

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 575

Г.Н. Артемов, С.М. Бондаренко, В.Н. Стегний

Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Взаиморасположение точек прикрепления XL и 3R хромосом на ядерной оболочке в клетках соматической и генеративной систем малярийного комара *Anopheles messeae* Fall.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации МК-4158.2012.4, Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение 14.В37.21.1116 «Поиск и характеристика последовательностей ДНК, взаимодействующих с ядерной ламиной в районе прикрепления хромосомы 2 трофоцитов малярийного комара *Anopheles beklemishevi*») и РФФИ (грант 12-04-31201 мол-а).

В пространстве клеточных ядер малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. определяли положение точек прикрепления XL и 3R хромосом к ядерной оболочке. Локализацию районов проводили с помощью методики 3D FISH микродиссектированных проб районов 3d и 2b-с с интактными ядрами трофоцитов, клеток слюнных желез, фолликулярного эпителия и имагинальных дисков. Оценку расстояний между точками прикрепления хромосом к ядерной оболочке проводили, определяя угол между воображаемыми векторами, проведенными из центра ядра к соответствующим точкам прикрепления хромосом. Было показано, что взаиморасположение точек прикрепления хромосом тканеспецифично. Наибольшие различия наблюдали при сравнении трофоцитов с клетками соматической системы. В клетках слюнных желез, фолликулярного эпителия и имагинальных дисков точки прикрепления хромосом к ядерной оболочке со статистически значимой большей частотой располагались более близко друг относительно друга, чем в трофоцитах. Тканеспецифичные особенности расположения контактов хромосом с ядерной оболочкой свидетельствуют о связи внутриядерной архитектуры с процессами клеточной дифференцировки.

Ключевые слова: пространственная организация ядра; районы прикрепления хромосом к ядерной оболочке; точки контактов хромосом с ядерной оболочкой; малярийные комары; *Anopheles*.

Введение

Многочисленные исследования подтверждают, что каждая хромосома в пространстве ядра занимает определенное пространство, называемое хромосомной территорией [1–4]. В последнее десятилетие пространственная

организация хромосом утвердилась в качестве важного фактора регуляции генов и стабильности генетического аппарата в целом [5, 6]. Неслучайная позиция хромосом в ядре обеспечивается прикреплением хромосом к каркасной структуре, роль которой выполняет ядерная ламина [7]. Было показано, что в геноме существуют домены, ассоциированные с ламинем, которые могут быть как консервативными для всех тканей организма, так и тканеспецифичными [8]. Это предполагает участие районов прикрепления хромосом в направлении клеточной дифференцировки. Образование контактов в тех или иных участках хромосом может вызывать активацию или репрессию определенных паттернов генов, специфичных для каждой клеточной линии. Мы предположили, что в этом процессе может быть значимым не только наличие или отсутствие контактов хромосом с оболочкой в тех или иных районах, но и положение этих контактов хромосом друг относительно друга на ядерной оболочке. Для проверки гипотезы было необходимо оценить взаиморасположение точек контактов хромосом в пространстве ядра в клетках разных типов. Известно, что у малярийных комаров в трофоцитах политенные хромосомы образуют мощные контакты с ядерной оболочкой, которые можно наблюдать на полудавленных ядрах [9]. Важно, что система этих контактов в трофоцитах является видоспецифичной. В настоящем исследовании нами была проведена оценка взаимного расположения районов прикрепления XL и 3R хромосом на ядерной оболочке у малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. В ходе сравнительного анализа мы ожидали выявления различий, которые свидетельствовали бы о значении колокализации точек прикрепления хромосом клеток разных тканей в процессах функционирования, дифференцировки и развития клеток определенного типа. Для эксперимента были отобраны клетки, которые различаются уровнем плоидности (полиплоидные и диплоидные клетки), типом политении (классические политенные и со скрытой политенией), направлением дифференцировки (клетки зародышевого пути и соматические клетки), потенциальными к дальнейшему развитию (терминально дифференцированные и стволовые). Нами были использованы следующие клеточные системы: 1) трофоциты яичников (терминально дифференцированные клетки зародышевого пути с политенными хромосомами классического типа); 2) клетки слюнных желез личинок (терминально дифференцированные клетки соматической системы с классическими политенными хромосомами); 3) клетки фолликулярного эпителия (терминально дифференцированные клетки соматической системы со скрытой политенией); клетки имагинальных дисков (плюрипотентные клетки соматической системы с диплоидным набором хромосом).

