факт формирования специализированной поры в апикальном участке молодого нейрона непосредственно указывает на существование «внешнего» контроля развития моноаллельной специфичности обонятельных рецепторов. Это актуально в связи с дискуссией (Farbman, 1990) о роли средовых и генетических факторов в создании

рецепторного репертуара хемочувствительных клеток. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 11-04-01231-а и № 12-04-10007-к.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ФАКТОРА СБОРКИ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОМАТИНА CHD1 В ОРГАНИЗАЦИИ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ

Конеv А.Ю., Макасе А.², Барановская И.Л, Игнатьева М.А.

ФГБУ Петербургский Институт Ядерной Физики НИЦ КИ, г. Гатчина
konev.alexander@gmail.com

Все процессы метаболизма ДНК в эукариотической клетке, такие как, транскрипция, репликация, репарация, рекомбинация происходят с ДНК в составе хроматина и все эти процессы, в той или иной степени требуют разборки и последующей сборки хроматина. Исследования *in vitro* свидетельствуют, что для эффективной сборки протяженных нуклеосомных повторов необходимо взаимодействие белковых факторов относящихся к двум различным классам: гистоновых шаперонов и АТФ-зависимых SWI/SNF-подобных хроматин-ремодулирующих факторов, которые увеличивают эффективность включения гистонов в хроматин и регулируют расстояние между нуклеосомами. Эволюционно - консервативный белок CHD1 (Chromo-ATPase/Helicase-DNA-binding protein 1) вовлечен в контроль таких различных клеточных процессов как сборка хроматина и обмен гистонов, детерминация плюрипотентного состояния стволовых клеток, регуляция инициации, элонгации и терминации транскрипции, предотвращение транскрипции с криптических промоторов внутри гена, реорганизацию хроматина мужского пронуклеуса после оплодотворения, а нарушения в его работе связаны с развитием раковых заболеваний человека.

При исследовании политенных хромосом нуль-мутантных по гену *Chd1* личинок дрозофилы мы обнаружили, что в то время как самки имеют нормальную структуру хромосом, X- хромосома самцов становится деформированной, укороченной и утолщенной. При этом продукт гена *Chd1* материнского происхождения концентрируется в X- хромосоме, вызывая ее специфическое окрашивание. Таким образом нами впервые обнаружена роль Chd1 в регуляции структуры X-хромосомы самцов, связанной с феноменом дозовой компенсации.

Нами предложено использование модели для исследования функций фактора CHD1, основанной на экспрессии доминант – негативной формы этого белка, либо CHD1 дикого типа в слюнных железах. Исследование политенных хромосом личинок третьего возраста показало, что как экспрессия доминант негативной формы белка CHD1, так и экспрессия белка дикого типа под действием драйвера P{ GawB}AB1 приводит к появлению

многочисленных деконденсированных районов - дополнительных пуфов, ярко окрашиваемых антителами на белок CHD1 и элонгирующую форму РНК полимеразы II. Экспрессия как доминант-негативной, так и нативной форм белка CHD1 приводит к существенному снижению эффективности происходящего в ходе транскрипции включения гистона H3.3-core-GFP состав хроматина. Ряд крупных пуфов, наблюдающихся у таких особей соответствует пуфам, в норме возникающим в ходе развития дрозофилы, однако эти пуфы не регрессируют на пуфовых стадиях при которых, те же пуфы в хромосомах личинок дикого типа исчезают или уменьшаются. В результате в одном ядре обнаруживаются пуфы, характерные для различных пуфовых стадий, чего никогда не наблюдается у особей дикого типа. Эти данные выявляют неожиданную и ранее не показанную роль фактора CHD1 – участие в своевременном прекращении транскрипции (ре-репрессии) регулируемых в развитии генов, возможно связанную с участием CHD1 в ассоциированной с транскрипцией сборке хроматина.. В то же время, в гетерохроматине эффекты гиперэкспрессии каталитически неактивного белка и белка CHD1 типа различаются. Экспрессия трансгена, кодирующего белок CHD1 дикого типа приводит к привлечению белка CHD1 к гетерохроматиновым районам и очень сильной деконденсации в гетерохроматиновых участках, образующих хромоцентр политенных хромосом.

НОВАЯ ФУНКЦИЯ dORC - УЧАСТИЕ В ЭКСПОРТЕ мРНК

Копытова Д.В., Попова В.В., Куришакова М.М., Георгиева С.Г.
Институт биологии гена РАН, Москва, 119334

В результате пошаговой хроматографической очистки и последующей иммунопреципитации антителами к белку ENY2 из ядерного эмбрионального экстракта дрозофилы нами был почищен комплекс экспорта мРНК из ядра в цитоплазму - TREX-2/AMEX. В состав комплекса, кроме белков ENY2, Xmas-2, PCID2 также входили субъединицы комплекса ORC (Origin Recognition Complex). ORC эукариот известен как комплекс, отвечающий за сборку пререпликативного комплекса на ДНК. Эксперименты по коиммунопреципитации белков, экспрессированных с эпитопами FLAG и HA в клеточной системе дрозофилы подтвердили взаимодействия между TREX-2 и ORC комплексами и показали, что, возможно, взаимодействие осуществляется несколькими субъединицами. Так, белок Xmas-2, выполняющий роль скаффолда в составе комплекса TREX-2, взаимодействует с Orc3 и Orc6 субъединицами ORC. Субъединица PCID2, ассоциированная с N-концом Xmas-2 белка, взаимодействует с белками Orc4 и Orc3. Результаты коиммуноперципитации из ядерного эмбрионального экстракта, а также коиммунопреципитации белков с эпитопами из клеточного экстракта дрозофилы выявили,

что субъединица Orc3, вероятно, наиболее сильно вовлечена во взаимодействия. Двойное иммуноокрашивание антителами к белкам Orc3, Orc4 и Xmas-2 показало частичную колокализацию этих факторов как внутри ядра, так и на периферии. Похожие результаты были продемонстрированы и для других факторов экспорта мРНК из ядра в цитоплазму, в частности, для рецептора ядерной поры – Nxf1.

Мы провели эксперименты по иммунопреципитации РНК (RIP) из ядерного экстракта клеток дрозофилы в присутствии ингибиторов РНКаз. В экспериментах с антителами к субъединицам ORC: Orc3, Orc4, Orc5, был выявлен высокий уровень связывания РНК, и, таким образом, было доказано взаимодействие ORC с мРНК.

Мы провели нокдаун Orc5, поскольку эта субъединица необходима для правильной сборки ORC. Уровень экспрессии этого белка в клетках падал в три раза, что приводило к 60% уменьшению связывания белка мРНК гена *ras2* по экспериментам в RIP. В то же время, ассоциация белков Orc3 и Orc4 с мРНК гена *ras2* уменьшалась в два раза.

Также мы проверили роль TREX-2 комплекса во взаимодействии ORC с мРНК, используя нокдаун белка Xmas-2, центрального компонента TREX-2 комплекса. Нокдаун этого компонента не приводил к изменению количества белков ORC комплекса в клетках, но приводил к значительному уменьшению взаимодействия с мРНК белка Orc3, и менее значительному уменьшению взаимодействия с мРНК белков Orc4, Orc5. Эти результаты показали, что TREX-2 частично вовлечен во взаимодействие ORC с мРНК.

Поскольку мы доказали, что ORC взаимодействует с TREX-2, вероятно, что он также ассоциирован с другими компонентами экспортной машины мРНК. Мы нашли, что белок Orc3 коиммунопреципитируется антителами к рецептору ядерной поры – Nxf1 в ядерном эмбриональном экстракте дрозофилы. В экспериментах с оверэкспрессией белков Nxf1 и Orc3 с эпитопами FLAG и HA в системе клеток дрозофилы, мы показали, что Nxf1 взаимодействует с белком Orc3, но не с белком Orc5. Мы исследовали влияние нокдауна компонентов ORC на взаимодействие Nxf1 с мРНК комплексом. RIP эксперименты показали, что при нокдауне Orc5 взаимодействие Nxf1 с мРНК *ras2* гена значительно уменьшается (падает на 60%).

Кроме того, мы показали, что нокдаун ORC субъединиц нарушает экспорт мРНК из ядра в цитоплазму. Были проведены нокдауны Orc3 и Orc5, количество клеток с нарушениями было подсчитано относительно общего количества клеток, и сравнивалось с контролем (нокдаун Xmas-2). Доля пораженных клеток в положительном контроле доходила до 80%, но также оказалась высокой (около 60%), после нокдауна Orc3 или Orc5.

Таким образом, мы показали, что у дрозофилы, ORC взаимодействует с машиной экспорта мРНК из ядра в цитоплазму, и способствует сборке мРНК комплекса.

Значительная часть ORC напрямую связывает TREX-2 комплекс общего экспорта мРНК и это взаимодействие необходимо для привлечения ORC к мРНК. Белок Orc3 напрямую взаимодействует с рецептором ядерной поры – Nxf1, и истощение ORC нарушает ассоциацию с NXF1 с мРНК, тем самым препятствуя экспорту мРНК.

ВЗАИМОРАСПОЛОЖЕНИЕ ХРОСОМ X И 4 В ПРОСТРАНСТВЕ ЯДЕР ТРОФОЦИТОВ *DROSOPHILA SIMULANS* НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПОЛИТЕНИЗАЦИИ

Коханенко А.А., Стегний В.Н.

Томский государственный университет, г. Томск
alinakokhanenko@gmail.com

Трофоциты яичников двукрылых насекомых являются хорошей моделью для изучения пространственной организации политенных ядер.

Ранее нами было показано, что в ядрах трофоцитов мухи *Calliphora erythrocephala*, для которых характерны морфологические изменения ядра в ходе политенизации происходят крупномасштабные перемещения хромосомы 6. На начальных этапах политенизации половая хромосома 6 расположена в центре ядра. На завершающем этапе развития основная часть материала хромосомы 6 перемещается к ядерной оболочке, в то время как мелкие глыбки хроматина распределены во внутриядерном пространстве и связаны с ядрышками (Kokhanenko et al., 2013; 2014).

Как известно в центральной части ядра могут располагаться активно экспрессирующиеся (Mayer et al., 2005), так и самые маленькие хромосомы набора (Bolzer A. et al., 2005). Хромосома 6 *C. erythrocephala* является самой маленькой хромосомой набора (Boyes J.W. et al, 1975), что может быть причиной ее центрального положения в ядре на начальных этапах политенизации. Нас заинтересовал вопрос характерно ли подобное явление только для ядер трофоцитов *C. erythrocephala* или свойственно для ядер трофоцитов с мероистическим типом оогенеза или политенным ядрам вообще? Поэтому нами был проведен анализ пространственной организации хромосом в ядрах трофоцитов представителя подгруппы *melanogaster* – *D. simulans*.

В данной работе нами был проведен анализ взаимного расположения ядрышкообразующей X-хромосомы и самой маленькой хромосомой набора – хромосомы 4 на разных стадиях политенизации ядер трофоцитов *Drosophila simulans* (подгруппа *melanogaster*). Пространственное расположение ДНК-проб хромосом, полученных методом микродиссекции (Артемов и др., 2011), было определено с помощью 3D-FISH с ядрами трофоцитов *D. simulans* на разных стадиях политенизации.

Анализ результатов показал, что X-хромосома и хромосома 4 *D. simulans* расположены на периферии ядра на всех стадиях политенизации, что отличает их от хромосомы 6 *C. erythrocephala*. В ходе политенизации X-хромосома рассредотачивается и занимает более обширную область в пространстве ядра, в то время как хромосома 4 располагается компактно на периферии ядра. Кроме того нами обнаружена динамика взаиморасположения X-хромосомы и хромосомы 4 друг относительно друга. Нами был проведен детальный анализ взаимного расположения X-хромосомы и хромосомы 4 в ядрах трофоцитов *D. simulans* на разных стадиях политенизации. В качестве критерия уровня политениции нами использовался средний диаметр ядра, значение которого увеличивается в ходе политенизации. Нами было проанализировано 70 ядер с диаметрами от 9 до 40 мкм. В исследуемых ядрах были измерены углы между векторами исходящими от центра ядра до центра X-хромосомы и хромосомы 4.

Проведенный анализ показал, что на самых ранних (9 мкм) и самых поздних стадиях (40,1 мкм) политенизации *D. simulans* преобладают ядра с удаленным взаиморасположением X-хромосомы и хромосомы 4. В то время как на промежуточных стадиях политенизации (15,20 мкм; 21,41 мкм; 27,61 мкм; 33,81 мкм) выявлено чередование групп ядер с преобладанием сближенного и удаленного взаиморасположения X-хромосомы и хромосомы 4.

Работа выполнена при финансовой поддержке стипендии Президента РФ СП-1037.2013.4 и частичной финансовой поддержке гранта РФФИ -14-04-32078-мол_а и Программы научного фонда имени Д.И. Менделеева ТГУ.

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ЛОКУСОВ ФОРМИРОВАНИЯ ЯДЕРНЫХ ДОМЕНОВ

Красикова А.В.¹, Куликова Т.В.¹, Косякова Н.², Лир Т.², Злотина А.М.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

²Институт генетики человека, Университет Йены, г. Йена, Германия

alla.krasikova@gmail.com

Ядерные домены можно подразделить на две основные группы: те, которые собираются свободно в нуклеоплазме и те, которые образуются в определенных участках хромосом, в результате их активности. Здесь мы использовали две стратегии для анализа локусов формирования ядерных доменов на гигантских хромосомах типа ламповых щёток, характерных для ядер растущих ооцитов птиц и амфибий. Первый подход основан на последовательном картировании ВАС-клонов, содержащих фрагменты геномной ДНК с известной позицией на хромосомах, недалеко от места образования ядерных доменов. Второй подход основан на механической микродиссекции районов хромосом, прилежащих

к определенной ядерной структуре. ДНК из диссектированного материала амплифицировали с помощью ПЦР с вырожденными праймерами и подвергли картированию с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и высокопроизводительного секвенированию (NGS). FISH-картирование подтвердило эффективное получение локус-специфичных зондов, маркирующих участки формирования ядерных структур на изолированных хромосомах. Секвенированные фрагменты были выровнены против референсного генома с тем, чтобы точно определить локусы, ответственные за формирование ядерных доменов. Кроме того, мы адаптировали подход к диссекции и амплификации последовательностей из РНК-компонента ядерных структур, ассоциированных с хромосомами типа ламповых щёток. В докладе будут представлены результаты применения двух взаимодополняющих стратегий к ядерным доменам ооцитов птиц, ассоциированных с хромосомами типа ламповых щёток.

Авторы выражают благодарность за техническую поддержку ресурсным центрам "Хромас" и "Развитие молекулярных и клеточных технологий» (Санкт-Петербургский государственный университет).

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ БЕЛКА SU(HW) В ГЕНОМЕ ДРОЗОФИЛЫ

Краснов А.Н., Мазина М.Ю., Николенко Ю.В., Воробьева Н.Е.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии гена Российской академии наук

Ранее мы показали, что инсуляторный белок Su(Hw) рекрутирует гистон ацетилтрансферазный комплекс SAGA и ремоделер хроматина SWI/SNF на Su(Hw)-зависимые инсуляторы, что приводит к формированию области с низкой плотностью нуклеосом и формированию условий для посадки репликационного комплекса ORC. Нокдаун Su(Hw) приводит к драматическому западению комплексов SAGA, Brahma, ORC и значительному увеличению нуклеосомной плотности на Su(Hw)-зависимых инсуляторах. Данный результат был подтвержден для 12 сайтов связывания Su(Hw), что позволяет сделать предположение, что Su(Hw) это первый известный белок, отвечающий за позиционирование части репликационных ориджинов дрозофилы. Для подтверждения данного вывода требуется провести полногеномный анализ всех сайтов связывания белка Su(Hw).

Для этого, в данном проекте был использован метод хроматин иммунопреципитации и последующее полногеномное секвенирование (ChIP-Seq). Были определены сайты связывания SAGA, SWI/SNF и ORC комплексов в геноме дрозофилы, как в норме, так и при мутации белка Su(Hw). Была использована мутация *v/e8*, в результате которой

продуцируется мутантный белок Su(Hw), не способный связываться с ДНК. Были проанализированы все сайты белка Su(Hw) в геноме дрозофилы и показано, что действительно, Su(Hw) рекрутирует SAGA и SWI/SNF комплексы, что приводит к формированию области с низкой плотностью нуклеосом и формированию условий для посадки репликационного комплекса ORC. Данный механизм универсален для всех сайтов связывания белка Su(Hw), независимо от типа окружающего хроматина, то есть глобальное состояние хроматина не оказывает влияния на механизм позиционирования ORC, скорее, именно ДНК-связывающие белки являются ключевыми детерминантами, формирующими подходящую структуру хроматина для посадки ORC комплекса.

Мы предполагаем, что ключевыми участниками позиционирования ORC комплекса в геноме дрозофилы являются ДНК-связывающие белки, ответственные за функционирование различных регуляторных элементов генома, включая инсуляторы, промоторы и энхансеры. Su(Hw) это первый пример такого белка.

CHROMOSOMAL EVOLUTION OF AMNIOTES: COMPARING MAMMALS WITH BIRDS

Larkin D.M.

Royal Veterinary College, University of London, London, UK
dlarkin@rvc.ac.uk

Одной из важных проблем современной геномики животных является вопрос о вкладе хромосомных перестроек в видоспецифическую биологию. Наши исследования показали, что хромосомные участки, подверженные разрывам в ходе эволюции приматов, насыщены генами, отвечающими за реакцию организма на внешние стимулы, тогда как эволюционно-стабильные участки хромосом насыщены генам «домашнего хозяйства». Дальнейшие исследования нашей и других групп подтвердили, что районы эволюционных хромосомных разрывов у млекопитающих преимущественно содержат гены, ответственные за адаптацию к условиям обитания, либо формирование органов способствующих этой адаптации. Например, эволюционные разрывы, приведшие к формированию кариотипа современной домашней свиньи насыщены генами, отвечающими за восприятие вкусов, а коровы – за иммунную защиту организма от микробов, обитающих в кишечнике. В первом случае можно предположить связь между различиями диет свиней и людей и привлекательностью первых для domestikации примерно 10 тысяч лет назад, а во втором – необходимостью лучшей, чем у других млекопитающих защиты организма от большого числа микроорганизмов, обитающих в рубце. Таким образом, для млекопитающих показана связь между хромосомным перестройками и эволюционными адаптационными изменениями.

После декодирования геномов 45 видов птиц стало возможным сравнить роль хромосомных перестроек в эволюции млекопитающих и рептилий. Кариотип птиц и большинства рептилий характеризуется эволюционной стабильностью благодаря малому числу (по сравнению с млекопитающими) межхромосомных перестроек.

В этом докладе я проведу сравнение причин формирования и роли хромосомных перестроек и районов хромосомных разрывов у двух классов животных: рептилий (включая птиц) и млекопитающих.

БОЛЕЗНИ АРХИТЕКТУРЫ ГЕНОМА: ОТ ПРЕДСКАЗАНИЯ К ИНТЕРПРЕТАЦИИ КЛИНИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА

Лебедев И.Н.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики»,
г. Томск, igor.lebedev@medgenetics.ru

Расшифровка генома человека и прогресс в познании особенностей его структурно-функциональной организации создали предпосылки для дополнения традиционной генетической классификации наследственных болезней человека на хромосомные, моногенные и многофакторные еще одной категорией генетически детерминированных заболеваний – геномных болезней (genomic disorders, disorders of genomic architecture), имеющих определенную специфику типов мутаций, особенностей их клинического проявления, механизмов возникновения и наследования в ряду поколений и в ходе онтогенеза, часто отклоняющихся от законов менделевской генетики. К категории таких болезней относят заболевания, обусловленные изменчивостью числа копий крупных блоков ДНК (Copy Number Variations, CNV). В первую очередь, это хромосомные микроделеционные и микродупликационные синдромы, связанные с сегментными дупликациями генома. Анализ молекулярно-генетических механизмов их возникновения привел к открытию феномена реципрокности мутаций, проявляющегося рекуррентным формированием гаплонедостаточности или гаплоизбыточности по определенному хромосомному региону через неаллельную гомологичную рекомбинацию (NAHR). Это открытие, а также внедрение в клиническую практику молекулярно-цитогенетических методов анализа высокого разрешения предопределило существенный прогресс в идентификации новых микроделеционных и микродупликационных синдромов, наблюдаемый в последние несколько лет.

В проводимом нами молекулярно-цитогенетическом исследовании пациентов с недифференцированными формами умственной отсталости и задержкой развития с помощью сравнительной геномной гибридизации на ДНК-микрочипах (array-СПР) показано, что частота клинически значимых реципрокных CNV, ассоциированных с

сегментными дупликациями генома, достигает 10%. Впервые описаны пациенты с новыми реципрокными микроделециями и микродупликациями, затрагивающими хромосомные регионы (в частности, 3p26.3, 4q21.21-q21.22) и гены, существенные для развития центральной нервной системы. Для анализа фенотипических эффектов некоторых мутаций на молекулярном и клеточном уровне получены линии пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Последующая их дифференцировка в специализированные типы клеток позволит преодолеть одно из ключевых ограничений стандартной цитогенетики человека, основанной на анализе лимфоцитов периферической крови, в интерпретации патогенетических механизмов реализации хромосомного дисбаланса.

Систематизация клинических эффектов реципрокных мутаций позволила впервые показать, что за полярными изменениями в уровне экспрессии дозо-зависимых генов могут стоять и полярные клинические фенотипы, что усиливает доказательство патогенетической значимости впервые выявляемых микроструктурных хромосомных aberrаций у пациентов с картиной хромосомного заболевания. Вместе с тем, клиническая картина при синдромах реципрокных микроделций и микродупликаций может быть также представлена идентичными, уникальными и перекрывающимися признаками, что объясняется генным составом затрагиваемых хромосомных регионов и взаимодействием генов.

Очевидно, что складывающаяся интеграция геномных и клеточных технологий, а также клинических наблюдений, создают уникальные предпосылки для эффективной диагностики хромосомных болезней и их профилактики, в том числе через методы пренатальной и преимплантационной генетической диагностики.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 14-15-00772.

ПРОВЕРКА ГИПОТЕЗЫ О РОЛИ ПОЛИТЕНИИ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У РАСТЕНИЙ

Левитес Е.В.¹, Кирикович С.С.¹, Виниченко Н.А.¹, Карташов М.Ю.², Чаусов Е.В.², Терновой В.А.²

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; ²Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирск, Россия; levites@bionet.nsc.ru

Выявление полиморфизма в полученных без участия пыльцевого родителя агамоспермных потомствах, которые по существующим представлениям можно было бы рассматривать как результат семенного клонирования (Левитес и др., 1998), указывает на существование специфических механизмов изменчивости. Для объяснения этой изменчивости была предложена гипотеза, опирающаяся на такие известные факты, как политения хромосом в клетках зародышевого мешка (Tschermak-Woess, 1957, Nasitschka-

Jenschke, 1959; Nagl, 1981) и высокое содержание ДНК в зиготах, снижающееся в ходе первых делений эмбриогенеза до уровня, характерного для соматических тканей (Морозова, 2002). Гипотеза состоит в следующем: 1) в способной к эмбриогенезу клетке существует дифференциальная политения, заключающаяся в различной степени политензации отдельных участков хромосом и приводящая к тому, что каждый из аллелей исследуемого локуса может присутствовать в клетке в увеличенной дозе; 2) перед вступлением в эмбриогенез клетка освобождается от избытка хроматина, и в клетке остается в каждой хромосоме по одной копии аллельного гена; 3) освобождение от избыточных копий аллелей происходит случайным равновероятным образом благодаря перекресту, происходящему между хроматидами, принадлежащими разным хромосомам данной пары гомологов (Levites, 2005, 2007; Levites, Kirikovich, 2012).

Для проверки данной гипотезы исследования проводились на пыльцестерильных растениях сахарной свеклы. Агамоспермная природа получаемого потомства подтверждалась отсутствием переопыления между растущими рядом пыльцестерильными и полустерильными растениями сахарной свеклы и неслучайным характером распределения фенотипов семян на ветках растений (Левитес, Кирикович, 2008; Кирикович, Левитес 2013). В пользу предложенной гипотезы указывает дефицит гетероаллельного (гетерозиготного) класса в потомстве, полученном путем мейотической агамоспермии от обработанного колхицином растения сахарной свеклы (Levites, Kirikovich, 2012). Данный дефицит объяснялся тем, что возникающие при данном типе агамоспермии диплоидные яйцеклетки и имеющие политению в участках хромосом, несущих маркерные локусы, при переходе к эмбриогенезу освобождались от избытка копий аллельных генов.

На возможное влияние политении на генетические процессы указывают предварительные данные, полученные с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени (Карташов и др., 2015). С помощью этого метода в нераскрывшихся цветочных бутонах были выявлены различия в уровне копийности генов *Adh1* и *Mel1*, контролирующих маркерные ферментные локусы, и уровнем копийности гена *FT2*, который по имеющейся в международных базах данных информации является у сахарной свеклы уникальным и представлен в геноме в единичной дозе. Характерно, что в верхушках побегов, где только лишь закладываются цветочные бутоны, эти различия не выявлены. Эти данные показывают, что дозовые эффекты, в основе которых могут лежать процессы политензации, играют существенную роль в дифференцировке. В то же время проявление этих эффектов в тканях репродуктивных органов свидетельствует в пользу предложенной гипотезы о роли политении в генетических процессах.

