

УДК 611-013.3:576.3

Влияние экспрессии гена *pub* на дифференцировку эмбриональных стволовых клеток мыши в производные экто-, мезо- и энтодермы *in vitro*

Е.В. Новосадова, Е.С. Мануилова, Е.Л. Арсеньева, А.Н. Лебедев, Н.В. Хайдарова, В.З. Тарантул, И.А. Гривенников*
Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, пл. акад. Курчатова, 2
*E-mail: igorag@img.ras.ru

РЕФЕРАТ На модели эмбриональных стволовых клеток мыши изучено влияние повышенной и пониженной экспрессии гена *pub* на начальные этапы их дифференцировки в производные экто-, экто- и мезодермы *in vitro*. Методом ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией, было показано, что экспрессия генов *vimentin*, *somatostatin*, *GATA 4*, *GATA 6*, являющихся маркерами энтодермального направления дифференцировки, не изменяется как в клетках с повышенной экспрессией гена *pub*, так и в клетках с его пониженной экспрессией, а также в соответствующих контрольных линиях. В клетках с повышенной экспрессией гена *pub* наблюдалось увеличение экспрессии генов-маркеров мезодермального направления дифференцировки (*trI card*, *trI skel*, *c-kit* и *IL-7*), а в клетках с пониженной экспрессией гена *pub* – снижение их экспрессии. При анализе экспрессии генов-маркеров эктодермальной дифференцировки (*nestin*, β -III *tubulin*, *gfap*, *th*) наблюдалась противоположная картина. В линиях клеток с повышенной экспрессией гена *pub* показано снижение экспрессии этих генов, тогда как при подавлении экспрессии гена *pub* происходило увеличение их экспрессии. Таким образом, предполагается, что изменения в экспрессии гена *pub* в эмбриональных стволовых клетках могут оказывать существенное влияние на дифференцировку этих клеток в мезо- и эктодермальном направлениях.

Ключевые слова: эмбриональные стволовые клетки, дифференцировка, полимеразная цепная реакция, ген *pub*, мезодерма, энтодерма, эктодерма.
Список сокращений: Эмбриональные стволовые (ЭС) клетки, фетальная сыворотка коровы (ФСК).

ВВЕДЕНИЕ

Эмбриональные стволовые (ЭС) клетки представляют собой уникальную модель для изучения процессов, происходящих на ранних этапах эмбриогенеза [1]. Известно, что и в ходе развития зародыша *in vivo* ЭС клетки в культуре способны давать начало всем трем зародышевым слоям: энтодерме, мезодерме и эктодерме и, соответственно, всем развиваю-

щимся из них типам клеток. Анализ экспрессии генов в процессе дифференцировки ЭС клеток в специализированные клеточные типы показал, что последовательность и эффективность экспрессии генов в ходе дифференцировки *in vitro* в целом соответствует последовательности данных процессов *in vivo* [10]. Это указывает на возможность использования ЭС клеток в качестве адекватной экспериментальной

модели для изучения молекулярных механизмов начальных этапов дифференцировки. Кроме того, исследования дифференцировки ЭС клеток в том или ином направлении в ответ на воздействие специфических индукторов (факторов роста, цитокинов) или на непосредственную генетическую модификацию этих клеток позволяют приблизиться к пониманию функции исследуемых соединений и различных генов в данном процессе [1].

Ранее нами с помощью метода вычитающей гибридизации были получены и охарактеризованы клоны кДНК, повышенно транскрибирующиеся в ВИЧ-ассоциированных иммунобластных лимфомах [16, 17]. Анализ этих кДНК позволил выявить среди них, наряду с ранее охарактеризованными генами (*set*, *calpain* и др.), несколько кДНК, кодирующих гены с неизвестными в то время функциями. Один из таких лимфомоспецифичных генов в дальнейшем был назван *pub*. Белковый продукт гена *pub* человека (hPub) имеет высокую степень гомологии (82 %) с мышинным белком Pub (mPub) [5].

