

## ЗАРОДЫШЕВЫЕ ГРАНУЛЫ В ООГЕНЕЗЕ ЖИВОТНЫХ

© 2020 г. М. А. Добрынин<sup>1</sup>\*, Н. И. Енукашвили<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

\*E-mail: [dobrmak1555@mail.ru](mailto:dobrmak1555@mail.ru)

Поступила в редакцию 23.08.2020 г.

После доработки 01.09.2020 г.

Принята к публикации 11.09.2020 г.

В эукариотических клетках часть макромолекул организована в виде безмембранных биомолекулярных конденсатов, в образовании которых ведущую роль играют процессы фазовых переходов типа “жидкость–жидкость” и “жидкость–твердое тело”. К подобным конденсатам относят также уникальные РНП-гранулы, характерные для клеток зародышевой линии и объединяемые под общим термином зародышевые гранулы (ЗГ). Цель данного обзора – обобщить последние данные о составе ЗГ и их предполагаемых функциях. Показано, что ЗГ принимают участие в определении клеток зародышевого пути у некоторых животных, а также вовлечены в процессы инактивации транспозонов и секвестрации мРНК и белков для временного снижения их активности.

**Ключевые слова:** оогенез, эмбриогенез, piage, безмембранные биомолекулярные конденсаты, зародышевые гранулы

DOI: 10.31857/S0041377120120020

Известно, что в эукариотических клетках существует несколько форм компартиментализации макромолекул. Одной из форм является организация макромолекул в виде биомолекулярных конденсатов. Конденсаты – это безмембранные компартменты, которые образуются при высокой концентрации белков и нуклеиновых кислот. Решающую роль в образовании конденсатов играют процессы фазового перехода (Han et al., 2012; Weber, Brangwynne, 2012; Hondele et al., 2019). Среди таких бимолекулярных конденсатов в клетках зародышевой линии выделяют уникальные РНП-гранулы, часто обозначаемые общим термином зародышевые гранулы (ЗГ) или germ (germinal) granules (germ cell granules), первое описание которых было сделано И.И. Мечниковым (Anderson, Kedersha, 2006). Под действием обратимых поливалентных взаимодействий диффузно распределенные компоненты ЗГ могут агрегировать в

жидкие капли или образовывать так называемые “твердые” тела. Реализация подобных переходов возможна благодаря наличию в ЗГ белков, содержащих большие внутренне неупорядоченные области (intrinsically disordered region, IDR). Благодаря этому при определенных физико-химических условиях становится возможным разделение фаз “жидкость–жидкость” или “жидкость–твердое тело”, где “твердое тело” это вязкоупругий макромолекулярный преципитат, который состоит из белка, выпавшего в осадок (Han et al., 2012). Несмотря на большое количество данных, пока еще не сформировано единого представления о номенклатуре, составе и функциях ЗГ. Это создает значительные затруднения как при описании и интерпретации результатов исследований, так и при коммуникации между различными исследовательскими группами. Цель данного обзора – обобщить последние данные о составе ЗГ и их предполагаемых функциях.

### ИНДУКТИВНАЯ И НАСЛЕДСТВЕННАЯ СПЕЦИФИКАЦИЯ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

Клетки, формирующие зародышевую линию, отличаются от соматических рядом специфических функциональных особенностей (Aguero et al., 2017). В них блокированы процессы дифференцировки в соматические клетки, но сохраняется потенциал к формированию тотипотентной зиготы после оплодотворения. Их основной функцией является формирование пула первичных половых клеток (ППК) в

**Принятые сокращения:** ЗГ – зародышевые гранулы; ЗП – зародышевая плазма; МI – метафаза I; У-мяРНК – богатые уридином малые ядерные РНК; ППК – первичные половые клетки; ТБ–тело Бальбиани; endo-siРНК – эндогенные малые интерферирующие РНК; IDR – внутренне неупорядоченные области; GFP – зеленый флуоресцентный белок; GNL – хеликаза зародышевой линии; grPB – grP-тельца; GV – зародышевый пузырь; lncРНК – длинная некодирующая РНК; LINE – длинные диспергированные повторы; METRO – центр транспорта сигнальных молекул; MHV – мышинный гомолог Vasa; miRNA – микроРНК; piRNA – взаимодействующая с белками семейства PIWI РНК; PLD – прионоподобный домен; SCMC – материнский субкортикальный комплекс ооцита; SMN – белок выживания мотонейронов.

формирующейся гонаде. Существует два основных механизма формирования пула половых клеток. Первый заключается в наследовании материнских факторов в виде накапливающегося в ооцитах специфического материала, называемого зародышевой плазмой (ЗП). Этот материал формирует гранулы, называемые ЗГ, или *nuage* (фр. облако), в случае перинуклеарной локализации (Reunov, 2006). Следует отметить, что термин *nuage* в настоящее время используется значительно реже, в связи с тем что он, как оказалось, объединяет достаточно широкий спектр различных ЗГ. Клетки, которые наследуют ЗГ, в конечном итоге превращаются в ППК. Этот механизм характерен для насекомых, таких как *Drosophila* (Mahowald, 2001), некоторых позвоночных, таких как *Danio* и *Xenopus* (Kloc et al., 2001; Bontems et al., 2009). Второй механизм спецификации называется индуктивным. Он основан на том, что будущие половые клетки определяются не депонированным материнским материалом, а сигнальной индукцией от окружающих клеток во время эмбрионального развития. Индуктивный механизм присущ всем млекопитающим, в том числе мыши и человеку (De Felici, 2016; Kumar, DeFalco, 2017).

## РАЗНООБРАЗИЕ ГРАНУЛ РНК В КЛЕТКАХ ЗАРОДЫШЕВОЙ ЛИНИИ

### Сложности классификации ЗГ

ЗГ очень динамичны во время развития зародышевой линии и часто изменяют свой размер, морфологию и связь с другими органеллами. Функции зародышевых гранул могут различаться у разных видов и меняться на разных этапах гаметогенеза. Поэтому схожие структуры неоднократно были описаны у различных животных под разными названиями (табл. 1).

Сейчас, благодаря обнаружению в ЗГ разных типов широкого спектра РНК и белков (Kloc et al., 2001; Mahowald, 2001; Seydoux, Schedl, 2001), определены наборы молекулярных маркеров, которые позволяют успешно дифференцировать все эти структуры (табл. 2). Однако, РНК и белки в составе ЗГ функционируют различным образом в зависимости от стадии развития половых клеток: либо транскрипционно репрессируются до оплодотворения, либо диффузно распределяются по цитоплазме.

### *P*-гранулы в *C. elegans*

ЗГ у *C. elegans* были исторически названы *P*-гранулами в соответствии с названием линии эмбриональных клеток, в которой они были обнаружены (Strome, Wood, 1982). *P*-гранулы локализуются вблизи ядерной мембраны в течение большей части развития половых клеток; однако при созревании ооцитов они распределяются по всей цитоплазме (Strome, Wood, 1982). У недавно оплодотворенных эмбрионов *P*-гранулы концентрируются на вегета-

тивном полюсе, создавая асимметрию, и после деления клетки наследуются blastomeres, который станет родоначальником ППК. В ППК гранулы остаются распределенными по всей цитоплазме, пока эмбрион не достигнет стадии восьми клеток, когда они повторно локализуются рядом с ядерной мембраной. Все *P*-гранулы продолжают асимметрично сегрегироваться в одном blastomere, по мере дробления эмбрионов.

Были разработаны подробные каскады формирования трех основных осей тела *C. elegans* в ходе серии асимметричных делений эмбрионов, с использованием *P*-гранул в качестве маркеров (Gönczy, Rose, 2005). Известно, что *P*-гранулы находятся вблизи митохондрий. Однако, непосредственно в составе ЗГ митохондрии, микротрубочки и центриоли выявляются редко и считается, что эти цитоплазматические компоненты попадают в состав ЗГ случайно, в процессе формирования гранулы или при их слиянии (Pitt et al., 2000; Schisa et al., 2001).

На сегодняшний день известны некоторые белки и РНК, содержащиеся в *P*-гранулах. Одними из первых идентифицированных белков были 4 паралога DEAD-box РНК-геликазы *Vasa*, которые называются хеликазами зародышевой линии (*germ line helicases*, GLH): GLH-1, GLH-2, GLH-3 и GLH-4 (Kuznicki et al., 2000). Как и у млекопитающих (например, в случае мышинного гомолога *Vasa* — mouse *Vasa* homology, MVH), богатые глицином домены GLH *C. elegans* состоят из фенилаланин-глициновых повторов FGG вместо аргинин-глициновых повторов RGG, обнаруженных в большинстве ортологов *Vasa*. RGG-домен, напротив, обнаружен в специфическом для зародышевой линии белке PGL-1 (Gruidl et al., 1996; Kawasaki et al., 1998). Повторы RGG представляют собой РНК-связывающие домены (Kiledjian, Dreyfuss, 1992), тогда как повторы FGG связываются с компонентами ядерных пор (Suntharalingam, Wentz, 2003). PGL-1, GLH-1, GLH-2, GLH-3 и GLH-4 участвуют в регуляции трансляции и обнаруживаются в *P*-гранулах на всех стадиях жизненного цикла *C. elegans* (Gruidl et al., 1996; Seydoux, Schedl, 2001). Большая часть (75%) ядерных пор в клетках зародышевой линии связаны с *P*-гранулами (Pitt et al., 2000). Вероятно, FGG-домены GLH белков способствуют локализации *P*-гранул вблизи поверхности ядра. Ранее в составе *P*-гранул были обнаружены репрессоры трансляции Nanos (Subramanian, Seydoux, 1999), РНК-хеликаза CGH-1 (Navarro et al., 2001), регулятор трансляции IFE-1 (eIF4E) (Amiri et al., 2001) а также белок процессинга РНК DCP-2 (Lall et al., 2005). В составе *P*-гранул выявлены также белки, участвующие в регуляции и синтезе miРНК/piРНК — CSR-1 и PRG-1, и белки семейства Dicer (DRH-3, DCR-1), непосредственно задействованные в образовании miRNA (Claycomb et al., 2009). В случае мутации гена PRG-1 формируется термочувствительный стерильный фенотип, обусловленный дефектами сперматогенеза (Wang, Reinke, 2008). Список компонентов *P*-гранул продолжает расти.

