

ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 575.2:575.8:576.875.771

Г.Н. Артемов, В.Н. Стегний

Биологический институт Томского государственного университета (г. Томск)

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАЙОНОВ ПРИКРЕПЛЕНИЯ ХРОМОСОМ К ОБОЛОЧКЕ ЯДРА ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ *ANOPHELES* КОМПЛЕКСА *MACULIPENNIS*

Работа проведена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» 2009–2013 гг. (ГК № ГК 1702).

*С помощью микродиссекции политенных хромосом была выделена ДНК района прикрепления XL хромосомы к оболочке ядра трофоцитов яичников *Anopheles messeae* Fall. (района 2b-c), получена библиотека клонов в плазмидном векторе и проведен анализ первичной последовательности ДНК этого района. Анализ нуклеотидной последовательности ДНК показал, что район 2b-c содержит мобильные элементы, тандемные повторы и гены. Проведен поиск общих последовательностей ДНК, характерных для районов прикрепления хромосом XL и 3R *An. messeae*, а также XL *An. atroparvus* van Thiel. Большая часть этих последовательностей, способна связывать белки ядерного матрикса. Полученные результаты необходимы для оценки роли последовательности ДНК в реорганизации архитектуры хромосом в ядрах трофоцитов малярийных комаров в процессе видообразования.*

Ключевые слова: *Anopheles*; пространственная организация ядра; политенные хромосомы; мобильные элементы; повторенные последовательности ДНК.

Проблема организации генома в пространстве ядра в настоящее время является чрезвычайно актуальной. Выделяют три иерархических уровня контроля генетической экспрессии – последовательность ДНК, структуру хроматина и внутриядерную организацию генетического материала [1, 2].

Контроль экспрессии генов на первом уровне довольно хорошо изучен – он связан с работой цис-регуляторных элементов, таких как промоторы, энхансеры, сайленсеры, и транс-регуляторных факторов, включающих ДНК-связывающие транскрипционные факторы и аппарат транскрипции. Второй уровень регуляции генетической экспрессии связан с представлениями о нуклеосомном коде, когда, главным образом, посттрансляционные модификации гистонов определяют транскрипционный статус последовательности ДНК. Наиболее сложная система контроля работы генома осуществляется на третьем уровне.

Оказывается, что все процессы в ядре происходят в определенной области ядра. Так, было отмечено, что гетерохроматин, который представляет собой в

основном повторенные последовательности, небольшое количество генов либо участки генома, в которых транскрипция репрессирована, локализован, прежде всего, на периферии ядра, в то время как активно экспрессирующиеся участки расположены в центре ядра [3]. Позиционирование хромосом в пространстве ядра происходит за счет взаимодействия хроматина с белками ядерного матрикса и, прежде всего, с белками ядерной ламины, которая расположена между внутренней ядерной мембраной и периферическим хроматином. В состав ядерной ламины входят фибриллярные белки – ламины и белки внутри ядерной мембраны, которые с ними ассоциированы [4]. С этими белками взаимодействуют как белки хроматина, так и ДНК. За контакт с белками ядерного матрикса отвечают последовательности SAR/MAR (scaffold associated region/matrix attached region) [5].

Изучение районов хромосом, осуществляющих контакт с ядерной оболочкой, имеет большое значение, т.к. неизвестны механизмы формирования их организации в пространстве в разных тканях и у разных видов. Интересным объектом для исследования районов прикрепления хромосом к ядерной оболочке являются малярийные комары *Anopheles* комплекса *maculipennis*. В клетках слюнных желез, мальпигиевых сосудов, трофоцитов яичников этих насекомых формируются политенные хромосомы.

Ранее было отмечено [6], что близкородственные виды малярийных комаров комплекса *maculipennis* отличаются по пространственной организации хромосом в ядрах трофоцитов, а именно – по наличию либо отсутствию контактов с оболочкой ядра, районам локализации этих контактов на хромосомах и морфологическим особенностям районов прикрепления. Так, например, у *An. messeae* Fall. X-хромосома взаимодействует с ядерной оболочкой районом 2b-c, который находится в середине плеча, хромосома 2 не образует контакта с ядерной оболочкой, а хромосома 3 крепится к оболочке ядра прицентромерным районом. Пространственная организация хромосом *An. atroparvus* van Thiel. отличается от *An. messeae* только по X-хромосоме, которая образует контакт с оболочкой ядра прицентромерным районом. Следует отметить, что несмотря на сходство взаимоотношения хромосом 2 и 3 с ядерной оболочкой, у этих видов морфологические особенности районов прикрепления являются специфичными.

