

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ BAF И LEM-БЕЛКОВ В ПРОЦЕССАХ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

© 2023 г. И. О. Боголюбова<sup>1</sup>, Д. С. Боголюбов<sup>1</sup>, \*

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

\*E-mail: dbogol@mail.ru

Поступила в редакцию 27.04.2023 г.

После доработки 27.05.2023 г.

Принята к публикации 12.06.2023 г.

Восстановление структуры ядра после деления клетки требует особых взаимодействий между интегральными белками внутренней ядерной мембраны, имеющими особый LEM-домен (LEMD), белками ядерной ламины (ламинами) и консервативным белком BAF, который выступает в качестве центрального звена в этих взаимодействиях, обеспечивающих топологические взаимоотношения хроматина и ядерной оболочки. Динамические преобразования этих белковых ансамблей в митотическом цикле детально охарактеризованы на молекулярном уровне, однако меньше внимания уделяется формирующимся половым клеткам, претерпевающим мейотические деления, несмотря на то, что их ядра (особенно в случае дипло-тенных ооцитов) по своей структуре существенно отличаются от соматических клеток. В настоящем обзоре обобщены пока еще относительно немногочисленные экспериментальные данные, доказывающие значимость функциональных взаимодействий BAF и LEMD-белков для формирования гамет, начиная с выделения клеток зародышевой линии и заканчивая превращением гаплоидных сперматид в морфологически зрелые сперматозоиды.

**Ключевые слова:** ядерная архитектура, ядерная оболочка, гаметогенез, мейоз, клетки зародышевой линии, BAF, LEMD-белки, VRK1

**DOI:** 10.31857/S0041377123050036, **EDN:** PISDQF

Формирование половых клеток является одним из наиболее сложных процессов клеточной дифференцировки, который начинается еще на ранних этапах эмбриогенеза, когда происходит выделение клеток зародышевого пути (или первичных половых клеток) и их миграция в формирующиеся гонады. Здесь после ряда митотических делений клеток, называемых гониями (спермато- и оогониями), и последующего мейоза, который претерпевают спермато- и ооциты, образуются высокоспециализированные гаплоидные половые клетки (гаметы). При оплодотворении в результате слияния мужской и женской гаметы образуется тотипотентная зигота,

дающая начало всем клеткам многоклеточного организма. Очевидно, что формирование зрелых (функционально компетентных) мужских и женских половых клеток требует сложного и динамичного контроля — как процесса дифференциальной экспрессии генов, так и поэтапного преобразования хромосомного аппарата развивающихся гамет. Одним из важнейших компонентов этой многоаспектной регуляторной системы является ламина (nuclear lamina) — подстилающая внутреннюю мембрану ядерной оболочки структурная сеть промежуточных филаментов.

По современным представлениям, ламина не просто служит структурно-механическим “каркасом”, определяющим физические (упруго-механические) свойства ядра, но является связующим звеном между хроматином и цитоплазмой, будучи вовлеченной напрямую в процессы структурно-функциональной реорганизации хроматина и регуляции экспрессии генов (Wong et al., 2022). В частности, ламина обеспечивает связывание хроматина с периферией ядра, контроль репарации ДНК и трансмембранную передачу сигналов. Ведущую роль в функционировании ядерной ламины играют белки, содержащие специфический LEM-домен (LAP2–emerin–MAN1 domain, LEMD), и их функциональные взаимодействия с белком BAF, известным также как BANF1 (Barrier-

**Принятые сокращения:** а. о. — аминокислотный остаток; Ankle — белок, содержащий анкириновый повтор (Ank) и LEM-домен (Ankyrin repeat and LEM domain-containing protein); BAF (BANF) — Barrier-to-Autointegration [Nuclear] Factor; CENP — центромерный белок (centromere protein); LAP — белок, ассоциированный с ламинной (lamina-associated protein); LEM — LAP2–emerin–MAN1; LEMD — LAP2–emerin–MAN1-домен; MAN — белок внутренней ядерной мембраны (inner nuclear membrane protein); MSC — С-концевая последовательность MAN1/Src1p/C-terminal motif; НКК — киназа гистонов нуклеосом, (nucleosome histone kinase); Об-В — обтусилактон В (бутанолид растительного происхождения); РР — фосфатаза белков (protein phosphatase); VRK — серинтреониновая протеинкиназа (Vaccinia-related kinase).

to-Autointegration Nuclear Factor) (Brachner, Foisner, 2011; Barton et al., 2015).

BAF традиционно рассматривают как важное (можно сказать центральное) звено, интегрирующее хроматин, ламину и белки внутренней ядерной мембраны в единую функциональную систему, а его взаимодействия с LEMD-белками и хроматином имеют решающее значение для регуляции динамического состояния ядерных структур в физиологических условиях, прежде всего во время митоза, а также в патологических процессах (Burla et al., 2020). Иными словами, именно BAF в контексте трехмерной ядерной архитектуры опосредует функциональные корреляции между специфической структурой хроматина и уровнем экспрессии тех или иных генов, объединяя ДНК (хроматин) и экстрахромосомные элементы ядра, включая ядерную оболочку, в единую структурно-функциональную систему (Segura-Totten, Wilson, 2004).

Поскольку BAF участвует в поддержании структуры хроматина и стабильности генома, его можно рассматривать как один из жизненно важных ядерных компонентов (Jamin, Wiebe, 2015). Критическое влияние на процессы конденсации (деконденсации) хромосом оказывают взаимодействия BAF с хроматином с одной стороны и с LEMD-белками с другой, при этом высокие концентрации BAF приводят к гиперкомпактизации хроматина (Segura-Totten et al., 2002). В неделящихся клетках взаимодействия между LEMD-белками и BAF лежат в основе прикрепления хромосом к элементам ядерной оболочки (Jamin, Wiebe, 2015; Barrales et al., 2016). В делящихся клетках благодаря этим взаимодействиям осуществляется контроль сборки и локализации веретена деления, а также формирование ядерной оболочки *de novo* и восстановление целостности ядра в конце митоза (Furukawa et al., 2003; Qi et al., 2015; Samwer et al., 2017).

Практически с самого начала своего изучения BAF привлекал внимание исследователей в связи с патогенезом некоторых видов прогерий (см., например, обзор: Marcelot et al., 2021b). В частности, рецессивная миссенс-мутация в гене *BANFI*, кодирующем BAF, приводит к развитию одного из вариантов прогерии – синдрома Нестора–Гильермо (NGPS) (Cabanillas et al., 2011; Puente et al., 2011; Paquet et al., 2014). Как и в случае других прогерий, для NGPS характерны такие фенотипические последствия, как деформация ядер и аномальная локализация ряда ядерных белков (Cabanillas et al., 2011; Paquet et al., 2014). В последнее время показана связь BAF с развитием некоторых видов рака, например, трижды негативного рака молочной железы (Zhang, 2020), рака желудка (Li et al., 2018), гепатоцеллюлярной карциномы (Shen et al., 2018) и другими злокачественными новообразованиями (Li et al., 2017).

Поскольку дисфункции BAF имеют прямое отношение к развитию злокачественных опухолей, значительное внимание сегодня уделяют поиску его

возможных лигандов, которые можно было бы использовать как таргетные терапевтические агенты. Так, из древесины бобового растения цезальпинии (*Caesalpinia sappan*) было выделено связывающееся с BAF тетрациклическое фенольное соединение, названное бразилином (Correia Soeiro et al., 2022). Другим соединением с противоопухолевой активностью является обтусилактон В (Ob-V), специфический ингибитор эволюционно консервативной нуклеосомной серин-треониновой протеинкиназы (VRK1), ключевой мишенью которой служит BAF. Кроме того, идентифицировано еще несколько природных соединений с BAF-связывающей способностью, потенциально превосходящей таковую Ob-V, например, махубанолид, котомолид В, эпилиценолид D2 и некоторые другие растительные препараты с противоопухолевой активностью (Bailly, Vergoten, 2021).

Гораздо меньше внимания уделяется роли взаимодействий BAF с его функциональными партнерами, в частности с LEMD-белками, при формировании мужских и женских половых клеток в процессе мейоза. Однако, как известно, в ходе мейотических делений ядерная оболочка и связанная с ней ламина задействованы в уникальных процессах, поддерживаемых с помощью особых молекулярных механизмов, обеспечивающих правильную сегрегацию (разделение) хромосом и формирование функциональных гамет (Zetka et al., 2020).