Таблица 1. ЗГ у животных разных видов: особенности терминологии

Организм	Тип клеток	Стадия развития	Историческое название структуры	Современное название структуры	Литература
<i>C. elegans</i>	Клетки зародышевой линии на всех этапах развития	4 личиночные стадии и взрослая особь	P-гранулы	Nuage	Strome, Wood, 1982; Updike, Strome, 2009
<i>Drosophila</i>	Трофоциты и ооциты	Все стадии оогенеза	Губчатые тела	ЗГ	Wilsch-Bräuninger et al., 1997
	Трофоциты	Все стадии оогенеза	Nuage	Nuage	Mahowald, 1971
	Ооциты и эмбрионы	Поздние стадии развития ооцитов и ранние эмбрионы	Полярные гранулы	ЗГ	Mahowald, 2001
<i>Xenopus</i>	ППК и клетки на ранних стадиях оогенеза	От ППК до оогонии и ооцитов I стадии	Митохондриальный цемент	Nuage	Kloc et al., 2004a
	Ооциты	Ооциты на I–VI стадии развития (по Dumont, 1972)	ЗГ в составе телец Бальбиани	ЗГ	Kloc et al., 2001, 2002
	Поздние ооциты и ранние эмбрионы	С VI стадии развития ооцитов (по Dumont, 1972) до 8 клеточного эмбриона	ЗГ меньшего размера в составе “островков зародышевой плазмы”	ЗГ	Czolowska, 1969; Kloc et al., 2001
	Клетки эмбрионов	С 8 клеточного эмбриона до формирования ППК	ЗГ обычного размера в составе “островков зародышевой плазмы”	ЗГ	Kloc et al., 2002
Мышь	Оогонии и ооциты первичных фолликулов	Ранние этапы оогенеза	Nuage	Nuage	Pepling et al., 2007
	Сперматоциты	Ранние этапы сперматогенеза	Хроматоидное тело	Nuage/Хроматоидное тело	Kotaja et al., 2006
Человек	Оогонии	Ранние этапы оогенеза	Nuage	Nuage	Hertig, 1968
	Сперматоциты, сперматиды	Ранние этапы сперматогенеза	Хроматоидное тело	Nuage	Kotaja et al., 2006

Таблица 2. Молекулярный состав ЗГ у разных видов животных

Вид	Название структуры	Маркерная РНК	Маркерный белок
<i>C. elegans</i>	Nuage/P-гранулы	мРНК Nos-2 (Subramaniam, Seydoux, 1999; Schisa et al., 2001); 22G-small РНК (Claycomb et al., 2009)	GLH-1, 2, 3, 4 (Kuznicki et al., 2000); PGL-1 (Gruidl et al., 1996; Kawasaki et al., 1998); Nanos (Subramaniam, Seydoux, 1999); PRG-1, CSR-1 (Claycomb et al., 2009; Beshore et al., 2011); DRH-3, DCR-1 (Claycomb et al., 2009); DCP-2 (Lall et al., 2005); CGH-1 (Navarro et al., 2001); IFE-1 (EIF4E) (Amiri et al., 2001); PGL-3, MEX-5 и PAR-1 (Brangwynne et al., 2009; Nott et al., 2015)
<i>Drosophila</i>	ЗГ/Губчатые тела	мРНК Bicoid (Hay et al., 1988)	Exuperantia и Me31B (Berleth et al., 1988; Wilsch-Bräuninger et al., 1997; Nakamura et al., 2001); Bruno (в трофоцитах), Orb (в ооцитах) (Wilsch-Bräuninger et al., 1997; Nakamura et al., 2001; Snee, Macdonald, 2009a; b); Cup (Wilhelm et al., 2003); Dcp1, Dcp2 (Lin et al., 2006); Nanos, Pumilio (Lai, King, 2013); Спектрин (de Cuevas et al., 1996)
	ЗГ/Полярные гранулы	Нет данных	PIWI (Megosh et al., 2006); Vasa (Hay et al., 1988); Oskar (Lehmann, Nüsslein-Volhard, 1991; Schüpbach, Wieschaus, 1991); Dcp1 и Me31B (Nakamura et al., 2001; Braat et al., 2004); Aubergine (Harris, Macdonald, 2001); Tudor (Arkov et al., 2006); EIF4A (Nakamura et al., 2004); Спектрин (de Cuevas et al., 1996); Vasa (Hay et al., 1988); Ago3 (Gunawardane et al., 2007); Aubergine (Harris, Macdonald, 2001); Maelstrom (Findley et al., 2003); Spindle-E (Kennerdell et al., 2002; Findley et al., 2003); Krimp, Tejas, PAPI (Lim, Kai, 2007; Patil, Kai, 2010; Liu et al., 2011); Tudor (Arkov et al., 2006); Спектрин (de Cuevas et al., 1996)
	Nuage	Малые интерферирующие РНК (siРНК) (Lim, Kai, 2007)	Vasa (Hay et al., 1988); Ago3 (Gunawardane et al., 2007); Aubergine (Harris, Macdonald, 2001); Maelstrom (Findley et al., 2003); Spindle-E (Kennerdell et al., 2002; Findley et al., 2003); Krimp, Tejas, PAPI (Lim, Kai, 2007; Patil, Kai, 2010; Liu et al., 2011); Tudor (Arkov et al., 2006); Спектрин (de Cuevas et al., 1996)
<i>Xenopus</i>	Nuage/МТ цемент	Xdazl (Houston et al., 1998); Xpat (Hudson, Woodland, 1998); Xlsirts (Zearfoss et al., 2003); DEADSouth (MacArthur et al., 2000); Fingers и XFACS (Kloc et al., 2002)	XALK4 (рецептор активина IB типа) (Fukui et al., 2003); EF-1 (Viel et al., 1990); Tudor (Tdrd6) (Chuma et al., 2006; Roovers et al., 2018); Nanos, Pumilio (Lai, King, 2013)
	ЗГ	Xcat2 и Xpat (Forristall et al., 1995); Vg1 (Kloc et al., 2001); Hermes (Aguero et al., 2016) Nanos и Dazl (Aguero et al., 2016); РНК Синтабулина (Nojima et al., 2010); Grip2a (Houston et al., 1998; Ge et al., 2014)	XVLG1 (Ikenishi, Tanaka, 2000); XALK4 (рецептор активина IB типа) (Fukui et al., 2003); XVelo (Bontems et al., 2009; Heim et al., 2014; Boke et al., 2016); Rbpms2 и Dazl (Nijjar, Woodland, 2013; Heim et al., 2014); Tudor Tdrd6 (Chuma et al., 2006; Roovers et al., 2018); Macf1 (Escobar-Aguirre et al., 2017); Nanos, Pumilio (Lai, King, 2013)

Таблица 2. Окончание

Вид	Название структуры	Маркерная РНК	Маркерный белок
Мышь	ЗГ меньшего размера в составе “островков зародышевой плазмы”	Xcat2 (Forristall et al., 1995); Xpat (Hudson, Woodland, 1998)	XVelo (Bontems et al., 2009; Heim et al., 2014; Boke et al., 2016); Tudor Tdrd6 (Chuma et al., 2006; Roovers et al., 2018); Nanos, Pumilio (Lai, King, 2013)
	Nuage	Dnajc11 и MTA/Spin1 (Lim, Knowles, 2015); piwiРНК (Lim, Knowles, 2015)	MVH (Lim, Knowles, 2015); PADI6, NLRP5, FILIA (Li et al., 2008); DDX6, CPEB, YBX2 (MSY2), компонент комплекса соединения экзонов DCP1A (Pepling, 2010); TDRD1 (Chuma et al., 2006); Nanos, Pumilio, Gemin3 (Ginter-Matuszewska et al., 2011); Maelstrom (Costa et al., 2006)
Человек	Nuage	Нет данных	DDX4 (Kotaja et al., 2006); Nanos, Pumilio, Gemin3 (Ginter-Matuszewska et al., 2011)

По-видимому, эти структуры играют роль в сплайсинге мРНК, инициации трансляции, поли(А)-полимеризации, деаденилировании, декэпировании, деградации и расщеплении взаимодействующей с белками семейства РИWI РНК (piРНК) и эндогенном синтезе siРНК (endo-siРНК). Некоторые белки могут облегчать хранение мРНК, тогда как другие могут направлять деградацию мРНК или стимулировать экспрессию генов. Существует много общего в структуре и составе между зародышевыми гранулами у *C. elegans* и млекопитающих. Также в Р-гранулах были обнаружены несколько типов материнских мРНК, включая мРНК nos-2 (Subramaniam, Seydoux, 1999; Schisa et al., 2001) и 22G-small РНК (Claycomb et al., 2009).

Изучение физико-химических свойств Р-гранул стало первым исследованием, посвященным безмембранным органеллам в клетках половой линии, которое базируется на открытиях физики конденсированных состояний и химии полимеров. Было выяснено, что Р-гранулы формируются на основе механизмов фазового перехода (Brangwynne et al., 2009). В ходе этого процесса богатые аргинином последовательности белков с IDR за счет поливалентных электростатических взаимодействий с РНК подвергаются разделению фаз жидкость–жидкость, образуя жидкие капли (гранулы РНП). Капли могут течь, деформироваться вокруг поверхностей других структур, а также делиться. Образование конденсатов зависит не только от наличия белков с IDR, но и от их молекулярной сборки и внутренней растворимости. Например, растворимость одного из компонентов Р-гранул белка PGL-3 зависит от белков MEX-5 и PAR-1 (Brangwynne et al., 2009; Nott et al., 2015). В образовании конденсатов также играет роль локальная концентрация белков с IDR. Значит, любой механизм, который изменяет локальную кон-

центрацию ключевых компонентов, включая изменения экспрессии, деградации и локализации белков с IDR и белков регуляторов, будет влиять на образование и объем конденсированной фазы. Среди этих механизмов у *C. elegans* обнаружены посттрансляционные модификации белков, такие как фосфорилирование (Wang et al., 2014).

В цитоплазме покоящихся ооцитов *C. elegans* формируются большие РНП, называемые grР-тельцами или grРВ, которые депонируют репрессированные мРНК (Schisa et al., 2001; Noble et al., 2008). grРВ содержат несколько белков Р-телец, а также факторы, контролирующие процессинг мРНК, включая белок Lsm CAR-1 (RAP55 у человека, Trailer Hitch у плодовой мухи), DEAD-бокс-РНК-хеликазу CGH-1 (DDX6 человека, Me31b дрозофилы) и мРНК-связывающие репрессоры трансляции, такие как PUF-5 и MEX-3 (Jud et al., 2008; Noble et al., 2008). Именно под действием РНК-хеликазы CGH-1 гранулы grРВ превращаются из жидких капель в “твердые” тела, за счет исключения воды из макромолекулярных взаимодействий с белками (Hubstenberger et al., 2013).

