

КЛАСТЕРЫ ИНТЕРХРОМАТИНОВЫХ ГРАНУЛ ПРЕОВУЛЯТОРНЫХ ООЦИТОВ МЫШИ. ОРГАНИЗАЦИЯ, МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СОСТАВ, ВОЗМОЖНЫЕ ФУНКЦИИ

© Г. Н. Почукалина, Д. С. Боголюбов, В. Н. Парфенов

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
электронный адрес: galina@mail.cytspb.rssi.ru*

В ядрах ооцитов мыши, находящихся на поздней диплотенной стадии профазы I мейоза, присутствуют многочисленные кластеры интерхроматиновых гранул (КИГ), которые являются универсальными и эволюционно консервативными ядерными компартментами, обогащенными, в частности, факторами сплайсинга пре-мРНК. В соответствии с современными представлениями, КИГ, возможно, играют важную роль в процессах экспрессии генов, объединяя различные молекулярные компоненты и обеспечивая взаимосвязь отдельных ее этапов — от транскрипции до экспорта мРНК. Нами получены данные о распределении поли(А)⁺-РНК, белков семейства А/В гяРНП и фактора экспорта мРНК NXF1/TAP в связи с КИГ преовуляторных ооцитов мыши. В представленной работе нам впервые удалось с помощью ингибитора белковых фосфатаз оокадаевой кислоты продемонстрировать динамику крупных КИГ в условиях специфического фосфорилирование SR-белков. Исследования проводили с использованием техники микроинъекций олигонуклеотидных зондов в ооциты, а также конфокальной лазерной сканирующей и электронной микроскопии. Обсуждаются проблема функциональной значимости КИГ в процессах метаболизма пре-мРНК, а также участие КИГ в организации экспорта мРНП из ядра в цитоплазму.

Ключевые слова: ядро ооцита мыши, ядерные компартменты, кластеры интерхроматиновых гранул, метаболизм пре-мРНК, поли(А)⁺-РНК, экспорт мРНК, оокадаевая кислота, электронная микроскопия, конфокальная микроскопия.

Принятые сокращения: гяРНП — гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины, КИГ — кластеры интерхроматиновых гранул, мРНК — матричная или информационная РНК.

Интерхроматиновое пространство клеточного ядра — сложноорганизованный компартмент, который содержит разнообразные экстрахромосомные домены, часто представленные морфологически оформленными ядерными тельцами. Исследования последних лет существенно расширили наши представления о заметной роли этих доменов в осуществлении и регуляции многих ведущих функций клеточного ядра. Некоторые из экстрахромосомных доменов обнаруживаются лишь в определенных типах клеток или формируются при определенных физиологических или экспериментальных условиях. Другие домены, включая ядрышко, тельца Кахала, кластеры интерхроматиновых гранул (КИГ) и, возможно, PML-тельца, считаются более «универсальными» (Gall, 2003), поскольку эти структуры или их аналоги были описаны в клетках многих типов и у эволюционно удаленных друг от друга организмов.

Молекулярный состав и ряд функций «универсальных» ядерных доменов в большинстве своем уже расшифрованы. Однако все еще мало известно о структуре, составе и в особенности функциях этих доменов в специализированных клетках, таких, например, как ооциты. Вместе с тем ооциты как модельные объекты представляют, по нашему мнению, особый интерес для исследования экстрахромосомных ядерных доменов в связи с экспрессией генов, поскольку в оогенезе обычно можно четко

выделить последовательный ряд изменений транскрипционного статуса ядра растущей яйцеклетки.

КИГ — структуры, наблюдаемые под электронным микроскопом. В соматических клетках млекопитающих они представляют собой скопления гранул диаметром 20—25 нм, связанных с тонкофибрилярным материалом (Monneron, Bernhard, 1969). При использовании светоптической (флуоресцентной) микроскопии КИГ соответствуют так называемые ядерные speckles, известные также как SC35-содержащие домены, или компартменты, обогащенные факторами сплайсинга (Misteli, Spector, 1998; Dundr, Misteli, 2001; Lamond, Spector, 2003). Наряду с тельцами Кахала, ядрышками и PML-тельцами КИГ считаются одними из наиболее универсальных, эволюционно консервативных и функционально значимых ядерных доменов. До недавнего времени главной функцией КИГ считали сборку, модификацию, временное хранение и рециклирование факторов сплайсинга пре-мРНК, включая малые ядерные РНК (мяРНК) и SR-белки (Misteli, Spector, 1998; Misteli, 2000). Однако исследования последних лет показали, что КИГ принимают также участие в регуляции экспрессии генов и фактически являются «коммутаторами» различных ядерных функций, а не только выступают в качестве простых хранилищ инертных факторов сплайсинга (Hall et al., 2006). Эти домены в настоящее время считают функциональными центрами локальных эухро-

матриновых областей, которые группируют многие активные гены (Shopland et al., 2003), включая те из них, которые расположены на разных хромосомах (Hu et al., 2008). Показано, что КИГ принимают участие в координации событий транскрипции и процессинга пре-мРНК (Sacco-Bubulya, Spector, 2002; Shopland et al., 2002). Недавние исследования убедительно доказали, что КИГ могут обеспечивать эффективное сопряжение инициации транскрипции, элонгации первичного транскрипта мРНК и различных этапов процессинга пре-мРНК, что в свою очередь приводит к усилению скоординированной регуляции многоступенчатых процессов экспрессии генов (Hu et al., 2008).

Ряд данных свидетельствует о том, что в составе КИГ присутствует поли(А)⁺-РНК (Visa et al., 1993; Molenaar et al., 2004; Ishihama et al., 2008). Более того, полагают, что по крайней мере часть поли(А)⁺-РНК, расположенной в КИГ, представляет собой мРНК или пре-мРНК (Shopland et al., 2002; Molenaar et al., 2004).

Известно, что пре-мРНК в форме гетерогенных ядерных РНК (гяРНК) ассоциируют с набором определенных белков, формируя частицы гяРНК. В настоящее время известно около 20 таких белков (Dreyfuss et al., 1993). Показано, что некоторые белки гяРНК способны быстро и постоянно мигрировать из ядра в цитоплазму и обратно; при этом ассоциация белков гяРНК с мРНК возможна в обоих компартментах. Другие белки гяРНК не мигрируют и остаются в ядре. Те же белки гяРНК, которые перемещаются из ядра в цитоплазму, рассматривают в качестве подходящих кандидатов на роль посредников экспорта мРНК (Piñol-Roma, Dreyfuss, 1992, 1993; Mili et al., 2001). Белки семейства А/В — наиболее многочисленные белки гяРНК, которые, как теперь известно, принимают участие во многих ядерных функциях, включая экспорт мРНК (He, Smith, 2008). Например, белок А1 — представитель белков семейства А/В гяРНК — связывается с поли(А)⁺-РНК и экспортируется из ядра вместе с мРНК (Pinol-Roma, Dreyfuss, 1992). Этот белок является наиболее хорошо охарактеризованным белком данного семейства.

Механизмы экспорта мРНК и молекулярные факторы, обеспечивающие этот процесс, в настоящее время довольно хорошо охарактеризованы (Reed, Hurt, 2002; Erkmann, Kutay, 2004), в то время как связь этих факторов с конкретными ядерными доменами остается практически неизвестной. Имеются лишь единичные работы, описывающие внутриядерное распределение отдельных факторов экспорта мРНК в связи с КИГ (Schmidt et al., 2006). Среди факторов экспорта поли(А)⁺-мРНК из ядра в цитоплазму ведущую роль играет белок NXF1, известный также как ТАР и являющийся необходимым фактором экспорта по крайней мере 75 % мРНК (Gruter et al., 1998; Erkmann, Kutay, 2004). Он связывает конститутивный транспортный элемент, который служит сигналом экспорта мРНК (Tap et al., 2000), тем самым усиливая его функции (Gruter et al., 1998). Данные по распределению белка NXF1/ТАР в трехмерном объеме клеточного ядра отсутствуют. Однако тесная связь с КИГ была ранее продемонстрирована для другого белка — Aly, который служит связующим звеном между сплайсингом пре-мРНК и экспортом мРНК (Zhou et al., 2000).

