

**Локусы формирования ядерных доменов в растущих ооцитах озерной лягушки: цитологический анализ**

**Научный руководитель – Куликова Татьяна Вадимовна**

**Казакова Людмила Владимировна**

*Студент (бакалавр)*

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,

Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: lukav@rambler.ru*

Ядерные домены - это не ограниченные мембранами структуры, концентрирующие определенные белки и РНК в интерхроматиновом пространстве клеточного ядра. Многие ядерные домены формируются на сайтах транскрипции определенных последовательностей, при этом необходимыми условиями биогенеза таких ядерных доменов являются как наличие транскриптов этих последовательностей, так и сам процесс транскрипции [2]. Ядро растущего ооцита представляет удобную модель для исследования ядерных доменов в связи с высокой транскрипционной активностью хромосом типа ламповых щеток и возможностью визуализировать отдельные локусы и транскрипционные единицы. Для хромосом типа ламповых щеток многих видов амфибий и птиц характерно формирование маркерных структур - латеральных петель с комплексной морфологией РНП-матрикса или локус-ассоциированных сфер/гранул. Маркерные структуры могут служить хорошей моделью для изучения механизмов формирования ядерных доменов [1].

Для изучения последовательностей, ответственных за формирование маркерных структур, мы получили зонды для флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) специфичные к локусам, в ассоциации с которыми эти структуры формируются на хромосомах типа ламповых щеток озерной лягушки *Pelophylax ridibundus*. Для этого диссектированные с хромосом типа ламповых щеток и амплифицированные ранее локусы поместили биотинном с помощью ПЦР с вырожденными праймерами. Эффективность амплификации была проверена с помощью электрофореза в агарозном геле, а эффективность мечения - детекцией разведений продуктов амплификации с помощью стрептавидина, конъюгированного со щелочной фосфатазой. Полученные зонды гибридизовали на метафазных хромосомах озерной лягушки. Зонды к локусам маркерных структур на хромосомах С, G/F, а также к локусам формирования терминальных гранул на хромосоме В гибридизовались только с локусом диссекции, тогда как зонды к локусам маркерных структур на хромосомах В, Е, Н, и К помимо локусов диссекции гибридизовались равномерно со всеми, либо с некоторыми другими хромосомами. В то же время, на препаратах хромосом типа ламповых щеток зонды к локусу маркерной структуры на хромосоме С и к локусу терминальных гранул на хромосоме В гибридизовались со многими латеральными петлями на других хромосомах. Полученные результаты свидетельствуют об обогатенности локусов формирования исследованных маркерных структур диспергированными повторами. Дальнейшие цитологические исследования на хромосомах типа ламповых щеток, а также секвенирование последовательностей ДНК диссектированных локусов позволит выявить факторы необходимые формирования маркерных структур.

**Источники и литература**

- 1) Красикова А.В., Куликова Т.В., Злотина А.М. Хромосомы типа ламповых щеток как модель для изучения локусов формирования ядерных доменов // Цитология. 2016. Т. 58. С. 277-280.

- 2) Shevtsov S. and Dundr M. Nucleation of nuclear bodies by RNA // Nature Cell Biology. 2011. V.13. p. 167-173.