

УДК 577.29

Г.Н. Артемов^{1,2}, Г.А. Сапунов¹, В.Н. Стегний^{1,2}

¹ Томский государственный университет (г. Томск)

² Научно-исследовательский институт биологии и биофизики
Томского государственного университета (г. Томск)

ЛОКАЛИЗАЦИЯ РАЙОНОВ XL ХРОМОСОМЫ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЛАМИНОМ, В ТРОФОЦИТАХ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (соглашение 14.В37.21.1116);
гранта Президента РФ МК-4158.2012.4
и РФФИ (грант 12-04-31201 мол-а).

С помощью иммуноокрашивания хромосом антителами к ламину В дрозиды локализованы остатки ядерной оболочки на политенных хромосомах трофоцитов близких видов малярийных комаров *Anopheles atroparvus* Thiel. *An. messeae* Fall. и *An. beklemishevi* Steg. et Kab. Проанализировано распределение ламина на самой короткой хромосоме набора – XL хромосоме. Ламин выявлялся в дискретных районах XL хромосомы. Число, ширина, распределение на хромосоме наиболее ярких сигналов ламина различаются у разных видов и являются видоспецифичным признаком. У *An. messeae* и *An. beklemishevi* ламины обнаружены в районах прикрепления хромосом к ядерной оболочке, которые были картированы ранее в ходе исследования полудавленных ядер трофоцитов. Отсутствие ламина в районе прикрепления XL хромосомы у *An. atroparvus* связано со специфической морфологией прицентральных районов хромосом и недостатками методики приготовления препаратов хромосом. Межвидовые различия в распределении ламина на XL хромосоме свидетельствуют о трансформации системы контактов хромосом с ядерной оболочкой клеток генеративной системы в ходе эволюции.

Ключевые слова: пространственная организация ядра; районы прикрепления хромосом к ядерной оболочке; ламин-ассоциированные домены; политенные хромосомы; ядерная оболочка; ядерная ламина; малярийные комары; *Anopheles*.

Введение

Неслучайная позиция хромосом в ядре обеспечивается двумя механизмами: 1) многообразие белковых комплексов, посредством которых пространственно удаленные локусы физически ассоциируют; 2) специфические локусы могут быть закреплены на некой структуре, выступающей в роли скэффолда, например ядерной ламине [1]. С помощью метода DamID [2] было показано, что филогенетически далекие организмы, такие как дрозофила, мышь и человек, имеют большие домены, ассоциированные с ядерной ламиной, – ЛАДы [3–6]. По-видимому, ЛАДы выполняют важные функции в

клеточном ядре, некоторые гены при активации в процессе дифференцировки могут открепляться или прикрепляться к ядерной ламине [5]. ЛАДы образуют неоднородную группу – некоторые имеют консервативное расположение в геноме независимо от типа клетки, тогда как другие могут встречаться лишь в клетках определенного типа [7].

Положение консервативных ЛАДов в геномах 28 плацентарных является более постоянным, чем их последовательность, если сравнивать с факультативными ЛАДами и остальной некодирующей частью генома. Таким образом, у плацентарных животных в клетках соматической системы хромосомы имеют эволюционно консервативную систему взаимодействия хромосом с ядерной оболочкой. Сходные результаты по изучению архитектуры хромосом слюнных желез у близких видов малярийных комаров были получены в нашей лаборатории [8, 9]. Хромосомы слюнных желез, как и у дрозофилы, а также мальпигиевых сосудов малярийных комаров образуют хромоцентр, что свидетельствует о консервативности крупномасштабной организации ядер соматических клеток у этих насекомых [9]. Это подтверждают и эксперименты по колокализации районов прикрепления хромосом к ядерной оболочке в интактных ядрах слюнных желез, мальпигиевых сосудов и имгинальных дисков у комаров *An. atroparvus*, *An. messeae*, *An. beklemishevi* с помощью 3D-FISH (см. статью в номере).