Pub относится к семейству TRIM (tripartite motif) белков [5], для которых характерно наличие т.н. TRIM (или RBBC) мотива, состоящего из трех цинк-связывающих доменов: RING (R), B-box 1 (B1) и B-box 2 (B2), сопровождаемых coiled-coil (CC) районом [15]. На данный момент известно 37 представителей данного семейства белков. Некоторые из них вовлечены в такие биологические процессы, как регуляция транскрипции, организация цитоскелета, контроль клеточной пролиферации и дифференцировки [18]. Функции гена *hpub* в организме практически не изучены. Для мышинного гомолога *mpub* показано, что он играет важную роль в процессах клеточной дифференцировки и оказывает существенное влияние на транскрипционную активность фактора PU.1 [5]. PU.1 относится к ETS семейству транскрипционных факторов, играет центральную роль в дифференцировке и пролиферации макрофагов и В-клеток в ходе гемопоэза, а также контролирует функциональную активность нейтрофилов [11]. Показано, что продукт гена *mpub* ингибирует транскрипционную активность PU.1 в гемоцитах и вследствие этого играет важную роль в пролиферации и дифференцировке миелоидных и лимфоидных клеток [5].

Для исследования влияния гена *pub* на начальные стадии развития была использована модель ЭС клеток мыши. Ранее нами были получены стабильно трансфицированные клеточные культуры с повышенной экспрессией гена *hpub* (линия ES-hPub), находящегося под контролем промотора цитомегаловируса и с пониженной экспрессией гена *mpub* (линия ES-RNAi) в результате действия интерферирующей РНК, а также соответствующие им контрольные линии (ES-DNA3 и ES-pJneo) [2]. Было показано, что повышенная экспрессия *hpub* приводила к увеличению, а пониженная экспрессия эндогенного *mpub* – к уменьшению образования ЭС клетками эмбрионидных тел, однако не оказывала влияния на пролиферативную активность этих клеток [2, 3].

В данной работе методом полимеразной цепной реакции, сопряженной с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), проведена оценка влияния повышенной и пониженной экспрессии генов *mpub* и *hpub* на экспрессию генов-маркеров энто-, мезо- и эктодермальной дифференцировки в культурах трансфицированных ЭС клеток мыши.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭС КЛЕТОК

В работе использовали ЭС клетки мыши линии R1, любезно предоставленные А. Nagy (Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada). Культивирование ЭС клеток проводили при 37 °С и 5 % CO₂ в среде альфа-МЕМ (Sigma, США), содержащей 15 % фетальной сыворотки коровы (ФСР) (Gibco, США), 0.1 мМ 2-меркаптоэтанол, 2 мМ L-глутамин, заменимые аминокислоты (Gibco, США), нуклеозиды, витамины и антибиотик гентамицин (20 мкг/мл). В качестве питающего (фидерного) слоя для ЭС клеток использовали первичные фибробласты, полученные от мышей 11–12-го дней эмбрионального развития, пролиферация которых была блокирована митомидином С (5 мкг/мл). Ростовой средой для первичной культуры фибробластов служила среда ДМЕМ (Sigma, США), содержащая 10 % ФСР, 2 мМ L-глутамин и антибиотик гентамицин (20 мкг/мл). При культивировании ЭС клеток без фидерного слоя в среду добавляли LIF (фактор, ингибирующий лейкемию) (Sigma, США) в конечной концентрации 10 нг/мл, который блокировал спонтанную дифференцировку этих клеток. Пересев клеток со сменой среды осуществляли каждые 3 дня.

ИНДУКЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЭС КЛЕТОК С ОБРАЗОВАНИЕМ ЭМБРИОИДНЫХ ТЕЛ

Для индукции дифференцировки с образованием эмбрионидных тел ЭС клетки изолировали от фибробластов фидерного слоя. Клетки обрабатывали трипсином, центрифугировали, а затем полученную суспензию инкубировали в чашке Петри (d = 60 мм) (Nunc, Дания) в течение 10–20 мин в CO₂-инкубаторе. В течение этого времени основная масса фибробластов прикрепляется ко дну чашки, в то время как ЭС клетки остаются в суспензии. Для формирования эмбрионидных тел суспензию ЭС клеток переносили на чашку Петри (d = 35 мм) (Nunc, Дания) в количестве 200 000 клеток в 2 мл среды, либо на 96-луночную иммунологическую планшетку (по 1000 клеток на лунку, в 100 мкл среды), затем помещали в CO₂-инкубатор. На третьи сутки культивирования образовавшиеся эмбрионидные тела переносили на чашки, покрытые желатиной, для дальнейшей дифференцировки.

