

МОБИЛЬНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ РАЙОНОВ ПРИКРЕПЛЕНИЯ ХРОСОМОМ К ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКЕ ТРОФОЦИТОВ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ

Г.Н. Артемов, О.Ю. Фисенко, В.Н. Стегний

Научно-исследовательский институт биологии и биофизики
Томского государственного университета, Томск, Россия, e-mail: center_cu@res.tsu.ru

Изучали последовательность ДНК района прикрепления XL-хромосомы трофоцитов яичников малярийных комаров *Anopheles messeae*. Методом микродиссекции хромосом была выделена ДНК этого района, создана библиотека клонов и определена последовательность нуклеотидов. В районе прикрепления обнаружены мобильные генетические элементы *LINE*, *LTR* и транспозоны. Проведен поиск выявленных мобильных элементов в районах прикрепления 3R-хромосомы *An. messeae* и XL-хромосомы *An. atroparvus*, а также в прицентромерном гетерохроматине хромосомы 2 *An. messeae*, которая не крепится к ядерной оболочке. Показано, что изучаемые районы различаются по набору мобильных элементов. В некоторых клонах, содержащих мобильные элементы, локализованы SAR/MAR и ДНК ядерной ламины. Предполагается, что формирование района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* могло быть связано с переносом мобильными элементами последовательностей ДНК, взаимодействующих с ядерной оболочкой.

Ключевые слова: мобильные генетические элементы, районы прикрепления хромосом, гетерохроматин, *Anopheles*.

Введение

Пространственная организация интерфазного ядра изучается уже более 125 лет и остается до сих пор актуальной проблемой (Rabl, 1885; Mora *et al.*, 2006; Meaburn *et al.*, 2007; Cremer T., Cremer M., 2010). Гены, хромосомные сегменты и геном как целое упорядочены в трехмерном пространстве ядра (Steffensen, 1977). Этот порядок обеспечивается взаимодействием хромосом с ядерной оболочкой и друг с другом (Куличков, Жимулев, 1976). У малярийных комаров *Anopheles* комплекса «*maculipennis*» в трофоцитах яичников формируются политенные хромосомы, которые образуют выраженные контакты с ядерной оболочкой (районы прикрепления, РП) (Стегний, 1979, 1993). Близкие виды малярийных комаров различаются по наличию или отсутствию РП хромосом, месту расположения этих районов на хромосоме и их морфологии. Молекулярная организация таких районов вызывает интерес, так как их последовательность ДНК или/и белковый состав обеспечивает свойство крепления к ядерным структурам.

Анализ молекулярной структуры РП хромосом необходимо проводить, сравнивая организацию РП разных хромосом и хромосом близкородственных видов. Такой подход позволит выявить общие структуры, которые обеспечивают свойство контакта хроматина с ядерной оболочкой. Работу по поиску таких структур мы решили начать с последовательности ДНК РП хромосом, так как известно, что ДНК непосредственно способна образовывать контакты с ядерной оболочкой (Rzepecki, 1998; Schirmer, Foisner, 2007). Для анализа этих районов хорошо подходит РП XL-хромосомы *An. messeae*. Из всех близкородственных видов малярийных комаров, входящих в состав комплекса «*maculipennis*», только у *An. messeae* XL-хромосома крепится к ядерной оболочке не прицентромерным районом, а районом, расположенным в середине плеча. Поэтому ДНК прицентромерных районов не будет

искажать результаты поиска специфических для районов прикрепления хромосом последовательностей ДНК. Мобильные генетические элементы (МГЭ) могут принимать непосредственное участие в формировании районов прикрепления хромосом к ядерной оболочке, так как известно, что они способны перемещать SAR/MAR (Avramova *et al.*, 1998). В настоящем исследовании определена нуклеотидная последовательность фрагментов ДНК района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae*, выявлены МГЭ и проведен поиск этих МГЭ в районах прикрепления других хромосом *An. messeae* и *An. atroparvus*.