В связи с этим целью настоящего обзора является обобщение данных о значимости функциональных взаимодействий BAF и LEMD-белков для формирования гамет. Особый интерес в данном аспекте представляет процесс образования женских половых клеток, где вне зависимости от специфики мейоза (Богданов, Гришаева, 2020) и типа оогенеза (Дондуа, 2018) начало роста ооцита сопровождается отделением хромосом от ядерной оболочки. Такое состояние принципиально отличает структуру ядра ооцита (зародышевого пузырька) от ядра соматических клеток, в отношении которых динамика взаимодействий хромосом и ядерной оболочки, а также белковые ансамбли, обеспечивающие эти динамические преобразования в митотическом цикле, детально охарактеризованы на молекулярном уровне.

## БЕЛОК BAF (BARRIER-TO-AUTOINTEGRATION FACTOR)

BAF – один из наиболее консервативных ДНК-связывающих белков, в избытке представленный в ядре. Он описан в клетках многоклеточных животных, начиная от нематоды, плодовой мушки и заканчивая человеком, но отсутствует в клетках дрожжей и растений (Cohen et al., 2001). Это небольшой по размеру белок (примерно 10 кДа), который в клетках человека и большинства других исследованных видов (например, нематоды *Caenorhabditis elegans*, рыбки-зебры *Danio rerio* и мыши) состоит из 89 аминокислотных остатков (а. о.), а у *Drosophila* и

*Xenopus* имеет дополнительные остатки серина (S2), то есть состоит из 90 а. о. (Segurra-Totten, Wilson, 2004). Аминокислотная последовательность VAF на 60% идентична у таких “далеких” организмов, как нематода и человек (Cai et al., 1998), и на 69% у человека и дрозофилы (Segurra-Totten, Wilson, 2004). В клетке молекулы VAF обычно образуют димеры (Zheng et al., 2000).

Недавнее исследование (Marcelot et al., 2022), выполненное с помощью техники ядерно-магнитного резонанса, показало, что в растворах N-концевая область молекулы VAF способна изгибаться и эта способность зависит от ионной силы и pH, снижаясь в результате фосфорилирования S4, а также (в большей степени) от фосфорилирования по остаткам S4 и T3. Важным фактором снижения гибкости молекулы VAF является наличие двух отрицательных зарядов остатков фосфорной кислоты. Депротонирование H7 также снижает гибкость VAF в его N-концевой области. Таким образом, конформация внутренне неупорядоченной N-концевой области VAF является тонко регулируемой, что, вероятно, обеспечивает потенциальную широту межбелковых взаимодействий VAF и, как следствие, разнообразные функции.

Несмотря на то что VAF первоначально был описан как цитоплазматический белок (Lee, Craigie, 1998), он имеет преимущественно ядерную локализацию и выполняет ядерные функции, прежде всего как хроматинсвязывающий белок. От уровня VAF напрямую зависит состояние хроматина. В интерфазных клетках дрозофилы, несущих мутантный ген *baf*, появляются аномальные глыбки гетерохроматина, многие из которых ассоциированы с ядерной оболочкой; при этом полная утрата VAF летальна для эмбриона (Furukawa et al., 2003). Снижение уровня VAF у *C. elegans* также приводит к изменению структуры ядра, аномалиям митотического деления (абберрантной сегрегации хромосом во время анафазы) и гибели ранних эмбрионов (Liu et al., 2000).

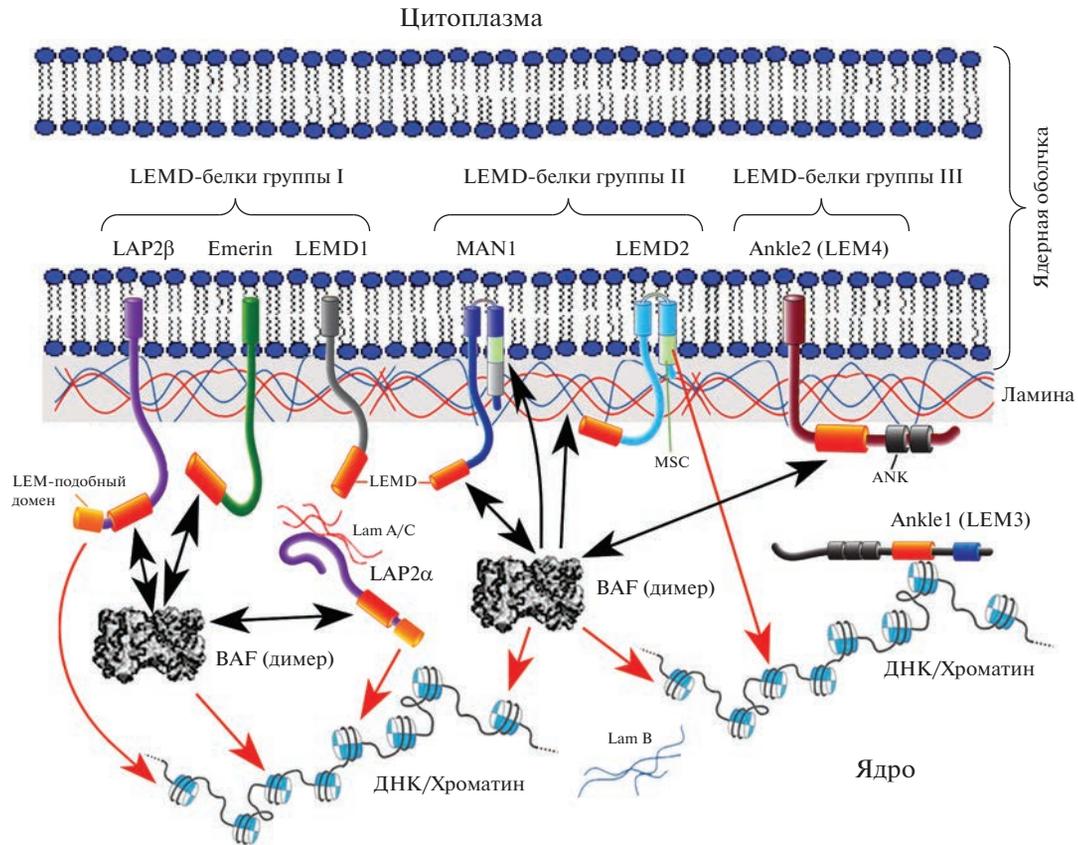
Ядерные функции VAF, влияющие на состояние хроматина, определяются способностью VAF неспецифически связываться с двухцепочечной ДНК, однако он не связывает одноцепочечную ДНК или РНК (Zheng et al., 2000). При этом каждый из димеров VAF имеет два сайта, определяющих его связывание с ДНК за счет взаимодействий с фосфатным остовом на поверхности малой бороздки ее молекулы (Bradley et al., 2005). У человека идентифицировано несколько модификаций VAF, которые не влияют на вторичную структуру самого VAF, но отдельные варианты а. о. на N- и C-концах оказывают прямое влияние на аффинность связывания VAF с ДНК, не нарушая, однако, ни локализации VAF, ни структуры ядра в целом (Rose et al., 2021). Связываясь как с ДНК, так и с белками ядерной оболочки, например, ламином A и LEMD-белками, за счет чего, собственно, обеспечивается связь ядерной ламины с хроматином (Barton et al., 2015), VAF оказывает

существенное влияние на динамику хромосом (Vivante et al., 2019). В упрощенном виде сложные межмолекулярные взаимодействия с участием VAF представлены на рис. 1.

В соматических клетках дрозофилы небольшая фракция VAF ассоциирована с центромерами. Оказалось, что центромерный VAF необходим для правильной сборки центромер, а также сегрегации хромосом в митозе (Torras-Llort et al., 2020). Авторы цитируемой работы установили, что фосфатаза PP4, которую рекрутирует к центромерам белок CENP-C, во время митоза предотвращает фосфорилирование центромерного VAF и его высвобождение из центромерного хроматина. При этом нарушение центромерной локализации VAF препятствует инактивации в митозе фосфатазы PP2A, нарушая нормальное широкомасштабное фосфорилирование VAF, что, в свою очередь, ведет к устойчивой ассоциации VAF с хроматином, задержке наступления анафазы и дефектам формирования ядерной оболочки. Полученные результаты показывают, что центромерный VAF совместно с PP4 и CENP-C формирует особую, опосредованную центромерами, функциональную систему, которая контролирует сегрегацию митотических хромосом и правильное прохождение митотических делений. Имеет ли место подобный механизм в мейозе, остается неизвестным.

