

Распределение транскриптов прицентромерной tandemно повторяющейся ДНК и белков-регуляторов в преовуляторных ооцитах человека

Научный руководитель – Енукашвили Натэлла Иосифовна

Добрынин М.А.¹, Гладышева Ю.Е.²

1 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: dobrmakl555@mail.ru*; 2 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: gladyshevajulia@mail.ru*

Особое место в геноме занимает некодирующая ДНК. Ее основой являются различные типы повторяющихся последовательностей ДНК, составляющие до 90% генома эукариот. Показан феномен транскрипционной активности tandemно повторяющейся (ТП) ДНК. Известно, что транскрипты ТП ДНК участвуют в развитии эмбриона доимплантационных стадий. Однако, неизвестно, накапливаются ли в течение оогенеза эти транскрипты, либо они экспрессируются заново уже в эмбрионе. Также неизвестны пути взаимодействия транскриптов ТП ДНК и белков регуляторов, таких как РНК-хеликаза р68 (DDX5).

Цель работы - проверить наличие транскриптов прицентромерной ТП ДНК и их белков-регуляторов в преовуляторных ооцитах человека. Распределение прицентромерного ТП, сателлита 3 человека (HS3), его транскриптов и DDX5 в ядрах преовуляторных ооцитов человека на стадиях GV (germinal vesicle) и MI (метафаза I мейоза) исследовали с помощью методов ДНК-ДНК, РНК-ДНК флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и иммуноFISH, соответственно. Преовуляторные ооциты человека получали от доноров. Клетки на данных стадиях не хранятся в банке донорских ооцитов и были переданы для исследований. Информированное согласие доноров, а также разрешение этического комитета получено.

ДНК HS3 на стадии GV ооцита обнаруживается как часть кольца высококонденсированного гетерохроматина в составе инвертированной кариосферы. На стадии MI HS3 сателлит локализуется на большинстве хромосом в перичентромерных областях за исключением 2,6,8,11,12,18,19 и X хромосомы.

В условиях РНК-ДНК FISH, транскрипт HS3 на стадии GV и MI ооцита выявлен в ооплазме в составе гранул диаметром около 1 мкм, которые слабо окрашиваются DAPI, что характерно для РНК.

В ходе иммуноFISH GV и MI ооцита транскрипт HS3 колокализуется с меткой AT к DDX5 в составе гранул в ооплазме. Таким образом, в цитоплазме преовуляторных ооцитов человека, присутствуют скопления транскрипта HS3, колокализованные с DDX5.

Мы установили, что на заключительных этапах оогенеза человека, транскрипты HS3, колокализованные с белком-регулятором DDX5, выявляются в материнской цитоплазме. По-видимому, происходит процесс депонирования материнских РНК и белков перед началом эмбриогенеза. Работа поддержана Российским научным фондом (грант 15-15-20026).