

Тандемно повторяющаяся перицентромерная ДНК человека транскрибируется в созревающих ооцитах человека и связана с безмембранными структурами

Научный руководитель – Енукашвили Натэлла Иосифовна

Добрынин М.А.¹, Корчагина Н.М.²

1 - Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: dobrmakl555@mail.ru*; 2 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: marilyn@gmail.com*

Большая часть генома человека представлена некодирующими последовательностями. Перицентромерная тандемно повторяющаяся ДНК (периТП ДНК) составляет примерно 10% генома человека. ПериТП ДНК включает в себя классические человеческие сателлиты 1, 2, 3 (HS1, HS2, HS3), которые транскрибируются в соматических клетках. Подобные транскрипты также обнаруживаются в эмбрионах до и после имплантации. Ранее в нашей лаборатории показано наличие транскриптов HS2,3 в позднем оогенезе человека. Цель этой работы - анализ пространственно временной организации транскрипции HS2/3 в созревающих ооцитах человека.

Преовуляторные (GV и MI) ооциты человека получали в циклах стимуляции доноров. Клетки на данных стадиях не хранятся в банке донорских ооцитов и были переданы для исследований. Информированное согласие доноров, а также разрешение этического комитета клиники получено. Распределение HS2/3, их транскриптов, а также хеликаз DDX5 и DDX4 в созревающих ооцитах человека исследовали с помощью методов ДНК-ДНК и ДНК-РНК FISH и иммуно-FISH. Двойное иммуноокрашивание было использовано для изучения пространственной взаимосвязи хеликаз и рецептора транслоказы наружной митохондриальной мембраны (Tom 20). Присутствие транскриптов HS2,3 в транскриптом проверяли с помощью методов биоинформатного анализа опубликованных транскриптомов здоровых доноров. Количественную оценку транскрипции HS 2/3 проводили с помощью РТ-ПЦР.

Материнские транскрипты HS2/3, транскрибируемые с обеих цепей ДНК, накапливались в ооплазме ооцитов при переходе от стадии GV к стадии MI. С помощью РТ-ПЦР выявлено более высокое содержание РНК HS2/3 в ооцитах GV, по сравнению с соматическими кумулюсными клетками. Методами биоинформатики продемонстрировано присутствие полиаденилированных РНК HS2/3 в транскриптах ооцитов GV и MI. При этом в большинстве проанализированных пар транскриптомов (ооцитов стадий GV и MI от одного донора), содержание транскриптов в MI ооцитах превышало количество в GV. Транскрипты обладали высокой степенью гомологии с РНК HS2/3, ранее обнаруженными в раковых клетках. Основным местом локализации транскриптов HS2/3 являлись безмембранные РНП структуры, содержащих DEAD-бокс-геликазы DDX5 и DDX4. Найденные РНП располагались вблизи митохондрий и поэтому имели сходство с безмембранными тельцами, описанными ранее только в оогониях. Эти безмембранные структуры могут быть местом пространственной секвестрации РНК и белков в созревающих ооцитах.

Работа поддержана грантом РФФИ (№19-74-20102). Выражаем благодарность коллективу клиники репродукции «Скандинавия АВА-ПЕТЕР». Особая благодарность А.С. Калугиной.