Представляет интерес исследовать, каким образом организованы ЛАДы в клетках генеративной системы организмов; сохраняется ли эволюционная консервативность их расположения на хромосомах. Ранее на малярийных комарах было показано, что хромосомы трофоцитов имеют выраженные контакты с ядерной оболочкой, которые можно увидеть с применением рутинной окраски хромосом на полудавленных ядрах. Таким образом, впервые были найдены межвидовые различия во взаимодействии хромосом с ядерной оболочкой в клетках генеративной системы [8].

Недавние работы по исследованию консервативных ЛАДов у млекопитающих показали, что эти домены занимают протяженные участки генома и содержат большее, по сравнению с остальным геномом, количество элементов, ассоциированных с ламинем В1 [7]. В настоящей работе нами было проведено исследование локализации ламина В на хромосомах трофоцитов близких видов малярийных комаров с целью поиска межвидовых различий. Для упрощения задачи мы сосредоточили внимание на XL хромосоме, так как она короче остальных хромосом набора и является наиболее изменчивой у видов *Anopheles* комплекса *maculipennis*.

Материалы и методики исследования

Нами была использована методика иммуноокрашивания хромосом, которая применялась для выявления ламина на хромосомах трофоцитов *An. gambiae* [10]. Материалом для исследования служили имаго малярий-

ных комаров *An. atroparvus* van Thiel., взятые из лабораторной культуры, *An. messeae* Fall. и *An. beklemishevi* Steg. et Kab., собранные в природных популяциях пос. Коларово Томской области и с. Чаинск Томской области в июне – августе 2012 г. и в июне 2013 г. Яичники самок малярийных комаров выделяли на III стадии развития по Селла и немедленно готовили препарат хромосом. Районы прикрепления хромосом к ядерной оболочке выявляли с помощью иммуноокрашивания хромосом антителами к ламину В-типа дрозофилы – белку Dm0 (DSHB, США) [11] – и антителами кролика к белкам мыши, конъюгированными с FITC (Sigmaaldrich, США) [12]. В эксперименте использовали препараты хромосом трех особей каждого вида.

Приготовленные методом иммуноокрашивания препараты политенных хромосом микроскопировали с помощью микроскопа Axio Imager Z1 «Carl Zeiss» (Германия). Анализ, получение и обработку фотографий проводили с помощью программ AxioVision 4.7 «Carl Zeiss» (Германия).

Результаты исследования и обсуждение

В ходе эволюции малярийных комаров сильным преобразованиям подвергается XL хромосома. XL хромосома (ее длина, порядок дисков, морфология отдельных районов) является главным диагностическим признаком при определении вида [13]. Ранее было отмечено, что близкие виды комаров также четко различаются по особенностям прикрепления хромосом к ядерной оболочке: по наличию или отсутствию районов прикрепления, их расположению и морфологии [8]. У *An. atroparvus* район прикрепления XL хромосомы расположен в прицентромерной области и имеет веерообразную форму. У *An. messeae* район прикрепления располагается как в прицентромерном участке хромосомы, так и в середине плеча из-за внутривидовых инверсий. У *An. beklemishevi* район прикрепления находится в середине плеча, но контакт обеспечивают более тонкие тяжи хроматина.

Межвидовые различия по XL хромосоме трофоцитов малярийных комаров и особенностях ее взаимодействия с ядерной оболочкой свидетельствует об особой роли этой хромосомы в видообразовании. В связи с этим для нас представлял большой интерес оценить различия в прикреплении XL хромосом к ядерной оболочке с помощью более чувствительного иммуногистохимического метода. Мы не имели возможности использовать метод DamID, так как он требует информации о последовательности генома, которая к настоящему времени отсутствует для видов *An. atroparvus*, *An. messeae* и *An. beklemishevi* (<https://www.vectorbase.org/genomes>). Между тем мы рассчитывали, что поиск остатков ядерной оболочки на хромосомах с использованием антител выявит мажорные области прикрепления хромосом. Кроме того, анализ хромосом полезен для оценки морфологических характеристик районов, связанных с ядерной ламиной, и соответствия районам прикрепления хромосом, выявленным ранее [8].

