

УДК 576.353.3

Судьба ядрышка в митозе: сравнительный анализ локализации некоторых форм пре-рРНК методом флуоресцентной гибридизации *in situ* в фибробластах мышцы NIH/3T3

К. В. Шишова*, О. О. Жарская, О. В. Зацепина

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

*E-mail: kseniya.shishova@inbox.ru

Поступила в редакцию 10.06.2011 г.

РЕФЕРАТ Ядрышко – основной структурный домен клеточного ядра, содержащий, наряду с белками, значительное количество рибосомных РНК (рРНК) на разных стадиях созревания (пре-рРНК). Вступление клеток млекопитающих в митоз сопровождается прекращением синтеза рРНК, распадом ядрышка и выходом пре-рРНК в цитоплазму. Однако роль цитоплазматической пре-рРНК в митозе до сих пор остается невыясненной, а сравнительный анализ «судьбы» ее различных форм на всех стадиях деления не производился. Основная цель настоящей работы – изучение локализации пре-рРНК, выявляемой зондами к короному участку внешнего транскрибируемого спейсера (5'ВшТС), внутренним транскрибируемым спейсерам (ВнТС1 и ВнТС2), а также к зрелой 28S рРНК, меченных биотином, в митотических фибробластах мышцы NIH/3T3 методом флуоресцентной гибридизации *in situ* и конфокальной лазерной микроскопии. Показано, что при распаде ядрышка и ядерной оболочки в начале митоза разные формы пре-рРНК выходят в цитоплазму, но на хромосомах из материнской клетки в дочерние клетки переносятся ее более процессированные формы. Все формы пре-рРНК и 28S рРНК выявляются в составе цитоплазматических производных ядрышка (nucleolus derived foci, NDF), формирование которых означает начало нуклеологенеза. Однако в «ранних» NDF наиболее отчетливо выявляются менее процессированные пре-рРНК, тогда как «поздние» NDF содержат преимущественно 28S рРНК. Полученные данные говорят о том, что различные формы пре-рРНК материнской клетки могут играть разную роль в формировании дочерних ядрышек, а одной из возможных функций NDF является участие в созревании пре-рРНК, сохраняющейся в цитоплазме при митозе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА ядрышко, митоз, цитоплазматические производные ядрышка (NDF), фибробласты мышцы NIH/3T3, флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ рРНК – рибосомная РНК; 47S пре-рРНК – 47S предшественник рРНК; NDF – цитоплазматические производные ядрышка (nucleolus derived foci); PNB – пренуклеолярные тельца; 5'ВшТС, 3'ВшТС – 5'- и 3'-внешние транскрибируемые спейсеры; ВнТС1, ВнТС2 – первый и второй внутренние транскрибируемые спейсеры; мякРНК – малые ядрышковые РНК; DAPI – 4',6-диамидино-2-фенилиндол; FISH – флуоресцентная гибридизация *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization).

ВВЕДЕНИЕ

Ядрышко – основной структурный домен клеточного ядра, в котором происходят транскрипция рибосомных генов (рДНК), процессинг (созревание) первичных транскриптов пре-рРНК и сборка рибосомных частиц [1, 2]. У млекопитающих три типа цитоплазматических рРНК – 18S, 5.8S и 28S рРНК, синтезируются в ядрышках в виде единого предшественника, или 47S пре-рРНК. Созревание 47S пре-

рРНК в зрелые рРНК представляет собой сложный многоступенчатый процесс, который, в дополнение к химическим модификациям 18S, 5.8S и 28S рРНК, включает удаление нескольких спейсерных участков, транскрибируемых в составе 47S пре-рРНК – 5'-внешнего транскрибируемого спейсера (5'ВшТС), а также первого (ВнТС1) и второго (ВнТС2) внутренних транскрибируемых спейсеров (рис. 1). Как известно, созревание 18S рРНК продолжает-