Целью данной работы явилось исследование распределения поли(А)⁺-РНК, белков семейства А/В гяРНК и фактора экспорта мРНК NXF1/ТАР в связи с КИГ (SC35-содержащими доменами) в ядрах ооцитов мыши из преовуляторных фолликулов. Ядра таких ооцитов, закан-

чивающих рост, характеризуются пониженной транскрипционной активностью, хотя и не полным ее прекращением, о чем свидетельствуют наши данные по включению в них бромουридинтрифосфата (Почукалина, Парфенов, 2008). Для выявления поли(А)⁺-РНК мы использовали микроинъекции в ооциты флуоресцентно меченных олигонуклеотидов 2'-O-Me(U)₂₂ (Majlessi et al., 1998; Molenaar et al., 2001). Другие компоненты выявляли иммуноцитохимически на светооптическом (конфокальная микроскопия) и электронно-микроскопическом уровнях. В качестве маркера КИГ был выбран белок SC35 (Fu, Maniatis 1990), относящийся к семейству SR-белков и являющийся одним из необходимых факторов сплайсинга пре-мРНК.

Материал и методика

Объектом исследования служили преовуляторные ооциты антральных фолликулов половозрелых мышей линии Balb/C (21-е сут постнатального развития).

Для непрямой иммунофлуоресцентной цитохимии были приготовлены тотальные препараты ооцитов, выделенные из антральных фолликулов по методике, подробно описанной в наших предыдущих работах (Почукалина, Парфенов, 2006, 2008). В работе использовали следующие моноклональные антитела: α-SC35 (Sigma, USA) и α-TAP (53H8) (Santa-Cruz Biotechnology, Inc.); поликлональные антитела: α-hnRNP A/B (H-200) и α-TAP (H120) (Santa-Cruz Biotechnology, Inc.).

В качестве вторых антител использовали козы или кроличьи иммуноглобулины, конъюгированные с флуоресцентным красителем FITC или Texas-red. Препараты докрашивали TO-PRO-3 в разведении 1 : 1000 (Molecular Probes, Inc.) в течение 1 мин для выявления ДНК параллельно с иммуноцитохимическим окрашиванием и заключали в среду Vectashield® (Vector Laboratories, Inc.). Препараты ооцитов исследовали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Leica TCS SL.

Для электронно-микроскопического исследования ооцитов применяли стандартный метод фиксации и заливки материала (Parfenov et al., 1989).

Для электронного иммуномечения использовали методику, подробно описанную ранее (Почукалина, Парфенов, 2006, 2008). Ультратонкие срезы исследовали с помощью электронного микроскопа JEM 7A при 80 кВ.

Для внутриядерной визуализации поли(А)⁺-РНК в ооциты инъецировали олигонуклеотид, состоящий из 22 остатков уридина. Конструкция представляет собой 2'-O-метилолигорибонуклеотидную пробу, комплементарную поли(А)⁺-«хвосту» РНК (2'-O-Me(U)₂₂) (Molenaar et al., 2004), меченную 5-карбокситетраметилпроламином (TAMRA, Molecular probes, красная флуоресценция, максимум спектра испускания 568). Установлено, что подобные пробы имеют ряд преимуществ перед олигодезоксинуклеотидными: они значительно более устойчивы к нуклеазам, а их аффинность к комплементарной РНК гораздо выше (Majlessi et al., 1998). Конструкция была синтезирована ЗАО «Синтол» (Москва). Лиофинизированный препарат растворяли в стерильной воде, не содержащей РНКаз, ДНКаз и протеаз, и полученный раствор инъецировали в ооциты. Инкубировали проинъецированные ооциты в среде M2 (Sigma, США), содержащей 100 мкг/мл дибутирила циклической АМФ (Sigma, США), необходимого для предотвращения спонтанного

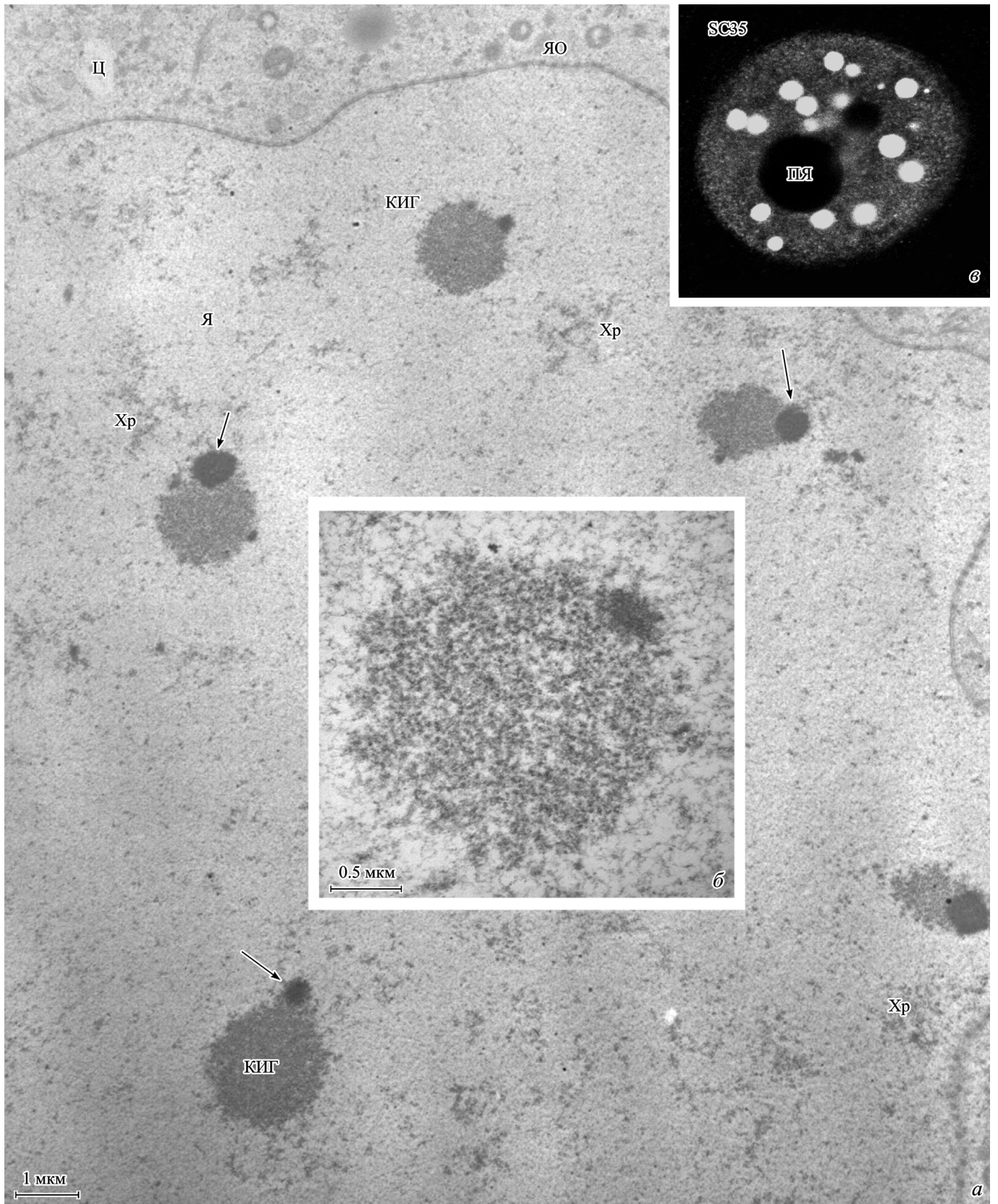


Рис. 1. Организация ядра преовуляторного ооцита мыши.

a — общий вид периферической зоны ядра, видны многочисленные КИГ, имеющие четко различающиеся зоны — фибриллярную и гранулярную; в контакте с фибриллярной зоной КИГ находятся участки диспергированного хроматина (*стрелки*). *б* — детали организации КИГ при большем увеличении, выявляются мелкие гранулы диаметром 10—15 нм, составляющие основу кластера, и контрастная фибриллярная зона, расположенная на периферии структуры. *в* — непряная иммуноцитохимия тотальных преовуляторных ооцитов мыши после окраски антителами против маркерного белка КИГ — SC35; видны многочисленные (до 20) ярко светящиеся крупные округлые структуры, расположенные во всем объеме ядра. КИГ — кластер интерхроматиновых гранул. ПЯ — постъядрышко. Хр — хроматин. Ц — цитоплазма ооцита. Я — ядро ооцита. ЯО — ядерная оболочка. Об. 60×, ок. 10×.

