

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Д. С. Боголюбов

ТЕЛЬЦА КАХАЛЯ

и другие коилинсодержащие
структуры клеточного ядра

Санкт-Петербург
2025

УДК 576.315.3

ББК 28.05

Б74

Рекомендовано к изданию федеральным государственным бюджетным учреждением «Санкт-Петербургское отделение Российской академии наук»

Рецензенты:

доктор биологических наук, профессор *И. И. Киреев*
(НИИ ФХБ им. А. Н. Белозерского Московского государственного
университета им. М. В. Ломоносова);

доктор биологических наук, профессор *Е. Р. Гагинская* (СПбГУ)

Боголюбов Д. С.

Б74 Тельца Кахаля и другие коилинсодержащие структуры клеточного ядра. — Санкт-Петербург : ИНЦ РАН; ЦСО, 2025. — 280 с., ил.

ISBN 978-5-906623-73-7

В монографии обобщены сведения о морфологии, молекулярном составе и функциях телец Кахаля — одних из ведущих структур интерхроматинового пространства ядра эукариотической клетки, как типичном примере безмембранных ядерных органелл. Также рассмотрены родственные структуры, характеризующиеся присутствием белка коилина: тельца гистоновых локусов, тельца-близнецы (gems) и другие. Приведены сведения об истории открытия, этапах развития научных знаний об этих ядерных органеллах, основные принципы формирования безмембранных органелл в целом, роль немембранной компартментализации в молекулярной физиологии клетки. Продемонстрирована роль коилина в качестве одного из главных структурных белков телец Кахаля, обсуждаются его шаперонные функции по отношению к различным интерактантам — белкам и малым некодирующим РНК, а также биологическое значение посттрансляционных модификаций его молекулы.

Специальное внимание уделено участию телец Кахаля в метаболизме сплайсосомных малых ядерных РНК (snРНК) и snРNP, их сложном метаболическом цикле с указанием места и роли телец Кахаля на разных его этапах: посттранскрипционном процессинге пре-snРНК, экспорте snРНК в цитоплазму, реимпорте snРNP в ядро и сборке функциональной U4/U6 • U5 snРNP-субъединицы сплайсосомы. Представлены сведения о типах малых ядрышковых РНК (snoРНК), рассмотрена роль телец Кахаля в их метаболизме, с акцентом на особых snoРНК, специфических для телец Кахаля (scaРНК), — специфических РНК-гидах, осуществляющих модификации молекул snРНК. Обсуждаются потенциальные сигналы и белки, ответственные за локализацию snoРNP и scaРNP в ТК.

Обсуждаются молекулярные особенности белка SMN и роль SMN-комплексов в формировании РNP-частиц. Представлены современные данные о роли телец Кахаля в метаболизме теломеразной РНК и функциях ключевых белков телец Кахаля в шаперонировании холоэнзима теломеразы и в связывании теломеразы с теломерами.

Монография предназначена для специалистов в области молекулярной и клеточной биологии эукариот, аспирантов и студентов высших учебных заведений биологического профиля.

УДК 576.315.3

ББК 28.05

Книга рекомендована к печати Ученым советом ИНЦ РАН
(протокол № 299/2010 от 22.05.2025).

ISBN 978-5-906623-73-7

© Д. С. Боголюбов, 2025
© ИНЦ РАН, 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	5
Глава 1. ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ЯДЕРНОЙ КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ, ТЕЛЬЦАХ КАХАЛЯ И ТЕЛЬЦАХ ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ	12
1.1. Компартменты, домены, тельца, органеллы... Терминологические комментарии	22
1.2. Безмембранные органеллы	26
1.3. Молекулярный состав, полифункциональность, консервативность и динамика телец Кахала	43
1.3.1. Проблема идентификации	43
1.3.2. РНК- и белковые компоненты телец Кахала: краткий обзор	46
1.3.3. Универсальность и консервативность	57
1.3.4. Динамика	61
1.4. Открытие и история изучения телец Кахала	65
Глава 2. КОИЛИН	75
2.1. История открытия коилина	76
2.2. Строение молекулы коилина, функции С- и N-концевых участков	78
2.2.1. Значение С-концевой части молекулы коилина	80
2.2.2. Значение N-концевой части молекулы коилина	82
2.3. Посттрансляционные модификации коилина	88
2.3.1. Фосфорилирование	88
2.3.2. Метилирование и другие модификации	92
Глава 3. РОЛЬ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ В МЕТАБОЛИЗМЕ МАЛЫХ ЯДЕРНЫХ РНП СПЛАЙСИНГА	95
3.1. Малые ядерные РНК (snРНК) сплайсинга	95
3.2. Метаболизм snРНК и snРНП группы U2	102
3.2.1. Транскрипция и котранскрипционный процессинг	102
3.2.2. Посттранскрипционный процессинг	106
3.2.3. Экспорт из ядра	109
3.2.4. Цитоплазматические этапы процессинга snРНП. Импорт snРНП в ядро	112
3.2.5. Роль телец Кахала в метаболизме snРНП после импорта в ядро	116
3.3. Метаболизм snРНП группы U6	118
3.4. Сборка сплайсосомной субъединицы U4/U6 • U5 tri-snРНП. Участие телец Кахала в рециклировании snРНП	121
3.5. Биологическое значение телец Кахала в контексте метаболизма snРНП. . .	123

Глава 4. РОЛЬ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ В ПОСТТРАНСКРИПЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЯХ МАЛЫХ РНК. SnoРНК и scaРНК.	128
4.1. ScaРНК — компоненты телец Кахаля	130
4.1.1. Процессинг scaРНК	136
4.1.2. Факторы и сигналы локализации scaРНК в тельцах Кахаля	139
4.2. Тельца Кахаля и snoРНК	142
4.3. Sno/scaРНК	143
Глава 5. SMN	149
5.1. Тельца-близнецы (gems)	155
5.2. Молекулярные особенности белка SMN и его роль в формировании РНК-комплексов	157
5.3. Посттрансляционные модификации SMN	164
Глава 6. РОЛЬ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ В МЕТАБОЛИЗМЕ ТЕЛОМЕРАЗЫ	167
Глава 7. ТЕЛЬЦА ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ	178
7.1. История открытия телец гистоновых локусов	181
7.2. Общие представления о процессинге пре-мРНК гистонов. Молекулярные компоненты телец гистоновых локусов	183
Глава 8. «НЕКАНОНИЧЕСКИЕ» ТЕЛЬЦА КАХАЛЯ И ТЕЛЬЦА ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ	195
8.1. Коилинсодержащие ядерные органеллы ооцитов амфибий	196
8.1.1. Снёрпосома — исторический термин	197
8.1.2. Тельца гистоновых локусов ооцитов амфибий: эволюция понятий от «сфер» через тельца Кахаля к современным представлениям	198
8.1.3. Тельца-жемчужины	203
8.2. «Неканонические» коилинсодержащие тела в ооцитах рептилий и птиц	205
8.3. Коилинсодержащие ядерные органеллы ооцитов некоторых насекомых	207
8.3.1. «Внутренние тела» (Binnenkörper/endobodies)	207
8.3.2. Коилинсодержащие органеллы в специфических органеллах ооцитов — так называемых «добавочных ядрах»	213
8.3.3. Тельца Кахаля и тельца гистоновых локусов ооцитов дрозофилы.	215
8.4. Коилинсодержащие структуры в ранних эмбрионах и ооцитах млекопитающих	216
8.5. <i>Terra incognita</i> : ядерные тельца протистов	220
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	224
ЛИТЕРАТУРА	228
ГЛОССАРИЙ	274

ПРЕДИСЛОВИЕ

В этой книге речь пойдет в основном о тельцах Кахаль (ТК; Cajal bodies, CBs), обнаруженных более 120 лет тому назад нобелевским лауреатом Рамоном-и-Кахалем (Cajal, 1903) (рис. 1) и заново «открытых» Джозефом Голлом на рубеже XX и XXI веков (Gall et al., 1999; Gall, 2000, 2001, 2003), которому мы, собственно, обязаны их современным названием. Попутно будут упомянуты тельца гистоновых локусов (ТГЛ; histone locus bodies, HLBs), идентифицированные как отличные от ТК ядерные тельца лишь около 20 лет тому назад — также благодаря Голлу (Liu et al., 2006b). ТГЛ во многих отношениях родственны ТК. Например, по молекулярному составу их объединяет общий молекулярный компонент — белок коилин, который на протяжении десятилетий рассматривали в качестве специфического молекулярного маркера ТК.

После ядрышка ТК являются, пожалуй, одними из наиболее хорошо изученных экстрахромосомных структур интерхроматинового пространства ядра. Так, в ответ на запрос «Cajal body» в информационных базах данных можно найти более 2000 ссылок на первоисточники. Но еще совсем недавно их считали «загадочными» структурами с неизвестными функциями, о которых могли лишь косвенно судить на основании изучения их молекулярного состава.

Как и практически все другие ядерные тельца, ТК принадлежат к категории безмембранных органелл клетки, которые формируются в результате самосборки. Этот процесс сочетает два механизма, находящихся в диалектическом единстве противоположностей и подразумевающих, с одной стороны, спонтанность, не требующую затравочного скаффолда, когда любые компоненты могут инициировать начало формирования (нуклеацию) безмембранной органеллы, а с другой — целенаправленность, когда для

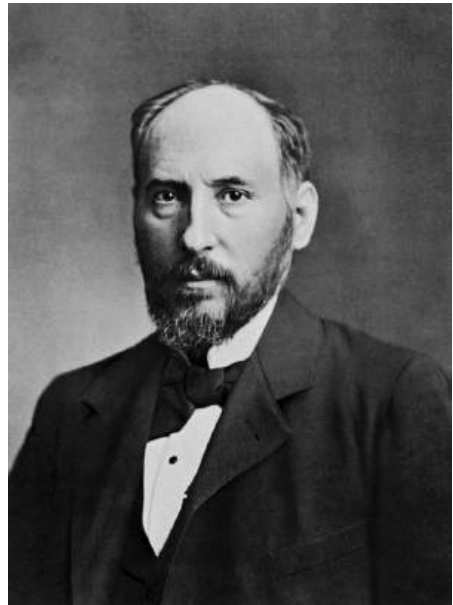


Рис. 1. Рамон-и-Кахаль. 1899 г.
Изображение воспроизводится
из свободного файлового
депозитория Commons
(<https://commons.wikimedia.org>)

ее формирования требуются специфические затравочные молекулы (seeding scaffold) — белки и/или РНК.

Основным молекулярно-биохимическим принципом формирования безмембранных органелл (биомолекулярных конденсатов), включая ТК, является разделение на фазы внутренне неупорядоченных белков в условиях макромолекулярного краудинга. Безмембранные органеллы служат примерами динамических, но вместе с тем структурно-стабильных (равновесно-устойчивых, steady state) образований со специфической внутренней средой, на формирование которой влияют каскады различных молекулярно-биохимических реакций.

С точки зрения физиологии клетки ТК представляют собой своеобразные «нанофабрики», или нанореакторы, повышающие эффективность и регулирующие протекание ядерных процессов, связанных с экспрессией соответствующих генов. ТК прямо или косвенно связаны с процессами транскрипции, сплайсинга пре-мРНК, процессингом/метаболизмом малых некодирующих РНК (sncРНК; small non-coding RNAs, sncRNAs; см. обзор: Fehlmann et al., 2019).

Главными sncРНК, о которых пойдет речь в этой книге, являются: малые ядерные РНК (snРНК; small nuclear RNAs, snRNAs); малые ядрышковые РНК (snoРНК; small nucleolar RNAs, snoRNAs); ТК-специфические РНК (scaРНК; small Cajal body-specific RNAs, scaRNAs), рассматриваемые как субкласс snoРНК. Кроме того, ТК так или иначе задействованы в продукции РНП разных типов — прежде всего snРНП-субъединиц сплайсосом; они участвуют в метаболизме теломеразной РНК (TR) и поддержании функций теломер (telomere maintenance). Как видим, ТК полифункциональны. Что касается ТГЛ, то единственная установленная на сегодня их функция связана с экспрессией зависимых от репликации генов гистонов и процессингом гистоновых пре-мРНК.

В отличие от цитоплазматических безмембранных органелл, местоположение которых в цитоплазме случайно, типичные ТК и ТГЛ обычно формируются в определенных участках ядра: ТК преимущественно в связи с активными генами snРНК, а ТГЛ — в ассоциации с локусами репликационно зависимых генов гистонов, экспрессирующихся в S-фазе клеточного цикла.

Тельца Кахаля — эволюционно консервативные структуры. Они встречаются в клетках растений, беспозвоночных и позвоночных животных. Однако, несмотря на свою универсальность, их можно найти не во всех типах клеток, и в некоторых случаях ТК не являются для клетки жизненно необходимыми ядерными органеллами. При их отсутствии (в физиологических или экспериментальных условиях) все соответствующие ядерные реакции осуществляются в нуклеоплазме — но с меньшей эффективностью.

Несмотря на несомненный прогресс в изучении ТК, достигнутый в последние годы, остается еще множество нерешенных вопросов, особенно в отношении их участия в становлении топологии хромосом и трехмерной организации клеточного ядра в целом. Тем не менее, по современным пред-

ставлениям, ТК являются заметными «регулирующими» работы генома, влияют на его конформацию в контексте трехмерной ядерной архитектоники и вносят существенный вклад в создание особой структурно-функциональной компартментализации клеточного ядра.

Поскольку многочисленные обзоры по рассматриваемой тематике ограничены форматом изданий, в которых они опубликованы, и в основном отражают успехи в изучении ТК конкретных лабораторий и научных центров, мы сочли необходимым обобщить большой объем информации об этих и родственных им ядерным структурам в одной сводке. Основной целью данной работы является представление известных на сегодняшний день сведений о структуре (ультраструктурной морфологии), молекулярном составе и функциях коилинсодержащих ядерных органелл, биологическом значении их формирования и влиянии на физиологию клетки. При этом я, как автор, не ставил перед собой задачи «объять необъятное». Ввиду неослабевающего интереса исследователей к безмембранным органеллам нет сомнения, что в период подготовки рукописи еще увидит свет множество новых важных работ, посвященных молекулярной биологии ТК, результаты которых в представленную монографию не войдут.

В **главе 1**, в некотором смысле выступающей в качестве расширенного введения, после краткого экскурса в историю открытия ТК приведены начальные (общие) сведения об их молекулярном составе и функциях. На примере ТК как типичном примере безмембранной ядерной органеллы дана краткая информация о принципах их формирования, роли в этом процессе разделения на фазы внутренне неупорядоченных белков и РНК, а также очерчены общие представления о путях сборки надмолекулярных комплексов. Специально рассмотрены терминологические аспекты, касающиеся компартментализации ядра, ядерных органелл, надмолекулярных комплексов (частиц) и т. д. — с оценкой актуальности наиболее употребительных терминов в данной области, поскольку научная терминология должна быть по возможности точной и однозначной.

Глава 2 посвящена молекулярным особенностям коилина — наиболее известного белка ТК. В частности в ней рассмотрены: роль коилина в качестве одного из главных структурных белков ТК, его шаперонная роль по отношению к различным интерактантам — белкам и snРНК, а также биологическое значение посттрансляционных модификаций его молекулы.

В **главе 3** обсуждается участие ТК в метаболизме сплайсосомных snРНК и snРНП. Специальный раздел этой главы посвящен общим представлениям о snРНК, участвующим в сплайсинге пре-мРНК, и сложном метаболическом цикле snРНП с указанием места и роли ТК на разных его этапах: посттранскрипционном процессинге пре-snРНК, экспорте snРНК в цитоплазму, реимпорте snРНП в ядро и сборке функциональной U4/U6 • U5 snРНП-субъединицы сплайсосомы. Отмечены главные отличия в метаболизме U6 snРНК от других snРНК сплайсинга.

В главе 4 представлены сведения о типах snoРНК, рассмотрена роль ТК в метаболизме snoРНК и в частности scaРНК — специфических РНК-гидах, осуществляющих в ТК 2'-O-метилование и псевдоуридинилирование специфических нуклеотидов в молекулах snРНК. Обсуждаются потенциальные сигналы и белки, ответственные за локализацию snoРНК и scaРНК в ТК.

Глава 5 посвящена обсуждению молекулярных особенностей полифункционального белка SMN (survival motor neuron protein) и роли SMN-комплексов в формировании РНК-частиц, прежде всего snРНК. Отдельный раздел этой главы содержит сведения о тельцах — близнецах ТК (gems), специфических ядерных органеллах, обогащенных SMN, которые не содержат коилина и в некоторых клетках существуют параллельно с SMN-негативными ТК.

В главе 6 рассмотрены современные представления о роли ТК в метаболизме теломеразной РНК — по сути, особой scaРНК, а также о роли ТК и некоторых ключевых белков, входящих в состав ТК, прежде всего белка TCAB1 (WDR79/WRAP53β), одна из функций которого состоит в шаперонировании холоэнзима теломеразы и в связывании теломеразы с теломерами.

Глава 7 посвящена ТГЛ, которые находятся с ТК в тесном функциональном, а иногда и структурном единстве. В начале главы кратко изложена история открытия ТГЛ как отличных от ТК ядерных структур. В специальном разделе рассмотрены особенности репликационно зависимого процессинга пре-мРНК гистонов, а также роль в этом специфическом процессе U7 snРНК и белков NPAT и FLASH — ключевых компонентов ТГЛ.

Наконец, в главе 8 рассмотрены особенности «неканонических» ТК и ТГЛ, присутствующих в некоторых специализированных клетках (например, в ооцитах), по сравнению с типичными, «классическими» ТК и ТГЛ соматических клеток млекопитающих. Особое внимание уделено ядерным органеллам ооцитов амфибий (*Xenopus*), исследования которых в начале 1990-х гг. послужили важным толчком к развитию современных представлений о коилинсодержащих ядерных органеллах эукариотической клетки.

В целом написание этой книги для меня было непростой задачей, поскольку хотелось найти некоторый компромисс между классической научной монографией и изложением, доступным для широкого круга читателей с университетским образованием, а также студентам и аспирантам. Приступая к работе, я постоянно думал о молодежи, привыкшей к четкой структурированности изложения той или иной проблемы в формате учебника. Взяв эту книгу в руки, они могут испытать некоторое разочарование, и те, кто не готов к самостоятельному комплексному анализу текста, могут сразу отложить книгу в сторону. В природе в целом и в клеточном ядре в частности все явления тесно взаимосвязаны друг с другом. Например, говоря о белках, обнаруживаемых в ТК, учитывая их полифункциональность, нельзя не обратиться к специфическим РНК, с которыми они взаимодействуют. Говоря об этих РНК, обязательно встает вопрос о белках... Из-за этого кни-

га изобилует перекрестными ссылками на разные ее подразделы, что добавляет «сумбурности» изложению; по этой же причине нередко текстовые повторы сказанного ранее — всё это я осознаю и заранее приношу свои извинения читателям, однако иного, более приемлемого формата изложения мне «придумать» не удалось.

При упоминании какого-нибудь белка или какой-нибудь РНК я, возможно разрушая нить повествования, старался отметить их функциональное значение в плане зависимых заболеваний/синдромов, давая по тексту необходимые, как мне кажется, определения и пояснения. Надеюсь, что эти дополнительные сведения в виде «лирических отступлений» пригодятся кому-нибудь из читателей.

По сравнению с предыдущей монографией, посвященной ядерным спеклам, или кластерам интерхроматиновых гранул (КИГ), как еще одном примере распространенных ядерных органелл (Боголюбов, 2018), новизной данной книги является очень краткий глоссарий, который содержит расшифровку, в том числе этимологию, основных терминов, русско- и англоязычных названий белков, РНК, понятий и явлений.

Как и в предыдущей монографии про интерхроматиновые гранулы, мною и теперь не было поставлено задачи всестороннего и исчерпывающего освещения всех аспектов, касающихся проблемы трехмерной организации клеточного ядра, регуляции структуры и активности генома, проблемы формирования безмембранных органелл. Основную цель я видел в создании сводки, справочника, чтобы читатель мог получить начальные представления о ТК и родственных им структурах как типичных безмембранных органеллах с указанием их места в системе функциональной компартментализации клеточного ядра. Более детальную информацию по конкретным вопросам всегда можно найти в оригинальных статьях и обзорах, на которые приведены соответствующие ссылки.

Я считаю долгом выразить глубокую благодарность всем сотрудникам Лаборатории морфологии клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН), которые работали в ней в разные годы и работают сейчас, за вклад в разработку идей о морфофункциональной компартментализации клеточного ядра. Написание этой книги было бы невозможным без доброжелательной и творческой научной атмосферы, которая всегда царила в нашей лаборатории. Исследования структур на границе хаоса, каковыми являются безмембранные органеллы, никогда не подразумевали хаоса в межличностных и деловых взаимоотношениях.

Ключевой темой в Лаборатории морфологии клетки ИНЦ РАН всегда оставались проблемы морфогенеза ядерных структур, особенно в гаметогенезе. Это направление было заложено основателем лаборатории профессором **Иваном Ивановичем Соколовым** (1885–1972), с которым, к сожалению, в силу возраста я не был знаком. На протяжении многих лет данное направление

развивалось благодаря стараниям учеников И. И. Соколова и моих учителей — профессора **Мирры Натановны Грузовой** (1932–1996), научного руководителя моей кандидатской диссертации, и члена-корреспондента РАН **Владимира Николаевича Парфёнова** (1945–2012), заведующего нашей лабораторией (1988–2012) и директора института (2004–2012). Под руководством Владимира Николаевича я проработал 20 лет — в бесценных для меня научных спорах и совместном научном поиске. Владимир Николаевич был научным консультантом моей докторской диссертации. В последние годы жизни В. Н. Парфенов особое внимание уделял полифункциональности ядерных органелл и всегда призывал «не быть рабом своих идей», смотреть на явления широко, во всем их многообразии, особенно когда рутинная электронная микроскопия, главный «козырь» лаборатории, перестала быть самостоятельным методом цитологических исследований.

С особой теплотой я вспоминаю кандидата биологических наук **Флорину Михайловну Баталову** (1951–2014), ученицу М. Н. Грузовой, прекрасного специалиста в области электронной микроскопии, обладавшую к тому же незаурядным художественным вкусом. Она считала, что научные результаты должны быть не только передовыми, но и эстетически красивыми. К сожалению, судьба распорядилась несправедливо: М. Н. Грузова, В. Н. Парфенов и Ф. М. Баталова ушли от нас рано, в самом расцвете творческих сил.

Я благодарен своим университетским учителям, прежде всего кандидату биологических наук **Наталии Сергеевне Габаевой** (1930–2021), доценту кафедры эмбриологии Ленинградского государственного университета, выпускником которой являюсь. Я был последним студентом Наталии Сергеевны, которая привила мне любовь к микроскопическим препаратам, красоте гистологических картин и на всю жизнь определила мою научную стезю как морфолога клетки. Надо сказать, что в 1986 г., когда я студентом пришел на кафедру, у меня всё начиналось с оогенеза, спермато- и спермиогенеза турбеллярий-лецитоэпителиат, эндемиков оз. Байкал, удивительный мир которых для нас с Наталией Сергеевной открыл тогда молодой сотрудник Лимнологического института СО РАН доктор биологических наук **Олег Анатольевич Тимошкин** — ученик известного зоолога профессора **Юрия Викторовича Мамкаева** (1933–2010), заведующего Лабораторией эволюционной морфологии Зоологического института РАН. Юрию Викторовичу и Олегу Анатольевичу я благодарен за формирование своего общебиологического мировоззрения.

Я также хочу поблагодарить кандидата биологических наук **Александра Геннадьевича Цветкова**, многие годы проработавшего в нашей лаборатории. После возвращения в институт после многолетней стажировки в США в лаборатории **Джозефа Голла** (Joseph G. Gall, 1928–2024; Department of Embryology, Carnegie Institution for Science, Baltimore, MD), который был поистине нашим «гуру» в области исследований ядерных структур в оогенезе и памяти которого посвящена эта книга, А. Г. Цветков привнес в исследования новые идеи, в том числе осмысление на молекулярном уровне событий и явлений, которые мы, морфологи, фиксировали с помощью микроскопии.

ческой техники. Прежде всего Александр Геннадьевич познакомил нас с особым миром ядерных телец ооцитов амфибий. В результате мы узнали, что на самом деле представляют собой ТК и родственные им структуры, насколько они многолики, насколько одна и та же ядерная органелла может отличаться по молекулярному составу и по морфологии в клетках разных типов. Кстати, А. Г. Цветков является соавтором ключевой статьи Голла (Gall et al., 1995), в которой впервые была проведена параллель между «сферами» ооцитов амфибий (теперь ТГЛ; см. главу 7), Binnenkörges ооцитов сверчка (см. разд. 8.3.1) и ТК соматических клеток млекопитающих.

Также я благодарю кандидата биологических наук **Галину Николаевну Почукалину**, ученицу В. Н. Парфенова, за доброжелательное отношение и неоценимый вклад в решение проблемы ядерных структур в оогенезе человека и мыши, многолетний труд, а также уже свою ученицу, кандидата биологических наук **Ирину Сергеевну Степанову**, которую в ходе цитоморфологических исследований коилинсодержащих ядерных органелл ооцитов сверчка я учил понемногу «чему-нибудь и как-нибудь», при этом у Ирины Сергеевны, как вдумчивого эмбриолога, мне всегда тоже было чему поучиться.

Особую благодарность я адресую своей ближайшей коллеге по работе (и супруге) доктору биологических наук **Ирине Олеговне Боголюбовой**, без всесторонней моральной поддержки которой, конструктивной критики и постоянного придания стимулирующего ускорения я бы не только не написал эту книгу, но и не состоялся бы как научный работник. Ирина Олеговна, в силу скромности отказавшись стать соавтором монографии, взяла на себя труд внимательно прочитать рукопись, помочь с написанием раздела «Заключение» и благодаря своему опыту работы в редколлегии журнала «Цитология» высказала множество ценных и полезных критических замечаний по тексту и компоновке рукописи, за что я ей безмерно благодарен.

Наконец, я выражаю глубокую благодарность администрации Института цитологии РАН в лице ее директора члена-корреспондента РАН **Алексея Николаевича Томилина** за то, что исторические традиции цитоморфологических исследований поддерживаются в институте и в нынешнее непростое время.

Отдельные исследования, в ходе выполнения которых получены результаты, частично представленные в данном научном труде, осуществлены при выполнении исследовательских проектов, в разные годы поддержанных Российским фондом фундаментальных исследований (№№ 97-04-48895, 00-04-49121, 03-04-49389, 04-04-48080, 11-04-01258, 15-04-01857), программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология и постгеномные технологии», Российским научным фондом (№ 22-24-00380). Частичное финансирование осуществлялось также за счет средств федерального бюджета по теме «Структурная и молекулярная организация клеток экологически, эволюционно и общественно значимых про- и эукариот» Института цитологии РАН (№ FMFU-2024-0012).

Д. С. Боголюбов

Глава 1

ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ЯДЕРНОЙ КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ, ТЕЛЬЦАХ КАХАЛЯ И ТЕЛЬЦАХ ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ

Ядро — главная органелла эукариотической клетки, особый компартмент, содержимое которого отграничено от цитоплазмы ядерной оболочкой, состоящей из двойной мембраны (внешней и внутренней) и мембраноассоциированных белков. Взаимодействие интегральных белков внутренней ядерной мембраны с ламинами, образующими структурную сеть промежуточных филаментов, подстилающую внутреннюю ядерную мембрану и связывающую поровые комплексы, играет решающую роль в поддержании структурной целостности клеточного ядра и влияет на многие ядерные функции. Внутренняя же часть ядра (нуклеоплазма) тоже не является слабо структурированным «ядерным соком», как считали на заре цитологических исследований. Она обладает сложной и динамичной архитектурой — за счет существования особой системы компартментализации, центральное место в которой занимают ядерные органеллы (ядерные тельца). В отличие от цитоплазматических органелл ядерные тельца не имеют мембраны, которая отделяла бы их от окружающего пространства (рис. 2). Существование безмембранных органелл (*membrane-less organelles*, MLOs), к которым относятся все ядерные тельца, является не менее важным способом клеточной компартментализации, чем существование «классических» органелл, имеющих мембрану.

В одном из обзоров (Sawyer, Dundr, 2018) приведено изящное и весьма наглядное объяснение биологического значения безмембранной компартментализации, которая является энергетически выгодной для клетки и ядра. Если представить себе, что ядро — строительная площадка, то логичным и эффективным будет присутствие расходных материалов и строителей в одном месте. В этом случае не надо необоснованно тратить энергию на доставку повсеместно и хаотично разбросанных материалов из пункта А в пункт Б.

Способствуя правильному и эффективному протеканию ключевых ядерных процессов, пространственно-временное поддержание динамичной системы компартментализации ядра имеет решающее значение для эффективной работы генома. По современным представлениям экспрессия генов контролируется функциональным взаимодействием между пространственной организацией генома, ядерной архитектурой и метаболическими потребностями клетки. При этом существует множество регуляторных циклов

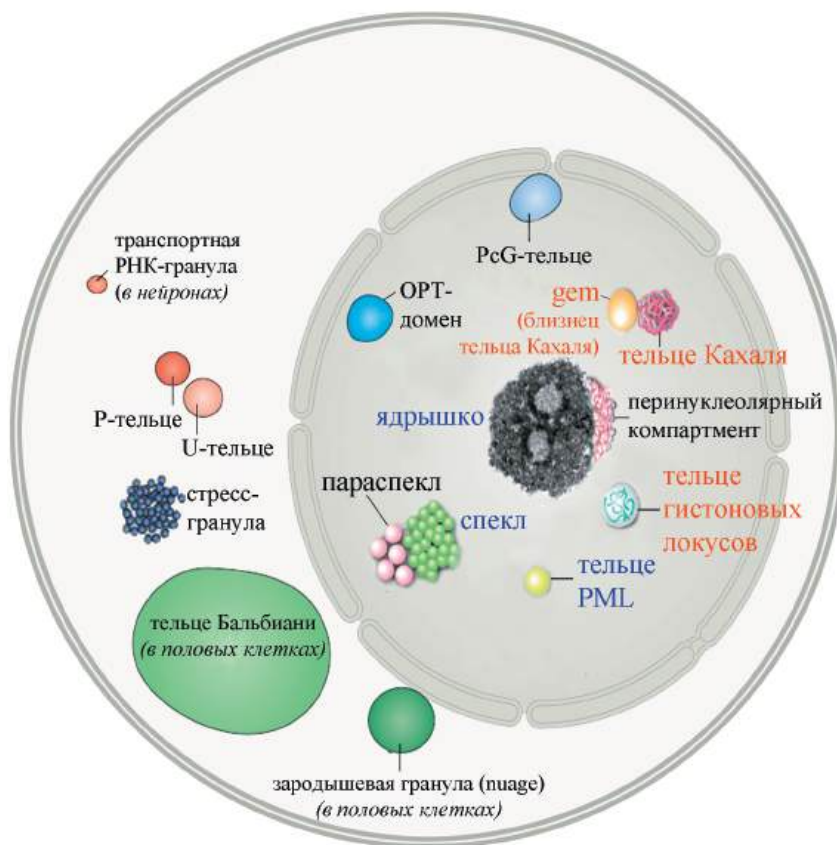


Рис. 2. Основные безмембранные органеллы эукариотической клетки
(по: Banani et al., 2017, с изменениями)

обратной связи и физиологических влияний, которые инициируют формирование специфических ядерных органелл и контролируют их функцию в ответ на различные геномные сигналы (Sawyer et al., 2017). Сам же геном, упакованный в трехмерном пространстве ядра, составляет структурно-функциональную основу для компартментализации внутриядерных процессов, морфологическим «выражением» которой являются экстрахромосомные ядерные тельца/органеллы (Разин, Гаврилов, 2015).

В настоящее время насчитывают примерно полтора десятка различных ядерных телец (Sawyer, Dundr, 2018), среди которых наиболее известными и распространенными являются ядрышки, ТК, ТГЛ, ядерные спеклы (кластеры интерхроматиновых гранул, КИГ), параспеклы, тельца PML, тельца Sam68, перинуклеоларный компартмент, ядерные стресс-тельца, Polyscomb-тельца и другие (табл. 1). По-видимому, полный список ядерных органелл составить невозможно.

Таблица 1

Некоторые репрезентативные ядерные органеллы (ядерные тельца)

Название		Ключевые компоненты ^{а)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{б)}	Источник
Русское	Английское				
Ядерные органеллы					
Ядрышко	Nucleolus	рДНК, РНК-полимераза I, snoРНК, факторы процессинга пре-РНК, рибосомные белки — всего более 1100 snoРНК и более 4500 различных белков	Универсальная ^{в)}	Транскрипция рибосомных генов, процессинг пре-рРНК, формирование рибосом; секвестрация регуляторных молекул, процессинг U6 snРНК	Olson et al., 2002; Raška et al., 2006; Hernandez-Verdun et al., 2010; анализ протеома: Andersen et al., 2002; Scherl et al., 2002; Couté et al., 2006; анализ «snoРНКома»: Jorjani et al., 2016
Перинуклеоларный компартмент	Perinucleolar compartment	PTV ¹ (hnРНК I), CUGBP ² , 7SL РНК ³ , AluРНК, транскрипты, синтезированные РНК-полимеразой III	Трансформированные клетки млекопитающих	Функция неизвестна; считают регулятором транскрипции, зависимой от РНК-полимеразы III, предполагают участие в метаболизме РНК, включая биогенез РНП, и рассматривают как участки хранения и деградации РНК	Huang, 2000; Pollock, Huang 2010; Makeyev, Huang, 2024
Атипичные ядрышки:	Atypical nucleoli:	Белки ядрышек	Ооциты, зиготы, бластомеры некоторых млекопитающих, включая человека	Центры организации гетерохроматина	Fulka et al., 2019
Ядрышкоподобное тело (ЯПТ), или постъядрышко ^{с)}	Nucleolus-like body (NLB)		Ооциты		
Предшественник ядрышка, или проядрышко ^{с)}	Nucleolus precursor body (NPB)		Зиготы и ранние эмбрионы		

¹ Белок, связывающий полипиримидиновый тракт пре-мРНК, фактор сплайсинга (polyurimidine tract-binding protein).

² РНК-связывающий белок (связывает триплет CUG), фактор деградациии мРНК.

³ Длинная некодирующая (lnc) РНК, входящая в состав «частицы распознавания сигнала» (signal recognition particle, SRP), участвующей в котрансляционном транспорте белков.

Продолжение табл.1

Название		Ключевые компоненты ^{a)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{b)}	Источник
Русское	Английское				
Тельце Кахаля (ТК)	Cajal body (CB)	коилин, SMN, WDR40, некоторые белки ядрышек, scaRNP, snoRNP, snRNP	Универсальная ^{b)}	Посттранскрипционные модификации snRNP, сборка snRNP-субъединиц сплайсосом	Gall, 2000, 2003; Nizami et al., 2010; Ходюченко, Красикова, 2014; Sawyer et al., 2016b
Тельце — близнец ТК ^{c)}	gem (мн. ч. Gems или Gemini)	SMN, но не содержит коилина	Некоторые клетки млекопитающих	Метаболизм (биогенез) snRNP, в некоторых типах клеток совпадают с ТК	Liu, Dreyfuss, 1996; Matera, Frey, 1998
Тельце гистонового локуса (ТГЛ)	Histone locus body (HLB)	U7 snRNP, NPAT, FLASH, симплектин	Универсальная ^{b)}	Процессинг 3'-конца пре-mRNP гистонов	Liu et al., 2006b; Nizami et al., 2010b; Ходюченко, Красикова, 2014; Duronio, Marzluff, 2017
Неканонические тельца Кахаля:					
ТК ⁴ (до 2010 г.), ТГЛ (наст. вр.)	CB, HLB (прежде иногда CB/HLB)	коилин; U7 snRNP	Ооциты амфибий	Возможно, совмещает функции ТК и ТГЛ	Gall et al., 2004; Nizami et al., 2010b
Тельце-жемчужина ^{c)}	Pearl	коилин, scaRNP (не содержит snRNP)	Ооциты <i>Xenopus</i>	Транскрипция, зависящая от РНК-полимеразы III; возможно, выполняет некоторые функции ТК, определяемые специфичной молекулярного состава	Nizami, Gall, 2012
Неканоническое ТК	Non-canonical CB	коилин	Ооциты птиц	Возможно, выполняет некоторые функции ТК, определяемые специфичной молекулярного состава	Khodyuchenko et al., 2012; Galkina et al., 2025

⁴ Прежнее название «сфера», или сферическая органелла (Callan, Lloyd, 1960; Callan, 1986; Gall et al., 1995); см. разд. 8.1.

Продолжение табл. 1

Название		Ключевые компоненты ^{а)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{б)}	Источник
Русское	Английское				
Ядрышковое тельце ⁵	Nucleolar body	Некоторые компоненты ТК, например TGS1 ⁶	Дрожжи	Функциональные аналоги ТК; существуют в отсутствующих у дрожжей типичных ТК, а также экспрессии коилина и SMN	Potashkin et al., 1990
Внутреннее тельце ⁷⁾	Binnenkörper, endobody	коилин, snRNP	Ооциты некоторых насекомых	Выполняет функции ТК (в ооцитах <i>Drosophila</i>); в ооцитах других организмов функции неизвестны — возможно, сочетают функции ТК и ТГЛ	Bier et al., 1967; Liu et al., 2006a; Stepanova et al., 2007
Мини-ТК	Mini-SB	Компоненты ТГЛ	Ооциты <i>Xenopus</i> после теплового шока	Функции неизвестны; формируются на периферии КИГ в период восстановления после теплового шока	Handwerker et al., 2002
Тельце холодового шока, С-тельце	Cold body (C-body)	RPB6	Ооциты <i>Xenopus</i> ; формируются в ответ на холодовой шок на хромосомах — ламповых щетках в местах расположения 5S рДНК	Функции неизвестны	Liu, Gall, 2021
Ядерный спектр или кластер интерхроматиновых гранул (КИГ)	Nuclear speckle, interchromatin granule cluster (IGC)	SR-белки; Malat1 (NEAT2 ⁷) lncРНК	Универсальная ^{в)}	Временное депонирование факторов сплайсинга пре-мРНК	Боголюбов, 2018
А-снёрпосома ^{в)}	A snurposome	U1 snРНК	Ооциты тритона <i>Notophthalmus viridescens</i>	Функции неизвестны	Wu et al., 1991

⁵ Не путать с ядрышкоподобными телами.⁶ Метилтрансфераза/триметилгуанозинсинтаза.⁷ Nuclear-enriched abundant transcript.

Продолжение табл.1

Название		Ключевые компоненты ^{a)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{б)}	Источник
Русское	Английское				
Б-снёрпосома ^{в)}	B snurposome	Компоненты спеклов (КИГ)	Ооциты амфибий	Временное депонирование факторов сплайсинга пре-мРНК, ортолог ядерных спеклов (КИГ) соматических клеток.	Wu et al., 1991
Параспекл	Paraspeckle	PSP1, p54 ^{nb} , PSF; NEAT1 (Men ε/β) lncРНК	Клетки млекопитающих	Секвестрация РНК-связывающих белков и ядерной CTN-РНК; часто физически ассоциированы со спеклами	Ingram, Fox, 2024
Омега-спекл	ω-speckle	Hnr36 ⁸	Клетки <i>Drosophila</i>	Депонирование белков hnРНК	Singh, Lakhotia, 2012
Тельце PML	PML nuclear body (PML–NB)	PML ⁹ (главный маркер), SP100 ¹⁰ , SUMO ¹¹ , DAXX ¹² и др.	Клетки млекопитающих	Регуляция стабильности генома, транскрипции, репликации и репарации ДНК, клеточного ответа на окислительный стресс, старение и вирусную инфекцию посредством SUMO-илирования белков.	Lallemant-Breitenbach, de Thé, 2010
Тельце PML, участвующее в процессе альтернативного удлинения теломер ^{г)}	ALT ¹³ -associated PML body (APB)	Компоненты PML-телец, ДНК теломер (маркер), белки, связанные с теломерными повторами (TRF1 и TRF2 ¹⁴ , POT1 ¹⁵ , RAP1 ¹⁶).	Клетки млекопитающих	Альтернативное (без участия теломеразы) удлинение теломер	Chung et al., 2012; Zhang et al., 2021

⁸ Гомолог hnРНК A.
⁹ Promyelocytic leukaemia.
¹⁰ Цитокин и ростовой фактор.
¹¹ Малый убиквитин-подобный модификатор (small ubiquitin-like modifier).
¹² Death-associated protein 6, специфический шаперон гистона H3.3.
¹³ Alternative telomere lengthening.
¹⁴ Теломерсвязывающие факторы 1 и 2 (telomere repeat-binding factors 1/2).
¹⁵ Protection of telomeres protein.
¹⁶ ДНК-связывающий белок, Ras-related protein.

Продолжение табл. 1

Название		Ключевые компоненты ^{а)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{б)}	Источник
Русское	Английское				
Тельце Маринеско	Marinesco body	PML, GAPDH	Пигментированные нейроны <i>substantia nigra</i> головного мозга приматов	Нейропатологические процессы	Abbott et al., 2017
Тельце 53BP1 ¹⁷	53BP1 nuclear body	53BP1 ¹⁸ (маркер), фосфо-ATM, γH2AX, белки комплекса MRN, MDC1 ¹⁹ , RNF8 и RNF168 ²⁰	Некоторые клетки млекопитающих; ассоциированы с PML-тельцами, формируются в ответ на нарушения репликации ДНК	Репликация/репарация ДНК, защита ДНК от действия нуклеаз	Fernandez-Vidal et al., 2017
Домены (foci), индуцированные дисфункцией теломер; сегменты ДНК с изменениями хроматина, усиливаемыми старением, локализованные на теломерах ¹⁾	Telomere dysfunction-induced foci (TIFs); DNA segments with chromatin alterations reinforcing senescence (DNA-SCARS)	53BP1, ATM, γH2AX, MDC1, MRE11 и NBS1 ²¹ , но не содержат RPA ²² и RAD51	Некоторые клетки млекопитающих; ассоциированы с тельцами PML, формируются в ответ на репликативное старение и укорочение теломер	Функции неизвестны, родственны 53BP1-тельцам	Takai et al., 2003; Rodier et al., 2011

¹⁷ Прежнее название — OPT-домен (Oct1/PTF/transcription domain — Pombo et al., 1988).
¹⁸ p53-связывающий белок.

¹⁹ Mediator of DNA damage checkpoint protein.

²⁰ RNF8 и RNF168 — убиквитинлигазы (E3 ubiquitin-protein ligases, RING-type E3 ubiquitin transferases).

²¹ Белки комплекса MRN. Белок NBS1 также известен как нембрин, его функции связаны с репарацией двойных разрывов ДНК.

²² Replication protein A — белок, связывающий двухцепочечную ДНК.

Продолжение табл. 1

Название		Ключевые компоненты ^{а)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{б)}	Источник
Русское	Английское				
Тельце TET1	TET1–NB	TET1 ²³	Клетки колоректального рака (HCT116, Saco-2, HT-29)	Функции неизвестны; вероятно, специфический подтип ТК, поскольку 73% совпадает с ТК, но не колокализуются с тельцами PML	El Osmani et al., 2024
Тельце SUMO	SUMO body (SNB) ^{д)}	SUMO-1	Некоторые клетки млекопитающих	Депонирование транскрипционных факторов	Navascués et al., 2007
PcG-тельце	Polycomb (PcG) body	PRC1, PRC2 ²⁴	Клетки <i>Drosophila</i> и человека	Сайленсинг генов, катализ добавления H3K27me3 — маркера репрессированного хроматина	Pirrota, Li, 2012
Инсуляторное тельце	Insulator body	CTCF, CP190	Клетки <i>Drosophila</i>	Депонируют инсуляторные белки (репрессоры транскрипции) и их кофакторы, но не участвуют в инсуляторных функциях	Golovnin et al., 2008
Тельце Sam68	Sam68 nuclear body (SNB) ^{ж)}	Sam68	Некоторые трансформированные или малодифференцированные клетки млекопитающих	Аккумулирует белки семейства STAR, а также субъединицы CstF и CPSF	Chen et al., 1999; Huang, 2000; Carmo-Fonseca et al., 2010

²³ Ten-eleven translocation protein 1 — эпигенетический регулятор, инициирующий деметилирование ДНК (удаление 5-метилцитозина, 5mC) в результате серии окислительных реакций, что вызывает эпигенетический дисбаланс экспрессии генов, приводящий, в частности, к развитию колоректального рака.

²⁴ Polycomb repressive complexes 1 и 2: PRC2 катализирует триметилирование гистона H3 по остатку лизина 27, PRC1 связывает H3K27me3 и поддерживает репрессированное состояние хроматина.

Продолжение табл. 1

Название		Ключевые компоненты ^{a)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{b)}	Источник
Русское	Английское				
Ядерное стресс-тельце	Nuclear stress-body ²⁵	HSP1 ²⁶ (маркер), РНК-связывающие белки (hnRNP M, hnRNP HAP), Sam68 ²⁷	Клетки приматов; формируются в ответ на стресс, включая тепловой шок	Секвестрация РНК-связывающих белков; связаны с повторами сателлита III хромосомы 9q12 человека и другими перичентромерными участками	Biamonti, Vourc'h, 2010
Тельце расщепления ¹⁾	Cleavage body	CstF64, CPSF100, DDX1	Некоторые клетки млекопитающих	Процессинг 3'-конца пре-мРНК; возможно, частично совпадают с ТГЛ	Schul et al., 1996; Carmo-Fonseca et al., 2010
Конденсаты РНК-полимеразы II ¹⁾	Polymerase condensates (PCs)	РНК-полимераза II	Клетки млекопитающих, включая эмбриональные стволовые клетки мыши, клетки рака толстой кишки человека линии HCT116	Депонирование активной РНК-полимеразы II в местах транскрипции. Формируясь в местах транскрипции гистоновых генов, ассоциированы с ТК и/или с ТГЛ. Формируясь в области активно транскрибируемых генов, рекрутируют компоненты спеклов (факторы сплайсинга) и служат переключателями между транскрипцией и сплайсингом	Cho et al., 2018; Guo et al., 2019; Imada et al., 2021

²⁵ Не путать с цитоплазматическими стресс-тельцами, или стресс-гранулами (Wang et al., 2021).

²⁶ Heat shock factor.

²⁷ В тельцах Sam68 функции этого белка, по-видимому, отличаются.

Окончание табл. 1

Название		Ключевые компоненты ^{а)}	Универсальность / тип клеток	Базовая функция ^{б)}	Источник
Русское	Английское				
Кластосома	Clastosome	19S-, 20S-субъединицы протеасом	Некоторые клетки млекопитающих	Аккумуляция каталитически активных (20S) и регуляторных (19S) субъединиц 26S-протеасом, конъюгатов убиквитина, белковых субстратов протеасом	Lafarga et al., 2002; Carmo-Fonseca et al., 2010
Dicing-тельце	Dicing-body	Argonaute 4, DCL1, HYL1, SE	Клетки растений	Процессинг микро-РНК	Pontes, Pikaard, 2008
Гломерулосома	Glomerulosome	Молекулярный состав неизвестен	Некоторые протисты	Характеризуются уникальной морфологией, но функции неизвестны	Bogolyubov et al., 2022

^{а)} Упомянуты только некоторые репрезентативные компоненты, поскольку любая ядерная органелла содержит несколько десятков (если не сотен) различных белков и РНК. В отсутствие ограничивающей мембраны и свободной диффузии какие-либо «диагностические» маркеры конкретной органеллы определить трудно — лишь по увеличенной локальной концентрации; могут содержать компоненты других органелл, от которых отличаются локализацией, морфологическими или иными характерными признаками, а также молекулярным составом.

^{б)} Многие ядерные органеллы полифункциональны, указаны лишь основные (канонические) функции.

^{в)} Универсальная органелла не обязательно присутствует во всех клетках.

^{г)} Устоявшееся русскоязычное название отсутствует.

^{д)} Снёрпосома — исторический термин, который в настоящее время не используется.

^{е)} Однозначно являются КИГ (Gall et al., 2004), и только этот термин (спеклы/КИГ) следует использовать применительно к данным структурам.

^{ж)} Во избежание путаницы следует указать, что, к сожалению, в оригинальных источниках встречается одинаковая аббревиатура (SNB) для обозначения разных структур.

Некоторые ядерные тельца не являются универсальными, а представляют собой ядерные макромолекулярные агрегаты (конденсаты), появление которых связано с патологическими состояниями, вирусной инфекцией, нейродегенеративными и некоторыми иными заболеваниями. При многих из них изменяется также состояние (количество, морфология, молекулярный состав и т. д.) «канонических» ядерных телец — ядрышка, ТК, близнецов ТК (gems²⁸), ТГЛ, ядерных спеклов и параспеклов (Morimoto, Boerkoel, 2013; Giudice, Jiang, 2024). Например, разрушение ядрышек и ассоциированных с ними ТК служит характерным отражением нейродегенерации, вызванной повреждением ДНК в клетках Пуркинье (Baltanás et al., 2011).

На основании того, зависит ли формирование ядерных органелл (телец) напрямую от активности определенных генов или нет, все они могут быть отнесены к одной из двух формальных категорий безмембранных органелл — зависимых и не зависимых от экспрессии генов (Dundr, Misteli, 2010). Наряду с ядрышком ТК и ТГЛ представляют типичный пример ядерных органелл, формирование которых непосредственно связано с экспрессией конкретных генов. Формирование и структурную стабильность таких органелл обеспечивает продолжающийся биосинтез специфических РНК и их процессинг — как событие, непосредственно связанное с транскрипцией. Наоборот, низкий уровень локальной концентрации транскриптов препятствует формированию ядерных органелл соответствующего типа, а также не способствует поддержанию их целостности, что опосредуется временными нековалентными взаимодействиями между разными белками, а также между белками и РНК (Banani et al., 2016).

1.1. КОМПАРТМЕНТЫ, ДОМЕНЫ, ТЕЛЬЦА, ОРГАНЕЛЛЫ... ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКИЕ КОММЕНТАРИИ

Понятие компартментализации является одним из ключевых в современной клеточной биологии, поскольку от сегрегации молекулярных процессов в пространстве и времени зависят все формы жизни. Слово «компартмент» (англ. compartment) многие словари переводят как «отсек», что подразумевает некую изоляцию его содержимого от окружающего пространства²⁹. Однако следует понимать, что ядерные компартменты в отличие от мембранных *компартментов* цитоплазмы не имеют ограничивающих мембран и потому физически не являются «отсеками» в полном смысле этого слова.

К понятию «компартмент» довольно близко понятие «домен» (фр. domaine³⁰ — область, зона). По смыслу, ядерный домен — специфическая об-

²⁸ От англ. Gemini — близнецы; об этих тельцах подробнее см. главу 5.

²⁹ Отсек, -а; м. 1. Изолированное или отделенное от других помещение (Большой толковый словарь русского языка / сост. и гл. ред. С. А. Кузнецов; РАН, Ин-т лингвист. исслед.).

³⁰ В Средние века так называли владения короля или феодала.

ласть ядра, которая отличается своими свойствами (структурными, физико-химическими) от смежных областей нуклеоплазмы. Термин «ядерный домен» был введен в научный лексикон на рубеже XX–XXI вв. (Spector, 2001) и широко использовался на протяжении многих лет. В современной биологии понятие «домен» имеет несколько значений. Так, в молекулярной и структурной биологии этим термином обозначают определенный участок молекулы, например белка, который представляет собой достаточно стабильную и независимую субструктуру, обладающую специфическими функциями (ср. Tudor-домен, RS-домен, домен «цинкового пальца» и т. п.). Кроме того, в молекулярной биологии клеточного ядра термин «домен» в настоящее время утвердился для обозначения специфических областей хроматина в контексте его трехмерной архитектуры высшего (high-order) порядка. Например, известны топологически ассоциированные домены (topologically associated domains, TADs) (Kantidze, Razin, 2020; Cavaliheiro et al., 2021; Eres, Gilad, 2021; Shim, 2021), домены, ассоциированные с ламинной (lamina-associated domains, LADs) или с ядрышком (nucleolus-associated domains, NADs) (Bizhanova, Kaufman, 2020; Alagna et al., 2023) и т. д. Таким образом, во избежание путаницы и ввиду многозначности понятия «домен» от его использования в значении «ядерная органелла», на наш взгляд, следует отказаться.

Главными элементами ядерной компартментализации являются: 1) хроматиновый компартмент, представленный хромосомными территориями (chromosome territories, CTs), которые разграничивают хромосомы в интерфазном ядре (Cremer, Cremer, 2010; Liu et al., 2020); 2) интерхроматиновое (межхроматиновое) пространство, или интерхроматиновый компартмент (interchromatin space/compartiment, IC), простирающийся между хромосомными территориями (Cremer et al., 2020). Согласно наиболее распространенному представлению о пространственно-функциональных взаимоотношениях между хромосомными территориями и интерхроматиновым пространством (chromosome territory — interchromatin compartment, CT–IC) интерхроматиновое пространство представлено каналами или лакунами, не ограниченными мембранами. Начинаясь от ядерных пор, они простираются между компактными хроматиновыми доменами высшего порядка, проникая во внешние и внутренние части хромосомных территорий. Наиболее широкие лакуны интерхроматинового пространства, которые в соматических клетках достигают 400 нм, практически не содержат ДНК (Albiez et al., 2006).

Модель CT–IC получила экспериментальное подтверждение, в том числе с использованием флуоресцентной микроскопии высокого разрешения, электронной микроскопии и молекулярных методов. В результате сформулирована концепция 4D-нуклеома — динамического ядерного ландшафта, включающего активные и неактивные хромосомные и экстрахромосомные ядерные компартменты (Cremer et al., 2018). Согласно этой концепции хромосомные территории построены из кластеров хроматиновых доменов.

Компактная сердцевина хромосомной территории представляет *неактивный* ядерный компартмент (inactive nuclear compartment, INC), обогащенный

эпигенетическими гистоновыми маркерами репрессированного хроматина. Периферическая часть хромосомной территории, или так называемый перихроматиновый компартмент (perichromatin region, PR), фактически представляет специализированную пограничную с INC зону интерхроматинового пространства, обогащенную маркерами транскрипционно компетентного хроматина (Боголюбов, 2014; Masiello et al. 2018). С перихроматиновым компартментом связаны процессы репликации и репарации ДНК, транскрипции, а также сплайсинга пре-мРНК, который в основном осуществляется котранскрипционно. Вместе с интерхроматиновым компартментом транскрипционно компетентный хроматин образует *активный* компартмент клеточного ядра (active nuclear compartment, ANC). Данная модель ANC—INC подразумевает разную доступность транскрипционных факторов к мишеням, расположенным в активных и неактивных ядерных компартментах (Cremer, Cremer, 2019). В последние годы она встречает всё больше экспериментальных подтверждений.

Основными морфологическими единицами перихроматинового компартмента являются перихроматиновые фибриллы и перихроматиновые гранулы. Вкратце, перихроматиновые фибриллы представляют собой новосинтезированные пре-мРНК в комплексе с сопутствующими белками и факторами процессинга, предстающие в виде фибриллярных структур при исследовании ультратонких срезов под электронным микроскопом (ср. *in situ form of nascent transcripts* — Fakan, 1994). Перихроматиновые гранулы (Daskal, 1981; Puvion, Puvion-Dutilleul, 1996), как считают, формируются в результате сворачивания перихроматиновых фибрилл, что отражает более высокий уровень их упаковки, обеспечивающий временное хранение и/или ядерный транспорт мРНК в форме гетерогенных ядерных РНП (hnРНП; heterogeneous nuclear RNPs, hnRNPs), которые представляют собой совокупность пре-мРНК на разных этапах процессинга (сплайсинга) в комплексе со специфическими белками (core proteins).

На уровне морфологической организации клетки в IC-пространстве клеточного ядра помимо ядрышек, являющихся частью хромосомно-ядрышкового аппарата, идентифицируют разнообразные экстрахромосомные структуры, которые можно наблюдать с помощью световой (флуоресцентной) и особенно электронной микроскопии.

Именно благодаря ультраструктурным исследованиям в 1960-е гг. и был предложен термин «ядерные тельца» (de Thé et al., 1960). Его используют «в широком смысле», пока то или иное «тельце» не будет отнесено к конкретному типу ядерных органелл (Brash, Ochs, 1992) — *тельцам* Кахаля, *тельцам* гистоновых локусов, *тельцам* PML, *тельцам* Sam68, ядерным стресс-*тельцам* и др. Иногда в литературе можно встретить синонимичное словосочетание «ядерные включения» (nuclear inclusions). Однако более широко распространен именно термин «ядерные тельца» (nuclear bodies, NBs), а словосочетание «ядерные включения» обычно используют в медицинской диагностике. В качестве примера можно упомянуть орфанное заболевание NIID (neuronal intranuclear inclusion disease) (Bao et al., 2023).

Следует подчеркнуть, что для некоторых ядерных «телец», описанных на уровне флуоресцентной микроскопии, не показана их ультраструктурная составляющая. Поэтому (с позиций морфолога) не вполне оправдано называть их тельцами в полном смысле этого слова. В качестве примера можно привести Polysomb-*тельца* (PcG-bodies), которые связаны с гетерохроматином и содержат белки-репрессоры, подавляющие экспрессию генов (Pirrotta, Li, 2012). С помощью коррелятивной микроскопии, основанной на анализе одного и того же объекта — сначала с помощью иммунофлуоресцентной, а затем с помощью электронной микроскопии, — «тельца» как таковые³¹ в этом случае выявить не удалось. Хотя, например, PcG-белок BMI1 демонстрировал высокую локальную концентрацию в определенных участках гетерохроматина, которые и должны были, по сути, соответствовать PcG-тельцам (Šmigová et al., 2011).

Наконец, сравнительно недавно наряду с относительно крупными ядерными тельцами были обнаружены субмикроскопические включения, связанные с транскрипцией (Sharp et al., 2022). Они настолько малы, что не могут быть определены как «тельца» или «органеллы», хотя в основе их формирования лежат те же принципы фазового разделения (разд. 1.2). Авторы даже предложили понятие «*микроскопические конденсаты*» *versus* «*макроскопические безмембранные органеллы*», однако понятно, что последние тоже нельзя увидеть кроме как с помощью *микроскопической* техники. Поэтому данное терминологическое предложение, на наш взгляд, неприемлемо.

Иногда в литературе наряду со словом «тельце» можно встретить слово «гранула», особенно если речь идет о наблюдениях, выполненных с помощью световой (флуоресцентной) микроскопии, какой-либо структуры, форма которой близка к сферической. Однако термины «тельце» и «гранула» далеко не всегда синонимичны. Опять же с точки зрения морфолога, использующего в работе электронную микроскопию, *гранулы* (РНП-частицы, макромолекулярные ансамбли) представляют собой минимальные структурные единицы *нанометрового* размера, из которых в свою очередь состоят более крупные образования — ядерные *тельца*, размер которых лежит в *микрометровой* области. По определению, размер ядерных телец превышает 0.1–0.2 мкм, а в исключительных случаях достигает десятков микрометров. В то же время размер, например, типичной интерхроматиновой *гранулы* составляет 20–30 нм.

Другим примером *гранул* являются прорибосомные частицы (размер рибосомы составляет примерно 15–20 нм), формирующие *гранулярный* компонент ядрышка; при этом размер ядрышка (тельца, органеллы) варьируется в широком диапазоне — от 0.5 до > 7 мкм. Вместе с тем до сих пор существует множество примеров, когда термин «гранула» исторически применяют к значительно более крупным, обычно цитоплазматическим, образованиям. Например, гранулами традиционно называют как мембранные

³¹ Согласно толковым словарям, тельце (*биол.*) — небольшое образование в составе какой-л. ткани.

(гранула желтка, секреторная гранула), так и безмембранные структуры (зародышевая гранула, Р-гранула). Кстати, довольно часто подобного рода «гранулы» при исследовании под электронным микроскопом обнаруживают не гранулярное, а фибриллярное строение.

В течение последних 15–20 лет широкое распространение получил термин «ядерная органелла» (nuclear organelle) как синоним «ядерного тельца», однако до сих пор у ряда опытных морфологов клетки он вызывает определенный скепсис. Многие цитологи (особенно преподаватели в учебных курсах) под органеллами до сих пор часто подразумевают лишь «классические» мембранные клеточные компартменты: само ядро, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, митохондрии, лизосомы, другие везикулярные структуры и т. п.

Чтобы подчеркнуть природу безмембранных органелл с позиций физикохимии, предложен термин «биомолекулярные конденсаты» (biomolecular condensates, BioMCs — Banani et al., 2017; см. также обзор: Gorsheneva et al., 2024). На сегодняшний день понятия «безмембранная органелла» (в случае ядра — ядерная органелла) и «биомакромолекулярный конденсат», на наш взгляд, представляются наиболее удачными. Они хорошо приложимы к концепции параллельного существования в клетке двух типов компартментализации ядра и цитоплазмы — безмембранной и мембранной.

Отметим, что в русскоязычной литературе вместо термина «безмембранная органелла» нередко оперируют понятием «немембранная органелла». Это почти равноценные синонимы. Однако использование прилагательного «безмембранный» в значении «не имеющий мембраны» представляется более точным, тогда как слово «немембранный» лучше характеризует что-либо, само по себе не являющееся мембраной³² — например, ядерную ламину (Shevelyov, Ulianov, 2019; Karoutas, Akhtar, 2021) или немембранные тяжи в составе капсулы кариосферы, специфического ядерного компартмента ооцитов некоторых животных (Bogolyubov, 2018).

1.2. БЕЗМЕМБРАННЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ³³

Параллельное существование мембранных и безмембранных органелл как два способа компартментализации представляется выгодным для эукариотической клетки во всех отношениях и не противоречит закономерностям молекулярной физиологии (Aguilera-Gomez, Rabouille, 2017). Для существования безмембранной органеллы не требуется построения липид-

³² Эти сентенции следует рассматривать исключительно как дискуссионные, с ними можно спорить, поскольку семантические свойства участвующей в образовании имен прилагательных приставки «не-» подразумевают в том числе «отсутствие чего-либо».

³³ В разделе частично использованы материалы, опубликованные в обзоре автора (Боголюбов, 2019).

ного бислоя и использования энергозатратных механизмов транспорта молекул через него. По сравнению с мембранными состав безмембранных органелл может регулироваться более гибким образом, поскольку для этого не нужны специализированные молекулы и сигналы, обеспечивающие импорт и экспорт. Однако стабильность безмембранных органелл не может поддерживаться долго, поскольку их микроокружение постоянно изменяется благодаря различным флуктуациям, экспрессии генов и постоянному обмену молекулами с окружающим ее пространством. Поскольку малым молекулам, таким как ионы, трудно удерживаться внутри безмембранных органелл, не может стабильно поддерживаться, например, pH их внутренней среды.

Формирование сложной системы безмембранной компартментализации ядра и клетки, динамические свойства ядерных и цитоплазматических безмембранных органелл подчиняются общим принципам физики конденсированного состояния и химии полимеров, а также законам термодинамики. По этому поводу опубликовано множество статей; для получения углубленных сведений можно порекомендовать некоторые избранные обзоры, опубликованные в течение последних 10 лет (Courchaine et al., 2016; Banani et al., 2017; Stroberg, Schnell, 2017; Drino, Shaefer, 2018; Wheeler, Hyman, 2018; Gomes, Shorter, 2019; Falahati, Haji-Akbari, 2019; Sawyer et al., 2019; Sehgal et al., 2020; Villegas et al., 2022; Dai et al., 2024; Zhou et al., 2024 и др.³⁴).

Современные данные противоречат представлениям о жесткой организации безмембранных элементов клетки и свидетельствуют о постоянной подвижности и смене состояний биологических систем. В последние годы активно разрабатывается концепция высокодинамичной биологической «мягкой материи» (soft matter), обладающей уникальными способностями к самосборке в надмолекулярные структуры (Fonin et al., 2022). Свойства «мягкой материи» определяются границей хаоса — переходной областью, для которой характерна нестабильность и постоянное динамическое взаимодействие между упорядоченностью и случайностью. Считают, что «мягкая материя» представляет собой критическую основу жизни, определяющую ее сложность и эволюцию на границе хаоса (Turoverov et al., 2019).

Физико-химические свойства любой безмембранной органеллы не могут быть описаны простым суммированием характеристик ее отдельных молекулярных компонентов, которые взаимодействуют друг с другом нелинейно и неаддитивно, демонстрируя выраженный синергетический эффект. Такие новые (эмерджентные) состояния, которые невозможно предсказать исходя из свойств отдельных компонентов системы, определяют свойства безмембранных органелл как элементов «мягкой материи», способных

³⁴ Здесь и далее: в подобных случаях цитирования привести исчерпывающие ссылки не представляется возможным, поскольку на соответствующие запросы, касающиеся безмембранной компартментализации, поисковые интернет-системы выдают сотни ссылок, что само по себе требует аналитических исследований.

к самосборке (самоорганизации) и отличающихся по свойствам от окружающего пространства, в котором отдельные компоненты находятся вперемешку (Sawyer et al., 2019; Turoverov et al., 2019; Fonin et al., 2022).

Клетка характеризуется высокой концентрацией полимерных биомолекул. Например, концентрация белков в клетке составляет в среднем 30 мг/мл, а РНК — от 20 до 100 мг/мл (Drino, Shaefer, 2018). Различные биополимеры (ДНК, РНК и белки), обладающие разными физико-химическими свойствами, способны формировать гигантское разнообразие надмолекулярных комплексов (ансамблей), способных слаженно и эффективно взаимодействовать между собой в ходе специфических молекулярно-биохимических реакций. В клеточном ядре биополимеры в виде многокомпонентной полидисперсной смеси занимают более 20% его объема; они диспергированы в вязкожидком растворителе и находятся в виде скоплений (условия макромолекулярного краудинга³⁵ — Denton, 2014; André, Spruijt, 2020). Макромолекулярный краудинг влияет на фазовую стабильность макромолекулярных комплексов, на аллостерическую регуляцию и аффинность связывания макромолекул и может изменять их ферментативную активность (см., например: Kuznetsova et al., 2015; Rivas, Minton, 2016; Speer et al., 2022; Holt, Delarue, 2023; Das et al., 2024).

Следствием макромолекулярного краудинга является повышение *локальной концентрации* крупных макромолекул в ограниченном пространстве (Cho, Kim, 2012). При этом концентрация макромолекул в ограниченном объеме приводит к исключению растворителя (воды) из этой области, что называется эффектом «исключенного объема». В этом случае молекула полимера эффективно исключает из своего окружения другие молекулы, а объем растворителя становится минимальным (Zhou et al., 2008; Rivas, Minton, 2016). В таких условиях наиболее выгодным с точки зрения термодинамики оказывается разделение полимеров на фазы (Falahati, Haji-Akbari, 2019), поскольку снижаются энтропийные и энергетические пороги для биохимических реакций и процессов сборки макромолекулярных комплексов³⁶.

Вкратце, исходя из классических концепций химии полимеров, в условиях макромолекулярного краудинга любая система имеет потенциал к разделению на фазы, а из-за снижения энергетического порога, необходимо для осуществления молекулярно-биохимических реакций, эти реакции

³⁵ Англ. crowd — толпа; crowding — столпотворение.

³⁶ В области физикохимии полимеров не все экспериментальные данные можно объяснить в рамках представлений об эффекте исключенного объема в условиях краудинга. По современным представлениям для объяснения влияния краудинга на биологические объекты необходимо также учитывать, например, изменение структуры воды в этих условиях (Степаненко О. В. Структурные свойства биомаркеров на основе GFP-подобных флуоресцентных белков и бактериальных фитохромов, определяющие их оптические характеристики : автореф. дис. докт. биол. наук / Степаненко Олеся Викторовна; Институт цитологии РАН. — СПб., 2021. — 46 с.). **Примечание к сноске:** здесь и далее в сносках будут приведены библиографические ссылки на те источники, которые не включены в общий список цитированной литературы, например, потому что не имеют прямого отношения к теме монографии.

протекают с большей скоростью и более эффективны, чем в отсутствие краудинга. При достижении критической концентрации, необходимой для разделения фаз, белки претерпевают фазовый переход «жидкость—жидкость» (liquid-liquid phase transition, LLPT; чаще — liquid-liquid phase separation, LLPS), формируя безмембранную органеллу (LLPS-каплю), которая может содержать от 10 до нескольких сотен различных белков, а часто и РНК.

Итак, формирование безмембранных органелл, в частности ядерных телец, происходит в результате жидкофазного разделения (LLPS) поливалентных молекулярных ансамблей, демонстрирующих высокую локальную концентрацию полимерных макромолекул (рис. 3). В состав безмембранных органелл обязательно входят белки, несущие внутренне неупорядоченные домены (IDRs) или прионоподобные домены (PLDs); молекулы многих таких белков, кроме того, содержат РНК-распознающие последовательности (RRMs). Кроме белков большинство ядерных органелл содержит различные РНК. При этом разнообразные межмолекулярные взаимодействия (между белками, белками и РНК или между РНК и РНК) обеспечивают создание целостной структуры безмембранной органеллы, при которой, однако, поддерживается постоянный обмен молекулами между безмембранной органеллой и окружающей ее жидкой фазой (в случае ядерных телец — окружающей нуклеоплазмой). Нарушение таких взаимодействий приводит к разрушению (растворению, дезинтеграции) безмембранной органеллы.

На значение критической концентрации (C_{crit}), которая необходима для фазового разделения белков, существенно влияет множество факторов,

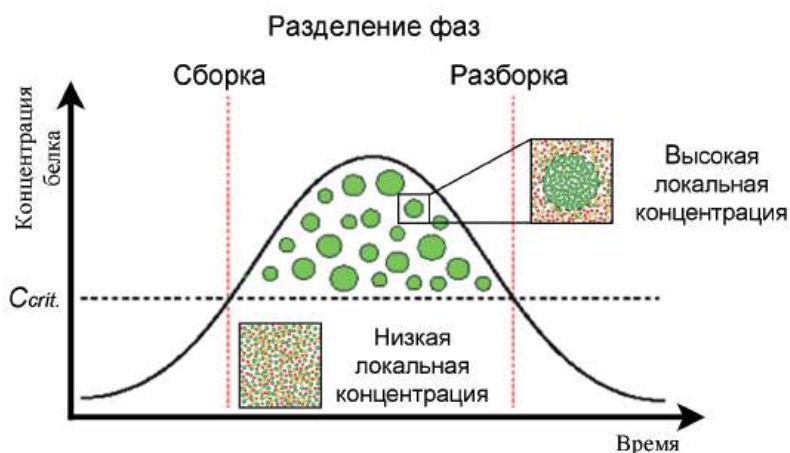


Рис. 3. Общие принципы формирования безмембранных органелл в условиях макромолекулярного краудинга;
объяснения — в тексте (по: Brangwynne, 2011 и Alberti, 2017, с изменениями)

таких как изменения температуры, ионной силы раствора или посттрансляционные модификации конкретного белка (Alberti, 2017). Наличие множественных элементов (молекулярных модулей), определяющих внутри- и межмолекулярные взаимодействия (иными словами, поливалентность [multivalency] биомакромолекул), понижает значение C_{crit} , которое необходимо для разделения фаз. Увеличение аффинности (силы взаимодействия индивидуальных модулей) или количества этих модулей (валентностей молекулы) способствует образованию более крупных комплексов (Li et al., 2012).

Пока общая концентрация белка превышает критический порог, безмембранные органеллы остаются относительно стабильными. Но если общая концентрация белка опускается ниже критической, то безмембранные органеллы диссоциируют, и система возвращается к однофазному состоянию (рис. 3). При этом изменения температуры, ионной силы раствора, посттрансляционные модификации белков и т. д. снижают значение C_{crit} , необходимое для разделения фаз (Brangwynne, 2013; Alberti, 2017). При уменьшении краудинга (например, в гипотонической среде) происходит диссоциация безмембранных органелл, а при добавлении инертных краудинг-агентов они формируются *de novo* (Cho, Kim, 2012). В целом любое событие, которое оказывает влияние на локальную концентрацию или локализацию макромолекул, будет оказывать влияние на формирование LLPS-структур.

Морфологической характеристикой жидкофазного разделения является капля³⁷, сферическая форма которой есть результат минимизации поверхностного натяжения, а содержимое сохраняет свойства жидкости. В отличие от гидрогелей и твердых субстанций (преципитатов), включая амилоидные фибриллы, LLPS-капли сохраняют способность к динамическому обмену содержимым с окружающей фазой (растворителем), поскольку их компоненты не теряют способности к диффузии, хотя и несколько ограничены в свободном перемещении. Например, еще в ранних работах, выполненных с использованием методики FRAP (fluorescence recovery after photobleaching — восстановление флуоресценции после фотообесцвечивания), часто используемой для определения кинетики диффузии макромолекул, было показано, что происходит эффективный обмен коилином и белком SMN между ТК и окружающей нуклеоплазмой (Phair, Misteli, 2000; Dundr et al, 2004). Позднее эти наблюдения были неоднократно подтверждены и в отношении других компонентов ТК.

Подобного нельзя было ожидать в том случае, если бы ТК имели свойства исключительно твердой субстанции, поскольку, например, гидрогели, в отличие от жидких капель представляющие собой сеть иммобилизованных

³⁷ Капля — маленькая отдельная частица какой-л. жидкости округлой формы (В. В. Морковкин и др. Большой универсальный словарь русского языка, Гос. ин-т русского языка им. А. С. Пушкина, М: АСТ-ПРЕСС школа, 2018). Это общеязыковое понятие полностью соответствует определению капли с позиций физико-химической биологии.

молекул, не могут восстанавливать флуоресценцию в опытах с использованием FRAP (Frey et al., 2006). На самом деле различные ядерные органеллы демонстрируют широкий спектр биофизических свойств, характеризующих переход от относительно жидкого к более твердому состоянию (Воеунаеys et al., 2018).

Любую каплю жидкости, находящуюся в другой жидкости, априори характеризует способность к слиянию и разделению, после чего она вновь принимает сферическую форму. Не являются исключением и безмембранные органеллы (ср. *droplet organelles* — Courchaine et al., 2016), включая ТК и ТГЛ. Способность ТК культивируемых соматических клеток млекопитающих к самопроизвольному слиянию и разделению с сохранением сферической формы была наглядно продемонстрирована еще четверть века тому назад (Platani et al., 2000).

Исторически формирование безмембранной органеллы в результате LLPS было впервые доказано в отношении цитоплазматических Р-гранул³⁸, или Р-телец, клеток зародышевой линии нематоды *Caenorhabditis elegans* (Brangwynne et al., 2009). С этого времени роли LLPS в цитологических процессах стали придавать особое значение (Hyman et al., 2014; Alberti, 2017; Shin, Brangwynne, 2017; Feng et al., 2019; Strom, Brangwynne, 2019; Tsumoto et al., 2020; Chakraborty et al., 2024; Naz et al., 2024 и мн. др.³⁹), и в биологии произошла настоящая LLPS-революция, и началась новая эра в исследовании безмембранных органелл и безмембранной компартментализации.

Существенный прогресс в характеристике особенностей LLPS при формировании безмембранных органелл достигнут благодаря широкому использованию экспериментальных систем, называемых искусственными «клетками» или «органеллами» (*artificial cells/organelles*), включая искусственные биомолекулярные конденсаты в живых клетках (Crowe, Keating, 2018; Nakamura et al., 2019; Lin et al., 2023; Lim, Clark, 2024; Lin et al., 2025). При создании таких систем используют лишь небольшое количество компонентов, способных к образованию искусственных микрокомпартментов. Разумеется, в этом случае легче исследовать влияние компартментализации и молекулярного микроокружения на биологические реакции и процессы. Однако вряд ли такие «простые» системы могут исчерпывающе отразить реальные события, происходящие в клетке.

Поскольку безмембранная органелла, отделенная от остального пространства границей фаз, содержит набор специфических факторов и ферментов, сконцентрированных в ограниченном пространстве, эффективность молекулярных реакций с их участием может заметно усиливаться: обычно та или иная молекулярно-биологическая реакция протекает и без пространственно-

³⁸ Р-гранулы — безмембранные органеллы, участвующие в процессах сайленсинга и деградации цитоплазматических мРНК.

³⁹ Здесь приведены лишь несколько обзоров из почти 1500 ответов, выдаваемых ресурсом PubMed на запрос «LLPS».

временной компартментализации, но в этом случае она будет энергетически менее выгодной.

Таким образом, безмембранная органелла, по сути, представляет собой особый «нанореактор», в котором за счет интеграции отдельных факторов в единую систему скорость и эффективность биохимических реакций повышаются в несколько раз. Присутствие таких «нанореакторов» вблизи транскрибируемых генов приводит к созданию особых межгенных, а иногда и межхромосомных регуляторных центров, или молекулярных хабов (*англ. techn. hub* — концентратор), что в свою очередь вызывает заметные конформационные изменения самого генома (Wang et al., 2016). В его пространственной организации играют роль не только ТК, но и другие ядерные тельца — биомолекулярные конденсаты⁴⁰, такие как ядрышки, спеклы/КИГ и тельца PML (Shan et al., 2023).

Биологическое значение формирования ТК, например, прежде всего состоит в том, что они увеличивают эффективность процессов модификации snРНК за счет увеличения локальной концентрации в них как самих snРНК, так и их РНК-гидов — scaРНК. Однако в действительности клетки и без ТК обычно имеют все необходимые «материальные ресурсы» (функциональные snРНК и scaРНК) для своей жизнедеятельности. Появление же морфологически оформленных ТК лишь *интенсифицирует* ядерные процессы, связанные с транскрипцией и сплайсингом, и одновременно является *свидетельством интенсификации* соответствующих процессов (Sawyer, Dundr, 2016).

В продолжение сказанного, посттранскрипционные модификации snРНК, которые обычно осуществляются в ТК (глава 4), протекают и при отсутствии белка SMN — важнейшего фактора сборки snРНК (глава 5) и одного из ключевых компонентов (структурных белков) ТК или gems, которые при деплеции SMN исчезают (Lemm et al., 2006). Показано, что наблюдаемые нарушения сплайсинга в клетках, испытывающих дефицит SMN, не являются следствием нарушения посттранскрипционных модификаций мажорных и минорных snРНК (Deryusheva et al., 2012). Возможно, для сборки и метаболизма РНК-комплексов (глава 3) достаточно функционирования очень малых по размеру ядерных структур (нано-ТК), которые не выявляются с помощью традиционных микроскопических методов. Такую возможность подтверждают эксперименты по сверхэкспрессии некоторых некодирующих (nc) РНК, в результате чего ТК появляются в клетках, в которых они в норме отсутствуют (Massenet et al., 2017). Другой пример демонстрируют эксперименты на клетках, нокаутированных по гену коилина, в которых наблюдаются «остаточные ТК», содержащие либо scaРНК и snРНК, либо компоненты ядрышка — snoРНК и их шаперон Nopp140⁴¹ (Tucker et al., 2001; Jády et al., 2003).

⁴⁰ В современной зарубежной литературе сравнительно недавно появилось новое и достаточно удачное словосочетание nuclear condensate organelle (Courvan, Parker, 2025).

⁴¹ Здесь и далее акроним NOP означает ядрышковый белок (nucleolar protein), а Nopp — ядрышковый фосфопротейн (nucleolar phosphoprotein). В настоящее время белок Nopp140 называют

Ключевой составляющей «мягкой материи» (биомолекулярных конденсатов) являются *внутренне неупорядоченные белки* (intrinsically disordered proteins, IDPs), молекулы которых содержат внутренне неупорядоченные участки (intrinsically disordered regions, IDRs) или домены низкой сложности (low complexity domains, LCDs). Способность внутренне неупорядоченных белков к самопроизвольному разделению на жидкие фазы в физиологических условиях является фундаментальным принципом формирования безмембранных органелл (Uversky, 2017; Voeysaems et al., 2018; Protter et al., 2018; Fonin et al., 2018; Zhou et al., 2018; Turoverov et al., 2019; Yoshizawa et al., 2020; Chakrabarti, Chakrabarti, 2022; Kulkarni et al., 2022; Trivedi, Nagarajaram, 2022 и др.), классическим примером которых являются ядерные тельца, включая ТК и ТГЛ (Zhu, Brangwynne, 2015).

В составе любой безмембранной органеллы, как ядерной, так и цитоплазматической, обязательно присутствует как минимум один внутренне неупорядоченный белок — но обычно их несколько. Кроме того, один белок может содержать несколько внутренне неупорядоченных участков или доменов низкой сложности. Присутствием внутренне неупорядоченных белков, в частности, определяется высокая проницаемость и низкая плотность безмембранных органелл (Wei et al., 2017). Например, своеобразные ТГЛ ооцитов амфибий, ранее рассматриваемые в качестве ТК (глава 8), являются «полужидкими сферами, суспендированными в полужидкой нуклеоплазме» (Handwerger et al., 2005). Они имеют довольно низкую плотность и хорошо проницаемы даже для относительно крупных молекул, что показано с помощью инъекций в цитоплазму или ядро ооцитов *Xenopus* флуоресцентно меченых декстранов с разным размером молекул (3–2000 кДа).

Внутренне неупорядоченные участки (IDRs) и домены низкой сложности (LCDs) не имеют определенной трехмерной структуры. Такие участки обычно состоят из ограниченного набора аминокислотных остатков (а. о.): глицина (G), глутамина (Q), аспарагина (N), фенилаланина (F) и тирозина (Y), а также заряженных остатков лизина (K), аргинина (R), глутаминовой (E) и аспарагиновой (D) кислот. Домены низкой сложности содержат повторяющиеся элементы, обеспечивающие межмолекулярные поливалентные взаимодействия за счет слабой адгезии, а в составе внутренне неупорядоченных участков, как правило, вообще сложно выделить какое-либо упорядоченное расположение а. о., за исключением высокого содержания заряженных.

По данным биоинформатики около 30% компонентов ТК являются внутренне неупорядоченными белками (Meng et al., 2016). При этом молекулы многих из них содержат сразу несколько внутренне неупорядоченных участков. Типичным примером внутренне неупорядоченных белков ТК являются коилин (Hebert et al., 2002) и фибрилларин (Thandapani et al., 2013).

NOLC1 (nucleolar and Cajal-body phosphoprotein 1), чтобы подчеркнуть его одновременное присутствие как в ТК, так и в ядрышках; в дальнейшем для его обозначения будет использоваться эта аббревиатура.

Их молекулы, например, содержат аргинин-глициновые (RG) повторы; при этом в молекуле коилина остатки аргинина в этих повторах симметрично диметилированы (Hebert et al., 2002). Однако RG-бокс, присутствующий во внутренне неупорядоченной центральной части молекулы коилина (глава 2), по-видимому, специфичен только для коилина позвоночных.

Молекулы белков с внутренне неупорядоченными областями обычно содержат РНК-распознающие мотивы (RRMs), обеспечивающие связывание РНК с такими белками. Такая связь в частности способствует доставке РНК в безмембранные органеллы. Вместе с тем коилин, который содержит RGG-повторы и другие участки низкой сложности, способен связывать РНК в отсутствие какого-либо аннотированного РНК-связывающего домена (Machyna et al., 2014).

В условиях диффузии разные молекулы характеризуются разной кинетикой. При прочих равных условиях некоторые специфические макромолекулы демонстрируют более длительное время нахождения в пределах конкретной безмембранной органеллы, чем другие. Например, коилин очень медленно — в течение нескольких минут, не секунд! — диффундирует в пределах коилинсодержащей ядерной органеллы и так же медленно покидает ее (Deryusheva, Gall, 2004). Эти эксперименты по изучению динамики коилина были проведены на коилинсодержащих ТГЛ ооцитов *Xenopus*; они имеют очень крупные — несколько микрометров — размеры, что существенно облегчает проведение подобного рода исследований по сравнению с ТК соматических клеток.

В зависимости от времени нахождения в пределах безмембранной органеллы различают молекулы-резиденты (scaffold molecules) и молекулы-клиенты (Banani et al., 2016). Иными словами, существуют «водители» (drivers), напрямую участвующие в процессе формирования безмембранной органеллы, и привлекаемые с их помощью «пассажиры» (passengers) (Zaslavsky et al., 2018). Резидентные молекулы определяют структуру безмембранной органеллы, но обычно составляют лишь небольшую часть компонентов, в то время как большая часть ее содержимого представлена молекулами-клиентами, которые определяют специфические функции органеллы конкретного типа, но не являются обязательными для ее формирования.

На рекрутирование в безмембранную органеллу молекул-клиентов влияют как специфические межмолекулярные взаимодействия, так и неспецифические взаимодействия — например, электростатические свойства молекул, несущих определенный заряд. Относительный вклад специфического связывания и электростатических взаимодействий варьируется среди разных типов безмембранных органелл (Banani et al., 2017).

Разделение биомолекул на фазы является общим принципом формирования безмембранных органелл независимо от их специфических функций и от того, входят ли в их состав РНК, как в случае большинства ядерных телец (Mitrea, Kriwacki, 2016), или же эти органеллы содержат исключительно белки, как, например, тельца PML. Однако следует отметить, что и в по-

следнем случае специфические транскрипты могут обнаруживаться на периферии PML-телец, которые ассоциированы с некоторыми активными генами, связанными с онкогенезом (например, *TP53*, *ABCA7*, *TFF1* и собственно *PML*). Характер такой ассоциации во многом зависит от типа клетки (Ching et al., 2013).

Если большинство исследований разделения фаз при формировании безмембранных органелл в течение многих лет было посвящено изучению роли белков в процессе LLPS, то сравнительно недавно стали придавать значение роли РНК в регуляции процессов фазового перехода (Drino, Schaefer, 2018; Guo et al., 2021). Накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что метаболизм ncРНК, а иногда и мРНК, может существенно влиять на формирование безмембранных органелл и создание их специфической внутренней структуры, а также регулировать специфические функции РНК-содержащих безмембранных органелл (Sawyer et al., 2019). При этом РНК могут участвовать в формировании безмембранных органелл вне зависимости от того, служат ли эти РНК сами по себе «затраховочными молекулами» или рекрутируются белками.

Высокоточные методы исследования 3D-архитектоники клеточного ядра, разрешающая способность которых лежит за пределами микроскопии, показывают, что сотни ncРНК формируют в ядре территории, в которых концентрируются эти РНК. Такие участки (хабы) контактируют с ДНК на большом протяжении. Предложена модель, согласно которой синтез ncРНК создает градиент концентрации транскриптов, наибольший уровень которых характеризует транскрипционные локусы: сразу после транскрипции новосинтезированные ncРНК проявляют высокую аффинность к другим РНК, а также белкам, диффундирующим в ядре, и за счет этого способны концентрировать эти РНК и белки в локальных областях, ассоциированных с транскрипционно активным хроматином, формируя молекулярные хабы, которые могут служить основой формирования специфических ядерных органелл (Quinodoz et al., 2021).

В настоящее время считается доказанной способность РНК к фазовому переходу и гелеобразованию. Например, при некоторых неврологических и нервно-мышечных заболеваниях, включая болезнь Хантингтона и боковой амиотрофический склероз (amyotrophic lateral sclerosis, ALS), в ядре появляются патологические точечные области локализации транскриптов, содержащих короткие повторы нуклеотидов. Эксперименты *in vitro* с использованием флуоресцентно меченых РНК, состоящих из 47 триплетов CAG или CUG, показали, что подобные области могут возникать в результате фазового разделения РНК и исчезают при действии некоторых агентов, таких как моновалентные катионы или доксорубин⁴², нарушающих фазовое разделение (Jain, Vale, 2017).

⁴² Один из антрациклиновых антибиотиков, известный с конца 1960-х годов, цитостатический препарат; продуцируется *Streptomyces coeruleorubidus* или *S. peucetius*, применяется в химиотерапии злокачественных опухолей.

Однако само по себе фазовое разделение РНК, в отличие от фазового разделения белков, не является общим принципом формирования безмембранных органелл хотя бы потому, что лишённые белков РНК практически не встречаются *in vivo*. По современным представлениям ядерные РНК вместе с РНК-связывающими белками формируют динамическую сеть, которая регулирует структуру и функции интерфазного ядра, стимулируя жидкофазное разделение внутренне неупорядоченных белков (Nozawa, Gilbert, 2019). В присутствии РНК оно происходит при более низких значениях C_{crit} белков, чем обычно необходимо (Lin et al., 2015).

Роль РНК в регуляции фазового разделения внутренне неупорядоченных белков при формировании РНП-гранул и РНП-содержащих безмембранных органелл во многом определяется поливалентными электростатическими взаимодействиями между отрицательно заряженными фосфатными остатками в молекуле РНК и положительно заряженными аминокислотными остатками (например, аргинина или лизина) в участках низкой сложности молекул внутренне неупорядоченных белков (Milin, Deniz, 2018). Этот механизм LLPS, регулируемый РНК, известен как сложная коацервация (Aumiller, Keating, 2016) и является важной движущей силой формирования РНП-гранул и безмембранных органелл *in vivo* (Shin, Brangwynne, 2017).

Несмотря на то что безмембранные органеллы, по сути, являются жидкими каплями, некоторые из них неоднородны по тонкой структуре. Об этом хорошо известно классическим морфологам — электронным микроскопистам, десятилетиями с филигранной тщательностью описывавшим сложное строение ТК, ядрышек и других ядерных телец, которые часто демонстрируют невероятную сложность ультраструктурной организации, особенно в ооцитах беспозвоночных (рис. 4). Современные методы световой микроскопии сверхвысокого разрешения также дают возможность наблюдать подобную неоднородность. На морфологическом уровне в составе «сложных» органелл выявляются разнообразные вакуоли и отдельные субдомены (локальные области или тяжи), образованные — в терминах электронной микроскопии — фибриллярным и/или гранулярным материалом конкретного морфологического типа.

Нередко структурную неоднородность ядерных органелл описывают понятиями «ядро—сердцевина» (core-shell configuration). Считают, что подобного рода конфигурация возникает за счет вторичного разделения фаз (Sawyer et al., 2019). Изоляция одного субдомена от другого обеспечивается за счет разного поверхностного натяжения разделённых фаз, которое возникает в результате поливалентных взаимодействий компонентов (белков, РНК), входящих в состав безмембранной органеллы. Однако функциональное значение субкомпартментализации безмембранных органелл необходимо выяснять в каждом конкретном случае. Следует также критически относиться к результатам иммунофлуоресцентной визуализации, когда имеются условия, препятствующие доступу антител к центру структуры, например

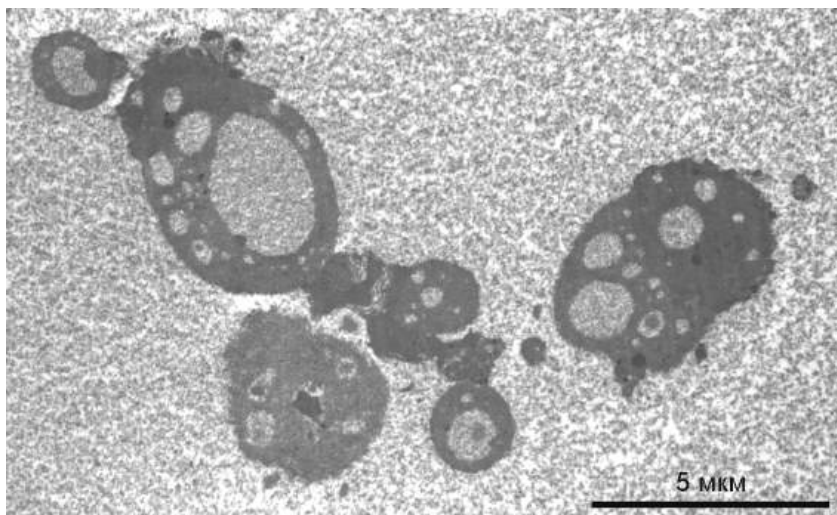


Рис. 4. Морфологически сложные биомолекулярные конденсаты в ядре вителлогенного ооцита серой мясной мухи *Sarcophaga* sp. (ориг.)

ядрышка, из-за чего может создаваться иллюзия периферического окрашивания по типу core-shell (Tikhomirova et al., 2025).

Часто именно РНК-содержащие органеллы содержат разнообразные вакуоли. Считают, что такая вакуолизированная структура может формироваться за счет обратного фазового перехода (re-entrant phase transition, RPT) в случае избытка РНК (Milin, Deniz, 2018). Суть RPT состоит в том, что при низких концентрациях РНК фазовый переход приводит к формированию однородной капли, а высокие концентрации РНК вызывают частичное растворение LLPS-капель, что морфологически выражается в появлении вакуолей. Это происходит за счет инверсии заряда белковых компонентов РНК-содержащей безмембранной органеллы.

Классическим примером безмембранной органеллы с внутренней неоднородностью является ядрышко, компоненты которого — фибриллярные центры, содержащие рДНК; плотный фибриллярный компонент, с которым связаны начальные этапы процессинга пре-рРНК; гранулярный компонент, содержащий прорибосомные частицы, — отличаются по своим физико-химическим свойствам (Feric et al., 2016). Сложная структура ядрышка отражает объединение в нем различных процессов, связанных одновременно как с транскрипцией рДНК, так и с процессингом пре-рРНК (Hernandez-Verdun et al., 2010).

Типичные ТК (например, в соматических клетках млекопитающих) при наблюдении с помощью электронного микроскопа также неоднородны по своей структуре (рис. 5, а–в) и состоят из перекрученных тяжей (coiled threads) толщиной 40–60 нм, между которыми располагается материал

низкой электронной плотности (Monneron, Bernhard, 1969). По-видимому, такие тельца в составе ТК представляют собой более твердые по сравнению с окружающим пространством формации, заключенные в жидкую фазу. В разных клетках ТК могут различаться как по плотности упаковки тельца, так и по их электронной плотности. Кроме того, при пробоподготовке материала для иммуноэлектронной микроскопии (рис. 5, б–в) ультраструктура тельца может выявляться не всегда отчетливо.

Сложная внутренняя структура (неоднородность) безмембранной органеллы так или иначе оказывает влияние на движение молекул, находящихся

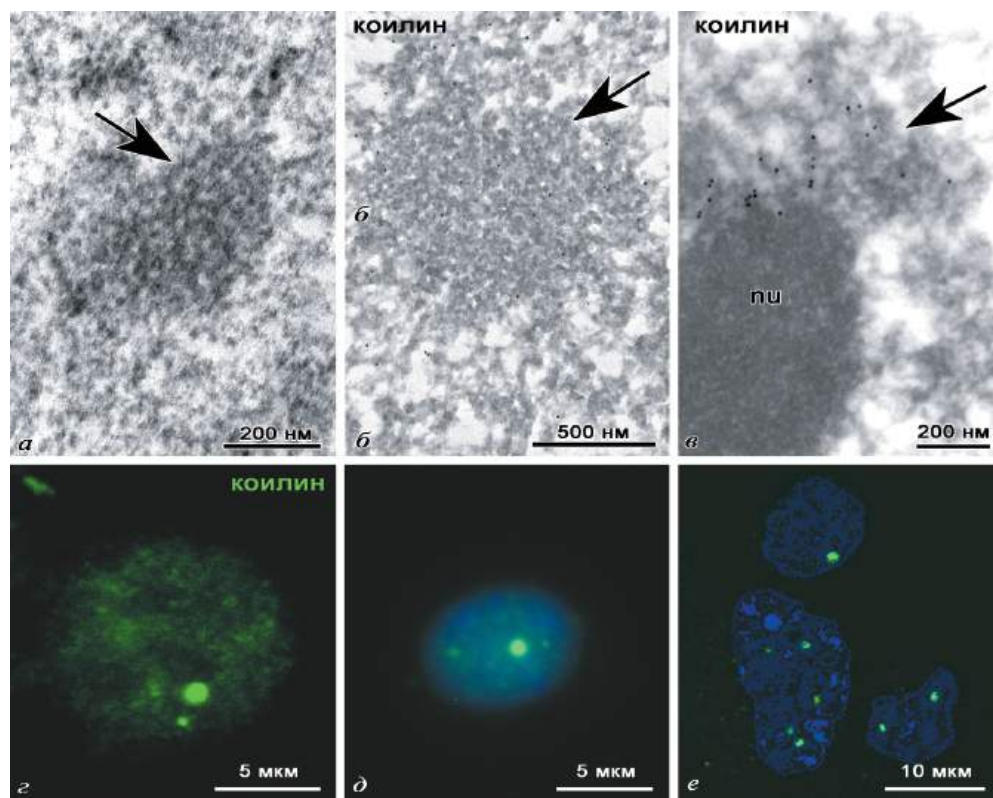


Рис. 5. Морфология телец Кахаля соматических клеток млекопитающих

a–в — тельца Кахаля (стрелки) гепатоцитов мыши: стандартная электронная микроскопия (*a*), иммуноэлектронная микроскопия (*б, в*) при использовании антител к коилину, частицы золота 10 нм, на рис. (*в*) показано тельце Кахаля, ассоциированное с ядрышком (*nu*); *г–е* — результат иммунофлуоресцентного окрашивания соматических клеток с помощью антител к коилину (зеленый): ядро гепатоцита (*г*) и лимфоцита (*д*) на препаратах-отпечатках печени мыши; ядра клеток HeLa (*е*); на рис. (*г*) и (*д*) ДНК докрашена DAPI (синий); *a–в* — ориг., *г–е* — микрофотографии любезно предоставлены И. О. Боголюбовой, ИНЦ РАН

внутри. В концентрированном растворе небольших по размеру молекул движение их замедляется, что приводит к снижению скорости реакций. Однако раствор, содержащий концентрированную полимерную матрицу, ведет себя по-другому. В этом случае свободное пространство между конденсированными компонентами «скаффолда» обладает свойствами пор, через которые свободно перемещаются небольшие белки, как если бы полимер отсутствовал. И только крупные молекулы, которые не могут проникнуть в эти поры, или молекулы, которые связывают полимер, будут двигаться медленно (Cai et al., 2011). В случае РНК-содержащих органелл, включая ТК, такие эффекты проявляются особенно заметно, поскольку такие органеллы одновременно содержат и крупные молекулы полимеров (РНК, белки), и молекулы органических соединений небольшого размера.

