

диатомей. Изменения в работе этих клеточных механизмов приводят к формированию разнообразных кремнеземных структур в экспериментах, а в процессе эволюции может обеспечивать многообразие форм диатомей.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО (проект 0345-2015-0031 «Клеточные и молекулярные механизмы морфогенеза диатомей»).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА В РАСТУЩИХ ООЦИТАХ КРАСНОУХОЙ ЧЕРЕПАХИ. © *А. В. Беляев, Е. И. Кошель, А. Г. Дёмин, А. Г. Давидьян, С. А. Галкина, А. Ф. Сайфитдинова, Е. Р. Гагинская, С.-Петербургский государственный университет, t800vst1000@mail.ru*

Снабжение клетки рибосомными РНК обусловлено экспрессией ядрышкообразующих районов (ЯОР) хромосом и функционированием ядрышка. В растущем ооците накапливаются огромные количества рРНК для обеспечения ранних этапов эмбриогенеза до начала экспрессии генов в зародыше. В зависимости от источника рРНК в ооците животных обнаруживается большое разнообразие сценариев функционирования ЯОР. Класс Рептилии в этом отношении представляет особый интерес в силу существенных различий между представителями разных отрядов в механизмах накопления рРНК в ооцитах. В частности, у черепах и крокодилов в ядрах крупных ооцитов на морфологическом уровне описаны экстрахромосомные ядрышки. Тем не менее механизм их образования до сих пор остается невыясненным. В настоящей работе нами впервые были проанализированы некоторые молекулярно-генетические аспекты амплификации ЯОР у рептилий на примере красноухой черепахи *Trachemys scripta*.

На основе анализа неаннотированных контигов из геномной сборки бугорчатой черепахи *Malaclemys terrapin* GCA_001728815.2, депонированной в NCBI, была реконструирована и описана нуклеотидная последовательность кластера генов рРНК и межгенного спейсера IGS. Полученная последовательность полного рибосомного повтора была использована как референс для сборки транскрибируемой части рибосомного повтора красноухой черепахи. Сборка проводилась с использованием базы «сырых» последовательностей транскриптома (NCBI, SRA: SRX565330). Используя полученную информацию, мы разработали ДНК-зонд для внешнего транскрибируемого спейсера 5'ETS рибосомного повтора. FISH проводили на криосрезях яичников половозрелых самок красноухой черепахи. Целью экспериментов было выявление рДНК и несплайсированной пре-рРНК.

В результате выполнения работы нами впервые была реконструирована полная последовательность рибосомного повтора: кластер рДНК и межгенный спейсер IGS. Используя 5'ETS-зонд, мы выявили рДНК в ядрышках и подтвердили ее транскрипционную активность. Полученные результаты демонстрируют сходство в структуре и функционировании ядрышек у рептилий с экстрахромосомными ядрышками амфибий. Несмотря на эволюционную близость Черепах к классу Птицы, сценарии функционирования ЯОР в оогенезе этих животных имеют существенные различия. Полученные результаты, несомненно, вносят вклад в представления о разнообразии типов оогенеза.

Исследование реализовано при финансовой поддержке грантов СПбГУ (проект 1.50.1043.2014) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 15-04-05684), а также при использовании оборудования РЦ СПбГУ «Хромас».

ХРОМАТИНРЕМОДЕЛИРУЮЩИЙ БЕЛОК ATRX ПРИСУТСТВУЕТ В ЭКСТРАХРОМОСОМНЫХ СТРУКТУРАХ ЯДРА ООЦИТОВ НАСЕКОМЫХ. © *Д. С. Боголюбов,¹ И. С. Степанова*. Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, ¹dbogol@mail.ru

Исследовано распределение хроматинремоделлирующего белка ATRX в ядрах ооцитов трех видов лабораторных насекомых в связи с развитием кариосферы разных типов. Кариосфера — специфическая для мейоза структура, образованная конденсированными бивалентами, собранными в ограниченном объеме крупного ядра ооцита. Она формируется на стадии диплотены у организмов, у которых в оогенезе имеет место физиологически детерминированная транскрипционная инактивация ядра ооцита. Белок ATRX (α -thalassemia mental retardation X-linked) представляет АТФ-зависимую ДНК-геликазу и является одним из основных хроматинремоделлирующих белков, связанных с гетерохроматинизацией. Однако локализация ATRX в ядре ооцитов и его участие в преобразованиях хроматина до сих пор были показаны лишь в отношении млекопитающих в ходе формирования их специфической кариосферы (De La Fuente et al., 2012. Results Probl. Cell Differ. 55 : 45—68). С помощью иммунофлуоресцентной и иммуноэлектронной микроскопии мы изучили локализацию ATRX в диплотенных ооцитах, различающихся морфологическим строением ядра, на примере насекомых *Acheta domesticus* (кариосфера в оогенезе не формируется), *Tribolium castaneum* (кариосфера имеет внешнюю экстрахромосомную капсулу) и *Tenebrio molitor* (формируется лишенная капсулы кариосфера, или кариосома). Во всех случаях формирования кариосферы (кариосомы) зоны локализации ATRX, как ожидалось, связаны с гетерохроматином, что наводит на мысль об эволюционной консервативности ATRX в процессе формирования кариосферы. Неожиданно оказалось, что ATRX локализуется и в экстрахромосомном материале определенных типов. Таковым, например, оказался «внутренний кластер интерхроматиновых гранул» в составе сложного ядерного тельца ооцитов *A. domesticus*, объединяющего морфологические компоненты телец Кахала или телец гистоновых локусов, с одной стороны, и кластеров интерхроматиновых гранул — с другой (Bogolyubov et al. BioEssays. 31 : 400—409). В ооцитах *T. molitor* антитела к ATRX маркировали определенную группу гетероморфных ядерных телец — как связанных с кариосферой, так и лежащих свободно в нуклеоплазме. В ооцитах *T. castaneum* особый интерес представляет локализация ATRX в капсуле кариосферы — специфическом ядерном компартменте, который, по-видимому, служит не только «изолятором» продуктов хромосомной активности от остальной части нуклеоплазмы, но, не исключено, может быть более тесно вовлечен в процессы экспрессии генов (Bogolyubov et al., 2013. Cell Biol. Int. 37 : 1061—1079). Выявление ATRX в экстрахромосомном компартменте ядра ооцитов — капсуле кариосферы и (или) ядерных тельцах — свидетельствует в пользу гипотезы о запасающей функции данных структур. Вместе