Материалы и методы

Микродиссекция районов политенных хромосом

Микродиссекция хромосом является одним из методов исследования последовательности ДНК из интересующего участка хромосомы, когда невозможно применить иные инструменты анализа. Выделенный материал амплифицируют с использованием частично вырожденного праймера (DOP-ПЦР). Микродиссекцию районов хромосом выполняли согласно протоколу (Рубцов и др., 1999). Для проведения микродиссекции готовили давленные воздушно-сухие препараты политенных хромосом трофоцитов *An. messeae* и *An. atroparvus* по стандартной методике (Kumar *et al.*, 1997). Кончик стеклянной иглы с материалом хромосомы скалывали в 0,5 мл пробирке, содержащей 10 мМ Tris HCl, 10 мМ NaCl, 1 % SDS и 500 мкг/мл протеиназы К. Затем выделенную ДНК амплифицировали в присутствии праймера MW6 (5'-CCGACTCGAGNNNNNNATGTGG-3') последовательно в серии низкотемпературных циклов (температура отжига 30 °С) и высокотемпературных циклах (температура отжига 56 °С).

Определение нуклеотидной последовательности ДНК *An. messeae*

Для анализа нуклеотидной последовательности ДНК, полученной из района хромосомы с помощью микродиссекции, ее клонировали в плазмиде pJET 1.2/blunt (Fermentas). После лигирования и трансформации 50 нг плазмид-

ной ДНК помещали в 20 мкл секвенирующей реакции: 40 % Terminator Ready Reaction Mix (v 3.1, Applied Biosystems) и 3,2 пмоль pJet 1.2 forward. Анализ нуклеотидной последовательности проводили с помощью прибора 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems).

Анализ последовательности ДНК *in silico*

Полученные после секвенирования последовательности ДНК клонов анализировали *in silico*. Последовательность ДНК клонов проверяли на гомологию с геномами *An. gambiae* в базах данных BLASTN и TBLASTX VectorBase (www.vectorbase.org/Tools/BLAST/), *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, с видами *Drosophila* – в BLASTN EnsemblMetazoa (metazoa.ensembl.org/Anopheles_gambiae/blastview/) и FlyBase (flybase.org/blast/). Кроме того, был проведен поиск МГЭ с помощью программ RepeatMasker (www.repeatmasker.org/cgi-bin/WEBRepeatMasker/) и Censor (www.girinst.org/censor/). Полученные последовательности также анализировали на наличие тандемных повторов в Tandem Repeat Finder (tandem.bu.edu/trf/trf.html).

In situ гибридизация

Мечение ДНК проб тетраметилпродамин-5-ДУТФ проводили в 25 циклах DOP-ПЦР с праймером MW6. Осадок зонда смешивали с гибридизационной смесью. Флуоресцентную гибридизацию проводили по стандартному протоколу (Lichter *et al.*, 1990). Хроматин окрашивали с помощью DAPI. Препараты анализировали на люминесцентном микроскопе AxioImager Z1 (Zeiss), фиксацию и обработку изображений проводили с использованием программного обеспечения AxioVision Rel. 4.7 (Zeiss).

Дот-блот-гибридизация

В основе метода лежит гибридизация ДНК, иммобилизованной на мембране, с ДНК-зондом. В работе использовался биотинилированный зонд, а для детекции применяли систему, предложенную компанией Fermentas (Biotin Chromogenic Detection Kit, #K0661). В качестве зонда использовали ДНК-пробы районов прикрепления XL-хромосомы *An. atroparvus*,

3R-хромосомы *An. messeae* и прицентромерно гетерохроматина хромосомы 2 *An. messeae*. Для приготовления зонда использовали ПЦР с частично вырожденным праймером MW6. Полученные зонды гибридизовали с ДНК библиотеки клонов района прикрепления XL-хромосомы к ядерной оболочке трофоцитов *An. messeae*, которая была получена ранее (Артемов, Стегний, 2010). 50 нг ДНК клонов этого района после амплификации плазмидной ДНК наносили на положительно заряженную нитроцеллюлозную мембрану (#M1001, Fermentas). Мембрану высушивали при комнатной температуре и ДНК иммобилизовали экспозицией под ультрафиолетом в трансиллюминаторе.