На примере ТК и ТГЛ удобно рассмотреть модели сборки макромолекулярных комплексов. В биологических системах самосборка макромолекулярных ансамблей теоретически может носить стохастический характер, осуществляться упорядоченно (иерархически) или сочетать оба механизма (Dundr, 2011; Mao et al., 2011b).

Стохастическая (диффузионно-агрегационная) модель предполагает, что сборка макромолекулярных комплексов может происходить случайно (стохастически) путем самоорганизации компонентов в любом порядке (Kaiser et al., 2008; Shevtsov, Dundr, 2011).

Иерархический принцип сборки, когда каждый последующий компонент присоединяется строго после предыдущего, в наибольшей степени характеризует формирование нанометровых макромолекулярных ансамблей, таких как рибосомы (Staley, Woolford, 2009), сплайсосомы (Staley, Woolford, 2009; Will, Lührmann, 2011), включая сплайсосомный элемент U4/U6 di-snРНП⁴³ (Nottrott et al., 2002), а также сборку мультибелкового комплекса связи экзон-экзон (exon-exon junction complex, EJC), который формируется сплайсосомой на мРНК, маркируя точку сплайсинга, с которым временно ассоциируют факторы экспорта мРНК и который сопровождает мРНК вплоть до трансляции (Gehring et al., 2009). Однако этапы иерархической сборки компонентов можно проследить и в отношении некоторых классических ядерных телец, таких как ТГЛ (Rajendra et al., 2010; White et al., 2011), сборка которых, таким образом, сочетает оба принципа — стохастический и иерархический.

Формирование безмембранных органелл *de novo* можно вызвать искусственно путем «привязки», или тетеринга⁴⁴, структурных и функциональных компонентов ядерных органелл к специфическим участкам хроматина, созданным путем биоинжиниринга. Имобилизация на хроматине коилина, белка SMN, snРНП, snoРНП или scaРНП рекрутирует другие компоненты и вызывает формирование ТК, которые имеют типичные морфологические

⁴³ О сплайсосомном цикле, snРНП-субъединицах сплайсосом и роли ТК в их формировании см. главу 3.

⁴⁴ От *англ.* to tether — привязывать (например, пасущееся животное).

признаки и, по-видимому, являются функциональными (Kaiser et al., 2008). Подобного рода эксперименты проводили в отношении не только компонентов ТК и ТГЛ, но и других ядерных органелл — спеклов и параспеклов (Shevtsov, Dundr, 2011; Mao et al., 2011a; Berry et al., 2015).

Важной является работа (Shevtsov, Dundr, 2011), в которой 256 повторов Лас-оператора *Escherichia coli* были стабильно интегрированы в хромосому 7 клеток человека (HeLa), при этом использовали меченные GFP компоненты ТК, слитые с Лас-репрессором. Любой из структурных белков ТК, а именно коилин и SMN, способен инициировать образование ТК *de novo* (Kaiser et al., 2008). При этом связывание с хроматином белков, не являющихся компонентами ТК (например, белка спеклов SRSF2, мажорного ядрышкового белка B23/нуклеофозмина или нуклеопорина Nup62), не вело к формированию коилин-позитивных телец (Shevtsov, Dundr, 2011). Иммуобилизация белка PML также не запускала формирование ТК, но приводила к формированию PML-телец. Сформированные *de novo* ТК содержали разные функциональные компоненты ТК: компоненты комплекса SMN⁴⁵ — гемины 2 и 5; компоненты сплайсосомных snРНП — белки SmB/B' и SmD1, U4-snРНП-специфичный белок hPrp31, U5-snРНП-специфичный белок hSnul14; шаперон sno/scaРНП NOLC1 и U85 scaРНК (SCARNA10). При нокадауне гена коилина белок SMN, привязанный к хроматину, был способен формировать gems (SMN⁺-тельца — близнецы ТК), определяемые по присутствию гемина-2, но неспособные аккумулировать snРНП и snoРНП.

Эксперименты по тетерингу, на первый взгляд, поддерживают стохастическую модель формирования ядерных органелл, когда их сборка происходит по принципу самоорганизации. Вместе с тем результаты генетических (мутационных) экспериментов, проведенных на *Drosophila* в отношении генов ключевых компонентов ТГЛ (такие мутанты жизнеспособны), на примере трофоцитов (питающих клеток, или клеток-нянек яичника, nurse cells), наоборот, поддержали иерархическую модель формирования ТГЛ (Rajendra et al., 2010; White et al., 2011).

В трофоцитах мух с мутацией *mxc*^{G43} (ген *mxc* кодирует ортолог NPAT позвоночных) ТГЛ не формировались (Rajendra et al., 2010). В клетках *Drosophila* линии S2, несущих мутацию *mxc*^{G48}, наблюдались единичные мелкие ТГЛ-подобные «точки», при этом деплеция NPAT/Мхс в экспериментах по нокадауну приводила к полному исчезновению ТГЛ (White et al., 2011). Однако NPAT/Мхс локализовался в ТГЛ в отсутствие FLASH у мутантов *FLASH*^{LL160}. При этом U7 snРНП, детектируемый с помощью антител к белку Lsm-10, терял способность к локализации в ТГЛ трофоцитов — в отличие от клеток мух с мутацией *mxc*^{G43}. У null-мутантов по гену, кодирующему U7 snРНК, в трофоцитах формировались заметные ТГЛ, в которых локализовались и NPAT/Мхс, и FLASH (Rajendra et al., 2010). Следует, правда,

⁴⁵ О комплексе SMN и белках гемин см. главу 5. Белки гемины (gemins) не путать с геминами (hemins, haemins) — ферропротопорфиринами, которые могут образовываться из гема (гемоглобина) при гемолизе.

отметить, что биомолекулярные конденсаты, содержащие компоненты ТГЛ и потому называемые авторами «ТГЛ», в трофоцитах мух с любой из перечисленных мутаций, если формировались, имели настолько видоизмененную морфологию, что их, по нашему мнению, вряд ли можно считать «полноценными» ТГЛ.

На основании полученных данных авторы сделали вывод о том, что NPAT/Мхс — критический первоначальный фактор формирования ТГЛ в иерархической цепочке: NPAT → FLASH → U7 snРНП (Rajendra et al., 2010). Последним элементом в этой цепочке следовало бы поставить коилин, мутации по гену которого не оказывают заметного влияния на формирование ТГЛ (Liu et al., 2009).

В другой работе (White et al., 2011) с использованием генетических и молекулярно-биологических подходов в клетках S2 дрозофилы было дополнительно проанализировано поведение белка Mute — продукта гена *muscle wasted (mute)*. Mute дрозофилы — гомолог YARP (Yin Yang 1-associated protein-related protein) позвоночных. Это еще один заметный компонент ТГЛ (Yang et al., 2014), который образует структурные комплексы с NPAT (Bucholtz et al., 2020). При этом мутации в гене *mute* дрозофилы оказывают критическое влияние на терминальную дифференцировку мышц стенки тела, возможно, вследствие реорганизации гетерохроматина (Bulchand et al., 2010).

Ген *mute* кодирует длинную и короткую изоформы белка Mute, которые обе локализуются в ТГЛ (White et al., 2011). С помощью молекулярно-биологических подходов авторы обнаружили, что нокдаун генов, кодирующих NPAT/Мхс и FLASH, препятствует самосборке Mute в ТГЛ-подобные биомакромолекулярные конденсаты, в то время как нокдаун Mute не оказывает влияния на самосборку белков NPAT/Мхс и FLASH.

Два принципа формирования безмембранных органелл — стохастический и иерархический — хорошо согласуются между собой в модели «затравки» (seeding model) (Dundr, 2011; Mao et al., 2011b), согласно которой молекулы некоторых белков или специфические РНК служат «затравками»⁴⁶ для начала формирования безмембранной органеллы — ее нуклеации⁴⁷, первой стадии фазового перехода. Последующие шаги сборки могут быть либо стохастическими, либо упорядоченными (Dundr, 2011). РНК-«затравками» могут служить, например, длинные некодирующие РНК (lncРНК; long non-coding RNAs, lncRNAs), называемые архитектурными РНК (arcRNAs) (Chujo et al., 2017; ср.: *RNA seeds nuclear bodies* — Carmo-Fonseca, Rino, 2011). Примером белковых «затравок», очевидно, служат вышеупомянутые NPAT/Мхс и FLASH при формировании ТГЛ в клетках *Drosophila* (White et al., 2011).

К модели «затравки» хорошо применимы используемые в физикохимии понятия гетерогенной и гомогенной нуклеации (Matera et al., 2009). Для неоднородных систем, которые состоят из однородных фаз, разделенных

⁴⁶ Англ. seeds — семена.

⁴⁷ От англ. nucleation — зарождение, зародышеобразование.

переходным слоем — поверхностью раздела (к таким системам относится клеточное ядро с находящимися внутри него ядерными органеллами), характерна *гетерогенная* нуклеация. Она требует первоначального этапа (seeding) с использованием «затравки», или «затравочного скаффолда» (seeding scaffold). После этого формирование ядерных органелл может осуществляться по принципу самосборки (Dundr, 2011).

Если бы ядерные органеллы возникали за счет спонтанного фазового перехода (гомогенной нуклеации), они располагались бы в нуклеоплазме случайным образом. Вместо этого специфические ядерные органеллы формируются в определенных местах: ядрышки — в местах расположения активно транскрибирующихся рибосомных генов (Raška et al., 2004); ТГЛ специфически ассоциированы с гистоновыми локусами (Duronio, Marzluff, 2017; глава 7); а ТК в первую очередь связаны с участками расположения генов, кодирующих snРНК, включая U1, U2, U4, U11 и U12 snРНК (Smith et al., 1995; Jacobs et al., 1999). Кроме того, ТК формируются в ассоциации с генами, транскрипция которых приводит к появлению sno/scaРНК, кодируемых интронами этих генов (Schul et al., 1999a; глава 4).

Для гетерогенной нуклеации обычно требуется присутствие специфического поливалентного белка, который служит центром взаимодействия других компонентов, иницируя и организуя этапы сборки ядерной органеллы в определенном месте (Banani et al., 2016). Например, коилин, который способен к разнообразным межмолекулярным взаимодействиям, претерпевает ряд стадий самоолигомеризации и гетероолигомеризации, ассоциируя при этом с множеством молекулярных партнеров, запуская и стабилизируя нуклеацию ТК (Machyna et al., 2015).

Однако в последнее время придают значение и РНК как факторам гетерогенной нуклеации ядерных телец (Drino, Schaefer, 2018). Например, роль первичных РНК-транскриптов в формировании ТК убедительно показана в ходе вышеупомянутых экспериментов по тетерингу. Иммобилизация на хроматине пре-мРНК гистона H2В человека вызывала в течение 2 ч формирование *de novo* ТК, физически связанных с ТГЛ (Shevtsov, Dundr, 2011). Это совпадает с наблюдениями сборки ТГЛ в обычных условиях при переходе от фазы G1 к фазе S клеточного цикла (Bongiorno-Borbone et al., 2008).

Сходные результаты были получены в отношении целого ряда факторов, участвующих в экспрессии гистоновых генов и процессинге 3'-конца пре-мРНК гистонов: белков NPAT и FLASH — специфических маркеров ТГЛ; а также Lsm-10 и Lsm-11 — уникальных белков U7 snРНК (Shevtsov, Dundr, 2011). Кроме того, обнаружено, что тетеринг факторов, не являющихся компонентами ТК и/или ТГЛ, а именно SLBP (белка, который специфически связывает консервативную петлю на 3'-конце пре-мРНК гистонов) или факторов расщепления (cleavage⁴⁸) 3'-конца пре-мРНК гистонов (CPSF73,

⁴⁸ Применительно к молекулярно-биологическим процессам слово cleavage (англ.) мы будем переводить как «расщепление» (ср.: эндонуклеолитическое *расщепление* молекулы, тельца *расщепления* — cleavage bodies), а не «дробление», как довольно часто встречается в русскоязычной

CPSF30 и CPSF100), также приводит к нуклеации ТГЛ и ТК *de novo*. Наоборот, не вызывал нуклеацию ТГЛ и ТК тетеринг CstF77 — фактора, который участвует исключительно в расщеплении 3'-конца полиаденилированных РНК, к каковым не относятся пре-мРНК гистонов (глава 7).

Очевидно, искусственная секвестрация РНК обеспечивает возможность ассоциации с ними РНК-связывающих белков, которые в свою очередь взаимодействуют между собой и с другими РНК-связывающими белками, создавая кумулятивный эффект, который приводит к новообразованию безмембранных органелл.

1.3. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СОСТАВ, ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ, КОНСЕРВАТИВНОСТЬ И ДИНАМИКА ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ

Некоторые ключевые ядерные функции и процессы, к которым имеют отношение ТК, проиллюстрированы на рис. 6. Не исключено, что этими функциями роль ТК в клетке не ограничена и их список еще будет расширяться. Одним из отражений *полифункциональности* ТК является присутствие в их составе множества компонентов разных процессов, протекающих в ядре: ТК содержат несколько десятков белков и сотни (!) snсРНК. Однако важно отметить, что большинство компонентов ТК, если не все, могут быть локализованы не только исключительно в ТК, но и в иных клеточных компартментах: свободно в нуклеоплазме (интерхроматиновом пространстве); в других ядерных органеллах, включая ядрышко или, например, тельца РМЛ; а также в цитоплазме (Matera, 1999). Не являются исключением даже такие «традиционные» маркеры ТК, как коилин и scaРНК, локализация которых не ограничена ТК.

1.3.1. Проблема идентификации

Задать кажущийся на первый взгляд простым вопрос относительно критериев идентификации той или иной ядерной органеллы (табл. 1) — всё равно, что задать неразрешимый философский вопрос: *Quid est veritas* (что есть истина)? Во многом это объясняется тем, что ядерные тельца не могут быть полностью независимыми друг от друга в функциональном, а иногда и структурном отношении, поскольку ядро очень динамичная система, в которой биохимические реакции протекают совместно в отсутствие физических границ в виде мембран. Следовательно, различные типы ядерных органелл нередко характеризуются множеством общих белков и РНК, как

литературе и в корне неверно, поскольку дробление — занятый термин из области биологии развития (ср.: дробление бластомера).



Рис. 6. Основные ядерные процессы, в которых функционально задействованы тельца Кахаля, и соответствующие этим процессам факторы, влияющие на сборку телец Кахаля (по: Sawyer et al., 2017, с изменениями)

показывает, например, история с идентификацией ТГЛ (глава 7). Не исключено, что категория ТК может представлять, по сути, сборную группу разных ядерных органелл/биоконденсатов.

С другой стороны, использование одного из современных методов протеомики — antibody-based *in situ* biotinylation proximity-labeling technique⁴⁹ — показывает присутствие в ТК большого разнообразия нуклеоплазматических белков, по отношению к которым их локализация в ТК представляется не всегда очевидной с функциональной точки зрения (Noguchi et al., 2024). Основное преимущество этого относительно нового и прогрессивного метода — возможность определять компоненты ядерных тел (биомолекулярных конденсатов) селективно от остальной части нуклеоплазмы. С его помощью, в частности, ожидаемо доказана локализация в ТК различных snсРНК —

⁴⁹ Я счел нецелесообразным предлагать русское название этого метода, пока оно не устоялось в отечественной литературе. О сути данного метода, его преимуществах и ограничениях, а также ссылки на литературу см. в цитируемой статье (Noguchi et al., 2024).

snРНК, snoРНК, scaРНК (см. ниже разд. 1.3.2). Наконец, использование данного метода подтвердило присутствие в ТК определенных участков геномной ДНК, а именно — генов snРНК, U3 и U8 snoРНК, а также репликационно зависимых генов гистонов. В последнем случае, не исключено, может быть некоторое «смещение понятий», поскольку со специфическим процессингом пре-мРНК гистонов связаны ТГЛ (глава 7); их невозможно отселектировать от ТК по присутствию коилина, в то время как использование антител к нему лежало в основе данного метода при характеристике компонентов ТК.

Долгое время действительно считали, что главным диагностическим критерием ТК является присутствие в их составе коилина (глава 2) и scaРНК (глава 4). С открытием коилинсодержащих ТГЛ, как отличных от ТК органелл, коилин потерял значение маркерного белка ТК. Сейчас даже scaРНК не являются однозначным маркером ТК, поскольку в некоторых случаях они (в комплексах с соответствующими белками составляя scaРНКП), могут присутствовать в эктопических местах, включая ядрышки (Nizami, Gall, 2012; Deryusheva, Gall, 2019). Но от этого ядрышки не становятся ТК.

Кроме того, в клетке могут одновременно существовать дискретные тельца — близнецы ТК, или gems (Liu, Dreyfuss, 1996), в которых накапливается белок SMN, один из ключевых белков ТК, но отсутствует коилин (коилин⁻/SMN⁺) (разд. 5.1). Вместе с ними существуют коилинсодержащие ТК, в которых, наоборот, не выявляется SMN (коилин⁺/SMN⁻) (Hebert et al., 2002). Наконец, в ядре можно найти «малоизвестные» коилинсодержащие ядерные структуры, которые никогда не рассматривали в качестве ТК, хотя параллели из-за присутствия коилина проводили. Это, например, так называемые IGZ (interchromatin granule associated zones) — фибриллярные области, ассоциированные с КИГ. Они содержат не только коилин (Puvion-Dutilleul et al., 1995a), но и белок PML — ключевой компонент PML-телец (Puvion-Dutilleul et al., 1995b), демонстрируя молекулярные особенности различных ядерных органелл.

Специализированными ядерными органеллами, хотя и родственными ТК, являются ТГЛ (глава 7), которые физически связаны с локусами гистоновых генов и формируются только в S-фазе клеточного цикла в ответ на начало репликационно зависимой экспрессии генов, кодирующих гистоны, и процессинга пре-мРНК гистонов. Если ТК содержат сотни различных sncРНК (snРНК, snoРНК и scaРНК), то, по-видимому, единственной sncРНК в составе ТГЛ является U7 snРНК — ведущий фактор специфического процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов. От других ядерных органелл ТГЛ отличает присутствие в их составе не только U7 snРНК, но и ряда других специфических факторов. В первую очередь это белки Lsm-10 и Lsm-11, специфические для U7 snРНКП, а также уже упомянутый выше коактиватор транскрипции гистоновых генов NPAT (nuclear protein at the ataxia-telangiectasia mutated [ATM] locus) и фактор FLASH (FLICE-associated huge protein),

который образует с U7 snРНК стабильный комплекс (Duronio, Marzluff, 2017; Marzluff, Koreski, 2017). По современным представлениям (Nizami et al., 2010a, 2010b; Duronio, Marzluff, 2017) тесная физическая связь с гистоновыми локусами, присутствие U7 snРНК и белков Lsm-10, Lsm-11, FLASH и NPAT — однозначные диагностические признаки ТГЛ, и потому идентификация ТГЛ в некотором смысле менее сложная задача, чем идентификация ТК.

1.3.2. РНК- и белковые компоненты телец Кахаля: краткий обзор

В качестве *РНК-компонентов* ТК содержат примерно 320 различных sncРНК (Sawyer et al., 2019), но реально их количество может быть гораздо большим, учитывая высокие потенции коилина к неспецифическому связыванию РНК (Machyna et al., 2014). К главным РНК-компонентам ТК следует отнести: snРНК сплайсинга; snoРНК; scaРНК, которые по своей природе относятся к категории snoРНК; и теломеразную РНК (TR/TERC) — особую scaРНК. Две группы sncРНК — snРНК и sno/scaРНК — являются «инь» и «янь» ТК (Bizarro et al., 2019) и ассоциируют с ТК в составе соответствующих РНП-комплексов независимо друг от друга. По-видимому, сотни snoРНК разных классов, включая scaРНК, в обязательном порядке проходят через ТК на пути своего метаболизма (Machyna et al., 2014; Massenet et al., 2017).

Особое место среди РНК-компонентов ТК занимают малые ядерные РНК (snРНК сплайсинга), составляющие основу РНП-субъединиц сплайсосом, ведь именно в ТК осуществляются ключевые этапы их процессинга — сайт-специфические модификации оснований (2'-*O*-метиличивание и псевдоуридинилирование), осуществляемые РНК-гидами (guide RNAs, gRNAs; от *fr.* guide — проводник), в качестве которых в данном случае выступают scaРНК. В ТК формируются и функционально компетентные snРНК-субъединицы сплайсосом (Staněk, 2017). Однако сам сплайсинг пре-мРНК в ТК не происходит (Matera, 1999). Таким образом, места сборки компонентов сплайсосом пространственно разобщены с участками, где осуществляется сплайсинг.

По сравнению с другими ядерными органеллами наиболее характерной особенностью ТК традиционно считают присутствие scaРНК (глава 4) — РНК-гидов, открытие которых (Jády, Kiss, 2001; Darzacq et al., 2002) определило одну из главных функций ТК как мест посттранскрипционных модификаций snРНК сплайсинга (Jády et al., 2003). Однако в клетках, лишенных ТК, scaРНК тем не менее способны модифицировать snРНК с достаточной эффективностью (Deryusheva, Gall, 2009).

Среди РНК-компонентов ТК особо выделяется теломеразная РНК (TR; в клетках человека — hTR), которая входит в состав теломеразы — слож-

ного РНП-комплекса, который отвечает за длину теломер (глава 6). По-видимому, ТК увеличивают эффективность сборки холоэнзима теломеразы (Vogan, Collins, 2015) и доставки теломеразы к теломерам (Cristofari et al., 2007). Поэтому не является случайностью, что сами ТК нередко обнаруживаются в ассоциации с теломерами (MacNeil et al., 2016). Однако, как и в случае с scaРНК-зависимыми модификациями snРНК, отсутствие ТК (например, при нокауте гена, кодирующего коилин) существенно не влияет на сборку теломеразы, ее транспорт и функции теломер (Chen et al., 2015), а сами ТК не имеют решающего значения для ассоциации теломеразы с теломерами (Vogan et al., 2016).

Обычно ТК не содержат мРНК, однако в меристемных и дифференцированных клетках корня некоторых растений (лука *Allium cepa*, люпина *Lupinus luteus*, а также *Arabidopsis thaliana* — резуховидки Таля, крестоцветного растения, широко используемого в качестве модельного объекта) в составе ТК обнаружены полиаденилированные РНК (Niedojadło et al., 2014). Более того, по крайней мере часть из этих поли(А)-РНК представляет собой мРНК, кодирующие белки. Например, в ТК клеток корня *L. luteus* накапливаются мРНК цитокининсвязывающих белков⁵⁰, циклина В1, пектинметилэстеразы и пероксидазы, однако активная РНК-полимераза II в ТК клеток растений не выявлена, а опыты с использованием бромо-УТФ показали, что мРНК попадают в ТК только спустя определенное время после синтеза (Niedojadło et al., 2014). Вместе с тем в клетках животных в метаболизме поли(А)-РНК задействованы не ТК, а ядерные спеклы (Боголюбов, 2018). Помимо соматических клеток (корня) растений поли(А)-РНК обнаружены в диплонтных микроспороцитах лиственницы европейской *Larix decidua* (Kořowerzo et al., 2009). Однако в ТК клеток тапетума — особого слоя соматических клеток в спорангиях высших растений — мРНК не обнаружены. По-видимому, временное удержание (retention) мРНК является специфической функцией ТК клеток определенного типа некоторых растений, но биологическое значение этого явления пока не выяснено.

Присутствие мРНК в ТК клеток растений позволяет также предположить возможное их участие в деградации мРНК, содержащей нонсенс-мутации (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) (Bassett, 2012). Однако у *Arabidopsis* aberrантные мРНК, служащие субстратами NMD, присутствуют в ядрышках, в которых факторы NMD — UPF2 и UPF3 — колокализуются с фибриларином (Kim et al., 2009). По мнению некоторых исследователей (Love et al., 2017), тот факт, что фибрилларин является не только белком ядрышек, но и ТК, а сами ТК и ядрышки находятся между собой в тесном функциональном (а иногда и структурном) единстве (особенно четко это проявляется в клетках растений — Chamberland, Lafontaine, 1993), наводит на мысль о возможности участия ТК в NMD. Особенности ТК в клетках растений,

⁵⁰ Цитокинины — гормоны растений 6-аминопуринового ряда, которые стимулируют цитокinesis.

их участию в специфических регуляторных путях на основе РНК, таких как NMD, а также уникальной роли ТК в ответах на атаки фитопатогенов и абиотические стрессы, которые могут регулироваться с помощью механизмов, управляемых поли(АДФ)-рибозилированием, посвящен один из исчерпывающих обзоров (Taliensky et al., 2023).

О многих белках, которые являются компонентами ТК, будет упомянуто в разных главах в контексте специфических молекулярных «историй», к которым ТК имеют прямое или косвенное отношение. Говоря о *белковых компонентах* ТК в целом, следует отметить следующее: согласно биоинформатическим данным, с ТК ассоциировано относительно небольшое число белков. Так, среди примерно 400 белков клеток мыши или человека, которые по своим физико-химическим свойствам потенциально способны концентрироваться в ядерных компартментах (безмембранных оргanelлах), к началу 2010-х гг. было известно о 36 белках, характерных для ТК (Mohamad, Bodén, 2010). Однако авторы уже тогда справедливо полагали, что ТК-ассоциированных белков может быть больше, и спустя десятилетие в составе ТК действительно насчитывали уже 125 белков (Sawyer et al., 2019).

Молекулы белков ТК обычно имеют небольшой размер. Их молекулярная масса составляет в среднем 38.5 кДа, что является наименьшим показателем по сравнению со средней молекулярной массой белков других ядерных компартментов, таких как тельца PML (84 кДа), ядрышко (69 кДа) и спеклы (63 кДа). С использованием компьютерного инструментария PROST показано, что только 62% белков ТК содержит сигнал ядерной локализации (NLS). Это существенно меньше по сравнению с 80–86% белков, локализующихся в ядрышке, спеклах, тельцах PML или хроматине (Bickmore, Sutherland, 2002). Поскольку в ходе импорта белков в ядро их NLS взаимодействует с импортином β (Nakielnny, Dreyfuss, 1999), импорт в ядро белков ТК, не имеющих NLS, по-видимому, осуществляется с помощью иных механизмов. Например, такие белки могут формировать комплексы с другими белками, которые NLS имеют, и уже такие комплексы будут успешно импортироваться в ядро.

Следует отметить, что ни один из известных белков ТК не имеет RS-домена (Bickmore, Sutherland, 2002), характерного для SR-белков — факторов сплайсинга пре-мРНК, молекулярно-диагностических компонентов ядерных спеклов.

Значительное число белков ТК (как минимум 20), включая коилин, способно к посттрансляционным модификациям (табл. 2), прежде всего фосфорилированию (Hebert, 2010); о модификациях коилина будет дополнительно упомянуто в разд. 2.3. В табл. 3 приведен список основных модификаторов белков ТК со ссылками на первоисточники, из которых можно получить более подробную информацию. Однако следует отметить, что не для всех белков ТК, включая такие распространенные/известные, как дискерин, TOE1 или WRAP53, известны их модификаторы.

Таблица 2

Посттрансляционные модификации некоторых основных белков телец Кахаля

Белок	Uniprot ID	Phos	Meth	Acet	Sumo	Ubiq
Коилин	P38432	+	+	+	+	+
SMN	Q16637	+	+	+	+	+
Фибрилларин	P22087	+	+	+	—	+
Дискерин	O60832	+	—	+	+	+
CRM1	O14980	+	—	+	—	+
DAXX	Q9UER7	+	—	+	+	+
Fam118B	Q9BPY3	+	—	+	—	+
GAR1	Q9NY12	+	+	+	—	+
NOLC1	Q14978	+	+	+	+	+
PA28γ	P61289	+	+	+	+	+
PHAX	Q9H814	+	+	+	—	—
SART3	Q15020	+	+	+	—	+
TERT	O14746	+	—	+	—	+
TGS1	Q96RS0	+	—	—	—	+
TOE1	Q96GM8	+	—	—	—	+
USPL1	Q5W0Q7	+	—	—	—	—
WRAP53	Q9BUR4	+	—	—	—	+

Обозначения: phos — фосфорилирование, meth — метилирование, acet — ацетилирование, sumo — сумоилирование, ubiq — убиквитинилирование.

Таблица 3

Основные модификаторы белков телец Кахаля

Субстрат	Модификатор	Модификация	Литературный источник
Коилин	Cdk2/cyclin E	Phos	Liu et al., 2000
	VRK1	Phos	Sanz-García et al., 2011; Cantarero et al., 2015
	VRK2	Phos	Sanz-García et al., 2011
	CK2	Phos	Hebert, Matera, 2000
	PPM1G	Dephos	Hearst et al., 2009
	PRMT5	Meth (sDMA)	Hebert et al., 2002; Boisvert et al., 2002

Окончание табл. 3

Субстрат	Модификатор	Модификация	Литературный источник
SMN	PKA	Phos	Wu et al., 2011
	PPP4	Dephos	Wu et al., 2011
	PP1 γ	Dephos	Renvoisé et al., 2012; Husedzinovic et al., 2015
	PPM1G	Dephos	Grimmler et al., 2005a; Petri et al., 2007
	HD-PTP/PTPN23	Dephos	Husedzinovic et al., 2015
	Itch	Ubiq	Han et al., 2016
	UHCL1	Ubiq	Hsu et al., 2010
	Mind bomb 1 E3	Ubiq	Kwon et al., 2013
	Usp9X	Deubiq	Han et al., 2012
Фибрилларин	PRMT1	Meth (aDMA)	Gary, Clarke, 1998
CRM1	Cdk1/cyclin B	Phos	Wu et al., 2013
DAXX	ATM	Phos	Tang et al., 2013
GAR1	PRMT1	Meth (aDMA)	Frankel, Clarke, 1999; Whitehead et al., 2002
NOLC1	CK2	Phos	Meier, 1996; Li, 1997
	Протеинкиназа A	Phos	Chiu et al., 2002
PA28 γ	Chk2	Phos	Magni et al., 2014
PHAX	CK2	Phos	Kitao et al., 2008
TERT	Akt	Phos	Kang et al., 1999; Jeong et al., 2015
	c-Abl	Phos	Kharbanda et al., 2000
	PP2A	Dephos	Li et al., 1997
	Hdm2	Ubiq	Oh et al., 2010

Обозначения: phos — фосфорилирование, dephos — дефосфорилирование, meth — метилирование, ubiq — убиквитинилирование, deubiq — деубиквитинилирование, aDMA — асимметричные диметиларгинины, sDMA — симметричные диметиларгинины.

Поскольку все белки, перечисленные в табл. 2 и 3, присутствуют не только в ТК, но и в других участках ядра, вряд ли их фосфорилирование (да и другие модификации) определено активностью только той фракции модификаторов, которая в данный момент времени находится в ТК. Однако несомненно, что фосфорилирование является одним из основных регуляторных механизмов, определяющих формирование ТК и их функциональную активность. О роли других посттрансляционных модификаций (метиляции, ацетилировании, сумоилировании и убиквитинилировании) белко-

вых компонентов ТК в регуляции функциональной активности ТК пока известно меньше, хотя и эти модификации также характеризуют многие белки, входящие в состав ТК (Hebert, Poole, 2017; табл. 2 и 3).

С началом анализа молекулярного состава ТК сразу обратили внимание, что в ТК концентрируются ключевые белки ядрышка, такие как фибрилларин (2'-*O*-метилтрансфераза) и дискерин (псевдоуридинсинтаза). Оба этих белка являются одними из первых идентифицированных белковых компонентов ТК (Raška et al., 1990). Именно концентрация ядрышковых белков в ТК заставила исследователей изначально искать функциональную связь между ядрышками и ТК — «добавочными тельцами ядрышка» по определению самого Кахала.

Одним из ключевых белков, участвующим в формировании ТК, является NOLC1 (nucleolar and Cajal body phosphoprotein 1) (Bizarro et al., 2019), ранее известный как Nopp140. Это общий белок ТК и ядрышек (Isaac et al., 1998), выполняющий функцию шаперона sno/scaРНП. В ядрышках NOLC1 локализуется в плотном фибриллярном компоненте (Meier, Blobel, 1994). Молекула NOLC1 имеет эволюционно консервативные N- и C-концы. Так, последние 50 а. о. NOLC1 млекопитающих на 59% идентичны таковым в молекуле белка Srp40p — ортолога NOLC1 у дрожжей (Meier, 1996). Молекулы NOLC1 обладают обширным внутренне неупорядоченным доменом, расположенным в центральной части (Na et al., 2018); они способны связывать sno/scaРНП обоих классов — C/D и H/ACA (Meier, 2005; подробнее о классификации sno/scaРНК см. главу 4), а также коилин (Isaac et al., 1998). Поэтому они идеально подходят для того, чтобы формировать ТК посредством разделения жидких фаз. В отсутствие коилина (например, при его деплеции) белок NOLC1 вместе с scaРНП формирует «остаточные ТК», которые не содержат snРНП (Tucker et al., 2001). В отсутствие NOLC1 также формируются подобного рода «остаточные» ТК-подобные структуры, которые содержат коилин, scaРНП и, возможно, snРНП — в качестве потенциальных мишеней scaРНП (Bizarro et al., 2019).

Электронно-микроскопическое исследование показало, что нокдаун NOLC1 приводит к изменениям ультраструктуры ТК, которые незаметны на светооптическом уровне (Bizarro et al., 2019). В этом случае меняется структура элементарных единиц ТК — «перекрученных тяжей» (coiled threads), которые авторы — вероятно, ошибочно! — называют «гранулами» (*coils of dark granules*) на основании анализа ультратонких срезов⁵¹. При нокдауне NOLC1 их размер уменьшается примерно в 2 раза: примерно с 40 до 20 нм.

Важнейшим компонентом ТК является белок SMN (survival motor neuron protein) (Chaytow et al., 2018) — центральный элемент мультибелкового комплекса SMN (глава 5), обеспечивающего сборку многих РНП-комплексов,

⁵¹ В практике электронной микроскопии довольно часто возникает ситуация, когда исследователю предстоит ответить на вопрос, видит ли он действительно гранулу или поперечно перерезанную фибриллу того же размера.

включая snРНК. Только в клетках ограниченного числа типов SMN концентрируется не в ТК, а в gems (Liu, Dreyfuss, 1996; разд. 5.1).

Среди наиболее известных и детально охарактеризованных белковых компонентов ТК следует отметить белок WRAP53 β , также известный как WDR79 и TCAB1. Это один из ключевых белков, необходимых для формирования ТК, поддержания их структурной целостности и целенаправленного связывания (таргетинга) с ТК других белков, таких как SMN (Mahmoudi et al., 2010), и scaРНК (Marnef et al., 2014). Множество синонимичных названий (см. ниже) отражает полифункциональность этого белка и его важную роль в физиологии клетки. Он служит центральным звеном в разнообразных межбелковых взаимодействиях, способствует формированию множества мультибелковых комплексов и усиливает их стабильность (Henriksson, Farnebo, 2015; Bergstrand et al., 2019).

Своим названием WRAP53 (WD repeat containing antisense to TP53) обязан тому, что ген *WRAP53* (у человека расположен на хромосоме 17p13) кодирует по крайней мере два функциональных продукта: антисмысловой WRAP53 α , который стабилизирует онкосупрессор p53, и WD40-содержащий белок WRAP53 β . Соответственно, еще одно синонимичное название этого белка — WDR79 (WD40 repeat-containing protein 79) — подчеркивает, что он содержит β -трансдукционный повтор WD40 (а. о. 44–60), который служит основой многих межмолекулярных взаимодействий (Tycowski et al., 2009). Наконец, этот же белок известен как TCAB1 (telomerase Cajal body protein 1); преимущественно это название и будет использовано ниже. Оно, во-первых, свидетельствует о локализации белка в ТК (Cajal body protein), а во-вторых — об участии в формировании теломеразы и в процессах элонгации теломер (глава 6) за счет способности рекрутировать соответствующие факторы. Показано, что TCAB1 входит в состав активной теломеразы и обеспечивает связь с ТК не только самой теломеразы (Venteicher et al., 2009), но также scaРНК (Tycowski et al., 2009) и комплекса SMN (Mahmoudi et al., 2010).

Функциональная активность TCAB1 во многом определяется уровнем его фосфорилирования. Например, TCAB1, фосфорилированный по одному из остатков серина (S64), локализуется как в ТК, так и в участках разрывов ДНК в ходе процесса ее репарации; однако нефосфорилированная форма этого белка накапливается в ТК с большей интенсивностью (Soucogavas et al., 2017). Таким образом, фосфорилирование S64, осуществляемое серин/треониновой протеинкиназой АТМ, которая рекрутируется и активируется двунитевыми разрывами ДНК, приводит к релокализации TCAB1 из ТК к разрывам ДНК.

Высвобождение TCAB1 из ТК влечет за собой перемещение из ТК в другие участки ядра множества других белков — типичных компонентов ТК. Например, действие ионизирующего облучения приводит к перемещению TCAB1 к индуцированным радиацией разрывам ДНК, в то время как теломераза (Wong et al., 2002) и иные компоненты ТК (коилин, фибрилларин, белок SMN, а также snРНК) перемещаются к ядрышкам и локализуются

либо в них самих, либо в так называемых перинуклеолярных «шапочках» (nucleolar caps); при этом сами ТК разрушаются в течение нескольких часов после повреждения ДНК (Gilder et al., 2011).

Деплеция TCAB1 вызывает необратимую дезинтеграцию ТК, но не влияет на другие ядерные органеллы, такие как gems, спеклы и тельца PML (Mahmoudi et al., 2010). Экзогенный TCAB1 накапливается в ТК, однако не стимулирует формирование ТК *de novo*. Наоборот, при высоких уровнях экспрессии экзогенного TCAB1 ТК разрушаются — возможно, за счет ассоциации и секвестрации факторов, необходимых для формирования этих ядерных органелл (Mahmoudi et al., 2010). Кстати, сходный эффект демонстрирует и сверхэкспрессия экзогенного коилина (Hebert, Matera, 2000). На клетках *Drosophila* показано, что сверхэкспрессия TCAB1 в клетках трансгенных мух (применительно к дрозофиле традиционно используют название WDR79), вызывая разрушение ТК, не влияет на его связывание с scaPНК (Deryusheva, Gall, 2013).

При рассмотрении ключевых белковых компонентов ТК в том или ином контексте нами будет не раз отмечено, что ряд белков ТК, таких как коилин, SMN, TCAB1, играют структурную роль, поскольку их деплеция приводит к дезинтеграции ТК. При этом некоторые белки за счет взаимодействия с резидентными белками ТК (например, с тем же коилином) также могут рассматриваться в качестве факторов, регулирующих структурную целостность ТК, хотя сами по себе они не являются компонентами ТК. Кстати, это неудивительно, поскольку, например, большая часть коилина (до 70%) присутствует не в ТК, а за их пределами — в нуклеоплазме (Lam et al., 2002), и необязательно, чтобы партнеры коилина по межмолекулярным взаимодействиям в нормальных условиях сами являлись бы резидентными компонентами ТК.

В качестве примера подобных белков, *не* являющихся резидентами ТК, можно назвать активатор 20S-протеасом PA28γ/REGγ, поддерживающий АТФ- и убиквитин-независимую протеасомную деградацию, а также его регулятор PIP30/FAM192 (подробнее о протеасомной системе и ее компонентах см., например, обзор: Jung et al., 2009). Опыты по иммунопреципитации показали, что в нуклеоплазме присутствуют комплексы PA28γ с коилином, но ни PA28γ сам по себе, ни эти комплексы в нормальных условиях *не* концентрируются в ТК (Ciocco et al., 2006). Наоборот, протеолитически активные комплексы, образованные 20S-протеасомами и PA28γ, в норме являются компонентами ядерных спеклов, демонстрируя полную колокализацию в них с SR-белками, с которыми 20S-протеасомы способны к прямому физическому взаимодействию (Baldin et al., 2008).

Подавление транскрипции с помощью ингибиторов (DRB⁵² или актиномицина D) не влияет на локализацию PA28γ в спеклах, а частичная

⁵² 5,6-дихлоро-1-β-D-рибофуранозилбензимидазол — аналог аденозина, который блокирует транскрипцию на стадии элонгации первичного транскрипта за счет инактивации протеинкиназ, участвующих в фосфорилировании С-концевого домена (CTD) большой субъединицы РНК-полимеразы II.

(примерно 70 %-ная⁵³) деплеция PA28γ с помощью малых интерферирующих РНК (siРНК) влияет на морфологию спеклов, которые заметно увеличиваются в размерах, при этом нарушается внутриядерный транспорт (рекрутирование) SR-белков к участкам транскрипции (Baldin et al., 2008). Кроме того, PA28γ взаимодействует с белком PML, способен накапливаться в PML-тельцах, не влияя на их структурную целостность, хотя при низком уровне PA28γ количество PML-телец в ядре увеличивается (Zannini et al., 2009).

При повышении уровня (сверхэкспрессии) PA28γ существенно возрастает количество существующих *in vivo* стабильных комплексов, образованных коилином и PA28γ, которые концентрируются в спеклах, а ТК (вероятно, ввиду потери коилина) распадаются на мелкие фрагменты (Cioce et al., 2006). Сходный эффект авторы наблюдали и при облучении клеток ультрафиолетом (UV); при этом нокдаун PA28γ примерно на 50% снижал эффект UV-индуцированного разрушения ТК.

На ассоциацию PA28γ с коилином влияет главный регулятор функций PA28γ белок PIP30/FAM192A (Jonik-Nowak et al., 2018) — кофактор, который тесно связывается с PA28γ, способствуя его взаимодействию с 20S-протеасомами. Показано, что деплеция PIP30 приводит к уменьшению среднего количества ТК в ядре, зато в оставшихся ТК необычным образом накапливается PA28γ; при этом PA28γ утрачивает свою типичную локализацию в спеклах. Эксперименты по коиммунопреципитации показали, что деплеция PIP30 усиливает взаимодействие PA28γ с коилином. Таким образом, PIP30 в норме подавляет формирование комплексов PA28γ—коилин. И PA28γ, и его кофактор PIP30 тесно взаимодействуют между собой и оба являются эндогенными регуляторами целостности ТК, не будучи при этом их «каноническими» компонентами.

Возвращаясь к резидентным белковым компонентам ТК, особо можно отметить поли(АДФ-рибоза)-полимеразу 1 (PARP1) и поли(АДФ-рибоза)-гидролазу (PARG). PARP1 — один из ферментов, катализирующих поли(АДФ)-рибозилирование (PARylation) некоторых белков (один из вариантов их посттрансляционных модификаций), используя в качестве источника АДФ-рибозы NAD⁺. PARG служит катализатором гидролиза поли(АДФ-рибозы) (PAR, pADPr). При этом за счет разрушения связей между соседними PAR/ADPr образуется свободная PAR или моно(АДФ-рибоза) (Poltronieri et al., 2021).

Известно более 30 белков, претерпевающих PAR-илирование, и среди них сама PARP1, модификация которой (automodification, autopoly(ADP) ribosylation, autoPARylation) играет роль в регуляции ряда ключевых ядерных процессов, включая, например, репарацию разрывов ДНК, эксцизионную репарацию нуклеотидов, ремоделирование хроматина и регуляцию транскрипции (Ray Chaudhuri, Nussenzweig, 2017). На клетках *Drosophila* показано, что модифицированная форма PARP1 (за счет нековалентных взаимо-

⁵³ Полное отсутствие PA28γ губительно для клетки.

действий с другими PAR-илированными белками) обеспечивает локализацию этих белков в ТК. Если немодифицированная PARP1 ассоциирована с хроматином (а также накапливается в ядрышках), то после само-PAR-илирования она способна связывать коилин и фибрилларин, и эти взаимодействия служат одним из главных факторов, определяющих высвобождение комплексов белок—PAR из хроматина и ядрышек, а также транспорт немодифицированной PARP1 и других PAR-илированных белков в ТК. По-видимому, в ТК происходит рециклирование (гидролиз) этих белков с участием PARG (Kotova et al., 2009). По данным этих авторов, PARP1 является обязательным компонентом не только ТК, но и ТГЛ, поскольку колокализуется не только с коилином, но и с Lsm-11.

В клетках растений взаимодействия между PARP и ТК контролируют клеточный ответ на разные виды абиотического и биотического стресса, включая различные фитопатологии (Love et al., 2017; Taliansky et al., 2023). Приведем лишь некоторые примеры. При заражении табака *N. benthamiana* вирусом розетки арахиса GRV (groundnut rosette virus), который содержит одноцепочечную РНК и принадлежит к семейству умбравирусов, хорошо прослежено участие ТК в клеточном ответе на вирусную инфекцию (Kim et al., 2007). В отличие от большинства вирусов растений этот вирус не образует типичные вирусные частицы, поскольку его РНК не кодирует белки оболочки. Их отсутствие в этом случае компенсируется особым белком ORF3⁵⁴, кодируемым вирусной РНК; в цитоплазме клеток хозяина ORF3 образует с вирусной РНК особые РНП-филаменты, защищая РНК вируса от деградации (Taliansky et al., 2003). Предполагают, что в формировании таких вирусных РНП-филаментов и передаче их на расстояние участвует также фибрилларин, что следует из экспериментов по нокдауну его гена (Kim et al., 2007). В ядре ORF3 локализуется преимущественно в ядрышках. Несмотря на то что ORF3, по сути, не является белком ТК, он оказывает на них прямое влияние в ходе инфекции вирусом GRV, вызывая перераспределение компонентов ТК — коилина и фибрилларина, по-видимому, за счет изменения статуса фосфорилирования коилина, уровня его самоассоциации и взаимодействия с компонентами ядрышка.

Согласно схеме, представленной в одном из обзоров (Love et al., 2017), во время инфекции вирусом GRV белок ORF3 проникает в ядро и связывается с ТК, в результате чего ТК распадается на множественные фрагменты. Они в свою очередь направляются к ядрышку и сливаются с ним. В связывании ORF3 с ТК и преобразовании их в дериваты ТК, а также в слиянии последних с ядрышком, по-видимому, принимают участие белки растения-хозяина. Одним из таких белков является фибрилларин. Он выходит в цитоплазму и способствует накоплению в ней ORF3 и формированию вирусных РНП-комплексов, содержащих кодирующую ORF3 вирусную РНК и сам фибрилларин. После попадания этих комплексов в клетки-спутники

⁵⁴ Open reading frame — открытая рамка считывания; здесь — название белка.

флоэмы (специфической транспортной системы растения, ответственной за транспорт фотоассимилятов и макромолекул) вирусные РНП мигрируют в ситовидные трубки (проводящую систему флоэмы), через которые проникают в остальные части растения, вызывая его системное заражение.

Несмотря на то, что тонкие механизмы взаимоотношений ТК и вирусов, поражающих разные эукариотические клетки, до конца не выяснены и не определено, как разрушение ТК и нарушение функций их компонентов связано с жизненным циклом всевозможных вирусов, для репликации которых необходимо ядро клетки-хозяина, известно, что вирусная инфекция влияет на состояние ТК не только в клетках растений, но и в клетках животных и человека (Lettin et al., 2023). При этом вирусные белки напрямую взаимодействуют с белками ТК клетки-хозяина, что приводит к дезинтеграции ТК или иным патологическим изменениям их.

Так, еще на заре исследований ТК было показано, что инфекция клеток HeLa аденовирусами типов 2 или 5 (Ad2 и Ad5) вызывает дезинтеграцию ТК; при этом вместо нормальных ТК начинают появляться «микротельца» (Revelo et al., 1996) или конгломераты «мелких точечных частиц»⁵⁵ (Rodrigues et al., 1996). Эти наблюдения неудивительны, поскольку состояние ТК напрямую зависит от уровня синтеза пре-мРНК и сплайсинга, а аденовирусы используют молекулярную машинерию сплайсинга клеток-хозяев (Revelo et al., 1996). Аналогичным образом ведут себя ТК клеток млекопитающих и человека в результате инфекции другими вирусами — например, вирусом Зика (Coyaoud et al., 2018) или протопарвовирусом MVM⁵⁶ (Young et al., 2002).

Расщепление ТК на мелкие фрагменты (в любом случае их структурная дезинтеграция) в процессе вирусной инфекции происходит в результате взаимодействия молекул вируса с теми белками ТК, присутствие которых так или иначе (прямо или косвенно) обеспечивает структурную целостность этой ядерной органеллы. Например, элемент TAR (transactivation response RNA element) вируса иммунодефицита человека⁵⁷ взаимодействует TOE1⁵⁸ (Sperandio et al., 2015) — высококонсервативным белком, который локализуется в ТК и взаимодействует с коилином и SMN, за счет чего обеспечивает структурную целостность ТК (Fong et al., 2013). Нокдаун гена, кодирующего TOE1, приводит к снижению интенсивности рекрутирования SMN в ТК (глава 5); при этом ТК исчезают, а вместо них появляются аномальные цитоплазматические участки концентрации SMN. С функциональной точки зрения дефицит TOE1 приводит к нарушению сплайсинга и пролиферации клеток (Fong et al., 2013). Белок TOE1 будет еще упомянут в главе 4 в связи с его участием в процессинге некоторых snсРНК.

⁵⁵ В оригинале: round clusters of many microdots.

⁵⁶ Minute virus of mice; распространен среди лабораторных животных и обладает высокой контагиозностью.

⁵⁷ Human Immunodeficiency Virus (HIV) — название объединяет два вида ретровирусов (лентивирусов), вызывающих синдром иммунодефицита человека (СПИД/AIDS).

⁵⁸ Target of Egr1 (early growth response 1).

Еще одним примером функциональной роли ТК служит инфицирование клеток вирусом Ad5. В клетках, инфицированных этим вирусом, в результате взаимодействия белка L4–22K вируса с коилином происходила дезинтеграция ТК, вследствие чего существенно облегчался экспорт вирусных РНК-транскриптов. Однако деплеция коилина с помощью РНК-интерференции приводила к снижению уровней вирусных белков и самих вирусных частиц (White et al., 2023).

Пожалуй, приведенными примерами ответа ТК на заражение эукариотических клеток вирусами можно ограничиться, хотя, очевидно, они далеко не исчерпывающие. Высказано мнение, что высокая реактивность ТК и динамически ассоциированных с ними структур (ядрышек, телец РМЛ и др.) в ответ на вирусную инфекцию может помочь выявить новые клеточные мишени для разработки противовирусных соединений (Lettin et al., 2023). В этом обзоре авторы одними из первых заострили внимание на ТК как одной из ключевых клеточных мишеней в процессе вирусной инфекции. Очевидно, что их справедливую точку зрения о высокой реактивности ТК в ответ на внешние стимулы можно распространить и на иные патологии.

Вот один из характерных примеров. В клетках колоректальной аденокарциномы (линии HCT116, Сасо-2, HT-29) по сравнению с нормальными клетками толстой кишки человека (NCM460) наблюдаются атипичные ядерные тельца, 73% которых содержат коилин (El Osmani et al., 2024). Вероятно, их можно рассматривать как модифицированные ТК. Эти тельца названы авторами TET1-тельцами (TET1–NBs), поскольку в них концентрируется эпигенетический регулятор транслокации TET1 (ten-eleven translocation protein 1), который инициирует деметилирование ДНК и в результате серии реакций окисления удаляет эпигенетическую метку — 5-метилцитозин (5mC).

Хотя точный механизм концентрации TET1 (как и 5mC) в TET1-тельцах неизвестен, дальнейшие исследования TET1-телец могут открыть новые TET1-зависимые клеточные функции, например, определить роль TET1 в метаболизме РНК и механизмы его взаимодействия с коилином и другими белками ТК. В перспективе это может помочь и в диагностике, и в лечении колоректального рака — третьего по распространенности онкологического заболевания, составляющего 10% от всех случаев рака. В этой связи следует отметить, что взаимодействие TET1–телец с ядерными органеллами модулирует витамин С (El Osmani et al., 2024), который улучшает качество жизни пациентов с колоректальным раком, активируя TET-белки и тем самым снижая уровень 5mC.

1.3.3. Универсальность и консервативность

Клетки определенного типа (например, половые клетки, ранние эмбрионы или нейроны) или клетки, находящиеся в особом цитофизиологическом или цитопатологическом состоянии (некоторые виды стресса, апоптоз и т. д.), часто демонстрируют появление в ядре или цитоплазме *специфических*

безмембранных органелл. Если в клетках различного происхождения присутствуют сходные по молекулярному составу и функциям органеллы одного типа, то можно говорить об их *универсальности*. Возможность обнаружения органелл одного типа в клетках филогенетически далеких друг от друга организмов подразумевает еще и их *эволюционную консервативность*. Таким образом, ТК и ТГЛ следует рассматривать как универсальные и эволюционно консервативные ядерные органеллы, поскольку они описаны в клетках разных тканей беспозвоночных и позвоночных животных, а также в клетках растений. Вместе с тем «универсальность» никогда не бывает абсолютной. Ни одна ядерная органелла не присутствует абсолютно во всех типах клеток. Не является исключением даже ядрышко (Davidian et al., 2021), самая известная ядерная органелла, отличающаяся особой «универсальностью» и «эволюционной консервативностью».

Тельца Кахаля также обнаруживаются не во всех типах клеток. Как уже было сказано, они формируются в ответ на специфические потребности клетки — уровень метаболизма и процессинга пре-мРНК. В большинстве клеток присутствие ТК, а также их количество и размеры демонстрируют положительную корреляцию с уровнем таких процессов, как транскрипция, сплайсинг пре-мРНК, синтез и процессинг snРНК, включая snРНК сплайсинга (Sleeman et al., 2001; Lemm et al., 2006). В ТК-содержащих клетках вокруг ТК могут физически кластеризоваться некоторые гены (Wang et al., 2016) — прежде всего это гены snРНК, активность которых вносит весомый вклад в формирование ТК на определенных стадиях клеточного цикла, при специфических потребностях клетки, каких-либо внешних стимулах или стрессе (Dundr, 2012).

Некоторые хромосомы (например, хромосомы 1, 6 и 17 человека) по сравнению с другими хромосомами (например, с хромосомами 2, 7 и 18, имеющими сходный размер) обычно демонстрируют более высокую локальную плотность генов-мишеней ТК. Соответственно эти хромосомы наиболее часто связаны с ТК (Sawyer et al., 2017). По-видимому, расположение транскрипционно активных генов-мишеней ТК близко друг к другу может иметь значение для инициации формирования ТК. Однако некоторые гены, кодирующие малые РНК, присутствуют и на других хромосомах, которые ассоциируют с ТК в меньшей степени.

Разрушение ТК снижает интенсивность сплайсинга пре-мРНК, поскольку снижается уровень транскрипции генов snРНК и сборки сплайсосомных snРНК. Таким образом, существует очевидная корреляция между интенсивностью сплайсинга пре-мРНК в клетках, имеющих в нем высокую потребность (например, в нейронах или клетках опухолей), и формированием ТК в ядре таких клеток. По образному определению, сделанному в одной из работ (Sawyer et al., 2017), появление ТК связано с «девятым валом» высоких локальных пороговых концентраций ключевых факторов, имеющих отношение к экспрессии конкретных генов, обладающих высокой транскрипционной активностью.

Другими факторами, регулирующими формирование ТК, являются биохимические (посттрансляционные) модификации их ключевых структурных белков, прохождение клеточного цикла и специфические метаболические потребности клетки.

Для трансформированных клеток, которые испытывают большую потребность в продукции snРНК и сплайсинге пре-мРНК по сравнению с нормальными первичными клетками взрослого организма, присутствие ТК будет характерно в наибольшей степени. Сравнительное исследование разных клеточных линий показало, что, например, в культурах первичных фибробластов легкого человека линий WI-38 и MRC-5 только 2–3% клеток содержат ТК по сравнению с 81% клеток рака шейки матки (HeLa) и 99% клеток линии HL-60, полученных от пациента с острым промиелоцитарным лейкозом (Spector et al., 1992). При этом в нетрансформированных клетках, если ТК присутствуют, они обычно существенно мельче, а количество их значительно меньше, чем в трансформированных клетках.

Как отмечено, в трансформированных клетках развитие ТК повышает эффективность метаболизма (биогенеза) snРНК и сплайсинга пре-мРНК соответственно, а также увеличивает эффективность формирования scaРНК — ключевых факторов процессинга snРНК. Эффективность этих процессов обеспечивают взаимодействия коилина с другими белками ТК, вовлеченными в процесс трансформации клеток, — такими как SMN и TCAB1 (Sleeman et al., 2001; Mahmoudi et al., 2011). При этом общий уровень коилина в трансформированных клетках выше по сравнению с первичными клетками (Enwere et al., 2014). Соответственно повышается и эффективность молекулярных взаимодействий между коилином и scaРНК.

Противоречивы данные о присутствии ТК в ядрах недифференцированных клеток. Например, в ядрах эмбриональных стволовых клеток мыши на микроскопическом уровне ТК не выявляются (Quinodoz et al., 2021). Наоборот, в эмбриональных (Underwood et al., 2017) и мезенхимных стволовых клетках человека (Боголюбова и др., 2018) с помощью электронной микроскопии были обнаружены немногочисленные морфологически оформленные тельца, по своей ультраструктурной морфологии напоминающие типичные ТК. Однако точная их идентификация не была проведена.

Практически полное *отсутствие* ТК демонстрируют некоторые высокоспециализированные клетки млекопитающих, такие как гладкомышечные клетки, кардиомиоциты, клетки кровеносных сосудов, желудка и селезенки, и это характерно для разных видов, включая кролика, свинью и человека, то есть является эволюционно консервативным признаком, по крайней мере в отношении млекопитающих (Young et al., 2000). Следует заметить, что, несмотря на отсутствие морфологически оформленных ТК, белки ТК (например, коилин) экспрессируются⁵⁹ в таких клетках.

⁵⁹ Я оставляю за скобками (специалистам-лингвистам) дискуссионный вопрос относительно того, следует ли использовать слово «экспрессия» только в устойчивом словосочетании «экспрессия генов» или его можно употреблять и по отношению к белкам — продуктам генов. Интернет-

Однако если высоким уровнем активности в отношении транскрипции и сплайсинга обладают специализированные *нетрансформированные* клетки, то для таких клеток присутствие ТК будет так же характерно, как и для трансформированных. Примером в первую очередь могут служить нейроны позвоночных (Lafarga et al., 2017), в которых, собственно, ТК и были открыты (Cajal, 1903, 1910). С одной стороны, процесс дифференцировки нейронов требует высоких уровней синтеза snРНК и рециклирования snРНК, а также компонентов, обеспечивающих эти процессы после каждого раунда сплайсинга (Navascues et al., 2004). Например, самые высокие показатели альтернативного сплайсинга у человека имеют нейроны головного мозга (Yeo et al., 2004), и потому присутствие в них заметных ТК является закономерным ответом на высокие потребности клетки в сплайсинге пре-мРНК. С другой стороны, присутствие больших количеств ТК в не способных к делению дифференцированных нейронах предполагает наличие факторов, специфичных для каждого типа нейрональных клеток, которые могли бы негативно или позитивно регулировать олигомеризацию компонентов ТК, лежащую в основе формирования ТК. Такими факторами могут быть, например, фактор роста нейронов (NGF) (Janevski et al., 1997) или фактор роста фибробластов (FGF) (Förthmann et al., 2013).

Вместе с тем высокая/низкая метаболическая активность клетки не всегда является однозначным показателем присутствия/отсутствия ТК или ТК-подобных органелл. Даже в нейронах некоторых типов появление ТК характеризует их метаболически *неактивные* стадии. Примером служат нейроэндокринные нейроны палеомигдалы (филогенетически древней части миндалевидного комплекса головного мозга) взрослых крыс, которые проходят функциональные стадии покоя, умеренной активности, повышенной активности, напряжения, снижения активности и возврата к исходному состоянию. Электронно-микроскопическое исследование (Ахмадеев, Калимуллина, 2012) показало, что в этих нейронах подобные ТК ядерные тельца обнаруживаются только на стадии «возврата к исходному состоянию», которая характеризует завершение функциональной активности этих нейронов и сопровождается фрагментацией ядрышек и блокадой синтеза белка. Такие ядерные тельца имели размер 0.4–0.5 мкм и характерную для ТК ультраструктуру, представленную перекрученными электронно-плотными тяжами толщиной 40–60 нм. Вместе с тем в отсутствие дополнительных исследований остается неизвестным, насколько эти ядерные тельца соответствуют типичным ТК во всех отношениях.

В некоторых клетках, метаболическая активность которых заметно снижена в результате воздействия низких температур (Carmo-Fonseca et al.,

ресурс (электронный словарь) Multitran (<https://www.multitran.com/>) дает определение: expression (англ.) — выражение [к.-л. признака] (общ., мед.), биосинтез (мед.). В последнем случае дано пояснение: напр., белка или других веществ; слово «экспрессия» относится только к генам — экспрессия гена, но не к продуктам синтеза. Однако выражение «экспрессия белка», как калька с английского, в значении «уровень белка» получило настолько широкое распространение в литературе, что не остается ничего другого, как признать его валидность.

1993), в частности у животных (например, орешниковой сони *Muscardinus avellanarius*) в состоянии глубокой спячки (Malatesta et al., 1994), наблюдаются весьма заметные ядерные органеллы, содержащие некоторые ключевые компоненты ТК, такие как коилин и snРНП. Кроме того, известно множество примеров формирования разнообразных органелл, содержащих компоненты ТК, в ооцитах беспозвоночных (например, некоторых насекомых) в тех случаях, когда в конце диплотены профазы мейоза наиболее выражена физиологически детерминированная инактивация транскрипционной активности ядра, связанная с особенностями оогенеза (Bogolyubov, Parfenov, 2008). Нередко такие структуры сравнивают с ТК, но на самом деле вряд ли они по своим функциям идентичны «каноническим» ТК трансформированных и нетрансформированных соматических клеток млекопитающих, которые характеризуются активной экспрессией генов.

Потребность клетки в морфологически оформленных ТК не является абсолютной. Обычно клетки, в которых в норме присутствуют ТК, выживают в их отсутствие — например, при нокауте генов, кодирующих структурные белки ТК, или у мутантов. Причем это касается как животных (Tucker et al., 2001; Walker et al., 2009; Liu et al., 2009; Chen et al., 2015), так и растений (Collier et al., 2006). Лишь в некоторых исключительных случаях (например, в ходе эмбриогенеза аквариумной рыбки-зебры *Danio rerio*) отсутствие функциональных ТК препятствует завершению процесса эмбрионального развития и приводит к гибели эмбрионов на ранних стадиях (Strzelecka et al., 2010b).

Причина, по которой клетки выживают без ТК, вероятно, связана с тем, что все реакции и межмолекулярные взаимодействия, которые обычно осуществляются в ТК, могут происходить между молекулами, свободно диффундирующими в нуклеоплазме, хотя эффективность этих реакций/взаимодействий обычно снижена (Massenet et al., 2017; Meier, 2017). Высокоточный метод полногеномного картирования взаимодействий РНК–РНК и РНК–ДНК в трехмерном объеме клеточного ядра (RNA&DNA SPRITE, RD-SPRITE — split-pool recognition of interactions by tag extension) позволил выявить области локальной концентрации (хабы, hubs) snРНК и scaРНК в тех клетках (эмбриональных стволовых клетках мыши), в которых ТК не выявляются на микроскопическом уровне с помощью традиционных методов. С функциональной точки зрения такие «хабы» вполне соответствуют морфологически оформленным ТК (Quinodoz et al., 2021). Здесь для сравнения можно вспомнить об упомянутых ранее биоконденсатах, связанных с транскрипцией (Sharp et al., 2022), которые не выявляются на микроскопическом уровне.

1.3.4. Динамика

Тельца Кахаля — высокодинамичные структуры. Эта динамичность проявляется в ходе клеточного цикла, в ответ на внешние стимулы (воздействия), при изменении функционального (метаболического) статуса клетки — как

на уровне отдельных компонентов и/или их комплексов, так и на уровне органеллы в целом.

При экспериментальном подавлении ключевых функций клетки, связанных с экспрессией генов, таких как транскрипция, ядерный экспорт РНК, а также при подавлении активности киназ и фосфатаз (Hebert, 2010), обычно наблюдают разрушение ТК. Оно сопровождается перераспределением их компонентов в другие участки ядра, не характерные для обычной их локализации (эктопические). Это могут быть отличные от ТК ядерные органеллы, в которых в норме компоненты ТК отсутствуют. Например, в течение нескольких часов после применения ингибиторов транскрипции — α -аманитина, DRB или актиномицина D — происходит дезинтеграция ТК, а коилин начинает локализоваться в перинуклеолярном компартменте (Kawaguchi et al., 2015) или в самом ядрышке (Raška et al., 1990).

Однако стоит отметить, что такие не характерные для ядрышка белки, как, например, коилин, могут оказаться в ядрышке не только при экспериментальном подавлении транскрипции, приводящем к дезинтеграции ТК, но и в особых естественных условиях. Так, коилин выявляется в амплифицированных ядрышках *поздних* ооцитов травяной лягушки *Rana temporaria* (Цветков и др., 2002), для которых в конце оогенеза характерно общее затухание хромосомной транскрипции при сохранении остаточной транскрипции рДНК в ядрышке. Заметный уровень коилина демонстрируют ядрышки нейронов черного вещества (*substantia nigra*) головного мозга человека — вероятно, как следствие возрастных изменений у конкретных индивидуумов, которые не имеют пока других проявлений на тканевом и клеточном уровнях (Гусельникова и др., 2020). Наконец, в некоторых случаях экспериментальное подавление транскрипции не приводит к исчезновению существующей безмембранной органеллы, но вызывает существенную перестройку ее структуры и изменение молекулярного состава. Так происходит, например, в случае своеобразных коилинсодержащих ядерных тел (Binnenkörper) ооцитов домового сверчка *Acheta domesticus* (Stepanova et al., 2007), которые будут специально упомянуты в разд. 8.3.1.

К обратимому разрушению ТК приводит подавление не только транскрипции, но и синтеза белка. Например, через 2 ч после воздействия на клетки HeLa ингибитором анизомицином⁶⁰ количество ТК уменьшалось наполовину, а через 4–5 ч уже примерно 70% клеток не содержало ТК. Сходный эффект наблюдали и при аденовирусной инфекции, которая подавляет синтез белка в клетке-хозяине (Rebelo et al., 1996). Однако важно отметить, что в этих условиях в ядре не изменяются ни уровень коилина, ни статус его фосфорилирования.

К разрушению (фрагментации) ТК и частичной перестройке ядерной архитектуры приводят и другие внешние стимулы — например, клеточный (генотоксический) стресс, вызванный UV-облучением (Cioce et al., 2006).

⁶⁰ Антибиотик, ингибитор белкового синтеза, вырабатываемый *Streptomyces griseolus*.

Через 6 ч после облучения нетрансформированных и трансформированных соматических клеток разных линий (при длине волны 254 нм и мощности 30 Дж/м²) вместо типичных ТК в ядре появляются сотни мелких коилин-позитивных точек — «остаточных ТК». При этом значительная часть коилина перераспределяется в ядерные спеклы, которые, как известно, в норме коилина не содержат. Параллельно с этим белок SMN и ассоциированный с U6 snРНП белок SART3 демонстрируют диффузное распределение в нуклеоплазме, а TMG-кэпированные snРНК⁶¹, как и коилин, локализуются в спеклах.

Интересно, что UV-облучение не вызывает перераспределения в ядре NPAT — компонента ТГЛ, а также фибрилларина и NOLC1 — ядрышковых компонентов ТК. Действие UV на клетки обратимо, по крайней мере частично, поскольку нормальное распределение коилина восстанавливается примерно в 40% облученных клеток в течение 10–12 ч. В части клеток через 8–12 ч после UV-облучения формируются коилинсодержащие перинуклеоларные «шапочки» (Ciocce et al., 2006). Несмотря на то что UV-облучение влияет на транскрипцию, авторы исследования отмечают, что в основе UV-индуцированного разрушения ТК лежат иные механизмы, нежели при непосредственном подавлении транскрипции с помощью ингибиторов.

Динамическая зависимость количества ТК от функциональной активности клетки прослежена в ходе наблюдений за эмбриогенезом рыбки *D. rerio* с помощью прижизненной микроскопии (Strzelecka et al., 2010a). В быстро развивающихся эмбрионах *D. rerio* в течение первых 24 ч эмбрионального развития в ядрах присутствует до 30 ТК, которые разрушаются во время митоза и формируются *de novo* в дочерних клетках. При этом сборку ТК и поддержание их морфологической целостности определяет интенсивный метаболизм snРНП в ходе активации генома эмбриона *D. rerio*. При дифференцировке эмбриональных клеток в мышечные клетки, нейроны или клетки эпидермиса достигается равновесное количество ТК — примерно 2 на ядро.

Наиболее ярко динамичность ТК проявляется в ходе клеточного цикла. В интерфазе и начале митоза ТК остаются морфологически не измененными, однако после резорбции ядерной оболочки они физически отделяются от конденсированных хромосом, «рассыпаются» на мелкие части, рассредоточенные по цитоплазме. Эти фрагменты сохраняются в виде «остаточных митотических тел» (митотических ТК), содержащих молекулярные компоненты ТК в неактивном состоянии. Митотические ТК довольно равномерно распределяются между дочерними клетками во время деления (Carmo-Fonseca et al., 1993; Ferreira et al., 1994). Известно, что во время митоза изменяется статус фосфорилирования коилина — одного из структурных компонентов ТК. Считают, что именно оно регулирует сборку и поддержание стабильности ТК после митоза (Hebert, 2013).

⁶¹ Функциональные snРНК, содержащие на 5'-конце триметилгуанозиновый (TMG, m₃G) кэп; подробнее см. главу 3.

Молекулярный состав митотических ТК отличается от состава ТК в интерфазе. Например, в митотических ТК отсутствует один из ключевых компонентов интерфазных ТК белок TCAB1 (Vogan, Collins, 2015), который, как уже отмечено, служит одним из главных «посредников», обеспечивающих межбелковые взаимодействия, а также взаимодействия между белками и специфическими РНП.

Когда в дочерних клетках на стадии поздней телофазы формируется ядерная оболочка, митотические ТК быстро разрушаются, а коилин диффундирует в нуклеоплазме. Формирование *de novo* постмитотических ТК происходит в поздней фазе G1 у определенных генных локусов, после того как полностью устанавливается транскрипционно активный статус ядра. Новообразованные ТК снова начинают поддерживать с этими генными локусами тесную связь. Эффективная сборка ядерных органелл обеспечивает полную функциональность дочерних клеток.

Проведенный *in vivo* анализ кинетики 14 ключевых компонентов ТК, принадлежащих к нескольким разным функциональным группам соединений (включая факторы сплайсинга пре-мРНК, процессинга пре-рРНК и метаболизма snoРНК), выявил 3 группы белков, отличающихся по скорости прохождения через ТК (Dundr et al., 2004). Данное исследование было проведено с помощью методики iFRAP (inverse fluorescence recovery after photobleaching), когда в отличие от стандартной процедуры FRAP фотообесцвечивается все ядро, исключая небольшую область интереса. По данным авторов, помимо коилина, время нахождения которого в ТК составляет 2–3 мин и более, наибольшее время локализации в ТК демонстрируют SMN, гемин-3 и триметилгуанинсинтаза TGS1⁶², являющиеся одними из главных резидентных белков ТК. В другую группу авторы отнесли компоненты snoРНП: фибрилларин — компонент snoРНП класса C/D; GAR1 — компонент snoРНК класса H/ACA; NOLC1 — шаперон snoРНП обоих классов⁶³. Кроме того, в эту группу молекул, у которых скорость прохождения через ТК оказалась заметно выше по сравнению с коилином или SMN-ассоциированными белками, попадают Sm-белки, составляющие коровую часть сплайсосомных snРНП (в частности SmB и SmD1). Наибольшую скорость прохождения ТК продемонстрировали белки третьей группы, к которой относится SART3 — фактор сборки U4/U6 di-snРНП сплайсосом.

В другой работе, выполненной примерно в то же время (Sleeman et al., 2003), в ходе которой была использована стандартная процедура FRAP, сообщалось, что скорости прохождения коилина и SMN через ТК существенно различаются и SMN возвращается в ТК почти в 50 раз медленнее, чем коилин. Это расхождение, вероятно, объясняется особенностями использованных методик. Кинетика восстановления флуоресценции при использовании FRAP (но не iFRAP) чувствительна к объему нуклеоплазматиче-

⁶² Подробнее о TGS1 см. главу 3; о ее локализации в ТК — разд. 4.3.

⁶³ Классификация, молекулярный состав и метаболизм snoРНП рассмотрены в главе 4.

ского пула молекул, не подвергшихся фотообесцвечиванию, что может привести к недооценке кинетики обмена при использовании классической техники FRAP (Dundr et al., 2004).

Эксперименты по восстановлению флуоресценции GFP–фибрилларина после фотообесцвечивания показали высокую мобильность фибрилларина как в ТК, так и в ядрышке (коэффициент диффузии $D \approx 0.02$ мкм²/с); при этом доля мобильной фракции GFP–фибрилларина в ТК была больше, чем в ядрышке: 84 vs. 53% (Snaar et al., 2000).

Исследования, основанные на сочетании CRISPR–Cas9–опосредованного редактирования генома с наблюдениями за поведением единичных молекул *in vivo* (Schmidt et al., 2016), показали высокую скорость диффузии в ядре теломеразы — еще одного знакового и значимого компонента ТК (глава 6). В определенный момент времени только небольшая популяция ($\approx 14\%$) TERT — обратной транскриптазы, входящей в состав теломеразных РНП-частиц, взаимодействует с ТК и демонстрирует при этом низкий коэффициент диффузии ($D \approx 0.01$ мкм²/с). В то же время примерно 50% молекул TERT в клетке не связано с РНП (Xi, Cech, 2014). Эта быстро диффундирующая популяция TERT ($D \approx 1.3$ мкм²/с) не взаимодействует с ТК (Schmidt et al., 2016). Наоборот, медленно диффундирующая популяция TERT ($D \approx 0.3$ мкм²/с) содержит теломеразную РНК (TR). Вблизи ТК ее коэффициент диффузии существенно снижается, достигая значений $D \approx 0.01$ мкм²/с. Это доказывает связь TERT с ТК, которая, как показано ранее (Venteicher et al., 2009), требует ассоциации с TR белка TCAB1. Следует подчеркнуть, что при наблюдении фиксированных клеток, когда свободно диффундирующие молекулы либо отмываются, либо воспринимаются как фон и большая часть теломеразы обнаруживается в связи с ТК и теломерами, важная информация о кинетике макромолекул может быть потеряна (Schmidt et al., 2016).

1.4. ОТКРЫТИЕ И ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ

Кратко остановимся на истории открытия ТК (об идентификации ТГЛ речь пойдет в главе 7). Этапы раннего развития клеточной биологии, в том числе связанные с исследованием ядерных структур, прекрасно проиллюстрированы в атласе (Gall, 1996). В этом поистине уникальном издании (к сожалению, малодоступном в России) приведены репродукции оригинальных иллюстраций с авторскими комментариями, которые свидетельствуют о том, что многие результаты, полученные еще в конце XVIII — первом 10-летию XX вв., не потеряли значимости и теперь, получив развитие в научных представлениях конца XX — начала XXI вв.

Во второй половине XVIII в., когда отсутствовали понятия ядра и клетки, было открыто ядрышко (Fontana, 1781; цит. по: Raška et al., 2006) — наиболее известная и морфологически заметная ядерная органелла. В 1835 г.,

в период становления клеточной теории, ядрышко было «переоткрыто» немецким анатомом Вагнером (R. F. J. H. Wagner, 1805–1864). Почти одновременно, в 1836 г., оно также было описано немецким физиологом Валентином (G. G. Valentin, 1810–1883). После этого термин «ядрышко» окончательно закрепился в науке (Morimoto, Voerkoel, 2013). Ядро как таковое было открыто в первой трети XIX в. чешским анатомом и физиологом Пуркинью (J. E. Purkyně, 1787–1869) в ооцитах курицы (Purkině, 1830; цит. по: Gall, 1996) и названо зародышевым пузырьком (*orig. lat. vesicula germinativa, angl. germinal vesicle, GV*)⁶⁴. Однако на самом деле ядра наблюдали и более ранние микроскописты, начиная с Левенгука, но детальное их описание в клетках орхидей в 1831 г., как и сам термин «ядро», принадлежит Броуну (R. Brown, 1773–1858).

После окончательного утверждения клеточной теории началось бурное развитие микроскопической техники, что в частности привело к повышенному вниманию морфологов клетки к внутриядерным структурам. Например, уже в конце XIX в. существовали весьма точные описания морфологических особенностей и динамики ядрышка, сделанные на основании сравнительного анализа клеток протистов, многоклеточных животных и растений (Montgomery, 1898). В этой сравнительно-морфологической работе, более чем за 100 лет до утверждения современного представления о безмембранных органеллах (биомолекулярных конденсатах), формирующихся в результате разделения на фазы внутренне неупорядоченных белков в условиях макромолекулярного краудинга, уже была предсказана природа ядрышек как способных к слиянию «капель вязко-тягучей жидкости».

Открытие ТК также связано с интенсивным развитием классической микроскопии и морфологии в начале XX в. и принадлежит выдающемуся испанскому нейрофизиологу, врачу и гистологу Кахалю (Santiago Ramón y Cajal, 1852–1934), лауреату Нобелевской премии (1906), которой он был удостоен «в знак признания работ по строению нервной системы». Эта премия была присуждена Кахалю совместно с Гольджи (Camillo Golgi, 1843–1926), в честь которого в 1913 г. была названа известная всем цитоплазматическая органелла — комплекс (аппарат) Гольджи. Открытые же Кахалем ядерные структуры получили свое нынешнее название — тельца Кахаля (Cajal bodies) — в честь своего первооткрывателя только в самом конце XX в. (Gall et al., 1999; Gall, 2000).

Неоценимому вкладу Кахаля в исследования ядерных органелл нейронов посвящены специальные обзоры (Lafarga et al., 2009, 2017), богато проиллюстрированные оригинальными рисунками Кахаля и соответствующими

⁶⁴ И сам термин «зародышевый пузырек», и аббревиатура GV, и понятие GVBD (*germinal vesicle breakdown*) — разборка ядерной оболочки по завершении профазы мейоза, оказались весьма «живучими»: вот уже без малого 200 (!) лет они используются применительно к ядру диплоидных ооцитов (насекомых, амфибий, рептилий и млекопитающих, включая человека) и понятны любому современному эмбриологу-клиницисту. Зародышевый пузырек — самый старый, используемый по сей день термин клеточной биологии; как видим, он старше терминов «ядро» и «клетка».

изображениями, полученными в наше время. В своих экспериментах Кахаль вначале адаптировал разработанную Гольджи методику импрегнации тканей азотнокислым серебром, позволявшую выявлять аксоны и дендриты, а затем разработал собственную двухступенчатую (упрощенную) методику серебрения, позволившую селективно выявлять ядерные структуры. На рубеже XIX–XX вв. он с необыкновенной точностью описал, например, фибриллярные центры ядрышка, ядерные спеклы, участки транскрипционно активного хроматина. Что касается последних, в свете современных представлений о транскрипционных биоконденсатах (Sharp et al., 2022) не их ли описывал Кахаль? Хотя на его рисунках мы видим довольно крупные «сгустки», микроскопически визуализируемые структуры, нежели миниатюрные транскрипционные биоконденсаты, это не исключено, поскольку задолго до появления электронного микроскопа на рисунках Кахалья уже была обозначена, например, ядерная оболочка в виде двойной мембраны, которая не визуализируется с помощью световой микроскопии!

Что касается телец, которые мы теперь знаем как ТК, сначала в кратком сообщении (Cajal, 1903), а затем в развернутой монографии, посвященной специально ядру пирамидальных нейронов (Cajal, 1910), среди разных ядерных структур Кахаль описал особые сферические тельца, которые иногда располагались вблизи ядрышка, но обычно лежали на некотором расстоянии от него. По наблюдениям Кахалья, размеры этих структур (в среднем около 0.5 мкм в диаметре) и количество (1–3 на ядро) зависят от типа нейрона. Это важное и актуальное наблюдение.

Такие тельца Кахаль назвал акцессорными, или добавочными, тельцами (*ориг. исп.* cuerpo accesorio; *англ.* accessory bodies), поскольку они, хотя и располагались иногда вблизи ядрышек, существенно отличались от них по характеру серебрения и другим морфологическим признакам. Кахаль отметил, что акцессорные тельца могут быть выявлены с помощью разных методик, однако фиксации тканей щелочными фиксаторами, препятствующими серебрению ядрышка, не влияют на степень серебрения таких телец. Из этого наблюдения он сделал важный вывод о том, что акцессорные тельца — особые структуры, отличающиеся от ядрышек. Из пионерских работ Кахалья также следует вывод об универсальности «акцессорных телец», поскольку он обнаружил их в ядрах клеток разных типов: нейронов коры головного мозга и мозжечка, сенсорных ганглиев, обонятельной луковицы и сетчатки; более того — у разных видов млекопитающих: мыши, кролика, кошки, собаки и человека.

Надо сказать, что помимо «акцессорных телец» Кахаль открыл и другие, не менее известные теперь ядерные органеллы. Например, ядерные спеклы, которые он, правда, неудачно назвал тогда гиалиновыми сгустками (*исп.* grumos hialinos), что не отражает их природу, — и потому открытие спеклов (КИГ) не всегда связывают с именем Кахалья.

Во всем мире Кахалья по праву считают «отцом современной нейробиологии» (DeFelipe, 2002; цит. по: Lafarga et al., 2017), однако на открытые им

ядерные структуры нейронов исследователи долгое время обращали мало внимания. Лишь спустя примерно полвека наблюдения, сделанные Кахалем с помощью методик серебрения, были подтверждены в цитохимических исследованиях, проведенных на нейронах из разных участков нервной системы кошки (Haggag, 1957). В частности, было обнаружено, что при хроматолизе нейронов в ответ на повреждение подъязычного нерва акцессорные тельца заметно уменьшаются в размерах, что наводило на мысль об определенной их роли в цитофизиологии клетки. Кроме того, в ходе сравнительного анализа нейронов из 15 различных участков нервной системы было отмечено, что 8% акцессорных телец обнаруживаются в ассоциации с ядрышком, 65% присутствуют свободно в нуклеоплазме, а 2% прилежат к ядерной оболочке (Thompson et al., 1957). В этой работе впервые сообщено о том, что «акцессорные тельца» не окрашиваются с помощью реакции Фёльгена — следовательно, они не содержат ДНК. Спустя 10 лет эти результаты были подтверждены (Nayyar, Barr, 1968), однако авторы, к сожалению, не смогли с помощью окрашивания метиловым зеленым — пиронином G обнаружить в их составе РНК; вероятно, потому, что концентрация РНК в ТК существенно ниже, чем в ядрышке⁶⁵.

В 1960–80-е гг. в цитологических исследованиях наступил «золотой век» электронной микроскопии. В этот период появилось множество работ, в которых авторы описывали разнообразные «тельца» и «включения» в ядрах клеток разных типов у разных организмов — как животных, так и растений. Такие тельца нередко называли «ядрышкоподобными» из-за их фибриллярно-гранулярной ультраструктуры, но редко сравнивали с «акцессорными тельцами», открытыми Кахалем на светооптическом уровне.

Важной вехой на пути изучения ядерных структур, положившая начало современной биологии клеточного ядра, явилась разработка методики селективного выявления ДНК- и РНК-содержащих компонентов ядра на ультраструктурном уровне (Bernhard, 1969). Эта методика основана на способности этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA) к регрессивному контрастированию ДНК-содержащего материала на обработанных уранилацетатом ультратонких срезах. При последующем стандартном контрастировании цитратом свинца только РНК-содержащий материал становится контрастным, а ДНК-содержащие структуры (блоки гетерохроматина) теряют контраст и под электронным микроскопом выглядят как бы отбеленными.

В результате использования методики регрессивного контрастирования по Бернару были впервые описаны или заново «открыты» некоторые ключевые структуры ядра соматических клеток млекопитающих: перихроматиновые гранулы, перихроматиновые фибриллы, КИГ, а также тельца, названные за свою характерную ультраструктуру «скрученными тельцами» —

⁶⁵ По собственным наблюдениям, относительно крупные ТК-подобные ядерные органеллы в ооцитах некоторых насекомых (жуков-тенебрионид), в которых ядрышки отсутствуют, прекрасно окрашиваются пиронином (на свежеприготовленных нефиксированных препаратах).

coiled bodies⁶⁶ (Monneron, Bernhard, 1969). Размер последних в разных клетках млекопитающих составлял в среднем 0.3–0.5 мкм и редко превышал 1 мкм. На ультратонких срезах они выглядели как перерезанные клубки электронно-плотных перекрученных тяжей (coiled threads). Предложенное название coiled bodies (CBs) просуществовало до рубежа XX–XXI вв.

К сожалению, авторы (Monneron, Bernhard, 1969) не обратили внимания на то, что «открытые» ими coiled bodies морфологически идентичны «аксессуарным тельцам» нейронов тройничного нерва крысы, ультраструктура которых была подробно описана в статье, опубликованной в том же году (Hardin et al., 1969). В этой работе тоже было показано, что «аксессуарные тельца» не однородны по ультраструктуре, а состоят из электронно-плотных перекрученных тяжей. Кроме того, было отмечено, что те тельца, которые в виде «шапочек» связаны с периферией ядрышка и потому названные в этой работе *парануклеоллярными*⁶⁷, по морфологическим признакам не отличаются от «аксессуарных телец», лежащих свободно в нуклеоплазме. Из-за этого создавалось впечатление, что такие тельца формируются за счет фибриллярного материала ядрышка. Теперь мы знаем, что это не так, но динамика ядерных телец вообще не может быть прослежена с помощью электронной микроскопии. Позднее, кстати, было обнаружено, что подобного рода тельца физически связаны с ядрышком и в клетках растений (Chamberland, Lafontaine, 1993).

В некоторых ранних электронно-микроскопических работах, относящихся к началу 1980-х гг. и выполненных на нейронах позвоночных (Hervás et al., 1980; Lafarga et al., 1983), включая статью, опубликованную в специальном сборнике, посвященном вкладу Кахаля в нейробиологию (Lafarga, Hervás, 1983), уже содержались прямые и однозначные указания на то, что coiled bodies Бернара и «аксессуарные тельца» Кахаля — одни и те же структуры, по крайней мере в нейронах (Lafarga et al., 2009).

В начале 1990-х гг., примерно через 20 лет после описания coiled bodies, в истории их изучения произошло важное событие — открытие белка коилина, что нашло отражение в двух основополагающих публикациях (Andrade et al., 1991; Raška et al., 1991). Сначала были охарактеризованы антитела, специфически распознающие coiled bodies на световом и ультраструктурном уровнях, а затем белок, отвечающий за эту реакцию, был изолирован, клонирован и назван р80-коилином (глава 2). С тех пор коилин стали считать маркерным белком coiled bodies, а количество работ по исследованию этих ядерных телец спустя 1–2 года резко возросло (рис. 7).

Вскоре ортолог коилина был идентифицирован у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (Tuma et al., 1993). Кроме того, оказалось, что антитела к р80-коилину человека специфически метят характерные ядерные структуры в клетках некоторых насекомых (Gall et al., 1995), несмотря на то что идентификация

⁶⁶ В русскоязычной литературе не было единства в переводе термина «coiled bodies»: разные авторы называли их «скрученными», «спиральными», «спиралевидными», «клубочковыми» и т. д.

⁶⁷ Не путать с *перинуклеоллярным* компартментом (Huang, 2000).

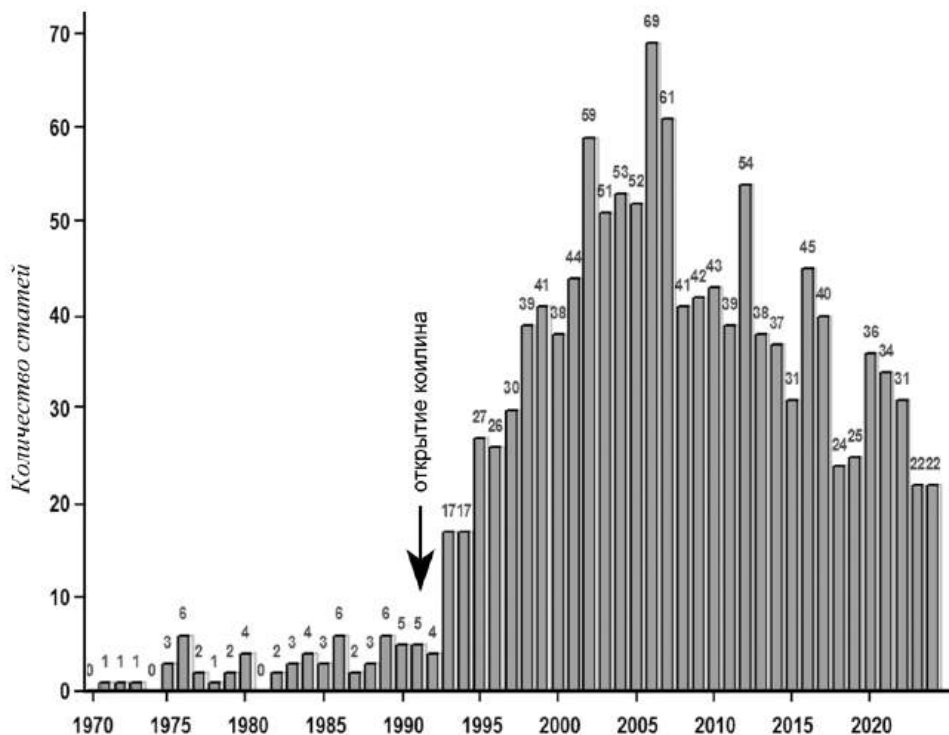


Рис. 7. Рост количества публикаций, имеющих отношение к исследованию телец Кахаля (coiled bodies), после открытия коилина (по данным PubMed)

коилина у беспозвоночных, включая *Drosophila melanogaster*, долгое время встречала известные трудности (Liu et al., 2009). Антитела к коилину человека также специфически метили определенные ядерные тельца в клетках растений, а именно гороха *Pisum sativum* (Beven et al., 1995).

Так постепенно становилось ясным, что coiled bodies Бернара, они же «аксессуарные тельца» Кахаля, — универсальные и эволюционно консервативные ядерные органеллы, которые, несмотря на определенные морфологические различия, могут характеризовать коилинсодержащие структуры в клетках, отличных от соматических клеток млекопитающих (Gall et al., 1995). Для объединения таких структур в одну категорию и учитывая, что в честь Гольджи, разделившим с Кахалем Нобелевскую премию, уже названа цитоплазматическая органелла, для «достижения соответствующей симметрии» американский цитолог и эмбриолог Джозеф Голл (Joseph G. Gall, 1928—2024), всемирно известный разработкой метода гибридизации нуклеиновых кислот *in situ* (см. обзор: Gall, 2016) и амплификации рибосомных генов в ооцитах (Gall, 1978), предложил назвать «в равной степени важную» ядерную органеллу тельцем Кахаля в честь ее первооткрывателя (Gall et al.,

1999; Gall, 2000, 2003). Новое название Cajal body сразу же было с энтузиазмом воспринято мировой научной общественностью, тем более что аббревиатура СВ (Cajal/coiled body) осталась прежней.

Разработка представлений о функциях ТК (табл. 4) первоначально шла по направлению идентификации специфических белков и РНК, входящих в их состав (Bohmann et al., 1995b). В числе первых РНК-компонентов ТК животных и человека были идентифицированы snРНК сплайсинга и сопутствующие белки, прежде всего Sm-белки — коровые белки snРНП (Carmo-Fonseca et al., 1991a, 1991b, 1992; Matera, Ward, 1993). Это побудило исследователей к выяснению места и роли ТК в метаболизме snРНП сплайсинга (Bohmann et al., 1995b; Matera, 1999; Gall, 2001). Примерно в это же время по присутствию snРНП сплайсинга ТК были идентифицированы в клетках бобовых растений — гороха *P. sativum* и нута *Cicer arietinum* (Chamberland, Lafontaine, 1993). С помощью гибридизации нуклеиновых кислот *in situ* в их составе были выявлены U1, U2 и U6 snРНК, а также (с помощью иммунофлуоресцентной микроскопии) U2-snРНП-специфический белок U2B" (Beven et al., 1995). Позднее ТК были идентифицированы в клетках множества других растений (Bassett, 2012; Love et al., 2017; Taliansky et al., 2023), что также доказывает универсальность этих ядерных органелл.

Таблица 4

Ключевые вехи в истории изучения Телец Кахаля

Год	Событие	Ведущий автор	Источник
1903	Открытие телец Кахаля: первое описание «нуклеолярных добавочных телец» (сuegro accessorio, accessory bodies) в ядрах нейронов млекопитающих	Р. Кахаль	Cajal, 1903
1913	Открытие «внутренних телец» (Binnenkörper, endobodies) в ядре ооцитов насекомых (домового сверчка <i>Acheta domestica</i> и медведки ⁶⁸ <i>Gryllotalpa gryllotalpa</i>)	М. Йоргенсен	Jørgensen, 1913
1960	Открытие «сферических органелл» (sphere organelles, spheres) — телец гистоновых локусов по современным представлениям — в ядре ооцитов амфибий (гребенчатого тритона <i>Triturus cristatus</i>) ⁶⁹	Г. Кэллан	Callan, Lloyd, 1960
1969	Описание на ультраструктурном уровне «скрученных телец» (coiled bodies) в ядрах соматических клеток млекопитающих.	В. Бернар	Monneron, Bernhard, 1969
1991	Открытие коилина	Е. Тан, И. Рашка	Raška et al., 1990, 1991; Andrade et al., 1991

⁶⁸ По-английски очень точно называется «сверчок-крот» (mole cricket).

⁶⁹ Позднее обнаружены в ядрах ооцитов других амфибий, хвостатых и бесхвостых (Wu et al., 1991), и признаны универсальными ядерными органеллами ооцитов амфибий в целом (Gall et al., 1995).

Окончание табл. 4

Год	Событие	Ведущий автор	Источник
1991	Обнаружение snРНК в составе телец Кахала	Одновременно выполнено множеством авторов	Carmo-Fonseca et al., 1991, 1992; Matera, Ward, 1993
1993	Клонирование коилина <i>Xenopus</i>	М. Рот	Tuma et al., 1993
1999	Признание в науке термина «тельце Кахала» (Cajal body)	Дж. Голл	Gall et al., 1999, Gall, 2000, 2003
2000	Характеристика гена <i>Coil</i> грызунов; получение мышей, нокаутированных по гену коилина	Г. Матера	Tucker et al., 2000, 2001
2000	Первые наблюдения за поведением ТК в живой клетке	А. Ламонд	Platani et al., 2000
2001	Открытие scaРНК, установление роли ТК в посттранскрипционных модификациях snРНК	Т. Кисс	Jády, Kiss, 2001; Darzacq et al., 2002
2004	Характеристика теломеразной РНК как особой scaРНК, ее обнаружение в составе ТК, начало исследований роли ТК в поддержании функций теломер	Т. Кисс, М. Тёрнс	Jády et al., 2004; Zhu et al., 2004
2006	Открытие телец гистонового локуса как самостоятельных ядерных органелл	Дж. Голл	Liu et al., 2006a, 2006b
2008	Доказательство роли ТК в сборке сплайсosomal субъединицы U4/U6 • U5 tri-snРНК и рециклировании snРНК	К. Ногebaуэр, Д. Станек	Staněk et al., 2008
2009	Доказательство природы безмембранных органелл как жидких капель, формирующихся в результате фазового перехода «жидкость—жидкость» (LLPS); начало физико-химического подхода к исследованию безмембранных органелл ⁷⁰	К. Брангвин, А. Хайман	Brangwynne et al., 2009
2011	Анализ кинетики формирования U4/U6 • U5 tri-snРНК в ТК <i>in vivo</i>	И. Новотный, Д. Станек, Я. Малинский	Novotný et al., 2011
2011	Установление роли РНК в нуклеации ТК	С. П. Шевцов, М. Дандр	Shevtsov, Dundr, 2011
2014	Анализ интерактома коилина; доказательство того, что сотни (если не все) snoРНК способны проходить через ТК	К. Ногebaуэр	Machyna et al., 2014
2016	Доказательство прямого влияния формирования ТК на конформационные изменения генома	М. Дандр	Wang et al., 2016
2019	Обобщение идей о функциональном влиянии разделенного на фазы микроокружения в составе ядерных телец на физиологию клетки и ядерные функции	Я. Савьер, М. Дандр	Sawyer et al., 2019

⁷⁰ В этом исследовании моделью служили не ТК, а цитоплазматические Р-гранулы клеток зародышевой линии нематоды *Caenorhabditis elegans*, однако именно это исследование послужило началом современной «LLPS-революции» в клеточной биологии (Shin, Brangwynne, 2017).