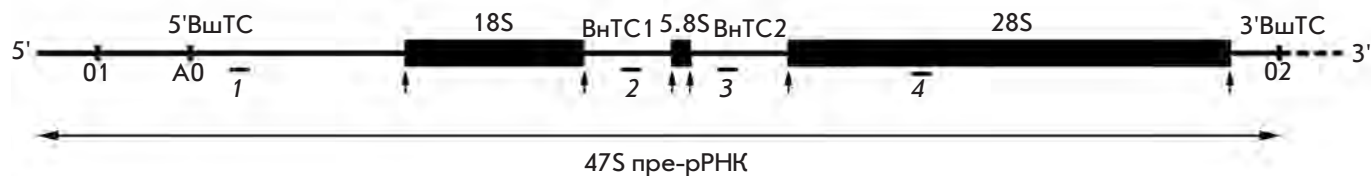


Рис. 1. Структура первичного транскрипта (47S пре-рРНК) мыши и положение зондов, использованных для гибридизации *in situ*. 5'ВшТС – 5'-внешний транскрибируемый спейсер, ВнТС1 – первый внутренний транскрибируемый спейсер; ВнТС2 – второй внутренний транскрибируемый спейсер; 3'ВшТС – 3'-внешний транскрибируемый спейсер. 18S, 5.8S, 28S – фрагменты пре-рРНК, соответствующие зрелым рРНК. Горизонтальные черточки внизу – положение олигонуклеотидных зондов к 5'ВшТС – +2251/+2280 (зонд 1); к ВнТС1 – +6391/+6420 (зонд 2); к ВнТС2 – +7471/+7500 (зонд 3), к 28S рРНК – +9571/9600 (зонд 4). 01, 02, A0 – известные сайты расщепления в составе пре-рРНК мыши.

ся около 20 мин, а 28S рРНК – около 40 мин, поэтому во фракции выделенных ядрышек выявляются не только первичные транскрипты рРНК, но и частично процессированные пре-рРНК разного размера [3]. У мыши наиболее короткоживущим является фрагмент длиной 650 п.н., расположенный с 5'-конца ВшТС – время его полужизни составляет не более 2 мин [4]. Согласно существующим представлениям, у млекопитающих удаление внутренних спейсеров начинается после завершения синтеза и отделения первичного транскрипта пре-рРНК от матричной рДНК, а время их полужизни составляет не менее 30 мин [3–5].

Хорошо известно, что у высших эукариот митоз сопровождается прекращением синтеза пре-рРНК, распадом ядрышка и выходом основных ядрышковых компонентов – белков и рРНК – в цитоплазму [6–10]. Методами биохимического [11, 12] и цитологического анализа [13] показано, что пре-рРНК, синтезированная перед митозом, сохраняется в цитоплазме клеток вплоть до его окончания, хотя роль этой стабильной пре-рРНК в митозе остается пока неизвестной. Недостаточно исследованы также особенности локализации различных форм пре-рРНК в митозе, хотя работы в этом направлении будут способствовать выяснению их роли в восстановлении ядрышек на завершающих стадиях митоза.

Восстановление ядрышек при митотическом делении клеток начинается сразу после расхождения хромосом к полюсам митотического веретена с появления в цитоплазме многочисленных дискретных телец (диаметром 0.2–2.0 мкм), получивших название «дериваты ядрышка» (nucleolus derived foci, NDF). В составе NDF на сегодняшний день описаны многие белки зрелых ядрышек, участвующие в процессинге пре-рРНК (B23/нуклеофозмин, C23/нуклеолин, фибрилларин и другие), U3 и U14 малые ядрышковые РНК (мякРНК), а также зрелые 18S и 28S рРНК.

Методами иммуноцитохимии [13, 14] и путем экспрессии белковых маркеров NDF, слитых с флуоресцентными белками [7], показано, что при завершении митоза количество NDF, содержащих белки раннего процессинга пре-рРНК (например, фибрилларина), постепенно уменьшается. Напротив, белки, участвующие в поздних стадиях процессинга пре-рРНК (например, B23/нуклеофозмин), сохраняются в NDF вплоть до периода G1 следующего клеточного цикла [15]. Наличие в NDF белков и мякРНК, необходимых для процессинга пре-рРНК в интерфазных ядрышках, позволяет высказать предположение, что в NDF могут осуществляться по крайней мере некоторые стадии созревания пре-рРНК, сохраняющейся в клетках при митозе. Однако экспериментально это предположение до сих пор не проверяли, а присутствие разных форм пре-рРНК в «ранних» и «поздних» NDF практически не изучалось.

Основная цель настоящей работы – сравнительный анализ локализации разных форм (интермедиатов) частично процессированной пре-рРНК и 28S рРНК на последовательных стадиях митоза в фибробластах мыши линии NIH/3T3 методом флуоресцентной гибридизации *in situ* и конфокальной лазерной микроскопии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Культура клеток

Фибробласты мыши линии NIH/3T3 приобретены в Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН и свободны от микоплазмы. Клетки выращивали в среде DMEM («ПанЭко», Россия), содержащей 10% эмбриональной сыворотки теленка («HyClone», США), 2 мМ L-глутамин, антибиотики пенициллин и стрептомицин (по 250 ЕД каждого), при 37°C и 5% CO₂ и пересаживали дважды в неделю.