Мембрану помещали в 20 мл гибридационной смеси, состоящей из 50 % формамида, 0,5 SDS, 5 × раствора Денхарда, 6 × SSC и денатурированного ДНК-зонд (200 нг/мл). Далее проводили денатурацию связанной с мембраной ДНК в водяной бане при температуре 80 °C в течение 20 мин. Гибридизация осуществлялась при температуре 37 °C 36 ч. Отмывку проводили при комнатной температуре в 2 × SSC с 0,1 % SDS дважды по 5 мин и при температуре 60 °C в 0,1 × SSC с 0,1 % SDC дважды по 20 мин. Сигнал детектировали с помощью набора Biotin chromogenic detection kit (#K0661, Fermentas) по предложенному протоколу.

Анализ результатов дот-блот-гибридизации

Анализ результатов дот-блот-гибридизации проводили в программе Adobe Photoshop CS2. Мембраны с выявленными в результате детекции пятнами сканировали на МФУ Samsung SCX-4200 с разрешением 1200 dpi. Используя инструмент «Histogram», в Adobe Photoshop CS2 оценивали яркость пятна и фона в окрестности пятна. Инструмент возвращает среднюю яркость для всех выделенных пикселей. Вычисляли отношение средней яркости пятна и средней яркости фона, т. е. относительную яркость пятна. Рассчитывали относительную яркость пятен эксперимента и контроля. В качестве порогового значения принимали относительную яркость пятна, являющегося результатом детекции 10 пг биотинилированного зонда (контроль). Если относительная яркость пятна в эксперименте была ниже порогового значения, считали, что

его яркость не отличалась от яркости фона и зонд не гибридизовался с ДНК мембраны.

Результаты и обсуждение

Микродиссекция района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* была проведена ранее (Сайджафарова и др., 2007, 2009). Из ДНК-пробы района 2b-c XL-хромосомы получена библиотека клонов в плазмидном векторе. Из 323 клонов библиотеки просеквенированы последовательности ДНК 300 клонов. Общая протяженность области, подвергшейся анализу, составила около 72 тыс. п.н. Анализ нуклеотидной последовательности позволил выявить фрагменты 4 генов. Семь клонов содержали микро- и минисателлиты (Артемов, Стегний, 2010). Однако самой представительной группой элементов в районе прикрепления XL-хромосомы *An. messeae*, судя по результатам данной работы, оказались МГЭ (табл. 1).

Анализ последовательностей клонов проводили в программах RepeatMasker и Sensor. Были обнаружены LTR-ретротранспозоны и LINE-элементы, а также транспозоны, перемещающиеся по принципу «вырезания–встройки». Распространенных в геноме *An. gambiae* элементов SINE, MITE и Helitron обнаружить не удалось, но были найдены другие МГЭ, описанные у *An. gambiae*. Обнаружено, что клоны Mes2b-c_485 и Mes2b-c_183 представляют собой LINE-элемент CR1-4_AG (семейство CR1), а Mes2b-c_414 является ретротранспозоном Outcast из той же группы. Были выявлены также LTR-ретротранспозоны Gypsy43-I_AG-int (семейство Gypsy) в фрагментах Mes2b-c_3, Mes2b-c_17, Mes2b-c_295; BEL13-I_AG (семейство BEL) в фрагментах Mes2b-c_238, Mes2b-c_291 и AGM1 во фрагменте Mes2b-c_376. Среди транспозонов, перемещающихся по принципу «вырезания–встройки», типичных для *An. gambiae*, выявлен транспозон P1_AG (гомология 92 %). Анализ в программе Sensor показал большое разнообразие МГЭ, характерных для представителей одноклеточных, позвоночных, растений и других таксонов. Для исключения возможной ошибки анализа был проведен скрининг геномов *An. gambiae*, *Drosophila melanogaster* и *Aedes aegypti* на наличие этих МГЭ в BLAST. Оказалось, что такие МГЭ действительно при-

Таблица 1

Мобильные генетические элементы (МГЭ) района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae*

