

ОРГАНИЗАЦИЯ ЦЕНТРОМЕРНЫХ РАЙОНОВ ХРОМОСОМ НА СТАДИИ ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК

© А. В. Красикова, Е. Р. Гагинская¹

Лаборатория структуры и функции хромосом С.-Петербургского государственного университета;
¹ электронный адрес: spbchromas@gmail.com

В комплексе структурных элементов, необходимых для точной сегрегации эукариотических хромосом в ходе двух разных типов клеточного деления — митоза и мейоза, — важнейшее место принадлежит центромере. Данные ультраструктурного и цитомолекулярного анализов свидетельствуют о значительных изменениях молекулярного состава и функциональной морфологии центромер при подготовке к первому мейотическому делению. Обзор посвящен современным представлениям о морфофункциональной организации центромерных районов хромосом в растущих ооцитах птиц и амфибий. Охарактеризованы строение, особенности молекулярного состава и доменная организация центромер на стадии ламповых щеток, приведены данные цитогенетического анализа. Особое внимание уделено значению и регуляции транскрипции сателлитной ДНК в ядрах развивающихся ооцитов. Обсуждаются возможные функции центромерных «белковых тел», формирующихся в районе первичной перетяжки в мейотических бивалентах.

Ключевые слова: архитектура генома, гетерохроматин, некодирующая РНК, ооцит, сателлитная ДНК, хромосомы типа ламповых щеток, центромера, центромерные белковые тела.

Принятые сокращения: гЯРНП — гетерогенные ядерные РНП, мяРНК — малая ядерная РНК, мяРНП — малые ядерные РНП, ЦИ — центромерный индекс, CENP — centromere protein, LTR — long terminal repeat, RITS — RNA-induced transcriptional silencing, siРНК — small interfering РНК.

У позвоночных центромера впервые была описана как первичная перетяжка, видимая в конденсированных хромосомах, и позднее была охарактеризована как район хромосомы с пониженной частотой рекомбинации (Sumner, 2003). Согласно современным представлениям, центромерные районы хромосом необходимы для образования веретена деления, когезии сестринских хроматид и регулирования расхождения хромосом в ходе митоза и мейоза. Помимо этого, центромеры выполняют ряд других существенных функций, участвуя в пространственной организации генома в интерфазном ядре, формировании хромоцентров и регуляции экспрессии расположенных рядом генов (Choo, 2001; Енукашвили и др., 2003; Vos et al., 2006; Watanabe et al., 2006; Vagnarelli et al., 2008). Для центромерных районов характерно присутствие гетерохроматина, чаще всего образованного высокоповторяющейся сателлитной ДНК (Hayakawa et al., 2003). После открытия явления РНК-интерференции (избирательного подавления экспрессии генов гомологичной им двухцепочечной РНК) стали накапливаться сведения о том, что для формирования прицентромерного гетерохроматина необходимо участие некодирующей РНК, РНК-эндонуклеазы III и комплекса RITS (RNA-induced transcriptional silencing) (Mellone, Allshire, 2003; Almedia, Allshire, 2005; Prasanth, Spector, 2007). Огромная функциональная значимость этих высокоспециализированных районов хромосом определила достигнутый в последние годы значительный прогресс в понимании механизмов их работы в соматических клетках. Вместе с тем транскрипционная

активность, эпигенетический состав, особенности пространственной организации и функционирования центромерных районов хромосом в половых клетках нуждаются в углубленном анализе.

Особенности функционирования хромосом на стадии ламповых щеток

Гигантские ядра (зародышевые пузырьки) в растущих ооцитах таких позвоночных животных, как амфибии и птицы, представляют собой удобный материал для изучения специфической организации функциональных районов мейотических бивалентов. Это обусловлено тем, что на диплотенной стадии профазы первого мейотического деления у половозрелых амфибий, рептилий и птиц (как и у беспозвоночных с солитарным типом оогенеза) активная транскрипция в зародышевых пузырьках приводит к значительной декомпактизации хроматина и изменению общего строения хромосом, в результате чего размеры бивалентов увеличиваются в десятки раз (Callan, 1986; Macgregor, 1986; Гагинская, 1989; Morgan, 2002; Bogolyubov, Parfenov, 2008; Gaginskaya et al., 2009). Своеобразная хромомерно-петлевая морфология хромосом на этой стадии развития ооцита напоминала щетки для чистки стекол керосиновых ламп, вследствие чего в XIX в. для этих структур и был предложен метафорический термин «хромосомы типа ламповых щеток» (lampbrush chromosomes) (Ruckert, 1892; цит. по: Callan, 1986).

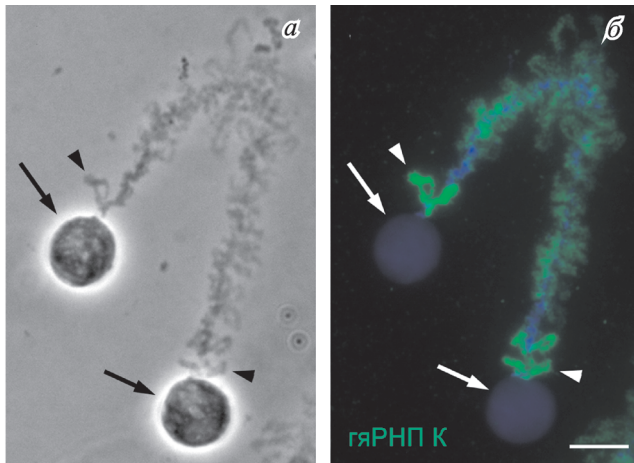


Рис. 1. Изолированный из ооцита зяблика микробивалент на стадии ламповых щеток.

a — фазово-контрастное изображение; *б* — РНП-матрикс латеральных петель окрашен с помощью антител против белка К гетерогенных ядерных РНП-частиц (зеленая флуоресценция), хромомеры окрашены DAPI (голубая флуоресценция). Белковые тела (стрелки), которые маркируют центромерные районы хромосом, не содержат белка К гЯРНП. РНП-матрикс латеральных петель, исходящих из прицентромерных хромомеров (головки стрелок), значительно обогащен гЯРНП К. Масштабный отрезок — 10 мкм.

На стадии ламповых щеток в биваленте каждый гомолог (полубивалент) состоит из линейного набора хромомеров, от которых отходят пары латерально направленных петель (рис. 1, 2). Хромомеры содержат компактный, транскрипционно неактивный хроматин, тогда как латеральные петли представляют собой вытянутые из него транскрибируемые участки сестринских хроматид, плотно покрытые комплексами РНК-полимераз. Новосинтезированная РНК в комплексе с белками образует так называемый рибонуклеопротеиновый (РНП) матрикс, масса которого на петле увеличивается в направлении транскрипции благодаря удлинению молекул РНК по мере их синтеза. Поляризованные единицы матрикса, как правило хорошо видимые в обычном световом микроскопе, таким образом, соответствуют транскрипционным единицам ДНК.

Несмотря на то что весь спектр молекул РНК, синтезируемых на этой стадии оогенеза, не определен, показано,

что на тысячах латеральных петель ламповых щеток транскрибируются самые разнообразные последовательности ДНК — как уникальные, так и высокоповторяющиеся, как транслируемые, так и некодирующие (Macgregor et al., 1997; Gaginskaia et al., 2009). Биологическое значение такой транскрипции не вполне понятно. Не исключено, что транскрибируемые на стадии ламповых щеток некодирующие последовательности могут определять время жизни и судьбу сложных транскриптов, в состав которых они входят. Так, детальный анализ состава фракций РНК из ооцитов показал, что часть запаса кодирующих и регуляторных молекул РНК, синтезируемых на боковых петлях ламповых щеток, используется во время ооплазматического роста, а часть — во время раннего развития зародыша (Anderson et al., 1982; Davidson, 1986; Malewska, Olszanska, 1999).

Молекулярному составу ламповых щеток и других внутриядерных структур ооцита, как ассоциированных с хромосомами, так и экстрахромосомных, посвящены многие работы, подробную информацию о которых можно найти в исчерпывающем обзоре Г. Моргана (Morgan, 2002). Вкратце отметим, что большинство латеральных петель ламповых щеток амфибий и птиц транскрибируется при помощи РНК-полимеразы II (Morgan et al., 2000; Saifitdinova et al., 2003). Известно при этом, что синтезируемые РНК-полимеразой II первичные транскрипты подвергаются котранскрипционному процессингу, который состоит в модификации 5'- и 3'-концов и сплайсинге (Neugebauer, Roth, 1997). В составе ламповых щеток у амфибий и птиц обнаружены компоненты всех трех этапов процессинга предшественников матричной РНК, а также белки, осуществляющие ее редактирование и упаковку (Wu et al., 1991; Doyle, Jantsch, 2003; Krasikova et al., 2004). Наблюдаемое различие в белковом составе РНП-матрикса отдельных транскрипционных единиц отражает разнообразие синтезируемых на ламповых щетках молекул РНК (Pinol-Roma et al., 1989; Solovei et al., 1995; Abbott et al., 1999; Deryusheva et al., 2007).

Хромосомы типа ламповых щеток благодаря присутствию им морфологии, гигантским размерам, высокой транскрипционной активности и возможности наблюдать такие детали в структуре хромосом, которые иначе были бы неразличимы с помощью световой микроскопии, служат удобным объектом для исследования организации мейотических бивалентов, эу- и гетерохроматина, регуля-

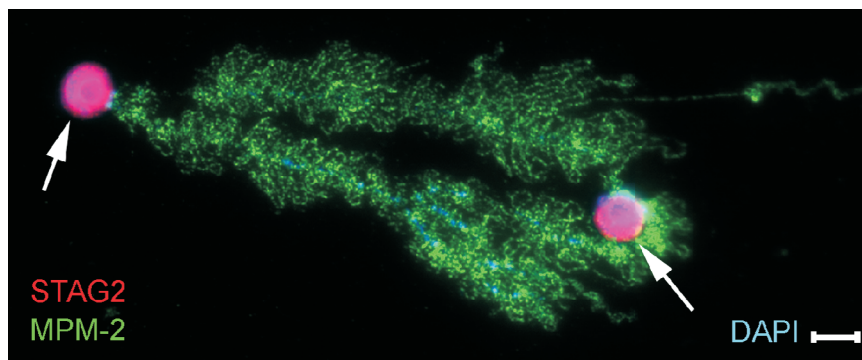


Рис. 2. Молекулярный состав центромерных белковых тел, формирующихся на хромосомах-ламповых щетках птиц.

Двойное иммунофлуоресцентное окрашивание хромосом типа ламповых щеток зяблика с помощью антител против белка STAG2 комплекса когезин (красная флуоресценция) и антител MPM-2 против фосфорилированных белков (зеленая флуоресценция). Белковые тела (стрелки) не содержат MPM-2-фосфоэпитопов, но обогащены белками, участвующими в структурной организации хромосом, такими как белки комплекса когезин. Хромосомы окрашены DAPI (голубая флуоресценция). Масштабный отрезок — 10 мкм.

торных механизмов транскрипции и котранскрипционно-го процессинга РНК, а также других общебиологических проблем (Macgregor, 1986; Sommerville et al., 1993; Macgregor et al., 1997; Gall et al., 1999; Morgan, 2002; Patel et al., 2008; Gaginskaya et al., 2009). Ламповые щетки, в частности, являются перспективной модельной системой, позволяющей с высоким уровнем разрешения исследовать морфофункциональную организацию и динамику белков центромерных районов хромосом в женских половых клетках.

Структурные домены центромерных районов хромосом на стадии ламповых щеток

Сведения, касающиеся морфологии центромерных районов хромосом-ламповых щеток амфибий, были впервые систематизированы в одном из разделов монографии Г. Кэллана (Callan, 1986). Обобщая полученные к настоящему времени данные, отметим, что центромерные районы в стадии ламповых щеток как у амфибий, так и у птиц имеют сложную организацию. Как правило, в них можно выделить конденсированный (беспетлевой) участок хромосомной оси, одну или несколько пар длинных латеральных петель и плотные сферические тельца, природа которых долгое время оставалась неизвестной (рис. 1).

Рассматривая вопрос о функциональной организации центромер в хромосомах типа ламповых щеток, мы принимали во внимание следующее. На основе данных об ультраструктуре и молекулярной организации в составе центромеры в метафазных хромосомах принято выделять несколько функциональных доменов: домен контакта

(прицентромерный гетерохроматин), центральный домен (центромерный гетерохроматин) и кинетохор (Craig et al., 1999; Choo, 2000, 2001; Енукашвили и др., 2003; Mellone, Allshire, 2003; Maiato et al., 2004; Vos et al., 2006). Изучение белкового состава хроматина, метилирования ДНК и локализации тандемно повторенных последовательностей в ламповых щетках показало, что комплексное строение центромерных районов хромосом на этой стадии в целом соответствует общепринятым представлениям о доменной организации центромер: в их составе можно выделить все три функциональных домена (рис. 3).

Вместе с тем специфическая морфология центромерного района хромосомы-ламповой щетки может отражать особенности функционирования центромер в мейотических клетках. Действительно, в ходе первого (редукционного) мейотического деления, при котором к противоположным полюсам веретена деления расходятся не сестринские хроматиды, а гомологичные хромосомы, происходят соответствующие изменения в структурной организации центромер. В частности, для редукционного деления характерны монополярная ориентация сестринских кинетохоров и защита когезии сестринских хроматид в прицентромерных районах хромосом специфическими белками (Watanabe et al., 2006). Кроме того, есть сведения о формировании на этой же стадии мейоза особых структур — «перикинетохорного кольца» (Parra et al., 2006) и «Т-образного центромерного филамента» (Solari, Tandler, 1991; Parra et al., 2004), назначение которых до сих пор не вполне понятно.

Особенностям организации и функционирования отдельных структурных элементов центромерных районов мейотических полубивалентов на стадии ламповых щеток посвящены следующие разделы обзора.