Таким образом, основными свойствами Р-гранул *C. elegans* являются динамичность локализации, состава и физических свойств, а также высокое содержание хеликаз и факторов, вовлеченных в процессинг РНК. Основными функциями таких гранул являются определение клеток половой линии путем депонирования белков и РНК, важных для развития. Р-гранулы также участвуют в хранении, процессинге и деградации ряда мРНК и регуляции piРНК/miРНК и endo-siРНК.

### ЗГ дрозофилы

У дрозофилы выявлены множество классов ЗГ, сформированных на основе РНП, которые встреча-

ются в двух типах клеток — собственно в ооцитах и в окружающих их трофоцитах. Как известно, каждый из двух яичников дрозофилы содержит овариолы (цепочки яйцевых камер), передние части которых соединены с гермарием — зоной, где расположены герминальные стволовые клетки. В гермарию происходит их асимметричное деление с образованием 16 цистобластов, связанных друг с другом цитоплазматическими мостиками. Мостики проходят через связанные с цитоскелетом структуры — кольцевые каналы (ring canals) (Ashburner, Gubb, 1989). Лишь один из 16 цистобластов становится ооцитом, остальные 15 — трофоцитами (nurse cells). Функция трофоцитов состоит в том, чтобы генерировать рРНК, белки и другие материалы, необходимые для раннего развития, и депонировать их в растущий ооцит (Bastock, St Johnston, 2008). ЗГ разных классов у дрозофилы различаются по морфологическим критериям и субклеточной локализации. Термин *nuage* исторически использовали для описания небольших ЗГ, найденных вблизи ядер трофоцитов. Губчатыми телами называли ЗГ, найденные как в трофоцитах, так и в ооцитах. Крупные ЗГ, обнаруженные на вегетативном полюсе ооцитов поздней стадии и в эмбрионах, получили историческое название полярные гранулы (Liang et al., 1994; Wilsch-Bräuninger et al., 1997; Nakamura et al., 2001). Данные РНП различаются по молекулярному составу (табл. 2).

**Губчатые тела** были впервые описаны Wilsch-Brauninger в 1997 г. как электронно-плотная, безмембранная, субклеточная структура в трофоцитах и ооцитах, ассоциированная с митохондриями. Состав губчатых тел трофоцитов и ооцитов несколько различается. В клетках обоих типов обнаружены белки Me31B и Eupherantia — продукт гомеозисного гена Bicoid (морфогена, определяющего развитие акрона, головы и торакса эмбриона дрозофилы) (Berleth et al., 1988; Wilsch-Bräuninger et al., 1997; Nakamura et al., 2001). Белок Bruno характерен для трофоцитов, а белок Orb в большей степени для ооцитов (Wilsch-Bräuninger et al., 1997; Nakamura et al., 2001; Snee, Macdonald, 2009a, b). В трофоцитах губчатые тела, по-видимому, окружают частицы *nuage*, которые участвуют в генезе полярных гранул в ооците. Также обнаружено, что губчатые тела через кольцевые каналы перемещаются между трофоцитами и из трофоцитов в ооцит. Это подтверждает гипотезу, что различия в составе губчатых тел в клетках разных типов связаны с реализацией транспортной функции (Snee, Macdonald, 2009a, b). На основе изучения состава губчатых тел было высказано два предположения об их функциях. Согласно первому предположению, губчатые тела участвуют в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов эмбрионального развития. Предполагается, что у *Drosophila* губчатые тела аналогичны Р-гранулам нематод (Lin et al., 2006). Против этой точки зрения свидетельствуют различия в морфологии Р-тел и губчатых тел. Высказываются идеи, что эти структуры могут представ-

лять различные уровни иерархии ЗГ (Snee, Macdonald, 2009a). Сторонники второй теории полагают, что губчатые тела выступают в качестве Р-телец (Processing bodies). Р-тельца в данном контексте следует отличать от описанных выше Р-гранул *C. elegans*. Р-тельца (processing bodies) являются агрегатами высоко консервативных РНП, которые встречаются и в соматических, и в половых клетках. Установлено, что такие Р-тельца участвуют в деградации и хранении РНК, а также, возможно, в репрессии их трансляции (Parker, Sheth, 2007). В губчатых телах обнаружены белки, характерные для Р-телец: хеликаза Me31B, белок инициации трансляции EIF4e (Nakamura et al., 2004) и связывающий его белок Cup (Wilhelm et al., 2003), мРНК-декэпирующий фермент 1 (Dcp1) (Lin et al., 2006). Для окончательного выяснения связи между Р-тельцами дрозофилы и ЗГ требуются дальнейшие исследования.

**Полярные гранулы** впервые обнаруживаются на вегетативном полюсе ооцитов поздней стадии, куда попадают из трофоцитов. Известно, что белки Oskar и Vasa являются обязательными компонентами для сборки компонентов полярных гранул (Lehmann, Nüsslein-Volhard, 1991; Schüpbach, Wieschaus, 1991). Дополнительными компонентами являются белки Dcp1, Me31B (Nakamura et al., 2001; Braat et al., 2004), что демонстрирует связь с Р-тельцами (Thomson et al., 2008). Также в составе обнаружен белок семейства Argonaute — Aubergine (Harris, Macdonald, 2001), участвующий в регуляции активности мРНК/рРНК. Позже в этих структурах были выявлены белки семейства PIWI (Megosh et al., 2006) и белки регуляторы трансляции семейства Tudor (Arkov et al., 2006) и EIF4A (Nakamura et al., 2004), что свидетельствует об участии полярных гранул в процессах посттранскрипционной регуляции экспрессии генов эмбрионального развития.

Исследования в реальном времени с использованием флуоресцентного GFP-Aubergine показывают, что полярные гранулы собираются в ооците *de novo*. Полярные гранулы включают новые компоненты медленнее, чем *nuage*. Это позволяет предположить, что полярные гранулы могут быть менее динамичными РНП (Snee, Macdonald, 2004).

**Nuage** у *Drosophila* представляет собой электронно-плотную перинуклеарную структуру. В связи с локализацией и морфологией данного образования, термин *nuage* часто используется как синонимичный другим терминам, обозначающим перинуклеарные ЗГ. Так, например, проводят параллели между *nuage* у *Drosophila*, *nuage* у мышей и человека и перинуклеарными Р-гранулами у *C. elegans* (Hertig, 1968; Costa et al., 2006; Lim, Knowles, 2015). Компонентами *nuage* у *Drosophila* являются белок Vasa, белки подсемейства Argonautes — Aubergine (Harris, Macdonald, 2001) и Ago3 (Gunawardane et al., 2007), белок Maelstrom и белок Spindle-E (Findley et al., 2003). Spindle-E управляет перинуклеарной локализацией двух ком-

понентов nuage: Vasa и Maelstrom (Kennerdell et al., 2002; Findley et al., 2003). Aubergine и Maelstrom участвуют в подавлении экспрессии LINE с помощью малых интерферирующих РНК (siRNAs) (Lim, Kai, 2007). Также в составе этих структур выявлены белки, содержащие Tudor-домен, причем как сам Tudor (Bardsley et al., 1993), так и белки Krimp, Tejas и PAPI (Lim, Kai, 2007; Patil, Kai, 2010; Liu et al., 2011). Функциями этих белков являются привлечение метилированных белков к ЗГ и рекрутирование митохондриальной и рибосомной РНК в полярные гранулы. Nuage могут наблюдаться уже при формировании первичных клеток зародышевой линии и сохраняются во всех клетках зародышевой линии, пока не будет сформирован ооцит (Mahowald, 1971). На оставшихся стадиях оогенеза nuage можно обнаружить во всех трофоцитах, но не в ооците. Белок Vasa также был обнаружен в перинуклеарных тельцах 2-го типа и полярных гранулах в ооците другого представителя насекомых – скорпионницы *Panorpa communis* (Batalova, Parfenov, 2003). Перинуклеарные тельца 2-го типа *Panorpa communis* считаются гомологами nuage трофоцитов *Drosophila*. Это демонстрирует консервативность структуры и ее состава. Помимо белка Vasa в цитоплазме перинуклеарных тельцах были обнаружены богатые уридином малые ядерные РНК (U-мяРНК), участвующие в ключевых этапах процессинга пре-мРНК в ядре эукариотических клеток (Batalova, Parfenov, 2003). Позже U-мяРНК в комплексе с коровыми белками сплайсинга Sm/Lsm, белком выживания мотонейронов SMN, аргинин-метилтрансферазами *Drosophila* Dart 5 и Dart 7 были обнаружены в цитоплазме ооцитов и трофоцитов *Drosophila* в виде структур, которые сейчас обозначают термином U-тельца (Liu, Gall, 2007). Уровень экспрессии SMN в клетках зародышевой линии выше, чем в соматических, что объясняется депонированием белка для последующего использования во время эмбриогенеза (Lee et al., 2009).

Считается, что U-мяРНК транскрибируются в ядре, экспортируются в цитоплазму, где они приобретают триметилгуанозинный кэп и связываются с белками Sm/Lsm. В цитоплазме РНП частицы накапливаются в U-тельцах перед импортом в ядро. U-тельца имеют сферическую форму и не колокализуются ни с какими известными цитоплазматическими органеллами кроме Р-телец, с которыми показана их тесная физическая связь. Возможно, некоторые этапы сборки U-мяРНП требуют обмена молекулами между этими структурами. Например, комплекс белков сплайсинга Lsm1–Lsm7 может собираться в U-тельцах, но храниться в Р-тельцах (Ingelfinger et al., 2002). Возможно, ассоциация U- и Р-телец может отражать механизм обратной связи, который поддерживает регулируемое высвобождение мяРНП из U-телец в зависимости от скорости деградации мРНК в Р-тельцах. Или же сборка/хранение мяРНП в U-тельцах может быть уравновешена деградацией мяРНП в Р-тельцах. При этом мута-

ции компонента U-тельца – белка SMN – вызывают нарушение структуры Р телец, а мутации компонентов Р-телец – белков Cup и Otu – приводят к ненормальному распределению и размеру U-телец (Lee et al., 2009). По-видимому, U- и Р-тельца взаимозависимы, и компоненты одного могут регулироваться механизмами другого тела.