Группа МГЭ	Семейство МГЭ	МГЭ	Число клонов	Гомология, %
LINE-элементы	NonLTR/L1	L1_SS, L1MC4_5end, L1_Mur2_orf2, L1MA6, L1MB3_EC, L1MB5, L1MEC_5, L1HS, L1-2_Ttr, L1MEf_5end	10	75,0–91,2
	NonLTR/CR1	L2A, CR1-4_AG	3	66,3–71,6
	NonLTR/RTE	RTE-9_SP	2	88,3; 91,2
	NonLTR/Penelope	Penelope-13_HM	1	91,2
	NonLTR/R4	EhRLE2	1	71,6
	NonLTR/Outcast	Outcast	1	73,9
LTR	LTR/Gypsy	Gypsy43-I_AG-int	3	70,2–70,8
	LTR/BEL	BEL13-I_AG	2	65,6; 71,3
	LTR	TONT1_LE_I, AGM1	2	66,7; 79,5
	ERV/ERV1	HARLEQUIN, ZFERV-2-I_DR	2	71,9; 79,6
Транспозоны	DNA/P	P1_AG	3	89,9–94,8
	DNA/EnSpm	ENSPM-6_DR, EnSpm-3_HV, EnSpm-6_VV	3	66,7–83,3
	DNA/Sola	Sola1-7_AP, Sola1-9_AP	2	71,8–91,2
	DNA/Polinton	Polinton-2_NV	1	72,41
	DNA/MuDR	MUDSOLT1	1	76,00
	DNA/hAT	CHARLIE3	1	85,71
	DNA/Chapaev	Chapaev3-2_AC	1	68,75
	piggyBac/Looper	LOOPERN2_DR	1	72,22

сутствуют в геномах этих насекомых, поэтому они были включены в анализ. Следует отметить, что в районе прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* найдены МГЭ позвоночных животных (ретротранспозоны L1 и L2A), в том числе *Homo sapiens*. В этом районе были обнаружены также ретротранспозон TONT1_LE_I и транспозоны EnSpm-3_HV, EnSpm-6_VV, MUDSOLT1, описанные у растений.

Определение нуклеотидной последовательности некоторых фрагментов ДНК района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* показало, что в данном районе много МГЭ из разных классов. Могут ли МГЭ участвовать в специфических функциях прикрепления XL-хромосомы *An. messeae*? Сравнение последовательности ДНК РП разных хромосом позволит выявить общие элементы, характеризующие эти районы. Наибольший интерес представляло сравнение последовательности районов прикрепления XL-хромосом *An. messeae* и *An. atroparvus*. По дан-

ным В.Н. Стегния (1981), *An. atroparvus* является предковым по отношению к *An. messeae*. У *An. atroparvus* район прикрепления XL-хромосомы локализуется в прицентромерном районе, а у *An. messeae* – в середине плеча (рис. 1). Вызвано ли изменение локализации районов прикрепления XL-хромосомы инверсией? Нами была проведена *in situ* гибридизация ДНК района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* с хромосомами *An. atroparvus* (рис. 2).

Оказалось, что гомологичная исследуемому району ДНК локализована в двух участках XL-хромосомы *An. atroparvus* в районе прикрепления (прицентромерная область), а другой, более яркий, – в середине плеча. Если ДНК-проба преимущественно локализуется в середине плеча и у *An. messeae*, и у *An. atroparvus*, то возникновение района прикрепления в середине плеча XL-хромосомы *An. messeae* не вызвано перемещением за счет инверсии из прицентромерного района, иначе самый яркий сигнал находился