Материалы и методики исследования

Для обнаружения в интактном клеточном ядре интересующих районов нами была использована методика флуоресцентной *in situ* гибридизации

ДНК с интактными клеточными ядрами (3D FISH). Эта методика позволяет определить пространственное расположение любой ДНК в ядре. ДНК-пробы районов прикрепления хромосом XL и 3R *An. messeae* были получены нами ранее в результате микродиссекции районов 32d и 2b-с [10]. Для того чтобы иметь возможность одновременно в одном ядре наблюдать два хромосомных района, с помощью ПЦР в ДНК-пробу района 2b-с XL хромосомы включали модифицированный нуклеотид TAMRA-5'-дУТФ, а в 32d района 3R хромосомы – биотин-11-дУТФ с помощью ПЦР с частично выродженным праймером MW6 [11].

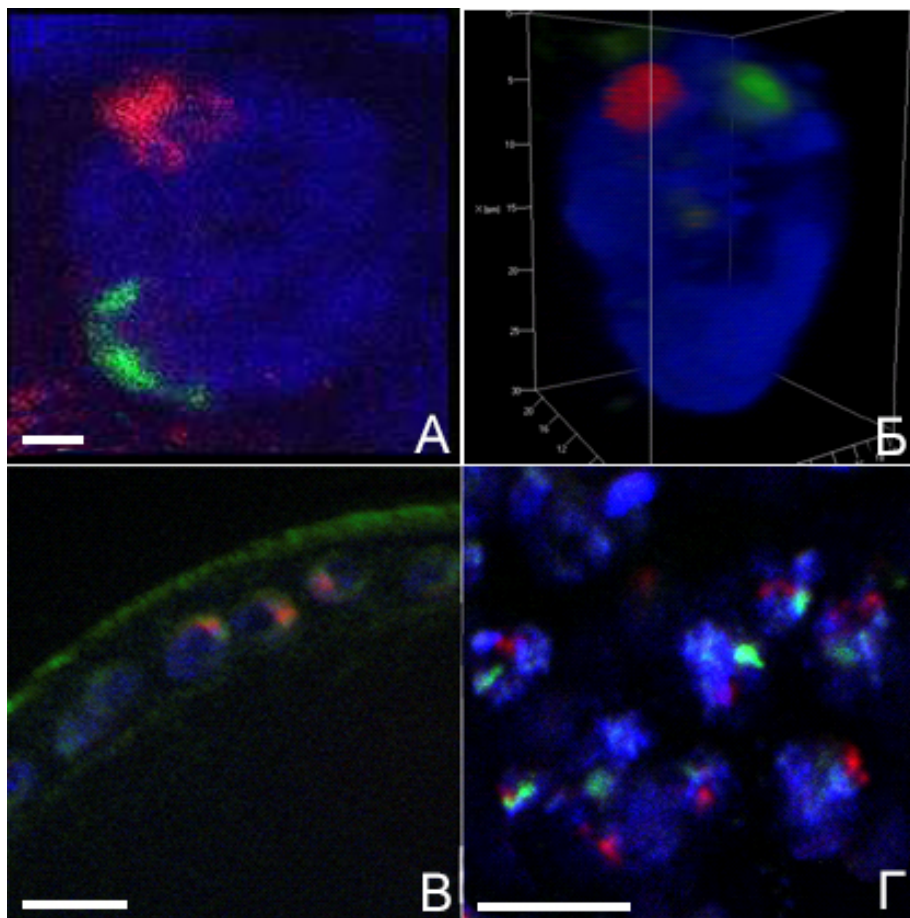
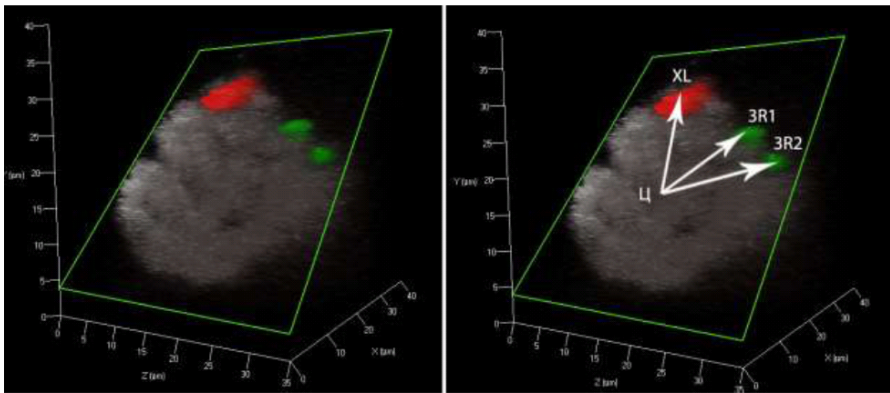