Однако до тех пор пока не был открыт коилин, идентификация snРНК-содержащих ядерных структур была затруднена, и потому применительно к ним, в том числе к типичным ТК в клетках HeLa, в прежних электронно-микроскопических работах предлагалось, например, использовать понятие «Sm-кластер» (Eliceiri, Ryerse, 1984).

Еще одним переломным этапом в исследованиях ТК явилось открытие scaРНК (Jády, Kiss, 2001; Darzacq et al., 2002), составляющих особую группу snoРНК (глава 4), которые локализуются преимущественно в ТК (Kiss, 2002). В результате новое развитие получила идея о том, что ТК служат центральным структурным и функциональным звеном в метаболизме малых некодирующих РНК — sncРНК (Kiss, 2004).

Определенная сложность в исследованиях ТК, как, впрочем, и других ядерных органелл, всегда состояла в том, что в отсутствие мембраны, изолирующей содержимое от окружающего пространства, практически все компоненты ядерных телец могут присутствовать и в других частях ядра — не только свободно в нуклеоплазме, но и в тельцах иных типов. До конца не решенным остается вопрос, насколько функции конкретных белков, выявляемых в ТК, идентичны функциям этих белков в других участках ядра и/или других клеточных компартментах.

Существенный прогресс в исследованиях ТК достигнут благодаря разработке методик, позволяющих исследовать динамику ТК и их отдельных компонентов в живых клетках — например, с помощью флуоресцентно меченых молекулярных конструкций (Platani et al., 2000). В 2002 г. ТК впервые были биохимически изолированы из клеток HeLa (Lam et al., 2002), что открыло возможность дальнейшего детального анализа их молекулярного состава (например, с помощью масс-спектрометрии). Параллельно с этим начали развиваться подходы, направленные на анализ протеома (Fong et al., 2013) и транскриптома ТК (Sawyer et al., 2016b), а также интерактома белков ТК (Machyna et al., 2014). Эти данные уточняются до сих пор.

Важная страница в исследованиях функций ТК была открыта после получения нокаутированных по гену коилина мышей (Tucker et al., 2001), а затем и других организмов. Параллельно были получены нокауты и по иным генам, кодирующим структурные белки ТК. При этом не формировались ТК или присутствовали «остаточные» ТК-подобные структуры. Так появилась возможность исследовать ядерные процессы в отсутствие ТК. В настоящее время для подавления экспрессии генов, кодирующих коилин и другие ключевые белки ТК, широко используют методы РНК-интерференции, без которых трудно представить себе исследование в области современной биологии клеточного ядра.

В заключение следует еще раз отметить неоценимый вклад Дж. Голла, памяти которого посвящена эта книга, в развитие современных представлений о ТК и других коилинсодержащих структурах клеточного ядра. Используя в качестве основной модели ядро ооцитов амфибий, прежде всего

*Xenopus*⁷¹, хромосомы типа ламповых щеток (ЛЩ) и гипертранскрипционный тип оогенеза⁷², Голл разработал концепцию универсальности и эволюционной консервативности ТК (Gall et al., 1995; разд. 1.3.3). Он является автором не только современного названия ТК — Cajal body (Gall et al., 1999; Gall, 2000), но и первооткрывателем ТГЛ как обособленных от ТК коилинсодержащих ядерных органелл (глава 7), а также автором самого термина histone locus body (Liu et al., 2006a, 2006b). Наконец, практически всем, что мы знаем о ядерных органеллах ооцитов амфибий как ярчайшем примере «неканонических» коилинсодержащих структур (разд. 8.1), мы также обязаны Дж. Голлу, его ученикам и коллегам.

⁷¹ Разумеется, исследования Голла и его коллег не были ограничены лишь этой моделью и *Xenopus* как лабораторным объектом.

⁷² Современная номенклатура типов оогенеза предложена Дондуа (2018).

Глава 2

КОИЛИН

Наиболее известным молекулярным компонентом ТК является белок коилин (coilin). Как уже отмечено выше, его название, предложенное в начале 1990-х гг. (Raška et al., 1990, 1991; Andrade et al., 1991, 1993), происходит от coiled bodies Моннерона и Бернара (Monneron, Bernhard, 1969) — прежнего наименования ТК. На протяжении долгого времени коилин рассматривали в качестве основного молекулярно-диагностического маркера ТК (Raška et al., 1991; Gall, 2000; Bellini, 2000; Machyna et al., 2015). Однако с открытием коилинсодержащих ТГЛ это значение он утратил. Тем не менее коилин действительно является одним из главных структурных белков ТК, обеспечивающих их целостность и существование как морфологически оформленных дискретных структур (телец).

Еще в конце 1990-х гг. было показано, что связывание коилина антителами, введенными в живые клетки с помощью микроинъекций, приводит к необратимому разрушению ТК (Almeida et al., 1998). Кроме того, деплеция любого из белков, с которым коилин образует структурные и/или функциональные комплексы, обычно приводит к дезинтеграции ТК, что сопровождается формированием «остаточных телец» и рассеиванием компонентов ТК в нуклеоплазме.

Хотя коилин открыт довольно давно и хорошо охарактеризован с молекулярной точки зрения, его функции остаются до конца не выясненными. Наиболее распространена точка зрения, что он выступает в качестве некоего молекулярного «клея», связывающего между собой множество белков и РНК, в результате чего формируются различные надмолекулярные комплексы и, как итог, сами ТК — морфологически дискретные органеллы (Machyna et al., 2013, 2015). Кроме того, несмотря на почти 35-летнюю историю изучения, удивительно мало известно о структуре этого белка, особенно его гомологов и ортологов у эволюционно далеких друг от друга организмов. В результате пока отсутствует общая модель, объясняющая происхождение ТК в эволюции (Staněk, 2023).

Несмотря на то что коилин преимущественно ядерный белок и его трудно обнаружить в цитоплазме с помощью иммунофлуоресцентной микроскопии или иммуноблоттинга, он всё же является частью ядерно-цитоплазматической транспортной системы, по крайней мере в ооцитах *Xenopus* (Bellini, Gall, 1999).

Нарушение экспрессии гена *Coil*, кодирующего коилин, оказывает разное влияние на жизнеспособность клеток и организма в целом у разных организмов. Например, экспрессия гена коилина не оказывает заметного влияния

на жизнеспособность и фертильность растения *A. thaliana* (Collier et al., 2006) и плодовой мушки *D. melanogaster* (Liu et al., 2009). Однако у позвоночных деплеция коилина в той или иной мере влияет на выживание эмбриона. Например, у мыши нарушение функционирования гена *Coil* приводит к значительному сокращению потомства при скрещивании гомозигот, а нокаутированные по гену коилина мыши (*Coil*^{-/-}) имеют пониженную фертильность (Tucker et al., 2001; Walker et al., 2009). При этом в клетках мышей *Coil*^{-/-} наблюдаются «остаточные» ТК-подобные структуры, из которых исчезают snРНП, но остаются scaРНК и их шаперон NOLC1 (Tucker et al., 2001).

В клетках мыши, нокаутированных по гену коилина, его функцию частично выполняет продукт псевдогена *coilp1* (28 кДа), который обладает многими свойствами коилина за счет способности к прямому взаимодействию с SMN, а также scaРНК — SCARNA2 и SCARNA9 (Poole et al., 2016). Такой же псевдоген обнаружен и у человека. Становится понятным, почему нокаут гена коилина не приводит к нарушению жизнеспособности клеток, а также может объяснить природу наблюдаемых в них «остаточных ТК»: они формируются не за счет самого коилина — продукта гена *Coil*, а за счет продукта псевдогена *coilp1*.

Однако, как уже отмечено, критическую ситуацию демонстрируют эмбрионы рыбы *D. rerio*, у которой деплеция коилина, достигаемая с помощью инъекций морфолиновых олигонуклеотидов, вызывает летальность эмбрионов в течение первых 24 ч развития (Strzelecka et al., 2010a). При этом наблюдали резкое снижение уровня snРНП и сплайсированных мРНК. Авторы показали, что эмбрионы *D. rerio* могут быть «спасены», если инъецировать в них сплайсосомные snРНП-частицы. Эти опыты подтверждают, что основная функция коилина, по крайней мере в эмбрионах *D. rerio*, состоит в макромолекулярной сборке snРНП и повышении ее эффективности.

Несмотря на то что коилин маркирует ТК (а в ряде случаев ТГЛ), значительная его часть находится в диффузном состоянии в нуклеоплазме. Этот нуклеоплазматический пул молекул коилина, не связанных с ядерными тельцами, может достигать 70% от общего количества коилина в ядре (Lam et al., 2002). Неизвестно, насколько молекулы коилина в составе трех «популяций» — нуклеоплазматической, в составе ТК и в составе ТГЛ — функционально отличаются друг от друга, однако в каждой из групп имеют место специфические взаимодействия коилина как с некоторыми белками, так и с РНК.

2.1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ КОИЛИНА

Открытие коилина человека произошло в начале 1990-х гг. и связано с именами американского иммунолога Тана (Eng M. Tan), чешского цитолога Рашки (Ivan Raška) и их коллег. К тому времени уже было известно, что сыворотка крови больных некоторыми аутоиммунными заболеваниями

содержит антитела, способные распознавать дискретные области в интерхроматиновом пространстве клеточного ядра (Tan, 1982). В ходе исследований ассоциации ТК (тогда coiled bodies) и ядрышек в соматических клетках млекопитающих Раška и соавторы (Raška et al., 1990) показали, что одно из таких антител специфически метит *coiled bodies* и распознает белок с молекулярной массой 80 кДа на Вестерн-блотах, из-за чего новый белок был назван р80-коилином (p80-coilin).

Антитела к р80-коилину человека были аффинно очищены, а сам белок клонирован (Andrade et al., 1991). Его молекулярная масса, предсказанная на основе аминокислотной последовательности (576 а. о.), оказалась примерно на 20 кДа меньше (62.6 кДа), чем на SDS-PAGE. Этот феномен несоответствия результатов Вестерн-блотинга рассчитанной молекулярной массе справедлив и в отношении коилина других организмов: мыши (569 а. о.; 80 vs 62.3 кДа), шпорцевой лягушки (536 а. о.; 80 vs 59,6 кДа), дрозофилы (634 а. о.; 90 vs 70.6 кДа) (Liu et al., 2009), а также арабидопсиса (608 а. о.; 90 vs 68.7 кДа) (Makarov et al., 2013).

Широкомасштабное иммуоцитохимическое исследование, проведенное на клетках человека (линии HeLa S3, WI-38, MOLT-4, HEp-2), мыши (3T3), крысы (NRK) и представителя сумчатых — кенгуровой крысы *Potorous tridactylis* (PtK2), доказало специфичность распознавания ТК с помощью антител к р80-коилину человека в клетках эволюционно удаленных друг от друга млекопитающих (Raška et al., 1991). Начиная с этих пионерских работ (Andrade et al., 1991; Raška et al., 1991) р80-коилин стали рассматривать как специфический маркер ТК, а антитела к нему (точнее, к его консервативному С-концевому участку) — как инструмент для их иммунологической диагностики (рис. 5, *г–е*). В 1990-е годы это привело к лавинообразному появлению работ, направленных на анализ молекулярного состава ТК в различных клетках различных организмов (Matera, 1999; Gall, 2000).

Оказалось, что антитела к р80-коилину млекопитающих позволяют идентифицировать коилин (коилиноподобный белок) не только в клетках млекопитающих, но и других животных, включая насекомых и амфибий (Gall et al., 1995). Вскоре после открытия р80-коилина человека белок, распознаваемый антителами к нему, был выделен из ооцитов шпорцевой лягушки *X. laevis*, клонирован и назван SPH-1 (Tuma et al., 1993). Это название этимологически связано со «сферическими органеллами» (sphere organelles, spheres — теперь ТГЛ, глава 8), в которых он преимущественно локализован. Сравнение аминокислотных последовательностей SPH-1 *Xenopus* и р80-коилина человека выявило 75%-ную гомологию этих белков. На этом основании оба белка позднее стали называть одинаково — коилином (Bellini, 2000), как и ортологичные белки, постепенно открываемые у других организмов.

В молекулах коилина человека и *Xenopus* наиболее консервативным оказался С-концевой 185-аминокислотный участок, в котором совпадение а. о. составляет 54%. Менее консервативным, но тем не менее проявляющим определенную степень гомологии (28%), оказался N-концевой участок

(а. о. 1–25). Совершенно неконсервативной оказалась средняя часть молекулы (Tuma et al., 1993).

По сравнению с коилином *Xenopus* меньший процент идентичности (34%) наблюдается между аминокислотными последовательностями коилина *Danio* и человека, но и в этом случае молекулы коилина *D. rerio* тоже характеризуются как консервативными С- и N-концевыми участками, так и неконсервативной центральной частью (Strzelecka et al., 2010b). Сравнение аминокислотных последовательностей коилина растения *A. thaliana* и позвоночных животных (человека, мыши, *X. laevis* и *D. rerio*) показало, что гомологию по аминокислотным последовательностям также демонстрируют лишь N- и С-концевые участки, но в остальной части молекулы какое-либо сходство отсутствует (Collier et al., 2006).

Несмотря на доказательства существования ТК (коилинсодержащих ядерных тел) в различных клетках, полученные с помощью иммунофлуоресцентной и иммуноэлектронной микроскопии, потребовались значительные усилия и время для того, чтобы идентифицировать гены, кодирующие коилин, у разных организмов. В клетках человека ген *COIL* был идентифицирован и локализован на хромосоме 17q22-q23 (Kusuda et al., 1995). Вслед за этим был клонирован ген *Coil* мыши, крысы, *D. rerio* (Tucker et al., 2000) и множества других организмов, включая *D. melanogaster* (Liu et al., 2009). В клетках млекопитающих ген коилина содержит 7 экзонов и имеет протяженность примерно 25 тыс. п. н.

Сейчас доступны сведения о геномах многих организмов. Оказалось, что даже у *Trichoplax adhaerens*, наиболее простого многоклеточного организма, можно найти белок, N- и С-концевые участки которого демонстрируют высокую степень гомологии аналогичным участкам молекулы коилина человека (Machyna et al., 2015). Удивительным оказалось то, что предполагаемый коилин *Trichoplax* по своей аминокислотной последовательности больше напоминает коилин человека, чем, например, дрожжи.

2.2. СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛЫ КОИЛИНА, ФУНКЦИИ С- И N-КОНЦЕВЫХ УЧАСТКОВ

У разных организмов, даже таких далеких друг от друга, как растения и человек, молекулы коилина имеют сходную доменную организацию (рис. 8). Общими являются консервативные домены на концах: глобулярный N-концевой домен, образованный упорядоченными α/β -элементами (в молекуле коилина человека первые 92 а. о.), и С-концевой участок, содержащий небольшое количество β -структур и имеющий довольно высокую степень неупорядоченности. Однако наиболее высокой степенью неупорядоченности обладает средняя неконсервативная часть молекулы коилина (Machyna et al., 2015).

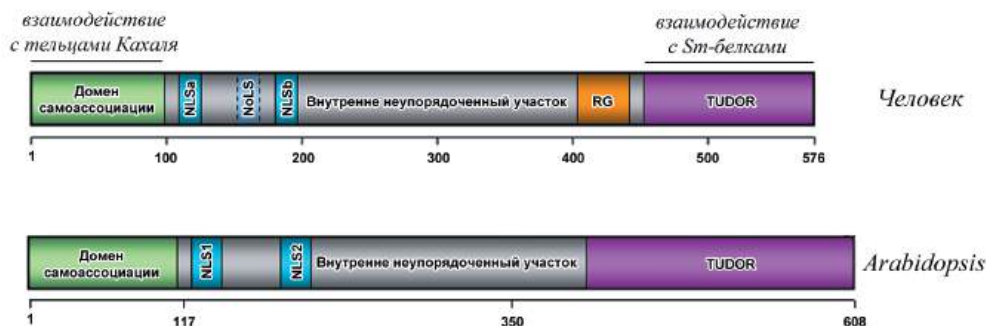


Рис. 8. Доменная организация молекулы коилина на примере человека и растения *Arabidopsis thaliana*
(ориг., по материалам из разных источников, цит. в тексте)

С-концевой участок содержит атипичный Tudor-домен (Shanbhag et al., 2010; Makarov et al., 2013), образованный а. о. 460–560 в молекуле коилина человека и а. о. 410–510 в молекуле коилина *A. thaliana*. Выше от него (а. о. 392–420 в молекуле коилина человека) располагается особый участок, богатый аргинин-глициновыми повторами (RG box). Этот участок, по-видимому, специфичен *только* для коилина позвоночных. Для него характерно симметричное диметилирование остатков аргинина (Hebert et al., 2002).

В средней, неконсервативной и неупорядоченной, части молекулы коилина обычно присутствуют два сигнала ядерной локализации: NLSa (NLS1) и NLSb (NLS2). В молекуле коилина человека им соответствуют а. о. 107–112 и 181–198 (Bohmann et al., 1995a). Между NLSa и NLSb располагается предполагаемый сигнал ядрышковой локализации — NoLS (Hebert, Matera, 2000).

Отметим, что в настоящее время интенсивно изучают полиморфизм одиночных нуклеотидов (single nucleotide polymorphism, SNP), в том числе как фактор риска множества заболеваний, включая разные виды рака, поскольку SNP затрагивает более 1% человеческой популяции. Показано, что в молекуле коилина участок между NLSa и NLSb также характеризуется присутствием двух нуклеотидов, для которых характерен полиморфизм: E121K и V145I. К счастью, по данным клинического биоинформатического анализа, эти мутации коилина весьма редки у онкологических больных и, по-видимому, не являются фактором развития рака (Yao et al., 2020). Тем не менее, используя клетки HeLa, стабильно трансфицированные экспрессионными конструкциями, авторы показали, что несинонимичные (миссенс) варианты нуклеотидов E121K и V145I оказывают существенное влияние на клетку, включая пролиферацию, клеточный цикл и формирование микротрубочек.

Оказалось также, что эти мутации коилина влияют на формирование ТК и колокализацию коилина с белком SMN. Многие клетки, несущие обе мутации, демонстрировали «остаточные ТК», в которых отсутствовал белок SMN (коилин⁺/SMN⁻), а в клетках с мутацией E121K коилин, кроме того,

накапливался в ядрышках. Отмечено, что накопление коилина в ядрышках и/или формирование gems (SMN-телец) часто наблюдали в клетках с мутацией коилина E121K, но гораздо реже — в клетках дикого типа или клетках с мутацией V145I. Таким образом, мутация E121K в большей степени влияет на формирование ТК, чем V145I (Yao et al., 2020).

2.2.1. Значение С-концевой части молекулы коилина

В С-концевой части молекула коилина расположен атипичный Tudor-домен, который имеет две большие неструктурированные петли. Известно, что Tudor-домены связывают метилированные аминокислоты. Действительно, исследование свойств Tudor-подобного домена коилина человека с помощью методов биоинформатики, а также с использованием делеционных конструкций и метода ядерной магнитно-резонансной спектроскопии, показало, что он взаимодействует, например, с моно- и триметиллизином или с диметиларгинином (Shanbhag et al., 2010).

С-конец молекулы играет первостепенную роль во взаимодействиях коилина с другими белками. Например, специфичный для коилина позвоночных RG-бокс, расположенный в районе С-конца, обеспечивает взаимодействия коилина с SMN и служит центральным связующим звеном между белком SMN и ТК (Hebert et al., 2001). Этот RG-бокс обеспечивает непосредственное связывание коилина с SMN. Показано, что замена или делеция специфических остатков аргинина в этом участке нарушает связывание коилина с SMN как *in vitro*, так и *in vivo*. Считают, что RG-бокс также может играть определенную роль в общем фолдинге и/или посттрансляционной модификации коилина, что в свою очередь влияет на характер локализации коилина в клетке (Hebert et al., 2001).

С помощью метода, основанного на комбинированном использовании ядерного магнитного и электронного парамагнитного резонансов, который позволил исследовать во временном диапазоне от пико- до наносекунд динамику коилина после разделение фаз (LLPS), показано, что именно RG-бокс молекулы коилина позвоночных способствует формированию ТК под действием LLPS и поддерживает высокую внутреннюю текучесть их содержимого (Sicoli et al., 2024). Иными словами, доказано, что благодаря нескольким повторам RGG/RG молекулы коилина способны к РНК-индуцированному фазовому переходу и демонстрируют высокий уровень динамической перероентации внутри сформированных коилиновых капель.

С-конец молекулы коилина также играет ключевую роль во взаимодействиях с Sm- и Sm-подобными белками, однако детали этих взаимодействий остаются неизвестными. Показано, что за взаимодействие с коилином отвечают RG-богатые «хвосты» молекул Sm-белков SmB/B', SmD1, SmD3, а также Sm-подобного белка Lsm-4 (Xu et al., 2005). Однако коилин способен напрямую взаимодействовать и со специфичными для U7 snРНК Sm-подобными белками Lsm-10 и Lsm-11, которые не имеют RG-«хвостов». Если

для взаимодействия Sm-белков с комплексом SMN необходимо диметилирование их RG-«хвостов» (Friesen, Dreyfuss, 2000; Brahms et al., 2001), поскольку белок SMN преимущественно связывается с теми белками-мишенями, которые диметилированы (Friesen et al., 2001), то для связывания Sm-белков с коилином диметилирование само по себе не требуется (Xu et al., 2005).

В различные взаимодействия коилина с белком SMN и Sm-белками разные фрагменты С-концевой части молекулы коилина вносят разный вклад. Так, С-концевой фрагмент молекулы коилина человека, содержащий последние а. о. 362–576, включая RG-бокс, обеспечивает связывание коилина как с SMN, так и Sm-белками (SmB'). Однако фрагмент, включающий а. о. 362–462, в котором присутствует RG-бокс, но отсутствует самый конец молекулы, позволяет осуществить связывание только с SMN. И наоборот, С-концевой участок без RG-бокса (последние а. о. 420–576) связывает только SmB', но не SMN (Xu et al., 2005).

Что касается избирательности взаимодействия коилина с разными snRNP, показано, что с коилином человека взаимодействуют U2, U4, U5 и U6 snRNP, но не U1 или U7 snRNP (Xu et al., 2005). В отношении U2 и U7 snRNP эти данные несколько расходятся с результатами, полученными на ооцитах *X. laevis*, согласно которым коилин *Xenopus* слабо ассоциирует U7 snRNP, но совсем не связывает U1 или U2 snRNP (Bellini, Gall, 1998). Не исключено, что эти различия определяются либо особенностями разных экспериментальных систем (ооциты *Xenopus* и культивируемые соматические клетки млекопитающих), либо особенностями коилина *Xenopus* по сравнению с коилином млекопитающих, либо использованием в разных экспериментах полноразмерных молекул или их фрагментов.

В качестве еще одного белка, с которым взаимодействует С-концевой фрагмент молекулы коилина, можно отметить изоформу белка EB-1/AIDA — AIDA-1c (Xu, Hebert, 2005). Этот белок присутствует в нейронах мозга и некоторых линиях раковых клеток. Как известно, белки AIDA, содержащие консервативный фосфотирозинсвязывающий домен (PTB), получили свое название от *англ.* amyloid- β protein precursor [A β PP] intracellular domain [AID] (Ghersi et al., 2004); важно, что нарушения процессинга, например, A β PP связывают с патологиями при болезни Альцгеймера.

Итак, показано, что AIDA-1c конкурирует с SmB' за сайты связывания в молекуле коилина, но не связывает SMN (Xu, Hebert, 2005). Вместе с тем другая изоформа — AIDA-1a — не связывает коилин *in vivo*. Авторы проведенного исследования считают, что *специфическая* изоформа AIDA-1c участвует в опосредованных коилином взаимодействиях между белками в нейронах и трансформированных клетках.

В пределах последних 214 а. о. С-концевой части молекулы коилина человека, которая регулирует количество ТК в клетке, находится участок, с которым взаимодействует аденилаткиназа hCINAP (human coilin-interacting nuclear ATPase protein), еще один интерактант коилина, которому в последнее время уделяют внимание. В клетках HeLa сверхэкспрессия hCINAP вызывает

уменьшение количества ТК в ядре (Santama et al., 2005). Деплеция hCINAP с помощью РНК-интерференции приводила к нарушению формирования ТК и перераспределению в ядре ключевых компонентов ТК — коилина, SMN, сплайсосомных snРНП и фибрилларина. Кроме того, деплеция hCINAP приводила к перераспределению NPAT, который покидал ТГЛ. В свою очередь это вызывало снижение уровня транскрипции гистоновых генов и соответственно снижение жизнеспособности клеток (Zhang et al., 2010).

Белки CINAP обладают высоким уровнем консерватизма и присутствуют в клетках разных организмов: дрожжей, *Arabidopsis*, *Caenorhabditis* и *Drosophila* и человека. На примере hCINAP, ранее известной как hAK6 (аденилаткиназа 6 человека), показано, что этот белок обладает АТФазной активностью и вовлечен в регуляцию ряда ключевых клеточных функций. За годы, прошедшие с открытия hCINAP (Santama et al., 2005), продемонстрировано его влияние на рост опухолей, жизнеспособность клеток, метастазирование и устойчивость к лекарственным препаратам. На этом фоне установлена роль hCINAP в регуляции некоторых сигнальных путей, биогенеза рибосом, клеточного метаболизма и репарации поврежденной ДНК (Yan et al., 2020 и лит. там же). Например, hCINAP является негативным регулятором NF-κВ-сигнального пути посредством инактивации комплекса IκВ-киназы (IKK) (Qu et al., 2015). Кроме того, hCINAP регулирует взаимодействия между рибосомным белком RPS14 (ribosomal protein S14) и HDM2 (human double-minute 2) — главным антагонистом белка p53 (Zhang et al., 2014). Эти и другие данные (Yan et al., 2020) лежат в основе разработок на основе hCINAP новых терапевтических подходов с целью повышения эффективности лечения онкологических заболеваний.

2.2.2. Значение N-концевой части молекулы коилина

Консервативный N-концевой участок молекулы, имеющий глобулярное строение, прежде всего отвечает за способность молекул коилина к самоассоциации. Данное свойство обеспечивает сборку ТК *de novo* и обеспечивает целенаправленное связывание коилина с ТК. Показано, что в результате гиперфосфорилирования N-концевого участка способность молекул коилина к самоассоциации снижается (Hebert, Matera, 2000).

Теперь хорошо известно, что в митозе происходит дезинтеграция ТК, сопровождающаяся гиперфосфорилированием коилина (Carmo-Fonseca et al., 1993; Toyota et al., 2010). Причиной митотической дезинтеграции ТК является резкое снижение способности коилина к самоассоциации (олигомеризации) за счет гиперфосфорилирования N-концевого участка его молекул (Hebert, Matera, 2000; Shpargel et al., 2003). Следует отметить, что способность к самоассоциации и олигомеризации оказалась общей для многих ядерных белков, таких как SMN (Lorson et al., 1998), Sam68 (Chen et al., 1999), PML (Ishov et al., 1999) и др., которые способны формировать различные безмембранные (ядерные) органеллы.

Наличие неизмененного N-конца молекулы коилина является одним из условий, определяющих его локализацию в ТК и ТГЛ. Опыты с инъекциями в ооциты *X. laevis* транскриптов коилина человека полной длины показали, что в течение 1 ч после инъекции коилин человека способен целенаправленно связываться с ТГЛ *Xenopus*, в которых замещает эндогенный коилин (Wu et al., 1994). При этом конструкции, содержащие только первые 102 а. о., что составляет 18% длины молекулы, способны эффективно связываться с ТГЛ, но конструкции без первых 92 а. о. теряют эту способность, хотя успешно импортируются в ядро ооцита после инъекций в ооплазму.

В одной из пионерских, широко цитируемых работ (Isaac et al., 1998) показано, что с N-концом молекулы коилина напрямую взаимодействует белок NOLC1 — один из первых белков, обнаруженных одновременно и в ТК, и в ядрышках. Это один из основных посредников, определяющих локализацию коилина в ТК (в норме) и в ядрышках (обычно в иных условиях). Взаимодействие с NOLC1 обеспечивают а. о. 1–161 молекулы коилина человека. Этот N-концевой домен, отвечающий за взаимодействие с NOLC1, обеспечивает особые полимеризационные свойства коилина. Оказалось, что N-концевые участки, лишенные NLS, полимеризуясь, формируют сеть цитоплазматических фибрилл, а не «точечные» структуры — капли, как N-концевые конструкторы с NLS в ядре. Способность к образованию фибрилл продемонстрировал и эндогенный коилин (Courchaine et al., 2022). При этом формирование ядерных капель (так в работе; в цитологических терминах, очевидно, ТК) обеспечивается именно мультивалентными взаимодействиями N-конца коилина с NOLC1.

Эксперименты по иммунопреципитации показали, что коилин формирует комплексы еще с одним белком, общим для ТК и ядрышек, — дискерином (NAP57), ключевым коровым белком scaPHП класса H/ACA (Poole, Hebert, 2016). С помощью делеционных конструкций показано, что в клетках человека для ассоциации с дискерином в молекуле коилина необходим определенный участок (а. о. 121–291), а расположенные выше и ниже этого участка а. о. усиливают это взаимодействие. Другой фрагмент молекулы коилина, расположенный в неупорядоченной части молекулы коилина, ближе к ее N-концу (а. о. 148–291), напрямую взаимодействует с TCAB1 (Enwerem et al., 2014) — одним из главных белков, обеспечивающих интегративную целостность ТК (Henriksson, Farnebo, 2015; Bergstrand, 2019).

Благодаря способности к межбелковым взаимодействиям коилин является участником регуляторной сети, которая управляет биогенезом микроРНК (miРНК). Несмотря на то что сами miРНК в составе интерактома коилина не обнаружены (Machyna et al., 2014), он способен к образованию комплексов с DGCR8⁷³ — кофактором фермента Drosha, который вместе

⁷³ Аббревиатура DGCR8 расшифровывается как DiGeorge syndrome critical region gene 8; синдром Ди Георга — врождённая аплазия тимуса и паращитовидных желёз человека, которая вызывается делецией фрагмента хромосомы 22 (22q11.2). У других организмов фермент DGCR8 известен также как Pasha.

с DGCR8 составляет основу белкового комплекса Микропроцессор, обеспечивающего начальные этапы процессинга предшественников miРНК. Нокдаун коилина снижает уровни DGCR8 и Drosha, первичных и процессированных let-7a и miR-34a miРНК, а также мишеней этих miРНК — мРНК, кодирующих соответственно белки HMGA2 и Notch1 (Lett et al., 2021). Отметим, что HMGA2 (High-mobility group AT-hook 2) — негистоновый структурный белок хроматина, который может выступать в роли фактора, регулирующего транскрипцию, а Notch1 — трансмембранный рецептор, участвующий во многих процессах, определяющих судьбу клеток в ходе развития.

Взаимодействия коилина с компонентами комплекса Микропроцессор в основном происходят в нуклеоплазме, поскольку DGCR8 и Drosha не являются компонентами ТК клеток млекопитающих. По-видимому, за взаимодействие с белками этого комплекса отвечает N-конец молекулы коилина, однако до проведения дополнительных исследований пока не исключено и возможное участие C-конца в таких взаимодействиях (Lett et al., 2021). Следует отметить, что с комплексом Микропроцессор взаимодействуют не все белки ТК. Например, способностей к такому взаимодействию не проявляет TCAB1 (Lett et al., 2021). Некоторые дополнительные аспекты участия ТК в процессинге РНК, зависящие от комплекса Микропроцессор, будут упомянуты в главе 4.

Недавно были получены любопытные данные, свидетельствующие об участии коилина позвоночных в регуляции врожденного иммунитета, что открывает широкое поле дальнейших исследований в этом направлении (McLaurin et al., 2025). Транскриптомный анализ с использованием двух экспериментальных моделей — первичной клеточной линии фибробластов крайней плоти человека с дефицитом коилина, вызванным использованием РНК-интерференции, и клеточной линии *D. rerio* с N-концевой мутацией в гене коилина, сгенерированной с помощью CRISPR-Cas9, — выявил нарушение регуляции генов, связанных с иммунитетом и в клетках рыбки *Danio*, и в клетках человека. Интересно, что эти мутации в N-конце молекулы коилина не влияли на формирование и морфологию ТК. То есть в данном случае речь идет о новой функции *коилина*, а не самих ТК. Подтверждением этому служит выявленное участие во врожденном иммунном ответе независимо от уровня сплайсинга пре-мРНК в клетках (McLaurin et al., 2025).

Также следует упомянуть, что последние данные говорят о том, что коилин может быть регулятором активности NF-κB, нарушения регуляции которой являются отличительными признаками злокачественных новообразований — лимфом Ходжкина, поскольку в клетках таких лимфом коилин не экспрессируется, как показано пока на уровне иммуногистохимии (Karpithou et al., 2025). Возможно, в будущем это наблюдение получит дополнительное развитие.

* * *

Коилин взаимодействует не только с белками, но и с РНК. Так, в ряде работ показано, что N-конец молекулы коилина и внутренне неупорядоченные участки в срединной части молекулы, расположенные ближе к N-концу, обладают РНК-связывающей активностью. Именно эти участки обеспечивают взаимодействие коилина с РНК (Broome, Hebert, 2013) даже в отсутствие каких-либо известных РНК-связывающих мотивов в его молекуле (Machyna et al., 2015). В одной из ранних работ, выполненной на ооцитах *Xenopus* (Bellini, Gall, 1998), было также установлено, что N-концевой фрагмент, включающий первые 100 а. о. коилина *X. laevis*, необходим и достаточен для связывания поли-*r*(G)-гомополимеров, однако по аминокислотной последовательности этот участок весьма слабо напоминает канонические РНК-связывающие домены.

С помощью иммунопреципитации (IP) коилина с последующей изоляцией РНК из IP-комплексов и анализа с помощью количественной ПЦР в реальном времени (qRT-PCR) продемонстрирована способность коилина к специфической ассоциации *in vivo* с 47/45S пре-*p*РНК, U1 и U2 snРНК, а также с hTR — теломеразной РНК человека (Broome, Hebert, 2013). Показано, что главный вклад в РНК-связывающую активность коилина вносят а. о. 121–291, которые расположены в пределах неупорядоченной центральной части его молекулы.

РНК-связывающие свойства коилина наглядно продемонстрированы и на примере коилина *Arabidopsis*, который также эффективно связывает РНК (Makarov et al., 2013). Однако и у коилина растений его РНК-связывающая активность по отношению к конкретным РНК не специфична. Делеция N-концевых а. о. 1–45 коилина *A. thaliana* полностью подавляет его РНК-связывающую активность. На примере U1 и U2 snРНК, а также неспецифической искусственной РНК размером 160 п. н. с использованием методов биоинформатики показано, что N-концевой участок молекулы коилина *A. thaliana* содержит два потенциальных РНК-связывающих участка, а еще один РНК-связывающий сайт расположен в центральной неупорядоченной части молекулы (Makarov et al., 2013). Взаимодействие с РНК вызывает олигомеризацию молекул коилина *A. thaliana*, что является следствием структурных изменений в N-концевом домене.

В результате подробного анализа РНК-интерактома коилина с помощью методики образования поперечных межмолекулярных сшивок ультрафиолетом (UV crosslinking) и иммунопреципитации (iCLIP — individual-nucleotide resolution cross-linking and immunoprecipitation) определены РНК-мишени, с которыми может связываться коилин млекопитающих *in vivo* (Machyna et al., 2014). Эти эксперименты позволили существенно расширить представления о функциях коилина в частности и ТК в целом. Выявлено несколько сотен различных snoРНК, включая множество неаннотированных snoРНК мыши и человека, с которыми способен взаимодействовать

коилин. Оказалось, что большинство, если не все, snoРНК обоих классов (C/D и H/ACA) проходят через ТК на их пути в ядрышко — даже в отсутствие специфических сигналов, которые могли бы их удерживать в ТК. Показано, что иницилирующим фактором образования ТК является коилин, связывающий пре-snoРНК, а сформированные ТК представляют собой ядерные центры (hubs), обеспечивающие метаболизм snРНК разных типов. Тем самым ТК совмещают метаболические пути snРНК и snoРНК, что полностью подтверждает оригинальные представления о такой функции ТК, выдвинутые еще на заре современных исследований этих ядерных органелл (Gall et al., 1995, 1999).

Специфической группой snoРНК являются scaРНК (глава 4), включая родственную им теломеразную РНК (глава 6). Поскольку РНК-связывающая активность коилина неспецифична, не вызывает удивления, что коилин, будучи мажорным белком ТК, способен связываться с разными scaРНК — резидентными компонентами ТК. Действительно, анализ IP-комплексов выявил ассоциацию коилина с scaРНК разных классов: класса C/D — SCARNA2 (HBII-382) и SCARNA9 (mgU2–19/30); класса H/ACA — SCARNA13 (U93) и теломеразной РНК (SCARNA19); гибридными C/D–H/ACA — SCARNA10 (U85) и SCARNA12 (U89) (Enwerem et al., 2014). На РНК-связывающую активность коилина влияет его фосфорилирование. Например, гиперфосфорилирование коилина коррелирует с уменьшением его способности связывать U2 snРНК и теломеразную РНК (Broome et al., 2013).

Помимо РНК-связывающей активности из интересных свойств N-концевой части молекулы коилина можно отметить неожиданно обнаруженную РНКазную активность N-концевого фрагмента (первые 362 а. о.) очищенного коилина человека, который в зависимости от концентрации способен разрушать РНК (Broome, Hebert, 2012). При этом C-конец молекулы коилина не проявлял такой активности.

Говоря о способности коилина взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами в целом, следует отметить, что коилин может неспецифическим образом связываться не только с РНК, но и с ДНК. Например, очищенный коилин человека полной длины, лишенный ассоциированных с ним РНК, проявляет ДНК-связывающую активность по отношению к одно- и двухцепочечной ДНК, однако какой-либо специфический участок молекулы, обеспечивающий эту функцию, найден не был (Broome, Hebert, 2012). Вместе с тем ранее было показано, что в ооцитах *Xenopus* коилин не ассоциирует с двухцепочечной ДНК (Bellini, Gall, 1998), хотя локализуется на метафазных хромосомах различных клеток *Drosophila* — по-видимому, в их центромерных участках (Liu et al., 2009). Однако на трансформированных (HeLa) и нормальных (WI-38) клетках человека действительно продемонстрирована способность коилина взаимодействовать со специфическими участками генов, кодирующих snРНК, особенно с 3'-концом гена U2 snРНК (Broome, Hebert, 2013).

В связи с потенциальной возможностью коилина взаимодействовать с хроматином (по крайней мере, в некоторых случаях) следует отметить интересные данные, полученные при исследовании дестабилизации центромер в интерфазе культивируемых клеток человека и мыши, вызванной инфекцией вирусом HSV-1 (*Herpes simplex virus type 1*) (Morency et al., 2007; Sabra et al., 2013).

Хорошо известно, что центромеры представляют собой специализированные участки хроматина, отвечающие за сегрегацию хромосом в митозе и мейозе. Они формируются вокруг ДНК-повторов, формируя сложную структуру, в том числе ответственный за сборку кинетохоров центральный участок (собственно центромеру), фланкированный перичентромерным гетерохроматином (Bloom, Costanzo, 2017). Инфекция HSV-1 вызывает дестабилизацию центромер за счет активности вирусного белка ICP0 (*infected cell protein 0*), представляющего собой E3-убиквитинлигазу (Lanfranca et al., 2014). Попадая в ядро, ICP0 локализуется в центромерах и вызывает протеасомную деградацию центромерных белков CENP-A, CENP-B и CENP-C.

Оказалось, что ICP0-индуцированное повреждение центромер приводит к аккумуляции в центромерных участках трех ключевых белков ТК: коилина, SMN и фибрилларина (Morency et al., 2007). Установлено, в том числе в экспериментах с использованием РНК-интерференции, что ассоциацию коилина с поврежденными центромерами вызывает потеря белка CENP-B. При этом центромерный коилин, который находится в гипометилированном состоянии (Sabra et al., 2013), проявляет ДНК-связывающую активность и взаимодействует с центромерной альфоидной (α -сателлитной) ДНК I типа организации повторов высокого порядка (Morency et al., 2007).

Установлено, что коилин необходим, но недостаточен для центромерной локализации белка SMN, при этом он не требуется для центромерной локализации фибрилларина (Sabra et al., 2013). Предполагают, что накопление коилина, SMN и фибрилларина в структурах, ассоциированных с центромерами при их повреждении, вызванном инфекцией HSV-1, опосредовано участием ncРНК в поддержании организации центромерного хроматина (Morency et al., 2007). Однако молекулярные механизмы рекрутирования белков ТК на центромеры могут отличаться от механизмов рекрутирования этих белков в ТК (Sabra et al., 2013).

Как было упомянуто в главе 1, ТК быстро реагируют на вирусные инфекции эукариотических клеток. Особенно хорошо это прослежено в отношении клеток растений. По современным представлениям, в фитопатологических реакциях клеток растений на вирусные инфекции именно коилин играет ведущую роль (Love et al., 2017). Он прямо или косвенно влияет на взаимоотношения между клетками растения-хозяина и РНК/ДНК-содержащими вирусами разных типов, однако это влияние может проявляться по-разному.

Эксперименты по нокдауну гена коилина с помощью РНК-интерференции позволили установить, что коилин способствует защите клетки растения-

хозяина от ДНК-содержащего вируса золотой мозаики томатов (tomato golden mosaic virus, TGMV — бегомовирус) и некоторых РНК-содержащих вирусов, таких как вирус погремковости табака (tobacco rattle virus, TRV — тобравирус), вирус черной кольцевой пятнистости томатов (tomato black ring virus, TBRV00 — неповирус) и вирус мозаики ячменя (barley stripe mosaic virus, BSMV — гордевирус). Однако при инфекциях, вызванных другими РНК-содержащими вирусами, такими как Y-вирус картофеля (potato virus Y, PVY — потивирус) или вирус турнепса (turnip vein-clearing virus, TVCV — тобамовирус⁷⁴), наблюдается противоположный эффект: коилин, наоборот, усиливает патогенность этих вирусов. Наконец, на некоторые вирусы, например РНК-содержащий X-вирус картофеля (potato virus X, PVX — потекс-вирус), коилин не оказывает заметного влияния (Shaw et al., 2014).

Можно предположить, что защита растений от вирусной инфекции происходит из-за запуска механизмов сайленсинга, направленного на вирусные геномы. Однако нокдаун гена коилина в клетках табака (*Nicotiana*) влияет на этот процесс только в случае вирусов TBRV и TRV. При этом уровни TRV- и BSMV-специфических siРНК — главных факторов РНК-зависимого сайленсинга генов — не снижаются (Shaw et al., 2014). Это указывает на то, что коилин (и ТК в целом) могут участвовать в неизвестном пока механизме защиты клеток растения-хозяина от вирусной инфекции, который существует помимо siРНК-зависимого сайленсинга (Taliensky et al., 2023). По-видимому, взаимоотношения коилина с вирусами растений могут включать различные молекулярные механизмы, когда речь идет о разных вирусах на разных фазах цикла вирусной инфекции. В любом случае коилин способен напрямую взаимодействовать с белками вирусов растений, что показано, например, в отношении полулатентного вируса мятлика (poa semilatifolius, PSLV — гордевирус), который по своей природе близок к BSMV (Семашко и др., 2012).

Разумеется, взаимодействие коилина с вирусами не ограничивается клетками растений (Lettin et al., 2023). Как уже было отмечено в главе 1, коилин способен формировать комплексы, например, с белком L4–22K аденовируса Ad5 человека, что приводит к усилению эффективности экспорта вирусной мРНК (White et al., 2023).

2.3. ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ КОИЛИНА

2.3.1. Фосфорилирование

Коилин является конститутивным фосфопротеином. Уровень фосфорилирования влияет на его функциональную активность, способность взаимодействовать с молекулярными партнерами (в частности, SMN, Sm-белками

⁷⁴ Типовым видом тобамовирусов является широко известный вирус табачной мозаики.

и РНК), определяет локализацию в ядре и имеет принципиальное значение для формирования ТК, модулируя способность молекул коилина к самоассоциации (Hebert, Matera, 2000; Hebert, Poole, 2017).

Исследования *in vitro* с использованием С-концевого фрагмента коилина, содержащим 10 сайтов фосфорилирования (всего в молекуле коилина идентифицировано 18 таких сайтов; рис. 9), показали, что Sm-белки преимущественно связывают гиперфосфорилированный коилин, в то время как взаимодействия коилина с SMN усиливаются в случае нефосфорилированного коилина, с которым SMN связывается *in vitro* и *in vivo* (Toyota et al., 2010).

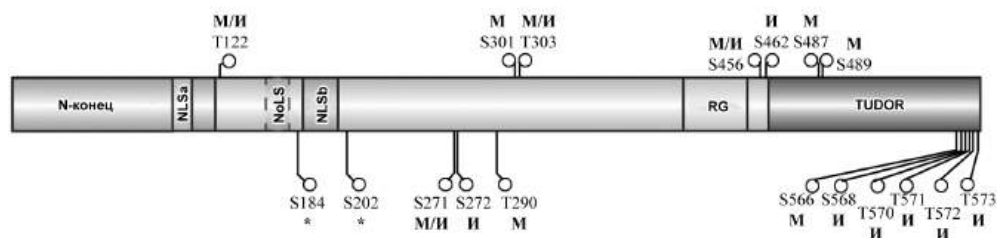


Рис. 9. Сайты фосфорилирования в молекуле коилина человека

Обозначения: М — митоз, И — интерфаза; * — идентифицированы в ходе исследований мутагенеза (по: Toyota et al., 2010)

Экспериментальное изменение предполагаемых сайтов фосфорилирования в С-концевом участке молекулы коилина нарушает его нормальную ядерную локализацию (Hearst et al., 2009), приводит к резкому изменению количества ТК в ядре (Shpargel et al., 2003). Специфическое удаление С-конца молекулы коилина вызывает разрушение ТК; при этом формируются «псевдо-ТК», неспособные рекрутировать snРНП (Bohmann et al., 1995a).

В тех клетках, для которых в наибольшей степени характерно присутствие ТК (например, HeLa), коилин находится в менее фосфорилированном состоянии по сравнению с клетками первичных клеточных линий (например, WI-38⁷⁵), которые содержат мало ТК (Hearst et al., 2009). В митотических клетках HeLa уровень фосфорилирования коилина находится примерно на том же уровне, что и в интерфазных первичных клетках.

Статус фосфорилирования коилина изменяется во время митоза, что регулирует сборку ТК и их стабильность в дочерней клетке (Hebert, 2013). В митозе коилин гиперфосфорилируется (Carmo-Fonseca et al. 1993; Toyota et al., 2010), что является причиной митотической дезинтеграции ТК, поскольку гиперфосфорилированные молекулы теряют способность к самоассоциации (Hebert, Matera, 2000; Shpargel et al., 2003).

⁷⁵ Фибробласты легкого 3-месячного плода человека.

Согласно количественному атласу митотического фосфорилирования (Dephoure et al., 2008), в молекуле коилина во время митоза преимущественно фосфорилируется специфический остаток серина (S489). Точечная замена этого остатка на аспарагиновую кислоту (S489D), имитирующая конститутивное фосфорилирование, существенно снижает как потенциал формирования ТК (Broome et al., 2013), так и пролиферативную активность клеток (Carrero et al., 2011). По остатку S184 коилин фосфорилирует эволюционно консервативная серин-треониновая протеинкиназа VRK1 (Vaccinia-related kinase 1)⁷⁶, что защищает его молекулу от убиквитинилирования и протеасомной деградации (Cantarero et al., 2015). Кстати, патологические варианты VRK1 вызывают нарушения ТК, что влияет на функции, например, нейронов при различных нейропатиях (Lazo, 2024). Фосфорилировать коилин *in vitro* способны также CDK2—циклин-Е и казеинкиназа-2 (Liu et al., 2000; Hebert, Matera, 2000).

Экспериментальная замена в молекуле коилина еще одного потенциального сайта фосфорилирования (S202) на конститутивно фосфорилированный остаток аспарагиновой кислоты (S202D) приводит к перераспределению коилина в ядрышки (Lyon et al., 1997). К такому перераспределению приводит и замена остатка S184 на аланин (S184A) (Hebert, Matera, 2000).

Следует отметить, что в физиологических условиях коилин в ядрышке обнаруживается сравнительно редко (табл. 5). Неизвестно, связано ли присутствие коилина в ядрышках в этих редких случаях — например, в ооцитах травяной лягушки *R. temporaria* на поздних стадиях диплотены (Цветков и др., 2002) или в нейронах *substantia nigra* человека (Гусельникова и др., 2020) — с изменением профиля его фосфорилирования или с другими модификациями.

Релокализацию коилина либо в сами ядрышки, либо в отдельные специфические структуры (перинуклеоллярные «шапочки» — табл. 5) обычно наблюдают в экспериментальных условиях или при стрессе. Например, при обработке ооцитаевой кислотой (Sleeman et al., 1998), которая подавляет общую фосфатазную активность белков; при подавлении транскрипции или экспрессии генов, кодирующих структурные белки ТК (Trinkle-Mulcahy, Sleeman, 2017), под действием UV-излучения (Ciocce et al., 2006) или при повреждениях ДНК, вызванных γ -излучением или действием цисплатина⁷⁷ (Gilder et al., 2011). В последних двух случаях коилин колокализует с RPA194 (большой субъединицей РНК-полимеразы I), при этом он может специфическим образом взаимодействовать как с RPA194, так и с UBF (теперь UBTF — upstream binding transcription factor) — ключевым фактором транскрипции рДНК. Нокдаун эндогенного коилина, вызванный цисплатином, частично преодолевает блокировку транскрипции, зависимой от РНК-полимеразы I, в то время как молекулы эктопически экспрессируемого и экзогенного коилина накапливаются в ядрышке и подавляют синтез рРНК (Gilder et al., 2011). Следова-

⁷⁶ Ее ортолог в клетках *Drosophila* — NHK1 (nucleosome histone kinase 1).

⁷⁷ Противораковое цитотоксическое вещество (цис-[Pt(NH₃)₂Cl₂]), повреждающее ДНК.

но, коилин можно считать одним из факторов, напрямую подавляющим активность РНК-полимеразы I при повреждениях ДНК, что является еще одной важной его функцией, помимо функций, связанных с метаболизмом snRNP.

Таблица 5

Коилин в ядрышках и сопутствующих структурах — перинуклеоларных «шапочках»

	Тип клеток, условия	Клеточная линия / ткань	Литературный источник
Коилин в ядрышках	Нейрональные клетки	Первичные нейроны и нейроны черной субстанции мозга крысы	Raška et al., 1991; Гусельникова и др., 2020
	Клетки печени у животного в состоянии спячки	Гепатоциты сони	Malatesta et al., 1994
	Ооциты зимующих лягушек	Поздние вителлогенные ооциты травяной лягушки	Цветков и др., 2002
	Клетки опухоли молочной железы	Hep2, MOT4, HBL100, T47D, MCF7	Ochs et al., 1994
	Подавление активности серин-треониновой фосфатазы	HeLa	Lyon et al., 1997
	Подавление CRM1-зависимого ядерного экспорта	HeLa	Carvalho et al., 1999
	Удаление С-концов (аминокислоты 1–248 и 1–315) в молекуле коилина	HeLa	Hebert, Matera, 2000
	Сверхэкспрессия экзогенного коилина	MEFs (нокаут по коилину), HeLa	Shpargel et al., 2003
	Деплеция SMN	HeLa	Girard et al., 2006; Lemm et al., 2006; Shpargel, Matera, 2005
	Деплеция метилтрансферазы TGS1	HeLa	Lemm et al., 2006
	Деплеция FLASH	SAOS2, IMR90, HeLa, MCF7, MEFs	Barcaroli et al., 2006a
	Нефосфорилируемый коилин	HeLa (в норме и нокдаун по коилину), WI38	Hearst et al., 2009
	Гипометилированный коилин	MCF7 ^{MTAP} -, HeLa	Tapia et al., 2010
	Деплеция WRAP53 — компонента комплекса теломеразы	U2OS, HeLa	Mahmoudi et al., 2010
	Pcd (Purkinje cell degeneration) атакия	Первичные нейроны мыши	Baltanás et al., 2011
	Двигательные нейроны при спинальной мышечной атрофии (SMA)	Первичные двигательные нейроны человека	Tapia et al., 2012
	Деплеция SUMO-изопептидазы USPL1	HeLa, U2OS	Hutten et al., 2014

Окончание табл. 5

	Тип клеток, условия	Клеточная линия / ткань	Литературный источник
Коилин в перинуклеолярных «шапочках»	Подавление синтеза РНК	HeLa, U2OS	Carmo-Fonseca et al., 1992; Shav-Tal et al., 2005
	Подавление фосфорилирования белков оадаевой кислотой	HeLa, SK-OV-3, MCF-7, H36-CE1	Sleeman et al., 1998
	Удаление N- и C-концов коилина (аминокислоты 94–291)	HeLa	Bohmann et al., 1995
	Деплеция SMN	HeLa	Gonsalvez et al., 2007; Shpargel, Matera, 2005
	Повреждения ДНК, индуцированные ультрафиолетом	HeLa, WI 38, COS-7, HaCaT, SAOS-2, 293T, HCT116, SW480, MCF-7, FTC-133	Cioce et al., 2006
	Деплеция PRMT5 или PRMT7	HeLa	Gonsalvez et al., 2007
	Повреждения ДНК, индуцированные цисплатином или радиацией	HeLa, WI38, SAOS2	Gilder et al., 2011

Фосфорилирование коилина влияет на его способность взаимодействовать с другими белками. Например, при фосфорилировании коилина из ТК высвобождается комплекс SMN, который позволяет snРНП накапливаться в ТК (Toyota et al., 2010). Фосфорилированием также регулируется РНК-связывающая активность коилина (Broome et al., 2013). В экспериментах по иммунопреципитации показано, что обработка клеток нокадазолом, действие которого задерживает клетки в митозе за счет деполимеризации микротрубочек, приводит к фосфорилированию коилина и изменяет характер его взаимодействий с scaРНК, примерно в 4 раза снижая в иммунопреципитатах с коилином уровень SCARNA2 (HBII-382) и SCARNA9 (mgU2–19/30) (Enwerem et al., 2014). Таким образом, фосфорилирование коилина влияет на функциональную активность ТК не только в отношении белков, но и РНК.

2.3.2. Метилирование и другие модификации

Кроме фосфорилирования молекулы коилина способны подвергаться другим модификациям: метилированию, ацетилированию, сумоилированию и убиквитинилированию. Так, исследования коилина человека с использованием масс-спектрометрии показали, что остатки лизина K204, K405 и K496 подвергаются ацетилированию, остатки K127, K204 и K281 — сумоилированию, а остатки K476, K496 и K555 — убиквитинилированию (Hebert, Poole, 2017).

За метилирование коилина млекопитающих в первую очередь отвечает RG-фрагмент (RG box) его молекулы, в результате чего в нем формируются симметричные диметиларгинины (sDMA) (Hebert et al., 2002). От присутствия sDMA в молекуле коилина зависит локализация в ТК белка SMN (Boisvert

et al., 2002). Экспериментальные изменения RG-бокса снижают способность коилина взаимодействовать с SMN, что приводит к появлению в ядре ТК-подобных коилинсодержащих областей без SMN. Наоборот, в клетках, экспрессирующих коилин с измененным RG-фрагментом, ядерный SMN формирует дополнительные тельца, известные как gems или тельца — близнецы ТК (Hebert et al., 2001).

Таким образом, sDMA-модификации влияют на локализацию коилина в ядре и его способность к взаимодействию с другими белками. Метилированный коилин концентрируется в ТК, в то время как гипометилированный — в ядрышке (Tapia et al., 2010). Гипометилированный коилин не способен к ассоциации ни с snRNP, ни с SMN.

О влиянии ацетилирования, сумоилирования и убиквитинилирования на функции коилина, его распределение в ядре и формирование ТК известно немного. Коилин взаимодействует с PIASy (protein inhibitor of activated STAT) — SUMO-E3-лигазой, которая характеризует ядерные тельца PML, обеспечивая тем самым функциональную связь между ними и ТК (Sun et al., 2005). PIASy является негативным регулятором функций белка Oct4 — неотъемлемого компонента регулярного аппарата ядра, обеспечивающего поддержание плюрипотентности (Томилин, 2009). В присутствии PIASy происходит релокализация Oct4 из ТК на периферию клеток (Tolkunova et al., 2007). Взаимодействия между коилином и PIASy потенциально дает возможность сумоилирования белков, являющихся компонентами ТК. Неизвестно, является ли коилин субстратом для PIASy-опосредованного сумоилирования, однако ключевой сумоилирующий фактор клетки SUMO-1 (small ubiquitin-related modifier 1) присутствует в ТК, например, нейронов млекопитающих (Navascues et al., 2008).

Относительно недавно была доказана роль процессов SUMO-илирования коилина при формировании ТК (Tucker et al., 2024). Подавление этого процесса приводило к заметному увеличению количества ТК в клетках HeLa, но при этом их размеры уменьшались. Кроме того, в этой работе показано, что специфическое SUMO-илирование коилина по одному из остатков лизина (K84) ослабляет взаимодействия коилина и уже упомянутого нами белка NOLC1 (разд. 1.3.2) — ключевого компонента ТК и ядрышек, шаперона sno/scaRNP. Статус SUMO-илирования коилина влияет на его подвижность в ТК: чем он меньше, тем более подвижны его молекулы (Tucker et al., 2025).

Следует отметить, что на состояние ТК влияет SUMO-илирование не только самого коилина, но и белков, тесно взаимодействующих с ним. Например, с коилином ассоциирует SUMO-E3-лигаза PIAS4 (Sun et al., 2005), которая SUMO-илирует PARP1 — белок ответа на повреждение ДНК, упомянутый нами в главе 1 как один из компонентов ТК. Показано, что при подавлении коилина с помощью нокдауна его гена заметно снижается уровень SUMO-илирования PARP1, в том числе связанного с хроматином при повреждении ДНК, что влияет на его функции при PAR-илировании самого себя и других

белков (Tucker et al., 2025). Таким образом, не только модификации самого коилина, но и многочисленных его интерактантов влияют на состояние ТК в частности и молекулярную физиологию клетки в целом.

В 2025 г. был проведен детальный анализ интерактома коилина (Arias Escayola et al., 2025), результаты которого заставляют задуматься о существовании доселе неизвестных связей, расширяющих функции самих ТК. Возможно, ТК не только регулируют продукцию сплайсосом (это их основная функция — разд. 1.3), но и, например, рибосом, как бы напрямую вторгаясь в «функциональную компетенцию» ядрышка (Courvan, Parker, 2025). Уместно вспомнить, что представления о существовании тесных взаимоотношений между ТК и ядрышком идут со времен самого Кахала (Cajal, 2010), чьи морфологические наблюдения оказались пророческими и спустя век с лишним были подтверждены на уровне современной протеомики (Arias Escayola et al., 2025).

Авторы идентифицировали 144 белка, с которыми взаимодействует коилин, при этом 70 белков оказались его ранее неизвестными молекулярными партнерами. Деpletion 11 таких белков приводила к релокализации коилина в ядрышко. Более того, оказалось, что некоторые «неожиданные» партнеры коилина (например, RPL24 — компонент 60S-субъединицы рибосом) путем модуляции его посттрансляционных модификаций неожиданным образом влияют на количество ТК в клетке. Так, depletion RPL24 приводила к увеличению количества ТК почти в 2 раза. Кроме того, наблюдали слияние коилинсодержащих ТК с SMN-содержащими gems, что, вероятно, связано с повышением уровня диметиларгининов. В проведенном исследовании (Arias Escayola et al., 2025) его авторы впервые обратили также внимание на то, что среди белков, с которыми взаимодействует коилин, имеется множество транскрипционных факторов. Это еще раз подчеркивает прямую роль экспрессии генов в динамике ТК, о чем до сих пор рассуждали лишь априори, в контексте экспериментального подавления транскрипции или ее физиологического затухания в определенных клетках.

Таким образом, коилин на сегодняшний день является вполне хорошо охарактеризованным белком — и в структурном, и в функциональном отношении. Но не до конца.

Глава 3

РОЛЬ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ В МЕТАБОЛИЗМЕ МАЛЫХ ЯДЕРНЫХ РНП СПЛАЙСИНГА

Транскрипция генов snРНК и специфический метаболизм (биогенез) snРНП в первую очередь определяют существование ТК как морфологически оформленных структур. Они проявляют тесную ассоциацию с транскрипционно активными генами snРНК, содержат РНК-полимеразы и транскрипционные факторы и, по-видимому, принимают участие непосредственно в контроле транскрипции соответствующих генов, участвуя в сборке и/или процессинге различных молекулярных факторов, а также способствуют их эффективной доставке к участкам транскрипции.

Влияние зависимой от РНК-полимеразы II транскрипции, в том числе транскрипции генов snРНК, на формирование и поддержание структурной целостности ТК было установлено еще в ранних работах. Например, подавление транскрипции ингибиторами (α -аманитином, актиномицином D или DRB) приводит к разрушению ТК (Raška et al., 1990) и высвобождению из них snРНП (Carmo-Fonseca et al., 1992; Frey et al., 1999). Наоборот, высокие уровни транскрипции в клетке четко коррелируют с увеличением числа ТК, как, например, в нейронах чувствительного ганглия тройничного нерва крысы (Pena et al., 2001).

К началу 2000-х гг. сложилось представление о том, что ТК являются некими «промежуточными станциями» (waystations) в сложном цикле метаболизма snРНП (Matera, 1999). При этом snРНК и/или snРНП «встречаются» с ТК несколько раз, по крайней мере трижды (Staněk, Neugebauer, 2006; Staněk, 2017). По современным представлениям, ТК участвуют: 1) в начальных этапах процессинга пре-snРНК, связанных с формированием комплекса экспорта; 2) в заключительных этапах процессинга snРНП, таких как посттранскрипционные ковалентные модификации snРНК (2'-O-метилирование, псевдоуридинилирование) и сборка функционально компетентных snРНП-субъединиц сплайсосом; 3) в рециклировании snРНП после очередного цикла сплайсинга, ремоделировании и сортировке snРНП-частиц (рис. 10, 20).

3.1. МАЛЫЕ ЯДЕРНЫЕ РНК (snРНК) СПЛАЙСИНГА

В 1970-е гг. одним из ключевых событий в молекулярной биологии явилось открытие «прерывистости» эукариотических генов, кодирующих белки (split genes), за которое в 1993 г. Р. Робертс (Richard J. Roberts) и Ф. Шарп (Philip A. Sharp) были удостоены Нобелевской премии. Их открытие привело

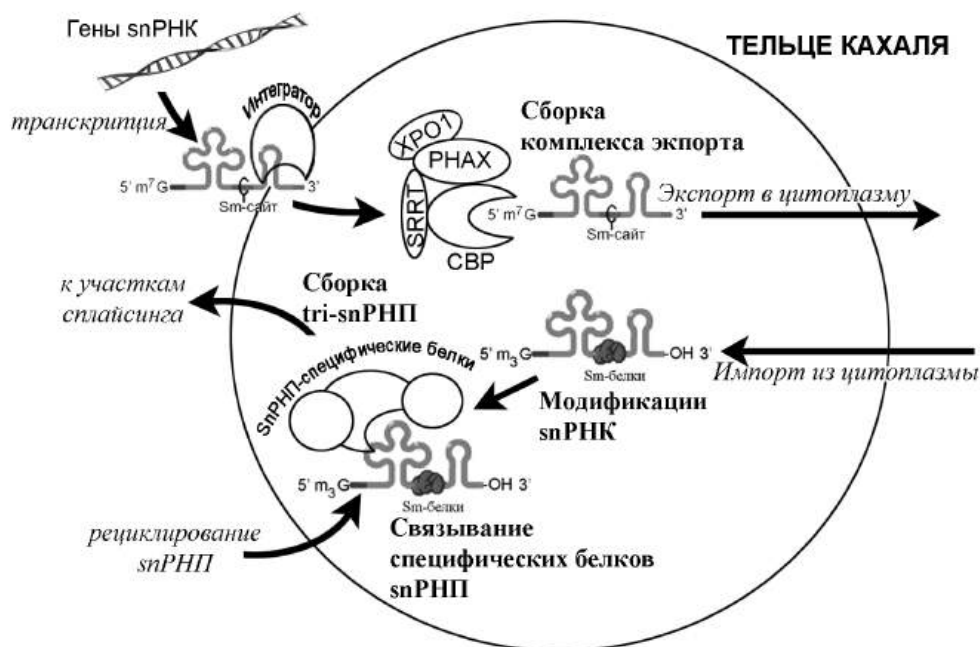


Рис. 10. Ключевые этапы метаболизма snРНК с участием телец Кахаля
(по: Staněk, 2017, с изменениями)

Сначала комплекс Интегратор расщепляет 3'-конец молекулы snРНК, затем в районе 5'-конца формируется комплекс экспорта, и snРНК экспортируются из ядра в цитоплазму. После ассоциации с Sm-белками и гиперметилирования 5'-кэпа коровые snРНК возвращаются в ядро и оказываются в тельцах Кахаля, где к этим snРНК добавляются snРНК-специфические белки и формируется субъединица сплайсосомы U4/U6 • U5 tri-snРНК.

к формированию представлений об экзонах, копии которых будут представлены в первичных транскриптах мРНК (пре-мРНК), и интронах, находящихся между экзонами в молекуле ДНК. Сплайсинг (от *англ.* to splice — склеивать, сращивать [например, кабель — *воен.*, *связь*], соединять концы) — удаление копий интронов и точное соединение концов копий соседних экзонов в молекуле пре-мРНК; это один из ключевых этапов посттранскрипционного процессинга пре-мРНК. Основу сплайсинга пре-мРНК составляют относительно простые с химической точки зрения последовательные реакции трансэтерификации, однако процессы, которые обеспечивают сплайсинг в клетке, гораздо сложнее.

Сплайсинг пре-мРНК катализируется сплайсосомами — мегадальтонными динамичными молекулярными наномашинами, требующими гидролиза большого количества АТФ. Это одни из наиболее сложных РНК-комплексов в клетке (Will, Lührmann, 2011; Chen, Moore, 2014; Matera, Wang,

2014; Papasaikas, Valcárcel, 2016; Galej, 2018; Tholen, Galej, 2022; Beusch, Madhani, 2024). Считают, что высокая сложность сплайсосомы, с одной стороны, обеспечивает высокую точность сплайсинга, а с другой — обеспечивает различные механизмы его регуляции.

Основу сплайсосомы составляют snРНП и белки, не входящие непосредственно в состав snРНП-частиц (non-snRNP splicing factors). РНК-компонентами snРНП являются snРНК — особая группа sncРНК. Они в изобилии представлены в клеточном ядре, а размер их молекул не превышает 200 п. н., оттого они и названы малыми ядерными. Молекулы snРНК богаты остатками уридина (U), из-за чего их иногда обозначают как U-snРНК (Uridylate-rich small nuclear RNAs, UsnRNAs— Solymosy, Pollák, 1993).

Подробное рассмотрение молекулярных основ синтеза и процессинга snРНК, биогенеза snРНП, как и реакций сплайсинга, не входит в задачу нашей работы, и я адресую читателя к некоторым исчерпывающим обзорам по данной теме (Fischer et al., 2011; Will, Lührmann, 2011; Papasaikas, Valcárcel, 2016; Sahebi et al., 2016; Gruss et al., 2017; Shi, 2017a, 2017b; Cui et al., 2024), а здесь привожу лишь краткие сведения по данному вопросу, делая акцент на функциях ТК в ходе прохождения snРНП разных этапов их метаболизма.

Все snРНК можно условно разделить на 2 группы, при этом метаболизм (биогенез) snРНП каждой группы принципиально различается между собой (Matera et al., 2007; Matera, Wang, 2014). Первую группу (в литературе ее условно называют группой U2 по типовой U2 snРНК) составляет подавляющее большинство snРНК сплайсинга: мажорные (major) U1, U2 и U4 snРНК, входящие в состав примерно 90% сплайсосом; минорные (minor) U4atac, U11 и U12 snРНК, входящие в состав примерно 10% сплайсосом; а также U5 snРНК, общая для мажорных и минорных сплайсосом. Мажорные сплайсосомы катализируют сплайсинг интронов, фланкированных каноническими сайтами сплайсинга GT—AG, а минорные — сплайсинг более редких интронов AT—AC. Формально к первой группе U-snРНК можно отнести U7 snРНК — ключевой компонент ТГЛ (глава 7), которая не имеет отношения к сплайсингу и служит ведущим фактором процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов, но со сплайсосомными snРНК имеет много общего — и по строению молекулы, и по особенностям метаболизма. Вторую группу snРНК сплайсинга (группу U6) составляют U6 snРНК (major) и U6atac snРНК (minor).

Малые ядерные РНК кодируются собственными генами, которые не содержат интронов. SnРНК первой группы синтезируются РНК-полимеразой II. Подобно другим транскриптам, синтезируемым этой полимеразой, 5'-кэпирование и эндонуклеолитическое расщепление (cleavage) 3'-конца молекул пре-snРНК осуществляются котранскрипционно, но молекулы пре-snРНК не полиаденилируются. Вместо этого на 3'-конце пре-snРНК присутствует цепочка из добавочных нуклеотидов, которые удаляются в ходе процессинга (тримминга). Специфический результат посттранскрипционного процессинга 5'-конца молекул U-snРНК первой группы — гиперметилирование стандартного 7-метилгуанозинового (m^7G) кэпа, в результате

чего формируется характерный 2,2,7-триметилгуанозин (TMG, m₃G) кэп. Ряд нуклеотидов в молекулах snРНК подвергаются посттранскрипционным модификациям — 2'-*O*-метилированию и псевдоуридинилированию.

Гены, кодирующие snРНК второй группы (U6 и Ubatas), транскрибируются РНК-полимеразой III, и процессинг этих РНК имеет некоторые черты сходства с процессингом других продуктов РНК-полимеразы III. В качестве особенностей посттранскрипционного процессинга 3'-конца U6 пре-snРНК отметим формирование у большинства (~ 90%) молекул 2'-3'-циклофосфата, а у меньшей части (~ 10%) — олиго(U)-участка (3'-oligo(U) stretch) длиной около 20 нуклеотидов. Процессинг 5'-конца молекулы U6 пре-snРНК состоит в добавлении метильной группы к стандартному трифосфатному кэпу с образованием γ -монометилтрифосфата (γ -m-P₃ cap).

Общая схема сплайсосомного цикла и реакций сплайсинга пре-mРНК показана на рис. 11. В упрощенном виде метаболизм сплайсосомных snРНК можно представить следующим образом. На первом этапе, до осуществления первой реакции трансэтерификации, с 5'-концом интрона пре-mРНК (5'-сайтом сплайсинга) связывается U1 snРНК. Затем связывание фактора сплайсинга SF1 с точкой ветвления (branch point) пре-mРНК способствует ассоциации U2AF (вспомогательного фактора U2 snРНК) с полипиримидиновым участком интрона, расположенным вблизи 3'-сайта сплайсинга. После формирования первого стабильного сплайсосомного комплекса белок SF1 замещается U2 snРНК, после чего с пре-mРНК связывается самая сложная субъединица сплайсосомы — U4/U6 • U5 tri-snРНК. Таким образом, U1 snРНК, U2 snРНК и U4/U6 • U5 tri-snРНК представляют собой три snРНК-субъединицы сплайсосомы, готовой к каталитической активации.

Конформационные изменения сложившегося комплекса формируют каталитически компетентную сплайсосому. В ходе каталитической активации сплайсосомы нарушаются комплементарные связи между U4 и U6 snРНК, в результате чего U4 snРНК высвобождается. При этом образуются новые комплементарные связи между U6 и U2 snРНК, а U6 snРНК, образуя связь с 5'-сайтом сплайсинга, замещает там U1 snРНК. Самую активную роль в этих кардинальных перестройках играют белки, специфичные для U5 snРНК.

Молекулярные события сборки минорных сплайсосом в целом сходны, однако U11 и U12 snРНК перед ассоциацией с пре-mРНК сразу образуют стабильный комплекс U11/U12 di-snРНК, в формировании которого принимают участие специфические для U11/U12 snРНК белки — RNPC3 (U11/U12–65K) и PDCD7 (U11–59K) (Benecke et al., 2005).

Метаболизм (биогенез) snРНК — сложный многоступенчатый процесс (Gruss et al., 2017), который включает формирование и последовательные преобразования промежуточных snРНК-комплексов и затрагивает сразу несколько клеточных компартментов. Общим его принципом является предварительная сборка стабильных, но неактивных snРНК с последующим их «созреванием» (maturation, processing), в результате чего формируются функционально компетентные snРНК-компоненты (субъединицы, частицы) сплайсосом.

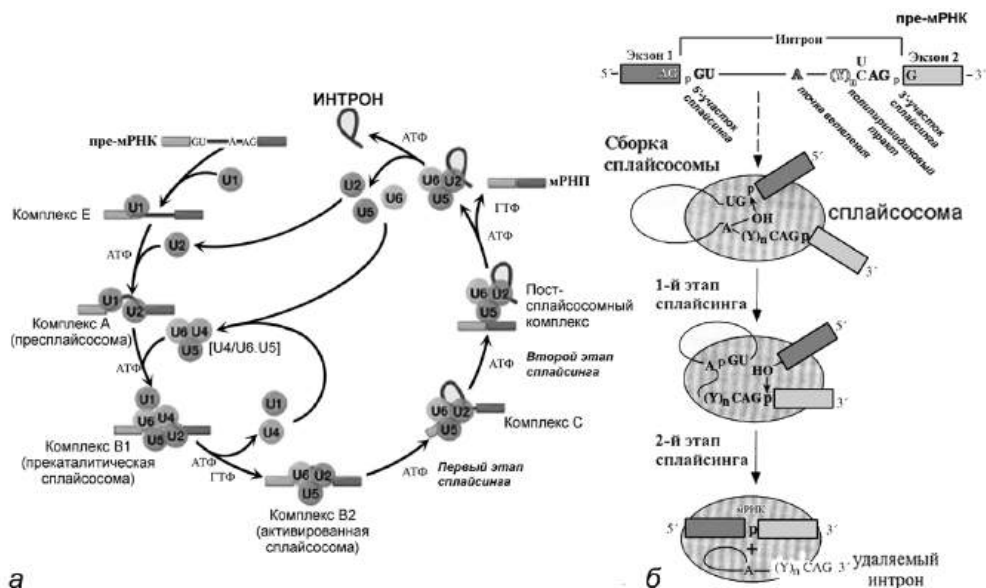


Рис. 11. Сплайсосомный цикл (а) и реакции сплайсинга (б)

(а — по: Will, Lührmann, 2011, с изменениями; б — адаптировано из учебной литературы⁷⁸)

Важно подчеркнуть, что процессинг snРНК происходит в местах, отличных от конечных мест, в которых они осуществляют свои функции в сплайсинге пре-мРНК. Попутно отметим, что сплайсинг большей части пре-мРНК осуществляется котранскрипционно — в перихроматиновом компартменте ядра, а с морфологической точки зрения — в связи с перихроматиновыми фибриллами (Боголюбов, 2014). Только небольшая часть (~ 10%) пре-мРНК сплайсируется посттранскрипционно — в ядерных спеклах/КИГ (Girard et al., 2012).

Основу snРНК-частиц первой группы (группы U2) составляют семь так называемых Sm-белков: SmB/В' (белки В и В' различаются по их последним аминокислотным остаткам и кодируются одним и тем же геном), SmD1, SmD2, SmD3, SmE, SmF и SmG. Коровую же часть snРНК второй группы (U6 и U6atac) формируют Sm-подобные белки (like-Sm, Lsm). Поэтому snРНК первой группы в литературе еще называют snРНК класса Sm (Sm class spliceosomal snRNAs), а snРНК второй группы — snРНК класса Sm-like (Sm-like snRNAs). В состав белкового центра U7 snРНК, который мы тоже относим к первой группе, вместо Sm-белков D1 и D2 входят соответственно специфические Sm-подобные белки Lsm-10 и Lsm-11 (рис. 12).

⁷⁸ За основу взяты схемы из: Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки: в 3-х т. 2-е изд. Т.1. М.: Мир, 1994; воспр. из: Боголюбов Д. С., Седова В. М., Спивак И. М. Регуляторные механизмы экспрессии генома: учебное пособие. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2011. 238 с.

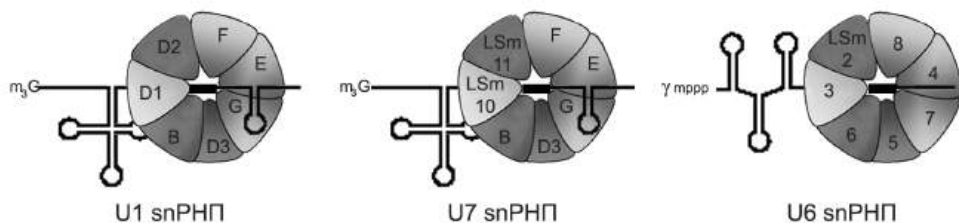


Рис. 12. Sm- и Lsm-белки в составе U1, U7 и U6 snРНП
(ориг., адаптировано из разных источников, цит. в тексте)

Каноническая белковая Sm-сердцевина мажорных сплайсосомных snРНП U1, U2, U4, U5 и минорных U4atac, U11 и U12 представляет собой 7-членную кольцевидную структуру, образованную Sm-белками SmB/B', SmD1, SmD2, SmD3, SmF, SmE и SmG, связанными друг с другом в определенном порядке. В U7 snРНП такое кольцо вместо белков SmD1 и SmD2 содержит Sm-подобные белки Lsm-10 и Lsm-11 и представляет собой Sm/Lsm-гибридную структуру. Центральная белковая часть мажорного сплайсосомного snРНП U6 и минорного U6atac составлена семьёй Lsm-белками (Lsm-2—Lsm-8), также связанными друг с другом в определенном порядке (рис. 11).

Наконец, кроме Sm-белков в состав функциональных snРНП входит 1—12 белков, специфичных для snРНП каждого типа. В случае U4/U6 • U5 tri-snРНП в его состав входят белки, специфические для каждого из каждого моно-snРНП, белки, специфические для U4/U6 di-snРНП, и белки, специфические для tri-snРНП-субъединицы сплайсосомы U4/U6 • U5.

Для сведения: сокращение Sm в названии Sm-белков происходит от фамилии Смит (Stephanie Smith) — молодой чернокожей женщины, страдавшей аутоиммунным заболеванием системной красной волчанкой (СКВ; systemic lupus erythematosus, SLE) и проходившей лечение в Университетской больнице Рокфеллера (Rockefeller University Hospital) в 1960-е гг. (Reeves et al., 2003). Из сыворотки ее крови были выделены антитела, которые, как оказалось впоследствии, распознают дискретные ядерные домены в интерхроматиновом пространстве ядра. Это открытие послужило началом эры исследований в области функциональной компартментализации клеточного ядра и молекулярно-биологической характеристики ТК и ядерных спеклов. Позднее оказалось, что антитела к «антигену Смит» (Smith antigen, Sm epitope) распознают *de facto* симметричные диметиларгинины (sDMA) — характерные посттрансляционные модификации Sm-белков B, D1 и D3 (Brahms et al., 2000). Интересно, что анти-Sm-антитела определяются у 5—30% больных СКВ, однако минимальный процент таких больных составляют европейцы, а максимальный — представители чернокожего населения Северной Америки (Migliorini et al., 2005).

Sm-мотивы (домены) Sm-белков представляют собой эволюционно древние РНК-связывающие последовательности, обладающие специфичностью

по отношению к олиго(U)-нуклеотидам. Минимальный Sm-домен присутствует (в белке Sm2) еще у Archaea (Achse et al., 2001), так что это весьма древний эпитоп. Структура Sm-доменов характеризуется наличием N-концевой α -спирали, за которой следуют 5 β -слоев (Kambach et al., 1999).

С помощью классических методик, включая FISH, иммунофлуоресцентную и иммуноэлектронную микроскопию, позволяющую локализовать тот или иной фактор, в числе первых молекулярных компонентов ТК были идентифицированы мажорные U1, U2, U4, U5 и U6 snРНК (Carmo-Fonseca et al., 1992), минорные U11 и U12 snРНК сплайсинга (Matera, Ward, 1993), а также Sm-белки. Следует, правда, отметить, что если в ядре присутствуют тельца — близнецы ТК (gems), то в этом случае U1 snРНК локализуется не в ТК, а в gems (Stejskalová, Staněk, 2014).

Разумеется, в ТК концентрируются не только snРНК, но и специфические белки помимо Sm-белков. Так, что касается, например, минорных сплайсосом, в ТК присутствует не только белок U11/U12–65K, уникальный компонент U11/U12 di-snРНК-частицы U11/U12, но и его паралог RBM41, новый белковый компонент минорных сплайсосом, функционирующий на этапах их сборки/разборки после сплайсинга (Norppa et al., 2024).

Интенсивность синтеза белков и сборки snРНК-частиц (но не уровни коилина или SMN) является, по-видимому, одним из факторов, стимулирующих формирование ТК. Так, сверхэкспрессия белка SmB вызывает интенсивное образование ТК *de novo*, а обработка клеток специфическим ингибитором ядерного экспорта белков лептомицином B⁷⁹ подавляет как первоначальную аккумуляцию snРНК в ТК, так и последующее их накопление в ядерных спеклах (Sleeman et al., 2001).

Многие факторы, напрямую участвующие в метаболизме малых РНК (сплайсосомных snРНК и U7 snРНК), влияют на структурную целостность ТК. Наиболее известными примерами таких белков служат: триметилгуанозинсинтаза TGS1 (Lemm et al., 2006); белок SMN — один из основных участников сборки snРНК-комплексов (Girard et al., 2006; Lemm et al., 2006); TCAB1 — необходимый адаптер формирования комплексов SMN–коилин и SMN–импортин β (Mahmoudi et al., 2010); субъединицы INTS4, INTS9 и INTS11 (Takata et al., 2012; Albrecht et al., 2018), составляющие каталитическую основу комплекса Интегратор (Integrator complex, INT — Baillat, Wagner, 2015), который обеспечивает нуклеолитическое расщепление (cleavage) 3'-конца пре-snРНК (Chen, Wagner, 2010); фосфорилированный адаптер экспорта snРНК PHAX (Lemm et al., 2006; Takata et al., 2012) и ТК-ассоциированная SUMO-изопептидаза USPL1 (ubiquitin-specific peptidase-like protein 1) (Hutten et al., 2014). Деплеция любого из этих факторов приводит к дезинтеграции ТК с появлением мелких коилинсодержащих фрагментов,

⁷⁹ Лептомицины продуцируются актинобактериями рода *Streptomyces*. Антибиотик лептомицин В (LMB) первоначально был выделен как сильное противогрибковое вещество.

рассеянных в нуклеоплазме, в которых отсутствуют ключевые компоненты ТК, такие как SMN, Sm-белки или snРНК.

Интересно, что на структурную целостность ТК влияет деплеция TCERG1 (transcriptional elongation regulator 1) — регулятора транскрипции и альтернативного сплайсинга, который ассоциирует с CRM1 (рецептором экспорта snРНК), INTS11 (субъединицей комплекса Интегратор) и играет важную роль в сборке комплексов Sm–snРНК в ходе метаболизма snРНК. При деплеции TCERG1 нарушается рекрутирование Sm-белков к snРНК, а также формирование полноценных snРНК. С помощью метода иммунопреципитации показано, что TCERG1 образует стабильные комплексы с коилином (Moreno-Castro et al., 2019), поэтому разрушение ТК в результате деплеции TCERG1 не является неожиданностью, как в случае любого другого ассоциированного с коилином белка. Однако внутри самих ТК белок TCERG1, будучи, по сути, компонентом других компартментов — ядерных спеклов (Sánchez-Álvarez et al., 2006), лишь частично колокализует с коилином и выявляется преимущественно только на периферии ТК (Moreno-Castro et al., 2019). Тем не менее, несмотря на то что TCERG1 не является конститутивным компонентом ТК, его нокдаун приводит к разрушению ТК (по-видимому, как следствие его ассоциации с коилином) и диспергированию белков ТК в нуклеоплазме. Однако деплеция TCERG1 не оказывает влияния на другие ядерные органеллы, такие как ТГЛ, gems или ядерные спеклы (Moreno-Castro et al., 2019).

3.2. МЕТАБОЛИЗМ snРНК И snРНК ГРУППЫ U2

3.2.1. Транскрипция и котранскрипционный процессинг

Гены, кодирующие snРНК первой группы (группы U2), к которой, напомним, относится большинство snРНК за исключением U6 и Ubatas, имеют ряд общих черт с генами, кодирующими белки. Однако они имеют и специфические особенности.

В геноме позвоночных гены многих мажорных snРНК представлены множественными копиями. Например, у человека на гаплоидный геном приходится 4 копии гена U1 snРНК и 15 копий гена U2 snРНК, в то время как гены минорных U11, U12 и U4atas snРНК обычно одиночные и, более того, отсутствуют у многих беспозвоночных (Guiro, Murphy, 2017). Процитированный обзор специально посвящен регуляции транскрипции генов snРНК, и в нем можно найти подробную дополнительную информацию о молекулярных механизмах этого процесса, основных факторах, а также ссылки на оригинальные работы. Здесь же вкратце стоит упомянуть, что гены, кодирующие snРНК первой группы, транскрибируются РНК-полимеразой II и содержат дистальные (DSE) и проксимальные (PSE) элементы, аналогичные соответственно энхансеру и ТАТА-боксу генов, кодирующих

мРНК. Инициация транскрипции таких генов требует набора общих транскрипционных факторов — TFIIA, TFIIB, TFIIE и TFIIIF, а также особого фактора SNAPc — snРНК-активирующего белкового комплекса. Особые промоторы генов snРНК рекрутируют малый элонгирующий комплекс (little elongation complex, LEC), который консервативен, по крайней мере у дрозофилы и человека, в то время как промоторы генов мРНК рекрутируют комплекс SEC (super elongation complex). В составе LEC отсутствует фактор P-TEFb (positive transcription elongation factor) — киназа, фосфорилирующая С-концевой домен (CTD) большой субъединицы РНК-полимеразы II, а также некоторые другие компоненты SEC, например AFF4.

С середины 1990-х гг. известно, что ТК часто формируются в непосредственной близости от кластеров генов, кодирующих как мажорные, так и минорные snРНК. Первоначально тесная связь с ТК была продемонстрирована в отношении генов U1 и U2 snРНК (Smith et al., 1995), а позднее — генов U4, U11 и U12 snРНК (Jacobs et al., 1999). Однако не было отмечено ассоциации ТК с генами, кодирующими U6 snРНК. Можно было бы предположить, что ТК не концентрируются в районе генов U6 snРНК потому, что они являются одиночными и не формируют tandemные кластеры, подобно генам U1 и U2 snРНК, и что в местах расположения одиночных генов концентрация компонентов ТК может быть недостаточной для формирования безмембранной органеллы. Однако ТК эффективно формируются в местах расположения других одиночных генов, таких как гены U4, U11 и U12 snРНК, поэтому более важным фактором формирования ТК, по-видимому, служат особенности нуклеотидной последовательности конкретного гена и/или особенности специфического функционирования конкретной РНК-полимеразы — РНК-полимеразы II или III (Machyna et al., 2013).

На ассоциацию генов snРНК с ТК в первую очередь влияет активность транскрипции этих генов. Например, делеция примерно половины гена U2 snРНК в области 3'-конца полностью нарушает его ассоциацию с ТК (Frey, Matera, 2001). Вместе с тем ТК могут, по-видимому, напрямую регулировать синтез snРНК по принципу обратной связи, будучи чувствительными к общему количеству snРНК в ядре (Matera, 1998), поскольку первичные транскрипты snРНК (например, U2 пре-snРНК) обеспечивают ассоциацию ТК с генами snРНК (Frey et al., 1999). Однако служат ли сами по себе пре-snРНК нуклеирующим фактором формирования ТК, пока остается дискуссионным вопросом.

Наиболее наглядно тесную связь между ТК и генами snРНК демонстрируют эксперименты по иммунопреципитации хроматина с последующим ДНК-секвенированием (Machyna et al., 2014). Особенно продуктивным способом характеристики ассоциаций ТК с различными генами оказалось сочетание полногеномного анализа конформации хромосомных территорий (4C-seq) с 6-цветной ДНК-FISH (spectra-FISH) и микроскопией высокого разрешения (Wang et al., 2016). В результате было доказано, что ТК формируются на периферии хромосомных территорий неслучайным образом. Они

формируют обширные межгенные и межхромосомные ассоциации (hubs) высокоэкспрессирующихся генов, кодирующих гистоны, snРНК и snoРНК, и тем самым динамически влияют на общую трехмерную структуру генома.

С помощью данного подхода в ходе одной процедуры были одновременно визуализированы 5 разных генов (с помощью FISH), ТК (с помощью антител к коилину) и определена частота кластеризации 4 генов, кодирующих мажорные U1, U2, U4 и U5 snРНК (*RNU1*, *RNU2*, *RNU4*, *RNU5*), а также гена *SNORD3A*, кодирующего наиболее распространенную snoРНК — U3 snoРНК (Sawyer et al., 2016a). За исключением генов *RNU2* и *SNORD3A*, расположенных на хромосоме 7, в клетках человека большинство этих генов локализуется на разных хромосомах. Оказалось, что кластеризация сразу нескольких генов вокруг ТК — событие довольно редкое и даже в клетках HeLa уровень ассоциации между 4 генами не превышает 1.5%. При этом не было отмечено ни одного кластера из всех 5 исследованных генов. Одновременную колокализацию 3-х и более генов наблюдали чаще в анеуплоидных клетках HeLa, чем в диплоидных фибробластах линии Detroit 551 ($8.17 \pm 1.22\%$ vs. $1.94 \pm 0.30\%$). Нарушение формирования ТК с помощью РНК-интерференции разрушало кластеры ТК-ассоциированных генов и подавляло их экспрессию. При нокдауне TCAB1, в результате чего ТК разрушаются, а коилин перераспределяется в ядрышки (Mahmoudi et al., 2010), частота межгенных и межхромосомных ассоциаций снижается (Sawyer et al., 2016a).

Особенно сложный ТК-хаб, охватывающий сразу несколько генов, в клетках человека (HeLa) связан с хромосомой 1, при этом наибольшую частоту ассоциаций с ТК ($42.7 \pm 1.1\%$) демонстрирует локус гена *RNU1* (1p36), кодирующего U1 snРНК (Wang et al., 2016). Существенную частоту ассоциаций с ТК (от 23 до 35%) продемонстрировал и ряд других генов, расположенных на обоих плечах хромосомы 1, включая ген *RNU11*, кодирующий U11 snРНК (компонент минорных сплайсосом) и два кластера гистоновых генов (*HIST2* и *H3FA*) — в последнем случае ассоциация достигается посредством физического взаимодействия ТК и ТГЛ.

В экспериментах на живых клетках установлено, что после индукции транскрипции генов *RNU2*, кодирующих U2 snРНК (в клетках человека tandemный кластер этих генов имеет хромосомную локализацию 17q21), эти гены оказываются стабильно ассоциированными с ТК, причем ведущую роль в процессе их активной пространственной переориентации играет ядерный актин (Dundr et al., 2007). Авторы вводили в культивируемые клетки конструкцию, содержащую гены U2 snРНК, совместно с флуоресцентно меченым коилином. Транскрипционно неактивные гены U2 snРНК не продемонстрировали никаких специфических взаимоотношений с ТК, но при запуске транскрипции они перемещались к ближайшему ТК и физически ассоциировали с ним. Это перемещение генов U2 snРНК нарушалось при доминантно-негативной мутации гена β -актина, что доказывает роль ядерного актина в репозиционировании ТК-зависимых генов *in vivo* в ответ на активацию транскрипции. Однако до сих пор не вполне понятно, двигают-

ся ли ТК по направлению к активным генам или, наоборот, хромосомные локусы направляются к ТК при формировании межхромосомных «хабов», центром которых служат ТК.

Неизвестно также, связан ли начальный этап формирования ТК (нуклеация) только с определенными и хорошо известными центрами первичного формирования ядерных органелл, такими как гены *RNU1* и *RNU2*, которые формируют большие кластеры, или с другими генами, обладающими высоким уровнем экспрессии. Неизвестно, должны ли эти гены располагаться на одной и той же хромосоме, для того чтобы запустить формирование ТК, или же могут располагаться на разных хромосомах. В любом случае присутствие ТК усиливает согласованную экспрессию генов snРНК, хотя механизмы такой регуляции остаются невыясненными. Например, деплеция белков, необходимых для поддержания целостности ТК (*WRAP53β* и *USPL1*), приводит к подавлению экспрессии *всех* генов, кодирующих snРНК (Wang et al., 2016).

Поскольку ТК формируются преимущественно в ассоциации с активными генами snРНК (Smith et al., 1995; Schul et al., 1998; Jacobs et al., 1999), а сами пре-snРНК обеспечивают специфичность формирования ТК в этих местах (Frey et al., 1999; Smith, Lawrence, 2000; Frey, Matera, 2001; Machyna et al., 2014), неудивительно, что компонентами ТК являются специфические активаторы и регуляторы транскрипции этих генов. К ним в первую очередь относятся компоненты LEC (Smith et al., 2011; Hu et al., 2013), а также 7SK snРНП — ассоциированный с LEC полифункциональный регулятор транскрипции (Egloff et al., 2017). Кроме того, в ТК в высокой концентрации локализуется γ-субъединица транскрипционного фактора (PTFγ), специфичного для транскрипции генов snРНК (Schul et al., 1998). При этом повышенная локальная концентрация snРНК в ТК способствует эффективной сборке функциональных snРНП (Klingauf et al., 2006).

Структурной платформой для формирования LEC и его связывания с ТК служат первые 500 а. о. молекулы ICE1 (Interactor of Little Elongation Complex ELL subunit 1) — фактора инициации транскрипции, составляющего основу LEC (Hu et al., 2013). Поскольку U7 snРНК (компонент ТГЛ, а не ТК) также эффективно связывает LEC в клетках дрозофилы и человека, речь в данном случае идет о коилинсодержащих структурах (ТК и ТГЛ) в целом, при этом LEC можно рассматривать в качестве общего ключевого компонента обеих ядерных органелл. Авторы считают, что LEC регулирует разные этапы метаболизма snРНП (как сплайсосомных, так и U7 snРНП) — от транскрипции до формирования функциональных snРНП и их рециклирования.

Следует отметить, что некоторые компоненты LEC (ICE1, фактор элонгации ELL и взаимодействующий с ELL белок EAF1) являются компонентами ТК, но не входят в состав gems (Polak et al., 2003; Smith et al., 2011; Hu et al., 2013). В ТК локализуется фактор элонгации MED26 (mediator of RNA polymerase II transcription subunit 26), который в частности играет решающую роль в транскрипции генов snРНК за счет рекрутирования LEC (Takahashi et al., 2015). Однако в ТК отсутствует AFF4 — функциональный

партнер ELL и ключевой компонент SEC, служащий платформой для рекрутирования ELL и других факторов (Smith et al., 2011). Это подчеркивает ключевую роль ТК в транскрипции генов, кодирующих snРНК, но не мРНК.

Белки ELL и EAF1, которые наряду с другими факторами могут служить надежными маркерами, позволяющими достоверно идентифицировать ТК (Polak et al., 2003), колокализуются в ТК с Sm-белками, фибрилларинном, NOLC1, циклином E и коилином. Однако с коилином они физически не взаимодействуют. Подавление зависимой от РНК-полимеразы II транскрипции с помощью актиномицина D, DRB или α -аманитина приводит к высвобождению ELL и EAF1 из ТК. Таким образом, локализация ELL и EAF1 в ТК напрямую зависит от транскрипции генов snРНК.

Установлена связь между присутствием в клетках ТК и развитием острого миелобластного лейкоза (acute myeloid leukemia), при котором наблюдаются мутации ряда компонентов машинерии сплайсинга, специфичные для миелодиспластических фенотипов (см., например: Ogawa, 2012). В клетках линии, полученной от мышей, которым трансплантировали трансдуцированные ретровирусами гемопоэтические клетки (MLL–ELL и MLL–EAF1), ТК отсутствуют (Polak et al., 2003). При этом в ядре снижались уровни EAF1 и коилина, а EAF1 вместе с коилином перераспределялся из ядра в цитоплазму; в таких условиях в ядре сохранялись лишь остаточные экстрануклеоларные структуры, содержащие NOLC1 и фибрилларин.

Еще одним ключевым молекулярным компонентом ТК является SUMO-специфическая изопептидаза USPL1, которая играет ключевую роль в зависимой от РНК-полимеразы II транскрипции генов snРНК и входит в состав молекулярных комплексов, которые связываются с генами U-snРНК. Опосредованный РНК-интерференцией нокдаун USPL1 приводит к разрушению ТК в клетках HeLa и релокализации коилина в ядрышки (Schulz et al., 2012). В таких клетках наблюдали снижение уровня snРНК, синтезируемых РНК-полимеразой II, snРНК-специфических белков, таких как PRPF6 (связывающий фактор между U5 и U4/U6 snРНК при формировании сплайсосомы), snРНК-специфических белков U5–40K и U1–70K и как следствие — нарушение формирования U4/U6 • U5 tri-snРНК (Hutter et al., 2014). Соответственно нокдаун USPL1 приводил к нарушению сплайсинга пре-мРНК. Показано, что USPL1 ассоциирует с генами U1 и U2 snРНК и взаимодействует с ICE1 (Hutter et al., 2014) — компонентом ЛЕС, который, как отмечено выше, участвует в инициации зависимой от РНК-полимеразы II транскрипции генов snРНК и входит в состав ТК и ТГЛ.