Белок Oskar, необходимый для сборки полярных гранул на вегетативном полюсе ооцита, не обязателен для образования nuage (Lasko, Ashburner, 1990).

Таким образом, у *Drosophila* выявлено несколько разных типов ЗГ. Их функции различны в разных клетках зародышевого пути. Наличие белков Me31B, EIF4e, Cup, Dcp1 говорит о вовлеченности губчатых тел в процессы процессинга РНК. Наличие белков Bruno и Orb говорит об участии губчатых тел в транспортировке биомолекул между разными типами клеток. Nuage у *Drosophila* также депонирует белки, важные для развития, и участвует в процессах инактивации ретропозонов. Полярные гранулы *Drosophila* участвуют в трансляционном контроле важных для развития мРНК (Mahowald, 1971). Также, по-видимому, ЗГ обеспечивают идентичность зародышевых клеток, контролируя трансляцию путем репрессии трансляции мРНК, которые управляют судьбой соматических клеток (Lai, King, 2013).

### ЗГ *Xenopus*

В связи с особенностями оогенеза, у *Xenopus* ЗГ в течение продолжительного периода развития входят в состав тельца Бальбиани (ТБ). На протяжении многих лет ТБ у *Xenopus* в большинстве исследований упоминался как митохондриальное облако (Kloc et al., 2001). На I стадии развития ооцитов лягушки ТБ представляет собой сферическую структуру около 40 мкм в диаметре, контактирующую с ядром ооцита (Dumont, 1972). ТБ всегда локализуется рядом с будущим вегетативным полюсом ооцита, являясь маркером полярности. На этой стадии ТБ включает в себя приблизительно 500000 митохондрий, отсюда и исторический термин “митохондриальное облако”. Митохондрии внутри ТБ отличаются по морфологии, активности ферментов и свойствам репликации от митохондрий других областей ооплазмы. Таким образом, ТБ у *Xenopus* содержит специфическое для зародышевой линии подмножество митохондрий (Tourte et al., 1984; Mignotte et al., 1987). Другими компонентами ТБ являются шероховатый ЭР, многочисленные комплексы Гольджи и ЗГ, которые сконцентрированы в ближней к полюсу области, называемой центр транспорта сигнальных молекул (messenger transport organizing center, METRO) (Kloc et al., 2001). В METRO имеется около 700 ЗГ диаметром от 50 до 2000 нм (Kloc et al., 2001, 2002). Во время роста ооцитов (между стадией II и стадией VI (Dumont, 1972)) ТБ фрагментируется на множество

небольших “островков”, которые содержат все компоненты, включая ЗГ и митохондрии, и перемещаются в сторону вегетативного полюса, используя неизвестный механизм. “Островки”, закрепленные на вершине вегетативного полюса ооцитов стадии VI, часто называют “островками зародышевой плазмы”. К этому моменту они содержат сотни мелких ЗГ (диаметром 250–500 нм), многочисленные митохондрии, везикулы и цистерны Гольджи, а также ЭР (Czolowska, 1969; Kloc et al., 2001). С началом эмбрионального развития материал островков разделяется между бластомерами вегетативного полюса. Островки зародышевой плазмы 8-клеточного эмбриона содержат около 80 крупных (диаметром 2000 нм) ЗГ, расположенных между митохондриями (Kloc et al., 2002). В конечном счете, островки снова фрагментируются и разделяются между ППК. Когда ППК движутся в направлении зачатка гонады, вещество ЗГ меняет локализацию на перинуклеарную, давая начало piage, который у *Xenopus* позже получил название митохондриальный цемент (Kloc et al., 2004b).

**Состав ТБ *Xenopus*.** Первая систематическая биохимическая характеристика ТБ была проведена для ооцитов *Xenopus laevis* (Voke et al., 2016). У *Xenopus* существует два основных пути обеспечения локализации РНК на вегетативном полюсе. (1) METRO, или ранний механизм локализации РНК. Благодаря этому механизму на вегетативный полюс перемещаются РНК Xcat2, Xdazl, Xpat, Xlsirts, Xwnt11, DEAD-South, Fingers, XFACS и Xtox1 (Forristall et al., 1995; Kloc et al., 2001). (2) В ооцитах также существует Vg1, или поздний путь перемещения РНК к вегетативному полюсу, который опосредован микротрубочками. Этот путь запускается после того как необходимые мРНК попадают в состав ТБ. РНК, перемещаемые с помощью Vg1 пути вдоль массива микротрубочек, не локализируются в ТБ (Kloc et al., 2001). С помощью этого механизма на вегетативный полюс перемещается множество специфических транскриптов, включая VegT, фактор индукции мезодермы зародыша. Существует также смешанный путь перемещения специфических транскриптов. По нему переносятся РНК Hermes, которые играют важную роль в развитии (Aguero et al., 2016).

Среди РНК, попадающих в ТБ с помощью механизма METRO, выявлена Xcat2, которая кодирует белок, содержащий Nanos-подобный мотив цинкового пальца (Forristall et al., 1995). Также выявлена РНК Xdazl, которая участвует в формировании линии половых клеток (Houston et al., 1998) и присутствует в piage до I стадии развития ооцитов. В более зрелых ооцитах и эмбрионах Xdazl локализуется в цитоплазме между ЗГ (Kloc et al., 2002). Среди прочих РНК транспортировка по каскаду METRO характерна также для РНК Xpat и Xlsirts, последняя из

которых является некодирующей и принадлежит к семейству высокоповторяющихся тандемных РНК (Kloc et al., 2001; Zearfoss et al., 2003). Эти РНК локализованы в центре piage в оогониях и в цитоплазме между ЗГ в эмбрионах (Kloc et al., 2002). В составе ТБ *Xenopus* также присутствует гомолог белка Vasa – XVLG1 (Watanabe et al., 2005). Кроме того выявлены мРНК DEAD South, которая кодирует Vasa-связанную РНК-хеликазу, тесно связанную с EIF4A (MacArthur et al., 2000), и Fingers, которая кодирует белок, гомологичный транскрипционному репрессору – белку Kox1 и содержащий Kruppel-подобный мотив цинкового пальца (Kloc et al., 2002).

РНК, которые локализованы в ЗГ, вероятно, непосредственно участвуют в определении судьбы половых клеток. Недавно в составе ТБ у *Xenopus* и *Danio* был выявлен белок Vuc (у *Xenopus* выявлен гомолог Vuc – XVelo) и соответствующий ему транскрипт (Bontems et al., 2009; Heim et al., 2014; Voke et al., 2016). Мутация данного белка вызывает формирование у *Danio* ооцитов, в которых полностью отсутствует ТБ. В таком состоянии ооцит фактически не обладает полярностью и радиально симметричен (Marlow, Mullins, 2008; Bontems et al., 2009). “Неверная” экспрессия гена также приводит к дефектам дорсально-вентрального паттерна ооцита и образованию множества ТБ (Heim et al., 2014). У лягушки XVelo имеет те же районы локализации, что и Vuc у *Danio* и предположительно играет ту же роль (Clausen, Pieler, 2004). Ген, кодирующий этот белок, по-видимому, утерян у мышей, но идентифицирован у людей и других млекопитающих (Bontems et al., 2009; Škugor et al., 2016). XVelo представляет собой белок, который содержит IDR и прионоподобный домен (PLD) на N-конце, а также положительно заряженный C-конец, который связывается с РНК. При экспрессии этого белка с помощью вирусного вектора *in vitro* образуются “твердые” структуры, подобные амилоидным фибриллам, которые, в свою очередь, способны к самоорганизации (Voke et al., 2016). Эти агрегаты окрашиваются тиофлавином-Т, красителем, который маркирует амилоидоподобные волокна, а также ТБ в ооцитах *Xenopus* (Voke et al., 2016). XVelo-GFP после инъекции в ооциты локализуется в ТБ и заполняет промежутки между митохондриями. По-видимому, этот белок образует стабильную матрицу в ТБ. Этот факт в сочетании с очень высокой локальной концентрацией XVelo (которая превышает 500 мМ в ТБ) указывает на то, что XVelo действует как структурный клей, который удерживает органеллы вместе в составе ТБ (Voke et al., 2016). Это согласуется с современными представлениями о том, что ЗГ и ТБ, являются биомолекулярными конденсатами, образующимися посредством механизмов фазового перехода (Han et al., 2012; Weber,



Brangwynne, 2012). Идея о амилоидоподобной основе ТБ также хорошо коррелирует с возможной функцией этой структуры, заключающейся в поддержании низкой активности митохондрий и материнских РНК, чтобы ооциты могли без потерь преодолеть продолжительные промежутки покоящихся стадий. Механизмом формирования более “твердых” ТБ, по сравнению с жидкими каплями ЗГ, является исключение большого количества воды из состава структуры. Формирование амилоидных свойств вызвано объединением множества  $\beta$ -листов белков посредством образования водородных связей между ними (Dobson, 2003).

ТБ у многих видов имеют сферическую форму (Brangwynne et al., 2011). Сферическая форма других биоконденсатов (например, ядрышко и ЗГ) обусловлена поверхностным натяжением. Поэтому логичным казалось предположение, что ТБ могут обладать свойствами жидкости. Однако механическая изоляция ТБ из ооцитов *Xenopus* доказала, что они ведут себя как твердые тела со стабильной структурой (Voke et al., 2016). Предыдущие электронно-микроскопические исследования человеческих ооцитов также показали присутствие фибрилл в ТБ, указывая на сохранение “твердой” амилоидоподобной природы ТБ (Hertig, 1968). Одним из возможных объяснений сферической формы ТБ является то, что эти изначально жидкие образования быстро переформируются в “твердые” амилоидоподобные структуры.

В дополнение к самоагрегации Xvelo взаимодействует с белками Tdrd6 и Rbpms2 (Nijjar, Woodland, 2013; Heim et al., 2014; Roovers et al., 2018). Tdrd6 представляет собой белок, содержащий Tudor домен, и является компонентом пути Piwi. Однако Tdrd6 не требуется для пути piRNA, а вместо этого он важен для образования ППК и структурной целостности ТБ.