Рис. 1. Результат 3D FISH ДНК районов прикрепления XL (красный сигнал) и 3R (зеленый сигнал) с ядрами трофоцитов (А), клеток слюнных желез (Б), клеток фолликулярного эпителия (Б) и клеток имагинальных дисков (Г); на рис. Б представлена трехмерная реконструкция ядра, хроматин окрашен DAPI, масштабная линейка 5 мкм

Анализ взаиморасположения районов прикрепления хромосом проводился в трофоцитах яичников имаго, клетках слюнных желез личинок, клетках фолликулярного эпителия имаго и клетках имагинальных дисков личинок малярийного комара *An. messeae*. Для этого в растворе Карнуа (96% этанол и ледяная уксусная кислота в объемных соотношениях 3:1) фиксировали яичники самок III стадии развития по Селла (для экспериментов с трофоцитами и клетками фолликулярного эпителия) и личинок IV возраста (для экспериментов с клетками слюнных желез и имагинальных дисков).

При проведении флуоресцентной *in situ* гибридизации на интактных ядрах (3D FISH) тканей малярийного комара руководствовались протоколом, описанным подробно в литературе [11]. Таким образом, нами были получены препараты ядер трофоцитов яичников, клеток слюнных желез, клеток фолликулярного эпителия и клеток имагинальных дисков, в каждом из которых положение ДНК районов прикрепления хромосом XL и 3R определялось соответствующим флуоресцентным сигналом (рис. 1).



а

$$\alpha = \arccos \frac{(X_{x1} * X_{3r} + Y_{3r} + Z_{x1} * Z_{3r})}{((X_{x1}^2 + Y_{x1}^2 + Z_{x1}^2) * (X_{3r}^2 + Y_{3r}^2 + Z_{3r}^2))^{1/2}}$$

б

Рис. 2. Схематическое изображение положения векторов в пространстве ядер трофоцитов малярийного комара (а) и формула для расчета угла, образованного этими векторами с известными координатами (б).

Стрелки – векторы, проведенные из центра ядра (Ц) в районы прикрепления хромосом (XL, 3R1 и 3R2), в формуле X, Y, Z – координаты векторов, проведенных к точкам прикрепления XL и 3R хромосом, обозначенных соответствующими индексами.