созревания клеток, при 37 °С и содержании CO₂ 5.6—6.0 %. Через 20 мин после инъекции готовили тотальные препараты ооцитов, которые окрашивали с помощью антител против белка SC35 и докрашивали красителем То-Про-3 для выявления ДНК. Распределение поли(А)⁺-РНК документировано с помощью лазерной сканирующей конфокальной микроскопии.

Результаты

Организация КИГ преовуляторных ооцитов мыши. В ядрах ооцитов мыши, выделенных из крупных антральных фолликулов, присутствуют многочисленные КИГ, достигающие 1—4 мкм в диаметре и расположенные по всему объему ядра. Они обнаруживают отчетливую яркую флуоресценцию (рис. 1, в) после окрашивания ядер с помощью антител против маркерного белка КИГ SC35 — фактора сплайсинга пре-мРНК (Fu, Maniatis, 1990). Количество КИГ в одном ядре колеблется от 10—15 до 20 в зависимости от степени зрелости исследуемой клетки. Установлено, что в период большого роста фолликулов в ядрах ооцитов мыши происходит резкое падение уровня синтеза суммарной РНК (Зыбина, 1971; Moore et al., 1974; Kaplan et al., 1982). Транскрипция мРНК сохраняется на некотором фоновом уровне, необходимым, по-видимому, для поддержания жизнедеятельности клетки (Bouniol-Baly et al., 1999; Zetsepina et al., 2000; Почукалина, Парфенов, 2008). Известно, что на транскрипционно активных стадиях оогенеза в ядрах ооцитов мыши из одно-двухслойных фолликулов КИГ представлены в основном мелкими образованиями неправильной формы, которые обнаруживаются в связи с участками диспергированного хроматина (Parfenov et al., 2003). По нашим наблюдениям, по мере роста фолликула и на фоне падения синтеза РНК в ядрах ооцитов мыши происходит увеличение как количества, так и размеров КИГ. Это фиброгранулярные образования округлой формы, приходящие в контакт с хроматином и постъядрышком (рис. 1, а, б). Гранулы в их составе достигают 10—15 нм в диаметре, что немногим меньше размеров гранул классических КИГ соматических клеток, где они составляют 20—30 нм (Monneron, Bernhard, 1969). В зависимости от положения в ядре КИГ демонстрируют различия в их тонкой организации. КИГ, расположенные на периферии ядра преовуляторных ооцитов мыши, помимо гранулярных участков содержат сегрегированные тонкофибрилярные и плотно упакованные электронно-плотные области. Следует подчеркнуть, что эти зоны КИГ отчетливо контактируют с участками слабоконденсированного хроматина (рис. 1, а, стрелки). В КИГ центральных районов ядра значительно преобладает гранулярный материал.

Нами была предпринята попытка изучения динамики крупных КИГ из преовуляторных ооцитов мыши в условиях интенсивного фосфорилирования ядерных белков, вызванного действием ингибитора фосфатаз — оокадаевой кислоты. Известна концепция о роли циклических процессов фосфорилирования—дефосфорилирования SR-белков, к которым относится и маркерный белок КИГ SC35, в сохранении целостности этих ядерных доменов и выполнении ими специфических функций в метаболизме РНК (Sacco-Bubulya, Spector, 2002). Инкубация ооцитов в растворе с концентрацией оокадаевой кислоты 50 нМ, оптимальной для подавления фосфатаз типа PP1 и PP2 (Dawson, Holmes, 1999), дала следующие результаты.

Через 2 ч экспозиции ооцитов в среде с ингибитором во всех исследованных ядрах наблюдали распад КИГ. При этом в различных группах ооцитов выявлена индивидуальная вариабельность степени выраженности этого процесса. Так, в ядрах некоторых ооцитов КИГ распадались на мелкие фрагменты, дающие отчетливую реакцию после окрашивания с помощью антител против белка SC35 (рис. 2, в). В другой же группе ооцитов диссоциация КИГ приводила к эффекту диффузной окраски с помощью этих же антител практически всего объема ядра (рис. 2, з).

Локализация поли(А)⁺-РНК и факторов ее экспорта в КИГ ооцитов мыши. Выявление поли(А)⁺-РНК в ядрах ооцитов мыши проводили с помощью микроинъекций в их ооплазму 2'-О-метилолигорибонуклеотидных (2'-О-Me(U)₂₂) зондов, комплементарных поли(А)⁺-«хвосту» РНК. Конструкция 2'-О-Me(U)₂₂ была помечена тетраметилпроламином. Для изучения топологических взаимоотношений поли(А)⁺-РНК и КИГ анализ распределения поли(А)⁺-РНК осуществляли с помощью конфокальной лазерной микроскопии после дополнительной обработки препаратов антителами против маркерного белка КИГ SC35. Результаты дали однозначную картину накопления поли(А)⁺-РНК в КИГ, где она локализовалась совместно с белком SC35 (рис. 3, а).

В серии других экспериментов, выполненных также с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, была обнаружена локализация в КИГ и факторов экспорта поли(А)⁺-РНК: белка А1 в составе белков гяРНК семейства А/В (рис. 3, б) и белка NXF1/TAP (рис. 3, в), где оба фактора колокализовались с белком SC35.

Данные светооптической микроскопии по накоплению в КИГ факторов экспорта пре-мРНК были подтверждены нами в иммуноэлектронных опытах. В ходе экспериментов по двойному окрашиванию ультратонкие срезы ооцитов мыши обрабатывали в растворе, содержащем два вида антител. В одной серии опытов это были моноклональные антитела против белкового фактора сплайсинга SC35 и поликлональные антитела против белков гяРНК семейства А/В. Во втором случае использовали поликлональные антитела против ядерного фактора экспорта NXF1/TAP. При исследовании срезов была выявлена совместная локализация белка SC35 и белков гяРНК семейства А/В в КИГ (рис. 4, а). Такие же результаты получены и в случае двойного иммуномечения антителами против NXF1/TAP совместно с антителами против белка SC35 (рис. 4, б). При этом относительное количество метки, соответствующей как гяРНК, так и NXF1/TAP, оказалось значительно меньше количества метки, соответствующей белку SC35. В следующей серии экспериментов по двойному иммуномечению ультратонкие срезы ооцитов мыши обрабатывали раствором поликлональных антител против белков семейства А/В гяРНК и моноклональных антител против фактора экспорта NXF1/TAP. В этом случае оба белка выявлялись в составе КИГ с одинаковой степенью интенсивности их мечения (рис. 4, в).

Обсуждение

При изучении особенностей организации, поведения и состава КИГ преовуляторных ооцитов мыши были сделаны следующие ключевые наблюдения.

1. На исследованной стадии оогенеза в ядрах ооцитов значительно преобладает количество крупных фиброгранулярных КИГ, обогащенных фактором сплайсинга SC35.