Как мы и ожидали, анализ показал, что различия в контактах хромосом действительно присутствуют. Нами были обнаружены как дополнительные районы взаимодействия хромосом с ядерной оболочкой, так и отсутствие сигнала в районах, которые определяются как районы прикрепления на уровне световой микроскопии. Следует отметить, что сравнение линейной организации хромосом трофоцитов разных видов затруднено из-за упомянутых перестроек, которые сопровождали эволюцию изучаемой группы. Однако нами были предприняты попытки картирования районов локализации ламина с использованием карты точек разрыва хромосомных перестроек, приведенных в монографии [13] (рис. 1).

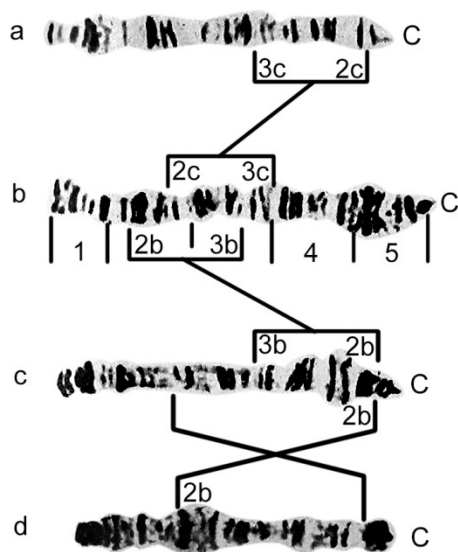


Рис. 1. Изменение линейной структуры XL хромосомы видов *An. beklemishevi* (a), *An. atroparvus* (b), *An. messeae* (c,d) [по 13].

Представлены хромосомы слюнных желез, обозначения районов по карте хромосом слюнных желез *An. atroparvus* (предковый вид): *c* – гомозигота по инверсии XL_{00} ; *d* – гомозигота по инверсии XL_{11} ; *C* – центромера

Несмотря на то что в рамках исследования невозможно оценить с высокой уверенностью, какие сайты хромосомы локализируются в гомеологических районах, а какие нет, очевидно, что число и распределение этих сайтов вдоль хромосом различно. Для удобства сайты локализации ламина, выявленные в данном эксперименте, мы будем называть L-сайты (от lamin sites – сайты ламина), противопоставляя их понятию «район прикрепления», которое традиционно используется нами для обозначения районов контактов хромосом, выявленных при использовании рутинных методов окраски препаратов полудавленных ядер трофоцитов [8].

У *An. messeae* в районе прикрепления хромосомы нами было обнаружено два L-сайта (2b, 2c, обозначения районов здесь и далее приводятся по карте слюнных желез *An. atroparvus*), а также два дополнительных L-сайта в дистальной части левого плеча. У *An. atroparvus* сигналы выявлены в районах 3a и 4a, а наиболее выраженный сигнал – в районе 2b–2c. В XL хромосоме *An. beklemishevi* мы выявили четыре L-сайта в районах 1d, 5a и 3b, а также в районе прикрепления 4b.