Координатами точки прикрепления 3R хромосомы к ядерной оболочке принимали средние значения по координатам каждого гомолога (точки 3R1 и 3R2)

Приготовленные препараты интактных ядер микроскопировали с помощью микроскопа Axio Imager Z1 («Carl Zeiss», Германия), а клетки имаги-

нальных дисков – с помощью конфокального микроскопа LSM 780 («Carl Zeiss», Германия). Анализ, получение и обработку фотографий, а также создание 3D-моделей ядер проводили с помощью программы AxioVision 4.7 «Carl Zeiss» (Германия). После получения серии фотографий оптических срезов ядра в режиме «CutView» программы AxioVision 4.7 были определены пространственные координаты следующих точек (рис. 2): 1) периферическая область сигнала, соответствующая району прикрепления XL хромосомы; 2) периферическая область сигнала, соответствующая району прикрепления 3R хромосомы (или двух сигналов для каждого гомолога); 3) центр ядра (определялся по сигналу DAPI в трех проекциях).

Довольно часто в районе прикрепления 3R хромосомы к ядерной оболочке трофоцитов мы наблюдали два сигнала из-за расхождения гомологов в этом районе. Поэтому координатами точки прикрепления этой хромосомы к ядерной оболочке принимали средние значения по координатам каждого гомолога.

Для оценки расстояния между точками контактов районов прикрепления хромосом XL и 3R к ядерной оболочке мы вычисляли угол, который образовывали воображаемые векторы (v_{XL} и v_{3R}), проведенные из центра ядра к периферическим областям сигналов соответствующих районов хромосом, по формуле, приведенной на рис. 2. Такой критерий оценки, на наш взгляд, является наиболее подходящим, так как он не зависит от размеров ядер и позволяет анализировать ядра со сложной формой.

Таким образом, нами был получен массив данных по значениям углов между такими векторами для клеток каждой ткани. Значения углов в градусах являлись мерой удаленности двух точек на ядерной оболочке. Так, для значения угла 0° точки прикрепления хромосом совпадают, а для значения 180° находятся на противоположных полюсах ядра. Количество проанализированных ядер составляло: для трофоцитов яичников – 320 (5 особей), для клеток слюнных желез – 100 (10 особей), для клеток фолликулярного эпителия – 75 (5 особей), для клеток имагинальных дисков – 80 (12 особей). Значения углов были разбиты на три класса со значениями угла $0-60^\circ$, $60-120^\circ$ и $120-180^\circ$. Нами не было обнаружено ни одного угла со значениями 60° и 120° , что не затруднило группировку данных. Статистическая обработка полученных данных и построение графиков выполнены в программе StatSoft STATISTICA 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

В результате проведенной нами флуоресцентной *in situ* гибридизации было показано, что ДНК пробы, соответствующие районам прикрепления хромосом к ядерной оболочке трофоцитов, локализовались на периферии клеточных ядер во всех исследуемых органах комара. Это является косвенным свидетельством того, что изучаемые нами районы XL и 3R хромосомы выполняют функцию прикрепления к ядерной оболочке в каждой ткани ор-

ганизма и являются консервативными. Величина угла, образованного векторами vXL и v3R, которая в нашем эксперименте являлась критерием удаленности точек прикрепления хромосом на ядерной оболочке, варьировала в пределах от 6,6 до 174,6° в трофоцитах, от 28,3° до 159,5° в клетках слюнных желез, от 1,3 до 171,7° в фолликулярном эпителии и от 5,2° до 167° в имагинальных дисках. Диапазон варьирования углов в клетках слюнных желез несколько ниже, чем в других клетках – 131,2°, тогда как в трофоцитах этот диапазон 168°, в клетках фолликулярного эпителия – 170,4° и в клетках имагинальных дисков – 161,8°. Известно, что в клетках слюнных желез малярийных комаров хромосомы объединены друг с другом прицентромерными районами и образуют хромоцентр [12]. Очевидно, что образование хромоцентра влияет на взаимное расположение 3R и XL хромосом, которые связаны в прицентромерных районах, и препятствует как сближению, так и удалению точек контактов хромосом с ядерной оболочкой друг относительно друга. Следствием этого является меньший диапазон значений углов по сравнению с трофоцитами, хромосомы которых хромоцентр не образуют, а также с клетками фолликулярного эпителия и имагинальных дисков, для которых нет данных по наличию хромоцентра.