3.2.2. Посттранскрипционный процессинг

Ряд данных указывает на то, что ТК участвуют в начальных (котранскрипционных) этапах процессинга новосинтезированных пре-snРНК. Одним из косвенных доказательств этого служит обнаружение в ТК клеток человека первичных транскриптов U2 snРНК (U2 пре-snРНК), которые выявляли

с помощью FISH по наличию длинного (непроцессированного) 3'-конца их молекул (Smith, Lawrence, 2000). Это наблюдение свидетельствует о том, что функционально ТК связаны не только с поздними этапами процессинга snРНК и формированием функционально компетентных snРНП, на что обращают внимание в первую очередь, но также и с ранними этапами биогенеза snРНК, происходящими до начала цитоплазматической фазы процессинга (см. ниже).

Отличительной особенностью котранскрипционного процессинга 3'-конца молекул пре-snРНК служит участие в нем особого многокомпонентного комплекса Интегратор — специфического фактора процессинга пре-snРНК в клетках Metazoa (Chen, Wagner, 2010), который характеризуется высоким уровнем полифункциональности (Baillat, Wagner, 2015). Интегратор — весьма крупный белковый комплекс, состоящий по крайней мере из 14 субъединиц (INTS). Он связывается непосредственно с РНК-полимеразой II, распознает особый сигнал процессинга (3' box), расположенный на расстоянии 9–19 нуклеотидов ниже 3'-конца зрелых молекул snРНК, и расщепляет в этом месте пре-snРНК.

Комплекс Интегратор мало похож на «стандартный» молекулярный аппарат, осуществляющий 3'-расщепление (cleavage) и полиаденилирование молекул пре-mРНК. Исключение составляют две его субъединицы (INTS11 и INTS9), напоминающие субъединицы «канонического» фактора специфичности расщепления и полиаденилирования CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor), — соответственно CPSF73 и CPSF100, которые составляют основу cleavage-комплекса. Субъединицы CPSF73 и CPSF100 ассоциируют с белком симплекином (symplekin) — термочувствительным белком, который служит платформой, объединяющей различные факторы процессинга 3'-конца пре-mРНК в единый комплекс (Takagaki, Manley, 2000). Несмотря на то что паралог симплекина отсутствует в составе комплекса Интегратор, с гетеродимером INTS9/11 связывается субъединица INTS4, имеющая N-концевой повтор HEAT⁸⁰, который напоминает таковой в молекуле симплекина, и взаимодействует с CTD РНК-полимеразы II. В результате формируется INTS4/9/11 — каталитический центр комплекса Интегратор, и этот минимальный набор субъединиц уже оказывает критическое влияние на процессинг 3'-конца пре-snРНК. Эксперименты с использованием РНК-интерференции показали, что деплеция ключевых субъединиц комплекса Интегратор, вызывающая полное нарушение его функций, сопровождается разрушением и ТК, и ТГЛ (Albrecht et al., 2018).

Расщепление 3'-конца молекул пре-snРНК обеспечивает правильную терминацию транскрипции. При этом важную роль играют кэп-связывающий комплекс (CBC), взаимодействующий со стандартным для всех продуктов

⁸⁰ HEAT — структурный домен в молекуле белков, формирующий α -спирали; вовлечен во внутриклеточный транспорт; назван в честь четырех белков, в которых исходно был обнаружен, а именно: хантингтина (Huntingtin), фактора элонгации EF3, фосфатазы PP2A, киназы дрожжей TOR1.

РНК-полимеразы II метилгуанозиновым (m^7G) кэпом на 5'-конце их молекул, и главный эффектор CBC белок SRRT⁸¹ (serrate RNA effector molecule homolog), ранее известный как ARS2 (arsenite-resistance protein 2) (Hallais et al., 2013).

Оказалось, что INTS4/9/11 — центральный каталитический «модуль» комплекса Интегратор — играет решающую роль в поддержании структурной целостности ТК, поскольку деплеция любой из субъединиц (INTS4, INTS9 или INTS11), опосредованная РНК-интерференцией, вызывает полную деструкцию ТК (Takata et al., 2012; Albrecht et al., 2018). При этом в ядре сохраняются мелкие остаточные структуры, а белки ТК (коилин, SMN и Sm-белки) перераспределяются в иные участки клетки: SMN и Sm-белки накапливаются в цитоплазматических структурах, а коилин — преимущественно в ядрышках. Однако нокдаун любой другой субъединицы комплекса Интегратор (например, INT3, INT7, INT10 или INT12) не оказывает заметного влияния на структуру ТК (Albrecht et al., 2018).

В трансформированных клетках человека (HeLa) в области мажорного и минорного локусов гистоновых генов (*HIST1* на хромосоме 6 и *HIST2* на хромосоме 1) формируются ТГЛ, которые часто физически ассоциированы с ТК. Деплеция INTS4/9/11 приводит к нарушению зависимого от U7 snРНК процессинга пре-мРНК гистонов (глава 7) и к разрушению обеих органелл — ТК и ТГЛ (Albrecht et al., 2018). Таким образом, от INTS4/9/11 зависит структурная целостность не только ТК, но и ТГЛ.

Следует подчеркнуть: несмотря на то что INTS4/9/11 играет ключевую роль в поддержании структурной целостности ТК и ТГЛ, сами по себе субъединицы комплекса Интегратор *не* являются их компонентами. Анализ колокализации различных субъединиц комплекса Интегратор с коилином показал, что во всех случаях такая колокализация отсутствует, а компоненты комплекса Интегратор локализуются в нескольких заметных «точках», тесно связанных с периферией ТК, но не в самих ТК (Albrecht et al., 2018). Авторы сделали вывод, что для поддержания структуры ТК важны не сами по себе INTS4, INTS9 или INTS11, а продукция транскриптов snРНК в результате активности комплекса Интегратор. Поскольку ТК содержат не только процессированные, но и непроцессированные пре-snРНК (Smith, Lawrence, 2000), при этом компоненты комплекса Интегратор в состав ТК не входят (Albrecht et al., 2018), процессинг пре-snРНК с помощью комплекса Интегратор и диссоциация этого комплекса происходят *до* попадания пре-snРНК в ТК. Таким образом, эти процессы связаны не с самими ТК, а с определенными областями на их периферии, структурная составляющая которых неизвестна.

⁸¹ Эволюционно консервативный фактор сортировки функциональных и нефункциональных транскриптов РНК-полимеразы II (подробнее см.: Lykke-Andersen et al., 2021).

3.2.3. Экспорт из ядра

В клетках подавляющего большинства эукариот, за исключением почкующихся дрожжей и тетрахимен (пресноводных свободноживущих инфузорий), молекулы пре-snРНК после транскрипции и котранскрипционного процессинга их 3'-конца первоначально экспортируются в цитоплазму, где претерпевают ряд специфических преобразований, после чего импортируются обратно в ядро в виде стабильных snРНП-частиц (рис. 13). Однако snРНП, только что импортированные из цитоплазмы в ядро, еще не являются функциональными субъединицами сплайсосом. Их процессинг осуществляется позже и непосредственно связан с ТК (рис. 13). Показано, что подавление ядерного экспорта snРНК с помощью лептомицина В приводит к разрушению ТК, что сопровождается диспергированием коилина в нуклеоплазме (Carvalho et al., 1999).

Существует молекулярный механизм, позволяющий аппарату экспорта РНК различать snРНК и мРНК, и различает он их по длине молекул РНК. В случае мРНК белки hnРНП C1/C2 избирательно связываются в виде тетрамера с неструктурированными участками мРНК, длина которых составляет более 200–300 нуклеотидов. При этом экспорт обеспечивается комплексом, в состав которого входит фактор экспорта NXF1⁸² (TAP-p15). С более короткими продуктами РНК-полимеразы II — пре-snРНК, длина которых составляет менее 250 п. н., — белки C1/C2 не связываются, и эти РНК экспортируются с помощью специфического молекулярного аппарата экспорта (Matera, Wang, 2014).

Предэкспортный комплекс snРНК включает кэп-связывающий комплекс (СВС), который состоит из кэп-связывающих белков (СВР) — СВР80 (NCBP1) и СВР20 (NCBP2), фосфорилированного адаптера РНАХ (специфического фактора экспорта snРНК) и белка SRRT/ARS2. Белки hnРНП C1/C2, которые, как отмечено выше, ассоциируют с пре-мРНК, но не с пре-snРНК, не позволяют РНАХ связаться с 5'-концом пре-мРНК. В этом случае РНАХ связывается как с пре-snРНК, так и с СВС, в результате чего и формируется предэкспортный комплекс, составляющий основу формирования дефинитивного комплекса экспорта snРНК (рис. 14).

Белки предэкспортного комплекса обеспечивают связь между 5'-концом молекулы пре-snРНК и рецептором экспорта CRM1 (chromosome region maintenance 1), известным также как экспортин-1 (XPO1), который в свою очередь взаимодействует с белками поровых комплексов. На этапе ассоциации с CRM1 происходит удаление белков комплекса Интегратор и связывание Ran-ГТФ (рис. 14) — ядерной ГТФ-связанной формы малой ГТФазы Ran, которая относится к семейству Ras-подобных ГТФаз и служит для сопряжения ядерно-цитоплазматического транспорта с гидролизом ГТФ (Matsuura, 2016).

⁸² Nuclear RNA export factor 1 — главный фактор ядерного экспорта РНК.

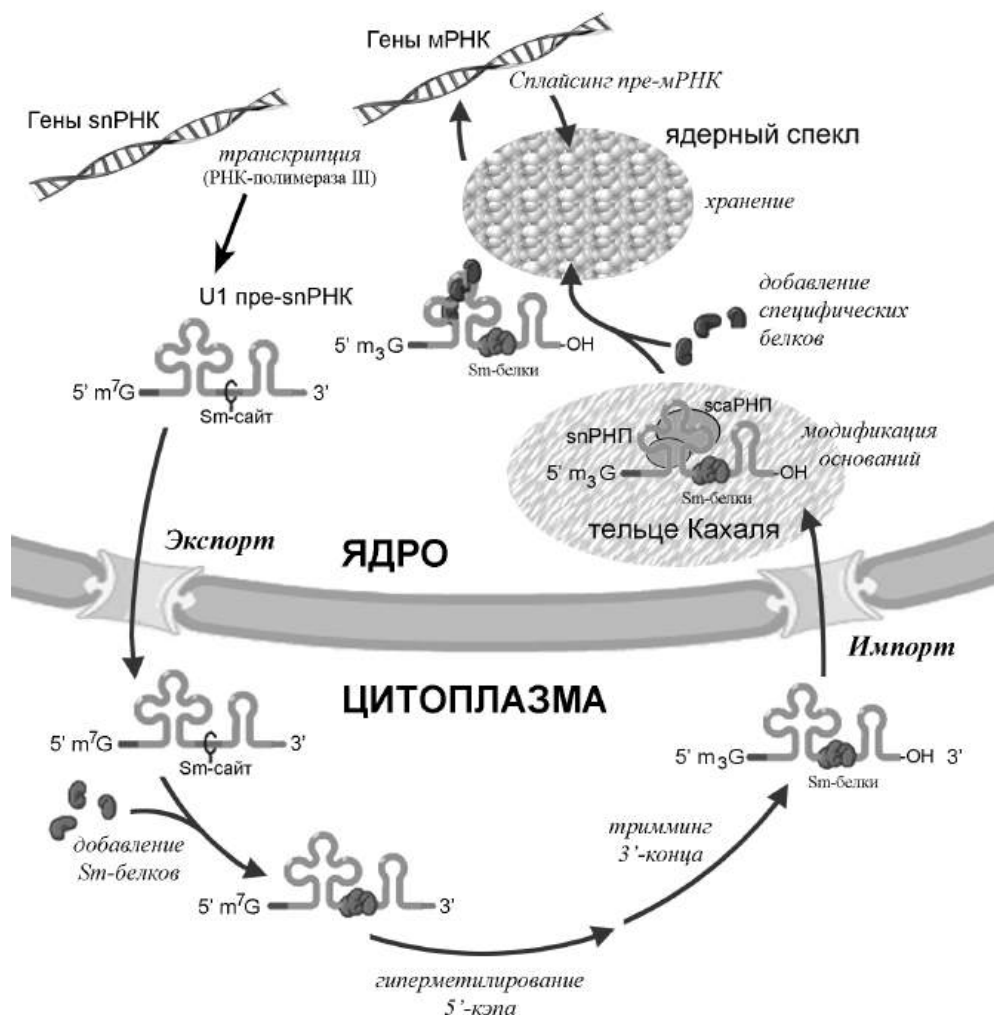


Рис. 13. Общая схема метаболизма snРНК первой группы на примере U1 snРНК (ориг.)

Ряд экспериментальных данных указывает на то, что ТК облегчают сборку предэкспортных комплексов, их дальнейшую стыковку с CRM1 и могут служить потенциальными участками, где формируются дефинитивные комплексы экспорта snРНК (рис. 14). Об этом в частности свидетельствует факт, что в ТК одновременно локализованы и РНАХ, и CRM1 (Boulon et al., 2004). Таким образом, значение попадания *новосинтезированных* snРНК (пре-snРНК) в ТК состоит, вероятно, в том, что ТК способствуют их правильной ассоциации с факторами экспорта РНАХ и CRM1, с помощью которых осуществляется дальнейший выход snРНК в цитоплазму.

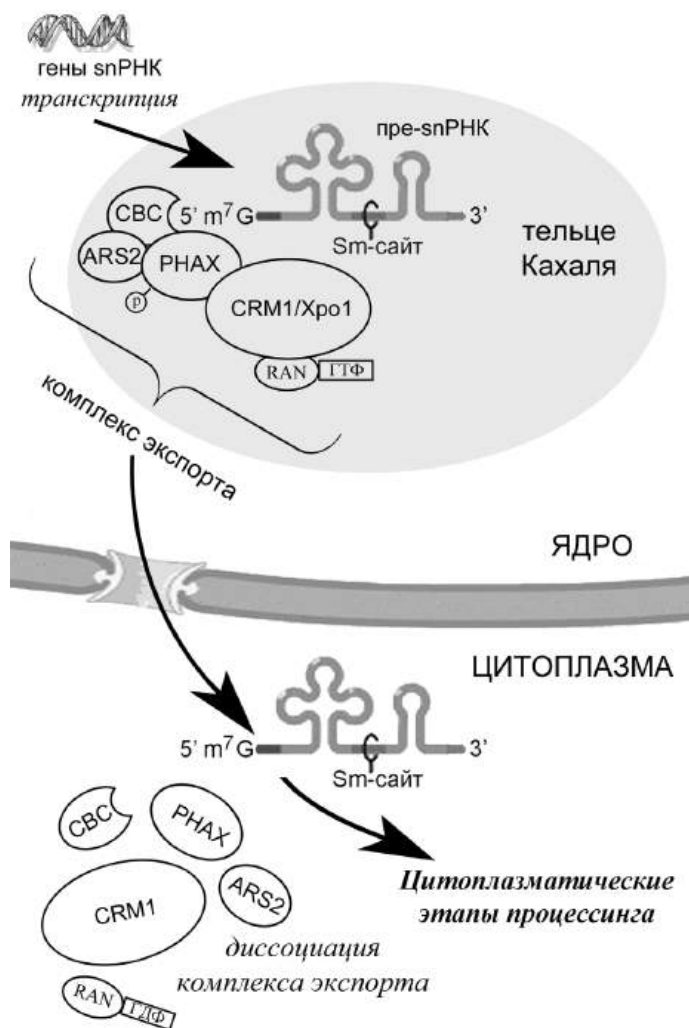


Рис. 14. Комплекс экспорта и экспорт snРНК в цитоплазму — начальный этап процессинга snРНК первой группы (ориг.)

му (Sleeman, Lamond, 1999). Следует отметить, что фосфорилирование PHAX, которое необходимо для ассоциации с CRM1, по-видимому, также осуществляется в ТК.

На ооцитах *X. laevis* с их особыми коилинсодержащими органеллами (ТГЛ) имеющими некоторые черты ТК (глава 8), с помощью микроинъекций пре-snРНК прослежено, что инъецированные пре-snРНК сначала временно концентрируются в ТГЛ, но их концентрация постепенно снижается по мере осуществления экспорта (Suzuki et al., 2010). Подавление активности PHAX с помощью инъекций соответствующих антител не только нарушает

экспорт, например U1 пре-snРНК, но и приводит к накоплению молекул-предшественников в ТГЛ ооцитов *X. laevis*.

Таким образом, молекулы-предшественники snРНК перед экспортом в цитоплазму проходят через ТК (или специфические ТГЛ в ооцитах *Xenopus*), что повышает эффективность сборки дефинитивных комплексов экспорта, а для эффективного выхода пре-snРНК из ТК требуется РНАХ и его фосфорилирование.

3.2.4. Цитоплазматические этапы процессинга snРНП. Импорт snРНП в ядро

После экспорта snРНК в цитоплазму комплекс экспорта диссоциирует за счет гидролиза ГТФ и дефосфорилирования РНАХ. При этом ассиметричное распределение Ran–ГТФ между ядром и цитоплазмой регулирует взаимодействия между рецепторами транспорта и их «грузом» (cargo) и определяет направленность транспорта.

Дальнейшие цитоплазматические этапы процессинга snРНК контролируются комплексом SMN (Massenet et al., 2002; Paushkin et al., 2002; Faravelli et al., 2023), который является центральным звеном, регулирующим сборку snРНП-частиц (Gubitz et al., 2004; Yong et al., 2004; Battle et al., 2006). Подробнее о молекулярном составе комплекса SMN, ядерных функциях белка SMN, который присутствует и в ядре, и в цитоплазме, о взаимоотношениях SMN и его функциональных партнеров белков-гемин с ТК и gems (SMN-содержащими ядерными органеллами) см. главу 5.

В ходе цитоплазматической фазы процессинга snРНП с комплексом SMN вначале связываются Sm-белки и только потом весь этот комплекс ассоциирует с snРНК (рис. 15). Таким образом, ключевым результатом цитоплазматического этапа сборки snРНП является формирование вокруг snРНК характерного кольца из семи Sm-белков — центральной (коровой) структуры snРНП. По данным электронной микроскопии ее размер составляет примерно 8 нм (Kastner et al., 1990; Raker et al., 1999). Связывание Sm-белков с snРНК происходит в области консервативного Sm-связывающего участка (Sm-binding site), который имеют все snРНК, способные к ассоциации с Sm-белками.

Формирование кольца из Sm-белков, составляющего белковый центр (core) snРНП, не только стабилизирует snРНК, защищая их от действия нуклеаз, но требуется для осуществления дальнейших цитоплазматических этапов процессинга snРНК и импорта snРНП в ядро по завершении цитоплазматической фазы их метаболизма. Кроме того, комплекс SMN обеспечивает специфичность сборки snРНП (Pellizioni et al., 2002b).

Sm-связывающий сайт молекул snРНК представляет собой консервативную последовательность AUUUUUG, у высших эукариот фланкированную двумя «шпильками» (stem-loop structures). В сформированных snРНП Sm-сайт snРНК располагается в центральном просвете Sm-белкового кольца.

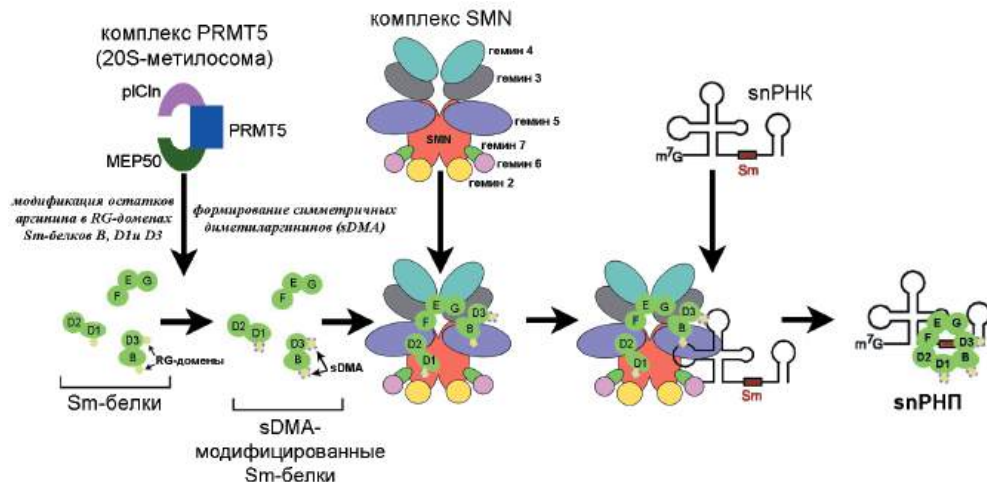


Рис. 15. Формирование snРНП с участием комплексов PRMT5 и SMN

(ориг., адаптировано из: Friesen et al., 2001; Massenet et al., 2002; Paushkin et al., 2002)

При формировании этого Sm-белкового кольца главным фактором, распознающим Sm-сайт, является гемин-5, который также распознает специфическую шпильчатую структуру на 3'-конце молекул snРНК. Гемин-5 связывается с snРНК посредством N-концевого WD-домена (Lau et al., 2009), а затем встраивается в комплекс SMN, возможно благодаря ассоциации с гемин-2, и доставляет snРНК в комплекс SMN для сборки Sm-белковой сердцевины snРНП (Yong et al., 2010).

Перед ассоциацией с Sm-связывающим сайтом snРНК новосинтезированные Sm-белки подвергаются особой посттрансляционной модификации — метилированию остатков аргинина в составе С-концевых дипептидных аргинин-глициновых (RG) повторов. Этот процесс, как и доставка частично собранных Sm-белковых субкомплексов в комплекс SMN, осуществляется за счет активности аргининметилтрансферазного комплекса PRMT5, или 20S-метилосомы (Friesen et al., 2001). Комплекс PRMT5, способствующий sDMA-модификации Sm-белков, включает: собственно метилтрансферазу PRMT5 (Protein arginine [R] N-methyltransferase 5), известную также как JBP1 (JAK-binding protein 1), которая метилирует С-концевые остатки аргинина белков SmB, SmD1 и SmD3 с образованием sDMA; фактор pICln — субъединицу метилосомы, кодируемую геном *CLNS1A*, который взаимодействует с PRMT5; а также ряд других факторов, например MEP50 — метилосомный белок, содержащий WD-повтор и известный теперь как WDR77. Белок PRMT5 связывает RG-домены Sm-белков, а pICln — Sm-домены (Friesen et al., 2001).

Связывание Sm-белков, приводящее к формированию стабильного 7-членного Sm-белкового комплекса, происходит поэтапно (рис. 16). Сначала

формируется три субкомплекса Sm-белков: D1–D2, E–F–G и B–D3 (или B'–D3). Затем формируется комплекс (6S), в состав которого входят пять Sm-белков (D1–D2–F–E–G) и шаперон pICln. Последний имитирует недостающий пока субкомплекс SmB–SmD3 и стабилизирует 5-членный Sm-белковый комплекс D1–D2–F–E–G.

Ведущую роль в формировании полного 7-членного Sm-кольца ведущую роль играет не сам белок SMN, а другой консервативный представитель комплекса SMN — гемин-2 (Zhang et al., 2011). Он напрямую связывается с Sm-комплексом D1–D2–F–E–G и удерживает эту 5-членную подково-видную конструкцию (рис. 16) в правильной ориентации, которая необходима для окончательного формирования 7-членного Sm-белкового кольца. Гемин-2 и 7 на промежуточном этапе сборки Sm-белкового кольца формируют гетеродимер, который заменяет димер SmB–SmD3, вокруг которого формируется 5-членный Sm-белковый комплекс D1–D2–F–E–G, стабилизируя ассоциацию последнего с гемомин-2 (Matera, Wang, 2014).

После окончательной ассоциации snPHK с Sm-белками происходит специфический процесс гиперметилирования стандартного m^7G -кэпа на 5'-конце пре-snPHK с образованием 2,2,7-триметилгуанозинового (TMG, m_3G) кэпа (рис. 17). В этом процессе ключевую роль играет триметилгуанозин-синтаза TGS1, которую рекрутирует комплекс SMN (Mouaikel et al., 2003).

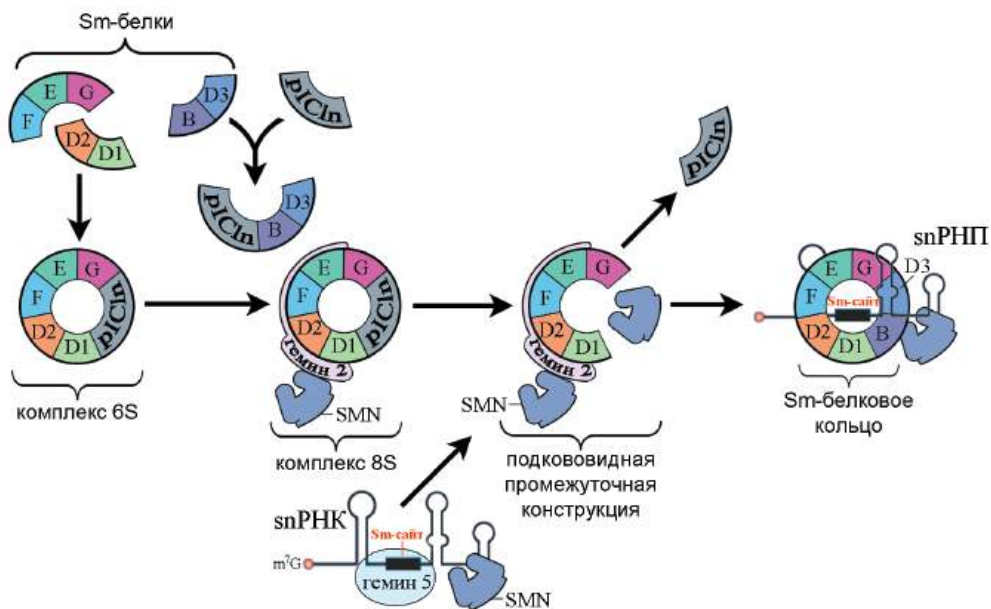


Рис. 16. Сборка Sm-белков (ориг., адаптировано из: Matera, Wang, 2014)

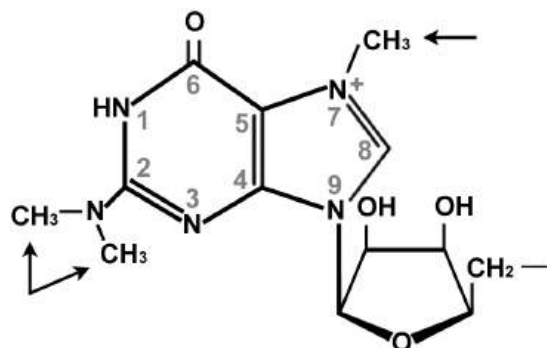


Рис. 17. Триметилгуанозиновый кэп snРНК

Стрелками указаны метильные группы: две в положении 2 и одна в положении 7; обратите внимание на положительно заряженный атом азота (+) (ориг., по материалам разных источников)

После формирования TMG-кэпа происходит окончательный тримминг 3'-конца молекул snРНК, состоящий в удалении примерно 20 добавочных нуклеотидов. Правда, пока еще точно не установлено, где происходит этот процесс — в цитоплазме или уже в ядре. По завершении цитоплазматических этапов процессинга/метаболизма snРНП возвращаются (импортируются) в ядро (рис.18), при этом TMG-кэп snРНК и Sm-белковый центр snРНП одновременно служат своеобразными сигналами ядерного импорта. Считают, что в живой клетке совместно используются оба пути, однако в исследованиях *in vitro* установлено, что эти пути не зависят друг от друга и требуют привлечения разных адаптеров при наличии общего фактора импорта — импортина β (Narayanan et al., 2004).

Механизмы импорта snРНП, зависящие от TMG-кэпа snРНК, изучены хорошо. Этот путь импорта требует участия «снёрпортина» 1⁸³ (snurportin-1, SPN1) — адаптера импорта, специфичного для snРНП. SPN1 непосредственно связывается с TMG-кэпом после его формирования и высвобождения TGS1 (рис. 17) и является связующим звеном между TMG-кэпом и импортином β (Huber et al., 2002).

Молекулярные механизмы импорта snРНП, зависящие от Sm-белков, изучены хуже. Если адаптером TMG-кэпа snРНК служит SPN1, то о факторе, который опосредует взаимодействия между Sm-белками snРНП и импортином β , известно мало. Совместное фракционирование, проведенное на цитоплазматических экстрактах клеток HeLa, показало, что перед импортом snРНП в тесной ассоциации с snРНП находятся белки SMN, SPN1 и импортин β , в результате чего формируется комплекс импорта snРНП (Narayanan et al., 2004). При этом непосредственное взаимодействие между SMN и импортином β усиливается белком TCAB1 (Mahmoudi et al., 2010).

⁸³ Название «снёрпортин» происходит от *амер. лаб.* snurps — small nuclear U ribonucleoproteins.

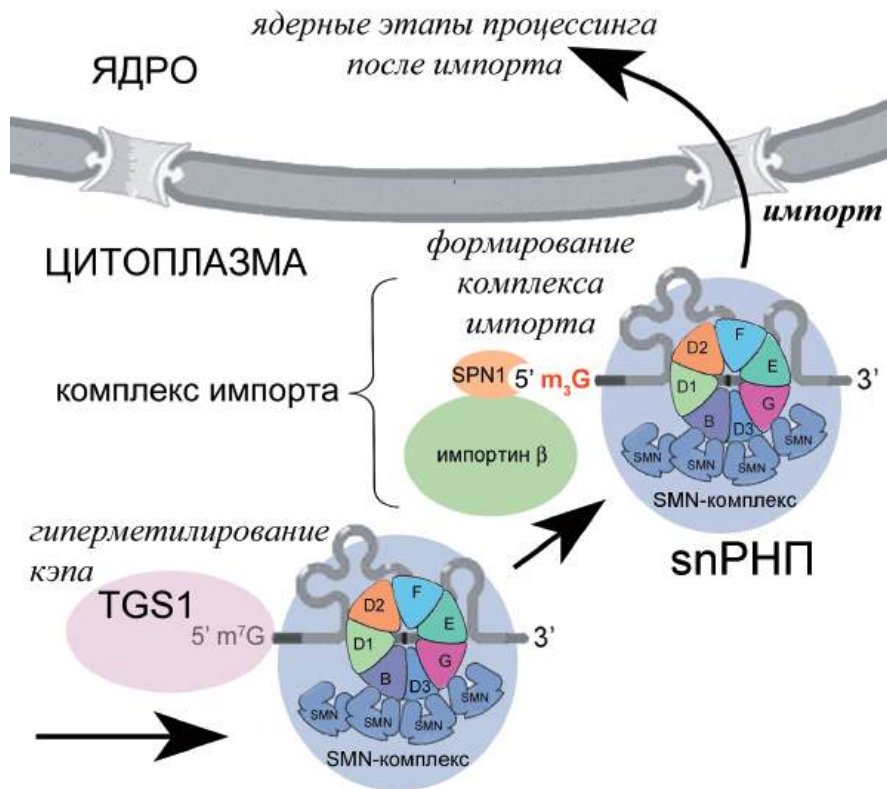


Рис. 18. Формирование триметилгуанозинового кэпа на 5'-конце snРНК и импорт snРНП из цитоплазмы в ядро;
(ориг., адаптировано из: Matera, Wang, 2014)

3.2.5. Роль телец Кахаля в метаболизме snРНП после импорта в ядро

Началу исследований роли ТК в поздних этапах биогенеза snРНП послужила работа (Sleeman, Lamond, 1999), в которой было показано, что в культивируемых соматических клетках snРНП сначала проходят через ТК и только потом оказываются в ядерных спеклах — депо факторов сплайсинга. Таким образом, ТК являются промежуточными местами ядерной локализации snРНП, импортированных в ядро. Однако в ооцитах *X. laevis* с их особыми ТГЛ флуоресцентно меченые U4 и U5 snРНК, инъецированные в ооплазму, сначала локализуются в ядрышках и только потом — в ТГЛ (Gerbi et al., 2003). В случае культивируемых клеток человека подобной локализации snРНК в ядрышках не наблюдали (Klingauf et al., 2006). Не исключено, что эти отличия связаны с различиями в организации ядра и ядерных органелл в ооцитах *Xenopus* и соматических клетках млекопитающих (Gall et al., 2004).

Ряд данных свидетельствует в пользу того, что за локализацию в ТК импортированных snРНП отвечает комплекс SMN — возможно, за счет взаимодействия Tudor-домена белка SMN, отвечающего за связывание snРНП, с RG-боксом коилина. Показано, что изменение или удаление специфических RG-дипептидных остатков коилина подавляет его взаимодействие с белком SMN *in vivo* и *in vitro* (Hebert et al., 2001), а изменение Tudor-домена SMN полностью нарушает импорт snРНП (Narayanan et al., 2004). Эксперименты по РНК-интерференции, направленной на деплецию белков человека TGS1, SMN или PHAX, которые ассоциированы с коилином, показывают, что коилин является одним из главных факторов, обеспечивающих локализацию snРНП в ТК (Lemm et al., 2006). Другие факторы, обеспечивающие целенаправленное связывание snРНП с ТК, еще предстоит установить.

Долгое время не были неизвестны нуклеотидные последовательности snРНК, которые отвечают за локализацию (targeting) snРНП в ТК. Однако с помощью микроинъекций в ядро или цитоплазму клеток HeLa флуоресцентно меченых U2 snРНК, в молекулах которых были удалены различные функциональные участки, было показано, что для эффективного связывания snРНК с ТК необходимы Sm- и SMN-связывающие участки их молекул. При этом кольцо из Sm-белков, ассоциированное с Sm-сайтом snРНК, по-видимому, служит одним из сигналов не только ядерной локализации snРНП, как отмечено выше, но и локализации snРНП в ТК (Roithová, Staněk, 2019).

После импорта snРНП из цитоплазмы в ядро происходят ковалентные модификации snРНК — 2'-O-метиlierование и псевдоуридинилирование. Они осуществляются в ТК с помощью РНК-гидов — scaРНК (Darzacq et al., 2002; Jády et al., 2003; глава 4). Это не касается snРНК второй группы (U6 и Ubatas), посттранскрипционные модификации которых связаны с ядрышками и осуществляются snoРНК, которые выступают в качестве РНК-гидов в данном случае.

Помимо модификаций snРНК к ключевым этапам процессинга snРНП относится добавление особых белков, специфичных для snРНП-частиц каждого типа. Ряд данных указывает на то, что связывание этих белков происходит уже после импорта snРНП в ядро, возможно, тоже в ТК. При этом участие ТК в сборке сплайсосомных (или пре-сплайсосомных) snРНП — универсальное явление, которое характеризует не только клетки животных, но и клетки растений (Beven et al., 1995). Правда, есть свидетельства того, что ассоциация некоторых snРНП-специфических белков с соответствующими snРНК может осуществляться еще в цитоплазме, т. е. до импорта snРНП в ядро (Staněk, 2017).

В присоединении snРНП-специфических белков задействовано несколько шаперонов. Например, в биогенезе U4 snРНП участвуют шаперонные системы NUFIP (nuclear fragile X mental retardation-interacting protein 1) и HSP90/R2TP, которые взаимодействуют с U4-специфическим белком PRPF31 (Bizarro et al., 2015). В этой работе показано, что деплеция NUFIP

нарушает связывание PRP31 с U4 snРНК и приводит к накоплению PRP31 в ТК, а U4 пре-snРНК связывает комплексы SMN, ассоциированные с NUFIP и PRP31. Наконец, дальнейшая ассоциация белка U4–15.5K (одного из ключевых белков U4 snРНК, который связывается непосредственно с U4 snРНК) стабилизирует PRP31 на U4 snРНК и обеспечивает последовательное формирование U4/U6 di-snРНК и U4/U6 • U5 tri-snРНК.

Однако приписываемая ТК роль в сборке snРНК, разумеется, неоднозначна и требует специфических уточнений. Например, имеются данные, согласно которым *окончательная* сборка некоторых snРНК, приводящая к формированию *функционально компетентных* субъединиц сплайсосом, может происходить не в самих ТК, а в других участках ядра (Will et al., 2002). Так, в ходе биогенеза U2 snРНК-частиц последовательно формируются три разных комплекса: 12S, 15S и 17S. Существование этих комплексов отражает последовательное присоединение U2-специфических белков — соответственно SNRNP1 (U2A) и SNRNP2 (U2B"), а также комплексов SF3b и SF3a. Частица U2 snРНК с константой седиментации 17S связывает дополнительные белки. Действительно, специфические для U2 snРНК белки hPrp5p (DDX46) и SF3b125 локализуются в ТК, однако SF3b155 и SF3a120 — нет. В другой работе (Nesic et al., 2004) установлено, что частицы U2 snРНК, обнаруживаемые в ТК, еще не являются окончательно «зрелыми» (в отличие от U2 snРНК в ядерных спеклах), поскольку с ними еще не связан специфический комплекс SF3a, входящий в состав функционально компетентной сплайсосомной субъединицы U2 snРНК. Это означает, что U2 snРНК-частицы с константой седиментации 17S не накапливаются в ТК и окончательная сборка U2 snРНК осуществляется за их пределами.

3.3. МЕТАБОЛИЗМ snРНК ГРУППЫ U6

По сравнению с snРНК первой группы иной метаболический путь демонстрируют сплайсосомные snРНК второй группы — мажорная U6 snРНК и минорная U6atac. Это исключительно ядерный процесс, на многих этапах связанный с ядрышком. Общая схема метаболизма U6 snРНК представлена на рис. 19.

Гены, кодирующие U6 и U6atac snРНК, транскрибируются РНК-полимеразой III, и процессинг U6 и U6atac пре-snРНК имеет ряд общих черт с процессингом других psРНК, синтезируемых этой РНК-полимеразой. Однако в клетках человека промотор гена U6 snРНК несколько отличается от других промоторов, зависящих от РНК-полимеразы III, поскольку его регуляторные элементы располагаются выше точки начала транскрипции (подробнее см.: Mroczek, Dziembowski, 2013).

Дистальная энхасероподобная последовательность (DSE), расположенная на расстоянии примерно 200 п. н. выше точки начала транскрипции, содержит элементы, связывающие транскрипционные факторы Oct-1 и SBF —

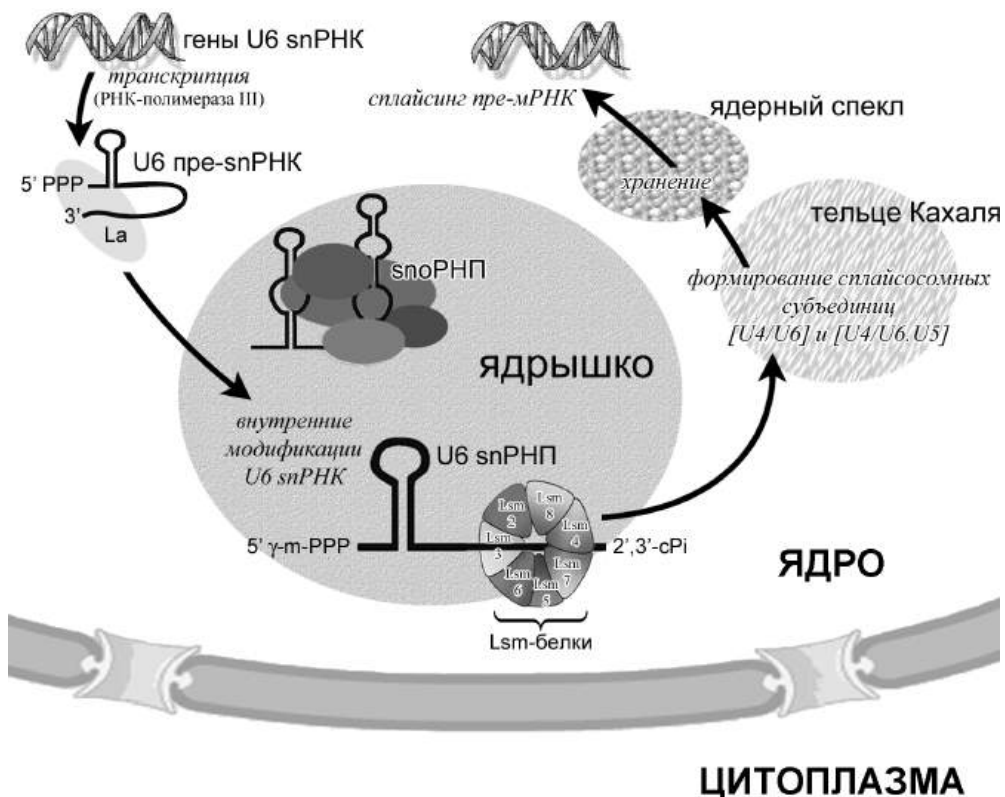


Рис. 19. Схема метаболизма snРНК второй группы на примере U6 snРНК (ориг., адаптировано из разных источников, цит. в тексте)

фактор, связывающий SET-домен (SET domain binding factor⁸⁴). Эти элементы промотора и транскрипционные факторы являются общими для всех генов snРНК и стимулируют привлечение snРНК-активирующего комплекса SNAPc к проксимальной последовательности (PSE), расположенной на расстоянии примерно 55 п. н. выше точки начала транскрипции. Комплекс SNAPc связывает транскрипционный комплекс TFIIIB в районе ТАТА-бокса и отвечает за открытие промотора и связывание РНК-полимеразы III с точкой начала транскрипции.

Новосинтезированная молекула U6 пре-snРНК на своем 5'-конце несет трифосфат, а 3'-конец — четыре остатка уридина и заканчивается *ОН*-группой. В ходе процессинга 5'-концевой трифосфат метилируется, в результате чего формируется γ-монометилтрифосфатный кэп (γ-m-P₃ cap). На 3'-конце молекулы U6 пре-snРНК первоначально формируется консервативный «хвост»,

⁸⁴ SET — белковый домен, обладающий метилтрансферазной активностью; его название связано с белками *Drosophila*: Su(var)3-9, Enhancer-of-zeste и Trithorax.

состоящий из примерно 20 остатков уридина — 3'-oligo(U) stretch. Его добавляет уридилилтрансфераза TUT1 (TUTаза). В ходе дальнейшего процессинга этот участок триммингуется, в результате чего остается 5 остатков уридина, при этом последний из них защищается 2'–3'-циклофосфатом (Yashiro, Tomita, 2018).

Формирование «зрелого» 3'-конца U6 snРНК обеспечивает 3'→5'-экзонуклеаза USB1 (U6 snРНК-специфическая фосфодиэстераза). Это физиологически очень важный белок, отсутствие которого в результате мутации соответствующего гена вызывает пойкилодермию с нейтропенией (Clericuzio-type poikiloderma with neutropenia syndrome) — редкое наследственное аутосомно-рецессивное заболевание кожи человека (Mroczek, Dziembowski, 2013).

С новосинтезированными молекулами U6 пре-snРНК первоначально связывается белок La, что способствует эффективности дальнейшего процессинга. Впервые этот белок (*lupus antigen*) был описан как аутоантиген у пациентов с системной красной волчанкой и синдромом Шёгрена (Sjogren's syndrome). Белок La — весьма распространенный фосфопротеин, шаперон РНК, ассоциация с которым характерна для всех продуктов РНК-полимеразы III (Wolin, Cedervall, 2002). Он является фактором стабильности, защищающим транскрипты от действия рибонуклеаз. Одновременно взаимодействуя с 5'-трифосфатным кэпом и 3'-олиго(U)-«хвостом» U6 пре-snРНК, белок La обеспечивает связь первичных транскриптов U6 snРНК с ядрышками (Gerbi, Lange, 2002). В этой работе, выполненной с использованием делеционного анализа и микроинъекций флуоресцентных конструкций в ооциты *X. laevis*, показано, что одним из элементов, обеспечивающих способность U6 snРНК локализоваться в ядрышке, отвечает 3'-концевой участок ее молекулы (остатки нуклеотидов 82–107). Именно этот участок отвечает за взаимодействие U6 snРНК с белком La, а также с Lsm-белками. Та же область необходима для ее связывания не только с ядрышками, но и с ТГЛ ооцитов *X. laevis*.

Молекула U6 snРНК не имеет канонического Sm-сайта и ассоциирует с семью Sm-подобными белками Lsm 2–8. Предварительная сборка Lsm-белков может осуществляться в отсутствие РНК, а поступление этих комплексов в ядро из цитоплазмы обеспечивается белком Lsm-8 (Novotný et al., 2012). Одна из функций ассоциированных с U6 snРНК Lsm-белков — удержание (retention) этой РНК в ядре. Связыванию с Lsm-белками способствует формирование 2'–3'-циклофосфата на конце молекул U6 snРНК, что нарушает связь U6 snРНК с белком La. Эта ассоциация дополнительно стабилизирует транскрипты U6 snРНК и необходима для правильной сборки функционально компетентных U6 snРНП.

Посттранскрипционные модификации U6 snРНК включают 2'-O-метилование остатков рибозы и псевдоуридинилирование отдельных нуклеотидов. Но эти процессы осуществляются не в ТК, как в случае snРНК первой группы, а в ядрышке. При этом они обычно управляются snoРНК, а не scaРНК (Tycowski et al., 1998; Ganot et al., 1999).

Однако среди scaРНК дрозофилы обнаружена одна необычная scaРНК — pugU6—40, относящаяся к scaРНК класса H/ACA (подробнее о типах scaРНК и строении их молекул см. главу 4). Эта РНК имеет обширный участок комплементарного спаривания оснований с U6 snРНК, характерный САВ-домен, способна к ассоциации с белком TCAB1 (фактором локализации scaРНК в ТК) и в клетках дрозофилы локализуется именно в ТК (Deryusheva, Gall, 2013).

В клетках человека тоже имеется необычная scaРНК — SCARNA23. Она является РНК-гидом, осуществляющим псевдоуридинилирование, по крайней мере, одного уридина в молекуле U6 snРНК (Kiss et al., 2004). Это противоречит общепринятой парадигме, согласно которой модификации U6 snРНК — продукта РНК-полимеразы III — осуществляются, как было сказано, не в ТК, а в ядрышке (Ganot et al., 1999). Возможно, некоторые модификации U6 snРНК могут требовать ее перемещения между ядрышком и ТК. В любом случае подобного рода примеры в очередной раз демонстрируют высокую интегративность системы клеточного ядра и ядерных органелл, в том числе ТК и ядрышек.

3.4. СБОРКА СПЛАЙСОСОМНОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ U4/U6•U5 tri-snРНК. УЧАСТИЕ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ В РЕЦИКЛИРОВАНИИ snРНК

В ядре в целом и в ТК в частности U6 snРНК присутствует в виде различных snРНК-комплексов: свободного U6 mono-snРНК; U4/U6 di-snРНК (13S); двух форм U4/U6•U5 tri-snРНК (25S и 35S соответственно). По современным представлениям в ТК осуществляются сборка как промежуточных сплайсосомных комплексов U4/U6 di-snРНК, так и функционально компетентной 25S-субъединицы сплайсосомы U4/U6•U5 tri-snРНК (Schaffert et al., 2004; Staněk, Neugebauer, 2004).

После завершения этапов процессинга, протекающих в ядрышке, частицы U6 mono-snРНК оказываются в ТК (рис. 19). Это происходит благодаря белку SART3, который участвует не только в целенаправленном связывании U6 mono-snРНК с ТК, но и в формировании и рециклировании U4/U6•U5 tri-snРНК (Staněk et al., 2003; Novotný et al., 2015). В частности, с помощью техники FRET на клетках HeLa показано, что в ТК, где формируются частицы U4/U6 di-snРНК, концентрируются промежуточные комплексы, образованные SART3 и U6 mono-snРНК, а также SART3 и U4/U6 di-snРНК (Staněk, Neugebauer, 2004).

Формирование дуплекса U4/U6 snРНК, в ходе которого на участках довольно значительной длины происходит комплементарное спаривание оснований U4 и U6 snРНК, осуществляется благодаря совместному действию SART3 и Lsm-белков 2–8. После формирования U4/U6-дуплекса к нему

присоединяются U4/U6-специфические белки, и в результате формируется промежуточная частица U4/U6 di-snРНП с константой седиментации 13S.

Сборка U4/U6 • U5 tri-snРНП происходит в результате взаимодействия U4/U6 di-snРНП с U5 snРНП. Для формирования этой сложной snРНП-частицы и поддержания ее стабильности необходимы взаимодействия между несколькими белками, специфичными для разных snРНП: например, между U4-специфическим белком PRPF31 и U5-специфическим белком PRPF6 (Makarova et al., 2002). При этом нокдаун PRPF31 с помощью РНК-интерференции приводит к накоплению в ТК промежуточной формы U4/U6 di-snРНП, которая функционально некомпетентна (Schaffert et al., 2004). Упомянутый выше белок SART3, один из факторов сборки U4/U6 di-snРНП, непосредственно связывает эту промежуточную форму с коилином; при этом взаимодействия между snРНП и коилином играют существенную роль для формирования самих ТК (Novotný et al., 2015). Таким образом, белок SART3 служит связующим звеном между snРНП и коилином в ходе формирования функционально компетентных snРНП сплайсосом в ТК, как, собственно, предполагали изначально (Staněk et al., 2003).

Деплеция факторов, отвечающих за конечные этапы формирования U4/U6 • U5 tri-snРНП (PRP8, Lsm-8 и PRP6) приводит к формированию ТК *de novo*. Это показано на примере первичных фибробластов человека линии WI-38, в которых в норме ТК практически отсутствуют. В таких новообразованных ТК также секвестрируются промежуточные формы tri-snРНП (Novotný et al., 2015). Связыванию промежуточных форм snРНП с ТК и удержанию их там до полного завершения формирования сплайсосомных субъединиц способствует Sm-сердцевина snРНП (Roithová et al., 2018). Считают, что появление в ядре ТК отражает дисбаланс между сборкой и рециклированием snРНП в метаболически активных клетках, для которых наиболее характерно присутствие ТК. Повышение уровня транскрипции и сплайсинга (например, в эмбриональных или трансформированных клетках) приводит к интенсификации формирования моно-snРНП, запуская формирование ТК, накапливающих в свою очередь промежуточные формы tri-snРНП-субъединиц сплайсосом (Novotný et al., 2015).

В ТК клеток человека присутствуют не только U4/U6 di-snРНП (13S) и функционально компетентная субъединица сплайсосомы U4/U6 • U5 tri-snРНП (25S), но и частица U4/U6 • U5 tri-snРНП с константой седиментации 35S. Она является промежуточной формой (интермедиатом) в ходе формирования дефинитивного U4/U6 • U5 tri-snРНП (Chen et al., 2017). С помощью молекулярно-биологических подходов эти авторы показали, что компонентом 35S-частицы U4/U6 • U5 tri-snРНП является белок ZIP (содержит домен «цинкового пальца» CCH-типа, домен G-patch), который регулирует сплайсинг пре-мРНК независимо от связывания с РНК. Кроме того, в этот комплекс входят белки PRP24 (U6 snРНП-специфический белок, участвующий в связывании U6 snРНК с U4 snРНК) и PRP43/DDX15 (DEАН РНК-хеликаза, принимающая участие в разборке сплайсосомы). Белок ZIP стимулирует

АТФазную и РНК-хеликазную активность PRP43, и эти его ферментативные функции связаны с высвобождением PRP24 в ходе сборки U4/U6 • U5 tri-snRNP (Chen et al., 2017). До этого было известно, что PRP24-содержащие U6 mono-snRNP локализируются исключительно в нуклеоплазме, в то время как PRP24-содержащие U4/U6 di-snRNP преимущественно концентрируются в ТК (Staněk et al., 2003; Staněk, Neugebauer, 2004). Приведенные выше сведения доказывают, что ТК участвуют в *разных* этапах формирования сплайсосомной субъединицы U4/U6 • U5 tri-snRNP.

Следует отметить, что сплайсосомные snRNP постоянно циркулируют в ядре. Таким образом, в ТК оказываются не только их промежуточные формы (в ходе формирования функционально компетентных сплайсосомных snRNP), но и те snRNP, которые уже участвовали в сплайсинге пре-мРНК и высвободились в результате диссоциации сплайсосомы после очередного цикла сплайсинга (Staněk et al., 2008). Высвобождение U4, U5 и U6 mono-snRNP из сплайсосомы происходит при широкомасштабных перестройках snRNP-субъединиц, которые имеют место в ходе ее каталитической активации. Эти snRNP вновь попадают в ТК, где снова осуществляется сборка U4/U6 • U5 tri-snRNP-субъединиц, готовых к новому циклу сплайсинга.

Обобщающая схема, подробно иллюстрирующая роль ТК в метаболизме snRNP, приведена на рис. 20.

3.5. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ТЕЛЕЦ КАХАЛА В КОНТЕКСТЕ МЕТАБОЛИЗМА snRNP

Отсутствие ТК не всегда критично для процессов, связанных с метаболизмом snRNP. Например, в мутантных или нокаутированных по гену коилина клетках мыши (Tucker et al., 2001), дрозофилы (Liu et al., 2009) или *Arabidopsis* (Collier et al., 2006), а также в тех клетках человека, в которых ТК в норме отсутствуют (Young et al., 2000), сохраняется почти нормальный уровень сплайсинга пре-мРНК. В том числе за счет того, что snRNP способны претерпевать постранскрипционные модификации, управляемые scaRНК-гидами, не только в ТК, но и в других участках нуклеоплазмы (Deryusheva, Gall, 2009). Гомозиготные дрозофилы *Coil*^{-/-}, у которых не формируются ТК, жизнеспособны и фертильны (Liu et al., 2009). У нокаутированных по гену коилина мышей с генотипом *Coil*^{-/-} (Tucker et al., 2001) наблюдается повышенная гибель эмбрионов, но оставшаяся их небольшая часть все же остается жизнеспособной. Однако развившиеся из таких эмбрионов мыши демонстрируют заметное снижение фертильности за счет дефектов в развитии репродуктивных органов (Walker et al., 2009). То, что некоторые эмбрионы мышей *Coil*^{-/-} выживают, по-видимому, отражает возможность выживаемости некоторого количества эмбриональных клеток за счет запасов snRNP материнского происхождения.

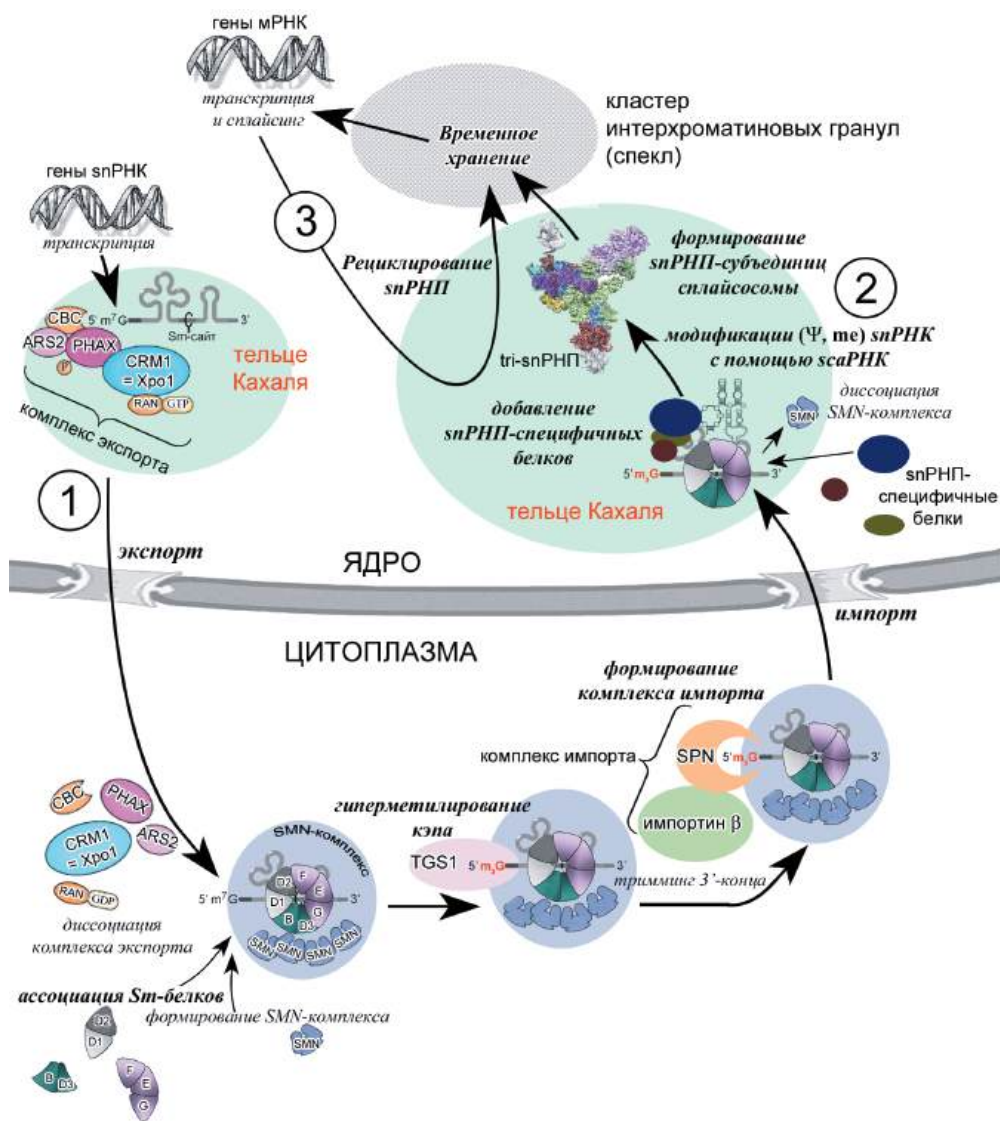


Рис. 20. Генеральная схема, демонстрирующая роль телец Кахалы в метаболизме snRNP

(ориг., на основе разных источников, цит. в тексте)

Цифрами отмечены: начальные этапы процессинга пре-snРНК (1); модификации snРНК и сборки функционально компетентных snРНК (2); рециклирование snРНК (3). Это главные этапы метаболизма snРНК сплайсинга, в которых непосредственное участие принимают тельца Кахалы.

Что касается дрозиды, то ее эмбриогенез, как известно, характеризуется формированием синцитиальной бластодермы, и это может давать дополнительные преимущества эмбриону в плане жизнеспособности. В условиях снижения интенсивности сборки snRNP у мутантов *Coil*^{-/-} дрозиды отдельные ядра бластодермы в составе синцития, возможно, способны компенсировать дефицит snRNP за счет других клеток бластулы во время критического периода развития, когда необходим быстрый и интенсивный сплайсинг пре-мРНК (Machyna et al., 2015). С другой стороны, принимая во внимание факт, что консервативные домены молекулы коилина у *D. melanogaster* существенно отличаются от таковых позвоночных (Liu et al., 2009), также весьма вероятно, что насекомые выработали особый механизм сборки snRNP, который не так сильно зависит от коилина, как у позвоночных (Machyna et al., 2015).

По-видимому, наиболее правильно говорить о том, что биологический смысл формирования ТК состоит в том, что они выступают в качестве *ускорителя*, акселератора реакций, увеличивая скорость сборки snRNP-частиц за счет локальной концентрации необходимых компонентов. Так, формирование U4/U6 • U5 tri-snRNP в ТК идет со скоростью 3.8 ед./с — примерно в 10 раз быстрее, чем в окружающей нуклеоплазме (Novotný et al., 2011). Эти данные хорошо соответствуют результатам математического моделирования *in silico*, согласно которым формирование ТК должно повышать производительность сборки U4/U6 di-snRNP в 11 раз (Klingauf et al., 2006). На первый взгляд такая степень интенсификации процесса не очень существенна, но она может иметь критическое значение для клеток с особенно высокой метаболической активностью. Например, деплегия коилина как шаперона snRNP, приводящая к исчезновению ТК, в отличие от дрозиды и мыши, как упоминалось, летальна для эмбрионов *D. rerio* — возможно, из-за малого количества функционально «зрелых» snRNP и нарушений сплайсинга пре-мРНК, синтезированных на стадии зиготы (Strzelecka et al., 2010b).

Наконец, ТК могут способствовать улучшению «контроля качества» snRNP на разных этапах их формирования (процессинга). В ходе метаболического цикла (биогенеза) snRNP в клетке существует, по крайней мере, 6 ключевых точек, в которых осуществляется такой контроль (рис. 21). Три из них связаны с ТК: одна на ранних этапах (контроль экспорта snRНК) и две — на поздних этапах метаболизма snRNP, в ходе формирования U4/U6 • U5 tri-snRNP (Staněk, 2017).

В случае нарушений пространственного сворачивания (мисфолдинга) aberrантные snRНК подвергаются деградации, предположительно, с участием экзосом и ассоциированных с ними комплексов TRAMP и NEXT (о функциях ядерных РНК-экзосом и их кофакторах см., например: Kilchert et al., 2016; Schmid, Jensen, 2019). Деградация таких aberrантных snRНК происходит на начальных этапах процессинга, по-видимому, еще до попадания их в ТК.

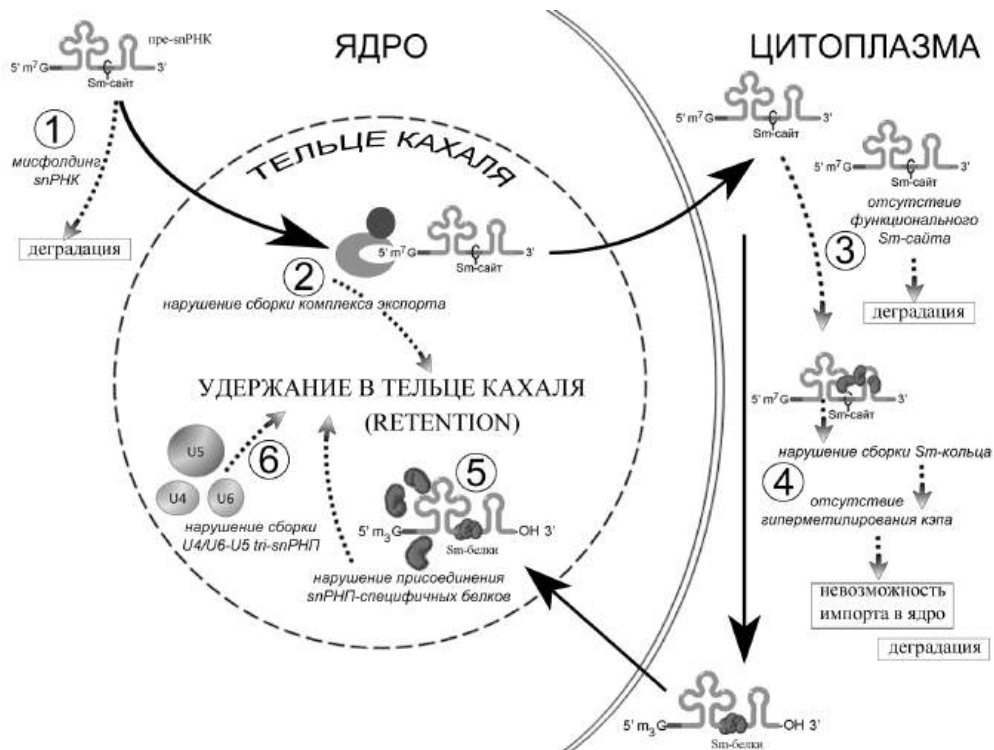


Рис. 21. Ключевые точки контроля качества snРНК,
по крайней мере, три из которых (№№ 2, 5 и 6) связаны с тельцами Кахаля
(ориг., адаптировано из: Staněk, 2017, с изменениями)

Существует как минимум 6 точек контроля качества snРНК. Если в результате синтеза пре-snРНК происходит неправильная укладка молекулы (мисфолдинг), такие РНК деградируют еще до поступления snРНК в ТК (точка № 1). Если нарушается правильная сборка комплекса экспорта snРНК, такие РНК удерживаются в ТК (точка № 2). В цитоплазме деградируют snРНК с нефункциональным сайтом связывания Sm-белков (точка № 3); кроме того, неспособны к импорту в ядро snРНК при нарушении формирования Sm-кольца и в отсутствие гиперметилования кэпа (точка № 4). Но даже после импорта в ядро и успешной ассоциации с ТК в ТК удерживаются «незрелые» snРНК при нарушении присоединения snРНК-специфичных белков (точка № 5) или сборки U4/U6-U5 tri-snРНК (точка № 6). Сплошными линиями показаны нормальные пути биогенеза snРНК, пунктирными — возможные нарушения этих путей.

В ТК осуществляется контроль качества сборки *комплекса экспорта* snРНК — до начала цитоплазматического этапа их процессинга. При нарушениях (например, при подавлении активности адаптера экспорта RNAX) snРНК теряют способность покинуть ТК и удерживаются в них (Suzuki et al., 2010). Если snРНК все-таки покидают ТК и ядро, то в цитоплазме деградируют те из них, которые имеют измененный Sm-связывающий

участок, что лишает snРНК способности к правильной ассоциации с Sm-белками и к гиперметилованию кэпа; такие snРНК не способны к импорту в ядро. Если импорт происходит, то в ТК осуществляется контроль качества snРНК уже на заключительных этапах их формирования. В частности, в ТК происходит удержание (retention) snРНК при нарушении их ассоциации с snРНК-специфическими белками. Это показано, например, в отношении U4 snРНК-специфического белка PRP31 (Bizarro et al., 2015) и заметно при нарушении правильного формирования U4/U6 di-snРНК и U4/U6 • U5 tri-snРНК (Novotný et al., 2015).

Глава 4

РОЛЬ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ В ПОСТТРАНСКРИПЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЯХ МАЛЫХ РНК. SnoРНК и scaРНК

Посттранскрипционные модификации различных РНК, первые из которых были открыты более полувека тому назад (сейчас известно около 150 таких модификаций), имеют существенное значение для общей регуляции и тонкой настройки экспрессии генов. Вся совокупность посттранскрипционных модификаций РНК в клетке носит название «эпитранскриптом» (Nachtergaele, He, 2017; Roundtree et al., 2017), для определения которого служат методы, основанные на секвенировании нового поколения (NGS) и масс-спектрометрии (Sarkar et al., 2021).

Посттранскрипционные модификации характерны прежде всего для ncРНК, таких как рРНК, тРНК, snРНК, lncРНК и miРНК, однако специфическим модификациям подвергаются и некоторые нуклеотиды мРНК. Последние достижения в области эпитранскриптомики, в частности картирование модификаций РНК по всему транскриптому, способствуют разработке эпитранскриптомной терапии рака и других заболеваний (Cernekis et al., 2024). О широте распространения в природе посттранскрипционных модификаций РНК говорит тот факт, что в молекулах, например, тРНК модифицируется до 25% нуклеотидов, при этом каждая молекула может нести около 14 различных модификаций (Suzuki, 2021). В рРНК модификации нуклеотидов не столь разнообразны, но тоже многочисленны, и каждая модификация примерно 100 раз представлена в молекуле каждой рРНК (Georgeson, Schwartz, 2021).

Наиболее частыми модификациями РНК являются сайт-специфическая замена уридина (U) на псевдоуридин (Ψ) и 2'-O-метилование остатков рибозы разных нуклеозидов. Например, в молекулах сплайсосомных snРНК насчитывается 28 Ψ и 18 2'-O-метильных групп. Эти модификации являются необходимым условием как для правильной сборки snРНК-частиц, так и для осуществления сплайсинга пре-мРНК (Karjane, Yu, 2010).

Псевдоуридинилирование представляет собой изомеризацию U→Ψ за счет разрыва N-гликозидной связи, поворот основания на 180° и формирование C—C-гликозидной связи. В свою очередь 2'-O-метилование (2'-O-Me) — это метилирование 2'-гидроксильной группы остатка рибозы какого-либо рибонуклеотида (рис. 22). Обе модификации изменяют биофизические свойства snРНК, пусть даже иногда и незначительно. Например, Ψ более поляризован по сравнению с U. Он стабилизирует межплоскостное взаимодействие оснований (base stacking) и укрепляет основную цепь за счет привлечения молекулы воды дополнительной аминогруппой основания.

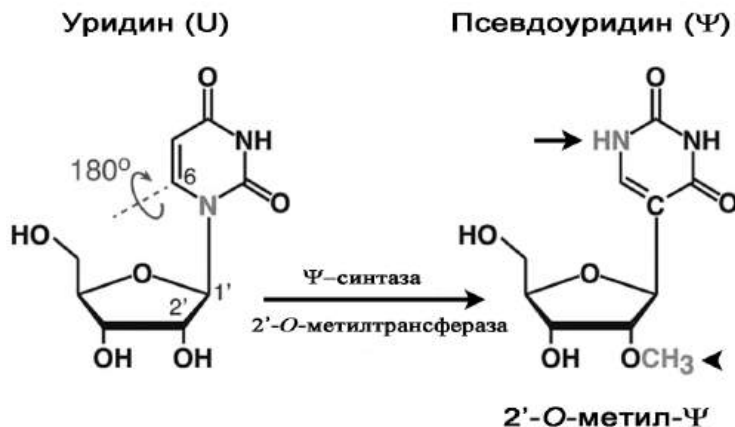


Рис. 22. Модификации оснований snРНК, управляемые scaРНК: псевдоуридинилирование (стрелка) и 2'-O-метилование (головка стрелки)

На рисунке обе модификации показаны на примере одного и того же нуклеозида, хотя они осуществляются в ходе независимых реакций (по: Karijolich, Yu, 2010, с изменениями)

2'-O-метилование изменяет гидрационную оболочку вокруг кислорода и защищает молекулу РНК от щелочного гидролиза.

В клетках низших эукариот (дрожжей) одновременно существуют 2 механизма псевдоуридинилирования и 2'-O-метилования: РНК-зависимый, осуществляемый с помощью snoРНК, и РНК-независимый, в котором участвуют только белки-ферменты (Ma et al., 2005). Однако в клетках млекопитающих обе модификации осуществляются, по-видимому, исключительно с помощью snoРНП, в состав которых входит snoРНК-гид и белок-фермент, а выбор нуклеотида, который должен быть подвергнут модификации, определяет комплементарное спаривание оснований между snoРНК и ее РНК-субстратом. Однако посттранскрипционные модификации snРНК (а также рРНК) — более сложный и строго регулируемый процесс, нежели просто спаривание оснований между модифицируемыми РНК и их snoРНК-гидами (Deryusheva et al., 2021).

Малые ядрышковые РНК — snoРНК — впервые были открыты в конце 1960-х гг. и составляют обширную, широко распространенную и эволюционно консервативную группу snсРНК, которые, как следует из названия, локализуются преимущественно в ядрышках (Макарова, Крамеров, 2007). Однако под действием внешних стимулов или в зависимости от типа клетки некоторые snoРНК могут демонстрировать локализацию и вне ядрышка.

Благодаря использованию для идентификации snoРНК новых высоко-разрешающих стратегий исследования (помимо классических биохимических подходов), включая методы сравнительной геномики, транскриптомного анализа, предсказаний *in silico*, широкомасштабного скрининга библиотек

маркерных экспрессируемых последовательностей (EST), в настоящее время известно громадное число snoРНК (Bergeron et al., 2020). Так, атлас известных snoРНК человека (<http://snoatlas.bioinf.uni-leipzig.de/> — дата обращения: 04.03.2025) насчитывает 1118 наименований, при этом около 700 snoРНК демонстрируют в клетке значительный уровень экспрессии (Jorjani et al., 2016). Такое большое количество snoРНК отражает большое количество сайтов модификаций в различных РНК-субстратах, поскольку с каждым из них ассоциирует, по крайней мере, одна РНК-гид.

SnoРНК обнаружены у всех изученных эукариот и даже архей, у которых — ввиду отсутствия ядрышек — они известны как sРНК или sno-подобные РНК (Gelsinger, DiRuggiero, 2018). В большинстве своем snoРНК относительно короткие молекулы, состоящие из 60–120 нуклеотидов. Из нескольких сотен нуклеотидов состоят лишь некоторые lncРНК, молекулы которых имеют snoРНК-подобные концы и потому называемые sno-lncРНК (Yin et al., 2012). Как уже отмечено, по своему биологическому значению snoРНК являются РНК-гидами, управляющими различными модификациями других РНК, однако их не следует путать с РНК-гидами, обеспечивающими редактирование мРНК⁸⁵.

В физиологии клетки snoРНК, а также scaРНК, которые выделяют как особое подсемейство snoРНК играют существенную роль. Например, недостаток sno/scaРНК является не последним фактором в патогенезе множества серьезных заболеваний человека, включая врожденные пороки сердца (например, тетраду Фалло, одну из самых распространенных сочетанных врожденных патологий, которая характеризуется обструкцией выводного тракта правого желудочка, дефектами межжелудочковой перегородки, декстропозицией аорты и гипертрофией правого желудочка), а также различные нервно-мышечные расстройства и некоторые формы рака (Cao et al., 2018).

Если изначально функции snoРНК связывали в основном с их участием в биогенезе рибосом в качестве РНК-гидов, модифицирующих рРНК путем 2'-O-метиличирования и псевдоуридинилирования (Ojha et al., 2020), то теперь показано участие snoРНК в широком спектре ядерных посттранскрипционных процессов, таких как ацетиличирование рРНК и метилирование тРНК. Кроме того, они участвуют в контроле количества мРНК и регуляции эффективности трансляции, альтернативного сплайсинга и др. (Bratkovič et al., 2020).

4.1. ScaРНК — КОМПОНЕНТЫ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ

Малые РНК, специфические для ТК (scaРНК), получили свое название потому, что этим РНК (по сути, snoРНК) первоначально приписывали локализацию исключительно в ТК. Первая scaРНК — U85 (теперь SCARNA10)

⁸⁵ См., например: Дейчман А. М., Цой В. Ч., Барышников А. Ю. Редактирование РНК. Гипотетические механизмы. М.: Изд-во «Практическая медицина», 2005. 265 с.

была идентифицирована в 2001 г. (Jády, Kiss, 2001). Годом позже было открыто еще три scaPHK: U87 (SCARNA5), U88 (SCARNA6) и U89 (SCARNA12) (Darzacq et al., 2002). Впоследствии обнаружение новых scaPHK шло быстрыми темпами. Среди большого аннотированного списка snoPHK к концу 2010-х гг. было известно, например, уже 30 scaPHK человека (Meier, 2017; табл. 6), около 30 scaPHK *X. tropicalis* (Deryusheva et al., 2020) и 14–15 scaPHK *D. melanogaster* (Deryusheva, Gall, 2009, 2013; табл. 7). Этот список продолжает расти, и в приведенных таблицах указаны лишь основные из них.

Таблица 6

ScaPHK человека^{a)}

Класс		Название		ID	Нуклеотиды-мишени в молекулах snPHK-субстратов ^{b)}
		Историческое	Современное (approved)		
C/D	C/D	U90	SCARNA7	snoID_0598	U1.1–70
		mgU2–47; ZL1	SCARNA28	snoID_0620	U2.2–47
	Tandem-CD	U91; mgU12–22/ U4–8	SCARNA17	snoID_0591	U12–21 U4.1–8 U2.1–43
		mgU2–25/61; HBII-382	SCARNA2	snoID_0593	U2.1–25
		mgU2–19/30; Z32	SCARNA9	snoID_0605	U2.1–19 U2.1–30
			SCARNA9L	snoID_0600	U2.1–19 U2.1–30
H/ACA	H/ACA	U92	SCARNA8	snoID_0601	U2.3–34 U2.3–44
		U100	SCARNA14	snoID_0612	U1.1–72
		U109; SCARNA18A	SCARNA18	snoID_0609	U1.4–6
		ZL138	SCARNA18B	snoID_0707	U1.4–6
		ACA11 ^{b)}	SCARNA22	snoID_0611	?
		ACA12	SCARNA23	snoID_0594	U6.6–40
		ACA26	SCARNA4	snoID_0595	U2.3–41 U2.3–39
		ACA35 ^{b)}	SCARNA1	snoID_0603	U2–89/91
		ACA45	SCARNA15	snoID_0604	U2.3–39
		ACA47	SCARNA16	snoID_0602	U1.4–5
		ACA57	SCARNA11	snoID_0610	U5.3–41
		ACA66	SCARNA20	snoID_0592	U12.1–27
		HBI-100	SCARNA3	snoID_0596	U6.6–40

Окончание табл. 6

Класс		Название		ID	Нуклеотиды-мишени в молекулах snРНК-субстратов ⁶⁾
		Историческое	Современное (approved)		
		hTR/TERC ⁷⁾	SCARNA19	snoID_1118	неприменимо
			scarna21B	snoID_0577	U12.1–18
			SCARNA26A	snoID_0618	U4.2–79
			SCARNA26B	snoID_0625	U4.1–79
			SCARNA27**	snoID_0614	?
	Tandem-H/ACA	U93	SCARNA13	snoID_0606	U2.3–54
					U5.1–51
					U7–7
Гибридные C/D–H/ACA					U5.1–43
					U5.1–44
					U4.1–65
					U5.1–39
					U5.1–39
					U5.1–46
		ACA68; SCARNA21A	SCARNA21	snoID_0599	U12.1–17
					U12.1–18
					U6atac–83

^{a)} Данные приведены из обзора (Meier, 2017) с некоторыми дополнениями; ссылки на первоисточники можно найти в обзоре (Jorjani et al., 2016).

⁶⁾ Некоторые scaРНК имеют в качестве субстратов не только snРНК, но и, например, рРНК (Nostramo, Horrer, 2019; Jády et al., 2022), которые мы здесь не приводим.

⁸⁾ Для некоторых орфанных scaРНК snРНК-субстраты неизвестны (если есть), однако известны иные их РНК-субстраты, например специфические нуклеотиды в молекулах рРНК, — они не показаны.

⁷⁾ Особая РНК, лишь формально относящаяся к scaРНК (глава 6).

Таблица 7

ScaРНК *Drosophila*

Класс	Название ^{a)}	Источник
C/D–H/ACA	dU85	Jády, Kiss 2001
C/D	mgU4–65	Tycowski et al., 2009
	mgU2–25	Tycowski et al., 2009
	mgU2–28	Huang et al., 2005
	mgU2–41	Tycowski et al., 2009
	mgU2–48	Deryusheva, Gall, 2013
	mgU5–38	Tycowski et al., 2009
	mgU5–42 (Dm-755)	Yuan et al. 2003
	Dm46E3 ⁶⁾	Tortoriello et al. 2009

Окончание табл. 7

H/ACA	pugU1–6	Deryusheva, Gall, 2013
	pugU2–35/45	Deryusheva, Gall, 2013
	pugU2–38/40/42	Deryusheva, Gall, 2013
	pugU2–55	Deryusheva, Gall, 2013
	pugU5–44	Deryusheva, Gall, 2013
	pugU6–40	Deryusheva, Gall, 2013

^{a)} В отличие от scaPHK человека (табл. 6) для дрозофилы используют номенклатуру, основанную на модифицируемом нуклеотиде snPHK-мишени. Лишь dU85 родственна U85 scaPHK человека (SCARNA10). В названиях scaPHK дрозофилы: mg (methylation guide) означает участие в метилировании, pug (pseudouridylation guide) — в псевдоуридинилировании; при таких обозначениях указывается также мишень.

^{b)} Родственна U79 snoPHK (SNORD79), но не была выявлена в ходе анализа, проведенного Дерюшевой и Голлом (Deryusheva, Gall, 2013).

Вместе с открытием scaPHK были получены прямые доказательства их роли в псевдоуридинилировании и 2'-O-метиловании сплайсосомных snPHK первой группы (по нашей классификации; см. главу 3) и доказательства того, что эти модификации осуществляются в ТК. Например, наблюдения за короткими фрагментами snPHK показали, что фрагменты U2 snPHK, неспособные вернуться из цитоплазмы в ядро, теряют способность к модификациям, а U5 snPHK подвергается модификации, только если она связывается с ТК, но не с ядрышками (Jády et al., 2003).

Следует упомянуть, что в последние годы открывают новые функции scaPHK, не связанные с модификациями snPHK. Например, доказана роль SCARNA2 в репарации ДНК, а именно — в выборе между негомологичным соединением концов (non-homologous end-joining, NHEJ) и гомологичной рекомбинацией (homologous recombination, HR). Оказалось, что SCARNA2 связывается с хроматином в ответ на повреждение ДНК, способствует привлечению факторов HR к двунитевым разрывам, связывается с каталитическим центром ДНК-зависимых протенкиназ (DNA-PKs), тем самым подавляя их активность и, следовательно, путь NHEJ (Bergstrand et al., 2022). Разумеется, SCARNA2 тесно взаимодействует с рядом ключевых белков ТК, таких как WRAP53β, коилин и TDP-43, однако роль самих ТК в процессе HR, по-видимому, представляется лишь опосредованной за счет этих межмолекулярных взаимодействий.

По наличию специфических общих последовательностей и особенностям вторичной структуры молекул все snoPHK, включая scaPHK, относятся к одному из двух основных классов: H/ACA (H/ACA box) и C/D (C/D box). Высококонсервативные последовательности (домены, боксы) H (ANANNA, где N — любой из нуклеотидов A, C, G или U) и ACA (точнее, AYA, где Y — нуклеотиды C или U) обеспечивают *псевдоуридинилирование* нуклеотидов в молекулах PHK-субстратов, а домены C (RUGAUGA, где R — нуклеотиды A или G) и D (CUGA) — *2'-O-метилование* (рис. 23).

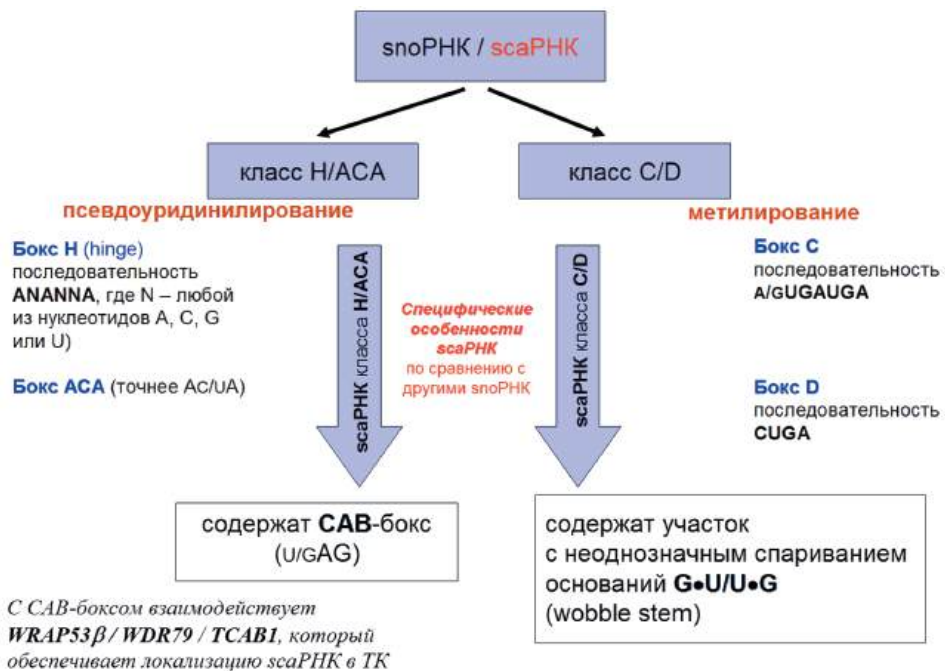


Рис. 23. Структурные и функциональные особенности snoRNA и scaRNA разных классов (ориг.)

Структура молекул sno/scaRNA обоих классов хорошо известна (Marg et al., 2011). Молекулы sno/scaRNA класса C/D формируют петлю, основание которой сложено в короткую спиральную структуру. Они содержат С-домен у 5'-конца и D-домен у 3'-конца. В средней части молекул большинство snoRNA класса C/D имеют дополнительные, менее консервативные домены С' и D' (рис. 24, а). Молекулы sno/scaRNA класса H/ACA состоят из двух симметричных «шпильек» (stem-loops), при этом H-домен находится на участке между этими шпильками, а домен ACA — около 3'-конца (рис. 24, б). Кроме того, среди scaRNA идентифицированы так называемые «гибридные» scaRNA, молекулы которых одновременно содержат как домен C/D, так и домены H/ACA (рис. 24, в). Поэтому каждая из таких scaRNA может рассматриваться в качестве представителя обоих классов — C/D—H/ACA. Наконец, известны scaRNA, в которых функциональные домены расположены не по отдельности, а тандемно (рис. 24, г, д).

Из известных к настоящему времени главных scaRNA человека 2 относятся к классу C/D, 18 — к классу H/ACA, одна является тандемной scaRNA класса H/ACA, а 4 представляют собой тандемные scaRNA класса C/D. Кроме того, известны 5 гибридных (C/D—H/ACA) scaRNA (табл. 6). Среди scaRNA *Drosophila* известны одна гибридная scaRNA (dU85), 6 — класса H/ACA и 7 или 8 — класса C/D (табл. 7). Очевидно, что scaRNA классов C/D или

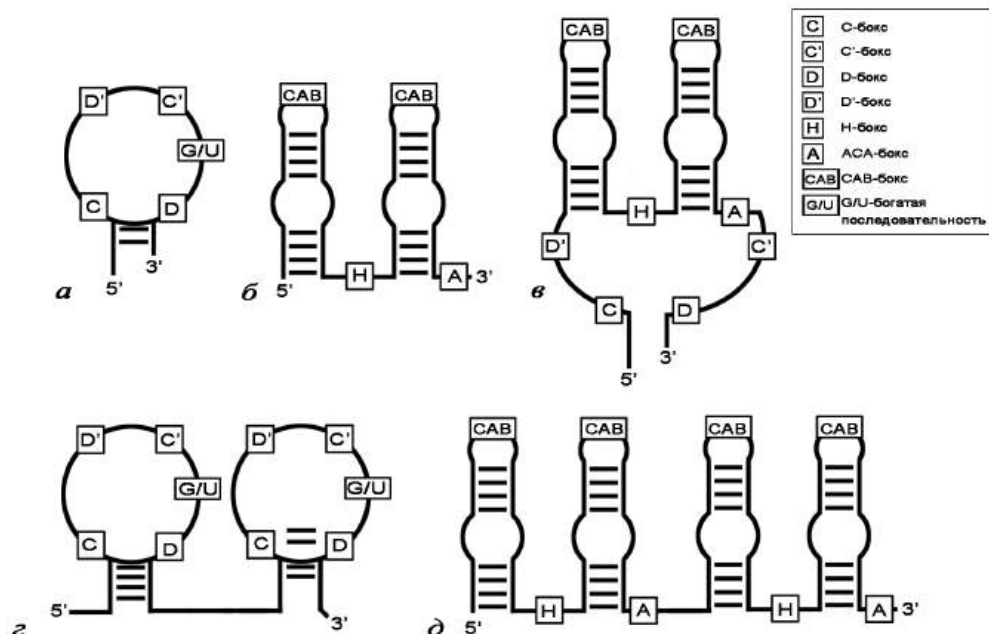


Рис. 24. Типы строения scaPHK (по: Jorjani et al., 2016, с изменениями)

a — scaPHK семейства C/D (box C/D scaRNAs); *б* — scaPHK семейства H/ACA (box H/ACA scaRNAs); *в* — гибридные scaPHK, молекулы которых одновременно содержат домены C/D и H/ACA (box C/D–H/ACA scaRNAs); *г* — tandemные scaPHK семейства C/D (box C/D–C/D scaRNAs); *д* — tandemные scaPHK семейства H/ACA (box H/ACA–H/ACA scaRNAs)

H/ACA должны иметь 2 мишени в молекулах РНК-субстратов. Tandемные же scaPHK обоих классов, а также молекулы гибридных scaPHK C/D–H/ACA, потенциально имеют 4 мишени.

По сравнению с молекулами канонических snoPHK молекулы scaPHK имеют ряд дополнительных особенностей строения, от которых, в частности, зависит их специфическая локализация в ТК. Так, молекулы scaPHK класса H/ACA содержат расположенный в терминальной петле молекулы особый домен ugAG — так называемый САВ-домен (CAB box), а молекулы scaPHK класса C/D несут участок с неоднозначным спариванием оснований G • U/U • G (wobble stem). В клетках человека САВ-домены имеют только scaPHK группы H/ACA (Richard et al., 2003). Однако в клетках *Drosophila* scaPHK группы C/D тоже содержат САВ-подобный мотив sgaGUUAnUg, с которым, в частности, взаимодействует пока слабо охарактеризованный белок (CG9226), гомологичный белку TCAB1 позвоночных (Tucowski et al., 2009) — одному из ключевых факторов, обеспечивающих целенаправленное связывание scaPHK с ТК (Marnef et al., 2014). Искусственное изменение САВ-домена scaPHK класса H/ACA ведет

к аномальному накоплению scaРНК в ядрышках, что показано, например, в отношении теломеразной РНК человека (hTR, SCARNA19) (Theimer et al., 2007).

4.1.1. Процессинг scaРНК

Если у дрожжей и растений многие snoРНК кодируются собственными генами, имеющими независимые промоторы, то у животных (нематоды *C. elegans*, дрозофилы, млекопитающих) известно лишь ограниченное число генов, кодирующих snoРНК: большинство snoРНК животных, включая scaРНК, кодируются *интронными последовательностями* генов, кодирующих белки «домашнего хозяйства» (housekeeping genes, host genes). Обычно это гены, кодирующие рибосомные белки и белки ядрышка. При этом соблюдается правило «один ген на интрон» ('one-gene-per-intron' rule — Bratkovič et al., 2020). Любопытно, что существуют гены, которые не кодируют функциональные мРНК, но их интроны кодируют snoРНК. У позвоночных наиболее известным примером служит ген *UHG* (U22 host gene), интроны которого кодируют 10 snoРНК, однако сплайсированный продукт этого гена не имеет открытой рамки считывания (Tycowski et al., 1996).

Исключениями, не являющимися продуктами интронов, служат: две scaРНК класса C/D — SCARNA2 (mgU2–25/61) и SCARNA17 (U91); три snoРНК класса C/D — SNORD3 (U3), SNORD118 (U8) и SNORD13 (U13); теломеразная РНК (SCARNA19), принадлежащая к scaРНК класса H/ACA. Эти sno/scaРНК кодируются *собственными генами*, транскрипция которых зависит от РНК-полимеразы II.

В ходе процессинга sno/scaРНК, кодируемые интронами, высвобождаются из соответствующих пре-мРНК-транскриптов путем экзонуклеолитического расщепления линейаризованных интронных «лассо», которые после сплайсинга не просто деградируют, но служат источником sno/scaРНК и ряда других ncРНК (Hesselberth, 2013).

В ходе сплайсосомного цикла интроны в виде «лассо», структуру которых определяет 2'–5'-фосфодиэфирная связь в точке ветвления, высвобождаются с помощью нескольких компонентов сплайсосомы. К ним относятся: U2, U5 и U6 snРНК; некоторые сплайсосомные белки (Yoshimoto et al., 2009); ассоциированный со сплайсосомой специфический белковый комплекс NTC (NineTeen complex), белки которого служат мишенями для сплайсосомных АТФаз (de Almeida, O'Keefe, 2015). Главным ферментом, разворачивающим «лассо» интрона, служит DBR1 (lariat debranching enzyme) — 2'→5'-фосфодиэстераза, которая разрушает 2'–5'-фосфодиэфирную связь и превращает «лассо» в линейную молекулу РНК с 5'-концевым фосфатом (Mohanta, Chakrabarti, 2021). После линейаризации интрон способен к дальнейшему процессингу, осуществляемому с помощью ядерных экзонуклеаз, действующих с обоих концов.

Главной 5'→3'-экзорибонуклеазой эукариотической клетки является XRN1 (в клетках дрожжей RAT1), субстратами которой служат не только линейаризованные интроны мРНК, служащие источниками sno/scaPHK, но и множество других РНК, включая лишенные 5'-кэпа и эндонуклеолитически расщепленные мРНК, lncPHK и aberrантные тРНК (Geisler, Collier, 2012).

В 3'→5'-процессинге пре-sno/scaPHK, включая теломеразную РНК человека hTR/TERC (Schmidt, Cech, 2015), ведущую роль играет экзосомный комплекс, центральное место в котором занимает экзонуклеаза RRP6, у человека больше известная как EXOSC10 (exosome component 10) (Schmidt, Jensen, 2019). В ходе тримминга 3'-конца пре-sno/scaPHK класса H/ACA образуются промежуточные соединения (интермедиаты) с короткими «хвостами», состоящими из остатков аденозина. Они формируются за счет активности РНК-поли(А)-полимеразы D5 (PAPD5), а потом аккуратно удаляются поли(А)-специфической рибонуклеазой PARN (Berndt et al., 2012).

Одним из белков, участвующих в процессинге 3'-конца некоторых scaPHK, является белок TOE1 (target of EGR1 protein 1), ранее известный как CAF1z. Этот белок является нетипичной деаденилазой, которая, как было первоначально показано, участвует в качестве 3'→5'-экзонуклеазы в процессинге 3'-конца snPHK (Lardelli et al., 2017), но не затрагивает 3'-конец мРНК (Son et al., 2018). При этом TOE1 обеспечивает процессинг 3'-конца не только snPHK, но и ряда других ncPHK, прежде всего scaPHK, включая hTR/TERC (Son et al., 2018). Следует отметить, что процессинг 3'-конца hTR/TERC, который осуществляется котранскрипционно, является одной из предпосылок для локализации этой РНК в ТК (Theimer et al., 2007). Нарушение функционирования обеих деаденилаз (PARN и TOE1) является причиной ряда серьезных генетических (PARN/TOE1-зависимых) заболеваний, лечение которых пока невозможно.

В отличие от многих охарактеризованных деаденилаз TOE1 демонстрирует четкую локализацию в ТК (Wagner et al., 2007; Fong et al., 2013; Son et al., 2018). Другая же деаденилаза — PARN, которая участвует в процессинге 3'-конца многих snoPHK, scaPHK, hTR/TERC, а также 18S рРНК (в отличие от TOE1), но не snPHK, процессинг которых зависит только от TOE1 (Son et al., 2018), согласно более раннему исследованию (Berndt et al., 2012) также способна к локализации в ТК. Вместе с тем более тщательный и разносторонний молекулярно-биологический анализ, проведенный позже (Son et al., 2018), показал, что PARN и TOE1 имеют все-таки разную локализацию: PARN локализуется преимущественно в ядрышке, а в ТК концентрируется TOE1.

Выведено, что по крайней мере три новосинтезированные scaPHK (SCARNA2, SCARNA9 и SCARNA17), принадлежащие к классу тандемных C/D-scaPHK, способны претерпевать особый процессинг, выражающийся в обрезании (cropping) молекул полной длины, в результате чего формируются стабильные scaPHK-фрагменты: mgU2–61 из SCARNA2; mgU2–19 и mgU2–30 из SCARNA9; а также mgU4–8 из SCARNA17. Эти фрагменты

содержат характерные шпилечные (stem/loop) структуры и, как следует из их названий, служат РНК-гидами, обеспечивающими метилирование соответствующих нуклеотидов в молекулах U2 или U4 snРНК соответственно. Показано, что такие РНК локализуются преимущественно в ядрышке, но присутствуют также в остальной части нуклеоплазмы, включая ТК (Tycowski et al., 2004). Теоретически они способны к комплементарному спариванию оснований с несколькими snoРНК, что может влиять на активность snoРНК и, как следствие, обеспечивать гетерогенность рибосом, но конкретные функции таких стабильных фрагментов scaРНК пока не определены.

Подобного рода scaРНК-фрагменты предложено выделить в особый класс ncРНК — регуляторных РНК (regРНК, regRNAs) (Poole et al., 2017). Своеобразный процессинг пре-scaРНК 2, 9 и 17, приводящий к формированию regРНК, изменяет количество присутствующих в ТК соответствующих scaРНК полной длины, что в свою очередь может влиять на интенсивность (эффективность) модификаций snРНК, которые осуществляются с помощью этих scaРНК в ТК (McLaurin et al., 2020).

В свое время исследователи обратили внимание на характерный факт: regРНК имеют примерно такой же размер (70–80 п. н.), что и пре-miРНК, образующиеся в результате Drosha/DGCR8-зависимого процессинга pri-miРНК (Tycowski et al., 2004). Комплекс Drosha/DGCR8, известный как Микропроцессор, занимает центральное место при формировании miРНК, а именно — на этапе преобразования длинных первичных транскриптов miРНК (pri-miРНК) в предшественники miРНК (пре-miРНК) (см., например: Kim et al., 2025). Затем пре-miРНК экспортируются из ядра в цитоплазму, где подвергаются процессингу, который зависит от активности DICER — рибонуклеазы из семейства РНКаз III, которая разрезает двуцепочечные молекулы пре-miРНК с образованием коротких двуцепочечных РНК-фрагментов (miРНК). При этом пре-miРНК входят в состав РНК-комплексов RISCs (RNA-induced silencing complexes), обеспечивающих опосредованный miРНК сайленсинг генов. Ключевым компонентом этих комплексов являются белки Argonaute.