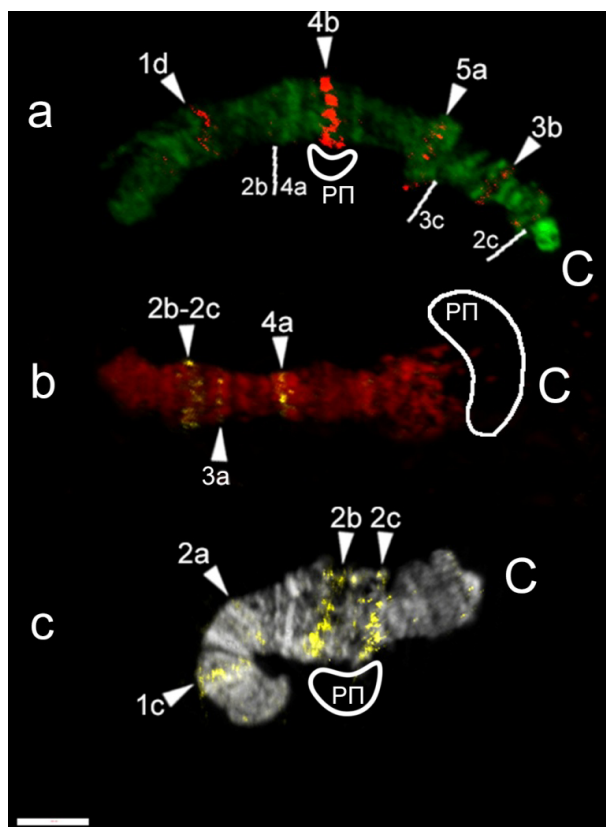


Рис. 2. Локализация ламина В на XL хромосоме трофозитов *An. beklemishevi* (a), *An. atroparvus* (b) и *An. messeae* (c): обозначения районов по карте хромосом слюнных желез *An. atroparvus*, хромосома XL *An. messeae* представлена в виде гомозиготы по инверсии XL_{11} ; стрелками указана локализация ламина (L-сайтов); чертами обозначены границы маркерных районов; РП – район прикрепления; C – центромера, масштабная линейка 10 мкм

Следует отметить, что распределение L-сайтов на хромосомах, представленное на рис. 2, демонстрирует наиболее типичную картину взаимодействия хромосом с ядерной ламиной. В ходе анализа нами было обнаружено несколько большее число L-сайтов. Однако чтобы исключить сигналы,

связанные с неспецифическим мечением антителами, и выявить наиболее выраженные контакты, мы учитывали только те L-сайты, которые детектировались на хромосомах четырех и более ядер (таблица). Практически все сигналы, обнаруженные нами, встречались у каждой проанализированной особи. Исключение составляют районы 4a и 3a *An. atroparvus* и район 2c *An. messeae*. Впрочем, эта ситуация, скорее всего, связана с ограниченной выборкой подходящих для анализа хромосом у этих самок и невысоким качеством препаратов.

Частота встречаемости сигналов ламина в районах XL хромосомы трофоцитов малярийных комаров

XL <i>An. atroparvus</i> (3 особи)		XL <i>An. messeae</i> (3 особи)		XL <i>An. beklemishevi</i> (3 особи)	
1	2	1	2	1	2
4a	7/13; 0/2; 3/3	2c	0/1; 8/8; 2/2	3b	3/4; 4/4; 7/9
3a	6/13; 0/2; 3/3	2b	1/1; 8/8; 2/2	5a	4/4; 4/4; 9/9
2b-2c	12/13; 2/2; 3/3	2a	1/1; 4/8; 1/2	4b	4/4; 4/4; 9/9
		1c	1/1; 4/8; 1/2	1d	4/4; 4/4; 9/9

Примечание. 1 – район XL хромосомы; 2 – количество ядер с сигналом в соответствующем районе / общее количество проанализированных хромосом.

Необходимо отметить, что в некоторых случаях мы находили сигналы только в одном гомологе хромосомы, тогда как в другом гомологе сигнал отсутствовал вовсе (рис. 3). Яркость сигналов в таких хромосомах исключает возможность ошибки эксперимента. Полученные данные могли бы свидетельствовать в пользу внутривидовых различий в паттерне взаимодействия хромосом с ядерной оболочкой, но различия в L-сайтах у гомологов XL хромосомы в пределах одного ядра наблюдались нами в единичных ядрах.

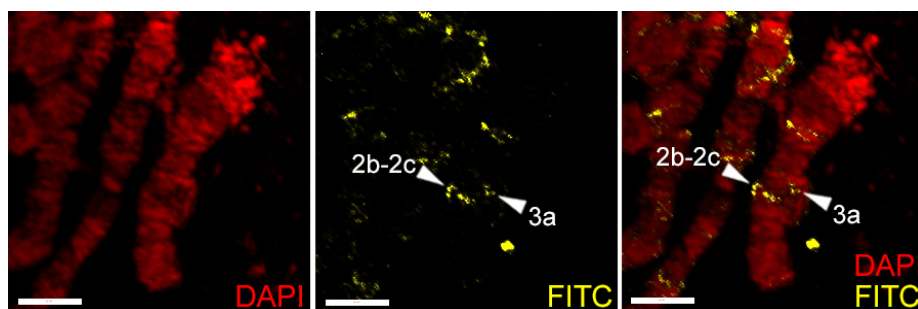


Рис. 3. Различия в локализации ламина на гомологах XL хромосомы трофоцитов *An. atroparvus*