Целью настоящего исследования было определить первичную последовательность ДНК района прикрепления XL-хромосомы *An. messeae* (района 2b-c), а также провести сравнительный анализ этой последовательности с последовательностями ДНК районов прикрепления хромосом 3R *An. messeae* (района 32d) и XL *An. atroparvus* (района 5a). Результаты данной работы позволят определить последовательности ДНК, которые характеризуют районы прикрепления, а также выявить межвидовые особенности и различия последовательностей этих районов разных хромосом одного вида.

Материалы и методы исследования

Микродиссекция хромосом. В качестве материала для исследования использовали малярийных комаров *Anopheles* комплекса *maculipennis*. Самки

An. messeae были собраны в природных популяциях, а самки *An. atroparvus* были взяты из лабораторной культуры. Препараты готовили по стандартной методике [7]. Проводили микродиссекцию трех районов политенных хромосом – района 2b-с XL-хромосомы *An. messeae* (рис. 1, А), 5a XL *An. atroparvus* (рис. 1, Б) и 32d *An. messeae* (рис. 1, В) – как описано в [8].

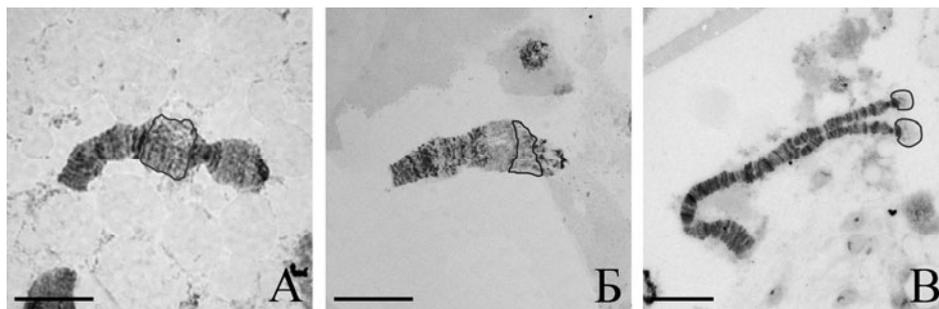


Рис. 1. Хромосомы XL *An. messeae* (А), XL *An. atroparvus* (Б), 3R *An. messeae* (В): контуром выделены микродиссектированные районы 2b-с *An. messeae*, 5a *An. atroparvus* и 32d *An. messeae*; масштабная линейка 20 мкм

Получение библиотеки клонов ДНК района 2b-с *An. messeae* в плазмиде pJET 1.2/blunt. Библиотеку клонов ДНК района 2b-с *An. messeae* получали в плазмиде pJET 1.2/blunt с использованием наборов реактивов CloneJet PCR Cloning Kit (Fermentas), TransformAid Bacterial Transformation Kit (Fermentas), GeneJet Plasmid Miniprep Kit (Fermentas) согласно предложенным протоколам. Было получено 485 колоний *E. coli* несущих плазмиды со встройками, и выделено 323 образца плазмидной ДНК.

Определение первичной последовательности ДНК района 2b-с *An. messeae*. Определение первичной последовательности в настоящей работе осуществляли с помощью четырехкапиллярного автоматического анализатора 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems). Была получена первичная последовательность для 300 фрагментов ДНК изучаемого района.

Анализ последовательности ДНК района 2b-с *An. messeae* in silico. Полученные после секвенирования последовательности ДНК клонов анализировали *in silico*. Последовательность клонов проверяли на гомологию с геномами *An. gambiae* в TBLASTX VectorBase (vectorbase.org/Tools/BLAST/), с геномами видов *Drosophila* в BLASTN Ensembl Metazoa (metazoan.ensembl.org/Anopheles_gambiae/blastview/) и FlyBase (flybase.org/blast). Кроме того, был проведен поиск мобильных генетических элементов (МГЭ) с помощью программ RepeatMasker (repeatmasker.org/cgibin/WEBRepeatMasker) и Censor (girinst.org/censor). Полученные последовательности анализировали на наличие тандемных повторов в TandemRepeatsFinder (tandem.bu.edu/trf/trf.html). Была проведена оценка фрагментов на потенциальное сродство с белками ядра с использованием программы ChrClass [9].

