

DOI: 10.7868/S0041377118090096

ВНУТРИЯДЕРНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИНА НА ЧЕТЫРЕХКЛЕТОЧНОЙ И ВОСЬМИКЛЕТОЧНОЙ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ЗАРОДЫШЕЙ МЫШИ

© Н. А. Боголюбова

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;
электронный адрес: nataly_bogoly@mail.ru*

Внутриядерная локализация актина была изучена у зародышей мыши в середине и конце 4-клеточной стадии развития, а также у некомпактизированных 8-клеточных эмбрионов. С использованием прямого флуоресцентного, непрямого иммунофлуоресцентного методов визуализации актина и конфокальной микроскопии было показано, что ядра зародышей указанных стадий развития содержат мономерный и полимеризованный актин; последний, по-видимому, представлен формами, отличающимися от канонического фибриллярного. Было показано сходство характера внутриядерного распределения актина у зародышей средней 4-клеточной стадии развития и некомпактизированных 8-клеточных зародышей. Сравнение характера ядерной локализации актина на этих стадиях с ранее изученным нами распределением актина в ядрах 2-клеточных эмбрионов показало, что на ранних этапах дробления зародышей характер внутриядерного распределения актина стадиоспецифическим не является и стабильно воспроизводится в ядрах при переходе от более ранней к более поздней стадии эмбриогенеза. Фибриллярный актин, который не был обнаружен в ядрах средних 4-клеточных зародышей, был визуализирован при помощи флуоресцентного фаллоидина в ядрах зародышей, находящихся в конце 4-клеточной стадии развития, незадолго до начала третьего деления дробления. Появление в ядрах фибриллярного актина, возможно, связано с подготовкой зародышей к очередному делению дробления.

Ключевые слова: актин, клеточное ядро, раннее развитие мыши, иммунофлуоресценция, лазерная конфокальная сканирующая микроскопия

Принятые сокращения: AbC — антитела, выработанные против фрагмента C-концевого участка молекулы актина, AbN — антитела, выработанные против фрагмента N-концевого участка молекулы актина.

Актин был одним из первых белков цитоскелета, обнаруженных в клеточном ядре. В ходе исследования биологии ядерного актина были собраны данные, свидетельствующие о его активном участии в ядерном метаболизме соматической клетки (Wesolowska, Lenart, 2015; Viita, Vartiainen, 2017). Достаточно подробно были изучены функции актина в ядрах (зародышевых пузырьках) ооцитов земноводных (Gounon, Karsenti, 1981; Gard, 1999; Bohnsack et al., 2006), птиц (Maslova, Krasikova, 2012), грызунов (Funaki et al., 1995; Почукалина, Парфенов, 2012) и насекомых (Rübsam, Büning, 2001; Bogolyubov et al., 2013). Вместе с тем представление о функциях актина в ядрах доимплантационных зародышей млекопитающих пока остается неполным, поскольку основано на результатах ограниченного круга работ (Nguyen et al., 1998; Rawe et al., 2006; Bogolyubova et al., 2013; Baarlink et al., 2017).

На ранних этапах эмбрионального развития структурная организация и функциональное состояние зародышей меняются очень быстро. В эмбриогенезе мыши стадия зиготы является периодом формирования эмбрионального генома, 2-клеточная стадия — время активации большинства эмбриональных генов (Hamatani et al., 2004).

С конца 8-клеточной стадии в эмбрионе последовательно осуществляются события первичной цитодифференцировки: компактизация зародыша, формирование трофобласта и внутренней клеточной массы и далее — обособление в составе последней эпибласта и гипобласта (Fuji-moti, 2010; Maître, 2017).