ВЫДЕЛЕНИЕ ТОТАЛЬНОЙ РНК И ПРОВЕДЕНИЕ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ

Тотальную РНК из дифференцированных ЭС клеток, а также из других клеточных линий и тканей выделяли методом фенол-хлороформной экстракции с использованием набора YellowSolve (Clonogen, Россия), следуя рекомендациям производителя. Процедуру обратной транскрипции проводили с использованием набора фирмы «Силекс» (Россия), согласно протоколу и рекомендациям производителя. Синтез кДНК проводили на 0.5 мкг тотальной РНК в течение 1 ч при 37 °С в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 0.05 мкг случайных гексапраймеров и 100 ед. обратной транскриптазы MMLV (moloney murine leukemia virus). После остановки реакции (инкубация 10 мин при 70 °С) образцы кДНК хранили при – 20 °С.

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в 25 мкл реакционной смеси, состоящей из Taq-буфера, 1.5 мМ смеси

dNTP, 1,25 ед. «colored» Taq полимеразы («Синтол», Россия), 0,5 мкл образца кДНК и 10 пмоль каждого праймера. Праймеры, подобранные для соответствующих генов, а также условия ПЦР и длины продуктов, представлены в табл. Продукты ПЦР разделяли в 1,5-ном % агарозном геле с визуализацией с помощью бромистого этидия и далее анализировали с помощью системы BioDocAnalyze (Biometra, ФРГ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что дифференцировка в эктодермальном направлении дает начало нервной системе и эпителию, энтодермальном – печени, поджелудочной железе, щитовидной железе и легким, и мезодермальном – крови, скелетной и сердечной мускулатуре (<http://stem-cells.ru>).

На модели ЭС клеток мыши мы исследовали влияние изменений в экспрессии генов *trub* и *htrub* на дифференцировку этих клеток в эктодермальном, энтодермальном и мезодермальном направлениях.

Для этой цели были выбраны специфические гены-маркеры, характеризующие разные типы клеток, происходящих из того или иного зародышевого листка, которые представлены на рис. 1.

Трансфицированные ЭС клетки четырех линий (ES-hPub, ES-DNA3, ES-Ineo, ES-RNAi) подвергались «спонтанной» дифференцировке, т.е. без добавления специфических индукторов определенных типов клеточной дифференцировки. Наличие экспрессии и изменения в ее уровне определяли с помощью метода ОТ-ПЦР. В случае

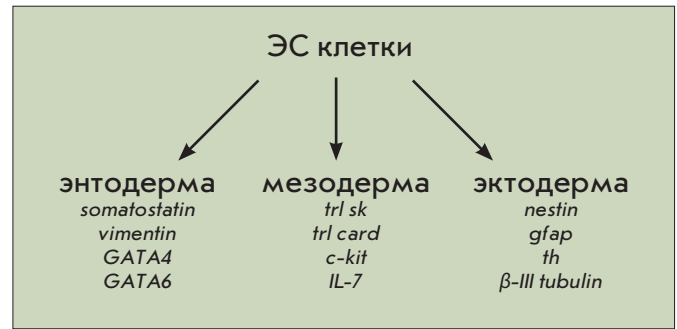


Рис. 1. Гены-маркеры определенных направлений дифференцировки ЭС клеток, использованные в экспериментах

энтодермальной и мезодермальной дифференцировки клетки анализировали на 10-й день, а в случае эктодермальной – на 21-й день культивирования [6].