Дот-блот-гибридизация ДНК проб районов 32d *An. messeae* и 5a *An. atroparvus* с библиотекой клонов района 2b-с *An. messeae*. Для приготовления

ния зонда использовали реакцию ник-трансляции в присутствии биотин-11-дУТФ. Около 50 нг ДНК клонов библиотеки района 2b-с *An. messeae* после амплификации плазмидной ДНК наносили на положительно заряженную нитроцеллюлозную мембрану (Fermentas). Гибридизацию, отмывку и детекцию проводили с помощью Biotin detection kit (Fermentas) по предложенному протоколу.

Результаты исследования и обсуждение

Общая протяженность области, первичная последовательность которой около 72 тыс. п. н. 58% АТ-пар нуклеотидов, позволяет утверждать, что район 2b-с представляют АТ-богатые последовательности. Последовательность ДНК этого района анализировали на предмет МГЭ, tandemных повторов и генов. В изучаемом районе были выявлены все классы нуклеотидных последовательностей. Tandemных повторов обнаружено мало (табл. 1). Среди них выявлены микросателлиты (Mes2b-с_273, Mes2b-с_426, Mes2b-с_430) и минисателлиты (Mes2b-с_2, Mes2b-с_157, Mes2b-с_229, Mes2b-с_273, Mes2b-с_353) с небольшим числом копий.

Таблица 1

Тандемные повторы района 2b-с *An. messeae*

Клон 2b-с <i>An. messeae</i>	Последовательность консенсуса	Длина консенсуса	Число повторов
Mes2b-с_2	AGGAAGAAAACAG	13	2
Mes2b-с_157	TTATGATGAAAAAG	14	1,9
Mes2b-с_229	GAAGTATGAAAGA	13	3,8
Mes2b-с_273	AAAG	4	8,8
Mes2b-с_353	TTTTGTTTTGTTTGG	15	1,9
Mes2b-с_426	TAC	3	40,7
Mes2b-с_430	TC	2	13,5

Сателлитов обнаружить не удалось, видимо, по той причине, что анализу подвергались фрагменты, по длине не превышающие в среднем 250 п. н. Следует обратить внимание, что tandemные повторы, которые входят в состав клонов Mes2b-с_2, Mes2b-с_157, Mes2b-с_175, Mes2b-с_229 и Mes2b-с_273, имеют мотивы AAG/AAAG/AAAAG/AAAAAG. Эти мотивы гомологичны консенсусу AAAAG, описанному для ДНК ядерной ламины гепатоцитов мыши [10].

Анализ показал большое разнообразие МГЭ в районе 2b-с *An. messeae* (табл. 2). Были обнаружены LTR-ретротранспозоны и LINE-элементы, а также транспозоны, однако SINE, MITE и гелитроны в районе 2b-с не найдены. Были выявлены МГЭ, характерные для *An. gambiae*, а также МГЭ, описанные у представителей одноклеточных, позвоночных, растений и других таксонов. Эти МГЭ имеют довольно низкий процент дивергенции с обнаруженными у *An. messeae* даже по сравнению с МГЭ семейства Gypsy *An. gambiae*.

Поиск уникальных последовательностей в районе 2b-с *An. messeae* позволил выявить пять генов (табл. 3). Найденные уникальные последовательности

оказались гомологичны генам *An. gambiae*, функция которых неизвестна. Однако для большинства генов были определены ортологи у *D. melanogaster*.