На фоне таких значимых событий 4-клеточная стадия развития и первая половина 8-клеточной (вплоть до начала компактизации эмбриона) выглядят относительно спокойными. В это время происходит постепенное расширение «ассортимента» генопродуктов эмбрионального происхождения, которые включаются в метаболизм эмбрионов (Bianchi, Sette, 2011). Однако в контексте исследования ядерных функций актина в эмбриогенезе изучение его внутриядерной локализации в этот период развития представляется весьма актуальной задачей. Такое исследование позволит установить, является ли характер ядерной локализации актина стадиоспецифическим, отражая изменения функционального состояния зародыша, или же он не меняется во время дробления зародыша как минимум до начала первичной цитодифференцировки. Выполнению задачи будет способствовать то, что в нашем рас-

поряжении уже имеются данные о характере внутриядерной локализации актина в ядрах 2-клеточных эмбрионов мыши (Боголюбова, Боголюбова, 2009).

Материал и методика

Получение эмбрионов. В работе использовали самок мыши линии BALB/c из питомника Рапполово (Ленинградская обл., Россия). Для получения эмбрионов необходимого возраста самкам последовательно, с интервалом в 48 ч вводили 5—7 МЕ сывороточного и хорионического гонадотропинов и подсаживали к самцам. Возраст зародышей отсчитывали от момента введения хорионического гонадотропина. Эмбрионы, извлеченные из яйцеводов через 55 (средние 4-клеточные), 60 (поздние 4-клеточные) и 64 ч после инъекции хорионического гонадотропина (некомпактизированные 8-клеточные), собирали в капли PBS и далее фиксировали.

Фиксация и пермеабиллизация эмбрионов. Зародышей фиксировали при комнатной температуре в 4%-ном растворе параформальдегида на PBS в течение 60 мин. Фиксированные эмбрионы промывали в PBS, после чего проводили их пермеабиллизацию в 0.5%-ном растворе Тритона X-100 в течение 15 мин при комнатной температуре.

Прямое флуоресцентное мечение актина. Флуоресцентный конъюгат Alexa Fluor 488-ДНКазы I был использован для выявления мономерного актина в blastomeres зародышей. Фиксированные и пермеабиллизованные зародыши промывали в PBS и помещали в раствор Alexa Fluor 488-ДНКазы I в концентрации 9 мкг/мл на 60—90 мин при комнатной температуре. Далее эмбрионы промывали в PBS и монтировали на предметные стекла, используя для заключения препаратов среду Vectashield, содержащую ядерный краситель DAPI в концентрации 0.25 мг/мл.

Для визуализации фибриллярного актина зародыши после фиксации, пермеабиллизации и отмывки в PBS помещали в раствор TRITC-фаллоидина в концентрации 10 мкг/мл на 60 мин при комнатной температуре. Далее зародыши отмывали в буфере и заключали в среду Vectashield.

Препараты анализировали с помощью конфокального микроскопа Leica TS5 (Германия).

Непрямое иммунофлуоресцентное мечение актина. Для непрямого мечения актина в качестве первых антител были использованы кроличьи поликлональные антитела, выработанные против фрагмента N-концевого участка молекулы актина в разведении 1 : 100, или кроличьи поликлональные антитела к фрагменту C-концевого участка молекулы актина в разведении 1 : 100. Конъюгированные с FITC козы антитела к иммуноглобулинам кролика в разведении 1 : 200 использовали как вторые антитела. Фиксированные зародыши промывали в PBS и для предотвращения неспецифического связывания антител помещали на 10 мин в каплю 10%-ного раствора фетальной сыворотки. Далее зародыши инкубировали в растворе первых антител в течение 12—14 ч при 4 °С. Меченные первыми антителами зародыши переносили в PBS, затем в каплю 10%-ной фетальной сыворотки и далее инкубировали в растворе вторых антител не более 1.5 ч при комнатной температуре. После инкубации с антителами зародыши отмывали в PBS, заключали в среду Vectashield, содержащую ядерный краситель DAPI

в концентрации 0.25 мг/мл, и анализировали с помощью конфокального микроскопа Leica TS5 (Германия).

Анализ локализации флуоресцентных сигналов при двойном мечении зародышей маркерами к актину и хроматину проводили с помощью программы ImageJ.