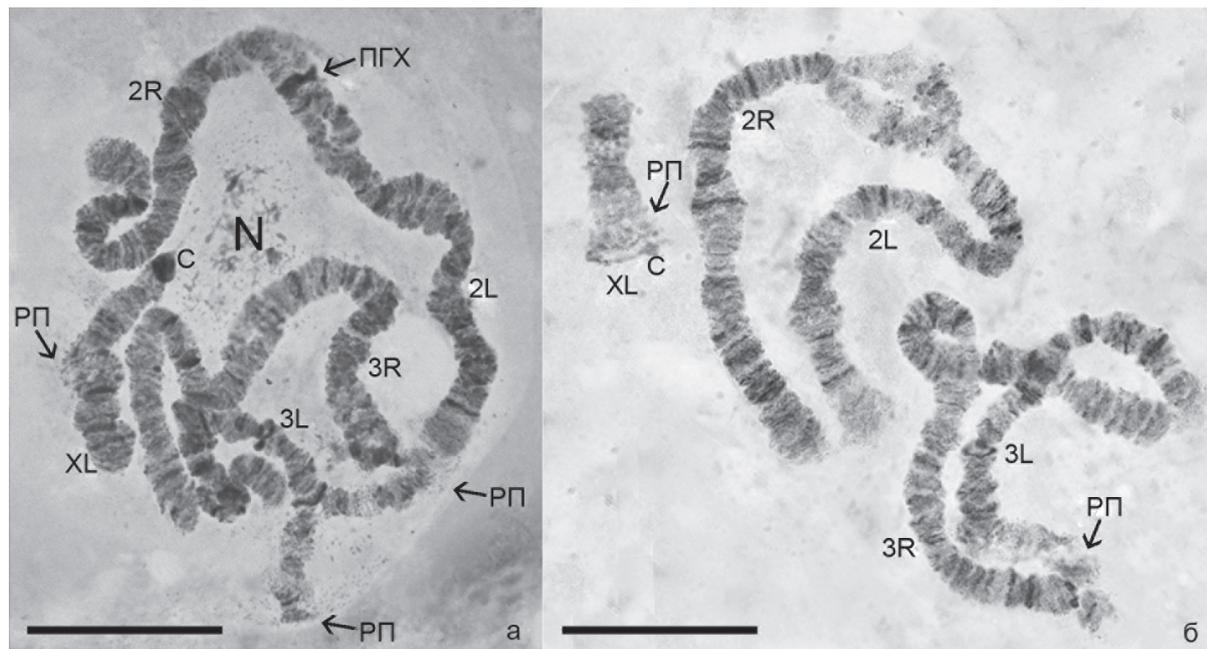


Рис. 1. Хромосомы трофоцитов яичников малярийных комаров *An. messeae* (а) и *An. atroparvus* (б).

РП – район прикрепления хромосомы к ядерной оболочке (по: Стегний, 1979), ПГХ – прицентромерный гетерохроматин, С – центромера, N – ядрышко. Масштабная линейка 20 мкм.

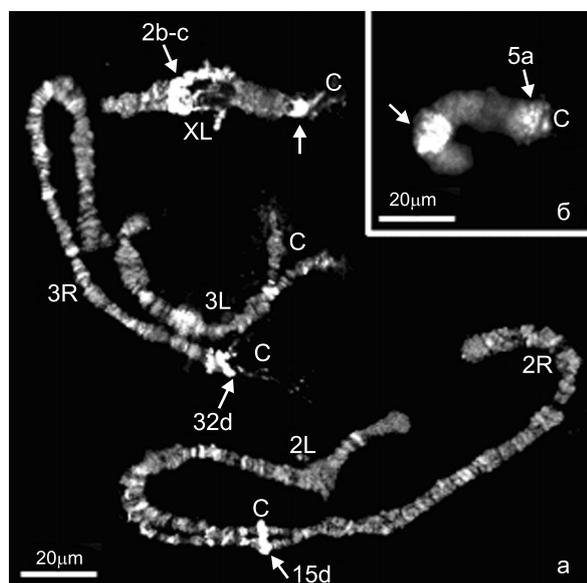


Рис. 2. Локализация ДНК района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* на политенных хромосомах трофоцитов *An. messeae* (а) и на XL-хромосоме *An. atroparvus* (б). С – центромера.

бы в районе прикрепления XL-хромосомы *An. atroparvus*. Видимо, свойство XL-хромосомы образовывать контакт с ядерной оболочкой возникло у *An. messeae* иным путем, нежели

инверсия, и связано с реорганизацией последовательностей ДНК в будущем районе прикрепления. Таким образом, интересующий нас район в XL-хромосоме *An. messeae* содержит, по крайней мере, два типа последовательностей: те, которые уже присутствовали в этом районе до реорганизации и «новые» последовательности, возникшие в результате реорганизации и обеспечивающие контакт с ядерной оболочкой. Результат *in situ* гибридизации ДНК района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* с хромосомами *An. atroparvus* и *An. messeae* показал, что ситуация еще более неоднозначная – ДНК, гомологичная исследуемому району, находилась в прицентромерных районах всех хромосом, в том числе и хромосомы 2 и XL-хромосом *An. messeae*, которые не контактируют с ядерной оболочкой (рис. 2).

Гомология ДНК района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* с прицентромерными районами хромосом и интеркалярной областью XL-хромосомы *An. atroparvus* свидетельствует о наличии в этих районах сходных последовательностей. Задача сводится к тому, чтобы разделить последовательности, участвующие в прикреплении хромосом к ядерной оболочке,

и повторы, присутствующие во всех гетерохроматических районах.