ГЕН СФИНГОМИЕЛИНСИНТАЗЫ 1 ЧЕЛОВЕКА (*SGMS1*): ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И ЭКСПРЕССИИ

Лимборская С.А., Филиппенков И.Б., Рожкова А.В., Сударкина О.Ю., Дергунова Л.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182, Москва, Россия.
E. mail: limbor@img.ras.ru

Ген сфингомиелинсинтазы 1 (*SGMS1*) человека кодирует жизненно важный фермент, который обуславливает синтез сфингомиелина и диацилглицерина из фосфатидилхолина и церамида, что определяет его участие в метаболизме холестерина, регуляции внутриклеточного везикулярного транспорта, пролиферации клеток, апоптозе и других значимых процессах. Наши исследования показали, что ген *SGMS1* расположен на 10 хромосоме, имеет размер 320 т.п.н. и содержит не менее 24 экзонов. Детальное исследование структуры гена *SGMS1* позволило нам выявить множество его транскриптов. Были обнаружены изоформы мРНК, отличающиеся участком 5' нетранслируемой области (5'-НТО) и кодирующие полноразмерный белок, а также транскрипты, возникающие в результате альтернативной комбинации экзонов, затрагивающих кодирующую область гена и 3'-НТО. В числе продуктов гена *SGMS1* нами обнаружены новые транскрипты – циклические РНК, которые содержат последовательности мультиэкзонной 5'-НТО гена. Некоторые из них включают кодирующую область гена и фрагменты интронов. Анализ содержания циклических РНК в разных тканях человека показал, что наиболее длинные транскрипты выявляются преимущественно в отделах мозга. Компьютерный анализ последовательностей циклических РНК у человека свидетельствует о высоком потенциале к связыванию микроРНК, в том числе микроРНК, образующих комплексы с Ago белками и мРНК гена *SGMS1*. Мы предполагаем, что обнаруженные нами циклические РНК принимают участие в регуляции функционирования гена сфингомиелинсинтазы 1 в различных тканях.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ ЦЕНТРОМЕРНОГО ВАРИАНТА ГИСТОНА H3 (CENH3) У ТРИТИКАЛЕ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И УРОВНЯ ПЛОИДНОСТИ

Литихина Ю.А., Гацкая С.С.
Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

Центромера – специализированный район хромосомы, ответственный за сборку кинетохора и правильное расхождение хромосом в процессе деления клетки. Идентичность центромер определяется присутствием центромерной модификации гистона H3 в нуклеосомах центромерного хроматина. Первичная структура CENH3 состоит из N-терминального (NTD) и C-терминального (HFD) доменов. Отсутствие NTD в молекулах

белка приводит к нарушению встройки CENH3 в центромеры мейотических хромосом и потере центромерной функции (Lermontova, 2011). Петля 1 и α 2-спираль HFD необходимы для связывания CENH3 с центромерной ДНК (Henikoff, 2001) и образования кинетохорного комплекса. У межвидовых гибридов ячменя различия в молекулярной структуре CENH3 могут приводить к элиминации хромосом и разрушению гибридных комбинаций (Sanei, 2011).

Тритикале - гибриды пшеницы и ржи (\times *Triticosecale* Wittm.), получаемые в результате отдаленной гибридизации и экспериментальной аллополиплоидии. Для отдаленных гибридов характерна цитологическая нестабильность и изменение уровня плоидности в процессе их деплоидизации, а также изменение уровня экспрессии родительских генов. В настоящее время получены тритикале с различным числом и комбинациями родительских геномов. В связи с этим большой научный интерес представляет исследование экспрессии гена CENH3 у тритикале. Цель настоящей работы заключается в сравнении экспрессии гена CENH3 у тритикале различного происхождения и уровня плоидности между собой и с родительскими формами. Объектом исследования являются пшенично-ржаные амфиплоиды (AABBDDRR, $2n=8x=56$), исходные формы, участвовавшие в их создании - изогенная линия пшеницы Triple Dirk D ($2n=6x=42$), сорт ржи "Короткостебельная 69" ($2n=2x=14$); а также сорта гексаплоидных *Triticale* "Михась" и "Дубрава" (AABBRR, $2n=6x=42$). Цитологический анализ 18 растений пшенично-ржаных амфиплоидов показал, что все растения являлись анеуплоидами с числом хромосом от 52 до 57. Для анализа экспрессии гена CENH3 в гибридах были выбраны 52,53,54,55,57-хромосомные растения. Растения гексаплоидных тритикале "Михась" и "Дубрава", отобранные для анализа, были стабильными ($2n=6x=42$).

Используя праймеры для амплификации NTD CENH3 *S. cereale*, синтезированные в нашей лаборатории, и праймеры для амплификации HFD CENH3 (Nagaki, 2005), получили ПЦР-продукты, которые были клонированы и секвенированы. Анализ полученных кодирующих последовательностей N-терминального домена CENH3 показал, что родительские формы и ржи и пшеницы имеют делеции двух типов и замены нуклеотидов в шести позициях. Рожь имеет специфические замены в следующих позициях: 1) замена в 33-й позиции ORF (9,1% всех клонов), 2) в 73 позиции ORF (9,1%), 3) в 126 (27,3%), 4) в 144 (45,4%), 5) в 145 (9,1%). У пшеницы обнаружена только одна специфическая замена в 45 позиции в одном клоне. В кодирующих последовательностях C-терминального домена CENH3 родителей делеции или вставки не обнаруживаются, специфические нуклеотидные замены выявляются как у пшеницы, так и у ржи. Анализ полученных кодирующих последовательностей NTD CENH3 пшенично-ржаных амфиплоидов показал наличие

характерных для родительских форм делеций, специфические для ржи замены обнаруживались в 33 позиции ORF у 8,3% клонов, в 73 (8,3%), в 126 (16,7%), в 144 (45,8%), в 145 (8,3%). Полученные результаты указывают на то, что специфические формы CENH3 ржи экспрессируются наряду с пшеничными формами в гибридных геномах пшенично-ржаных амфиплоидов.

КИНЕТОХОРНЫЕ ПУЧКИ МИКРОТРУБОЧЕК РАСПРЕДЕЛЯЮТ ХРОМОСОМЫ В МЕЙОЦИТАХ В ОТСУТСТВИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО ВЕРЕТЕНА

Loginova D.B., Silkova O.G.

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

loginova@bionet.nsc.ru

Формирование биполярного веретена необходимо для правильного расхождения хромосом в дочерние клетки в митозе, а также при формировании гамет. «Самоорганизация веретена» в растительных клетках является альтернативой centrosомного типа сборки в клетках животных. Ключевую роль в формировании веретена играют хромосомы, кинетохоры, микротрубочки и, возможно, градиент белка RanGTP.

В работе изучено поведение хромосом в мейозе пшенично-ржаных гибридов с полигаплоидным геномом (ABDR, $4x=28$) с использованием центромеро-специфичной пробы pAet6-09, антител к anti-phH3Ser10, anti-CENH3 и anti- α -tubulin. Получены результаты по структуре и функции центромерных районов хромосом, включая ДНК, кинетохоры и их взаимодействие с микротрубочками веретена, а также по модификации хроматина. С помощью иммуноокрашивания с антителами к CENH3 и флуоресцентной *in situ* гибридизации мы показали поведение центромерного района хромосом и ориентацию кинетохор.

Показано участие хромосом и кинетохорных районов в инициации формирования веретена. У гибридов 2R(2D)xR нуклеация микротрубочек начиналась возле хромосом в прометафазе, пучки микротрубочек формировались от кинетохор монополярно ориентированных хромосом, которые конвергировались, образуя полюса, в результате происходило расхождение хромосом. В данных мейоцитах микротрубочки центрального веретена частично или полностью отсутствовали. Однако в телофазе I наблюдалось формирование фрагмопласта. Детекция сигнала anti-phH3Ser10 по всей длине хромосомы в анафазе свидетельствовала о наличии когезина, а двойной сигнал anti-CENH3 на полюсах соответствовал сестринским кинетохорам. В мейоцитах гибридов 1R(1A)xR, 6R(6A)xR, 5R(5D)xR обнаружено монополярное веретено, в начале формирования которого кинетохоры также инициировали нуклеацию и формирование пучков микротрубочек, ориентированных хаотически. Впоследствии происходила конвергенция кинетохорных

пучков, и хромосомы с монополярно ориентированными кинетохорами распределялись на веретене. Таким образом, кинетохоры инициируют нуклеацию микротрубочек и могут направлять формирование биполярного или монополярного веретена за счет *de novo* сборки микротрубочек. Кинетохоры стабилизируют «плюс» концы, тогда как полюса образуются при объединении «минус» концов кинетохорных микротрубочек. Также мы предположили, что разделение клеток в первом делении мейоза гибридов 2R(2D)xR может происходить в результате *de novo* сборки микротрубочек, образующих фрагмопласт.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00679 «Изучение механизмов mitotic-like деления в мейозе у пшенично-ржаных амфигаплоидов ABDR (2n=28)»

ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОТИПА ПОСРЕДСТВОМ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И МЕЙОТИЧЕСКОЙ СЕГРЕГАЦИИ ХРОМОСОМ

Лухтанов В.А.^{1,2}

¹Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

lukhtanov@mail.ru

Новые кариотипы возникают чаще всего в результате хромосомных мутаций и последующей фиксации возникающих хромосомных перестроек в гомозиготном состоянии. Другой механизм эволюции кариотипов - это дупликации отдельных хромосом и целых хромосомных наборов. Однако есть и третий путь, в основе которого лежит мейотическая сегрегация хромосом у межвидовых гибридов, полученных от цитогенетически дифференцированных родителей. О возможности этого механизма говорилось еще на заре цитогенетики. Однако методические трудности обнаружения диплоидных гибридных форм в домолекулярную эпоху не позволяли изучать это явление в природе, а возможные масштабы кариотипических изменений посредством этого механизма казались ограниченными. В докладе я представляю наши опубликованные (Lukhtanov et al., 2015, Homoploid hybrid speciation and genome evolution via chromosome sorting. *Proc. R. Soc. B*, <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2015.0157>) и неопубликованные данные, показывающие нормальную (или почти нормальную) сегрегацию хромосом у гибридов чешуекрылых насекомых, полученных при скрещивании родителей, различающихся, как минимум, 25 хромосомными слияниями. Повторение этого процесса в ряду поколений может приводить к появлению нового сбалансированного диплоидного кариотипа, в котором все перестройки зафиксированы в гомозиготном состоянии. В этом кариотипе каждая из хромосом получена от одного из родителей, но их комбинация, а также и число хромосом резко отличаются от таковых у предковых форм. Следствием этого процесса может быть также возникновение нового вида.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 15-04-01581, 14-04-01051, 14-04-00139, 14-04-00770) и Российского научного фонда (проект 14-14-00541).

РАННЕ-ПОЗДНИЕ ГЕНЫ ЭКДИЗОНОВОГО КАСКАДА КАК МОДЕЛИ ДЛЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Мазина М.Ю.¹, Недилько П.Н.¹, Фурсова Н.А.¹, Николенко Ю.В.¹, Краснов А.Н.¹,
Воробьева Н.Е.¹*

¹Отдел регуляции транскрипции и динамики хроматина, ФГБУН Институт биологии гена РАН, г. Москва.
magadovam@yandex.ru

В нашей работе ранне-поздние гены экдизонового каскада *DHR3* и *Hr4* описаны, как удобная модель для транскрипционных исследований. В серии экспериментов было показано, что эти гены являются многообещающими системами для исследований в физиологических условиях с использованием индукции 20-гидроксиэкдизоном. Транскрипция генов *DHR3* и *Hr4* характеризуется быстрой кинетикой активации, что позволяет изучать транскрипцию без влияния непрямых эффектов активации. Наше исследование опирается на данные об очень высокой селективности активации генов в культурах клеток дрозофилы под действием экдизона (при добавлении экдизона в клетках происходит активация только 73 генов). Экспрессия генов *DHR3* и *Hr4* зависит от концентрации экдизона и снижается в течение нескольких часов с момента отмывки экдизона из среды. Активация промоторов генов *DHR3* и *Hr4* происходит в течение первых 20 минут с момента добавления экдизона, что делает данные гены полезным инструментом для изучения ранних этапов активации транскрипции. Их транскрипция контролируется по принципу паузинга РНК-полимеразы II, что является распространенным явлением в геноме дрозофилы. Единообразная активация транскрипции генов *DHR3* и *Hr4* в популяции клеток была подтверждена на уровне РНК и белка. Поэтому транскрипционные исследования в системе генов *DHR3/Hr4* не зависят от изменения соотношения активированных клеток.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРА CHD1 НА ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ В ХОДЕ РАЗВИТИЯ

Макасе А.А., Конев А.Ю.

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, г. Гатчина
anna.makase@gmail.com

Для осуществления процессов метаболизма ДНК в эукариотической клетке (репликации, транскрипции, репарации, рекомбинации) необходимы преобразования хроматина. Консервативный хроматин-ремоделирующий белок CHD1 был охарактеризован как ключевой фактор в независимой от репликации сборке хроматина, происходящей в

мужском пронуклеусе дрозофилы. В политенных хромосомах CHD1 ко-локализуется с элонгирующей формой РНК полимеразы II. Для мобилизации нуклеосом и сборки хроматина CHD1 использует энергию АТФ. Инактивация АТФ-азного домена превращает его в доминант-негативную форму не способную осуществлять этот процесс. Исследование политенных хромосом показало, что как экспрессия доминант негативной формы белка CHD1, так и гиперэкспрессия белка дикого типа в слюнных железах начиная с эмбриональной стадии развития приводит к сильной декомпактизации определенных участков хромосом. Иммуноокрашивание антителами на белок CHD1 и элонгирующую форму РНК полимеразы II выявляет яркое окрашивание во всех сайтах с измененной структурой, свидетельствуя о том, что деконденсация этих районов хромосом ассоциирована с процессом активной транскрипции.

Проведено картирование участков политенных хромосом деконденсированных при экспрессии доминант – негативной формы белка CHD1 у личинок на 4х пуховых стадиях в ходе развития в сопоставлении с изменениями профиля пуфирования у особей дикого типа. Большинство регулируемых в онтогенезе пуфов у особей с гиперэкспрессией доминант – негативной формы CHD1` развиты сильнее и не регрессируют в соответствующий период развития. В результате, в одной хромосоме оказываются развитыми пуфы, характерные для различных сменяющих друг друга пуховых стадий. Наблюдается и возникновение дополнительных пуфов, не присутствующих у особей дикого типа. В то же время, выявляются и участки хромосом, в которых CHD1 находится в междисках как у особей дикого типа, но структура хроматина не изменена. Сравнение полученных результатов с данными А. Луссер, выявившей гены, экспрессия которых изменена у нуль-мутантных по гену *Chd1* личинок, позволило определить ряд генов, являющихся наиболее вероятными кандидатами для исследований роли CHD1 в регуляции тонкой структуры хроматина и экспрессии генов.

Нарушение нормального функционирования CHD1 в результате гиперэкспрессии его доминант – негативной формы способствует увеличению пуфирования политенных хромосом и препятствует восстановлению нормальной структуры хроматина, а также прекращению транскрипции тех генов, которые, вероятно, являются мишенями регуляции фактора CHD1.

СЕКВЕНИРОВАНИЕ БИБЛИОТЕК СОРТИРОВАННЫХ В ХРОМОСОМ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ИХ ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ЭВОЛЮЦИИ

SEQUENCING OF DNA LIBRARIES FROM SORTED B CHROMOSOME FOR RESEARCH OF THEIR ORIGIN AND EVOLUTION

Макунин А.И.^{1,2}, Кичигин И.Г.^{1,3}, Ларкин Д.М.⁴, О`Брайен П.С.М.⁵, Фергюсон-Смит М.А.⁵,
Янг Ф.⁶, Проскуракова А.А.¹, Воробьева Н.В.¹, Черняева Е.Н.², О`Брайен С.Дж.²,
Графодатский А.С.^{1,3}, Трифонов В.А.^{1,3}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Центр геномной биоинформатики им. Добржанского, СПбГУ, г. Санкт-Петербург

³Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

⁴Королевский ветеринарный колледж, г. Лондон, Великобритания

⁵Группа сравнительной геномики, Кембриджский университет, г. Кембридж,
Великобритания

⁶Сэнгеровский институт, г. Хинкстон, Великобритания

E-mail: alex@mcb.nsc.ru

В хромосомы — добавочные вариабельные элементы кариотипа, распространенные среди эукариот. Поскольку их число варьирует между индивидами и даже отдельными клетками, а их наличие зачастую не связано с фенотипическими проявлениями, предполагалось, что они нефункциональны. До недавнего времени на В хромосомах обнаруживались лишь повторенные последовательности, и лишь недавно было показано, что на добавочных хромосомах различных видов (от высших растений до млекопитающих) содержатся протяженные регионы, содержащие уникальные гены.

В настоящей работе мы секвенировали библиотеки сортированных хромосом нескольких видов млекопитающих. Последующий анализ позволил подробно охарактеризовать дублицированные геномные районы, представленные на В хромосомах. Оказалось, что у сибирской косули таких районов всего два (общий размер — около 2 млн пн), а у серого мазама — целых 26 (9 млн пн). Было показано наличие совпадающих районов на В хромосомах лисицы и енотовидой собаки, что позволяет предположить общность их происхождения. Интересно, что псевдогенизированные протоонкогены *KIT* и *RET* были обнаружены на добавочных хромосомах как хищных, так и парнокопытного (серого мазама). Анализ замен нуклеотидов и основных классов повторов показал, что добавочные хромосомы косули в большей степени вырождены по сравнению с В-хромосомами мазама.

Интересно, что В хромосомы встречаются лишь у сибирской, но не европейской косули (время дивергенции — сотни тысяч лет), в то время как среди видов рода *Mazama* добавочные элементы распространены у самых разных представителей (время дивергенции — 5 млн лет). В случае, если будет показана гомология между В хромосомами различных видов рода *Mazama*, можно будет говорить о различиях в эволюционных путях добавочных

хромосом — у косули они претерпевают деградацию за короткое время, в то время как у мазама сохраняются в состоянии, близком к аутосомам.

Работа поддержана грантом МКБ № 6-13.

**РЕОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНА НА РАННИХ ЭТАПАХ
РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ
СЕТЧАТКИ У ТРИТОНА *PLEURODELES WALTL***

Маркитантова Ю.В., Поплинская В.А., Григорян Э.Н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

yuliya.mark@gmail.com

Регенерация сетчатки у взрослых тритонов является уникальным примером тканевой регенерации *in vivo*. Формирование всех типов нейронов и глии регенерата сетчатки, после ее удаления у этих животных, происходит в результате репрограммирования клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ) (Chiba, Mithashov, 2007). Этот процесс, происходящий на фоне пролиферации РПЭ, находится под контролем перекрывающихся регуляторных генных сетей, где особое место занимают сигнальные белки и транскрипционные факторы. Репрограммирование генома клеток РПЭ сопровождается изменением трехмерной организации хромосомных локусов (молекулярными перестройками хроматина), что, в свою очередь, играет существенную роль в регуляции активности генов. Механизмы перестроек хроматина при репрограммировании РПЭ тритона и их роль в активации в этих клетках транскрипционной программы нейральной дифференцировки не изучены. Впервые на модели репрограммирования РПЭ у взрослого тритона *Pleurodeles waltl* при разных типах повреждения, приводящих к разобщению контактов между сетчаткой и РПЭ (облучение ярким светом, механическая отслойка сетчатки от РПЭ, полное удаление сетчатки), предпринята попытка охарактеризовать состояние хроматина. Анализировали полутонкие и ультратонкие срезы задней стенки глаза. Для выявления топологического состояния хроматина в РПЭ использовали толуидиновый синий и флуоресцентный краситель DAPI, материал анализировали при высоких разрешениях микроскопа. В клетках нативного РПЭ наблюдали диффузное распределение локусов компактизации, преимущественно прикрепленных к ядерной мембране. При окрашивании DAPI также выявлено гетерогенное распределение содержащего ДНК материала. При обоих способах окрашивания он был представлен 10-20 сайтами различного размера, в которых можно различить дискретные глобулы и фибриллярные элементы. При разобщении с фоторецепторами сетчатки клетки РПЭ вымещаются из клеточного слоя и входят в фазу репрограммирования. Это сопровождается значительным увеличением объема компактизованного хроматина

(предположительно прицентромерный гетерохроматин), изменением соотношения конденсированного и диффузного хроматина, в пользу первого, центробежным смещением, а также фолдингом ядерной мембраны. При увеличении объема, снижается число компактизованных областей хроматина, который структурно обособлен и представлен крупными дискретными блоками (хромоцентрами). Очевидно, что компактизация хроматина является одним из обязательных ранних этапов репрограммирования РПЭ, происходящим в процессе формирования метафазных хромосом. Выявленные нами изменения в степени компактизации и локализации хроматина происходят до потери клетками продуктов их исходной дифференцировки, в частности меланина, и до входа клеток РПЭ в пролиферативную фазу. Далее оба процесса идут параллельно, на фоне изученных нами ранее молекулярно-генетических событий (Маркитантова и др., 2004; Авдонин и др., 2008). Особенностью данного этапа репрограммирования клеток РПЭ является сочетание экспрессии генов исходной дифференцировки и *up*-регуляция генов новой пронеуральной дифференцировки. Таким образом, репрограммирование РПЭ тритона *in vivo*, вне зависимости от характера его индукции, сопровождается сходными, впервые описанными нами изменениями в состоянии хроматина и ядерной мембраны.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00184 и Программы «Живая природа: современное состояние и проблемы развития, Подпрограмма Динамика и сохранение генофондов».

МЕХАНИЗМЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

Маркитантова Ю.В., Смирнова Ю.А., Зиновьева Р.Д.
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва
yuliya.mark@gmail.com

Дифференцировка клеток формирующегося глаза осуществляется под контролем генетических и эпигенетических механизмов, взаимодействие которых формирует уникальное состояние хроматина. Исследование молекулярных механизмов дифференцировки и самообновления мультипотентных клеток, обнаруженных в различных отделах эмбрионального и взрослого глаза млекопитающих, остается актуальным. В регуляции пролиферации и дифференцировки клеток большое значение придается ядрышку, которое считается центром эпигенетического контроля экспрессии генов (Tsai, McKay, 2002). Сбой настройки молекулярных механизмов на любом уровне регуляции приводит к аномалиям развития глаза.

В тканях глаза человека в пренатальном развитии были выявлены регуляторные гены *OCT4*, *NANOG*, *PAX6*, кодирующие транскрипционные факторы (Фирсова и др., 2008,

2009) и *GNL3*, кодирующий белок ядрышка нуклеостемин, который ранее принято было считать маркером мультипотентных клеток. Мы обнаружили экспрессию гена *GNL3* в пролиферирующих клетках, малодифференцированных нейробластах и нейронах сетчатки глаза, находящихся на разных этапах их дифференцировки в пренатальном развитии человека (Маркитантова, Зиновьева, 2012).

Экспрессия гена *NANOG*, ретрогена *OCT4-P1*, изоформы *OCT4B*, *NS/GNL3* выявлена не только в тканях эмбрионального, но и взрослого глаза человека. Методом ПЦР, мРНК одной из изоформ гена *OCT4* – *OCT4B*, обнаружена в сетчатке эмбрионального, а также в сетчатке и цилиарном теле глаза взрослого человека (неопублик.). мРНК ретрогена *OCT4-P1* и гена *NANOG* идентифицирована в сетчатке и цилиарном теле глаза эмбрионов и взрослого человека. С помощью методов иммунохимии определена ядерная локализация белков *OCT4* и *NANOG* в исследуемых тканях эмбрионального глаза. Белок нуклеостемин локализован в ядрышках и нуклеоплазме пролиферирующих клеток в эпителии экваториальной области формирующегося хрусталика глаза человека. В литературе есть сведения об участии гена *GNL3* в биогенезе рибосом, контроле клеточного цикла, обеспечении стабильности хроматина (Romanova *et al.*, 2009). Полученные нами данные о характере экспрессии нуклеостемина также свидетельствуют о его многофункциональности и участии в регуляции активности синтетического аппарата дифференцирующихся клеток глаза. Таким образом, паттерн экспрессии генов *NANOG*, *OCT4B*, *POU5F1B*, *GNL3* оказался шире, чем предполагалось. Исследуемые гены выявлены не только в пролиферирующих клетках эпителия экваториальной области хрусталика, эпителии роговицы, способном к самообновлению, нейробластах сетчатки, но также в дифференцированных клетках глаза человека.

Экспрессия генов-маркеров плюрипотентного статуса ЭСК в дифференцированных клетках глаза человека является интересным биологическим фактом. Однако, функции этих генов в соматических клетках не изучены. Обсуждается возможность участия генов *NANOG*, *OCT4B*, *POU5F1B*, *GNL3* в молекулярных механизмах, связанных с дифференцировкой и самообновлением мультипотентных клеток глаза.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00745 и Программы «Живая природа: современное состояние и проблемы развития, Подпрограмма Динамика и сохранение генофондов».