Использованные реактивы. Гормональные препараты Фоллигон и Хорулон (Intervet, Голландия), поликлональные антитела против фрагмента N-концевого участка молекулы актина (A2103, Sigma, США), поликлональные антитела к фрагменту C-концевого участка молекулы актина (A2066, Sigma, США), Alexa Fluor 488-ДНКазы I (Molecular Probes, США), TRITC-фаллоидин и среда для заключения препаратов Vectashield (Vector Laboratories, США).

Результаты и обсуждение

Присутствие актина в ядрах эмбрионов на средней 4-клеточной стадии развития и в ядрах некомпактизированных 8-клеточных эмбрионов было выявлено тремя из четырех использовавшихся нами специфических маркеров актина.

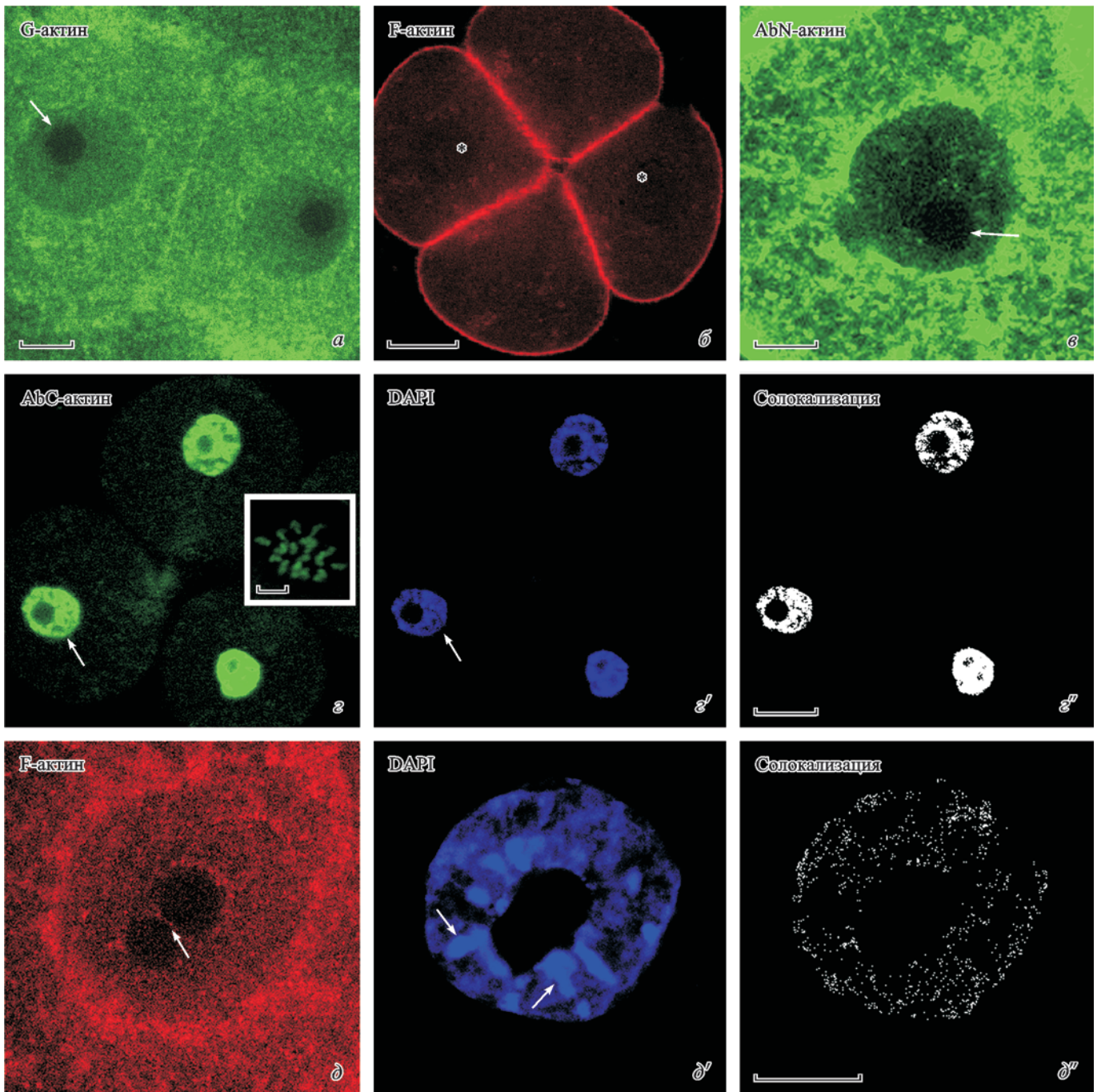
Флуоресцентный конъюгат Alexa Fluor 488-ДНКазы I, визуализировал в ядрах мономерный актин (см. рисунок, а). Антитела к фрагменту C-концевого (AbC) и фрагменту N-концевого (AbN) участков молекулы актина, которые, согласно ранее полученным для ядер 2-клеточных эмбрионов результатам (Боголюбова, Парфенов, 2012), выявляют в эмбриональных ядрах преимущественно олигомерные формы актина, связывались с актиноом также и в ядрах 4- и 8-клеточных эмбрионов (см. рисунок, в, г). Однако при использовании TRITC-фаллоидина для визуализации фибриллярного актина в ядрах зародышей флуоресценция в области локализации ядер не регистрировалась, и можно было наблюдать только флуоресценцию цитоплазмы, особенно яркую в ее субкортикальной зоне (см. рисунок, б).