Флуоресцентная гибридизация *in situ*

В работе использовали олигонуклеотидные зонды, меченные с 5'-конца биотином и специфически выявляющие следующие участки 47S пре-рРНК мыши: коровый фрагмент 5'-внешнего транскрибируемого спейсера (5'ВшТС, зонд 1) – 5'aga gag aga csg atg csg-asa cac sga tgc (+2251/+2280); первый внутренний транскрибируемый спейсер (ВнТС1, зонд 2) – 5'aaa-cst csg cgc cgg aac gcg asa gct agg (+6391/+6420); второй внутренний транскрибируемый спейсер (ВнТС2, зонд 3) – 5'cag asa acc gca ggc gas cga csg gcc (+7471/+7500); фрагмент 28S рРНК (зонд 4) – 5'gag-gga acc agc tac tag atg gtt cga tta (+9571/+9600). Синтез зондов осуществлен фирмой «Синтол» (Россия); концентрация зондов в стоковых растворах составляла около 2 мкг/мкл. Положение зондов относительно 47S пре-рРНК мыши показано на *рис. 1*. Из *рис. 1* видно, что зонд 1 выявлял менее процессированную форму пре-рРНК, зонды 2 и 3 могли гибридизоваться как с длинной, так и с более короткими (т.е. более процессированными) формами пре-рРНК, а зонд 4 выявлял, в основном, зрелую 28S рРНК, но мог гибридизоваться и с незрелой пре-рРНК.

Клетки, выращенные на покровных стеклах, промывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ, 140 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 1,5 мМ KH_2PO_4 и 8,1 мМ Na_2HPO_4 , pH 7.2–7.4) и фиксировали 4% раствором формалина («MP Biomedicals, Inc.», Франция) на ФСБ 30 мин при комнатной температуре. Промывали ФСБ (3 × 5 мин), обрабатывали 0.5% Тритоном X-100 (10 мин при 4°C), промывали ФСБ, а затем двукратным стандартным солевым буфером (2×SSC, 0.3 М NaCl, 0.03 М $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, pH 7.0) 5 мин.

Гибридизационная смесь содержала 50% деионизованного формамида («Sigma», США), 10% декстран-сульфата («Loba Chemie, Fischamend», Австрия), 5% 20×SSC (3 М NaCl, 0.3 М $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, pH 7.0) и 8 нг/мкл олигопроб. Гибридизацию проводили во влажной камере в течение 16 ч при 42°C. Затем клетки последовательно промывали 50% формамидом («Panreac», Испания) на 2×SSC (3 × 10 мин) при 42°C, 2×SSC при 42°C (10 мин) и 2×SSC (10 мин) при комнатной температуре. Места гибридизации выявляли с помощью авидина, конъюгированного с родамином («Roche», Швейцария), при разведении 1 : 200 в буфере, содержащем 4×SSC (0.06 М NaCl, 0.06 М $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, pH 7.0), в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем клетки промывали 4×SSC (10 мин) и ФСБ (3 × 10 мин). Хроматин и хромосомы окрашивали красителем DAPI (1 мкг/мл, 4',6-diamidino-2-phenylindole, «Sigma») в течение 10 мин. Клетки заключали в Мовиол («Calbiochem», США) и изучали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM510 DuoScanMETA («Carl Zeiss»,