АНАЛИЗ РЕКОМБИНАЦИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ И КОНФИГУРАЦИИ ХРОМАТИНА В ПРОФАЗЕ I МЕЙОЗА У СЛЕПУШОНОК *ELLOBIUS*

Матвеевский С.Н.¹, Баклушинская И.Ю.², Коломиец О.Л.¹

¹Институт общей генетики им Н.И. Вавилова РАН, г. Москва

²Институт биологии развития им Н.К. Кольцова РАН, г. Москва
sergey8585@mail.ru

Слепушонки рода *Ellobius* представляют собой одну из самых интересных и необычных групп млекопитающих. Род *Ellobius* включает 5 видов с 3 типами половых хромосом (Bakloushinskaya, 2009). Синапсис и поведение половых хромосом в профазе I у этой группы были исследованы нами ранее (Kolomiets et al., 1991, 2010).

Настоящее исследование посвящено анализу особенностей рекомбинации и конфигурации хроматина полового (XX) бивалента самцов *E.tancrei* (ETN) и *E.talpinus* (ETP).

Для иммуноцитохимического анализа синапсиса, рекомбинации и инактивации хроматина половых (XX у самцов и у самок) хромосом использовали антитела к белку осевых элементов синаптонемного комплекса (СК) - SCP3, белку центрального элемента СК - SCP1, белку MLH1, который является маркером точек рекомбинации, центромерным белкам АСА, белкам инактивации хроматина: gamma-H2AX, SUMO-1, ubiH2A и др.

Половые хромосомы (XX) самцов *E.tancrei* (ETN) и *E.talpinus* (ETP) в пахитене выселяются на периферию ядра, синаптируют в теломерных участках и имеют обширную зону асинапсиса в центральной части бивалента.

Два фокуса MLH1 (одновременно в дистальном и прицентромерном участках синапсиса между XX хромосомами) выявлены в единичных ядрах обоих видов. В большинстве ядер единственный сигнал MLH1 выявлялся в структуре дистального фрагмента СК. Эти сигналы выявлены на расстояниях, составляющих 74% (у ETP) и 69% (у ETN) от длины дистальных участков СК (считая от теломеры).

Белки инактивации по-разному локализуются в составе полового бивалента на стадии пахитены: если gamma-H2AX окружает практически весь половой бивалент, то ubiH2A расположен только в зоне асинапсиса XX. SUMO-1 и вовсе специфически связывается только с аргирофильным ядрышкоподобным тельцем, которое, судя по интенсивному окрашиванию DAPI и иммуноокрашиванию антителами к gamma-H2AX и SUMO-1 представляет собой участок строго инактивированного гетерохроматина.

Полученные результаты позволяют предположить, что эволюция половых хромосом у самцов ETN и ETP сопровождалась утратой истинной гомологии между XX хромосомами в центральной части, несмотря на сохранение идентичности G-бэндов, и сохранением гомологии и способности к рекомбинации в теломерных участках.

Процесс инактивации хроматина XX-бивалента имеет сходный сценарий для ETP и ETN, как и паттерны рекомбинации. Изоморфные по G-бэндам половые (XX) хромосомы самцов слепушонок ведут себя профазе I мейоза стандартно, как и у всех самцов млекопитающих с гетероморфными половыми хромосомами: формируют участки синапсиса и асинапсиса, смещаются на периферию пахитенных ядер, формируют типичное половое тельце и подвергаются инактивации по классической схеме.

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 15-29-02649 и №13-04-02071.

БЕЛОК ЯДЕРНОГО МАТРИКСА EAST ВЛИЯЕТ НА ФОРМИРОВАНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Мельникова Л.С., Головнин А.К., Костюченко М.В., Георгиев П.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН), г. Москва
lsm73@mail.ru

Существует множество данных, свидетельствующих, что в организации архитектуры хроматина внутри ядра участвуют инсуляторы. Изначально инсуляторы были описаны как регуляторные элементы, нарушающие взаимодействие энхансера и промотора при локализации между ними и ограничивающие репрессивное влияние окружающего хроматина на трансген. В настоящее время инсуляторы обнаружены у ряда эукариотических видов, включая позвоночных, и рассматриваются как элементы, участвующие в глобальной регуляции генной экспрессии. У *Drosophila* наиболее изучены инсуляторы dCTCF (гомолог инсулятора позвоночных CTCF) и Su(Hw). Su(Hw)-инсулятор, включающий 12 сайтов связывания белка Su(Hw), был обнаружен в 5'- не транскрируемой области ретротранспозона МДГ4 (*gypsy*). Известно, что в работе Su(Hw)-зависимых инсуляторов участвуют 3 белка, привлекаемые на хроматин через взаимодействие с белком Su(Hw) - Mod(mdg4)-67.2, CP190 и E(y)2/Sus1.

Инактивация белка Mod(mdg4)-67.2 приводит к прямой репрессии промотора гена *yellow gypsy*-инсулятором. Мы обнаружили, что такая репрессия может регулироваться белком ядерного матрикса EAST. Мутации в гене *east* частично супрессируют энхансер-блокирующую активность *gypsy*-инсулятора. Белок EAST напрямую взаимодействует с белками Mod(mdg4)-67.2 и CP190 и влияет на образование ядерных инсуляторных телец. Уровень экспрессии белка EAST регулирует связывание с хроматином белка CP190. Частичная инактивация EAST приводит к падению уровня изоформы Mod(mdg4)-67.2 на сайтах связывания белка Su(Hw). Мы предполагаем, что белок EAST участвует в сборке транскрипционных факторов в функциональные комплексы на регуляторных областях генома *Drosophila*.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-00266-а) и Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» (грант А. К. Головнина).

ПОИСК МЕЙОЗ-СПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВ У РЖИ *SECALE CEREALE* L. И МУТАНТОВ "ПЕТЕРГОФСКОЙ" ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ

Михайлова Е.И.^{1,2}, Толкачева А.В.¹, Мальцева А.Л.², Волков К.В.², Нижников А.А.², Зыкин П.А.²

¹Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН, г. Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
Elena.Mikhailova@paloma.spbu.ru

Изучение генетического контроля и молекулярных механизмов регуляции мейоза у ржи проводится с использованием оригинальной «Петергофской» коллекции спонтанных мейотических мутантов лаборатории генетики растений СПбГУ. На основе этой коллекции создана модель для изучения предмейотической доменной организации ядра, гомологичного спаривания, компактизации и сегрегации мейотических хромосом. Проведение генетического анализа позволяет выяснить закономерности наследования, межгенных и межallelельных взаимодействий мейотических генов и их хромосомную локализацию. Порядок включения мейотических генов в процесс мейоза устанавливается на основании фенотипа двойных мутантов, а также реализации ключевых этапов мейоза у ржи.

Геном ржи велик и избыточен: только 1% его составляют кодирующие последовательности. Поскольку секвенирование генома ржи в ближайшем будущем не будет осуществлено, равно как и не возникнет возможности использовать транспозонный мутагенез и направленно получать мутации по известным генам, то единственно возможной стратегией на ржи является детальное сравнение фенотипических портретов спонтанных мутантов с фенотипами мутантов по известным генам, например дрожжей, арабидопсиса и кукурузы. Основой такого подхода являются Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости Н.И. Вавилова и методы обратной геномики и протеомики. Современные методы протеомного анализа, такие как 2D-DIGE (сравнительный двумерный электрофорез) и масс-спектрометрия, с успехом были использованы на таких объектах как арабидопсис *A. thaliana* L. (Borner et al., 2005), рис *Oryza sativa* L. (Shi et al., 2008) и пшеница *Triticum aestivum* L. (Gao et al., 2011) для выяснения влияния различных факторов на протеом. Мы провели такой анализ с целью идентификации мейоз-специфичных белков злаков, таких как рожь и кукуруза. Нами были выделены белки из (1) пыльников, находящихся на стадиях мейоза, (2) пыльников с пыльцой, а также из (3) цветковых чешуй

ржи *S. cereale* L. и кукурузы *Zea mays* L. *subsp. mays*. Протеомные профили полученных проб были сопоставлены с помощью 2D-DIGE, после чего белки, уровни продукции которых в различных пробах отличались, были идентифицированы при помощи масс-спектрометрии. Использованный экспериментальный подход позволил провести сравнительный протеомный анализ у ржи дикого типа, мей-мутантов *sy1* и *sy9* «Петергофской» коллекции, характеризующихся нарушениями в спаривании и расхождении хромосом, а также у кукурузы. Сравнительный анализ белков ржи и аминокислотных последовательностей, имеющих в доступных базах данных растений (SwissProt, NCBI) позволил впервые в мировой практике получить данные о протеомном ландшафте мейоз-специфичных белков ржи и выявить белок, специфичный для мутанта *sy1*. С хорошей поддержкой была идентифицирована характерная для мутанта модификация белка GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2, cytosolic), что позволило предположить, что выявленные нами ранее нарушения кластеризации доменов хромосом и мейотической рекомбинации у мутанта *sy1* могут быть связаны с изменениями энергетического метаболизма.

Исследования проведены при финансовой поддержке Гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (НШ-5115.2014.4) с использованием оборудования ресурсного центра Научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКА PİWİ В ЯДРЕ ДРОЗОФИЛЫ

Михалева Е.А., Столяренко А.Д., Якушев Е.Ю., Кленов М.С., Гвоздев В.А.
Институт молекулярной генетики РАН

Эволюционно консервативный ядерный белок Pİwİ дрозифилы является представителем белков семейства Argonaute, связывающих короткие РНК. Pİwİ функционирует в сайленсинге транспозонов с участием рiРНК в соматических и герминальных клетках гонад. Обнаружено, что в соматических и герминальных клетках яичника, а также в пересеваемой культуре соматических клеток яичника Pİwİ концентрируется в главном внутриядерном компартменте – ядрышке, участвующем не только в синтезе рибосомной РНК, но и в ответе клетки на разные стрессовые воздействия. Мутация *pİwİ^{NT}*, препятствующая транспорту Pİwİ в ядро и нарушающая репрессию транспозонов, приводит к 6–8 кратному увеличению экспрессии генов рРНК, оцениваемой по количеству транскриптов инсерций транспозонов в гены 28S рРНК. Обработка живых культивируемых соматических клеток яичника РНКазой удаляет Pİwİ из ядрышка. Напротив, при тепловом шоке Pİwİ концентрируется в ядрышке и покидает область

нуклеоплазмы. Эти результаты указывают на участие Piwi в модуляции активности РНК-полимеразы I и в ответе на стрессовые воздействия в ядрышке. Исследуется физическое взаимодействие Piwi с белками комплекса РНК-полимеразы I. Обсуждаются возможные неканонические функции Piwi, которые могут определяться не только его участием в сайленсинге транспозонов.

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ХРОМОСОМНЫМИ И СОМАТИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ

Натяганова А.В., Букин Ю.С., Тимошкин О.А.

Лимнологический СО РАН, г. Иркутск

avn61@mail.ru

Один из представителей фауны плоских червей - космополитная микротурбеллярия *Gyratrix hermaphroditus* Ehrenberg, 1831 ($2n=4$ - у пресноводных и $2n=6$ - у морских обитателей) демонстрирует выразительную картину параллельного изменения в морфологии хромосом и элементов копуляторного аппарата (Puccinelli and Curini-Calletti, 1987; Curini-Calletti & Puccinelli, 1989, 1990, 1998; Puccinelli, Curini-Calletti, Mariotti, Moretti, 1990). Цель данной работы – количественно оценить корреляцию между вариабельностями этих признаков. Морфометрические данные хромосомных комплексов (центромерный индекс - I^c) и копуляторного аппарата *G. hermaphroditus* (суммарная длина стилета и ножен- $L(st+sh)$) были взяты из вышеуказанных литературных источников (всего от 58 особей). На их основе был рассчитан коэффициент асимметрии кариотипов As (Zargo, 1986). Статистическая оценка данных выявила, что они не характеризуются нормальным распределением, в связи с чем, для анализа корреляционных отношений был использован метод Спирмена. Расчёты показали, что коэффициент корреляции между показателями $L(st+sh)$ и As равен $-0,36$ ($P<0.01$). Хотя значение не указывает на сильную взаимосвязь между этими признаками, тем не менее, из приведённых публикаций видно, что чем длиннее элементы копуляторного аппарата, тем меньше значение As и более равноплечими выглядят хромосомы в кариотипе. Интересно отметить, что и у четырёх- и у шестихромосомных представителей *G. hermaphroditus* наименьшие пары гомологов морфологически более вариабельны и их центромерные индексы значительно варьируют между исследованными популяциями. Коэффициент корреляции между показателями $L(st+sh)$ и I^c вторых и третьих пар гомологов оказался равен $0,36$ ($P<0.05$). Т.е., приходим к сходному заключению: у индивидов с более длинными стилетами и ножнами последние пары гомологичных хромосом должны быть субметацентрическими или метацентрическими, но не акроцентрическими. Поскольку числовые данные по четырёххромосомным видам более репрезентативны (от 42 особей), мы отдельно оценили

корреляционное отношение между показателями $L(st+sh)$ и I^c второй наименьшей пары гомологов в этой группе. Вычисленный коэффициент равен 0,60 ($P < 0.01$). Как видим, достоверное значение указывает на более сильную взаимосвязь между этими параметрами (рис.1).

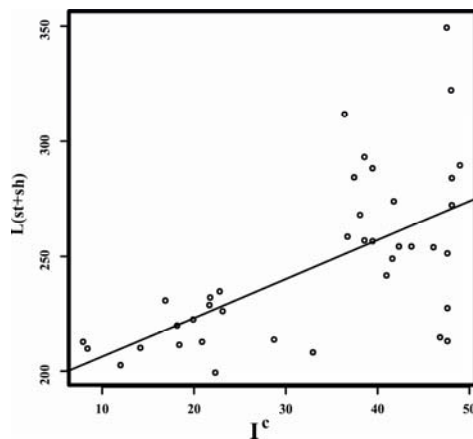


Рис.1. График корреляции между суммарной длиной стилетов и ножен $L(st+sh)$ и центромерным индексом (I^c) наименьшей пары гомологов у представителей *G. hermaphroditus* с $2n=4$ из европейских популяций.

Как показали специальные исследования, $L(st+sh)$ у байкальских представителей *G. hermaphroditus* варьирует в пределах 252,8 – 375,36 мкм (Тимошкин, 2000). Основываясь на графике (рис.1), следует предположить, что I^c наименьшей пары гомологов в их хромосомных наборах должен быть выше значения 35. Проведённый нами кариотипический анализ микротурбеллярии *G. hermaphroditus* Южного Байкала подтверждает выявленную закономерность: значение центромерного индекса меньшей пары гомологов оказалось равным $38,7 \pm 0.05$ (Натяганова, Зайцева, Тимошкин, 2006). Таким образом, наше исследование свидетельствует о том, что эволюция клеточных структур, в частности, хромосом, может быть тесно связана с морфобразовательными процессами макроструктур организмов. Обсуждается возможная биологическая причина такой связи у микротурбеллярии *G. hermaphroditus*. Исследование частично поддержано грантом РФФИ № 13-04-01270-а.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ДВИЖЕНИЕ БОРДЮРНЫХ КЛЕТОК В ЯИЧНИКАХ ДРОЗОФИЛЫ

Огиенко А.А.¹, Федорова Е.В.¹, Пиндюрин А.В.^{1,2}, Яринич Л.А.², Баричева Э.М.¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

² Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

ogienko.anna@gmail.com

Изучение молекулярных механизмов, которые управляют превращением эпителиальных клеток в мигрирующие и инвазивные клетки является очень важным, как для изучения фундаментальных проблем клеточной миграции, так и для лучшего понимания механизмов трансформации в раковые клетки. Миграция бордюрных клеток в ходе оогенеза дрозофилы является простой, но в то же время наглядной моделью для изучения инвазивной миграции эпителиальных клеток *in vivo*. Кластер бордюрных клеток формируется на восьмой стадии развития яйцевой камеры, когда пара специализированных полярных клеток, рекрутирует 4-8 соседних фолликулярных клеток (Montel *et al.*, 1992). На девятой стадии, в ответ на действие цитокина UPD (*Unpaired*), секретируемого полярными клетками, бордюрные клетки формируют выросты, отсоединяются от соседних эпителиальных клеток, окружающих яйцевую камеру, и мигрируют внутрь камеры между клетками зародышевой линии (*nurse cells*) по направлению к ооциту. К десятой стадии они достигают границы ооцит-питающие клетки (Montell, 2003).

В данной работе мы показали, что GAGA фактор, кодируемый геном *Trithorax-like* (*Trl*), является регулятором движения бордюрных клеток. У мутантов по гену *Trl* нарушена миграция бордюрных клеток. Выявленный фенотип подтверждается также экспериментами по *Trl* RNAi в соматических клетках. Поскольку GAGA является транскрипционным фактором, было выдвинуто предположение, что GAGA регулирует движение бордюрных клеток, опосредованно, через гены-мишени. Для анализа генетического взаимодействия в работе использовали подборку генов, экспрессия которых, по литературным данным, значительно повышена в бордюрных клетках в ходе их миграции. Это гены: *Ras85D*, *zip*, *Cortactin*, *Act5C*, *jaguar*, *mfas*, *Gli*, *chic*, *dome*, *bif*, *sax*, *jbug*, *twinstar*, *crinkled*, *cpb* (Jun *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2006). В ходе работы анализировались мухи генотипа *gal4-slbo*, *UAS-GFP/M*; *Trl^{R85}/+*, где *M* - анализируемый ген. В результате, были найдены несколько генов-мишеней белка GAGA. Вся работа проводилась *in vivo*, в живой мухе.

Интересный факт выявился при анализе *gal4-slbo*, *UAS-GFP/chic*; *Trl^{R85}/+* мутантов. Широко используемые для маркировки бордюрных клеток конструкции *gal4-slbo*, *UAS-GFP* не удалось использовать в сочетании с известными мутациями по гену *chic*. При более детальном анализе линии, несущей *gal4-slbo*, *UAS-GFP* конструкции, выяснилось, что линия содержит не два *P*-элемента, как было заявлено ранее, а целых четыре. При этом

встройка одного из *P*-элементов произошла непосредственно в ген *chic*. Таким образом, при анализе данных, полученных с использованием этой линии, нужно учитывать тот факт, что линия содержит аллель гена *chic*.

Литература:

Montell, D.J., Rørth, P., and Spradling, A.C. (1992). slow border cells, a locus required for a developmentally regulated cell migration during oogenesis, encodes Drosophila C/EBP. *Cell* 71, 51–62.

Montell, D.J. (2003). Border-cell migration: the race is on. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4, 13–24.

Luo Jun, Zuo JunTao, Wu Jing, Wan Ping, Kang Di, Xiang Cong, Zhu Hong and Chen Jiong. (2014). *In vivo* RNAi screen identifies candidate signaling genes required for collective cell migration in *Drosophila* ovary. *Science China Life Sciences*, April 2015, Volume 58, Issue 4, pp 379-389.

Xuejiao Wang, Jinyan Bo, Tina Bridges, Katherine D. Dugan, Tien-chi Pan, Lewis A. Chodosh, and Denise J. Montell. (2006). Analysis of Cell Migration Using Whole-Genome expression Profiling of Migratory Cells in the *Drosophila* Ovary. *Developmental Cell* 10, 483–495.

БОЛЬШИЕ ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ В ГЕНОМАХ МЛЕОПИТАЮЩИХ IN SILICO И IN SITU

Остромышенский¹ Д.И., Подгорная О.И.

Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург

¹necroforus@gmail.com

Большие тандемные повторы (ТП, сателлитная ДНК) составляют значительную (десятки процентов) генома высших эукариот. Однако до сих пор этот класс последовательностей является крайне мало изученным. Это касается как их возможных функций, механизмов эволюции, так и набора ТП в отдельных геномах. Классические методы поиска ТП, такие как рестрикция тотальной ДНК, позволяют найти лишь незначительное число ТП (в основном мажорные ТП) конкретного вида. Развитие методов высокопроизводительного секвенирования и увеличение числа прочитанных и собранных геномов дало толчок к поиску ТП методами биоинформатики. Ранее с помощью этих методов было найдено 60 новых семейств ТП в геноме *Mus musculus* (Komissarov et al., 2011). Геном мыши является одним из наиболее хорошо собранных геномов. В нашей работе показана возможность поиска ТП в геномах, степень сборки которых, значительно хуже чем у генома *M.musculus*.

ТП искали в сборке генома сирийского хомячка (*Mesocricetus auratus*), 3 сборках генома китайского хомячка (*Cricetulus griseus*). Для всех найденных ТП биоинформатическими методами определено содержание в геноме. Предсказанные in silico

ТП с высоким содержанием в геномах картированы на хромосомах с помощью FISH с использованием коротких олигонуклеотидных зондов. Показано, что у сирийского хомячка большинство найденных семейств ТП с высоким содержанием в геноме локализованы в области перичентромера почти всех хромосом. У китайского хомячка тандемные повторы показывают высокую степень хромос-специфичности — ТП одного семейства локализованы на 2-5 парах хромосом.

Наличие в базах данных геномов видов одного рода позволяет сравнить ТП близкородственных видов.

Род *Cavia* (Caviidae, Rodentia). Два мажорных семейства ТП *C.porcellus* с длиной мономера 783 и 123 п.н. обнаружены в геноме *C.apperea*, однако для этого вида они являются минорными ТП. Мажорный ТП *C.apperea* с длиной мономера 1518 п.н. не найден в геноме *C. porcellus*.

Род *Bos* (Bovidae, Artiodactyla). Мы сравнили сборки геномов трех видов *B. taurus*, *B. indicus*, *B. mutus*. Известные ТП BTSAT2/BTSAT3, BTSAT4/BTSAT5 и BTSAT6 обнаружены в геномах всех трех видов, однако в разных количествах - так у *B.taurus* мажорным ТП является BTSAT4/BTSAT5, у *B.indicus* BTSAT6, а у *B.mutus* мажорным является неизвестный ранее ТП с длиной мономера 18 п.н. Значительная часть минорных семейств ТП является видоспецифичной, либо встречается у двух видов из трех.

Род *Myotis* (Vespertilionidae, Chiroptera). Мы сравнили ТП в трех геномах *M. brandii*, *M. davidii* и *M. lucifugus*. Только 5 из найденных семейств ТП (всего для указанных видов найдено 133, 105 и 26 семейств ТП, соответственно) присутствуют во всех трех геномах, а большая часть ТП является видоспецифичными. Мажорные ТП *M. davidii* и *M. lucifugus* схожи, однако сильно отличаются по длине мономера – 20 п.н. у *M. davidii* и 238 п.н. *M. lucifugus*. Мажорный ТП *M. brandtii* не найден в геномах других видов.

Т.о., методы биоинформатики подтверждают предполагавшуюся ранее видоспецифичность больших ТП.

Работа выполнена при поддержке программы президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» (№1200955639).

Литература:

1.Komissarov A.S. et al. Tandemly repeated DNA families in the mouse genome// BMC Genomics. – 2011. – V.12, №531.

СОСТАВ ДНК ХРОМОЦЕНТРОВ МЫШИ IN SILICO И IN SITU. ФРАГМЕНТЫ LINE И ERV – ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ КОМПОНЕНТ ДНК ХРОМОЦЕНТРОВ КРОМЕ ТАНДЕМНЫХ ПОВТОРОВ

Остромышенский Д.И., Комиссаров А.С., Кузнецова И.С., Черняева Е.Н., Вайсертрейгер И., Подгорная О.И.

Институт Цитологии РАН, СтПетербург, 194064, Россия
e-mail: necroforus@gmail.com

Определили ДНК состав хромоцентров мыши двумя способами: (1) в клонотеке, полученной после амплификации ДНК на DOP праймере; (2) исходные риды после секвенирования MiSeq ДНК хромоцентров анализировали методами биоинформатики.

(1) ДНК хромоцентров, выделенных биохимически, и центромерного (CEN) района, полученного микродиссекцией, амплифицирована на DOP праймере. Оба препарата при тестировании FISH (fluorescent in situ hybridization) картируются в CEN районе хромосом и хромоцентрах интерфазных ядер. Из клонотеки отобрали 38 клонов с длиной вставки >100 нп. 4 клоня представляют из себя мажорный сателлит мыши (MaSat); 16 отсутствуют в собранном геноме, но есть в исходных базах WGS; 18 клонов являются фрагментами LINE. 13 клонов выборки картированы методом FISH. 3 клоня показали дисперсное распределение, но остальные принадлежат CEN району метафазных хромосом и хромоцентрам несмотря на то, что являются фрагментами LINE (6 клонов) или неизвестными последовательностями (4). Основная масса производных от LINE клонов (13 из 18) расположена в конце 2й ORF и прилежащем фланкирующем районе полноразмерного LINE при картировании методами биоинформатики.