Функции VAF и динамика ядерных структур напрямую зависят от статуса его фосфорилирования. В соматических клетках нематоды *C. elegans* (Gorjánác et al., 2007) и млекопитающих (Molitor, Traktman, 2014) фосфорилирование VAF протеинкиназой VRK1 запускает отсоединение VAF от хроматина и LEMD-белков. Если VAF не фосфорилирован (в случае, например, деплеции VRK1 или экспрессии нефосфорилируемой формы VAF), нарушается разборка ядра в митозе. Одним из ключевых ферментов, осуществляющих дефосфорилирование VAF в позднем митозе, является серинтреониновая фосфатаза PP2A, связыванию которой с VAF способствует белок LEM4 (Asencio et al., 2012). Другой фосфатазой, дефосфорилирующей VAF, служит PP4 (Zhuang et al., 2014).

Как показано в одной из недавних работ (Marcelot et al., 2021a), VRK1 последовательно фосфорилирует VAF по а. о. S4 и T3. Авторы обнаружили, что кристаллическая структура VAF очень похожа до и после фосфорилирования. Однако гибкость N-концевой спирали  $\alpha 1$  и петли  $\alpha 1-\alpha 2$  в молекуле VAF, как уже отмечалось, сильно снижается в молекуле VAF, фосфорилированной сразу по двум а. о. (дифосфорилированной), из-за взаимодействий между фосфорилированными остатками и положительно заряженной C-концевой спиралью  $\alpha 6$ . Эти области участвуют в связывании VAF и с ДНК, и с ламином A/C. Установлено, что фосфорилирование VAF вызывает 5000-кратную (!) потерю его сродства к двухцепочечной ДНК, однако не нарушает связывания с иммуноглобулиновым (Ig-fold) доменом ламина



**Рис. 1.** Упрощенная схема, демонстрирующая взаимоотношения между BAF, LEMD-белками, ламинной (ламинами) и хроматином. Показаны три класса LEMD-белков, их LEM- и другие характерные домены; черные стрелки – межбелковые взаимодействия, красные стрелки – взаимодействия белков с хроматином (показаны не все взаимодействия, чтобы не усложнять рисунок); Lam A/C и Lam B – нуклеоплазматические ламины.

A/C, а также с нуклеоплазматическим фрагментом молекулы эмерина (Marcelot et al., 2021a) – одного из ключевых мембраноассоциированных LEMD-белков.

### БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ LEM-ДОМЕН (LEM-D PROTEINS)

Среди уникального набора интегральных белков ядерной оболочки особое место занимает быстро растущее семейство неродственных белков, называемых LEM-белками, которые объединяет присутствие в их молекулах характерного LEM-домена (Wagner, Krohne, 2007). Аббревиатуру LEM образуют первые буквы в названиях главных белков семейства – ламин-ассоциированного пептида 2 (LAP2), эмерина (emerin) и белка внутренней мембраны MAN1. LEM-домен (LEMD) состоит примерно из 40 а. о., имеет глобулярную структуру и образован двумя параллельными  $\alpha$ -спиралями, соединенными петлей. По завершении митоза различные компоненты ядра, “демонтированные” в процессе деления, быстро и эффективно взаимодействуют с дочерними хромосомами и восстанавливают структуру ядра в ранней фазе  $G_1$  (Foisner, 2003). Структурная роль LEMD-бел-

ков обеспечивает не только правильную сборку функционального постмитотического ядра в целом, но и необходима для приобретения ДНК компетентности к репликации (Gant et al., 1999; Martins et al., 2003).

В зависимости от локализации в мембране и некоторым другим особенностям LEMD-белки условно подразделяют на 3 группы (табл. 1). Подробно не останавливаясь на молекулярных характеристиках LEMD-белков и разнообразных их функциях (Var-ton et al., 2015), отметим, что некоторые LEMD-белки группы I не являются мембранными, хотя многие имеют одиночный С-концевой трансмембранный домен. Кроме N-концевого LEM-домена, характерного для всех LEMD-белков, молекулы LEMD-белков первой группы характеризуются наличием крупного нуклеоплазматического участка молекул. Наиболее известными белками этой группы являются LAP2 и эмерин. LEMD-белки группы II, представителем которой являются MAN1 и LEMD2, отличаются присутствием двух трансмембранных доменов и С-концевого спирального (winged helix) домена MSC (MAN1/Src1p/C-terminal motif), который способен напрямую связываться с ДНК (Caputo et al., 2006). К третьей группе LEMD-белков относятся

белки LEM3 (Ankle-1) и LEM4 (Ankle-2), молекулы которых, кроме LEM-домена, содержат множественные анкириновые (ANK) повторы. По сравнению с остальными LEMD-белками, белки группы III имеют ряд необычных особенностей. Например, Ankle-1, который не имеет трансмембранного домена, представляет собой челночный белок, курсирующий между ядром и цитоплазмой (Brachner et al., 2012), а Ankle-2, который обладает трансмембранным доменом, в клетках человека локализуется в мембранах эндоплазматического ретикулума, а в составе ядерной мембраны – в клетках нематоды *C. elegans* (Asencio et al., 2012).

Состав этих трех групп LEMD-белков несколько различается у разных многоклеточных животных – нематоды, плодовой мушки и млекопитающих. Например, у дрозофилы описано четыре белка, содержащих LEM-домен (Barton et al., 2015; Duan et al., 2020a), из них три связаны с ядерной ламиной (Wagner et al., 2006). Это два ортолога эмерина: эмерин 1 и эмерин 2 (известные у дрозофилы как отефин и Bocksbeutel соответственно) и dMAN1 (Wagner, Krohne, 2007). У *C. elegans* описаны три консервативных LEMD-белка: Се-эмерин и СеMAN1, имеющие трансмембранные домены, а также LEM-3 (ортолог Ankle-1), у которого трансмембранный домен отсутствует (Lee et al., 2000).

Благодаря дополнительному LEM-подобному (LEM-like) домену, некоторые LEMD-белки могут напрямую взаимодействовать с хроматином, к чему не способен канонический LEM-домен, обеспечивающий связь LEMD-белков с хроматином посредством VAF (рис. 1). N-концевой LEM-подобный домен имеет, например, трансмембранный белок LAR2β (Cai et al., 2001). Все исследованные LEMD-белки млекопитающих (LAR2α, LAR2β, эмерин и MAN1), кроме того, имеют отдельный домен, который обеспечивает прямое связывание с ламинами А или В-типа (Mattout-Drubezki, Gruenbaum, 2003). При этом главной особенностью всех белков семейства является способность их LEM-домена связывать белок VAF, что в свою очередь обеспечивает опосредованную связь LEMD-белков с хроматином.

Кстати, VAF человека первоначально был идентифицирован именно как “партнер” LAR2β – трансмембранной изоформы LAR2 (Furukawa, 1999), а позднее – и других LEMD-белков, например, эмерина (Holaska et al., 2003), необходимого для правильного формирования веретена деления и сегрегации хромосом в митозе (Duan et al., 2021). При этом VAF имеет множество других “партнеров” по взаимодействию, не содержащих LEM-домена, например, некоторые транскрипционные факторы (Wang et al., 2002). И наоборот, LEMD-белки могут выполнять тканеспецифические функции, которые не зависят от связывания VAF (Huber et al., 2009). Однако ключевую роль для успешного осуществления ядерных функций играет способность разных LEMD-

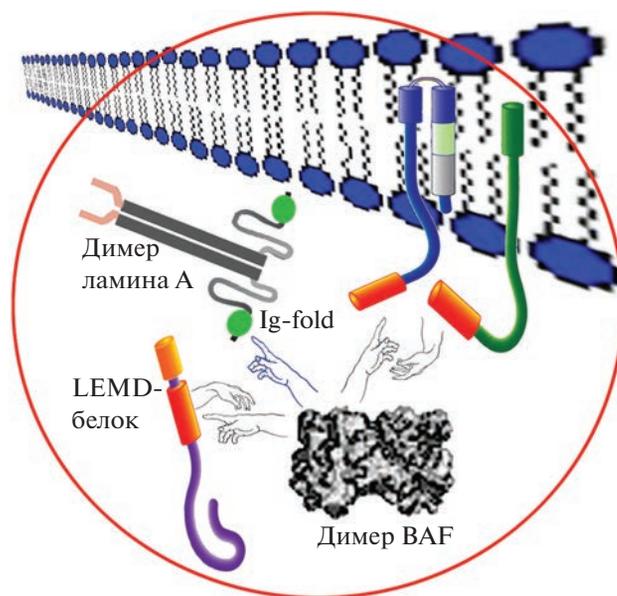


Рис. 2. Схема, иллюстрирующая молекулярный комплекс, образованный димерами VAF, LEMD-белками и ламинами А. Обратите внимание на взаимодействие VAF с Ig-fold-доменом ламина А.