Т а б л и ц а 2

Мобильные элементы района 2b-с XL хромосомы *An. messeae*

	Семейство МГЭ	МГЭ/организм	Гомология, %
LINE	L1	L1_SS, L1MC4_5end, L1_Mur2_orf2, L1MA6, L1MB3_EC, L1MB	75–91
	CR1	L2A/Eutheria; CR1-4 AG/<i>Anopheles gambiae</i>	66–71
	RTE	RTE-9 SP/ <i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	88; 91
	Penelope	Penelope-13 HM/ <i>Hydra magnipapillata</i>	91
	R4	EhRLE2/ <i>Entamoeba histolytica</i>	72
	Outcast	Outcast/<i>Anopheles gambiae</i>	74
LTR	LTR/Gypsy	Gypsy43-I AG-int/<i>Anopheles gambiae</i>	70
	LTR/BEL	BEL13-I AG/<i>Anopheles gambiae</i>	65; 71
	LTR	TONT1_LE_I/ <i>Solanum lycopersicum</i> ; AGM1/<i>Anopheles gambiae</i>	79; 67
	ERV/ERV1	HARLEQUIN, ZFERV-2-I DR/Chordata	72; 80
Транспозоны	EnSpm	EnSpm-3 HV/Triticeae, EnSpm-6 VV/ <i>Vitis vinifera</i>	67–83
	DNA/P	P1 AG/<i>Anopheles gambiae</i>	89–94
	Sola	Sola1-7 AP, Sola1-9 AP/ <i>Acyrtosiphon pisum</i>	91; 72
	Polinton	Polinton-2 NV/ <i>Nematostella vectensis</i>	72
	MuDR	MUDSOLT1/ <i>Solanum tuberosum</i>	76
	hAT	CHARLIE3/Eutheria	86
	Chapaev	Chapaev3-2 AC/ <i>Oryzias latipes</i>	69
	piggyBac/Looper	LOOPERN2 DR/ <i>Danio rerio</i>	72

Примечание. Жирным шрифтом выделены МГЭ, описанные у *An. gambiae*.

Т а б л и ц а 3

Генетический состав района 2b-с *An. messeae*

Клон 2b-с <i>An. messeae</i>	Гомолог у <i>An. gambiae</i>			Ортолог у <i>D. melanogaster</i>
	Ген	E-value	Хромосома/район	
Mes2b-с_144	AAGAP000357	5,5e-07	XL/3B	–
Mes2b-с_198	AAGAP006662	2e-10	2L/25D	CG3165
Mes2b-с_255	AAGAP001531	3e-23	2R/8B	CG6125
Mes2b-с_263	AAGAP005897	3e-04	2L/23C	CG5087
Mes2b-с_425	AAGAP000621	2e-47	X/1C, X/5D	CG3108

Примечание. E-value – вероятность случайной гомологии.

С целью поиска последовательностей гомологичных для районов прикрепления хромосом *An. messeae* был проведен скрининг библиотеки клонов района 2b-с *An. messeae* с использованием ДНК района прикрепления хромосомы 3R *An. messeae* (район 32d). В результате эксперимента было показано, что общими для районов 2b-с и 32d *An. messeae* являются последовательности МГЭ типа DOC6_DM, ретротранспозоны семейств L1 и Egv (табл. 4). Последовательность клона Mes2b-с_403, которая представлена в прицентромерных районах хромосом X, 2L, 2R и некартированных сайтах *An. gambiae*,

имеет свойство образовывать контакт с ядерной ламиной. Однако с большей достоверностью ДНК ядерной ламинины выявлялась в клонах, содержащих МГЭ L1MC4_5end и HARLEQUIN. Все клоны, кроме Mes2b-c_417, обладают свойствами потенциального взаимодействия с ядерными структурами.

Т а б л и ц а 4

Характеристика гомологичных последовательностей районов прикрепления хромосом XL и 3R *An. messeae*

Клон 2b-c <i>An. messeae</i>	МГЭ		Взаимодействие с белками или SAR/MAR
	Название	Гомология, %	
Mes2b-c_18	DOC6_DM	44	СК, SAR/MAR
Mes2b-c_346	L1MC4_5end	85	Ядерная ламина
Mes2b-c_383	HARLEQUIN	72	Ядерный матрикс, ядерная ламина
Mes2b-c_390	L1HS	91	Ядерный матрикс
Mes2b-c_417	L1MEf_5end	75	–
Тандемные повторы			
	Консенсус	Период	
Mes2b-c_431	AAAACACATT	2,2	Ядерный матрикс
Другие последовательности			
Mes2b-c_204, Mes2b-c_277, Mes2b-c_395, Mes2b-c_432, Mes2b-c_403, Mes2b-c_455			Ядерный матрикс, SAR/MAR, СК ядерная ламина

Примечание. СК – синаптонемальный комплекс.

