

## РОЛЬ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ЭВОЛЮЦИИ ПОЛОВЫХ ХРОСОМ У ПТИЦ

© А. Ф. Сайфитдинова,<sup>1,\*</sup> С. А. Галкина,<sup>1</sup> Е. И. Кошель,<sup>1</sup> Е. Р. Гагинская<sup>1</sup>

<sup>1</sup> С.-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034;

\* электронный адрес: a.saiifidinova@spbu.ru

В настоящей работе мы проанализировали распределение и транскрипционную активность представителей известных семейств повторяющихся элементов в составе половых хромосом у курицы на стадии ламповых щеток. На основе полученных данных мы предположили участие рассеянных повторов в поддержании эволюционно значимого уровня изменчивости гетероморфных половых хромосом у птиц. Исследование особенностей организации повторов, специфичных для половой хромосомы W курицы, позволило сформулировать гипотезу о роли накопления обогащенных гомопуриновыми участками tandemных повторов в эволюции половых хромосом.

Ключевые слова: курица, повторяющиеся последовательности, транскрипция, мутагенез, хромосомы типа ламповых щеток.

Принятые сокращения: ЛЩ — ламповые щетки, п.н. — пара нуклеотидов, ПЦР — полимеразная цепная реакция.

Несмотря на существенные различия в уровне сложности организации и развития, количество генов, кодирующих белки, меняется незначительно не только у разных представителей типа позвоночных, но и в пределах многоклеточных организмов в целом (Gregory, 2005). В то же время результаты сравнительного анализа геномов показали, что доля последовательностей, не кодирующих белки, лавинообразно нарастает по мере усложнения многоклеточных организмов (Mattick, 2007). Значительную долю некодирующих элементов составляют tandemно повторяющиеся последовательности и семейства рассеянных повторов, происходящих из мобильных элементов различной природы, которые относятся к наиболее пластичной части генома и испытывают меньшее давление отбора. В настоящее время не вызывает сомнения, что наряду с остальной некодирующей ДНК повторы играют важную роль в регуляции дифференциальной экспрессии генов и, следовательно, определяют особенности онтогенеза (ENCODE Project Consortium, 2004; Djebali et al., 2012). Помимо архитектурной роли сателлитов все больше данных свидетельствует в пользу регуляторной роли как рассеянных, так и tandemно повторяющихся последовательностей, которые зачастую являются сайтами связывания для транскрипционных факторов, а также служат предшественниками малых интерферирующих РНК (Aravin et al., 2001; Ugarkovic, 2005; Djebali et al., 2012; Ezaz, Deakin, 2014).

В геномах птиц общее содержание повторяющихся последовательностей существенно ниже, чем в геномах представителей других классов позвоночных (Primmer et al., 1997; Burt, 2002; Zhang et al., 2014). При этом значительная часть tandemных повторов приходится на долю половых хромосом Z и W у самок и двух копий Z у сам-

цов (Itoh, Mizuno, 2002; Delany et al., 2003; Bellott et al., 2010; Zhang et al., 2014). Эволюция половых хромосом у птиц происходила независимо от других групп позвоночных, однако, как и у других видов с генетическим определением пола, сопровождалась процессами подавления кроссинговера и деградацией одного из гомологов (Bellott et al., 2010). Накопление повторяющихся элементов — характерная особенность эволюционных преобразований гетероморфных половых хромосом (Jablonska, Lamb 1990; Charlesworth et al., 2005). Однако до сих пор остается неясным, является ли это следствием деградации хромосомы, не имеющей возможности для полноценной рекомбинации, или этот феномен играет другую роль, возможно связанную со значением повторяющихся элементов генома в дифференцировке половых хромосом.

Ооциты птиц предоставляют уникальную возможность для исследования хромосом с высоким разрешением благодаря преобразованию хромосом на диплотенной стадии профазы мейоза I в так называемые хромосомы типа ламповых щеток (ЛЩ) (Ruckert, 1892; Callan, 1986). Как и у всех организмов с гипертранскрипционным типом оогенеза, ЛЩ птиц характеризуются гигантскими размерами и высокой транскрипционной активностью (Morgan, 2002; Gaginskaya et al., 2009). Благодаря активности ЛЩ в ядре ооцита синтезируется колоссальное количество РНК и, по-видимому, в основном с последовательностей, не кодирующих белки (Gaginskaya et al., 2009). Среди птиц лучше всего охарактеризованы ЛЩ домашней курицы и получены экспериментальные доказательства транскрипции в оогенезе следующих tandemных повторов: теломерного (Solovei et al., 1994, 1995), PR1 (Solovei et al., 1996), PO41, CNM (Derjusheva et al., 2007) и