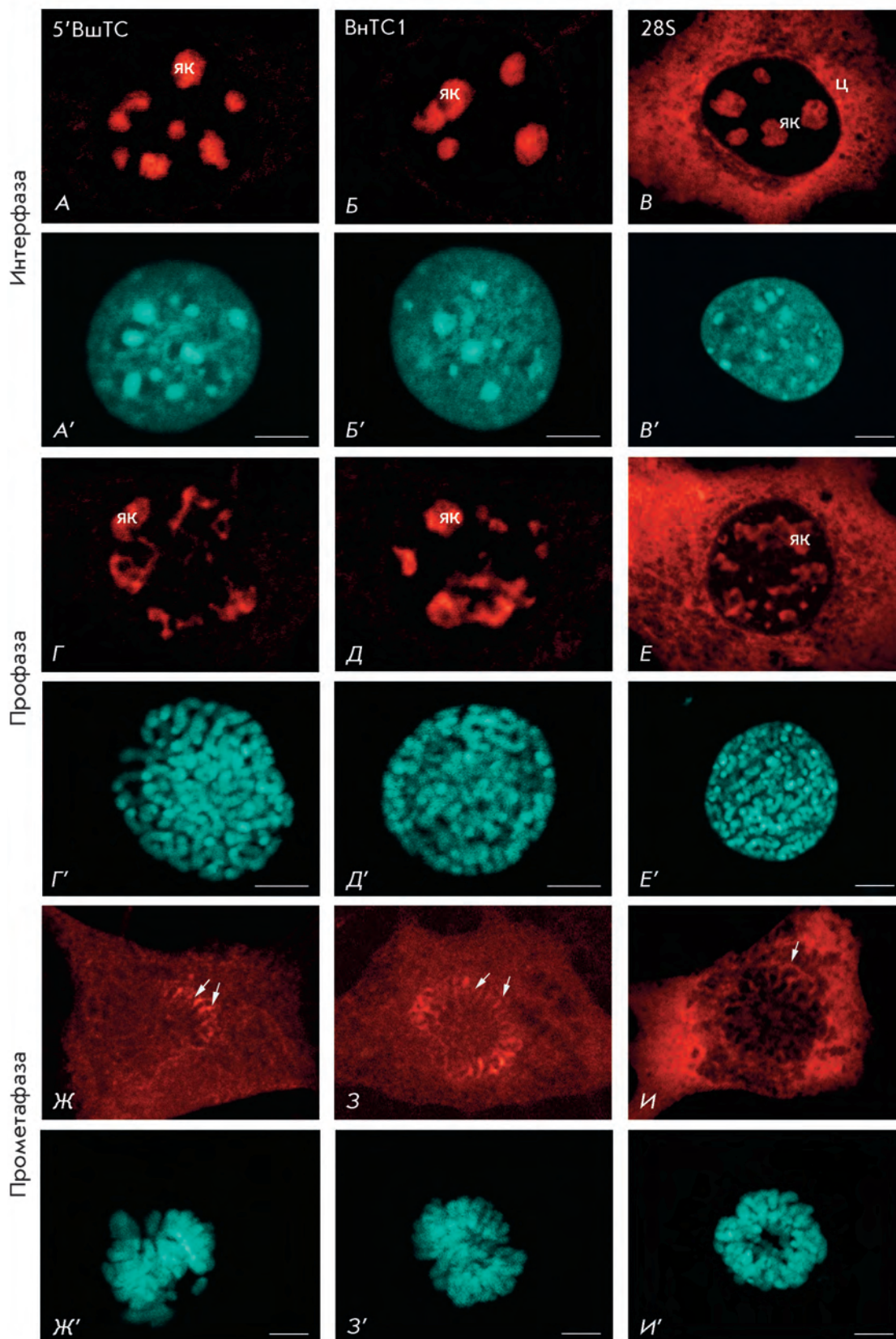
Германия), оснащенного аргоновым (Ar) и гелий-неоновым (He-Ne) лазерами, используя иммерсионный объектив Plan-Apochromat 63×/ЧА (числовая апертура) 1.40. Для контроля фиксированные клетки обрабатывали РНКазой А (200 мкг/мл) на ФСБ в течение 30 мин при 37°C как подробно описано ранее [16]. Обработка РНКазой А полностью блокировала появление флуоресцентных сигналов в ядрышках в интерфазе, а также в митотических клетках после проведения FISH (не иллюстрировано). В контроле и опыте на каждую из стадий нами проанализировано не менее 20 клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На *рис. 2* показана локализация пре-рРНК и 28S рРНК в интерфазных клетках NIH/3T3. Видно, что все формы пре-рРНК выявляются только в ядрышках (*рис. 2А,Б*), а 28S рРНК присутствует как в ядрышке, так и в цитоплазме в зрелых рибосомах (*рис. 2В*). Эти наблюдения хорошо соответствуют данным, опубликованным другими авторами [5, 7, 14], однако отличаются более яркими и четкими гибридизационными сигналами. Мы полагаем, что это связано как с эффективностью мечения олигонуклеотидных зондов, так и с условиями постановки реакции FISH, включая параметры отмычки в буферах, которые позволяют удалять несвязанные зонды и тем самым уменьшать фоновое (неспецифическое) свечение.

Клетки на начальной стадии митоза – в профазе – мы идентифицировали по наличию длинных конденсированных хромосом, отчетливо выявляемых красителем DAPI в ядрах (*рис. 2Г'–Е'*). Известно, что в профазе все белки, участвующие в процессинге пре-рРНК, выходят из ядрышек в ядро и диффузно располагаются между хромосомами [9, 16–18]. К таким белкам, в частности, относятся фибрилларин (фактор раннего процессинга пре-рРНК) [19], В23/нуклеофозмин (фактор сборки рибосом) [20] и SURF-6 (фактор позднего процессинга пре-рРНК) [16, 17]. Результаты настоящей работы показывают, что, в отличие от белков, незрелые рРНК, выявляемые зондами к 5'ВшТС (*рис. 2Г*), ВнТС1 (*рис. 2Д*), ВнТС2 (не иллюстрировано), а также к 28S рРНК (*рис. 2Е*), в профазе располагаются преимущественно в области ядрышек и практически отсутствуют в ядре. Нам не удалось обнаружить различий в локализации пре-рРНК, выявляемых зондами к ВнТС1 и ВнТС2. Различия в поведении пре-рРНК и белков, участвующих в ее созревании, при распаде ядрышка до сих пор описаны не были. Логично предположить, что они отражают частичное разрушение комплексов пре-рРНК с белками, сопровождающее прекращение процессинга пре-рРНК, синтезированной до начала или в самом начале митоза.