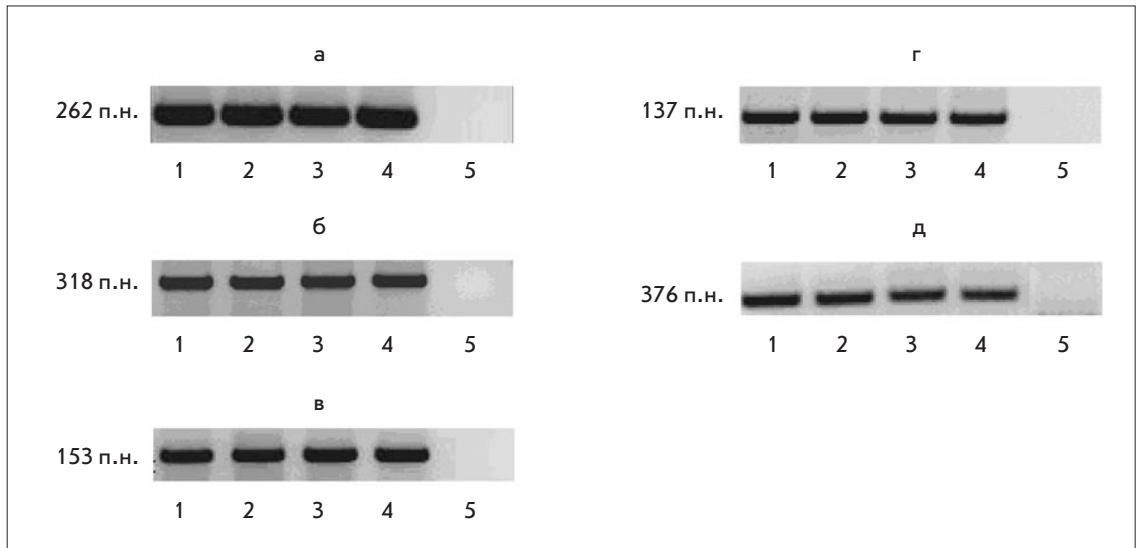
ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА HTRUB И ПОНИЖЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА TRUB НА ЭНТОДЕРМАЛЬНУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ТРАНСФИЦИРОВАННЫХ ЭС КЛЕТОК

GATA 4, GATA 6 относятся к семейству транскрипционных факторов. Они играют определенную роль в регуляции генов, вовлеченных в эмбриогенез, а также в развитие кардиоваскулярной системы и висцеральной энтодермы. На примере таких организмов, как zebrafish и Xenopus

Таблица Праймеры, использованные в полимеразной цепной реакции

№	Название гена	Структура праймеров	Т отжига (°C)	Кол-во циклов	Размер продукта (п.н.)
1	GAPDH	5'-TCCATGACAACCTTTGGCATTGTGG-3'-s 5'-GTTGCTGTTGAAGTCGCAGGAGAC-3'-as	66	27	376
2	pub	5'-CCCATTTGGAAGACGCCG-3'-s 5'-AGGGTGGCTCAGCTCCG-3'-as	70	43	328
3	hpub	5'-GCAGCAGCACATTGACAACA-3'-s 5'-TCCACGAGGCCCTTAAAGAA-3'-as	60	30	382
7	GATA 4	5'-GGTTCCCAGGCCTCTTGCAATGCGG-3'-s 5'-AGTGGCATTGCTGGAGTTACCGCTG-3'-as	65	40	153
8	GATA 6	5'-CCGCGAGTGCCTGAACT-3'-s 5'-CGCTTCTGTGGCTTGATGAG-3'-as	65	40	137
9	trI card	5'-CCACACGCCAAGAAAAAGTC-3'-s 5'-AAGCTGTTCGGCATAAAGTCCT-3'-as	62	32	204
10	trI skel	5'-CACACTCTGCAGTCTGTGGTGAG-3'-s 5'-CTGAAGGGCACTGAGAGACAGAC-3'-as	64	35	314
12	nestin	5'-CGCTGGAACAGAGATTGGAAGG-3'-s 5'-GTCTCAAGGGTATTAGCAAG-3'-as	58	30	375
13	gfap	5'-TCCTGGAACAGCAAACAAG-3'-s 5'-CAGCCTCAGGTTGGTTTCAT-3'-as	61	42	224
14	β-III tubulin	5'-GAGGAGGAGGGGAGATGTA-3'-s 5'-CCCCGAATATAAACACAACC-3'-as	65	35	348
15	th	5'-TGCACACAGTACATCCGTCA-3'-s 5'-TCTGACACGAAGTACACCGG-3'-as	60	35	376
16	vimentin	5'-ACCTGTGAAGTGGATGCCCT-3'-s 5'-AAATCCTGCTCTCCTCGCCTT-3'-as	55	30	318
17	somatostatin	5'-CAGACTCCGTCAGTTCTGC-3'-s 5'-ACAGGATGTGAAAGTCTTCCA-3'-as	56	30	262
18	c-kit	5'-TGTCTCTCCAGTTCCCTGC-3'-s 5'-TTCAGGGACTCATGGGCTCA-3'-as	58	45	765
19	IL-7	5'-ACATCATCTGAGTGCCACA-3'-s 5'-CTCTCAGTAGTCTCTTTAG-3'-as	57	45	355

Рис. 2. Экспрессия генов, вовлеченных в энтодермальную дифференцировку стабильно трансфицированных ЭС клеток (10 дней дифференцировки *in vitro*). Данные ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией. Гены: а) *somatostatin*, б) *vimentin*, в) *GATA 4*, г) *GATA 6*, д) ген сравнения – *GAPDH*. Линии клеток: 1. ES-hPub, 2. ES-DNA3, 3. ES-RNAi, 4. ES-рlneo. 5. отрицательный контроль (вода)



было показано, что гены *GATA 4, 6* играют важную роль на ранних стадиях развития сердца [7, 8, 12–14]. Более того, нокаут генов *GATA 4, 6* у мышей приводил к эмбриональной гибели на стадии гаструляции, обусловленной нарушением формирования definitiva энтодермы [19].