Было показано сходство характера внутриядерного распределения актина у зародышей средней 4-клеточной стадии развития и некомпактизированных 8-клеточных зародышей.

В нуклеоплазме эмбрионов этих стадий развития меченный Alexa Fluor 488-ДНКазы I мономерный актин был распределен диффузно, отсутствовали места его преимущественной локализации, а в местах расположения ядрышек свечение меченого актина не регистрировалось. Визуально оцениваемая яркость флуоресценции нуклеоплазмы была немного ниже, чем у окружающей ядро цитоплазмы (см. рисунок, а).

Зародыши средней 4-клеточной стадии развития и некомпактизированные 8-клеточные зародыши, меченные AbN, демонстрировали яркое свечение актина в цитоплазме, включая ее субкортикальный слой. Данный маркер отчетливо визуализировал в цитоплазме структуры, образованные фибриллярным актиноом. Свечение ядер у меченных антителами эмбрионов было значительно менее ярким, чем свечение цитоплазмы. В ядрах меченный AbN-актин был равномерно распределен в нуклеоплазме, и на этом фоне были различимы немногочисленные короткие линейные или точечные структуры. В местах локализации ядрышек свечение меченого актина не регистрировалось (см. рисунок, в).

Особенностью AbC является то, что они слабо связываются с цитоплазматическим актиноом и интенсивно —



Прямое флуоресцентное и непрямо иммунофлуоресцентное выявление актина в бластомерах 4-клеточных (б, г-г'', д-д'') и 8-клеточных (а, в) зародышей мыши.