LL2R (Красикова и др., 2010). Получены данные, позволяющие предполагать, что транскрипты тандемных повторов могут служить источником коротких регуляторных РНК, возможно необходимых для инактивации хроматина в раннем эмбриогенезе (Derjusheva et al., 2007; Gaginskaya et al., 2009). Что касается известных к настоящему моменту повторяющихся последовательностей половых хромосом птиц, то показаны транскрипция Z-максисателлита курицы (Hori et al., 1996) и отсутствие транскрипции W-специфичных повторов EcoRI, XhoI (Solovei et al., 1998) и SspI (Itoh et al., 2002).

Основываясь на литературных и собственных данных о транскрипционной активности различных повторяющихся элементов генома в составе половых хромосом в оогенезе птиц на модели хромосом-ЛЩ у курицы, в настоящей работе мы сформулировали гипотезу о роли повторяющихся элементов генома в организации и функционировании половых хромосом у птиц.

### Материал и методика

В качестве объекта исследования была использована домашняя курица *Gallus gallus domesticus*. Взрослые самки в возрасте от 7 мес до 1 года коммерческого кросса Hiseх White были приобретены на птицефабрике Скворицы Гатчинского р-на Ленинградской обл. Материалом исследования служили ЛЩ, изолированные из растущих ооцитов диаметром 1—2 мм согласно протоколу, описанному ранее (Solovei et al., 1993; Saifitdinova et al., 2003; <http://projects.exeter.ac.uk/lampbrush/protocols.htm>). После фиксации в 70%-ном этаноле (4 °С) в течение ночи препараты обезвоживали в 96%-ном этаноле и высушивали на воздухе.

Препараты митотических хромосом курицы получали из фибробластов 4—5-суточных эмбрионов стандартным способом (Родионов, Дукельская, 1979; Родионов и др., 1989).

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). Для приготовления гибридизационного зонда к рассеянному повторм из генома курицы 1 мкг коммерческого препарата Chicken Hyblock (Applied Genetics Laboratories, Inc., США) метили биотином-11-дУТФ (Силекс, Россия) методом ник-трансляции с использованием коммерческого набора реактивов (Invitrogen, США). Последовательность повтора XhoI длиной 0.7 тыс. п. н., клонированную в плазмиде pUGD0600 (Kodama et al., 1987), и последовательность повтора EcoRI длиной 1.2 тыс. п. н., клонированную в плазмиде pUGD1202 (Saitoh et al., 1991), метили биотином-11-дУТФ (Силекс, Россия) или дигоксигенином-11-дУТФ (Roche Diagnostics, Швейцария) ник-трансляцией с помощью вышеуказанного набора реактивов. Последовательность SspI-повтора (длиной 313 п. н.) была получена с помощью ПЦР с использованием праймеров SSPF1 и SSPR1 (Itoh, Mizuno, 2002) и геномной ДНК курицы в качестве матрицы и помечена биотином-11-дУТФ (Силекс, Россия) при проведении второго раунда ПЦР.

Меченые последовательности ChickenHyblock, XhoI, EcoRI и SspI растворяли в стандартном гибридизационном буфере — 50%-ный формамид (Sigma, США), 10%-ный декстрансульфат (Sigma, США) и 2-кратный SSC — до конечной концентрации 20 нг/мкл в присутствии носителя тРНК *Escherichia coli* в 50-кратном избытке. Выявление новой повторяющейся последовательности

(GGAAA)n (Saifitdinova et al., 2015) проводили, используя синтетический олигонуклеотид GGAAA-neg 5'-(CCTTT)<sub>5</sub>CC, полученный на синтезаторе ДНК/РНК ASM-800 (БИОССЕТ, Россия) и прямо меченный флуорохромом 6-FAM (Бигль, Россия), в соответствии с предложенной ранее схемой синтеза (Stepakov et al., 2015). Олигонуклеотиды растворяли в стандартном гибридизационном буфере до конечной концентрации 10 нг/мкл, как описано выше.