Таким образом, ТБ *Xenopus* являются безмембранными “твердыми” биоконденсатами амилоидной природы. Основными их функциями, по-видимому, являются определение линии ППК и пространственное секвестрирование некоторых мРНК и белков для временного снижения их активности в оогенезе.

### *ЗГ в ооцитах млекопитающих*

Долгое время считалось, что ооциты млекопитающих, в основном, являются неполярными клетками и не содержат каких-либо структур, соответствующих ЗГ, а линия ППК закладывается в результате индукции сигнальными путями BMP и WNT (de Smedt et al., 2000; Cantú, Laird, 2013). Однако оказалось, что ооциты большинства сумчатых млекопитающих, крыс, хомяков, морских свинок, кроликов, коз, приматов, в том числе и людей, имеют различ-

ную полярность и содержат ТБ, составным элементом которого является piage. Обнаруженные структуры по ультраструктурным и динамическим характеристикам схожи с ТБ *Xenopus* (de Smedt et al., 2000). Среди всех млекопитающих до последнего десятилетия выделялись мыши; считалось, что они являются исключением и их ооциты не содержат ТБ (de Smedt et al., 2000; Kloc et al., 2004b, a). Пеплинг с коллегами (Pepling et al., 2007) были первыми, кто описал присутствие ТБ в оогониях новорожденных мышей и в ооцитах первичных фолликулов. Авторы показали, что ТБ является временной структурой, которая разбирается во время позднего оогенеза. Трехмерная реконструкция структуры ТБ показала, что ооциты новорожденных мышей не только асимметричны, но и полярны, как и ранние ооциты *Xenopus* (Kloc et al., 2008). Несмотря на это сходство, общая структура ТБ мыши отличается от *Xenopus*: у мыши ТБ не содержит митохондрий, но окружен комплексом Гольджи (Pepling et al., 2007). Однако митохондрии иногда локализованы на той же стороне ооцита, что и ТБ. Напротив, ТБ в человеческих оогониях сильно обогащен митохондриями (Hertig, 1968). Неизвестно, участвует ли у мыши комплекс Гольджи в поляризации каких-либо молекул или органелл на вегетативном полюсе ооцита. Возможно, что везикулы комплекса Гольджи в составе ТБ содержат определенные компоненты внеклеточного матрикса блестящей оболочки (zona pellucida) (El-Mestrah et al., 2002; Hoodbhoy et al., 2006). Если это так, то, возможно, ТБ формирует временную полярность ооцита мыши, которая трансформируется в полярность блестящей оболочки ооцита за счет секреции компонентов блестящей оболочки из комплекса Гольджи (Kloc et al., 2008). Другое предположение о функции ТБ опирается на возможную взаимосвязь между цистернами комплекса Гольджи на вегетативном полюсе и асимметричным мейотическим делением. Показано, что GM130, резидентный белок комплекса Гольджи, связывается с мейотическим веретеном и играет ключевую роль (возможно, благодаря его взаимодействию с белками MAPK каскада) в организации и полярной миграции веретена деления во время выделения первого полярного тела в созревающем ооците мыши (Zhang et al., 2011). Также высказано предположение, что агрегация митохондрий вблизи аппарата Гольджи облегчает их восприятие стресс-сигналов, что в конечном итоге приводит к устранению поврежденных митохондрий и предотвращает их наследование потомством (Monnot et al., 2011). Возможно, полярность оогониев мыши связана с организацией ТБ вокруг классической центриольной центросомы, присутствующей на этой стадии. В процессе развития ооцитов центриольные

центросомы превращаются в ацентриолярные, что может быть причиной потери поляриности.

Молекулярный состав ТБ млекопитающих сейчас активно исследуется, в первую очередь у мыши и человека. MVH, гомолог Vasa у мышей, был обнаружен в ооцитах равномерно распределенным в цитоплазме, а в сперматоцитах был специфически локализован в перинуклеарном хроматоидном теле (Toyooka et al., 2000). MVH ассоциирован со многими белками, в том числе PADI6 и NLRP5, элементами материнского подкоркового комплекса ооцита (SCMC), а также белками NLRP5 и FILIA (Li et al., 2008). Все перечисленные белки являются белками цитоплазматических решеток — кератин-содержащего фибриллярного матрикса, обнаруженного на ранних стадиях роста ооцитов, который сохраняется до стадии бластоцисты (Yurttas et al., 2008). MVH и белки цитоплазматических решеток образуют вместе с рРНК РНП-комплексы в примордиальных фолликулах, которые выполняют 2 функции: играют роль в регуляции ретропозонов, а также участвуют в секвестрации жизненно важных материнских транскриптов (например, MTA/Dnajc11 или MTA/Spin1), которые транслируются позже. Механизм поздней трансляции реализуется, когда экспрессия белков nuage прекращается, количество MVH уменьшается, РНП комплекс диссоциирует, а белки цитоплазматических решеток перемещаются в околядерную область. Там связанные ими РНК освобождаются и могут транслироваться (Lim, Knowles, 2015).

Nuage у человека обнаружены только в оогониях и в сперматидях (Hertig, 1968; Kotaja et al., 2006). Основным маркерным компонентом nuage является гомолог Vasa у человека — DEAD-бокс РНК-хеликаза Ddx4 (Kotaja et al., 2006). Ddx4 имеет удлинённые N- и C-концы, которые, как предполагается, содержат IDR (Forman-Kay, Mittag, 2013). N-конец Ddx4 спонтанно самоассоциируется как в клетках, так и *in vitro*. Конденсированные капли белка имеют жидкую внутреннюю часть. Идентифицированы две высоко консервативные области в последовательности Ddx4, которые делают возможным образование жидких капель: повторяющиеся блоки из 8–10 аминокислотных остатков с чередующимся противоположными зарядами и большое количество фенилаланин–глициновых FGG и аргинин–глициновых RGG повторов внутри положительно заряженных блоков. Эти области обнаруживаются и в прочих белках с IDR. Схожи и процессы регуляции конденсатов. Образование фазового разделения nuage затрудняется посттрансляционными модификациями, например, метилированием аргининовых доменов в составе DDX4 (Nott et al., 2015).

В работах последних лет предложен принципиально новый механизм регуляции конденсатов. Тео-

рия обратного фазового перехода базируется на идее, что низкие концентрации РНК способствуют образованию капель конденсатов, а более высокие концентрации РНК приводят к их растворению, посредством механизма инверсии заряда (Banerjee et al., 2017).

Экспериментально показано, что капли Ddx4 дифференциально солюбилизируют нуклеиновые кислоты. Внутри nuage концентрируется одноцепочечная ДНК, в то время как двухцепочечная ДНК в значительной степени не попадает в состав капель (Nott et al., 2015). Это согласуется с функциями процессинга РНК, которые присущи многим безмембранным органеллам.

По имеющимся на сегодня данным, основными функциями nuage в оогониях млекопитающих являются подавление транскрипции ретропозонов, инактивация мРНК и взаимодействие с белками цитоплазматической решетки (Lim, Knowles, 2015). Однако, в отличие от мужского гаметогенеза, инактивация белковых компонентов nuage оогониев не приводит к бесплодию (Lim et al., 2013). Таким образом, вероятнее всего, у млекопитающих ЗГ не столько вовлечены в процесс определения ППК, сколько участвуют в инактивации ретропозонов и связанных с ними процессах ремоделирования хроматина.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования последних лет расширили наши знания о молекулярных механизмах, лежащих в основе сборки и функционирования биомолекулярных конденсатов. Многие из этих структур, в том числе и ЗГ, образуются в результате фазового перехода “жидкость–жидкость”, вызванного взаимодействиями мультвалентных молекул. Некоторые конденсаты, такие как ТБ способны образовывать более плотные структуры по механизму фазового перехода “жидкость–твёрдое тело”.

Состав ЗГ может различаться, однако есть характерный для них набор маркеров — как белков (семейств Vasa, Tudor, Nanos, Dicer, Argonaute), так и РНК (мРНК, рРНК, реже mi/siРНК), позволяющий дифференцировать и классифицировать различные структуры. Основными функциями ЗГ у большинства животных являются формирование пула клеток зародышевой линии и пространственное секвестрирование материнских РНК и белков. Кроме того ЗГ участвуют в контроле трансляции мРНК и экспрессии отдельных генов, в том числе инактивации ретропозонов. Реализация этих свойств возможна, в том числе, благодаря форме жидких капель, характерной для ЗГ, так как это позволяет молекулам концентрироваться в конденсатах, сохраняя с окружающей средой непрерывный обмен, не затрудненный мембранным барьером. Но свойства

биоконденсатов определяют и их функциональные ограничения. Малые молекулы, такие, как ионы, трудно удерживать внутри конденсата. Кроме того, отсутствие мембраны затрудняет поддержание в них стабильного pH. Поэтому, два способа организации клетки – мембранные органеллы или биомолекулярные конденсаты – дополняют друг друга и вместе предоставляют максимальные возможности для организации клеточного содержимого.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Мы очень благодарны Г.Н. Почукалиной за полезные советы и знакомство с концепцией nuage.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-20102).