а — бластомеры некомпактизированного 8-клеточного зародыша: мечение мономерного актина с помощью конъюгата Alexa Fluor 488-ДНКазы I; стрелкой отмечено ядрышко. б — зародыш на средней 4-клеточной стадии: мечение фибриллярного актина TRITC-фаллоидином; звездочками отмечены места локализации ядер. в — бластомер некомпактизированного 8-клеточного зародыша: мечение антителами к фрагменту N-концевого участка молекулы актина (AbN); стрелкой отмечено ядрышко г-г'' — бластомеры зародыша на средней 4-клеточной стадии: двойное мечение антителами к фрагменту C-концевого участка молекулы актина (AbC) и ядерным красителем DAPI; г — флуоресценция меченного антителами актина; стрелкой отмечено ядро бластомера; на врезке — метафазные хромосомы третьего деления дробления; г' — мечение ДНК ядерным красителем DAPI; стрелкой отмечено ядро бластомера; г'' — солокализация флуоресцентных сигналов от меченых актина и ДНК. д-д' — двойное мечение ядра бластомера зародыша на поздней 4-клеточной стадии TRITC-фаллоидином и DAPI; д — флуоресценция распознаваемого TRITC-фаллоидином фибриллярного актина; стрелкой отмечено ядрышко; д' — флуоресценция ДНК, меченной DAPI; стрелками отмечены конденсирующиеся хромосомы; д'' — солокализация флуоресцентных сигналов от меченых актина и ДНК. Масштабные отрезки: а, д-д'' — 10 мкм; б, г-г'' — 25 мкм; в — 8.0 мкм; врезка — 6.0 мкм.

с актином в ядре. У меченных антителами 4- и 8-клеточных зародышей наблюдали яркое свечение ядра (см. рисунок, *з*). Свечение нуклеоплазмы было неравномерным за счет многочисленных, имеющих разный размер кластеров распознаваемого AbC-актина. В местах локализации ядрышек флуоресцентное мечение отсутствовало.

После двойного мечения зародышей AbC (см. рисунок, *з*) и ДНК-маркером DAPI (см. рисунок, *з'*) в ядрах наблюдали солокализацию флуоресцентных сигналов (см. рисунок, *з''*). Распознаваемый антителами актин был солокализирован преимущественно с конденсированным хроматином. Во время метафазы третьего деления дробления 4-клеточных зародышей меченный AbC-актин был солокализирован с конденсированными хромосомами (см. рисунок, *з, врезка*).

В ядрах поздних 4-клеточных зародышей незадолго до начала третьего деления дробления характер локализации мономерного актина и актина, выявляемого AbC и AbN, не отличался от рисунка, типичного для ядер зародышей средней 4-клеточной стадии.

Однако после окрашивания эмбрионов TRITC-фаллоидином в нуклеоплазме была отмечена флуоресценция распознаваемого данным маркером фибриллярного актина при ее отсутствии в месте расположения ядрышка. Рисунок флуоресценции нуклеоплазмы был сформирован за счет яркого свечения многочисленных точечных фокусов флуоресценции (см. рисунок, *д*). Анализ солокализации флуоресцентных сигналов от меченного DAPI хроматина (см. рисунок, *д'*) и меченного фаллоидином актина (рисунок, *д*) продемонстрировал отсутствие специфической ассоциации между актином и конденсирующимися хромосомами (см. рисунок, *д''*). Данная картина принципиально отличалась от той, что наблюдали при использовании TRITC-фаллоидина для визуализации фибриллярного актина в ядрах средних 4-клеточных и некомпактизированных 8-клеточных зародышей, где флуоресценция в области локализации ядер не регистрировалась (см. рисунок, *б*).

В рамках данной работы мы имели возможность сравнить характер ядерной локализации актина на нескольких стадиях дробления зародышей мыши, поскольку ранее он был изучен нами на первой из них — 2-клеточной (Боголюбова, Боголюбова, 2009). Полученные результаты показывают, что ядра 4-клеточных зародышей и некомпактизированных 8-клеточных эмбрионов содержат те же формы актина, что и ядра 2-клеточных: мономерный актин и субпопуляции ядерного актина, распознаваемые AbN и AbC. Как и ядра 2-клеточных зародышей, ядра эмбрионов последующих стадий дробления содержат значительное количество мономерного актина.

Сравнение картин ядерного распределения актина в ряду от 2-клеточных до некомпактизированных 8-клеточных эмбрионов позволяет утверждать, что характер внутриядерной локализации актина у дробящихся зародышей не является стадийноспецифическим и стабильно воспроизводится при переходе от одной стадии эмбриогенеза к другой как минимум до начала компактизации эмбрионов.