Для поиска последовательностей ДНК, которые являются общими для районов прикрепления хромосом или, напротив, отличаются от других районов, нами было проведено сравнение ДНК библиотеки района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* с последовательностями районов прикрепления хромосом 3 *An. messeae* и XL *An. atroparvus* и прицентромерного гетерохроматина хромосомы 2 *An. messeae* методом дот-блот-гибридизации.

Микродиссекция районов прикрепления 3R-хромосомы, а также района прикрепления XL-хромосомы *An. atroparvus* была проведена ранее (Артемов, Стегний, 2010). В данной работе с помощью микродиссекции были получены ДНК-пробы прицентромерного гетерохроматина хромосомы 2 *An. messeae* (рис. 1, а).

Дот-блот-гибридизация позволила выяснить, какие именно последовательности содержатся в сравниваемых районах. Результат поиска МГЭ в районах хромосом представлен на рис. 3.

МГЭ, обнаруженные в результате анализа, можно условно разделить на три группы. Первая группа содержит МГЭ, локализованные во всех исследуемых районах (L1MEf_5end, L1HS). Вторая группа включает МГЭ, обнаруженные только в районах прикрепления хромосом (L1MC4_5end, Sola1-7_AP). Третья группа, довольно большая, включает в себя прочие МГЭ, встречающиеся только в районах прикрепления XL-хромосом *An. messeae* и *An. atroparvus*. Следует отметить также те МГЭ, которые не входят ни в одну из выделенных групп, но указаны в табл. 1. Эти МГЭ представляют собой специфичные последовательности, принадлежащие только РП XL-хромосомы *An. messeae*. Остается неясным, являются ли они участниками взаимодействия хромосомы со структурами ядра.

Определить, содержатся ли в библиотеке клоны, включающие и фрагменты МГЭ, и участки, хотя бы потенциально способные взаимодействовать с белками внутриядерных структур, можно, проанализировав их последовательности в программе ChrClass (Rogozin, 1999). Данная программа позволяет в анализируемой последовательности предсказывать SAR/MAR и находить элементы, гомологичные

ДНК, выделенной из ядерного матрикса, синаптонемного комплекса, сердцевин розеткоподобных структур и ядерной ламины (Glazkov *et al.*, 1998).

Анализ библиотеки клонов в ChrClass показал, что 6 клонов содержат и МГЭ (Gypsy43-I_AG-int, Sola1-9_AP, L1MEC_5, EhRLE2, EnSpm-3_HV, L1_SS) и SAR/MAR, а 5 клонов – МГЭ (Gypsy43-I_AG-int, L1MEC_5, HARLEQUIN, L1_SS, CR1-4_AG) и ДНК ядерной ламины. Ретро-транспозоны L1MEC_5, HARLEQUIN, EhRLE2, L1_SS, CR1-4_AG присутствуют только в районе прикрепления XL-хромосомы *An. messeae*. LTR-ретротранспозон Gypsy43-I_AG и транспозон EnSpm-3_HV обнаружены только в районах прикрепления XL-хромосом *An. messeae* и *An. atroparvus*. Транспозон Sola1-9_AP найден в районах прикрепления XL-хромосом *An. messeae* и *An. atroparvus*, а также 3R-хромосомы *An. messeae*.

Клоны, содержащие ретро-транспозоны L1HS и L1MEf_5end, которые были обнаружены во всех анализируемых районах включая прицентромерный гетерохроматин хромосомы 2, по результатам анализа в ChrClass не имели SAR/MAR и ДНК ядерной ламины. Только клон, содержащий ретро-транспозон L1HS, оказался гомологичен ДНК ядерного матрикса.

Для нашей работы наиболее интересными являются ретро-транспозон Gypsy43-I_AG и транспозоны EnSpm-3_HV и Sola1-9_AP, которые были обнаружены только в РП XL- и 3R-хромосом *An. messeae* и *An. atroparvus* и содержат SAR/MAR и ДНК ядерной ламины (только Gypsy43-I_AG). Эти МГЭ характеризуют только районы прикрепления и могут претендовать на участие во взаимодействии с оболочкой ядра.