Большинство L-сайтов выглядят как более или менее тонкие яркие бенды, которые локализуются в междисках хромосом. L-сайты встречаются также и в районах с диффузной морфологией, которых в XL хромосоме

каждого вида находится в среднем по одному. В этом случае мы наблюдали «рыхлые», но обычно менее яркие сигналы в районах 2b–2c *An. atroparvus* и 2b–2c *An. messeae* (см. рис. 2). Районы прикрепления XL хромосом *An. messeae* и *An. beklemishevi* совпадают с L-сайтами. У *An. beklemishevi* это широкий бенд в диффузном районе 4b, который обнаруживался нами во всех исследованных ядрах. У *An. messeae* в районе 2b–2c выявлено два сигнала, разделенных немеченой областью. Интересно, что в половине проанализированных нами ядер такой области не было видно, а сигнал занимал весь район прикрепления. Очевидно, что районы прикрепления хромосом, наблюдаемые нами ранее при использовании рутинных окрасок, обеспечивают очень прочное взаимодействие хромосом с ядерной оболочкой, которое не разрушается даже при деформировании ядра в ходе приготовления препарата. В хромосомах XL *An. beklemishevi* и *An. messeae* в таких районах расположен наиболее яркий и протяженный сигнал. Исключение в этом смысле составляет только XL хромосома *An. atroparvus*, у которой мы не выявили сигналов ламина в прицентромерном районе.

Система прикрепления хромосом к ядерной оболочке в области центромеры, по-видимому, имеет свои особенности, так как представлена у малярийных комаров декомпактизованными и недореплицированными нитями хроматина. Эти районы чрезвычайно хрупкие, так как при приготовлении давленных препаратов целостность хромосомы нарушается и происходит разделение плеч. С хромосомами без районов прикрепления в прицентромерной области, таких как хромосома 2 *An. messeae* и *An. atroparvus*, такого не происходит. Районы прикрепления хромосом, расположенные в прицентромерной области, образуют характерную морфологию в виде веерообразной сетчатой структуры с тонкими тяжами, которые распластаны на ядерной оболочке. При отделении хромосом от ядерной оболочки в ходе приготовления препаратов эти тяжи остаются связанными с ядерной ламиной. В случае, если мы анализируем хромосому, сохранившую контакт с ядерной оболочкой, становится невозможным «отделить» фоновый сигнал, который дает ядерная ламина, от сигнала на тонких диффузных фибриллах, распластанных на ней (рис. 4). Поэтому даже если связь хромосомы с ядерной оболочкой присутствует, то обнаружить ее очень трудно, так как специфическая сетчатая морфология районов прикрепления не создает необходимой «концентрации» сигнала, как это происходит в интеркалярных районах хромосом.

Следует добавить, что предварительный анализ районов прикрепления, локализованных в прицентромерных районах остальных хромосом набора (как хромосомы 3 у трех видов, так и хромосомы 2 у *An. beklemishevi*), дал сходные результаты. Таким образом, иммуноокрашивание хромосом антителами к ламину В показало свою эффективность только для выявления L-сайтов, расположенных в интеркалярных районах хромосом, тогда как для терминальных районов с диффузной организацией хроматина этот метод не подходит.