При анализе локализации распознаваемого AbN-актина в ядрах дробящихся зародышей мы опирались на данные о том, что в эмбриональных ядрах мыши этот тип антител метит преимущественно олигомерные формы актина (Боголюбова, Парфенов, 2012). В клеточном ядре возможно присутствие актина в форме нелинейных олигомеров и филаментов, слишком коротких для распознавания фаллоидином. Есть ряд свидетельств того, что в яд-

рах соматических клеток подобные актиновые структуры могут участвовать в формировании внутренней организации ядра, во внутриядерном транспорте молекул и являться структурной основой для сборки разнообразных мультимолекулярных регуляторных комплексов (Castano et al., 2010; Hendzel, 2014). Однако данные, полученные при помощи новых прижизненных методов внутриядерной визуализации актина, ставят под сомнение возможность прямого участия коротких полимеров актина как в перемещении ядерных компонентов на значительные расстояния, так и в ремоделировании хроматина и процессе транскрипции (Belin, 2013). Поэтому более вероятным представляется, что и в ядрах дробящихся зародышей распознаваемый AbN-актин может выполнять преимущественно структурные функции, участвуя в создании и поддержании трехмерной организации ядра.

Мы также отметили, что на всех изученных нами стадиях развития от 2-клеточной до 8-клеточной в интерфазных ядрах бластомеров зародышей можно было наблюдать солокализацию флуоресцентных сигналов от распознаваемого AbC актина и конденсированного хроматина, меченного DAPI. Визуализируемый AbC актин был также солокализирован с метафазными хромосомами второго (Боголюбова, Боголюбова, 2009) и третьего (показано в данной статье) делений дробления. Эти наблюдения позволяют предполагать наличие в ядрах эмбрионов, находящихся на ранних этапах дробления, долговременной ассоциации одной из субпопуляций ядерного актина с конденсированным хроматином, сохраняющейся как минимум до начала компактизации зародыша. В то время как существует большой объем данных относительно взаимодействия ядерного актина и транскрипционно активного хроматина (Misu et al., 2017), характер взаимоотношений между актином и конденсированным хроматином пока остается непонятым. С использованием протомного анализа изолированных метафазных хромосом человека было показано наличие высокого уровня средства актина по отношению к хромосомам, а их мечение моноклональными антителами к β -актину выявило солокализацию актина с конденсированным хроматином (Uchiyama et al., 2005). Полученные нами результаты хорошо соотносятся с этими наблюдениями. Вместе с тем возможная биологическая роль ассоциации ядерного актина и конденсированного хроматина в раннем эмбриогенезе мыши остается неясной. Ранее было показано, что в ядрах соматических клеток актин может участвовать в поддержании структуры хромосом и процессе компактизации хроматина (Zheng et al., 2009). Представляется возможным, что субпопуляция ядерного актина, распознаваемая AbC, может выполнять сходные функции в ядрах зародышей мыши начальных стадий развития.

Обнаружение фибриллярного актина в ядрах 4-клеточных зародышей незадолго до начала третьего митотического деления дробления было бы неожиданным, если бы не перекликалось с недавно опубликованными данными. Результаты этой работы (Baarlink et al., 2017) свидетельствуют о кратковременном появлении ядерных актиновых филаментов во время выхода клеток из митоза. По мнению авторов, такие актиновые структуры необходимы для увеличения объема ядра и деконденсации хроматина в фазе G₁ клеточного цикла. Короткоживущий пул F-актиновых филаментов был обнаружен не только в ядрах соматических клеток, но также в пронуклеусах зигот и ядрах эмбрионов на ранней фазе G₁ второго клеточного цикла (Baarlink et al., 2017).