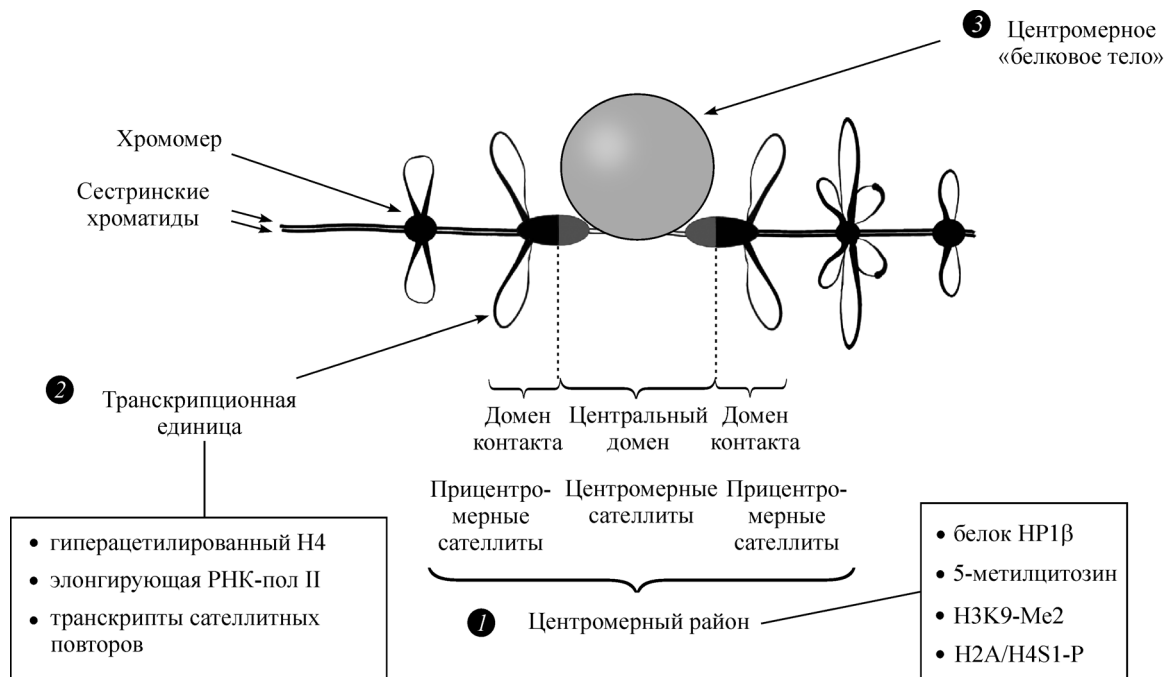


Рис. 3. Общая схема доменной организации центромерного района хромосомы на стадии ламповых щеток.

Содержащие маркеры инактивированного хроматина плотные, удлиненные хромомеры в центромерных районах хромосом представляют собой прицентромерный гетерохроматин (1). Эти хромомеры могут нести одну или несколько пар длинных латеральных петель, на которых РНК-полимераза II осуществляет транскрипцию прицентромерных тандемно повторяющихся последовательностей ДНК (2). Особенностью центромерного района хромосомы на стадии ламповых щеток является формирование в районе первичной перетяжки сферической структуры, которая получила название «белковое тело» у птиц или «центромерная гранула» у амфибий (3). Центромерное белковое тело с двух сторон фланкировано хромомерами, содержащими центромерные последовательности ДНК.

Характеристика прицентромерного и центромерного хроматина

Первое описание центромерных районов хромосом на стадии ламповых щеток принадлежит Дж. Голлу, который исследовал изолированные ламповые щетки зеленоватого тритона *Notophthalmus viridescens* (Gall, 1952, 1954). Он охарактеризовал центромеры как длинные Фельген-положительные (т. е. хроматиновые) «валики» около 10 мкм длиной и 2 мкм толщиной, образованные крупными слившимися друг с другом хромомерами. В отличие от других участков хромосом эти хромомеры, как правило, не несут латеральных петель. Г. Кэллан и Л. Ллойд (Callan, Lloyd, 1960) дали сходную характеристику центромерным районам ламповых щеток гребенчатого тритона *Triturus cristatus karelinii*, описав их как гладкие, лишённые латеральных петель гранулы, фланкированные валиками плотно упакованного хроматина, достигающими 8 мкм в длину. Сравнение строения центромерных районов хромосом на стадии ламповых щеток у нескольких представителей амфибий и птиц показывает, что размеры хроматиновых валиков у разных видов могут значительно различаться (рис. 4) и пропорциональны размерам С-позитивных блоков в соответствующих метафаз-

ных хромосомах (Baldwin, Macgregor, 1985). Более того, как было показано для ламповых щеток *T. c. karelinii*, а затем и несколько других видов хвостатых амфибий и некоторых птиц, крупные центромерные хромомеры и валики содержат высокоповторяющиеся последовательности ДНК (Gall et al., 1981; Baldwin, Macgregor, 1985; Barsacchi-Pilone et al., 1986; Soloveri et al., 1996; Saifitdinova et al., 2003; Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007).

Высокоповторяющаяся ДНК центромерных районов, как правило, составляют центромерные и прицентромерные сателлиты, которые в центромере образуют домены разного функционального назначения (Vos et al., 2006). Принадлежность хромомера ламповой щетки или его участка определенному домену центромеры можно определить по свойствам входящих в его состав последовательностей ДНК. Оказалось, что большинство выявленных в центромерных валиках повторов, например повтор TkS1 из генома *T. c. karelinii* (Varley et al., 1990), обладают характерными признаками прицентромерных сателлитов. Одновременно эти повторы не содержат последовательностей, характерных для центромерной ДНК, отвечающей за формирование кинетохора. Таким образом, прицентромерный гетерохроматин, представляющий собой домен контакта сестринских хроматид, на ста-

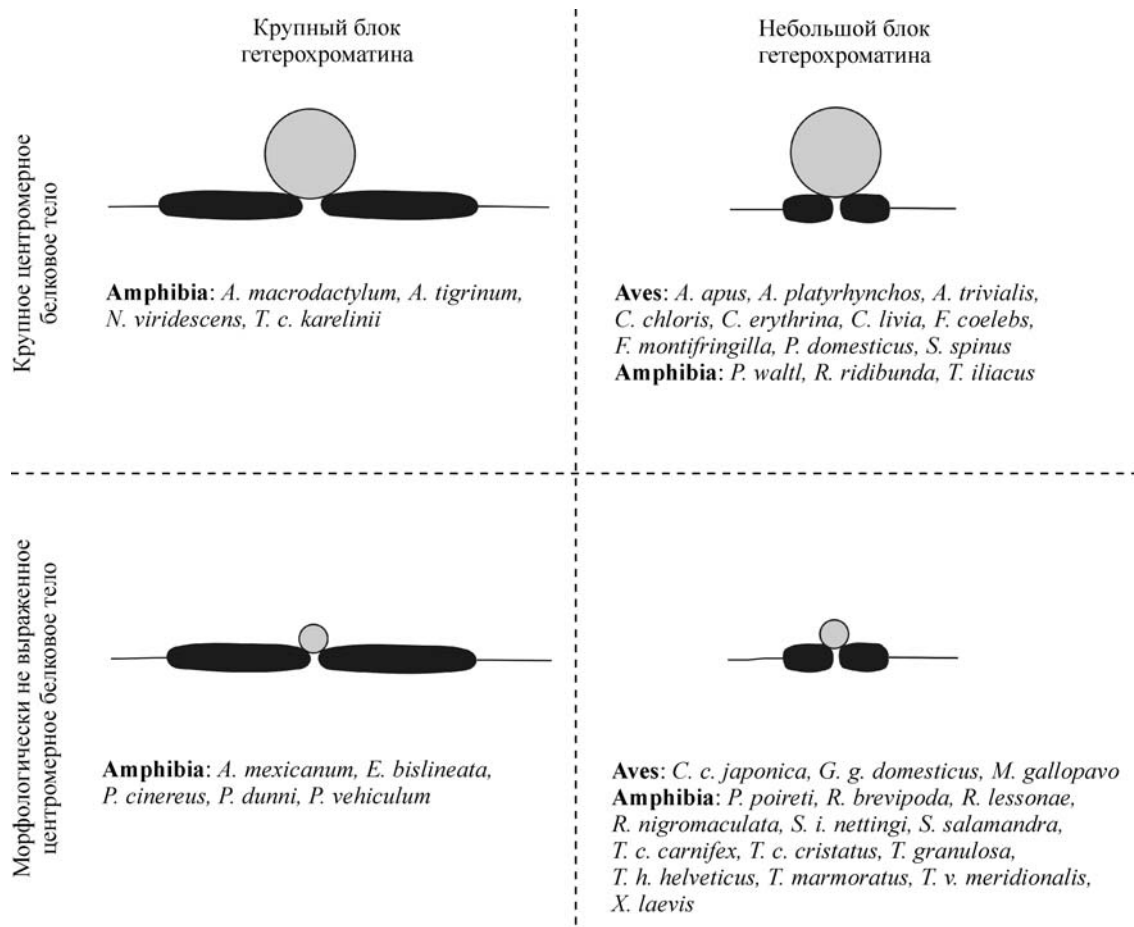


Рис. 4. Варианты строения центромерных районов хромосом на стадии ламповых щеток у разных видов амфибий и птиц.

С-позитивный блок гетерохроматина в центромерных районах хромосом представлен образующими «центромерный валик» хромомерами. Сферическое центромерное «белковое тело», формирующееся в районе перетяжки хромосом-ламповых щеток, может быть морфологически выраженным (верхняя панель) или иметь очень небольшие размеры (нижняя панель). Так, например, размер центромерных белковых тел на ламповых щетках домашней курицы *Gallus gallus domesticus* не превышает 1 мкм, в то время как диаметр белковых тел в ядрах ооцитов зяблика *Fringilla coelebs* может достигать 12 мкм. Латеральные петли и соседние с центромерными районами хромомеры на схематических рисунках не показаны.

Список картированных в центромерных районах хромосом амфибий и птиц сателлитных повторов и их транскрипционная активность в ооцитах на стадии ламповых щеток

Исследованные виды	Сателлитный повтор	Длина, п. н.	Транскрипционная активность	Литературный источник
А м ф и б и и				
<i>Notophthalmus viridescens</i>	Сателлит I	220	+	Diaz et al., 1981; Gall et al., 1983
<i>Triturus cristatus karelinii</i> <i>T. c. cristatus</i> <i>T. c. carnifex</i> <i>T. marmoratus</i>	TkS1	33	+	Baldwin, Macgregor, 1985
<i>Triturus vulgaris meridionalis</i>	Tvm1	310	+	Barsacchi-Pilone et al., 1986
<i>Triturus vulgaris meridionalis</i> <i>T. v. vulgaris</i>	Msp1	197	–	Cremisi et al., 1988
<i>Xenopus laevis</i>	Fcr1	174	–	Edwards, Murray, 2005
<i>Rana ridibunda</i> <i>R. lessonae</i>	RrS1	300 и 200	Не исследована	Ragghianti et al., 1995
П т и ц ы				
<i>Fringilla coelebs</i>	FCP	505	–	Saifitdinova et al., 2001, 2003
<i>Columba livia</i> <i>C. palumbus</i>	PR1	900	+	Solovei et al., 1996
<i>Galliformes</i>	PO41	41	+	Wang et al., 2002; Deryusheva et al., 2007
<i>Gallus gallus domesticus</i>	CNM	41	+	Matzke et al., 1990; Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007
<i>Coturnix coturnix japonica</i>	BgIII	41	+	Tanaka et al., 2000; Deryusheva et al., 2007

дии ламповых щеток морфологически представлен крупными продолговатыми хромомерами или их периферическими участками (рис. 3).

Известно, что хроматин центромерных районов хромосом характеризуется уникальным паттерном модификаций гистонов, специфическим рисунком метилирования ДНК и содержанием высокоспециализированных белковых комплексов, так что функция центромер находится под строгим эпигенетическим контролем (Ekwall, 2007; Allshire, Karpen, 2008). Обнаружено, что на стадии ламповых щеток крупные хромомеры в прицентромерных районах хромосом обогащены эпигенетическими маркерами гетерохроматина; в частности, в них концентрируются метилированные динуклеотиды CpG, некоторые характерные для неактивного хроматина модификации гистонов (диметилированный по лизину 9 гистон H3, фосфорилированные по серину 1 гистоны H4/H2A и др.) и белок гетерохроматина HP1β (рис. 3). Предполагается, что присутствие белков HP1α и HP1β в районах конститутивного гетерохроматина в транскрипционно активных ооцитах необходимо для избирательного подавления там синтеза РНК (Meglicki et al., 2008).

В беспетлевом хроматиновом участке ламповых щеток всегда отчетливо видна перетяжка (рис. 3), которая, по-видимому, соответствует центральному домену центромеры — специализированному району хромосомы, на основе которого собирается кинетохор. В метафазных хромосомах часть нуклеосом в этой области содер-

жит особый вариант гистона H3 — белок CENP-A (centromere protein A) (Sullivan, Karpen, 2004). В центромере ламповых щеток амфибий и птиц гистон CENP-A иммуноцитохимическими методами не выявляется (Edwards, Murray, 2005; наши данные). Вместе с тем было обнаружено, что экзогенный флуоресцентно меченный белок CENP-C направляется в центромерные районы ламповых щеток *Xenopus* (личное сообщение Дж. Голла, <http://www.exeter.ac.uk/projects/lampbrush/>). Как осуществляется контроль сборки центромерных структур и что определяет район формирования кинетохора в отсутствие эпигенетического маркера центромер — белка CENP-A, — остается загадкой.

Анализируя морфофункциональную организацию центромерных районов, следует отметить, что сателлитные последовательности ДНК в центральном домене центромеры на стадии ламповых щеток остаются транскрипционно инертными (см. таблицу). Так, в хромосомах зяблика *Fringilla coelebs* повтор FCP занимает центральный домен центромер, в котором на стадии ламповых щеток не выявляются элонгирующая форма РНК-полимеразы (Saifitdinova et al., 2003) и маркер транскрипционно активного хроматина — гиперацетилованный гистон H4. При этом компьютерный анализ первичной последовательности повтора FCP, составляющего ~0.9 % генома зяблика (Saifitdinova et al., 2001), показал присутствие в каждой повторяющейся единице сайтов для связывания центромерных белков CENP-B и pJa, что характеризует

FCP как центромерный сателлит. В случае других центромерно локализованных повторяющихся последовательностей ДНК, как, например, фрагментов MspI и Fcr1 (frog centromeric repeat 1) из геномов двух видов тритонов и *Xenopus* соответственно, их транскрипция на ламповых щетках также не была обнаружена (Cremisi et al., 1988; Edwards, Murray, 2005). Как и FCP, тандемный повтор Fcr1, изолированный из фракции хроматина, содержащего белок кинетохоров XCENP-A, содержит мотив, напоминающий CENP-B-бокс, т. е. обладает признаками, характерными именно для центромерных сателлитов (Edwards, Murray, 2005).

Транскрипция прицентромерных сателлитов и процессинг РНК

Несмотря на то что центромерные районы ламповых щеток в целом лишены латеральных петель и сильно конденсированы, периферические хромомеры в них могут иметь одну или несколько пар латеральных петель (рис. 1) (Callan, 1986; Macgregor et al., 1997). В этих петлях с хорошо выраженным поляризованным РНП-матриком содержится транскрипционно активный хроматин. Еще в 1980-е годы были получены доказательства того, что на латеральных петлях ламповых щеток транскрибируются сателлитные последовательности ДНК, которые в соматических клетках долгое время считались «молчащими» (Varley et al., 1980; Baldwin, Macgregor, 1985; Barsacchi-Pilone et al., 1986). Успех был обусловлен в том числе и тем, что хромосомы типа ламповых щеток представляют собой исключительно удобную систему для анализа продуктов транскрипции высокоповторяющихся последовательностей ДНК с высокой степенью разрешения (рис. 5). Использование при этом в качестве зондов для гибридизации однонитевой ДНК дает возможность определить, которая из двух нитей служит матрицей для синтеза некодирующей РНК.