Оказалось, что SCARNA9 (Logan et al., 2020), SCARNA2 и SCARNA17 (McLaurin et al., 2020) являются «неканоническими» субстратами комплекса Drosha/DGCR8. Кроме того, в клетках растений известны особые структуры — так называемые Dicing-тельца (Dicing bodies — от DICER). Они содержат компоненты процессинга miРНК, как-то: Argonaute (AGO) 4; DICER-подобная РНКазы III растений DCL1 (DICER-like 1); белок HYL1 (hyponastic leaves 1), связывающий двухцепочечные РНК; транскрипционный фактор SE (Serrate), служащий посредником между кэп-связывающим комплексом (CBC) и другими факторами процессинга pri-miРНК (Pontes, Pikaard, 2008).

Несмотря на то что miРНК *не были* идентифицированы среди многочисленных РНК-компонентов, с которыми взаимодействует ряд ключевых белков ТК, включая коилин и белок SMN (Machyna et al., 2014), они могут,

по-видимому, участвовать в ранних этапах процессинга и pri-miРНК, и pri-scaРНК, при этом комплекс Drosha/DGCR8 может осуществлять в ТК «обрезку» молекул pri-РНК обоих типов.

В отсутствие ТК эффективность процессинга pri-scaRNA снижается. В условиях, разрушающих ТК, — например, при нокдауне колина или SMN (Logan et al., 2018) — снижается уровень pri-miРНК и «зрелых» miРНК. Примерами служат miR-520h и let-7a. Обнаружено, что уровень HMGH2 мРНК — главной мишени let-7a — повышается (Logan et al., 2020). В таких условиях снижение соотношения между содержанием в клетке mgU2–30 и SCARNA9 полной длины достигает 25%. Наконец, ТК обнаруживаются в непосредственной ассоциации с кластерами генов miРНК — например, с miРНК-кластером *C19MC*, расположенным на хромосоме 19 человека (Logan et al., 2020).

Попутно следует отметить, что в клетках растений ТК играют особую роль в сайленсинге генов, участвуя в продукции miРНК и siРНК (Love et al., 2017). Например, в ТК *A. thaliana* присутствует AGO4, который колокализуется с большой субъединицей РНК-полимеразы V (Li et al., 2006a; Pontes et al., 2006), представляющей специфическую РНК-полимеразу растений, транскрибирующую межгенные и некодирующие последовательности, в результате чего имеет место гетерохроматинизация и сайленсинг смежных генов (Wierzbicki et al., 2008). Помимо РНК-полимеразы V с ТК *A. thaliana* ассоциирована РНК-зависимая РНК-полимераза RDR2 (Pontes et al., 2006), продуцирующая двухцепочечную РНК, кодируемую транспозонами и ретроэлементами, которая затем процессируется в siРНК с участием Dicer-подобных ферментов (Pikaard, 2006; Voinnet, 2008; Achkar et al., 2016).

4.1.2. Факторы и сигналы локализации scaРНК в тельцах Кахаля

Какие-либо универсальные сигналы локализации, с помощью которых те или иные РНК локализуются в ТК, по-видимому, отсутствуют. Поэтому остается открытым вопрос, как могут РНК находить свой путь в ТК в отсутствие каких-либо особых общих сигналов. Однако имеются доказательства того, что одним из относительно консервативных сигналов локализации в ТК scaРНК класса H/ACA является САВ-домен. Его изменения приводят к появлению модифицированных scaРНК в ядрышках. Наоборот, добавление САВ-доменов не только направляет соответствующие sno/scaРНК в ТК, но и способствует их удержанию там (Richard et al., 2003). По САВ-зависимому механизму в ТК локализуется и теломеразная РНК человека hTR/TERC (Jády et al., 2004; Zhu et al., 2004; Venteicher et al., 2009), которая, напомним, по своей природе является scaРНК (SCARNA19) класса H/ACA. Показано, что САВ-домен распознается уже неоднократно упомянутым полифункциональным белком TCAB1 (Tycowski et al., 2009).

Хотя оба фактора — САВ-домен scaРНК и взаимодействующий с ним TCAB1 — важны для локализации scaРНК в ТК, они не являются необходимыми и достаточными для этого. Например, помимо scaРНК класса

H/ACA CAV-домены присутствуют в молекулах более чем 300 особых ncРНК класса AluACA (Jády et al., 2012). Эти РНК с невыясненной до конца функцией являются производными интронных Alu-повторов. По своей структуре и «поведению» они очень напоминают scaРНК класса H/ACA. В частности, AluACA-РНК ассоциируют с дискерином, известным также как NAP57 или DKC1⁸⁶, — это коровый белок scaРНК класса H/ACA. Несмотря на то что TCAB1 связывается с CAV-содержащими AluACA-РНК, они локализируются не в ТК, а в нуклеоплазме за их пределами, хотя и вблизи ТК иногда могут обнаруживаться (Jády et al., 2012).

Есть данные, что белок TCAB1 является одним из факторов, способствующих локализации в ТК не только scaРНК, принадлежащих к классу H/ACA, но и scaРНК класса C/D. Последние, как отмечено, не имеют CAV-домена, но несут особый участок G • U/U • G с неканоническим спариванием оснований. Эксперименты по коиммунопреципитации показали, что динуклеотиды G • U и U • G (wobble base-pairs) играют решающую роль в ассоциации scaРНК класса C/D — SCARNA7 (U90) и SCARNA28 (mgU2–47), с белком TCAB1 (Marnef et al., 2014). Правда, TCAB1 распознает scaРНК класса C/D с эффективностью примерно в 20 раз меньшей по сравнению с эффективностью распознавания scaРНК семейства H/ACA, имеющих CAV-домен (Tycowski et al., 2009; Izumikawa et al., 2019).

Молекулы редкой (орфанной) SCARNA97 человека, относящейся к классу C/D, не имеют GU-повторов, но несут богатую пиримидинами последовательность длиной 93 нуклеотидов, которая неизвестна в молекулах других малых РНК, включая scaРНК, snoРНК и snРНК. Этот участок наряду с каноническим для scaРНК класса C/D участком G • U/U • G является сигналом, отвечающим за локализацию SCARNA97 в ТК (Vitali, Kiss, 2019). С функциональной точки зрения SCARNA97 управляет 2'-O-метилированием «неоднозначного» цитидина C34 tРНК^{Met}(CAT). Это одна из необычных мишеней scaРНК, каких на самом деле может оказаться много. Следует отметить, что идентификация новых типов РНК, отличных от рРНК или snРНК, которые служат мишенями для sno/scaРНК, началась сравнительно недавно, и пока мы, вероятно, видим лишь «верхушку айсберга» (Nostramo, Nopper, 2019).

Универсальным фактором, который играет существенную роль в метаболизме scaРНК, в том числе в их связывании с ТК, как и следовало ожидать, играет коилин. Опыты по иммунопреципитации показали, что он образует комплексы с TCAB1 (Mahmoudi et al., 2010), с которым взаимодействует напрямую (Enwerem et al., 2014). В клетках человека такое взаимодействие обеспечивается участком молекулы коилина (а.о. 148–291), который в свою очередь содержит внутренне неупорядоченный участок (а.о. 121–291), проявляющий общую РНК-связывающую активность (Broome, Hebert, 2013).

⁸⁶ NAP57 — Nopp140/NOLC1-associated protein of 57 kDa; в настоящее время в литературе обычно используют названия DKC1 (dyskerin pseudouridine synthase 1 — H/ACA ribonucleoprotein complex subunit DKC1) или просто дискерин.

В иммунопреципитатах коилина и TCAB1 в качестве мажорных scaPHK найдены SCARNA2 и SCARNA9, концентрация которых оказалась соответственно в 81 и 77 раз выше по сравнению с контрольными IP-комплексами (Enwerem et al., 2014).

Таким образом, принимая во внимание, что коилин тесно ассоциирует с SCARNA2 и SCARNA9, которые служат РНК-гидами в ходе метилирования U2 snPHK, можно полагать, что он действительно участвует в метаболизме scaPHK, а также — в формировании scaPHП-частиц на основе SCARNA2 и SCARNA9 (Enwerem et al., 2015). При этом в ходе процессинга SCARNA2 и SCARNA9 лучшим субстратом для коилина, чем SCARNA2, является SCARNA9. К процессингу SCARNA9 с участием коилина более восприимчив внутренний GU-богатый участок молекулы SCARNA9 (Enwerem et al., 2014, 2015), который расположен между участками, кодирующими РНК-гиды (mgU2–19 и mgU2–30), непосредственно модифицирующие U2 snPHK (Tycowski et al., 2004).

На примере эмбриональных фибробластов мыши линии MEF-46 (*Coil*^{−/−}) показано, что снижение в клетке уровня коилина (а также TCAB1 и SMN) по-разному влияет на метаболизм (биогенез) scaPHП класса C/D и метилирование разных snPHK (Enwerem et al., 2015). Так, деплеция коилина заметно не влияет на модификации U5 snPHK (Jády et al., 2003), но вызывает примерно двукратное снижение уровня 2'-O-метилирования специфических остатков (C41 и U48) в молекуле U2 snPHK по сравнению с клетками MEF-26 дикого типа (Enwerem et al., 2015).

В локализации в ТК scaPHK класса C/D — SCARNA2, SCARNA7, SCARNA9 и SCARNA28 — существенную роль играет белок TDP-43 (TAR DNA-binding protein 43), который связывает эти scaPHK независимо от TCAB1 (Izumikawa et al., 2019). TDP-43 — ДНК/РНК-связывающий белок, также известный как TARDBP (trans-activating response region DNA-binding protein). Он распознает преимущественно UG-богатые мотивы многих РНК, участвует в процессах, связанных с метаболизмом РНК разных типов, включая транскрипцию и транспорт мРНК. Но в основном его рассматривают в качестве регулятора сплайсинга пре-мРНК (Ratti, Buratti, 2016). Отметим, что мутации в гене *TARDBP* вызывают неизлечимые нейродегенеративные заболевания, включая ALS, при котором происходит поражение двигательных нейронов, приводящее к параличам и атрофии мышц.

Белок TDP-43 курсирует между ядром и цитоплазмой, но в основном находится в ядре в динамически устойчивом (steady-state) состоянии. Показано, что при условном нокаутировании гена *TARDBP* в мотонейронах мышцы наблюдается существенное уменьшение количества ядерных телец, содержащих SMN и гемины 2 и 8 (Shan et al., 2010). Хотя такие тельца авторы называют gems (из-за SMN и геминов — глава 5), скорее всего, в данном случае речь идет о ТК. Интересно, что при деплеции TCAB1 белок TDP-43 всё равно локализуется в ТК (или ТК-подобных структурах), однако деплеция TDP-43, наоборот, приводит к заметному перераспределению scaPHK

класса C/D в ядрышки, дестабилизации scaРНК и, как следствие, нарушению (снижению) сайт-специфического 2'-O-метилования U1 и U2 snРНК (Izumikawa et al., 2019).

4.2. ТЕЛЬЦА КАХАЛЯ и snoРНК

В настоящее время известно, что не только scaРНК, но и практически все остальные snoРНК потенциально способны ассоциировать с ТК, в том числе за счет их способности взаимодействовать с коилином. Результаты широкомасштабных экспериментов по идентификации *in vivo* РНК, «сшитых» с коилином с помощью UV-излучения, показали, что коилин может связывать сотни snoРНК, большинство из которых способно проходить через ТК (Machyna et al., 2014). В этом случае коилин выступает в качестве шаперона и способствует усилению межмолекулярных взаимодействий и повышению локальной концентрации макромолекул, взаимодействуя как с самими РНК, так и с другими белками. Ассоциация snoРНК с коилином может, очевидно, происходить в нуклеоплазме за пределами ТК, поскольку давно известно, что в ТК концентрируется только ~ 30% ядерного коилина (Andrade et al., 1993; Lam et al., 2002; Matera, 1998).

На самом деле давно известно о том, что «канонические» snoРНК, несмотря на преимущественную локализацию в ядрышках, на определенных этапах своего метаболизма способны проходить транзитом через ТК. Например, эндогенная U3 snoРНК (SNORD3⁸⁷), одна из наиболее известных «модельных» snoРНК, не концентрируется в ТК (Carmo-Fonseca et al., 1993). Однако после микроинъекций экзогенной U3 snoРНК в клетки HeLa она временно накапливается в ТК перед дальнейшим поступлением в ядрышки (Pradet-Balade et al., 2011). Аналогичным образом U3 snoРНК, инъецированная в ооциты *Xenopus*, первоначально концентрируется в ТГЛ (Narayanan et al., 1999). Такие наблюдения лежат в основе представлений о том, что ТК функционально связаны с определенными этапами процессинга sno/scaРНК, которые в ходе своего метаболизма первоначально оказываются в ТК, после чего «канонические» snoРНК направляются в ядрышки, а scaРНК в ТК задерживаются.

Схема, согласно которой ТК играют роль в сегрегации snoРНК и scaРНК, была хороша до тех пор, пока не стали накапливаться данные о том, что scaРНК локализуются не только в ТК. При этом некоторые scaРНК (например, U87 scaРНК дрожефилы) могут с одинаковым успехом связываться и с ТК, и с ядрышками (Deryusheva, Gall, 2019). Наконец, scaРНК имеют в качестве своих модифицируемых субстратов не только snРНК, но и рРНК

⁸⁷ В силу традиций далее мы будем использовать прежнее название U3 snoРНК, тем более что оно до сих пор довольно широко используется в литературе, несмотря на введение новой унифицированной номенклатуры для sno/scaРНК.

(в ядрышках). Иными словами, субстраты «канонических» scaРНК перекрываются с субстратами snoРНК. Это подтверждают как биоинформатические, так и экспериментальные данные.

Таким образом, распространенное представление о том, что scaРНК присутствуют и функционируют исключительно в ТК, где модифицируют snРНК, в скором времени может быть пересмотрено, поскольку с функциональной точки зрения различия между scaРНК и snoРНК оказываются размытыми. Не исключено, что в будущем само понятие scaРНК может сохранить лишь свое историческое значение.

4.3. Sno/scaРНК

Как и другие РНК, выполняющие свои функции *in vivo* в комплексах со специфическими белками, т. е. образуя РНП-частицы, sno/scaРНК также объединяются со специфическими белками, формируя sno/scaРНК-комплексы. Сборка sno/scaРНП — многоступенчатый процесс. Он требует участия разнообразных факторов, характеризуется большой пространственно-временной сложностью и подразумевает наличие механизмов контроля качества.

Любой из известных sno/scaРНП состоит из одной sno/scaРНК и 4 коровых белков, включая псевдоуридинсинтазу (Ψ-синтазу) или метилтрансферазу. В результате объединения этих РНК и белков формируются стабильные и функционально активные sno/scaРНП классов H/ACA или C/D соответственно. Их структура и функции подробно рассмотрены в ряде обзоров (Matera et al., 2007; Reichow et al., 2007; Massenet et al., 2017; Webster, Ghalei, 2023).

Каждый sno/scaРНП содержит 2 набора коровых белков: один для петлевого домена (kink-turn motif), образованного доменами C/D и C'/D', и один — для каждой «шпильки» (hairpin) молекул sno/scaРНК семейства H/ACA. Как было только что сказано, в составе белкового центра (core) sno/scaРНП обязательно присутствует белок, обладающий Ψ-синтазной или метилтрансферазной активностью. Два таких белка — фибрилларин (2'-O-метилтрансфераза, белок snoРНП класса C/D) и дискерин (Ψ-синтаза, белок snoРНП класса H/ACA) — были одними из первых белков, идентифицированных в ТК клеток млекопитающих и человека (Raška et al., 1990; Andrade et al., 1991; Meier, Blobel, 1994).

При формировании snoРНП-частиц соответствующие sno/scaРНК класса C/D образуют комплексы с белком SNU13⁸⁸ (15.5 кДа), двумя близкородственными белками NOP56 и NOP58, а также метилтрансферазой фибриларином, названным так поскольку он маркер плотного фибриллярного

⁸⁸ NHP2-like protein 1, где NHP2 — H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 2, субъединица 2 рибонуклеопротеинового комплекса класса H/ACA; подробнее см. в тексте ниже.

компонента ядрышек. Первым шагом сборки является присоединение SNU13. Затем присоединяется NOP58, который в свою очередь связывается с фибриларином, после чего к комплексу добавляется NOP56 (Richard, Kiss, 2006).

Качественно другие РНП-комплексы формируют sno/scaРНК класса H/ACA (Kiss et al., 2010), которые взаимодействуют с белками NHP2, NOP10, GAR1⁸⁹ и Ψ-синтазой дискерином — древним и эволюционно консервативным ферментом, известным также как NAP57 или DKC1 (рис. 25, а–б).

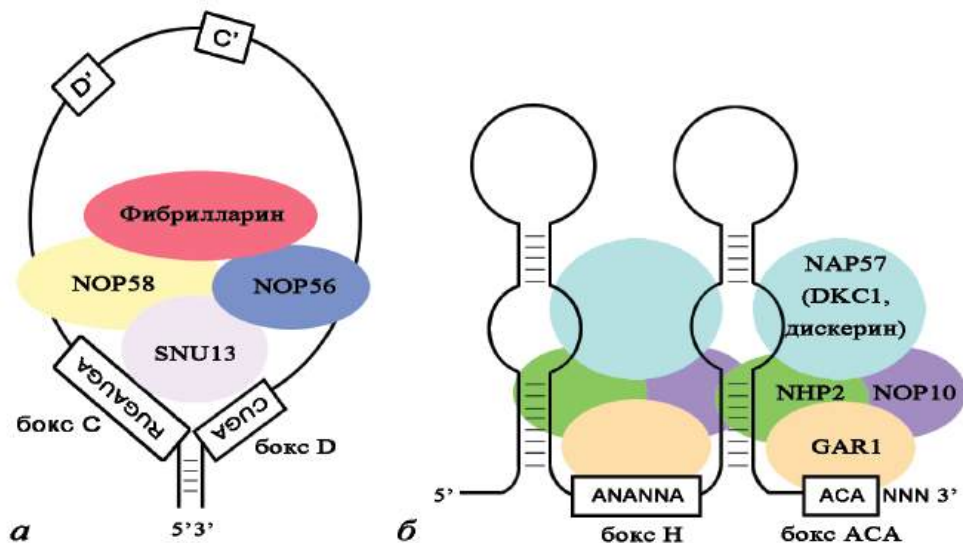


Рис. 25. Белковый состав sno/scaРНК класса C/D (а) и H/ACA (б)
(ориг., по материалам из разных источников, цит. в тексте)

Белок SMN, который по праву рассматривают в качестве одного из главных факторов сборки sno/scaРНК обоих классов и других РНП-комплексов (глава 5) напрямую взаимодействует и с фибриларином, и с GAR1. Дискерин при ассоциации с snoРНК регулирует формирование рРНК и рибосом; при взаимодействии с scaРНК — связывает snРНК, тем самым участвуя в регуляции сплайсинга пре-мРНК; а как компонент холоэнзима теломеразы (глава 6) он ассоциирует с теломеразной РНК, модулируя поддержание теломер (Garus, Autexier, 2021).

Несмотря на известные различия в строении, сборка sno/scaРНК обоих классов обеспечивается сходной молекулярной машинерией и происходит с участием шаперона HSP90 и системы R2TP (Kakihara, Houry, 2012). Однако для формирования sno/scaРНК конкретного класса, C/D или H/ACA, система HSP90/R2TP использует специфические адаптеры (Kakihara, Saeki, 2014). В частности, R2TP напрямую взаимодействует с NOP58 — компонен-

⁸⁹ H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 1.

том sno/scaРНП класса C/D, а также с дискерином — белком sno/scaРНП класса H/ACA.

По данным ENCODE sRNA-seq, количество обнаруженных H/ACA-мотивов в 20 раз превосходит количество C/D-мотивов (Meier, 2017). Как результат, количество коровых белков snoРНП класса H/ACA должно более чем в 20 раз превышать количество белков snoРНП класса C/D. Еще в ранних иммунофлуоресцентных работах отмечено, что интенсивность сигнала, соответствующего дискерину (белку sno/scaРНП класса H/ACA), оказывается выше в ТК по сравнению с ядрышком (Meier, Blobel, 1994); сигнал, соответствующий фибрилларину (белку sno/scaРНП класса C/D), наоборот, в ТК заметно ниже, чем в ядрышке (Raška et al., 1990).

Возможность осуществления в ТК финальных этапов сборки показана для sno/scaРНП обоих классов — как C/D (Verheggen et al., 2002), так и H/ACA (Darzacq et al., 2006). При этом начальные этапы формирования snoРНП начинаются не в ТК, а котранскрипционно, что особенно наглядно продемонстрировано в отношении формирования snoРНП класса H/ACA (Darzacq et al., 2006; Richard et al., 2006). Например, ряд белков, которые являются ключевыми факторами именно ранних этапов процессинга sno/scaРНП класса H/ACA и не входят в состав полностью сформированных РНП-комплексов, *не* локализуются в ТК. Примером могут служить белки SHQ1⁹⁰ и NAF1⁹¹ — специфические факторы начальных этапов сборки функциональных sno/scaРНП класса H/ACA, включая теломеразу.

NAF1 ассоциирует с дискерином и NOP10 — компонентами sno/scaРНП класса H/ACA, а также непосредственно с самими РНК этого класса. В ядре клеток человека (HeLa, MCF7 и U2OS) и мыши (NIN3T) белок NAF1 локализуется в многочисленных дискретных нуклеоплазматических «точках», некоторые из которых содержат большую субъединицу РНК-полимеразы II. Несмотря на то что такие NAF1-позитивные «точки» иногда прилежат к ТК, сами ТК не содержат этого белка, как и ядрышки (Hoareau-Aveilla et al., 2006). На заключительном этапе формирования sno/scaРНП класса H/ACA белок NAF1 замещается GAR1, что может происходить в ТК, возможно, с участием SMN (Darzacq et al., 2006). Независимо от NAF1, еще до его вступления в процесс формирования sno/scaРНП класса H/ACA, с дискерином взаимодействует другой белок — SHQ1. Как и NAF1, он тоже локализуется в нуклеоплазме, но *отсутствует* в ТК, и в ядрышках (Grozdanov et al., 2009).

Формирование snoРНП класса C/D, значение их временной ассоциации с ТК, а также внутриядерный транспорт snoРНК этого класса наиболее детально изучены на примере U3 snoРНК (SNORD3) (Verheggen et al., 2002; Watkins et al., 2004). Напомним, что в отличие от большинства других snoРНК, кодируемых интронами, U3 snoРНК — продукт отдельного гена, транскрибируемого РНК-полимеразой II.

⁹⁰ Small nucleolar RNAs of the box H/ACA family quantitative accumulation protein 1.

⁹¹ Nuclear assembly factor 1, H/ACA ribonucleoprotein complex non-core subunit.

После синтеза U3 пре-snoРНК формирует РНП-комплекс, включающий: факторы транспорта — CBC, PHAX, NOLC1, CRM1/XPO1 и Ran; факторы сборки РНП — NUFIP и систему HSP90/R2TP; факторы процессинга — TGS1, SRRT/ARS2; а также белки La и Lsm (Matera et al., 2007). Как видим, многие из перечисленных белков, например CBC, PHAX, SRRT/ARS2, CRM1 и TGS1, также взаимодействуют с пре-snРНК (глава 3), хотя метаболические пути snРНК и sno/scaРНК существенно различаются.

Локализация U3 пре-snoРНК в ТК происходит с помощью механизмов, которые зависят от CBC и PHAX, но не зависят от CRM1, известного как экспортин 1 (XPO1), который является специфическим фактором экспорта snРНК. PHAX взаимодействует с U3 пре-snoРНК, а CRM1 — как с РНК-предшественниками, так и со «зрелыми» snoРНК (Watkins et al., 2004). Эксперименты по инаktivации PHAX и CRM1 показали, что PHAX требуется для целенаправленного связывания U3 snoРНК с ТК, а CRM1 — для последующего перемещения U3 snoРНК из ТК в ядрышки (Boulon et al., 2004). Не исключено, что PHAX может играть определенную роль в связывании с ТК и других snoРНК, включая те, которые являются продуктами интронов. Однако взаимодействие PHAX с интрон-кодируемыми snoРНК пока не доказано (Massenet et al., 2017).

Как и другие продукты РНК-полимеразы II, U3 пре-snoРНК приобретает на 5'-конце стандартный m⁷G-кэп, способный гиперметилироваться с помощью консервативной метилтрансферазы TGS1. В результате формируется TMG-кэп, как во время процессинга snРНК (глава 3). Однако если snРНК приобретают TMG-кэп в цитоплазме и оказываются в ТК по завершении цитоплазматической фазы их процессинга, которая отсутствует в метаболическом цикле snoРНК, то m⁷G-кэпированные U3 пре-snoРНК сразу оказываются в ТК (Verheggen et al., 2002).

Метилтрансфераза/триметилгуанозинсинтаза TGS1 — один из ключевых компонентов ТК (Verheggen et al., 2002; Mouaikel et al., 2003; Girard et al., 2008). Показано, что рекрутирование TGS1 в ТК может происходить благодаря белку SMN, с которым в клетках человека TGS1 взаимодействует напрямую (Mouaikel et al., 2003). Очевидно, что ТК-ассоциированная (ядерная) TGS1 не может иметь отношения к процессингу пре-snРНК сплайсинга, но связана с процессингом пре-snoРНК — прежде всего U3 snoРНК. Кроме того, гиперметилирование 5'-кэпа с помощью ядерной TGS1 претерпевает и теломеразная РНК, что первоначально было показано на дрожжах (Franke et al., 2008), а потом и на клетках других организмов. Предполагают, что в клетках позвоночных (человека) формирование TMG-кэпа на 5'-конце теломеразной РНК, как и в случае U3 snoРНК, осуществляется в ТК (Chen et al., 2020a).

Следует отметить, что в клетках низших эукариот — дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* и *Saccharomyces cerevisiae* — «классические» ТК отсутствуют, что давно было показано с помощью иммуоэлектронной микроскопии с использованием, в частности, антител к TMG-кэпу (Potashkin et al., 1990). В этом случае TGS1 локализуется в специфических так называемых

«ядрышковых телах» (nucleolar bodies), формирующихся в результате самосборки (Verheggen et al., 2001). С этими тельцами дрожжей связан биогенез не только snoРНК, но и snРНК (Mouaikel et al., 2002).

У *S. cerevisiae* не обнаружены гены, кодирующие гомологи коилина и SMN, однако SMN человека при эктопической экспрессии локализуется в таких «ядрышковых телах» (Verheggen et al., 2001). По-видимому, эти ядерные биомолекулярные конденсаты дрожжей можно считать функциональными аналогами ТК, в которых происходит компартментализация метаболических путей snoРНК и snРНК (Massenet et al., 2017). Подтверждением служит, например, тот факт, что белок, кодируемый геном *Mug174* (meiosis-upregulated gene 174) почкующихся дрожжей *S. pombe*, как оказалось, представляет, по сути, ортолог коилина. В частности он способен к формированию ТК-подобных биомолекулярных конденсатов, нередко ассоциированных с ядрышками. Показано, что *Mug174* взаимодействует с TGS1 и U-snРНК, но при этом демонстрирует лишь слабую гомологию с коилином человека (Deng et al., 2024).

В клетках позвоночных TGS1 существует в виде двух изоформ: длинной полноразмерной (TGS1-LF, 110 кДа) и короткой (TGS1-SF, 65–70 кДа). Короткая изоформа TGS1 образуется за счет протеасомной деградации N-конца длинной изоформы, при этом ее метилтрансферазная активность связана с C-концом молекул обеих изоформ. Эксперименты по трансфекции клеток плазмидами, кодирующими TGS1 полной длины (TGS1-LF), ее короткую форму (TGS-SF) и GFP (для визуализации продукта), показали, что TGS1-SF локализуется исключительно в ТК, в то время как TGS1-LF — и в ТК, и в цитоплазме (Girard et al., 2008). Считают, что цитоплазматическая TGS1-LF участвует в гиперметиловании кэпа snРНК, в то время как TGS1-SF, которая локализуется исключительно в ТК, участвует в модификации кэпа snoРНК (например, U3 snoРНК) и, возможно, теломеразной РНК (Chen et al., 2020a).

С предшественниками snРНК и snoРНК обе, длинная и короткая, изоформы TGS1 взаимодействуют избирательно. С одной стороны, N-концевой участок TGS1-LF, который отсутствует у TGS1-SF, содержит фрагмент, связывающий Sm-белки (компоненты snРНК), в частности C-концевой эпитоп SmB (Mouaikel et al., 2003). С другой стороны, C-концевой фрагмент, который присутствует в обеих изоформах и обладает метилазной активностью, является участком связывания белков, характерных не только для snoРНК класса C/D (NOP56 и NOP58), но и для snoРНК класса H/ACA (дискерина) (Verheggen, Bertrand, 2012).

Что касается ТК-ассоциированной фракции TGS1-LF, предполагают, что она также участвует в процессах, напрямую не связанных с гиперметилированием кэпа snoРНК (Verheggen, Bertrand, 2012); одним из них может быть процесс направленного перемещения snoРНК из ТК в ядрышки. На примере U3 snoРНК показано, что важную роль в этом перемещении наряду с TGS1 играет CRM1 (Boulon et al., 2004; Pradet-Balade et al., 2011).

Считают, что роль CRM1 в транспорте snoРНП из ТК в ядрышко связана с его способностью связывать TGS1–LF, тем самым контролируя состав комплексов пре-snoРНП. Как показывают эксперименты по ингибированию CRM1 с помощью лептомицина В, проведенные на дрожжах (Colau et al., 2004), TGS1–LF связывается с С-концевым участком молекул белков snoРНП, в котором содержится сигнал ядрышковой локализации (NoLS). Взаимодействие с TGS1–LF маскирует сигналы ядрышковой локализации белков snoРНП, препятствуя перемещению snoРНП в ядрышки. Наоборот, когда фактор CRM1 не ингибирован, он высвобождает TGS1–LF, раскрывая сигналы ядрышковой локализации белков snoРНП. По-видимому, подобный механизм является консервативным (Verheggen, Bertrand, 2012), несмотря на различия в транспортных путях и организации ядра в целом в клетках дрожжей и человека.

Еще одним фактором, которому приписывают ведущую роль в транспорте snoРНП из ТК в ядрышки, является хорошо известный фосфопротейин NOLC1. Уже в ранних работах (Raška et al., 1991; Meier, Blobel, 1994) сообщалось, что он является не только белком плотного фибриллярного компонента ядрышек, но и заметным компонентом ТК. Кроме того, NOLC1 — челночный белок, который, с одной стороны, является частью ядерно-цитоплазматической системы, курсируя между ядром и цитоплазмой (Meier, Blobel, 1992), а с другой — служит связующим молекулярным звеном между ТК и ядрышками (Isaac et al., 1998). Поскольку NOLC1 курсирует между ТК и ядрышком, его функцию связывают с транспортом snoРНП между этими двумя ядерными органеллами и рассматривают в качестве шаперона. Действительно, NOLC1 взаимодействует с snoРНП обоих классов, С/D и Н/АСА, и эта связь осуществляется за счет NOLC1-ассоциированных белков — дискерина, специфичного для snoРНП класса Н/АСА, и NAP65, специфичного для snoРНП класса С/D (Yang et al., 2000).

Показано, что локализация NOLC1 в ТК обеспечивает концентрацию в этих ядерных органеллах и scaРНП (Bizarro et al., 2021). Связывание NOLC1 с ТК происходит за счет фосфорилирования примерно 80 остатков серина в его молекуле кazeинкиназой-2 (СК2), и это фосфорилирование необходимо для локализации NOLC1 именно в ТК, но не в ядрышках (Bizarro et al., 2021). Ранее было известно, что СК2-зависимое фосфорилирование остатков серина в молекуле NOLC1 необходимо для его ассоциации с sno/scaРНП, но не влияет на модифицирующие функции этих РНП (Wang et al., 2002). Нокаун NOLC1 в клетках HeLa с помощью технологии CRISPR/Cas9, при котором уровень экспрессии *NOLC1* в этих клетках составляет 1–7% от нормы (Bizarro et al., 2019), приводит к высвобождению scaРНП из ТК. В свою очередь это приводит к существенному нарушению процесса 2'-О-метилирования сплайсосомных snРНК и точности сплайсинга премРНК, но не влияет, например, на псевдоуридинилирование snРНК или метилирование рРНК (Bizarro et al., 2021).

Глава 5

SMN

В предыдущих разделах, когда речь шла о молекулярно-биохимических реакциях и межмолекулярных взаимодействиях в контексте формирования РНП-комплексов, не раз был указан белок SMN как один из главных молекулярных компонентов ТК и/или их «близнецов» — gems, если таковые формируются как отдельные от ТК структуры. Изменения локализации SMN имеют место и при патологических условиях. Например, во время репарации ДНК, нарушенной в результате генотоксического стресса, он покидает ТК и локализуется в ядрышках (Musawi et al., 2023), что в очередной раз подчеркивает динамическое единство различных ядерных органелл и важную роль ключевых белков ТК (в данном случае SMN) в тонкой регуляции этой сложной системы.

Белок SMN является центральным компонентом мультибелкового SMN-комплекса, который по праву считают «главным специалистом» по сборке различных РНП, включая snРНП и sno/scaРНП, как в ядре, так и в цитоплазме (ср.: *the master assembler* — Terns, Terns, 2001). Это эволюционно консервативный и широко распространенный белок. Он играет жизненно важную роль в физиологии клетки и организма в целом, присутствует в ядре и цитоплазме клеток всех тканей Metazoa. Но особенно высоким уровнем экспрессии генов, кодирующих SMN, отличаются α -мотонейроны.

SMN служит ярким примером полифункционального белка (рис. 26), который вовлечен практически во все известные РНП-зависимые биоэнергетические клеточные процессы, требующие высокой точности и тонкой настройки, в которых так или иначе задействованы РНП разных типов (Paushkin et al., 2002; Raimier et al., 2017). Помимо участия в биомолекулярных реакциях, непосредственно связанных с метаболизмом различных РНП, включая трансляцию, сплайсинг, процессинг 3'-конца пре-мРНК гистонов, в том числе за счет прямого участия в формировании U7 snРНП, SMN участвует в репарации ДНК и транспорте мРНК (например, в мотонейронах) посредством взаимодействия с РНК-связывающими белками. Он вовлечен в молекулярно-биологические события, связанные с формированием цитоплазматических стресс-гранул, обеспечивает правильное взаимодействие между SRP54 и 7S РНК⁹² в ходе целенаправленного связывания новосинтезированных полипептидов с эндоплазматическим ретикулумом, в процессы эндоцитоза и аутофагии, а также поддерживает структуру и функции

⁹² SRP54 — один из шести компонентов РНП-комплекса SRP (signal recognition particle), который обеспечивает связывание рибосом с мембраной эндоплазматического ретикулума. РНК-компонентом SRP является 7S (7SL) РНК — IncРНК, продукт РНК-полимеразы III.

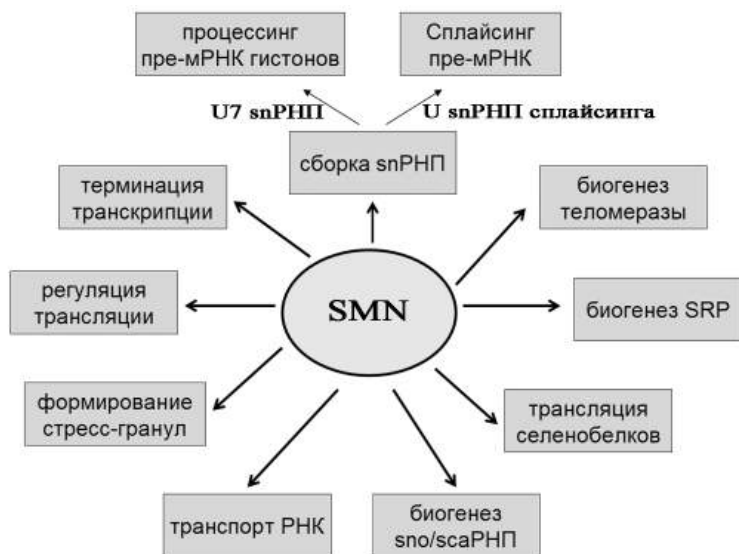


Рис. 26. Основные функции белка SMN
(ориг., по материалам из: Singh et al., 2017)

цитоскелета, гомеостаз митохондрий и т. д. (Singh et al., 2017; Chaytow et al., 2018 и лит. там же).

Разнообразие и обилие молекулярных партнеров, взаимодействующих с SMN, определяют специфичные для конкретной ткани потребности клеток в этом белке. Обобщение всех многочисленных известных функций SMN, как и роль SMN в патогенезе различных заболеваний человека, выходит за рамки нашей работы и заслуживает написания отдельной монографии.

Поскольку белок SMN вовлечен в самые разные биологические процессы, его дисфункция оказывает влияние на этиологию множества тяжелых заболеваний, прежде всего различных миопатий. В качестве примеров патологий, напрямую связанных с дисфункцией SMN, можно отметить так называемый миозит с включениями (inclusion-body myositis, IBM) — медленно прогрессирующее дегенеративное воспалительное заболевание скелетных мышц, характеризующееся слабостью определенных мышц и появлением характерных включений в ядре и цитоплазме мышечных клеток. Дисфункция SMN также является основной причиной ALS, или болезни Шарко, который сопровождается парезом конечностей и атрофией мышц. К развитию того или иного патологического состояния приводит не только низкий уровень SMN в клетке, но и, наоборот, его высокий уровень. Повышенный уровень SMN наблюдается, например, в хряще при остеоартрите (подробнее см.: Singh et al., 2017 и ссылки на литературу там же).

Как было сказано, основная функция SMN — регуляция сборки различных РНП. Однако снижение уровня SMN, наблюдаемое, например, в клетках пациентов со спинальной мышечной атрофией (spinal muscular atrophy, SMA), связано с регуляцией терминации транскрипции, осуществляемой РНК-полимеразой II (Zhao et al., 2016), и служит одним из примеров участия SMN в процессах, напрямую *не* связанных с формированием РНП-комплексов.

Показано, что SMN взаимодействует с остатками аргинина CTD РНК-полимеразы II (у человека R1810). Они симметрично диметилированы (R1810me2s), что для позвоночных является эволюционно консервативным признаком. Эту модификацию, как и во многих других случаях формирования sDMA, осуществляет аргининовая N-метилтрансфераза PRMT5, упомянутая нами в главе 3. Модифицированные остатки R1810me2s в CTD РНК-полимеразы II распознаются SMN. В свою очередь SMN взаимодействует с сенатаксином (senataxin) — белком, мутации в гене которого (*SETX*) связаны с глазоводвигательной апраксией типа 2 (ataxia oculomotor apraxia type 2, AOA2) и ALS. Сенатаксин является ДНК–РНК-хеликазой, участвующей в терминации транскрипции, осуществляемой РНК-полимеразой II, и расплетает R-петли, которые состоят из РНК-дуплекса, одноцепочечной ДНК и формируются в участках терминации транскрипции. Симметричное диметилирование остатков R1810 в CTD РНК-полимеразы II вызывает прямое рекрутирование SMN (за счет специфического взаимодействия с Tudor-доменом его молекулы) и опосредованное — сенатаксина. Это приводит к расплетанию R-петель в участках терминации, рекрутированию 5'→3'-экзорибонуклеазы XRN2 и, как результат, к эффективной терминации транскрипции.

Другим примером функций SMN, *не* связанных с формированием РНП-частиц, является регуляция трансляции селенобелков (selenoproteins). Это особая группа белков, в ходе трансляции которых стоп-кодон UGA их мРНК соответствует 21-й природной аминокислоте селеноцистеину (Sec) в том случае, если выше от него присутствует Sec-инсерционная последовательность (SECIS), распознаваемая белком SBP2 (SECIS-binding protein 2) (Labunsky et al., 2014). Оказалось, что 5'-конец мРНК многих селенобелков гиперметируется с помощью TGS1. При этом белок SMN одновременно взаимодействует как с TGS1, так и с SBP2 (Wurth et al., 2014). Гиперметилование 5'-конца мРНК селенобелков может происходить как в цитоплазме с участием полноразмерной формы TGS1 (TGS1–LF), как при гиперметилировании 5'-конца snРНК, так и в ядре. В последнем случае гиперметилование 5'-конца мРНК селенобелков осуществляет укороченная (ядерная) форма TGS1 — TGS1–SL. В данный процесс вовлечен белок NOP58, как и в случае гиперметилирования 5'-конца U3 snoРНК. К сожалению, процитированная работа (Wurth et al., 2014) не дает представления о том, происходит ли ядерное TGS1-зависимое формирование TMG-кэпа мРНК селенобелков в ТК, хотя эти знания были бы важны

в плане расширения представлений о многообразии функций ТК, а также о функциях ТК-ассоциированной фракции TGS1.

Несмотря на то что SMN является жизненно необходимым белком во всех типах клеток и тканей, а не только в нейронах, свое название, связанное с выживаемостью мотонейронов (SMN — survival motor neuron [protein]), он изначально получил из-за того, что мутации в соответствующем гене человека (*SMN1*) приводят к SMA — тяжелому генетическому заболеванию нервно-мышечного аппарата. Это аутосомно-рецессивное заболевание, проявляющееся в дегенерации мотонейронов спинного мозга, является лидирующим в причинах детской смертности. Клиническая картина SMA выражается в прогрессирующей слабости мускулатуры, что в конечном итоге приводит к параличу, а смерть наступает в результате прогрессирующей респираторной недостаточности. По причине того, что мутации генов, кодирующих SMN, и нарушения функций этого белка являются непосредственной причиной развития SMA, вот уже более четверти века белок SMN привлекает к себе пристальное внимание исследователей разных специальностей (Tiziano, Tizzano, 2020).

Снижение уровня SMN в клетках пациентов с SMA и его деплеция у животных (мышь) приводит к выраженной дезинтеграции SMN-содержащих ядерных телец — ТК и/или gems. Таким образом, SMN напрямую влияет на формирование этих телец, их структурную целостность и молекулярный состав. В экспериментальных условиях показано, что деплеция SMN с помощью РНК-интерференции тоже приводит разрушению ТК и gems (Lemm et al., 2006). При этом нередко наблюдают «остаточные тельца» (Renvoisé et al., 2009), которые напоминают таковые у мышей, нокаутированных по гену коилина (Tucker et al., 2001). Таким образом, в условиях дефицита белка SMN количество ТК/gems в клетках может служить хорошим диагностическим показателем SMA определенного типа (соответственно тяжести SMA у детей), а также ALS — наиболее частого заболевания взрослых, связанного с мотонейронами (Cauchi, 2014).

Ген, кодирующий SMN, был идентифицирован в середине 1990-х гг. (Lefebvre et al., 1995) как результат интенсивных исследований генетической природы SMA. В клетках человека он имеет две копии, расположенные на хромосоме 5q13: теломерную (*SMN1*) и центромерную (*SMN2*), возникшую в эволюции как результат инверсии и дупликации. Для сравнения, у мыши имеется только одна копия гена *SMN*. У человека *SMN1*, кодирующий SMN полной длины, содержит 9 экзонов, среди которых экзон 8 является нетранслируемым. Ген *SMN2* кодирует усеченную форму SMN, в которой отсутствует экзон 7 (SMN Δ ex7).

По времени возникновения заболевания и степени тяжести выделяют 3 типа SMA (Lefebvre et al., 1997): SMA I типа (болезнь Верднига—Хоффмана; Werdnig-Hoffmann disease), SMA II типа и SMA III типа (болезнь Кугельберга—Веландера; Kugelberg-Welander disease). Пациенты с наиболее тяжелой и распространенной формой SMA I типа, начинающейся в пренатальный

период, обычно погибают в течение первых 2-х лет жизни. Заболевание возникает в результате гомозиготной делеции гена *SMN1* и является распространенной генетической патологией (примерно 1 на 6000), вызывающей раннюю смертность. Несмотря на то что продукт гена *SMN2* человека представляет собой довольно нестабильную усеченную форму белка SMN Δ ex7, экспрессия этого гена является жизненно важной в случае потери экспрессии *SMN1*: мутации гена *SMN2* сами по себе не вызывают заболевания, но одновременные мутации генов *SMN1* и *SMN2* приводят к гибели эмбриона.

В то время как генетическая этиология SMA хорошо установлена, молекулярная роль SMN в развитии SMA пока изучена недостаточно, хотя априори очевидна. Как бы то ни было, у человека и экспериментальных модельных организмов, таких как мышь, дрозофила, *D. rerio*, полная потеря экспрессии гена *SMN* оказывается летальной для эмбриона, а уровень снижения белка SMN коррелирует с тяжестью SMA (Kolb, Kissel, 2015).

Показано, что с типом SMA, т. е. с тяжестью заболевания, коррелирует количество в клетках SMN-позитивных ядерных телец — ТК и gems (Renvoisé et al., 2006). Например, SMA I типа на цитологическом уровне проявляется в том, что у пациентов мотонейроны содержат лишь очень небольшое количество ТК и gems, если вообще содержат, а с функциональной точки зрения в таких мотонейронах наблюдаются заметные нарушения сборки snРНП (Tapia et al., 2012).

Белок SMN присутствует в клетке в олигомерной форме, при этом он способен формировать крупные комплексы с другими белками (Faravelli et al., 2023). Мультимеризация SMN, наоборот, способствует отделению SMN от коилина в ТК. Например, если обратимо разрушить ТК с помощью гармина⁹³, после его удаления SMN и коилин сначала выявляются в виде небольших конденсатов, связанных между собой, а потом SMN-конденсаты постепенно развиваются в более заметные структуры, окруженные коилином, которые в конечном итоге разделяются на отдельные конденсаты, содержащие, соответственно, SMN и коилин. При этом экспрессия в клетках измененного SMN, неспособного к мультимеризации, приводит к формированию атипичных ТК, в которых SMN неспособен отделяться от коилина (Ohazama et al., 2024).

Однако вернемся к SMN-комплексам. В клетках человека в ходе их формирования SMN взаимодействует с белками геминами 2–8 (Cauchi, 2010, 2014; рис. 27). Своим названием они обязаны тельцам — близнецам ТК, или gems (см. разд. 5.1), в которых они впервые были обнаружены (Liu, Dreyfuss, 1996). Белок, первоначально названный гемином-1, собственно, теперь известен как SMN.

Размер и состав SMN-комплексов (SMN + гемины) различается у разных организмов. Биоинформатический анализ (Kroiss et al., 2008) показал, что

⁹³ Гармин (harmin) — β -карболиновый алкалоид, впервые выделенный из растения гармалы, или мотильника (*Peganum harmala*), известного своими психоактивными свойствами; обратимый ингибитор MAO и стимулятор ЦНС. Запрещен в Российской Федерации.

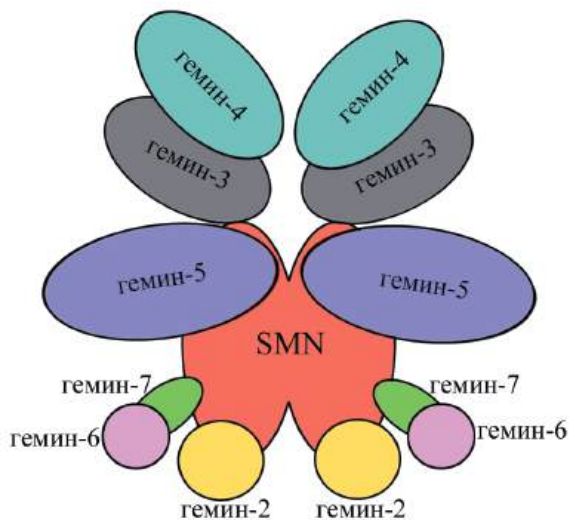


Рис. 27. SMN-комплекс (по: Gubitz et al., 2004, адаптировано)

наиболее простой SMN-комплекс, состоящий только из белка SMN и гемина-2 (известного также как SIP1 — SMN-interacting protein 1), присутствует в клетках дрожжей (*S. pombe*) и растений (*A. thaliana* и *Oryza sativa*). У плодовой мушки *D. melanogaster* SMN-комплекс состоит из белка SMN и гемин-2, 3 и 5. При этом биохимическое исследование показало, что «минимальная версия» SMN-комплекса дрозофилы не только достаточна для осуществления реакций сборки РНП, но и препятствует их сборке на нецелевой РНК (Kroiss et al., 2008). Центральным стабилизирующим звеном комплекса SMN является гемин-2 (Ogawa et al., 2007).

В ходе исследований, проведенных *in vitro* и *in vivo* на разных экспериментальных моделях, установлено, что белки, входящие в состав SMN-комплексов, формируют сложную сеть взаимодействий (Otter et al., 2007), будучи способными как к самоассоциации, так и к взаимодействию друг с другом. Интересно, что при этом молекулы разных белков SMN-комплекса, практически не имеют общих доменов за исключением coiled-coil-домена⁹⁴, который присутствует в молекулах гемин-5 и 8 и SMN (Cauchi, 2014).

Следует подчеркнуть, что ядерные и цитоплазматические SMN-комплексы различаются по составу. Если в клетках позвоночных, включая человека, цитоплазматические SMN-комплексы содержат все «канонические» компоненты, то в ядерных комплексах, в том числе в тех, которые входят в состав ТК и gems, присутствуют преимущественно коровые белки

⁹⁴ Структурный мотив в молекуле белков, в котором несколько α -спиралей свернуты вместе, формируя структуру наподобие веревки.

SMN-комплекса — SMN и гемины 2–4 и 6–8 (Cauchi, 2010). Отсутствующий в них гемин-5 является преимущественно цитоплазматическим компонентом SMN-комплексов и обычно не выявляется в ТК и gems. Однако в клетках линии HeLa–PV, в которых gems и ТК существуют как независимые структуры, гемин-5 *может* выявляться в gems, но не в ТК. Однако такой характер локализации, при котором существуют гемин-5-позитивные gems, характеризует лишь немногочисленные клетки (< 1%), в которых, правда, гемин-5 содержат все gems ядра (Hao et al., 2007).

Еще одним партнером SMN в составе цитоплазматических, но не ядерных, SMN-комплексов человека, мыши, *D. rerio*, дрозофилы, комара *Anopheles gambia*, слизевика *Dictyostelium discoideum* и арабидопсиса (Cauchi, 2010) является UNRIP (Unr-interacting protein) — РНК-связывающий белок, участвующий в трансляции мРНК вирусов. У позвоночных UNRIP непосредственно взаимодействует с геминами 6 и 7, однако локализуется преимущественно в цитоплазме и *отсутствует* в ТК и gems (Grimmler et al., 2005b).

5.1. ТЕЛЬЦА-БЛИЗНЕЦЫ (GEMS)

Исторически сложилось так, что белок SMN и несколько белков (геминов), формирующих коровый SMN-комплекс, впервые были идентифицированы не в ТК, а в дискретных органеллах, названных тельцами — близнецами ТК (Gemini of CBs, или просто gems). В клетках исследованной линии (HeLa–PV) некоторые из gems могут быть физически ассоциированы с ТК, а иногда полностью перекрываться с последними (Liu, Dreyfuss, 1996).

В gems отсутствуют типичные компоненты ТК, такие как коилин, фибрилларин и snРНП. Главным их содержимым являются в основном только компоненты SMN-комплекса (Staněk et al., 2006). Другие белки, обнаруживаемые в gems (например, специфичный для U1 snРНП белок U1–70K), по определению этих авторов, являются «вспомогательными». Взаимодействие U1–70K с SMN не зависит от snРНП, хотя присутствие U1–70K оказывает влияние на структурную целостность gems (Stejskalová, Staněk, 2014). Уровень белка SMN в ТК и gems увеличивается, например, во время дифференцировки нейронов в ходе нейритогенеза: в ТК недифференцированных нейронов SMN практически не выявляется с помощью иммуноцитохимических методов, но постепенно рекрутируется в ТК по мере дифференцировки (Navascues et al., 2004).

У человека gems как отдельные от ТК структуры характеризуют все эмбриональные ткани — даже те, в клетках которых они отсутствуют во взрослом состоянии (Young et al., 2001). При этом в ходе эмбрионального развития компоненты gems и ТК постепенно оказываются в составе одной ядерной органеллы — ТК.

Однако gems, существующие в виде отдельных от ТК ядерных органелл, характерны не для всех клеток. В большинстве их типов (как первичных, так и трансформированных) ТК и gems физически неотделимы друг от друга (Lamond, Sleeman, 2003). Например, дискретные gems не формируются в клетках линий HeLa—ATCC, Huh7 (клетки гепатомы), WI-38 (фибробласты легкого); при этом белок SMN концентрируется в ТК (SMN⁺), где колокализуется с snРНП и коилином (Carvalho et al., 1999). В результате такого рода наблюдений была сформулирована «гипотеза двуликого Януса» (Janus hypothesis), согласно которой gems и ТК представляют собой две «ипостаси» одной и той же ядерной органеллы (Matera, Frey, 1998).

В дифференцированных клетках (например, UR61 — дериватах клеток феохромоцитомы крысы линии PC12, N-ras-индуцированных к нейритогенезу), gems имеют размер 0.2–0.4 мкм и на электронно-микроскопическом уровне демонстрируют гранулярную ультраструктуру и среднюю электронную плотность (Navascues et al., 2004).

С помощью электронной и иммуноэлектронной микроскопии в гепатоцитах сонь (*Musccardinus avellanarius*), находящихся в состоянии спячки, были также идентифицированы особые тельца, которые присутствием в них SMN и гемина-2 напоминали gems клеток HeLa или 3T3 (Malatesta et al., 2004). Эти тельца размером 0.1–0.3 мкм, названные электронно-плотными фиброгранулярными кластерами (EFGCs), иногда наблюдали в тесной ассоциации с типичными ТК, однако в их составе не были обнаружены ни коилин, ни фибрилларин. Вместе с тем EFGC-тельца содержали (правда, в следовых количествах) сплайсосомные snРНП и даже белок SRSF2 — фактор сплайсинга SC35⁹⁵, маркер ядерных спеклов (Malatesta et al., 2004).

Предполагают, что такие SMN-позитивные структуры, напоминающие gems, по-видимому, представляют собой еще одну особую «ипостась» SMN-содержащих ядерных органелл, характерную для клеток животных в состоянии гибернации (Cauchi, 2010). Их, очевидно, можно также отнести к обширной категории гетерогенных эктопических РНП-содержащих структур (heterogeneous ectopic RNP-derived structures, HERDS — Biggiogera, Pellicciari, 2000). Появление HERDS рассматривают в качестве морфологического признака инактивации транскрипции — например, в условиях спячки, при спонтанном и индуцированном апоптозе, после воздействия ингибиторов транскрипции, в ходе эритропоэза, сперматогенеза и раннего эмбрионального развития. Вне зависимости от биологической системы или экспериментальных условий в составе HERDS могут выявляться компоненты разных ядерных органелл.

⁹⁵ О белке SRSF2 (serine/arginine rich splicing factor 2) как диагностическом маркере ядерных спеклов подробно изложено в монографии (Боголюбов, 2018). Его прежнее, в течение многих лет использовавшееся название SC35 (spliceosomal component 35) в силу традиций до сих пор широко применяется, особенно в иммуноцитохимических исследованиях на ооцитах. Однако ниже он будет обозначаться SRSF2 в соответствии с современной номенклатурой.

5.2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛКА SMN И ЕГО РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ РНП-КОМПЛЕКСОВ

Кроме геминов, с которыми белок SMN вступает в функциональные взаимоотношения в цитоплазме и ядре, известно большое число других его молекулярных партнеров. Взаимодействуя с различными белками, SMN формирует многокомпонентные SMN-комплексы, имеющие сложный и разнообразный молекулярный состав. Их функции обычно определяются не самим белком SMN, а комплексами в целом.

Возможность установления тесных межбелковых взаимодействий между белком SMN и другими белками хорошо отражает строение его молекулы (рис. 28). У человека молекула SMN полной длины (SMN-FL) состоит из 294 а. о. и содержит несколько функциональных доменов (Singh et al., 2017), главные из которых: богатый остатками лизина N-концевой участок (K-rich sequence); Tudor-домен, расположенный в центральной части молекулы; и C-концевые домены — пролинбогатый домен (P-rich sequence) и тирозин-глициновый домен (YG box). Такой план строения молекулы SMN принципиально важен в физиологическом плане, поскольку изменение любого из этих доменов приводит к SMA (Howell et al., 2014).

Интересно, что глобулярный Tudor-домен SMN достаточен для биоконденсации с образованием SMN-содержащих телец, в то время как два внутренне неупорядоченных домена (IDRs) — нет (Courchain et al., 2021). Эти результаты в частности служат предостережением от излишне механистических представлений о формировании ядерных органелл с участием внутренне неупорядоченных белков.

Богатый лизином N-концевой домен, кодируемый экзоном 2, обеспечивает взаимодействие SMN с гемом-2 (Liu et al., 1997) и нуклеиновыми кислотами (Lorson, Androphy, 1998; Bertrand et al., 1999). По своей структуре

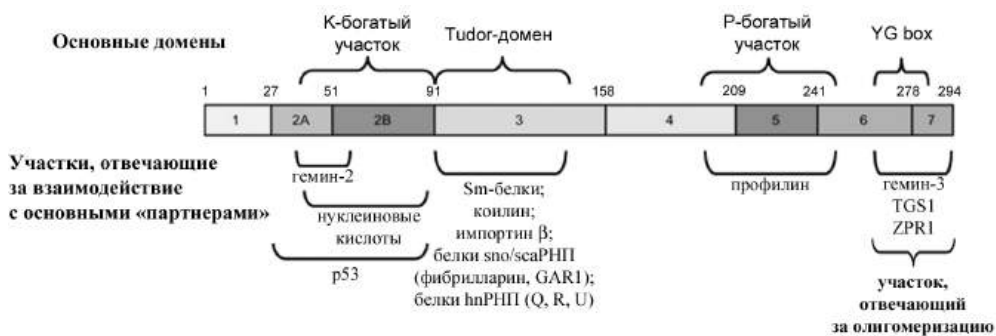


Рис. 28. Строение молекулы белка SMN человека

Цифрами обозначены участки, кодируемые соответствующими экзонами гена SMN1 (по: Singh et al., 2017, с изменениями)

он напоминает предполагаемый сигнал ядрышковой локализации (NoLS) в молекуле коилина (Hebert, Matera, 2000) и других белков, например La (Horke et al., 2004).

Расположенный в центральной части молекулы SMN высококонсервативный Tudor-домен отвечает за межбелковые взаимодействия (Selenko et al., 2001), в частности — за взаимодействие SMN с Sm-белками, импортном β , белками snRNP (фибриларином, GAR1), CTD РНК-полимеразы II, а также с белками hnRNP Q, R и U. Tudor-домен белка SMN отвечает и за взаимодействие с коилином, что важно при формировании ТК (Hebert et al., 2001).

Большинство функций SMN требует взаимодействия Tudor-домена с белками, имеющими посттрансляционные модификации в виде sDMA. В частности, SUMO-взаимодействующий мотив (SIM), расположенный в Tudor-доме, необходим как для связывания Sm-белков (например, SmD1), так и для сборки ТК (Tapia et al., 2014).

Показано, что SMN является хроматинсвязывающим белком и специфически взаимодействует с гистоном H3, моно- и диметилированным по остатку лизина K79. Это происходит, например, при ассоциации SMN с центромерами при их повреждении, индуцированном инфекцией вирусом герпеса HSV-1 (Sabra et al., 2013). Такие взаимодействия осуществляются посредством Tudor-домена молекулы SMN.

В районе С-конца молекулы SMN находится участок, богатый остатками пролина (P), отвечающий в частности за взаимодействие с актинсвязывающим белком профилином⁹⁶. Показано, что в мотонейронах мыши профилин интенсивно накапливается в SMN-содержащих тельцах, называемых авторами gems (Giesemann et al., 1999). Однако, судя по приведенным в этой статье рисункам, речь здесь идет о ТК.

Высококонсервативный тирозин-глициновый домен (YG box), расположенный на С-конце, участвует в процессах самоолигомеризации (самоассоциации) молекул SMN за счет формирования так называемой «глициновой застежки» (glycine-zipper structure). Кроме того, он взаимодействует с гемин-3, белком «цинкового пальца» ZPR1 и триметилгуанозинсинтазой TGS1. От способности SMN к самоолигомеризации, которая, например, резко снижена у мутантной формы SMN Δ ex7, напрямую зависит тяжесть SMA (Lorson et al., 1998).

В экспериментах с использованием делеционных конструкций установлено, что кооперативные взаимодействия между Tudor-доме, YG-боксом и лизин- (K)-богатой последовательностью определяют аккумуляцию SMN в ТК и gems (Renvoisé et al., 2006). Например, Tudor-домен сам по себе необходим, но недостаточен для локализации SMN в ТК. При этом стабилизирующими факторами являются YG-бокс и K-богатый участок, который

⁹⁶ Профилин — белок с молекулярной массой около 15 кДа, участвующий в реконструкции актинового цитоскелета. Интересно, что это перекрестно-реактивный аллерген, содержащийся, например, в пыльце.

способствует взаимодействию между Tudor-доменом SMN и коилином (Hebert et al., 2002). В SMN-зависимой локализации snРНП в ТК существенную роль играет участок, соответствующий экзону 7 гена *SMN1*. Обращает внимание, что в фибробластах, полученных от пациентов с SMA, способность snРНП накапливаться в ТК существенно снижена (Renvoisé et al., 2006).

Принято считать, что особенности формирования ТК и gems как дискретных структур определяет способность SMN к самоассоциации, за которую отвечает С-концевой YG-бокс молекулы SMN (Lorson et al., 1998), а также способность к взаимодействию с коилином, за которую отвечает N-концевой участок молекулы коилина (Hebert, Matera, 2000).

О прямых взаимодействиях SMN и коилина известно уже давно (Hebert et al., 2001); их существование подтверждено, например, *in vivo* с помощью техники FRET (Dundr et al., 2004). Считают, что появление в ядре автономных ядерных компартментов — ТК ($SMN^-/coilin^+$) и gems ($SMN^+/coilin^-$) — отражает превалирование в них гомотипных взаимодействий коилин–коилин и SMN–SMN (рис. 29).

С молекулярно-биологической точки зрения главное отличие между клетками, которые одновременно содержат ТК (SMN^-) и gems (SMN^+), и клетками, в которых присутствуют только ТК ($coilin^+/SMN^+$), состоит в том, что в первом случае С-конец молекулы коилина гипометилирован, а во втором — полностью метилирован (Hebert et al., 2002). Следует напомнить, что С-концевой участок молекулы коилина регулирует количество ТК в клетке (Shpargel et al., 2003), а его экспериментальное удаление препятствует рекрутированию в ТК как SMN, так и snРНП (Tucker et al., 2001).

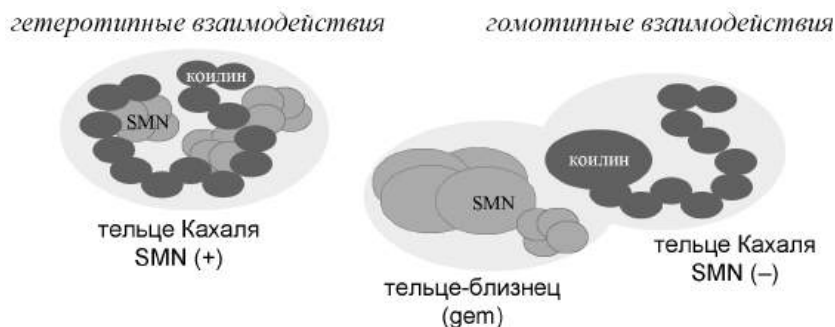


Рис. 29. Особенности взаимодействий между коилином и белком SMN, приводящие к формированию телец Кахала и их телец-близнецов — gems
(по: Raimer et al., 2017, с изменениями)

Коилин и SMN способны взаимодействовать в SMN-позитивных (SMN^+) ТК, т. е. к гомотипным взаимодействиям. Существование ТК (SMN^-) и их телец-близнецов (gems) как независимых ядерных органелл обеспечивается способностью коилина и SMN к гомотипным взаимодействиям внутри одной органеллы.

Более детальные исследования с использованием метода *antibody-based in situ* biotinylation proximity-labeling technique, упомянутого в главе 1, показали, что существование ТК и gems как дискретных или связанных между собой структур зависит от того, как в молекулах белков модифицированы диметиларгинины (DMA) — симметрично или асимметрично (Courchaine et al., 2021). При асимметричном диметилировании (aDMA) ТК и gems будут существовать как отдельные, независимые друг от друга биоконденсаты; при симметричном диметилировании (sDMA) ТК и gems совпадают, и в ядре будут присутствовать только ТК (coilin⁺/SMN⁺); в случае одновременного присутствия aDMA и sDMA ТК (coilin⁺/SMN⁻) и gems (coilin⁻/SMN⁺) будут тесно связанными друг с другом субкомпарменты сложной (двухкомпонентной) ядерной органеллы.

Молекулярные взаимодействия между SMN и коилином заметно усиливаются белком TCAB1 (Mahmoudi et al., 2010), который обеспечивает, например, локализацию в ТК комплекса SMN–p53 (Young et al., 2002; Poole, Hebert, 2016). В настоящее время доказано, что взаимодействия между SMN и TCAB1 играют ключевую роль в связывании с ТК самых разных РНП-комплексов, включая snРНП, snoРНП и теломеразу (Henriksson, Farnebo, 2015). Однако наиболее хорошо охарактеризованной функцией SMN является его участие в качестве молекулярного шаперона при сборке РНП-комплексов, включая сборку Sm-белкового ко́ра сплайсосомных snРНП (Terns, Terns, 2001; Li et al., 2014; Raimier et al., 2017).

Комплексы SMN (белок SMN + гемины 2–6) связываются с snРНК сразу после их экспорта в цитоплазму (глава 3, рис. 14, 15). В дальнейшем они регулируют практически всю цитоплазматическую фазу метаболизма snРНП (рис. 18): сборку Sm-белкового кольца, формирование TMG-кэпа snРНК и связывание с TMG-кэпом снёрпортина 1 перед импортом snРНП в ядро (Massenet et al., 2002). В экспериментах *in vitro* показано, что SMN-комплекс очень стабильный и его компоненты остаются связанными друг с другом в растворах очень высокой ионной силы — даже в условиях 500 нМ NaCl (Pellizzoni et al., 2002a).

Sm-белки доставляются в комплекс SMN благодаря активности комплекса PRMT5, который метилирует С-концевые остатки аргинина SmB, SmD1 и SmD3 (рис. 15). За распознавание snРНК класса Sm отвечает цитоплазматический гемин-5 (рис. 16). Таким образом, SMN-комплекс обеспечивает специфичность сборки Sm-белковой «сердцевины» snРНП, не допуская ассоциации Sm-белков с теми РНК, которые не служат их мишенями (Pellizzoni et al., 2002b).

Правильная сборка Sm-белкового кольца snРНП не только стабилизирует snРНК, защищая их от действия нуклеаз, но также необходима для дальнейших этапов процессинга snРНК, включая TMG-кэпирование с участием TGS1. Установлено, что белок SMN способен к прямому взаимодействию с TGS1 *in vitro* и *in vivo*. За счет этого осуществляется рекрутирование TGS1 к комплексу SMN (Mouaikel et al., 2003).

После формирования TMG-кэпа на 5'-конце молекул snРНК комплекс SMN сохраняется в ассоциации с snРНП и в дальнейшем служит адаптером их ядерного импорта, который предполагает использование двух сигналов ядерной локализации — TMG-кэпа и Sm-белковой части snРНП (глава 3).

Для импорта snРНП из ядра в цитоплазму решающее значение имеет способность SMN к самоолигомеризации: экспериментальное изменение соответствующего домена молекулы SMN — YG-бокса (рис. 28) нарушает ядерный импорт snРНП (Narayanan et al., 2004). Для восстановления нарушений импорта snРНП, вызванных деплецией SMN, необходим не сам по себе белок SMN, но SMN-комплекс в целом. Кроме того, для TMG-независимого импорта snРНП нужны, по-видимому, и другие белки в составе SMN-комплекса, например гемины, а не только белок SMN.

Частью сигнального каскада, обеспечивающего ядерный импорт комплексов snРНП—SMN, является уже упомянутый ZPR1. Это высококонсервативный и жизненно важный белок эукариот, который первоначально был идентифицирован как фактор, связывающийся в цитоплазме с тирозинкиназными доменами EGF-подобных рецепторов. Установлено, что, взаимодействуя с SMN, ZPR1 участвует в формировании цитоплазматических snРНП-комплексов (Gangwani et al., 2001).

В ядре ZPR1 не только аккумулируется в ТК, ТГЛ или gems, но играет ключевую роль в локализации SMN в этих ядерных органеллах (Gangwani et al., 2001, 2005). При этом ZPR1, возможно, необходим для поддержания целостности ТК, поскольку в клетках эмбрионов мыши с генотипом *Zpr1*^{-/-} ТК не обнаруживаются: это подтверждено не только на световом уровне, но и с помощью электронной микроскопии (Gangwani et al., 2005). При дефиците ZPR1 вместо полноценных ТК в ядрах обнаруживаются «остаточные ТК», которые не содержат ни SMN, ни коилина.

Поскольку snРНП-комплексы попадают в ТК сразу после импорта в ядро (Sleeman, Lamond, 1999), предполагают, что ZPR1, ассоциированный с ТК, может участвовать в финальных этапах процессинга snРНП. При этом регуляция ZPR1 (его низкий уровень) способствует развитию SMA (Genabai et al., 2017). Обнаружено, что при SMA нарушается взаимосвязь между ZPR1 и SMN, а деплеция ZPR1 приводит не только к нарушению поступления SMN в ядро и ТК (или gems), но и к дезинтеграции ТК. Наоборот, ZPR1 усиливает экспрессию гена *SMN2*, что может способствовать SMN-зависимому «решению проблемы» SMA (Kannan et al., 2020).

В ТК, по-видимому, происходит разборка комплекса SMN—snРНП, чему, вероятно, способствует коилин (Hebert et al., 2001; Xu et al., 2005; Strzelecka et al., 2010b). После отсоединения от SMN-комплекса snРНП свободно диффундируют в интерхроматиновом пространстве ядра. Судьба же самого SMN-комплекса после высвобождения snРНП остается неизвестной, однако в большинстве типов клеток ядерная фракция этого комплекса локализуется в ТК и только в некоторых клетках — в gems. Очевидно, что детальная расшифровка ядерных функций SMN может иметь значение для лучшего

понимания этиологии SMA, поскольку снижение уровня белка SMN и соответственно усиление тяжести SMA коррелируют с исчезновением внутриядерных очагов локализации SMN — в первую очередь gems (Lefebvre et al., 1997).

О роли SMN в формировании sno/scaРНП-комплексов знаний пока недостаточно. В экспериментах по коиммунопреципитации показано, что SMN *не* ассоциирует с U3 snoРНП, хотя накопление U3 snoРНП в ТК зависит от уровня SMN (Watkins et al., 2004). Белок SMN *не* требуется для сборки snoРНП у дрожжей *S. cerevisiae*, у которых ортолог SMN отсутствует (Schmid, DiDonato, 2007). Однако SMN напрямую взаимодействует с множеством белков snoРНП, включая GAR1, фибрилларин (Jones et al., 2001) и дискерин (Poole, Hebert, 2016).

За счет взаимодействия SMN с ключевыми белками ТК, по-видимому, обеспечиваются правильная сборка и транспорт холоэнзима теломеразы (Bachand et al., 2002; Poole, Hebert, 2016). Однако непосредственное участие SMN в сборке этого РНП-комплекса, центральным компонентом которого является теломеразная РНК (SCARNA19, TR/TERC — глава 6), изучена недостаточно и окончательно не доказана. Вместе с тем SMN и коилин, по-видимому, негативно регулируют биогенез теломеразы, преимущественно на ранних этапах формирования этого сложного РНП-комплекса (Poole, Hebert, 2016).

Формирование теломеразного комплекса можно представить следующим образом. Вначале SMN взаимодействует с белком NAF1 (Nuclear Assembly Factor 1) — фактором ранних этапов сборки sno/scaРНП класса H/ACA. Этот начальный комплекс связывается с другим, предварительно собранным белковым комплексом, в который входят дискерин, NHP2, NOP10 (коровые белки sno/scaРНП класса H/ACA — глава 4), а также SHQ1 — еще один фактор сборки sno/scaРНП, который действует последовательно с NAF1. Этот путь подавляют мутации E134K и T274I в молекуле SMN (Poole, Hebert, 2016).

Параллельно коилин связывает новосинтезированную hTR, конкретно — участок ее молекулы, расположенный вблизи сайта связывания с дискерином. Затем с hTR связывается белковый комплекс, содержащий дискерин; при этом коилин не высвобождается и остается в составе комплекса. Ассоциацию дискеринового комплекса с hTR подавляют мутации SMN M263R и Y272C.

На следующем этапе формирования теломеразного РНП-комплекса белок NAF1 замещается GAR1, как это обычно происходит и при формировании sno/scaРНП класса H/ACA. Мутации M263R и Y272C белка SMN на этом этапе нарушают сборку теломеразного РНП-комплекса, препятствуя ассоциации GAR1 с дискериновым комплексом.

При низком уровне SMN, например при SMA, дискериновый комплекс легче связывается с hTR, а сборка теломеразы происходит даже в отсутствии SMN. То же имеет место и при низком уровне коилина. По мнению авторов

этого важного исследования (Poole, Hebert, 2016), взаимодействия SMN и коилина с компонентами теломеразного комплекса, скорее всего, являются временными, а для формирования полноценного комплекса достаточны малые количества этих белков.

Экспрессия доминантно-негативной мутантной формы SMN, в которой отсутствуют первые 27 а. о. на N-конце молекулы (SMN Δ N27), приводит к накоплению snoРНП в крупных агрегатах, расположенных вне ядрышек или на их периферии (Poole, Hebert, 2016). В таких атипичных структурах накапливаются Sm-белки, нефосфорилированная РНК-полимераза II, фактор транскрипции TBP (TATA-box binding protein), а также RHA (DEAN-box-РНК-хеликаза А). Белок RHA ассоциирует с комплексом SMN, связывает РНК-полимеразу II и участвует в транскрипции (Pellizzoni et al., 2001b). В контексте нашей работы важно, что в ядерные структуры, появление которых связано с делецией SMN Δ N27, перераспределяются белки snoРНП разных классов, включая фибрилларин и GAR1 (Pellizzoni et al., 2001a). Это в очередной раз указывает на наличие реальных функциональных взаимоотношений между SMN и snoРНП *in vivo*.

Существуют динамические и временные взаимодействия между SMN и обратной транскриптазой TERT — одним из ключевых компонентов теломеразного РНП-комплекса (Schmidt, Chech, 2015; глава 6), которые, следует отметить, в клетке немногочисленны и представлены примерно 250 копиями (Xi, Chech, 2014). В клетках человека hTERT не колокализуется с SMN дикого типа в ТК или gems, однако накапливается в вышеупомянутых SMN Δ N27-индуцированных структурах (Bachand et al., 2002). Коэкспрессия SMN Δ N27 и hTERT снижает эффективность сборки теломеразы *in vitro*, но не влияет на ее каталитическую активность.

Эффект влияния измененных форм SMN на теломеразу объясняется тем, что мутантные формы SMN секвестрируют ассоциированные белки в безмембранных органеллах, задерживают их высвобождение и/или перемещение. Предполагают, что SMN-зависимая сборка теломеразного РНП-комплекса осуществляется так же, как и в случае других snoРНП класса H/ACA; при этом ключевыми элементами могут выступать коровые белки snoРНП, такие как GAR1 (Bachand et al., 2002).

Предполагают, что SMN может участвовать в тех этапах биогенеза sno/scaРНП, включая теломеразу, которые осуществляются в ТК и зависят от белка NOLC1 — эволюционно консервативного фосфопротеина, мажорного компонента ТК и ядрышек, напрямую взаимодействующего с коилином (Isaac et al., 1998). Молекулы NOLC1 характеризуются высоким уровнем внутренней неупорядоченности (Na et al., 2018). Этот белок не является интегральным компонентом snoРНП, но служит шапероном, временно связываясь с snoРНП обоих классов — C/D и H/ACA (Meier, 2005), и необходим для рекрутирования/удержания в ТК всех scaРНП, включая теломеразу. При этом NOLC1-опосредованная локализация теломеразы в ТК регулирует длину теломер (Bizarro et al., 2019).

Оказалось, что главным условием поступления NOLC1 в ТК является достаточный уровень SMN. Соответственно, уровень SMN также можно рассматривать как индикатор поступления snRNP в ТК (Renvoisé et al., 2009). Если уровень SMN низок, NOLC1 теряет способность к локализации в ТК, как показано, например, в отношении фибробластов, полученных от пациентов с SMA (Renvoisé et al., 2009). На этом материале прослежена четкая зависимость между присутствием NOLC1 в ТК и тяжестью SMA: NOLC1 накапливался в ТК 20, 40 и 65% клеток, полученных соответственно от пациентов с SMA I, II и III типа. Наличие функциональной связи между NOLC1 и SMN этими авторами было подтверждено и в ходе экспериментов по РНК-интерференции: сверхэкспрессия SMN дикого типа усиливала накопление NOLC1 в ТК, в то время как измененные формы SMN, включая SMN Δ ex7, были неспособны к этому.

5.3. ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ SMN

Яркой особенностью комплекса SMN является высокая способность белков, входящих в его состав, к посттрансляционным модификациям, в частности к фосфорилированию. Эти модификации играют важную роль при взаимодействии белков комплекса SMN с ТК.

Анализ фосфопротеома интактных комплексов SMN человека показал, что 7 из 9 белков комплекса SMN являются фосфопротеинами и содержат 29 сайтов фосфорилирования, 12 из которых принадлежат белку SMN (Husedzinovic et al., 2014). При этом фосфомиметические и нефосфорилируемые формы белков способны формировать SMN-комплексы, но теряют способность к связыванию с ТК, в том числе из-за нарушений взаимодействия с коилином. Например, форма SMN, неспособная к фосфорилированию по остаткам серина S28 и S31, демонстрирует сниженную способность к связыванию с гемином-2, к сборке snRNP и к локализации в ТК. Нарушения аккумуляции коилина в ТК клеток человека могут быть «спасены» ортологом SMN *Xenopus*, в котором остатки S28 и S31 консервативны (Husedzinovic et al., 2014). Эти же авторы показали, что SMN также теряет способность к взаимодействию с коилином и к связыванию с ТК при изменении трех остатков тирозина на фенилаланин (Y109F, Y127F и Y130F) в Tudor-домене SMN, отвечающем за межбелковые взаимодействия.

Ядерные и цитоплазматические молекулы SMN фосфорилированы по-разному: для цитоплазмы характерны высокофосфорилированные формы SMN, в то время как в ядре, в том числе в ТК, SMN в большей степени гипофосфорилирован. Считают, что фосфорилирование регулирует специфические цитоплазматические и ядерные функции комплекса SMN и его перемещение между ядром и цитоплазмой (Grimmler et al., 2005b). Уровень фосфорилирования может способствовать самоассоциации молекул SMN,

в результате чего образуются крупные цитоплазматические SMN-комплексы, в которых фосфорилированный SMN будет иметь большую стабильность и в меньшей степени подвергаться действию убиквитин-протеасомной системы (Burnett et al., 2009).

Дефосфорилирование белка SMN, необходимое для его локализации в ТК, осуществляется фосфатазой PPM1G⁹⁷ (Petri et al., 2007). С помощью РНК-интерференции с использованием трех различных синтетических двухцепочечных siРНК-олигонуклеотидов на клетках линии HeLa—CCL-2 эти авторы показали, что нокдаун PPM1G приводит к исчезновению из ТК не только белка SMN, но и гемина-2, с которым SMN взаимодействует напрямую. Однако нокдаун PPM1G не влиял на локализацию в ТК коилина. Сверхэкспрессия каталитически активной PPM1G восстанавливала уровень накопления SMN в ТК.

В дефосфорилировании белка SMN или других белков SMN-комплекса, по-видимому, также участвует другая серин-треониновая фосфатаза — PP1γ. Правда, данные о влиянии PP1γ на локализацию белка SMN в ТК разнятся. В одной из работ (Husedzinovic et al., 2015) показано, что снижение уровня PP1γ, как в случае PPM1G, уменьшает уровень накопления SMN в ТК. Но в другом исследовании (Renvoisé et al., 2012) продемонстрирован противоположный эффект: снижение уровня PP1γ, наоборот, усиливало накопление в ТК комплекса SMN и snRNP. В этой работе показано, что сверхэкспрессия гемина-8 приводит к увеличению количества ТК и повышению уровня связывания с ними PP1γ. Однако остается неизвестным, затрагивает ли PP1γ те же самые аминокислотные остатки в молекуле SMN, что и PPM1G.

Мало известно о влиянии на функциональную активность и локализацию в ТК таких характерных для SMN посттрансляционных модификаций, как ацетилирование, сумоилирование (SUMOylation) и убиквитинилирование (Hebert, Poole, 2017). Сумоилирование SMN, по-видимому, играет определенную роль в формировании ТК и регуляции их молекулярного состава (Tapia et al., 2014), поскольку сумоилированный SMN отсутствует в ТК, которые содержат десумоилирующий фермент USPL1 (ubiquitin specific peptidase like 1). В Tudor-домене SMN вблизи от остатка лизина K119, подверженного сумоилированию, идентифицирована взаимодействующая с SUMO последовательность (SIM-like motif), посредством которой SMN взаимодействует с другими белками. Благодаря USPL1 в ТК, по-видимому, происходит десумоилирование SMN (Tapia et al., 2014).

С SMN напрямую взаимодействует убиквитинлигаза ITCH⁹⁸, которая убиквитинилирует SMN по одному из остатков лизина — K179 или K209. При этом моноубиквитинилирование влияет на локализацию SMN в клетке и может служить сигналом ядерного экспорта или подавления ядерного импорта (Han et al., 2016). Экспрессия экспериментально измененных форм

⁹⁷ Protein phosphatase, Mg²⁺/Mn²⁺ dependent 1G.

⁹⁸ E3 ubiquitin-protein ligase Itchy homolog.

SMN, неспособных к убиквитинилированию, в которых все остатки лизина заменены остатками аргинина, приводит к появлению в ядре, в том числе в ядрышке, многочисленных очагов накопления SMN. Измененные формы SMN, слитые с убиквитином для имитации моноубиквитинилирования, в первую очередь локализуется в цитоплазме, а в ядре, если обнаруживаются, они располагаются исключительно в ядрышке. В клетках нейробластомы человека линии SH-SY5Y в обоих случаях — при использовании неспособных к убиквитинилированию форм SMN или при имитации моноубиквитинилирования — наблюдали разрушение типичных ТК, имеющих в этих клетках обычный размер > 0.3 мкм, диспергирование коилина по ядру и исчезновение колокализации snРНП с коилином в оставшихся «мини-ТК» (Han et al., 2016). Авторы считают, что динамическое убиквитинилирование SMN регулирует формирование и/или поддержание структурной целостности ТК. Однако почему экспрессия форм SMN, неспособных к убиквитинилированию, разрушает ТК, пока остается непонятным.

Глава 6

РОЛЬ ТЕЛЕЦ КАХАЛЯ В МЕТАБОЛИЗМЕ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Присутствие на концах хромосом особых нуклеопротеиновых структур — теломер — служит одним из важных факторов поддержания целостности генома и способности клеток к пролиферации. Говоря кратко, не выходя за рамки основной темы нашей работы, отметим, что теломеразная ДНК состоит из повторов двухцепочечной ДНК (у человека GGTTAG/ССААТС) длиной примерно 10–15 тыс. п. н., которые заканчиваются короткими G-богатыми одноцепочечными повторами TTAGGG (Giardini et al., 2014; Turner et al., 2019). На концах хромосом теломеразная ДНК защищена 6-субъединичным белковым комплексом, известным как комплекс шелтерин (shelterin), или телосома (de Lange, 2006; Palm, de Lange, 2008; Chen, 2019; Mir et al., 2020). Теломерсвязывающие белки TRF1 и TRF2 (telomeric repeat-binding factors), входящие в состав комплекса шелтерин, напрямую взаимодействуют с двухцепочечной теломерной ДНК; при этом TRF2 отвечает еще и за присоединение теломер к ядерной оболочке (Plicheva et al., 2015). Субъединицы комплекса шелтерин — POT1 (protection of telomere 1) и POT1-ассоциированный белок TPP1 (telomere protection protein 1), участвующий в рекрутировании теломеразы, — покрывают одноцепочечную теломерную ДНК (Smith et al., 2022). После каждого цикла репликации теломеры укорачиваются, что приводит к старению клетки и как результат — к снижению ее репликативного потенциала. Общепринято, что теломеры оказывают существенное влияние на продолжительность жизни и здоровье человека, однако применительно к различным видам животных роль теломер в старении оказалась более тонкая и сложная, чем считалось ранее: длина теломер варьируется в зависимости от таксона, сложности организма и стратегий жизненного цикла (Frydrychová et al., 2024).

В клетках большинства эукариот синтез теломерных повторов обеспечивается особым РНП-комплексом — теломеразой (Shay, Wright, 2019; Roake, Artandi, 2020). Это эволюционно древний РНП-комплекс, молекулярный состав, биохимические свойства, структура и функции которого, а также этапы сборки и метаболизма, к настоящему времени хорошо установлены (см., например: Зверева и др., 2010; Mason et al., 2011; Podlevsky, Chen, 2012; Sandin et al., 2014; Schmidt, Cech, 2015; Wang, Feigon, 2017; Smith et al., 2020; Klump, Schmidt, 2023). В частности, детали молекулярной структуры связанного с субстратом теломеразного комплекса человека определены с помощью криоэлектронной микроскопии высокого разрешения (Ngyuen et al., 2018).

Каталитическую функцию теломеразы выполняет обратная транскриптаза TERT (в клетках человека hTERT, human telomerase reverse transcriptase) — РНК-зависимая ДНК-полимераза, синтезирующая повторы теломерной ДНК (Yuan, Xu, 2019). В подавляющем большинстве соматических клеток человека, за исключением лишь некоторых активно пролиферирующих клеток, включая стволовые (Kong et al., 2014), ферментативная активность теломеразы подавлена за счет репрессии гена *TERT* (Colebatch et al., 2019). Вместе с тем следует отметить, что теломеразная активность детектируется и во многих *нормальных* соматических клетках мыши (Martín-Rivera et al., 1998).

По мере старения клетки в результате активности теломеразы теломеры постепенно укорачиваются, при этом ее реактивация служит ключевым событием онкогенеза (Kim et al., 1994). За счет активации транскрипции гена *TERT* теломераза активна более чем в 80% (по другим данным — более чем в 90%) трансформированных клеток человека, что создает предпосылки для неограниченной пролиферации клеток опухолей (Janknecht, 2004). Поэтому знания тонких механизмов регуляции метаболизма теломеразы открывают возможности поиска новых подходов в области противоопухолевой терапии; можно отметить некоторые из многочисленных обзоров на эту тему (Guterres, Villanueva, 2020; Relitti et al., 2020; Smith-Sonneborn, 2020; Slusher et al., 2020; Wu et al., 2020; Chen et al., 2020b; Ellingsen et al., 2021; Salimi-Jeda et al., 2021; Yan et al., 2023; Liu et al., 2024). Трансформированные клетки (напомним, именно для них наиболее характерно присутствие ТК) содержат примерно 250 РНП-комплексов активной теломеразы (Cohen et al., 2007), которая добавляет примерно 50 п. н. к концам большинства хромосом в каждом клеточном цикле (Zhao et al., 2009), удлиняя тем самым теломеры.

РНК-компонентом теломеразного комплекса (telomerase RNA component, TERC) является теломеразная РНК (TR, в клетках человека — hTR, human telomerase RNA). У разных организмов (дрожжей, инфузорий⁹⁹, низших и высших позвоночных, включая человека) структура TR/TERC имеет ряд эволюционно консервативных черт и специфических особенностей (Chen et al., 2000; Theimer, Feigon, 2006). Однако в контексте нашей работы мы будем говорить в основном о hTR, поскольку сведения о роли ТК в метаболизме компонентов теломеразы получены в основном на трансформированных клетках человека.

Многие факторы, необходимые для продукции теломеразных РНП, являются компонентами ТК (MacNeil et al., 2016). Таким образом, участие ТК в метаболизме теломеразы в настоящее время рассматривают как одну из ключевых функций ТК (Machyna et al., 2013), особенно в отношении биогенеза hTR (Schmidt, Cech, 2015).

⁹⁹ У инфузорий теломеразная РНК синтезируется РНК-полимеразой III, в то время как у дрожжей и позвоночных — РНК-полимеразой II.

Поскольку рекрутирование теломеразы к теломерам происходит только в S-фазе клеточного цикла, принято считать, что в остальное время компоненты теломеразного комплекса концентрируются в ТК (Jády et al., 2006; Tomlinson et al., 2006; Xi et al., 2015). Следует, однако, отметить, что в определенный момент времени менее 10% hTR локализуется в ТК, а большая часть ее молекул распределена по остальной части нуклеоплазмы (Laprade et al., 2020).

В результате наблюдений, выполненных на живых *vs.* фиксированных клетках, возникли определенные противоречия относительно функциональных взаимоотношений теломеразного комплекса с ТК и ассоциации с ними отдельных его компонентов.

Исследования, основанные на сочетании CRISPR-Cas9-опосредованного редактирования генома с наблюдением поведения единичных молекул *in vivo*, показали, что теломераза быстро диффундирует в ядре, демонстрируя временную ассоциацию с ТК и теломерами. В определенный момент времени лишь немногочисленная популяция теломеразных РНП-частиц взаимодействует с теломерами и ТК, и только наименее мобильная фракция TERT, которая характеризуется низким коэффициентом диффузии, локализуется в ТК. Она составляет примерно 14% от всей популяции TERT в клетке. Наоборот, при наблюдении фиксированных клеток, когда свободно диффундирующие молекулы либо отмываются, либо воспринимаются как фон, подобного рода информация теряется, и большая часть теломеразы обнаруживается в связи с теломерами и ТК (Schmidt et al., 2016).

Примерно 50% молекул TERT не связано с РНП (Xi, Chech, 2014). Медленно диффундирующая популяция TERT ($D \approx 0.3 \text{ мкм}^2/\text{с}$) содержит TR, и ее коэффициент диффузии существенно снижается вблизи ТК, достигая значений примерно $0.01 \text{ мкм}^2/\text{с}$. Это доказывает связь TERT с ТК, которая требует ассоциации с TR белка TCAB1 (Venteicher et al., 2009). Наоборот, быстро диффундирующая популяция TERT ($D \approx 1.3 \text{ мкм}^2/\text{с}$) не взаимодействует с ТК (Schmidt et al., 2016).

Как бы то ни было, первыми предпосылками для формирования представлений об участии ТК в метаболизме компонентов теломеразы, включая регулируемый транспорт hTR к теломерам (Tomlinson et al., 2006; Laprade et al., 2020), послужили две работы середины 2000-х годов. В одной из них (Zhu et al., 2004) было продемонстрировано накопление hTR в ТК трансформированных клеток человека, а в другой (Jády et al., 2004) раскрыто специфическое строение молекулы hTR, которая содержит не только домены H/ACA, но и общий сигнал локализации scaРНК класса H/ACA в ТК — CAV-бокс (рис. 30).

То, что молекулы TR/TERC имеют ряд общих структурных черт с молекулами scaРНК класса H/ACA (Jády et al., 2004), действительно является самой яркой особенностью этих специфических ncРНК. Однако hTR обладает особенностями строения, метаболизма и локализации, которые среди других scaРНК делают ее уникальной (Qin, Autexier, 2021). Например,

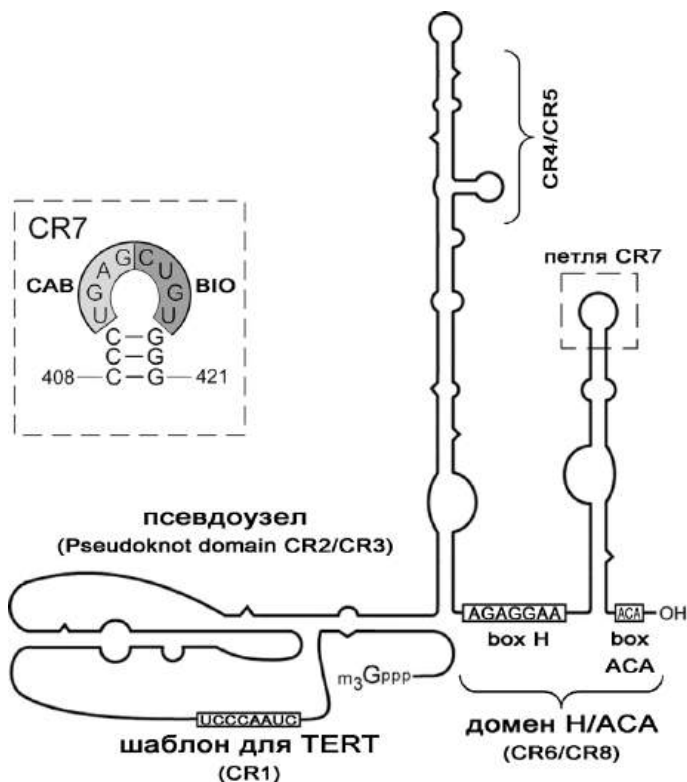


Рис. 30. Схема строения теломеразной РНК человека (по: Jády et al., 2004)

она содержит особый домен CUGU — так называемый BIO box (акроним от biogenesis-promoting box), который уникален для hTR и отсутствует в других sno/scaРНК класса H/ACA (Egan, Collins, 2012). Поэтому, несмотря на то что *формально* hTR относится к scaРНК класса H/ACA (SCARNA19), ввиду структурных отличий и особых биологических функций ее иногда называют scaРНК-подобной. Вместе с тем CAV-домен (CAV box) UGAC, расположенный по соседству с BIO-боксом в петле CR7 (рис. 30), является каноническим (общим) сайтом, ответственным за локализацию hTR в ТК, — как и в случае других scaРНК класса H/ACA (Richard et al., 2003).

Кроме hTR и hTERT теломеразный комплекс человека содержит специфический набор белков, необходимых для его правильного функционирования *in vivo*. При этом одни белки способствуют присоединению теломеразы к теломерам, другие регулируют ферментативную активность комплекса, а третьи необходимы в ходе сборки теломеразы и/или деградации ее компонентов (Зверева и др., 2010). Однако для проявления теломеразной активности *in vitro* достаточен «минимальный» набор компонентов теломеразного комплекса — hTR и hTERT (Weinrich et al., 1997).

Среди «вспомогательных» белков, входящих в состав теломеразы, ключевое место занимает TCAB1 (telomerase Cajal body protein 1, он же WRAP53β или WDR79). Это один из факторов локализации в ТК как самой hTR (Venteicher, Artandi, 2009; Venteicher et al., 2009), так и других scaPHK обоих классов: Н/ACA (Tycowski et al., 2009) и С/D (Marnef et al., 2014). Кроме того, будучи особой scaPHK класса Н/ACA, hTR ассоциирует с «классическим» набором из 4-х коровых белков scaPHП класса Н/ACA — дискерином (DKC1/NAP57), Nop10, NHP2 и GAR1 (Nguyen et al., 2018). Как и в случае остальных sno/scaPHK этого класса, домены Н/ACA молекулы hTR физически взаимодействуют с указанными белками, образуя РНП-комплекс, который стабилизирует 3'-конец транскриптов hTR (Fu, Collins, 2007; Shukla et al., 2016; MacNeil et al., 2019).

Множество других белков также оказывают непосредственное влияние на активность теломеразы. Например, в ходе изучения взаимоотношений между пролиферацией клеток рака шейки матки в условиях гипоксии, гипоксическим гликолизом и экспрессией гена, кодирующего CCT6A (chaperonin containing TCP1 [t-complex polypeptide 1] subunit 6A — молекулярный шаперонин, вовлеченный в патогенез разных типов рака), обнаружено, что при подавлении экспрессии гена *CCT6A* наряду с увеличением связывания теломеразы с TCAB1 и TERT возрастает теломеразная активность в клетках (Wang, Wang, 2025).

В работе (Tang et al., 2015a) получены данные, согласно которым интегральным компонентом теломеразного комплекса является белок DAXX (Death-domain associated protein 6), который также способен к локализации в ТК. Хорошо известно, что DAXX — эволюционно консервативный, полифункциональный белок, присутствующий во всех клетках. Он участвует во многих процессах, включая транскрипцию, пролиферацию клеток, регуляцию клеточного цикла, Fas-индуцированный апоптоз и др. (Tang et al., 2015b). В ядре DAXX взаимодействует с транскрипционными факторами, эпигенетическими модификаторами, хроматинремоделирующими белками (например, с АТФ-зависимой хеликазой ATRX¹⁰⁰) и является шапероном варианта гистона H3 — H3.3. В частности DAXX играет важную роль в перестройках гетерохроматина в оогенезе и раннем эмбриогенезе, и его рассматривают в качестве одного из главных факторов, обеспечивающих сайленсинг хроматина и поддерживающих интегративную целостность генома (Bogolyubova, Bogolyubov, 2021).

Из многочисленных исследований в области биологии теломер известно, что в клетках некоторых опухолей DAXX со своими функциональными партнерами участвует в альтернативном удлинении теломер (alternative lengthening of telomeres, ALT). Это особый механизм, который характеризует примерно 10–15% видов опухолей, включая, например, дифференцированные нейро-

¹⁰⁰ У человека мутации в гене *ATRX* (α-thalassemia/mental retardation syndrome X-linked) приводят к α-талассемии / умственной отсталости, связанной с X-хромосомой.