Рис. 2. Выявление пре-рРНК в клетках NIH/3T3 методом флуоресцентной гибридизации *in situ* с зондами к 5'ВшТС (зонд 1) (А, Г, Ж), ВнТС1 (зонд 2) (Б, Д, З) и 28S рРНК (зонд 4) (В, Е, И) в интерфазе (А–В), профазе (Г–Е) и прометафаза (Ж–И) митоза. А–И – локализация пре-рРНК и 28S рРНК; А'–И' – окраска хроматина в интерфазе и хромосом в митозе красителем DAPI. як – ядрышки; ц – цитоплазма; стрелки – перихромосомный материал. Масштабные линии 5 мкм.



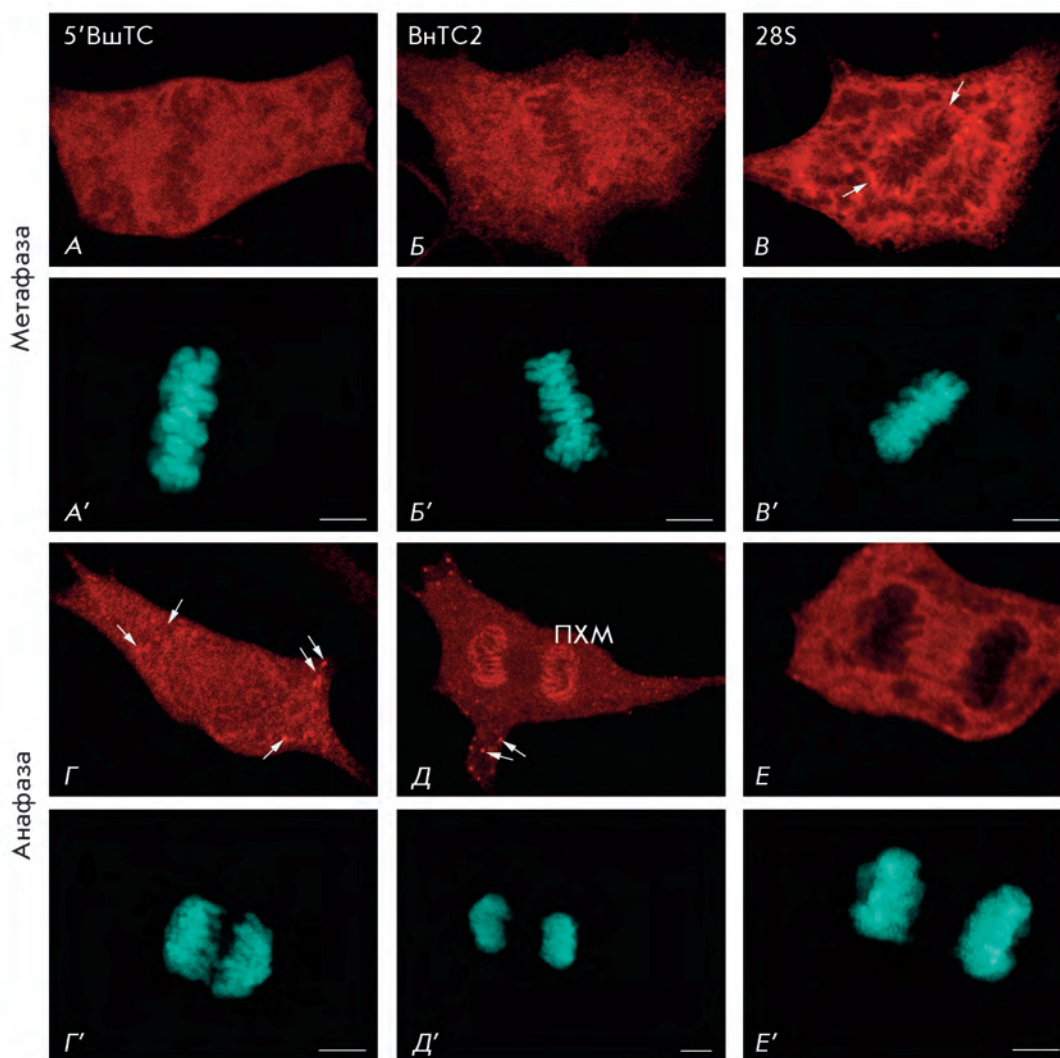


Рис. 3. Выявление пре-рРНК в клетках NIH/3T3 с зондами к 5'ВшТС (зонд 1) (А, Г) и ВнТС2 (зонд 3) (Б, Д) и 28S рРНК (зонд 4) (В, Е) методом FISH в метафазе (А–В) и анафазе (Г–Е) митоза. А–Е – локализация пре-рРНК и 28S рРНК; А'–Е' – окраска хроматина и хромосом красителем DAPI. ПХМ – перихромосомный материал; стрелки – цитоплазматические дериваты ядрышка (Г, Д); ПХМ (В). Масштабные линии 5 мкм.