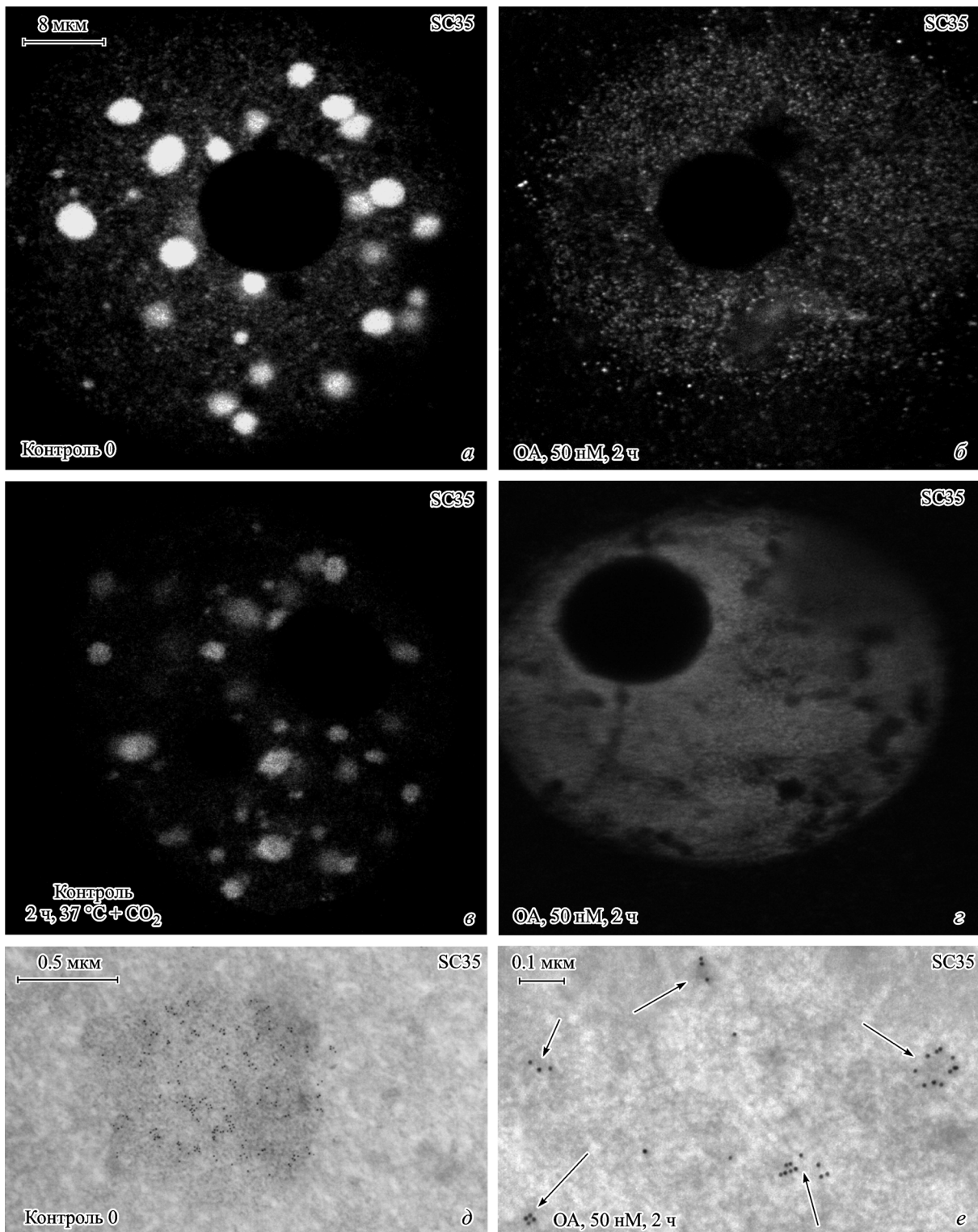


Рис. 2. Результаты экспериментов по воздействию окадаевой кислоты на преовуляторные ооциты мыши.

a — ядро контрольного ооцита мыши, фиксированного сразу после выделения из фолликула, после окраски антителами против маркерного белка КИГ — SC35; видны ярко светящиеся кластеры, расположенные по всему ядру. *б* — ядро контрольного ооцита мыши, фиксированного после 2-часовой инкубации в среде M2 при 37 °C и содержании CO₂ 5.5 %, после окраски антителами против маркерного белка КИГ — SC35; в ядре наблюдается характерная картина распределения сигнала в многочисленных КИГ. *в, г* — ядра ооцитов мыши после 2-часовой инкубации клеток в среде M2, содержащей 50 нМ окадаевой кислоты (ОА), при 37 °C и содержании CO₂ 5.5 % после окраски антителами против маркерного белка КИГ — SC35; в обоих ядрах наблюдаются полное отсутствие кластеров и диффузное свечение нуклеоплазмы; различается лишь степень распределения сигнала: в одной группе клеток были видны мелкие светящиеся гранулы (*б*), а в другой группе отмечалось равномерное свечение нуклеоплазмы (*г*). *д, е* — ультраструктурный анализ ооцитов мыши, подвергшихся воздействию окадаевой кислоты (ОА); *д* — КИГ контрольного ооцита мыши после окраски срезов антителами против маркерного белка SC35; видно, что белок аккумулируется исключительно в кластере; *е* — участок ядра ооцита мыши, фиксированного после 2-часовой инкубации в среде M2, содержащей 50 нМ ОА, при 37 °C и содержании CO₂ 5.5 % после окраски антителами против маркерного белка КИГ — SC35; в ядре отсутствуют характерные КИГ, однако выявляются мелкие структуры, содержащие белок SC35 (стрелки).

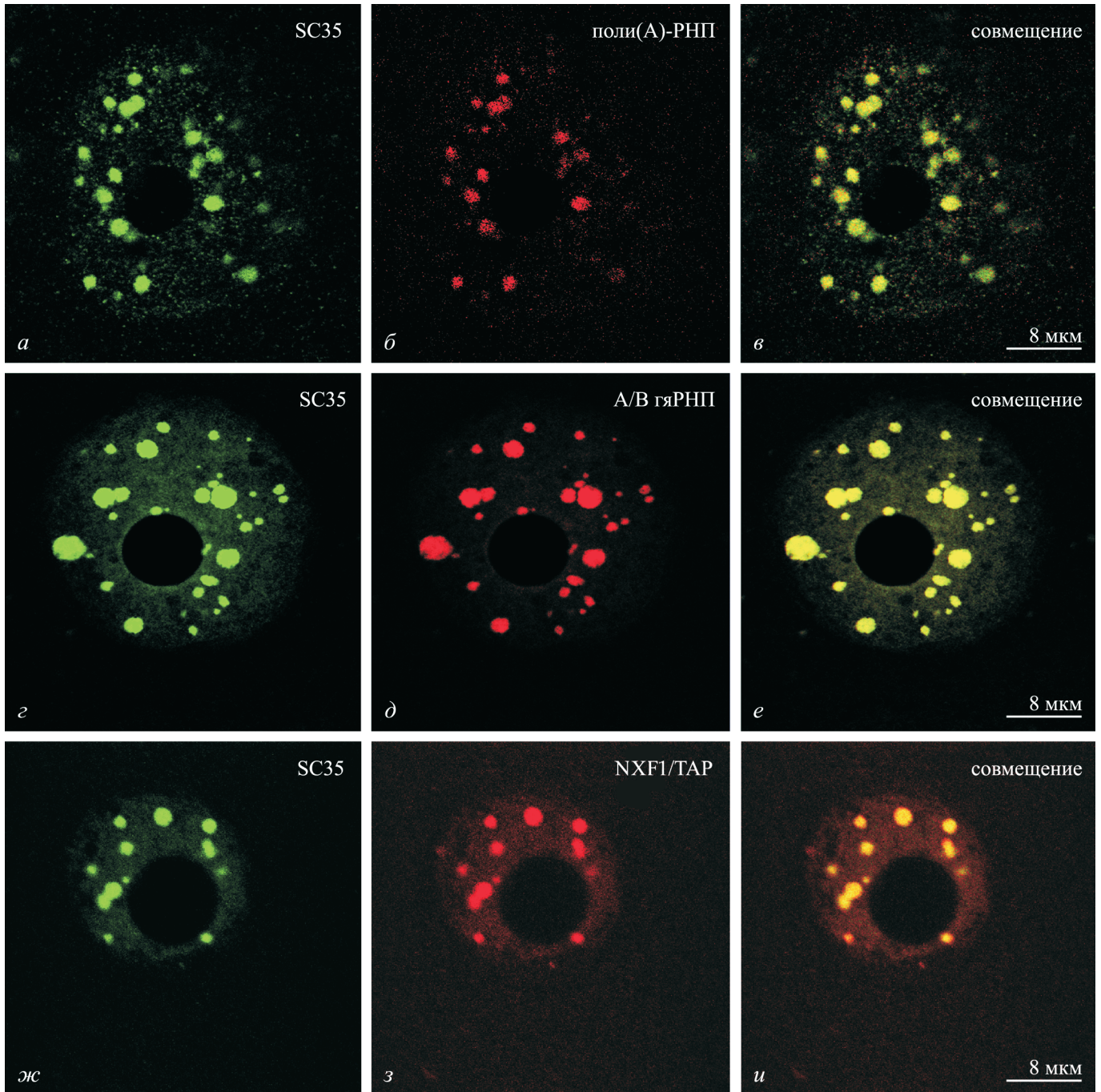


Рис. 3. Выявление поли(А)⁺-РНК, белков гяРНП и NXF1/TAP — фактора экспорта мРНК в преовуляторных ооцитах мыши. Данные конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