(2) Для секвенирования ДНК библиотека сделана на Nextera. Библиотека секвенирована на платформе Illumina MiSeq (размер вставки 220 нп) с короткими ридами в 35 нп. Исходные риды чистили программой Cookiecutter. Провели сравнение ридов хромоцентров (chcMiSeq) с базой полногеномного секвенирования (gnHiSeq). Результаты представлены в таблице

семейство\источник	chcMiSeq	gnHiSeq
Тандемные повторы (TR)	70%	10%
LINE	7%	4%
ERV	1.5%	1%

Среди тандемных повторов (TR) chcMiSeq наиболее представлены MaSat (61%) и MiSat (4%). Из дальнейшего анализа эти TR удалены. Остальные TR (5%) представляют собой описанные семейства TR (Komissarov et al., 2011). Остальные 20% базы chcMiSeq представляют собой в основном неаннотированные последовательности, некоторые из которых удалось идентифицировать на следующем шаге анализа. Часть базы chcMiSeq

объединили в контиги программой IDBA_UD. В контигах обнаружили много фрагментов гетерохроматиновой Y хромосомы, псевдогены rRNA и 6 других псевдогенов, гены ncRNA. Полноразмерный ген *sfi1* найден в контигах в соответствии с его локализацией в периCEN районе 11 хромосомы. Белок Sfi1 известен своей структурной ролью в ассоциированных с центросомой сократительных фибриллах через взаимодействие с цетрином 2 (CETN2, centrin 2). Цетрины – уникальные для эукариот консервативные кальций-связывающие белки.

В контигах chcMiSeq обнаружено много фрагментов ERV (endogenous retroviruses). Фрагменты ERV картированные на консенсусы ERV из Repbase располагаются по всей длине элементов, свидетельствуя о том, что полноразмерные ERV могут быть встроены с поля TR. Мы полагаем, что фрагмент ранее клонированный из ДНК хромоцентров мыши и названный MS3 (Kuznetsova et al., 2005, 2006, 2007) является частью одного из ERV – элемента IAP – многочисленного в chcMiSeq и имеющего сходство с MS3. Напротив, полноразмерные LINEs отсутствуют в chcMiSeq или в той части базы, которая объединена в контиги. Большинство фрагментов LINE картируются в том же районе ~2 тнп в конце 2й ORF LINE и фланкирующем районе. Именно этот район является источником TR, основанных на LINE (Komissarov et al., 2011). Мы провели поиск этого района LINE в недавно опубликованном CEN районе человека (Chaisson et al., 2015) и нашли очевидное обогащение. Известно, что факультативный гетерохроматин обогащен полноразмерными LINEs, о чем свидетельствует биоинформатика (Waterston et al., 2002) и FISH (Solovei et al., 2013), но их нет в конститутивном гетерохроматине. Мы показали, что непременным компонентом конститутивного гетерохроматина, наряду с TR, является конкретный фрагмент LINE ~2 тнп.

НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Павлова Г.В.¹, Пустогаров Н.А.^{1,2}, Вергун А.А.^{1,3}, Ревущин А.В.¹, Рысков А.П.¹

¹Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук, г.Москва

² ООО «Апто-фарм», г.Москва

³ Московский педагогический государственный университет, Москва
lkochochkin@mail.ru

Использование клеточной терапии поднимает вопрос безопасности применения клеточных препаратов. Однако при наращивании клеточного материала могут происходить изменения в геномной ДНК, опасные для пациента. Кариотипический анализ клеточных линий и культур, проводимый рядом исследователей, показал нарушения в хромосомах и тенденцию к нестабильности кариотипа (Tarte et al., 2010; Sensebe et al., 2011; Ueyama et al.,

2012). Кроме того, известно, что при культивировании отмечается существенное изменение в скорости роста клеток, а также в их способности к дифференцировке (Mikkola et al., 2006). Следовательно, при культивировании и трансфецировании клеточных линий и культур человека необходим строгий контроль за геномными изменениями в трансплантируемых клетках. Мы предположили, что RAPD-PCR анализ может использоваться для данной цели. Диагностические возможности RAPD-технологии успешно проиллюстрированы на многочисленных примерах описания генетического разнообразия микроорганизмов, высших растений, беспозвоночных и позвоночных животных. RAPD применяется также для геномного маркирования в популяционных и эволюционных исследованиях. Работы Дила Афрозе (Dil-Afroze et al., 1998) и Онга с соавторами (Ong et al., 1998) показали возможность использования метода RAPD-PCR для выявления генетической нестабильности при раке мозга и легких. Позже данный метод использовался при изучении геномной нестабильности в раке печени у трансгенных мышей (Calvisi et al., 2004), гепатоцеллюлярной карциномы (Xian et al., 2005). Метод RAPD-PCR применялся также для обнаружения соматических нарушений в индуцированных азоксиметаном опухолях прямой кишки у крысы (Luceri et al., 2000).

Генетические нарушения при длительной культивации клеток могут на начальных этапах проявляться в виде незначительных точечных мутаций, которые могут привести к значительным нарушениям генетической регуляции. Таким образом, мы предприняли попытку изучить нестабильность генома культивируемых клеток человека разного происхождения с помощью RAPD анализа и определить природу структурных вариаций в амплифицированных ДНК разных пассажей.

ПЕРВООПИСАНИЕ КАРИОТИПА МАЛОЙ ГИМНУРЫ *HYLOMYS SUILLUS* MULLER, 1840 (EULIROTYRNLA, MAMMALIA) ИЗ СЕВЕРНОГО ВЬЕТНАМА

Павлова С.В.¹, Билтуева Л.С.², Романенко С.А.^{2,3}, Щинов А.В.¹, Рожнов В.В.^{1,4}

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва

²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

³Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

⁴ФГБОУВПО "Национальный исследовательский Томский государственный университет", г. Томск

swpavlova@mail.ru

Впервые проведено цитогенетическое исследование кариотипов двух особей, самца и самки, малой гимнуры (*H. suillus*), отловленных на территории северного Вьетнама. Хромосомные препараты получены путем прижизненного кариотипирования особей (выращивание культур клеток первичных фибробластов из кусочка ткани хвоста). С помощью рутинного и дифференциального (G-метод) окрашивания препаратов выявлено,

что диплоидное число хромосом у изученных особей равно 48 ($FNa=64$). Среди аутосом хорошо выделяется одна пара крупных метацентриков, обозначенная нами как первая пара, а также две пары средних субметацентриков и шесть пар уменьшающихся по размеру мета- и субметацентриков. Остальные 14 пар хромосом представлены уменьшающимися по размеру акроцетриками. Половые хромосомы у самки представлены двумя X-хромосомами (среднего размера субметацентрики), а у самца X и Y, при этом Y-хромосома – самый мелкий акроцентрик в кариотипе. Окрашивание препаратов по С-методу выявило наличие прицентромерного С-гетерохроматина практически во всех двуплечих аутосомах, за исключением двух пар – самой крупной (первой) пары метацентриков и одной из двух пар средних субметацентриков (пара №3). Позитивные С-бэнды выявлены также в прицентромерных районах X-хромосом. Распределение последовательностей теломерной ДНК на метафазных хромосомах самки малой гимнуры было исследовано с помощью метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с использованием кита “Telomere PNA FISH Kit/FITC” (Dako). Позитивные сигналы теломерной ДНК были локализованы только на концевых участках всех хромосом, центромерное расположение этих сигналов не выявлено.

Работа выполнена в рамках экспедиционных исследований Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра при поддержке РФФИ (15-04-04759) и Гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (МК-4496.2015.4).

ОБЗОР УСПЕХОВ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ И ПРОБЛЕМ СБОРКИ ГЕНОМА ДО УРОВНЯ ХРОМОСОМ

Перельман П.Л.^{1,2}, Графодатский А.С.^{1,2}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

polina.perelman@gmail.com

На настоящий момент полностью секвенировано около 300 геномов животных. Значительную роль в полногеномном секвенировании животных играет проект «Геном 10К», координирующий усилия по секвенированию представителей всех ветвей древа животных.

Важным этапом является выбор видов для полногеномного секвенирования. Показательны результаты проекта секвенирования геномов птиц. Отбор видов производился с учетом существующей таксономии и проблем систематики птиц. В ходе проекта были секвенированы геномы представителей основных отрядов птиц. Проект привел к равномерному распределению референсных геномов по всему древу птиц. Такой

целенаправленный подход к отбору секвенируемых видов позволяет создать филогенетическое древо высочайшего разрешения и открывает широкие возможности для сравнительной геномики нового поколения.

Значительную проблему представляет сборка генома из прочитанных последовательностей. Уровень сборки геномов животных варьирует. Одним из финальных этапов сборки генома является приписывание собранных последовательностей ДНК к хромосомам. Этот этап настолько проблематичен, что пока лишь единичные геномы животных собраны до уровня хромосом. Остаются открытыми многочисленные вопросы, касающиеся хромосомной сборки геномов: «Насколько важна сборка генома до уровня хромосом? Какие сложности возникают при сборке до уровня хромосом? Какую роль играют физические карты при сборке до уровня хромосом? Почему только для некоторых видов существуют геномные сборки до уровня хромосом?»

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS* В БАССЕЙНЕ РЕКИ ОБЬ

GENETIC STRUCTURE OF STERLET (*ACIPENSER RUTHENUS*) POPULATION IN THE OB RIVER WATERSHED

Побединцева М.А.^{1,2}, Кулемзина А.И.¹, Воробьева Н.В.¹, Сердюкова Н.А.¹, Интересова Е.А.³, Корентович М.А.⁴, Зайцев В.Ф.³, Романенко С.А.^{1,2}, Макунин А.И.¹, Щербаков Д.Ю.⁵, Графодатский А.С.^{1,2}, Трифонов В.А.^{1,2}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Новосибирский филиал ФГБНУ Госрыбцентр, г.Новосибирск

⁴ФГБНУ Госрыбцентр, г. Тюмень

⁵Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

E-mail: mapob@mcb.nsc.ru

Осетровые (*Acipenseridae*) — проходные, полупроходные и пресноводные рыбы, населяющие воды северного полушария Европы, Северной Азии и Северной Америки. Из 25 современных видов этого семейства 15 являются промысловыми. Это ценные в хозяйственном отношении виды рыб, численность которых неуклонно снижается во всем мире. Для осетровых характерно позднее половое созревание, неежегодный нерест и жесткие рамки экологических требований для реализации жизненного цикла. Это делает осетровых чрезвычайно уязвимыми для воздействий разнообразных факторов, препятствующих их естественному воспроизводству. Кроме того, снижению численности способствует интенсивный промысел, в том числе незаконный.

Основная цель настоящей работы – описание генетической структуры стерляди (*Acipenser ruthenus* Brandt) в бассейне Оби для выявления ее популяционной организации и формирования действенной стратегии охраны и рациональной эксплуатации данного вида.

Для анализа были выбраны три участка митохондриальной ДНК: контрольного района, цитохрома b и NADH-дегидрогеназы. Выявлено, что белок-кодирующие районы: цитохром b и NADH-дегидрогеназа, являются крайне консервативными и не могут быть использованы для оценки разнообразия гаплотипов. Контрольный район оказался переменным. В исследованных выборках, в целом включающих 190 особей, по последовательности 700 пн контрольного района выявлен 51 гаплотип. Проведение филогенетического анализа обнаруженных замен позволило выделить семь основных гаплогрупп, представленных с разной частотой в разных районах бассейна. Изучение гаплотипов из разных участков Иртыша, Оби и Чулыма показало значительные отличия по генетическому разнообразию и гаплотипическому составу, что свидетельствует об их сложной популяционной структуре. Так, в районе Средней Оби обнаружено явление клинальной изменчивости частот гаплотипов: постепенного возрастания встречаемости гаплогруппы С и убывания частот встречаемости гаплогруппы А. Интересно отметить, что иртышские популяции отличаются чуть большим разнообразием и включают реликтовые близкие к предковым гаплотипы, пока не найденные в обских популяциях. Согласно предварительным данным, плотина Новосибирской ГЭС является одним из серьезных барьеров, разъединяющих популяции.

При рассмотрении района тандемных повторов (80 пн) обнаружена его значительная переменность по количеству повторяющихся единиц как среди диких особей одного гаплотипа, так и среди близкородственных особей из питомника. Средний размер гиперпеременной области составляет 3,5 – 4,5 единиц повторенной последовательности (минимальный размер – 2,5 ед., максимальный – 6,5 ед.). Интересно, что каждая гаплогруппа имеет характерный набор замен в повторенной единице, свидетельствующий о механизмах гомогенизации повторов в мтДНК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-14-00275.

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК ПОМОЖЕТ ПРОЛИТЬ СВЕТ НА НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ ЭВОЛЮЦИИ

Подгорная О.И.

Институт Цитологии РАН, СПб, 194064, Россия

e-mail: opodg@yahoo.com

Тот факт, что в жидкостях тела высших позвоночных циркулирует ДНК (внеклеточная ДНК; внДНК) известен давно, но интересуются этим фактом в основном медики, не биологи (Anker et al., 1975; Vasioukhin et al., 1991, 1994). Чтение геномов и новые методы секвенирования позволяют по новому взглянуть на проблему внДНК (Murtaza et al., 2013). Основными источниками внДНК в организме являются: (1) экзосомы

покоящихся клеток, (2) микровезикулы активированных клеток; (3) апоптотические клетки (Ryukova et al., 2012). Показан захват внДНК клетками культуры и ее включение в хроматин клетки-хозяина (Mittra et al., 2015). Апоптоз экспериментально индуцировали в культуре эндотелиальных клеток пуповинной крови человека (HUVES) и пул ДНК, присутствующей в культуральной среде (внДНК) был секвенирован и использован как проба для FISH (Morozkin et al., 2012). Оба метода показали ассиметричное обогащение повторяющихся элементов во внДНК: (1) обогащение внДНК перичентромерными тандемными повторами (TR), основным из которых оказался HS3 (human satellite 3), но обеднение центромерным (CEN) TR альфа сателлитом; обогащение внДНК Alu (SINE) элементом, но обеднение LINEs. Сходными характеристиками отличается сыворотка крови здоровых доноров (Beck et al., 2009).

Для сравнения с внДНК в этом случае использовали собранный геном человека. Районы классического гетерохроматина не отражены в собранном геноме: длинные поля TR с перичентромерным и субтеломерным районам не собраны. В собранных геномах сборка хромосом обрывается на 3 Mb дыре, зарезервированной на центромерный район. TRs человека классифицированы весьма грубо. Про TR известно, однако, что именно они прикреплены к внутренней стороне цитоплазматической мембраны как ~6 тнп фрагменты, что определили при сравнении с исходными WGS\WGA базами данных (Chen et al., 2012). Именно поэтому, вероятно, возможно обогащение ими внДНК в первую очередь в апоптотических клетках. Повторы класса транспозонов (transposable elements; TE) составляют не менее 48% собранного генома человека и их позиции определены. Alu элементы (SINE) расположены в основном в ген богатых районах, тогда как LINEs тяготеют к факультативному гетерохроматину. Об этом свидетельствуют данные биоинформатики (Waterston et al., 2002) и цитогенетики (FISH, Solovei et al., 2013). Положение TE в геномах как человека, так и мыши, фиксировано и сходно, что и приводит к синтении геномов вместе с другими элементами (генами, Waterston et al., 2002). В геноме человека Alu повторы замещают собой четыре SINE мыши (B1, B2, B4, ID). Провели сравнение интенсивности транскрипции ~12000 ортологичных генов в 32 тканях человека и мыши по базам данных транскриптомов. Человек обнаруживает более высокий уровень экспрессии ткане-специфичных генов по отношению к генам «домашнего хозяйства» во всех исследованных тканях, что говорит о более высоком эволюционном уровне клеточной дифференцировки (специализации) (Vinogradov, Anatskaya, 2007). Тотальный вклад TE в функционирование и эволюцию геномов до сих пор не ясен, несмотря на их количество в геноме (del Rosario et al., 2014). Определен вклад TE в происхождение, определение разнообразия и регуляцию длинных некодирующих РНК (Kelley, Rinn, 2012; Kapusta et al.,

2013; Lu et al., 2014). Кажется, что позиции TE фиксированные в течение ~65 Мут (расхождение линий грызунов и приматов) и тяготение SINEs и LINEs к потенциально активным или неактивным районам генома может быть ответственным за определение хроматинового ландшафта этих районов. Замена SINE'ов в геноме человека очевидно коррелирует с увеличением уровня транскрипции в активном ландшафте. В любом случае, замена SINE произошла при разделении грызунов и приматов. Тот факт, что вДНК обогащена SINE поможет понять как такая замена могла произойти в геномах одного помета\выводка. Известно, что трансформантные мыши могут получиться после инкубации сперматозоидов с экзогенной ДНК (Lavitrano et al., 1989). Опосредованный сперматозоидами перенос экзогенной ДНК стал тривиальным методом ветеринарии (Smith, Spadafora, 2005; Spadafora, 2008; Simoes et al., 2012). При экспериментах на кроликах с их многочисленным потомством можно учесть количество трансгенных потомков в помете. При совместной инкубации сперматозоидов с экзогенной ДНК, DMSO и нагревании (heat shock) некоторые пометы на 100% состояли из трансгенов. Но еще более удивительно то, что никак не поврежденные сперматозоиды (только инкубация с ДНК плазмиды) давали до 20% трансгенов в потомстве (Kuznetsov et al., 2000). Неважно точное количество трансгенных потомков в помете; важно то, что трансген (измененный потомок) никогда не будет одинок, он найдет себе измененную пару в том же помете, т.е. возможен имбридинг. Сходство участков B1 элемента мыши и Alu элемента человека делает возможной замену всех элементов генома посредством рекомбинации. Ортологичные гены не затронуты при такой замене, вместо изменения генов меняется хроматиновый ландшафт, что и приводит к интенсификации транскрипции и дает эволюционное преимущество вновь возникшему виду. Предложенная схема убирает два из противоречий Синтетической теории эволюции: (1) не генные мутации необходимы для прогрессивной эволюции, но замена повторяющихся элементов; (2) древние млекопитающие имели в помете не одного измененного потомка, но несколько, если не всех, из-за трансформации их вДНК; тогда близкородственное скрещивание оказывалось возможным для измененных особей.

EXTRA-CELLULAR DNA FOR THE UNSOLVED EVOLUTIONAL PROBLEMS

Podgornaya O.

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064, Russia

e-mail: opodg@yahoo.com

The fact of the extra-cellular DNA (ecDNA) circulating in the body liquids in high eukaryotes is known long ago, but it attracts less attention of biologists than of physicians (Anker et al., 1975; Vasioukhin et al., 1991, 1994). The genome assembly and new sequencing methods shed light on this problem (Murtaza et al., 2013). The main sources of ecDNA could be: (1) exosomes from resting cells, (2) microvesicles of activated cells, (3) in apoptotic bodies (Rykova et al., 2012). The uptake of the ecDNA by cultured cells and ecDNA integration into host chromatin have been proved (Mittra et al., 2015). Apoptosis was experimentally induced in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and the pool of cell-free apoptotic DNA present in the culture medium (ecDNA) was sequenced and used for FISH (Morozkin et al., 2012). Both methods show the asymmetry in repetitive sequences distribution in ecDNA: (1) significant enrichment in pericentromeric tandem repeats (TR), the most of which is HS3 (human satellite 3) but decrease of centromeric alpha satellite; (2) enrichment in Alu (SINE) but decrease of LINES. Similar results have been reported for the serum of healthy donors (Beck et al., 2009). Human assembled genome was used for the ecDNA comparison. The large regions of classic heterochromatin are poorly covered by assembled sequences: chromosomes have prolonged tandem repeats (TR) arrays at centromeric and subtelomeric regions and it is the reason why these regions are difficult to assemble. In the assembled genomes chromosomes end abruptly in 3 Mb gaps reserved for centromeric regions. Human TRs are only roughly classified. It is known that DNA attached to the inner part of the cell membrane as ~6kb fragments represents namely pericentromeric TR while compared to the raw WGS\WGA database (Chen et al., 2012) and this could be the reason why it comes to the apoptotic ecDNA first of all. Transposable elements (TE) constitute no less than 48% of the human assembled genome and their positions determined. Alu repeats (SINE) are located mostly to the gene-rich regions, while LINES enrich facultative heterochromatin as evidenced by bioinformatics data (Waterston et al., 2002) and FISH (Solovei et al., 2013). TE positions in both mouse and human genomes are very similar and cause the synteny together with genes (Waterston et al., 2002). In human genome Alu repeats substitute four mouse SINEs (B1, B2, B4, ID). The comparison of the transcription intensity has been carried out by bioinformatics tools in 32 human and mouse homologous tissues for ~12000 orthologous genes using transcriptome databases. Human shows a greater fraction of tissue-specific genes and a greater ratio of the total expression of tissue-specific genes to housekeeping genes in each tissue studied, which suggests a generally higher level of evolutionary cell differentiation (specialization)

(Vinogradov, Anatskaya, 2007). The overall functional and evolutionary impact of TEs still unclear in spite of their abundance in the genome (del Rosario et al., 2014) though TE contribution to the origin, diversification, and regulation of vertebrate long noncoding RNAs is documented (Kelley, Rinn, 2012; Kapusta et al., 2013; Lu et al., 2014). It could be supposed that TE positions fixed for ~65 Myr (mouse and primate separation) and SINEs and LINEs attraction to the potentially active\inactive parts of the genome may be responsible for the chromatin landscape shaping of each part. The SINEs' substitution in the human genome caused the enhanced transcriptional level in active landscape. At any rate the substitution occurs in rodent and primate lines separation. EcDNA enriched in SINEs in any stress conditions may help to understand how the substitution of main part of basic regulatory elements may occur in whole genomes of one litter. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs for genetic transformation of mice have been reported (Lavitrano et al., 1989). Sperm-mediated gene transfer became the ordinary methods of the veterinary (Smith, Spadafora, 2005; Spadafora, 2008; Simoes et al., 2012). In rabbit with the numerous offspring it is possible to estimate the number of transgenes in the litter. Sperm damaged by DMSO and heat shock could produce up to 100% transgenes in some litters, but more surprising fact is that even intact sperm can produce ~20% of transgenes after incubating with the plasmid DNA (Kuznetsov et al., 2000). The precise number does not matter but the descendant altered will never be alone in progeny and will have its' mate in the same litter. The overall substitution of main part of SINEs in the whole genome by recombination is possible due to Alu element and B1 sequence similarity. The orthologous genes are not altered initially but chromatin landscape change lifts up the transcription and provides the evolutionary advantage for the newly born species. So, the scheme suggested may remove two of the contradictions of the Modern evolutionary synthesis theory: (1) gene mutations are not necessary for the progressive evolution but repetitive elements substitution; (2) ancient mammals could have litters with the number of offspring altered by ecDNA and inbred mating was possible for the descendant altered.

**ДЕКОНДЕНСАЦИЯ И ТРАНСКРИПЦИЯ ПРИЦЕНТРОМЕРНОЙ ДНК
ПРИ ТЕПЛОВОМ ШОКЕ В КЛЕТКАХ ЛИНИИ U-937 И ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ
ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

Пономарцев Н.В., Шилина М.А., Гринчук Т.М., Енукашвили Н.И.

Институт Цитологии РАН, г. Санкт-Петербург

nie@newmail.ru

Основным ДНК компонентом прицентромерных гетерохроматиновых участков хромосом является тандемно организованная высокоповторяющаяся сателлитная ДНК. На сегодня известно, что эта ДНК не является «молчащей» и активно транскрибируется в

различные периоды жизни клетки (малигнизация, пролиферация, ответ на стрессовое воздействие и т.д.). В клетках малигнизированных клеточных культур человека фактор теплового шока-1 (HSF-1), один из инициаторов ответа клетки на тепловое воздействие, помимо промоторной области гена *hsp-70* связывается с прицентромерной сателлитной ДНК 3 (сатДНК3) и активирует ее транскрипцию. Началу транскрипции предшествует деконденсация прицентромерного гетерохроматинового блока. В результате активации появляются длинные некодирующие РНК которые служат затравкой для формирования внутриядерных рибонуклеопротеиновых компартментов- ядерных стресс телец (ЯСт). Таким образом, деконденсация и транскрипция сатДНК3 является одним из этапов ответа клетки на тепловой шок. Роль других (помимо HSF-1) известных активаторов транскрипции сатДНК3 в ответе на тепловой шок сегодня неизвестна. Также неизвестно, насколько подобный механизм свойственен нормальным клеткам тканей, ответ которых на тепловой шок значительно отличается от клеток малигнизированных клеточных культур. Целью работы являлось исследование морфологических характеристик, динамики транскрипции прицентромерной сатДНК и роли сателлитсвязывающего регулятора транскрипции семейства РНК-хеликаз DDX5 в ответе клеток первичных культур и иммортализованных клеточных линий на тепловое воздействие.

Исследования проводили на клетках линии U-937, полученной из гистиоцитарной лимфомы и на эндометриальных мезенхимных стволовых клетках (эндМСК) с неизменным кариотипом. Клетки подвергали тепловому воздействию в течение 1 ч при 43°C для U-937 и 30 мин при 45°C для эндМСК. Оценивали динамику транскрипции сатДНК3 и гена *ddx5* с помощью методов ОТ-ПЦР. Степень деконденсации оценивали методом FISH, измеряя площадь гибридизационного сигнала с помощью конфокальной микроскопии. В качестве зонда использовали фрагмент сатДНК3 хромосомы 1 человека. Также мы провели инактивацию белка DDX5 методом трансфекции клеток siРНК инактивирующей мРНК *DDX5* в клетках U-937, и оценили влияние инактивации DDX5 на транскрипцию сатДНК3 и сборку ЯСт, маркером которых является белок HSF-1.