Заключение

Опираясь на данные литературы и результаты настоящего исследования, мы можем выдвинуть гипотезу об организации ДНК в районах прикрепления хромосом к ядерной оболочке и возникновении таких районов. Районы прикреплений хромосом к ядерной оболочке у малярийных комаров являются гетерохроматическими, содержат повторенные последовательности, основную часть которых представляют МГЭ. Некоторые МГЭ района прикрепления

РП XL <i>An. messeae</i>	РП XL <i>An. atroparvus</i>	РП 3R <i>An. messeae</i>	ПГХ 2L <i>An. messeae</i>	РП XL <i>An. messeae</i>	РП XL <i>An. atroparvus</i>	РП 3R <i>An. messeae</i>	ПГХ 2L <i>An. messeae</i>
BEL13-I_AG				L1MC4_5end			
Gypsy43-I_AG-int				MUDSOLT1			
ERV3				RTE-9_SP			
Sola1-9_AP				L1-2_Ttr			
ZFERV-2-I_DR				Outcast			
EnSpm-6_VV				L1MEf_5end			
L1MB5				EnSpm-3_HV			
L1HS				TONT1_LE_I			
EnSpm-3_HV/ Chapaev3-2_AC				L2A			
Penelope-13_HM				L1_Mur2_orf2			
L1MA6				Sola1-7_AP			

Рис. 3. Локализация МГЭ в районах прикрепления 3R-хромосомы *An. messeae*, XL-хромосомы *An. atroparvus* и прицентромерном гетерохроматине хромосомы 2 *An. messeae*.

РП – район прикрепления хромосом к ядерной оболочке, ПГХ – прицентромерный гетерохроматин.

XL-хромосомы *An. messeae* расположены во всех гетерохроматических районах, некоторые только в РП хромосом, многие только в РП XL-хромосом *An. messeae* и *An. atroparvus* и большинство – в РП XL хромосомы *An. messeae*. Некоторые МГЭ, общие для районов прикрепления хромосом малярийных комаров, содержат SAR/MAR и ДНК ядерной ламины. Мы можем предположить, что появление в РП XL-хромосомы *An. messeae* МГЭ, содержащих такие

последовательности, могло произойти путем их перемещения из РП XL-хромосомы, расположенного у предкового вида в прицентромерной области, или из РП 3R-хромосомы. При этом наиболее перспективными, на наш взгляд, являются транспозоны, так как они перемещаются из одного района хромосомы в другой. Прицентромерный район XL-хромосомы при этом теряет свою функцию прикрепления, тогда как она возникает в новом районе – куда пере-

местились транспозоны, несущие SAR/MAR. Полученные в данной работе данные являются перспективными для прояснения вопроса о пространственной организации интерфазного ядра в клетках генеративной системы малярийных комаров. Однако эти результаты недостаточны для формирования окончательных выводов по проблеме формирования районов прикрепления хромосом к ядерной оболочке, которая требует дальнейших исследований.

Авторы выражают благодарность канд. биол. наук Н.В. Храбровой, канд. биол. наук Т.В. Карамышевой, д-ру биол. наук Н.Б. Рубцову.

Работа была выполнена при поддержке грантов ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» 2009–2013 гг. (ГК № П 1702, ГК № П 801), РФФИ № 10-04-01059.