белков формировать единый молекулярный комплекс с VAF и ламиним А (рис. 2), в котором димеры VAF одновременно связываются как с LEM-доменом различных белков, так и с Ig-подобным доменом (Ig-fold) ламина А-типа (Samson et al., 2018).

Общепризнано, что взаимодействие LEMD-белков и VAF играет критическую роль в сборке ядерной оболочки после завершения митоза. Так, на клетках HeLa было показано, что дефицит эмерина вызывает аномальную агрегацию ламина А на периферии ядра в телофазе, нарушение сборки ядерной мембраны и накопление VAF в центральной части телофазных ядер (Snyers et al., 2022).

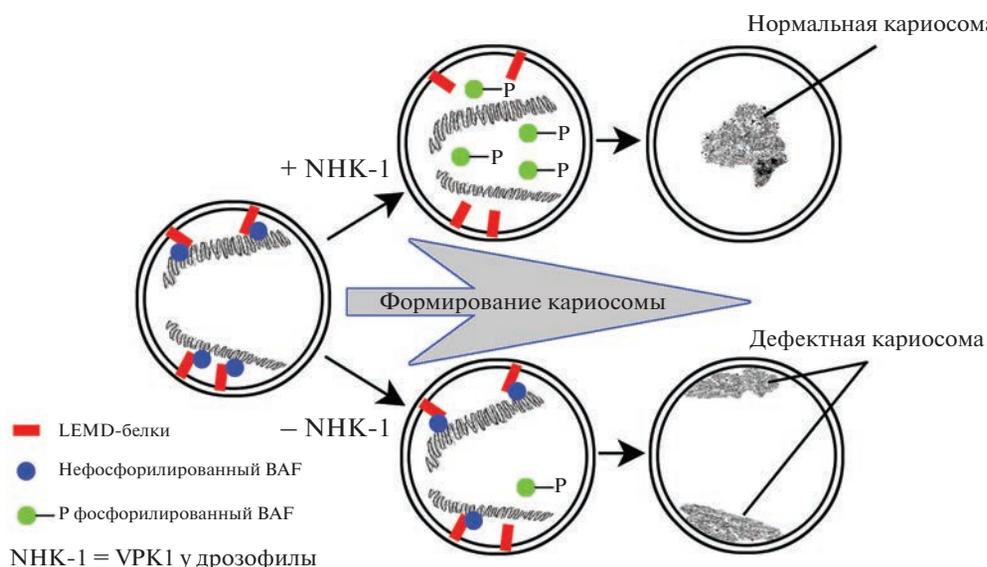
Локализация LEMD-белка эмерина в формирующейся ядерной мембране по завершении митоза также напрямую зависит от его способности к взаимодействию с VAF (Haraguchi et al., 2001), а диссоциация комплекса эмерин–VAF регулируется фосфорилированием эмерина по S175, как было показано на бесклеточной системе – экстракте яиц *Xenopus* (Hirano et al., 2005).

LEMD-белок LAR2 обычно представлен несколькими изоформами, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга (Wagner, Krohne, 2007). В клетках млекопитающих существует 6 изоформ LAR2 – α, β, γ, δ, ε и ζ; у других животных их меньше, например, 3 у *Xenopus* (Dechat et al., 2000). В мужских половых клетках млекопитающих наиболее широко распространены α-, β- и γ-изоформы LAR2. Их локализация различна: LAR2β и LAR2γ входят в состав внутренней ядерной мембраны, тогда как LAR2α локализуется в нуклеоплазме, где взаимодействует с

Таблица 1. Репрезентативные представители LEMD-белков

Группа	Название		Альтернативное название	Главные домены	Локализация	Ключевые партнеры по взаимодействию	Ключевой процесс (функция)	Источник литературы
I	LAP2 <sup>a</sup>	LAP2 $\alpha$		LEM-like LEMD	NP	BAF ламин А	Восстановление ядерной оболочки после деления; регуляция репликации и транскрипции, стабилизация структуры хроматина и связывание мембран с хромосомами	Dechat et al., 2000
		LAP2 $\beta$		TM LEM-like LEMD	INM	BAF хроматин		
	Эмерин		У <i>Drosophila</i> : отефин/ эмерин 1 Bocksbeutel [ $\alpha$ , $\beta$ ]/эмерин 2	TM LEMD	INM	BAF	Передача сигнала; поддержание структурной целостности ядра; позиционирование центромер и формирование веретена деления в митозе	Berk et al., 2013
							Дифференцировка половых клеток	Barton et al., 2013
							Поддержание структурной целостности ядра	Wagner et al., 2004; Barton et al., 2014
LEMD1		CT50 LEMP-1	TM LEMD	INM	Не охарактеризованы	Неизвестна; характеризуется гиперэкспрессией в клетках различных опухолей, что усиливает их пролиферацию посредством сигнальных путей p53, mTORC1 и PI3K/AKT	Yuki et al., 2004; Cao et al., 2022; Li et al., 2022	
II	MAN1	LEMD3 SANE (у <i>Xenopus</i> )	2 × TM LEMD MSC UHM	INM	BAF	Передача сигнала, регуляция транскрипции	Paulin-Levasseur et al., 1996; Lin et al., 2000	
	LEMD2	NET25	2 × TM LEMD MSC	INM	BAF хроматин	Передача сигнала	Brachner et al., 2005	
III	Ankle-1	LEM3	ANK LEMD GIY-YIG	CP и NP	Хроматин	Ответ на повреждения ДНК	Brachner et al., 2012	
	Ankle-2	LEM4	TM ANK LEMD	ER и INM	Не охарактеризованы	Сборка ядерной оболочки после деления; необходим для дефосфорилирования BAF, подавляя активность киназы VRK1	Asencio et al., 2012	

Примечание. <sup>(a)</sup> – У млекопитающих существует 6 изоформ LAP2; мы приводим здесь только две репрезентативные – LAP2 $\alpha$  (нуклеоплазматическую) и LAP2 $\beta$  (трансмембранную). Обозначения доменов белков: ANK – анкириновый домен (анкирины обеспечивают связь между интегральными белками мембраны с актин-спектриновым цитоскелетом); GIY-YIG – эндонуклеазный домен; LEM-like – LEM-подобный домен; MSC – MAN1-Src1-p-C-концевой домен; TM – трансмембранный домен; UHM – U2AF-гомологичный мотив (U2AF – вспомогательный для U2 snPHK фактор сплайсинга, U2 associated/auxiliary factor). Другие обозначения: CP – цитоплазма; ER – эндоплазматический ретикулум; INM – внутренняя ядерная мембрана; NP – нуклеоплазма; NP-Lam B – нуклеоплазматические ламины группы B. Полужирным шрифтом выделен LEM-домен (LEMD), присутствующий в молекулах LEMD-белков всех трех групп.



**Рис. 3.** Схема, демонстрирующая роль фосфорилирования ВАФ киназой NHK-1/VRK1 в формировании кариосомы (гетерохроматиновой структуры, необходимой для правильного протекания мейотического редукционного деления), в ядре дипло-хроматных ооцитов *Drosophila melanogaster* (по: Lancaster et al., 2007).

нуклеоплазматическими ламинами класса А, являясь их специфическим партнером по связыванию (Naetar et al., 2017), а также с ВАФ и хроматином (Brachner, Foisner, 2011). Показано, что в соматических клетках взаимодействие LAP2 с ВАФ и ламинами координирует постмитотическую сборку ядерной оболочки (Dechat et al., 2000; Wagner, Krohne, 2007), при этом комплексы, образованные LAP2α и ламинами А, необходимы для поддержания клетками их пролиферативного статуса (Pekovic et al., 2007).

В повторной сборке ядерной оболочки после митоза также участвует LEMD-белок LEM4/Ankle-2, который опосредует дефосфорилирование ВАФ за счет связывания с фосфатазой PP2A (Snyers et al., 2018). В клетках с дефицитом Ankle-2, полученных, например, с использованием CRISPR/Cas9-редактирования, наблюдается нарушение постмитотической реассоциации белков ВАФ, LAP2α и ламина А с хромосомами. Эти нарушения снижают механическую стабильность ядерной оболочки, а также стабильность хромосом в телофазных клетках, что приводит к увеличению числа гиперплоидных клеток. Ассоциация ВАФ и LAP2α с хромосомами может быть восстановлена с помощью повышения уровня LEM4/ANKLE-2 в клетках путем трансфекции. Однако такого восстановления не происходит при введении в клетки мутантных генов *LEM4/ANKLE-2*, кодирующих белки с укороченными N- или C-концами, которые не способны связывать PP2A (Snyers et al., 2018).