Показано, что при тепловом воздействии в обоих типах исследуемых клеток происходит деконденсация сатДНК3. При этом в клетках U-937 деконденсация была менее выражена по сравнению с эндМСК. Плавное увеличение концентрации белка DDX5 и транскриптов сатДНК3 происходит во время теплового воздействия и снижается после 1ч восстановительного периода в обоих типах клеток. В нормальных условиях культивирования белок DDX5 распределяется диффузно по ядру, тогда как во время теплового стресса DDX5 образует гранулы, часть из которых прилегает к гранулам HSF-1 и

перекрывается с деконденсированной сатДНКЗ, как в U-937 так и в эндМСК. В клетках с инактивированным DDX5 снижается транскрипция сатДНКЗ и не наблюдается сборки яСТ

Результаты работы подтверждают роль транскриптов сатДНКЗ при ответе на тепловое воздействие как в клеточной линии U-937 так и в в первичной культуре эндМСК.

ЭКТОПИЧЕСКОЕ СВЯЗЫВАНИЕ ИНСУЛЯТОРНОГО БЕЛКА CHROMATOR С ПОЗДНО РЕПЛИЦИРУЮЩИМИСЯ РАЙОНАМИ В ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* НЕ МЕНЯЕТ СТАТУС РЕПЛИКАЦИИ

Похолкова Г.В., Андреенков О.В., Андрееenkova Н.Г., Волкова Е.И., Беляева Е.С., Демаков С.А.

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

Инсуляторы являются одним из ключевых компонентов, определяющих доменную организацию генома. Согласно современным представлениям, они участвуют в обеспечении контактов между удаленными последовательностями ДНК, что создает правильную трехмерную организацию интерфазного ядра и обеспечивает регуляцию транскрипции. В настоящее время активно изучаются тонкие механизмы формирования функциональных доменов.

Мы исследовали влияние эктопического связывания инсуляторного белка Chromator на структуру хроматина и время репликации двух поздно реплицирующихся дисков 10A1-2 и 11A6-9 в политенных хромосомах слюнных желез *D. melanogaster*. В норме этот белок выявляется в междисковых районах политенных хромосом, обеспечивая в комплексе с другими белками специфичный дисковый рисунок хромосом, т.е. чередование компактных и декомпактных участков хроматина. Междиски являются районами локализации ORC-комплекса и первыми заканчивают репликацию. Напротив, диски 10A1-2 и 11A6-9 относятся к районам интеркалярного гетерохроматина, которые отличаются большими размерами, плотной упаковкой ДНК, отсутствием транскрипции и местом посадки гетерохроматинового белка SUUR, который приводит к задержке репликации. Для привлечения белка Chromator в эти диски использовали систему UAS>GAL4-DBD. Были синтезированы и трансформированы в мух две генетические конструкции: hs-GAL4-DBD-Chromator-MYC и hs-GAL4-DBD-MYC (контроль). Функциональная значимость первой из них была подтверждена восстановлением жизнеспособности мух, несущих делеции по гену *Chromator*.

Иммуноокрашивание политенных хромосом антителами против гистоновых белков H1, H3 и гетерохроматинового D1 после индукции экспрессии химерного белка GAL4-DBD-Chromator-MYC выявило расщепление дисков 10A1-2 и 11A6-9. В диске 11A6-9 в декомпактизованной области была обнаружена колокализация сигналов антител против

Chromator, гистоновой трансферазы WDS и гистоновых меток H3K9ac и H3S10. Эктопическое связывание белка Chromator привлекало в декомпактизованную зону диска хроматиновый белок Z4 и инсуляторный белок CP190. Однако наличие в районе меток активного хроматина не повлияло на усиление транскрипции гена *mini-white* в составе транспозона, содержащего UAS-последовательности.

Мы исследовали динамику репликации хромосомного района 11A6-9, используя иммуноокрашивание хромосом антителами против белка PCNA, который является индикатором активной репликации. В условиях индукции химерного белка и без неё на стадии поздней репликации, в ядрах реплицировались единичные диски интеркалярного гетерохроматина, включая 10A1-2, 10A116-9, и прицентромерный гетерохроматин. Причем на самых поздних стадиях, когда большая часть диска 11A6-9 уже закончила репликацию, именно в декомпактной зоне наблюдали колокализацию сигналов на белки Chromator и PCNA, т.е. наличие декомпактной зоны и присутствие междискового белка Chromator не влияло на время завершения репликации.

Таким образом, эктопическое привлечение белка Chromator не способно сформировать полноценный барьер между хроматиновыми районами, которые остаются в составе одного реплицирующегося домена.

КАРИОТИПИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ РЫБ СЕМЕЙСТВА GOBIIDAE

Праздников Д.В.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва
pdvfish3409@rambler.ru

Для семейства бычковых рыб (Gobiidae) характерна высокая степень кариотипического разнообразия: $2n=29-56$, $NF=38-96$. Кариологическая гетерогенность увеличивается за счет хромосомной изменчивости: полиморфизма и межпопуляционной дифференциации кариотипов. Большинство видов бычковых рыб, для которых характерен хромосомный полиморфизм, обитают в Средиземноморском и Каспийском бассейнах (к настоящему времени полиморфизм обнаружен у 15 видов).

Среди черноморско-каспийских видов хромосомная изменчивость наблюдается у наиболее поздно дивергировавшей филогенетической линии бычковых рыб у представителей рода *Ponticola*. Для видов из этого рода характерен наибольший уровень хромосомного полиморфизма (*P. gorlap*) и межпопуляционной изменчивости (*P. syrman*, с крайними гомозиготными вариантами кариотипов – $2n=40$ и $2n=32$) по сравнению с другими родами бычков. Робертсоновские транслокации являются одной из наиболее широко распространённых хромосомных перестроек, участвующих в дифференциации

кариотипов черноморско-каспийских Gobiidae. С перестройками робертсоновского типа связано появление полиморфизма у 83% бычков, с обнаруженной хромосомной изменчивостью, из Черноморско-Каспийского бассейна. Большой процент перестроек в виде робертсоновских транслокаций, вероятно, может быть обусловлен составом центромерного гетерохроматина (центромерных областей, богатых Г-Ц нуклеотидами сателлитной ДНК).

На основании полученных нами данных и в совокупности с ранее опубликованными результатами сделан вывод, что вероятный предковый кариотип для семейства Gobiidae состоял из 46 акроцентрических хромосом ($2n=46a$). В настоящее время такой кариотип характерен для целого ряда видов из подсемейств: Gobiinae и Oxudercinae. Возможно, что диплоидное число хромосом равное 46 является исходным для всего подотряда бычковидные (Gobioidei). Так, для семейства Eleotridae модальное число хромосом – $2n=46$, причём у некоторых представителей родов *Eleotris* и *Butis* кариотип состоит только из акроцентрических элементов.

В ходе эволюции кариотипа в семействе Gobiidae происходило как увеличение, так и уменьшение числа хромосом и хромосомных плеч. Однако эти процессы существенно отличались между разными группами видов и подсемействами, как по относительной частоте, так и по хромосомным перестройкам. Основным направлением кариотипической эволюции в подсемействе Gobiinae является уменьшение числа хромосом, главным образом, за счёт робертсоновских транслокаций. Это направление наиболее выражено в пределах таксонов более низкого ранга, в частности, в родах *Gobius* и *Ponticola*. Транслокациями робертсоновского типа обусловлено появление малохромосомных кариотипов у черноморско-каспийских бычков: *Mesogobius batrachocephalus* ($2n=30$; $NF=46$) и *Ponticola kessleri* ($2n=29, 30$; $NF=46$). Другие направления эволюционных преобразований кариотипов в подсемействе Gobiinae, связанные с ростом числа хромосом (в основном за счёт центрических разделений) и хромосомных плеч (в основном за счёт инверсий), менее выражены и характерны для небольшого числа отдельных родов и видов.

Для другого подсемейства бычковых - Gobionellinae основным направлением кариотипической эволюции является увеличение числа хромосомных плеч в результате перестроек, ведущих к смене положения центромеры, преимущественно за счёт перицентрических инверсий. Для кариотипов большинства видов из этого подсемейства характерно увеличение количества двуплечих элементов при постоянном числе хромосом.

Основные направления эволюционных преобразований кариотипов в семействе Gobiidae различаются географически между группами видов из Черноморско-Каспийского

бассейна и северо-западной части Тихоокеанского бассейна, что также может быть связано с разным временем дивергенции.

ПОСТРЕПЛИКАЦИОННЫЙ ХРОМАТИН, КАК ПРИЧИНА ФОРМИРОВАНИЯ ХРОСОМ И ХРОМАТИНОВЫХ ГЛЫБОК ИНТЕРФАЗНОГО ЯДРА

Рафаилов А.М., Рафаилова М.А.

Северо-восточный федеральный университет им. М.К.Аммосова

Якутск, ул. Белинского, д. 58. E-mail: archinay@mail.ru

Различия между предрепликационным и пострепликационным хроматином до настоящего времени оставались незаметными и не привлекали внимания исследователей. Однако различия имеют место и они оказались важными для объяснения динамики структурно-функциональных свойств хроматина, наблюдаемых в течение клеточного цикла. Известно, что основной формой интерфазного хроматина является нуклеогистоновая нить с диаметром 11 нм. Количество таких нитей в ядре, по-видимому, соответствует количеству хромосом кариотипа. Установлено также, что хроматиновые нити способны к многократной спирализации и конденсации. В результате первого этапа спирализации и конденсации образуются нити с диаметром 30 нм. Дальнейшие этапы спирализации и конденсации, происходящие в G₂ периоде интерфазы, приводят к утолщению и укорочению хроматина и образованию профазных хромосом. Причина изменений хроматина от нитевидной структуры до формирования хромосом оставалась до настоящего времени не понятной и загадочной.

Причина изменений хроматина объясняется тем, что структура предрепликационного хроматина существенно отличается от пострепликационного. Репликация хроматина в S периоде интерфазы удваивает количество ДНК, а количество гистонов для нуклеосомных дисков в ядре не изменяется и остается на прежнем уровне. В связи с этим в течение репликации образуются сестринские хроматиды, которые представляют новую дочернюю форму хроматина с двухкратным дефицитом гистонов (полугистоновый хроматин или полухроматин). При отсутствии свободных гистонов в ядре и медленном их поступлении из цитоплазмы состояние полухроматина сохраняется от S периода интерфазы до разрушения ядерной оболочки в прометафазе. Все это время пострепликационный полухроматин подвергается очередным этапам спирализации и конденсации и превращается в хромосомы. Следовательно, спирализация и конденсация являются свойством пострепликационного дефицитного по гистонам дочернего хроматина, полухроматина. Эти два свойства пострепликационного хроматина, полухроматина, обеспечивают превращение нитевидного хроматина в хромосомы от S периода интерфазы до метафазы.

Новые гистоны синтезируются в цитоплазме. Ядерные поры не способны проводить в ядро все новые гистоны цитоплазмы. Поэтому при целостности ядерной оболочки в ядре поддерживается дефицит гистонов, сохраняется структура полухроматина и продолжается его спирализация. Взаимодействие новых гистонов цитоплазмы с полухроматином хромосом начинается только после распада ядерной оболочки в прометафазе. Вязкость нуклео- и цитоплазмы препятствует их быстрому слиянию, поэтому в метафазе полухроматин еще сохраняет наиболее спирализованную форму и оптимально проявляет свое хромосомное строение при цитологических исследованиях.

В анафазе-телофазе наблюдается процесс обратный происходящему от S периода интерфазы до метафазы. Слияние дефицитной по гистонам нуклеоплазмы с насыщенной свободными гистонами цитоплазмой открывает массированный доступ последних к полухроматину хромосом. Новые гистоны получают доступ к глубоким слоям полухроматина. Начинается массированное восполнение недостатка гистонов полухроматина хромосом. При этом отдельные участки полухроматина хромосом раньше других полностью восстанавливают недостающие гистоны и превращаются в полноценный по гистонам хроматин, которому характерна нитевидная форма с диаметром 11 нм. Такие участки хромосом деспирализуются, обретают нитевидную форму и постепенно исчезают из поля зрения светового микроскопа. Постепенное превращение полухроматина в полноценный по гистонам нитевидный хроматин цитологически проявляется тем, что хромосомы разрыхляются, теряют четкость контуров и полностью исчезают из поля зрения светового микроскопа в поздней телофазе.

В интерфазном ядре при световой микроскопии обнаруживаются только относительно толстые хроматиновые нити и глыбки, а в ядрах клеток женского пола человека и млекопитающих половой хроматин. В G_1 периоде глыбки представляют остатки полухроматина хромосом, которые не успели полностью восполнить свои недостающие гистоны и отдельные участки их сохранили спирализованную форму пострепликационного хроматина, т.е. это остатки хромосом. В S и G_2 периоде глыбки могут представлять рано реплицированные и рано спирализованные участки полухроматина. Поскольку половой хроматин представляет собой инактивированную X хромосому, то аналогично этому, сохранение полухроматиновых участков хромосом в G_1 периоде может оказаться одним из способов длительного блокирования транскрипционной активности редко включаемых генов.

Ключевые слова: Хромосома. Хроматин. Полухроматин. Хромосомный цикл. Репликация.

CALOMYSCUS. КАЖДАЯ ОСОБЬ – НОВЫЙ ВИД?

Романенко С.А.^{1,2}, Маликов В.Г.³, Дэрвиш Д.⁴, Махмуди А.⁴, Голенищев Ф.Н.³

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург

⁴Родентологический центр Биологического факультета Университета Фирдоуси, Мешхед, Исламская Республика Иран

rosa@mcb.nsc.ru

Мышевидные хомячки рода *Calomyscus* представляют собой одну из самых загадочных групп мышевидных грызунов. Значительную сложность при определении видов создает существенное морфологическое сходство особей из разных популяций, вероятно, поэтому до сих пор не установлено точное количество видов внутри рода. Цитогенетические данные скудны, но указывают на значительные вариации как по числу хромосом, так по их морфологии, рисунку бэндинга и количеству гетерохроматина. В связи с этим актуальным является детальное кариотипирование особей из мест первоописания номинальных форм для определения типовых кариотипов.

Нами получены линии культур клеток 4 особей мышевидных хомячков, отловленных в разных точках Ирана: *C. elburzensis* (CELB1f, самка) и *C. bailwardi* (CBAI1f, самка) из типовых мест обитания гора Курк-Худ (пров. Бужнурд) и город Изе (пров. Хузистан), соответственно; *Calomyscus sp.* (CSP17m, самец) из окрестностей города Шахр-е-Корд (пров. Бахтиария); *Calomyscus sp.* (CSP18f, самка) из поселка Алони (пров. Бахтиария). Из каждой культуры клеток нами были получены суспензии метафазных хромосом и проведено их кариотипирование с применением С- и G-окрашивания.

Показано, что кариотип CELB1f имеет в диплоидном наборе 44 хромосомы, характеризуется наличием гетероморфной пары хромосом 11, короткие плечи всех хромосом С-позитивные. Остальные исследованные особи имеют в диплоидном наборе по 46 хромосом и характеризуются малым количеством гетерохроматина (прицентромерные районы хромосом), выявляемого при С-окрашивании. CBAI1f несет гетероморфную пару хромосом 10. Особи CBAI1f, CSP17m и CSP18f имеют гетероморфную пару половых хромосом, представленную крупным субметацентриком и акроцентриком. Важно подчеркнуть, что рисунок бэндинга этих половых хромосом отличается от рисунка бэндинга X-хромосом особи CELB1f. Кроме того, половые хромосомы самок (CBAI1f, CSP18f) и самца (CSP17m) схожи как по морфологии, так и по рисунку бэндинга.

Кариотипы CELB1f и CBAI1f, описанные в данной работе, отличаются от опубликованных ранее для этих видов как по числу хромосом, так и по наличию и распределению блоков гетерохроматина. Поскольку исследованные нами особи отловлены в типовых местах обитания, то именно их кариотипы следует рассматривать как типовые

для видов *C. elburzensis* и *C. bailwardi*. Кариотипы, подобные обнаруженным нами у CSP17m и CSP18f, ранее в литературе не представлены.

Таким образом, все 4 особи, исследованные в работе, имеют кариотипы, не описанные ранее для хомячков рода *Calomyscus*. Результаты работы указывают на необходимость проведения дальнейшего кариотипирования мышевидных хомячков с целью определения типовых кариотипов необходимого для таксономической ревизии группы.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и участии ЗИН РАН (гостема № 01201351185).

ГЕНОМИКА ОДНОПОЛЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ – ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ВИДОВ ЯЩЕРИЦ РОДА *DAREVSKIA*

GENOMICS OF UNISEXUAL VERTEBRATES – PARTHENOGENETIC LIZARD SPECIES OF THE GENUS *DAREVSKIA*

Рысков А.П.¹, Вергун А.А.^{1,2}, Гирнык А.Е.¹, Осипов Ф.А.^{1,2}, Семенова С.К.¹, Омельченко А.В.³, Петросян В.Г.³, Корчагин В.И.¹

¹ Институт биологии гена РАН, Москва

² Московский педагогический государственный университет, Москва

³ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

ryskov@mail.ru

Открытие однополых (партеногенетических) видов ящериц И.С. Даревским в 1958 г. поставило ряд общебиологических вопросов по специфике их кариотипов и геномов, механизмам клонального воспроизводства, формирования генетического разнообразия, происхождения и эволюции. Ранее с помощью анализа аллозимов и митохондриальной ДНК (мтДНК) было установлено, что однополые позвоночные, в том числе, партеновиды рода *Darevskia*, возникли в результате межвидовой гибридизации особей двуполых видов, т.е. путем гибридогенного видообразования. Предполагается, что их генетическое разнообразие связано с количеством актов гибридизации, мутациями и рекомбинациями ДНК. Для всех партеновидов группы *Darevskia* был показан низкий уровень генетического и клонального разнообразия при анализе полиморфизма мтДНК и белков. Однако привлечение более эффективных генетических маркеров, например, микросателлитных ДНК, может дать принципиально новые результаты. В настоящей работе проведено генотипирование партеногенетических популяций *D. armeniaca* (n = 129), *D. rostombekovi* (n = 42) и *D. dahli* (n = 111), используя полиморфные микросателлитные локусы Du215, Du281 и Du323. Выявление аллелей в исследованных выборках проводили с помощью монолокусной ПЦР и электрофореза амплификантов в полиакриламидном геле. Определение молекулярной структуры аллелей проводили после их клонирования или

прямым секвенированием изолированных индивидуальных амплификантов. По сочетанию аллелей микросателлитных локусов были установлены индивидуальные генотипы для всех особей изученных видов. Особи с одинаковым генотипом формировали отдельные клональные линии. В результате по данным полиморфизма трех локусов было детектировано 7 клонов у *D. armeniaca*, 5 клонов у *D. rostombekovi* и 11 клонов у *D. dahli*. Среди них были выявлены как мажорные клоны, представленные большим количеством особей в разных популяциях, так и редкие клоны, представленные одной или несколькими особями в одной или двух популяциях. Поликлональная генетическая структура была установлена не только для *D. armeniaca* и *D. dahli*, но и для *D. rostombekovi*, который по данным аллозимного анализа был отнесен ранее к моноклональному виду. Предложен новый сценарий происхождения партеновида *D. dahli*, согласно которому как минимум три клона возникли в результате независимых актов межвидовой гибридизации, а остальные произошли в результате микросателлитных мутаций в исходных клонах.

Работа финансировалась грантом РФФИ № 14-14-00832.

ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ТАНДЕМНОГО ПОВТОРА В СОСТАВЕ W ХРОМОСОМЫ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ

Сайфитдинова А.Ф., Комиссаров А.С., Галкина С.А., Кошель Е.И., Кулак М.М., О'Брайен С.Д., Гагинская Е.Р.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
a.saifitdinova@spbu.ru

В геноме птиц общее содержание повторяющихся последовательностей существенно ниже, чем в геномах представителей других классов позвоночных (Zhang et al. 2014), при этом из-за ограниченных возможностей современных технологий секвенирования полных геномов далеко не все тандемно повторяющиеся последовательности, в частности в геноме курицы, выявлены и охарактеризованы. С целью исследования неизвестных наиболее распространенных повторяющихся ДНК мы проанализировали последовательности из сборки генома курицы версии WASHUC 2.60. Дополнительно, поиск высокоповторяющихся последовательностей и оценку их копийности проводили на основе анализа несобранных ридов геномного секвенирования из проекта SRP022583. В результате мы выявили и охарактеризовали новый тандемный повтор (GGAAA)_n, которого в несобранных ридах курицы в 2,5 раза меньше, и он второй по копийности после теломерного (3-4% по данным Delany et al. 2003, соответственно для (GGAAA)_n можно ожидать 1,2-1,6%).

Для локализации (GGAAA)_n использовали флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) с синтетическими олигонуклеотидами, мечеными флуорохромом 6-FAM (Stepakov

et al. 2015), в качестве зонда. На митотических хромосомах по одному яркому сигналу гибридизации было на обоих плечах половой хромосомы W, детали их локализации не возможно определить из-за малого размера хромосомы. Для анализа с наиболее высоким разрешением использовали FISH на гигантских хромосомах типа ламповых щеток из растущих ооцитов. Хромосома W курицы на стадии ламповых щеток сильно конденсирована и в ней хорошо различимы 7 хромомеров (Solovei et al., 1996; 1998). Флуоресцентные сигналы гибридизации с зондом (GGAAA)_n нами детектированы на втором и седьмом хромомерах. В последней опубликованной версии собранного генома курицы с помощью разных методов анализа мы смогли выявить лишь незначительное число полей данного повтора (по пять tandemных копий GGAAA максимум), локализовавшихся вне группы сцепления W, с обогащением на конце хромосомы 1. Это обстоятельство мы объясняем тем, что опубликованная карта секвенированных последовательностей хромосомы W содержит значительные пробелы и включает только 1,2 Mb при ожидаемом размере около 55 Mb. В то же время известно, что около 70% W курицы составляют повторяющиеся последовательности, среди которых охарактеризованы семейства XhoI, EcoRI и SspI (Kodama et al., 1987; Saitoh et al., 1991; Itoh and Mizuno, 2002). Проведенная нами совместная FISH на ламповых щетках курицы показала, что описанный нами элемент не колокализуется ни с одним из ранее известных W-специфичных повторов.

Интересно, что повторяющаяся последовательность GGAAA описана в составе 5' транскрибирующейся некодирующей области гена овотрансферрина у фазана; в геноме курицы описаны 2 родственных повтора в составе регуляторных областей генов, отвечающих за дифференцировку гонад (Maroteaux et al., 1983). Мы предполагаем, что охарактеризованный нами новый W-специфичный tandemный повтор может выполнять регуляторную функцию в определении пола у курицы.

Настоящее исследование проводится в рамках тематики ведущей научной школы (№3553.2014.4). Поддержка СПбГУ оказана молодым специалистам А.С.Комиссарову (№1.50.1623.2013) и Е.И.Кошель (№1.50.1043.2014). Для выполнения исследования были использованы ресурсы Центра геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского и ЦКП «Хромас» Научного парка СПбГУ.

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ РАСТЕНИЙ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ УСЛОВИЙ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Саматадзе Т.Е.^{1,2}, Зошук С.А.¹, Амосова А.В.¹, Зеленин А.В.¹, Муравенко О.В.¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
г. Москва

² ГОУ ВПО Российский университет дружбы народов, г. Москва
tsamatadze@gmail.com

Молекулярно-генетический анализ генома растений, подвергавшихся воздействию условий космического полета, является необходимым этапом для разработки биологических систем жизнеобеспечения человека вне земной биосферы. С использованием различных методов хромосомного анализа: С-дифференциального окрашивания, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) проведен анализ геномов карликовых растений гороха (*Pisum sativum* L.) ($2n=14$) и пшеницы (*Triticum compactum* Host) ($2n=6x=42$, A^uA^uBBDD), выращенных в космической оранжерее «Лада» на борту Российского Сегмента Международной космической станции. В качестве контроля использовали семена растений, которые выращивали на Земле. Семена получены из Института медико-биологических проблем РАН (Москва).

Сравнительный анализ рисунков С-окраски хромосом показал, что в кариотипах всех образцов распределение С-блоков по длине хромосом было сходным, как в кариотипах у гороха, так и у пшеницы. У растений, выращенных в оранжерее, рисунок С-окраски хромосом не отличался от рисунка у контрольных растений, выращенных на Земле. У всех форм растений интеркалярные С-бэнды были полиморфными по размеру. Установлено, что уровень полиморфизма С-блоков хромосом у образцов, полученных в космических условиях, не различался как между собой, так и от контрольной линии, семена которой были получены в земных условиях. Хромосомных перестроек выявлено не было.

Флуоресцентная гибридизация *in situ* показала, что локализация 5S генов выявлена на 1, 3 и 5 хромосомах гороха. 45S рДНК на хромосоме 4 локализуется в районе спутничной нити и в спутнике, а на хромосоме 7 – в спутничной нити и проксимальнее ее в районе приспутничного гетерохроматина. На хромосомах пшеницы космических образцов и контрольных растений локусы 5S рДНК расположены в коротких плечах хромосом 1 и 5 –й гомеологичных групп. Кластеры 45S рДНК находятся в районах вторичных перетяжек хромосом 1, 5 и 6 групп.

Гибридизация с последовательностями pSc-119.2 (В-геном специфичная проба) и pAs-1 (D-геном специфичная проба) видимых различий между исследуемыми образцами не показала.

Анализ результатов по выращиванию растений гороха и пшеницы на борту орбитальной станции позволяет говорить о том, что в геномах растений не происходит видимых изменений, что может служить дополнительным аргументом в пользу возможности длительного культивирования растений в ряду поколений в составе фотоавтотрофного звена систем жизнеобеспечения межпланетных экспедиций.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-08-04564.