Полученных в нашей работе результатов недостаточно, чтобы ответить на вопрос, является ли появление фибриллярного актина в ядре во время профазы митоза у 4-клеточных эмбрионов необходимым условием для их успешного перехода на следующую стадию развития. В то же время они указывают на актуальность дальнейшего изучения возможной роли ядерного фибриллярного актина в таких ранних событиях митотического деления бластомеров зародышей, как дезинтеграция ядерной оболочки и конденсация хромосом.

Работа выполнена при финансовой поддержке по государственному заданию № 0124_2018_003 (рег. ЦИТИС № АААА-А17-117032350035-4).

Список литературы

- Боголюбова И. О., Парфенов В. Н. 2012. Особенности иммунофлуоресцентного выявления ядерного актина в ранних эмбрионах мыши. Цитология. 54 (7) : 541—548. (Bogolyubova I. O., Parfenov V. N. 2012. Immunofluorescent detection of nuclear actin in early mouse embryos. Cell Tissue Biol. 6 (5—6) : 458—464.)
- Боголюбова Н. А., Боголюбова И. О. 2009. Локализация актина в ядрах двухклеточных зародышей мыши. Цитология. 51 (8) : 663—669. (Bogolyubova N. A., Bogolyubova I. O. 2009. Actin localization in nuclei of two-cell mouse embryos. Cell Tissue Biol. 3 (5) : 417—422.)
- Почукалина Г. Н., Парфенов В. Н. 2012. Распределение актина и факторов экспорта мРНК в ядрах преовуляторных ооцитов мыши. Цитология. 54 (7) : 549—559. (Pochukalina G. N., Parfenov V. N. 2012. Actin and mRNA export factors distribution in the nucleus of preovulatory mouse oocytes. Cell Tissue Biol. 6 (5—6) : 423—434.)
- Baarlink C., Plessner M., Sherrard A., Morita K., Misu S., Virant D., Kleinschnitz E.-M., Harniman R., Alibhai D., Baumeister S., Miyamoto K., Endesfelder E., Kaidi A., Grosse R. 2017. A transient pool of nuclear F-actin at mitotic exit controls chromatin organization. Nat. Cell Biol. 19 : 1389—1399.
- Belin B. J., Cimini B. A., Blackburn E. H., Dyche Mullins R. 2013. Visualization of actin filaments and monomers in somatic cell nuclei. Mol. Biol. Cell. 24 : 982—994.
- Biachi E., Sette K. 2011. Post-transcriptional control of gene expression in mouse early embryo development: a view from the tip of the iceberg. Genes. 2 : 345—359.
- Bogolyubov D. S., Batalova F. M., Kiselyov A. M., Stepanova I. S. 2013. Nuclear structures in *Tribolium castaneum* oocytes. Cell Biol. Int. 37 : 1061—1079.
- Bogolyubova I., Stein G., Bogolyubov D. 2013. FRET analysis of interactions between actin and exon-exon junction complex proteins in early mouse embryos. Cell Tissue Res. 352 : 277—285.
- Bohnsack M. T., Stuken T., Kuhn C., Cordes V. C., Gorlich D. 2006. A selective block of nuclear actin export stabilizes the giant nuclei of *Xenopus* oocytes. Nat. Cell Biol. 8 : 257—267.
- Castano E., Philimonenko V. V., Kahle M., Fukalová J., Kalandová A., Yildirim S., Dzijak R., Dingová-Krásna H., Hozák P. 2010. Actin complexes in the cell nucleus: new stones in an old field. Histochem. Cell Biol. 133 : 607—626.
- Fujimori T. 2010. Preimplantation development of mouse: a view from cellular behavior. Develop. Growth Differ. 52 : 253—262.
- Funaki K., Katsumoto T., Iino A. 1995. Immunocytochemical localization of actin in the nucleolus of rat oocytes. Biol. Cell. 84 : 139—146.
- Gard D. L. 1999. Confocal microscopy and 3-D reconstruction of the cytoskeleton of *Xenopus* oocytes. Microsc. Res. Tech. 44 : 388—414.
- Gounon P., Karsenti E. 1981. Involvement of contractile proteins in the changes in consistency of oocytes nucleoplasm of the newt *Pleurodeles waltlii*. J. Cell Biol. 88 : 410—421.
- Hamatani T., Carter M. G., Sharov A. A., Ko M. S. H. 2004. Dynamics of global gene expression changes during mouse preimplantation development. Develop. Cell. 6 : 117—131.
- Hendzel M. J. 2014. The F-act's of nuclear actin. Curr. Opin. Cell Biol. 28 : 84—89.
- Maslova A., Krasikova A. 2012. Nuclear actin depolymerization in transcriptionally active avian and amphibian oocytes leads to collapse of intranuclear structures. Nucleus. 3 : 300—311.
- Maitre J.-L. 2017. Mechanics of blastocyst morphogenesis. Biol. Cell. 109 : 323—338.
- Misu S., Takebayashi M., Miyamoto K. 2017. Nuclear actin in development and transcriptional reprogramming. Front. Genet. 8 : 27. Doi: 10.3389/fgene.2017.00027.
- Nguyen E., Besombes D., Debey P. 1998. Immunofluorescent localization of actin in relation to transcription sites in mouse pronuclei. Mol. Reprod. Develop. 50 : 263—272.
- Rawe V. Y., Payne C., Schatten G. 2006. Profilin and actin-related proteins regulate microfilament dynamics during early mammalian embryogenesis. Hum. Reprod. 21 : 1143—1153.
- Rübsam R., Büning J. 2001. F-actin is a component of the karyosome in neuropteran oocyte nuclei. Arthropod Struct. Develop. 30 : 125—133.
- Uchiyama S., Kobayashi S., Takata H., Ishihara T., Naoto N., Higashi T., Hayashihara K., Sone T., Higo D., Nirasawa T., Takao T., Matsunaga S., Fukui K. 2005. Proteome analysis of human metaphase chromosomes. J. Biol. Chem. 280 : 16 994—17 004.
- Viita T., Vartiainen M. 2017. From cytoskeleton to gene expression: actin in the nucleus. Handb. Exp. Pharmacol. 235 : 311—329.
- Wesolowska N., Lenart P. 2015. Nuclear roles for actin. Chromosoma. 124 : 481—489.
- Zheng B., Han M., Bernier M., Wen J.-K. 2009. Nuclear actin and actin-binding proteins in the regulation of transcription and gene expression. FEBS J. 276 : 2669—2685.