a–в — после микроинъекции в ооплазму ооцитов конструкции 2'-O-Me(U)₂₂, меченной тетраметилродамином (*красное свечение*), и дополнительной окраски тотальных препаратов этих ооцитов антителами против маркерного белка КИГ — SC35 (*зеленое свечение*) — было выявлено совпадение двух сигналов в пределах КИГ, что говорит о локализации поли(А)⁺-РНК в этих структурах. *z–e* — с помощью двойной окраски тотальных препаратов ооцитов мыши антителами против белка SC35 и белков гяРНП семейства А/В была обнаружена их колокализация в КИГ. *ж–и* — после окраски антителами против белка SC35 в ядре ооцита выявляются характерные ярко светящиеся структуры (*зеленое свечение*), фактор экспорта мРНК — NXF1/TAP — имеет подобное кластерное распределение (*красное свечение*), при совмещении двух изображений видна четкая локализация NXF1/TAP в КИГ.

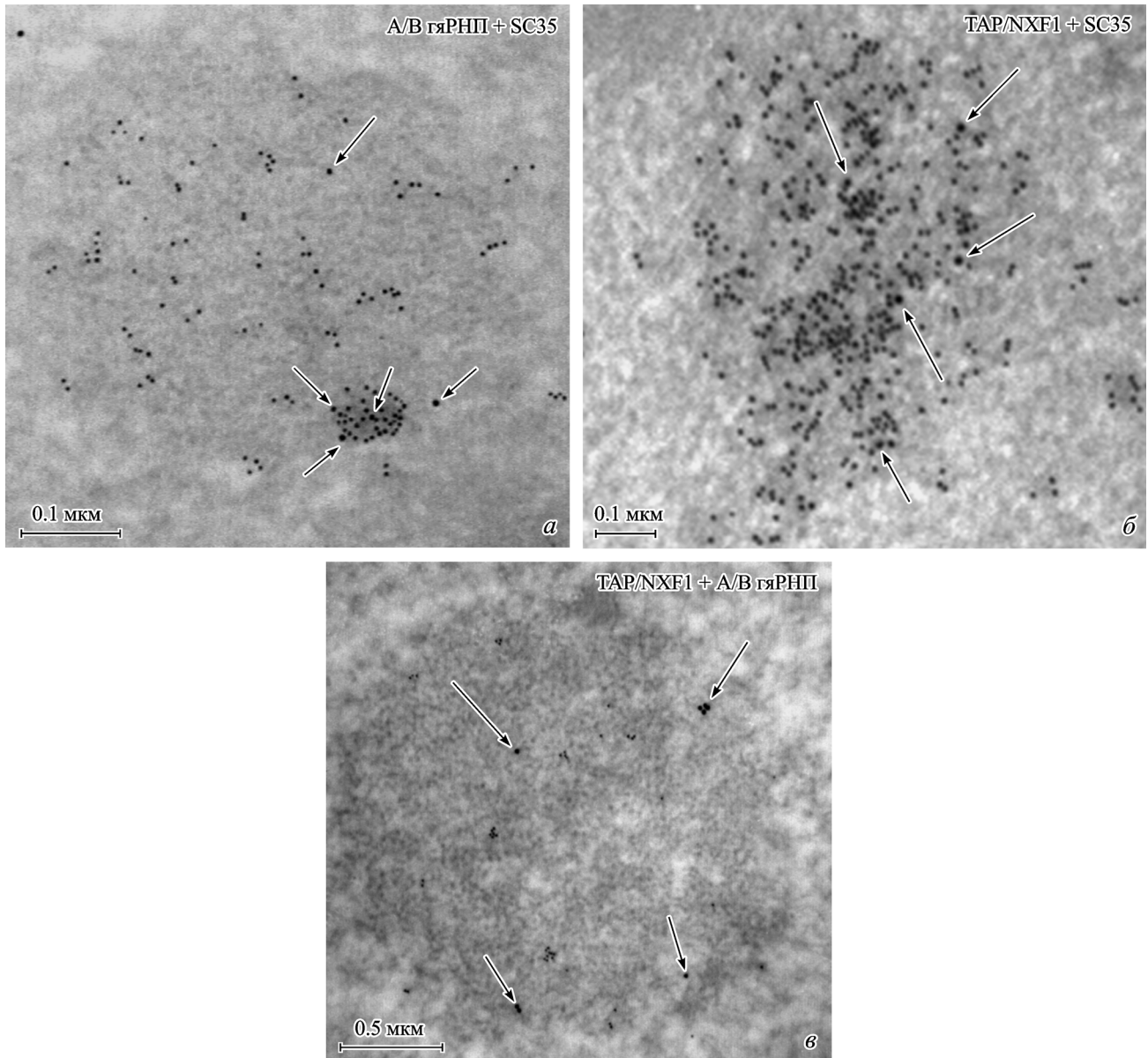


Рис. 4. Выявление NXF1/TAP и белков гЯРНП семейства А/В в КИГ ооцитов мыши с помощью электронного иммуноочечения.

а — результаты двойного иммуноочечения тонких срезов ооцитов мыши в смеси моноклональных антител против белка SC35 и поликлональных антител против белков семейства А/В гЯРНП; при исследовании срезов оказалось, что белок SC35 (частицы коллоидного золота 10 нм) и белки гЯРНП (частицы коллоидного золота 15 нм — *стрелки*) расположены в пределах одного КИГ. *б* — после двойного иммуноочечения тонких срезов ооцитов мыши в смеси моноклональных антител против белка SC35 и поликлональных антител против ядерного фактора экспорта NXF1/TAP была выявлена совместная локализация белка SC35 (частицы коллоидного золота 10 нм) и NXF1/TAP (частицы коллоидного золота 15 нм — *стрелки*) в одном КИГ. *в* — результаты экспериментов по двойному иммуноочечению срезов ооцитов в смеси поликлональных антител против белков семейства А/В гЯРНП и моноклональных антител против фактора экспорта NXF1/TAP; в КИГ обнаружены оба фактора, *стрелками* отмечены частицы золота 15 нм, связанные с местами локализации NXF1/TAP.

2. Целостность КИГ зависит от уровня фосфорилирования ядерных белков и в первую очередь, по-видимому, фракции SR-белков, составляющих примерно 19 % протеома КИГ (Saitoh et al., 2004). В экспериментальных условиях, направленных на усиление их фосфорилирования, КИГ ооцитов мыши распадаются.

3. КИГ преовуляторных ооцитов мыши накапливают поли(А)⁺-РНК и фактор экспорта мРНК — NXF1/TAP. Кроме того, в этих же КИГ локализуется комплекс белков семейства А/В гЯРНП.

Появление в ядрах преовуляторных ооцитов мыши крупных округлых КИГ отражает общую тенденцию увеличения количества и объема этих ядерных доменов в

клетках различных типов при ингибировании их транскрипционной активности (Spector, 1993; Misteli et al., 1997; Lamond, Spector, 2003; Parfenov et al., 2003; Stepanova et al., 2007). Это явление особенно четко прослеживается при выстраивании цепи изменений организации КИГ в ряду последовательных стадий фолликулогенеза мыши.

На стадиях от одно-двухслойных фолликулов до многослойных и антральных удается выявить практически всю гамму перестроек КИГ: от неоформленных в комплексы, неправильных по форме скоплений интерхроматинных гранул до морфологически целостных, достигающих 15—20 мкм в диаметре округлых образований, которые занимают значительную часть кариоплазмы (Parfenov

et al., 2003). При этом начало формирования увеличенных в размерах КИГ совпадает с падением уровня синтеза суммарной РНК мыши и началом перехода ядра ооцита в инактивированное состояние, что у мыши имеет место в многослойных фолликулах в период их большого роста (Зыбина, 1971; Moore et al., 1974; Kaplan et al., 1982). Одна из причин увеличения в этот период объемов КИГ может быть связана, очевидно, с возвращением в эти структуры факторов, выведенных из процессов транскрипции и котранскрипционного сплайсинга и других этапов процессинга пре-мРНК. Периодическое рекрутирование входящих в состав КИГ компонентов, обеспечивающих эти важнейшие этапы экспрессии генов, обосновывается в рамках гипотезы, согласно которой КИГ отводится роль своеобразного резервуара для хранения (рециклирования) целого ряда ядерных факторов (Misteli, Spector, 1998; Lamond, Spector, 2003).