Так, например, на ламповых щетках тритонов *T. c. karelinii* и *T. v. meridionalis* было обнаружено считывание сателлитных повторов Tks1 (Baldwin, Macgregor, 1985) и

Tvm1 (Barsacchi-Pilone et al., 1986) соответственно (см. таблицу). На ламповых щетках голубя установлена транскрипция сателлитного повтора PR1 (Solovei et al., 1996). На боковых петлях хромосом домашней курицы *Gallus gallus domesticus* и японского перепела *Coturnix coturnix japonica* были выявлены транскрипты тандемных повторов с повторяющейся единицей длиной 41 п. н.: CNM и Bg/II-повтора (рис. 5) (Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007). По ряду данных все перечисленные повторы могут быть отнесены к группе прицентромерных сателлитов. Действительно, последовательности повтора CNM из генома курицы, CNM-подобных повторов из генома перепела и индейки, а также повтора PR1 из генома голубя содержат сайты для связывания ДНК-топоизомеразы II. Известно при этом, что ДНК-топоизомераза II накапливается в прицентромерных районах хромосом в прометафазе (Taagerera et al., 1993) и плотность сайтов расщепления ДНК этим ферментом коррелирует с функциональной активностью центромер (Porter, Farr, 2004; Spence et al., 2007). Для сателлитных повторов 41 п. н. также характерно отсутствие сайтов связывания центромерных белков CENP-B и pJa.

Таким образом, по всей видимости, на стадии ламповых щеток прицентромерные повторы могут транскрибироваться, тогда как хроматин центрального домена центромеры остается транскрипционно инертным (см. таблицу; рис. 3). Эти различия в транскрипционной активности центромерных и прицентромерных сателлитов в ходе оогенеза могут отражать их разную функциональную нагрузку.

Стоит отметить, что в нецентромерных районах хромосом часто локализуются дополнительные кластеры прицентромерных повторов, где они также могут транскрибироваться на стадии ламповых щеток. Ярким примером может служить транскрипция сателлита I из генома *N. viridescens*, локализованного помимо прицентромерных хромомеров также и около кластеров гистоновых генов на хромосомах II и VI (Gall et al., 1981). На ламповых щетках сателлит I транскрибируется только в общих транскрипционных единицах вместе с кластерами гистоновых генов на петлях в непосредственной близости от

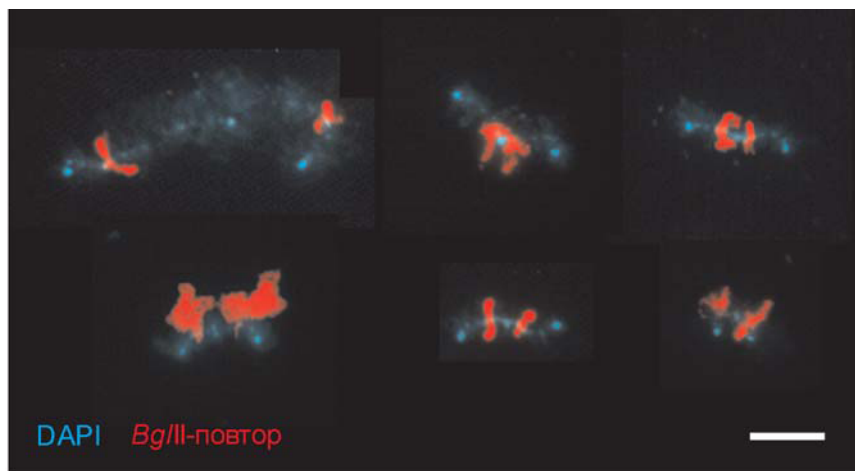


Рис. 5. Транскрипция тандемно повторяющихся последовательностей ДНК в прицентромерных районах хромосом на стадии ламповых щеток.

Микробиваленты японского перепела. FISH с зондом к Bg/II-повтору по протоколу ДНК/РНК-гибридизации. Длинные латеральные петли, исходящие из прицентромерных хромомеров, содержат G-богатые транскрипты Bg/II-повтора (красная флуоресценция). Хромосомы окрашены DAPI (голубая флуоресценция). Масштабный отрезок — 10 мкм.

локусов формирования телец Кахала (Diaz et al., 1981; Diaz, Gall, 1985). Сходным образом повтор CNM курицы на стадии ламповых щеток также транскрибируется не только в прицентромерных районах, но и в дополнительных сайтах, а именно в терминальных районах длинных плеч некоторых микрохромосом и на длинном плече хромосомы 3 (Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007).

В ламповых щетках для некодирующих tandemных повторов, как правило, характерны очень длинные транскрипционные единицы. Поскольку транскрипция сателлитов на ламповых щетках чувствительна к обработке α -аманитином (Cremisi et al., 1992), а оси петель, несущих транскрипционные единицы повторов, покрыты молекулами элонгирующей формы РНК-полимеразы II с гиперфосфорилированным С-концевым доменом и активно включают меченный бромурин (Deryusheva et al., 2007), не возникает сомнений, что синтез РНК, комплементарной сателлитным повторам, осуществляет именно РНК-полимераза II.

Рассматривая вопрос о механизмах транскрипции сателлитной ДНК в ооцитах, следует иметь в виду, что процессинг вновь синтезированной РНК инициируется котранскрипционно. Известно, что С-концевой домен (CTD) РНК-полимеразы II привлекает в активные транскрипционные единицы факторы сплайсинга и 3'-процессинга РНК (Neugebauer, Roth, 1997). Обнаружено также, что укорочение CTD РНК-полимеразы II ингибирует синтез малых интерферирующих РНК (small interfering RNA — siRNA) и как следствие нарушает формирование гетерохроматина (Kato et al., 2005; Schramke et al., 2005). По всей видимости, субъединицы РНК-полимеразы II могут осуществлять связь вновь синтезируемых транскриптов сателлитной ДНК с белками, осуществляющими их процессинг, сопрягая два события — синтез некодирующей РНК и РНК-зависимое формирование гетерохроматина.

Хромосомы в форме ламповых щеток дают уникальную возможность исследовать комплексы вновь синтезированной РНК и белков, еще ассоциированные с хроматином. Иммуноцитохимический анализ РНП-матрикса петель, содержащих прицентромерные и субтеломерные сателлиты, показал, что его состав разительно отличается от состава РНП-матрикса подавляющего большинства других петель, транскрибируемых РНК-полимеразой II. Так, например, на ламповых щетках домашней курицы и японского перепела РНП-матрикс петель, транскрибирующих повторы CNM, PO41 и *BgIII*-повтор, не содержит типичных для синтезируемых РНК-полимеразой II транскриптов факторы сплайсинга, таких как малые ядерные РНП (мяРНП) (Deryusheva et al., 2007). Подобная ситуация описана ранее для гигантских перичентромерных петель на биваленте 2 представителя хвостатых амфибий *Notophthalmus viridescens* (Pinol-Roma et al., 1989). На основании полученных данных было высказано предположение о том, что сателлитная РНК не подвергается котранскрипционному сплайсингу с участием мяРНП (Deryusheva et al., 2007).

Предполагается, что ключевая роль в регуляции транскрипции и процессинга сателлитных РНК принадлежит белку К гетерогенных ядерных РНП (гяРНП), который обнаружен в РНП-матриксе латеральных петель, содержащих С-богатые транскрипты повторов CNM, PO41 и *BgIII*-повтора на ламповых щетках домашней курицы и японского перепела (Solovei et al., 1995; Deryusheva et al., 2007). В прицентромерных районах ламповых щеток зяблика также функционируют транскрипционные единицы,

в которых отсутствуют сплайсинговые малые ядерные РНК (мяРНК) и связывающиеся с ними белки, но при этом накапливается гяРНП К (рис. 1), хотя остается неизвестным, какие последовательности содержатся и транскрибируются в этих петлях. Белок К гяРНП участвует, в частности, в регуляции альтернативного сплайсинга, конкурируя с факторами сплайсинга за сайты посадки на РНК (Dreyfuss et al., 2002). Примечательно, что этот белок также обнаружен в ассоциации с сателлитной РНК в клетках гепатомы крысы (Klimek-Tomczak et al., 2006), индуцируемой тепловым шоком некодирующей омега-РНК в ядрах клеток *Drosophila* и транскриптами сателлита III в ядерных стресс-тельцах в клетках человека (Jolly, Lakhota, 2006).

Значение транскрипции сателлитной ДНК в оогенезе

Функция РНП-комплексов, содержащих сателлитную РНК, в клетке остается невыясненной. Все большее число данных указывает на то, что транскрипты сателлитной ДНК могут входить в состав рибозимов (Cremisi et al., 1992), принимать участие в перераспределении факторов сплайсинга РНК в ядре (Jolly, Lakhota, 2006), привлекать белки кинетохоров в центрoмерные районы хромосом (Allshire, Karpen, 2008) и процессироваться с образованием siРНК (Almedia, Allshire, 2005; Holmes, Cohen, 2007). Судьба транскриптов сателлитных повторов, синтез которых в ооците происходит на протяжении всей стадии ламповых щеток, в настоящее время также все еще неясна (Angelier et al., 1996; Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007). В то же время трудно представить, что такие некодирующие РНК представляют собой всего лишь бесполезные продукты избыточной транскрипции, тем более что в растущих ооцитах могут транскрибироваться обе нити ДНК tandemных повторов (Diaz et al., 1981; Jamrich et al., 1983), в том числе прицентромерных сателлитов. Так, например, в случае с повтором CNM из генома домашней курицы на микробивалентах-ламповых щетках были обнаружены длинные латеральные петли, содержащие либо С-, либо G-богатые транскрипты CNM (Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007).

Эти факты заслуживают особого внимания. Совсем недавно было установлено, что транскрипты обеих нитей ДНК прицентромерных повторов в соматических клетках могут образовывать длинную двухцепочечную РНК. Расщепление образуемых двухцепочечных РНК с помощью эндонуклеазы Dicer приводит к появлению siРНК длиной около 20 нуклеотидов, которая необходима для формирования прицентромерного гетерохроматина и когезии сестринских центромер (Volpe et al., 2002; Fukagawa et al., 2004; Almedia, Allshire, 2005; Prasanth, Spector, 2007). При этом некодирующая РНК, гомологичная всему массиву сателлита, позволяет однозначно определить район формирования гетерохроматина в центромере, несмотря на отсутствие сходства между прицентромерными ДНК разных видов. Важно, что в отличие от соматических клеток в ооцитах млекопитающих отсутствует интерферонный ответ на появление длинной двухцепочечной РНК (Holmes, Cohen, 2007). Известно также, что в яичниках дрозофилы транскрипция сателлитной ДНК происходит под контролем РНК-зависимого сайленсинга, поскольку мутация гена, кодирующего белок, который участвует в РНК-интерференции в ооцитах, приводит к увеличению

числа транскриптов прицентромерных повторов (Usakin et al., 2007).

В свете современных представлений о роли некодирующей РНК в регуляции функционирования генома можно предложить следующее объяснение явления транскрипции сателлитов на ламповых щетках. Не исключено, что в ооцитах с хромосомами в форме ламповых щеток может быть нарушен механизм подавления транскрипции при помощи формирующей дуплекс некодирующей РНК, что приводит к повышению уровня транскрипционной активности в прицентромерных и субтеломерных районах хромосом. По-видимому, синтезируемые на стадии ламповых щеток транскрипты сателлитных повторов сохраняются в ооците в виде длинных или коротких молекул, которые на ранних стадиях эмбриогенеза, в отсутствие собственной синтетической активности хромосом, могут служить источником siРНК. Иными словами, подобно запасующимся в ооплазме матричным РНК, которые транскрибируются в основном на более ранних стадиях развития ооцита (Callan, 1986; Davidson, 1986), на стадии ламповых щеток синтезируются и могут запасаться регуляторные некодирующие РНК, в том числе те молекулы, которые участвуют в РНК-зависимом подавлении транскрипции в определенных сегментах хромосом. Такое объяснение приближает нас к пониманию самого феномена хромосом типа ламповых щеток.

Следует специально отметить, что на ламповых щетках некоторые сателлитные ДНК считываются в транскрипционных единицах разной длины, т. е. их транскрипты гетерогенны по размеру, что синтез РНК разных нитей повторов часто идет асимметрично, т. е. преобладает транскрипция одной нити, и что транскрипция разных нитей одного повтора происходит в разных сайтах его локализации, часто на разных хромосомах (Diaz et al., 1981; Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007). Известны также случаи гетероморфизма гомологов по числу и длине транскрипционных единиц, несущих ДНК высокоповторяющихся последовательностей. Остается неизвестным, приводит ли транскрипция сателлитов на ламповых щетках к генерации двухцепочечной РНК, насколько стабильны и где накапливаются эти транскрипты в ооцитах.

Регуляция транскрипции сателлитных повторов

Механизмы регуляции транскрипции некодирующих повторяющихся последовательностей, в частности ее инициации и терминирования, также остаются мало изученными. Важно отметить, что лишь небольшая доля сателлитной ДНК генома транскрибируется в растущем ооците. При этом только часть кластера повтора, будучи транскрипционно активной, находится в деконденсированном состоянии и, как правило, соседствует с конденсированным участком хроматина, содержащего тот же повторяющийся элемент (Varley et al., 1980; Diaz et al., 1981; Jamrich et al., 1983; Barsacchi-Pilone et al., 1986; Solovei et al., 1996; Krasikova et al., 2006; Deryusheva et al., 2007). Кроме того, не все тандемно повторенные прицентромерные последовательности демонстрируют активную транскрипцию на стадии ламповых щеток. Так, например, последовательность PR1 консервативна и присутствует в геномах двух видов голубей — голубя сизого *Columba livia* и вяхиря *Columba palumbus*, причем установлено, что транскрипционную активность этого повтора на стадии

ламповых щеток определяет его видоспецифичная геномная организация (Solovei et al., 1996). Эти данные означают, что в регуляции транскрипции тандемных повторов должны принимать участие не сами сателлиты, а другие последовательности.

Промоторные последовательности, которые иницируют транскрипцию сателлитов в ооцитах, должны содержать сайты, характерные для факторов, входящих в состав холофермента РНК-полимеразы II. Для исследования этих регуляторных элементов нами был разработан специальный алгоритм компьютерного анализа первичных последовательностей центромерных и субтеломерных районов хромосом в расшифрованных фрагментах ДНК геномов позвоночных. Несмотря на значительный прогресс проекта «Геном курицы», расшифрованные последовательности хромосом этого вида все еще содержат множество «брешей» (<http://www.ensembl.org>, <http://ncbi.nih.gov>). Определенные трудности связаны с клонированием, секвенированием и определением положения на хромосоме кластеров тандемных повторов, составляющих центромерные, теломерные и другие гетерохроматиновые участки хромосом. Вследствие этого в текущей версии секвенированных геномов позвоночных центромерные районы хромосом, как правило, представлены пропусками. Известно, что расшифрованные фрагменты ДНК генома домашней курицы, последовательности которых не имеют никаких маркеров, позволяющих привязать их к определенной хромосоме, помещены в так называемую виртуальную хромосому (chromosome unknown — ChrUn), которая обогащена повторяющейся ДНК (ICGSC, 2004; Schmidt et al., 2005).