Литература

- Артемов Г.Н., Стегний В.Н. Молекулярно-генетический анализ районов прикрепления хромосом к оболочке ядра трофоцитов яичников малярийных комаров *Anopheles* комплекса *maculipennis* // Вест. Томского гос. ун-та. 2010. № 2. С. 123–131.
- Куличков В.А., Жимулев И.Ф. Анализ пространственной организации геномов *Drosophila melanogaster* на основе данных по эктопической конъюгации политенных хромосом // Генетика. 1976. Т. 12. № 5. С. 81–89.
- Рубцов Н.Б., Алексеенко А.А., Беляева Е.С. и др. Микроклонирование и характеристика ДНК из районов прицентромерного гетерохроматина политенных хромосом *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1999. Т. 35. № 1. С. 55–61.
- Сайджафарова А.О., Артемов Г.Н., Карамышева Т.В. и др. Молекулярно-цитогенетическое изучение ДНК прицентромерного гетерохроматина хромосомы 2L у малярийного комара *Anopheles beklemishevi* (Culicidae, Diptera) // Генетика. 2009. Т. 45. № 1. С. 59–63.
- Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосибир. ун-та, 1993. 111 с.
- Стегний В.Н. Генетические основы эволюции малярийных комаров. I. Хромосомные филогенетические связи // Зоол. журнал. 1981. Т. 60. Вып. 1. С. 69–77.
- Стегний В.Н. Реорганизация структуры интерфазных ядер в онто- и филогенезе малярийных комаров // Докл. АН СССР. 1979. Т. 249. № 5. С. 1231–1234.
- Avramova Z., Tikhonov A., Mingsheng C. *et al.* Matrix attachment regions and structural colinearity in the genomes of two grass species // Nucl. Acids Res. 1998. N 26. P. 761–767.
- Cremer T., Cremer M. Chromosome territories // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. N 2. P. 1–22.
- Glazkov M.V., Rogozin I.B., Glazko G.V. Comparison of the chromosomal DNA fragments from nuclear lamina, cores of rosette-like structures (elementary chromomers), MARs/SARs and synaptonemal complexes based on simple nucleotide motifs // Mol. Biol. (Mosk). 1998. V. 32. P. 883–894.
- Kumar V., Cornel A. J., Mukabayire O. *In situ* hybridization to *Anopheles* polytene chromosomes // Molecular Biology of Insect Disease Vectors: A Methods Manual. London: Chapman and Hall, 1997. P. 337–345.
- Lichter P., Ledbetter S.A., Ledbetter D.H., Ward D.C. Fluorescence *in situ* hybridization with Alu and L1 polymerase chain reaction probes for rapid characterization of human chromosomes in hybrid cell lines // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. N 17. P. 6634–6638.
- Meaburn K.J., Misteli T., Soutoglou E. Spatial genome organization in the formation of chromosomal translocations // Seminars in Cancer Biol. 2007. V. 17. P. 80–90.
- Mora L., Sánchez I., Garcia M. *et al.* Chromosome territory positioning of conserved homologous chromosomes in different primate species // Chromosoma. 2006. V. 115. P. 367–375.
- Rogozin I.B., Glazko G.V., Glazkov M.V. Computer prediction of sites associated with various elements of the nuclear matrix // Briefings in Bioinformatics. 1999. V. 1. N 1. P. 33–44.
- Rzepecki R., Bogachev S.S., Kokoza E. *et al.* *In vivo* association of lamins with nucleic acids in *Drosophila melanogaster* // J. Cell Sci. 1998. V. 111. P. 121–129.
- Schirmer E.C., Foisner R. Proteins that associate with lamins: Many faces, many functions // Exptl Cell Res. 2007. V. 313. P. 2167–2179.
- Steffensen D.M. Chromosome architecture and the interphase nucleus: Data and theory on the mechanism differentiation and determination // Chromosomes Today. Amsterdam: Elsevier, 1977. V. 6. P. 247–253.

**TRANSPOSABLE ELEMENTS IN THE REGIONS
OF CHROMOSOME ATTACHMENT TO THE NUCLEAR ENVELOPE
IN NURSE CELLS OF MALARIA MOSQUITOES**

G.N. Artemov, O.Yu. Fisenko, V.N. Stegny

Research Institute of Biology and Biophysics, Tomsk State University, Tomsk, Russia,
e-mail: center_cu@res.tsu.ru

Summary

The DNA sequence of the nuclear envelope attachment region of nurse cell XL chromosome has been investigated in *Anopheles messeae* malaria mosquitoes. The DNA of this region has been isolated by the microdissection technique and used for the construction of a clone library followed by sequencing. Various transposable elements are present in the attachment region: LINE retrotransposons, LTR retrotransposons and transposons. A search for these transposable elements has been performed in other chromosome regions: the 3R chromosome attachment region of *An. messeae*, XL chromosome attachment region of *An. atroparvus*, and chromosome 2 pericentric heterochromatin of *An. messeae* with no connection to the nuclear envelope. The investigated chromosome regions have different transposable element patterns. Some DNA clones contain transposable elements, SAR/MAR, and/or nuclear lamina DNA. We suppose that the attachment region formation in XL chromosome of *An. messeae* resulted from TE-mediated transposition of specific DNA sequences connected with the nuclear envelope.

Key words: transposable elements, chromosome attachment regions, heterochromatin, *Anopheles*.