Распад ядерной оболочки означает переход клетки из профазы в прометафазу и проявляется в дополнительной конденсации хромосом и изменении контура, занимаемой ими области. Известно, что в прометафазе завершается распад ядрышка, а большинство ядрышковых белков выходит в цитоплазму [15]. Согласно результатам нашей работы, в прометафазе все формы пре-рРНК отчетливо проявляются в цитоплазме и на поверхности хромосом (рис. 2Ж,З). Однако флуоресцентные сигналы, проявляемые зондом к 5'ВшТС, присутствовали на поверхности лишь некоторых хромосом (рис. 2Ж), тогда как сигналы, выявляемые зондами к ВнТС1 (рис. 2З) и ВнТС2 (не иллюстрировано), видны на поверхности всех хромосом. Аналогичную закономерность наблюдали также на последующей стадии митоза – в метафазе, когда хромосомы формируют характерную пластинку в центре клетки (рис. 3А–В'). Однако различия в ло-

кализации разных форм пре-рРНК особенно выражены в анафазе, когда хромосомы расходятся к полюсам веретена (рис. 3Г–Е'). Сравнение рис. 3Г и 3Д показывает, что зонд к ВнТС2 ярко окрашивает поверхность хромосом, тогда как зонд к 5'ВшТС с поверхностью хромосом практически не гибридизуется. Эти наблюдения позволяют заключить, что, в отличие от более зрелых (коротких) форм пре-рРНК, выявляемых зондами к ВнТС1 и ВнТС2, менее зрелая пре-рРНК, обнаруживаемая зондом к 5'ВшТС, не переносится хромосомами из материнской в дочерние клетки.

Распад ядрышка в профазе приводит к выходу в цитоплазму не только непротранскрибированных форм пре-рРНК, но и 28S рРНК (рис. 2Е). Поэтому, начиная с ранней прометафазы, метод FISH не позволяет различить 28S рРНК ядрышкового и цитоплазматического происхождения. В поздней прометафа-

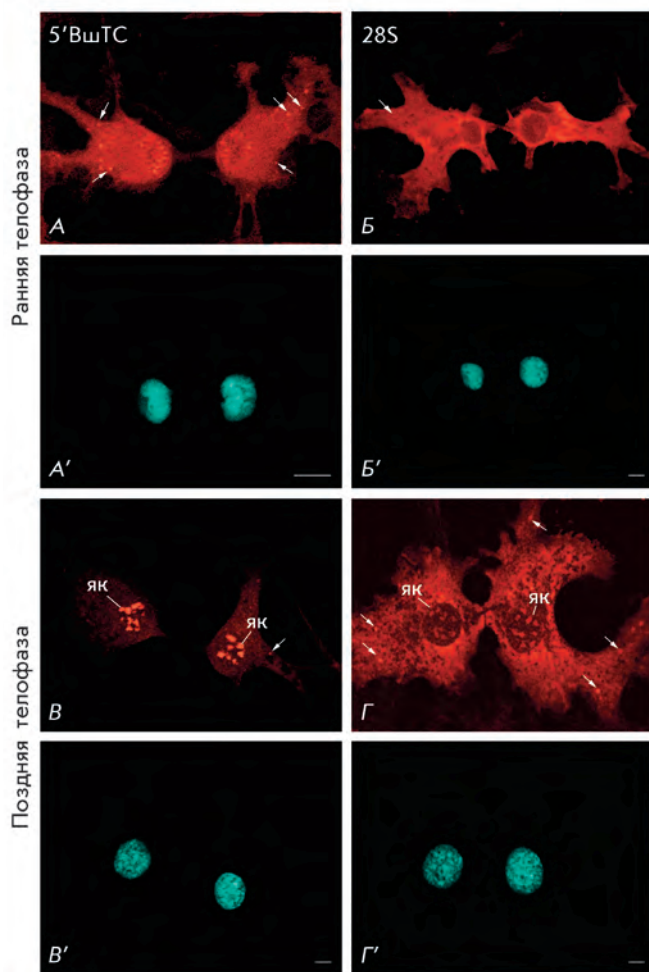


Рис. 4. Выявление пре-рРНК в клетках NIH/3T3 с зондами к 5'ВшТС (зонд 1) (А, В) и 28S рРНК (зонд 4) (Б, Г) методом FISH в ранней телофазе (А, Б) и поздней телофазе (В, Г) митоза. А–Г – локализация пре-рРНК и 28S рРНК; А'–Г' – окраска хроматина и хромосом красителем DAPI. як – ядрышки; стрелки – NDF. Масштабные линии 10 мкм.