Компьютерный анализ доступных в базах данных ChrUn домашней курицы клонов, содержащих сателлитные повторы CNM и PO41, обнаружил в непосредственной близости к сателлитам регуляторные последовательности ДНК, которые относятся к классу диспергированных повторов, а именно к ретротранспозонам, содержащим длинные терминальные повторы (LTR-long terminal repeats) (Deryusheva et al., 2007). При этом оказалось, что LTR, граничащие с сателлитной ДНК, представляют собой транскрипционно активные промоторные последовательности, транскрипция на которых может иницироваться РНК-полимеразой II. Таким образом, результаты анализа баз данных генома курицы полностью согласуются с иммуноцитохимическими данными о том, что на стадии ламповых щеток тандемные повторы CNM и PO41 транскрибируются с помощью РНК-полимеразы II. В геноме курицы сателлитные повторы могут иметь разную ориентацию по отношению к вышестоящему LTR, поэтому можно ожидать, что обе нити повтора должны транскрибироваться.

Приведенные выше сведения позволяют дополнить и уточнить гипотезу «сплошного считывания» (read-through hypothesis), сформулированную в 1980-е годы (Gall et al., 1983; Diaz, Gall, 1985). Изучая транскрипцию кластеров гистоновых генов в боковых петлях ламповых щеток тритона *N. viridescens* и обнаружив, что с промоторов генов начинается синтез сложных транскриптов, которые помимо собственно РНК гистонов содержат также РНК сателлита I (Diaz et al., 1981; Gall et al., 1981; Diaz, Gall, 1985), авторы пришли к следующему заключению. По их мнению, иницирующая на промоторе одного из структурных генов транскрипция может идти без прерывания в сайте терминирования и продолжаться в лежащих ниже последовательностях. Неоднократно высказывались пред-

положения о том, что некодирующая РНК, синтезируемая в результате нарушения регуляции терминации, представляет собой бесполезные продукты избыточной транскрипции (Macgregor, 1980, 1984; Angelier et al., 1996). Сейчас становится ясным, что синтез сателлитной РНК в ооцитах *N. viridescens* в одной длинной транскрипционной единице вместе с РНК, кодирующей гистоны, скорее всего обусловлен случайным наличием рядом с кластерами генов гистонов у этого вида некодирующей повторяющейся ДНК. Действительно, недавно было показано, что сходные по структуре протяженные транскрипты гистоновых генов у другого вида (шпорцевой лягушки *X. laevis*) также содержат матричную РНК сразу нескольких белков, но не содержат последовательностей каких-либо сателлитов. Причем обнаружено, что после оплодотворения такие «химерные транскрипты» могут быть процессированы с образованием матриц, пригодных для трансляции белков (Masi, Johnson, 2003).

С этой точки зрения нарушение регуляции терминации не только характерно для транскрипции на ламповых щетках, но и приводит в результате к появлению сложных транскриптов, которые могут быть использованы для синтеза белков на ранних стадиях эмбриогенеза. Многочисленные же случаи инициации транскрипции сателлитных повторов не удается объяснить только сплошным считыванием с промоторов структурных генов, которые довольно редко встречаются внутри блоков гетерохроматина. Наиболее вероятный механизм инициации транскрипции тандемных повторов, наблюдаемой в ооцитах, включает в себя участие регуляторных последовательностей вышестоящих содержащих ТАТА-боксы промоторов LTR-ретротранспозонов, которые, судя по всему, присутствуют в массивах некодирующей ДНК (Deryusheva et al., 2007). В этом случае в результате ослабления действия коротких регуляторных РНК должна происходить активация промоторов специфической группы LTR-ретротранспозонов или соло-LTR, разбросанных вдоль хромосом, что может быть необходимо для нормального развития ооцита.

Центральные белковые тела и центральные гранулы

Другая яркая особенность функционирования центральных районов хромосом на стадии ламповых щеток состоит в формировании крупных структур сферической формы (рис. 1). Так, у многих представителей класса Птицы центральные районы хромосом-ламповых щеток маркированы так называемыми белковыми телами (Гагинская, Грузова, 1969; Гагинская, 1972б). Несмотря на то что история исследования этих внутриядерных структур насчитывает более 100 лет, природа центральных белковых тел, молекулярный состав и их роль в организации центрального домена оставались неизвестными (Morgan, 2002; Sumner, 2003).

Центральные белковые тела. Белковые тела в ядрах ооцитов птиц впервые описала М. Луайе (Loyez, 1906), исследуя, в частности, оогенез Воробьиных. В соответствии с представлениями того времени, многочисленные сферические структуры внутри зародышевых пузырьков птиц были охарактеризованы как ядрышки, и вплоть до конца 1960-х годов считалось, что в ядрах ооцитов птиц функционирует множество ядрышек. Однако более поздние цитохимические исследования, анализ динамики включения [³H]-уридина в ооциты (Гагинская,

Грузова, 1969) и гибридизация *in situ* на гистологических срезах яичников с радиоактивно меченой рибосомной РНК дрозофилы в качестве зонда (Гагинская, Грузова, 1975) весьма убедительно показали, что ассоциированные с каждой ламповой щеткой птиц тельца не являются ядрышками. Более того, оказалось, что у взрослых самок ядрышковые организаторы в ооцитах инактивированы и что в оогенезе исследованных видов птиц не происходит амплификации рибосомных генов. Поскольку методами цитохимии в ассоциированных с ламповыми щетками птиц тельцах были выявлены белки, эти структуры были названы «белковыми телами» (Гагинская, Грузова, 1969; Гагинская, 1972б, 1975).

В ооцитах птиц белковые тела формируются на каждом гомологе всех без исключения макро- и микробивалентов предположительно в самом начале стадии ламповых щеток (Гагинская, 1972б; Хутинаева и др., 1989). В зародышевых пузырьках разных видов птиц (зяблик, вьюрок, чиж, чечевица, воробей, лесной конек, дрозд белобровик, стриж, сизый голубь и утка) они имеют сходные морфологические характеристики (Гагинская, 1972б; Krasikova et al., 2005). Первое строгое доказательство того, что белковые тела формируются в центральных районах, были получены при картировании на хромосомах сателлитного повтора PR1 из генома голубя (Solovei et al., 1996). Авторы показали, что прицентральные сателлиты PR1 локализуется в периферических хромосомах в районах формирования белковых тел. Позднее и для представителей двух других отрядов птиц (Воробьиные и Курообразные) были получены данные, указывающие на то, что белковые тела ассоциированы именно с центральными районами хромосом типа ламповых щеток (Saitfidinova et al., 2003; Krasikova et al., 2006). При детальном анализе морфологии ламповых щеток обращает на себя внимание тот факт, что белковые тела формируются в центральном домене центрмеры (рис. 3). При этом образованный центральными сателлитами центральный домен морфологически представлен двумя крупными хромосомами (чаще всего только их проксимальными участками), расположенными на оси ламповой щетки по обе стороны от белкового тела.

Молекулярный состав центральных белковых тел до недавнего времени оставался неизвестным, что порождало разные предположения об их природе и функциональном значении. В частности, неоднократно высказывалось мнение о том, что ассоциированные с ламповыми щетками птиц белковые тела выполняют функции телец Кахала и (или) кластеров интерхроматиновых гранул в ооцитах (Хутинаева и др., 1989; Грузова и др., 1995; Solovei et al., 1996; Morgan, 2002). Тельца Кахала, по-видимому, принимают участие в биогенезе РНП-комплексов, осуществляющих сплайсинг и 3'-процессинг вновь синтезируемых РНК, и действительно часто ассоциированы с определенными локусами хромосом (Gall, 2003; Cioce, Lamond, 2005).

Однако комплексный иммуноцитохимический анализ показал, что в центральных белковых телах отсутствуют характерные для телец Кахала и кластеров интерхроматиновых гранул факторы сплайсинга и 3'-процессинга предшественников матричной РНК, такие как зрелые малые ядерные РНК и связывающиеся с ними Sm-белки, белковые факторы SR-семейства (в частности, SC35) и CPSF100 (Krasikova et al., 2004). Кроме того, белковые тела птиц не содержат белков фибрилларин, Nopp140, NO38 и РНК-полимеразу II, выявляемых в аналогах телец

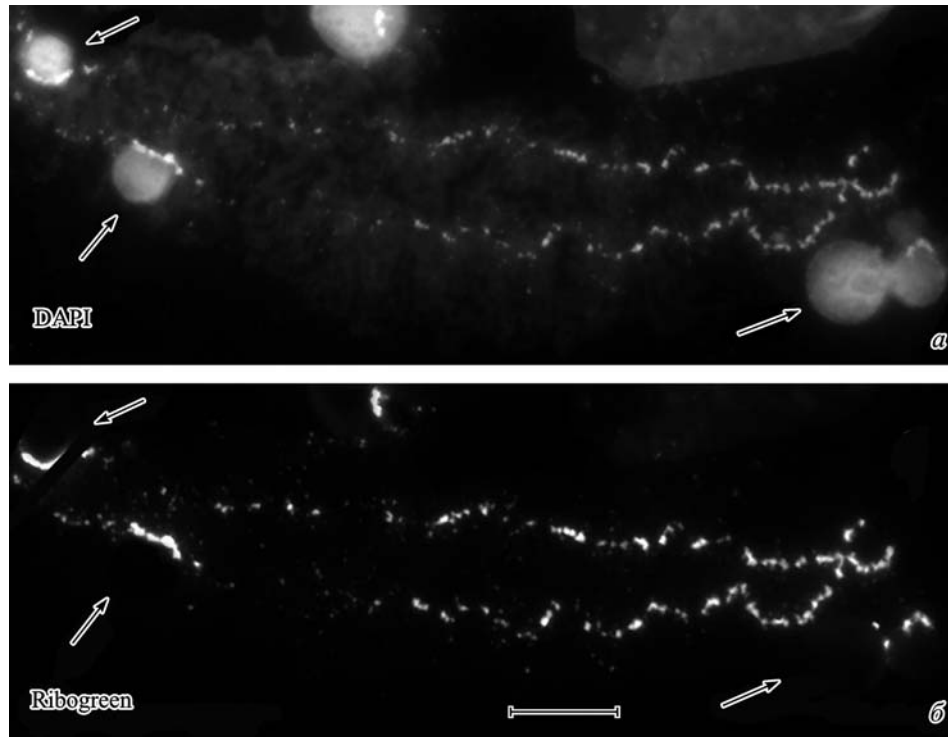


Рис. 6. Выявление ДНК в хромосомах типа ламповых щеток зяблика с помощью флуоресцентных DAPI (а) и Ribogreen (б). Центромерные белковые тела (стрелки) не окрашиваются высокоспецифичным красителем Ribogreen. DAPI взаимодействует не только с хроматином, но и с РНП-матриksom латеральных петель и белковыми телами. Масштабный отрезок — 10 мкм.

Кахала в ооцитах некоторых видов. Для белковых тел также характерно отсутствие маркерного белка телец Кахала — коилина. Приведенные данные делают очевидным вывод о том, что белковые тела на ламповых щетках птиц не имеют функционального сходства с тельцами Кахала (Krasikova et al., 2004).

Также предполагалось, что белковые тела формируются в результате накопления больших количеств РНП-частиц на особых петлях, функционирующих в центромерных районах хромосом (Хутинаева и др., 1989). Вместе с тем белковые тела в ооцитах птиц не включают меченный уридин, следовательно, в них не поступает вновь синтезированная РНК (Гагинская, Грузова, 1969); кроме того, наличие белковых тел в центромерном районе не зависит от того, транскрибируется ли прилежащий сателлит (Solovei et al., 1996).

Центромерные белковые тела на ламповых щетках птиц не содержат гистонов и устойчивы к последовательным обработкам солевыми растворами высокой концентрации, неионными детергентами и РНКазой (Гагинская, 1972б; Цветков, Гагинская, 1983), что дало основание провести параллель между белками, формирующими белковые тела ооцитов, и белками «ядерного матрикса» соматических клеток. Действительно, первым идентифицированным в составе белковых тел компонентом стала ДНК-топоизомераза II (Krasikova et al., 2004), которая представляет собой один из мажорных белков ядерного матрикса (Berezney et al., 1995). Известно также, что ДНК-топоизомераза II участвует в топологическом разделении сестринских хроматид после репликации (Swedlow, Hirano, 2003), необходима для сегрегации центромер и, возможно, играет роль в образовании кинетохоров (Porter, Fagg, 2004). В центромерных белковых телах с помощью конфокальной и электронной микроскопии этот фермент

был выявлен в фибриллярном матриксе, но не вакуолях (Krasikova et al., 2004).

Помимо ДНК-топоизомеразы II в белковых телах содержатся и другие белки, которые важны для функционирования центромерных районов хромосом (рис. 2). В них накапливаются субъединицы комплекса когезин, который отвечает за объединение сестринских хроматид: белки SMC1 α и SMC3, принадлежащие к семейству SMC (structural maintenance of chromosome), белки Rad21, STAG1 (stromal antigene), STAG2 и STAG3 (Krasikova et al., 2005, 2006). Кроме этого, белковые тела в ооцитах содержат белок SYCP3 (synaptonemal complex protein), который участвует в формировании латерального элемента синаптонемного комплекса (Krasikova et al., 2005). Согласно одной из версий, белковые тела формируются за счет накопления белков, высвобождающихся с хромосом при их преобразовании в ламповые щетки (Гагинская, 1972а). Вместе с тем в вителлогенных ооцитах птиц отряда Galliformes белковые тела имеют очень небольшие размеры, несмотря на то что хромосомы в них принимают форму типичных ламповых щеток с выраженными латеральными петлями (Krasikova et al., 2006, 2009).

Поскольку центромерные белковые тела содержат ДНК-связывающие белки и формируются в ассоциации с центромерными сателлитными ДНК, особенно актуальным кажется вопрос о наличии внутри этих структур хроматина. Вместе с тем ни FISH с соответствующими зондами (Solovei et al., 1996; Saifitdinova et al., 2003), ни использование высокоспецифичных для нуклеиновых кислот флуорохромов, в частности Ribogreen (рис. 6), не показали присутствия ни ДНК, ни РНК в этих структурах. В связи с этим важно знать, представляют ли центромерные белковые тела типичные для мейотических хромосом структуры и какова роль ДНК-связывающих белков внутри этих телец.

Известно, что на ранних стадиях мейоза в центромерных районах хромосом происходит накопление когезинов, что может быть обусловлено не только когезией (сцеплением) сестринских хроматид, но и объединением сестринских кинетохоров, необходимым для их монополярной ориентации во время первого мейотического деления (Parra et al., 2004; Chelysheva et al., 2005; Revenkova, Jessberger, 2006; Watanabe et al., 2006). Поскольку белковые тела на ламповых щетках птиц формируются в центральном домене центромеры, т. е. в районе, соответствующем первичной перетяжке в метафазной хромосоме, и каждое белковое тело является общим для двух сестринских хроматид (рис. 3), вероятно, что одна из существенных функций белковых тел состоит в объединении сестринских кинетохоров. Анализ распределения МРМ-2 фосфо-эпитопов в ламповых щетках зяблика показывает, что в составе центромерных белковых тел белки когезинового комплекса и ДНК-топоизомеразы II находятся преимущественно в нефосфорилированном состоянии (рис. 2). Известно, что фосфорилирование белков семейства STAG и С-концевого домена ДНК-топоизомеразы II в метафазе митоза ведет к удалению этих белков с плеч хромосом (Dang et al., 1994; Suja et al., 1999), в то время как в центромерных районах их фосфорилирование нейтрализуется действием фосфатазы PP2A (Rivera, Losada, 2006; Escargueil, Larsen, 2007). Полученные данные позволяют полагать, что функция белковых тел не ограничивается только архитектурной. Центромерные белковые тела могут представлять собой дополнительный домен центромерных районов мейотических хромосом и участвовать в их сегрегации.