#### ЭТИЧЕСКИЕ СТАНДАРТЫ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aguero T., Kassmer S., Alberio R., Johnson A., King M.L. 2017. Mechanisms of vertebrate germ cell determination. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 953. P. 383.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-46095-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-46095-6_8)
- Aguero T., Zhou Y., Kloc M., Chang P., Houliston E., King M.L. 2016. Hermes (Rbpms) is a critical component of RNP complexes that sequester germline RNAs during oogenesis. *J. Dev. Biol.* V. 4.  
<https://doi.org/10.3390/jdb4010002>
- Amiri A., Keiper B.D., Kawasaki I., Fan Y., Kohara Y., Rhoads R.E., Strome S. 2001. An isoform of eIF4E is a component of germ granules and is required for spermatogenesis in *C. elegans*. *Development.* V. 128. P. 3899.
- Anderson P., Kedersha N. 2006. RNA granules. *J. Cell Biol.* V. 172. P. 803.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.200512082>
- Arkov A.L., Wang J.-Y.S., Ramos A., Lehmann R. 2006. The role of Tudor domains in germline development and polar granule architecture. *Development.* V. 133. P. 4053.  
<https://doi.org/10.1242/dev.02572>
- Ashburner M., Gubb D. 1989. Chaotic names. *Nature.* V. 339. P. 264.  
<https://doi.org/10.1038/339264b0>
- Banerjee P.R., Milin A.N., Moosa M.M., Onuchic P.L., Deniz A.A. 2017. Reentrant phase transition drives dynamic substructure formation in ribonucleoprotein droplets. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* V. 56. P. 11354.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201703191>
- Bardsley A., McDonald K., Boswell R.E. 1993. Distribution of tudor protein in the *Drosophila* embryo suggests separation of functions based on site of localization. *Development.* V. 119. P. 207
- Bastock R., St Johnston D. 2008. *Drosophila* oogenesis. *Curr. Biol.* V. 18. P. R1082.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.09.011>
- Batalova F., Parfenov V. 2003. Immunomorphological localization of Vasa protein and pre-mRNA splicing factors in *Panorpa communis* trophocytes and oocytes. *Cell Biol. Int.* V. 27. P. 795.  
[https://doi.org/10.1016/s1065-6995\(03\)00174-4](https://doi.org/10.1016/s1065-6995(03)00174-4)
- Berleth T., Burri M., Thoma G., Bopp D., Richstein S., Frigerio G., Noll M., Nüsslein-Volhard C. 1988. The role of localization of bicoid RNA in organizing the anterior pattern of the *Drosophila* embryo. *EMBO J.* V. 7. P. 1749.
- Beshore E.L., McEwen T.J., Jud M.C., Marshall J.K., Schisa J.A., Bennett K.L. 2011. *C. elegans* Dicer interacts with the P-granule component GLH-1 and both regulate germline RNPs. *Dev. Biol.* V. 350. P. 370.  
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.12.005>
- Boke E., Ruer M., Wühr M., Coughlin M., Lemaitre R., Gygi S.P., Alberti S., Drechsel D., Hyman A.A., Mitchison T.J. 2016. Amyloid-like self-assembly of a cellular compartment. *Cell.* V. 166. P. 637.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.051>
- Bontems F., Stein A., Marlow F., Lyautey J., Gupta T., Mullins M.C., Dosch R. 2009. Bucky ball organizes germ plasm assembly in *zebrafish*. *Curr. Biol.* V. 19. P. 414.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.01.038>
- Braat A.K., Yan N., Arn E., Harrison D., Macdonald P.M. 2004. Localization-dependent oskar protein accumulation; control after the initiation of translation. *Dev. Cell.* V. 7. P. 125.  
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.06.009>
- Brangwynne C.P., Eckmann C.R., Courson D.S., Rybarska A., Hoege C., Gharakhani J., Jülicher F., Hyman A.A. 2009. Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation. *Science.* V. 324. P. 1729.  
<https://doi.org/10.1126/science.1172046>
- Brangwynne C.P., Mitchison T.J., Hyman A.A. 2011. Active liquid-like behavior of nucleoli determines their size and shape in *Xenopus laevis* oocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* V. 108. P. 4334.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1017150108>
- Cantú A.V., Laird D.J. 2013. Wnt and Bmp fit germ cells to a T. *Dev. Cell.* V. 27. P. 485.  
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.11.020>
- Chuma S., Hosokawa M., Kitamura K., Kasai S., Fujioka M., Hiyoshi M., Takamune K., Noce T., Nakatsuji N. 2006. Tdrd1/Mtr-1, a tudor-related gene, is essential for male germ-cell differentiation and nuage/germlinal granule formation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* V. 103. P. 15894.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0601878103>
- Claussen M., Pieler T. 2004. Xvelo1 uses a novel 75-nucleotide signal sequence that drives vegetal localization along the

- late pathway in *Xenopus* oocytes. *Dev. Biol.* V. 266. P. 270. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.09.043>
- Claycomb J.M., Batista P.J., Pang K.M., Gu W., Vasale J.J., van Wolfswinkel J.C., Chaves D.A., Shirayama M., Mitani S., Ketting R.F., Conte D., Mello C.C. 2009. The Argonaute CSR-1 and its 22G-RNA cofactors are required for holocentric chromosome segregation. *Cell.* V. 139. P. 123. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.014>
- Costa Y., Speed R.M., Gautier P., Semple C.A., Maratou K., Turner J.M.A., Cooke H.J. 2006. Mouse MAELSTROM: the link between meiotic silencing of unsynapsed chromatin and microRNA pathway? *Hum. Mol. Genet.* V. 15. P. 2324. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl158>
- de Cuevas M., Lee J.K., Spradling A.C. 1996. alpha-spectrin is required for germline cell division and differentiation in the *Drosophila* ovary. *Development.* V. 122. P. 3959
- Czolowska R. 1969. Observations on the origin of the 'germinal cytoplasm' in *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Exp. Morphol.* V. 22. P. 229.
- De Felici M. 2016. The formation and migration of primordial germ cells in mouse and man. Molecular mechanisms of cell differentiation in gonad development. Cham. Springer International Publishing. P. 23. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5_2)
- Dobson C.M. 2003. Protein folding and misfolding. *Nature.* V. 426. P. 884. <https://doi.org/10.1038/nature02261>
- Dumont J.N. 1972. Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin). I. Stages of oocyte development in laboratory maintained animals. *J. Morphol.* V. 136. P. 153. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051360203>
- El-Mestrah M., Castle P.E., Borossa G., Kan F.W.K. 2002. Subcellular distribution of ZP1, ZP2, and ZP3 glycoproteins during folliculogenesis and demonstration of their topographical disposition within the zona matrix of mouse ovarian oocytes. *Biol. Reprod.* V. 66. P. 866.
- Escobar-Aguirre M., Zhang H., Jamieson-Lucy A., Mullins M.C. 2017. Microtubule-actin crosslinking factor 1 (Macf1) domain function in Balbiani body dissociation and nuclear positioning. *PLoS Genet.* V. 13. P. E1006983. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006983>
- Findley S.D., Tamanaha M., Clegg N.J., Ruohola-Baker H. 2003. Maelstrom, a *Drosophila* spindle-class gene, encodes a protein that colocalizes with Vasa and RDE1/AGO1 homolog, Aubergine, in nuage. *Development.* V. 130. P. 859.
- Forman-Kay J.D., Mittag T. 2013. From sequence and forces to structure, function, and evolution of intrinsically disordered proteins. *Structure.* V. 21. P. 1492. <https://doi.org/10.1016/j.str.2013.08.001>
- Forristall C., Pondel M., Chen L., King M.L. 1995. Patterns of localization and cytoskeletal association of two vegetally localized RNAs, Vgl and Xcat-2. *Development.* V. 121. P. 201.
- Fukui A., Komazaki S., Miyoshi O., Asashima M. 2003. Immunocytochemical study of activin type IB receptor (XALK4) in *Xenopus* oocytes. *Dev. Growth Differ.* V. 45. P. 113. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0854.2004.00680.x>
- Ge X., Grotjahn D., Welch E., Lyman-Gingerich J., Holguin C., Dimitrova E., Abrams E.W., Gupta T., Marlow F.L., Yabe T., Adler A., Mullins M.C., Pelegri F. 2014. Hecate/Grip2a acts to reorganize the cytoskeleton in the symmetry-breaking event of embryonic axis induction. *PLoS Genet.* V. 10. P. E1004422. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004422>
- Ginter-Matuszewska B., Kusz K., Spik A., Grzeszkowiak D., Rembiszewska A., Kupryjanczyk J., Jaruzelska J. 2011. NANOS1 and PUMILIO2 bind microRNA biogenesis factor GEMIN3, within chromatoid body in human germ cells. *Histochem. Cell Biol.* V. 136. P. 279. <https://doi.org/10.1007/s00418-011-0842-y>
- Gönczy P., Rose L.S. 2005. Asymmetric cell division and axis formation in the embryo. *WormBook.* V. P. 1. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.30.1>
- Gruidl M.E., Smith P.A., Kuznicki K.A., McCrone J.S., Kirchner J., Roussell D.L., Strome S., Bennett K.L. 1996. Multiple potential germ-line helicases are components of the germ-line-specific P granules of *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* V. 93. P. 13837. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13837>
- Gunawardane L.S., Saito K., Nishida K.M., Miyoshi K., Kawamura Y., Nagami T., Siomi H., Siomi M.C. 2007. A slicer-mediated mechanism for repeat-associated siRNA 5' end formation in *Drosophila*. *Science.* V. 315. P. 1587. <https://doi.org/10.1126/science.1140494>
- Han T.W., Kato M., Xie S., Wu L.C., Mirzaei H., Pei J., Chen M., Xie Y., Allen J., Xiao G., McKnight S.L. 2012. Cell-free formation of RNA granules: bound RNAs identify features and components of cellular assemblies. *Cell.* V. 149. P. 768. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.016>
- Harris A.N., Macdonald P.M. 2001. Aubergine encodes a *Drosophila* polar granule component required for pole cell formation and related to eIF2C. *Development.* V. 128. P. 2823.
- Hay B., Jan L.Y., Jan Y.N. 1988. A protein component of *Drosophila* polar granules is encoded by vasa and has extensive sequence similarity to ATP-dependent helicases. *Cell.* V. 55. P. 577. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90216-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90216-4)
- Heim A.E., Hartung O., Rothhämel S., Ferreira E., Jenny A., Marlow F.L. 2014. Oocyte polarity requires a Bucky ball-dependent feedback amplification loop. *Development.* V. 141. P. 842. <https://doi.org/10.1242/dev.090449>
- Hertig A.T. 1968. The primary human oocyte: some observations on the fine structure of Balbiani's vitelline body and the origin of the annulate lamellae. *American Journal of Anatomy.* V. 122. P. 107. <https://doi.org/10.1002/aja.1001220107>
- Hondele M., Sachdev R., Heinrich S., Wang J., Vallotton P., Fontoura B.M.A., Weis K. 2019. DEAD-box ATPases are global regulators of phase-separated organelles. *Nature.* V. 573. P. 144. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1502-y>
- Hoodbhoy T., Avilés M., Baibakov B., Epifano O., Jiménez-Movilla M., Gauthier L., Dean J. 2006. ZP2 and ZP3 traffic in-