ХРОМОСОМНАЯ ПРИПИСКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ SSR МАРКЕРОВ НА МОНОСОМАХ ХЛОПЧАТНИКА *G. HIRSUTUM* L

Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Макамов А.Ш., Усмонов Д.Е., Абдурахмонов И.Ю.

Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека, Узбекистан, Ташкент -100134,
sanam_marina@rambler.ru

Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Узбекистан, Ташкент

В течение длительного времени в Узбекистане проводятся исследования по созданию Цитогенетической коллекции хлопчатника *G.hirsutum* L. с целью использования цитогенетически маркированных линий для идентификации хромосом хлопчатника, хромосомной приписки маркерных генов и получения замещенных линий. Применение разных типов облучения: комбинированной обработки семян хлопчатника колхицином и гамма-лучами, облучения семян тепловыми нейтронами, а также облучения пыльцы гамма-лучами позволило индуцировать 94 первичных и 22 третичных моносомика, 19 монотелодисомиков, 3 моноизодисомика, 235 гетерозиготных обменов, 33 гомозиготные транслокационные линии, 4 гаплоидных растения и 31 растение с десинаптическим эффектом. Анализ частоты воспроизводства моносом в потомстве обнаружил различные особенности их селективного поведения и сильное варьирование частоты трансмиссии от высокой (44,44%) в 11 семьях до низкой (1,79%) в 12 семьях. Моносомики в других 26 семьях воспроизводились со средней частотой, причем значительные различия в степени передачи моносомного состояния обуславливались влиянием специфических хромосом на жизнеспособность гапло-дефицитных гамет. У моносомных линий хлопчатника обнаружены новые фенотипические маркеры, что указало на их новизну, уникальность и разнокачественность. К сожалению, за все годы исследований в США не получены моносомные линии по восьми хромосомам хлопчатника, поэтому обнаружение новых нехваток отдельных хромосом будет долгожданным событием.

В последние годы широкое развитие получили исследования по идентификации хромосом с помощью ранее приписанных к хромосомам молекулярных маркеров. Использование молекулярных микросателлитных локусов (SSR-маркеров), ранее приписанных к различным хромосомам генома хлопчатника, позволяет проводить быструю

и четкую идентификацию отдельных хромосом при наличии гапоанеуплоидных замещенных гибридов. Мы скрещивали моносомные линии Цитогенетической коллекции НУУз с удвоенной гаплоидной линией Pima 3-79 (USA) вида *G. barbadense* L. Среди гибридной популяции цитогенетическим анализом выделяли моносомные межвидовые хромосомно-замещенные гибриды F₁. Такие гибриды чрезвычайно удобны для локализации SSR-маркеров у хлопчатника. В результате молекулярно-генетического анализа у трех моносомных межвидовых хромосомно-замещенных гибридов F₁ (Mo11xPima 3-79, Mo16xPima 3-79, Mo19xPima 3-79) было обнаружено присутствие полиморфных аллелей только от вида *G. barbadense* L., тогда как аллели линии Л-458 отсутствовали, что указало на локализацию хромосом специфичных маркеров - BNL3590 и GH-198 на хромосомно-замещенном гибриде F₁ Mo11x Pima 3-7, маркеров BNL3590, BNL3971, GH-198 на хромосомно-замещенных гибридах F₁ Mo16x Pima 3-79 и Mo19x Pima 3-79, а также маркеров BNL1434, BNL1897 и BNL3971 на хромосомно-замещенном гибриде F₁ Mo93x Pima 3-79. Поскольку ранее эти маркеры были локализованы на хромосоме 2 А-субгенома хлопчатника, можно считать, что четыре моносомные линии - Mo11, Mo16, Mo19 и Mo93 коллекции НУУз имеют нехватку по хромосоме 2.

Анализ других шести хромосомно-замещенных гибридов F₁ (Mo70x Pima 3-79, Mo71xPima 3-79, Mo76xPima 3-79, Mo81xPima 3-79, Mo89x Pima 3-79, Mo90xPima 3-79) также выявил присутствие только полиморфных аллелей *G. barbadense* L., тогда как аллели линии Л-458 отсутствовали, что указало на локализацию трех хромосом специфичных маркеров - BNL2573, CIR122 и GH-107 на вышеперечисленных хромосомно-замещенных гибридах F₁. Исследование еще десяти хромосомно-замещенных гибридов F₁ (Mo7x Pima 3-79, Mo31xPima 3-79, Mo38xPima 3-79, Mo59xPima 3-79, Mo66x Pima 3-79, Mo69xPima 3-79, Mo72xPima 3-79, Mo73xPima 3-79, Mo75x Pima 3-79, Mo79xPima 3-79) также выявил присутствие только полиморфных аллелей *G. barbadense* L., тогда как аллели линии Л-458 отсутствовали, что указало на локализацию в том числе двух других хромосом специфичных маркеров - BNL2572, CIR122 и CIR048 на вышеперечисленных десяти хромосомно-замещенных гибридах F₁. Поскольку известно, что эти маркеры ранее были картированы на хромосоме 4 А-субгенома хлопчатника, можно считать, что шестнадцать моносомных линий – Mo7, Mo31, Mo38, Mo66, Mo59, Mo69, Mo70, Mo71, Mo72, Mo73, Mo75, Mo76, Mo79, Mo81, Mo89 и Mo90 нашей Цитогенетической коллекции НУУз имеют нехватку по хромосоме 4.

Молекулярно-генетический анализ других двух моносомных межвидовых хромосомно-замещенных гибридов F₁ (Mo13x Pima 3-79 и Mo67x Pima 3-79) также указал на присутствие только полиморфных аллелей *G. barbadense* L., тогда как аллели

линии Л-458 отсутствовали, что обнаружило локализацию восьми хромосом специфичных маркеров – BNL1064, BNL2884, BNL3650, CIR203, Gh032, Gh039, Gh082 и TMB1538 на хромосомно-замещенных гибридах F₁ Мо13х Pima 3-79 и Мо67х Pima 3-79. Так как ранее эти маркеры были локализованы на хромосоме 6 А-субгенома хлопчатника, можно считать, что две моносомные линии - Мо13 и Мо67 Цитогенетической коллекции НУУз имеют нехватку по хромосоме 6. Еще одна моносомная линия Мо27 была идентифицирована, поскольку с помощью молекулярного анализа один маркер BNL1531 был локализован на этой моносоме. Поскольку ранее он был приписан к хромосоме 7 А-субгенома хлопчатника, можно считать, что эта моносомная линия – Мо27 Цитогенетической коллекции НУУз имеет нехватку по хромосоме 7.

Таким образом, использование SSR-маркеров позволило идентифицировать нехватки хромосом у 23 моносомных линий хлопчатника, что значительно облегчило процесс идентификации хромосом.

ОСОБЕННОСТИ ЗАГРУЗКИ БЕЛКОВ ASY1 И ZYP1 В СТРУКТУРУ МЕЙОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ РЖИ ДИКОГО ТИПА И МЕЙОТИЧЕСКИХ МУТАНТОВ *sy1* И *sy19*

Симановский С.А.¹, Иорданская И.В.², Коломиец О.Л.¹, Богданов Ю.Ф.¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва.

²Московский НИИСХ “Немчиновка”, Московская область

sergey.a.simanovsky@gmail.com

Синаптонемный комплекс (СК) – уникальная и универсальная белковая структура, которая формируется между гомологичными хромосомами в профазе I мейоза (и только в ней) у абсолютного большинства высших эукариот. Функция СК заключается в обеспечении обратимого синапсиса гомологичных хромосом и создании структурной и молекулярной основы для протекания процессов мейотической рекомбинации. СК состоит из двух латеральных элементов (ЛЭ), к которым прикрепляются петли хроматина спаривающихся гомологичных хромосом, и центрального элемента (ЦЭ), который объединяют латеральные элементы. У животных и некоторых видов растений белки ЦЭ встраиваются в состав СК в процессе синапсиса гомологов. Для *Arabidopsis thaliana* известны два специфичных белка СК – ASY1 (ассоциирован с ЛЭ) и ZYP1 (белок поперечных филаментов ЦЭ). Е.И. Михайловой и соавторами (2006, 2010) было установлено, что у ржи *Secale cereale* L. дикого типа и мейотических мутантов *sy10* загрузка ортологов белков AtASY1 и AtZYP1 в структуру осевых элементов (ОЭ) хромосом начинается одновременно уже на стадии лептотены: разобщенные линейные тракты обоих белков выявляются в структуре формирующихся ЛЭ еще до начала синапсиса гомологичных хромосом. По мере продвижения синапсиса, на стадии зиготены и после его

завершения на стадии пахитены антитела к ASY1 иммуноокрашивают ЛЭ, а антитела к ZYP1 – ЦЭ СК.

В настоящей работе проведен сравнительный иммуоцитохимический анализ распределения ортологов белков AtASY1 и AtZYP1 в распластанных ядрах микроспороцитов ржи дикого типа и мейотических мутантов *sy1* и *sy19*. Мутанты *sy1* характеризуются асинапсисом гомологичных хромосом (СК не формируется), а мутанты *sy19* – индискриминантным синапсисом (СК формируется, но с многочисленными ошибками гомологичности синапсиса и зонами асинапсиса). Установлено, что у ржи дикого типа загрузка обоих белков на хромосомные оси начинается в лептотене. На этой стадии сигналы этих белков выявляются как разобщенные линейные “тракты”. По мере продвижения синапсиса в зиготене сигналы ASY1 и ZYP1 начинают одновременно локализовываться на хромосомных осях. К наступлению пахитены, когда СК полностью сформирован, сигналы объединяются в структуре СК-бивалентов. Мы не обнаружили отличий в присутствии и распределении этих белков у мей-мутантов *sy1* и *sy19* по сравнению с диким типом. В лептотене у мутантов выявляются разобщенные линейные сигналы ASY1 и ZYP1. В зиготене-пахитене они объединяются в двухполосные структуры, которые соответствуют неспаренным осевым элементам хромосом. Наши результаты подтверждают и уточняют два вывода Е.И. Михайловой: 1. СК ржи образуются не путем встраивания белка ZYP1 между синаптирующими гомологами, а путем объединения образовавшихся еще до начала синапсиса линейных структур этого белка. 2. Присутствие ZYP1 на осях мейотических хромосом ржи не является решающим условием успешного осуществления синапсиса гомологов. ZYP1 присутствует на осях мейотических хромосом у мей-мутантов *sy1*, но СК у этих мутантов не формируется. Для объединения хромосомных осей в трехполосную структуру СК у ржи необходим дополнительный фактор.

Авторы выражают благодарность Л.А. Чельшевой за предоставленные антитела к белкам AtASY1 и AtZYP1, С.П. Соснихиной и Е.И. Михайловой за предоставленный семенной материал и плодотворное сотрудничество. Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (Подпрограмма "Динамика и сохранение генофондов) и гранта РФФИ № 13-04-02071.

ОСОБЕННОСТИ КАРИОТИПА ТРЕМАТОДЫ *HIMASTHLA ELONGATA* (*DIGENEA, ECHINOSTOMATIDAE*)

Соловьева А.И.¹, Стефанова В.Н.¹, Подгорная О.И.^{1,2}, Демин С.Ю.¹

1 - Институт Цитологии РАН,

2 - Санкт-Петербургский Государственный Университет

orcinuca@gmail.com

Himasthla elongata (Mehlis, 1831) – это распространенный вид паразитов, обитающий в прибрежных экосистемах северных европейских морей. Как и другие трематоды, он обладает сложным жизненным циклом с чередованием хозяев, а также партеногенетических и гермафродитных поколений. Первым промежуточным хозяином для паразита служат живущие в приливной зоне улитки рода *Littorina* (Gastropoda, Prosobranchia), вторым промежуточным хозяином, как правило, являются двустворчатые моллюски *Mytilus edulis* и *Cerastoderma edule*. Окончательный хозяин паразита – это чайки. Появилась необходимость описать кариотип *H.elongata*, так как этот вид становится популярной моделью зоологических и молекулярно-биологических исследований.

Препараты хромосом приготовлены из суспензии клеток партенит, полученных из зараженных *Littorina littorea*. Сбор инфицированных паразитом улиток и обработку материала проводили на беломорской станции ЗИН РАН «Картеш». Дифференциальную окраску проводили флуорохромами DAPI и хромомицином А3.

Использовали хромосомы поздней профазы, полученные на давленных препаратах клеток в пропионовой кислоте. Кариотип *H.elongata* состоит из 12 пар хромосом: 1m+1sm+10st. Для точной идентификации каждой хромосомы набора создали банк изображений, отражающих типичные вариации. В банке представлены микрофотографии отдельных окрашенных DAPI хромосом поздней профазы, имеющих высокое разрешение бэндов. Построенные по этим изображениям идеограммы *H. elongata* насчитывают 130 полос. Среднее физическое разрешение одной полосы составляет около 9.2 Мб. Картирование кластеров 18S рДНК выявило до 5 локусов на хромосомах 3, 6 и 10. Хромосомный полиморфизм *H. elongata* обусловлен варьированием размеров блоков перичентромерного гетерохроматина (хромосома №1), а также различиями в дифференциальной окраске терминальных бэндов у хромосом 2, 3, 4, 5 и 9. В этих хромосомах субтеломерные участки ярко окрашиваются хромомицином А3, но не DAPI. Иногда у гомологичных хромосом наблюдали небольшие различия в дифференциальной окраске. Обе формы полиморфизма свидетельствуют о высоком уровне популяционной изменчивости и подтверждают высокую вероятность перекрестного оплодотворения взрослых паразитов. Кариотип *H. elongata* (2n=24) содержит большее количество хромосом, чем у ранее изученных представителей семейства *Echinostomatidae* (2n = 14-22).

Кариологические данные по другим видам *Himasthla* отсутствуют, и неизвестно, является ли число хромосом $2n = 24$ характерным для этого рода.

KARYOTYPE FEATURES OF *HIMASTHLA ELONGATA* (*DIGENEA*, *ECHINOSTOMATIDAE*)

Solovyeva A.¹, Stefanova V.¹, Podgornaya O.^{1,2}, Demin S.¹

1 - Institute of Cytology RAS,

2 - Saint-Petersburg State University

orcinuca@gmail.com

Himasthla elongata (Mehlis, 1831) is a common parasite species in the coastal ecosystems of northern European seas. Like other trematodes, it has a complex lifecycle with alterations of hosts and parthenogenetic and hermaphrodite generations. The first intermediate hosts of this parasite are intertidal snails of the genus *Littorina* (Gastropoda, Prosobranchia) and the second intermediate hosts are mostly intertidal bivalves *Mytilus edulis* and *Cerastoderma edule*; its final hosts are gulls. Due to the fact that *H.elongata* becomes a popular model for zoological and molecular studies, but it yet has not been studied cytogenetically, it became necessary to describe its karyotype.

Chromosome preparations were made of parthenitae cells obtained from naturally infected *Littorina littorea*. Collection of periwinkles infected with *H. elongata* and cell suspension preparation were carried out at the White Sea coast near the “Karthesh” biological station (Zoological institute, RAS).

We used late prophase chromosomes obtained by high-pressure squashing of cell suspensions in propionic acid. Chromosome set of *H.elongata* consists of 12 chromosome pairs: 1m+1sm+10st. For accurate identification of individual chromosomes of the set we created an image bank of all individual high-resolution DAPI-banded chromosomes that represented their typical structural variations. Constructed ideograms of late prophase DAPI-banded chromosomes of *H. elongata* contain 130 individual bands. Physical resolution of average prophase band of *H. elongata* chromosomes is about 9.2 Mb. High-resolution FISH mapping of 18S rDNA clusters revealed up to 5 loci on to chromosomes nos. 3, 6 and 10. Chromosomal polymorphism in *H. elongata* includes the size variation of pericentromeric heterochromatin blocks(chromosome no. 1) and differential staining variations of terminal bands in chromosomes nos. 2, 3, 4, 5 and 9. These chromosomes have In these chromosomes subtelomeric bands are brightly stained by chromomycin A3, but not DAPI. Sometimes we observed slight differences in homologous chromosomes banding. Both forms of the described polymorphism indicate high level of population variability concerning these features and confirm high possibility of cross-fertilization between parasite adults. *H. elongata*.(2n=24) karyotype contains more chromosomes than

previously studied *Echinostomatidae* ($2n = 14-22$) representatives. The lack of karyological data on the other *Himasthla* species doesn't allow us to propose whether such chromosome number ($2n=24$) is characteristic to this genus.

ЭВОЛЮЦИОННАЯ ГЕНОМИКА ОСЕТРОВЫХ (ACIPENSERIDAE)

EVOLUTIONARY GENOMICS OF STURGEONS (ACIPENSERIDAE)

Трифонов В.А.¹, Романенко С.А.^{1,2}, Побединцева М.А.^{1,2}, Кулемзина А.И.¹, Воробьева Н.В.¹, Сердюкова Н.А.¹, Интересова Е.А.³, Корентович М.А.⁴, Зайцев В.Ф.³, Беклемишева В.Р.¹, Билтуева Л.С.¹, Гладких О.Л.¹, Лемская Н.А.¹, Макунин А.И.¹, Кудрявцева А.В.⁵, Комиссаров А.С.⁶, Кливер С.⁶, Графодатский А.С.^{1,2}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Новосибирский филиал ФГБНУ Госрыбцентр, г.Новосибирск

⁴ФГБНУ Госрыбцентр, г. Тюмень

⁵ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, г. Москва

⁶Центр геномной биоинформатики им.Добржанского, СПбГУ, г. Санкт-Петербург

E-mail: vlad@mcb.nsc.ru

Семейство осетровых (Acipenseridae) представляет значительный интерес с точки зрения эволюции позвоночных благодаря базальному положению осетрообразных среди лучеперых рыб. Из 25 видов осетровых, представленных в современных экосистемах, 12 обитают на территории России. Чрезвычайная уязвимость осетровых и интенсивный промысел привели к значительному снижению численности. Несмотря на большой интерес к этой группе как с фундаментальной, так и с практической точки зрения, большинство представителей осетровых так и не было исследовано современными методами геномики и популяционной генетики. До сих пор остаются неясными множество аспектов биологии осетровых, начиная от системы определения пола и заканчивая генетическим разнообразием и структурой популяций и подвидов.

Основной целью настоящей работы является изучение геномных особенностей осетровых на примере двух видов, обитающих в бассейне Оби - стерляди *Asipenser ruthenus* и сибирского осетра *A. baerii*.

В нашей работе мы секвенировали геномы самца и самки стерляди с высоким покрытием (30x) на платформе HiSeq Illumina и собрали полученные риды в контиги с N50=500 пн. Транскриптомы гонад самца и селезенки самки также были секвенированы и на данный момент ведется их сборка, аннотация и сравнение с уже опубликованными транскриптомами других видов осетровых.

Другим направлением работы является подробное молекулярно-цитогенетическое исследование стерляди и сибирского осетра, осложненное высоким числом хромосом этих видов ($2n=120$ у стерляди и $2n=240$ у сибирского осетра). Мы отработали методику

получения и культивирования фибробластов стерляди и осетра, а также получения метафазных хромосом. Цитогенетические исследования позволили насытить цитологические карты стерляди и осетра молекулярными маркерами (5s, 18s, повтор HindIII, микросателлиты). Мы получили широкий набор хромосомспецифических библиотек стерляди с помощью микродиссекции и гибридизовали их на хромосомы самца и самки обоих видов. Полученные маркеры позволяют нам сузить поиск половых хромосом и половых маркеров этих видов, а также выявить особенности строения геномов, недавно подвергшихся эволюционной тетраплоидизации.

Мы выявили, что даже у стерляди часть маркеров присутствует в диплоидном виде, но значительная часть протяженных участков генома представлена в четырех копиях. Дальнейшие исследования позволят нам выявить и охарактеризовать другие особенности геномов, включая половые хромосомы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-14-00275.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА У КУРИЦЫ

Трухина А.В., Смирнов А.Ф.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
trukhina_ant@mail.ru

Проблема детерминации и дифференцировки пола представляет собой интереснейший раздел биологии. Хотя научная разработка этой проблемы началась еще в начале XX века, по-прежнему, остается открытым вопрос о принципах, которые лежат в основе гетероморфизма половых хромосом. До сих пор нет ясности, какие гены, локализованные в половых хромосомах и аутосомах, участвуют в генетическом контроле определения пола.

Пол — это совокупность морфологических и физиологических особенностей организма, обеспечивающих половое размножение, сущность которого сводится к оплодотворению, т.е. слиянию мужских и женских половых клеток (гамет) в зиготу, из которой развивается новый организм. Реализация генетической программы формирования пола у многоклеточных организмов представляет собой сложный многоступенчатый процесс. Его детерминация и дифференцировка контролируется множеством генов, которые располагаются как в половых хромосомах, так и в аутосомах. Так, мы проанализировали базу данных (NCBI) протеома человека и выявили 467 генов, продукты которых взаимодействуют с рецепторами половых гормонов. Большинство из них имеют гомологов в геноме курицы. Распределив соответствующие гены по хромосомам курицы, нам удалось получить своеобразную «функциональную» карту генома данного объекта.

Под термином «функциональная карта генома» мы понимаем карту распределения генов в геноме изучаемого организма, продукты которых отвечают за развитие одного общего признака в ответ на определенный молекулярный сигнал. В данном случае таким сигналом является действие половых гормонов (андроген и эстроген) на соответствующие рецепторы (AR и ER).

Для млекопитающих описано множество эпигенетических механизмов регуляции дифференцировки половых клеток. Так, считается, что при вхождении их в зачатки половых желез (гонад) геном первичных половых клеток (ППК) подвергается метилированию, а хроматин ремодулируется. У птиц эпигенетические механизмы контроля детерминации и дифференцировки пола описаны слабее: и для гонад, и для ППК.

С целью изучения влияния процессов метилирования – деметилирования ДНК в геноме курицы на созревание половых клеток мы осуществили инъекции деметилирующим агентом (5-азациитидин, 5-АЦ) в область эмбрионального диска куриных эмбрионов в первые дни инкубации (на 1-ый или 4-тый день инкубации). В результате этих инъекций мы ожидали получить инверсию первичного пола у самцов курицы через активацию МНМ-участка Z хромосомы и одновременную активацию двух аллелей предполагаемого полоопределяющего гена *DMRT1*. Известно, что МНМ-участок гиперметилирован в обеих Z-хромосомах самцов и гипометилирован в единственной подобной области Z-хромосомы самок. Важно, что особый статус метилирования устанавливается уже в 1-й день развития после откладки яйца. В наших экспериментах мы использовали микроинъекцию 5-АЦ в начальный период инкубации как особо важный для детерминации пола. Оказалось, что в этом случае инверсия пола встречается достаточно редко (1:20). Однако в гонадах экспериментальных 17-ти дневных эмбрионов самцов курицы мы наблюдали вступление в мейоз половых клеток. Причем в левой гонаде наблюдались клетки на стадиях зиготены – пахитены. У контрольных самцов (генетический пол контролировали с помощью ПЦР) такого не происходило.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 14-04-00994-а) и грантом Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-5115.2014.4.

ХРОМОТРИПСИС ПОД МИКРОСКОПОМ: СЛУЧАИ ЛОКАЛЬНОЙ ФРАГМЕНТАЦИИ ХРОМОСОМ ПРИ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Урываева И.В., Делоне Г.В., Маршак Т.Л., Дашенкова Н.О., Микаелян А.С.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва
uryvaeva.idb@bk.ru

Новые подходы и технологии биоинформатики в молекулярно-генетических исследованиях опухолевых клеток человека привели к открытию ранее неизвестного явления эволюции генома, получившего название хромотрипсис от “chromo” – хромосома, “thripsis” – распад на куски (Stephen et al., 2011). Хромотрипсис протекает как одномоментное катастрофическое событие распада и сразу репарации и неточной сборки небольших областей генома, содержащих одну-две хромосомы. В ходе хаотичного восстановления многие из возникших хромосомных фрагментов утрачиваются, а оставшиеся сшиваются и составляют новую мозаичную хромосому.

Сам процесс хромотрипсиса как чрезвычайно редкое и случайное явление происходит в единичных клетках и, как полагают, должен приводить к утрате ими жизнеспособности. Молекулярные признаки этого события были выявлены в 2-3% злокачественных опухолей всех тканевых типов. В таких случаях в клональных клеточных популяциях прогрессирующих опухолей были анализированы геномы клеток, которые после хромотрипсиса оказались способными к размножению и выжили в последующем отборе.

До последнего времени ряд авторов ставят под сомнение реальность явления хромотрипсиса, которое расценивается ими не более как гипотеза. Цитогенетический эквивалент этого события также известен только из графических схем. Как оказалось, на микроскопическом уровне многие кариотипические аномалии, в том числе и процесс хромотрипсиса, были оценены как артефакты или игнорированы по причине концептуальных ограничений. Однако после публикации (Stephen et al., 2011) в печати были представлены взятые из архивных материалов цитогенетических исследований опухолей микрофотографии aberrантных митозов и ретроспективно оценены как хромотрипсис.

В наших цитогенетических исследованиях клеток регенерирующей печени мыши также были обнаружены формы, которые предположительно могут быть идентифицированы как структурные проявления этого процесса .