Анализ частот распределения значения углов для векторов vXL и v3R представлен на рис. 3.

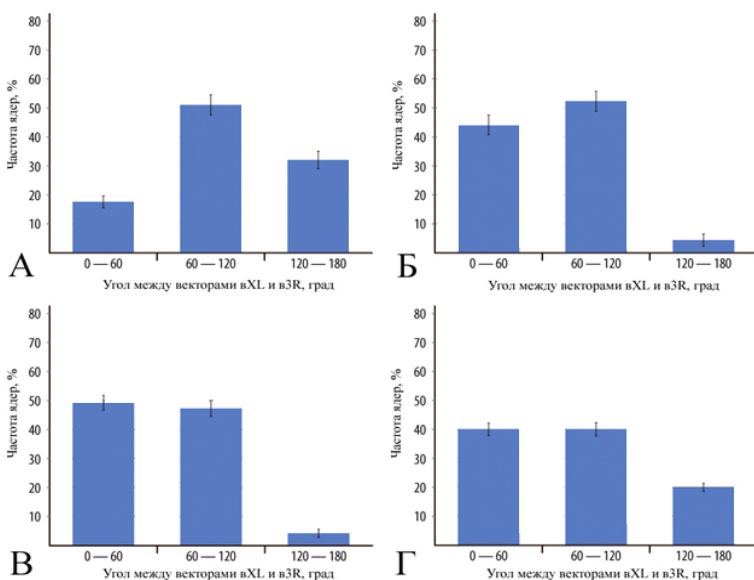


Рис. 3. Распределение частот ядер трофоцитов (А), клеток слюнных желез (Б), клеток фолликулярного эпителия (В) и клеток имагинальных дисков (Г) с различным взаиморасположением районов прикрепления XL и 3R хромосом: различия во взаиморасположении районов прикрепления хромосом к ядерной оболочке характеризуются углом между векторами vXL и v3R (см. объяснение в тексте)

Распределения частот на диаграммах показывают, что клетки всех анализируемых тканей имеют особенности во взаиморасположении точек прикрепления хромосом на ядерной оболочке, что подтверждает сравнение выборок с помощью критерия Манна–Уитни.

В клетках разных тканей мы наблюдали как общие особенности, так и яркие различия. В трофоцитах яичников и клетках слюнных желез, т.е. в клетках с классическими политенными хромосомами, с частотой около 50% преобладают ядра со значением углов между векторами 60–120°, однако крайние значения углов соответствующие сближенному (0–60°) и удаленному (120–180°) расположению, встречались с разной частотой в этих тканях. Так, в трофоцитах преобладали ядра с удаленным взаиморасположением точек прикрепления хромосом (31,82%), тогда как в слюнных железах такие ядра были представлены с частотой 4,3%. Следует отметить примечательную закономерность, связанную с отличием трофоцитов – клеток зародышевого пути – от клеток соматической системы. Только в трофоцитах мы наблюдали высокую частоту ядер с удаленным расположением точек прикрепления хромосом и относительно низкую частоту ядер со сближенным расположением таких точек. Клетки соматической системы – слюнных желез, фолликулярного эпителия и имагинальных дисков – в общем проявляли сходство в преобладании ядер со сближенным и промежуточным (60–120°) распределением точек прикрепления хромосом друг относительно друга. Пожалуй, наиболее схожим является распределение клеток слюнных желез и фолликулярного эпителия, так как в обеих клеточных системах частота ядер с удаленным взаиморасположением точек прикрепления хромосом составляла около 5%. Эти клетки являются специализированными дифференцированными клетками с политенными хромосомами. Очевидно, что тип политении (у клеток фолликулярного эпителия скрытая политения, а у клеток слюнных желез классические политенные хромосомы) не влияет на пространственную структуру взаимных отношений XL и 3R хромосом у *An. messeae*. Следует отметить, что в недифференцированных активно делящихся клетках имагинальных дисков мы наблюдали более высокую частоту ядер с удаленным расположением точек крепления хромосом к ядерной оболочке. Клетки имагинальных дисков несколько отличаются от остальных клеток соматической системы, так как частота ядер с удаленным расположением точек прикрепления у них выше и составляет около 20%. В этом отношении клетки имагинальных дисков более сходны с трофоцитами, чем с клетками слюнных желез и фолликулярного эпителия.