Центромерные гранулы. Анализ литературы дает основание предполагать, что гомологичные белковым телам структуры присутствуют в растущих ооцитах и у других животных. У некоторых видов хвостатых амфибий описаны так называемые центромерные гранулы, которые формируются в ассоциации с осями ламповых щеток (Gall, 1952, 1954, 1992; Callan, Lloyd, 1960). Благодаря их слиянию гомологичные и негомологичные полубиваленты могут образовывать X- и Y-образные структуры, причем места их соединения не соответствуют хиазмам. Центромерные ассоциации не распадаются даже при продолжительных воздействиях пепсина или пан-протеазы (Macgregor, Callan, 1962). Среди амфибий центромерные гранулы были обнаружены на ламповых щетках таких видов, как *N. viridescens*, *Ambystoma tigrinum* (Gall, 1952, 1954), *T. c. karelinii* (Callan, Lloyd, 1960), *A. macrodactylum* (Kezer et al., 1980), а также у бесхвостой амфибии *Rana ridibunda* (Bucci et al., 1990). Размеры этих структур в разных ооцитах и даже на разных хромосомах внутри одного зародышевого пузырька могут варьировать (рис. 4), но они всегда увеличиваются по мере роста ооцита (Callan, Lloyd, 1960). Так, например, в ооцитах *N. viridescens* центромерные гранулы достигают около 20 мкм в диаметре (Gall, 1992).

В очень редких случаях, например на ламповых щетках *A. macrodactylum* (Kezer et al., 1980), на каждом полубиваленте может образовываться не одна, а пара центромерных гранул. Авторы пришли к заключению о том, что эти гранулы или содержат внутри себя, или сами представляют собой предшественник кинетохорного домена центромеры (прекинетохор). В норме кинетохор имеет сложную трехслойную структуру, в которой выделяют такие элементы, как электронно-плотные внутренняя и внешняя пластины, электронно-прозрачный слой между

ними и так называемая корона (Rieder, 1982). На примере ламповых щеток *T. c. karelinii* при использовании сканирующей электронной микроскопии и трансмиссионной электронной микроскопии было показано, что центромерные гранулы имеют гомогенную фибриллярную ультраструктуру и не содержат характерных для кинетохоров структурных элементов (Macgregor, 1986). То же самое справедливо и для белковых тел птиц (Цветков, Гагинская, 1983). Считается, что полноценные кинетохоры первого мейотического деления должны формироваться в более поздних ооцитах после окончания стадии ламповых щеток и конденсации хромосом (Macgregor et al., 1997).

Молекулярный состав и природа центромерных гранул остаются неизвестными; сведения об этих структурах немногочисленны и весьма разрозненны. Так, обнаружено, что центромерные гранулы на ламповых щетках *T. c. karelinii* при окрашивании красителем Гимза значительно отличаются от окружающих их темно-синих хромомеров и не гибридизуются с прицентромерной последовательностью Tks1, выявляемой в центромерном валике (Baldwin, Macgregor, 1985). Описаны антитела hv1, маркирующие центромерные гранулы на ламповых щетках *N. viridescens* (Gall, 1992), однако антиген, узнаваемый этими антителами в ооцитах амфибий, не был определен. Вместе с тем сообщается о том, что центромерные гранулы на ламповых щетках *N. viridescens* (представителя хвостатых амфибий) не содержат факторов сплайсинга SC35 и мяРНК, не гибридизуются с основными мяРНК, не включают меченный уридин и могут сливаться друг с другом (Wu et al., 1991; Gall, 1992), т. е. обладают теми же характеристиками, что и центромерные белковые тела птиц. В осевых гранулах на ламповых щетках *P. waltl* и *T. c. karelinii*, так же как и в центромерных белковых телах, не удается детектировать ДНК (Baldwin, Macgregor, 1985; Ryne et al., 1995; Hock et al., 1996). Необходимость проведения детальных сравнительных исследований центромерных белковых тел на ламповых щетках птиц и центромерных осевых гранул на ламповых щетках амфибий очевидна: все имеющиеся данные свидетельствуют об их гомологии, и, по всей видимости, оба типа структур принадлежат к одному и тому же классу внутриядерных тел, которые формируются в ооцитах в ассоциации с центромерными сателлитами.

Следует подчеркнуть, что центромерные белковые тела (центромерные гранулы) в ядрах растущих ооцитов птиц и амфибий представляют собой совершенно новый тип внутриядерных структур, принципиально отличных по молекулярному составу от других известных внутриядерных тел, или доменов: они не содержат компонентов аппарата транскрипции и процессинга РНК и накапливают белки «ядерного матрикса». При этом мы предполагаем, что структуры, выполняющие сходные функции, присутствуют в ооцитах и других классов животных, в том числе насекомых и млекопитающих.

Средний размер центромерных белковых тел (центромерных гранул) значительно различается в ооцитах разных животных. Так, например, среди птиц он варьирует от приблизительно 1 мкм у представителей отряда Курообразные (рис. 7) до 12 мкм и более в отряде Воробьиные (рис. 1, 2, 6). До недавнего времени даже считалось, что белковые тела на ламповых щетках формируются у представителей всех исследованных отрядов птиц, за исключением отряда Galliformes. Действительно, на ламповых щетках птиц из этого отряда при помощи фазово-контрастной микроскопии белковые тела не

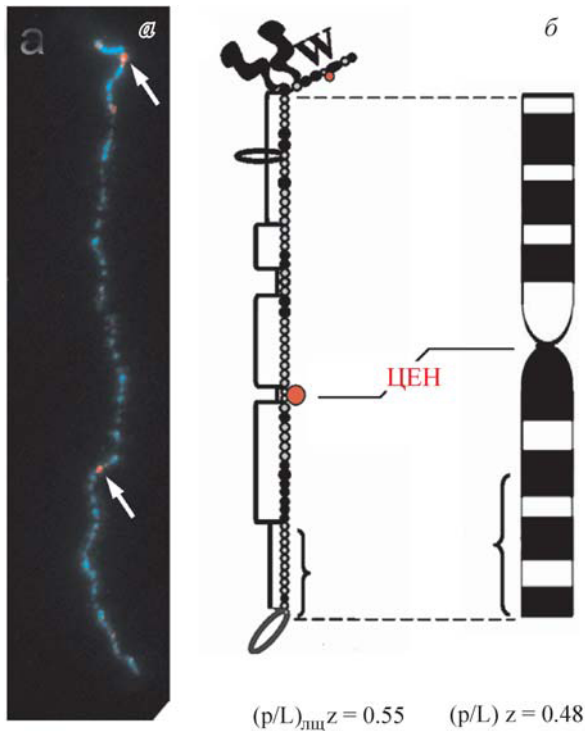


Рис. 7. Центромерные белковые тела как маркер кинетохорных районов хромосом на стадии ламповых щеток.

а — идентификация центромер (стрелки) в половом биваленте ZW с помощью антител против характерных для белковых тел компонентов (красная флуоресценция). Хромосомы окрашены DAPI (голубая флуоресценция). *б* — сравнение центромерных индексов в хромосоме Z домашней курицы (GGAZ) на стадии ламповых щеток (цитогенетическая карта хромомерно-петлевого рисунка, слева) и в метафазе митоза (идиограмма, справа). Указано положение центромеры (ЦЕН) и блока гетерохроматина, занимаемого Z-макросателлитом (фигурная скобка).

были обнаружены (Кропотова, Гагинская, 1984; Hutchison, 1987; Чельшева и др., 1990; Мякошина, Родионов, 1994; Родионов, Чечик, 2002; Schmid et al., 2005). Однако использование антител против белков когезии для иммунофлуоресцентного исследования ламповых щеток, выделенных из ооцитов домашней курицы, японского перепела и индейки, позволило выявить на них когезинсодержащие гранулы (рис. 7, *а*). Эти гранулы образуются на оси каждой хромосомы и фланкированы с обеих сторон компактными хромомерами, в составе которых методом FISH обнаруживаются прицентромерные сателлиты (Krasikova et al., 2006). По морфологии и составу центромерные гранулы на ламповых щетках птиц из отряда Galliformes идентичны центромерным белковым телам зяблика на ранних стадиях их формирования, и, так же как белковые тела представителей других отрядов, они сохраняются в центромерных районах хромосом на всех последующих стадиях созревания ооцита, вплоть до полной конденсации бивалентов.

Существующая разница в размере центромерных белковых тел (центромерных гранул) у разных видов может определяться, по-видимому, как различием нуклеотидного состава лежащих в основании этих структур видоспецифичных последовательностей ДНК, так и размерами массива сателлитной ДНК. В пользу последнего свидетельствует ряд экспериментальных данных и наблюдений, в частности результаты анализа хромосом типа ламповых щеток и их центромерных районов у представите-

лей комплекса средневропейских зеленых лягушек (*Rana esculenta* complex) (Bucci et al., 1990). В этот комплекс входят озерная (*Rana ridibunda*) и прудовая (*Rana lessonae*) лягушки, которые являются родительскими видами гибридной формы съедобной лягушки *Rana esculenta*. У озерной лягушки центромерные районы ламповых щеток в ооцитах маркированы морфологически выраженными гранулами, тогда как у другого родительского вида — прудовой лягушки — в центромерных районах ламповых щеток таких гранул не обнаруживается. В соответствии с этим содержащий CENP-B-бокс центромерный повтор RsS1 в геноме *R. ridibunda* занимает ~2.5 %, а в геноме *R. lessonae* — меньше 0.2 % (Ragghianti et al., 1995). Более того, сообщается, что в ядрах некоторых ооцитов гибрида *R. esculenta* на тех ламповых щетках, которые имеют происхождение от хромосом *R. ridibunda*, в центромерных районах хромосом присутствуют гранулы, а на ламповых щетках, соответствующих хромосомам *R. lessonae*, в центромерных районах на светооптическом уровне выявляются лишь блоки гетерохроматина (Bucci et al., 1990).

Другой пример зависимости размеров белковых тел от количества ассоциированного сателлита получен при исследовании ламповых щеток зяблика. У некоторых особей этого вида кроме обязательных центромерных белковых тел в интерстициальных и терминальных районах хромосом могут присутствовать дополнительные (факультативные) белковые тела, которые имеют значительно меньшие размеры, чем белковые тела в центромерных районах, и могут появляться только на одном из гомологов бивалента (Saifitdinova et al., 2003). Факультативные белковые тела на ламповых щетках птиц содержат те же самые белки, что и белковые тела в центромерных районах, т. е. имеют одинаковую с ними природу (Krasikova et al., 2005). Было установлено, что у зяблика факультативные белковые тела, так же как и центромерные, ассоциированы с сайтами центромерного повтора FCP, но число копий этого повтора в интерстициальных локусах хромосом намного меньше, чем в центромерных районах (Saifitdinova et al., 2003).

У представителей отряда Курообразные в свою очередь очень небольшие размеры центромерных белковых тел коррелируют с предполагаемым низким содержанием центромерных повторов в геноме. Как следует из приведенных фактов, одним из существенных факторов, определяющих размер образующихся в связи с центромерами мейотических хромосом белковых тел, является копияность сателлитов, формирующих центральный домен центромеры.

Каково функциональное значение формирования центромерных белковых тел (центромерных гранул) в ооцитах? В настоящее время в ответ на этот вопрос можно выдвинуть следующие предположения. Во-первых, белковые тела могут представлять собой внутриядерные домены, которые участвуют в перераспределении белков структурного поддержания хромосом, регулируя их концентрацию в нуклеоплазме. Так, для поддержания высокого уровня транскрипции в ламповых щетках белковые тела могут инкорпорировать определенные белки хромосом и тем самым обеспечивать временную остановку их функции. При этом в центромерных белковых телах могут происходить специфические модификации (рециклирование) белков, участвующих в поддержании структуры хромосом, и сборка их макромолекулярных комплексов.

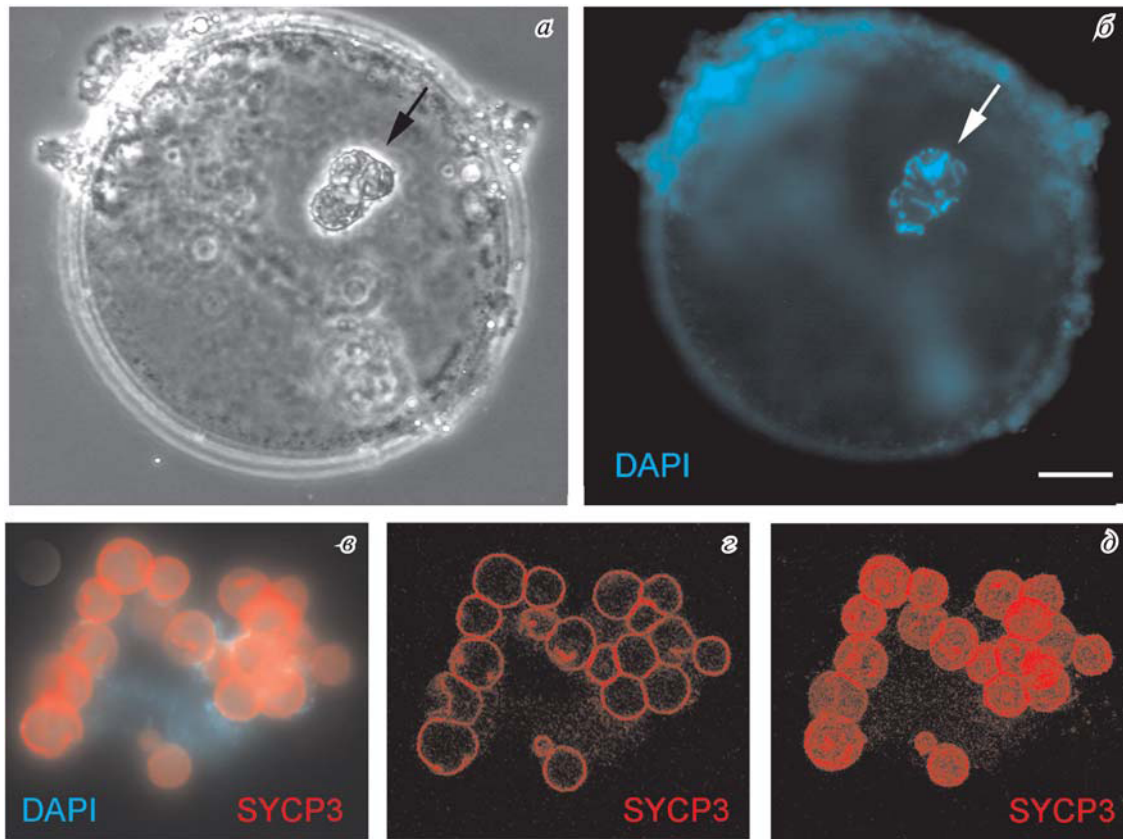


Рис. 8. Изолированное из вителлогенного ооцита зрелое ядро, содержащее зрелую кариосферу (стрелка).