В результате проведенных экспериментов не было отмечено различий в экспрессии генов *vimentin, somatostatin, GATA 4, GATA 6* как в дифференцированных клетках с повышенной экспрессией гена *hpub*, так и в клетках с пониженной экспрессией гена *trub*, а также в соответствующих контрольных линиях (рис. 2). Таким образом, можно предположить, что изменения в экспрессии гена *pub* не влияют на дифференцировку ЭС клеток в энтодермальном направлении.

ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *HPUB* И ПОНИЖЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *MRUB* НА МЕЗОДЕРМАЛЬНУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ТРАНСФИЦИРОВАННЫХ ЭС КЛЕТОК

На следующем этапе мы проверили влияние экспрессии генов *hpub* и *trub* на дифференцировку клеток в мезодермальном направлении. Учитывая гомологию мышечного гена *trub* и человеческого гена *hpub*, можно предположить, что продукт гена *hpub* также будет ингибировать транскрипционную активность PU.1 и тем самым влиять на дифференцировку клеток гемопоэтического ряда. Чтобы проверить эту гипотезу, мы исследовали влияние повышенной экспрессии гена *hpub* и пониженной экспрессии гена *trub* на дифференцировку ЭС клеток по лимфоидному пути. Для этого нами были выбраны специфические гены-маркеры для лимфоидных клеток, такие как *c-kit* и *IL-7* [7]. ПЦР анализ трансгенных клеточных линий на 10-день культивирования показал, что повышенная экспрессия гена *hpub* приводит к увеличению экспрессии обоих генов-маркеров, а ингибирование эндогенного гена *trub*, напротив, к снижению их экспрессии по сравнению с соответствующими контролями (рис. 3).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что повышенная экспрессия гена *hpub* может способствовать дифференцировке ЭС клеток по лимфоидному пути.

Для определения влияния разнонаправленной экспрессии гена *pub* на дифференцировку ЭС клеток в другие производные мезодермы были выбраны два гена *trI sk* (скелетный тропонин I), *trI card* (сердечный тропонин I). В сердце зародыша человека экспрессируются как сердечная изоформа белка, так и изоформа из медленных скелетных волокон. После рождения экспрессия скелетно-мышечной изоформы тропонина I блокируется, а синтез сердечной изоформы, наоборот, стимулируется [5].

Как видно из рис. 4, действительно, экспрессия генов *trI card* и *trI sk* осуществляется на разном уровне. В трансфицированных клетках с суперэкспрессией гена *hpub* экспрессия этих генов также повышена, по сравнению с контрольной линией, а клетки с подавлением экспрессии гена *trub*, наоборот, демонстрируют более низкий уровень экспрессии генов тропонина I по сравнению с контрольной линией.

Полученные результаты свидетельствуют о возможном влиянии генов *trub* и *hpub* на дифференцировку ЭС клеток в различные производные мезодермы, причем суперэк-

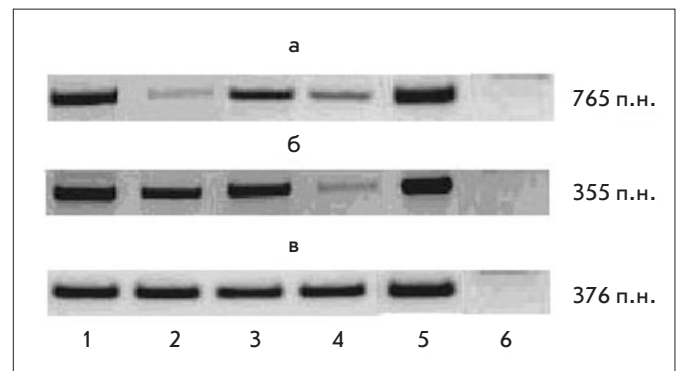


Рис. 3. Экспрессия генов *c-kit* и *IL-7* в стабильно трансфицированных ЭС клетках (10 дней дифференцировки *in vitro*). Данные ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией. Гены: а) *c-kit*, б) *IL-7*, в) ген сравнения – *GAPDH*. Линии клеток: 1. ES-hPub, 2. ES-DNA3, 3. ES-RNAi, 4. ES-рlneo, 5. тимус мыши (положительный контроль). 6. отрицательный контроль (вода)