Полагают, что причины одномоментной катастрофической перестройки генома так или иначе должны быть связаны с действием физических или химических агентов, вызывающих двунитевые разрывы ДНК. В настоящей работе цитогенетические признаки хромотрипсиса были обнаружены в единичных клетках печени мыши при

гепатоканцерогенезе, индуцированном сочетанием эффекта радиомиметика дипина и последующей частичной гепатэктомии. В цитогенетических препаратах колхицинированных клеток через 8-10 недель после инициации у двух животных были обнаружены единичные (числом 3-5, не более) метафазные пластинки, которые также ретроспективно могут быть расценены как структурное проявление процесса хромотрипсиса. Окраски способами G-banding и C-banding четко выявили присутствие в них мелких фрагментов, содержащих всего 3-4 полосы (band). Возможно, что присутствующие в тех же метафазных пластинках хромосомы, необычно длинные и нетипичной формы, могут представлять собой результат того же процесса хромотрипсиса. Происхождение этих клеток неопределенно, так как через 8-10 недель регенерации в данной модели пролиферируют гепатоциты, поврежденные дипином, а также клетки-предшественники из стволового резерва ткани печени.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ АССОЦИИИ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* В ПРОЦЕССЕ ООГЕНЕЗА

Усов К.Е., Вассерлауф И.Э., Стегний В.Н.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск
usovke@rambler.ru

Гетерохроматин играет важную роль в пространственной организации хромосом в ядре, с помощью которого образуются ассоциации прицентромерных, интеркалярных, теломерных районов хромосом друг с другом, а также контактирование этих районов хромосом с ядерной оболочкой. Сравнительно недавно было показано, что интерфазное ядро не является статичной структурой и для трехмерной организации хроматина свойственна определенная динамика, которая играет важную функциональную роль в клеточном ядре. Ранее нами была выявлена следующая ассоциация прицентромерных районов политенных хромосом в пространстве ядер трофоцитов яичников *D. melanogaster* – X-хромосома близко располагается с хромосомами 3 и 4, а хромосома 2 располагается напротив этих хромосом. Но встречались ядра трофоцитов и с иным взаимным расположением прицентромерных районов хромосом. Однако детального изучения пространственных ассоциаций прицентромерных районов хромосом трофоцитов *D. melanogaster* в ходе оогенеза не проводилось. В связи с этим, поставлена цель настоящего исследования – при помощи метода 3D-иммунофлуоресцентной микроскопии, изучить трехмерную организацию политенных хромосом и ассоциацию их прицентромерных районов в ядрах трофоцитов *D. melanogaster* в ходе оогенеза. Проведена 3D-иммунофлуоресцентная локализация антител против белков ламина Dm0 и HP1 в

интактных ядрах трофоцитов *D. melanogaster*, что позволило визуализировать ядерную оболочку, прицентромерные районы всех хромосом и теломерный район X-хромосомы. В результате показано, что все хромосомы трофоцитов контактируют с оболочкой ядра прицентромерными районами, а X-хромосома и теломерным. Кроме этого, на разных стадиях оогенеза было обнаружено три морфологических типа ассоциаций прицентромерных районов хромосом трофоцитов в пространстве ядра: прицентромерные районы хромосом 2, 3 и 4 близко расположены друг к другу, а X-хромосома обособлена от них (1-й морфотип); прицентромерные районы хромосом X, 2 и 3 равномерно удалены друг от друга (2-й морфотип); прицентромерные районы хромосом X и 3 близко расположены друг к другу, а прицентромерный район хромосомы 2 отдален от них (3-й морфотип). Причем на ранних стадиях оогенеза преобладали ядра трофоцитов с первым морфотипом, а на более поздних стадиях оогенеза преобладали ядра трофоцитов с третьим морфотипом. Таким образом, выявлена динамика ассоциаций прицентромерных районов хромосом в пространстве ядер трофоцитов яичников *D. melanogaster* в процессе оогенеза, которая, как мы предположили, основываясь на ранее полученные собственные результаты и литературные данные, может быть связана с формированием и активным функционированием ядрышка. В связи с этим в настоящей работе осуществлено иммунофлуоресцентное окрашивание ядрышка в интактных ядрах трофоцитов яичников *D. melanogaster* при помощи антител к белку фибрилларину. В результате установлено, что в ядрах трофоцитов яичников *D. melanogaster* помимо X-хромосомы, ядрышкообразующими являются также хромосомы 3 и 4, которые только на определенных стадиях оогенеза становятся активными в плане формирования второго крупного ядрышка. Мы предполагаем, что данные процессы являются причиной динамики пространственной ориентации прицентромерных районов политенных хромосом в ядрах трофоцитов в ходе оогенеза у *D. melanogaster*.

Работа проведена при финансовой поддержке Программы «Научный фонд им. Д.И. Менделеева Томского государственного университета».

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ *CHIRONOMUS PLUMOSUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) ИЗ ВОДОЕМОВ УРАЛА И ЗАУРАЛЬЯ

Филинкова Т.Н.

Уральский государственный педагогический университет, г. Екатеринбург
filink_57@mail.ru

Изучены политенные хромосомы 1014 особей *Chironomus plumosus* Linnaeus, 1758 из 18 водоемов Среднего Урала, Южного Урала и Южного Зауралья. Личинок IV возраста на месте сбора отмывали от грунта и фиксировали в растворе Карнуа. Для

кариологического анализа готовили давленные препараты интерфазных хромосом из клеток слюнных желез по этил-орсеиновой методике. Слюнные железы окрашивали 1,5-2% этил-орсеином в течении двух суток, после чего излишки орсеина смывали 70% этиловым спиртом и переносили железы на 2-3 часа в каплю 20% молочной кислоты. При картировании хромосом использовали стандартные цитофотокарты.

В результате проведенного исследования у *Ch. plumosus* выявлено 14 типов инверсий в гетерозиготном состоянии. Хромосомные перестройки отмечены во всех длинных хромосомах *Ch. plumosus*. В телоцентрической хромосоме *Ch. plumosus* хромосомные нарушения не выявлены. В хромосомном плече А отклонения от стандартной последовательности дисков встретились во всех обследованных водоемах. Количество особей *Ch. plumosus* с нарушениями в плече А в разных водоемах достаточно сильно отличается друг от друга. Диапазон данных отличий составляет 0,33-41,4% особей. В 10 популяциях *Ch. plumosus* отмечены хромосомные перестройки в плече В, количество особей с гетерозиготными инверсиями в плече В по разным водоемам также изменялось в достаточно широких пределах (0,2 - 53,3%). В 13 водоемах встретились нарушения дисковой структуры в хромосомном плече С. Инверсии в гетерозиготном состоянии в плече С в разных популяциях *Ch. plumosus* отмечены у 2-54% особей, то есть между популяциями по этому показателю могут быть значительные отличия. В 10 водоемах присутствуют нарушения стандартного порядка дисков у *Ch. plumosus* в хромосомном плече D. Хромосомные перестройки в плече D в зависимости от водоема отмечены у различного количества особей (0,7-50%). В 4 водоемах у *Ch. plumosus* обнаружены хромосомные нарушения в плече E. В разных популяциях нарушения в плече E отмечено у 3,3-22% особей. В 3 водоемах у *Ch. plumosus* отмечены инверсии в гетерозиготном состоянии в хромосомном плече F. Количество особей с нарушенной дисковой структурой в плече F в разных популяциях составило 0,7-1,5% особей. Число гетерозиготных инверсий на особь у *Ch. plumosus* в водоемах Среднего Урала изменялось от 0,8 до 1,3; в водоемах Южного Урала - от 0,22 до 1,02; в водоемах Южного Зауралья - от 0,4 до 0,6.

Таким образом, обследованные популяции *Ch. plumosus* отличаются качественными и количественными характеристиками инверсионного полиморфизма. Отличия в отношении хромосомных нарушений прослеживаются и по разным хромосомным плечам *Ch. plumosus*, чаще всего отклонения в дисковой структуре встречаются в плече А, реже – в хромосомном плече F. В 7 обследованных водоемах у *Ch. plumosus* отмечены В-хромосомы. Количество особей *Ch. plumosus* с геномной изменчивостью в разных популяциях различно (1,4-14,9%), то есть и по данному признаку существуют межпопуляционные отличия. Следует отметить, что цитотаксономические исследования

хириноид из водоемов Северного и Полярного Урала не выявили в них наличие *Ch. plumosus*.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДЕРНОГО И МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМОВ ЗС-МЕТОДАМИ

Фишман В.С.^{1,2}, Баттулин Н.Р.^{1,2}, Миронова И.В.^{1,2}, Помазной М.Ю.¹, Афонников Д.А.¹, Мазур А.М.³, Хабарова А.А.¹, Прохорчук Е.Б.³, Серов О.Л.^{1,2}

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск

³Центр биоинженерии РАН, г. Москва

minja-f@ya.ru

Технологии захвата конформации хромосом (chromosome conformation capture, ЗС-технологии) позволяют исследовать пространственную организацию ДНК с беспрецедентно высоким разрешением. Используя ЗС-методы, было показано, что хромосомы эукариот организованы в компактные пространственные (топологические) домены, которые являются базовой единицей важнейших геномных процессов, таких как транскрипция, репликация и молекулярная эволюция. При этом во всех исследованных типах соматических клеток млекопитающих пространственная архитектура ядерного генома демонстрирует поразительное сходство. Более того, общие принципы пространственной организации наблюдаются при сравнении архитектуры интерфазного ядра клеток млекопитающих, дрозофилы и дрожжей.

Для понимания того, какие механизмы обеспечивают формирование сходной пространственной структуры в разных типах соматических клеток, и даже в клетках разных видов, мы провели исследование пространственной организации ДНК в высокоспециализированном типе клеток млекопитающих – зрелых сперматозоидах мыши, а также исследовали пространственную организацию митохондриального генома, который по своим параметрам кардинально отличается от ядерных геномов.

Исследование зрелых сперматозоидов мыши методом Hi-C показало, что, не смотря на ряд особенностей этих клеток: гаплоидный геном, упаковку ДНК протаминами, отсутствие процесса транскрипции и на порядок меньший размер ядра по сравнению с соматическими клетками, пространственная организация ДНК в сперматозоидах поразительно сходна с пространственной организацией геномов соматических клеток. В частности, в геноме сперматозоидов были выявлены топологические домены и A/B-компарменты, характерные для всех ранее исследованных типов клеток млекопитающих. Для объяснения небольшого числа различий в пространственной укладке геномов соматических клеток и сперматозоидов, мы разработали модель компактизации генома, что позволило объяснить приблизительно четверть выявленных различий.

Упаковка митохондриального генома кардинально отличается от упаковки ядерных геномов. Митохондриальный геном является кольцевой молекулой, по длине на несколько порядков меньше, чем ядерный геном, не содержит гистонов или протаминов и имеет очень высокую плотность генов на единицу длины.

Проведенный методами 3С-qPCR и 5С анализ пространственной организации митохондриальной ДНК человека показал, что фрагменты ДНК митохондриального генома, также как и ядерного, имеют специфический паттерн пространственных контактов. Используя метод 5С, нами были впервые построены детальные карты взаимодействующих участков митохондриального генома человека.

Таким образом, основные принципы 3D-структуры ядерного генома не зависят от клеточного типа и таких параметров, как размер интерфазного ядра или наличие процесса транскрипции. Изменения в упаковке ДНК на самом базовом уровне – замена гистонов на протамины, происходящая в ходе созревания сперматозоидов, также не оказывает существенного влияния на пространственную организацию генома в этих клетках. Более того, наличие пространственных контактов является базовым атрибутом как ядерного, так и кардинально отличающегося от него митохондриального генома.

АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ВАРИАЦИЙ ГЕНОМА У ПОЛУЧАВШИХ ХИМИОТЕРАПИЮ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИЗ КАЗАХСТАНА

Хрунин А.В.¹, Хансеитова А.К.², Алиев А.М.¹, Балмуханов Т.С.², Айтхожина Н.А.², Лимборская С.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, г. Москва, Россия

²Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, г. Алматы, Казахстан
khrunin@img.ras.ru

Системная лекарственная терапия является неотъемлемой частью лечебного процесса у подавляющего большинства онкологических больных. Однако традиционные прогностические факторы часто не позволяют предсказать, какие препараты окажутся эффективными у данного больного, что требует идентификации дополнительных критериев, которые могли бы быть использованы для тестирования пациентов до начала лечения. Одна из возможностей оптимизации подходов к подбору препаратов и схем лечения связывается с учетом индивидуальных различий в последовательностях молекул ДНК (ДНК полиморфизм). Для изучения вклада индивидуального геномного полиморфизма в различия в реакциях больных раком молочной железы на лечение нами был спроектирован ДНК-микрочип, включающий однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) генов, белковые продукты которых, в большинстве своем, задействованы в

метаболизме и транспорте препаратов, применяемых в химиотерапии рака молочной железы. Полный список содержал 26 генов (гены *SLCO1B3*, *ABCB1*, *ABCC2*, *ABCG2*, *ABCC1*, *CYP3A4*, *CYP1B1*, *CBR1* и др.). Отбор SNPs для тестирования проводился на основе анализа базы данных генотипов проекта 1000 геномов (<http://browser.1000genomes.org/index.html>). Области поиска SNPs включали районы локализации самих генов и прилегающие к началу и концу генов участки хромосом протяженностью в 1kb. Для оптимизации численности генотипируемых полиморфных локусов в анализ включались лишь tagSNPs с частотой встречаемости минорного аллеля не менее 5%. Принципиальным в нашей работе было использование более высокого порогового коэффициента неравновесия по сцеплению $r^2 = 0.95$, в сравнении с традиционно принимаемым $r^2 = 0.80$. Это дало нам возможность получить максимально представленный для каждого из генов набор полиморфизмов (от 3 до 93 SNPs на ген), который, к тому же, в меньшей степени подвержен эффекту выявления ошибочных ассоциаций, возникающих из-за колебаний величин неравновесия по сцеплению в парах локусов. Тестовая оценка работоспособности микрочипа, проведенная на выборке из 384 индивидуумов, продемонстрировала его высокую дискриминирующую эффективность в отношении большинства полиморфизмов (лишь 3% SNPs имели «call rate» менее 95%). Это позволило нам использовать его в качестве адекватного инструмента для реализации программы исследований на всей группе больных.

ОРИДЖИНЫ РЕПЛИКАЦИИ ЦЕНТРА ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ ПОЛЕВКИ *MICROTUS LEVIS*

Шерстюк В.В.^{1,2,3}, Шевченко А.И.^{1,2,3}, Закиян С.М.^{1,2,3,4}

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

³Новосибирский научно-исследовательский институт патологии и кровообращения им.ак. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск

⁴Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск
zakian@bionet.nsc.ru

Участки генома, в которых происходит инициация репликации ДНК, также известные как ориджины репликации являются важным элементом геномов различных организмов, в том числе и млекопитающих. Ориджины репликации млекопитающих не имеют консенсусной последовательности, что осложняет их поиск в геноме и изучение механизмов их регуляции. Полногеномные данные о расположении ориджинов свидетельствуют об организации последних в зоны инициации репликации, состоящие из нескольких ориджинов. Несмотря на обилие полногеномных данных, изучение ориджинов

репликации и их регуляции в составе отдельных зон представляет, на сегодняшний день, актуальную задачу. Одной из таких зон инициации репликации является центр инактивации X-хромосомы восточноевропейской полевки *Microtus levis*.

В данной работе был проведен поиск и анализ ориджинов репликации в трофобластных стволовых клетках, клетках экстраэмбриональной эндодермы и в фибробластах в центре инактивации X-хромосомы полевки. Проведен анализ первичной структуры ДНК в районах обнаруженных ориджинов репликации и их ассоциации с poly(dA)-poly(dT) трактами и G-квадруплексами. Проанализировано распределение варианта гистона H3.3 и модификаций гистонов, таких как ацетилированный H3K9, монометилированный H4K20 и триметилированный H3K27. Полученные результаты позволили установить, что центр инактивации X-хромосомы полевки представляет собой зону инициации репликации, а также вынести предположение о механизмах, участвующих в регуляции ориджинов репликации в данном локусе. Кроме того, проведен сравнительный анализ ориджинов репликации в центрах инактивации X-хромосомы у полевки и мыши.

Работа поддержана РФФИ 14-04-00710

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИЙ ЭНДОМЕТРИЯ

Шилина М.А., Гринчук Т.М.

Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург

e-mail: Shili-mariya@yandex.ru

Целью настоящей работы был сравнительный анализ линий эндометриальных мезенхимных стволовых клеток (эМСК) человека из десквамированного эндометрия менструальной крови, полученных от здорового донора (линия 23-04) и донора с аденомиозом (линия 04-04). В обоих случаях клетки выделяли и культивировали при одинаковых условиях. В работе были использованы следующие методы: иммунофлуоресцентная окраска эМСК, фенотипирование по CD маркерам, направленная дифференцировка, оценка пролиферации (построение кривых роста и распределение по циклу), кариотипический анализ метафазных хромосом окрашенных дифференциально на G-диски. Хромосомы идентифицировали в соответствии с Атласом хромосом человека.

Результаты работы показали, что эМСК обеих линий имели фибробластоподобную морфологию, дифференцировались в остеогенном и адипогенном направлении, имели одинаковый дифференцировочный потенциал, экспрессировали CD 13, CD29, CD 44, CD 73, CD90, CD 105 и не экспрессировали CD 34, CD 45, CD 117, CD 130, HLA – DR класса II. Это позволило говорить о том, что фенотип данных линий соответствует фенотипу клеток

мезенхимного стромального ряда. Время удвоения эМСК каждой линии составило 22-23 и 47-48 часа, соответственно.

Цитогенетический анализ эМСК сравниваемых линий, проведенный на одних и тех же пассажах (п. 6-7), показал, что эМСК от здорового донора (линия 23-04) преимущественно имели нормальный не перестроенный кариотип. Отклонения от нормы носили случайный характер и были связаны с изменением копийности тех или иных хромосом набора (моносомия, трисомия) и появлением таких хромосомных перестроек, как изохромосомы и Робертсоновские транслокации.

Популяция эМСК линии 04- 04, полученная от пациентки с диагнозом «аденомиоз» по цитогенетическим характеристикам существенно отличалась от эМСК здорового донора. Число клеток с нарушениями структуры кариотипа (как по числу хромосом, так и по наличию хромосомных aberrаций) доминировало (90 %), увеличение числа копий (трисомия) наблюдали в хромосомах 1, 3, 6, 7, 21, моносомию – в хромосомах 5, 11, 15, 16, 17. На фоне повышенной генетической нестабильности, такие хромосомные перестройки, как Робертсоновские транслокации и изохромосомы, отсутствовали. Основным типом морфологических изменений в структуре кариотипа эМСК от пациентки, больной аденомиозом были поломки хромосомного материала с возникновением дефектных хромосом. Повышенная ломкость была выявлена в хромосомах 3,7,11. Не исключено, что спектр хромосом, характеризующихся повышенной ломкостью, равно как и хромосом, вовлеченных в процесс анеуплоидизации клеток, при анализе большего числа метафазных пластинок может оказаться шире. В кариотипе эМСК от здорового донора поломки хромосомного материала отсутствовали.

Сопоставление результатов настоящей работы с кариотипическими характеристиками эМСК от пациентов с эндометриозом, имеющимися в литературе, позволяет говорить о том, что возникновение различных патологий эндометрия сопряжено с нарушением стабильности структуры кариотипа эМСК, в частности с нарушением стабильности морфологии хромосом 7 и 11. Полученные данные говорят в пользу того, что фундаментальные исследования в данном направлении могут помочь пониманию генетических механизмов возникновения гинекологических заболеваний данной направленности и могут быть полезны в разработке методов их диагностики и терапии.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ – AUTHORS INDEX

- Abramov Yu. 45
Adnađević T. 45
Akulenko N. 38, 45
Alexander J.L. 12
Andreeva E.N. 35, 50
Artemov G. 50
Ault J.G. 34
Babenko V. 12
Badaeva E. 48
Barbash D.A. 13
Beklemischeva V.R. 31
Belyakin S.N. 44
Belyayev A. 19
Berkaeva M. 65
Bessmeltsev V.P. 39
Bhandari J. 14
Biyasheva Z.M. 67
Blagojević J. 45
Boldyreva L.V. 50
Boldyreva Lidiya V. 14, 30
Bonaccorsi S. 43
Borghi C. 17
Bosso G. 17
Bucciarelli E. 43, 47
Budinski I. 45
Bugarski-Stanojević V. 45
Bugrov A.G. 16, 27
Bulatova N.Sh. 32, 69
Buleu O. 16, 27
Burla R. 35
Cacchione S. 17
Cai W. 28
Cenci G. 17, 35
Chen J. 43
Chernyaeva E.N. 41
Ciapponi L. 35
Cipressa F. 17
Dantchenko A.V. 51
Dean A. 36
Deineko E. 40
Demakov S.A. 65
Demakova O.V. 14, 30
Demidov D. 40
Demidova D.S. 87
Demin S. 161
Earnshaw W.C. 17
Erenpreisa J. 18, 19
Evtushenko E.V. 20
Fanti L. 14
Fedorov L. 21
Filter J.J. 52
Fuchs J. 25
Galati A. 17
Gao G. 54
Gatskaya S.S. 20
Gatti M. 35, 39, 43, 47, 50
Gebhardt K. 37
Gerashchenko B.I. 19
Girton J. 28
Giuliani A. 18
Gladkikh O. 29
Gokhman V.E. 22
Goldberg M.L. 52
Golenishchev F.N. 33
Golic K. 14
Golic M. 14
Goncharov F.P. 14, 30
Graphodatsky A.S. 31
Gulevich R.G. 31
Hall A.B. 50
Hause G. 37
Hausmann M. 19
Hayward D. 43
Heck M.M.S. 24
Heckmann S. 25
Herbeck Y.E. 31
Hill H. 14
Houben A. 20, 25, 40, 48
Hua B. 12
Ilkova J. 36
Ivanov R.S. 25
Ivanova E.A. 25
Jankowska M. 25
Jetybaev I.E. 27
Jiang X. 50
Johansen J. 28
Johansen K.M. 28
Johnson J.L. 31
Jojić V. 45
Jovanović V. 45
Kalmykova A. 38, 45
Karamysheva T. 16
Kartavtseva I.V. 29, 33
Kessler J. 37
Kharlamova A.V. 31
Khodjakov A. 34
Kiseleva E.V. 50, 102
Kolesnikov N.N. 14
Kolesnikova T.D. 30
Komissarov A.S. 41
Koryakov D.E. 44
Kouprina N. 17
Krasnov A.N. 75
Krufczik M. 19
Kukekova A.V. 31
Kumari D. 53
Kurzahls R. 14
Kuznetsova I.S. 41
Larionov V. 17
Larkin D.M. 112

Lavrenchenko L.A. 32, 69
 Lemskaya N.A. 29, 33
 Levitsky V.G. 14, 87
 Li Y. 28
 Liehr T. 16, 34
 Lin H.-C. 14
 Lipikhina Yu.A. 20
 Liu S. 31
 Loginova D.B. 118
 Lukhtanov V.A. 51
 Macas J. 25, 48
 Magidson V. 34
 Maksimov D.A. 44
 Mannini L. 17
 Marques A. 25
 Martins N. 17
 Marzullo M. 35
 Masumoto H. 17
 Mazina M.Yu. 75
 McEwen B.F. 34
 Michailova P. 36
 Mietzsch S. 37
 Mogilner A. 34
 Molina O. 17
 Morciano P. 17, 35
 Morgunova V. 38
 Munzarova A.F. 39, 43
 Mursalimov S. 40
 Musio A. 17
 Nadjafova R.S. 32
 Naumenko A.N. 50
 Neumann P. 25
 Nikolenko J. V. 75
 Nordman J. 12
 O'Connell C.B. 34
 Olovnikov I. 38
 Omelyanchuk L.V. 39, 50, 67
 Orr-Weaver T.L. 12
 Ostromyshenskii D.I. 41
 Palena A. 43
 Pankova T. 65
 Pastova L. 19
 Paul R. 34
 Pavlova G.A. 39, 43
 Pedrosa-Harand A. 25
 Peery A. 50
 Pellacani C. 43, 47
 Permyakova N. 40
 Pimpinelli S. 14
 Pindyurin A.V. 14, 39, 43, 50
 Podgornaya O.I. 41, 143, 161
 Popova J.V. 39, 43
 Posukh O.V. 44
 Radion E. 38, 45
 Raffa G.D. 17, 35
 Raimondo D. 35
 Rajičić M. 45
 Rando H.M. 31
 Razuvaeva A.V. 39, 43
 Renda F. 43, 47
 Reuter G. 37
 Rieder C.L. 47
 Romanova E. 48
 Rong Y.S. 54
 Ruban A. 48
 Rubtsov N.B. 27
 Rudolph T. 37
 Saggio I. 35
 Saifitdinova A.F. 51
 Salmina K. 19
 Schubert V. 25, 48
 Semeshin V.F. 14
 Sengupta S. 28
 Serdyukova N.A. 31
 Shalloway D. 52
 Shaohong F. 31
 Sharakhov I.V. 50
 Sharakhova M.V. 50
 Sharp D.J. 47
 Sherbakov D. 48
 Sheremetyeva I.N. 29, 33
 Sidorchuk Yu. 40
 Sidorenko I.A. 87
 Silkova O.G. 118
 Sirotinina E. 48
 Skvortsova K.N. 44
 Solovyeva A. 161
 Somma M.P. 43, 47
 Stamenković G. 45
 Stefanova V. 161
 Stegnyy V.N. 50
 Strunov A.A. 50
 Temirbekova M.N. 67
 Tereshenko L.M. 25
 Tikhonenko I. 34
 Titen S. 14
 Trut L.N. 31
 Tu Z. 50
 Usdin K. 53
 Vafina G.H. 25
 Vaysertreyger I. 41
 Vershinin A.V. 20
 Vileyko V.V. 39
 Vishnevskaya M.S. 51
 Vladimirova A.V. 31
 Vorobyeva N.E. 75
 Vujošević M. 45
 Wakefield J.G. 43
 Walther M. 37
 Wang C. 28
 Wanner G. 25
 Wei M. 25
 White K. 36
 Williams B.C. 52