Гибридизацию на митотических хромосомах проводили по стандартному протоколу, включая обработку РНКазой (100 мкг/мл) и пепсином (0.01 %). Гибридизацию на хромосомах-ЛЩ проводили по протоколу ДНК/ДНК+РНК, без использования предобработок (Galikina et al., 2006). После совместной денатурации ДНК зонда и нуклеиновых кислот на препарате (82.5 °С, 5 мин) препараты инкубировали в течение ночи во влажной камере при 37 °С, после чего проводили отмывки в двух сменах 0.2×SSC и двух сменах 2×SSC при 62 °С. Меченные биотином или дигоксигенином последовательности детектировали с помощью стрептавидина-Cy3 (Roche Diagnostics, Швейцария), авидина-Alexa488 (Invitrogen, США) или мышиными антителами к дигоксигенину, конъюгированными с Cy3 (Roche Diagnostics, Швейцария). Инкубацию препаратов в ходе FISH с прямо меченным олигонуклеотидным зондом GGAAA-neg проводили во влажной камере в течение ночи при комнатной температуре; постгибридизационные отмывки включали в себя три смены 2×SSC при 28—30 °С. Для окрашивания хромосом в заключающую среду добавляли DAPI. Препараты анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа DM 4000B (Leica Microsystems, Германия), оборудованного черно-белой-CCD камерой и набором комбинированных фильтров для соответствующих флуорохромов. Для получения и обработки изображений использовали программное обеспечение Leica QFISH (Leica Cambridge, Великобритания) и Adobe Photoshop CS5 (Adobe Systems, США).

### Результаты и обсуждение

В составе полового бивалента в ооцитах птиц хромосома Z сильно деспирализована (рис. 1, а), имеет вид типичной ЛЩ с большим числом латеральных петель нормальной морфологии (Кропотова, Гагинская, 1984; Чельшева и др., 1990; Solovei et al., 1993; Hori et al., 1996; Mizuno, Macgregor, 1998; Derjusheva et al., 2003; Saifitdinova et al., 2003). Хромосома W на стадии ЛЩ, напротив, сильно конденсирована, так что в ней хорошо различимы 7 компактных хромомеров (Solovei et al., 1993; Ogawa et al., 1997; Solovei et al., 1998) и очень небольшое число коротких латеральных петель. В области единственной хиазмы и Z, и W несут по паре гигантских терминальных петель (ТГЛ) (Чельшева и др., 1990; Solovei et al., 1993).

В настоящей работе мы обнаружили, что значительная часть латеральных петель полового бивалента гибридизируется с зондом фракции рассеянных повторов (рис. 1, б), что свидетельствует об интенсивной транскрипции на стадии ЛЩ наименее консервативных, эволюционно пластичных последовательностей в составе и Z-, и W-хромосом. Такой высокий уровень транскрипции может приводить к увеличению степени котранскрипционного мутагенеза исходной матричной ДНК (Li, Manlei, 2006; Kim, Jinks-Robertson, 2012; Taylor et al., 2014).

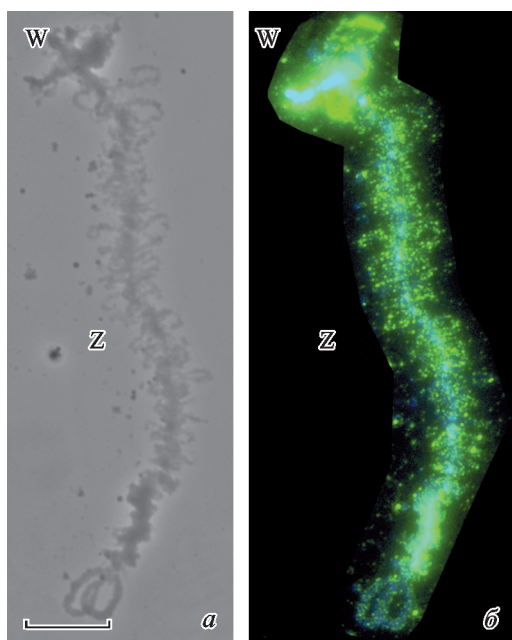


Рис. 1. Флуоресцентная ДНК/(ДНК+РНК) in situ-гибридизация с умеренными повторами генома курицы (фракция Chicken-Hybblock) с половым бивалентом в фазе ламповых щеток.

*a* — фазовый контраст; *б* — хромосомы окрашены DAPI (голубая флуоресценция), детекция сигнала конъюгатом Avidin-Alexa488 (зеленая флуоресценция). Масштабный отрезок: 10 мкм.

Можно полагать, что котранскрипционный мутагенез интенсивно транскрибирующихся латеральных петель ЛЩ может поддерживать необходимый уровень изменчивости в половых хромосомах, имеющих ограниченный по протяженности псевдоаутосомный район (Zhou et al., 2014). Это хорошо согласуется с данными о том, что скорость изменчивости W-хромосомы у птиц выше теоретически предсказанной (Ellegren, 2007).