эндокринные опухоли поджелудочной железы (differentiated pancreatic neuroendocrine tumors, PanNETs) и детские глиобластомы. Процесс ALT не связан с функциями теломеразы; важную роль в нем играют хроматинсвязывающие и хроматинремоделирующие белки, включая DAXX, ATRX и H3.3 (Hoang, O'Sullivan, 2020; O'Sullivan, Greenberg, 2025). Также хорошо известно, что в трансформированных клетках DAXX локализуется не в ТК, а в тельцах PML (Xue et al., 2003), в которые рекрутируется с участием SUMO-1 (Small Ubiquitin Like Modifier 1) — известного модификатора белка PML (Ishov et al., 1999).

Однако, как оказалось, DAXX может участвовать и в *зависимом* от теломеразы поддержании теломер. И в этом случае эндогенный белок способен накапливаться в ТК (Tang et al., 2015a). Авторы этой работы установили, что DAXX взаимодействует с теломеразой и служит скаффолдом, который увеличивает эффективность сборки холоэнзима теломеразы и способствует его связыванию с теломерами, тем самым позитивно регулируя длину теломер в S-фазе клеточного цикла. В ходе взаимодействия с теломеразой DAXX рекрутирует ATRX, что усиливает ассоциацию гистона H3.3 с теломерами. Анализ с помощью масс-спектрометрии очищенных белковых комплексов, которые образует DAXX, а также опыты с использованием флуоресцентной бимолекулярной комплементации (BiFC) на живых клетках показали, что DAXX взаимодействует с ключевыми белками теломеразного комплекса — дискерином, GAR1, NHP2, NAF1, шапероном scaPHK NOLC1, а также с коилином. С последним DAXX колокализуется в 25% клеток, и в ранней и средней S-фазе клеточного цикла степень этой колокализации достигает пика. Также показано, что мутации в различных участках гена *DAXX* по-разному влияют как на способность белка DAXX к связыванию с ТК и теломерами, так и на его способность взаимодействовать со своими функциональными партнерами (Tang et al., 2015a).

Возвращаясь к hTR/TERC, следует отметить, что эта РНК имеет более широкие функции, нежели просто служит «шаблоном» для синтеза теломерных повторов ДНК (Musgrove et al., 2017). Она вовлечена во многие процессы, связанные с регуляцией экспрессии генов, а также с апоптозом и аутофагией; кроме того, hTR является непосредственным участником процессов, защищающих клетку от окислительного стресса (Rubtsova, Dontsova, 2020). Нарушения синтеза и метаболизма hTR снижают активность теломеразы, влияют на поддержание структуры и функций теломер и вызывают целый спектр дегенеративных заболеваний, объединяемых общим названием «теломерные заболевания» (telomere biology disorders, TBDs) (Nagpal, Agarwal, 2020) или «теломерные синдромы» (Armanios, Blackburn, 2012).

Например, причиной разных форм тяжелого наследственного заболевания — врожденного дискератоза (dyskeratosis congenita, DC), при котором хромосомы имеют очень короткие теломеры, — являются мутации генов, кодирующих hTR-связанные белки, включая гены *DKC1*, *NOP10* или *NHP2*.

Мутации в гене дискерина (*DKC1*) вызывают синдром связанного с X-хромосомой преждевременного старения (X-DC) — неизлечимое заболевание, при котором нарушается работа костного мозга (Garus, Autexier, 2021). Наблюдаемое при DC укорочение теломер является следствием дисфункции теломеразы в результате нарушения формирования комплекса DKC1—NOP10—NHP2—NAF1 на основе hTR (Armanios, Blackburn, 2012).

Одной из наиболее серьезных форм DC является синдром Хойераала—Хрейдарссона (Hoyeraal—Hreidarsson syndrome, HNS) — сочетанное заболевание, которое характеризуется нарушениями работы костного мозга и дефектами развития. Его причинами также являются мутации генов, имеющих отношение к биологии теломер. Эти мутации несут клетки зародышевой линии. Показано, что замена двух высококонсервативных а. о. (L283F и R398W) в домене WD40 белка TCAB1 вызывает его дестабилизацию, неправильную локализацию и нарушает нормальные взаимодействия TCAB1 с его функциональными партнерами, в том числе hTR (Bergstrand et al., 2020). При этом нарушаются взаимодействия TCAB1 с ТК: обе мутантные формы TCAB1 теряют способность к локализации в ТК, и TCAB1 перестает выполнять свою функцию их структурного белка. Кроме того, обе мутантные формы TCAB1 теряют способность к ассоциации с коилином, SMN и scaРНК, включая hTR, что приводит к нарушениям сборки теломеразного РНП-комплекса и дисфункции теломеразы.

Синтез hTR, ее процессинг и формирование на ее основе специфических РНП-комплексов исследованы достаточно подробно (Смекалова и др., 2012; MacNeil et al., 2016; Rubtsova, Dontsova, 2020). В то время как большинство scaРНК позвоночных — продукты интронов (глава 4), теломеразная РНК представляет собой несплайсируемые транскрипты РНК-полимеразы II; они не имеют канонических сигналов полиаденилирования и подвергаются процессингу (триммингу) 3'-конца с помощью 3'→5'-экзонуклеаз, который затрагивает участок молекулы только до границы домена АСА (Fu, Collins, 2003). Сформированный 3'-конец hTR содержит участок Н/АСА, который включает две «шпильки» и два одноцепочечных участка: «шарнир» и АСА-содержащий «хвост» (Theimer, Feigon, 2006). Концевая петля одной из шпилек hTR — консервативный участок CR7 (conserved region 7) — несет канонический САВ-бокс и уникальный ВЮ-бокс (рис. 30). При этом в ТК перемещаются только те молекулы hTR, у которых 3'-конец претерпел правильный процессинг, независимо от наличия в молекуле интактного САВ-домена (Theimer et al., 2007).

Протяженный 5'-концевой участок молекулы в ходе процессинга первичных транскриптов теломеразной РНК не удаляется и, наоборот, является каталитическим центром молекулы (Kim et al., 2008; Zhang et al., 2011). Его отличает особая вторичная структура в виде псевдоузла (pseudoknot structure) (рис. 30). Этот центральный (коровый) участок молекулы hTR включает в себя шаблон (template) CAAUCCCAAUC, с которого с помощью обратной транскриптазы TERT синтезируются повторяющиеся последовательности

теломеразной ДНК; кроме того, центральный фрагмент молекулы hTR содержит консервативные участки 4 и 5 (CR4/CR5), с которыми связывается hTERT независимо от этого шаблона (Zhang et al., 2011).

Особенностью 5'-конца hTR является формирование TMG-кэпа с помощью ядерной (укороченной) формы TGS1, и этот процесс, по-видимому, происходит в ТК (Girard et al., 2008), как и в случае других TMG-кэпированных snРНК (Verheggen et al., 2002). В клетках человека деплеция TGS1 повышает активность теломеразы и увеличивает длину теломер (Chen et al., 2020a).

Интересно, что белки SmB и SmD3 (но не весь набор Sm-белков, характерный для snРНК — см. главу 3) способны напрямую связываться с САВ-доменом hTR и других scaРНК (но не snoРНК) класса H/ACA, (Fu, Collins, 2007). Естественно, что из-за отсутствия канонического U-богатого Sm-связывающего участка полноценное Sm-белковое кольцо, как в случае snРНК, в этом случае не формируется. Функциональное значение ассоциации САВ-домена hTR с SmB и SmD3, в том числе в ходе связывания hTR с ТК, неизвестно; возможно, это специфическое взаимодействие играет регуляторную роль.

Некоторые авторы считают, что сборка холоэнзима теломеразы, включая ассоциацию hTR с hTERT, в трансформированных клетках человека некоторых линий может происходить именно в ТК (Podlevsky, Chen, 2012; Tang et al., 2015a). Однако обычно в клетках человека hTERT выявляется не в самих ТК, а в отличных от ТК отдельных «фокусах» (foci) (Tomlinson et al., 2006), структурная составляющая и природа которых остаются неизвестными. Некоторые исследователи полагают, что ассоциация hTERT с ТК, если существует, то обычно носит временный и непродолжительный характер (Schmidt et al., 2016). С чем связаны подобного рода разночтения в литературе, не вполне понятно. Однако в экспериментах, проведенных достаточно давно (Zhu et al., 2004), экзогенная hTERT (например, GFP–hTERT) целенаправленно связывалась с ТК, а также обнаруживалась в ядрышках (Etheridge et al., 2002; Yang et al., 2002). Таким образом, hTERT (наряду с TCAB1) можно считать одним из факторов, способствующих ассоциации hTR с ТК вне зависимости от ее локализации (Tomlinson et al., 2008).

Собственно элонгация теломер происходит *вне* ТК (Laprade et al., 2020), поскольку связывание теломеразы с теломерами осуществляется уже после того, как ее компоненты покидают ТК во время S-фазы клеточного цикла; интенсивность этого связывания достигает пика в средней S-фазе, когда синтезируется ДНК теломер (Tomlinson et al., 2006). Вместе с тем неизвестно, какие механизмы обеспечивают рекрутирование теломеразы к концам хромосом. Считают, что главным посредником в ее целенаправленном связывании с теломерами служит белок TPP1 — компонент комплекса шелтерин (Xin et al., 2007). К примеру, нарушение взаимодействий между TPP1 и hTERT приводит к постепенному укорочению теломер и в конечном итоге — к гибели клетки (Nandakumar et al., 2012; Zhong et al., 2012; Schmidt et al., 2014, 2016; Sexton et al., 2014).

Важный прорыв в расшифровке механизмов рекрутирования теломеразы к теломерам, ее удержания и роли ТК в ее метаболизме (в трансформированных клетках человека) произошел в ходе исследования динамики одиночных молекул hTR *in vivo* в процессе их прохождения через ТК (Laprade et al., 2020). Для этого был использован разработанный авторами метод (MS2–GFP tagging system), который сочетает CRISPR/Cas9-редактирование генома с мечением РНК бактериофага MS2 (MS2 tagging). Анализ динамики hTR в клетках HeLa *in vivo* показал, что в ядре существует две фракции hTR: высокомобильная, представляющая собой пул свободных молекул, и маломобильная, входящая в состав теломеразы, связанной с теломерами. Небольшая часть молекул *высокомобильной* фракции связывается с ТК за счет взаимодействия с TCAB1, при этом время связывания одиночной молекулы hTR с ТК составляет в среднем 2 с, а период полувыведения (half-life) из ТК — 7 с.

Эти авторы показали, что выход hTR из ТК контролирует hTERT. Дальнейшее TPP1-зависимое рекрутирование hTR к теломерам за счет взаимодействия TPP1 с hTERT, которое усиливается киназой ATM (и в меньшей степени ATR), приводит к непродолжительным взаимодействиям теломеразы с теломерами (этап «сканирования»). Следующее за этим комплементарное спаривание оснований между hTR и одноцепочечной ДНК теломер обеспечивает длительные взаимодействия, необходимые для стабильного удержания теломеразы на теломерах. Такой двухшаговый механизм получил название модели «рекрутирования-удержания» (Laprade et al., 2020). Негативным регулятором, препятствующим удержанию теломеразы на теломерах, является POT1 (рис. 31).

Несмотря на то что многие компоненты теломеразы, как было сказано, входят в состав ТК, функциональное значение такой их локализации остается не вполне понятным, поскольку в трансформированных клетках человека, нокаутированных по гену коилина, несмотря на разрушение в них ТК, структура и функции теломер сохраняются и весьма эффективно поддерживаются (Zhong et al., 2012; Chen et al., 2018). Элиминация коилина, например, не влияет на длину теломер (Chen et al., 2015; Vogan et al., 2016); в этом случае, вероятно, другие компоненты ТК компенсируют отсутствие коилина и самих ТК, способствуя поддержанию метаболизма и транспорта hTR.

Однако в условиях низкого уровня теломеразы роль ТК в регуляции метаболизма и транспорта hTR возрастает: аккумуляция hTR в ТК заметно усиливает процесс рекрутирования теломеразы к теломерам, а также удлинение теломер (Cristofari et al., 2007). Привлечению эндогенной теломеразы к теломерам способствуют не только hTERT (Tomlinson et al., 2008) и TCAB1 (Venteicher, Artandi, 2009; Venteicher et al., 2009), но и структурные белки ТК, включая коилин (Stern et al., 2012). При этом сверхэкспрессия теломеразы компенсирует отсутствие ТК при деплеции коилина. Рекрутирование теломеразы также чувствительно также к уровню TCAB1, но в этом случае ее

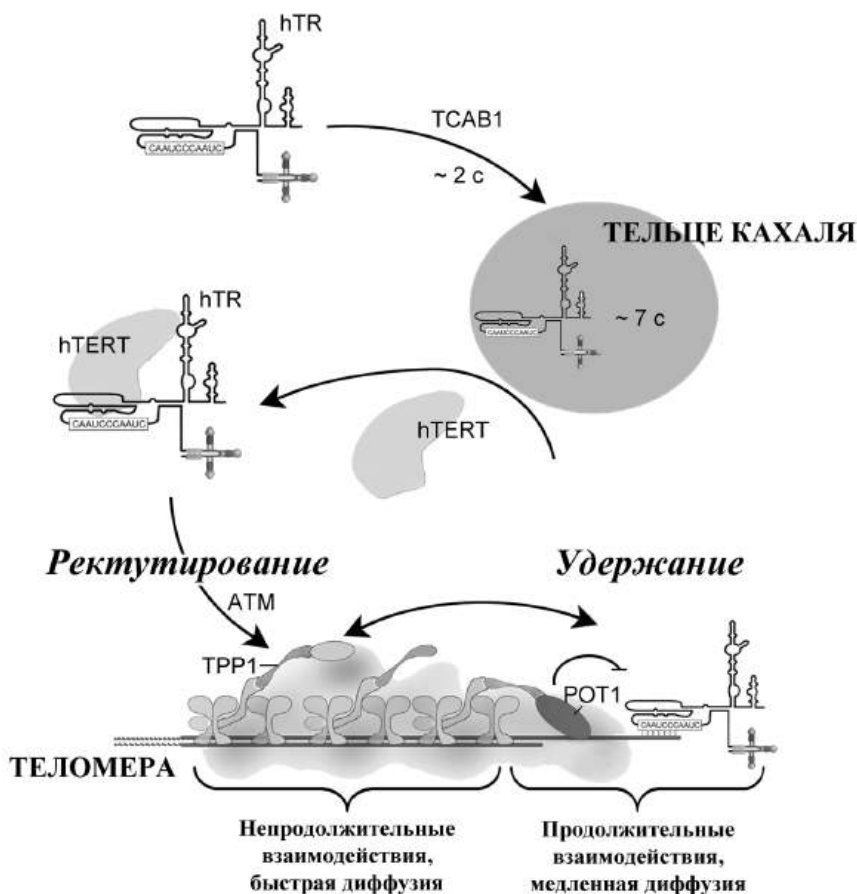


Рис. 31. Схема, иллюстрирующая динамику теломеразной РНК в трансформированных клетках человека, включая прохождение тельца Кахаля, рекрутирование теломеразы к теломерам и ее удержание, по данным визуализации одиночных молекул в живой клетке (по Laprade et al., 2020, с изменениями)

Молекулы теломеразной РНК (hTR) целенаправленно связываются с ТК с помощью белка TCAB1 примерно за 2 с и удерживаются в ТК в среднем в течение 7 с. Выходу hTR из ТК способствует ассоциация с обратной транскриптазой hTERT и формирование теломеразного РНП-комплекса. Элонгация теломер управляется механизмом «рекрутирования-удержания» (recruitment-retention model). Рекрутирование теломеразы обеспечивается взаимодействием между hTERT и TPP1 и усиливается киназой ATM. Это дает возможность возникновению непродолжительных взаимодействий с теломерами, при которых диффузия теломеразы выше по сравнению с ее субстратом. Отдельная фракция теломеразы удерживается на теломерах посредством комплементарного спаривания оснований между hTR и участком теломеры; эта связь продолжительна и характеризуется низким коэффициентом диффузии теломеразы. Фаза удержания негативно регулируется белком POT1.

сверхэкспрессия не компенсирует отсутствия TCAB1 при его деплеции (Stern et al., 2012).

Важно отметить, что в клетках человека и мыши метаболизм TR/TERC имеет свои особенности. Если в клетках человека метаболизм теломеразы и ее транспорт в той или иной мере зависит от ТК, то в клетках мыши (например, в эмбриональных фибробластах линий MEF-26 и 3T3, клетках нейробластомы линии n2a и миобластах линии c2c12) теломеразная РНК мыши (mTR) локализуется *не* в самих ТК, а в отличных от ТК ядерных компартментах (foci), в которых присутствует на протяжении большей части клеточного цикла (Tomlinson et al., 2010). Чему (каким ядерным органеллам) соответствуют эти «фокусы», неизвестно, также как их строение и молекулярный состав.

Как и в клетках человека, во время S-фазы mTR специфически локализуется в теломерах. Однако метаболизм и транспорт mTR, в отличие hTR, *не* зависит от ТК, поскольку mTR с одинаковой частотой обнаруживается в теломерах — как в клетках дикого типа, так и в клетках, полученных от мышей с нокаутом по гену коилина. Вместе с тем экзогенная hTR, введенная в клетки мыши, локализуется в ТК. Таким образом, ТК-независимый путь миграции mTR к теломерам, по-видимому, обусловлен внутренними особенностями молекул этой РНК, а не особенностями клеток человека и мыши, включая потенциальные различия молекулярного состава и функций ТК в этих клетках (Tomlinson et al., 2010).

Глава 7

ТЕЛЬЦА ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ

Тельца гистоновых локусов (ТГЛ; histone locus bodies, HLBs) — универсальные и эволюционно консервативные ядерные органеллы, близкородственные ТК. На протяжении долгого времени ТГЛ отождествляли с ТК, и происходило это во многом благодаря присутствию коилина в составе некоторых из них. Как результат, ТГЛ рассматривали как специализированные ТК, связанные с местами расположения крупных кластеров гистоновых генов, а функционально — с процессингом 3'-конца пре-мРНК гистонов. Сейчас общепринятым является представление о том, что ТК и ТГЛ — самостоятельные (distinct) ядерные органеллы (Nizami et al., 2010b; Ходюченко, Красикова, 2014; Duronio, Marzluff, 2017; Marzluff, Koreski, 2017; Geisler et al., 2023), хотя они во многом похожи и нередко демонстрируют тесную физическую ассоциацию друг с другом.

Подобно ТК, которые формируются в ответ на экспрессию генов snРНК, сопровождающую высокий уровень сплайсинга пре-мРНК, ТГЛ тоже формируются в ответ на интенсивную экспрессию специфических — в данном случае гистоновых — генов, транскрипция которых сопровождается особым типом процессинга пре-мРНК гистонов. Типичные ТГЛ не только физически связаны с хромосомами в гистоновых локусах, но и характеризуются высокой концентрацией специфических факторов процессинга этих РНК.

В ядре первичных диплоидных клеток млекопитающих, в зависимости от стадии клеточного цикла, обычно обнаруживается 2–4 ТГЛ, которые маркируют основные кластеры генов гистонов (Ghule et al., 2008). В клетках человека эти кластеры расположены на хромосомах 1 и 6 (подробнее см. раздел 7.2). В трансформированных клетках, например HeLa, количество ТГЛ обычно больше четырех благодаря анеупloidии этих клеток (Ghule et al., 2009). В клетках *Drosophila*, в которых ТГЛ были первоначально открыты и к настоящему времени хорошо исследованы, присутствует одно ТГЛ, ассоциированное с кластером гистоновых генов, расположенным на длинном плече хромосомы 2 (Liu et al., 2006b). В высокополиплоидных клетках яичника *D. melanogaster* — трофоцитах, или питающих клетках (nurse cells), количество ТГЛ возрастает по мере развития этих клеток и увеличения их пloidности (Liu et al., 2006a). В клетках млекопитающих увеличение количества ТГЛ также коррелирует с пloidностью клетки, прежде всего с количеством хромосом 1 и 6, однако по отношению к ТК такая корреляция отсутствует (Bongiorno-Borbone et al. 2008).

Для формирования ТГЛ необходимы три главных молекулярных фактора, которые считают основными компонентами и специфическими (диа-

гностическими) их маркерами: U7 snРНП; белок FLASH (FLICE-associated huge protein) — фактор процессинга пре-мРНК гистонов, образующий с U7 snРНП стабильный комплекс; белок NPAT/p200 (nuclear protein at the ataxia-telangiectasia mutated [ATM] locus) — коактиватор транскрипции гистоновых генов (Duronio, Marzluff, 2017; Marzluff, Koreski, 2017).

FLASH и NPAT — крупные белки (220 кДа), молекулы которых содержат внутренне неупорядоченные участки. Несмотря на то что пока не существует прямых доказательств формирования ТГЛ в результате последовательности событий разделения фаз (глава 1), ряд наблюдений показывает, что LLPS является общим принципом формирования безмембранных органелл и ТГЛ вряд ли являются исключением. Для объяснения принципов формирования ТГЛ предложены схемы, предусматривающие как иерархические, так и случайные события их сборки (Matera et al., 2009; White et al., 2011).

Подобно другим ядерным органеллам, биологическое значение ТГЛ состоит в том, что их формирование повышает эффективность сборки макромолекулярных комплексов и сопряжения молекулярно-биохимических реакций в ходе экспрессии гистоновых генов за счет увеличения локальной концентрации необходимых факторов, например U7 snРНП, которые в ядре могут быть представлены лишь небольшим количеством молекул. Таким образом, ТГЛ играют роль в координации событий экспрессии генов и, как результат, существенно увеличивают — за счет интенсификации биосинтетических процессов — эффективность продукции гистоновых мРНК (Sawyer, Dundr, 2016), потребность в которых особенно возрастает в S-фазе клеточного цикла (Duronio, Marzluff, 2017).

Как и в случае ТК, формирование ТГЛ *не* является абсолютно необходимым условием жизнеспособности клетки, а ТГЛ *per se* не являются необходимым атрибутом процессинга пре-мРНК гистонов. Это показано, например, в отношении гистона H3 в ходе мутационных экспериментов на дрозофиле (Rajendra et al., 2010). Однако разрушение ТГЛ приводит к заметному снижению интенсивности зависимой от репликации (replication-dependent, RD) транскрипции гистоновых генов и остановке клеточного цикла в S-фазе (Barcaroli et al., 2006a, 2006b).

Отметим, что в клетках рака толстой кишки человека линии HCT116, как показано с помощью прижизненной микроскопии, вблизи ТК и ТГЛ формируются своеобразные биоконденсаты РНК-полимеразы II (polymerase condensates, PCs), количество которых возрастает в S-фазе клеточного цикла во время активации транскрипции гистоновых генов (Imada et al., 2021). Такие биоконденсаты, называемые авторами РС-тельцами, хотя структурная составляющая их не показана, довольно крупные и возникают за счет фазового разделения внутренне неупорядоченного С-концевого домена (STD) большой субъединицы РНК-полимеразы II (RPB1). В живых клетках встречаются полимеразные биоконденсаты 4-х категорий: не ассоциированные ни с ТК, ни с ТГЛ (17%); ассоциированные только с ТК (11%); ассоциированные только с ТГЛ (46%); ассоциированные одновременно

и с ТК, и с ТГЛ (26%). Таким образом, во время транскрипции гистоновых генов биоконденсаты РНК-полимеразы II чаще формируются вблизи ТГЛ, чем ТК. Их формирование увеличивает локальную концентрацию РНК-полимеразы II и приводит к усилению транскрипции.

Показано, что на формирование таких биоконденсатов не влияет нокаут коилина, но при этом увеличивается частота колокализации между ними и ТГЛ; при этом не меняются ни количество самих конденсатов, ни время их формирования, ни статус фосфорилирования РНК-полимеразы II. Де-плеция РНК-полимеразы II с помощью триптолида¹⁰¹, который разрушает ее за счет убиквитинилирования RPB1, приводит к исчезновению полимеразных биоконденсатов, но не затрагивает структуры ни ТК, ни ТГЛ (Imada et al., 2021). Таким образом, формирование таких биоконденсатов, по-видимому, способствует интенсификации транскрипции гистоновых генов (за счет локальной концентрации РНК-полимеразы II) и, соответственно, процессинга пре-мРНК гистонов, однако их отсутствие на физиологию клетки принципиально не влияет.

Возвращаясь собственно к ТГЛ, отметим, что их биологическое значение как «нанофабрик», интенсифицирующих специфический процессинг пре-мРНК гистонов (Duronio, Marzluff, 2017), в наибольшей степени проявляется в клетках, характеризующихся высоким уровнем синтеза этих РНК. Например, ТГЛ могут быть особенно важны в оогенезе, когда ооцит продуцирует значительные количества мРНК гистонов, необходимых для развития будущего эмбриона (Sullivan et al., 2001; Lanzotti et al., 2002). Действительно, мутации генов *Drosophila*, кодирующих U7 snРНК или SLBP (stem-loop binding protein, или histone RNA hairpin-binding protein, — белок, специфически распознающий пре-мРНК гистонов и взаимодействующий с U7 snРНК), нарушают процессинг пре-мРНК гистонов *in vivo*, что приводит к нехарактерному появлению полиаденилированных мРНК гистонов. При этом null-мутанты *Drosophila* по гену *Slbp* погибают на личиночной стадии. Мухи, мутантные по гену *U7*, жизнеспособны, но стерильны — как самцы, так и самки. При этом одновременная мутация *U7–Slbp* летальна для эмбриона (Godfrey et al., 2006).

«Родственность» двух ядерных органелл — ТГЛ и ТК — подчеркивает ряд их общих молекулярных компонентов. Несмотря на то что U7 snРНК теперь рассматривают как ключевой молекулярный маркер ТГЛ, а не ТК, биогенез U7 snРНК в целом соответствует «классическому» биогенезу snРНК первой группы (Pillai et al. 2003; Azzouz et al. 2005; глава 3), и поэтому прохождение U7 snРНК через ТК перед локализацией в ТГЛ представляется вполне закономерным событием. Другим связующим звеном между ТГЛ и ТК является сплайсосомный U2 snРНК. Оказалось, что он может связывать не содержащие интронов пре-мРНК гистонов *in vivo* и это стимулирует U7 snРНК-зависимое расщепление молекулы пре-мРНК. Таким образом,

¹⁰¹ Дитерпеновое соединение, выделенное из традиционного для китайской медицины растения *Tripterygium wilfordii*, известного под названием «лоза бога грома»; оказывает противовоспалительное, противоопухолевое и (в больших дозах) иммуносупрессорное действие.

U2 snРНК (а также соответствующий ему минорный U12 snРНК) может быть вовлечен не только в сплайсинг интронсодержащих пре-мРНК, но и в специфический процессинг пре-мРНК гистонов (Friend et al. 2007).

Общим компонентом ТК и некоторых ТГЛ является коилин. Следовательно, как уже было отмечено, после открытия ТГЛ в качестве самостоятельных ядерных органелл, он потерял статус однозначного маркера ТК (Liu et al., 2009). По содержанию коилина разные ТГЛ в разных клетках могут различаться. Так, в клетках *Drosophila* и *Xenopus* практически все ТГЛ содержат коилин (Liu et al., 2009; Nizami et al., 2010a). Вместе с тем у аквариумной рыбки *D. rerio* молекулярные компоненты процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов локализуются в коилин-негативных ТГЛ (Strzelecka et al., 2010a, 2010b; Heyn et al., 2017), и в этом случае коилин действительно маркирует именно ТК. ТГЛ без коилина нередко можно наблюдать и в некоторых клетках млекопитающих, хотя в клетках человека значительная часть ТГЛ все-таки его содержит (Ma et al., 2000; Zhao et al., 2000). Сравнительный анализ показал, что если FLASH и NPAT демонстрируют 100%-ную колокализацию друг с другом, то уровень колокализации FLASH с коилином составляет от 33% в клетках HeLa до 56–89% в других первичных и трансформированных клетках (Barcaroli et al., 2006a).

Функции коилина в ТГЛ остаются до конца не выясненными. В отличие от ТК коилин *не* является необходимым белком ТГЛ и *не* оказывает влияния на их структурную целостность. Так, деплеция коилина не препятствует сборке ТГЛ в клетках млекопитающих — например, в эмбриональных фибробластах мыши в условиях нокдауна (Barcaroli et al., 2006a) или в клетках *D. melanogaster*, мутантных по гену коилина (*Coil^{-/-}*) (Liu et al., 2009). Как отмечено в главе 2, посвященной коилину, такие мухи жизнеспособны, хотя в их клетках отсутствуют ТК, идентифицируемые по присутствию таких маркеров, как фибрилларин, SMN, U2 и U5 snРНК или U85 scaРНК. Однако ТГЛ — органеллы, содержащие U7 snРНК и Lsm-11, — в клетках *D. melanogaster* с генотипом *Coil^{-/-}* обнаруживаются практически в неизмененном виде по сравнению с диким типом (Liu et al., 2009). Кроме того, коилин не оказывает влияния на взаимодействия между FLASH и NPAT: снижение его уровня в клетках человека с помощью shРНК не влияет на колокализацию этих белков ТГЛ (Barcaroli et al., 2006b).

Детальных сравнительных исследований ультраструктуры ТГЛ не проводили, но по своей ультраструктурной морфологии, по-видимому, ТГЛ не имеют принципиальных отличий от ТК (Barcaroli et al., 2006a).

7.1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ ТЕЛЕЦ ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ

Как отмечено в разд. 1.4., с момента открытия ТК прошло более 120 лет, да и современная история их изучения длится более полувека. В этот период ядерные органеллы, теперь известные как ТГЛ, благодаря присутствию

коилина рассматривали лишь как особый, специализированный класс ТК, которые ассоциированы с гистоновыми генами и функционально связаны как с экспрессией этих генов, так и со специфическим процессингом 3'-конца пре-мРНК гистонов (Frey, Matera, 1995). Иными словами, все коилин-содержащие структуры в конце XX — начале XXI в. было принято однозначно относить к ТК, а антитела к коилину использовать для их иммуноцитохимической диагностики (Gall, 2000). Большой пласт исследований, касающихся молекулярного состава snРНК- и коилинсодержащих ядерных телец, был выполнен на ооцитах *Xenopus*, в которых такие тельца по составу ключевых компонентов идентичны друг другу вне зависимости от того, связаны ли они с гистоновыми локусами или лежат свободно в нуклеоплазме (Gall et al., 2004). Отсюда проистекает известная историческая (теперь устаревшая) схема, предложенная Дж. Голлом (Gall et al., 1995, 1999), согласно которой молекулярный «модуль», ответственный за процессинг пре-мРНК гистонов, включен в ТК.

Данный факт обязательно следует учитывать при знакомстве с литературой раннего времени, когда ядерные тельца, содержащие факторы процессинга 3'-конца пре-мРНК, например NPAT, соотносили либо с самими ТК (Liu et al., 2000; Ma et al., 2000), либо с так называемыми «тельцами расщепления» (cleavage bodies), аккумулирующими в том числе CstF64 и CPSF100. В некоторых клетках такие тельца как дискретные структуры наблюдали в тесной ассоциации с ТК (Schul et al., 1996). В S-фазе клеточного цикла, в период пика синтеза пре-мРНК гистонов, эти «тельца расщепления» характерным образом оказывались в ассоциации с кластерами гистоновых генов (Schul et al., 1999b). При этом отмечали, что они обнаруживаются исключительно в фазах S и G2 клеточного цикла (Li et al., 2006b). Очевидно, что такое их поведение соответствует поведению ТГЛ в их современной интерпретации, поэтому понятие cleavage bodies теперь практически исключено из научного лексикона.

Как самостоятельные от ТК ядерные органеллы ТГЛ были описаны в 2006 г. в клетках *D. melanogaster* благодаря работам Голла и сотрудников его лаборатории (Liu et al., 2006b). По их определению, тесная физическая связь с гистоновыми локусами уже служит достаточным основанием для того, чтобы рассматривать такое ядерное тельце в качестве ТГЛ (Nizami et al., 2010b). Согласно современным представлениям, наиболее четко ТГЛ отличаются от других ядерных органелл по одновременному присутствию U7 snРНК, который нетрудно идентифицировать не только по самой U7 snРНК, но и по специфическим белкам Lsm-10 и Lsm-11, а также коактиваторов RD-транскрипции гистоновых генов NPAT и FLASH (Duronio, Marzluff, 2017).

Вместе с тем молекулярный состав ТГЛ не исчерпывается только факторами процессинга пре-мРНК гистонов. Например, NPAT — ключевой компонент ТГЛ — является одним из субстратов комплекса циклин E/CDK2 (Ma et al., 2000; Zhao et al., 2000). При этом, как показано на примере клеток *Drosophila*, ТГЛ могут содержать и другие CDK2-регулируемые (пока неизвестные) белки, не вовлеченные в процессинг пре-мРНК гистонов (White et al., 2007).

Первоначальной идентификации ТГЛ в клетках *D. melanogaster* как телец, не зависимых структурно от ТК, но иногда ассоциированных с ними (Liu et al., 2006b), способствовало то обстоятельство, что коилин дрозофилы в начале 2000-х гг. еще не был известен (Liu et al., 2009). Поэтому для идентификации ТК первоначально использовали зонды к U7 snРНК и U85 scaРНК, которые, как тогда считали, должны с одинаковой эффективностью выявлять именно ТК (Liu et al., 2006a), поскольку U7 snРНК на тот период считали одним из ключевых маркеров ТК наряду с коилином (Frey, Matera, 1995). В этой работе отмечено, что в клетках HeLa около 85% U7 мяРНК локализуется в ядерных органеллах, называемых в этой статье ТК, однако теперь — в свете знаний о существовании ТГЛ — эту работу принято цитировать как описывающую ТГЛ в соматических клетках человека.

Неожиданно оказалось, что в клетках самых разных тканей *Drosophila*, включая слюнные железы, личиночный мозг, фолликулярные клетки яичника имаго, трофоциты, клетки мальпигиевых сосудов и др., зонды к U7 snРНК и U85 scaРНК при проведении гибридизации нуклеиновых кислот *in situ* (FISH) выявляли *две* независимые ядерные органеллы. В результате U85 scaРНК-содержащие тельца были идентифицированы как ТК, поскольку содержали и другие типичные для них компоненты (U2 snРНК и SMN), а U7 snРНК-содержащие тельца оказались тесно связанными с гистоновым локусом, расположенным у *Drosophila* на длинном плече хромосомы 2 (2L), и потому были названы ТГЛ (Liu et al., 2006b). Авторы сразу заметили, что во многих ядрах ТК и ТГЛ лежат по соседству и нередко физически соприкасаются друг с другом. Через 3 года, после открытия коилина дрозофилы, были представлены уже подробные данные о динамике ТК и ТГЛ как самостоятельных ядерных органелл в разных типах клеток *D. melanogaster* (Liu et al., 2009).

Вскоре после открытия ТГЛ в клетках *Drosophila* они были идентифицированы и в клетках млекопитающих различных клеточных линий. На самом деле и прежде сообщалось, что, например, в эмбриональных стволовых клетках человека линии H9 (WA09) NPAT- и коилинсодержащие органеллы — независимые друг от друга образования, хотя и функционально близкие (Ghule et al., 2007). Применительно к клеткам млекопитающих термин «тельце гистонового локуса» впервые был использован в двух статьях, вышедших почти одновременно (Bongiorno-Borbone et al. 2008; Ghule et al., 2008).

7.2. ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПРОЦЕССИНГЕ ПРЕ-мРНК ГИСТОНОВ. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ТЕЛЕЦ ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ

Как известно из учебников и руководств по клеточной биологии, основной единицей организации генома является нуклеосома — октамер из двух молекул четырех коровых гистонов H2A, H2B, H3 и H4, который упаковывает примерно 147 пар оснований ДНК. В районе тетрамера (H3–H4)₂

с внешней стороной нуклеосомы связывается линкерный гистон H1, который фиксирует нить ДНК (Разин, Быстрицкий, 2009). Понятно, что особую потребность в гистонах клетка испытывает в период репликации ДНК, в фазе S клеточного цикла. Нарушения этого процесса приводят к нестабильности генома и, как следствие, к тяжелым заболеваниям человека, включая некоторые виды рака (Duronio, Marzluff, 2017).

Большинство генов, кодирующих гистоны, включая линкерный гистон H1 и коровые гистоны H2A, H2B и H3, в геноме всех Metazoa располагаются тандемно, повторяющимися кластерами и демонстрируют высокий уровень RD-экспрессии, которая четко скоординирована в S-фазе клеточного цикла, возможно, благодаря наличию некоторых структурных элементов, общих для этих генов (Jaeger et al., 2005). В этот период интенсивный синтез гистонов осуществляется за счет продукции больших количеств мРНК (в клетках человека их количество возрастает примерно в 35 раз после вступления клетки в S-фазу, достигая значения 4×10^8 молекул каждого гистона) и требует набора уникальных факторов RD-транскрипции и процессинга пре-мРНК, которые аккумулируются в ТГЛ (Duronio, Marzluff, 2017).

На примере *Drosophila* показано, что в эмбриогенезе, до начала транскрипции гистоновых генов, которая у дрозофилы начинается в S-фазе одиннадцатого ядерного цикла¹⁰², ТГЛ отсутствуют (White et al., 2007). При этом основные события активации генома эмбриона (zygotic genome activation, ZGA) у дрозофилы осуществляются позже — на стадии бластодермы, во время 14-го цикла. Необходимость начала ZGA для формирования ТГЛ показана и в отношении рыбки *D. rerio*. У *Danio* компоненты ТГЛ (U7 snРНК, Lsm-11, SLBP) и ТК (U2 snРНК, U4 snРНК, фибрилларин) начинают выявляться в отдельных друг от друга тельцах лишь спустя несколько часов после начала ZGA, в то время как ТК в большом количестве появляются уже в зиготах, сразу после оплодотворения (Heyn et al., 2017).

У человека самый большой кластер RD-генов гистонов, называемый *HIST1*, состоит из 55 генов и находится на хромосоме 6 в участке 6p21-p22. Два кластера меньших размеров находятся на хромосоме 1: *HIST2*, содержащий 6 генов и располагающийся в участке 1q21; и *HIST3*, который состоит из 3-х генов и располагается в участке 1q42. Гены, не образующие кластеры, расположены на других участках. Например, на хромосоме 12 в участке 12p13.1 находится не образующий кластер ген *HIST4H4*, который кодирует коровый гистон H4 (Marzluff et al., 2002).

Кластер генов *HIST1* — основной участок формирования ТГЛ. Однако мелкие ТГЛ формируются и в других (минорных) локусах — например, в локусе *HIST2* (Wang et al., 2016). ТГЛ ассоциированы с *HIST1* в ходе всего клеточного цикла, а с меньшими по размеру гистоновыми локусами — только в фазе S (Ma et al., 2000). Следует отметить, что с RD-генами гистонов

¹⁰² Ранние эмбрионы дрозофилы синцитиальные, поэтому мы говорим о ядерном, а не о клеточном цикле.

могут быть ассоциированы и ТК, но в этом случае связь проявляется опосредованно, за счет физической ассоциации ТК и ТГЛ (Wang et al., 2016).

Ключевым регулятором перехода клетки в фазу S клеточного цикла служит комплекс циклина E и циклинзависимой киназы 2 (CDK2), ключевого элемента контроля транскрипции (Bacon, D'Orso, 2019). Активация киназного комплекса циклин E/CDK2 необходима как для репликации ДНК, так и для RD-синтеза пре-мРНК гистонов. При этом одним из субстратов комплекса циклин E/CDK2 является белок ТГЛ NPAT (Zhao et al., 1998). В клетках *Drosophila* ортологом NPAT млекопитающих является продукт гена *mxc* (multi-sex combs gene) (White et al., 2011).

NPAT — коактиватор транскрипции гистоновых генов, который физически взаимодействует с киназным комплексом циклин E/CDK2. Последний в свою очередь фосфорилирует NPAT, что активирует RD-экспрессию гистоновых генов при переходе клетки из фазы G1 в фазу S клеточного цикла (Ma et al., 2000; Zhao et al., 2000). Нарушение функции гена *NPAT* приводит к ранней эмбриональной летальности у мышей и останавливает пролиферацию клеток из-за остановки перехода от стадии G0 к стадии G1 (Ma et al., 2000; Ye et al., 2003).

В двух основополагающих работах (Ma et al., 2000; Zhao et al., 2000) впервые была продемонстрирована локализация белка NPAT в ассоциированных с гистоновыми локусами ядерных тельцах, известных теперь как ТГЛ. В этих работах показано, что NPAT является одним из резидентных белков ТГЛ и от его присутствия зависит их структурная целостность. С-концевой участок молекулы NPAT необходим для перехода клетки в S-фазу, а N-концевой участок (КН-мотив) — для активации транскрипции генов гистонов (например, H4 и H2B), однако он не влияет на локализацию NPAT в ТГЛ или на CDK2-зависимое фосфорилирование (Wei et al., 2003).

Белок NPAT человека способен *in vivo* связываться напрямую с транскрипционным фактором HiNF-P (histone nuclear factor P) — белком «цинкового пальца» с молекулярной массой 65 кДа, который распознает специфическую последовательность ДНК, необходимую для транскрипции генов (в геноме человека их 14), кодирующих гистон H4 (Miele et al., 2005). При этом формирование комплекса HiNF-P–NPAT представляет уникальный механизм, регулирующий клеточный цикл и переход из фазы G1 в фазу S (Xie et al., 2007).

HiNF-P является ключевым CDK-зависимым регулятором экспрессии генов H4, отсутствие которого — в отличие от комплекса циклин E/CDK2 (Berthet et al., 2003) — не может быть компенсировано в эмбриогенезе и приводит к ранней гибели эмбрионов мыши (Xie et al., 2009). Показано, что удаление гена *HinfP* препятствует синтезу пре-мРНК гистона H4 в доимплантационных эмбрионах мыши, однако не препятствует формированию ТГЛ (Ghule et al., 2016). В соматических культивируемых клетках (например, в эмбриональных фибробластах мыши) взаимодействие HiNF-P с NPAT, а также с промоторами генов H4, поддерживает транскрипцию генов H4

и опосредованно влияет на субъядерную организацию, хотя влияние HiNF-P непосредственно на формирование ТГЛ оказалось не столь значительным (Ghule et al., 2014). Показано, что деплеция HiNF-P приводит к постепенной дезорганизации ТГЛ, что сопровождается появлением более мелких телец, увеличением их количества (с 2–4 в норме до 8–12 в эксперименте), а также появлением диффузного паттерна распределения NPAT (Ghule et al., 2014). Однако следует подчеркнуть, что ТГЛ, хотя и видоизмененные, всё же формируются в этих условиях.

Таким образом, несмотря на то что HiNF-P сам по себе, по-видимому, не требуется для формирования ТГЛ млекопитающих, он может способствовать сборке *полноценных* ТГЛ благодаря его важной роли в транскрипции генов H4. Интересно, что эффект деплеции HiNF-P, в том числе на структуру и количество ТГЛ, заметно усиливается одновременной деплецией белка p53: двойной нокаут HiNF-P и p53 приводил к еще большему увеличению количества мелких ТГЛ-подобных структур (NPAT-позитивных foci) и усилению диффузного NPAT-сигнала (Ghule et al., 2015).

На основании экспериментов по иммунопреципитации предложена модель, согласно которой 5'- и 3'-участки локуса генов H4 (соответственно промотор и 3'-концевая «шпилька», см. ниже) взаимодействуют с репрезентативными компонентами ТГЛ — NPAT, FLASH, Lsm-10, Lsm-11 и SLBP, которые формируют белковый «мостик», обеспечивающий петлевую конфигурацию хроматина (Medina et al., 2012). Такая конфигурация имеет значение, например, для быстрой активации экспрессии генов H4 при переходе из фазы G1 в фазу S, в том числе в эмбриональных стволовых клетках человека (hES) и в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (iPS).

RD-процессинг пре-мРНК гистонов имеет важные специфические особенности. Если подавляющее большинство мРНК в клетках Metazoa полиаденилируется, приобретая на 3'-конце молекул поли(А)-«хвост», то мРНК гистонов, синтезируемые в S-фазе клеточного цикла в ходе RD-транскрипции, являются единственным известным исключением: их молекулы не полиаденилируются в отсутствие канонических поли(А)-сигналов и, соответственно, не сплайсируются. При этом в результате эндонуклеолитического расщепления (cleavage) они приобретают на 3'-конце особую консервативную «шпильку» — структуру типа «стебель–петля» (stem-loop) (Marzluff et al., 2008).

Понятно, что такие особенности требуют наличия особых механизмов и факторов, обеспечивающих специфический процессинг 3'-конца пре-мРНК, кодируемых RD-генами гистонов. Однако в дифференцированных неделящихся клетках, которые больше не вступают в S-фазу, продуктом гистоновых генов являются «обычные» полиаденилированные мРНК (Lyons et al., 2016). Полиаденилируются и RD-мРНК гистонов в клетках растений и большинства одноклеточных эукариот, исключая *Volvox*, *Dictyostelium* и *Chlamydomonas* (Marzluff et al., 2008).

В противоположность RD-экспрессии, *независимая* от репликации ДНК (replication-independent, RI) экспрессия характеризует лишь ограниченный набор гистоновых генов, которые кодируют преимущественно варианты гистонов; RI-транскрипция таких генов осуществляется конститутивно в разных фазах клеточного цикла (Marzluff, 2005). RI-гены гистонов одиночные, за исключением парного гена, кодирующего гистон H3.3, и распределены по всему геному, не образуя кластеры. Матричные РНК, транскрибируемые с RI-генов гистонов, процессируются (полиаденилируются) обычным образом.

Варианты гистонов выполняют в хроматине специфические функции. Например, уже упомянутый гистон H3.3 служит для репарации поврежденных нуклеосом и встраивается в хроматин независимо от синтеза ДНК (подробнее о вариантах гистонов, их функциях и роли в дисфункциях организма см., например, обзоры: Biterge, Schneider, 2014; Talbert, Henikoff, 2017; Quénet, 2018; Jiang, Berger, 2023; Johal et al., 2023; Kirkiz et al., 2023). В ассоциации с RI-генами ТГЛ *не* формируются по определению, поскольку процессинг соответствующих пре-мРНК не требует специфической молекулярной машинерии.

Структура активного молекулярного комплекса, обеспечивающего RD-процессинг 3'-конца пре-мРНК гистонов (у человека) в настоящее время известна (рис. 32). По данным реконструкции, выполненной с помощью криоэлектронной микроскопии с разрешением 3.2–4.1 Å, он напоминает асимметричную «амфору с длинной ручкой», которую формируют а. о. 20–65 белка Lsm-11, специфичного для U7 snRNP (Sun et al., 2020).

Для осуществления процессинга RD-синтезируемых пре-мРНК гистонов необходимо присутствие в их молекулах двух ключевых *cis*-элементов (Marzluff et al., 2008): консервативной «шпильки» (stem-loop) и особой последовательности, богатой пуриновыми нуклеотидами, которая расположена на расстоянии примерно 15 нуклеотидов ниже точки расщепления и называется HDE (histone downstream element).

«Шпильку» пре-мРНК гистонов распознает белок SLBP, который функционирует на всех этапах метаболизма мРНК гистонов: в ходе процессинга, ядерного экспорта, трансляции и деградации (Marzluff, Koreski, 2017). В отличие от большинства ядерных белков, имеющих обычно множество функциональных партнеров, пока единственной известной мишенью белка SLBP являются пре-мРНК гистонов. Однако нокдаун SLBP приводит к рекрутированию в ТГЛ (и к гистоновым генам) белка CstF50 — фактора, *не* участвующего в процессинге гистоновых пре-мРНК (Sullivan et al., 2009).

В ходе RD-транскрипции гистоновых генов SLBP связывает «шпильку» пре-мРНК сразу после синтеза 3'-конца пре-мРНК и сохраняет эту связь в дальнейшем. Сама по себе «шпилька» пре-мРНК, по данным структурных исследований, не имеет непосредственного контакта с другими факторами процессинга (Sun et al., 2020), но ее связь с SLBP важна для правильной их сборки в единую функциональную систему.

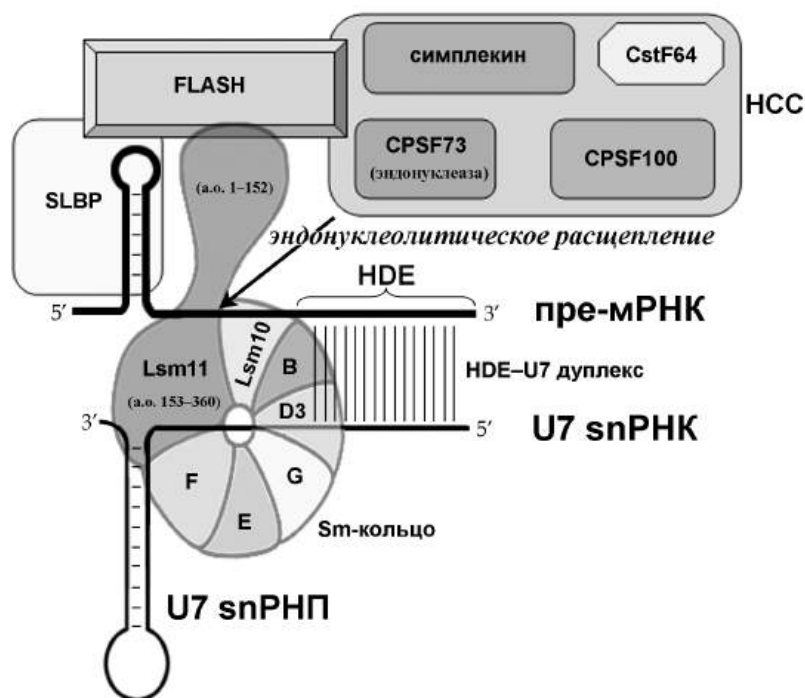


Рис. 32. Комплекс процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов
(по: Sun et al., 2020, с изменениями)

Ключевым фактором, распознающим HDE пре-мРНК гистонов, является U7 snРНК в составе U7 snРNP. Она является специфическим и высококонсервативным РНК-фактором процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов (Mowry, Steitz, 1987). По своей природе и особенностям биогенеза U7 snРNP напоминает сплайсосомные snРNP первой группы по нашей классификации (глава 3). РНК-составляющая U7 snРNP — U7 snРНК — имеет консервативный, хотя и атипичный, Sm-связывающий сайт (5'–A/uUUUG/cUCUAG–3'), отличающийся от канонического Sm-сайта (5'–A/gAUUUU/gUGG/a–3') большинства snРНК млекопитающих (Grimm et al., 1993).

Как и в случае сплайсосомных snРНК первой группы, кэп на 5'-конце U7 snРНК претерпевает в цитоплазме гиперметилирование с образованием TMG-кэпа. Главное и уникальное отличие U7 snРNP от сплайсосомных snРNP состоит в том, что в состав его Sm-белкового центра (рис. 12) вместо белков SmD1 и SmD2 входят Sm-подобные белки — Lsm-10 и Lsm-11 соответственно (Schümperli, Pillai, 2004). На эмбрионах *D. rerio* показано, что строение Sm-белкового кольца определяет селективность связывания snРNP с разными ядерными тельцами: «каноническая» сплайсосомная

Sm-белковая «сердцевина» обеспечивает связывание snРНП с ТК, в то время как специализированное Sm/Lsm-белковое «кольцо» U7 snРНП обеспечивает специфическое связывание U7 snРНП с ТГЛ (Heyn et al., 2017).

В отличие от большинства других сплайсосомных snРНК, которые кодируются множественными генами, ген U7 snРНК представлен единственной копией в геноме всех исследованных организмов (Marz et al., 2007). Надо отметить, что эта РНК самая короткая из snРНК и самый короткий продукт РНК-полимеразы II. Ее длина составляет от 57 нуклеотидов в клетках морского ежа до 70 в клетках дрозофилы. Несмотря на важную роль, которую играет U7 snРНК, в клетках млекопитающих она представлена всего 2–15 тыс. копий на ядро (Grimm et al., 1993). Вот почему формирование ТГЛ, в которых локально концентрируется U7 snРНК, имеет существенное значение для физиологии клетки.

Ключевую роль в процессинге 3'-конца пре-мРНК гистонов играет физическая связь между U7 snРНП и пре-мРНК гистонов, которая возникает за счет комплементарного спаривания оснований между 5'-концевым участком U7 snРНК и участком HDE молекулы пре-мРНК (рис. 32). В результате формируется HDE–U7 РНК-дуплекс, положение которого (расстояние от точки расщепления) определяет специфичность расщепления пре-мРНК гистонов в данной точке. Таким образом, U7 snРНК является своего рода «молекулярной рулеткой», определяющей местоположение специфической фосфодиэфирной связи в молекуле пре-мРНК, которая подлежит расщеплению (Schümperli, Pillai, 2004). Следует отметить, что для локализации U7 snРНП в ТГЛ спаривание оснований между U7 snРНК и HDE пре-мРНК гистонов не требуется (Heyn et al., 2017).

Связь между U7 snРНК и пре-мРНК-субстратом в составе РНК-дуплекса HDE–U7 стабилизируется за счет взаимодействия U7 snРНП с белком SLBP, связанным со «шпилькой» пре-мРНК. Первоначально считали, что рекрутирование U7 snРНП на пре-мРНК с помощью SLBP может быть опосредовано белком «цинкового пальца» ZFP100, который способен связывать как SLBP (Dominski et al., 2002), так и Lsm-11 человека (Wagner, Marzluff, 2006). При этом ZFP100 является установленным компонентом ТГЛ (Wagner, Marzluff, 2006). Однако попытки выявить этот белок в комплексах процессинга пре-мРНК гистонов мыши (с помощью масс-спектрометрии) не увенчались успехом (Skrajna et al., 2017). В настоящее время полагают, что роль ZFP100 в SLBP-опосредованном рекрутировании U7 snРНП не является определяющей, но этот белок может играть определенную роль *in vivo* в сопряжении транскрипции гистоновых генов и процессинга пре-мРНК гистонов (Duronio, Marzluff, 2017).

В сборке молекулярной машинерии, обеспечивающей процессинг пре-мРНК гистонов, важную роль играет длинный N-концевой участок молекулы белка Lsm-11 — интегрального компонента U7 snРНП. Этот конец выступает далеко за пределы Sm-сердцевины U7 snРНП и взаимодействует

с белком FLASH (рис. 32), в результате чего формируется комплекс Lsm-11–FLASH (Sun et al., 2020). Показано, например, что в клетках *Drosophila* ортолог FLASH (dFLASH) взаимодействует с Lsm-11 не только *in vitro*, но и *in vivo* (Yang et al., 2009). Таким образом, FLASH — еще один специфический и эволюционно консервативный фактор RD-процессинга пре-мРНК гистонов.

Для нас важно, что наряду с U7 snРНП и NPAT белок FLASH является одним из главных компонентов ТГЛ в клетках позвоночных (Bongiorno-Borbone et al., 2008) и беспозвоночных животных (Yang et al., 2009). Он, как и NPAT, определяет структурную целостность ТГЛ. В клетках млекопитающих снижение уровня FLASH с помощью shРНК приводит к разрушению ТГЛ и «рассеиванию» их компонентов по нуклеоплазме (Barcaroli et al., 2006a), а также к снижению уровня RD-транскрипции гистоновых генов и задержке клеток в S-фазе клеточного цикла (Barcaroli et al., 2006b). В клетках *Drosophila* деплеция FLASH также подавляет U7-зависимый процессинг, что приводит к полиаденилированию пре-мРНК гистонов (Yang et al., 2009). В дополнение можно отметить, что FLASH служит коактиватором транскрипционного фактора c-Myb и в трансформированных клетках колокализуется с ним в ТГЛ, ассоциированных с участками активной транскрипции (Alm-Kristiansen et al., 2008).

Любопытно, что изначально FLASH был описан как цитоплазматический белок — компонент сигнального комплекса DISC (Death-inducing signaling complex), который формируется в ответ на связывание лиганда FAS с последующей активацией каспазы 8 (Imai et al., 1999), хотя другими авторами участие FLASH в апоптотическом сигнальном пути подвергается сомнению (Koonin et al., 1999). В ответ на активацию FAS-рецептора CD95 белок FLASH покидает ТГЛ и транслоцируется в цитоплазму, где ассоциирует с митохондриями (Milovic-Holm et al., 2007). Вероятно, FLASH — полифункциональный белок, поскольку он взаимодействует, например, с белком SP100 (компонентом телец PML) и помимо основной своей локализации в ТГЛ некоторое его количество присутствует в PML-тельцах (Krieghoff et al., 2007). Еще один неоднозначный маркер?

В ходе RD-процессинга пре-мРНК гистонов комплекс Lsm-11–FLASH служит «рекрутирующей платформой», связывающей с пре-мРНК специфический белковый комплекс НСС (histone pre-mRNA cleavage complex), который, собственно, и осуществляет биохимическую реакцию эндонуклеолитического расщепления (cleavage) молекулы пре-мРНК (Sun et al., 2020). НСС состоит из следующих компонентов (рис. 32): эндонуклеазы CPSF73 (73-килодальтонной субъединицы фактора специфичности расщепления и полиаденилирования — cleavage and polyadenylation specificity factor), общего фактора процессинга 3'-конца всех пре-мРНК; белков CPSF100 и CstF64 (64-килодальтонной субъединицы фактора, стимулирующего расщепление, — cleavage stimulation factor); а также белка симплекина (Yang et al., 2013).

Симплекин (symplekin) не только является регуляторным компонентом НСС в ходе процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов, но входит в состав молекулярной машинерии, обеспечивающей полиаденилирование других пре-мРНК (Kolev, Steitz, 2005), в качестве молекулярной платформы, объединяющей факторы процессинга 3'-конца пре-мРНК в единый комплекс (Takagaki, Manley, 2000). В клетках *Drosophila* симплекин присутствует в ТГЛ в S-фазе клеточного цикла, но отсутствует в G1-фазе. Это говорит о том, что НСС, компонентом которого является симплекин, связывается с U7 snРНК непосредственно в участках транскрипции гистоновых генов (Tatomer et al., 2014). Наоборот, U7 snРНК и FLASH присутствуют в ТГЛ на всех стадиях клеточного цикла. В фазе G1 они находятся в ТГЛ либо по отдельности, либо образуют неактивный комплекс, который активируется в ходе RD-процессинга пре-мРНК гистонов только после рекрутирования НСС в S-фазе.

Эксперименты на клетках *Drosophila* с использованием РНК-интерференции и иммунопреципитации показали, что симплекин, CPSF73 и CPSF100 образуют связанный с гистоновыми генами стабильный комплекс, с которым взаимодействуют факторы процессинга пре-мРНК гистонов (Sullivan et al., 2009). Нокдаун же неспецифических факторов процессинга, таких как CPSF160 или CstF64, негативно влияет на количество симплекина, но не влияет на процессинг гистоновых пре-мРНК или ассоциацию симплекина с гистоновыми локусами в составе ТГЛ.

N-концевой домен симплекина является главным сайтом связывания РНК-дуплекса HDE–U7. При этом симплекин стабилизирует положение HDE–U7-дуплекса и обеспечивает конформационные изменения НСС, способствуя формированию связи между CPSF73 и CPSF100 (Sun et al., 2020). При формировании активного эндонуклеолитического комплекса одновременная связь CPSF100 с симплекином и CPSF73 способствует правильной сборке НСС и каталитической активации эндонуклеазы CPSF73 (Kolev et al., 2008). Кроме того, в конформационных изменениях НСС, приводящих к активации CPSF73, определенную роль играют N- и C-концевые участки молекулы белка Lsm-10 (Sun et al., 2020).

Фактор CstF64, способствующий расщеплению всех пре-мРНК, сам по себе не выполняет специфической функции в процессинге 3'-конца пре-мРНК гистонов (Sun et al., 2020), но выступает, по-видимому, в качестве интегрирующего компонента НСС, связываясь с симплекином. При переходе клетки в S-фазу уровень CstF64 повышается, а его деплеция влияет как на процессинг пре-мРНК гистонов, так и на пролиферативную активность клетки и успешное прохождение S-фазы (Romeo et al., 2014).

Несмотря на то что пока отсутствуют экспериментальные доказательства, подтверждающие каждый этап процессинга пре-мРНК гистонов, по данным структурных и биохимических исследований, его представить можно следующим образом (Sun et al., 2020). Цикл сборки молекулярных комплексов,

обеспечивающих процессинг пре-мРНК гистонов, начинается с ассоциации с пре-мРНК U7 snРНК (шаг 1). После этого происходит рекрутирование FLASH (шаг 2) и НСС (шаг 3), следствием чего является распознавание точки расщепления пре-мРНК нуклеазой CPSF73, активация НСС и расщепление пре-мРНК (шаг 4). По завершении этого процесса отщепившийся фрагмент молекулы пре-мРНК (downstream cleavage product, DCP) деградирует за счет экзонуклеолитического расщепления в направлении 5'→3' (шаг 5), а факторы процессинга могут, скорее всего, сразу вовлекаться в следующий цикл или подвергаться разборке с последующим воссоединением.

Помимо вышеперечисленных факторов в процессинге 3'-конца пре-мРНК гистонов принимает участие транскрипционный фактор NELF (negative elongation factor). Он состоит из 4-х субъединиц — NELF-A, NELF-B, NELF-C/D и NELF-E, дисфункция каждой из которых связана с этиологией множества заболеваний, включая онкологические (Narita et al., 2007). Взаимодействие с полифункциональным универсальным кэп-связывающим комплексом (СВС), который является главным функциональным партнером NELF, приводит к задержке движения РНК-полимеразы II в ходе транскрипции. Нокдаун NELF или СВС приводит к накоплению полиаденилированных РНК RD-гистонов, что свидетельствует об участии NELF (совместно с СВС) в специфическом процессинге 3'-конца гистоновых пре-мРНК (Narita et al., 2007). Оказалось, что СВС напрямую взаимодействует с SLBP и служит промежуточным звеном во взаимодействиях между NELF и SLBP.

В контексте нашего повествования важно, что одновременное использование для выявления NELF конструкции EYFP–NELF-A, специфического FISH-зонда к гистоновому гену, расположенному на хромосоме 6 человека (*HIST1H1C*), и антител к коилину показало, что NELF-содержащие тельца не всегда перекрываются с ТК, но физически ассоциированы с гистоновым локусом. Нет сомнений, что такие тельца представляют собой ТГЛ.

Несмотря на свою «универсальность» и «эволюционную консервативность» присутствие ТГЛ, как и ТК, в норме характерно не для всех клеток. ТГЛ, по-видимому, не формируются в клетках нематоды *C. elegans* благодаря альтернативному механизму расщепления 3'-конца пре-мРНК гистонов: у этого червя гистоновые гены не формируют tandemные ряды, но организованы в маленькие кластеры, разбросанные по разным хромосомам. В отличие от других организмов все гистоновые гены *C. elegans* имеют консервативный сигнал полиаденилирования, расположенный сразу за HDE, однако гистоновые мРНК заканчиваются канонической «шпилькой»; следовательно, процессинг пре-мРНК происходит без включения этого сигнала в мРНК (Keall et al., 2007).

Несмотря на то что со «шпилькой» гистоновых мРНК *C. elegans* связывается белок CDL1 (histone RNA hairpin-binding protein) — гомолог SLBP

(Kodama et al., 2002), расщепление 3'-конца пре-мРНК гистонов в клетках этой нематоды протекает с участием эндогенных малых интерферирующих РНК (endo-siRNAs) (Avgousti et al., 2012). Кроме того, U7 snРНК и FLASH — ключевые компоненты классических ТГЛ — у *C. elegans* идентифицированы не были (Duronio, Marzluff, 2017).

Основные этапы формирования ТГЛ прослежены на примере клеток *Drosophila* (Duronio, Marzluff, 2017). Зависимый от репликации (RD) гистоновый локус дрозофилы организован в группу, состоящую из более чем 100 копий tandemно расположенной последовательности длиной около 5 тыс. п. н., которая содержит одну копию гена, кодирующего каждый из гистонов. Формирование ТГЛ начинается независимо от экспрессии гистоновых генов, а сборка его компонентов происходит иерархически (White et al., 2011). Последовательность, расположенная между генами, кодирующими гистоны H3/H4, рекрутирует белки Mxc (ортолог NPAT) и FLASH.

Дальнейшее привлечение других компонентов ТГЛ, таких как U7 snРНК и белок Mute, требует инициации транскрипции и приводит к формированию полноценного ТГЛ. В результате создается молекулярное микроокружение, которое организует группу гистоновых генов и их *trans*-факторы для эффективного синтеза и процессинга пре-мРНК гистонов. Молекулы белков, формирующих ТГЛ, содержат внутренне неупорядоченные области, что является общим свойством белков, способных к олигомеризации и фазовому переходу при формировании любой ядерной органеллы.

Вышеупомянутый белок Mute, необходимый для развития мышц в эмбриогенезе *Drosophila* (Bulchand et al., 2010), является одним из ключевых компонентов ее ТГЛ (White et al., 2011). Ген *mute* (muscle wasted) кодирует короткую (Mute-L) и длинную (Mute-S) формы белка, синтезируемые с разных транскриптов. Обе формы Mute локализуются в ТГЛ. Молекулярные функции этого белка до конца не выяснены, хотя известно, что он представляет у *Drosophila* гомолог коактиватора транскрипции YARP позвоночных (Yang et al., 2014).

Заклячая раздел, привожу список (табл. 8) наиболее известных белков, идентифицированных в составе ТГЛ клеток разных организмов, с указанием их роли в процессинге мРНК гистонов (Duronio, Marzluff, 2017). Следует также отметить, что на примере ТГЛ мы видим, что они, как и ТК, способствуют повышению эффективности соответствующих биосинтетических процессов, но при этом не являются жизненно необходимыми для клетки абсолютно во всех случаях. По-видимому, этот принцип можно распространить и на некоторые другие биомолекулярные конденсаты, за исключением, пожалуй, ядрышка — единственной ядерной органеллы, объединяющей одновременно и гены (рДНК), и процессы транскрипции, и процессинг соответствующих РНК.

Таблица 8

Ключевые белковые компоненты телец гистонового локуса

Компонент	Функция в синтезе мРНК гистонов	Организм	Литературный источник
NPAT/Мхс	Инициация транскрипции, сборка ТГЛ	Человек, мышь, <i>Drosophila</i>	Ma et al., 2000; Zhao et al., 2000; White et al., 2011
HiNF-P	Инициация транскрипции	Человек	Miele et al., 2005
РНК-полимераза II	Транскрипция	<i>Xenopus</i> , <i>Drosophila</i>	Isogai et al., 2007; Nizami et al., 2010a; Guglielmi et al., 2013
TBP	Инициация транскрипции	<i>Drosophila</i>	Isogai et al., 2007; Guglielmi et al., 2013
TRF2	Инициация транскрипции	<i>Drosophila</i>	Isogai et al., 2007
TFIIA	Инициация транскрипции	<i>Drosophila</i>	Guglielmi et al., 2013
Мyc	Инициация транскрипции	<i>Drosophila</i>	Daneshvar et al., 2011
GAPDH	Инициация транскрипции	<i>Drosophila</i>	Lee et al., 2010
NELF	Элонгация транскрипта	Человек	Narita et al., 2007
Spt6	Элонгация транскрипта	<i>Drosophila</i>	White et al., 2011
ARS2	Элонгация транскрипта	Человек	Kiriyama et al., 2009
FLASH	Процессинг 3'-конца пре-мРНК, сборка ТГЛ	Человек, мышь, <i>Drosophila</i>	Barcaroli et al., 2006b; White et al., 2011; Yang et al., 2009; De Cola et al., 2012
Симплекин	Процессинг 3'-конца	<i>Xenopus</i> , <i>Drosophila</i>	Nizami et al., 2010; Wagner et al., 2007; Tatomer et al., 2014
ZFP100	Процессинг 3'-конца	Человек	Wagner, Marzluff, 2006
U7 snРНП	Процессинг 3'-конца	Человек, <i>Drosophila</i> , <i>Danio rerio</i> , <i>Xenopus</i>	Wu, Gall, 1993; Frey, Matera, 1995; Liu et al., 2006b; Ghule et al., 2008; Strzelecka et al., 2010a
YARP/Mute	Подавляет накопление мРНК гистонов	Человек, <i>Drosophila</i>	Bulchand et al., 2010; Yang et al., 2014
WGE	Подавляет накопление мРНК гистонов	<i>Drosophila</i>	Ozawa et al., 2016
Abo	Подавляет накопление мРНК гистонов	<i>Drosophila</i>	Berloco et al., 2001
HERS	Подавляет накопление мРНК гистонов	<i>Drosophila</i>	Ito et al., 2012
hCINAP	Неизвестна	Человек	Zhang et al., 2010
PARP	Неизвестна	<i>Drosophila</i>	Kotova et al., 2009
Cpn10	Неизвестна	Человек	Zheng et al., 2015
WDR79/TCAB1	Неизвестна — компонент ТК	<i>Drosophila</i>	Nizami et al., 2010
Коилин	Неизвестна, в некоторых случаях отсутствует — компонент ТК	<i>Xenopus</i> , <i>Drosophila</i>	Nizami et al., 2010
MPM-2	Определяет циклин E/Cdk2-зависимый фосфоэпитоп на Мхс	<i>Drosophila</i>	White et al., 2007, 2011

Глава 8

«НЕКАНОНИЧЕСКИЕ» ТЕЛЬЦА КАХАЛЯ И ТЕЛЬЦА ГИСТОНОВЫХ ЛОКУСОВ

Когда говорят о «типичных», или «канонических», ядерных органеллах, обычно имеют в виду ядерные структуры дифференцированных соматических клеток млекопитающих, таких как нейроны, гепатоциты или трансформированные клетки в культуре. Ярким примером клеток, ядерные органеллы которых существенно отличаются от «канонических» как по морфологии, так и молекулярному составу, а значит, и функциям, служат ооциты беспозвоночных и позвоночных животных; при этом разработать классификацию таких ядерных органелл, единую для всех организмов, по-видимому, невозможно. Ядерные тельца ооцитов часто демонстрируют морфологические особенности, не характерные для канонических структур соответствующего типа.

Более существенно, что в ооцитах иногда весьма непросто разграничить конкретные типы ядерных телец на основании их молекулярного состава (Bogolyubov et al., 2009). Например, какой-нибудь «типичный» маркерный компонент может отсутствовать в составе ядерной органеллы соответствующего «канонического» типа и, наоборот, выявляться в составе тельца иного типа. Вплоть до того, что компоненты ТК, такие как scaРНП, в известных случаях могут накапливаться в иных, казалось бы, специализированных органеллах — ядрышках (Nizami, Gall, 2012; Deryusheva, Gall, 2019). С другой стороны, коилинсодержащие ядерные органеллы, «претендующие» на роль ТК и/или ТГЛ, могут содержать классические компоненты иных органелл, например SRSF2 — маркер КИГ (Batalova et al., 2005; Боголюбов, Боголюбова, 2007), чего никогда не наблюдается в случае канонических ядерных органелл соматических клеток млекопитающих.

Вместе с тем на протяжении многих десятилетий растущие ооциты на стадии диплотены служат уникальной модельной системой для изучения функциональной компартментализации клеточного ядра *in vivo* и *in vitro*; ядро таких ооцитов (особенно насекомых, амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих) традиционно называют «зародышевым пузырьком» (germinal vesicle, GV).

Важно понимать, что растущий ооцит — высокоспециализированная, не способная к пролиферации клетка, которая находится в состоянии деления (профазы мейоза), а стадия диплотены может быть весьма продолжительной, длиться годами и даже десятилетиями (у человека). При этом у одних организмов хромосомный аппарат может быть транскрипционно активным, а в других — инактивироваться вплоть до полного исключения

из транскрипционных процессов, что морфологически выражается в формировании особой ядерной структуры, называемой кариосферой (Bogolyubov, 2018). Наконец, существенной особенностью развития ооцита является то, что, несмотря на разнообразие типов оогенеза, встречающихся в животном мире (Дондуа, 2018), оно «служит будущему» — не только целям рекомбинации и передачи в зиготу материнской генетической информации, но и созданию в ядре и цитоплазме молекулярной «материальной базы», необходимой для раннего эмбриогенеза в период ZGA. Такие особенности ооцитов как биологических систем, несомненно, отражаются в специфических особенностях их ядерных органелл.

8.1. КОИЛИНСОДЕРЖАЩИЕ ЯДЕРНЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ ООЦИТОВ АМФИБИЙ

Ядерные органеллы ооцитов могут достигать десятков микрометров, а размеры самого GV — сотен микрометров. Например, у шпорцевой лягушки *Xenopus* — основного модельного объекта при исследовании ядерных структур GV амфибий — размеры GV превышают размеры ядра соматической клетки примерно в 10^5 раз (Красикова, Куликова, 2019), что делает GV прекрасным объектом для решения общебиологических проблем, связанных со структурой и функциями клеточного ядра. Замечательной особенностью данной модельной системы является и то, что для амфибий (а также рыб, рептилий и птиц) характерен гипертранскрипционный тип оогенеза (Дондуа, 2018), при котором формируются гигантские хромосомы типа ламповых щеток (ЛЩ; lampbrush chromosomes, LBCs) — уникальные цитологические объекты, занимающие умы исследователей более 140 лет (Callan, 1986) и служащие удобными экспериментальными моделями для исследования общих принципов организации хромосом и транскрипции (Gaginskaya et al., 2009; Красикова, Куликова, 2019).

Среднего размера GV *X. laevis* на стадиях IV–VI по общепринятой классификации оогенеза *Xenopus*¹⁰³, которые охватывают продолжительную диплотену, достигает 0.4 мм в диаметре (виден невооруженным глазом!) и содержит 18 хромосом типа ЛЩ. Помимо них в GV присутствуют тысячи ядерных органелл, обладающих особыми морфологическими признаками и специфическим молекулярным составом. Среди них можно обнаружить: примерно 1500–2000 экстрахромосомных амплифицированных ядрышек (10–15 мкм в диаметре); 50–100 своеобразных ТГЛ (до 10 мкм в диаметре), большинство из которых не связано с гистоновыми локусами ЛЩ; несколько тысяч КИГ (1–4 мкм в диаметре) — как свободных, так и ассоциированных с ТГЛ (Gall et al., 2004). Наконец, в участках расположения генов,

¹⁰³ Dumont J. N. Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin). I. Stages of oocyte development in laboratory maintained animals // J. Morphol. 1972. Vol. 136. P. 153–179.

транскрибируемых РНК-полимеразой III, с хромосомами-ЛЩ *X. laevis* и *X. tropicalis* связаны особые ТК-подобные тела-жемчужины (pearls — разд. 8.1.3), сходные по размерам с ТГЛ; в экстрахромосомном пространстве GV таких телец не выявлено (Nizami, Gall, 2012). Таким образом, несмотря на большое количество ядерных органелл в GV *Xenopus*, эта биологическая система выглядит довольно «простой», поскольку представлена довольно ограниченным количеством типов ядерных органелл.

8.1.1. Снёрпосома — исторический термин

За долгие годы исследований в литературу по ядерным органеллам ооцитов амфибий глубоко внедрился термин «снёрпосома» (snurposome; от *амер. лаб.* snurps — small nuclear U ribonucleoproteins и *греч.* σῶμα — тело), предложенный для характеристики ядерных органелл, аккумулирующих snРНП (Callan, Gall, 1991; Gall, 1991; Wu et al., 1991). Следует подчеркнуть, что термин «снёрпосома» в настоящее время можно рассматривать лишь в историческом аспекте, и его не следует больше использовать в современных работах, поскольку он может вводить в заблуждение, ведь разные «снёрпосомы» содержат множество иных молекулярных компонентов кроме snРНП (Gall et al., 1999).

В GV американского тритона *Notophthalmus viridescens* помимо обычных для других амфибий ядерных органелл были идентифицированы специфические А-снёрпосомы — сферические тельца размером 0.5–4 мкм, имеющие вид двояковогнутой линзы и содержащие из сплайсосомных snРНП только U1 snРНП (Wu et al., 1991). В GV *Xenopus* А-снёрпосомы не обнаружены. Специфические функции А-снёрпосом в отношении метаболизма U1 snРНП неизвестны.

Более универсальны Б-снёрпосомы (B snurposomes), сходные с А-снёрпосомой по размеру, однако по молекулярному составу и функциям они полностью соответствуют ядерным спеклам (КИГ) других клеток (Gall et al., 2004) и на ультраструктурном уровне состоят из 20–30-нанометровых интерхроматиновых гранул. Оба типа снёрпосом — А и Б — не содержат коилина.

Напротив, коилинсодержащими структурами являются С-снёрпосомы¹⁰⁴, которые представляют собой центральную часть (основу, матрикс) сложных «сферических телец» (разд. 8.1.2), диаметр которых достигает 2–10 мкм у *X. laevis* и до 15–20 мкм у *N. viridescens*. Другим структурным компонентом таких телец, которые в течение длительного времени называли «сферами» и считали аналогами ТК (Gall et al., 1995, 1999), а теперь рассматривают в качестве своеобразных ТГЛ (Nizami et al., 2010a, 2010b), являются КИГ (прежде Б-снёрпосомы). Сам автор термина «снёрпосома» (snurposome) Голл отказался от его использования более 20 лет назад (Gall et al., 2004) и за Б-снёрпосомой (B snurposomes) предложил оставить исключительно наименование «спеклы» (speckles) или КИГ (interchromatin granule clusters, IGCs).

¹⁰⁴ Этот термин не используется с конца прошлого века (Gall et al., 1999).

8.1.2. Тельца гистоновых локусов ооцитов амфибий: эволюция понятий от «сфер» через тельца Кахаля к современным представлениям

Джозеф Голл (Joseph G. Gall), имя которого не раз упоминалось в этой книге и лаборатория которого внесла, пожалуй, ключевой вклад в исследования ядерных органелл GV амфибий, признавал, что долгая история их изучения на фоне развития фундаментальных знаний о компартментализации, структуре и функциях ядра эукариотической клетки привела к известной терминологической путанице, главным «виновником» которой явился коилин (Nizami, Gall, 2012).

Более 60 лет тому назад в GV гребенчатого тритона *Triturus cristatus* (Callan, Lloyd, 1960), а позже и других амфибий, включая *X. laevis* (Callan, 1986), были описаны ядерные органеллы, получившие название «сферы» (spheres, sphere organelles) благодаря их правильной сферической форме (рис. 33). Под этим названием они были известны на протяжении 35 лет. На самом деле такие «сферы» наблюдали еще раньше, в ходе многочисленных морфологических исследований, относящихся еще к XIX в. (например, Carnoy, Lebrun, 1897; цит. по: Gall et al., 1995), но в то время их часто путали с амплифицированными ядрышками, имеющими сходные размеры. Как отличные от ядрышек структуры — прежде всего по отсутствию в них ДНК — «сферы» были идентифицированы значительно позже (Gall, 1954; в этой работе Голл назвал их «шишками» — knobs).

Присутствие «сфер» характерно для GV как хвостатых, так и бесхвостых амфибий. Центральную основу «сферы» составляет крупное (5–10 мкм) тело, которое при исследовании ультратонких срезов с помощью стандартной просвечивающей электронной микроскопии представляется составленным в основном из гомогенно распределенных гранул размером 20–30 нм¹⁰⁵ и также содержит более крупные гранулы размером 30–50 нм (Callan, Gall, 1991; Gall et al., 1995, 1999). С использованием низковольтной сканирующей электронной микроскопии на поверхности таких тел хорошо становятся заметными рыхло упакованные фибриллы толщиной 30–40 нм (Kulikova et al., 2016).

Характерной морфологической особенностью «сфер» ооцитов амфибий является физическая ассоциация с их поверхностью одного или нескольких КИГ размером 1–4 мкм (рис. 33), которые практически полностью состоят из 20–30-нанометровых интерхроматиновых гранул. Кроме того, несколько более мелких и вариабельных по размеру кластеров, идентичных по ультраструктуре периферическим КИГ, могут быть инкорпорированы внутрь тела «сферы» (Callan, Gall, 1991; Gall et al., 1995, 1999).

Количество периферических КИГ варьируется у разных видов амфибий. Например, у бесхвостых амфибий (*Xenopus*, *Rana*) их может быть от 1 до не-

¹⁰⁵ Не путать с интерхроматиновыми гранулами такого же размера.

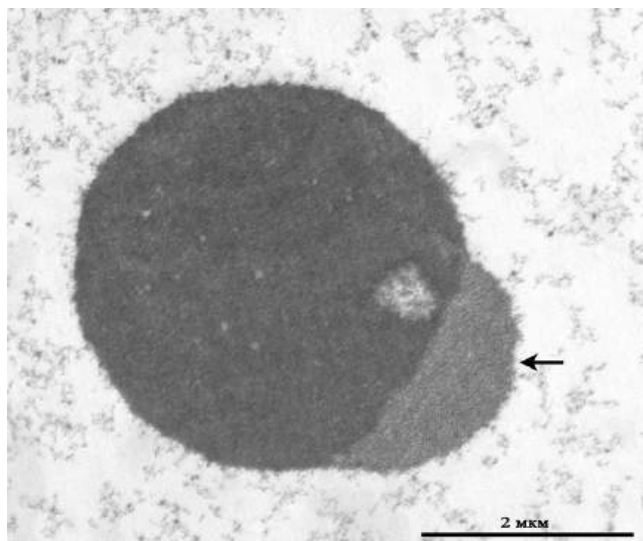


Рис. 33. Тельце гистоновых локусов (сфера) в ядре позднего вителлогенного ооцита травяной лягушки *Rana temporaria*; стрелкой указан ассоциированный с поверхностью кластер интерхроматиновых гранул (ориг.)

скольких штук, в то время как у хвостатых (*Notophthalmus*) — несколько дюжин (Gall, Callan, 1989; Wu et al., 1991). Все КИГ ооцитов амфибий содержат в высокой концентрации типичные для этого класса ядерных органелл молекулярные компоненты, включая SRSF2 и TMG-кэпированные сплайсосомные U1, U2, U4, U5 и U6 snРНП (Wu et al., 1991). Коилин в КИГ, как и следовало ожидать, отсутствует, но он является ведущим диагностическим маркером «матрикса» таких сложных тел (Tuma et al., 1993). Это и стало первопричиной изначальной идентификации «сфер» в качестве ТК (Gall et al., 1995).

Пересмотреть данное представление заставило открытие в клетках *Drosophila* ТГЛ — независимых от ТК органелл (Liu et al., 2006a, 2006b), несмотря на присутствие в их составе коилина (Liu et al., 2009), о чем упоминалось в главе 7. Хотя подавляющее большинство «сфер» в GV амфибий свободно «плавают» в нуклеоплазме (рис. 33), некоторые из них физически ассоциированы с определенными участками хромосом-ЛЩ; об этом было известно с середины прошлого века в отношении тритона *N. viridescens* и аксолотля *Ambystoma mexicanum* (Gall, 1954). Спустя лишь несколько десятилетий на хромосомах-ЛЩ тритона *N. viridescens* (Gall et al., 1981) и шпорцевой лягушки *X. laevis* (Callan et al., 1991) эти участки были идентифицированы как локусы гистоновых генов. Особенности их транскрипции еще в 1980-х гг. были в деталях охарактеризованы Голлом и соавторами в серии красивых работ (Gall et al., 1981; Jamrich et al., 1984; Diaz, Gall, 1985; Bromley, Gall, 1987).

Таким образом, ассоциированные с гистоновыми локусами «сферы» уже на основании этого признака должны быть, по идее, отнесены к категории ТГЛ (Nizami et al., 2010b). Однако — и в этом проблема — свободные и связанные с ЛЩ «сферы» GV *Xenopus* неотличимы друг от друга ни по морфологическим признакам, ни по молекулярному составу (Gall et al., 2004; Nizami et al., 2010a). Можно ли в этом случае считать экстрахромосомные ядерные органеллы, не связанные с гистоновыми локусами, ТГЛ во всех смыслах, в том числе рассматривать их в качестве таковых с функциональной точки зрения?

С одной стороны, заметным компонентом «сфер» ооцитов *Xenopus* является U7 snРНК (Wu, Gall, 1993), которая локализуется исключительно в их коилинсодержащей части, где ее концентрация во много раз превышает концентрацию snРНК сплайсинга (Bellini, Gall, 1998). Присутствие U7 snРНК еще с большей уверенностью заставляет отнести «сферы» к категории ТГЛ (Liu et al., 2009; Nizami et al., 2010a). Более того, в составе «сфер», кроме U7 snРНК, концентрируются SLBP1 (Abbott et al., 1999), FLASH и симплектин (Nizami et al., 2010b; Nizami, Gall, 2012) — диагностические компоненты ТГЛ (глава 7). Однако сами гистоновые пре-мРНК в ТГЛ не были обнаружены, в том числе и в тех тельцах, которые непосредственно связаны с гистоновыми локусами (Nizami et al., 2010b).

С другой стороны, по данным флуоресцентной гибридизации нуклеиновых кислот *in situ*, в ТГЛ ооцитов амфибий, в отличие от канонических ТГЛ, присутствуют сплайсосомные snРНК, хотя и в низкой концентрации (Gall et al., 1999). Эксперименты с микроинъекциями в ооплазму меченных флуоресцеином U1, U2 и U5 snРНК подтвердили, что сплайсосомные snРНК проходят через коилинсодержащую часть ТГЛ перед накоплением в КИГ, а усеченная форма U1 snРНК аккумулируется там, теряя способность к правильной транспортировке (Gall et al., 1999). В классических ТГЛ сплайсосомных snРНК быть не должно; их присутствие служит одной из важных характеристик ТК, в которых они подвергаются посттранскрипционным модификациям при участии scaРНК (глава 3 и 4). Как следствие, на данном этапе исследований было высказано предположение, что «сферы» ооцитов амфибий могут представлять собой «гибридные» органеллы, одновременно демонстрирующие свойства как ТК, так и ТГЛ (Liu et al., 2009), потому и обозначаемые в некоторых работах как CBs/HLBs (Nizami et al., 2010a).

Подтверждением тому, что эти необычные ядерные органеллы GV *Xenopus* в большей степени являются ТК, нежели ТГЛ, служит работа (Li et al., 2010), в которой показано, что теломеразная РНК *Xenopus* (хTR) быстро, уже через 0.5 ч после микроинъекции в GV, связывается с коилинсодержащей частью «сфер», затем так же быстро проходит через органеллу и оказывается в нуклеоплазме. Такое поведение хTR напоминает поведение hTR в классических ТК (глава 6).

Казалось бы, веским доказательством того, что определенная ядерная органелла является ТК, должно служить присутствие в ней scaРНК. Однако

распределение scaРНК в GV *Xenopus* оказалось необычным: эти РНК (например, U85 scaРНК) *отсутствуют* в «сферах» (ТК/ТГЛ), локализуясь вместо этого в иных, особых коилинсодержащих органеллах — так называемых «жемчужинах» (разд. 8.1.3). Совсем, на первый взгляд, неожиданным оказалось то, что в GV *Xenopus* U85 scaРНК локализуется не только в этих самых «жемчужинах», но... и в амплифицированных (экстрахромосомных) ядрышках (Nizami, Gall, 2012).

Как было сказано, в настоящее время классические представления о том, что scaРНК выявляются и функционируют исключительно в ТК, активно пересматриваются. Даже факты их присутствия в ядрышках теперь не вызывают удивления. Это связано с тем, что «канонические» scaРНК, как оказалось, способны модифицировать не только сплайсосомные snРНК, но и пре-рРНК, — например, псевдоуридинилировать 18S рРНК (Deryusheva, Gall, 2019). Кроме того, получены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что U2 snРНК сплайсинга (!) способна претерпевать внутренние модификации в ядрышках (!) ооцитов *Xenopus* (Yu et al. 2001). Правда, у некоторых исследователей это сообщение вызывает определенные сомнения (Deryusheva, Gall, 2019). Наконец, scaРНК pugU2–34/44 класса Н/АСА, которая у *Xenopus* обеспечивает псевдоуридинилирование U2 snРНК, формируя в ее молекуле Ψ34 и Ψ44, *не* локализуется ни в ТГЛ, ни в ядрышках, а диффузно распределена в нуклеоплазме (Zhao et al., 2002).

Помимо «запутанной истории» с ядрышковой локализацией scaРНК-гидов, таких как U85 scaРНК (Nizami, Gall, 2012), в ряде работ (Narayanan et al., 1999; Lukowiak et al., 2001; Nizami, Gall, 2012) было продемонстрировано, что с фибриллярными участками амплифицированных ядрышек ооцитов может связываться теломеразная РНК *Xenopus* (хТР). При этом ее локализация зависит от доменов Н/АСА (Lukowiak et al., 2001). Однако в другой, более поздней, работе (Li et al., 2010) показано, что ядрышки ооцитов *Xenopus* практически не содержат *эндогенной* хТР: лишь после инъекции *экзогенной* хТР в GV ее *небольшая* фракция связывается с ядрышками — и только на очень поздних сроках, через 72 ч после инъекции. Следует отметить, что по сравнению с предыдущей работой (Lukowiak et al., 2001) в этом исследовании (Li et al., 2010) для инъекций использовали меньшее количество хТР (1 фМ vs. 3 фМ), что существенно повысило разрешающую способность метода.

Белок TCAB1 — типичный компонент ТК, связывающий САВ-домен scaРНК класса Н/АСА, в том числе TR, — в GV *Xenopus* локализуется в ТГЛ, а также в тельцах-жемчужинах, но не в ядрышках (Nizami, Gall, 2012). При этом отсутствие САВ-домена никак не влияет на особенности ядерной локализации scaРНК. В качестве напоминания: САВ-домен (САВ box) считают одним из главных сигналов локализации scaРНК класса Н/АСА в ТК и одной из главных молекулярных характеристик, позволяющих различать scaРНК и другие snoРНК (глава 4).

Насколько же сложной оказалась «простая» на первый взгляд система ядерных органелл ооцитов *Xenopus*! Даже амплифицированные ядрышки, природа и функциональное значение которых не вызывают никаких сомнений, по своим свойствам и функциям напоминают экстрануклеолярные органеллы — ТК. Некоторые свойства ТК демонстрируют и ТГЛ. Высказано предположение, что «классические» функциональные ТК в ооцитах *Xenopus* либо отсутствуют (Nizami, Gall, 2012), либо могут исчезать в ходе оогенеза, существуя только на ранних стадиях, как это имеет место в трофоцитах *Drosophila* (Liu et al., 2009; Nizami et al., 2010b). Это могло бы объяснить необычное распределение в ядре специфических молекулярных компонентов в отсутствие их обычной мишени.

Если немного «выйти за пределы» амфибий, то можно видеть, что у разных организмов с гипертранскрипционным оогенезом (например, рыб) ситуация с соотношением ТК—ТГЛ может быть иной. Так, у рыбки *D. rerio* сферические тела, ассоциированные с ЛЩ, вызывают меньше сомнений в том, что они представляют собой настоящие ТГЛ. По данным флуоресцентной микроскопии, они одновременно содержат коилин и обогащены TMG-кэпированными snPHK (очевидно, U7 snPHK), но сплайсосомные snPHK в них отсутствуют (Dedukh et al., 2025). Вместе с тем функциональный анализ молекулярного состава ТГЛ ооцитов *D. rerio* пока не проводили.

Возвращаясь к ооцитам *Xenopus*, следует отметить, что ядерная локализация коилина существенно меняется в ходе их роста (Nizami et al., 2010b). В ранних ооцитах (диаметром 100–250 мкм) коилин *отсутствует* в ТГЛ, не колокализуется с U7 snPHK и FLASH, а в самых ранних ооцитах (до 100 мкм) он накапливается в независимых от ТГЛ органеллах — тельцах-жемчужинах (см. разд. 8.1.3). По мере роста ооцита коилин сначала демонстрирует диффузное распределение в нуклеоплазме, а потом постепенно (в 450-микрометровых ооцитах) начинает накапливаться в ТГЛ, достигая в них высокой концентрации к концу периода роста (в ооцитах размером 600 мкм) наряду со снижением его концентрации в нуклеоплазме.

По своей физической структуре — плотности и проницаемости — ТГЛ ооцитов амфибий довольно рыхлые, «губчатые» образования, обладающие общими физико-химическими свойствами безмембранных органелл. Несмотря на четкую морфологическую обособленность, они характеризуются относительно низкой плотностью, хорошо проницаемы для макромолекул (Handwerger et al., 2005) и способны к слиянию (Nizami, Gall, 2012). С помощью низковольтной сканирующей электронной микроскопии, которая позволяет анализировать поверхность биологических образцов без осмирования и покрытия электропроводящим материалом, подтверждено, что ядерные органеллы ооцитов *X. laevis*, включая ТГЛ, которые характеризуются высоким уровнем динамического движения молекул, обладают сложной и рыхлой структурой поверхности (Kulikova et al., 2016). Вместе с тем поверхность органелл, участвующих преимущественно в запасании РНП, более плотная и однородная.

После теплового шока (31.5–33.5 °C в течение 2–4 ч) — причем не сразу, а спустя довольно продолжительный по времени (6–18 ч) период восстановления — в GV *X. laevis* происходит формирование *de novo* особых ТК-подобных ядерных органелл. Они были названы «мини-ТК» (mini-CBs)¹⁰⁶, поскольку их размеры составляют менее 2 мкм в диаметре, тогда как размер «обычных» ТГЛ *Xenopus* достигает 10 мкм (Handwerger et al., 2002). Оказалось, что эти «мини-ТК», индуцированные тепловым шоком, имеют такой же молекулярный состав, что и обычные ТГЛ. Они содержат коилин, TMG-кэпированные snРНК, Sm-белки (Sm-эпитоп), шаперон sno/scaРНП NOLC1, транскрипционный фактор TFIIIA, фосфорилированную РНК-полимеразу II, но в них отсутствует нуклеолин (маркер ядрышек) и SRSF2 (маркер КИГ).

Формирование «мини-ТК» происходит путем самоорганизации. Интересно, что в качестве нуклеирующего фактора и предпочтительными местами сборки этих органелл в GV *X. laevis* оказались КИГ. Показано, что формирование таких «мини-ТК» не зависит от транскрипции, импорта в ядро новосинтезированных белков или деплеции U7 snРНК (Handwerger et al., 2002).

В ответ на холодовой шок (не выше +4 °C в течение 12 ч и дольше) в GV ооцитов *X. laevis* также формируются особые ядерные органеллы, названные тельцами холодowego шока (cold bodies, C-bodies¹⁰⁷) (Liu, Gall, 2021). Морфологически они напоминают «мини-ТК», формирующиеся после теплового шока (Handwerger et al., 2002), но появляются на концах хромосомы 16, где у *Xenopus* располагаются гены 5S рДНК. Кроме того, С-тельца ассоциированы с амплифицированными ядрышками. По-видимому, они имеют ДНК-содержащую центральную часть, с которой ассоциированы РНК- и белковые компоненты. Наконец, С-тельца содержат RPB6 — общую субъединицу всех трех РНК-полимераз, но не окрашиваются с помощью антител к TMG-кэпу snРНК, РНК-полимеразе II и, судя по отсутствию включения бромоеуридинтрифосфата (Br-УТФ), не содержат новосинтезированной РНК (Liu, Gall, 2021). О присутствии коилина в С-тельцах не сообщалось.

8.1.3. Тельца-жемчужины

Тельца-жемчужины (pearls) — особый тип ТК-подобных ядерных органелл, которые физически связаны с хромосомами-ЛЩ в GV *Xenopus* (*X. laevis* и *X. tropicalis*). «Жемчужинами» они названы за характерный внешний вид (shell-like), напоминающий срез культивируемого жемчуга (Nizami, Gall, 2012). Тельца-жемчужины имеют идеально правильную сферическую форму, сходные с ТГЛ (ооцитов *Xenopus*) размеры и высокую преломляющую способность при наблюдении с помощью фазово-контрастной микроскопии.

¹⁰⁶ Теперь мы понимаем, что нужно было бы написать «мини-ТГЛ», но в то время ТГЛ еще не были открыты, и я привожу оригинальное название.

¹⁰⁷ Не путать с историческим термином C-snurposome!

Как и другие безмембранные органеллы, это динамичные, равновесно-устойчивые структуры, способные обмениваться содержимым с окружающей нуклеоплазмой, а также к слиянию между собой. При этом объединения «жемчужин» с другими органеллами (например, ТГЛ) не наблюдали.

В составе телец-жемчужин четко выявляется коилин, который локализуется преимущественно в их периферической части (shell). С ними также ассоциируют scaРНК — например, эндогенная U85 *Xenopus* и инъецированная в ооплазму зрелых ооцитов *X. tropicalis* стадии V экзогенная mgU2–28 scaRNA *D. melanogaster* (Nizami, Gall, 2012). Выявление коилина и scaРНК, включая xTR, первоначально заставило авторов думать, что тельца-жемчужины и есть истинные ТК — в отличие от «сфер» (ТГЛ). Однако в составе этих «жемчужин» не были выявлены snРНК сплайсинга: такие органеллы не окрашивались с помощью антител ни к Sm-белкам, ни к TMG-кэпу snРНК (Nizami, Gall, 2012). Следовательно, тельца-жемчужины не являются функциональными аналогами канонических ТК и не могут участвовать в модификациях сплайсосомных snРНК, несмотря на присутствие scaРНК в их составе. По этой причине авторы отнесли их к категории «ТК-подобных» структур.