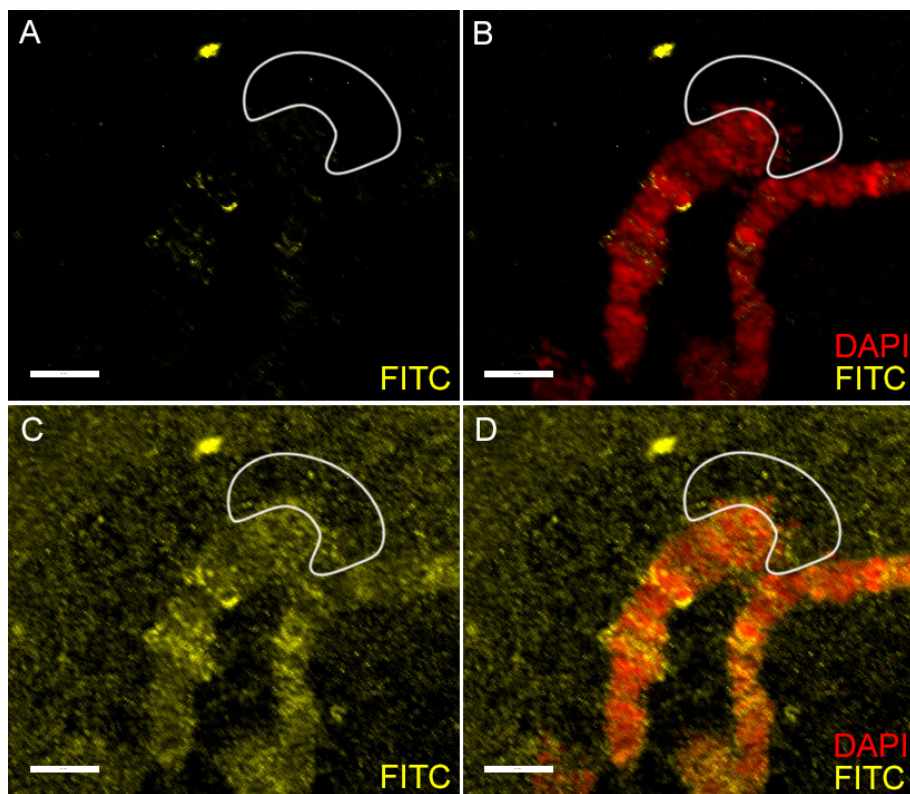


Рис. 4. Сравнение локализации ламина на XL хромосоме полудавленного ядра *An. atroparvus* с разным уровнем обработки сигнала FITC: *A, B* – полная нивелировка фонового сигнала FITC, сигнал заметен только в интеркалярных районах хромосомы; *C, D* – частичная обработка сигнала FITC, полностью окрашена ламина (фон); дискретный сигнал в районе прикрепления хромосомы (белый контур) не выявляется

Анализ межвидовых различий по L-сайтам показал отсутствие совпадения районов, в которых они локализованы (см. рис. 2). Исключение составляют лишь районы 2b–2c у *An. messeae* и *An. atroparvus*. Эти районы у обоих видов имеют схожие морфологические особенности – диффузная структура с нарушенной дисковой исчерченностью. Общее происхождение этих районов подтверждается тем, что ДНК из района 2b–2c *An. messeae* гибридизуется с районом 2b–2c *An. atroparvus* в эксперименте FISH [14]. Следует обратить внимание, что сила взаимодействия XL хромосомы у *An. messeae* и *An. atroparvus* различается, так как контакты XL хромосомы *An. messeae* в районе 2b–2c можно наблюдать на препаратах недавленных ядер, а у XL *An. atroparvus* такие контакты не обнаружены. Можно сделать вывод, что в ходе эволюции происходит преобразование свойств районов прикрепления, что,

возможно, приводит к изменению прочности контактов хромосом с ядерной оболочкой.

Несовпадение других L-сайтов в XL хромосомах разных видов показывает, что принцип эволюционной консервативности расположения ЛАД не столь очевиден при оценке результатов иммуноокрашивания хромосом малярийных комаров. Вероятно, в ходе эволюции происходило преобразование структуры взаимодействия хромосом с ядерной ламиной, что приводило как к изменению мощности этих контактов, так и к возникновению в новых районах и исчезновению в старых. Это подтверждается практически полным отсутствием L-сайтов в гомеологичных районах разных видов комаров. Однако необходимо провести более точный анализ гомологии районов, связанных с ламином, XL хромосом у *An. atroparvus*, *An. messeae* и *An. beklemishevi* с использованием *in situ* гибридизации.