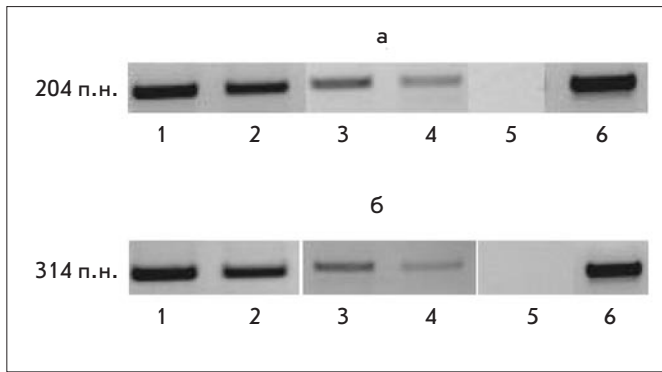


Рис. 4. Экспрессия генов тропонина I сердечной (*trl card*) и скелетной (*trl sk*) форм соответственно в стабильно трансфицированных ЭС клетках (10 дней дифференцировки *in vitro*). Данные ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией. а) ген *trl card*. Линии клеток: 1. ES-hPub, 2. ES-DNA3, 3. ES-plneo, 4. ES-RNAi, 5. отрицательный контроль (вода), 6. положительный контроль (сердце взрослой мыши) б) ген *trl sk*. Линии клеток: 1. ES-hPub, 2. ES-DNA3, 3. ES-plneo, 4. ES-RNAi, 5. отрицательный контроль (вода), 6. положительный контроль (сердце эмбрионов мыши)

спрессия гена *hpub* приводит к повышению уровня мРНК для ряда генов-маркеров этого типа дифференцировки.

ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА HPUB И ПОНИЖЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА MPUB НА ЭКТОДЕРМАЛЬНУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ТРАНСФИЦИРОВАННЫХ ЭС КЛЕТОК

Для изучения влияния генов *hpub* и *mpub* на дифференцировку ЭС клеток в эктодермальном направлении были использованы следующие гены-маркеры: *nestin*, β -III *tubulin*, *gfap* и *th*. Ген *nestin* экспрессируется в нейральных стволовых клетках, молодых нейронах, некоторых глиальных клетках и эпендимальных клетках. Его экспрессия наблюдается на ранних стадиях формирования центральной и периферической нервной системы. Гены β -III *tubulin* и *gfap* кодируют белки цитоскелета нейронов и глиальных клеток соответственно. Ген тирозингидроксилазы *th* экспрессируется в дофаминергических нейронах [19]. Данные относительно экспрессии этих генов в опытных и контрольных линиях ЭС клеток представлены на рис. 5.

ВЫВОДЫ

Как видно из результатов ПЦР анализа, в клетках с повышенной экспрессией гена *hpub* наблюдается снижение экспрессии генов, вовлеченных в нейральную дифференцировку, а в клетках с пониженной экспрессией *mpub*, на