- dependently within oocytes prior to assembly into the extracellular zona pellucida. *Mol. Cell. Biol.* V. 26. P. 7991. <https://doi.org/10.1128/MCB.00904-06>
- Houston D.W., Zhang J., Maines J.Z., Wasserman S.A., King M.L. 1998. A *Xenopus* DAZ-like gene encodes an RNA component of germ plasm and is a functional homologue of *Drosophila* boule. *Development*. V. 125. P. 171.
- Hubstenberger A., Noble S.L., Cameron C., Evans T.C. 2013. Translation repressors, an RNA helicase, and developmental cues control RNP phase transitions during early development. *Dev. Cell*. V. 27. P. 161. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.09.024>
- Hudson C., Woodland H.R. 1998. Xpat, a gene expressed specifically in germ plasm and primordial germ cells of *Xenopus laevis*. *Mech. Dev.* V. 73. P. 159. [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(98\)00047-1](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(98)00047-1)
- Ikenishi K., Tanaka T.S. 2000. Spatio-temporal expression of *Xenopus* vasa homolog, XVLG1, in oocytes and embryos: the presence of XVLG1 RNA in somatic cells as well as germline cells. *Dev. Growth Differ.* V. 42. P. 95. <https://doi.org/10.1046/j.1440-169x.2000.00493.x>
- Ingelfinger D., Arndt-Jovin D.J., Lührmann R., Achsel T. 2002. The human LSm1-7 proteins colocalize with the mRNA-degrading enzymes Dcp1/2 and Xrnl in distinct cytoplasmic foci. *RNA*. V. 8. P. 1489.
- Jud M.C., Czerwinski M.J., Wood M.P., Young R.A., Gallo C.M., Bickel J.S., Petty E.L., Mason J.M., Little B.A., Padilla P.A., Schisa J.A. 2008. Large P body-like RNPs form in *C. elegans* oocytes in response to arrested ovulation, heat shock, osmotic stress, and anoxia and are regulated by the major sperm protein pathway. *Dev. Biol.* V. 318. P. 38. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.02.059>
- Kawasaki I., Shim Y.H., Kirchner J., Kaminker J., Wood W.B., Strome S. 1998. PGL-1, a predicted RNA-binding component of germ granules, is essential for fertility in *C. elegans*. *Cell*. V. 94. P. 635. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81605-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81605-0)
- Kennerdell J.R., Yamaguchi S., Carthew R.W. 2002. RNAi is activated during *Drosophila* oocyte maturation in a manner dependent on aubergine and spindle-E. *Genes Dev.* V. 16. P. 1884. <https://doi.org/10.1101/gad.990802>
- Kiledjian M., Dreyfuss G. 1992. Primary structure and binding activity of the hnRNP U protein: binding RNA through RGG box. *EMBO J.* V. 11. P. 2655.
- Kloc M., Bilinski S., Chan A.P., Allen L.H., Zearfoss N.R., Etkin L.D. 2001. RNA localization and germ cell determination in *Xenopus*. *Int. Rev. Cytol.* V. 203. P. 63. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(01\)03004-2](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(01)03004-2)
- Kloc M., Bilinski S., Dougherty M.T., Brey E.M., Etkin L.D. 2004a. Formation, architecture and polarity of female germline cyst in *Xenopus*. *Dev. Biol.* V. 266. P. 43. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.10.002>
- Kloc M., Bilinski S., Etkin L.D. 2004b. The Balbiani body and germ cell determinants: 150 years later. *Curr. Top. Dev. Biol.* V. 59. P. 1. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(04\)59001-4](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(04)59001-4)
- Kloc M., Dougherty M.T., Bilinski S., Chan A.P., Brey E., King M.L., Patrick C.W., Etkin L.D. 2002. Three-dimensional ultrastructural analysis of RNA distribution within germinal granules of *Xenopus*. *Dev. Biol.* V. 241. P. 79. <https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0488>
- Kloc M., Jaglarz M., Dougherty M., Stewart M.D., Nel-Themaat L., Bilinski S. 2008. Mouse early oocytes are transiently polar: three-dimensional and ultrastructural analysis. *Exp. Cell Res.* V. 314. P. 3245. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.07.007>
- Kotaja N., Bhattacharyya S.N., Jaskiewicz L., Kimmins S., Parvinen M., Filipowicz W., Sassone-Corsi P. 2006. The chromatoid body of male germ cells: similarity with processing bodies and presence of Dicer and microRNA pathway components. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 103. P. 2647. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509333103>
- Kumar D.L., DeFalco T. 2017. Of Mice and Men: In Vivo and In Vitro Studies of Primordial Germ Cell Specification. *Semin. Reprod. Med.* V. 35. P. 139. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1599085>
- Kuznicki K.A., Smith P.A., Leung-Chiu W.M., Estevez A.O., Scott H.C., Bennett K.L. 2000. Combinatorial RNA interference indicates GLH-4 can compensate for GLH-1; these two P granule components are critical for fertility in *C. elegans*. *Development*. V. 127. P. 2907.
- Lai F., King M.L. 2013. Repressive translational control in germ cells. *Mol. Reprod. Dev.* V. 80. P. 665. <https://doi.org/10.1002/mrd.22161>
- Lall S., Piano F., Davis R.E. 2005. *Caenorhabditis elegans* decapping proteins: localization and functional analysis of Dcp1, Dcp2, and DcpS during embryogenesis. *Mol. Biol. Cell*. V. 16. P. 5880. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-07-0622>
- Lasko P.F., Ashburner M. 1990. Posterior localization of vasa protein correlates with, but is not sufficient for, pole cell development. *Genes Dev.* V. 4. P. 905. <https://doi.org/10.1101/gad.4.6.905>
- Lee L., Davies S.E., Liu J.-L. 2009. The spinal muscular atrophy protein SMN affects *Drosophila* germline nuclear organization through the U body-P body pathway. *Dev. Biol.* V. 332. P. 142. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.05.553>
- Lehmann R., Nüsslein-Volhard C. 1991. The maternal gene nanos has a central role in posterior pattern formation of the *Drosophila* embryo. *Development*. V. 112. P. 679.
- Li L., Baibakov B., Dean J. 2008. A subcortical maternal complex essential for preimplantation mouse embryogenesis. *Dev. Cell*. V. 15. P. 416. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.07.010>
- Liang L., Diehl-Jones W., Lasko P. 1994. Localization of vasa protein to the *Drosophila* pole plasm is independent of its RNA-binding and helicase activities. *Development*. V. 120. P. 1201.
- Lim A.K., Kai T. 2007. Unique germ-line organelle, nuage, functions to repress selfish genetic elements in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 104. P. 6714. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701920104>

- Lim A.K., Knowles B.B.* 2015. Controlling endogenous retroviruses and their chimeric transcripts during natural reprogramming in the oocyte. *J. Infect. Dis.* V. 212 Suppl 1. P. S47.  
<https://doi.org/10.1093/infdis/jiu567>
- Lim A.K., Lorthongpanich C., Chew T.G., Tan C.W.G., Shue Y.T., Balu S., Gouko N., Kuramochi-Miyagawa S., Matzuk M.M., Chuma S., Messerschmidt D.M., Solter D., Knowles B.B.* 2013. The nuage mediates retrotransposon silencing in mouse primordial ovarian follicles. *Development.* V. 140. P. 3819.  
<https://doi.org/10.1242/dev.099184>
- Lin M.-D., Fan S.-J., Hsu W.-S., Chou T.-B.* 2006. *Drosophila* decapping protein 1, dDcp1, is a component of the oskar mRNP complex and directs its posterior localization in the oocyte. *Dev. Cell.* V. 10. P. 601.  
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2006.02.021>
- Liu J.-L., Gall J.G.* 2007. U bodies are cytoplasmic structures that contain uridine-rich small nuclear ribonucleoproteins and associate with P bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* V. 104. P. 11655.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0704977104>
- Liu L., Qi H., Wang J., Lin H.* 2011. PAPI, a novel TUDOR-domain protein, complexes with AGO3, ME31B and TRAL in the nuage to silence transposition. *Development.* V. 138. P. 1863.  
<https://doi.org/10.1242/dev.059287>
- MacArthur H., Houston D.W., Bubunenko M., Mosquera L., King M.L.* 2000. DEADSouth is a germ plasm specific DEAD-box RNA helicase in *Xenopus* related to eIF4A. *Mech. Dev.* V. 95. P. 291.  
[https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(00\)00357-9](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(00)00357-9)
- Mahowald A.P.* 1971. Polar granules of *Drosophila*. 3. The continuity of polar granules during the life cycle of *Drosophila*. *J. Exp. Zool.* V. 176. P. 329.  
<https://doi.org/10.1002/jez.1401760308>
- Mahowald A.P.* 2001. Assembly of the *Drosophila* germ plasm. *Int. Rev. Cytol.* V. 203. P. 187
- Marlow F.L., Mullins M.C.* 2008. Bucky ball functions in Balbiani body assembly and animal-vegetal polarity in the oocyte and follicle cell layer in *zebrafish*. *Dev. Biol.* V. 321. P. 40.  
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.05.557>
- Megosh H.B., Cox D.N., Campbell C., Lin H.* 2006. The role of PIWI and the miRNA machinery in *Drosophila* germline determination. *Curr. Biol.* V. 16. P. 1884.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.08.051>
- Mignotte F., Tourte M., Mounolou J.C.* 1987. Segregation of mitochondria in the cytoplasm of *Xenopus* vitellogenic oocytes. *Biol. Cell.* V. 60. P. 97.  
<https://doi.org/10.1111/j.1768-322x.1987.tb00549.x>
- Monnot S., Gigarel N., Samuels D.C., Burlet P., Hesters L., Frydman N., Frydman R., Kerbrat V., Funalot B., Martinovic J., Benachi A., Feingold J., Munnich A., Bonnefont J.-P., Steffann J.* 2011. Segregation of mtDNA throughout human embryofetal development: m.3243A>G as a model system. *Hum. Mutat.* V. 32. P. 116.  
<https://doi.org/10.1002/humu.21417>
- Nakamura A., Amikura R., Hanyu K., Kobayashi S.* 2001. Me31B silences translation of oocyte-localizing RNAs through the formation of cytoplasmic RNP complex during *Drosophila* oogenesis. *Development.* V. 128. P. 3233.
- Nakamura A., Sato K., Hanyu-Nakamura K.* 2004. *Drosophila* cup is an eIF4E binding protein that associates with Bruno and regulates oskar mRNA translation in oogenesis. *Dev. Cell.* V. 6. P. 69.  
[https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(03\)00400-3](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00400-3)
- Navarro R.E., Shim E.Y., Kohara Y., Singson A., Blackwell T.K.* 2001. cgh-1, a conserved predicted RNA helicase required for gametogenesis and protection from physiological germline apoptosis in *C. elegans*. *Development.* V. 128. P. 3221.
- Nijjar S., Woodland H.R.* 2013. Protein interactions in *Xenopus* germ plasm RNP particles. *PLoS One.* V. 8. P. E80077.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080077>
- Noble S.L., Allen B.L., Goh L.K., Nordick K., Evans T.C.* 2008. Maternal mRNAs are regulated by diverse P body-related mRNP granules during early *Caenorhabditis elegans* development. *J. Cell Biol.* V. 182. P. 559.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.200802128>
- Nojima H., Rothhämel S., Shimizu T., Kim C.-H., Yonemura S., Marlow F.L., Hibi M.* 2010. Syntabulin, a motor protein linker, controls dorsal determination. *Development.* V. 137. P. 923.  
<https://doi.org/10.1242/dev.046425>
- Nott T.J., Petsalaki E., Farber P., Jervis D., Fussner E., Plochowitz A., Craggs T.D., Bazett-Jones D.P., Pawson T., Forman-Kay J.D., Baldwin A.J.* 2015. Phase transition of a disordered nuage protein generates environmentally responsive membraneless organelles. *Mol. Cell.* V. 57. P. 936.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.01.013>
- Parker R., Sheth U.* 2007. P bodies and the control of mRNA translation and degradation. *Mol. Cell.* V. 25. P. 635.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.02.011>
- Patil V.S., Kai T.* 2010. Repression of retroelements in *Drosophila* germline via piRNA pathway by the Tudor domain protein Tejas. *Curr. Biol.* V. 20. P. 724.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.046>
- Pepling M.E.* 2010. A novel maternal mRNA storage compartment in mouse oocytes. *Biol. Reprod.* V. 82. P. 807.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.084376>
- Pepling M.E., Wilhelm J.E., O'Hara A.L., Gephardt G.W., Spradling A.C.* 2007. Mouse oocytes within germ cell cysts and primordial follicles contain a Balbiani body. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 104. P. 187.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0609923104>
- Pitt J.N., Schisa J.A., Priess J.R.* 2000. P granules in the germ cells of *Caenorhabditis elegans* adults are associated with clusters of nuclear pores and contain RNA. *Dev. Biol.* V. 219. P. 315.  
<https://doi.org/10.1006/dbio.2000.9607>
- Reunov A.* 2006. Structures related to the germ plasm in mouse. *Zygote.* V. 14. P. 231.  
<https://doi.org/10.1017/S0967199406003789>
- Roovers E.F., Kaaij L.J.T., Redl S., Bronkhorst A.W., Wiebrands K., de Jesus Domingues A.M., Huang H.-Y., Han C.-T., Riemer S., Dosch R., Salvenmoser W., Grün D., Butter F., van Oude-*