Для поиска эволюционно-консервативных элементов, которые характеризуют районы прикрепления XL-хромосом видов *An. messeae* и *An. atroparvus*, был проведен скрининг библиотеки клонов 2b-c *An. messeae* с помощью ДНК-пробы района 5a *An. atroparvus* (табл. 5). В результате скрининга было выявлено 11 последовательностей, среди которых отсутствовали кодирующие белки. Около половины выявленных клонов представляли собой ретротранспозоны, и лишь в одном клоне (Mes2b-c_199) был найден тандемный повтор. Большинство фрагментов после анализа в программе ChrClass было отнесено к классу взаимодействующих с белками розеткоподобных структур и внутриядерным матриксом фибриллярно-гранулярной сети. В ходе анализа были найдены клоны, характерные для 2b-c *An. messeae*, 32d *An. messeae* и 5a *An. atroparvus*, – LINE-элементы (Mes2b-c_390 и Mes2b-c_417), и последовательность клона Mes2b-c_395, которая способна потенциально взаимодействовать с белками ядерного матрикса.

Таким образом, было установлено, что в состав района 2b-c XL-хромосомы *An. messeae* входят в основном повторенные последовательности – тандемные повторы и мобильные элементы, тогда как генов в данном районе обнаружено мало. Эти данные свидетельствуют о сходстве первичной последовательности района 2b-c с гетерохроматиновыми районами хромосом.

В результате сравнения последовательностей ДНК районов прикрепления хромосом разных видов были выявлены гомологичные последовательности,

большая часть которых способна взаимодействовать с белками внутриядерных структур.

Таблица 5

Характеристика последовательностей, общих для районов прикрепления хромосомы XL *An. messeae* и *An. atroparvus*

Клон 2b-c <i>An. messeae</i>	МГЭ		Взаимодействие с белками или SAR/MAR
	Название	Гомология, %	
Mes2b-c_3	Gypsy43-I_AG-int	70,79	Ядерная ламина
Mes2b-c_243	ERV3	90,62	–
Mes2b-c_390	L1HS	91,20	Ядерный матрикс
Mes2b-c_417	L1MEf_5end	75,00	–
Тандемные повторы			
	Консенсус	Период	
Mes2b-c_199	TTTTTTC	2,9	–
Другие последовательности			
Mes2b-c_153			Ядерная ламина
Mes2b-c_158, Mes2b-c_195, Mes2b-c_337, Mes2b-c_395, Mes2b-c_418			Ядерный матрикс

Эти данные свидетельствуют о функциональном сходстве этих районов, которое является отражением их свойства взаимодействовать со структурными элементами ядра. Однако районы прикрепления разных хромосом должны иметь различия в организации, которые определяют специфику их взаимоотношения с ядерной оболочкой. Результаты сравнения последовательностей ДНК хромосом позволили выявить эти различия.

Предположено, что районы прикрепления хромосом составляют следующие элементы: 1) эволюционно консервативные (обнаруженные в результате сравнения 2b-c *An. messeae* и 5a *An. atroparvus*); 2) специфичные для каждого района прикрепления (последовательности района 2b-c, не выявленные при скрининге библиотеки клонов); 3) консервативные для всех районов прикрепления хромосом (гомологичные последовательности трех сравниваемых районов прикрепления). Гипотеза подтверждается данными анализа последовательности ДНК прицентромерного района хромосомы 2 *An. atroparvus* [11], в котором авторы выявили хромосомоспецифичные и универсальные последовательности.

Полученные результаты указывают на сложную организацию районов прикрепления хромосом. Необходимо определить причины разнообразия МГЭ в этих районах. Возможно, что перемещения МГЭ и ассоциированных с ними SAR/MAR способны изменять локализацию районов прикрепления на хромосомах либо приводить к возникновению новых сочетаний ассоциированных с ядерной оболочкой последовательностей и тем самым изменять пространственную организацию ядра.