Заключение

Анализ локализации ламина на XL хромосоме трофоцитов подтвердил показанные ранее межвидовые различия в прикреплении хромосом к ядерной оболочке. Сигналы ламина имели дискретную локализацию в виде более или менее широких бендов в междисках, что говорит о большой протяженности этих районов и подтверждается данными по ламинассоциированным доменам, границы которых были установлены для некоторых групп животных [3–6]. Вероятно, нами выявлены наиболее значительные районы взаимодействия с ядерной оболочкой, так как в анализ вовлекались наиболее яркие L-сайты, уверенно идентифицируемые в большинстве хромосом и у разных особей. Это не исключает существование более слабых взаимодействий хромосом с ядерной оболочкой, которые маркируют более слабые сигналы, отмеченные нами лишь в нескольких хромосомах либо не обнаруженные вообще. Такие контакты, вероятно, можно будет определить в ходе анализа более чувствительными подходами, как DamID. Задачей настоящего исследования было выявление мажорных L-сайтов, для чего иммуноокрашивание хромосом представляется более удачным подходом. Несовпадение L-сайтов с наблюдаемым нами ранее районом прикреплении хромосомы происходит в прицентромерном районе XL хромосомы *An. atroparvus* с диффузной морфологией. Этот результат не позволяет рассматривать данный район в качестве инертного в отношении взаимодействия с ядерной оболочкой, так как цитологические наблюдения, проводимые нами неоднократно, свидетельствовали об его участии во внутриядерной архитектуре. Более того, на наш взгляд, наиболее информативным является использование нескольких методических подходов для выявления хромосомных контактов. Нам не удалось показать эволюционную консервативность расположения контактов хромосом с ядерной ламиной, как это было сделано на клетках соматической системы млекопитающих [7]. Это может свидетельствовать о значительных различиях

во взаимодействии хромосом с ядерной оболочкой в клетках генеративной и соматической систем. В дальнейших исследованиях мы планируем провести анализ сайтов связывания ламина на остальных хромосомах набора у видов *An. messeae*, *An. atroparvus* и *An. beklemishevi*, а также установить гомологию ДНК этих районов с помощью *in situ* гибридизации.

Литература

1. van Steensel B., Dekker J. Genomics tools for unraveling chromosome architecture // Nat. Biotechnol. 2010. Vol. 28. P. 1089–1095.
2. Greil F., Moorman C., van Steensel B. DamID: mapping of in vivo protein-genome interactions using tethered DNA adenine methyltransferase // Methods Enzymol. 2006. Vol. 410. P. 342–59.
3. Pickersgill H., Kalverda B., de Wit E. et al. Characterization of the Drosophila melanogaster genome at the nuclear lamina // Nat. Genet. 2006. Vol. 38. P. 1005–1014.
4. Guelen L., Pagie L., Brasset E., Meuleman W. et al. Domain organization of human chromosomes revealed by mapping of nuclear lamina interactions // Nature. 2008. Vol. 453. P. 948–951.
5. Peric-Hupkes D., Meuleman W., Pagie L. et al. Molecular maps of the reorganization of genome-nuclear lamina interactions during differentiation // Mol. Cell. 2010. Vol. 38. P. 603–613.
6. van Bemmel J.G., Pagie L., Braunschweig U. et al. The insulator protein SU(HW) fine-tunes nuclear lamina interactions of the Drosophila genome // PLoS ONE. 2010. Vol. 5, № 11. P. e15013.
7. Meuleman W., Peric-Hupkes D., Kind J. et al. Constitutive nuclear lamina-genome interactions are highly conserved and associated with A/T-rich sequence // Genome research. 2012. Vol. 23. P. 270–280.
8. Стегний В.Н. Реорганизация структуры интерфазных ядер в онто- и филогенезе малярийных комаров // Доклады АН СССР. 1979. Т. 249, № 5. С. 1231.
9. Стегний В.Н. Системная реорганизация архитектоники политенных хромосом в онто- и филогенезе малярийных комаров. Сообщение I. Различия структуры ядер соматических и генеративной тканей // Генетика. 1987. Т. 23, № 5. С. 821–827.
10. Sharakhova M. V., George P., Brusentsova I.V. et al. Genome mapping and characterization of the *Anopheles gambiae* heterochromatin // BMC Genomics. 2010. Vol. 11. С. 459.
11. Stuurman N., Maus N., Fisher P.A. Interphase phosphorylation of the Drosophila nuclear lamin: site-mapping using a monoclonal antibody // J. Cell Sci. Vol. 108. P. 3137–3144.
12. Bible E., Chau D.Y.S., Alexander M.R. et al. Attachment of stem cells to scaffold particles for intra-cerebral transplantation // Nature Protocols. 2009. Vol. 4, № 10. P. 1440–1453.
13. Стегний В.Н. Популяционная генетика и эволюция малярийных комаров. Томск : Изд-во Том. ун-та, 1991. 137 с.
14. Артемов Г.Н., Абылкасымова Г.М., Стегний В.Н. Молекулярно-генетический анализ района прикрепления хромосом к ядерной оболочке малярийных комаров *Anopheles maculipennis* // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2011. № 14 (4). С. 157–169.