зе (рис. 2И), метафаза (рис. 3В) и анафаза (рис. 3Е) FISH-сигналы, выявляемые зондом к 28S рРНК, располагаются в цитоплазме. Кроме того, во многих клетках более интенсивные сигналы видны на поверхности хромосом в виде перихромосомного материала (рис. 3В,Е). Присутствие перихромосомного материала, выявляемого пробой к 28S рРНК, может объясняться наличием как зрелой пре-рРНК, так и незрелой 28S рРНК. Это предположение находится в соответствии с результатами электронно-микроскопического анализа митотических хромосом *in situ*, согласно которым на поверхности хромосом находятся РНП-частицы, по размерам соответствующие рибосомам. Они представляют собой один

из основных структурных компонентов так называемого перихромосомного материала, или слоя [21]. Известно, что ядрышковые белки, входящие в состав перихромосомного материала, используются для построения ядрышек дочерних клеток. Напротив, белковый материал, не входящий в состав перихромосомного слоя, в этом процессе, скорее всего, не участвует [22–24]. Можно предположить, что аналогичная закономерность существует и на уровне различных форм пре-рРНК, т.е. менее процессированные формы пре-рРНК (например, формы, выявляемые зондом к 5'ВшТС) в состав формирующихся ядрышек не включаются.

Согласно современным представлениям, одна из наиболее ранних стадий восстановления ядрышка в митозе у млекопитающих соответствует образованию NDF – цитоплазматических телец, основным компонентом которых являются белки, участвующие в процессинге рРНК [18]. Однако в клетках как животных, так и растений в составе NDF описаны также некоторые формы рРНК, включая зрелые рРНК и пре-рРНК [7, 13, 15]. Результаты, полученные в настоящей работе, однозначно говорят о том, что в клетках мыши NDF также содержат пре-рРНК, хотя характер мечения NDF зондами к разным формам пре-рРНК различается на разных стадиях митоза. «Ранние» NDF, т.е. NDF в анафаза (рис. 3Г'–Е') и начале телофаза (рис. 4А'), преимущественно метятся зондом к 5'ВшТС (рис. 3Г; 4А), но практически не метятся зондом к 28S рРНК (рис. 3Е; 4Б). Напротив, в поздней телофаза и в периоде G1 (рис. 4В',Г') NDF выявляются зондом к 28S рРНК (рис. 4Г), но практически не метятся зондами к 5'ВшТС (рис. 4В), ВшТС1 и ВшТС2 (не иллюстрировано). Примечательно, что «поздние» NDF, выявляемые зондом к 28S рРНК (рис. 4Г), имеют более крупные размеры, чем NDF, которые выявляются на той же стадии митоза зондом к 5'ВшТС (рис. 4В).

Эти наблюдения позволяют заключить, что на завершающих стадиях митоза состав NDF постепенно изменяется: из них исчезают менее процессированные пре-рРНК, но сохраняются или накапливаются более зрелые рРНК. Эти наблюдения свидетельствуют в пользу участия NDF в процессинге пре-рРНК, сохраняющейся при клеточном делении. Необходимо отметить, что NDF не содержат рДНК и потому не способны к синтезу 47S пре-рРНК [15]. NDF – структуры, более короткоживущие, чем ядрышки, и если процессинг пре-рРНК в них действительно происходит, то только в ограниченный отрезок времени, совпадающий с окончанием митоза. Биологический смысл этого явления может заключаться в рациональном использовании пре-рРНК, синтезированной до митоза, и в обеспечении клетки допол-

нительными рибосомами на стадии активного роста после деления.

Структурами, участвующими в формировании ядрышек на завершающих стадиях митоза, являются также пренуклеолярные тельца (PNB – pre-nucleolar bodies), называемые также проядрышками или предядрышками [15]. Подобно NDF, пренуклеолярные тельца представляют собой дискретные образования размером до 1 мкм, содержащие ядрышковые факторы процессинга рРНК. В отличие от NDF, эти тельца формируются не в цитоплазме, а в ядрах дочерних клеток [25, 26]. Основные маркеры этих телец – белки, и вопрос о присутствии различных форм пре-рРНК и зрелых рРНК в пренуклеолярных тельцах изучен плохо. Тем не менее показано, что пренуклеолярные тельца клеток HeLa и СМТЗ (зеленая мартышка), а также клеток растений (*Pisum sativum* и *Allium cepa*) могут содержать 32S пре-рРНК и зрелые 28S рРНК, хотя присутствие 18S рРНК в пренуклеолярных тельцах не очевидно ([15], таблица и ссылки там). Наши наблюдения показали, что в клетках NIH/3T3 пренуклеолярные тельца гибридизуются с теми же зондами, что и NDF, хотя «ранние» проядрышки практически не выявляются зондом к 28S рРНК (рис. 4Б,Б'), то есть, по-видимому, ее не содержат. Однако особенности состава рРНК в пренуклеолярных тельцах на разных стадиях существования требуют специального изучения. На цитологическом уровне эта задача может быть решена

только после разработки подходов, позволяющих сочетать высокочувствительную гибридизацию *in situ* с зондами к различным последовательностям пре-рРНК с выявлением маркерных белков пренуклеолярных телец.