а — фазово-контрастное изображение. *б* — окрашивание DAPI (голубая флуоресценция); масштабный отрезок — 10 мкм. *в–д* — изолированная из ядра ооцита зрелая кариосфера; центромерные белковые тела, формирующие остов кариосферы, окрашены с помощью антител против белка SYCP3 латеральных элементов синаптонемного комплекса. *з* — оптический срез, полученный с помощью лазерной конфокальной сканирующей микроскопии. *д* — объемная реконструкция серии оптических срезов.

Однако наиболее вероятно, что формирование белковых тел может отражать особую роль центромерного хроматина в мейоцитах и способствовать нормальной сегрегации хромосом. В рамках этой гипотезы можно предположить, что белки когезии сестринских хроматид и ДНК-топоизомераза II аккумулируются в центромерных белковых телах с целью обеспечения монополярного прикрепления сестринских кинетохоров во время первого мейотического деления. Вслед за другими авторами (Rutkowska, Vadyaev, 2008) мы предполагаем, что одним из факторов, влияющих на сегрегацию родительских хромосом в оогенезе, может быть размер центромерных белковых тел. Видоспецифичная вариабельность этого параметра может приводить к появлению разных стратегий, направленных на точную передачу хромосом потомству.

Одной из наиболее полно охарактеризованных функций белковых тел является их участие в формировании кариосферы в созревающих ооцитах, когда сливающиеся центромерные белковые ядра образуют ее белковый остов (Гагинская, 1972а, 1972б; Saifitdinova et al., 2003; Krasikova et al., 2004, 2005). Слияние белковых тел в кариосферу определяет позиционирование хромосом внутри зародышевого пузырька незадолго до разрушения ядерной оболочки. При этом в составе остова кариосферы белковые тела могут выполнять не только архитектурную роль, но и функцию запасания белков для структурной организации генома в ходе раннего эмбриогенеза.

Роль центромерных районов хромосом в структурной организации генома в созревающих ооцитах

Структурные и молекулярные преобразования в ядре ооцита, которые имеют место на предшествующих этапах мейотического деления заключительных этапах оогенеза, представляют несомненный интерес для анализа регуляции генома и особенностей функционирования центромерных районов хромосом. Совокупность современных цитомолекулярных данных свидетельствует о значительной роли центромерных районов хромосом в поддержании геномной архитектуры в мейотических ядрах (Гагинская, 1972б; Zalensky et al., 1993; Ma et al., 2003; Merico et al., 2003; De La Fuente et al., 2004b).

По окончании периода ламповых щеток в ядрах ооцитов наблюдается существенная морфофункциональная реорганизация генома, которая сопровождается конденсацией хромосом и образованием кариосферы (Гагинская, 1972а, 1972б). Систематические исследования функциональной роли формирования кариосферы в мейоцитах и классификация типов строения кариосфер были заложены работами Грузовой и соавторов (Грузова, 1975; Gruzova, Parfenov, 1993; Грузова и др., 1995). Кариосфера образуется в период оогенеза, когда хромосомный аппарат ооцита инактивируется. Это сложно организованная структура, в которой конденсированные хромосомы сближены в ограниченном пространстве внутри ядра

ооцита (рис. 8, а, б). Считается, что такая пространственная организация генома может иметь существенное значение для правильного осуществления первого мейотического деления (Грузова, 1975, 1977). Действительно, обработка ооцитов мышцы ингибиторами деацетилаз гистонов вызывала частичное разрушение кариосферы и вела к увеличению числа ооцитов с нарушенной конфигурацией веретена деления (De La Fuente et al., 2004a). Показано также, что мутация гена *nhk-1*, кодирующего киназу, которая фосфорилирует гистон H2A по треонину 119, нарушает формирование кариосферы в ооцитах *Drosophila* и как следствие приводит к стерильности самок (Ivanovska et al., 2005). Однако механизм изменения топологической организации хромосом в ядре ооцита в процессе его созревания остается неизвестным.

Ооциты половозрелых птиц представляют собой чрезвычайно удобный материал для исследования архитектуры и молекулярной организации кариосферы, так как они лишены ядрышек на всех стадиях созревания и капсула вокруг кариосферы не образуется (Гагинская, Грузова, 1975). Этапы формирования кариосферы в ооцитах птиц подробно изучены на примере зяблика, представителя отряда Passeriformes. В конце стадии ламповых щеток в ядрах ооцитов зяблика снижается общий уровень транскрипции, что сопровождается укорочением контурной длины латеральных петель хромосом и конденсацией хроматина (Гагинская, 1989). Начинается сближение хромосом — процесс, который совпадает с объединением белковых тел. В результате слияния белковых тел постепенно формируется небольшая (около 8 мкм в диаметре) структура, представляющая собой зрелую кариосферу (рис. 8), в которой глыбки конденсированных хромосом расположены на поверхности белкового остова (Гагинская, 1972б; Гагинская, Грузова, 1975; Saifitdinova et al., 2003; Krasikova et al., 2004, 2005).

Именно при изучении оогенеза птиц впервые было высказано предположение о том, что в образовании кариосфер в ядрах созревающих ооцитов ключевую роль играют центромерные районы хромосом (Гагинская, 1972б; Saifitdinova et al., 2003). Позднее это предположение было подтверждено выявлением центромерного сателлита в изолированных из ооцитов птиц кариосферах. Оказалось, что все центромерные районы конденсирующихся хромосом связаны с остовом кариосферы, как бы закорены в него. Таким образом, в ооцитах центромерные районы проявляют особые функции, связанные с топологической организацией хромосом и инактивацией генома в период гетеротрофного роста.

Примечательно, что сателлитные последовательности ДНК принимают участие в пространственной организации генома и в соматических клетках — как в интерфазном ядре, так и на других стадиях клеточного цикла. Одно из первых упоминаний о содержании сателлитной ДНК в нитях, вытягивающихся из прицентромерных районов негомологичных метафазных хромосом, находится в работе 1985 г., посвященной исследованию tandemных повторов *T. c. karelinii* (Baldwin, Macgregor, 1985). Позднее повтор FCP из генома зяблика был также выявлен в межхромосомных соединениях, связывающих центромеры негомологичных хромосом на препаратах метафазных пластинок, полученных из фибробластов (Saifitdinova et al., 2000). Вопрос о том, связывают ли сходные «мосты» хроматина центромерные районы мейотических хромосом на стадии ламповых щеток, остается открытым (Patel et al., 2008).

В ядрах поздних вителлогенных ооцитов некоторых представителей отряда Galliformes, а именно домашней курицы и японского перепела, также описано «стягивание» инактивирующихся бивалентов в компактную группу, т. е. концентрация конденсированного хроматина в небольшом участке ядра (Loyez, 1906; цит. по: Гагинская, 1989). Описываемый процесс соответствует образованию кариосферы, при этом у Курообразных хромосомы объединяются в кариосферу на более поздних этапах оогенеза, чем у представителей других отрядов птиц, и это коррелирует с небольшим размером центромерных белковых тел на их хромосомах.

На примере ооцитов птиц было продемонстрировано присутствие в материале остова кариосферы белков, которые взаимодействуют с мейотическими центромерами, а именно ДНК-топоизомеразы II, белков, входящих в состав когезиновых комплексов, и белка латерального элемента синаптонемного комплекса (рис. 8, в—д) (Krasikova et al., 2004, 2005). Белковый материал каркасной структуры, представляющей собой основу кариосферы, по всей видимости, имеет происхождение от материала модифицированных латеральных элементов синаптонемных комплексов. Можно сделать вывод о том, что центромерные белковые тела в ооцитах накапливают белки, ранее обеспечивавшие поддержание структурной целостности мейотических хромосом во время генеративной фазы оогенеза. Такое свойство белков, входящих в состав белковых тел, как тенденция к агрегации, может определять механизм слияния белковых тел в целостную структуру.

В свете сказанного представляется важным, что у насекомых, амфибий и млекопитающих в ядрах созревающих ооцитов присутствуют структуры, по всей видимости, запасующие неактивные компоненты аппарата генной экспрессии (Parfenov et al., 1996, 2000; Bogolyubov et al., 2000; Bogolyubov, Parfenov, 2001; Баталова и др., 2005; Batalova et al., 2005; Liu et al., 2006; Bogolyubov, Parfenov, 2008). Мы предполагаем, что центромерные белковые тела, которые, сливаясь, образуют остов кариосферы, могут служить внутриядерными компартментами, депонирующими белки, необходимые для поддержания структуры хромосом и их центромерных районов, которые будут использованы на начальных этапах эмбриогенеза. Действительно, и ДНК-топоизомераза II, и субъединицы комплекса когезина необходимы для репликации и сегрегации хромосом во время первых быстрых клеточных делений на ранних стадиях развития зародыша. Кроме того, эти белки могут принимать участие в структурировании хроматина в транскрипционно неактивных ядрах ранних эмбрионов.

Ламповые щетки как инструмент для цитогенетического анализа центромерных районов хромосом

На стадии ламповых щеток хромосомы представляют собой гигантские слабоконденсированные полубиваленты, длина которых более чем в 30 раз превышает длину метафазных хромосом. Поэтому использование ламповых щеток для высокоточного цитогенетического анализа и картирования центромер с высокой степенью разрешения оказывается чрезвычайно продуктивным. Так, например, детальный анализ конфигурации половых хромосом в стадии ламповых щеток у представителей трех изолированных популяций *Rana rugosa* и их гибридов позволил

обнаружить в кариотипе этой группы амфибий две последовательные перичентрические инверсии (Miura et al., 1997). Использование ламповых щеток дало возможность опровергнуть предположение о существовании перичентрической инверсии в хромосоме 4 японского перепела по сравнению с хромосомой 4 домашней курицы (Galkina et al., 2006) и показать различия в локализации центромер в микрохромосомах этих двух видов птиц (Krasikova et al., 2006, 2009). Размеры микрохромосом птиц настолько малы, что в метафазных митотических пластинках первичная перетяжка в них неразличима, и здесь использование ламповых щеток оказывается особенно полезным.

Благодаря гигантским размерам хромосомы на стадии ламповых щеток предоставляют уникальную возможность для интегрального анализа геномов путем сопоставления данных физического цитогенетического картирования и данных секвенирования последовательностей ДНК хромосом с высоким уровнем разрешения. Показательным примером продуктивности «цитогеномного» подхода может служить решение проблемы точной локализации центромерных районов при составлении карт упорядоченных секвенированных последовательностей макрохромосом в проекте «Геном курицы». Было установлено, что в ламповой щетке 3 курицы отведенный центромерному району пропуск в карте секвенированных фрагментов ДНК этой хромосомы (по версии 1,0 ICGSC, 2004) соответствует нецентромерному кластеру тандемного повтора CNM, тогда как центромера расположена существенно ближе к теломеру короткого плеча (Krasikova et al., 2006).

Совокупность имеющихся данных о положении центромер на ламповых щетках позволила сопоставить степень деконденсации отдельных сегментов хромосом в процессе их преобразования в ламповые щетки у некоторых видов. Сравнение относительных длин плеч метафазных макрохромосом и соответствующих макрохромосом на стадии ламповых щеток у курицы показало, что центромерные индексы (ЦИ) ламповых щеток, как правило, совпадают с ЦИ соответствующих хромосом в метафазе митоза. Однако существует ряд исключений из этого правила — значение ЦИ при преобразовании хромосом в ламповые щетки в некоторых (например, половых) хромосомах изменяется (рис. 7, б). Причина этих изменений заключается в разной транскрипционной активности отдельных сегментов хромосом, что, очевидно, связано со степенью насыщенности их высокими тандемными и диспергированными ДНК-повторами (Galkina et al., 2006; Krasikova et al., 2006). Следовательно, для точного определения положения центромер на хромосомах типа ламповых щеток не всегда можно использовать значения ЦИ для соответствующих хромосом в метафазе митоза.

Следует отметить, что локализация центромерных районов в ламповых щетках, в частности у целого ряда земноводных, сильно затруднена в связи с отсутствием выраженных морфологических маркеров, таких как крупные беспетлевые хромомеры или ассоциированные с центромерами специфические белковые тела. Это характерно, например, для ламповых щеток *Pleurodeles waltl*, *P. poireti* (Lacroix, 1968), *Salamandra salamandra* (Mancino et al., 1969) и *T. vulgaris meridionalis* (Barsacchi et al., 1970). В то же время на ламповых щетках тритонов *N. viridescens*, *T. s. karelinii* и многих видов саламандр в центромерных районах находятся крупные беспетлевые хромомеры или кластеры хромомеров, лишенных боковых петель (Callan, 1986). Возможность определения положения центромер-

ного района по наличию характерных беспетлевых хромомеров сыграла большую роль в идентификации индивидуальных хромосом на стадии ламповых щеток у этих животных.

Безусловно, важным подходом для локализации центромер на ламповых щетках является FISH с последовательностями, специфичными для центромер или близлежащих районов, в качестве зонда (рис. 5). Так, положение центромерных районов на 11 из 18 хромосом типа ламповых щеток *X. laevis* было недавно определено с помощью изолированной из генома этого вида центромерной последовательности Fcr1 (Edwards, Murray, 2005). В случае хромосомы 1 курицы точно определить локализацию центромеры удалось по данным картирования интерстициальных сайтов тандемного повтора (TTAGGG)_n (Rodionov et al., 2002). Однако поскольку у многих видов центромерные повторы в настоящее время известны далеко не для всех хромосом, единственным универсальным маркером центромер для хромосом на стадии ламповых щеток, в частности у птиц, служат центромерные белковые тела, легко детектируемые с помощью антител против характерных для этих структур компонентов.

Заключение

Приведенные в настоящем обзоре данные демонстрируют эволюционно-консервативную доменную организацию центромерных районов хромосом на стадии ламповых щеток и вместе с тем свидетельствуют о значительном изменении молекулярного состава и функциональной морфологии центромер при подготовке к редукционному делению. Для центромерных районов ламповых щеток как птиц, так и амфибий характерны активная транскрипция прицентромерных сателлитов и формирование в районе первичной перетяжки особых сферических телец, содержащих белки, которые участвуют в поддержании структурной организации хромосом. Уникальный молекулярный состав, ассоциация с центромерной сателлитной ДНК и топологическая реорганизация центромерных белковых тел во время формирования кариосферы свидетельствуют о высокой функциональной значимости этих внутриядерных структур, изучение которых необходимо продолжать. Дальнейшие исследования механизмов регуляции и биологического значения транскрипции сателлитной ДНК в ядре ооцита с использованием в качестве модельного объекта хромосом типа ламповых щеток, несомненно, перспективны.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-01328), Комитета по науке и высшей школе правительства Санкт-Петербурга (проект 30-04/71) и Федерального агентства по образованию (ГК № П1367 от 2 сентября 2009 г.).