Поступила 19 VI 2018

INTRANUCLEAR ACTIN DISTRIBUTION AT FOUR-CELL AND EIGHT-CELL STAGES OF MOUSE EMBRYO DEVELOPMENT

N. A. Bogolyubova

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064;
e-mail: natally_bogoly@mail.ru

Intranuclear distribution of actin was studied in the mouse embryos in the middle and at the end of the 4-cell stage of development and also in the blastomeres of uncompacted 8-cell embryos. With the use of several anti-actin dyes for direct fluorescent and indirect immunofluorescent detection of actin and confocal microscopy, it has been established that embryonic nuclei at the specified stages of development contain monomeric

actin and polymeric actin differing from conventional filamentous. It has been demonstrated that actin distribution patterns in the nuclei of middle-stage 4-cell embryos and uncompact 8-cell embryos do not differ from each other. Their comparison with the patterns of actin distribution in the nuclei of 2-cell embryos that we had studied earlier showed that at the early stages of embryo cleavage the intranuclear actin localization is not stage-specific and is stably replicated in the nuclei of the embryos at transition from earlier to later stage of embryogenesis. Filamentous actin that has not been found in the nuclei of middle-stage 4-cell embryos was detected by fluorescent phalloidin in the nuclei of the embryos which are in the end of a 4-cell stage of development, shortly before the beginning of the third cleavage division. The appearance of nuclear filamentous actin is possibly related to the preparation of embryos to the following cleavage division.

Key words: actin, cell nucleus, early mouse development, immunofluorescence, confocal microscopy