- naarden A., Ketting R.F.* 2018. Tdrd6a regulates the aggregation of Buc into functional subcellular compartments that drive germ cell specification. *Dev. Cell.* V. 46. P. 285.e9. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.07.009>
- Schisa J.A., Pitt J.N., Priess J.R.* 2001. Analysis of RNA associated with P granules in germ cells of *C. elegans* adults. *Development.* V. 128. P. 1287.
- Schüpbach T., Wieschaus E.* 1991. Female sterile mutations on the second chromosome of *Drosophila melanogaster*. II. Mutations blocking oogenesis or altering egg morphology. *Genetics.* V. 129. P. 1119.
- Seydoux G., Schedl T.* 2001. The germline in *C. elegans*: origins, proliferation, and silencing. *Int. Rev. Cytol.* V. 203. P. 139. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(01\)03006-6](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(01)03006-6)
- Škugor A., Tveiten H., Johnsen H., Andersen Ø.* 2016. Multiplicity of Buc copies in Atlantic salmon contrasts with loss of the germ cell determinant in primates, rodents and axolotl. *BMC Evol. Biol.* V. 16. P. 232. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0809-7>
- de Smedt V., Szöllösi D., Kloc M.* 2000. The balbiani body: asymmetry in the mammalian oocyte. *Genesis.* V. 26. P. 208. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1526-968x\(200003\)26:3<208::aid-gene6>3.3.co;2-e](https://doi.org/10.1002/(sici)1526-968x(200003)26:3<208::aid-gene6>3.3.co;2-e)
- Snee M.J., Macdonald P.M.* 2004. Live imaging of nuage and polar granules: evidence against a precursor-product relationship and a novel role for Oskar in stabilization of polar granule components. *J. Cell. Sci.* V. 117. P. 2109. <https://doi.org/10.1242/jcs.01059>
- Snee M.J., Macdonald P.M.* 2009a. Dynamic organization and plasticity of sponge bodies. *Dev. Dyn.* V. 238. P. 918. <https://doi.org/10.1002/dvdy.21914>
- Snee M.J., Macdonald P.M.* 2009b. Bicaudal C and trailer hitch have similar roles in gurken mRNA localization and cytoskeletal organization. *Dev. Biol.* V. 328. P. 434. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.02.003>
- Strome S., Wood W.B.* 1982. Immunofluorescence visualization of germ-line-specific cytoplasmic granules in embryos, larvae, and adults of *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 79. P. 1558. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.5.1558>
- Subramaniam K., Seydoux G.* 1999. nos-1 and nos-2, two genes related to *Drosophila* nanos, regulate primordial germ cell development and survival in *Caenorhabditis elegans*. *Development.* V. 126. P. 4861.
- Suntharalingam M., Wente S.R.* 2003. Peering through the pore: nuclear pore complex structure, assembly, and function. *Dev. Cell.* V. 4. P. 775. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(03\)00162-x](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00162-x)
- Thomson T., Liu N., Arkov A., Lehmann R., Lasko P.* 2008. Isolation of new polar granule components in *Drosophila* reveals P body and ER associated proteins. *Mech. Dev.* V. 125. P. 865. <https://doi.org/10.1016/j.mod.2008.06.005>
- Tourte M., Mignotte F., Mounolou J.C.* 1984. Heterogeneous distribution and replication activity of mitochondria in *Xenopus laevis* oocytes. *Eur. J. Cell Biol.* V. 34. P. 171.
- Toyooka Y., Tsunekawa N., Takahashi Y., Matsui Y., Satoh M., Noce T.* 2000. Expression and intracellular localization of mouse Vasa-homologue protein during germ cell development. *Mech. Dev.* V. 93. P. 139.
- Viel A., Armand M.J., Callen J.C., Gomez De Gracia A., Denis H., le Maire M.* 1990. Elongation factor 1 alpha (EF-1 alpha) is concentrated in the Balbiani body and accumulates coordinately with the ribosomes during oogenesis of *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.* V. 141. P. 270. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(90\)90383-t](https://doi.org/10.1016/0012-1606(90)90383-t)
- Wang G., Reinke V.* 2008. A *C. elegans* Piwi, PRG-1, regulates 21U-RNAs during spermatogenesis. *Curr. Biol.* V. 18. P. 861. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.05.009>
- Wang J.T., Smith J., Chen B.-C., Schmidt H., Rasoloson D., Paix A., Lambrus B.G., Calidas D., Betzig E., Seydoux G.* 2014. Regulation of RNA granule dynamics by phosphorylation of serine-rich, intrinsically disordered proteins in *C. elegans*. *Elife.* V. 3. P. E04591. <https://doi.org/10.7554/eLife.04591>
- Watanabe M., Itoh K., Abe K., Akizawa T., Ikenishi K., Furusawa M.* 2005. Immuno-localization of DEAD family proteins in germ line cells of *Xenopus* embryos. *Dev. Growth Diff.* V. 34. P. 223. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.1992.tb00011.x>
- Weber S.C., Brangwynne C.P.* 2012. Getting RNA and protein in phase. *Cell.* V. 149. P. 1188. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.022>
- Wilhelm J.E., Hilton M., Amos Q., Henzel W.J.* 2003. Cup is an eIF4E binding protein required for both the translational repression of oskar and the recruitment of Barentsz. *J. Cell Biol.* V. 163. P. 1197. <https://doi.org/10.1083/jcb.200309088>
- Wilsch-Bräuning M., Schwarz H., Nüsslein-Volhard C.* 1997. A sponge-like structure involved in the association and transport of maternal products during *Drosophila* oogenesis. *J. Cell Biol.* V. 139. P. 817. <https://doi.org/10.1083/jcb.139.3.817>
- Yurttas P., Vitale A.M., Fitzhenry R.J., Cohen-Gould L., Wu W., Gossen J.A., Coonrod S.A.* 2008. Role for PADI6 and the cytoplasmic lattices in ribosomal storage in oocytes and translational control in the early mouse embryo. *Development.* V. 135. P. 2627. <https://doi.org/10.1242/dev.016329>
- Zearfoss N.R., Chan A.P., Kloc M., Allen L.H., Etkin L.D.* 2003. Identification of new Xlsirt family members in the *Xenopus laevis* oocyte. *Mech. Dev.* V. 120. P. 503. [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(02\)00459-8](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(02)00459-8)
- Zhang C.-H., Wang Z.-B., Quan S., Huang X., Tong J.-S., Ma J.-Y., Guo L., Wei Y.-C., Ouyang Y.-C., Hou Y., Xing F.-Q., Sun Q.-Y.* 2011. GM130, a cis-Golgi protein, regulates meiotic spindle assembly and asymmetric division in mouse oocyte. *Cell Cycle.* V. 10. P. 1861. <https://doi.org/10.4161/cc.10.11.15797>

**GERM GRANULES IN ANIMAL OOGENESIS****M. A. Dobrynin<sup>a,\*</sup> and N. E. Eukashvily<sup>a</sup>**<sup>a</sup>*Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064 Russia*<sup>\*</sup>*e-mail: dobrmak1555@mail.ru*

In eukaryotic cells, many macromolecules are organized as membraneless biomolecular condensates. In their formation, the leading role is played by the processes of phase transitions of the “liquid-liquid” and “liquid-solid” type. Such condensates also include unique RNP granules characteristic of germ line cells which are termed germ granules. The review summarizes recent data on the composition of germ granules and their suggested functions. According to these data, germ granules are involved in the determination of germline cells in some animals. Germ granules also take part in the processes of transposons inactivation and sequestration of mRNA and proteins to temporarily decrease their activity.

**Keywords:** oogenesis, embryogenesis, germ granules, nuage, membraneless biomolecular condensates