

УДК 577.212

А.В.Красикова (6 курс, каф. БФ),
Е.Р.Гагинская, д.б.н., зав. лаб. СФХ (БиНИИ СПбГУ)

АНАЛИЗ ЦЕНТРОМЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ИЗ ГЕНОМОВ ПТИЦ

Большую долю геномов высших эукариот составляет некодирующая ДНК, в частности высокоповторяющиеся тандемные последовательности, локализованные в центромерных и теломерных областях хромосом. Функции центромерных сателлитных повторов до конца не ясны. Для некоторых из них показано участие в образовании кинетохоры веретена деления во время митоза за счет связывания белков группы CENP, существуют данные и о транскрипции сателлитной ДНК в ооцитах амфибий и птиц. В женских половых клетках птиц центромерные районы участвуют в поддержании геномной архитектуры ядра. Так, центромерно локализованные сателлиты FCP (2) и PR1 (6) из геномов зяблика и голубя соответственно в растущих ооцитах этих видов коррелируют положением необычных структур – белковых тел, которые, сливаясь, концентрируют хромосомы в ограниченном объеме ядра (1). В связи с этим, изучение особенностей указанных повторов представляется особенно актуальным.

Центромерные последовательности принято разделять на перичентромерные и центромерные сателлиты. Так как сателлитная ДНК характеризуется высокой видоспецифичностью, сравнение таких повторов при помощи выравнивания последовательностей по гомологии не оправдано. В нашу задачу входило нахождение характерных для центромерных и перичентромерных сателлитов других видов структурных признаков в сателлитах FCP и PR1 из геномов птиц, в частности при помощи компьютерного анализа. Известно, что центромерные последовательности AT-богаты, нередко содержат MAR/SAR-элементы (области связывания с ядерным матриксом/скэффолдом хромосом), имеют в своем составе сайт связывания белка CENPB и др.

При помощи программы MAR-Wizard (www.futuresoft.org) в составе сателлита PR1 найдено множество элементов, характерных для SAR/MAR – областей, в частности, по 2 сайта в каждом мономере для связывания топоизомеразы II, которая является компонентом ядерного матрикса. С использованием моноклональных антител к топоизомеразе II амфибий (4) в белковых телах в ядрах ооцитов птиц разных стадий развития показано наличие белка, обладающего общим эпитопом с топоизомеразой II. При этом белок не выявляется по всей длине хромосомы. Возможно, что белковые тела образуются путем накопления белков ядерного матрикса на участках центромерных повторов, имеющих в своем составе элементы, характерные для SAR/MAR – последовательностей (2). Одним из таких белков может быть топоизомераза II.

Хромосомы растущих ооцитов птиц и амфибий отличаются огромными размерами и особой деконденсированной хромомерно-петлевой структурой, благодаря которой они были названы хромосомами типа ламповых щеток (ЛЩ) (3). Препараты таких хромосом используются для точного картирования местоположения последовательностей ДНК методом FISH (флуоресцентной гибридизации *in situ*). Методом FISH показано, что сателлиты PR1 занимают всю область центромерно расположенных гетерохроматиновых блоков хромосом-ЛЩ голубя. Повторы PR1 локализованы в области центромер не всех хромосом голубя (6), что характерно для некоторых центромерных последовательностей высших эукариот. Ранее было показано наличие в повторах PR1 протяженных AT-богатых участков и неидеального CENPB-бокса (6). При помощи программы AliBaba2 (www.witi.cs.uni-magdeburg.de) в последовательности PR1 мы также обнаружили 3 потенциальных промотора для полимеразы II, содержащих TATA-боксы. Эти промоторы могут играть роль в показанной ранее транскрипции повтора PR1 в оогенезе (6).

Повтор FCP не содержит CENPB-боксов и элементов, типичных для MAR/SAR, кроме потенциальных точек инициации репликации. Для перицентромерных последовательностей характерно, наряду с другими свойствами, наличие повтора TGGAA. В составе сателлита FCP, но не PR1, при помощи программы PCGene найдено 5 повторов TGGAA. На хромосомах-ЛЩ зяблика повтор FCP, хотя и локализуется в области центромер всех хромосом зяблика, но занимает не всю область центромерных гетерохроматиновых блоков.

Таким образом, мы приходим к заключению, что повтор FCP может быть отнесен к группе перицентромерных сателлитов, а последовательность PR1 – к группе центромерных повторов.

В последовательности PR1 найдено описанное ранее для сателлита FCP необычное расположение блоков полиА и полиТ в одной части последовательности, а полиГ и полиС треков – в другой, которое может влиять на трехмерную структуру кластеров повторов. При помощи модели Трифонова (<http://esti.haifa.ac.il>) предсказана трехмерная структура моно-, ди- и тримеров сателлитов FCP и PR1, которая в сравнении с имеющимися данными о степени искривленности центромерных и перицентромерных последовательностей (5) подтверждает сделанные предположения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гагинская Е.Р. Ядерные структуры в ооцитах половозрелых птиц. II. Белковые тела и кариосфера // Цитология, 1972. 14, 5: 568-577.
2. Сайфитдинова А.Ф. Высокоповторяющаяся последовательность FCP из генома зяблика: структура, локализация и особенности функционирования в половых и соматических клетках // Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, 2001.
3. Callan H.G. Lampbrush Chromosomes // Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics, 1986. 36: 1-254.
4. Hock R., Carl M., Lieb B., Gebauer D., Scheer U. A monoclonal antibody against DNA topoisomerase II labels the axial granules of *Pleurodeles* lampbrush chromosomes // Chromosoma, 1996. 104: 358-366.
5. Lobov I.B., Tsutsui K., Mitchell A.R., Podgornaya O.I. Specificity of SAF-A and lamin B binding in vitro correlates with the satellite DNA bending state // J Cell Biochem 2001. 83: 218-29.
6. Solovei I.V., Joffe B.I., Gaginskaya E.R., Macgregor H.C. Transcription on lampbrush chromosomes of a centromerically localized highly repeated DNA in pigeon (*Columba*) relates to sequence arrangement // Chromosome Research, 1996. 4: 588-603.