### ВАФ И LEMD-БЕЛКИ В ФОРМИРОВАНИИ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

Как и в соматических клетках, функциональная активность ВАФ в развивающихся половых клетках в первую очередь определяется его фосфорилированием с помощью эволюционно консервативной серинтреониновой протеинкиназы VRK1. Так, в ооцитах дрозофилы фосфорилирование ВАФ с помощью NHK-1 (nucleosome histone kinase 1), являющейся ортологом VRK1 в клетках *Drosophila*, играет критическую роль в формировании кариосомы – компактного “клубка” конденсированных хромосом ооцита на стадии диплотены мейоза (подробнее о кариосоме см. обзор: Vogolyubov, 2018). При этом решающее значение для фосфорилирования ВАФ имеет некаталитический домен NHK-1/VRK1. Предполагается, что фосфорилирование ВАФ нарушает прикрепление хромосом к ядерной оболочке, делая возможным правильное формирование кариосомы (рис. 3). Снижение уровня NHK-1 в ооцитах или экспрессия нефосфорилируемого ВАФ, наоборот, приводит к сохранению ассоциации хромосом с ядерной оболочкой, что выражается в формировании дефектной кариосомы (Lancaster et al., 2007).

В контексте проблемы развития половых клеток среди LEMD-белков дрозофилы лучше всего охарактеризован эмерин (отефин), мутации в гене которого приводят к женскому и мужскому бесплодию (Jiang et al., 2008; Barton et al., 2016). Отефин и LAP2β связываются с белком GCL (germ cell-less) (Nili et al 2001; Holaska et al., 2003) – репрессором транскрипции, необходимым для формирования клеток зародышевой линии (Leatherman et al., 2002). При этом в гонадах дрозофилы отефин необходим не только для

формирования и выживания мужских и женских половых клеток, но и для поддержания их соматических ниш (Barton et al., 2016).

По сравнению с другими LEMD-белками, для эмерина (отефина) характерно наиболее выраженное взаимодействие с VAF. С одной стороны, эмерин (отефин) необходим для привлечения VAF к ядерной ламине. С другой стороны, нокдаун VAF в клетках зародышевой линии в яичнике дрозофилы приводит к формированию фенотипов, характерных для мутантов по гену отефина. Нокдаун VAF вызывает нарушение структуры ядерной ламины, остановку дифференцировки и гибель клеток зародышевой линии. При этом их фенотипы частично восстанавливаются при инактивации киназ ATR и Chk2 (Duan et al., 2020b).

На клетках зародышевой линии самок дрозофилы было показано, что отефин вовлечен в регуляцию структуры центросом. В мутантных по отефину клетках женской зародышевой линии центросомы остаются встроенными в интерфазную ядерную ламину и сохраняют большое количество периферического материала, который дает начало микротрубочкам веретена (Duan et al., 2021).

На примере млекопитающих показано, что LEMD-белки участвуют в процессах формирования не только женских, но и мужских половых клеток, в особенности в спермиогенезе — процессе преобразования сперматид в зрелые спермии. Как известно, во время этого процесса ядро сперматиды удлиняется и резко уменьшается в размерах, а в составе хроматина протамины заменяют гистоны, существенно повышая степень его конденсации (Pereira et al., 2019).

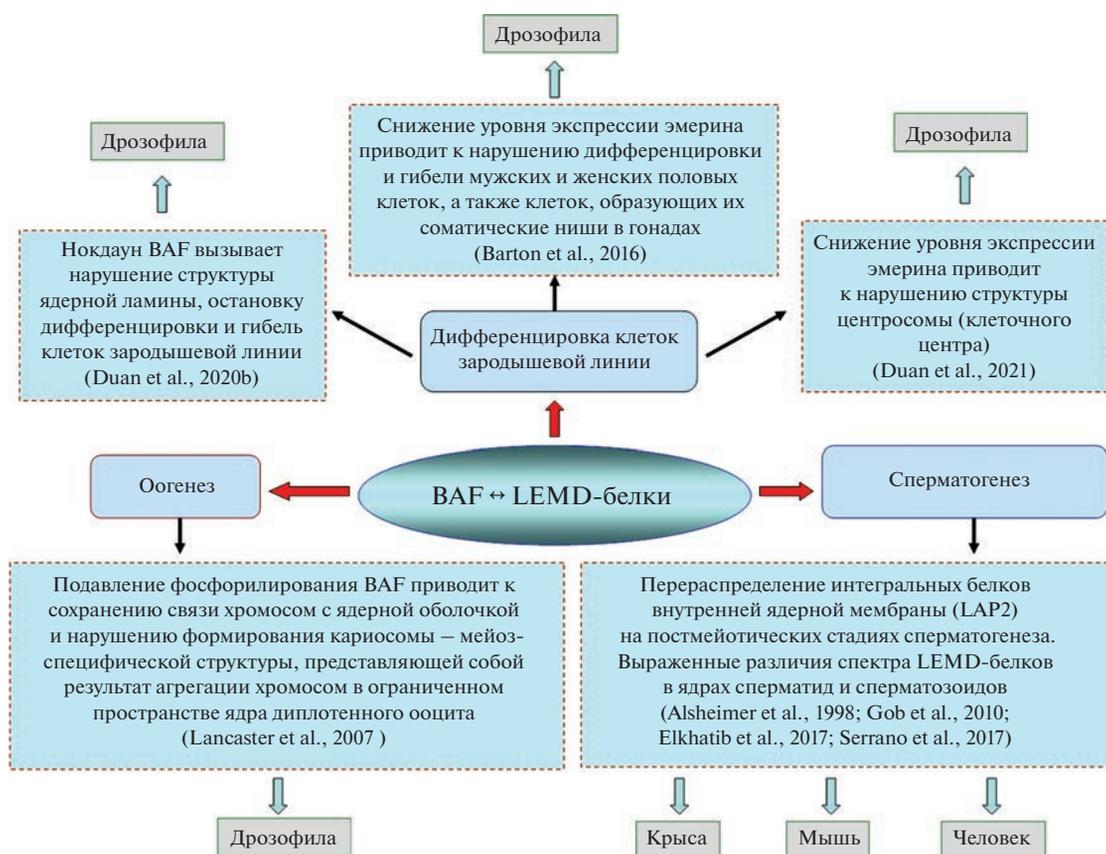
С помощью ПЦР в реальном времени, иммунофлуоресцентной микроскопии и Вестерн-блотинга было показано, что сперматиды человека характеризуются особым набором LEMD-белков (Elkhatib et al., 2017). В них присутствуют: короткая изоформа LAP2 (белок группы I), LEMD2 (белок группы II), Ankle-2 (белок группы III), а также их функциональные партнеры — VAF и VAF-подобный белок VAF-L, характерный для клеток семенников. Кроме того, сперматиды человека содержат трансмембранный белок LEMD1, не относящийся к семейству LEMD-белков. Однако такие характерные LEMD-белки, как эмерин и MAN1 (LEMD3), в них отсутствуют. По сравнению со сперматидами, в эякулированных сперматозоидах удалось обнаружить только VAF и VAF-L, которые могут способствовать формированию ядра сперматозоида и его последующему преобразованию в мужской пронуклеус. В ядерной оболочке зрелых сперматозоидов не выявляется LEMD1, а LAP2β перестает выявляться уже в сперматиде, после того как они начали удлиняться (Elkhatib et al., 2017). Таким образом, спектр белков, осуществляющих взаимодействие между ядерной ламиной и хроматином, в сперматиде и спермиях

человека отличается от характерного для соматических клеток набора белков.