Заключение

Полученные нами данные показали, что система пространственной организации точек крепления хромосом на ядерной оболочке имеет тканеспецифичные особенности. Взаиморасположение этих точек, по-видимому,

несет вероятностный характер, так как во всех клеточных системах нами был определен целый спектр значений удаленности районов прикрепления XL и 3R хромосом. Несмотря на это, статистический анализ частот распределения ядер со сближенным, промежуточным и удаленным расположением точек контактов показал, что разные типы взаимоположения хромосом встречаются с определенной частотой в разных типах тканей. Интерпретация результатов обнаруженных межтканевых различий в настоящее время затруднена. Данные по более низкому диапазону вариаций расстояний между точками крепления XL и 3R хромосом в клетках слюнных желез по сравнению с остальными клетками можно объяснить присутствием в этих клетках хромоцентра. Возможно, что хромоцентр является основной причиной преобладания ядер со сближенным и промежуточным взаиморасположением точек прикрепления хромосом в клетках соматической системы, так как известно, что в ядрах трофоцитов у малярийных комаров его нет. Информация о существовании хромоцентра в клетках имагинальных дисков и фолликулярного эпителия могла бы прояснить эту ситуацию.

Основное заключение, которое можно сделать из данной работы, состоит в том, что наиболее существенные отличия в пространственном взаиморасположении районов прикрепления XL и 3R хромосом наблюдались нами в клетках зародышевого пути – трофоцитах. Таким образом, мы подтвердили особое значение архитектуры хромосом в генеративной системе малярийного комара. Большой интерес вызывает отличие пространственной организации хромосом клеток имагинальных дисков от других клеток соматической системы, что наводит на мысль о присутствии в ядрах этих клеток необычной системы прикрепления хромосом к ядерной оболочке. Пока остается неясным, связаны ли наблюдаемые нами особенности данных клеток с их активным делением или со способностью к дальнейшей дифференцировке.

Следует принять во внимание, что настоящее исследование проведено только на двух хромосомах, с локализацией наиболее выраженных контактов с ядерной оболочкой. При исследовании взаиморасположения других точек крепления или точек крепления других хромосом результаты могут быть отличными от полученных в этой работе. Дальнейшие исследования будут направлены на выяснение причин межтканевых различий в ядерной архитектуре хромосом у малярийных комаров.

Литература

1. Zorn C., Cremer C., Cremer T., Zimmer J. Unscheduled DNA synthesis after partial UV irradiation of the cell nucleus // *Exp. Cell Res.* 1979. Vol. 124. P. 111–119.
2. Croft J.A., Bridger J.M., Boyle S., Perry P., Teague P., Bickmore W.A. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus // *J. Cell Biol.* 1999. Vol. 145 P. 1119–1131.
3. Bolzer A., Kreth G., Solovei I. et al. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes // *PLoS Biol.* 2005. № 3. P. e157.

