

Распределение ламина А/С и TRF2 в постовуляторных ооцитах и зиготе мышы

Научный руководитель – Башенджиева Екатерина Очировна

Башенджиева Е.О.¹, Добрынин М.А.²

1 - Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: bashendjieva@yandex.ru*; 2 - Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: dobrmakl555@mail.ru*

В конце оогенеза многие белки и мРНК либо распадаются, либо заключаются в безмембранные биоконденсаты. У млекопитающих во время созревания ооцита формируется характерная внутриклеточная безмембранная структура - постядрышко, которое разбирается на стадии МII и, вероятно, связано со структурой в зиготе, называемой предядрышковым тельцем. Обе эти структуры окружены гетерохроматином, включая центромерные и теломерные участки. В ооците постядрышко, окружающий его гетерохроматин и комплекс прилегающих ядерных телец (интерхроматиновых гранул) образуют сложную структуру. Судьба белковых компонентов этой структуры после разборки ядра мало изучена. Неизвестно, какие компоненты сохраняются в ооците и передаются в зиготу, а какие - разрушаются в конце оогенеза. Ранее в нашей лаборатории показали присутствие в постядрышке мышы белка ядерной ламина ламина А/С и теломерного белка TRF2.

Цель работы: исследовать распределение в постовуляторном МII ооците и зиготе белка ядерной оболочки ламина А/С, теломерного белка TRF2 и фактора сплайсинга SC35 (маркера интерхроматиновых гранул).

Исследования проводили на самках мышей в возрасте 6-8 недель, индуцируя овуляцию с использованием стандартных протоколов. Ооциты МII (n = 15) вымывали из яйцеводов через 18 часов после инъекции хорионического гонадотропина человека. Зиготы (n = 10) вымывали из яйцеводов через 18 часов после подсадки. Внутриклеточную локализацию белков изучали с помощью иммуоцитохимического анализа. Для этого использовались антитела мышы: против ламина А/С; против TRF2; и против SC35, а также конъюгированные с флюорохромом соответствующие вторые антитела.

В МII ооцитах АТ к SC35 окрашивали отдельные кластеры размером до 4 мкм. Гранулы белка Lamin A/C в ооцитах были равномерно распределены по клетке, но преимущественно около метафазной пластинки. В зиготе сигнал от SC35 представляет собой кластеры от 0,5 до 1,5 мкм, равномерно распределенные по клетке. Концентрация же белка Lamin A/C наиболее выражена в районе пронуклеусов, размер кластеров от 0,5 до 1,5 мкм.

Гранулы белка TRF2 размером от 0,5 до 1 мкм были диффузно локализованы по всей ооплазме ПО, ассоциаций с теломерными концами хромосом не наблюдалось. Подобные результаты наблюдались и в зиготе.

Вывод: Таким образом, исследованные белки обнаруживаются в постовуляторных МII ооцитах мышы и зиготе до начала активации генома. Мы предполагаем, что данные белки, участвующие в построении ядерной оболочки (Ламин А/С), прикреплении теломер к оболочке (TRF2) и формировании кластеров интерхроматиновых гранул (SC35), аккумулируются в ооплазме зрелого ооцита, и впоследствии материнский запас этих белков активируется после оплодотворения.

В заключении я хотела бы выразить благодарность Енукашвили Натэлле Иосифовне за руководство в работе, а также зав. лаборатории «Некодирующей ДНК», Подгорной Ольге Игоревне, за оказанную помощь и поддержку. Работа поддержана грантом РФФ №19-74-20102.