Таким образом, форма КИГ и параметры их размеров, вероятно, отражают динамичное равновесие между мобильными компонентами КИГ, входящими в эти домены или выходящими из них в кариоплазму. Изменение направленности вектора этого равновесия в сторону КИГ при затухании транскрипционной активности ядер вызывает, очевидно, укрупнение этих доменов. На это косвенно могут указывать наши данные по резкому увеличению размеров КИГ в инертных ядрах преовуляторных ооцитов человека при одновременном значительном уменьшении количества ряда белковых компонентов КИГ, включая маркерный белок SC35 в кариоплазме (Почукалина и др., 1998; Parfenov et al., 1998, 2000).

Несмотря на отсутствие современных прямых данных о динамике белков КИГ в ходе клеточного цикла или, как в случае с ооцитами млекопитающих, на разных стадиях оогенеза с различными уровнями транскрипционной активности их ядер, можно, тем не менее, согласиться с положением о постоянном обмене белками между КИГ и кариоплазмой (Misteli, 2007). При этом возникает вопрос о механизмах поддержания устойчивости и стабильности КИГ в трехмерной системе ядра. Выдвинуто предположение о том, что основным компонентом КИГ, скрепляющим их структуру и способствующим удержанию в их составе других белков, является SR-белок — фактор сплайсинга SC35 (Hall et al., 2006). В свою очередь постулируется, что локализация и функционирование SC35 и других SR-белков в КИГ обеспечиваются процессами их фосфорилирования—дефосфорилирования (Sacco-Bubulya, Spector, 2002).

По всей вероятности, именно циклы фосфорилирования—дефосфорилирования вызывают перераспределение и специфическую локализацию SR-белков в ядре или во внутриядерных доменах, а также способствуют межбелковым взаимодействиям, необходимым для осуществления сборки сплайсосом, сплайсинга и экспорта мРНК (Wu, Maniatis, 1993; Will, Lührmann, 1997; Matlin et al., 2005).

Показано, что диссоциация КИГ является обычным феноменом, проявляющимся вследствие специфического фосфорилирования SR-белков (Colwill, 1996). Сверхэкспрессия киназного комплекса способствует высвобождению белковых факторов и параллельному исчезновению КИГ. Предполагают, что при физиологических концентрациях киназ они фосфорилируют только небольшую часть SR-белков и выводят их из КИГ. По-видимому, это и составляет тот регуляторный механизм, который определяет относительную концентрацию индивидуаль-

ных факторов сплайсинга, участвующих в процессинге пре-мРНК (Sacco-Bubulya, Spector, 2002).

В представленной работе нам впервые удалось документировать распад крупных КИГ преовуляторных ооцитов млекопитающих (рис. 2, б, з, е) с помощью ооцитаевой кислоты, которая, как известно, подавляет активность белковых фосфатаз и смещает внутриядерное равновесие в сторону гиперфосфорилирования белков, что напрямую влияет на организацию ядерного аппарата (Tanuma et al., 2008).

На наш взгляд, было бы интересно проследить обратный фосфорилированию ядерных белков процесс их дефосфорилирования; возможны ли в этом случае реверсия и восстановление структуры КИГ, как это имеет место при таких же условиях в ядрах культивируемых соматических клеток по отношению к другому ядерному домену — тельцу Кахала (Lyon et al., 1997).

Существенным результатом нашей работы явились данные по локализации в КИГ преовуляторных ооцитов мыши поли(А)⁺-РНК, а также факторов экспорта мРНК — NXF1/ТАР и белков А/В комплекса гЯРП. Сведения о наличии в КИГ ооцитов мыши поли(А)⁺-РНК, колокализованной с фактором сплайсинга SC35, дополняют подобные наблюдения, выполненные с использованием разных подходов на материале соматических клеток (Carter et al., 1991, 1993; Visa et al., 1993; Huang et al., 1994; Molenaar et al., 2004). Все вместе данные, полученные на ооцитах и соматических клетках различного происхождения, могут рассматриваться в русле активно разрабатываемой сейчас концепции о возможной активной роли КИГ в посттранскрипционном процессинге пре-мРНК (Hall et al., 2006; Bogolyubov et al., 2009). Сильным доводом в пользу возможности активного сплайсинга в КИГ явились: 1) данные по отсутствию направленной аккумуляции в КИГ тех форм РНК, из которых уже были исключены интронные последовательности или отсутствовали фрагменты в 3'-сайтах сплайсинга (Wang et al., 1991); 2) прямые сведения по формированию в КИГ сплайсосомных комплексов при инъекции в клетки компетентных к сплайсингу пре-мРНК и различных факторов сплайсинга (Melčák et al., 2001).

На участие же КИГ в экспорте мРНК указывают количественные данные по прохождению почти 75 % ядерной поли(А)⁺-РНК через КИГ (Molenaar et al., 2004). Более того, выдвинута гипотеза о том, что аккумуляция в КИГ является общим свойством всех типов мРНК. В этих доменах определяются точность сплайсинга и готовность мРНК к ядерному экспорту (Ishihama et al., 2008). Вполне возможно, что именно КИГ могут оказаться недостающим на сегодня структурным звеном, позволяющим обосновать положение о внутриядерном удержании мРНК, которое может модулировать скорость экспорта мРНК, а также обеспечивать качественный контролирующийся механизм этого экспорта (Misteli, 2007; Prasanth, Spector, 2007).

С другой стороны, впервые обнаруженная нами совместная локализация поли(А)⁺-РНК и факторов экспорта мРНК в КИГ ооцитов может указывать на роль этих ядерных доменов в формировании экспортного комплекса мРНК. Известно, что существенным компонентом этого комплекса является выявляемый нами в составе КИГ ооцитов фактор NXF1/ТАР (рис. 4, б, в). Установлено, что этот белок является ведущим фактором ядерного экспорта для большинства мРНК клеток (Izaurrealde, 2002). NXF1/ТАР вовлечен в транспорт около 75 % мРНК (He-

gold et al., 2003), а его инактивация приводит к остановке экспорта мРНК (Tan et al., 2000; Herold et al., 2001). Обращает на себя внимание обнаруженная в КИГ ооцитов мыши совместная локализация NXF1/TAP и белков A/B гЯРНП (рис. 4, в). По всей вероятности, это может указывать на вовлечение некоторых белков гЯРНП в экспортный комплекс мРНК.

Нужно отметить, что белки A1, A2/B1, A3 и A0, составляющие семейство A/B гЯРНП, демонстрируют чрезвычайно высокий уровень консервативности по аминокислотной последовательности, особенно в их структурных областях. Так, у гЯРНП A1 и гЯРНП A2/B1 гомология в них может достигать 80 % (He, Smith, 2008). Несмотря на такую уникальную ситуацию, использование в наших иммуноцитохимических опытах антител против всего семейства A/B гЯРНП не позволяет, очевидно, заключить, какой именно белок из его состава превалирует в комплексе экспорта мРНК. Вместе с тем ряд фактов дает основание предполагать, что им может быть белок A1 гЯРНП. Во-первых, в соматических клетках белки A2/B1 не локализируются в КИГ и других заметных образованиях экстрахромосомной области кариоплазмы, включая тельца Кахала (Friend et al., 2008). Во-вторых, было установлено, что A1 гЯРНП является челночным белком, переходящим из ядра в цитоплазму, и наоборот (Nakielny, Dreyfuss, 1999). В-третьих, в составе A1 гЯРНП была охарактеризована последовательность M9, которая идентифицируется как сигнал ядерного экспорта (Pinol-Roma, Dreyfuss, 1992, 1993), ортолог гЯРНП A1 у *Diptera* связывается с мРНК в кольцах Бальбиани *Chironomus tetans*, сопровождая эту РНК до цитоплазмы (Danesholt, 1992; Visa et al., 1996).