Цитологический анализ показал, что тельца-жемчужины связаны с хромосомами-ЛЩ обоих исследованных видов *Xenopus* (*X. laevis* и *X. tropicalis*) исключительно в участках транскрипции, зависимой от РНК-полимеразы III. Однако сама РНК-полимераза III в этих органеллах не выявлена. Вместе с тем подавление зависимой от РНК-полимеразы III транскрипции с помощью специфического ингибитора тагетитоксина¹⁰⁸ (tagetitoxin) приводило к 100%-ному исчезновению «жемчужин» (Nizami, Gall, 2012). Это свидетельствует о возможной их роли не в синтезе, а в процессинге первичных транскриптов, синтезируемых РНК-полимеразой III, — таких как пре-тРНК, 5S пре-рРНК и других подобного рода коротких ncРНК.

Кроме двух исследованных видов *Xenopus* пока отсутствуют сведения о присутствии телец-жемчужин в GV других амфибий или в ядрах каких-либо других клеток. Таким образом, это, по-видимому, специфические ядерные органеллы ооцитов представителей рода *Xenopus* — по крайней мере, двух исследованных видов. Проводя аналогии с известными ядерными структурами/компартаментами, авторы (Nizami, Gall, 2012) сравнили «жемчужины» с так называемым перинуклеарным компартментом клеток млекопитающих (Pollock, Huang 2010), с которым ассоциируются ядерные процессы, зависящие от активности РНК-полимеразы III. В GV *Xenopus* как таковой перинуклеарный компартмент не выражен. Уникальность ТК-подобных «жемчужин» состоит в том, что они содержат коилин и scaРНК, которые в «каноническом» перинуклеолярном компартменте отсутствуют.

Следует отметить, что тельца-жемчужины являются «атрибутом» GV только на стадии ранней диплотены: в ходе оогенеза *Xenopus* они впервые

¹⁰⁸ Бактериальный фитотоксин, продуцируемый *Pseudomonas syringae*.

появляются в ооцитах размером примерно 50 мкм, когда хромосомы вступают в стадию ЛЩ. Однако по мере роста (в 100–150-микрометровых ооцитах) «жемчужины» теряют коилин и перестают выявляться (Nizami, Gall, 2012).

8.2. «НЕКАНОНИЧЕСКИЕ» КОИЛИНСОДЕРЖАЩИЕ ТЕЛА В ООЦИТАХ РЕПТИЛИЙ И ПТИЦ

Ядро диплотноного ооцита (GV) птиц, как и GV амфибий, содержит транскрипционно активные ЛЩ и разнообразные по морфологии экстрахромосомные ядерные органеллы. Среди последних наиболее заметны так называемые центромерные белковые тела (ЦБТ), которые долгое время сравнивали с ЛЩ-ассоциированными ТГЛ амфибий (разд. 8.1.2). Однако это сравнение было основано исключительно на внешнем сходстве, специфической ассоциации с ЛЩ и крупных размерах. Например, на стадии ЛЩ в ооцитах зяблика *Fringilla coelebs* ЦБТ достигают 12 мкм (Гагинская, Грузова, 1969). Позднее оказалось, что с ядерными органеллами GV амфибий ЦБТ птиц имеют мало общего (Saifitdinova et al., 2003; Krasikova et al., 2004, 2005). В частности, они *не* содержат ни коилина, ни TMG-кэпированных snРНК, ни других типичных компонентов ТК, таких как фибрилларин или NOLC1 (Krasikova et al., 2004).

Однако в GV птиц выявляются и содержащие коилин ядерные органеллы (биомолекулярные конденсаты), которые, как и в случае амфибий, весьма непросто классифицировать. Согласно работе (Galkina et al., 2025), выполненной на GV зебровой амадины *Taeniopygia guttata*, на стадии полностью развитых ЛЩ ядро ооцита содержит большое количество (до сотни) гетерогенных по размеру (до 13 мкм) коилинсодержащих ядерных тел. На светооптическом уровне большинство из них имеет характерную тороидную форму; при этом коилин в таких телах локализуется в периферической зоне. Однако физическое наличие крупной центральной вакуоли в таких телах пока не подтверждено в отсутствие электронно-микроскопических данных.

Хотя большинство коилинсодержащих тел в GV *T. guttata* лежит свободно в нуклеоплазме, некоторая их часть специфическим образом ассоциирована с центромерами хромосом типа ЛЩ (Galkina et al., 2025). Однако эти тела не являются каноническими ЦБТ других птиц (Gaginskaya et al., 2009), хотя и имеют с ними ряд общих черт помимо центромерной локализации. С одной стороны, в них присутствует коилин, который типичные ЦБТ не содержат (Krasikova et al., 2004). С другой стороны, в них отсутствует ДНК-топоизомераза II β , которой, наоборот, обогащены ЦБТ зяблика (Krasikova et al., 2004). Вместе с тем в коилинсодержащих телах ооцитов *T. guttata*, ассоциированных с центромерами, выявляются белки

когезинового комплекса SMC1 β и Rad21 (Galkina et al., 2025), характерные для ЦБТ других птиц (Krasikova et al., 2005).

По данным тех же авторов (Galkina et al., 2025) коилинсодержащие тела GV зебровой амадины не содержат белка FLASH и потому не могут быть отнесены к категории ТГЛ (глава 7). Однако кроме коилина в них детектирована (с помощью FISH) типичная scaPHK — SCARNA2, на основании чего эти тела можно было бы отнести к категории неканонических ТК. Фибрилларин, также обнаруженный в этих телах, как было неоднократно отмечено, является в равной мере белком и ядрышка, и ТК.

Но всем перечисленным не исчерпываются особенности молекулярного состава коилинсодержащих тел GV *T. guttata* по сравнению с «каноническими» ядерными органеллами. В них, например, неожиданным образом выявлены заметные количества фактора сплайсинга SR-белка SRSF2 (Galkina et al., 2025) — маркера ядерных спеклов/КИГ (Боголюбов, 2018), несмотря на то, что вопрос об интенсивной транскрипции генов, кодирующих белки, на стадии ЛЩ остаётся дискуссионным (Krasikova et al., 2023, 2024). Следует напомнить, что если типичные ТК позвоночных SRSF2 не содержат, то он нередко обнаруживается в коилинсодержащих телах ооцитов некоторых беспозвоночных животных (Bogolyubov et al., 2009; обсуждение этого вопроса см. разд. 8.3.1).

Еще один пример необычных коилинсодержащих тел ооцитов птиц демонстрирует GV голубя сизого *Columba livia*, у которого на морфологическом уровне описано 2 типа органелл сферической формы (Хутинаева и др., 1989): 1) плотные, однородные или слабо вакуолизированные фибриллярные тела размером около 6 мкм; 2) более крупные тела, достигающие 12 мкм в диаметре, основной объем которых занимает гигантская электронно-прозрачная вакуоль, содержимое которой по морфологическим признакам отличается от окружающей нуклеоплазмы. Иммуноцитохимический анализ показал, что оба типа структур — мелких и крупных — накапливают коилин и snPHП, но в них не выявляются U7 snPHK и симплекин (Khodyuchenko et al., 2012). Таким образом, их нельзя считать ТГЛ, но эти же коилин/snPHП-содержащие тела не демонстрируют и типичных молекулярных компонентов ТК, связанных с процессингом пре-pPHK, таких как фибрилларин, NOLC1 и NO38 (Khodyuchenko et al., 2012). Поэтому они могут рассматриваться лишь как ТК-подобные органеллы, а не как истинные ТК.

Принято считать, что в ооцитах птиц, находящихся в яичниках взрослых особей, инактивирован ядрышковый организатор (NOR) и отсутствуют ядрышки (Гагинская, Грузова, 1969; Гагинская, 1972а, 1972б; Gaginskaya et al., 2009; Koshel et al., 2016). В частности, крупное одиночное ядрышко довольно рано исчезает в GV зебровой амадины (Galkina et al., 2025) и курицы (Давидьян и др., 2023). В этом случае «неканонический» молекулярный состав коилинсодержащих ядерных органелл, выражающийся в отсутствии в них молекулярного «модуля», отвечающего за процессинг пре-pPHK,

на первый взгляд, можно было бы объяснить отсутствием ядрышек, синтеза и процессинга рРНК.

Однако в эту схему не укладываются, например, данные, полученные при исследовании ядерных структур GV красноухой черепахи *Trachemys scripta* (Davidian et al., 2021). У представителей таксономической ветви Sauropsida, которая включает птиц и рептилий, функциональность ядрышкового организатора ооцитов существенно различается у разных организмов и не зависит от их филогенетической близости (Davidian et al., 2021 и лит. там же). Оказалось, что в оогенезе *T. scripta* на стадии ЛЩ, наоборот, имеет место амплификация ядрышкового организатора и формирование множественных экстрахромосомных ядрышек. Однако все разнообразные по морфологии коилинсодержащие ядерные органеллы ооцитов этого вида черепах не содержат фибрилларина. Вместе с тем в них отсутствует фактор процессинга пре-мРНК гистонов FLASH, и потому эти органеллы не являются ТГЛ. Таким образом, перед нами еще один пример «неканонических» ТК или ТК-подобных органелл. В ядре ранних диплотенных ооцитов *T. scripta* присутствует одичное коилинсодержащее тело, а в ходе роста ооцита, параллельно с увеличением количества амплифицированных ядрышек, появляются многочисленные коилинсодержащие органеллы различного размера, наиболее крупные из которых (> 10 мкм в диаметре) вакуолизированы (Davidian et al., 2021).

Если в последние годы принято говорить о том, что ТК и ТГЛ являются после ядрышка одними из наиболее хорошо изученных ядерных органелл (разумеется, в данном случае речь идет о соматических клетках млекопитающих), несмотря на долгую историю изучения, ядерные структуры (био-конденсаты) ооцитов, особенно их функции, во многом еще остаются *terra incognita*.

8.3. КОИЛИНСОДЕРЖАЩИЕ ЯДЕРНЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ ООЦИТОВ НЕКОТОРЫХ НАСЕКОМЫХ

8.3.1. «Внутренние тела» (Binnenkörper/endobodies)

Еще в начале XX в. в GV двух видов сверчков (отр. Orthoptera) — домового сверчка *Acheta domesticus* (в то время *Gryllus*) и медведки *Gryllotalpa gryllotalpa* — среди сотен амплифицированных ядрышек были замечены крупные органеллы, характерными особенностями которых являлись абсолютно правильная сферическая форма и довольно крупные размеры. Кроме того, они заметно отличались от ядрышек по характеру окрашивания гистологическими красителями, потому сразу не возникло сомнений в том, что это какие-то особые тела, от ядрышек отличающиеся (Jørgensen, 1913). Позднее похожие ядерные органеллы были найдены в GV других насекомых и названы «внутренними телами» — *ориг. нем.* Binnenkörper, *англ.* endobodies (Bier et al., 1967). В настоящее время считают, что Binnenkörper ооцитов

насекомых могут представлять собой или специализированные ТК, или ТГЛ, или структуры, проявляющие свойства органелл обоих этих типов.

Заметные *Binnenkörper*, которые можно легко наблюдать даже в нефиксированных ядрах при малых увеличениях микроскопа, особенно с использованием DIC, наиболее характерны для насекомых с паноистическими яичниками¹⁰⁹, как упомянутый домовый сверчок (рис. 34). Однако крупные *Binnenkörper* присутствуют в GV не только сверчков, но также, например, саранчи *Locusta migratoria* (Kunz, 1967) и тараканов *Periplaneta americana* (Macgregor, 1982) и *Blatella germanica* (Bier et al., 1967).

В GV некоторых насекомых, имеющих яичники мероистического типа (и политрофных, и телотрофных), иногда также могут формироваться относительно крупные ядерные органеллы, напоминающие *Binnenkörper* насекомых с паноистическими яичниками (Bier et al., 1967). Например, GV поздних вителлогенных ооцитов жулики *Carabus violaceus* (имеет яичники телотрофного типа) содержит единственный *Binnenkörper* гигантского размера — около 25–30 мкм в диаметре при размерах самого GV примерно 100 × 50 мкм (Jaglarz, 2001). С помощью иммуноэлектронной микроскопии в составе такого тела обнаружены и коилин, и snРНП, и потому оно было отнесено к категории ТК (Jaglarz, 2001). В GV превителлогенных ооцитов *C. violaceus* также обнаруживается > 50 разных других телец диаметром от 0.5 до 10 мкм, при этом автор не исключает, что гигантский *Binnenkörper* может формироваться за счет их слияния. О компонентах ТГЛ в их составе не сообщалось.

Среди насекомых с мероистическими яичниками наиболее хорошо известным примером присутствия в GV относительно крупных коилинсодержащих *Binnenkörper* служат ооциты дрозофилы (имеет яичники политрофного типа). У *D. melanogaster* такие тела были однозначно идентифицированы как своеобразные ТК (Liu et al., 2006a). Сходные органеллы присутствуют в GV вителлогенных ооцитов и некоторых других Diptera — например, серой мясной мухи *Sarcophaga* sp. (Bogolyubov, Stepanova, 2007) (рис. 34).

¹⁰⁹ О типах строения яичников насекомых, их цитофизиологии и эволюции см., например, обзор (Büning J. The Insect Ovary: Ultrastructure, Previtellogenic Growth and Evolution. London, Chapman & Hall, 1994). Анатомической и функциональной единицей яичника насекомых является яйцевая трубка (овариола). В паноистических яичниках (от греч. πάν — весь, ὄν — яйцо) растущие ооциты развиваются в окружении только слоя фолликулярных клеток, т. е. в отсутствие питающих клеток (трофоцитов, nurse cells). У насекомых с мероистическими яичниками (от греч. μέρος — часть, ὄν — яйцо) растущие ооциты, наоборот, связаны с трофоцитами — абортивными ооцитами, чьи полиплоидные ядра служат основным источником РНК, прежде всего рРНК, в оогенезе. В политрофных мероистических яичниках (как у дрозофилы) ооцит развивается в расположенных по их длине яйцевых камерах, в каждой из которых он связан с несколькими трофоцитами цитоплазматическими мостиками, возникающими в ходе дифференцировки ооцитов и трофоцитов как результат неполной цитотомии. В телотрофных мероистических яичниках все трофоциты сосредоточены в гермари (трофари) — концевом отделе овариолы, и связаны с ооцитами трофическими тяжами. Существуют еще вторичные паноистические (непаноистические) яичники, возникшие в эволюции в результате утраты трофоцитов в мероистических яичниках (Biliński S. M. Filogeneza owadów a struktura i ultrastruktura ich jajników. // Przegląd Zool. 1998. Vol. 42. P. 35–51).

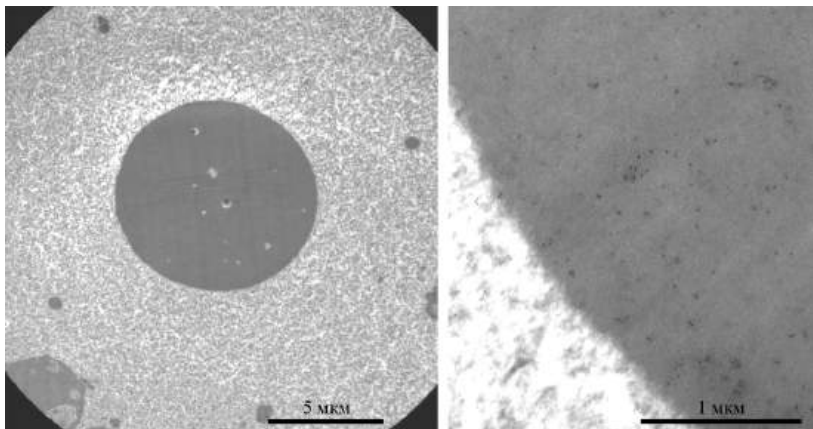


Рис. 34. Внутреннее тело (Binnenkörper) в ядре вителлогенного ооцита серой мясной мухи *Sarcophaga* sp. (ориг.)

a — общий вид; *б* — фрагмент после обработки антителами к коилину *Drosophila* (любезно предоставлены Дж. Голлом [J. G. Gall], Carnegie Institution for Science, Baltimore, DC), иммуноэлектронная микроскопия, частицы золота 10 нм

За пределами насекомых отчетливые Binnenkörper, содержащие snРНП и коилин, характеризуют GV некоторых пауков: американского домашнего паука *Achaearanea (Theridion) tepidariorum* (Gall, Callan, 1989) и крестовика обыкновенного *Araneus diadematus* (Боголюбов, Боголюбова, 2007). Пауки имеют солитарный тип оогенеза, при котором цитофизиологические особенности развития ооцита, по-видимому, сходны с таковыми в паностиических яичниках насекомых.

Следует отметить, что давно открытые (Jørgensen, 1913) крупные одиночные Binnenkörper не являются обязательным «атрибутом» GV всех исследованных насекомых. Например, в GV жуков-хрущаков¹¹⁰ — большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* (Bogolyubov et al., 2000; Bogolyubov, Parfenov, 2001) и малого булавоусого хрущака *Tribolium castaneum* (Bogolyubov et al., 2013) — присутствуют многочисленные довольно мелкие тельца, размер которых составляет в среднем 0.5–2 мкм. В GV *T. molitor* иногда встречаются и более крупные тела, до 6–8 мкм в диаметре, но не во всех ооцитах (Боголюбов и др., 1997). В редких случаях отдельные ооциты *T. molitor* могут содержать еще более крупные тельца, достигающие 10 мкм в диаметре (Александрова и др., 1995). Их отличает присутствие крупной вакуоли, из-за которой на срезах они выглядят кольцевидными. Однако есть мнение, что присутствие подобных структур в GV насекомых может отражать дегенерацию конкретного ооцита (Huebner, 1984).

¹¹⁰ Представители сем. Tenebrionidae (Coleoptera, Polyphaga); имеют яичники мероистического телотрофного типа.

На ультраструктурном уровне ядерные тельца *T. molitor* (Bogolyubov et al., 2000; Bogolyubov, Parfenov, 2001), *T. castaneum* (Bogolyubov et al., 2013) и еще одного жука из того же семейства — *Tenthyrina nomas taurica* (Александрова, 1992) демонстрируют различные комбинации фибриллярного (5–10 нм) и фибриллярно-гранулярного материала (30–40 нм). Многие ядерные тельца ооцитов *T. molitor* и *T. castaneum* содержат snРНП, а некоторые — белок SRSF2, напоминая по этому признаку КИГ. Кроме того, отдельные ядерные тельца ооцитов этих видов жуков содержат коилин. В вителлогенных ооцитах *T. molitor* с ними целенаправленно связывается экзогенный коилин *Xenopus* после инъекций в ооплазму его мРНК, меченной тус-тэгом (Боголюбов, 2003). Кроме того, некоторые тельца ооцитов *T. molitor* содержат нефосфорилированную РНК-полимеразу II, другие — фосфорилированную, а третьи — одновременно обе ее формы (Bogolyubov, Parfenov, 2004). Однако, учитывая транскрипционную инактивацию хроматина в GV *T. molitor* к концу развития кариосферы¹¹¹ (Bogolyubov, 2007), РНК-полимераза II в составе ядерных телец ооцитов этого вида жуков, очевидно, функционально неактивна. Основная проблема в характеристике ядерных органелл GV жуков-тенебрионид состоит в том, что нет четкой корреляции между их ультраструктурой и молекулярным составом.

Около 30 лет тому назад Binnenkörper в GV сверчка *A. domesticus* привлекли к себе особое внимание, поскольку было обнаружено, что они интенсивно окрашиваются с помощью антител к Sm-белкам и TMG-кэпу snРНК (Gall, Callan, 1989). Этот факт, свидетельствующий об аккумуляции snРНК, как и интенсивная реакция с антителами к коилину и фибрилларину (Gall et al., 1995; Tsvetkov et al., 1997; Stepanova et al., 2007), позволил рассматривать их в качестве ТК. Аналогичным образом к ТК были отнесены Binnenkörper другого насекомого с паноистическими яичниками — не определенной до вида стрекозы-красотки (Цветков и др., 1996). Первые иммунофлуоресцентные исследования, выполненные на Binnenkörper ооцитов сверчка послужили одним из элементов для разработки концепции универсальности и эволюционной консервативности ТК (Gall et al., 1995; Gall, 2000, 2003).

В начале диплотены в GV *A. domesticus* присутствует несколько относительно мелких (2–4 мкм в диаметре) и однородных по структуре (рис. 35, а) коилинсодержащих телец, однако к концу периода роста ооцита выявляется обычно лишь одно крупное тело — типичный Binnenkörper, диаметр которого может достигать 20 мкм (рис. 35, б). Предполагают, что оно формируется за счет слияния мелких телец в одно крупное (Gall et al., 1995), однако детали (динамика) этого процесса не прослежены.

В поздних диплотенных ооцитах *A. domesticus* такое тело демонстрирует уникальные морфологические особенности, возникающие, очевидно, за счет вторичного деления фаз, и детально описанные на ультраструктурном

¹¹¹ В отличие от *T. molitor*, у *T. castaneum* включение Br-УТФ в кариосферу происходит вплоть до заключительных этапов роста ооцита (Bogolyubov et al., 2013).

уровне (Filek et al., 2002; Stepanova et al., 2007). В результате образуется «сложный» Binnenkörper (рис. 35, б, в, д), который состоит из: 1) тонкофибриллярного коилинсодержащего «матрикса», образованного плотно упакованными фибриллами толщиной 5 нм; 2) обширной центральной полости, по морфологическим признакам отличающейся от остальной нуклеоплазмы и содержащей крупные гранулы размером до 40–45 нм; 3) расположенной внутри полости гранулярной суборганеллы, состоящей из гранул размером 35–45 нм, которая из-за своих морфологических особенностей и интенсивной реакции с антителами к snPHK и SRSF2 была названа «внутренним КИГ» (Stepanova et al., 2007) (рис. 35, в, д).

Однако природа Binnenkörper *A. domesticus* как особого рода сложных ТК, очевидно, теперь должна быть пересмотрена, поскольку с их коилинсодержащим матриксом специфически связывается флуоресцентно меченая U7 snPHK, инъецированная в ооплазму (Stepanova et al., 2007; рис. 35, з). По этой причине такие органеллы (как и «сферы» ооцитов *Xenopus*), следует рассматривать не как ТК, а как ТГЛ. Интересно, что крупные Binnenkörper *A. domesticus* физически связаны с хромосомами, напоминающими ЛЩ (рис. 35, в). Однако характеристика этих участков (например, являются ли они локусами гистоновых генов), к сожалению, не проведена.

Кстати, «переквалифицировать» из ТК в ТГЛ, очевидно, следует и коилинсодержащие ядерные органеллы другого насекомого — скорпионницы *Panorpa communis*¹¹², с которыми, как и в случае Binnenkörper *A. domesticus*, целенаправленно связывается экзогенная U7 snPHK (Batalova et al., 2005). При этом U7 snPHK целенаправленно следует к тельцам разных морфологических типов, а не только ассоциирует с крупными одиночными (типичными) Binnenkörper, которые в GV *P. communis* тоже иногда присутствуют.

Коилинсодержащий матрикс сложных ТГЛ ооцитов *A. domesticus* демонстрирует слабую, но вполне заметную (особенно на ультраструктурном уровне) иммуноцитохимическую реакцию с антителами к SRSF2 — маркеру КИГ, являясь примером сложной ядерной органеллы, объединяющей отдельные признаки как ТК/ТГЛ, так и КИГ (Bogolyubov et al., 2009). При этом подавление транскрипции с помощью DRB приводит к исчезновению SRSF2 из коилинсодержащего матрикса, что сопровождается структурными перестройками, которые затрагивают центральный КИГ и приводят к появлению сплошного слоя интерхроматиновых гранул на поверхности органеллы (Stepanova et al., 2007).

Белок SRSF2 является заметным компонентом разнообразных и морфологически сложных коилинсодержащих ядерных органелл ооцитов вышеупомянутой скорпионницы *P. communis* (Batalova et al., 2005), а также некоторых видов клопов¹¹³: *Notostira elongata*, *Capsodes gothicus* (сем. Miridae) и *Velia caprai* (сем. Veliidae) (Bogolyubov et al., 2007). В ряде случаев SRSF2 и коилин могут

¹¹² Представитель отряда Mecoptera; имеет яичники мероистического политрофного типа.

¹¹³ У клопов (Hemiptera) яичники телотрофного типа.

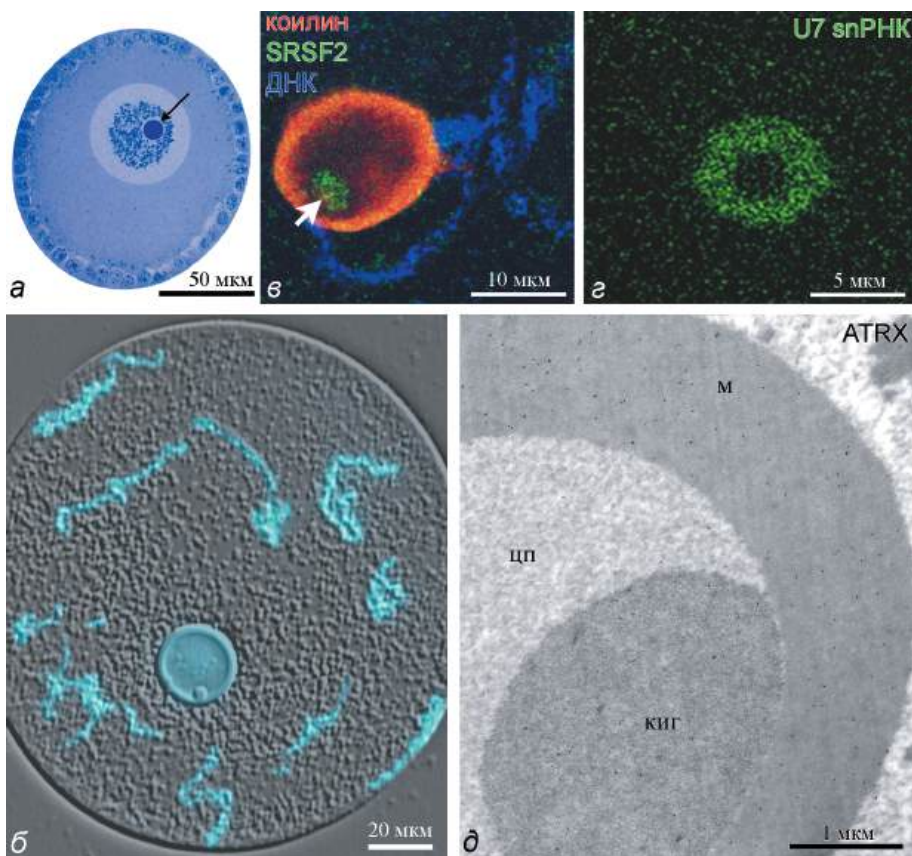


Рис. 35. Коилинсодержащие тела (тельца гистоновых локусов?) ооцитов сверчка *Acheta domestica*

a — срез через фолликул, содержащий поздний превителлогенный ооцит; среди массы амплифицированных ядрышек в ядре выделяется крупное ТГЛ (Binnenkörper) правильной сферической формы (стрелка), которое на этой стадии имеет однородное строение; *б* — изолированное нефиксированное ядро позднего вителлогенного ооцита; DIC, окраска DAPI. Хромосомы на этой стадии имеют вид ламповых щеток; экстрахромосомное тело (стрелка) имеет сложное внутреннее строение (по: Степанова и др., 2007); *в* — сложное ТГЛ вителлогенного ооцита после иммуноцитохимического окрашивания с помощью антител к коилину (красный цвет) и SRSF2 (зеленый цвет), ДНК окрашена DAPI (синий цвет); ТГЛ связано с хромосомой, его коилинсодержащий матрикс содержит некоторое количество белка SRSF2 (желтый цвет) в результате наложения красного и зеленого сигналов), который в основном концентрируется во внутреннем кластере интерхроматиновых гранул (белая стрелка), расположенном в центральной полости (по: Stepanova et al., 2007); *г* — экзогенная U7 snRNP после инъекции в ооплазму целенаправленно связывается с матриксом ТГЛ (по: Stepanova et al., 2007); *д* — фрагмент сложного ядерного тела после обработки антителами к ATRX (частицы золота 10 нм), который присутствует как в кластере интерхроматиновых гранул (киг), расположенном внутри центральной полости (цп), так и в коилинсодержащем матриксе (м) (по: Степанова, Боголюбов, 2017)

быть выявлены в одних и тех же структурах. Однако, например, самое крупное тело (Binnenkörper) в GV клопа-слепняка *N. elongata* содержит SRSF2 только в периферических суборганеллах, морфологически напоминающих периферические ТГЛ-ассоциированные КИГ ооцитов амфибий. Вместе с тем SRSF2 полностью отсутствует в Binnenkörper двукрылых — серой мясной мухи *Sarcophaga* sp. (Bogolyubov, Stepanova, 2007) и, по-видимому, *Drosophila*.

Следует особо еще раз подчеркнуть, что SR-белки *не* являются компонентами «канонических» ТК (и ТГЛ, разумеется). Поэтому неоднократные случаи выявления SRSF2 в коилинсодержащих структурах GV насекомых следует рассматривать исключительно как необычный пример «пластичности» молекулярного состава этих специализированных ядерных органелл, а данные о колокализации SRSF2 и коилина ни в коем случае нельзя экстраполировать на ТК и ТГЛ эукариотических клеток в целом.

Интересно, что в коилинсодержащем матриксе сложных ТГЛ ооцитов сверчка *A. domesticus* отсутствует РНК-полимераза II, но при этом накапливаются белки-коактиваторы транскрипции: CBP/p300 и белок TBP — TATA-связывающий компонент базального фактора транскрипции TFIID (Степанова и др., 2007). Эти белки совершенно не характерны ни для ТК, ни для ТГЛ других клеток. Наконец (что тоже весьма удивительно и пока необъяснимо), и «внутренний» КИГ, и коилинсодержащий матрикс ТГЛ ооцитов сверчка демонстрируют интенсивную реакцию с антителами к хроматинре-моделирующему белку ATRX (Степанова, Боголюбов, 2017) (рис. 35, д).

Et iterum: в наш век высоких технологий как мало мы знаем о том, как устроено ядро ооцита!

8.3.2. Коилинсодержащие органеллы в специфических органеллах ооцитов — так называемых «добавочных ядрах»

Ооциты некоторых беспозвоночных животных, включая представителей отдельных отрядов насекомых, ракообразных, многоножек, нематод (Jaglarz et al., 2008), а также аннелид (пиявок) (Świątek, 2005) и плоских червей — лецитоэпителиат¹¹⁴ (Боголюбов, Грузова, 1994), содержат особые цитоплазматические мембранные органеллы, исторически называемые добавочными (аксессуарными) ядрами (accessory nuclei). Они были открыты немецким

¹¹⁴ Lecithoepitheliata — своеобразный и консервативный отряд плоских червей группы Neophora, у которых ооциты олиголецитальные, а желток синтезируется не ооцитом, а специализированными желточными клетками — вителлоцитами. Особенность Lecithoepitheliata — формирование вителлоцитами стенки уникальных фолликулов, отсюда название отряда (Тимошкин О. А. Ресничные черви оз. Байкал I. Turbellaria Prorhynchidae. Морфология, систематика и филогения Lecithoepitheliata // Морфология и эволюция беспозвоночных : Сб. науч. тр. / АН СССР, Сиб. отд-ние, Лимнол. ин-т; Отв. ред. А. А. Линевич, Э. Л. Афанасьева. — Новосибирск : Наука : Сиб. отд-ние, 1991. С. 63—185; Боголюбов Д. С. Сравнительно-цитологическое исследование оогенеза турбеллярий — представителей отряда Lecithoepitheliata : дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.25 / Ин-т цитологии Рос. АН. — Санкт-Петербург, 1992).

зоологом Блохманом (F. J. W. Blochmann, 1859–1931) в ооцитах ос и муравьев еще во второй половине XIX в. (Blochmann, 1886; цит. по: Jaglarz et al., 2008), но на современном уровне остаются почти не изученными. Добавочные ядра формируются путем почковывания (блеббинга) ядерной оболочки ооцита. В результате их оболочка состоит из двух мембран и идентична ядерной оболочке. Характерная особенность добавочных ядер — присутствие в них относительно крупных электронно-плотных фибриллярно-гранулярных включений разных типов (Jaglarz et al., 2008).

У осы *Vespa germanica* (отр. Hymenoptera; имеют яичники политрофного типа) включения одной группы на ультраструктурном уровне состоят из двух частей: тонкофибриллярного биоконденсата, гомогенного по ультраструктуре и имеющего правильную сферическую форму, и тесно ассоциированной с ним (иногда окружающей его) более рыхлой структуры, образованной электронно-плотными гранулами размером 20–30 нм (Jaglarz et al., 2005). Таким образом, внешне эти включения весьма напоминают «сферы» GV амфибий — «матрикс» + Б-снёрпосома/КИГ, — только миниатюрные (Biliński, Kloc, 2002). Хотя в одном из ультраструктурных исследований (Jaglarz et al., 2005) использовали антитела к SRSF2, иллюстрации на этот счет не приведены, и потому мы не знаем, напоминает ли гранулярная часть таких включений КИГ, несмотря на то что гранулы по размеру соответствуют интерхроматиновым. Однако, возможно, это действительно так, поскольку этот гранулярный материал по данным иммуноэлектронной микроскопии содержит snРНП — TMG-кэпированные snРНК и Sm-белки (Jaglarz et al., 2005).

Любопытно, что тонкофибриллярная «сфера» добавочных ядер *V. germanica* также содержит snРНП, а вместе с ними коилин и SMN; кроме того, в составе таких включений с помощью ультраструктурной гибридизации нуклеиновых кислот *in situ* выявлены сплайсосомные U5 и U6 snРНК (Biliński, Kloc, 2002). Эти обстоятельства позволили авторам называть эти структуры ТК (Biliński, Kloc, 2002; Jaglarz et al., 2005, 2008). Тем не менее, поскольку речь идет не о структурах GV, а о специфических *цитоплазматических* органеллах ооцита, вряд ли такие коилин/SMN/snРНК-содержащие макромолекулярные конденсаты можно считать эквивалентами ТК во всех отношениях.

Считают, что добавочные ядра участвуют в становлении специфической полярности ооцита (Biliński, 1991) и обеспечивают ядерно-цитоплазматический транспорт крупных макромолекулярных комплексов, которые не могут пройти через ядерные поры. Главным образом речь идет о метаболизме snРНП, которые добавочные ядра доставляют в кортикальную область ооцита, где snРНП высвобождаются после дезинтеграции их оболочки и затем передаются в эмбрион, реализуя свои функции при возобновлении экспрессии генов (Biliński, Kloc, 2002). Экспериментальные подтверждения этой гипотезы отсутствуют. У разных организмов «судьба» добавочных ядер может быть различной: они могут длительное время оставаться вблизи ядра,

как у некоторых насекомых (Jaglarz et al., 2008), или, наоборот, быстро деградировать, как у некоторых плоских червей (Боголюбов, Грузова, 1994).

Важно отметить, что в литературе имеются указания на то, что добавочные ядра ооцитов *V. germanica* (Jaglarz et al., 2008), а также плоского червя — лецитоэпителиаты *Geocentrophora baltica* (Боголюбов, Грузова, 1994) не содержат ДНК. Поэтому эти специфические органеллы — добавочные ядра — не следует путать с так называемыми микроядрами, появление которых сопровождается программируемую элиминацию ДНК в онтогенезе многих организмов: в этом случае такие микроядра содержат фрагменты хромосом или даже целые хромосомы (Dedukh, Krasikova, 2022).

8.3.3. Тельца Кахаля и тельца гистоновых локусов ооцитов дрозофилы

В половых и соматических клетках *Drosophila* ТК и ТГЛ — обособленные ядерные органеллы, содержащие молекулярные компоненты, типичные для органелл каждого из этих двух типов (Nizami et al., 2010b). Спецификой ТК (Binnenkörper) поздних ооцитов *Drosophila* (Liu et al., 2006a), а также другой мухи — *Sarcophaga* (Bogolyubov, 2018), является их физическая связь с кариосомой¹¹⁵, компактной гетерохроматинизированной структурой, образованной конденсированными бивалентами в ограниченном участке GV.

В ранних ооцитах *D. melanogaster* (стадии 1–2 по общепринятой классификации¹¹⁶) одиночное ТК имеет размер 0.5 мкм в диаметре, но постепенно увеличивается, достигая 1–1.5 мкм в диаметре на стадиях 3–4. На стадии 10 оно фрагментируется, давая начало множеству мелких телец (Liu et al., 2006a). Отметим, что для этой стадии характерен специфический для оогенеза дрозофилы кратковременный всплеск транскрипционной активности кариосомы, в то время как на остальных стадиях она транскрипционно инертна (Mahowald, Tiefert 1970).

Тельце гистонового локуса в GV дрозофилы также связано с периферией кариосомы, но демонстрирует иную морфодинамику. Будучи одиночным на стадии 1 развития яйцевой камеры, ТГЛ постепенно уменьшается в размерах и исчезает на стадии 5. Как следствие, в ядре ооцитов более поздних стадий присутствует только ТК. Однако в трофоцитах — клетках зародышевой линии, имеющих с ооцитами общее происхождение, — параллельно с несколькими циклами эндополиплоидизации ядер одиночное ТГЛ на стадии 4 замещается несколькими органеллами в количестве 4–8 (Liu et al., 2006a).

Помимо ТК и ТГЛ, GV *D. melanogaster* содержит ряд иных ядерных телец, которые, что удивительно, остаются до сих пор практически не охарактеризованными даже у такого распространенного модельного организма, как

¹¹⁵ Кариосома — вариант «простой» кариосферы без внешней экстрахромосомной капсулы; подробнее см. обзор (Bogolyubov, 2018).

¹¹⁶ King R. C. Ovarian development in *Drosophila melanogaster*. New York: Academic Press, 1970.

дрозофила. Среди них, например, описано тело, составленное перекрученными электронно-плотными тяжами и напоминающее по ультраструктуре ТК соматических клеток млекопитающих. Однако такая органелла не содержит молекулярных компонентов канонических ТК (Liu et al., 2006b).

Между прочим, фибриллярно-гранулярные ядерные тельца неизвестной природы, которые по ультраструктурной морфологии напоминают ядерные тельца ооцитов других насекомых, но не содержат ни snРНП, ни коилина (компонентов ТК/ТГЛ), ни SRSF2 (компонента КИГ), описаны в GV яблонного цветоеда (жука-долгоносика) *Anthonomus pomorum* (Świątek, Jaglarz, 2004), а также некоторых Phthiraptera — свиной вши *Haematopinus suis* и пухоеда *Columbicola columbae* (Żelazowska, Jaglarz, 2004). Подобного рода структуры, вероятно, следует относить к категории HERDS — гетерогенных эктопических РНП-содержащих структур (Biggiogera, Pellicciari, 2000).

Из приведенных фактов относительно коилинсодержащих ядерных органелл ооцитов, напрашиваются выводы о том, что, во-первых, не всегда локализация конкретного молекулярного компонента свидетельствует о функциях этого компонента в конкретной органелле; во-вторых, функции такого компонента могут быть разнообразны и отличаться от «канонических» функций в ТК или ТГЛ. Наконец, в ооцитах беспозвоночных весьма непросто провести «демаркационную линию» между ядерными органеллами конкретного типа (Bogolyubov et al., 2009). Используя GV в качестве экспериментальной системы, всегда следует учитывать эти обстоятельства.

8.4. КОИЛИНСОДЕРЖАЩИЕ СТРУКТУРЫ В РАННИХ ЭМБРИОНАХ И ООЦИТАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Доимплантационные эмбрионы млекопитающих — тоже по-своему уникальный цитологический объект. Сохраняя на начальных этапах дробления тотипотентность, обладая яркой спецификой клеточного цикла и претерпевая в ходе раннего развития ряд структурно-функциональных преобразований, связанных с поэтапной (волнообразной) активацией генома эмбриона (ZGA) и постепенной заменой макромолекул материнского происхождения, ранние эмбрионы млекопитающих — от зиготы до морулы — могут представлять специфическую модель для исследования ядерных органелл. Однако целостные представления о структуре и функциях ядра зиготы и бластомеров не сформированы даже в отношении такого лабораторного объекта, как домовая мышь *Mus musculus* (Боголюбова, 2019).

В ранних эмбрионах млекопитающих особенно хорошо изучены процессы нуклеогенеза, в том числе в эмбриогенезе мыши (Geuskens, Alexandre, 1984), свиньи (Bjerregaard, Maddox-Hyttel, 2004) и человека (Tesařík et al., 1986). Кроме того, всесторонне охарактеризована эпигенетическая асимметрия пронуклеусов зигот; представлена динамика эпигенетических харак-

теристик хроматина в ходе его глобальных перестроек в раннем эмбриогенезе (см. обзор: Bogolyubova, Bogolyubov, 2020). Наконец, проведены широко-масштабные сравнительные транскриптомные исследования на одиночных клетках, которые, в частности, проливают свет на роль различных ncРНК в раннем эмбриогенезе млекопитающих (Fan et al., 2015) и позволяют выделить консервативные и специфические особенности доимплантационного развития мыши и приматов (Xue et al., 2013; Boroviak et al., 2018).

Удивительно, что на этом фоне имеется крайне мало сведений о коилин-содержащих органеллах ранних эмбрионов млекопитающих, хотя на гребне волны интереса к ТК в конце XX — начале XXI в. им уделяли некоторое внимание; правда, как уже было сказано, тогда все коилинсодержащие тела называли ТК. Что касается ТГЛ ранних эмбрионов млекопитающих, о них до сих пор практически ничего не известно. Это удивительно, но факт.

Более 25 лет тому назад было прослежено новообразование коилин-содержащих телец в материнском и отцовском пронуклеусах зигот мыши. Показано, что сначала они формируются в виде зачаточных структур, названных пре-ТК, а появление дефинитивных органелл отмечали только на 2-клеточной стадии развития, после начала транскрипции (Ferreira, Carmo-Fonseca, 1995). Морфологически сходные коилинсодержащие биоконденсаты, которые выглядят как «недоразвитые» ТК, наблюдали и в ядрах доимплантационных эмбрионов коровы, козы и свиньи (Korešný et al., 1996b). Оказалось, что некоторые «пре-ТК» ранних эмбрионов мыши имеют прямое отношение к началу транскрипции рДНК в ядрышке, на первых порах аккумуляруя РНК-полимеразу I, ядрышковый транскрипционный фактор UBTF (upstream binding transcription factor), ранее известный как UBF, а также фибрилларин (Zatsepina et al., 2003). Иными словами, называть их ТК было бы преувеличением.

О. В. Зацепина (1951–2020), один из ведущих отечественных специалистов в области изучения структуры и функции ядра ооцитов и эмбрионов млекопитающих, впервые обратила внимание на выраженную гетерогенность коилинсодержащих органелл ранних эмбрионов мыши — не только по размеру, но и по четырем различным паттернам распределения фибрилларина (Zatsepina et al., 2003). В ядрах поздних двухклеточных эмбрионов мыши выявляется два типа телец. Одни, присутствующие в количестве 1–3 на ядро, имеют округлую форму и относительно крупные размеры, достигая 1 мкм. Другие представляют существенно более мелкие, точечные на флуоресцентных изображениях, биомолекулярные конденсаты, число которых колеблется в разных бластомерах. Позднее оказалось, что наиболее крупные коилин-содержащие тела существуют в течение лишь ограниченного периода и, например, не выявляются на стадии морулы (Боголюбова, 2017). В период своего существования — на 2-клеточной стадии эмбрионального развития — они физически ассоциированы с периферией так называемых проядрышек, или атипичных ядрышек (Zatsepina et al., 2003; Боголюбова, 2017), — особых провизорных ядерных органелл (см. ниже).

Интересно, что крупные коилинсодержащие тела помимо РНК-полимеразы I накапливают белок YB-1 (Y-box binding protein 1). Он концентрируется только в таких — крупных — телах, но отсутствует в мелких (Bogolyubova et al., 2014). Поскольку YB-1 — мультифункциональный белок, который принимает участие во многих процессах с участием ДНК и РНК благодаря его способности связываться с нуклеиновыми кислотами (Lyabin et al., 2014), предполагают, что он может участвовать и в ядрышковой транскрипции (Боголюбова, 2017). В этом случае его локализация в специфических крупных коилинсодержащих биоконденсатах ядер бластомеров мыши, в которых также локализуются факторы транскрипции рДНК и процессинга пре-рРНК (Zatsepina et al., 2003), вполне объяснима. Тем не менее природа и функции таких коилинсодержащих тел остаются невыясненными. Предполагают, что крупные коилинсодержащие тела зигот и ранних эмбрионов мыши являются специализированными провизорными ядерными органеллами, которые формируются в связи с выраженными изменениями ядерного метаболизма на завершающих этапах ZGA и начальных этапах активации ядрышковой транскрипции (Боголюбова, 2017).

Наконец, ни на одной из исследованных стадий раннего развития мыши коилин не колокализуется с симплекином (белком ТГЛ, глава 7), а симплекинсодержащие структуры, наоборот, не содержат коилина (Боголюбова, 2017). Следовательно, можно предположить, что в ядрах ранних эмбрионов мыши *присутствуют* ТК и ТГЛ как самостоятельные органеллы, но коилин *не* является компонентом ТГЛ. Эта гипотеза требует дальнейшей экспериментальной проверки. Как отмечено в главе 7, коилин присутствует не во всех ТГЛ клеток млекопитающих. Особенности распределения в зиготах и бластомерах млекопитающих специфических компонентов ТГЛ, таких как U7 snРНК, NPAT и FLASH, неизвестны.

Наиболее заметными ядерными органеллами зигот и бластомеров ранних эмбрионов некоторых млекопитающих (например, мыши, крысы, свиньи, приматов и некоторых других) являются специфические провизорные тела, которые раньше называли «телами — предшественниками ядрышек» (nucleolus precursor bodies, NPBs) или, в основном в русскоязычной литературе, проядрышками. Это гомогенные ядерные органеллы, тонкофибрилярные по своей ультраструктуре, имеющие правильную сферическую форму, неактивные в отношении синтеза рРНК.

Морфологически сходные ядерные органеллы присутствуют и в поздних ооцитах некоторых млекопитающих, в которых их традиционно называют «ядрышкоподобными телами» (nucleolus-like bodies, NLBs) и иногда (в русскоязычной литературе) постъядрышками. В настоящее время оба типа структур объединяют общим названием «атипичные ядрышки» (atypical nucleoli) и рассматривают как главные специфические центры организации гетерохроматина в ядрах ооцитов, зигот и ранних эмбрионов (Fulka et al., 2019).

По данным иммунофлуоресцентной и иммуноэлектронной микроскопии в ооцитах мыши атипичные ядрышки содержат некоторые структурные

белки, такие как ламины А и В, теломерсвязывающий белок TRF2, но в них отсутствуют актин и ДНК-топоизомераза II (Pochukalina et al., 2016). Поскольку атипичные ядрышки ооцитов млекопитающих имеют ядрышковое происхождение, неудивительно, что они содержат некоторые ядрышковые белки, в том числе участвующие в транскрипции рДНК (UBTF), раннем (фибрилларин) и позднем (нуклеофосмин/B23/NPM1 и нуклеолин/C23) процессинге пре-рРНК, однако не содержат заметных количеств рРНК (Zatsepina et al., 2000; Shishova et al., 2015a, 2015b). В зиготах и бластомерах мышцы атипичные ядрышки тоже содержат фибрилларин и нуклеофосмин, но не содержат рРНК; кроме того, в них отсутствует UBTF, а также рибосомные белки RPL26 и RPS10 (Lavrentyeva et al., 2017).

В атипичных ядрышках зигот и бластомеров мышцы *не* выявлено даже следового присутствия коилина (Zatsepina et al., 2003; Боголюбова, 2017), хотя нуклеация ТК (формирование пре-ТК) в зиготах мышцы происходит преимущественно на периферии атипичных ядрышек (Ferreira, Carmo-Fonseca, 1995). Почему тогда атипичные ядрышки нами упоминаются в связи с коилинсодержащими структурами?

К удивлению, в ходе ранних электронно-микроскопических исследований неоднократно сообщалось об интенсивном мечении антителами к коилину атипичных ядрышек ооцитов свиньи (Korecny et al., 1996a), мышцы (Почукалина, Парфенов, 2008), крысы (Korecny et al., 1996c) и человека (Parfenov et al., 1998). В ооцитах крысы коилин, кроме того, локализовался в мелких, слабо оформленных ядерных структурах (Korecny et al., 1996c), напоминающих вышеупомянутые «пре-ТК» ранних эмбрионов мышцы (Ferreira, Carmo-Fonseca, 1995).

Еще более интригующим и необъяснимым фактом служит выявление на ультраструктурном уровне в атипичных ядрышках ооцитов свиньи (Korecny et al., 1996a) и крысы (Korecny et al., 1996c) фактора сплайсинга SRSF2 — маркера ядерных спеклов/КИГ, наряду с коилином, snРНП (Sm-антигеном) и TMG-кэпированными snРНК. Однако в атипичных ядрышках ооцитов мышцы (Почукалина, Парфенов, 2008) и человека (Parfenov et al., 1998) белок SRSF2 отсутствует и обычным образом локализуется в КИГ.

Надо сказать, что мировой научной общественностью, «привыкшей» в основном иметь дело с типичными ТК трансформированных соматических клеток млекопитающих, отрицается сама возможность колокализации коилина и SRSF2 (о подобных случаях мы упоминали при рассмотрении ядерных телец ооцитов насекомых). Выявление же SRSF2 в коилинсодержащих телах ооцитов обычно объясняют возможной кросс-реактивностью используемых антител (Fulka et al., 2019) — например, неспецифическим мечением антителами к SRSF2 (и/или коилину) фосфоэпитопов каких-либо иных фосфорилированных белков (J. G. Gall, личное сообщение). В целом исследования атипичных ядрышек ооцитов и эмбрионов млекопитающих весьма затруднены: во-первых, из-за того, что классические протоколы иммуномечения часто дают негативные результаты благодаря очень плотной

(компактной) структуре атипичных ядрышек, а во-вторых, из-за невозможности собрать достаточное количество материала для протеомных исследований (Fulka et al., 2019).

8.5. *TERRA INCOGNITA*: ЯДЕРНЫЕ ТЕЛЬЦА ПРОТИСТОВ

В «бескрайнем море» ядерных телец эукариотических клеток «неизвестными островами» являются ядерные тельца протистов. По современным представлениям, протисты — чрезвычайно разнообразная группа эукариотических организмов, филогенетическое древо которых имеет множество ветвей, соответствующих целым царствам¹¹⁷. Удивительно, что при всем разнообразии и многочисленности протистов до сих пор практически ничего не известно об особенностях компартментализации их ядер. В частности, о том, присутствуют ли в нем структуры, которые можно было бы рассматривать в качестве аналогов ТК и/или ТГЛ. Кроме того, насколько мне известно, отсутствуют сведения об ортологе коилина, идентифицированном хотя бы у одного представителя этого мира живых существ, поистине «космического» по своему масштабу.

Вместе с тем электронные микроскописты давно отмечали, что интерхроматиновое пространство ядер некоторых протистов содержит, например, крупные (около 2–3 мкм) органеллы правильной сферической формы, заметно отличающиеся от ядрышек по своей ультраструктуре. Иногда это гомогенные тонкофибрилярные образования, но в некоторых случаях они состоят из перекрученных тяжей толщиной примерно 20–25 нм, напоминая тем самым ТК соматических клеток млекопитающих (Сергеева и др., 1995; Moreno Díaz de la Espina et al., 2005).

Подобного рода ядерные тела найдены, например, у представителей разных отрядов и семейств инфузорий: *Ichthyophthirius* sp., *Kentrophoros latum*, *Loxodes magnus*, *Tetrahymena pyriformis*, *Tracheloraphis dogieli* (Райков, 1978; ссылки на ориг. статьи там же) и *Bursaria truncatella* (Сергеева и др., 1995). Однако в макронуклеусе *B. truncatella* они обнаруживаются только в состоянии криптобиоза — в «молодых» и «зрелых» цистах¹¹⁸.

За пределами Ciliophora похожие ядерные тела описаны у 5 видов динофлагеллят¹¹⁹, принадлежащих к разным таксономическим группам: *Amphidinium*

¹¹⁷ Заинтересованных читателей я адресую к обзорам (Adl et al., 2019 // J. Eukar. Microbiol. Vol. 66. P. 4–119; Keeling, Burki, 2019 // Current Biology. Vol. 29. P. R808–R817).

¹¹⁸ Криптобиоз — особая форма существования, при которой организм не проявляет видимых признаков жизни, а его метаболическая активность минимальна. В таком состоянии организм формирует цисты, имеющие специальную защитную оболочку. Некоторые протисты в неблагоприятных условиях могут в течение нескольких лет находиться в состоянии криптобиоза. В частности, «зрелые» цисты *B. truncatella*, о которых идет речь, — это цисты в возрасте более 1 года.

¹¹⁹ Динофлагелляты — своеобразные организмы. В частности, у них отсутствуют гистоны, хромосомы характеризуются уникальной жидкокристаллической структурой нетранскрибируемых

carterae, *Akashiwo sanguinea*, *Alexandrium lusitanicum*, *A. fundyense* и *Prorocentrum micans* (Alverca et al. 2006). У изученных динофлагеллят (в зависимости от вида) количество таких «сфер» в одном ядре варьируется в широких пределах: от 1 у *Am. carterae* до 23 у *Al. fundyense*. По результатам обработки ультратонких срезов EDTA по Бернару оказалось, это РНП-содержащие структуры.

Наконец, морфологически похожие тела (рис. 36, а) присутствуют в ядре некоторых архамеб (Archamoeba, Pelobiontida) — представителей рода *Pelomyxa*¹²⁰ (Daniels et al., 1966), у которых они первоначально были названы «сфероидными телами» (Daniels, Breyer, 1967). Сравнительный анализ ультратрактуры ядер 15 видов представителей рода *Pelomyxa*, показал, что такие сферические фибриллярные тела (биоконденсаты) средней электронной плотности присутствуют, по крайней мере, у *P. palustris*, *P. belevskii*, *P. secunda*, *P. tarda* (Chistyakova et al., 2025), *P. stagnalis* (Bogolyubov et al., 2025) и *P. shiedti* (Zadrobílková et al., 2015).

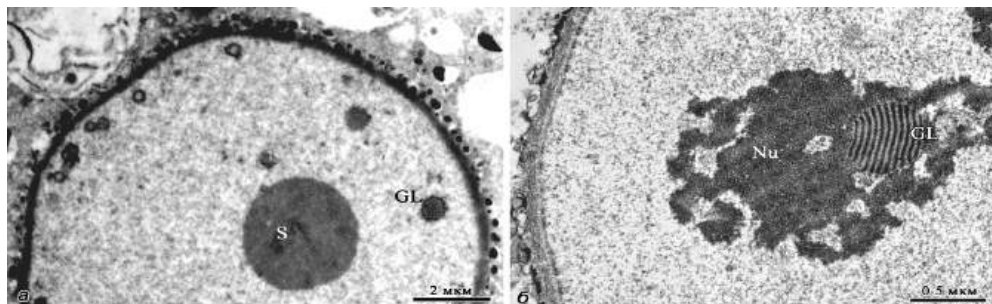


Рис. 36. Ядерные органеллы протистов — представителей архамеб-пелобионтов рода *Pelomyxa*

а — фрагмент ядра *P. paradoxa*, в котором присутствует «сфера» (S), предположительно соответствующая тельцу Кахаля; отмечена также гломерулосома (GL) — особая ядерная органелла неизвестной природы (Bogolyubov et al., 2022); б — гломерулосома *P. stagnalis*, погруженная в материал ядрышка (Nu). (Электронные микрофотографии любезно предоставлены А. В. Гудковым и М. А. Бердиевой, ИНЦ РАН)

последовательностей ДНК, а регуляторные (атипичные) участки генома не содержат ТАТА-бокса (Moreno Díaz de la Espina et al., 2005). Представители разных семейств и отрядов Dinoflagellata существенно различаются по общему строению ядра, содержанию в нем ДНК, а также числу хромосом.

¹²⁰ В прежних работах фигурирует вид *P. palustris*, но теперь известно, что под этим названием «скрывается» несколько близких, но независимых видов (Фролов, 2011 / Pelobiontida (Page, 1976) Griffin, 1988; в кн.: Протисты. Ч. 3. Руководство по зоологии (ред. С. А. Карпов). СПб.—М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. С. 270–307). В частности, ядро, фрагмент которого представлен на рис. 84а в монографии Райкова (1978), принадлежит не *P. palustris*, а иному виду пеломикс, определить который затруднительно в отсутствие комплекса необходимых для этого критериев (А. В. Гудков, личное сообщение).

Крупнейший специалист по кариологии протистов И. Б. Райков (1932–1998) был первым, кто указал на то, что подобного рода «сферы» ядер протистов похожи на «сферы» ооцитов насекомых, рыб, амфибий, рептилий и других животных (Райков, 1978). Таким образом, почти за 20 лет до того как Голл (Gall et al., 1995) провел прямую параллель между «сферами» ооцитов амфибий, Binnenkörper ооцитов насекомых и ТК соматических клеток млекопитающих, уже было высказано предположение, что эти структуры относятся к одной и той же группе ядерных органелл. Однако в отношении протистов мы даже не знаем, действительно ли все они родственны друг другу по молекулярному составу и функциям.

К сожалению, попытки идентифицировать ТК (или ТК-подобные структуры) протистов с помощью иммуоцитохимии особого успеха не принесли — вероятно, из-за низкого уровня консерватизма их белков, в том числе коилина. Есть мнение, что вышеупомянутые ядерные тельца динофлагеллят, состоящие из перекрученных тяжей, подобны ТК соматических клеток растений и позвоночных (Moreno Díaz de la Espina et al., 2005). Однако оно основано лишь на их мечении антителами, распознающими «Sm-эпитоп» (sDMA) Sm-белков; при этом попытки выявить консервативный U2 snRNP-специфический белок SNRPB2, ранее известный как U2B", не увенчались успехом ни на уровне иммуоэлектронной микроскопии, ни с использованием Вестерн-блоттинга (Alverca et al., 2006). Такими же безрезультатными оказались попытки выявить фибрилларин и коилин.

Наоборот, при попытке идентификации ТК-подобных структур в макро-нуклеусе инфузории *B. truncatella* (напомним, в данном случае речь идет исключительно о цистах), аналогичные ядерные тельца, отнесенные к категории ТК, метились антителами к коилину человека, но не антителами к Sm-белкам, которые почему-то «не работали» на клетках инфузорий (Самошкин, 2006).

Что касается характерной ультраструктуры, на основании которой сделан вывод о принадлежности «сфер» инфузорий и динофлагеллят к ТК, то морфологический критерий, на наш взгляд, служит весьма слабым подспорьем для идентификации ТК-подобных структур в целом и может быть применим, по сути, только в отношении типичных ТК соматических клеток млекопитающих.

В заключение отметим, что интерхроматиновое пространство ядра протистов — помимо «сфер», напоминающих ТК, а также пери- и интерхроматиновых гранул¹²¹ — может содержать и другие структуры неизвестной природы (Райков, 1978), большинство из которых здесь, в монографии, по-

¹²¹ В отличие от типичных интерхроматиновых гранул, которые обычно формируют КИГ (Боголюбов, 2018), в ядре протистов, по крайней мере, инфузорий (по данным иммуномечения антителами к SRSF2 — Самошкин, 2006), динофлагеллят (по данным иммуномечения антителами к snRNP — Alverca et al., 2006) и *Pelomyxa* (собственные неопубликованные наблюдения), интерхроматиновые гранулы редко образуют морфологически оформленные КИГ, а если образуют, то такие КИГ мелкие и немногочисленные.

священной ТК и ТК-подобным ядерным органеллам, я не упоминаю. Отмечу только, что в ядрах нескольких видов архамеб-пелобионтов из рода *Pelomyxa* присутствуют особые, хорошо идентифицируемые на ультраструктурном уровне тельца, названные гломерулосомами (glomerulosomes) за их необычную ультраструктуру (Bogolyubov et al., 2022). Эти сложные биоконденсаты (размером около 1 мкм) могут быть погружены в нуклеоллярную массу (рис. 36, б), а могут лежать в нуклеоплазме свободно. Они состоят из тяжей (толщиной 30–40 нм) очень высокой электронной плотности, уложенных в строго параллельные ряды, которые иногда формируют подобие многожильного электрического кабеля. При этом каждый такой «кабель» закручен внутри одного тельца, но отдельные тяжи не скручены — в отличие от типичных ТК. Такие тяжи не являются продолжением материала ядрышка. Природа гломерулосом и их биологическое значение остаются неизвестными. Однако не исключено, что они могут встречаться в ядре не только пеломикс, но и других эукариот. Например, они описаны у эволюционно далеких от пеломиксид наземных амёб — представителей рода *Thecamoeba* (Mesentsev et al., 2023).

Маловероятно, что гломерулосомы родственны ТК. Однако ультраструктура ядерных телец динофлагелляты *A. lusitanicum*, отнесенных к категории ТК (Moreno Díaz de la Espina et al., 2005), несколько напоминает ультраструктуру гломерулосом *Pelomyxa*, хотя их тяжи ориентированы не так строго параллельно, как в гломерулосомах. Несомненно одно: «мир ядерных телец» эукариотической клетки еще не так хорошо и всесторонне исследован, как принято считать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хотя ядерные органеллы, известные теперь как ТК, *de facto* были открыты более 120 лет назад (Sajal, 1903), современная история их изучения насчитывает 35 лет, если отталкиваться от момента открытия коилина как молекулярно-диагностического маркера ТК и последующего за этим лавинообразным ростом исследований молекулярного состава и функций этих ядерных органелл. Имя же своего первооткрывателя, нобелевского лауреата Рамон-и-Кахаля, ТК получили в начале нынешнего века (Gall, 2000). На первых порах, когда о функциях ТК могли судить лишь косвенно, на основе локализации в них определенных молекулярных компонентов, с ростом числа этих компонентов классик отечественной морфологии и физиологии клетки Ю. С. Ченцов (1930–2019) в свое время сравнивал ТК с чемоданом без ручки¹²²: состав сложный («нести тяжело»), а значение ряда компонентов непонятно, хотя, очевидно, они, эти компоненты, для чего-то нужны («бросить жалко»).

Тельце Кахаля представляет типичный пример ядерной (безмембранной) органеллы, обогащенной специфическими белками и РНК. Как и в случае других безмембранных органелл, разделение в ядре полимерных молекул на жидкие фазы в условиях макромолекулярного краудинга приводит к формированию и самих ТК, и их специфической внутренней ультраструктуры.

Позднее были определены молекулярные взаимодействия между отдельными компонентами ТК, которые управляют циклом их сборки/разборки в нормальных и патологических условиях. Разумеется, главную роль в этих взаимодействиях играет структурный белок коилин, выступающий в роли «молекулярного клея», поддерживающего целостность ТК. Эта роль обусловлена строением его молекулы, имеющей как обширные внутренне неупорядоченные участки, так и специфические домены, обеспечивающие мультивалентные взаимодействия с РНК и другими белками, а также взаимодействие молекул коилина друг с другом (self interactions).

Коилин, как уже отмечено, является наиболее известным белком ТК, само название которого связано с их историческим названием — coiled bodies. До сих пор его функции, кроме как поддерживать целостность ТК и вступать во взаимодействие с другими компонентами, если это можно назвать функцией, окончательно не определены. Коилин далеко не единственный белок, обладающий свойствами скаффолда по отношению к ТК. Такие свойства обеспечивают определенные особенности строения молекул иных структурных белков, вступающих с коилином и друг с другом в мультивалентные взаимодействия. Среди таких белков не менее хорошо известны, например, такие жизненно важные полифункциональные белки, как SMN, дефицит

¹²² Личное сообщение В. Н. Парфенова, начало 2000-х годов.

которого имеет место при SMA, и TCAB1, связанный как с теломеразной активностью, так и с онкогенезом. Деpletion этих белков приводит к дезинтеграции ТК, и список белков с подобным эффектом растет.

В ТК концентрируются не только белки, но и РНК — преимущественно разнообразные малые некодирующие РНК. Среди них ключевое место занимают малые ядерные РНК (snРНК) и малые ядрышковые РНК (snoРНК). Последние включают особую группу ТК-специфических малых РНК (scaРНК), к которой формально относится теломеразная РНК.

По мере идентификации новых компонентов будут, очевидно, продолжаться рассуждения о новых функциях ТК. На сегодняшний день главными молекулярными процессами, с которыми связывают ТК, являются пост-транскрипционные модификации snРНК, сборка пре-сплайсосомных РНК-комплексов, рециклирование сплайсосомных субъединиц после сплайсинга. Но, разумеется, речь идет не только об этих, связанных с экспрессией генов процессах, поскольку молекулярный состав ТК, как мы видели, обширен и многолик.

Менее разнообразны функции ТГЛ — ядерных органелл, родственных ТК по природе и за счет присутствия коилина. Это специфические интенсификаторы специфического процессинга пре-мРНК гистонов, при этом U7 snРНК остается единственной достоверно идентифицированной на сегодня sncРНК в их составе.

Удивительно, что некоторые клетки не теряют жизнеспособности в отсутствие ТК — как в норме, так и при нокауте гена коилина или гена другого структурного белка, что приводит к дезинтеграции ТК. При этом лишь снижается интенсивность процессов, в которых принимает участие молекулярная машинерия ТК, а соответствующие процессы могут происходить в нуклеоплазме, хотя обычно с меньшей эффективностью.

Таким образом, говоря о функциях ТК, вряд ли можно рассуждать в ключе «нет органеллы — нет функции», и это, по-видимому, справедливо в отношении большинства других ядерных органелл (биомолекулярных конденсатов), за исключением, пожалуй, ядрышка. Генеральная роль безмембранных органелл состоит в создании наиболее эффективных условий протекания специфических молекулярных процессов и их интенсификации.

Сложный молекулярный состав определяет динамические свойства ТК и их высокую реактивность на изменение физиологических условий и внешние стимулы. В последние годы обнаружена высокая чувствительность ТК к вирусной инфекции, что расширяет список цитологических маркеров патологических состояний. Доказанное взаимодействие компонентов ТК (например, коилина) с белками вирусов не только расширяет список новых клеточных мишеней при вирусной инфекции, но и открывает пути для разработки новых противовирусных соединений.

Однако самая, на мой взгляд, важная перспектива исследования ТК и других ядерных органелл, которые, по сути, представляют жидкокапельные

биомолекулярные конденсаты, связана с расшифровкой той роли, которую играют фазовые переходы биологических полимерных молекул в пространственно-временной организации внутриклеточного пространства в целом и ядра, как главного мембранного компартмента, в частности. Исследования немембранной компартментализации устремляются в области, где в единство противоположностей вступают прежде, казалось бы, несовместные дисциплины: с одной стороны, молекулярная и клеточная биология, включая морфологию клетки, а с другой — физика конденсированных полимеров и мягкой материи.

За 15 лет, прошедшие с момента установления роли фазовых переходов типа «жидкость—жидкость» (LLPS) в формировании безмембранных органелл, что привело к настоящей «LLPS-революции» в клеточной биологии (рис. 37), наши знания о немембранной компартментализации и разного рода безмембранных тельцах-включениях вышли на совершенно новый уровень. Хотя, как видно из рис. 37 по росту числа статей, потребовался некоторый промежуток времени, чтобы значимость LLPS в биологических процессах была осознана, а его принципы были признаны универсальными и всеобщими в отношении безмембранных органелл.

Если в начале нынешнего века о ТК еще могли говорить как о «загадочной структуре» клеточного ядра, то теперь по степени изученности его ставят почти в один ряд с ядрышком. И с этим утверждением трудно спорить... однако если иметь в виду типичные, канонические ТК трансформированных клеток млекопитающих, культивируемых *in vitro*. За их пределами ТК (или ТК-подобные ядерные органеллы), как мне кажется, до сих пор остаются

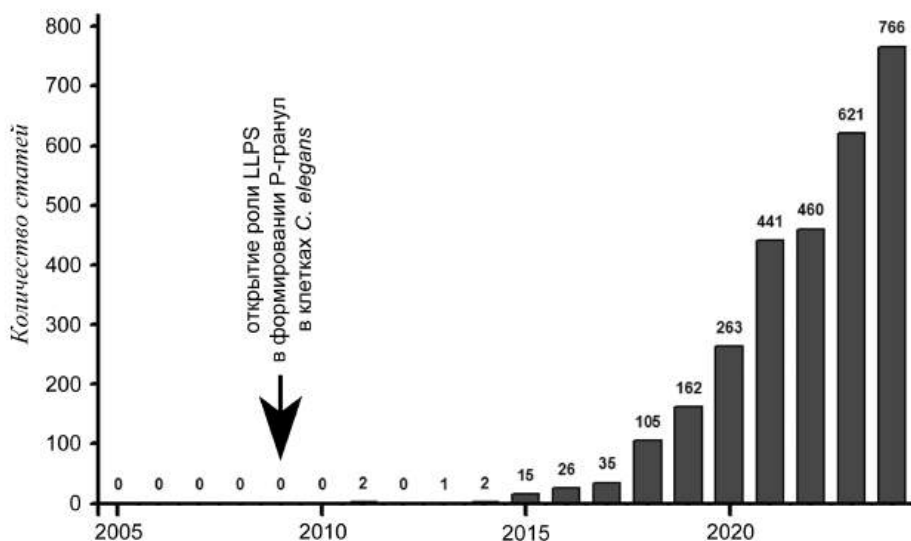


Рис. 37. Рост числа публикаций, посвященных безмембранным органеллам (PubMed по запросу *membraneless organelles*)

«темной материей», хранящей множество неразрешенных загадок. Свидетельством тому может служить довольно описательно-многословная глава в этой книге (глава 8) о неканонических ТК, которую я первоначально не хотел даже включать в монографию или предполагал ограничиться лишь *GV Xenopus*, тоже ставшим «цитологической классикой». Но даже в *GV амфибий* коилинсодержащие структуры совсем иные: по сути, это ТГЛ, демонстрирующие лишь некоторые свойства ТК. А еще имеются pearls — те вообще, по-видимому, уникальны.

Чтобы охватить всё многообразие как ТК, так и любых других ядерных органелл, мне кажется, в фундаментальных исследованиях ядра важно не только идти «в молекулярную глубину», используя классические модели, удобные для исследователя и решения конкретных задач. Не менее важно — хотя этот путь более трудный и неблагодарный, особенно с точки зрения получения грантов, — расширять круг объектов, учитывая и общие, и специфические особенности таких клеток, а также эволюционный аспект. При этом необходимо понимать, что на таких объектах использовать весь арсенал современных методов цитологических исследований зачастую просто невозможно по определению. Не вдаваясь в пространные философские рассуждения, в заключение мне хотелось бы привести цитату из статьи, не имеющей прямого отношения к ядерным органеллам в целом и ТК в частности (Nick, 2025). В ней автор сравнивает модельные объекты (разумеется, не умаляя значимости их использования) лишь с *«небольшой областью, освещенной лучом нашего фонарика, называемого наукой»*. Вряд ли эта *«ограниченная хорошо освещенная область»* в полной мере *«говорит нам о том, что таится в темноте»*. Данные о структуре и функциях ТК, полученные на модельных объектах, а также сведения — пока крайне ограниченные — о ТК-подобных структурах (неканонических ТК) в специализированных клетках, таких как, например, ооциты, убедительно иллюстрируют эту сентенцию.

ЛИТЕРАТУРА

- Александрова О. А. Внутрядерные тельца и формирование капсулы кариосферы в ооцитах жука-чернотелки *Tentyria nomas taurica* // Цитология. 1992. Т. 34, № 6. С. 30–37.
- Александрова О. А., Боголюбов Д. С., Грузова М. Н. Кариосфера и внутрядерные тельца в ядрах ооцитов жука-чернотелки *Tenebrio molitor* // Цитология. 1995. Т. 37, № 12. С. 1142–1150.
- Ахмадеев А. В., Калимуллина Л. Б. Электронно-микроскопическая характеристика нейроэндокринных нейронов миндалевидного тела мозга // Морфология. 2006. Т. 130, № 6. С. 25–29.
- Боголюбов Д. С. Тельца Кахала в ооцитах насекомых. I. Идентификация и цитохимическая характеристика телец Кахала в вителлогенных ооцитах жука-чернотелки // Цитология. 2003. Т. 45, № 11. С. 1083–1093.
- Боголюбов Д. С. Перихроматиновый компартмент клеточного ядра // Цитология. 2014. Т. 56, № 6. С. 399–409.
- Боголюбов Д. С. Интерхроматиновые гранулы — универсальные структуры клеточного ядра: Морфология, молекулярный состав, функции. СПб.: Наука, 2018. 190 с.
- Боголюбов Д. С., Боголюбова И. О. Фактор сплайсинга SC35 и коилин совместно локализуются во «внутренних тельцах» — ядерных структурах ооцитов паука-крестовика // Цитология. 2007. Т. 49, № 6. С. 497–501.
- Боголюбов Д. С., Грузова М. Н. Оогенез турбеллярий рода *Geocentrophora* по данным световой и электронной микроскопии. I. Ядро ооцитов // Цитология. 1994. Т. 36, № 3. С. 275–282.
- Боголюбов Д. С., Александрова О. А., Цветков А. Г. Ядро ооцитов жука-чернотелки *Tenebrio molitor*. (Электронно-микроскопическое, цитохимическое и автордиографическое исследование) // Цитология. 1997. Т. 39, № 8. С. 643–650.
- Боголюбова И. О. Гетерогенность коилинсодержащих доменов в ядрах ранних эмбрионов мыши // Цитология. 2017. Т. 59, № 4. С. 290–297. (Перевод: Bogolyubova I. O. Heterogeneity of coilin-containing nuclear domains in early mouse embryos // Cell Tissue Biol. 2017. Vol. 11. P. 293–299.)
- Боголюбова И. О. Структурно-функциональная организация ядра в период активации эмбрионального генома мыши : автореф. дис.... докт. биол. наук. СПб., 2019. 42 с.
- Боголюбова И. О., Боголюбов Д. С., Юдинцева Н. М. Ультраструктура ядер мезенхимных стволовых клеток человека в процессе дифференцировки // Цитология. 2018. Т. 60, № 11. С. 939–942.
- Гагинская Е. Р. Ядерные структуры в ооцитах половозрелых птиц. I. Поведение хромосом в период цитоплазматического роста ооцита // Цитология. 1972а. Т. 14, № 4. С. 426–432.
- Гагинская Е. Р. Ядерные структуры в ооцитах половозрелых птиц. II. Белковые тела и кариосфера // Цитология. 1972б. Т. 14, № 5. С. 568–577.
- Гагинская Е. Р., Грузова М. Н. Особенности оогенеза зяблика // Цитология. 1969. Т. 11, № 10. С. 1241–1251.
- Гусельникова В. В., Суфиева Д. А., Коржевский Д. Э. Нуклеофосмин, коилин и аргентофильные (AgNOR) белки нейронов черного вещества головного мозга человека // Цитология. 2020. Т. 62, № 3. С. 201–209. (Перевод: Guselnikova V. V., Sufieva D. A., Korzhevsky D. E. Nucleophosmin, coilin, and argentophilic (AgNOR) proteins in the neurons of human substantia nigra // Cell Tissue Biol. 2020. Vol. 14. P. 380–387.)
- Давидьян А. Г., Кошель Е. И., Галкина С. А., Сайфитдинова А. Ф., Гагинская Е. Р. Функционирование ядрышкового организатора в растущих ооцитах кур: ревизия суще-

- ствующих представлений // Онтогенез. 2023. Т. 54, № 1. С. 18–26. (Перевод: Davidian A. G., Koshel E. I., Galkina S. A., Saifitdinova A. F., Gaginskaya E. R. Nucleolus organizer region functioning in chicken growing oocytes: a revision of the existing views // Rus. J. Dev. Biol. 2023. Vol. 54. P. 15–23.)
- Дондуа А. К. Биология развития: учебник. 2-е изд., испр. и доп. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2018. 812 с.
- Зверева М. Э., Шербакова Д. М., Донцова О. А. Теломераза: структура, функции и пути регуляции активности // Усп. биол. химии. 2010. Т. 50. С. 155–202. (Перевод: Zvereva M. I., Shcherbakova D. M., Dontsova O. A. Telomerase: structure, functions, and activity regulation // Biochemistry (Moscow). 2010. Vol. 75. P. 1563–1583.)
- Красикова А. В., Куликова Т. В. Хромосомы типа ламповых щеток: современные представления и перспективы исследований. СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского ун-та, 2019. 104 с.
- Макарова Ю. А., Крамеров Д. А. Малые ядрышковые РНК // Молекулярная биология. 2007. Т. 41, № 2. С. 246–259. (Перевод: Makarova J. A., Kramerov D. A. Small nucleolar RNA // Mol. Biol. (Moscow). 2007. Vol. 41. P. 214–226.)
- Почукалина Г. Н., Парфенов В. Н. Трансформация ядрышек ооцитов антральных фолликулов мыши. Выявление коилина и компонентов комплекса РНК-полимеразы I // Цитология. 2008. Т. 50, № 8. С. 671–680. (Перевод: Pochukalina G. N., Parfenov V. N. Nucleolus transformation in mouse antral follicles: distribution of coilin and components of RNA polymerase I complex // Cell Tissue Biol. 2008. Vol. 2. P. 522–530.)
- Разин С. В., Быстрицкий А. А. Хроматин: упакованный геном. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2009. 176 с.
- Гаврилов А. А., Разин С. В., 2015. Компарментализация клеточного ядра и пространственная организация генома // Молекулярная биология. Т. 49, № 1. С. 26–45. (Перевод: Gavrilov A. A., Razin S. V. Compartmentalization of the cell nucleus and spatial organization of the genome // Mol. Biol. (Moscow). 2015. Vol. 49. P. 21–39.)
- Райков И. Б. Кариология простейших. Л.: Наука, 1978. 328 с. (Более позднее издание на англ. яз.: Raikov I. B. 1982. The protozoan nucleus. Morphology and evolution. Wien: Springer. 475 p.)
- Самошкин А. А. Ультраструктурная организация цист покоя у инфузорий рода *Bursaria*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2006. 27 с.
- Семашко М. А., Ракитина Д. В., Гонзалес И., Канто Т., Калинина Н. О., Тальянский М. Э. Транспортный белок гордевируса взаимодействует *in vitro* и *in vivo* с коилином, основным структурным белком телец Кахаля // Докл. АН. 2012. Т. 442, № 6. С. 833–836. (Перевод: Semashko M. A., Rakitina D. V., González I., Canto T., Kalinina N. O., Tiliansky M. E. Movement protein of hordeivirus interacts *in vitro* and *in vivo* with coilin, a major structural protein of Cajal bodies // Dokl. Biochem. Biophys. 2012. Vol. 442. P. 57–60.)
- Сергеева Г. И., Ливолан Ф., Консейкао М. Да., Самошкин А. А., Большакова Н. Н., Райков И. Б. Инфузории рода *Bursaria* в состоянии криптобиоза // Цитология. 1995. Т. 37, № 12. С. 1189–1204.
- Смекалова Е. М., Зверева М. Э., Громенко Е. В., Шубернетская О. С., Рубцова М. П., Донцова О. А. Биосинтез и созревание теломеразной РНК // Биохимия. 2012. Т. 77, вып. 10. С. 1350–1361. (Перевод: Smekalova E. M., Shubernetskaya O. S., Zvereva M. I., Gromenko E. V., Rubtsova M. P., Dontsova O. A. Telomerase RNA biosynthesis and processing // Biochemistry (Moscow). 2012. Vol. 77. P. 1120–1128.)
- Степанова И. С., Боголюбов Д. С. Локализация хроматинремоделирующего белка ATRX в ядре ооцитов некоторых насекомых // Цитология. 2017. Т. 59, № 5. С. 351–361. (Перевод: Stepanova I. S., Bogolyubov D. S. Localization of the chromatin-remodeling protein ATRX in the oocyte nucleus of some insects // Cell Tissue Biol. 2017. Vol. 11. P. 416–425.)

- Степанова И. С., Боголюбов Д. С., Парфенов В. Н. Тельца Кахала в ооцитах насекомых. II. Новые данные по молекулярному составу телец Кахала ооцитов домового сверчка. К вопросу о взаимосвязи телец Кахала и кластеров интерхроматиновых гранул // Цитология. 2007. Т. 49, № 1. С. 5–20. (Перевод: Stepanova I. S., Bogolyubov D. S., Parfenov V. N. Cajal bodies in insects. II. Molecular composition of Cajal bodies in oocytes of house cricket. Relationship between Cajal bodies and interchromatin granule clusters // Cell Tissue Biol. 2007. Vol. 1. P. 14–29.)
- Томилин А. Н. Роль и механизм действия транскрипционного фактора Oct-4 в поддержании плюрипотентности стволовых клеток млекопитающих : автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб., 2009. 39 с.
- Ходюченко Т. А., Красикова А. В. Тельца Кахала и тельца гитонового локуса: молекулярный состав и функции // Онтогенез. 2014. Т. 45, № 6. С. 363–379. (Перевод: Khodyuchenko T. A., Krasikova A. V. Cajal bodies and histone locus bodies: molecular composition and function // Rus. J. Dev. Biol. 2014. Vol. 45. P. 297–312.)
- Хутинаева М. А., Кропотова Е. В., Гагинская Е. Р. Особенности морфофункциональной организации хромосом типа ламповых щеток из ооцитов сизого голубя // Цитология. 1989. Т. 31, № 10. С. 1185–1192.
- Цветков А. Г., Сковородкин И. А., Боголюбов Д. С., Квасов И. Д., Парфенов В. Н. Экстрахромосомные структуры, содержащие малые ядерные РНП и коилин, в ядрах поздних вителлогенных ооцитов зимующих травяных лягушек // Цитология. 2002. Т. 44, № 11. С. 1037–1045.
- Abbott J., Marzluff W. F., Gall J. G. The stem-loop binding protein (SLBP1) is present in coiled bodies of the *Xenopus* germinal vesicle // Mol. Biol. Cell. 1999. Vol. 10. P. 487–499.
- Abbott R. D., Nelson J. S., Ross G. W., Uyehara-Lock J. H., Tanner C. M., Masaki K. H., Lauener L. J., White L. R., Petrovitch H. Marinesco bodies and substantia nigra neuron density in Parkinson's disease // Neuropathol. Appl. Neurobiol. 2017. Vol. 43. P. 621–630.
- Achkar N. P., Cambiagno D. A., Manavella P. A. miRNA biogenesis: a dynamic pathway // Trends Plant Sci. 2016. Vol. 21. P. 1034–1044.
- Achsel T., Stark H., Lührmann R. The Sm domain is an ancient RNA-binding motif with oligo(U) specificity // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2001. Vol. 98. P. 3685–3689.
- Aguilera-Gomez A., Rabouille C. Membrane-bound organelles versus membrane-less compartments and their control of anabolic pathways in *Drosophila* // Dev. Biol. 2017. Vol. 428. P. 310–317.
- Alagna N. S., Thomas T. I., Wilson K. L., Reddy K. L. Choreography of lamina-associated domains: structure meets dynamics // FEBS Lett. 2023. Vol. 597. P. 2806–2822.
- Alberti S. Phase separation in biology // Curr. Biol. 2017. Vol. 27. P. R1089–R1107.
- Albiez H., Cremer M., Tiberi C., Vecchio L., Schermelleh L., Dittrich S., Küpper K., Joffe B., Thormeyer T., von Hase J., Yang S., Rohr K., Leonhardt H., Solovei I., Cremer C., Fakan S., Cremer T. Chromatin domains and the interchromatin compartment form structurally defined and functionally interacting nuclear networks // Chromos. Res. 2006. Vol. 14. P. 707–733.
- Albrecht T. R., Shevtsov S. P., Wu Y., Mascibroda L. G., Peart N. J., Huang K. L., Sawyer I. A., Tong L., Dundr M., Wagner E. J. Integrator subunit 4 is a 'Symplekin-like' scaffold that associates with INTS9/11 to form the Integrator cleavage module // Nucleic Acids Res. 2018. Vol. 46. P. 4241–4255.
- Almeida F., Saffrich R., Ansorge W., Carmo-Fonseca M. Microinjection of anti-coilin antibodies affects the structure of coiled bodies // J. Cell Biol. 1998. Vol. 142. P. 899–912.
- Alm-Kristiansen A. H., Saether T., Matre V., Gilfillan S., Dahle O., Gabrielsen O. S. FLASH acts as a co-activator of the transcription factor c-Myb and localizes to active RNA polymerase II foci // Oncogene. 2008. Vol. 27. P. 4644–4656.
- Alverca E., Franca S., Moreno Díaz de la Espina S. Topology of splicing and snRNP biogenesis in dinoflagellate nuclei // Biol. Cell. 2006. Vol. 98. P. 709–720.

- Andersen J. S., Lyon C. E., Fox A. H., Leung A. K., Lam Y. W., Steen H., Mann M., Lamond A. I. Directed proteomic analysis of the human nucleolus // *Curr. Biol.* 2002. Vol. 12. P. 1–11.
- Andrade L. E. C., Chan E. K. L., Raška I., Peebles C. L., Roos G., Tan E. M. Human antibody to a novel protein of the nuclear coiled body: immunological characterization and cDNA cloning of p80-coilin // *J. Exp. Med.* 1991. Vol. 173. P. 1407–1419.
- Andrade L. E. C., Tan E. M., Chan E. K. L. Immunocytochemical analysis of the coiled body in the cell cycle and during cell proliferation // *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A.* 1993. Vol. 90. P. 1947–1951.
- André A. A. M., Spruijt E. Liquid-liquid phase separation in crowded environments // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21. Art ID: 5908.
- Arias Escayola Dahyana, Zhang C., Nischwitz E., Schärfer L., Dörner K., Straube K., Kutay U., Butter F., Neugebauer K. M. Identification of coilin interactors reveals coordinated control of Cajal body number and structure // *J. Cell Biol.* 2025. Vol. 224. Art ID: e202305081.
- Armanios M., Blackburn E. H. The telomere syndromes // *Nat. Rev. Genet.* 2012. Vol. 13. P. 693–704.
- Aumiller W. M. Jr, Keating C. D. Phosphorylation-mediated RNA/peptide complex coacervation as a model for intracellular liquid organelles // *Nat. Chem.* 2016. Vol. 8. P. 129–137.
- Avousti D. C., Palani S., Sherman Y., Grishok A. CSR-1RNAi pathway positively regulates histone expression in *C. elegans* // *EMBO J.* 2012. Vol. 31. P. 3821–3832.
- Azzouz T. N., Pillai R. S., Däpp C., Chari A., Meister G., Kambach C., Fischer U., Schümperli D. Toward an assembly line for U7 snRNPs: interactions of U7-specific Lsm proteins with PRMT5 and SMN complexes // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. P. 34435–34440.
- Bachand F., Boisvert F. M., Côté J., Richard S., Autexier C. The product of the survival of motor neuron (SMN) gene is a human telomerase-associated protein // *Mol. Biol. Cell.* 2002. Vol. 13. P. 3192–3202.
- Bacon C. W., D'Orso I. CDK9: a signaling hub for transcriptional control // *Transcription.* 2019. Vol. 10. P. 57–75.
- Baillat D., Wagner E. J. Integrator: surprisingly diverse functions in gene expression // *Trends Biochem. Sci.* 2015. Vol. 40. P. 257–264.
- Baldin V., Militello M., Thomas Y., Doucet C., Fic W., Boireau S., Jariel-Encontre I., Piechaczyk M., Bertrand E., Tazi J., Coux O. A novel role for PA28gamma-proteasome in nuclear speckle organization and SR protein trafficking // *Mol. Biol. Cell.* 2008. Vol. 19. P. 1706–1716.
- Baltanás F. C., Casafont I., Weruaga E., Alonso J. R., Berciano M. T., Lafarga M. Nucleolar disruption and Cajal body disassembly are nuclear hallmarks of DNA damage-induced neurodegeneration in Purkinje cells // *Brain Pathol.* 2011. Vol. 21. P. 374–388.
- Banani S. F., Rice A. M., Peeples W. B., Lin Y., Jain S., Parker R., Rosen M. K. Compositional control of phase-separated cellular bodies // *Cell.* 2016. Vol. 166. P. 651–663.
- Banani S. F., Lee H. O., Hyman A. A., Rosen M. K. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017. Vol. 18. P. 285–298.
- Bao L., Zuo D., Li Q., Chen H., Cui G. Current advances in neuronal intranuclear inclusion disease // *Neurol. Sci.* 2023. Vol. 44. P. 1881–1889.
- Barcaroli D., Dinsdale D., Neale M. H., Bongiorno-Borbone L., Ranalli M., Munarriz E., Sayan A. E., McWilliam J. M., Smith T. M., Fava E., Knight R. A., Melino G., De Laurenzi V. FLASH is an essential component of Cajal bodies // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2006a. Vol. 103. P. 14802–14807.
- Barcaroli D., Bongiorno-Borbone L., Terrinoni A., Hofmann T. G., Rossi M., Knight R. A., Matera A. G., Melino G., De Laurenzi V. FLASH is required for histone transcription and S-phase progression // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2006b. Vol. 103. P. 14808–148012.
- Bassett C. L. Cajal bodies and plant RNA metabolism // *Crit. Rev. Plant Sci.* 2012. Vol. 31. P. 258–270.
- Batalova F., Stepanova I., Skovorodkin I., Bogolyubov D., Parfenov V. Identification and dynamics of Cajal bodies in relation to karyosphere formation in scorpionfly oocytes // *Chromosoma.* 2005. Vol. 113. P. 428–439.

- Battle D. J., Kasim M., Yong J., Lotti F., Lau C.-K., Mouaikel J., Zhang Z., Han K., Wan L., Dreyfuss G. The SMN complex: an assembly machine for RNPs // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 2006. V. 71. P. 313–320.
- Bellini M. Coilin, more than a molecular marker of the Cajal (coiled) body // Bioessays. 2000. Vol. 22. P. 861–867.
- Bellini M., Gall J. G. Coilin can form a complex with the U7 small nuclear ribonucleoprotein // Mol. Biol. Cell. 1998. Vol. 9. P. 2987–3001.
- Bellini M., Gall J. G. Coilin shuttles between the nucleus and cytoplasm in *Xenopus* oocytes // Mol. Biol. Cell. 1999. Vol. 10. P. 3425–3434.
- Benecke H., Lührmann R., Will C. L. The U11/U12 snRNP 65K protein acts as a molecular bridge, binding the U12 snRNA and U11–59K protein // EMBO J. 2005. Vol. 24. P. 3057–3069.
- Bergeron D., Fafard-Couture É., Scott M. S. Small nucleolar RNAs: continuing identification of novel members and increasing diversity of their molecular mechanisms of action // Biochem. Soc. Trans. 2020. Vol. 48. P. 645–656.
- Bergstrand S., O'Brien E. M., Farnebo M. The Cajal body protein WRAP53 β prepares the scene for repair of DNA double-strand breaks by regulating local ubiquitination // Front. Mol. Biosci. 2019. Vol. 6. Art ID: 51.
- Bergstrand S., Böhm S., Malmgren H., Norberg A., Sundin M., Nordgren A., Farnebo M. Biallelic mutations in *WRAP53* result in dysfunctional telomeres, Cajal bodies and DNA repair, thereby causing Hoyeraal-Hreidarsson syndrome // Cell Death Dis. 2020. Vol. 11. Art ID: 238.
- Bergstrand S., O'Brien E. M., Coucoravas C., Hrossova D., Peirasmaki D., Schmidli S., Dhanjal S., Pederiva C., Siggins L., Mortusewicz O., O'Rourke J. J., Farnebo M. Small Cajal body-associated RNA 2 (scaRNA2) regulates DNA repair pathway choice by inhibiting DNA-PK // Nat. Commun. 2022. Vol. 13. Art ID: 1015.
- Berlolo M., Fanti L., Breiling A., Orlando V., Pimpinelli S. The maternal effect gene, *abnormal oocyte* (*abo*), of *Drosophila melanogaster* encodes a specific negative regulator of histones // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2001. Vol. 98. P. 12126–12131.
- Berndt H., Harnisch C., Rammelt C., Stöhr N., Zirkel A., Dohm J. C., Himmelbauer H., Tavanez J.-P., Hüttelmaier S., Wahle E. Maturation of mammalian H/ACA box snoRNAs: PAPD5-dependent adenylation and PARN-dependent trimming // RNA. 2012. Vol. 18. P. 958–972.
- Bernhard W. A new staining procedure for electron microscopical cytology // J. Ultrastruct. Res. 1969. Vol. 27. P. 250–265.
- Berry J., Weber S. C., Vaidya N., Haataja M., Brangwynne C. P. RNA transcription modulates phase transition-driven nuclear body assembly // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2015. Vol. 112. P. E5237–E5245.
- Berthet C., Aleem E., Coppola V., Tassarollo L., Kaldis P. Cdk2 knockout mice are viable // Curr. Biol. 2003. Vol. 13. P. 1775–1785.
- Bertrand S., Burlet P., Clermont O., Huber C., Fondrat C., Thierry-Mieg D., Munnich A., Lefebvre S. The RNA-binding properties of SMN: deletion analysis of the zebrafish orthologue defines domains conserved in evolution // Hum. Mol. Genet. 1999. Vol. 8. P. 775–782.
- Beusch I., Madhani H. D. Understanding the dynamic design of the spliceosome // Trends Biochem. Sci. 2024. Vol. 49. P. 583–595.
- Beven A. F., Simpson G. G., Brown J. W., Shaw P. J. The organization of spliceosomal components in the nuclei of higher plants // J. Cell Sci. 1995. Vol. 108. P. 509–518.
- Biamonti G., Vourc'h C. Nuclear stress bodies // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. Vol. 2. Art ID: a000695.
- Bickmore W. A., Sutherland H. G. Addressing protein localization within the nucleus // EMBO J. 2002. Vol. 21. P. 1248–1254.

- Bier K., Kuntz W., Ribbert D. Struktur und Funktion der Oocytenchromosomen und Nukleolen sowie der Extra-DNS während der Oogenese panoistischer und meroistischer Insekten // Chromosoma. 1967. Vol. 23. P. 214–254.
- Biggiogera M., Pellicciari C. Heterogeneous ectopic RNP-derived structures (HERDS) are markers of transcriptional arrest // FASEB J. 2000. Vol. 14. P. 828–834.
- Biliński S. M. Are accessory nuclei involved in the establishment of developmental gradients in hymenopteran oocytes? Ultrastructural studies // Roux's Arch. Dev. Biol. 1991. Vol. 199. P. 423–426.
- Biliński S. M., Kloc M. Accessory nuclei revisited: the translocation of snRNPs from the germinal vesicle to the periphery of the future embryo // Chromosoma. 2002. Vol. 111. P. 62–68.
- Birger B., Schneider R. Histone variants: key players of chromatin // Cell Tissue Res. 2014. Vol. 356. P. 457–466.
- Bizarro J., Dodré M., Huttin A., Charpentier B., Schlotter F., Branlant C., Verheggen C., Massenet S., Bertrand E. NUFIP and the HSP90/R2TP chaperone bind the SMN complex and facilitate assembly of U4-specific proteins // Nucleic Acids Res. 2015. Vol. 43. P. 8973–8989.
- Bizarro J., Bhardwaj A., Smith S., Meier U. T. Nopp140-mediated concentration of telomerase in Cajal bodies regulates telomere length // Mol. Biol. Cell. 2019. Vol. 30. P. 3136–3150.
- Bizarro J., Deryusheva S., Wacheul L., Gupta V., Ernst F. G. M., Lafontaine D. L. J., Gall J. G., Meier U. T. Nopp140-chaperoned 2'-O-methylation of small nuclear RNAs in Cajal bodies ensures splicing fidelity // Genes Dev. 2021. Vol. 35. P. 1123–1141.
- Bizhanova A., Kaufman P. D. Close to the edge: Heterochromatin at the nucleolar and nuclear peripheries // Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech. 2021. Vol. 1864. Art ID: 194666.
- Bjerregaard B., Maddox-Hyttel P. Regulation of ribosomal RNA gene expression in porcine oocytes // Anim. Reprod. Sci. 2004. Vol. 82–83. P. 605–616.
- Bloom K., Costanzo V. Centromere structure and function // Prog. Mol. Subcell. Biol. 2017. Vol. 56. P. 515–539.
- Boeynaems S., Alberti S., Fawzi N. L., Mittag T., Polymenidou M., Rousseau F., Schymkowitz J., Shorter J., Wolozin B., Van Den Bosch L., Tompa P., Fuxreiter M. Protein phase separation: a new phase in cell biology // Trends Cell Biol. 2018. Vol. 28. P. 420–435.
- Bogolyubov D. Localization of RNA transcription sites in insect oocytes using microinjections of 5-bromouridine 5'-triphosphate // Folia Histochem. Cytobiol. 2007. Vol. 45. P. 129–134.
- Bogolyubov D. Karyosphere (karyosome): a peculiar structure of the oocyte nucleus // Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2018. Vol. 337. P. 1–48.
- Bogolyubov D., Parfenov V. Immunogold localization of RNA polymerase II and pre-mRNA splicing factors in *Tenebrio molitor* oocyte nuclei with special emphasis on karyosphere development // Tissue Cell. 2001. Vol. 33. P. 549–561.
- Bogolyubov D., Parfenov V. Do nuclear bodies in oocytes of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Polyphaga, Tenebrionidae) contain two forms of RNA polymerase II? // Tissue Cell. 2004. Vol. 36. P. 13–17.
- Bogolyubov D., Parfenov V. Structure of the insect oocyte nucleus with special reference to interchromatin granule clusters and Cajal bodies // Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2008. Vol. 269. P. 59–110.
- Bogolyubov D., Stepanova I. Interchromatin granule clusters in vitellogenic oocytes of the flesh fly, *Sarcophaga* sp. // Folia Histochem. Cytobiol. 2007. Vol. 45. P. 401–403.
- Bogolyubov D., Alexandrova O., Tsvetkov A., Parfenov V. An immunoelectron study of karyosphere and nuclear bodies in oocytes of mealworm beetle, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Polyphaga) // Chromosoma. 2000. Vol. 109. P. 415–425.
- Bogolyubov D. S., Batalova F. M., Ogorzałek A. Localization of interchromatin granule cluster and Cajal body components in oocyte nuclear bodies of the hemipterans // Tissue Cell. 2007. Vol. 39. P. 353–364.