Xiang X. 31
Xu D. 58
Yang N. 34
Yudkin D.V. 53
Zhang G. 31
Zhang L. 54
Zhang Y. 54
Zhimulev I.F. 14, 30, 87
Zykova T.Yu. 14, 87
Абдурахмонов И.Ю. 156
Айзенштадт А.А. 95
Айтхожина Н.А. 170
Алиев А.М. 170
Амосова А.В. 155
Ананьина Т.В. 55
Андреева Е.Н. 56
Андреев О.В. 146
Андреев Н.Г. 146
Андреюшкова Д.А. 58
Артемьев Г.Н. 59
Артюхова В.Г. 96
Афонников Д.А. 169
Баклушинская И.Ю. 126
Балмуханов Т.С. 170
Барановская И.Л. 60, 106
Баричева Э.М. 132
Баттулин Н.Р. 169
Беклемишева В.Р. 58, 61, 162
Беленко А.А. 69
Беляева Е.С. 146
Белянина С.И. 62
Беркаева М.Б. 64
Билтуева Л.С. 66, 137, 162
Бияшева З.М. 67
Бобохужаев Ш.У. 156
Богданов Ю.Ф. 82, 158
Брошков А.В. 85
Букин Ю.С. 130
Булатова Н.Ш. 68
Вайсертрейгер И. 135
Васильев С.А. 69, 90, 94
Вассерлауф И.Э. 71, 166
Васькова Е.А. 72
Ведерников А.Е. 73
Величевская А.И. 69
Вергун А.А. 136, 152
Виниченко Н.А. 114
Вишневская Т.В. 69
Волков К.В. 128
Волкова Е.И. 146
Воробьева Н.В. 66, 74, 94, 111, 120, 122, 139, 162
Гаврилов А.А. 93
Гагинская Е.Р. 88, 153
Гайнер Т.А. 75
Галембо И.А. 95
Галкина С.А. 88, 153
Гацкая С.С. 116
Гвоздев В.А. 129
Гельфанд М.С. 93
Георгиев П.Г. 79, 127
Георгиева С.Г. 107
Герашенко Т.С. 90
Гирнык А.Е. 152
Гладких О.Л. 66, 77, 162
Глазков М.В. 78
Голенищев Ф.Н. 77, 151
Головнин А.К. 79, 127
Гольгина В.В. 85
Гопаненко А.В. 72
Градов О.В. 80
Графодатский А.С. 61, 66, 77, 94, 103, 122, 138, 139, 162
Грибова О.В. 69
Григорьева Е.В. 82
Григорян Э.Н. 123
Гринчук Т.М. 144, 172
Гришаева Т.М. 82
Грищенко И.В. 84
Гундерина Л.И. 85
Гуторова Н.В. 94
Дашенкова Н.О. 165
Делоне Г.В. 165
Демаков С.А. 64, 146
Демидова Д.С. 86, 87
Демин А.Г. 88
Демин С.Ю. 160
Денисов Е.В. 90
Дергунова Л.В. 116
Десницкий А.Г. 91
Джиованотти М. 103
Дольский А.А. 84
Дорогова Н.В. 98
Доронин С.А. 93
Дружкова А.С. 94
Дэрвиш Д. 151
Енукашвили Н.И. 95, 144
Ермолаева О.В. 85
Жигалина Д.И. 96
Жимулев И.Ф. 87
Завьялова М.В. 90
Зайцев В.Ф. 139, 162
Закиян С.М. 72, 171
Захаренко Л.П. 98, 99
Зеленин А.В. 155
Зиновьева Р.Д. 124
Злотина А.М. 110
Зошук С.А. 155
Зыкин П.А. 128
Зыкова Т.Ю. 86, 87
Игнатенко О.М. 98, 99
Игнатьева М.А. 106
Илинский Ю.Ю. 99
Интересова Е.А. 139, 162

Иорданская И.В. 158
Кабилов М.Р. 72, 94, 103
Карамышева Т.В. 75
Каримова О.Г. 75
Карпова Г.Г. 72
Картавцева И.В. 77
Карташов М.Ю. 114
Кирикович С.С. 114
Киселева Е.В. 100
Кичигин И.Г. 103, 122
Кленов М.С. 129
Кливер С. 162
Клименков И.В. 104
Коломиец О.Л. 126, 158
Комиссаров А.С. 135, 153, 162
Конев А.Ю. 60, 106, 120
Копытова Д.В. 107
Корентович М.А. 139, 162
Корчагин В.И. 152
Костюченко М.В. 79, 127
Косякова Н. 110
Коханенко А.А. 109
Кошель Е.И. 153
Красикова А.В. 110
Краснов А.Н. 74, 111, 120
Кудрявцева А.В. 162
Кузнецова И.С. 135
Кулак М.М. 153
Кулемзина А.И. 61, 66, 139, 162
Куликова Т.В. 110
Куличенко Д.А. 82
Куршакова М.М. 107
Куслий М.А. 94
Лавренченко Л.А. 68
Ларкин Д.М. 122
Лебедев И.Н. 69, 96, 113
Левитес Е.В. 114
Левицкий В.Г. 87
Лемская Н.А. 58, 61, 66, 77, 162
Лимборская С.А. 116, 170
Липихина Ю.А. 116
Лир Т. 110
Лухтанов В.А. 119
Мазина М.Ю. 74, 111, 120
Мазур А.М. 169
Макамов А.Ш. 156
Макасе А. 60, 106, 120
Макунин А.И. 94, 103, 122, 139, 162
Маликов В.Г. 151
Мальгин А.А. 72
Мальцева А.Л. 128
Маркитантова Ю.В. 123, 124
Маршак Т.Л. 165
Матвеева В.Г. 75
Матвеевский С.Н. 126
Махмуди А. 151
Медведев С.П. 72
Мельникова Л.С. 79, 127
Микаелян А.С. 165
Миронова И.В. 169
Михайлова Е.И. 128
Михалева Е.А. 93, 129
Молодин В.И. 94
Муравенко О.В. 155
Натяганова А.В. 130
Недилько П.Н. 120
Нижников А.А. 128
Николенко Ю.В. 74, 111, 120
О'Брайен П.С.М. 77, 122
О'Брайен С.Д. 122, 153
Огиенко А.А. 132
Омельченко А.В. 152
Омельянчук Л.В. 67
Осипов Ф.А. 152
Остромышенский Д.И. 133, 135
Павлова Г.В. 136
Павлова С.В. 137
Панкова Т.Е. 64
Пастухов М.В. 104
Паутова Д.Н. 90
Перельман П.Л. 61, 138
Перельмутер В.М. 90
Петросян В.Г. 152
Пиндюрин А.В. 132
Побединцева М.А. 139, 162
Подгорная О.И. 133, 135, 140, 160
Помазной М.Ю. 169
Пономарцев Н.В. 144
Поплинская В.А. 123
Попова В.В. 107
Попова К.О. 94
Похолкова Г.В. 146
Праздников Д.В. 147
Проскурякова А.А. 61, 122
Прохорчук Е.Б. 169
Пустогаров Н.А. 136
Разин С.В. 93
Рафаилов А.М. 149
Рафаилова М.А. 149
Ревещин А.В. 136
Рожкова А.В. 116
Рожнов В.В. 137
Романенко С.А. 66, 77, 137, 139, 151, 162
Рубцов Н.Б. 75
Рысков А.П. 136, 152
Сайфитдинова А.Ф. 88, 153
Саматадзе Т.Е. 155
Санамьян М.Ф. 156
Сапунов Г.А. 59
Светлаков А.В. 96
Семенова С.К. 152
Сердюкова Н.А. 58, 66, 77, 139, 162
Серов О.Л. 169
Сидоренко И.А. 86, 87

Симановский С.А. 158
Скрябин А.А. 69
Скрябин Н.А. 90, 96
Слепцов А.А. 69
Смирнов А.Ф. 163
Смирнова Ю.А. 124
Смолянинов А.Б. 95
Сморкачева А.В. 77
Соловьева А.И. 160
Старцева Ж.А. 69
Стегний В.Н. 55, 59, 71, 73, 109, 166
Стефанова В.Н. 160
Столяренко А.Д. 129
Судаков Н.П. 104
Сударкина О.Ю. 116
Темирбекова М.Н. 67
Терновой В.А. 114
Тимошкин О.А. 130
Толкачева А.В. 128
Трифонов В.А. 58, 66, 94, 103, 122, 139, 162
Трухина А.В. 163
Тупикин А.Е. 103
Ульянов С.В. 93
Урываева И.В. 165
Усдин К. 84
Усмонов Д.Е. 156
Усов К.Е. 71, 166
Федоришин Д.А. 55

Федорова Е.В. 132
Фергюсон-Смит М.А. 77, 103, 122
Филинкова Т.Н. 167
Филиппенков И.Б. 116
Фишман В.С. 169
Флямер И.М. 93
Фурсова Н.А. 120
Хабарова А.А. 169
Хансеитова А.К. 170
Храмеева Е.Е. 93
Хрунин А.В. 170
Чаусов Е.В. 114
Чердынцева Н.В. 90
Черняева Е.Н. 122, 135
Шабарина А.Н. 78
Шевелев Ю.Я. 93
Шевченко А.И. 82, 171
Шерстюк В.В. 72, 171
Шилина М.А. 144, 172
Широкова В.В. 59
Шунькина К.В. 95
Щербаков Д.Ю. 94, 139
Щинов А.В. 137
Юдкин Д.В. 84
Юрлова А.А. 94
Якушев Е.Ю. 129
Янг Ф. 77, 122
Яринич Л.А. 132



БИОХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

Компания «Химмед» поставляет материалы и оборудование любой категории сложности для биотехнологических, фармацевтических производств, аналитических и научно-технических лабораторий, экспертных отделов и отраслевых лабораторий контроля качества.

Реактивы для биохимических исследований

- Антитела
- Готовые тест-системы ИФА
- Рекомбинантные белки
- Готовые наборы для выделения, очистки ДНК, РНК, белков
- Липиды
- Расходные реагенты для ПЦР
- Рестриктазы (эндонуклеазы рестрикции)
- ДНК-полимеразы
- Оценка результатов ПЦР методом электрофореза
- Маркеры молекулярного веса белков (для электрофореза)
- Маркеры молекулярного веса ДНК (для электрофореза)
- Антибиотики/антимикотики для трансфекции
- Красители
- Материалы для цитогенетики
- Культуральные добавки и факторы роста
- Изотонические растворы
- Наборы для обнаружения микоплазмы
- Питательные среды
- Растворы для разделения клеток
- Реактивы для исследования стволовых клеток
- Сыворотки
- Реактивы для молекулярной биологии
- Дeterгенты
- Средства деконтаминации от ДНК, РНК и РНКазы
- Мембраны для переноса
- Расходные материалы для микробиологии

Пластиковые расходные материалы и посуда LIFE SCIENCE

- Пластиковая посуда для культур клеток
- Пластиковая посуда для ПЦР
- Пипетки и наконечники
- Центрифужные пробирки
- Фильтрационные системы
- Криопробирки и аксессуары
- Емкости для хранения
- Рентгеновская пленка
- Колонки для обессоливания
- Устройства для диализа

Оборудование для биохимических исследований

- Биомедицинские, поляризационные и стереомикроскопы
- Оборудование для секвенирования ДНК, проточной цитометрии, ПЦР и ПЦР в реальном времени
- Оборудование для электрофореза и блоттинга, системы гель-документирования
- Роботизированные раскапывающие станции, микропланшетные ридеры и промыватели
- Оборудование для биочипов



СЕКВЕНИРОВАНИЕ ДЛЯ ЛЮБЫХ ЗАДАЧ



HiSeq™

Высокопроизводительный секвенатор для масштабных исследований позволяет решить задачи любой сложности

- >10 геномов человека 30x
- >50 транскриптомов
- >100 экзомов



NextSeq™

Компактный и производительный секвенатор обеспечит гибкие возможности для анализа целых геномов, экзомов и транскриптомов

- 1 геном человека 30x
- 4-16 транскриптомов
- 12 экзомов



MiSeq™

Персональный секвенатор позволяет в кратчайшие сроки получить высокоточные результаты. Идеальное решение для исследования целевых последовательностей, метагенома, малых геномов, ампликонов, экспрессии генов, HLA типирования, работы с STR, SNP и т.д.

4-12 образцов целевых клинических панелей

384 ампликона

5 профилей экспрессии генов

3 клинических экзома

16 геномов бактерий

24 образца HLA



NeoPrep™

Система автоматической подготовки библиотек для NGS. Технологии цифровой микрофлюидики позволяют получать библиотеки высокого качества даже при ограниченном количестве исходного материала

16 библиотек за запуск
в 10 раз меньше исходного материала

Illumina

совершенные решения для
геномных исследований и
диагностики

Компания Illumina Inc. (Сан-Диего, США) является мировым лидером в области секвенирования нового поколения (NGS). Секвенаторы Illumina позволяют осуществлять генетические исследования для науки, медицины, сельского хозяйства, ветеринарии и криминалистики.

Более 90% научных статей, связанных с технологиями секвенирования нового поколения, сделаны на платформах Illumina.

Компания АЛЬБИОГЕН, являясь официальным представителем компании Illumina, предоставляет услуги по продаже, технической поддержке и гарантийному обслуживанию продукции Illumina на территории Российской Федерации, Республики Беларусь и Казахстана.

Наборы для эпигенетических исследований EpiSeeker, Abcam



Созданы для детекции и количественного анализа эпигенетических модификаций:

- простые и надежные количественные тесты;
- колориметрический или флуориметрический формат;
- возможность работы вручную или на высокопроизводительных автоматических приборах.



Наборы EpiSeeker позволяют изучить все известные генетические модификации используя одну продуктовую линейку.

Наборы, реагенты и антитела для хроматиновой иммунопреципитации (ChIP)

- Исследования взаимодействия белков с ДНК
- Транскрипция и сайленсинг генов
- Детекция *in vitro* взаимодействия ДНК с транскрипционными факторами
- Метилирование или ацетилирование гистона H3
- Изучение гидроксиметилированной ДНК и метил-ДНК-связывающего белка из клеток или тканей



Наборы для измерения модификаций и метилирования ДНК

- Наборы для выделения ДНК и проведения быстрой бисульфитной конверсии ДНК всего за 30 минут
- Измерение общего содержания метилированной и гидроксиметилированной ДНК
- Наборы для изучения метилирования в клетках и тканях без выделения ДНК
- Количественные тесты активности метилаз, скрининг ингибирующих метилаз, измерение общей активности ДНК-деметилаз



Наборы для изучения метилирования/деметилирования, ацетилирования/деацетилирования и фосфорилирования гистонов

- Изучение общей активности гистоновых метилаз и деметилаз
- Проведение скрининга ингибирующих деметилаз
- Количественное определение содержания метилированных/деметилированных, ацетилированных/деацетилированных и фосфорилированных по специфическим положениям гистонов



Срок поставки продуктов Abcam – 30 дней!

Компания Диаэм является официальным дистрибьютором продукции Abcam на территории Российской Федерации.

www.dia-m.ru

Москва ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru



Новосибирск
пр. Акад.
Лаврентьева, 6/1
тел./факс:
(383) 328-0048
nsk@dia-m.ru

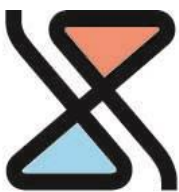
Казань
Оренбургский
тракт, 20
тел./факс:
(843) 277-6040
kazan@dia-m.ru

Санкт-Петербург
ул. Профессора
Попова, 23
тел./факс:
(812) 372-6040
spb@dia-m.ru

Ростов-на-Дону
пер. Семашко, 114
тел./факс:
(863) 250-0006
rmd@dia-m.ru

Пермь
Представитель
в УФО
тел./факс:
(342) 202-2239
perm@dia-m.ru

Воронеж
тел./факс:
(473) 232-4412
voronezh@dia-m.ru



ХИМЭКСПЕРТ

ThermoFisher
SCIENTIFIC

The world leader in serving science

Оборудование и расходные материалы для молекулярной и клеточной биологии

- Генетические анализаторы
- Высокопроизводительные секвенаторы
- Системы для проведения ПЦР с детекцией в режиме реального времени
- Системы для цифровой ПЦР
- Термоциклеры
- Проточный цитофлуориметр с акустической фокусировкой
- Системы визуализации (флуоресцентные микроскопы)
- Все для электрофореза и блоттинга
- Ферменты, антитела, среды для клеток, флуоресцентные красители, наборы для выделения белков и нуклеиновых кислот и многое другое.

МЕТОДИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

+7(495)629-28-69 +7 (495)650-36-66 info@khimexpert.ru



www.khimexpert.ru



БИОСАН

www.biosan-nsk.ru



Биолабмикс

www.biolabmix.ru

Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты

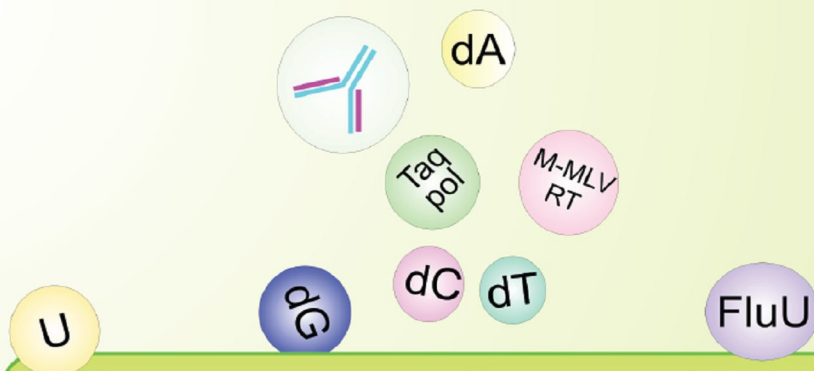
Нуклеозид-5'-трифосфаты (dNTPs/NTPs)

Иммунобиологические реактивы

Олигонуклеотидный синтез

ДНК-маркеры

Ферменты



Синтез первой цепи кДНК

Стандарная ПЦР

ПЦР в режиме реального времени

ОТ-ПЦР и количественная ОТ-ПЦР



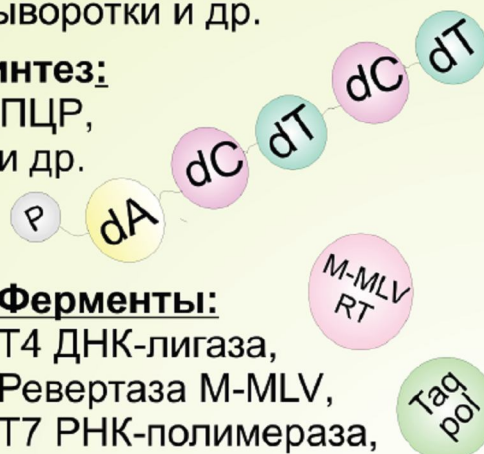
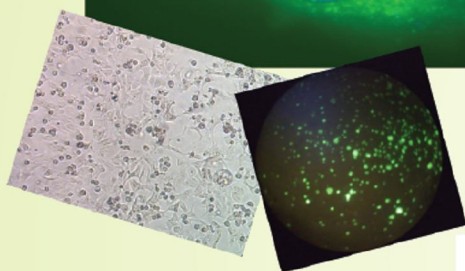
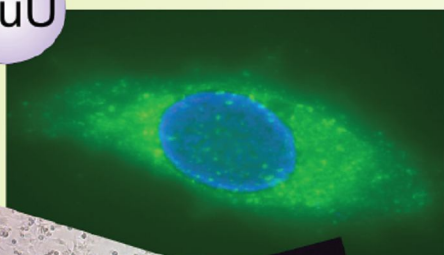
Иммунобиологические реактивы:

Моноклональные антитела, HRP-конъюгаты, биотинилированные антитела, иммуносорбенты, антисыворотки и др.

Олигонуклеотидный синтез:

Праймеры и зонды для ПЦР, олигорибонуклеотиды и др.

FluU

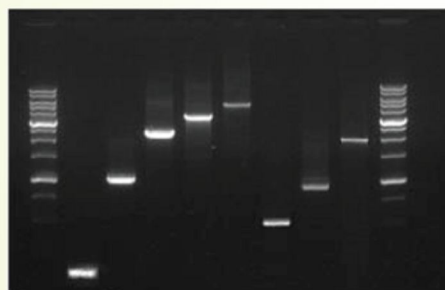
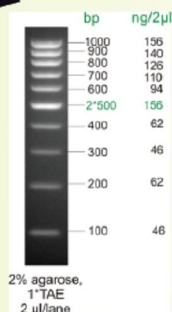


Ферменты:

T4 ДНК-лигаза,
Ревертаза М-MLV,
T7 РНК-полимераза,
Taq ДНК-полимераза,
T4 полинуклеотидкиназа,
Урацил-ДНК-гликозилаза

ДНК-маркеры:

Широкий диапазон
длины
от 50 пн до 10000 пп.



Контакты:

ЗАО "Биосан/ ООО "Биолабмикс"

630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 28

т. (383) 363 51 91, 363 22 40

mail@biosan-nsk.ru

sales@biolabmix.ru

www.biosan-nsk.ru

www.biolabmix.ru

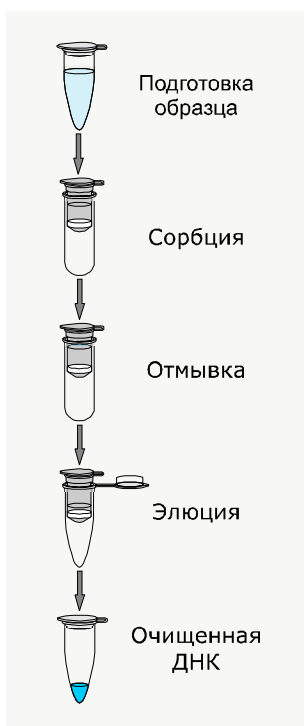
Наборы для выделения ДНК

- ✓ Для молекулярной биологии
плазмидная ДНК, cleanup, из агарозного геля
- ✓ Из биологических образцов
кровь, буккальный эпителий и пр.
- ✓ Из пищевых продуктов



Наборы для выделения РНК

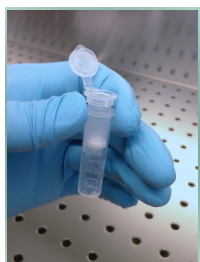
- ✓ Из биологических образцов



Выделение НК наборами "БиоСилика" это:

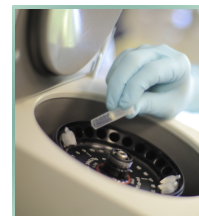
- ✓ **Просто:** 4-5 коротких стадий
- ✓ **Быстро:** от 7 минут
- ✓ **Качественно:** $A_{260/280} = 1.8-2.0$
- ✓ **Эффективно:** до 25 мкг ДНК
- ✓ **Универсально:** ДНК пригодна для любых молекулярно-биологических реакций
- ✓ **Технологично:** требуется только настольная центрифуга; отсутствуют стадии фенол-хлороформной экстракции и переосаждения
- ✓ **Доступно:** стоимость набора от 1000 рублей

Разработка индивидуальных систем выделения в соответствии с требованиями заказчика



Каталог продукции представлен на веб-сайте компании:

www.biosilica.ru



info@biosilica.ru

www.biosilica.ru +7 (383) 2 999 245

ОРГАНИЗАТОРЫ



Институт молекулярной
и клеточной биологии
СО РАН



Новосибирский
государственный
университет

ОРГАНИЗАЦИОННАЯ ПОДДЕРЖКА



ООО Научный сервис



Институт цитологии
и генетики СО РАН

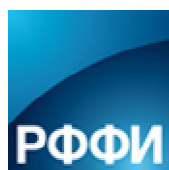
ФИНАНСИРОВАНИЕ И СПОНСОРЫ



Грант Правительства РФ
14.Z50.31.0005



Федеральное агентство
научных организации
России



Грант РФФИ
15-04-20614



ПРОЕКТ ПОВЫШЕНИЯ
КОНКУРЕНТОСПОСОБНОСТИ
ВЕДУЩИХ РОССИЙСКИХ УНИВЕРСИТЕТОВ
СРЕДИ ВЕДУЩИХ МИРОВЫХ
НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ

Проект 5-100



Альбиоген

ООО Альбиоген



ООО Химмед



ООО ДИА-М



ХИМЭКСПЕРТ

ООО Агентство Химэксперт



ЗАО Биосан / ООО Биолабмикс