В процессы формирования мужских половых клеток и координацию процессов перераспределения хроматина во время спермиогенеза млекопитающих, по данным Серрано с соавторами (Serrano et al., 2017), вовлечены не только вышеперечисленные LEMD-белки, например LAP2, но и не относящиеся к ним белки LAP1 и LBR (рецептор ламина В). У мыши и человека на постмейотических стадиях сперматогенеза процессы уплотнения и изменения формы ядер сперматид сопровождаются перераспределением LAP1 к заднему полюсу ядерной оболочки удлиняющихся сперматид. К моменту достижения ими полного созревания и превращения в морфологически сформированные сперматозоиды LAP1 постепенно перестает выявляться в ядрах (Serrano et al., 2017). Аналогичная поляризация распределения описана для LEMD-белка LAP2 в ядерной оболочке сперматид крыс (Alzheimer et al., 1998) и мышей (Göb et al., 2010). Показано, что по мере завершения спермиогенеза в поздних сперматиде крыс происходит постепенная потеря LAP2β и LAP2γ, тогда как не ассоциированный с мембраной LAP2α продолжает выявляться даже в зрелых сперматозоидах (Alzheimer et al., 1998). Предполагают, что подобное вытеснение LEMD-белков из внутренней ядерной мембраны в процессе спермиогенеза может быть связано с экспрессией VAF и его паралога VAF-L. Считают также, что LAP2β (а также LEMD1) может связываться с гетеродимерами VAF-VAF-L, образование которых способно предотвращать взаимодействие гомодимеров VAF с хроматином, способствуя тем самым формированию более открытой конфигурации хроматина, что в частности может облегчать процесс замены гистонов на протамины (Elkhatib et al., 2017). Другое объяснение основывается на экспрессии в семенниках альтернативных изоформ LEMD-белков, не имеющих трансмембранного домена, что показано, например, в отношении LEMD1 (Pereira et al., 2019).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Даже относительно немногочисленные экспериментальные данные убедительно доказывают значимость белка VAF и его основных функциональных партнеров, в первую очередь LEMD-белков, для процессов формирования половых клеток, начиная с выделения клеток зародышевой линии и заканчивая превращением гаплоидных сперматид в морфологически зрелые сперматозоиды (рис. 4). Очевидно, что дальнейшие исследования в этом направлении могут способствовать расшифровке молекулярных механизмов снижения как мужской, так и женской фертильности и, возможно, объяснить, по крайней мере, некоторые случаи идиопатического бесплодия.



**Рис. 4.** Основные пути участия ВАФ и LEMD-белков в формировании половых клеток. Приведены ссылки на работы, в которых содержатся соответствующие экспериментальные доказательства.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-24-00380).

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При подготовке работы авторы не проводили какие-либо исследования с использованием животных или людей в качестве объектов.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Богданов Ю.Ф., Гришаева Т.М. 2020. Консерватизм, изменчивость и эволюция мейоза. М.: Товарищество научных изданий КМК. 345 с. (Bogdanov Yu.F., Grishaeva T.M. 2020. Conservation, variation an evolution of meiosis. Moscow: KMK Scientific Press. 345 p.)  
 Дондуа А.К. 2018. Биология развития. СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та. 812 с. (Dondua A.K. 2018. Developmental biology. Saint Petersburg: Saint Petersburg University Publishing House. 812 p.)

Alzheimer M., Fecher E., Benavente R. 1998. Nuclear envelope remodelling during rat spermiogenesis: distribution and expression pattern of LAP2/thymopoietins. J. Cell Sci. V. 111. P. 2227. <https://doi.org/10.1242/jcs.111.15.2227>  
 Asencio C., Davidson I.F., Santarella-Mellwig R., Ly-Hartig T.B.N., Mall M., Wallenfang M.R., Mattaj I.W., Gorjánác M. 2012. Coordination of kinase and phosphatase activities by Lem4 enables nuclear envelope reassembly during mitosis. Cell. V. 150. P. 122. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.043>  
 Bailly C., Vergoten G. 2021. Interaction of obtusilactone B and related butanolide lactones with the barrier-to-autointegration factor 1 (BAF1). A computational study. Curr. Res. Pharmacol. Drug Discov. V. 2: 100059. <https://doi.org/10.1016/j.crphar.2021.100059>  
 Barrales R.R., Forn M., Georgescu P.R., Sarkadi Z., Braun S. 2016. Control of heterochromatin localization and silencing by the nuclear membrane protein Lem2. Genes Dev. V. 30. P. 133. <https://doi.org/10.1101/gad.271288.115>  
 Barton L.J., Lovander K.E., Pinto B.S., Geyer P.K. 2016. Drosophila male and female germline stem cell niches require the nuclear lamina protein Otefin. Dev. Biol. V. 415. P. 75. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.05.001>

- Barton L.J., Soshnev A.A., Geyer P.K. 2015. Networking in the nucleus: a spotlight on LEM-domain proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* V. 34. P. 1.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.03.005>
- Bogolyubov D. 2018. Karyosphere (karyosome): a peculiar structure of the oocyte nucleus. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* V. 337. P. 1.  
<https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.12.001>
- Brachner A., Foisner R. 2011. Evolvement of LEM proteins as chromatin tethers at the nuclear periphery. *Biochem. Soc. Trans.* V. 39. P. 1735.  
<https://doi.org/10.1042/BST20110724>
- Brachner A., Braun J., Ghodgaonkar M., Castor D., Zlopasa L., Ehrlich V., Jiricny J., Gotzmann J., Knasmüller S., Foisner R. 2012. The endonuclease Ankle-1 requires its LEM and GIY-YIG motifs for DNA cleavage *in vivo*. *J. Cell Sci.* V. 125. P. 1048.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.098392>
- Bradley C.M., Ronning D.R., Ghirlando R., Craigie R., Dyda F. 2005. Structural basis for DNA bridging by barrier-to-autointegration factor. *Nat. Struct. Mol. Biol.* V. 12. P. 935.  
<https://doi.org/10.1038/nsmb989>
- Burla R., La Torre M., Maccaroni K., Verni F., Giunta S., Saggio I. 2020. Interplay of the nuclear envelope with chromatin in physiology and pathology. *Nucleus.* V. 11. P. 205.  
<https://doi.org/10.1080/19491034.2020.1806661>
- Cabanillas R., Cadinanos J., Villameytide J.A., Perez M., Longo J., Richard J.M., Alvarez R., Duran N.S., Illan R., Gonzalez D.J., López-Otín C. 2011. Nestor-Guillermo progeria syndrome: a novel premature aging condition with early onset and chronic development caused by BANF1 mutations. *Am. J. Med. Genet. A.* V. 155A. P. 2617.  
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34249>
- Cai M., Huang Y., Ghirlando R., Wilson K.L., Craigie R., Clore G.M. 2001. Solution structure of the constant region of nuclear envelope protein LAP2 reveals two LEM-domain structures: one binds BAF and the other binds DNA. *EMBO J.* V. 20. P. 4399.  
<https://doi.org/10.1093/emboj/20.16.4399>
- Cai M., Huang Y., Zheng R., Wei S.-Q., Ghirlando R., Lee M.S., Craigie R., Gronenborn A.M., Clore G.M. 1998. Solution structure of the cellular factor BAF responsible for protecting retroviral DNA from autointegration. *Nature Struct. Biol.* V. 5. P. 903.  
<https://doi.org/10.1038/2345>
- Caputo S., Couprie J., Duband-Goulet I., Kondé E., Lin F., Braud S., Gondry M., Gilquin B., Worman H.J., Zinn-Justin S. 2006. The carboxyl-terminal nucleoplasmic region of MAN1 exhibits a DNA binding winged helix domain. *J. Biol. Chem.* V. 281. P. 18208.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M601980200>
- Cohen M., Lee K.K., Wilson K.L., Gruenbaum Y. 2001. Transcriptional repression, apoptosis, human disease and the functional evolution of the nuclear lamina. *Trends Biochem. Sci.* V. 26. P. 41.  
[https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(00\)01727-8](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(00)01727-8)
- Correia Soeiro M.N., Vergoten G., Bailly C. 2022. Molecular docking of brazilin and its analogs to barrier-to-autointegration factor 1 (BAF1). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* V. 1511. P. 154.  
<https://doi.org/10.1111/nyas.14742>
- Dechat T., Vlcek S., Foisner R. 2000. Review: lamina-associated polypeptide 2 isoforms and related proteins in cell cycle-dependent nuclear structure dynamics. *J. Struct. Biol.* V. 129. P. 335.  
<https://doi.org/10.1006/jsbi.2000.4212>
- Duan T., Cupp R., Geyer P.K. 2021. *Drosophila* female germline stem cells undergo mitosis without nuclear breakdown. *Curr. Biol.* V. 31. P. 1450–1462.e3.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.033>
- Duan T., Green N., Tootle T.L., Geyer P.K. 2020a. Nuclear architecture as an intrinsic regulator of *Drosophila* female germline stem cell maintenance. *Curr. Opin. Insect. Sci.* V. 37. P. 30–38.  
<https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.11.007>
- Duan T., Kitzman S.C., Geyer P.K. 2020b. Survival of *Drosophila* germline stem cells requires the chromatin-binding protein Barrier-to-autointegration factor. *Development.* V. 147: dev186171.  
<https://doi.org/10.1242/dev.186171>
- Elkhatib R.A., Paci M., Boissier R., Longepied G., Auguste Y., Achard V., Bourgeois P., Levy N., Branger N., Mitchell M.J., Metzler-Guillemain C. 2017. LEM-domain proteins are lost during human spermiogenesis but BAF and BAF-L persist. *Reproduction.* V. 154. P. 387.  
<https://doi.org/10.1530/REP-17-0358>
- Foisner R. 2003. Cell cycle dynamics of the nuclear envelope. *Scientific World J.* V. 3. P. 1.  
<https://doi.org/10.1100/tsw.2003.06>
- Furukawa K. 1999. LAP2 binding protein 1 (L2BP1/BAF) is a candidate mediator of LAP2-chromatin interaction. *J. Cell Sci.* V. 112. P. 2485.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.112.15.2485>
- Furukawa K., Sugiyama S., Osouda S., Goto H., Inagaki M., Horigome T., Omata S., McConnell M., Fisher P.A., Nishida Y. 2003. Barrier-to-autointegration factor plays crucial roles in cell cycle progression and nuclear organization in *Drosophila*. *J. Cell Sci.* V. 116. P. 3811.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.00682>
- Gant T.M., Harris C.A., Wilson K.L. 1999. Roles of LAP2 proteins in nuclear assembly and DNA replication: truncated LAP2 $\beta$  proteins alter lamina assembly, envelope formation, nuclear size, and DNA replication efficiency in *Xenopus laevis* extracts. *J. Cell Biol.* V. 144. P. 1083.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.144.6.1083>
- Gorjánác M., Klerkx E.P., Galy V., Santarella R., López-Iglesias C., Askjaer P., Mattaj I.W. 2007. *Caenorhabditis elegans* BAF-1 and its kinase VRK-1 participate directly in post-mitotic nuclear envelope assembly. *EMBO J.* V. 26. P. 132.  
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601470>
- Göb E., Schmitt J., Benavente R., Alsheimer M. 2010. Mammalian sperm head formation involves different polarization of two novel LINC complexes. *PLoS One.* V. 5: e12072.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012072>
- Haraguchi T., Koujin T., Segura-Totten M., Lee K.K., Matsuoka Y., Yoneda Y., Wilson K.L., Hiraoka Y. 2001. BAF is required