4. Anan'ina T.V., Vedernikov A.E., Vasserlauf I.E. et al. Visualization of chromosome territories in interphase nuclei of ovarian nurse cells in *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) // *Genetika*. 2005. Vol. 41, № 10. P. 1350–1357.
5. Goetze S., Mateos-Langerak J., Gierman H.J. et al. The three-dimensional structure of human interphase chromosomes is related to the transcriptome map // *Mol. Cell. Biol.* 2007. Vol. 27, № 12. P. 4475–4487.
6. Rajapakse I., Groudine M. On emerging nuclear order // *The journal of cell biology*. 2011. № 192. P. 711–721.
7. van Steensel B., Dekker J. Genomics tools for unraveling chromosome architecture // *Nat. Biotechnol.* 2010. Vol. 28. P. 1089–1095.
8. 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.
9. Стегний В.Н. Реорганизация структуры интерфазных ядер в онто- и филогенезе малярийных комаров // Доклады АН СССР. 1979. Т. 249, № 5. С. 1231.
10. Артемов Г.Н., Стегний В.Н. Молекулярно-генетический анализ районов прикрепления хромосом к оболочке ядра трофоцитов яичников малярийных комаров *Anopheles maculipennis* // Вестник Томского государственного университета. 2010. Т. 13, № 2. С. 123–131.
11. Kokhanenko A.A., Anan'ina T.V., Stegnyy V.N. The changes in chromosome 6 spatial organization during chromatin polytenization in the *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) nurse cells // *Protoplasma*. 2013. Vol. 250, № 1. P. 141–149.
12. 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.

Поступила в редакцию 15.11.2013 г.

Авторский коллектив:

Артемов Глеб Николаевич – канд. биол. наук, н.с. лаборатории эволюционной цитогенетики Научно-исследовательского института биологии и биофизики Томского государственного университета; доцент кафедры цитологии и генетики Биологического института Томского государственного университета; с.н.с. Молодежного центра Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: g-artemov@mail.ru

Бондаренко Семен Александрович – студент кафедры цитологии и генетики Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: glebsapunov@yandex.ru

Стегний Владимир Николаевич – д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией эволюционной цитогенетики Научно-исследовательского института биологии и биофизики Томского государственного университета; зав. кафедрой цитологии и генетики Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: gene@res.tsu.ru

Gleb N. Artemov¹, Semen M. Bondarenko², Vladimir N. Stegny³

¹Laboratory of Evolutionary Cytogenetics, Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation. E-mail: g-artemov@mail.ru

²Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

³Laboratory of Evolutionary Cytogenetics, Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

The interposition of attachment points of XL and 3R chromosomes on the nuclear envelope in the cells of somatic and generative systems of malarial mosquito *Anopheles messeae* Fall.

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

The nonrandom position of chromosomes in the nucleus is provided by the attachment of chromosomes to the frame structure, the role of which can be performed by the nuclear lamina. There are two classes of lamina-associated domains in the genome: conservative for all tissues and tissue-specific. Contact formation in various chromosome regions can induce activation or repression of defined gene patterns, specific for each cell line. In this work, we proposed that this process may not only determine the presence or absence of contact of chromosomes with the envelope in certain areas, but also the position of the contacts of chromosomes, relative to each other, on the nuclear envelope. We defined remoteness of points of XL and 3R contacts to the nuclear envelope from each other in the internuclear space of the cells of *Anopheles messeae* Fall. The localization of regions was performed by 3D FISH of microdissected DNA-probes of 32d and 2b-c regions with intact nuclei of nurse cells, salivary glands cells, follicular epithelium cells and imaginal discs cells. These cells differed from each other by the level of ploidy (polyploidy and diploid cells), by the type of polyteny (classic polytene chromosomes cells and cells with cryptic polyteny), by the way of differentiation (germ line cells and somatic cells) and by the potential for further development (terminally differentiated and stem cells). The estimation of the distance between points of chromosomes contacts to the nuclear envelope was performed by determining the angle between two imaginary vectors, drawn from the center of the nucleus to the corresponding points of contact.