В то же время известно, что около 70 % хромосомы W курицы составляют высокие тандемные повторы, среди которых охарактеризованы семейства *XhoI*, *EcoRI* и *SspI* (Kodama et al., 1987; Saitoh et al., 1991; Itoh, Mizuno, 2002), а также описанный нами повторяющийся элемент (GGAAA)<sub>n</sub> (Saifitdinova et al., 2015). Эти последовательности участвуют в формировании хромомеров, но не входят в состав латеральных петель (Solovei et al., 1998; Itoh, Mizuno, 2002; наши данные, рис. 2). Таким образом, можно предположить, что последовательности этих повторяющихся элементов генома в ходе оогенеза защищены от внесения изменений и наряду с кодирующими участками генома, входящими в состав хромомерных осей ЛЩ, могут быть важными регуляторными элементами.

Стоит отметить, что элементарные единицы повторов *XhoI* и *EcoRI* содержат в своем составе так называемые искривленные последовательности, характеризующиеся ретардацией при анализе методом гель-электрофореза и включающие в себя полипуриновые участки (A)<sub>3-5</sub>, отделенные 6—7 нуклеотидами от полипиримидиновых мотивов (T)<sub>3-4</sub> (Kodama et al., 1987; Saitoh et al., 1991). Подобные повторы описаны также в составе W-хромосомы индейки и фазана (Saitoh et al., 1989). Считается, что такие последовательности участвуют в поддержании H-формы ДНК (триплекса), которая играет важную роль в структурно-функциональной организации гетерохромати-

новых районов хромосом, в частности половой хромосомы W птиц (Saitoh et al., 1991).

Повторяющийся элемент из семейства *SspI* включает в себя протяженные гомопуриновые участки, которые не оказывают влияния на его подвижность в геле. Другая его особенность — диспергированная локализация в пространстве интерфазного ядра (Itoh, Mizuno, 2002). Гомопуриновый повторяющийся элемент (GGAAA)<sub>n</sub>, описанный и охарактеризованный нами, обнаруживает подобные свойства (Saifitdinova et al., 2015). Известно, что гомопуриновые участки распространены в геномах эукариот и часто присутствуют в регуляторных областях (Wells et al., 1988; Mirkin, Frank-Kamenetskii, 1994). Они склонны к формированию стабильных гибридов ДНК-РНК, устойчивых к действию РНКазы H и обратной транскриптазы (Xiong, Sundaralingam, 2000). В опубликованной сборке генома курицы *Gallus gallus-4.0* (Galgal4, GCA\_000002315.2) мы обнаружили 165 сайтов локализации повтора GGAAA, из которых 45 — на хромосоме 1 (GGA1), 40 — на GGA2, 34 — на GGAZ, 16 — на GGA3, 10 — на GGA4, 2 — на GGA5 и 18 — на других хромосомах. Интересно, что повторяющаяся последовательность (GGAAA)<sub>n</sub> была описана ранее в составе 5'-транскрибирующейся некодирующей области гена овотрансферрина у фазана; в геноме курицы описаны 2 родственных повтора в составе регуляторных областей генов, отвечающих за дифференцировку гонад (Maroteaux et al., 1983). Этот повтор описан также в составе промотора гена промежу-

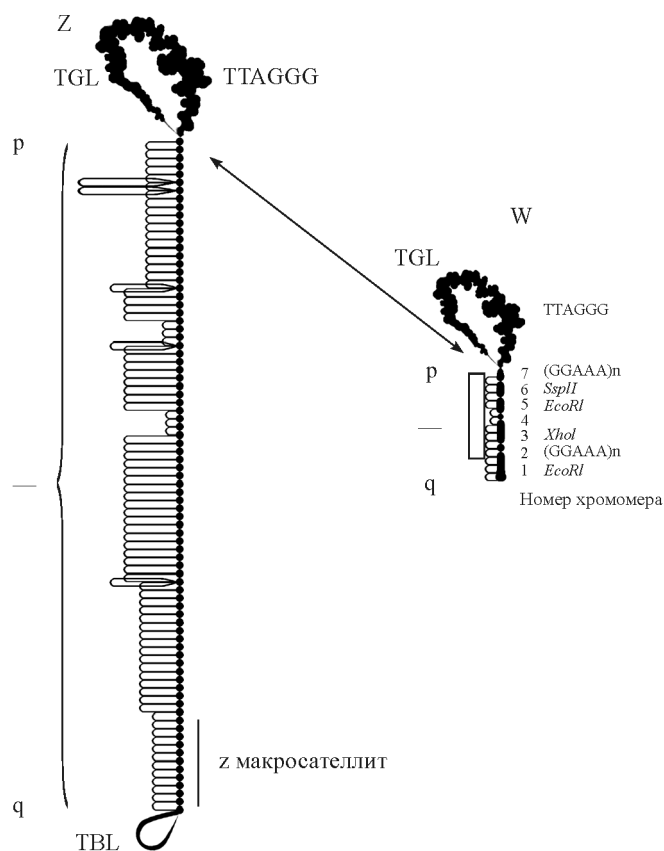


Рис. 2. Схема распределения повторяющихся элементов в половых хромосомах курицы на стадии ламповых щеток.