Список литературы

- Баталова Ф. М., Боголюбов Д. С., Парфенов В. Н. 2005. Кариосфера и экстрахромосомные ядерные тельца ооцитов скорпионницы *Panorpa communis*. Цитология. 47 (10) : 847—859.
- Гагинская Е. Р. 1972а. Ядерные структуры в ооцитах половозрелых птиц. I. Поведение хромосом в период цитоплазматического роста ооцита. Цитология. 14 (4) : 426—432.

- Гагинская Е. Р. 1972б. Ядерные структуры в ооцитах половозрелых птиц. II. Белковые тела и кариосфера. Цитология. 14 (5) : 568—577.
- Гагинская Е. Р. 1975. О классификации типов оогенеза. Оогенез. 6 (6) : 539—545.
- Гагинская Е. Р. 1989. Хромосомы-ламповые щетки из ооцитов амфибий. Цитология. 31 (11) : 1267—1291.
- Гагинская Е. Р., Грузова М. Н. 1969. Особенности оогенеза зяблика. Цитология. 9 (10) : 1241—1251.
- Гагинская Е. Р., Грузова М. Н. 1975. Выявление амплифицированной рДНК в клетках яичников некоторых насекомых и птиц методом гибридизации нуклеиновых кислот на препаратах. Цитология. 17 (10) : 1132—1137.
- Грузова М. Н. 1975. Кариосфера в оогенезе. Цитология. 17 (3) : 219—237.
- Грузова М. Н. 1977. Ядро в оогенезе (структурно-функциональный аспект). В кн.: Современные проблемы оогенеза. М.: Наука. 51—91.
- Грузова М. Н., Цветков А. Г., Почукалина Г. Н., Парфенов В. Н. 1995. Формирование кариосферы в оогенезе некоторых насекомых и амфибий. Цитология. 37 (8) : 744—769.
- Енукашвили Н. И., Кузнецова И. С., Подгорная О. И. 2003. Организация центромера млекопитающих. Цитология. 45 (3) : 255—270.
- Кропотова Е. В., Гагинская Е. Р. 1984. Хромосомы типа ламповых щеток из ооцитов японского перепела. Данные световой и электронной микроскопии. Цитология. 26 : 1003—1015.
- Мякошина Ю. А., Родионов А. В. 1994. Мейотические хромосомы индейки *Meleagris gallopavo* (Galliformes: Meleagrididae) на стадии хромосом-ламповых щеток. Генетика. 30 (5) : 649—656.
- Родионов А. В., Чечик М. С. 2002. Хромосомы-ламповые щетки японского перепела *Coturnix coturnix japonica*: цитологические карты макрохромосом и частота кроссинговера в мейозе у самок. Генетика. 38 (9) : 1246—1251.
- Хутинаева М. А., Кропотова Е. В., Гагинская Е. Р. 1989. Особенности морфофункциональной организации хромосом типа ламповых щеток из ооцитов сизого голубя. Цитология. 31 (10) : 1185—1192.
- Цветков А. Г., Гагинская Е. Р. 1983. Ядерный матрикс ооцитов зяблика. Цитология. 25 (6) : 649—655.
- Чельшьева Л. А., Соловей И. В., Родионов А. В., Яковлев А. Ф., Гагинская Е. Р. 1990. Хромосомы-ламповые щетки курицы. Цитологические карты макробивалентов. Цитология. 32 (4) : 303—316.
- Abbott J., Marzluft W., Gall J. G. 1999. The stem-loop binding protein (SLBP1) is present in coiled bodies of the *Xenopus* germinal vesicle. Mol. Biol. Cell. 10 : 487—499.
- Allshire R. C., Karpen G. H. 2008. Epigenetic regulation or centromeric chromatin: old dogs, new tricks? Nat. Rev. Genet. 9 : 923—937.
- Almedia R., Allshire R. C. 2005. RNA silencing and genome regulation. Trends Cell. Biol. 15 : 251—258.
- Anderson D. M., Richter J. D., Chamberlin M. E., Price D. H., Britten R. J., Smith L. D., Davidson E. H. 1982. Sequence organization of the poly(A)-RNA synthesized and accumulated in lampbrush chromosome stage *Xenopus laevis* oocytes. J. Mol. Biol. 155 : 281—309.
- Angelier N., Penrad-Mobayed M., Billoud B., Bonnanfant M., Coumilleau P. 1996. What role might lampbrush chromosomes play in maternal gene expression? Int. J. Develop. Biol. 40 : 645—652.
- Baldwin L., Macgregor H. C. 1985. Centromeric satellite DNA in the newt *Triturus cristatus karelinii* and related species: its distribution and transcription on lampbrush chromosomes. Chromosoma. 92 : 100—107.
- Barsacchi G., Bussotti L., Mancino G. 1970. The maps of the lampbrush chromosomes of *Triturus* (Amphibia Urodela). IV. *Triturus vulgaris meridionalis*. Chromosoma. 31 : 255—279.
- Barsacchi-Pilone G., Batistoni R., Andronico F., Vitelli L., Nardi I. 1986. Heterochromatic DNA in *Triturus* (Amphibia, Urodela). I. A satellite DNA component of the pericentric C-bands. Chromosoma. 93 : 435—446.
- Batalova F. M., Stepanova I. S., Skovorodkin I. N., Bogolyubov D. S., Parfenov V. N. 2005. Identification and dynamics of Cajal bodies in relation to karyosphere formation in scorpionfly oocytes. Chromosoma. 113 : 428—439.
- Berezney R., Mortillaro M. J., Ma H., Wei X., Samarabandu J. 1995. The nuclear matrix: a structural milieu for genomic function. Int. Rev. Cytol. 162A : 1—65.
- Bogolyubov D., Alexandrova O., Tsvetkov A., Parfenov V. 2000. An immunoelectron study of karyosphere and nuclear bodies in oocytes of mealworm beetle, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Polyphaga). Chromosoma. 109 : 415—425.
- Bogolyubov D., Parfenov V. 2001. Immunogold localization of RNA polymerase II and pre-mRNA splicing factors in *Tenebrio molitor* oocyte nuclei with special emphasis on karyosphere development. Tissue and Cell. 33 : 549—561.
- Bogolyubov D., Parfenov V. 2008. Structure of the insect oocyte nucleus with special reference to interchromatin granule clusters and cajal bodies. Int. Rev. Cell Mol. Biol. 269 : 59—110.
- Bucci S., Raghianti M., Mancino G., Berger L., Hotz H., Uzzell T. 1990. Lampbrush and mitotic chromosomes of the hemiclonally reproducing hybrid *Rana esculenta* and its parental species. J. Exp. Zool. 255 : 37—56.
- Callan H. G. 1986. Lampbrush chromosomes. Mol. Biol. Biochem. Biophys. 36 : 1—254.
- Callan H. G., Lloyd L. 1960. Lampbrush chromosomes of crested newts *Triturus cristatus* (Laurenti). Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B. 243 : 135—219.
- Chelysheva L., Diallo S., Veron D., Gendrot G., Vrielynck N., Belcram K., Rocques N., Marquez-Lema A., Bhatt A. M., Hollow C., Mercier R., Mezard C., Grelon M. 2005. AtREC8 and AtSCC3 are essential to the monopolar orientation of the kinetochores during meiosis. J. Cell Sci. 118 : 4621—4632.
- Choo K. H. A. 2000. Centromerization. Trends Cell Biol. 10 : 182—188.
- Choo K. H. 2001. Domain organization at the centromere and neocentromere. Develop. Cell. 1 : 165—177.
- Cioce M., Lamond A. I. 2005. Cajal bodies: a long history of discovery. Annu. Rev. Cell Develop. Biol. 21 : 105—131.
- Craig J. M., Earnshaw W. C., Vagnarelli P. 1999. Mammalian centromeres: DNA sequence, protein composition and role in cell cycle progression. Exp. Cell Res. 246 : 249—262.
- Cremisi F., Scarabino D., Carluccio M. A., Salvadori P., Barsacchi G. 1992. A newt ribozyme: a catalytic activity in search of a function. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 89 : 1651—1655.
- Cremisi F., Vignali R., Batistoni R., Barsacchi G. 1988. Heterochromatic DNA in *Triturus* (Amphibia Urodela). II. A centromeric satellite DNA. Chromosoma. 97 : 204—211.
- Dang Q., Alghisi G. C., Gasser S. M. 1994. Phosphorylation of the C-terminal domain of yeast topoisomerase II by casein kinase II affects DNA-protein interaction. J. Mol. Biol. 243 : 10—24.
- Davidson E. H. 1986. Gene activity in early development. 3rd ed. Orlando: Acad. Press, Inc.
- De La Fuente R., Viveiros M. M., Burns K. H., Adashi E. Y., Matzuk M. M., Eppig J. J. 2004a. Major chromatin remodeling in the germinal vesicle (GV) of mammalian oocytes is dispensable for global transcriptional silencing but required for centromeric heterochromatin function. Develop. Biol. 275 : 447—458.
- De La Fuente R., Viveiros M. M., Wigglesworth K., Eppig J. J. 2004b. ATRX, a member of the SNF2 family of helicase/ATPases, is required for chromosome alignment and meiotic spindle organization in metaphase II stage mouse oocytes. Develop. Biol. 272 : 1—14.
- Deryusheva S., Krasikova A., Kulikova T., Gaginskaya E. 2007. Tandem 41-bp repeats in chicken and Japanese quail genomes: FISH mapping and transcription on lampbrush chromosomes. Chromosoma. 116 : 519—530.
- Diaz M. O., Barsacchi-Pilone G., Mahon K. A., Gall J. G. 1981. Transcripts from both strands of a satellite DNA occur on lampbrush chromosome loops of the newt *Notophthalmus*. Cell. 24 : 649—659.

- Diaz M. O., Gall J. G. 1985. Giant readthrough transcription units at the histon loci on lampbrush chromosomes of the newt *Nothophthalmus*. *Chromosoma*. 92 : 243—253.
- Doyle M., Jantsch M. F. 2003. Distinct *in vivo* roles for double-stranded RNA-binding domains of the *Xenopus* RNA-editing enzyme ADAR1 in chromosomal targeting. *J. Cell Biol.* 161 : 309—319.
- Dreyfuss G., Kim V. N., Katoka N. 2002. Messenger-RNA-binding proteins and the messages they carry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3 : 195—205.
- Edwards N. S., Murray A. W. 2005. Identification of xenopus CENP-A and an associated centromeric DNA repeat. *Mol. Biol. Cell.* 16 : 1800—1810.
- Ekwall K. 2007. Epigenetic control of centromere behavior. *Annu. Rev. Genet.* 41 : 63—81.
- Escargueil A. E., Larsen A. K. 2007. The mitosis-specific MPM-2 phosphorylation of DNA topoisomerase II alpha is directly regulated by protein phosphatase 2A. *Biochem. J.* 403 : 235—242.
- Fukagawa T., Nogami M., Yoshikawa M., Ikeno M., Okazaki T., Takami Y., Nakayama T., Oshimura M. 2004. Dicer is essential for formation of the heterochromatin structure in vertebrate cells. *Nat. Cell Biol.* 6 : 784—791.
- Gaginskaya E., Kulikova T., Krasikova A. 2009. Avian lampbrush chromosomes: a powerful tool for exploration of genome expression. *Cytogenet. Genome Res.* 124 : 251—267.
- Galkina S., Deryusheva S., Fillon V., Vignal A., Crooijmans R., Groenen M., Rodionov A., Gaginskaya E. 2006. FISH on avian lampbrush chromosomes produces higher resolution gene mapping. *Genetica*. 128 : 241—251.
- Gall J. G. 1952. The lampbrush chromosomes of *Triturus viridescens*. *Exp. Cell Res. Suppl.* 2 : 95—102.
- Gall J. G. 1954. Lampbrush chromosomes from oocyte nuclei of the newt. *J. Morphol.* 94 : 283—352.
- Gall J. G. 1992. Organelle assembly and function in the amphibian germinal vesicle. *Adv. Develop. Biol.* 1 : 1—29.
- Gall J. G. 2003. The centennial of the Cajal body. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4 : 975—980.
- Gall J. G., Bellini M., Wu Z., Murphy C. 1999. Assembly of the nuclear transcription and processing machinery: Cajal bodies (coiled bodies) and transcriptosomes. *Mol. Biol. Cell.* 10 : 4385—4402.
- Gall J. G., Diaz M. O., Stephenson E. C., Mahon K. A. 1983. The transcription unit of lampbrush chromosomes. *Soc. Develop. Biol. Symp.* 41 : 137—146.
- Gall J. G., Stephenson E. C., Erba H. P., Diaz M. O., Barsacchi-Pilone G. 1981. Histone genes are located at the sphere loci of newt lampbrush chromosomes. *Chromosoma*. 84 : 159—171.
- Gruzova M. N., Parfenov V. N. 1993. Karyosphere in oogenesis and intranuclear morphogenesis. *Int. Rev. Cytol.* 144 : 1—52.
- Hayakawa T., Haraguchi T., Masumoto H., Hiraoka Y. 2003. Cell cycle behavior of human HP1 subtypes: distinct molecular domains of HP1 are required for their centromeric localization during interphase and metaphase. *J. Cell Sci.* 116 : 3327—3338.
- Hock R., Carl M., Lieb B., Gebauer D., Scheer U. 1996. A monoclonal antibody against DNA topoisomerase II labels the axial granules of *Pleurodeles* lampbrush chromosomes. *Chromosoma*. 104 : 358—366.
- Holmes R. J., Cohen P. E. 2007. Small RNAs and RNAi pathways in meiotic prophase I. *Chromosome Res.* 15 : 653—665.
- Hutchison N. 1987. Lampbrush chromosomes of the chicken, *Gallus domesticus*. *J. Cell Biol.* 105 : 1493—1500.
- ICGSC (International Chicken Genome Sequencing Consortium). 2004. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*. 432 : 695—716.
- Ivanovska I., Khandan T., Ito T., Orr-Weaver T. L. 2005. A histone code in meiosis: the histone kinase, NHK-1, is required for proper chromosomal architecture in *Drosophila* oocytes. *Genes Develop.* 19 : 2571—2582.
- Jamrich M., Warrior R., Steele R., Gall J. G. 1983. Transcription of repetitive sequences on *Xenopus* lampbrush chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 80 : 3364—3367.
- Jolly C., Lakhota S. C. 2006. Human sat III and *Drosophila* hsr omega transcripts: a common paradigm for regulation of nuclear RNA processing in stressed cells. *Nucl. Acids Res.* 34 : 5508—5514.
- Kato H., Goto D. B., Martienssen R. A., Urano T., Furukawa K., Murakami Y. 2005. RNA polymerase II is required for RNAi-dependent heterochromatin assembly. *Science*. 309 : 467—469.
- Kezer J., Leon P. E., Sessions S. K. 1980. Structural differentiation of the meiotic and mitotic chromosomes of the salamander, *Ambystoma macrodactylum*. *Chromosoma*. 81 : 177—197.
- Klimek-Tomczak K., Mikula M., Dzwonek A., Paziewska A., Wyrwicz L. S., Hennig E. E., Ostrowski J. 2006. Mitochondria-associated satellite I RNA binds to hnRNP K protein. *Acta Biochem. Pol.* 53 : 169—178.
- Krasikova A., Barbero J. L., Gaginskaya E. 2005. Cohesion proteins are present in centromere protein bodies associated with avian lampbrush chromosomes. *Chromosoma Res.* 13 : 675—685.
- Krasikova A., Daks A., Zlotina A., Gaginskaya E. 2009. Polymorphic heterochromatic segments in Japanese quail microchromosomes. *Cytogenet. Genome Res.* 126 : 148—155.
- Krasikova A., Deryusheva S., Galkina S., Kurganova A., Evtelev A., Gaginskaya E. 2006. On the positions of centromeres in chicken lampbrush chromosomes. *Chromosoma Res.* 14 : 777—789.
- Krasikova A., Kulikova T., Saifudinova A., Derjusheva S., Gaginskaya E. 2004. Centromeric protein bodies on avian lampbrush chromosomes contain a protein detectable with an antibody against DNA topoisomerase II. *Chromosoma*. 113 : 316—323.
- Lacroix J. C. 1968. Etude descriptive des chromosomes en ecouvillon dans le genre *Pleurodeles* (Amphibien, Urodele). *Ann. Embryol. Morphogen.* 1 : 179—202.
- Liu J. L., Buszczak M., Gall J. G. 2006. Nuclear bodies in the *Drosophila* germinal vesicle. *Chromosoma Res.* 14 : 465—475.
- Loyez M. 1906. Recherches sur le développement ovarien des oeufs méroblastiques à vitellus nutritif abondant. *Arch. Anat. Microsc. Morphol.* 8 : 239—345.
- Ma W., Hou Y., Sun Q. Y., Sun X. F., Wang W. H. 2003. Localization of centromere protein and their association with chromosomes and microtubules during meiotic maturation in pig oocytes. *Reproduction*. 126 : 731—738.
- Macgregor H. C. 1980. Recent developments in the study of lampbrush chromosomes. *Heredity*. 44 : 3—35.
- Macgregor H. C. 1984. Lampbrush chromosomes and gene utilization in meiotic prophase. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 38 : 333—347.
- Macgregor H. C. 1986. The lampbrush chromosomes of animal oocytes. In: *Chromosome structure and function*. M. S. Risley (Ed.). New York: Van Nostrand Reinhold. 152—186.
- Macgregor H. C., Callan H. G. 1962. The action of enzymes on lampbrush chromosomes. *J. Cell Sci.* 103 : 173—203.
- Macgregor H. C., Solovej I., Mizuno S. 1997. Lampbrush chromosomes as system for high resolution studies of meiotic chromosome structure. In: *Chromosome segregation and aneuploidy*. A. Abdondandolo, B. K. Vig, R. Roi (Eds.). European Commission Joint Research Centre Publication. 172—183.
- Maiato H., DeLuca J., Salmon E. D., Earnshaw W. C. 2004. The dynamic kinetochore-microtubule interface. *J. Cell Sci.* 117 : 5461—5477.
- Malewska A., Olszanska B. 1999. Accumulation and localization of maternal RNA in oocytes of Japanese quail. *Zygote*. 7 : 51—59.
- Mancino G., Barsacchi G., Nardi I. 1969. The lampbrush chromosomes of *Salamandra salamandra* (L.) (Amphibia. Urodela). *Chromosoma*. 26 : 365—387.
- Masi T., Johnson A. D. 2003. Read-through histone transcripts containing 3'-adenylate tails are zygotically expressed in *Xenopus* embryos and undergo processing to mature transcripts when introduced into oocyte nuclei. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 304 : 612—618.