We showed that the interposition of points of contacts for XL and 3R chromosomes is tissue-specific. The main conclusion, made on the basis of the results of this work, lies in the fact that the most significant differences in the spatial interpositions of XL and 3R chromosomes attachment areas are observed in germ-line cells – nurse cells. Thus, we confirmed the special importance of interposition of attachment points of the chromosomes in the cells of the generative system of malarial mosquitoes. Of great interest is the difference of spatial organization of chromosomes of imaginal disc cells from other cells of the somatic system, which indicates the presence of an unusual system of chromosome attachment to the nuclear envelope, perhaps similar to the nurse cells, in the nuclei of these cells. It remains unclear, whether the observed features of these cells are connected with their active division or the ability to further

differentiation. Further research will be aimed at clarifying the causes of interstitial differences in the nuclear architecture of chromosomes.

Key words: spatial organization of the nucleus; regions of chromosomes attachment to the nuclear envelope; the contact points of the chromosomes with the nuclear envelope; malaria mosquitoes; *Anopheles*.

Received November 15, 2013

References

1. Zorn C, Cremer C, Cremer T, Zimmer J. Unscheduled DNA synthesis after partial UV irradiation of the cell nucleus. *Exp Cell Res*. 1979;124:111-119.
2. Croft JA, Bridger JM, Boyle S, Perry P, Teague P, Bickmore WA. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus. *J. Cell Biol*. 1999;145:1119-1131.
3. Bolzer A, Kreth G, Solovei I et al. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes. *PLoS Biol*. 2005;3:e157.
4. Anan'ina T.V., Vedernikov A.E., Vasserlauf I.E. et al. Visualization of chromosome territories in interphase nuclei of ovarian nurse cells in *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae). *Russian Journal of Genetics*. 2005;41(10):1106-1112.
5. Goetze S, Mateos-Langerak J, Gierman HJ et al. The three-dimensional structure of human interphase chromosomes is related to the transcriptome map. *Mol Cell Biol*. 2007;27(12):4475-4487.
6. Rajapakse I, Groudine M. On emerging nuclear order. *J Cell Biol*. 2011;192:711-721.
7. van Steensel B, Dekker J. Genomics tools for unraveling chromosome architecture. *Nat Biotechnol*. 2010;28:1089-1095.
8. 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;23:270-280.
9. Stegny V.N. Reorganizatsiya struktury interfaznykh yader v onto- i filogeneze malyariynykh komarov. Doklady AN SSSR. 1979. Vol. 249, No 5. PP. 1231. [Stegny V.N. Reorganization of interphase nucleus structure in onto- and phylogeny of anopheles. *The Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1979;249(5):1231.] In Russian
10. Artemov G.N., Stegny V.N. Molekulyarno-geneticheskiy analiz rayonov prikrepleniya khromosom k obolochke yadra trofotsitov yaichnikov malyariynykh komarov *Anopheles kompleksa maculipennis*. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. 2010. No 2(13). PP. 123-131. [Artemov GN, Stegny VN. Molecular-genetic analysis of regions of chromosome attachment to nurse cells nuclear envelope of *Anopheles* from *maculipennis* complex. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2010;2(13):123-131.] In Russian, English summary
11. Kokhanenko AA., Anan'ina TV, Stegny V.N. The changes in chromosome 6 spatial organization during chromatin polytenization in the *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) nurse cells. *Protoplasma*. 2013;250(1):141-149.
12. Stegny V.N. Sistemnaya reorganizatsiya arkhitektoniki politennykh khromosom v onto- i filogeneze malyariynykh komarov. Soobshchenie I. Razlichiya struktury yader somaticheskikh i generativnoy tkaney. Genetika. 1987. Vol. 23, No 5. PP. 821-827. [Stegny V.N. Systemic reorganization of polytene chromosomes architectonics in onto- and phylogeny of anopheles. Plot I. Differences in the nucleus structure of somatic and generative tissues. *Genetika*. 1987;23(5):821-827.] In Russian