ВЫВОДЫ

Предложена методика высокочувствительного выявления разных форм пре-рРНК и зрелой 28S рРНК в митотических фибробластах мыши NIH/3T3 с использованием олигонуклеотидных зондов, меченных биотином. Показано, что пре-рРНК дольше сохраняется в распадающихся ядрышках, чем белки, участвующие в ее процессинге, и не деградирует в митозе. На хромосомах из материнской в дочерние клетки переносятся лишь некоторые формы пре-рРНК. Пре-рРНК и 28S рРНК выявляются в составе цитоплазматических ядрышковых дериватов (NDF) сразу после их образования в анафазе или ранней телофазе. Однако незрелая пре-рРНК исчезает из состава NDF раньше 28S рРНК. Это наблюдение свидетельствует в пользу участия NDF в процессинге пре-рРНК, сохраняющейся в цитоплазме клеток при митозе. ●

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (государственные контракты № 14.740.11.0121 и 14.740.11.0925).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Sirri V., Urcuqui-Inchima S., Roussel P., Hernandez-Verdun D. // *Histochem. Cell. Biol.* 2008. V. 129. P. 13–31.
- Henras A.K., Soudet J., Gêrus M., Lebaron S., Caizergues-Ferrer M., Mouglin A., Henry Y. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2008. V. 65. P. 2334–2359.
- Wang M., Pestov D.G. // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. P. 1811–1822.
- Kent T., Lapik Y.R., Pestov D.G. // *RNA.* 2009. V. 15. P. 14–20.
- Lazdins I.B., Delannoy M., Sollner-Webb B. // *Chromosoma.* 1997. V. 105. P. 481–495.
- Gautier T., Dauphin-Villemant C., André C., Masson C., Arnoult J., Hernandez-Verdun D. // *Exp. Cell Res.* 1992. V. 200. P. 5–15.
- Dundr M., Misteli T., Olson M.O. // *J. Cell. Biol.* 2000. V. 150. P. 433–446.
- Hernandez-Verdun D. // *The nucleolus.* N.Y.: Kluwer Acad./Plenum Publ., 2004. P. 41–57.
- Leung A.K.L., Lamond A.I. // *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2004. V. 13. P. 39–54.
- DiMario P.J. // *Int. Rev. Cytol.* 2004. V. 239. P. 99–178.
- Piñol-Roma S. // *Mol. Biol. Cell.* 1999. V. 10. P. 77–90.
- Okuwaki M. // *J. Biochem.* 2008. V. 143. P. 441–448.
- Dundr M., Olson M.O. // *Mol. Biol. Cell.* 1998. V. 9. P. 2407–2422.
- Beven A.F., Lee R., Razaz M., Leader D.J., Brown J.W., Shaw P.J. // *J. Cell. Sci.* 1996. V. 109. P. 1241–1251.
- Жарская О.О., Зацепина О.В. // *Цитология.* 2007. Т. 49. С. 355–369.
- Гурченков В.В., Ползиков М.А., Магуолас К., Романова Л.Г., Зацепина О.В. // *Биоорг. химия.* 2006. Т. 31. С. 578–585.
- Magoulas C., Zatssepina O.V., Jordan P.W., Jordan E.G., Fried M. // *Eur. J. Cell. Biol.* 1998. V. 75. P. 174–183.
- Angelier N., Tramier M., Louvet E. // *Mol. Biol. Cell.* 2005. V. 16. P. 2862–2871.
- Turner A.J., Knox A.A., Prieto J. // *Mol. Cell. Biol.* 2009. V. 29. P. 3007–3017.
- Huang N., Negi S., Szebeni A., Olson M.O.J. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 5496–5502.
- Chentsov Yu.S. // *Russ. J. Dev. Biol.* 2000. V. 31. P. 388–399.
- Hernandez-Verdun D. // *Histochem. Cell. Biol.* 2006. V. 125. P. 127–137.
- Hernandez-Verdun D. // *Histochem. Cell. Biol.* 2006a. V. 126. P. 135–148.
- Olson M.O., Dundr M. // *Histochem. Cell. Biol.* 2005. V. 123. P. 203–216.
- Raska I., Shaw P.J., Cmarko D. // *Int. Rev. Cytology.* 2006. V. 255. P. 177–235.
- Hernandez-Verdun D. // *Nucleus.* 2011. V. 2. P. 189–194.