Подтверждение предположения об активной роли A1 гЯРНП в экспортном комплексе мРНК в ооцитах мыши, находящихся на стадии поздней диплотены, будет предметом нашей дальнейшей работы.

Авторы выражают благодарность ст. н. с. Ф. М. Баталовой за полезное обсуждение результатов исследования и Ю. И. Гукиной за техническую помощь в работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 09-04-00723) и программой президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Список литературы

- Зыбина Е. В. 1971. Синтез РНК и белка в растущем ооците и фолликуле мыши. Цитология. 13 : 768—775.
- Почукалина Г. Н., Девис Д. С., Костючек Д. Ф., Мурти К. Г., Парфенов В. Н. 1998. Факторы сплайсинга в ядрах ооцитов из антральных фолликулов человека. Цитология. 40 (4) : 237—249.
- Почукалина Г. Н., Парфенов В. Н. 2006. Ядрышко в ооцитах многослойных фолликулов мыши: топография фибриллярна, РНК-полимеразы I и коилина. Цитология. 48 (8) : 641—652.
- Почукалина Г. Н., Парфенов В. Н. 2008. Трансформация ядрышек ооцитов антральных фолликулов мыши. Выявление коилина и компонентов комплекса РНК-полимеразы I. Цитология. 50 (8) : 671—680.
- Bogolyubov D., Stepanova I., Parfenov V. 2009. Universal nuclear domains of somatic and germ cells: some lessons from oocyte interchromatin granule cluster and Cajal body structure and molecular composition. BioEssays. 31 : 400—409.
- Bouniol-Baly C., Hamraoui L., Guibert I., Beaujean N., Szöllösi M. S., Debey P. 1999. Differential transcriptional activity associated to chromatin configuration in fully grown GV mouse oocytes. Biol. Reprod. 60 : 580—587.
- Carter K. C., Bowman D., Carrington W., Fogarty K., McNeil J. A., Fay F. S., Lawrence J. B. 1993. A three-dimensional view of precursor messenger RNA metabolism within the mammalian nucleus. Science. 259 : 1330—1335.
- Carter K. C., Taneja K. L., Lawrence J. B. 1991. Discrete nuclear domains of poly(A) RNA and their relationship to the functional organization of the nucleus. J. Cell Biol. 115 : 1191—1202.
- Colwill K., Pawson T., Andrews B., Prasad J., Manley J. L., Bell J. C., Duncan P. I. 1996. The Clk/Sty protein kinase phosphorylates SR splicing factors and regulates their intranuclear distribution. EMBO J. 15 : 265—275.
- Danesholt B. 1992. The transcribed template and the transcript loop in Balbiani rings. Cell Biol. Int. Rep. 16 : 709—715.
- Dawson J. F., Holmes C. F. B. 1999. Molecular mechanisms underlying inhibition of protein phosphatases by marine toxins. Frontiers in Bioscience. 4 : 646—658.
- Dreyfuss G., Matunis M. J., Piñol-Roma S., Burd C. G. 1993. hnRNP proteins and the biogenesis of mRNA. Annu. Rev. Biochem. 62 : 289—321.
- Dundr M., Misteli T. 2001. Functional architecture in the cell nucleus. Biochem. J. 356 : 297—310.
- Erkman J. A., Kutay U. 2004. Nuclear export of mRNA: from the site of transcription to the cytoplasm. Exp. Cell Res. 296 : 12—20.
- Friend L. R., Han S. P., Rothnagel J. A., Smith R. 2008. Differential subnuclear localization of hnRNPs A/B is dependent on transcription and cell cycle stage. Biochim. biophys. acta. 1783 : 1972—1980.
- Fu X.-D., Maniatis T. 1990. Factor required for mammalian spliceosome assembly is localized to discrete regions in the nucleus. Nature. 343 : 437—441.
- Gall J. G. 2003. The centennial of the Cajal body. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 4 : 975—980.
- Grüter P., Tabernero C., von Kobbe C., Schmitt C., Saavedra C., Bachi A., Wilm M., Felber B. K., Izaurralde E. 1998. TAP, the human homolog of Mex67p, mediates CTE-dependent RNA export from the nucleus. Mol. Cell. 1 : 649—659.
- Hall L. L., Smith K. P., Byron M., Lawrence J. B. 2006. Molecular anatomy of a speckle. Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell Evol. Biol. 288 : 664—675.
- He Y., Smith R. 2009. Nuclear functions of heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A/B. Cell Mol. Biol. Sci. 66 : 1239—1256.
- Herold A., Klymenko T., Izaurralde E. 2001. NXF1/p15 heterodimers are essential for mRNA nuclear export in *Drosophila*. RNA. 7 : 1768—1780.
- Herold A., Teixeira L., Izaurralde E. 2003. Genome-wide analysis of nuclear mRNA export pathways in *Drosophila*. EMBO J. 22 : 2472—2483.
- Hu Q., Kwon Y.-S., Nunez E., Cardamone M. D., Hutt K. R., Ohgi K. A., Garcia-Bassets I., Rose D. W., Glass C. K., Rosenfeld M. G., Fu X.-D. 2008. Enhancing nuclear receptor-induced transcription requires nuclear motor and LSD1-dependent gene networking in interchromatin granules. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 105 : 19 199—19 204.
- Huang S., Deerinc T. J., Ellisman M. H., Spector D. L. 1994. In vivo analysis of the stability and transport of nuclear poly(A)⁺ RNA. J. Cell Biol. 126 : 877—899.
- Ishihama Y., Tadakuma H., Tani T., Funatsu T. 2008. The dynamics of pre-mRNAs and poly(A)⁺ RNA at speckles in living cells revealed by iFRAP studies. Exp. Cell Res. 314 : 748—762.
- Izaurralde E. 2002. Nuclear export of messenger RNA. Results Probe Cell Differ. 35 : 133—150.
- Kaplan G., Abren S. I., Bachvarova R. 1982. r-RNA accumulation and protein synthetic patterns in growing mouse oocytes. J. Exp. Zool. 220 : 361—370.
- Lamond A. I., Spector D. L. 2003. Nuclear speckles: a model for nuclear organelles. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 4 : 605—612.