Места транскрипции рассеянных повторов в составе латеральных петель отмечены фигурной скобкой, стрелка указывает на места локализации хиазм (в псевдоаутосомных районах хромосом).

точного нейрофиламента NF-M, который характеризуется сложным и точно регулируемым паттерном экспрессии во время дифференцировки нервных клеток (Zorl et al., 1990). Экспериментально доказано, что транскрипция гомопуриновых участков оказывает влияние на транскрипционную активность генов, в промоторах которых содержится этот элемент (Raghu et al., 1994). Таким образом, повторяющиеся последовательности в составе хромосомы W, обогащенные гомопуриновыми участками и демонстрирующие диспергированное состояние в интерфазных ядрах, могут играть регуляторную роль в дифференцировке, направленной на проявление признаков, специфичных для женского пола у курицы.

Существует точка зрения, согласно которой ключевым моментом в формировании *de novo* и последующей эволюции половых хромосом является приобретение функции определения пола одним из гомологов (Carvalho, 2002). Несмотря на все усилия, в составе W-хромосомы птиц пока так и не удалось найти ген, который мог бы претендовать на роль такого регулятора (Chen et al., 2012; Ayers et al., 2013; Schmid et al., 2015). Установлено, что при дифференцировке гонад у курицы решающее значение имеет эффект дозы гена (Schmid et al., 2015). До сих пор нет данных о том, что особи с кариотипом Z0 будут развиваться в полноценных самок, однако существуют данные о том, что такой фенотип приводит к гибели цыпленка еще до вылупления (Graves, 2003). Можно предположить, что наличие двух копий хромосомы Z является необходимым условием для начальных этапов дифференцировки гонад, однако для формирования полноценного фенотипа самки необходимо присутствие хромосомы W. Подобный эффект описан для половых хромосом у дрозофилы, когда в половой хромосоме Y в значительном числе копий присутствуют повторяющиеся последовательности, которые также присутствуют в других частях генома и выполняют регуляторные функции, оказывая влияние на уровень экспрессии различных генов, участвующих в половой дифференцировке (Ezaz, Deakin, 2014).

Имея в виду особенности организации повторов, специфичных для половой W-хромосомы курицы, мы предполагаем, что повторяющиеся последовательности, обогащенные гомопуриновыми участками, такие как *SspI* и (GGAAA)<sub>n</sub>, играют важную роль в половой дифференцировке, и их накопление имело определяющее значение в эволюции половых хромосом птиц.

Авторы выражают благодарность А. Г. Демину за помощь в проведении экспериментов, И. В. Соловей за предоставленные плазмиды pUGD0600 и pUGD1202, А. С. Комиссарову и И. С. Кузнецовой за плодотворное обсуждение результатов.

Исследование проводится в рамках тематики ведущей НИИ, поддержанной грантом президента РФ (№ 3553.2014.4), и частично финансируется из средств бюджета СПбГУ (темы 1.37.153.2014 и 1.50.1043.2014). Для выполнения экспериментов использовано оборудование Ресурсного центра ЦКП «Хромас» Научного парка СПбГУ.

#### Список литературы

Красикова А. В., Василевская Е. В., Гагинская Е. Р. 2010. Хромосомы типа ламповых щеток домашней курицы: транскрипция тандемно повторяющихся последовательностей ДНК.

Genetika. 46 (10) : 1329—1334. (Krasikova A. V., Vasilevskaya E. V., Gaginskaya E. R. 2010. Chicken lampbrush chromosomes: transcription of tandemly repetitive DNA sequences. Genetika. 46 (10) : 1329—1334.)

Кропотова Е. В., Гагинская Е. Р. 1984. Хромосомы типа ламповых щеток из ооцитов японского перепела. Данные световой и электронной микроскопии. Цитология. 26 (9) : 1008—1015. (Kropotova E. V., Gaginskaya E. R. 1984. Lampbrush chromosomes from the Japanese quail oocytes. Tsitologiya. 26 (9) : 1008—1015.)