- for emerin assembly into the reforming nuclear envelope. *J. Cell Sci.* V. 114. P. 4575.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.114.24.4575>
- Hirano Y., Segawa M., Ouchi F.S., Yamakawa Y., Furukawa K., Takeyasu K., Horigome T. 2005. Dissociation of emerin from barrier-to-autointegration factor is regulated through mitotic phosphorylation of emerin in a *Xenopus* egg cell-free system. *J. Biol. Chem.* V. 280. P. 39925.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.m503214200>
- Holaska J.M., Lee K.K., Kowalski A.K., Wilson K.L. 2003. Transcriptional repressor germ cell-less (GCL) and barrier-to-autointegration factor (BAF) compete for binding to emerin *in vitro*. *J. Biol. Chem.* V. 278. P. 6969.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M208811200>
- Huber M.D., Guan T., Gerace L. 2009. Overlapping functions of nuclear envelope proteins NET25 (Lem2) and emerin in regulation of extracellular signal-regulated kinase signaling in myoblast differentiation. *Mol. Cell Biol.* V. 29. P. 5718.  
<https://doi.org/10.1128/MCB.00270-09>
- Jamin A., Wiebe M.S. 2015. Barrier to autointegration factor (BANF1): interwoven roles in nuclear structure, genome integrity, innate immunity, stress responses and progeria. *Curr. Opin. Cell Biol.* V. 34. P. 61.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.05.006>
- Jiang X., Xia L., Chen D., Yang Y., Huang H., Yang L., Zhao Q., Shen L., Wang J., Chen D. 2008. Otefin, a nuclear membrane protein, determines the fate of germline stem cells in *Drosophila* via interaction with Smad complexes. *Dev. Cell.* V. 14. P. 494.  
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.02.018>
- Lancaster O.M., Cullen C.F., Ohkura H. 2007. NHK-1 phosphorylates BAF to allow karyosome formation in the *Drosophila* oocyte nucleus. *J. Cell Biol.* V. 179. P. 817.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.200706067>
- Leatherman J.L., Levin L., Boero J., Jongens T.A. 2002. *germ cell-less* Acts to repress transcription during the establishment of the *Drosophila* germ cell lineage. *Curr. Biol.* V. 12. P. 1681.  
[https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(02\)01182-X](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(02)01182-X)
- Lee K.K., Gruenbaum Y., Spann P., Liu J., Wilson K.L. 2000. *C. elegans* nuclear envelope proteins emerin, MAN1, lamin, and nucleoporins reveal unique timing of nuclear envelope breakdown during mitosis. *Mol. Biol. Cell.* V. 11. P. 3089.  
<https://doi.org/10.1091/mbc.11.9.3089>
- Lee M.S., Craigie R. 1998. A previously unidentified host protein protects retroviral DNA from autointegration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 95. P. 1528.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1528>
- Li J., Hu B., Fang L., Gao Y., Shi S., He H., Liu X., Yuan C. 2018. Barrier-to-autointegration factor 1: A novel biomarker for gastric cancer. *Oncol. Lett.* V. 16. P. 6488.  
<https://doi.org/10.3892/ol.2018.9432>
- Li J., Wang T., Pei L., Jing J., Hu W., Sun T., Liu H. 2017. Expression of VRK1 and the downstream gene *BANF1* in esophageal cancer. *Biomed. Pharmacother.* V. 89. P. 1086.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.095>
- Liu J., Rolef-Ben Shahar T., Riemer D., Treinin M., Spann P., Weber K., Fire A., Gruenbaum Y. 2000. Essential roles for *Caenorhabditis elegans* lamin gene in nuclear organization, cell cycle progression, and spatial organization of nuclear pore complexes. *Mol. Biol. Cell.* V. 11. P. 3937.  
<https://doi.org/10.1091/mbc.11.11.3937>
- Marcelot A., Petitalot A., Ropars V., Le Du M.H., Samson C., Dubois S., Hoffmann G., Miron S., Cuniassse P., Marquez J.A., Thai R., Theillet F.X., Zinn-Justin S. 2021a. Di-phosphorylated BAF shows altered structural dynamics and binding to DNA, but interacts with its nuclear envelope partners. *Nucleic Acids Res.* V. 49. P. 3841.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkab184>
- Marcelot A., Worman H.J., Zinn-Justin S. 2021b. Protein structural and mechanistic basis of progeroid laminopathies. *FEBS J.* V. 288. P. 2757.  
<https://doi.org/10.1111/febs.15526>
- Marcelot A., Zinn-Justin S., Cuniassse P. 2022. The conformation of the intrinsically disordered N-terminal region of Barrier-to-autointegration factor (BAF) is regulated by pH and phosphorylation. *J. Mol. Biol.* V. 435: 167888.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2022.167888>
- Martins S., Eikvar S., Furukawa K., Collas P. 2003. HA95 and LAP2 $\beta$  mediate a novel chromatin–nuclear envelope interaction implicated in initiation of DNA replication. *J. Cell Biol.* V. 160. P. 177.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.200210026>
- Mattout-Drubezki A., Gruenbaum Y. 2003. Dynamic interactions of nuclear lamina proteins with chromatin and transcriptional machinery. *Cell Mol. Life Sci.* V. 60. P. 2053.  
<https://doi.org/10.1007/s00018-003-3038-3>
- Molitor T.P., Traktman P. 2014. Depletion of the protein kinase VRK1 disrupts nuclear envelope morphology and leads to BAF retention on mitotic chromosomes. *Mol. Biol. Cell.* V. 25. P. 891.  
<https://doi.org/10.1091/mbc.E13-10-0603>
- Naetar N., Ferraioli S., Foisner R. 2017. Lamins in the nuclear interior – life outside the lamina. *J. Cell Sci.* V. 130. P. 2087.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.203430>
- Nili E., Cojocar G.S., Kalma Y., Ginsberg D., Copeland N.G., Gilbert D.J., Jenkins N.A., Berger R., Shaklai S., Amariglio N., Brok-Simoni F., Simon A.J., Rechavi G. 2001. Nuclear membrane protein, LAP2 $\beta$ , mediates transcriptional repression alone and together with its binding partner GCL (germ-cell-less). *J. Cell Sci.* V. 114. P. 3297.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.114.18.3297>
- Paquet N., Box J.K., Ashton N.W., Suraweera A., Croft L.V., Urquhart A.J., Bolderson E., Zhang S.D., O'Byrne K.J., Richard D.J. 2014. Néstor-Guillermo Progeria Syndrome: A biochemical insight into Barrier-to-autointegration factor 1, alanine 12 threonine mutation. *BMC Mol. Biol.* V. 15: 27.  
<https://doi.org/10.1186/s12867-014-0027-z>
- Pereira C.D., Serrano J.B., Martins F., da Cruz E. Silva O.A.B., Rebelo S. 2019. Nuclear envelope dynamics during mammalian spermatogenesis: new insights on male fertility. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* V. 94. P. 1195.  
<https://doi.org/10.1111/brv.12498>
- Pekovic V., Harborth J., Broers J.L., Ramaekers F.C., van Engelen B., Lammens M., von Zglinicki T., Foisner R., Hutchison C.,