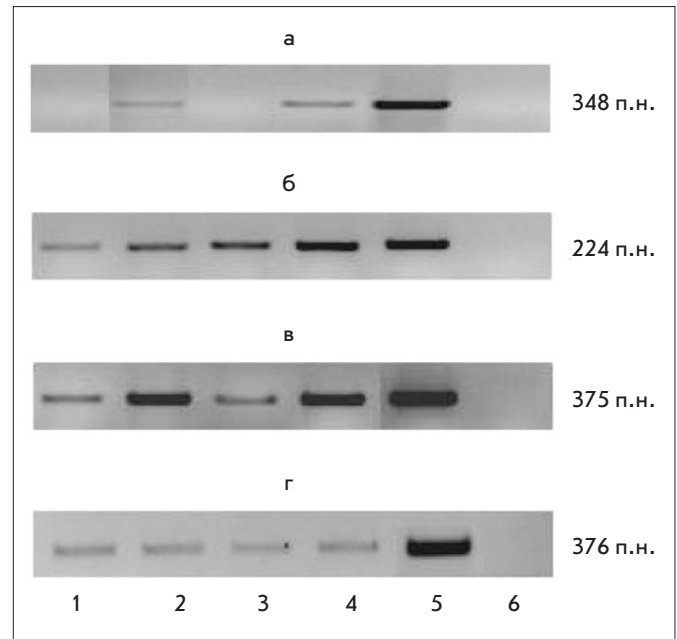


Рис. 5. Экспрессия генов, вовлеченных в эктодермальную дифференцировку стабильно трансфицированных ЭС клеток (21-й день дифференцировки *in vitro*). Гены: а) β -III *tubulin*, б) *gfap*, в) *nestin*, г) *th*. Линии клеток: 1. ES-hPub, 2. ES-DNA3, 3. ES-plneo, 4. ES-RNAi, 5. положительный контроль (гипокамп мыши), 6. отрицательный контроль (вода)

против, увеличение экспрессии этих генов по сравнению с контролями. Такая картина характерна для трех (*nestin*, β -III *tubulin*, *gfap*) из четырех проанализированных генов. Экспрессия гена *th* остается на одинаковом уровне для всех четырех линий клеток. Данный результат можно объяснить тем, что изменения в экспрессии гена *pub* не оказывают влияние на образование дофаминергических нейронов, для которых характерно наличие экспрессии гена *th*. Таким образом, в результате проведенных экспериментов показано, что суперэкспрессия гена *hpub* или подавление экспрессии гена *mpub* в ЭС клетках мыши приводит к существенному изменению в экспрессии ряда генов-маркеров производных отдельных зародышевых листков и, следовательно, может оказывать определенное, причем разнонаправленное, влияние на дифференцировку клеток в мезо- и эктодермальном направлениях. ●

Настоящая работа частично поддержана грантом Министерства образования и науки РФ (ГК № 02.512.12.2013) и грантом РФФИ (09-04-01117).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гривенников И.А. // Успехи биол. химии. 2008. Т. 48. С. 181–220.
 2. Новосадова Е.В., Мануилова Е.С., Арсеньева Е.Л., и др. // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2005. № 3. С. 174–179.
 3. Новосадова Е.В., Мануилова Е.С., Арсеньева Е.Л., и др. // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2005. Т. 1. № 2. С. 14–21.
 4. Новосадова Е.В., Мануилова Е.С., Арсеньева Е.Л., и др. // Медицинская генетика. 2008. № 8. С. 43–46.
 5. Dhoot G., Perry S. // Exp. Cell. Res. 1978. V. 117. P. 357–370.
 6. Fraichard A., Chassande O., Bilbaut G., et al. // J. Cell Sci. 1995. V. 108. P. 3181–3188.
 7. Holtzinger A., Evans T. // Development. 2005. V. 132. P. 4005–4014.
 8. Holtzinger A., Evans T. // Dev. Biol. 2007. V. 312. P. 613–622.
 9. Jiang Y., Henderson D., Blackstad M., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2003. V. 18. P. 11854–11860.

10. Keller G. // Genes & Dev. 2005. V. 19. P. 1129–1155.
 11. Lloberas J., Solier C., Celada A. // Immunol. Today. 1999. V. 20. P. 184–189.
 12. Peterkin T., Gibson A., Patient R. // EMBO J. 2003. V. 22. P. 4260–4273.
 13. Peterkin T., Gibson A., Patient R. // Dev. Biol. 2007. V. 311. P. 623–635.
 14. Reiter J., Alexander J., Rodaway A., et al. // Genes Dev. 1999. V. 3. P. 2983–2995.
 15. Reymond A., Meroni G., Fantozzi A., et al. // EMBO J. 2001. V. 20. P. 2140–2151.
 16. Tarantul V.Z., Nikolaev A.I., Martynenko A., et al. // AIDS Res. Hum. Retroviruses. 2000. V. 16. P. 173–179.
 17. Tarantul V., Nikolaev A., Hannig H., et al. // Neoplasia. 2001. V. 3. P. 132–142.
 18. Torok M., Etkin L. // Differentiation. 2000. V. 67. P. 63–71.
 19. Zhao R., Watt A.J., Battle M.A., Li J., Bondow B.J., Duncan S.A. // Dev. Biology. 2008. V. 317. P. 614–619.