Родионов А. В., Дукельская А. В. 1979. Дифференциальное окрашивание хромосом цыпленка флуорохромом «Хёхст». В кн.: Сб. науч. трудов ВНИИРГЖ. 28 : 117—121. (Rodionov A. V., Dukelskaya A. V. 1979. Differential staining of chromosomes chicken fluorochrome «Hoechst». In: Collecting scientific works of RSRIGBFA. 28 : 117—121.)

Родионов А. В., Чельшьева Л. А., Кропотова Е. В., Гагинская Е. Р. 1989. Гетерохроматиновые районы хромосом курицы и японского перепела в митозе и на стадии ламповых щеток. Цитология. 31 : 867—873. (Rodionov A. V., Chelysheva L. A., Kropotova E. V., Gaginskaya E. R. 1989. Heterochromatic regions of the chromosomes in mitosis and at the lampbrush stage in the domestic fowl and Japanese quail. Tsitologiya 31 : 867—873.)

Чельшьева Л. А., Соловей И. В., Родионов А. В., Яковлев А. Ф., Гагинская Е. Р. 1990. Хромосомы-ламповые щетки курицы: цитологические карты макрохромосом. Цитология. 32 (4) : 303—316. (Chelysheva L. A., Solovei I. V., Rodionov A. V., Yakovlev A. F., Gaginskaya E. R. 1990. The lampbrush chromosomes of the chicken. The cytological map of macrobivalents. Tsitologiya 32 (4) : 303—316.)

Aravin A. A., Naumova N. M., Tulin A. V., Vagin V. V., Rozovsky Y. M., Gvozdev V. A. 2001. Double-stranded RNA-mediated silencing of genomic tandem repeats and transposable elements in the *D. melanogaster* germline. Curr. Biol. 11 : 1017—1027.

Ayers K. L., Davidson N. M., Demiyah D., Roeszler K. N., Gruetzner F., Sinclair A. H., Oshlack A., Smith C. A. 2013. RNA sequencing reveals sexually dimorphic gene expression before gonadal differentiation in chicken and allows comprehensive annotation of the W-chromosome. Genome Biol. 14 : R26. doi: 10.1186/gb-2013-14-3-r26.

Bellott D. W., Skaletsky H., Pyntikova T., Mardis E. R., Graves T., Kremitzki C., Brown L. G., Rozen S., Warren W. C., Wilson R. K., Page D. C. 2010. Convergent evolution of chicken Z and human X chromosomes by expansion and gene acquisition. Nature. 466 : 612—613.

Burt D. W. 2002. Origin and evolution of avian microchromosomes. Cytogenet Genome Res. 96 : 97—112.

Callan H. G. 1986. Lampbrush chromosomes. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag. 252 p.

Carvalho A. B. 2002. Origin and evolution of the *Drosophila* Y chromosome. Curr. Opin. Genet. Develop. 12 : 664—668.

Charlesworth D., Charlesworth B., Marais G. 2005. Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes. Heredity. 95 : 118—128.

Chen N., Bellott D. W., Page D. C., Clark A. G. 2012. Identification of avian W-linked contigs by short-read sequencing. BMC Genomics. 13 : 183.

Delany M. E., Daniels L. M., Swanberg S. E., Taylor H. A. 2003. Telomeres in the chicken: genome stability and chromosome ends. Poultry Sci. 82 : 917—926.

Derjusheva S., Krasikova A., Kulikova T., Gaginskaya E. 2007. Tandem 41-bp repeats in chicken and Japanese quail genomes: FISH mapping and transcription on lampbrush chromosomes. Chromosoma. 116 : 519—530.

Derjusheva S., Kurganova A., Krasikova A., Saifitdinova A., Habermann F. A., Gaginskaya E. 2003. Precise identification of chicken chromosomes in the lampbrush form using chromosome painting probes. Chromosome Res. 11 : 749—757.

Djebali S., Davis C. A., Merkel A. et al. 2012. Landscape of transcription in human cells. Nature. 489 : 101—108.