- Markiewicz E. 2007. Nucleoplasmic LAP2 $\alpha$ -lamin A complexes are required to maintain a proliferative state in human fibroblasts. *J. Cell Biol.* V. 176. P. 163. <https://doi.org/10.1083/jcb.200606139>
- Puente X.S., Quesada V., Osorio F.G., Cabanillas R., Cadiñanos J., Fraile J.M., Ordóñez G.R., Puente D.A., Gutiérrez-Fernández A., Fanjul-Fernández M., Lévy N., Freije J.M.P., López-Otín C. 2011. Exome sequencing and functional analysis identifies BANF1 mutation as the cause of a hereditary progeroid syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* V. 88. P. 650. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.04.010>
- Qi R., Xu N., Wang G., Ren H., Li S., Lei J., Lin Q., Wang L., Gu X., Zhang H., Jiang Q., Zhang C. 2015. The laminA/C-LAP2 $\alpha$ -BAF1 protein complex regulates mitotic spindle assembly and positioning. *J. Cell Sci.* V. 128. P. 2830. <https://doi.org/10.1242/jcs.164566>
- Rose M., Bai B., Tang M., Cheong C.M., Beard S., Burgess J.T., Adams M.N., O'Byrne K.J., Richard D.J., Gandhi N.S., Bolderson E. 2021. The impact of rare human variants on barrier-to-auto-integration factor 1 (Banf1) structure and function. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 9: 775441. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.775441>
- Samson C., Peitlatot A., Celli F., Herrada I., Ropars V., Le Du M.H., Nhiri N., Jacquet E., Arteni A.-A., Buendia B., Zinn-Justin S. 2018. Structural analysis of the ternary complex between lamin A/C, BAF and emerin identifies an interface disrupted in autosomal recessive progeroid diseases. *Nucleic Acids Res.* V. 46. P. 10460. <https://doi.org/10.1093/nar/gky736>
- Samwer M., Schneider M.W.G., Hoefler R., Schmalhorst P.S., Jude J.G., Zuber J., Gerlich D.W. 2017. DNA cross-bridging shapes a single nucleus from a set of mitotic chromosomes. *Cell.* V. 170. P. 956–972.e923. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.038>
- Segura-Totten M., Kowalski A.K., Craigie R., Wilson K.L. 2002. Barrier-to-autointegration factor: major roles in chromatin decondensation and nuclear assembly. *J. Cell Biol.* V. 158. P. 475. <https://doi.org/10.1083/jcb.200202019>
- Segura-Totten M., Wilson K.L. 2004. BAF: roles in chromatin, nuclear structure and retrovirus integration. *Trends Cell Biol.* V. 14. P. 261. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2004.03.004>
- Serrano J.B., Martins F., Sousa J.C., Pereira C.D., van Pelt A.M., Rebelo S., da Cruz E., Silva O.A. 2017. Descriptive analysis of LAP1 distribution and that of associated proteins throughout spermatogenesis. *Membranes (Basel).* V. 7: 22. <https://doi.org/10.3390/membranes7020022>
- Shen Q., Eun J.W., Lee K., Kim H.S., Yang H.D., Kim S.Y., Lee E.K., Kim T., Kang K., Kim S., Min D.H., Oh S.N., Lee Y.J., Moon H., Ro S.W. et al. 2018. Barrier to autointegration factor 1, procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3, and splicing factor 3b subunit 4 as early-stage cancer decision markers and drivers of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* V. 67. P. 1360. <https://doi.org/10.1002/hep.29606>
- Snyers L., Erhart R., Laffer S., Pusch O., Weipoltshammer K., Schöfer C. 2018. LEM4/ANKLE-2 deficiency impairs post-mitotic re-localization of BAF, LAP2 $\alpha$  and LaminA to the nucleus, causes nuclear envelope instability in telophase and leads to hyperploidy in HeLa cells. *Eur. J. Cell Biol.* V. 97. P. 63. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2017.12.001>
- Snyers L., Löhnert R., Weipoltshammer K., Schöfer C. 2022. Emerin prevents BAF-mediated aggregation of lamin A on chromosomes in telophase to allow nuclear membrane expansion and nuclear lamina formation. *Mol. Biol. Cell.* V. 33: ar137. <https://doi.org/10.1091/mbc.E22-01-0007>
- Torras-Llort M., Medina-Giró S., Escudero-Ferruz P., Lipinski Z., Moreno-Moreno O., Karman Z., Przewłoka M.R., Azorín F. 2020. A fraction of barrier-to-autointegration factor (BAF) associates with centromeres and controls mitosis progression. *Commun. Biol.* V. 3: 454. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01182-y>
- Vivante A., Brozgoł E., Bronshtein I., Levi V., Garini Y. 2019. Chromatin dynamics governed by a set of nuclear structural proteins. *Genes Chromosomes Cancer.* V. 58. P. 437. <https://doi.org/10.1002/gcc.22719>
- Wagner N., Kagermeier B., Loserth S., Krohne G. 2006. The *Drosophila melanogaster* LEM-domain protein MAN1. *Eur. J. Cell Biol.* V. 85. P. 91. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2005.10.002>
- Wagner N., Krohne G. 2007. LEM-domain proteins: new insights into lamin-interacting proteins. *Int. Rev. Cytol.* V. 261. P. 1. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(07\)61001-8](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(07)61001-8)
- Wang X., Xu S., Rivolta C., Li L.Y., Peng G.-H., Swain P.K., Sung C.-H., Swaroop A., Berson E.L., Dryja T.P., Chen S. 2002. Barrier to autointegration factor interacts with the cone-rod homeobox and represses its transactivation function. *J. Biol. Chem.* V. 277. P. 43288. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207952200>
- Wong X., Melendez-Perez A.J., Reddy K.L. 2022. The nuclear lamina. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* V. 14: a040113. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040113>
- Zetka M., Paouneskou D., Jantsch V. 2020. The nuclear envelope, a meiotic jack-of-all-trades. *Curr. Opin. Cell Biol.* V. 64. P. 34. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2019.12.010>
- Zhang G. 2020. Expression and prognostic significance of BANF1 in triple-negative breast cancer. *Cancer Manag. Res.* V. 12. P. 145. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S229022>
- Zheng R., Ghirlando R., Lee M.S., Mizuuchi K., Krause M., Craigie R. 2000. Barrier-to-autointegration factor (BAF) bridges DNA in a discrete, higher-order nucleoprotein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 97. P. 8997. <https://doi.org/10.1073/pnas.150240197>
- Zhuang X., Semenova E., Maric D., Craigie R. 2014. Dephosphorylation of barrier-to-autointegration factor by protein phosphatase 4 and its role in cell mitosis. *J. Biol. Chem.* V. 289. P. 1119. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.492777>

## Functional Interactions of BAF and LEM Proteins in the Formation of Germ Cells

I. O. Bogolyubova<sup>a</sup> and D. S. Bogolyubov<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia*

*\*e-mail: dbogol@mail.ru*

Recovery of the nuclear structure after cell division requires special interactions between the integral proteins of the inner nuclear membrane having a special LEM domain (LEMD), nuclear lamina proteins (lamins) and the conserved BAF protein that serves as a central link in these interactions, providing topological relationships between chromatin and nuclear envelope. The dynamic transformations of these protein ensembles in the mitotic cycle are characterized in detail at the molecular level, however, less attention is paid to the developing germ cells undergoing meiotic divisions, despite of their nuclei, especially in diplotene oocytes, differ significantly in structure from the somatic nucleus. This review summarizes the still relatively scarce experimental data proving the significance of functional interactions between BAF and LEMD proteins for gamete formation, from the selection of germline cells to the transformation of haploid spermatids into morphologically mature spermatozoa.

**Keywords:** nuclear architecture, nuclear envelope, gametogenesis, meiosis, germ cells, BAF, LEM-D proteins, VRK1