- Matzke M. A., Varga F., Berger H., Scherthaner J., Schweizer D., Mayr B., Matzke A. J. 1990. A 41–42 bp tandemly repeated sequence isolated from nuclear envelopes of chicken erythrocytes is located predominantly on microchromosomes. *Chromosoma*. 99 : 131–137.
- Meglicki M., Zientarski M., Borsuk E. 2008. Constitutive heterochromatin during mouse oogenesis: the pattern of histone H3 modifications and localization of HP1alpha and HP1beta proteins. *Mol. Reprod. Develop.* 75 : 414–428.
- Mellone B. G., Allshire R. C. 2003. Stretching it: putting the CEN(P-A) in centromere. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 13 : 191–198.
- Merico N. V., Monti M., Sebastiano V., Gentile L., Zuccotti M., Garagna S., Redi C. A., Capanna S. E. 2003. Centromere localization changes in oocyte nuclei during mouse folliculogenesis. *Rend. Fis. Acc. Lincei*. 14 : 109–115.
- Miura I., Ohtani H., Hanada H., Ichikawa Y., Kashiwagi A., Nakamura M. 1997. Evidence for two successive pericentric inversions in sex lampbrush chromosomes of *Rana rugosa*. (Anura: Ranidae). *Chromosoma*. 106 : 178–182.
- Morgan G. T. 2002. Lampbrush chromosomes and associated bodies: new insights into principles of nuclear structure and function. *Chromosome Res.* 10 : 177–200.
- Morgan G. T., Doyle O., Murphy C., Gall J. G. 2000. RNA polymerase II in Cajal bodies of amphibian oocytes. *J. Struct. Biol.* 129 : 258–268.
- Neugebauer K. M., Roth M. B. 1997. Transcription units as RNA processing units. *Genes Develop.* 11 : 3279–3285.
- Parfenov V. N., David 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., Davis D. S., Pochukalina G. N., Sample C. E., Murti K. G. 1996. Nuclear bodies of stage 6 oocytes of *Rana temporaria* contain nucleolar and coiled body proteins. *Exp. Cell Res.* 228 : 229–236.
- Parra M. T., Gomez R., Viera A., Page J., Calvente A., Wordeman L., Rufas J. S., Suja J. A. 2006. A perikinetochoric ring defined by MCAK and Aurora-B as a novel centromere domain. *PLoS Genet.* 2 : e84.
- Parra M. T., Viera A., Gomes R., Page J., Benavente R., Santos J. L., Rufas J. S., Suja J. A. 2004. Involvement of the cohesin Rad21 and SCP3 in monopolar attachment of sister kinetochores during mouse meiosis I. *J. Cell Sci.* 117 : 1221–1234.
- Patel S., Novikova N., Beenders B., Austin C., Bellini M. 2008. Live images of RNA polymerase II transcription units. *Chromosome Res.* 16 : 223–232.
- Pinol-Roma S., Swanson M. S., Gall J. G., Dreyfuss G. 1989. A novel heterogeneous nuclear RNP protein with a unique distribution on nascent transcripts. *J. Cell Biol.* 109 : 2575–2587.
- Porter A. C., Farr C. J. 2004. Topoisomerase II: untangling its contribution at the centromere. *Chromosome Res.* 12 : 569–583.
- Prasanth K. V., Spector D. L. 2007. Eukaryotic regulatory RNAs: an answer to the «genome complexity» conundrum. *Genes Develop.* 21 : 11–42.
- Pyne C. K., Loones M.-T., Simon F., Zhou Z. J. 1995. Immunocytochemical study of lampbrush chromosomes of the urodele *Pleurodeles waltl*: axial granules are recognized by the mitosis-specific monoclonal antibody MPM-2. *Biol. Cell.* 83 : 191–200.
- Ragghianti M., Guerrini F., Bucci S., Mancino G., Hotz H., Uzzell T., Guex G. D. 1995. Molecular characterization of a centromeric satellite DNA in the hemiclinal hybrid frog *Rana esculenta* and its parental species. *Chromosome Res.* 3 : 497–506.
- Revenkova E., Jessberger R. 2006. Shaping meiotic prophase chromosomes: cohesins and synaptonemal complex proteins. *Chromosoma*. 115 : 235–240.
- Rieder C. L. 1982. The formation, structure, and composition of the mammalian kinetochore and kinetochore fiber. *Int. Rev. Cytol.* 79 : 1–58.
- Rivera T., Losada A. 2006. Shugoshin and PP2A, shared duties at the centromere. *Bioessays*. 28 : 775–779.
- Rodionov A. V., Lukina N. A., Galkina S. A., Solovei I., Sacco S. 2002. Crossing over in chicken oogenesis: cytological and chiasma-based genetic maps of the chicken lampbrush chromosome 1. *J. Hered.* 93 : 125–129.
- Rutkowska J., Badyaev A. V. 2008. Meiotic drive and sex determination: molecular and cytological mechanisms of sex ratio adjustment in birds. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 363 : 1675–1686.
- Saifitdinova A., Derjusheva S., Krasikova A., Gaginskaya E. 2003. Lampbrush chromosomes of the chaffinch (*Fringilla coelebs* L.). *Chromosome Res.* 11 : 99–113.
- Saifitdinova A. F., Derjysheva S. E., Malykh A. G., Zhurov V. G., Andreeva T. F., Gaginskaya E. R. 2001. Centromeric tandem repeat from the chaffinch genome: isolation and molecular characterization. *Genome*. 44 : 96–103.
- Saifitdinova A. F., Timofejeva L. P., Zhurov V. G., Gaginskaya E. R. 2000. A highly repeated FCP centromeric sequence from chaffinch (*Fringilla coelebs*: Aves) genome is revealed within interchromosomal connectives during mitosis. *Tsitologiya*. 42 : 581–586.
- Schmid M., Nanda I., Hoehn H., Schartl M., Haaf T., Buerstedde J. M., Arakawa H., Caldwell R. B., Weigend S., Burt D. W., Smith J., Griffin D. K., Masabanda J. S., Groenen M. A., Crooijmans R. P., Vignal A., Fillon V., Morisson M., Pitel F., Vignoles M., Garrigues A., Gellin J., Rodionov A. V., Galkina S. A., Lukina N. A., Ben-Ari G., Blum S., Hillel J., Twito T., Lavi U., David L., Feldman M. W., Delany M. E., Conley C. A., Fowler V. M., Hedges S. B., Godbout R., Katyal S., Smith C., Hudson Q., Sinclair A., Mizuno S. 2005. Second report on chicken genes and chromosomes. *Cytogenet. Genome Res.* 109 : 415–479.
- Schramke V., Sheedy D. M., Denli A. M., Bonila C., Ekwall K., Hannon G. J., Allshire R. C. 2005. RNA-interference-directed chromatin modification coupled to RNA polymerase II transcription. *Nature*. 435 : 1275–1279.
- Solari A. J., Tandler C. J. 1991. Presence of a centromeric filament during meiosis. *Genome*. 34 : 888–894.
- Solovei I. V., Joffe B. I., Gaginskaya E. R., Macgregor H. C. 1996. Transcription on lampbrush chromosomes of a centromerically localized highly repeated DNA in pigeon (*Columba*) relates to sequence arrangement. *Chromosome Res.* 4 : 588–603.
- Solovei I., Macgregor H., Gaginskaya E. 1995. Single stranded nucleic acid binding structure on chicken lampbrush chromosomes. *J. Cell Sci.* 108 : 1391–1396.
- Sommerville J., Baird J., Turner B. M. 1993. Histone H4 acetylation and transcription in amphibian chromatin. *J. Cell Biol.* 120 : 277–290.
- Suja J. A., Antonio C., Debec A., Rufas J. S. 1999. Phosphorylation proteins are involved in sister-chromatid arm cohesion during meiosis I. *J. Cell Sci.* 112 : 2957–2969.
- Sullivan B. A., Karpen G. H. 2004. Centromeric chromatin exhibits a histone modification pattern that is distinct from both euchromatin and heterochromatin. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11 : 1076–1083.
- Sumner A. T. 2003. Chromosomes organization and function. Blackwell Publ. 1–287.
- Swedlow J. R., Hirano T. 2003. The making of the mitotic chromosome: modern insights into classical questions. *Mol. Cell*. 11 : 557–569.
- Taagepera S., Rao P. N., Drake F. H., Gorbsky G. J. 1993. DNA topoisomerase II alpha is the major chromosome protein recognized by the mitotic phosphoprotein antibody MPM-2. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 90 : 8407–8411.
- Tanaka K., Suzuki T., Nojiri T., Yamagata T., Namikawa T., Matsuda Y. 2000. Characterization and chromosomal distribution of a novel satellite DNA sequence of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Hered.* 91 : 412–415.
- Usakin L., Abad J., Vagin V. V., de Pablos B., Villasante A., Gvozdev V. A. 2007. Transcription of the 1.688 satellite DNA family is under the control of RNA interference machinery in *Drosophila melanogaster* ovaries. *Genetics*. 176 : 1343–1349.
- Vagnarelli P., Ribeiro S. A., Earnshaw W. C. 2008. Centromeres: old tales and new tools. *FEBS Lett.* 582 : 1950–1959.

Varley J. M., Macgregor H. C., Barnett L. 1990. Characterisation of a short, highly repeated and centromerically localised DNA sequence in crested and marbled newts of the genus *Triturus*. *Chromosoma*. 100 : 15—31.

Varley J. M., Macgregor H. C., Erba H. P. 1980. Satellite DNA is transcribed on lampbrush chromosomes. *Nature*. 283 : 686—688.

Volpe T. A., Kidner C., Hall I. M., Teng G., Grewal S. I., Martienssen R. A. 2002. Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science*. 297 : 1833—1837.

Vos L. J., Famulski J. K., Chan G. K. 2006. How to build a centromere: from centromeric and pericentromeric chromatin to kinetochore assembly. *Biochem. Cell Biol.* 84 : 619—639.

Wang X., Li J., Leung F. C. 2002. Partially inverted tandem repeat isolated from pericentric region of chicken chromosome 8. *Chromosome Res.* 10 : 73—82.

Watanabe Y. 2006. A one-sided view of kinetochore attachment in meiosis. *Cell*. 126 : 1030—1032.

Wu Z., Murphy C., Callan H., Gall J. 1991. Small nuclear ribonucleoproteins and heterogeneous nuclear ribonucleoproteins in the amphibian germinal vesicle: loops, spheres and snurposomes. *J. Cell Biol.* 113 : 465—483.

Zalensky A. O., Breneman J. W., Zalenskaya I. A., Brinkley B. R., Bradbury E. M. 1993. Organization of centromeres in the decondensed nuclei of mature human sperm. *Chromosoma*. 102 : 509—518.

Поступила 6 X 2009

ORGANIZATION OF CENTROMERE REGIONS OF CHROMOSOMES IN THE LAMPBRUSH PHASE

A. V. Krasikova, E. R. Gaginskaya¹

Laboratory of Chromosome Structure and Function, St. Petersburg State University;
¹ e-mail: spbchromas@gmail.com

Centromeres have a pivotal role in the complex of structural elements that are required for precise segregation of eukaryotic chromosomes during two types of cellular divisions — mitosis and meiosis. Data of ultrastructural and cytomolecular analysis indicate significant changes in molecular composition and functional morphology of centromeres during preparation for the first meiotic division. The review is devoted to modern concepts of morpho-functional organization of chromosomal centromere regions in growing oocytes in birds and amphibians. Structure, molecular composition as well as domain organization of centromeres in the lampbrush phase are characterized; data of cytogenetic analysis are presented. Special attention is given to the significance and regulation of satellite DNA transcription in the nuclei of developing oocytes. Possible functions of centromere «protein bodies» formed at the primary constriction of meiotic bivalents are discussed.

Key words: centromere, centromere protein bodies, genome architecture, heterochromatin, lampbrush chromosomes, non-coding RNA, oocyte, satellite DNA.