- Ellegren H. 2007. Molecular evolutionary genomics of birds. *Cytogenet. Genome Res.* 117 : 120—130.
- ENCODE Project Consortium. 2004. The ENCODE (ENCyclopedia of DNA elements) Project. *Science.* 306 : 636—640.
- Ezaz T., Deakin J. E. 2014. Repetitive sequence and sex chromosome evolution in Vertebrates. *Adv. Evol. Biol.* 104683 : 1—9.
- Gaginskaya E., Kulikova T., Krasikova A. 2009. Avian lampbrush chromosomes: a powerful tool for exploration of genome expression. *Cytogenet. Genome Res.* 124 : 251—267.
- Galkina S., Derjusheva S., Fillon V., Vignal A., Crooijmans R., Groenen M., Rodionov A., Gaginskaya E. 2006. FISH on avian lampbrush chromosomes produces higher resolution gene mapping. *Genetica.* 128 : 241—251.
- Graves J. A. M. 2003. Sex and death in birds: a model of dosage compensation that predicts lethality of sex chromosome aneuploids. *Cytogenet. Gen. Res.* 101 : 278—282.
- Gregory T. R. 2005. Synergy between sequence and size in large-scale genomics. *Nat. Rev. Genet.* 6 : 699—708.
- Hori T., Suzuki Y., Solovei I., Saitoh Y., Hutchison N., Ikeda J. E., Macgregor H., Mizuno S. 1996. Characterization of DNA sequences containing the terminal heterochromatin of the chicken Z-chromosomes. *Chromosome Res.* 4 : 411—426.
- Itoh Y., Mizuno S. 2002. Molecular and cytological characterization of Sspl-family repetitive sequence on the chicken W chromosome. *Chromosome Res.* 10 : 499—511.
- Jablonka E., Lamb M. J. 1990. The evolution of heteromorphic sex chromosomes. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 65 : 249—276.
- Kodama H., Saitoh H., Tone M., Kuhara S., Sakaki Y., Mizuno S. 1987. Nucleotide sequences and unusual electrophoretic behavior of the W chromosome-specific repeating DNA units of the domestic fowl, *Gallus gallus domesticus*. *Chromosoma.* 96 : 18—25.
- Kim N., Jinks-Robertson S. 2012. Transcription as a source of genome instability. *Nat. Rev. Genet.* 13 : 204—214.
- Li X., Manley J. L. 2006. Cotranscriptional processes and their influence on genome stability. *Genes. Develop.* 20 : 1838—1847.
- Maroteaux L., Heilig R., Dupret D., Mandel J. L. 1983. Repetitive satellite-like sequences are present within or upstream from 3 avian protein-coding genes. *Nucl. Acids Res.* 11 : 1227—1243.
- Mattick J. S. 2007. A new paradigm for developmental biology. *J. Exp. Biol.* 210 : 1526—1547.
- Mirkin S. M., Frank-Kamenetskii M. D. 1994. H-DNA and related structures. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 23 : 541—576.
- Mizuno S., Macgregor H. 1998. The ZW lampbrush chromosomes of birds: a unique opportunity to look at the molecular cytogenetics of sex chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.* 80 : 149—157.
- Morgan G. T. 2002. Lampbrush chromosomes and associated bodies: new insights into principles of nuclear structure and function. *Chromosome Res.* 10 : 177—200.
- Ogawa A., Solovei I., Hutchison N., Saitoh Y., Ikeda J. E., Macgregor H., Mizuno S. 1997. Molecular characterization and cytological mapping of a non-repetitive DNA sequence region from the W chromosome of chicken and its use as a universal probe for sexing Carinatae birds. *Chromosome Res.* 5 : 93—101.
- Primmer C. R., Raudsepp T., Chowdhary B. P., Moller A. P., Ellegren H. 1997. Low frequency of microsatellites in the avian genome. *Genome Res.* 7 : 471—482.
- Raghu G., Tevosian S., Anant S., Subramanian K. N., George D. L., Mirkin S. M. 1994. Transcriptional activity of the homopurine-homopyrimidine repeat of the c-Ki-ras promoter is independent of its H-forming potential. *Nucl. Acids Res.* 22 : 3271—3279.
- Rückert J. 1892. Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachiern. *Anat. Anz.* 7 : 107—158.
- Saifitdinova A., Derjusheva S., Krasikova A., Gaginskaya E. 2003. Lampbrush chromosomes of the chaffinch (*Fringilla coelebs* L.). *Chromosome Res.* 11 : 99—113.
- Saifitdinova A. F., Komissarov A. S., Galkina S. A., Koshel E. I., Kulak M. M., O'Brien S. J., Gaginskaya E. R. 2015. A novel chicken W chromosome specific tandem repeat. *Int. J. Bioeng. Life Sci.* 2 : 1923.