Литература

1. Van Driel R., Fransz P.F., Verschure P.J. The eukaryotic genome: a system regulated at different hierarchical levels // *Journal Cell Science*. 2003. Vol. 116. P. 4067–4075.
2. Misteli T. Beyond the sequence: cellular organization of genome function // *Cell*. 2007. Vol. 128. P. 787–800.
3. Cremer M., Kupper K., Wagler B. et al. Inheritance of gene density-related higher order chromatin arrangements in normal and tumor cell nuclei // *Journal Cell Biology*. 2003. Vol. 162. P. 809–820.
4. Gruenbaum Y., Margalit A., Shumaker D.K., Wilson K.L. The nuclear lamina comes of age // *Molecular Cell Biology*. 2005. № 6. P. 21–31.
5. Wang T.Y., Chai Y.R., Yuan B.M. Effects and the mechanism of nuclear matrix attachment regions on transgene expression // *Chinen Journal Cell Biology*. 2004. Vol. 26, № 6. P. 587–590.
6. Стегний В.Н. Реорганизация структуры интерфазных ядер в онто- и филогенезе малярийных комаров // Доклады АН СССР. 1979. Т. 249, № 5. С. 1231.
7. 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.
8. 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.
9. 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. Vol. 1, № 1. P. 33–44.
10. Шабарина А.Н., Прилепа Е.И., Глазков М.В. Необычная нуклеотидная последовательность ДНК, выделенная из ядерных оболочек гепатоцитов мыши // *Генетика*. 2006. Т. 42, № 7. С. 879–886.
11. Grushko O.G., Sharakhova M.V., Stegnii V.N., Sharakhov I.V. Molecular organization of heterochromatin in malaria mosquitoes of *Anopheles maculipennis* subgroup // *Gene*. 2009. Vol. 448. P. 192–197.

Поступила в редакцию 26.05.2010 г.

Gleb N. Artemov, Vladimir N. Stegnyy

Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia

MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF REGIONS OF CHROMOSOME ATTACHMENT TO NURSE CELLS NUCLEAR ENVELOPE OF ANOPHELES MALARIA MOSQUITOES FROM «MACULIPENNIS» COMPLEX

*Nuclear envelope attachment DNA region from nurse cells XL chromosome of *Anopheles messeae* Fall (2b-c region) was isolated by microdissection procedure. This DNA was cloned in plasmid vector and sequenced. The analysis in database TBLASTX VectorBase, BLASTN EnsemblMetazoa, FlyBase RepeatMasker, Censor and TandemRepeatsFinder soft reveals that this region consists of transposable elements, tandem repeats and genes. LTR-retrotransposons, LINE, described in *An. gambiae* Giles were found among transposable elements. In 2b-c region transposable elements typical of other dipterans, protozoa, vertebrates, plants and other organisms were detected. However, MITE SINE and helitrons typical of dipterous were not found in this region. Tandem repeats are only represented by microsatellites and minisatellites with a small number of copies. Repeats with AAAAG motifs characteristic for DNA nuclear lamina of mice hepatocytes and conservative in evolution were found among tandem repeats. The predomination of repetitive DNA in nuclear envelope attachment region of *An. messeae* XL*

chromosome signifies the similarity of this region sequences and constitutive heterochromatin.

*Similar sequences that characterize nuclear envelope attachment regions of *An. messeae* XL and 3R chromosomes and *An. atroparvus* van Thiel. XL chromosome were searched. Nuclear envelope attachment regions of *An. messeae* 3R chromosome and *An. atroparvus* XL chromosome were microdissected. DNA from this regions was used for clone library screening by dot-blot hybridization. Homologous sequences were analyzed with ChrClass soft to find their potential capacity to bind intranuclear proteins. It was shown that the major part of these sequences is capable to bind nuclear matrix proteins including nuclear lamina proteins and synaptonemic complex proteins or contain SAR/MAR sequences. Twelve clones from *An. messeae* 2b-c region clones library are homologous with the sequences from *An. messeae* 3R chromosome nuclear envelope attachment region and eleven clones – with *An. atroparvus* XL chromosome one. Three clones were identical to all investigated regions. On the basis of the analysis multiplex nuclear envelope attachment regions organization was supposed possible. Probably, nuclear envelope attachment regions consist of the following elements: 1) chromosom-specific and evolutionary conservative; 2) specific for every attachment region; 3) universal for all attachment regions. The obtained results are necessary for estimating DNA sequences significance in chromosome architecture reorganization in malaria mosquitoes nurse cells during speciation.*

Key words: *Anopheles*; malaria mosquitoes; nucleus spatial organization; polytene chromosomes; transposable elements; repetitive DNA.

Received May 26, 2010