Поступила в редакцию 20.09.2013 г.

Gleb N. Artemov^{1,2}, Gleb A. Sapunov¹, Vladimir N. Stegny^{1,2}

¹ Tomsk State University, Tomsk, Russia

² Research Institute of Biology and Biophysics of Tomsk State University, Tomsk, Russia

LOCALIZATION OF XL CHROMOSOME REGIONS ASSOCIATED WITH LAMIN IN NURSE CELLS OF MALARIA MOSQUITOES

The study was supported by The Ministry of education and science of Russia, project 14.B37.21.1116, Grant of the President of the Russian Federation MK-4158.2012.4 and Grant of the Russian Foundation for Basic Research 12-04-31201.

*Chromosome attachment to the nuclear lamina is one of the main mechanisms of chromosome positioning in the nuclear interior. Previously, contacts of chromosomes with nuclear envelope in semi-squashed malaria mosquitoes nurse cells nuclei were discovered and its species-specificity was showed. We localized nuclear debris on polytene chromosomes of nurse cells of sibling species *Anopheles atroparvus* Thiel. *An. messeae* Fall. and *An. beklemishevi* Steg. et Kab. by chromosome immunostaining with using antibodies to fruit fly lamin Dm0. Distribution of lamin on the shortest chromosomes of the set – XL chromosome was analyzed. Lamin was detected in distinct chromosome regions, mainly in interbands. We used only signals, which were found more than in four nuclei. These regions looked like bright bands and were detected in all analyzed specimens. If intra-specific polymorphism by lamin distribution take s place, it cannot be shown by using our methodical approach. However, we found some single nuclei, which had different signals in each homolog chromosomes. The brightest lamin signals quantity, width and their distribution along chromosomes are species-specific features. In *An. messeae* and *An. beklemishevi* lamin revealed in chromosome attachment regions, which was mapped during semi-squashed nurse cells nuclei investigation. The lack of lamin signals in XL chromosome attachment region of *An. atroparvus* is connected with specific morphology of pericentric regions and with limitation of preparation making. We did not observe significant concordance in lamin localization on XL chromosome in analyzed species. However, we found one similarity between *An. messeae* and *An. atroparvus* in lamin localization in 2b-2c region. In spite of similar localization, these regions differ from each other by intensity signals, which can reflect differentiation in the strength of chromosomes contacts. The obtained results do not prove data about evolution conservatism of lamin-associated domains localization in distinct cell types. Interspecific differences in lamin distribution along the XL chromosome suggest chromosome region structure transformation, which results in acquisition or loss of the attachment function or modification of the strength of chromosome contact with nuclear envelope.*

Key words: nucleus spatial organization; chromosome attachment regions to nuclear envelope; lamin associated domains; polytene chromosomes; nuclear envelope; nuclear lamina; malaria mosquitoes; *Anopheles*.

Received September 20, 2013