- Lyon C. E., Bohmann K., Sleeman J., Lamond A. I. 1997. Inhibition of protein dephosphorylation results in the accumulation of splicing snRNPs and coiled bodies within the nucleolus. *Exp. Cell Res.* 230 : 84—93.
- Majlessi M., Nelson N. C., Becker M. M. 1998. Advantages of 2'-O-methyl oligoribonucleotide probes for detecting RNA targets. *Nucl. Acids Res.* 26 : 2224—2229.
- Matlin A. J., Clark F., Smith C. W. 2005. Understanding alternative splicing: towards a cellular code. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 6 : 386—398.
- Melčák I., Melčáková Š., Kopský V., Večeřová J., Raška I. 2001. Prespliceosomal assembly on microinjected precursor mRNA takes place in nuclear speckles. *Mol. Biol. Cell.* 12 : 393—406.
- Mili S., Shu H. J., Zhao Y., Piñol-Roma S. 2001. Distinct RNP complexes of shuttling hnRNP proteins with pre-mRNA and mRNA: candidate intermediates in formation and export of mRNA. *Mol. Cell. Biol.* 21 : 7307—7319.
- Misteli T. 2000. Cell biology of transcription and pre-mRNA splicing: nuclear architecture meets nuclear function. *J. Cell Sci.* 113 : 1841—1849.
- Misteli T. 2007. Beyond the sequence: cellular organization of genome function. *Cell.* 128 : 787—800.
- Misteli T., Cáceres J. F., Spector D. L. 1997. The dynamics of a pre-mRNA splicing factor in living cells. *Nature.* 387 : 523—527.
- Misteli T., Spector D. L. 1998. The cellular organization of gene expression. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10 : 323—331.
- Molenaar C., Abdulle A., Gena A., Tanke H. J., Dirks R. W. 2004. Poly(A)⁺ RNAs roam the cell nucleus and pass through speckle domains in transcriptionally active and inactive cells. *J. Cell Biol.* 165 : 191—202.
- Molenaar C., Marras S. A., Slats J. C., Truffert J.-C., Lemaître M., Raap A. K., Dirks R. W., Tanke H. J. 2001. Linear 2'-O-methyl RNA probes for the visualization of RNA in living cells. *Nucl. Acids Res.* 29 : e89.
- Monneron A., Bernhard W. 1969. Fine structural organization of the interphase nucleus in some mammalian cells. *J. Ultrastruct. Res.* 27 : 266—288.
- Moore G. P. M., Linten-Moore S., Peters H., Faber M. 1974. RNA synthesis in the mouse oocyte. *J. Cell Biol.* 60 : 416—422.
- Nakielny S., Dreyfuss G. 1999. Transport of protein and RNAs in and out of the nucleus. *Cell.* 99 : 677—690.
- Parfenov V. N., Davis D., Pochukalina G., Kostyuchek D., Murti K. 1998. Dynamics of distribution of splicing components relative to the transcriptional state of human oocytes from antral follicles. *J. Cell. Biochem.* 69 : 72—80.
- Parfenov V. N., Davis D. S., Pochukalina G. N., Kostyuchek D., Murti K. G. 2000. Nuclear distribution of RNA polymerase II in human oocytes from antral follicles: dynamics relative to the transcriptional state and association with splicing factors. *J. Cell. Biochem.* 77 : 654—665.
- Parfenov V. N., Pochukalina G. N., Davis D. S., Reinbold R., Schöler H. R., Murti K. G. 2003. Nuclear distribution of Oct-4 transcription factor in transcriptionally active and inactive mouse oocytes and its relation to RNA polymerase II and splicing factors. *J. Cell. Biochem.* 89 : 720—732.
- Parfenov V. N., Pochukalina G., Dudina L., Kostyuchek D., Gruzova M. 1989. Human antral follicles: oocyte nucleus and the karyosphere formation (electron microscopic and autoradiographic data). *Gamete Res.* 22 : 219—231.
- Piñol-Roma S., Dreyfuss G. 1992. Shuttling of pre-mRNA binding proteins between nucleus and cytoplasm. *Nature.* 355 : 730—732.
- Piñol-Roma S., Dreyfuss G. 1993. hnRNP proteins: localization and transport between the nucleus and the cytoplasm. *Trends Cell Biol.* 3 : 151—155.
- Prasanth K. V., Spector D. L. 2007. Eukaryotic regulatory RNAs: an answer to the «genome complexity» conundrum. *Genes Develop.* 21 : 11—42.
- Reed R., Hurt E. 2002. A conserved mRNA export machinery coupled to pre-mRNA splicing. *Cell.* 108 : 523—531.
- Sacco-Bubulya P., Spector D. L. 2002. Disassembly of interchromatin granule clusters alters the coordination of transcription and pre-mRNA splicing. *J. Cell Biol.* 156 : 425—436.
- Saitoh N., Spahr C. S., Patterson S. D., Bubulya P., Neuwald A. F., Spector D. L. 2004. Proteomic analysis of interchromatin granule clusters. *Mol. Biol. Cell.* 15 : 3876—3890.
- Schmidt U., Richter K., Berger A. B., Lichter P. 2006. *In vivo* BiFC analysis of Y14 and NXF1 mRNA export complexes: preferential localization within and around SC35 domains. *J. Cell Biol.* 172 : 373—381.
- Shopland L. S., Johnson C. V., Byron M., McNeil J., Lawrence J. B. 2003. Clustering of multiple specific genes and gene-rich R-bands around SC-35 domains: evidence for local euchromatic neighborhoods. *J. Cell Biol.* 162 : 981—990.
- Shopland L. S., Johnson C. V., Lawrence J. B. 2002. Evidence that all SC-35 domains contain mRNAs and that transcripts can be structurally constrained within these domains. *J. Struct. Biol.* 140 : 131—139.
- Spector D. L. 1993. Macromolecular domains within the cell nucleus. *Annu. Rev. Cell Biol. USA.* 9 : 265—315.
- Stepanov I. S., Bogolyubov D. S., Skovorodkin I. N., Parfenov V. N. 2007. Cajal bodies and interchromatin granule clusters in cricket oocytes: composition, dynamics and interactions. *Cell Biol. Int.* 31 : 203—214.
- Tan W., Zolotukhin A. S., Bear J., Patenaude D. J., Felber B. K. 2000. The mRNA export in *Caenorhabditis elegans* is mediated by Ce-NXF-1, an ortholog of human TAP/NXF and *Saccharomyces cerevisiae* Mex67p. *RNA.* 6 : 1762—1772.
- Tanuma N., Kim S.-E., Beullens M., Tsubali Y., Mitsuhashi S., Nomura M., Kawamura T., Isono K., Koseki H., Sato M., Bollen M., Kikuchi K., Shima H. 2008. Nuclear inhibitor of protein phosphatase-1 (NIP1) direct protein phosphatase-1 (PP1) to dephosphorylate the U2 snRNP component, spliceosome-associated protein 155 (Sap 155). *J. Biol. Chem.* 283 : 35 805—35 814.
- Visa N., Alzhanova-Ericsson A. T., Sun X., Kiseleva E., Björkroth B., Wurtz T., Daneholt B. 1996. A pre-mRNA-binding protein accompanies the RNA from the gene through the nuclear pores and into polysomes. *Cell.* 84 : 253—264.
- Visa N., Puvion-Dutilleul F., Harper F., Bachelier J. P., Puvion E. 1993. Intranuclear distribution of poly(A)⁺-RNA determined by electron microscope *in situ* hybridization. *Exp. Cell Res.* 208 : 19—34.
- Wang H. C., Sassano D., Blume A. J., Ziai M. R. 1991. Gene expression in *Xenopus* oocytes. *Int. J. Biochem.* 23 : 271—276.
- Will C. L., Lührmann R. 1997. Protein functions in pre-mRNA splicing. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9 : 320—328.
- Wu J. Y., Maniatis T. 1993. Specific interactions between proteins implicated in splice site selection and regulated alternative splicing. *Cell.* 75 : 1061—1070.
- Zatsepina O. V., Bouniol-Baly C., Amirand C., Debey P. 2000. Functional and molecular reorganization of the nucleolar apparatus in maturing mouse oocytes. *Develop. Biol.* 223 : 354—370.
- Zhou Z., Luo M. J., Straesser K., Katahira J., Hurt E., Reed R. 2000. The protein Aly links pre-messenger-RNA splicing to nuclear export in metazoans. *Nature.* 407 : 401—405.

INTERCHROMATIN GRANULE CLUSTERS OF MOUSE PREOVULATORY OOCYTES,
ORGANIZATION, MOLECULAR COMPOSITION AND POSSIBLE FUNCTIONS*G. N. Pochukalina, D. S. Bogolyubov, V. N. Parfenov*Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;
e-mail: galina@mail.cytspb.rssi.ru

At the diplotene stage of meiotic prophase, the nucleus of mouse preovulatory oocytes contains multiple interchromatin granule clusters (IGC). These nuclear compartments are universal and evolutionary conserved and enriched in pre-mRNA splicing factors. Nowadays, IGCs are believed to play an important role in gene expression events and contain different molecular components that allow coupling of many processes from transcription to mRNA export. We obtained the data on the distributions of poly(A)⁺RNA, hnRNPS A/B, and NXF1/TAP factor of mRNA export. These factors were found to associate with IGCs of mouse preovulatory oocytes. In the present study, we have demonstrated for the first time the dynamics of large IGCs after specific phosphorylation of SR-proteins with okadaic acid, an inhibitor of protein phosphatases. Using electron microscopy, conventional fluorescent and confocal microscopies, as well as microinjections of oligonucleotide probes in mouse oocytes, some features of structural organization and molecular compositions of IGCs in the nuclei of mouse oocyte from antral follicles were established. Possible roles of IGCs in pre-mRNA metabolism and the participation of these structures in mRNA export are discussed.

Key words: mouse oocyte nucleus, nuclear compartments, interchromatin granule clusters, pre-mRNA metabolism, poly(A)⁺RNA, mRNA export, okadaic acid, electron microscopy, confocal microscopy.