- Saitoh Y., Harata M., Mizuno S. 1989. Presence of female-specific bent-repetitive DNA sequences in the genome of turkey and pheasant and their interactions with W-protein of chicken. *Chromosoma.* 98 : 250—258.
- Saitoh Y., Saitoh H., Ohtomo K., Mizuno S. 1991. Occupancy of the majority of DNA in the chicken W chromosome by bent-repetitive sequences. *Chromosoma.* 101 : 32—40.
- Schmid M., Smith J., Burt D. W. 2015. Third report on chicken genes and chromosomes. *Cytogenet. Genome Res.* 145 : 78—179.
- Solovei I., Gaginskaya E., Hutchison N., Macgregor H. C. 1993. Avian sex chromosomes in the lampbrush form: ZW lampbrush bivalents from six species of bird. *Chromosome Res.* 1 : 153—166.
- Solovei I., Gaginskaya E. R., Macgregor H. C. 1994. The arrangement and transcription of telomere DNA sequences at the ends of lampbrush chromosomes of birds. *Chromosome Res.* 2 : 460—470.
- Solovei I., Joffe B., Gaginskaya E., Macgregor H. C. 1996. Transcription on lampbrush chromosomes of a centromerically localized highly repeated DNA in pigeon (*Columba*) relates to sequence arrangement. *Chromosome Res.* 4 : 588—603.
- Solovei I., Macgregor H. C., Gaginskaya E. 1995. Specifically terminal clusters of telomere DNA sequences are transcribed from the C-rich strand on chicken lampbrush chromosomes. *Proc. Kew Chromosome Conference IV.* 1995 : 323—330.
- Solovei I., Ogawa A., Naito M., Mizuno S., Macgregor H. 1998. Specific chromomeres on the chicken W lampbrush chromosome contain specific repetitive DNA sequence families. *Chromosome Res.* 6 : 323—327.
- Stepakov A., Galkina S., Bogomaz D., Gaginskaya E., Saifitdinova A. 2015. Modified synthesis of 6-carboxyfluorescein (6-FAM): application to probe labeling for conventional cytogenetics. *British J. App. Sci. Technol.* 7 : 423—428.
- Taylor B. J., Wu Y. L., Rada C. 2014. Active RNAP pre-initiation sites are highly mutated by cytidine deaminases in yeast, with AID targeting small RNA genes. *Elife.* 3 : e03553. DOI : 10.7554/eLife.03553.
- Ugarkovic D. 2005. Functional elements residing within satellite DNAs. *EMBO Reports.* 6 : 1035—1039.
- Wells R. D., Collier D. A., Hanvey J. C., Shimizu M., Wohlrab F. 1988. The chemistry and biology of unusual DNA structures adopted by oligopurine-oligopyrimidine sequences. *FASEB J.* 2 : 2939—2949.
- Xiong Y., Sundaralingam M. 2000. Crystal structure of a DNA·RNA hybrid duplex with a polypurine RNA r(gaagaagag) and a complementary polypyrimidine DNA d(CTCTTCTTC). *Nucl. Acids Res.* 28 : 2171—2176.
- Zhang G., Li C., Li Q., Li B., Larkin D. M. et al. 2014. Comparative genomics reveals insights into avian genome evolution and adaptation. *Science.* 346 : 1311—1320.
- Zhou Q., Zhang J., Bachtrog D., An N., Huang Q., Jarvis E. D., Gilbert M. T., Zhang G. 2014. Complex evolutionary trajectories of sex chromosomes across bird taxa. *Science.* 346 : 1246338.
- Zopl D., Dineva B., Betz H., Gundelfinger E. D. 1990. Isolation of the chicken middle-molecular weight neurofilament (NF-M) gene and characterization of its promoter. *Nucl. Acids Res.* 18 : 521—529.

THE ROLE OF REPETITIVE SEQUENCES IN THE EVOLUTION  
OF SEX CHROMOSOMES IN BIRDS*A. F. Saifitdinova*<sup>1,\*</sup> *S. A. Galkina*<sup>1</sup> *E. I. Koshelev*<sup>1</sup> *E. R. Gaginskaya*<sup>1</sup><sup>1</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034;

\* e-mail: a.saifitdinova@spbu.ru

In this paper, we analyzed the distribution and the transcriptional activity of different repetitive elements in the sex chromosomes of chicken at the lampbrush stage. Based on these results, we suggest participation of interspersed repeats in the maintenance evolutionarily significant level of variability of heteromorphic sex chromosomes in birds. Analysis of the organization peculiarities of chicken sex chromosome W specific repeats allowed us to hypothesize that the accumulation of tandem repeats enriched with homopurine tracks is significant for the evolution of sex chromosomes.

**Key words:** chicken, repetitive DNA, transcription, mutagenesis, lampbrush chromosomes.

---