- Bogolyubov D., Stepanova I., Parfenov V. Universal nuclear domains of somatic and germ cells: some lessons from oocyte interchromatin granule cluster and Cajal body structure and molecular composition // *BioEssays*. 2009. Vol. 31. P. 400–409.
- Bogolyubov D. S., Batalova F. M., Kiselyov A. M., Stepanova I. S. Nuclear structures in *Tribolium castaneum* oocytes // *Cell Biol. Int.* 2013. Vol. 37. P. 1061–1079.
- Bogolyubov D. S., Chistyakova L. V., Goodkov A. V. Glomerulosomes: morphologically distinct nuclear organelles of unknown nature // *Protoplasma*. 2022. Vol. 259. P. 1409–1415.
- Bogolyubov D. S., Chistyakova L. V., Goodkov A. V. The nuclear DNA and RNA distribution in *Pelomyxa* spp. (Amoebozoa, Archamoebae, Pelobiontida) revealed by a simple-to-use DAPI/pyronin staining method // *J. Eukaryot. Microbiol.* 2025. Vol. 72. Art ID: e70000.
- Bogolyubova I., Bogolyubov D. Heterochromatin morphodynamics in late oogenesis and early embryogenesis of mammals // *Cells*. 2020. Vol. 9. Art ID: 1497.
- Bogolyubova I., Bogolyubov D. DAXX is a crucial factor for proper development of mammalian oocytes and early embryos // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. Art ID: 1313.
- Bogolyubova I. O., Lyabin D. N., Bogolyubov D. S., Ovchinnikov L. P. Immunocytochemical study of YB-1 nuclear distribution in different cell types // *Tissue Cell*. 2014. Vol. 46. P. 457–461.
- Bohmann K., Ferreira J. A., Lamond A. I. Mutational analysis of p80 coilin indicates a functional interaction between coiled bodies and the nucleolus // *J. Cell Biol.* 1995a. Vol. 131. P. 817–831.
- Bohmann K., Ferreira J., Santama N., Weis K., Lamond A. I. Molecular analysis of the coiled body // *J. Cell Sci. Suppl.* 1995b. Vol. 19. P. 107–113.
- Boisvert F.-M., Côté J., Boulanger M.-C., Clérout P., Bachand F., Autexier C., Richard S. Symmetrical dimethylarginine methylation is required for the localization of SMN in Cajal bodies and pre-mRNA splicing // *J. Cell Biol.* 2002. Vol. 159. P. 957–969.
- Bongiorno-Borbone L., De Cola A., Vernole P., Finos L., Barcaroli D., Knight R. A., Melino G., De Laurenzi V. FLASH and NPAT positive but not Coilin positive Cajal bodies correlate with cell ploidy // *Cell Cycle*. Vol. 20087. P. 2357–2367.
- Boroviak T., Stirparo G. G., Dietmann S., Hernando-Herraez I., Mohammed H., Reik W., Smith A., Sasaki E., Nichols J., Bertone P. Single cell transcriptome analysis of human, marmoset and mouse embryos reveals common and divergent features of preimplantation development // *Development*. 2018. Vol. 145. Art ID: dev167833.
- Boulon S., Verheggen C., Jady B. E., Girard C., Pescia C., Paul C., Ospina J. K., Kiss T., Matera A. G., Bordonné R., Bertrand E. PHAX and CRM1 are required sequentially to transport U3 snoRNA to nucleoli // *Mol. Cell*. 2004. Vol. 16. P. 777–787.
- Brahms H., Raymackers J., Union A., de Keyser F., Meheus L., Lürmann R. The C-terminal RG dipeptide repeats of the spliceosomal Sm proteins D1 and D3 contain symmetrical dimethylarginines, which form a major B-cell epitope for anti-Sm autoantibodies // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 17122–17129.
- Brahms H., Meheus L., de Brabandere V., Fischer U., Lührmann R. Symmetrical dimethylation of arginine residues in spliceosomal Sm protein B/B' and the Sm-like protein LSm4, and their interaction with the SMN protein // *RNA*. 2001. Vol. 7. P. 1531–1542.
- Brangwynne C. P. Phase transitions and size scaling of membrane-less organelles // *J. Cell Biol.* 2013. Vol. 203. P. 875–881.
- Brangwynne C. P., Eckmann C. R., Courson D. S., Rybarska A., Hoege C., Gharakhani J., Jülicher F., Hyman A. A. Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation // *Science*. 2009. Vol. 324. P. 1729–1732.
- Brasch K., Ochs R. L. Nuclear bodies (NBs): a newly “rediscovered” organelle // *Exp. Cell Res.* 1992. Vol. 202. P. 211–223.
- Bratkovič T., Božič J., Rogelj B. Functional diversity of small nucleolar RNAs // *Nucleic Acids Res.* 2020. Vol. 48. P. 1627–1651.

- Bromley S. E., Gall J. G. Transcription of the histone loci on lampbrush chromosomes of the newt *Notophthalmus viridescens* // Chromosoma. 1987. V. 95. P. 396–402.
- Broome H. J., Hebert M. D. *In vitro* RNase and nucleic acid binding activities implicate coilin in U snRNA processing // PLoS One. 2012 Vol. 7. Art ID: e36300.
- Broome H. J., Hebert M. D. Coilin displays differential affinity for specific RNAs *in vivo* and is linked to telomerase RNA biogenesis // J. Mol. Biol. 2013. Vol. 425. P. 713–724.
- Broome H. J., Carrero Z. I., Douglas H. E., Hebert M. D. Phosphorylation regulates coilin activity and RNA association // Biol. Open. 2013. Vol. 2. P. 407–415.
- Bucholc K., Skrajna A., Adamska K., Yang X.-C., Krajewski K., Poznański J., Dadlez M., Domiński Z., Zhukov I. Structural analysis of the SANT/Myb domain of FLASH and YARP proteins and their complex with the C-terminal fragment of NPAT by NMR spectroscopy and computer simulations // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21. Art ID: 5268.
- Bulchand S., Menon S. D., George S. E., Chia W. Muscle wasted: a novel component of the *Drosophila* histone locus body required for muscle integrity // J. Cell Sci. 2010. Vol. 123. P. 2697–2707.
- Burnett B. G., Muñoz E., Tandon A., Kwon D. Y., Sumner C. J., Fischbeck K. H. Regulation of SMN protein stability // Mol. Cell. Biol. 2009. Vol. 29. P. 1107–1115.
- Cai L.-H., Panyukov S., Rubinstein M. Mobility of nonsticky nanoparticles in polymer liquids // Macromolecules. 2011. Vol. 44. P. 7853–7863.
- Cajal S. Un sencillo método de coloración selectiva del retículo protoplasmático y sus efectos en diversos órganos nerviosos // Trab. Lab. Invest. Biol. 1903. Vol. 2. P. 129–221.
- Cajal S. El núcleo de las células piramidales del cerebro humano y de algunos mamíferos // Trab. Lab. Invest. Biol. 1910. Vol. 8. P. 27–62.
- Callan H. G. 1986. Lampbrush chromosomes. Springer-Verlag, 1986. 254 p.
- Callan H. G., Gall J. G. Association of RNA with the B and C snurposomes of *Xenopus* oocyte nuclei // Chromosoma. 1991. Vol. 101. P. 69–82.
- Callan H. G., Lloyd L. Lampbrush chromosomes of crested newts *Triturus cristatus* (Laurenti) // Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 1960. Vol. 243. P. 135–219.
- Callan H. G., Gall J. G., Murphy C. Histone genes are located at the sphere loci of *Xenopus* lampbrush chromosomes // Chromosoma. 1991. Vol. 101. P. 245–251.
- Cantarero L., Sanz-García M., Vinograd-Byk H., Renbaum P., Levy-Lahad E., Lazo P. A. VRK1 regulates Cajal body dynamics and protects coilin from proteasomal degradation in cell cycle // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. Art ID: 10543.
- Cao T., Rajasingh S., Samanta S., Dawn B., Bittel D. C., Rajasingh J. Biology and clinical relevance of noncoding sno/scaRNAs // Trends Cardiovasc. Med. 2018. Vol. 28. P. 81–90.
- Carmo-Fonseca M., Rino J. RNA seeds nuclear bodies // Nat. Cell Biol. 2011. Vol. 13. P. 110–112.
- Carmo-Fonseca M., Tollervey D., Pepperkok R., Barabino S. M., Merdes A., Brunner C., Zamore P. D., Green M. R., Hurt E., Lamond A. I. Mammalian nuclei contain foci which are highly enriched in components of the pre-mRNA splicing machinery // EMBO J. 1991a. Vol. 10. P. 195–206.
- Carmo-Fonseca M., Pepperkok R., Sproat B. S., Ansorge W., Swanson M. S., Lamond A. I. *In vivo* detection of snRNP-rich organelles in the nuclei of mammalian cells // EMBO J. 1991b. Vol. 10. P. 1863–1873.
- Carmo-Fonseca M., Pepperkok R., Carvalho M. T., Lamond A. I. Transcription-dependent colocalization of the U1, U2, U4/U6, and U5 snRNPs in coiled bodies // J. Cell Biol. 1992. Vol. 117. P. 1–14.
- Carmo-Fonseca M., Ferreira J., Lamond A. I. Assembly of snRNP-containing coiled bodies is regulated in interphase and mitosis — evidence that the coiled body is a kinetic nuclear structure // J. Cell Biol. 1993. Vol. 120. P. 841–852.
- Carmo-Fonseca M., Berciano M. T., Lafarga M. Orphan nuclear bodies // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. Vol. 2. Art ID: a000703.

- Carrero Z. I., Velma V., Douglas H. E., Hebert M. D. Coilin phosphomutants disrupt Cajal body formation, reduce cell proliferation and produce a distinct coilin degradation product // *PLoS One*. 2011. Vol. 6. Art ID: e25743.
- Carvalho T., Almeida F., Calapez A., Lafarga M., Berciano M. T., Carmo-Fonseca M. The spinal muscular atrophy disease gene product, SMN: A link between snRNP biogenesis and the Cajal (coiled) body // *J. Cell Biol.* 1999. Vol. 147. P. 715–728.
- Cauchi R. J. SMN and Gemins: 'we are family' ... or are we?: insights into the partnership between Gemins and the spinal muscular atrophy disease protein SMN // *Bioessays*. 2010. Vol. 32. P. 1077–1089.
- Cauchi R. J. Gem depletion: amyotrophic lateral sclerosis and spinal muscular atrophy crossover // *CNS Neurosci. Ther.* 2014. Vol. 20. P. 574–581.
- Cavalheiro G. R., Pollex T., Furlong E. E. To loop or not to loop: what is the role of TADs in enhancer function and gene regulation? // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2021. Vol. 67. P. 119–129.
- Cerneckis J., Ming G.-L., Song H., He C., Shi Y. The rise of epitranscriptomics: recent developments and future directions // *Trends Pharmacol. Sci.* 2024. Vol. 45. P. 24–38.
- Chakrabarti P., Chakrabarti D. Intrinsically disordered proteins/regions and insight into their biomolecular interactions // *Biophys. Chem.* 2022. Vol. 283. Art ID: 106769.
- Chakraborty S., Mishra J., Roy A., Niharika N., Manna S., Baral T., Nandi P., Patra S., Patra S. K. Liquid-liquid phase separation in subcellular assemblages and signaling pathways: Chromatin modifications induced gene regulation for cellular physiology and functions including carcinogenesis // *Biochimie*. 2024. Vol. 223. P. 74–97.
- Chamberland H., Lafontaine J. G. Localization of snRNP antigens in nucleolus-associated bodies: study of plant interphase nuclei by confocal and electron microscopy // *Chromosoma*. 1993. Vol. 102. P. 220–226.
- Chaytow H., Huang Y.-T., Gillingwater T. H., Faller K. M. E. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis // *Cell. Mol. Life Sci.* 2018. Vol. 75. P. 3877–3894.
- Chen J., Wagner E. J. snRNA 3' end formation: the dawn of the Integrator complex // *Biochem. Soc. Trans.* 2010. Vol. 38. P. 1082–1087.
- Chen J.-L., Blasco M. A., Greider C. W. Secondary structure of vertebrate telomerase RNA // *Cell*. 2000. Vol. 100. P. 503–514.
- Chen L., Roake C. M., Freund A., Batista P. J., Tian S., Yin Y. A., Gajera C. R., Lin S., Lee B., Pech M. F., Venteicher A. S., Das R., Chang H. Y., Artandi S. E. An activity switch in human telomerase based on RNA conformation and shaped by TCAB1 // *Cell*. 2018. Vol. 174. P. 218–230. e13
- Chen L., Roake C. M., Galati A., Bavasso F., Micheli E., Saggio I., Schoeftner S., Cacchione S., Gatti M., Artandi S. E., Raffa G. D. Loss of human TGS1 hypermethylase promotes increased telomerase RNA and telomere elongation // *Cell Rep.* 2020a. Vol. 30. P. 1358–1372. e5.
- Chen T., Boisvert F. M., Bazett-Jones D. P., Richard S. A role for the GSG domain in localizing Sam68 to novel nuclear structures in cancer cell lines // *Mol. Biol. Cell*. 1999. Vol. 10. P. 3015–3033.
- Chen W., Moore M. J. The spliceosome: disorder and dynamics defined // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2014. Vol. 24. P. 141–149.
- Chen X., Tang W.-J., Shi J. B., Liu M. M., Liu X.-H. Therapeutic strategies for targeting telomerase in cancer // *Med. Res. Rev.* 2020b. Vol. 40. P. 532–585.
- Chen Y. The structural biology of the shelterin complex // *Biol. Chem.* 2019. Vol. 400. P. 457–466.
- Chen Y., Deng Z., Jiang S., Hu Q., Liu H., Songyang Z., Ma W., Chen S., Zhao Y. Human cells lacking coilin and Cajal bodies are proficient in telomerase assembly, trafficking and telomere maintenance // *Nucleic Acids Res.* 2015. Vol. 43. P. 385–395.
- Chen Z., Gui B., Zhang Y., Xie G., Li W., Liu S., Xu B., Wu C., He L., Yang J., Yi X., Yang X., Sun L., Liang J., Shang Y. Identification of a 35S U4/U6. U5 tri-small nuclear ribonucleo-

- protein (tri-snRNP) complex intermediate in spliceosome assembly // J. Biol. Chem. 2017. Vol. 292. P. 18113–18128.
- Ching R. W., Ahmed K., Boutros P. C., Penn L. Z., Bazett-Jones D. P. Identifying gene locus associations with promyelocytic leukemia nuclear bodies using immuno-TRAP // J. Cell Biol. 2013. Vol. 201. P. 325–335.
- Chistyakova L. V., Bogolyubov D. S., Goodkov A. V. Structure in the *Pelomyxa* nuclei: key morphological patterns // Invertebrate Zool. 2025. Vol. 22, in press.
- Chiu C.-M., Tsay Y.-G., Chang C.-J., Lee S.-C. Nopp140 is a mediator of the protein kinase A signaling pathway that activates the acute phase response α_1 -acid glycoprotein gene // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 39102–39111.
- Cho E. J., Kim J. S. Crowding effects on the formation and maintenance of nuclear bodies: insights from molecular-dynamics simulations of simple spherical model particles // Biophys. J. 2012. Vol. 103. P. 424–433.
- Cho W.-K., Spille J.-H., Hecht M., Lee C., Li C., Grube V., Cisse I. I. Mediator and RNA polymerase II clusters associate in transcription-dependent condensates // Science. 2018. Vol. 361. P. 412–415.
- Chujo T., Hirose T. Nuclear bodies built on architectural long noncoding RNAs: unifying principles of their construction and function // Mol. Cells. 2017. Vol. 40. P. 889–896.
- Chung I., Osterwald S., Deeg K. I., Rippe K. PML body meets telomere: the beginning of an ALTerate ending? // Nucleus. 2012. Vol. 3. P. 263–275.
- Cioce M., Boulon S., Matera A. G., Lamond A. I. UV-induced fragmentation of Cajal bodies // J. Cell Biol. 2006. Vol. 175. P. 401–413.
- Cohen S. B., Graham M. E., Lovrecz G. O., Bache N., Robinson P. J., Reddel R. R. Protein composition of catalytically active human telomerase from immortal cells // Science. 2007. Vol. 315. P. 1850–1853.
- Colau G., Thiry M., Leduc V., Bordonné R., Lafontaine D. L. The small nucleolar RNA cap trimethyltransferase is required for ribosome synthesis and intact nucleolar morphology // Mol. Cell. Biol. 2004. Vol. 24. P. 7976–7986.
- Colebatch A. J., Dobrovic A., Cooper W. A. TERT gene: its function and dysregulation in cancer // J. Clin. Pathol. 2019. Vol. 72. P. 281–284.
- Collier S., Pendle A., Boudonck K., van Rij T., Liam D., Shaw P. A distant coilin homologue is required for the formation of Cajal bodies in *Arabidopsis* // Mol. Biol. Cell. 2006. Vol. 17. P. 2942–2951.
- Coucoravas C., Dhanjal S., Henriksson S., Böhm S., Farnebo M. Phosphorylation of the Cajal body protein WRAP53 β by ATM promotes its involvement in the DNA damage response // RNA Biol. 2017. Vol. 14. P. 804–813.
- Courchaine E. M., Lu A., Neugebauer K. M. Droplet organelles? // EMBO J. 2016. Vol. 35. P. 1603–1612.
- Courchaine E. M., Barentine A. E. S., Straube K., Lee D.-R., Bewersdorf J., Neugebauer K. M. DMA-tudor interaction modules control the specificity of in vivo condensates // Cell. 2021. Vol. 184. P. 3612–3625. e17.
- Courchaine E., Gelles-Watnick S., Machyna M., Straube K., Sauyet S., Enright J., Neugebauer K. M. The coilin N-terminus mediates multivalent interactions between coilin and Nopp140 to form and maintain Cajal bodies // Nat. Commun. 2022. Vol. 13. Art. ID: 6005.
- Courvan E. M. C., Parker R. R. Regulation of Cajal bodies: Unexpected connection to 60S ribosomes // J. Cell Biol. 2025. Vol. 224. Art. ID: e20250100.
- Couté Y., Burgess J. A., Diaz J. J., Chichester C., Lisacek F., Greco A., Sanchez J. C. Deciphering the human nucleolar proteome // Mass Spectrom. Rev. 2006. Vol. 25. P. 215–234.
- Coyaud E., Ranadheera C., Cheng D., Gonçalves J., Dyakov B. J. A., Laurent E. M. N., St-Germain J., Pelletier L., Gingras A.-C., Brumell J. H., Kim P. K., Safronetz D., Raught B. Global interactomics uncovers extensive organellar targeting by Zika virus // Mol. Cell. Proteomics. 2018. Vol. 17. P. 2242–2255.

- Cremer T., Cremer M. Chromosome territories // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. Vol. 2. Art ID: a003889.
- Cremer M., Cremer T. Nuclear compartmentalization, dynamics, and function of regulatory DNA sequences // Genes Chromosomes Cancer. 2019. Vol. 58. P. 427–436.
- Cremer T., Cremer M., Cremer C. 4D-нуклеом: компартментализация генома в контексте эволюции // Биохимия. Т. 83, № 4. С. 452–466. (Перевод / ориг. авторский текст: Cremer T., Cremer M., Cremer C. The 4D nucleome: genome compartmentalization in an evolutionary context // Biochemistry (Mosc). 2018. Vol. 83. P. 313–325.
- Cremer T., Cremer M., Hübner B., Silahtaroglu A., Hendzel M., Lanctôt C., Strickfaden H., Cremer C. The interchromatin compartment participates in the structural and functional organization of the cell nucleus // Bioessays. 2020. Vol. 42. Art ID: e1900132.
- Cristofari G., Adolf E., Reichenbach P., Sikora K., Terns R. M., Terns M. P., Lingner J. Human telomerase RNA accumulation in Cajal bodies facilitates telomerase recruitment to telomeres and telomere elongation // Mol. Cell. 2007. Vol. 27. P. 882–889.
- Crowe C. D., Keating C. D. Liquid–liquid phase separation in artificial cells // Interface Focus. 2018. Vol. 8. Art ID: 20180032.
- Cui H., Shi Q., Macarios C. M., Schimmel P. Metabolic regulation of mRNA splicing // Trends Cell Biol. 2024. Vol. 34. P. 756–770.
- Dai Y., Wang Z.-G., Zare R. N. Unlocking the electrochemical functions of biomolecular condensates // Nat. Chem. Biol. 2024. Vol. 20. P. 1420–1433.
- Daneshvar K., Abid K., Goodliffe J. M. Myc localizes to histone locus bodies during replication in *Drosophila* // PLoS One. 2011. Vol. 6. Art ID: e23928.
- Daniels E. W., Breyer E. P. Ultrastructure of the giant amoeba *Pelomyxa palustris* // J. Protozool. 1967. Vol. 14. P. 167–179.
- Daniels E. W., Breyer E. P., Kudo R. R. *Pelomyxa palustris* Greeff. II. Its ultrastructure // Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 1966. Vol. 73. P. 367–383.
- Darzacq X., Jády B. E., Verheggen C., Kiss A. M., Bertrand E., Kiss T. Cajal body-specific small nuclear RNAs: a novel class of 2'-O- methylation and pseudouridylation guide RNAs // EMBO J. 2002. Vol. 21. P. 2746–2756.
- Darzacq X., Kittur N., Roy S., Shav-Tal Y., Singer R. H., Meier U. T. Stepwise RNP assembly at the site of H/ACA RNA transcription in human cells // J. Cell Biol. 2006. Vol. 173. P. 207–218.
- Das N., Khan T., Halder B., Ghosh S., Sen P. Macromolecular crowding effects on protein dynamics // Int. J. Biol. Macromol. 2024. Vol. 281. Art. ID: 136248.
- Daskal Y. 1981. Perichromatin granules. In: Nuclear particles. The cell nucleus / H. Busch (ed.). Vol. 8. New York; London: Acad. Press, 1981. P. 117–137.
- Davidian A., Koshel E., Dyomin A., Galkina S., Saifitdinova A., Gaginskaya E. On some structural and evolutionary aspects of rDNA amplification in oogenesis of *Trachemys scripta* turtles // Cell Tissue Res. 2021. Vol. 383. P. 853–864.
- de Almeida R. A., O'Keefe R. T. The NineTeen Complex (NTC) and NTC-associated proteins as targets for spliceosomal ATPase action during pre-mRNA splicing // RNA Biol. 2015. Vol. 12. P. 109–114.
- De Cola A., Bongiorno-Borbone L., Bianchi E., Barcaroli D., Carletti E., Knight R. A., Di Ilio C., Melino G., Sette C., De Laurenzi V. FLASH is essential during early embryogenesis and cooperates with p73 to regulate histone gene transcription // Oncogene. 2012. Vol. 31. P. 573–582.
- de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres // Genes Dev. 2005. Vol. 19. P. 2100–2110.
- de Thé G., Riviere M., Bernhard W. Examination by electron microscope of the VX2 tumor of the domestic rabbit derived from the Shope papilloma // Bull. Assoc. Fr. Etud. Cancer 1960. Vol. 47. P. 570–584.
- Dedukh D., Krasikova A. Delete and survive: strategies of programmed genetic material elimination in eukaryotes // Biol Rev Camb Philos Soc. 2022. Vol. 97. P. 195–216.

- Dedukh D., Kulikova T., Dobrovolskaia M., Maslova A., Krasikova A. Lampbrush chromosomes of *Danio rerio* // Chromosome Res. 2025. Vol. 33. Art. ID: 2.
- Deng X., Yao Q., Horvath A., Jiang Z., Zhao J., Fischer T., Sugiyama T. The fission yeast ortholog of Coilin, Mug174, forms Cajal body-like nuclear condensates and is essential for cellular quiescence // Nucleic Acids Res. 2024. Vol. 52. P. 9174–9192.
- Denton AR. Crowding in polymer-nanoparticle mixtures // Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2014. Vol. 307. P. 27–71.
- Dephoure N., Zhou C., Villén J., Beausoleil S. A., Bakalarski C. E., Elledge S. J., Gygi S. P. A quantitative atlas of mitotic phosphorylation // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2008. Vol. 105. P. 10762–10767.
- Deryusheva S., Gall J. G. Dynamics of coilin in Cajal bodies of the *Xenopus* germinal vesicle // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2004. Vol. 101. P. 4810–4814.
- Deryusheva S., Gall J. G. Small Cajal body-specific RNAs of *Drosophila* function in the absence of Cajal bodies // Mol. Biol. Cell. 2009. Vol. 20. P. 5250–5259.
- Deryusheva S., Gall J. G. Novel small Cajal-body-specific RNAs identified in *Drosophila*: probing guide RNA function // RNA. 2013. Vol. 19. P. 1802–1814.
- Deryusheva S., Gall J. G. scaRNAs and snoRNAs: Are they limited to specific classes of substrate RNAs? // RNA. 2019. Vol. 25. P. 17–22.
- Deryusheva S., Choleza M., Barbarossa A., Gall J. G., Bordonné R. Posttranscriptional modification of spliceosomal RNAs is normal in SMN deficient cells // RNA. 2012. Vol. 18. P. 31–36.
- Deryusheva S., Talhouarne G. J. S., Gall J. G. "Lost and found": snoRNA annotation in the *Xenopus* genome and implications for evolutionary studies // Mol. Biol. Evol. 2020. Vol. 37. P. 149–166.
- Deryusheva S., Talross G. J. S., Gall J. G. SnoRNA guide activities: real and ambiguous // RNA. 2021. Vol. 27. P. 1363–1373.
- Diaz M. O., Gall J. G. Giant readthrough transcription units at the histone loci on lampbrush chromosomes of the newt *Notophthalmus* // Chromosoma. 1985. V. 92. P. 243–253.
- Dominski Z., Erkmann J. A., Yang X., Sánchez R., Marzluff W. F. A novel zinc finger protein is associated with U7 snRNP and interacts with the stem-loop binding protein in the histone pre-mRNP to stimulate 3'-end processing // Genes Dev. 2002. Vol. 16. P. 58–71.
- Drino A., Schaefer M. R. RNAs, phase separation, and membrane-less organelles: Are post-transcriptional modifications modulating organelle dynamics? // Bioessays. 2018. Vol. 40. Art. ID: e1800085.
- Dundr M. Seed and grow: a two-step model for nuclear body biogenesis // J. Cell Biol. 2011. Vol. 193. P. 605–606.
- Dundr M. Nuclear bodies: multifunctional companions of the genome // Curr. Opin. Cell Biol. 2012. Vol. 24. P. 415–422.
- Dundr M., Misteli T. Biogenesis of nuclear bodies // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. Vol. 2. Art. ID: a000711.
- Dundr M., Hebert M. D., Karpova T. S., Stanek D., Xu H., Shpargel K. B., Meier U. T., Neugebauer K. M., Matera A. G., Misteli T. *In vivo* kinetics of Cajal body components // J. Cell Biol. 2004. Vol. 164. P. 831–842.
- Dundr M., Ospina J. K., Sung M.-H., John S., Upender M., Ried T., Hager G. L., Matera A. G. Actin-dependent intranuclear repositioning of an active gene locus *in vivo* // J. Cell Biol. 2007. Vol. 179. P. 1095–1103.
- Duronio R. J., Marzluff W. F. Coordinating cell cycle-regulated histone gene expression through assembly and function of the Histone Locus Body // RNA Biol. 2017. Vol. 14. P. 726–738.
- Egan E. D., Collins K. An enhanced H/ACA RNP assembly mechanism for human telomerase RNA // Mol. Cell. Biol. 2012. Vol. 32. P. 2428–2439.

- Egloff S., Vitali P., Tellier M., Raffel R., Murphy S., Kiss T. The 7SK snRNP associates with the little elongation complex to promote snRNA gene expression // *EMBO J.* 2017. Vol. 36. P. 934–948.
- El Osmani N., Prévostel C., Picque Lasorsa L., El Harakeh M., Radwan Z., Mawlawi H., El Sabban M., Shirinian M., Dassouki Z. Vitamin C enhances co-localization of novel TET1 nuclear bodies with both Cajal and PML bodies in colorectal cancer cells // *Epigenetics.* 2024. Vol. 19. Art. ID: 2337142.
- Eliceiri G. L., Rysse J. S. Detection of intranuclear clusters of Sm antigens with monoclonal anti-Sm antibodies by immunoelectron microscopy // *J. Cell Physiol.* 1984. Vol. 121. P. 449–451.
- Ellingsen EB, Mangsbo SM, Hovig E, Gaudernack G. Telomerase as a target for therapeutic cancer vaccines and considerations for optimizing their clinical potential // *Front. Immunol.* 2021. Vol. 12. Art. ID: 682492.
- Enwerem I. I., Velma V., Broome H. J., Kuna M., Begum R. A., Hebert M. D. Coilin association with Box C/D scaRNA suggests a direct role for the Cajal body marker protein in scaRNP biogenesis // *Biol. Open.* 2014. Vol. 3. P. 240–249.
- Enwerem I. I., Wu G., Yu Y. T., Hebert M. D. Cajal body proteins differentially affect the processing of box C/D scaRNPs // *PLoS One.* 2015. Vol. 10. Art. ID: e0122348.
- Eres I. E., Gilad Y. A TAD skeptic: Is 3D genome topology conserved? // *Trends Genet.* 2021. Vol. 37. P. 216–223.
- Etheridge K. T., Banik S. S., Armbruster B. N., Zhu Y., Terns R. M., Terns M. P., Counter C. M. The nucleolar localization domain of the catalytic subunit of human telomerase // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 24764–24770.
- Fakan S. Perichromatin fibrils are in situ forms of nascent transcripts // *Trends Cell Biol.* 1994. Vol. 4. P. 86–90.
- Falahati H., Haji-Akbari A. Thermodynamically driven assemblies and liquid-liquid phase separations in biology // *Soft Matter.* 2019. Vol. 15. P. 1135–1154.
- Fan X., Zhang X., Wu X., Guo H., Hu Y., Tang F., Huang Y. Single-cell RNA-seq transcriptome analysis of linear and circular RNAs in mouse preimplantation embryos // *Genome Biol.* 2015. Vol. 16. Art. ID: 148.
- Faravelli I., Riboldi G. M., Rinchetti P., Lotti F. The SMN complex at the crossroad between RNA metabolism and neurodegeneration // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. Art. ID: 2247.
- Fehlmann T., Backes C., Pirritano M., Laufer T., Galata V., Kern F., Kahraman M., Gasparoni G., Ludwig N., Lenhof H.-P., Gregersen H. A., Francke R., Meese E., Simon M., Keller A. The sncRNA Zoo: a repository for circulating small noncoding RNAs in animals // *Nucleic Acids Res.* 2019. Vol. 47. P. 4431–4441.
- Feng Z., Chen X., Wu X., Zhang M. Formation of biological condensates via phase separation: Characteristics, analytical methods, and physiological implications // *J. Biol. Chem.* 2019. Vol. 294. P. 14823–14835.
- Feric M., Vaidya N., Harmon T. S., Mitrea D. M., Zhu L., Richardson T. M., Kriwacki R. W., Pappu R. V., Brangwynne C. P. Coexisting liquid phases underlie nucleolar subcompartments // *Cell.* 2016. Vol. 165. P. 1686–1697.
- Fernandez-Vidal A., Vignard J., Mirey G. Around and beyond 53BP1 nuclear bodies // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18. Art. ID: 2611.
- Ferreira J., Carmo-Fonseca M. The biogenesis of the coiled body during early mouse development // *Development.* 1995. Vol. 121. P. 601–612.
- Ferreira J. A., Carmo-Fonseca M., Lamond A. I. Differential interaction of splicing snRNPs with coiled bodies and interchromatin granules during mitosis and assembly of daughter cell nuclei // *J. Cell Biol.* 1994. Vol. 126. P. 11–23.
- Filek K., Jarek E., Biliński S. M. Cajal bodies (coiled bodies) in the nuclei of the house cricket (*Acheta domestica*) oocytes // *Folia Histochem. Cytobiol.* 2002. Vol. 40. P. 221–222.

- Fischer U., Englbrecht C., Chari A. Biogenesis of spliceosomal small nuclear ribonucleoproteins // Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2011. Vol. 2. P. 718–731.
- Fong K.-W., Li Y., Wang W., Ma W., Li K., Qi R. Z., Li D., Songyang Z., Chen J. Whole-genome screening identifies proteins localized to distinct nuclear bodies // J. Cell Biol. 2013. Vol. 203. P. 149–164.
- Fonin A. V., Antifeeva I. A., Kuznetsova I. M., Turoverov K. K., Zaslavsky B. Y., Kulkarni P., Uversky V. N. Biological soft matter: intrinsically disordered proteins in liquid-liquid phase separation and biomolecular condensates // Essays Biochem. 2022. Vol. 66. P. 831–847.
- Förthmann B., van Bergeijk J., Lee Y.-W., Lübben V., Schill Y., Brinkmann H., Ratzka A., Stachowiak M. K., Hebert M., Grothe C., Claus P. Regulation of neuronal differentiation by proteins associated with nuclear bodies // PLoS One. 2013. Vol. 8. Art. ID: e82871.
- Franke J., Gehlen J., Ehrenhofer-Murray A. E. Hypermethylation of yeast telomerase RNA by the snRNA and snoRNA methyltransferase Tgs1 // J. Cell Sci. 2008. Vol. 121. P. 3553–3560.
- Frankel A., Clarke S. RNase treatment of yeast and mammalian cell extracts affects *in vitro* substrate methylation by type I protein arginine N-methyltransferases // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1999. Vol. 259. P. 391–400.
- Frey M. R., Matera A. G. Coiled bodies contain U7 small nuclear RNA and associate with specific DNA sequences in interphase human cells // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 1995. Vol. 92. P. 5915–5919.
- Frey M. R., Matera A. G. RNA-mediated interaction of Cajal bodies and U2 snRNA genes // J. Cell Biol. 2001. Vol. 154. P. 499–509.
- Frey M. R., Bailey A. D., Weiner A. M., Matera A. G. Association of snRNA genes with coiled bodies is mediated by nascent snRNA transcripts // Curr. Biol. 1999. Vol. 9. P. 126–135.
- Frey S., Richter R. P., Görlich D. FG-rich repeats of nuclear pore proteins form a three-dimensional meshwork with hydrogel-like properties // Science. 2006. Vol. 314. P. 815–817.
- Friend K., Lovejoy A. F., Steitz J. A. U2 snRNP binds intronless histone pre-mRNAs to facilitate U7-snRNP-dependent 3' end formation // Mol. Cell. 2007. Vol. 28. P. 240–252.
- Friesen W. J., Dreyfuss G. Specific sequences of the Sm and Sm-like (Lsm) proteins mediate their interaction with the spinal muscular atrophy disease gene product (SMN) // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 26370–26375.
- Friesen W. J., Massenot S., Paushkin S., Wyce A., Dreyfuss G. SMN, the product of the spinal muscular atrophy gene, binds preferentially to dimethylarginine-containing protein targets // Mol. Cell. 2001. Vol. 7. P. 1111–1117.
- Frydrychová R. Č., Konopová B., Peska V., Brejcha M., Šábová M. Telomeres and telomerase: active but complex players in life-history decisions // Biogerontology. 2024. Vol. 25. P. 205–226.
- Fu D., Collins K. Distinct biogenesis pathways for human telomerase RNA and H/ACA small nucleolar RNAs // Mol. Cell. 2003. Vol. 11. P. 1361–1372.
- Fu D., Collins K. Purification of human telomerase complexes identifies factors involved in telomerase biogenesis and telomere length regulation // Mol. Cell. 2007. Vol. 28. P. 773–785.
- Fulka J. J., Benc M., Loi P., Langerova A., Fulka H. Function of atypical mammalian oocyte/zygote nucleoli and its implications for reproductive biology and medicine // Int. J. Dev. Biol. 2019. Vol. 63. P. 105–112.
- Gaginskaya E., Kulikova T., Krasikova A. Avian lampbrush chromosomes: a powerful tool for exploration of genome expression // Cytogenet. Genome Res. 2009. 124. P. 251–267.
- Galej W. P. Structural studies of the spliceosome: past, present and future perspectives // Biochem. Soc. Trans. 2018. Vol. 46. P. 1407–1422.
- Galkina S., Matveeva K., Takki O., Volodkina V., Kulak M., Shalutina J., Gaginskaya E. Coilin-containing nuclear biomolecular condensates in zebra finch *Taeniopygia guttata* growing oocytes // Dev. Biol. 2025. Vol. 524. P. 144–151.
- Gall J. G. Lampbrush chromosomes from oocyte nuclei of the newt // J. Morphol. 1954. Vol. 94. P. 283–352.

- Gall J. G. Early studies on gene amplification // *Harvey Lect.* 1978. V. 71. P. 55–70.
- Gall J. G. Spliceosomes and snurposomes // *Science.* 1991. Vol. 252. P. 1499–1500.
- Gall J. G. A pictorial history. Views of the cell. The American Society for Cell Biology, 1996. 128 p.
- Gall J. G. Cajal bodies: the first 100 years // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2000. Vol. 16. P. 273–300.
- Gall J. G. A role of Cajal bodies in assembly of the nuclear transcription machinery // *FEBS Lett.* 2001. V. 498. P. 164–167.
- Gall J. G. The centennial of the Cajal body // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003. Vol. 4. P. 975–980.
- Gall J. G. The origin of in situ hybridization — A personal history // *Methods.* 2016. V. 98. P. 4–9.
- Gall J. G., Callan H. G. The sphere organelle contains small nuclear ribonucleoproteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1989. Vol. 86. P. 6635–6639.
- Gall J. G., Stephenson E. C., Erba H. P., Diaz M. O., Barsacchi-Pilone G. Histone genes are located at the sphere loci of newt lampbrush chromosomes // *Chromosoma.* 1981. Vol. 84. P. 159–171.
- Gall J. G., Tsvetkov A., Wu Z., Murphy C. Is the sphere organelle/coiled body a universal nuclear component? // *Dev. Genet.* 1995. Vol. 16. P. 25–35.
- Gall J. G., Bellini M., Wu Z., Murphy C. Assembly of the nuclear transcription and processing machinery: Cajal bodies (coiled bodies) and transcriptosomes // *Mol. Biol. Cell.* 1999. Vol. 10. P. 4385–4402.
- Gall J. G., Wu Z., Murphy C., Gao H. Structure in the amphibian germinal vesicle // *Exp. Cell Res.* 2004. Vol. 296. P. 28–34.
- Gangwani L., Mikrut M., Theroux S., Sharma M., Davis R. J. Spinal muscular atrophy disrupts the interaction of ZPR1 with the SMN protein // *Nat. Cell Biol.* 2001. Vol. 3. P. 376–383.
- Gangwani L., Flavell R. A., Davis R. J. ZPR1 is essential for survival and is required for localization of the survival motor neurons (SMN) protein to Cajal bodies // *Mol. Cell. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 2744–2756.
- Ganot P., Jádý B. E., Bortolin M. L., Darzacq X., Kiss T. Nucleolar factors direct the 2'-O-ribose methylation and pseudouridylation of U6 spliceosomal RNA // *Mol. Cell. Biol.* 1999. Vol. 19. P. 6906–6917.
- Gao J., Wang L., Huntley M. L., Perry G., Wang X. Pathomechanisms of TDP-43 in neurodegeneration // *J. Neurochem.* 2018. Vol. 27. Art. ID: 10.1111/jnc. 14327.
- Garus A., Autexier C. Dyskerin: an essential pseudouridine synthase with multifaceted roles in ribosome biogenesis, splicing, and telomere maintenance // *RNA.* 2021. Vol. 27. P. 1441–1458.
- Gary J. D., Clarke S. RNA and protein interactions modulated by protein arginine methylation // *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 1998. Vol. 61. P. 65–131.
- Gehring N. H., Lamprinakí S., Hentze M. W., Kulozik A. E. The hierarchy of exon-junction complex assembly by the spliceosome explains key features of mammalian nonsense-mediated mRNA decay // *PLoS Biol.* 2009. Vol. 7. Art. ID: e10001.
- Geisler M. S., Kemp J. P. Jr, Duronio R. J. Histone locus bodies: a paradigm for how nuclear biomolecular condensates control cell cycle regulated gene expression // *Nucleus.* 2023. Vol. 14. Art. ID: 2293604.
- Geisler S., Collier J. XRN1: A major 5' to 3' exoribonuclease in eukaryotic cells // *Enzymes.* 2012. Vol. 31. P. 97–114.
- Gelsinger D. R., DiRuggiero J. The non-coding regulatory RNA revolution in Archaea // *Genes (Basel).* 2018. Vol. 9. Art. ID: 141.
- Genabai N. K., Kannan A., Ahmad S., Jiang X., Bhatia K., Gangwani L. Deregulation of ZPR1 causes respiratory failure in spinal muscular atrophy // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. Art. ID: 8295.
- Georgeson J., Schwartz S. The ribosome epitranscriptome: inert- or a platform for functional plasticity? // *RNA.* 2021. Vol. 27. P. 1293–1301.
- Gerbi S. A., Lange T. S. All small nuclear RNAs (snRNAs) of the [U4/U6. U5] Tri-snRNP localize to nucleoli; Identification of the nucleolar localization element of U6 snRNA // *Mol. Biol. Cell.* 2002. Vol. 13. P. 3123–3137.

- Gerbi S. A., Borovjagin A. V., Odreman F. E., Lange T. S. U4 snRNA nucleolar localization requires the NHPX/15.5-kD protein binding site but not Sm protein or U6 snRNA association // *J. Cell Biol.* 2003. Vol. 162. P. 821–832.
- Geuskens M., Alexandre H. Ultrastructural and autoradiographic studies of nucleolar development and rDNA transcription in preimplantation mouse embryos // *Cell. Differ.* 1984. Vol. 14. P. 125–134.
- Gheri E., Vito P., Lopez P., Abdallah M., D'Adamio L. The intracellular localization of amyloid beta protein precursor (AbetaPP) intracellular domain associated protein-1 (AIDA-1) is regulated by AbetaPP and alternative splicing // *J. Alzheimers Dis.* 2004. Vol. 6. P. 67–78.
- Ghule P. N., Becker K. A., Harper J. W., Lian J. B., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. Cell cycle dependent phosphorylation and subnuclear organization of the histone gene regulator p220(NPAT) in human embryonic stem cells // *J. Cell. Physiol.* 2007. Vol. 213. P. 9–17.
- Ghule P. N., Dominski Z., Yang X.-C., Marzluff W. F., Becker K. A., Harper J. W., Lian J. B., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. Staged assembly of histone gene expression machinery at subnuclear foci in the abbreviated cell cycle of human embryonic stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2008. Vol. 105. P. 16964–16969.
- Ghule P. N., Dominski Z., Lian J. B., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. The subnuclear organization of histone gene regulatory proteins and 3' end processing factors of normal somatic and embryonic stem cells is compromised in selected human cancer cell types // *J. Cell. Physiol.* 2009. Vol. 220. P. 129–135.
- Ghule P. N., Xie R.-L., Medina R., Colby J. L., Jones S. N., Lian J. B., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. Fidelity of histone gene regulation is obligatory for genome replication and stability // *Mol. Cell. Biol.* 2014. Vol. 34. P. 2650–2659.
- Ghule P. N., Xie R.-L., Colby J. L., Jones S. N., Lian J. B., Wijnen A. J., Stein J. L., Stein G. S. p53 checkpoint ablation exacerbates the phenotype of Hinf ϕ dependent histone H4 deficiency // *Cell Cycle.* 2015. Vol. 14. P. 2501–2508.
- Ghule P. N., Xie R.-L., Colby J. L., Rivera-Perez J. A., Jones S. N., Lian J. B., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. Maternal expression and early induction of histone gene transcription factor Hinf ϕ sustains development in pre-implantation embryos // *Dev. Biol.* 2016. Vol. 419. P. 311–320.
- Giardini M. A., Segatto M., da Silva M. S., Nunes V. S., Cano M. I. Telomere and telomerase biology // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2014. Vol. 125. P. 1–40.
- Giesemann T., Rathke-Hartlieb S., Rothkegel M., Bartsch J. W., Buchmeier S., Jockusch B. M., Jockusch H. A role for polyproline motifs in the spinal muscular atrophy protein SMN. Profilins bind to and colocalize with SMN in nuclear gems // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 37908–37914.
- Gilder A. S., Do P. M., Carrero Z. I., Cosman A. M., Broome H. J., Velma V., Martinez L. A., Hebert M. D. Coilin participates in the suppression of RNA polymerase I in response to cis-platin-induced DNA damage // *Mol. Biol. Cell.* 2011 Vol. 22. P. 1070–1079.
- Girard C., Neel H., Bertrand E., Bordonné R. Depletion of SMN by RNA interference in HeLa cells induces defects in Cajal body formation // *Nucleic Acids Res.* 2006. Vol. 34. P. 2925–2932.
- Girard C., Verheggen C., Neel H., Cammas A., Vagner S., Soret J., Bertrand E., Bordonné R. Characterization of a short isoform of human Tgs1 hypermethylase associating with small nucleolar ribonucleoprotein core proteins and produced by limited proteolytic processing // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. P. 2060–2069.
- Girard C., Will C. L., Peng J., Makarov E. M., Kastner B., Lemm I., Urlaub H., Hartmuth K., Lührmann R. Post-transcriptional spliceosomes are retained in nuclear speckles until splicing completion // *Nat. Commun.* 2012. Vol. 3. Art. ID: 994.
- Gitlin J. M., Fischbeck K., Crawford T. O., Cwik V., Fleischman A., Gonye K., Heine D., Hobby K., Kaufmann P., Keiles S., MacKenzie A., Musci T., Prior T., Lloyd-Puryear M., Sugarman E. A., Terry S. F., Urv T., Wang C., Watson M., Yaron Y., Frosst P., Howell R. R. Carrier testing for spinal muscular atrophy // *Genet. Med.* Vol. 12. P. 621–622.

- Giudice J., Jiang H. Splicing regulation through biomolecular condensates and membraneless organelles // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2024. Vol. 25. P. 683–700.
- Godfrey A. C., Kupsco J. M., Burch B. D., Zimmerman R. M., Dominski Z., Marzluff W. F., Duronio R. J. U7 snRNA mutations in *Drosophila* block histone pre-mRNA processing and disrupt oogenesis // *RNA*. 2006. Vol. 12. P. 396–409.
- Golovnin A., Melnikova L., Volkov I., Kostuchenko M., Galkin A. V., Georgiev P. 2008. ‘Insulator bodies’ are aggregates of proteins but not of insulators // *EMBO Rep.* Vol. 9. P. 440–445.
- Gomes E., Shorter J. The molecular language of membraneless organelles // *J. Biol. Chem.* 2019. Vol. 294. P. 7115–7127.
- Gonsalvez G. B., Tian L., Ospina J. K., Boisvert F.-M., Lamond A. I., Matera A. G. Two distinct arginine methyltransferases are required for biogenesis of Sm-class ribonucleoproteins // *J. Cell Biol.* 2007. Vol. 178. P. 733–740.
- Gorsheneva N. A., Sopova J. V., Azarov V. V., Grizel A. V., Rubel A. A. Biomolecular condensates: structure, functions, methods of research // *Biochemistry (Moscow)*. 2024. Vol. 89. Suppl 1. P. S205–S223.
- Grimm C., Stefanovic B., Schumperli D. The low abundance of U7 snRNA is partly determined by its Sm binding site // *EMBO J.* 1993. Vol. 12. P. 1229–1238.
- Grimmler M., Bauer L., Nousiainen M., Körner R., Meister G., Fischer U. Phosphorylation regulates the activity of the SMN complex during assembly of spliceosomal U snRNPs // *EMBO Rep.* 2005a. Vol. 6. P. 70–76.
- Grimmler M., Otter S., Peter C., Müller F., Chari A., Fischer U. Unrip, a factor implicated in cap-independent translation, associates with the cytosolic SMN complex and influences its intracellular localization // *Hum. Mol. Genet.* 2005b. Vol. 14. P. 3099–3111.
- Grozdanov P. N., Roy S., Kittur N., Meier U. T. SHQ1 is required prior to NAF1 for assembly of H/ACA small nucleolar and telomerase RNPs // *RNA*. 2009. Vol. 15. P. 1188–1197.
- Gruss O. J., Meduri R., Schilling M., Fischer U. UsnRNP biogenesis: mechanisms and regulation // *Chromosoma*. 2017. Vol. 126. P. 577–593.
- Gubitz A. K., Feng W., Dreyfuss G. The SMN complex // *Exp. Cell Res.* 2004. Vol. 296. P. 51–56.
- Guglielmi B., La Rochelle N., Tjian R. Gene-specific transcriptional mechanisms at the histone gene cluster revealed by single-cell imaging // *Mol. Cell.* 2013. Vol. 51. P. 480–492.
- Guio J., Murphy S. Regulation of expression of human RNA polymerase II-transcribed snRNA genes // *Open Biol.* 2017. Vol. 7. Art. ID: 170073.
- Guo Q., Shi X., Wang X. RNA and liquid-liquid phase separation // *Noncoding RNA Res.* 2021. Vol. 6. P. 92–99.
- Guo Y. E., Manteiga J. C., Henninger J. E., Sabari B. R., Dall’Agnese A., Hannett N. M., Spille J.-H., Afeyan L. K., Zamudio A. V., Shrinivas K., Abraham B. J., Boija A., Decker T.-M., Rimel J. K., Fant C. B., Lee T. I., Cisse I. I., Sharp P. A., Taatjes D. J., Young R. Pol II phosphorylation regulates a switch between transcriptional and splicing condensates // *Nature*. 2019. Vol. 572. P. 543–548.
- Guterres A. N., Villanueva J. Targeting telomerase for cancer therapy // *Oncogene*. 2020. Vol. 39. P. 5811–5824.
- Haggar R. A. Behavior of the accessory body of Cajal during axon reaction // *J. Comp. Neurol.* 1957. Vol. 108. P. 269–283.
- Hallais M., Pontvianne F., Andersen P. R., Clerici M., Lener D., Benbahouche N. el H., Gostan T., Vandermoere F., Robert M.-C., Cusack S., Verheggen C., Jensen T. H., Bertrand E. CBC-ARS2 stimulates 3'-end maturation of multiple RNA families and favors cap-proximal processing // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2013. Vol. 20. P. 1358–1366.
- Han K.-J., Foster D. G., Zhang N.-Y., Kanisha K., Dzieciatkowska M., Sclafani R. A., Hansen K. C., Peng J., Liu C.-W. Ubiquitin-specific protease 9x deubiquitinates and stabilizes the spinal muscular atrophy protein-survival motor neuron // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287. P. 43741–43752.

- Han K.-J., Foster D., Harhaj E. W., Dzieciatkowska M., Hansen K., Liu C.-W. Monoubiquitination of survival motor neuron regulates its cellular localization and Cajal body integrity // *Hum. Mol. Genet.* 2016. Vol. 25. P. 1392–1405.
- Handwerger K. E., Wu Z., Murphy C., Gall J. G. Heat shock induces mini-Cajal bodies in the *Xenopus* germinal vesicle // *J. Cell Sci.* 2002. Vol. 115. P. 2011–2020.
- Handwerger K. E., Cordero J. A., Gall J. G. Cajal bodies, nucleoli, and speckles in the *Xenopus* oocyte nucleus have a low-density, sponge-like structure // *Mol. Biol. Cell.* 2005. Vol. 16. P. 202–211.
- Hao le T., Fuller H. R., Lam le T., Le T. T., Burghes A. H., Morris G. E. Absence of gemin5 from SMN complexes in nuclear Cajal bodies // *BMC Cell Biol.* 2007. Vol. 8. Art. ID: 28.
- Hardin J. H., Spicer S. S., Greene W. B. The paranucleolar structure, accessory body of Cajal, sex chromatin, and related structures in nuclei of rat trigeminal neurons: a cytochemical and ultrastructural study // *Anat. Rec.* 1969. Vol. 164. P. 403–431.
- Hearst S. M., Gilder A. S., Negi S. S., Davis M. D., George E. M., Whittom A. A., Toyota C. G., Husedzinovic A., Gruss O. J., Hebert M. D. Cajal-body formation correlates with differential coilin phosphorylation in primary and transformed cell lines // *J. Cell Sci.* 2009. Vol. 122. P. 1872–1881.
- Hebert M. D. Phosphorylation and the Cajal body: modification in search of function // *Arch. Biochem. Biophys.* 2010. Vol. 496. P. 69–76.
- Hebert M. D. Signals controlling Cajal body assembly and function // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2013. Vol. 45. P. 1314–1317.
- Hebert M. D., Matera A. G. Self-association of coilin reveals a common theme in nuclear body localization // *Mol. Biol. Cell.* 2000. Vol. 11. P. 4159–4171.
- Hebert M. D., Poole A. R. Towards an understanding of regulating Cajal body activity by protein modification // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 761–778.
- Hebert M. D., Szymczyk P. W., Shpargel K. B., Matera A. G. Coilin forms the bridge between Cajal bodies and SMN, the spinal muscular atrophy protein // *Genes Dev.* 2001. Vol. 15. P. 2720–2729.
- Hebert M. D., Shpargel K. B., Ospina J. K., Tucker K. E., Matera A. G. Coilin methylation regulates nuclear body formation // *Dev. Cell.* 2002. Vol. 3. P. 329–337.
- Henriksson S., Farnebo M. On the road with WRAP53 β : guardian of Cajal bodies and genome integrity // *Front. Genet.* 2015. Vol. 6. Art. ID: 91.
- Hernandez-Verdun D., Roussel P., Thiry M., Sirri V., Lafontaine D. L. The nucleolus: structure/function relationship in RNA metabolism // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2010. Vol. 1. P. 415–431.
- Hervás J. P., Villegas J., Crespo D., Lafarga M. Coiled bodies in supraoptic nuclei of the rat hypothalamus during the postnatal period // *Am. J. Anat.* 1980. Vol. 159. P. 447–454.
- Hesselberth J. R. Lives that introns lead after splicing // *WIREs RNA.* 2013. Vol. 4. P. 677–691.
- Heyn P., Salmonowicz H., Rodenfels J., Neugebauer K. M. Activation of transcription enforces the formation of distinct nuclear bodies in zebrafish embryos // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 752–760.
- Hoang S. M., O'Sullivan R. J. Alternative lengthening of telomeres: Building bridges to connect chromosome ends // *Trends Cancer.* 2020. Vol. 6. P. 247–260.
- Hoareau-Aveilla C., Bonoli M., Caizergues-Ferrer M., Henry Y. hNaf1 is required for accumulation of human box H/ACA snoRNPs, scaRNPs, and telomerase // *RNA.* 2006. Vol. 12. P. 832–840.
- Holt L. J., Delarue M. Macromolecular crowding: Sensing without a sensor // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2023. Vol. 85. Art. ID: 102269.
- Horke S., Reumann K., Schulze C., Grosse F., Heise T. The La motif and the RNA recognition motifs of human La autoantigen contribute individually to RNA recognition and subcellular localization // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 50302–50309.

- Howell M. D., Singh N. N., Singh R. N. Advances in therapeutic development for spinal muscular atrophy // *Future Med. Chem.* 2014. Vol. 6. P. 1081–1099.
- Hsu S.-H., Lai M.-C., Er T.-K., Yang S.-N., Hung C.-H., Tsai H.-H., Lin Y.-C., Chang J.-G., Lo Y.-C., Jong Y.-J. Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCHL1) regulates the level of SMN expression through ubiquitination in primary spinal muscular atrophy fibroblasts // *Clin. Chim. Acta.* 2010. Vol. 411. P. 1920–1928.
- Hu D., Smith E. R., Garruss A. S., Mohaghegh N., Varberg J. M., Lin C., Jackson J., Gao X., Saraf A., Florens L., Washburn M. P., Eissenberg J. C., Shilatifard A. The little elongation complex functions at initiation and elongation phases of snRNA gene transcription // *Mol. Cell.* 2013. Vol. 51. P. 493–505.
- Huang S. Review: perinuclear structures // *J. Struct. Biol.* https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?sort=date&term=%22J+Struct+Biol%22%5Bjour%5D&sort_order=desc <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog?sort=date&term=%22J+Struct+Biol%22%5BTitle+Abbreviation%5D> <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10806073/>. 2000. Vol. 129. P. 233–240.
- Huang Z.-P., Zhou H., Qu L.-H. Maintaining a conserved methylation in plant and insect U2 snRNA through compensatory mutation by nucleotide insertion // *IUBMB Life.* 2005. Vol. 57. P. 693–699.
- Huber J., Dickmanns A., Lührmann R. The importin- β binding domain of snurportin1 is responsible for the Ran- and energy-independent nuclear import of spliceosomal U snRNPs *in vitro* // *J. Cell Biol.* 2002. Vol. 156. P. 467–479.
- Huebner E. The ultrastructure and development of the telotrophic ovary. In: *Insect Ultrastructure* / R. C. King, H. Akai (eds.). Vol. 2. New York, London: Plenum Press, 1984. P. 3–48.
- Husedzinovic A., Oppermann F., Draeger-Meurer S., Chari A., Fischer U., Daub H., Gruss O. J. Phosphoregulation of the human SMN complex // *Eur. J. Cell Biol.* 2014. Vol. 93. P. 106–117.
- Husedzinovic A., Neumann B., Reymann J., Draeger-Meurer S., Chari A., Erfle H., Fischer U., Gruss O. J. The catalytically inactive tyrosine phosphatase HD-PTP/PTPN23 is a novel regulator of SMN complex localization // *Mol. Biol. Cell.* 2015. Vol. 26. P. 161–171.
- Hutten S., Chachami G., Winter U., Melchior F., Lamond A. I. A role for the Cajal-body-associated SUMO isopeptidase USPL1 in snRNA transcription mediated by RNA polymerase II // *J. Cell Sci.* 2014. Vol. 127. P. 1065–1078.
- Hyman A. A., Weber C. A., Jülicher F. Liquid-liquid phase separation in biology // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2014. Vol. 30. P. 39–58.
- Ilicheva N. V., Podgornaya O. I., Voronin A. P. Telomere repeat-binding factor 2 is responsible for the telomere attachment to the nuclear membrane // *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* 2015. Vol. 101. P. 67–96.
- Imada T., Shimi T., Kaiho A., Saeki Y., Kimura H. RNA polymerase II condensate formation and association with Cajal and histone locus bodies in living human cells // *Genes Cells.* 2021. Vol. 26. P. 298–312.
- Imai Y., Kimura T., Murakami A., Yajima N., Sakamaki K., Yonehara S. The CED-4-homologous protein FLASH is involved in Fas-mediated activation of caspase-8 during apoptosis // *Nature.* 1999. Vol. 398. P. 777–785.
- Ingram H. B., Fox A. H. Unveiling the intricacies of paraspeckle formation and function // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2024. Vol. 90. Art. ID: 102399.
- Isaac C., Yang Y., Meier U. T. Nopp140 functions as a molecular link between the nucleolus and the coiled bodies // *J. Cell Biol.* 1998. Vol. 142. P. 319–329.
- Ishov A. M., Sotnikov A. G., Negorev D., Vladimirova O. V., Neff N., Kamitani T., Yeh E. T., Strauss J. F. 3rd, Maul G. G. PML is critical for ND10 formation and recruits the PML-interacting protein Daxx to this nuclear structure when modified by SUMO-1 // *J. Cell Biol.* 1999. Vol. 147. P. 221–234.
- Isogai Y., Keles S., Prestel M., Hochheimer A., Tjian R. Transcription of histone gene cluster by differential core-promoter factors // *Genes Dev.* 2007. Vol. 21. P. 2936–2949.

- Ito S., Fujiyama-Nakamura S., Kimura S., Lim J., Kamoshida Y., Shiozaki-Sato Y., Sawatsubashi S., Suzuki E., Tanabe M., Ueda T., Murata T., Kato H., Ohtake F., Fujiki R., Miki T., Kouzmenko A., Takeyama K., Kato S. Epigenetic silencing of core histone genes by HERS in *Drosophila* // *Mol Cell*. 2012. Vol. 45. P. 494–504.
- Izumikawa K., Nobe Y., Ishikawa H., Yamauchi Y., Taoka M., Sato K., Nakayama H., Simpson R. J., Isobe T., Takahashi N. TDP-43 regulates site-specific 2'-O-methylation of U1 and U2 snRNAs via controlling the Cajal body localization of a subset of C/D scaRNAs // *Nucleic Acids Res*. 2019. Vol. 47. P. 2487–2505.
- Jacobs E. Y., Frey M. R., Wu W., Ingledue T. C., Gebuhr T. C., Gao L., Marzluff W. F., Matera A. G. Coiled bodies preferentially associate with U4, U11, and U12 small nuclear RNA genes in interphase HeLa cells but not with U6 and U7 genes // *Mol. Biol. Cell*. 1999. Vol. 10. P. 1653–1663.
- Jády B. E., Kiss T. A small nucleolar guide RNA functions both in 2'-O-ribose methylation and pseudouridylation of the U5 spliceosomal RNA // *EMBO J*. 2001. Vol. 20. P. 541–551.
- Jády B., Darzacq X., Tucker K., Matera A., Bertrand E., Kiss T. Modification of Sm small nuclear RNAs occurs in the nucleoplasmic Cajal body following import from the cytoplasm // *EMBO J*. 2003. Vol. 22. P. 1878–1888.
- Jády B. E., Bertrand E., Kiss T. Human telomerase RNA and box H/ACA scaRNAs share a common Cajal body-specific localization signal // *J. Cell Biol*. 2004. Vol. 164. P. 647–652.
- Jády B. E., Richard P., Bertrand E., Kiss T. Cell cycle-dependent recruitment of telomerase RNA and Cajal bodies to human telomeres // *Mol. Biol. Cell*. 2006. Vol. 17. P. 944–954.
- Jády B. E., Ketele A., Kiss T. Human intron-encoded Alu RNAs are processed and packaged into Wdr79-associated nucleoplasmic box H/ACA RNPs // *Genes Dev*. 2012. Vol. 26. P. 1897–1910.
- Jády B. E., Ketele A., Moulis D., Kiss T. Guide RNA acrobatics: positioning consecutive uridines for pseudouridylation by H/ACA pseudouridylation loops with dual guide capacity // *Genes Dev*. 2022. Vol. 36. P. 70–83.
- Jaeger S., Barends S., Giegé R., Eriani G., Martin F. Expression of metazoan replication-dependent histone genes // *Biochimie*. 2005. Vol. 87. P. 827–834.
- Jaglarz M. K. Nuclear bodies in the oocyte nucleus of ground beetles are enriched in snRNPs // *Tissue Cell*. 2001. Vol. 33. P. 395–401.
- Jaglarz M. K., Biliński S. M., Kloc M. Assembly and breakdown of Cajal bodies in accessory nuclei of Hymenoptera // *Differentiation*. 2005. Vol. 73. P. 99–108.
- Jaglarz M. K., Kloc M., Biliński S. M. Accessory nuclei in insect oogenesis: in search of the function of enigmatic organelles // *Int. J. Dev. Biol*. 2008. Vol. 52. P. 179–185.
- Jain A., Vale R. D. RNA phase transitions in repeat expansion disorders // *Nature*. 2017. Vol. 546. P. 243–247.
- Jamrich M., Mahon K. A., Gavis E. R., Gall JG. Histone RNA in amphibian oocytes visualized by in situ hybridization to methacrylate-embedded tissue sections // *EMBO J*. 1984. V. 3. P. 1939–1943.
- Janevski J., Park P. C., De Boni U. Changes in morphology and spatial position of coiled bodies during NGF-induced neuronal differentiation of PC12 cells // *J. Histochem. Cytochem*. 1997. Vol. 45. P. 1523–1531.
- Janknecht R. On the road to immortality: hTERT upregulation in cancer cells // *FEBS Lett*. 2004. Vol. 564. P. 9–13.
- Jeong S. A., Kim K., Lee J. H., Cha J. S., Khadka P., Cho H.-S., Chung I. K. Akt-mediated phosphorylation increases the binding affinity of hTERT for importin α to promote nuclear translocation // *J. Cell Sci*. 2015. Vol. 128. P. 2287–2301.
- Jiang D., Berger F. Variation is important: Warranting chromatin function and dynamics by histone variants // *Curr. Opin. Plant Biol*. 2023. Vol. 75. Art. ID: 102408.
- Johal K. S., Cheema M. S., Stefanelli G. Histone variants and their chaperones: An emerging epigenetic mechanism in neurodevelopment and neurodevelopmental disorders // *J. Integr. Neurosci*. 2023. Vol. 22. Art. ID: 108.

- Jones K. W., Gorzynski K., Hales C. M., Fischer U., Badbanchi F., Terns R. M., Terns M. P. Direct interaction of the spinal muscular atrophy disease protein SMN with the small nuclear RNA-associated protein fibrillarin // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 38645–38651.
- Jonik-Nowak B., Menneteau T., Fesquet D., Baldin V., Bonne-Andrea C., Méchali F., Fabre B., Boisguerin P., de Rossi S., Henriquet C., Pugnière M., Ducoux-Petit M., Burlet-Schiltz O., Lamond A. I., Fort P., Boulon S., Bousquet M.-P., Coux O. PIP30/FAM192A is a novel regulator of the nuclear proteasome activator PA28 γ // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2018. Vol. 115. P. E6477–E6486.
- Jörgensen M. Zellenstudien. I. Morphologische Beiträge zum Problem des Eiwachstums // *Arch. Zellforsch.* 1913. Bd 10. S. 1–126.
- Jorjani H., Kehr S., Jedlinski D. J., Gumienny R., Hertel J., Stadler P. F., Zavolan M., Gruber A. R. An updated human snoRNAome // *Nucleic Acids Res.* 2016. Vol. 44. P. 5068–5082.
- Jung T., Catalgol B., Grune T. The proteasomal system // *Mol. Aspects Med.* 2009. Vol. 30. P. 191–296.
- Kaiser T. E., Intine R. V., Dundr M. *De novo* formation of a subnuclear body // *Science.* 2008. Vol. 322. P. 1713–1717.
- Kakihara Y., Houry W. A. The R2TP complex: Discovery and functions // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. Vol. 1823. P. 101–107.
- Kakihara Y., Saeki M. The R2TP chaperone complex: its involvement in snoRNP assembly and tumorigenesis // *Biomol. Concepts.* 2014. Vol. 5. P. 513–520.
- Kambach C., Walke S., Young R., Avis J. M., de la Fortelle E., Raker V. A., Lührmann R., Li J., Nagai K. Crystal structures of two Sm protein complexes and their implications for the assembly of the spliceosomal snRNPs // *Cell.* 1999. Vol. 96. P. 375–387.
- Kang S. S., Kwon T., Kwon D. Y., Do S. I. Akt protein kinase enhances human telomerase activity through phosphorylation of telomerase reverse transcriptase subunit // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 13085–13090.
- Kannan A., Jiang X., He L., Ahmad S., Gangwani L. ZPR1 prevents R-loop accumulation, upregulates SMN2 expression and rescues spinal muscular atrophy // *Brain.* 2020. Vol. 143. P. 69–93.
- Kantidze O. L., Razin S. V. Weak interactions in higher-order chromatin organization // *Nucleic Acids Res.* 2020. Vol. 48. P. 4614–4626.
- Karijolich J., Yu Y.-T. Spliceosomal snRNA modifications and their function // *RNA Biol.* 2010. Vol. 7. P. 192–204.
- Karoutas A., Akhtar A. Functional mechanisms and abnormalities of the nuclear lamina // *Nat. Cell Biol.* 2021. Vol. 23. P. 116–126.
- Karpathiou G., Mobarki M., Musawi S., Papoudou-Bai A., Péoc'h M. Coilin is not expressed by immunohistochemistry in Hodgkin and diffuse large B-cell lymphomas // *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2025. Vol. 33. P. 264–265.
- Kastner B., Bach M., Lührmann R. Electron microscopy of small nuclear ribonucleoprotein (snRNP) particles U2 and U5: evidence for a common structure-determining principle in the major U snRNP family // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1990. Vol. 87. P. 1710–1714.
- Kawaguchi T., Tanigawa A., Naganuma T., Ohkawa Y., Souquere S., Pierron G., Hirose T. SWI/SNF chromatin-remodeling complexes function in noncoding RNA-dependent assembly of nuclear bodies // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2015. Vol. 112. P. 4304–4309.
- Keall R., Whitelaw S., Pettitt J., Muller B. Histone gene expression and histone mRNA 3' end structure in *Caenorhabditis elegans* // *BMC Mol. Biol.* 2007. Vol. 8. Art. ID: 51.
- Kharbanda S., Kumar V., Dhar S., Pandey P., Chen C., Majumder P., Yuan Z. M., Whang Y., Strauss W., Pandita T. K., Weaver D., Kufe D. Regulation of the hTERT telomerase catalytic subunit by the c-Abl tyrosine kinase // *Curr. Biol.* 2000. Vol. 10. P. 568–575.
- Khodyuchenko T., Gaginская E., Krasikova A. Non-canonical Cajal bodies form in the nucleus of late stage avian oocytes lacking functional nucleolus // *Histochem. Cell Biol.* 2012. Vol. 138. P. 57–73.

- Kim H., Lee Y.-Y., Kim V. N. The biogenesis and regulation of animal microRNAs // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2025. Vol. 26. P. 276–296.
- Kim N.-K., Zhang Q., Zhou J., Theimer C. A., Peterson R. D., Feigon J. Solution structure and dynamics of the wild-type pseudoknot of human telomerase RNA // *J. Mol. Biol.* 2008. Vol. 384. P. 1249–1261.
- Kim N. W., Piatyszek M. A., Prowse K. R., Harley C. B., West M. D., Ho P. L., Coviello G. M., Wright W. E., Weinrich S. L., Shay J. W. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer // *Science*. 1994. Vol. 266. P. 2011–2015.
- Kim S. H., Ryabov E. V., Kalinina N. O., Rakitina D. V., Gillespie T., MacFarlane S., Haupt S., Brown J. W. S., Taliansky M. Cajal bodies and the nucleolus are required for a plant virus systemic infection // *EMBO J.* 2007. Vol. 26. P. 2169–2179.
- Kim S. H., Koroleva O. A., Lewandowska D., Pendle A. F., Clark G. P., Simpson C. G., Shaw P. J., Brown J. W. S. Aberrant mRNA transcripts and the nonsense-mediated decay proteins UPF2 and UPF3 are enriched in the *Arabidopsis* nucleolus // *Plant Cell*. 2009. Vol. 21. P. 2045–2057.
- Kiriya M., Kobayashi Y., Saito M., Ishikawa F., Yonehara S. Interaction of FLASH with arsenite resistance protein 2 is involved in cell cycle progression at S phase // *Mol. Cell. Biol.* 2009. Vol. 29. P. 4729–4741.
- Kirkiz E., Meers O., Grebien F., Buschbeck M. Histone variants and their chaperones in hematological malignancies // *Hemasphere*. 2023. Vol. 7. Art. ID: e927.
- Kiss A. M., Jády B. E., Bertrand E., Kiss T. Human box H/ACA pseudouridylation guide RNA machinery // *Mol. Cell. Biol.* 2004. Vol. 24. P. 5797–5807.
- Kiss T. Small nucleolar RNAs: an abundant group of noncoding RNAs with diverse cellular functions // *Cell*. 2002. Vol. 109. P. 145–148.
- Kiss T. Biogenesis of small nuclear RNPs // *J. Cell Sci.* 2004. Vol. 117. P. 5949–5951.
- Kiss T., Fayet-Lebaron E., Jády B. E. Box H/ACA small ribonucleoproteins // *Mol. Cell*. 2010. Vol. 37. P. 597–606.
- Kitao S., Segref A., Kast J., Wilm M., Mattaj J. W., Ohno M. A compartmentalized phosphorylation/dephosphorylation system that regulates U snRNA export from the nucleus // *Mol. Cell. Biol.* 2008. Vol. 28. P. 487–497.
- Klingauf M., Staněk D., Neugebauer K. M. Enhancement of U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein particle association in Cajal bodies predicted by mathematical modeling // *Mol. Biol. Cell*. 2006. Vol. 17. P. 4972–4981.
- Klump B. M., Schmidt J. C. Advances in understanding telomerase assembly // *Biochem. Soc. Trans.* 2023. Vol. 51. P. 2093–2101.
- Kodama Y., Rothman J. H., Sugimoto A., Yamamoto M. The stem-loop binding protein CDL-1 is required for chromosome condensation, progression of cell death and morphogenesis in *Caenorhabditis elegans* // *Development*. 2002. Vol. 129. P. 187–196.
- Kolb S. J., Kissel J. T. Spinal muscular atrophy // *Neurol. Clin.* 2015. Vol. 33. P. 831–846.
- Kolev N. G., Steitz J. A. Symplekin and multiple other polyadenylation factors participate in 3'-end maturation of histone mRNAs // *Genes Dev.* 2005. Vol. 19. P. 2583–2592.
- Kolev N. G., Yario T. A., Benson E., Steitz J. A. Conserved motifs in both CPSF73 and CPSF100 are required to assemble the active endonuclease for histone mRNA 3'-end maturation // *EMBO Rep.* 2008. Vol. 9. P. 1013–1018.
- Kołowierz A., Smoliński D. J., Bednarska E. Poly(A) RNA a new component of Cajal bodies // *Protoplasma*. 2009. Vol. 236. P. 13–19.
- Kong F., Zheng C., Xu D. Telomerase as a "stemness" enzyme // *Sci. China Life Sci.* 2014. Vol. 57. P. 564–570.
- Koonin E. V., Aravind L., Hofmann K., Tschopp J., Dixit V. M. Apoptosis. Searching for FLASH domains // *Nature*. 1999. Vol. 401. P. 662–663.
- Kopečný V., Biggiogera M., Laurincik J., Pivko J., Grafenau P., Martin T. E., Fu X.-D., Fakan S. Fine structural cytochemical and immunocytochemical analysis of nucleic acids

- and ribonucleoprotein distribution in nuclei of pig oocytes and early preimplantation embryos // *Chromosoma*. 1996a. Vol. 104. P. 561–574.
- Kopečný V., Biggiogera M., Pivko J., Grafenau P., Pavlok A., Malatesta M., Martin T. E., Fakan S. The cell nucleus in early bovine and caprine preimplantation embryos: fine structural cytochemistry and immunoelectron microscopy // *Eur. J. Cell Biol.* 1996b. Vol. 70. P. 361–372.
- Kopečný V., Landa V., Malatesta M., Martin T. E., Fakan S. Immunoelectron microscope analyses of rat germinal vesicle-stage oocyte nucleolus-like bodies // *Reprod. Nutr. Dev.* 1996c. Vol. 36. P. 667–679.
- Koshel E., Galkina S., Saifitdinova A., Dyomin A., Deryusheva S., Gaginskaya E. Ribosomal RNA gene functioning in avian oogenesis // *Cell Tissue Res.* 2016. Vol. 366. P. 533–542.
- Kotova E., Jarnik M., Tulin A. V. Poly (ADP-Ribose) polymerase 1 is required for protein localization to Cajal Body // *PLoS Genet.* 2009. Vol. 5. Art. ID: e1000387.
- Krasikova A., Kulikova T., Saifitdinova A., Derjusheva S., Gaginskaya E. Centromeric protein bodies on avian lampbrush chromosomes contain a protein detectable with an antibody against DNA topoisomerase II // *Chromosoma*. 2004. Vol. 113. P. 316–323.
- Krasikova A., Barbero J. L., Gaginskaya E. Cohesion proteins are present in centromere protein bodies associated with avian lampbrush chromosomes // *Chromosome Res.* 2005. Vol. 13. P. 675–685.
- Krasikova A., Fishman V., Kulikova T. Lampbrush chromosome studies in the post-genomic era // *Bioessays*. 2023. Vol. 45. Art. ID: e2200250.
- Krasikova A., Kulikova T., Schelkunov M., Makarova N., Fedotova A., Plotnikov V., Berngardt V., Maslova A., Fedorov A. The first chicken oocyte nucleus whole transcriptomic profile defines the spectrum of maternal mRNA and non-coding RNA genes transcribed by the lampbrush chromosomes // *Nucleic Acids Res.* 2024. Vol. 52. P. 12850–12877.
- Krieghoff E., Milovic-Holm K., Hofmann T. G. FLASH meets nuclear bodies: CD95 receptor signals via a nuclear pathway // *Cell Cycle*. 2007. Vol. 6. P. 771–775.
- Kroiss M., Schultz J., Wiesner J., Chari A., Sickmann A., Fischer U. Evolution of an RNP assembly system: A minimal SMN complex facilitates formation of UsnRNPs in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2008. Vol. 105. P. 10045–10050.
- Kulikova T., Khodyuchenko T., Petrov Y., Krasikova A. Low-voltage scanning electron microscopy study of lampbrush chromosomes and nuclear bodies in avian and amphibian oocytes // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. Art ID: 36878.
- Kulkarni P., Bhattacharya S., Achuthan S., Behal A., Jolly M. K., Kotnala S., Mohanty A., Rangarajan G., Salgia R., Uversky V. Intrinsically disordered proteins: critical components of the wetware // *Chem. Rev.* 2022. Vol. 122. P. 6614–6633.
- Kunz W. Funktionsstrukturen im Oocytenkern von *Locusta migratoria* // *Chromosoma*. 1967. Bd 20. S. 332–370.
- Kusuda J., Tanuma R., Gotoh E., Toyoda A., Hashimoto K. Assignment of a human autoimmune antigen, p80-coilin gene to chromosome 17q21-q23 and of its possible pseudogene to chromosome 14 // *Hum. Genet.* 1995. Vol. 95. P. 233–234.
- Kuznetsova I. M., Zaslavsky B. Y., Breydo L., Turoverov K. K., Uversky V. N. Beyond the excluded volume effects: mechanistic complexity of the crowded milieu // *Molecules*. 2015. Vol. 20. P. 1377–1409.
- Kwon D. Y., Dimitriadis M., Terzic B., Cable C., Hart A. C., Chitnis A., Fischbeck K. H., Burnett B. G. The E3 ubiquitin ligase mind bomb 1 ubiquitinates and promotes the degradation of survival of motor neuron protein // *Mol. Biol. Cell*. 2013. Vol. 24. P. 1863–1871.
- Labunskyy V. M., Hatfield D. L., Gladyshev V. N. Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles // *Physiol. Rev.* 2014. Vol. 94. P. 739–777.
- Lafarga M., Hérvas J. P. Light and electron microscopic characterization of the ‘accessory body’ of Cajal in the neuronal nucleus // *Ramon y Cajal’s contribution to the neurosciences /*

- S. Grisolia, C. Guerri, F. Samson, P. Norton, F. Reinoso-Suárez, eds. Amsterdam, Lausanne, New York: Elsevier, 1983. P. 91–100.
- Lafarga M., Hervás J. P., Santa-Cruz M. C., Villegas J., Crespo D. The "accessory body" of Cajal in the neuronal nucleus. A light and electron microscopic approach // *Anat. Embryol.* 1983. Vol. 166. P. 19–30.
- Lafarga L., Berciano M. T., Pena E., Mayo I., Castaño J. G., Bohmann D., Rodrigues J. P., Tavanez J. P., Carmo-Fonseca M. Clastosome: a subtype of nuclear body enriched in 19S and 20S proteasomes, ubiquitin, and protein substrates of proteasome // *Mol. Biol. Cell.* 2002. Vol. 13. P. 2771–2782.
- Lafarga M., Casafont I., Bengoechea R., Tapia O., Berciano M. T. Cajal's contribution to the knowledge of the neuronal cell nucleus // *Chromosoma.* 2009. Vol. 118. P. 437–443.
- Lafarga M., Tapia O., Romero AM, Berciano MT. Cajal bodies in neurons // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 712–725.
- Lallemand-Breitenbach V., de Thé H. PML nuclear bodies // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010. Vol. 2. Art. ID: a000661.
- Lam Y. W., Lyon C. E., Lamond A. I. Large-scale isolation of Cajal bodies from HeLa cells // *Mol. Biol. Cell.* 2002. Vol. 13. P. 2461–2473.
- Lamond A. I., Sleeman J. E. Nuclear substructure and dynamics // *Curr. Biol.* 2003. Vol. 13. P. R825–R828.
- Lanfranca M. P., Mostafa H. H., Davido D. J. HSV-1 ICP0: an E3 ubiquitin ligase that counteracts host intrinsic and innate immunity // *Cells.* 2014. Vol. 3. P. 438–54.
- Lanzotti D. J., Kaygun H., Yang X., Duronio R. J., Marzluff W. F. Developmental control of histone mRNA and dSLBP synthesis during *Drosophila* embryogenesis and the role of dSLBP in histone mRNA 3' end processing *in vivo* // *Mol. Cell. Biol.* 2002. Vol. 22. P. 2267–2282.
- Laprade H., Querido E., Smith M. J., Guérit D., Crimmins H., Conomos D., Pourret E., Chartrand P., Sfeir A. Single-molecule imaging of telomerase RNA reveals a recruitment-retention model for telomere elongation // *Mol. Cell.* 2020. Vol. 79. P. 115–126. e6.
- Lardelli R. M., Schaffer A. E., Eggens V. R. C., Zaki M. S., Grainger S., Sathe S., Van Nostrand E. L., Schlachetzki Z., Rosti B., Akizu N. Scott E., Silhavy J. L., Heckman L. D., Rosti R. O., Dikoglu E., Gregor A., Guemez-Gamboa A., Musaev D., Mande R., Widjaja A., Shaw T. L., Markmiller S., Marin-Valencia I., Davies J. H., de Meirleir L., Kayserili H., Altunoglu U., Freckmann M. L., Warwick L., Chitayat D., Blaser S., Çağlayan A. O., Bilguvar K., Per H., Fagerberg C., Christesen H. T., Kibaek M., Aldinger K. A., Manchester D., Matsumoto N., Muramatsu K., Saitsu H., Shiina M., Ogata K., Foulds N., Dobyns W. B., Chi N. C., Traver D., Spaccini L., Bova S. M., Gabriel S. B., Gunel M., Valente E. M., Nasogne M.-C., Bennett E. J., Yeo G. W., Baas F., Lykke-Andersen J., Gleeson J. G. Biallelic mutations in the 3' exonuclease TOE1 cause pontocerebellar hypoplasia and uncover a role in snRNA processing // *Nat. Genet.* 2017. Vol. 49. P. 457–464.
- Lau C., Bachorik J. L., Dreyfuss G. Gemin5-snRNA interaction reveals an RNA binding function for WD repeat domains // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2009. Vol. 16. P. 486–491.
- Lavrentyeva E. A., Shishova K., Kagarlitsky G., Zatssepina O. Localization of RNAs and proteins in nucleolar precursor bodies of early mouse embryos // *Reprod. Fert. Develop.* 2017. Vol. 29. P. 509–520.
- Lazo P. A. Nuclear functions regulated by the VRK1 kinase // *Nucleus.* 2024. Vol. 15. Art. ID: 2353249.
- Lee M.-C., Toh L.-L., Yaw L.-P., Luo Y. *Drosophila* octamer elements and Pdm-1 dictate the coordinated transcription of core histone genes // *J. Biol. Chem.* 2010. Vol. 285. P. 9041–9053.
- Lefebvre S., Bürglen L., Reboullet S., Clermont O., Burlet P., Viollet L., Benichou B., Cruaud C., Millasseau P., Zeviani M. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene // *Cell.* 1995. Vol. 80. P. 155–165.

- Lefebvre S., Burlet P., Liu Q., Bertrand S., Clermont O., Munnich A., Dreyfuss G., Melki J. Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy // *Nat. Genet.* 1997. Vol. 16. P. 265–269.
- Lemm I., Girard C., Kuhn A. N., Watkins N. J., Schneider M., Bordonné R., Lührmann R. Ongoing U snRNP biogenesis is required for the integrity of Cajal bodies // *Mol. Biol. Cell.* 2006. Vol. 17. P. 3221–3231.
- Lett K. E., Logan M. K., McLaurin D. M., Hebert M. D. Coilin enhances phosphorylation and stability of DGCR8 and promotes miRNA biogenesis // *Mol. Biol. Cell.* 2021. Vol. 32. Art. ID: br4.
- Lettin L., Erbay B., Blair G. E. Viruses and Cajal bodies: a critical cellular target in virus infection? // *Viruses.* 2023. Vol. 15. Art. ID: 2311.
- Li C. F., Pontes O., El-Shami M., Henderson I. R., Bernatavichute Y. V., Chan S. W.-L., La-grange T., Pikaard C. S., Jacobsen S. E. An ARGONAUTE4-containing nuclear processing center colocalized with Cajal bodies in *Arabidopsis thaliana* // *Cell.* 2006a. Vol. 126. P. 93–106.
- Li D., Meier U. T., Dobrowolska G., Krebs E. G. Specific interaction between casein kinase 2 and the nucleolar protein Nopp140 // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 3773–3779.
- Li D. K., Tisdale S., Lotti F., Pellizzoni L. SMN control of RNP assembly: from post-transcriptional gene regulation to motor neuron disease // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2014. Vol. 32. P. 22–29.
- Li H., Zhao L. L., Funder J. W., Liu J. P. Protein phosphatase 2A inhibits nuclear telomerase activity in human breast cancer cells // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 16729–16732.
- Li L., Roy, K., Katyal S., Sun X., Bleo S., Godbout R. Dynamic nature of cleavage bodies and their spatial relationship to DDX1 bodies, Cajal bodies, and gems // *Mol. Biol. Cell.* 2006b. Vol. 17. P. 1126–1140.
- Li P., Banjade S., Cheng H.-C., Kim S., Chen B., Guo L., Llaguno M., Hollingsworth J. V., King D. S., Banani S. F., Russo P. S., Jiang Q.-X., Nixon B. T., Rosen M. K. Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins // *Nature.* 2012. Vol. 483. P. 336–340.
- Li Z.-H., Tomlinson R. L., Terns R. M., Terns M. P. Telomerase trafficking and assembly in *Xenopus* oocytes // *J. Cell Sci.* 2010. Vol. 123. P. 2464–2472.
- Lim S., Clark D. S. Phase-separated biomolecular condensates for biocatalysis // *Trends Biotechnol.* 2024. Vol. 42. P. 496–509.
- Lin P., Zhang S., Komatsubara F., Konishi H., Nakata E., Morii T. Artificial compartments encapsulating enzymatic reactions: towards the construction of artificial organelles // *Chemp-luschem.* 2025. Vol. 90. Art. ID: e202400483
- Lin Y., Protter D. S. W., Rosen M. K., Parker R. Formation and maturation of phase-separated liquid droplets by RNA-binding proteins // *Mol. Cell.* 2015. Vol. 60. P. 208–219.
- Lin Z., Beneyton T. Baret J.-C., Martin N. Coacervate droplets for synthetic cells // *Small Methods.* 2023. Vol. 7. Art. ID: e2300496.
- Liu H., Tsai H., Yang M., Li G., Bian Q., Ding G., Wu D., Dai J. Three-dimensional genome structure and function // *MedComm* (2020). 2023. Vol. 4. Art. ID: e326.
- Liu J.-L., Gall J. G. Cold shock induces novel nuclear bodies in *Xenopus* oocytes // *Exp. Cell Res.* 2021. Vol. 398. Art. ID: 112386.
- Liu J.-L., Hebert M. D., Ye Y., Templeton D. J., Kung H.-J., Matera A. G. Cell cycle-dependent localization of the CDK2-cyclin E complex in Cajal (coiled) bodies // *J. Cell Sci.* 2000. Vol. 113. P. 1543–1552.
- Liu J.-L., Buszczak M., Gall J. G. Nuclear bodies in the *Drosophila* germinal vesicle // *Chromosome Res.* 2006a. Vol. 14. P. 465–475.
- Liu J.-L., Murphy C., Buszczak M., Clatterbuck S., Goodman R., Gall J. G. The *Drosophila melanogaster* Cajal body // *J. Cell Biol.* 2006b. Vol. 172. P. 875–884.
- Liu J.-L., Wu Z., Nizami Z., Deryusheva S., Rajendra T. K., Beumer K. J., Gao H., Matera A. G., Carroll D., Gall J. G. Coilin is essential for Cajal body organization in *Drosophila melanogaster* // *Mol. Biol. Cell.* 2009. Vol. 20. P. 1661–1670.

- Liu M., Zhang Y., Jian Y., Gu L., Zhang D., Zhou H., Wang Y., Xu Z.-X. The regulations of telomerase reverse transcriptase (TERT) in cancer // *Cell Death Dis.* 2024. Vol. 15. Art. ID: 90.
- Liu Q., Dreyfuss G. A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein // *EMBO J.* 1996. Vol. 15. P. 3555–3565.
- Liu Q., Fischer U., Wang F., Dreyfuss G. The spinal muscular atrophy disease gene product, SMN, and its associated protein SIP1 are in a complex with spliceosomal snRNP proteins // *Cell.* 1997. Vol. 90. P. 1013–1021.
- Logan M. K., Burke M. F., Hebert M. D. Altered dynamics of scaRNA2 and scaRNA9 in response to stress correlates with disrupted nuclear organization // *Biology Open.* 2018. Vol. 7. Art. ID: bio037101.
- Logan M. K., McLaurin D. M., Hebert M. D. Synergistic interactions between Cajal bodies and the miRNA processing machinery // *Mol. Biol. Cell.* 2020. Vol. 31. P. 1561–1569.
- Lorson C. L., Androphy E. J. The domain encoded by exon 2 of the survival motor neuron protein mediates nucleic acid binding // *Hum. Mol. Genet.* 1998. Vol. 7. P. 1269–1275.
- Lorson C. L., Strasswimmer J., Yao J. M., Baleja J. D., Hahnen E., Wirth B., Le T., Burghes A. H., Androphy E. J. SMN oligomerization defect correlates with spinal muscular atrophy severity // *Nat. Genet.* 1998. Vol. 19. P. 63–66.
- Love A. J., Yu C., Petukhova N. V., Kalinina N. O., Chen J., Taliansky M. E. Cajal bodies and their role in plant stress and disease responses // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 779–790.
- Lukowiak A. A., Narayanan A., Li Z.-H., Terns R. M., Terns M. P. The snoRNA domain of vertebrate telomerase RNA functions to localize the RNA within the nucleus // *RNA.* 2001. Vol. 7. P. 1833–1844.
- Lyabin D. N., Eliseeva I. A., Ovchinnikov L. P. YB-1 protein: functions and regulation // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2014. Vol. 5. P. 95–110.
- Lyon C. E., Bohmann K., Sleeman J., Lamond A. I. Inhibition of protein dephosphorylation results in the accumulation of splicing snRNPs and coiled bodies within the nucleolus // *Exp. Cell Res.* 1997. Vol. 230. P. 84–93.
- Ma T., Van Tine B. A., Wei Y., Garrett M. D., Nelson D., Adams P. D., Wang J., Qin J., Chow L. T., Harper J. W. Cell cycle-regulated phosphorylation of p220 (NPAT) by cyclin E/Cdk2 in Cajal bodies promotes histone gene transcription // *Genes Dev.* 2000. Vol. 14. P. 2298–2313.
- Ma X., Yang C., Alexandrov A., Grayhack E. J., Behm-Ansmant I., Yu Y.-T. Pseudouridylation of yeast U2 snRNA is catalyzed by either an RNA guided or RNA-independent mechanism // *EMBO J.* 2005. Vol. 24. P. 2403–2413.
- Macgregor H. C. Ways of amplifying ribosomal genes. In: *The Nucleolus* / E. G. Jordan, C. A. Culis (eds.). Cambridge: Cambridge University Press, 1982. P. 129–151.
- Machyna M., Heyn P., Neugebauer K. M. Cajal bodies: where form meets function // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2013. Vol. 4. P. 17–34.
- Machyna M., Kehr S., Straube K., Kappei D., Buchholz F., Butter F., Ule J., Hertel J., Stadler P. F., Neugebauer K. M. The coilin interactome identifies hundreds of small noncoding RNAs that traffic through Cajal bodies // *Mol. Cell.* 2014. Vol. 56. P. 389–399.
- Machyna M., Neugebauer K. M., Staněk D. Coilin: The first 25 years // *RNA Biol.* 2015. Vol. 12. P. 590–596.
- MacNeil D. E., Bensoussan H. J., Autexier C. Telomerase regulation from beginning to the end // *Genes (Basel).* 2016. Vol. 7. Art. ID: 64.
- MacNeil D. E., Lambert-Lanteigne P., Autexier C. N-terminal residues of human dyskerin are required for interactions with telomerase RNA that prevent RNA degradation // *Nucleic Acids Res.* 2019. Vol. 47. P. 5368–5380.
- Magni M., Ruscica V., Buscemi G., Kim J.-E., Nachimuthu B. T., Fontanella E., Delia D., Zannini L. Chk2 and REGγ-dependent DBC1 regulation in DNA damage induced apoptosis // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. P. 13150–13160.

- Mahmoudi S., Henriksson S., Weibrecht I., Smith S., Söderberg O., Strömblad S., Wiman K. G., Farnebo M. WRAP53 is essential for Cajal body formation and for targeting the survival of motor neuron complex to Cajal bodies // PLoS Biol. 2010. Vol. 8. Art. ID: e1000521.
- Mahmoudi S., Henriksson S., Farnebo L., Roberg K., Farnebo M. WRAP53 promotes cancer cell survival and is a potential target for cancer therapy // Cell Death Dis. 2011. Vol. 2. Art. ID: e114.
- Mahowald A. P., Tiefert M. Fine structural changes in the *Drosophila* oocytes nucleus during a short period of RNA synthesis // Wilhelm Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 1970. Vol. 165. P. 8–25.
- Makarov V., Rakitina D., Protopopova A., Yaminsky I., Arutiunian A., Love A. J., Taliansky M., Kalinina N. Plant coilin: structural characteristics and RNA-binding properties // PLoS One. 2013. Vol. 8. Art. ID: e53571.
- Makarova O. V., Makarov E. M., Liu S., Vornlocher H.-P., Lührmann R. Protein 61K, encoded by a gene (*PRPF31*) linked to autosomal dominant retinitis pigmentosa, is required for U4/U6·U5 tri-snRNP formation and pre-mRNA splicing // EMBO J. 2002. Vol. 21. P. 1148–1157.
- Makeyev E. V., Huang S. The perinucleolar compartment: structure, function, and utility in anti-cancer drug development // Nucleus. 2024. Vol. 15. Art. ID: 2306777.
- Malatesta M., Zancanaro C., Martin T. E., Chan E. K., Amalric F., Lührmann R., Vogel P., Fakan S. Is the coiled body involved in nucleolar functions? // Exp. Cell Res. 1994. Vol. 211. P. 415–419.
- Malatesta M., Scassellati C., Meister G., Plöttner O., Bühler D., Sowa G., Martin T. E., Keidel E., Fischer U., Fakan S. Ultrastructural characterisation of a nuclear domain highly enriched in survival of motor neuron (SMN) protein // Exp. Cell Res. 2004. Vol. 292. P. 312–321.
- Mao Y. S., Sunwoo H., Zhang B., Spector D. L. Direct visualization of the co-transcriptional assembly of a nuclear body by noncoding RNAs // Nat. Cell Biol. 2011a. Vol. 13. P. 95–101.
- Mao Y. S., Zhang B., Spector D. L. Biogenesis and function of nuclear bodies // Trends Genet. 2011b. Vol. 27. P. 295–306.
- Marnef A., Richard P., Pinzon N., Kiss T. Targeting vertebrate intron-encoded box C/D 2' -O-methylation guide RNAs into the Cajal body // Nucleic Acids Res. 2014. Vol. 42. P. 6616–6629.
- Martín-Rivera L., Herrera E., Albar J. P., Blasco M. A. Expression of mouse telomerase catalytic subunit in embryos and adult tissues // Proc Natl. Acad. Sci. U S A. 1998. Vol. 95. P. 10471–10476.
- Marz M., Mosig A., Stadler B. M. R., Stadler P. F. U7 snRNAs: a computational survey // Genomics Proteomics Bioinformatics. 2007. Vol. 5. P. 187–195.
- Marz M., Gruber A. R., zu Siederdissen C. H., Amman F., Badelt S., Bartschat S., Bernhart S. H., Beyer W., Kehr S., Lorenz R., Tanzer A., Yusuf D., Tafer H., Hofacker I. L., Stadler P. F. Animal snoRNAs and scaRNAs with exceptional structures // RNA Biol. 2011. Vol. 8. P. 938–946.
- Marzluff W. F. Metazoan replication-dependent histone mRNAs: a distinct set of RNA polymerase II transcripts // Curr. Opin. Cell Biol. 2005. Vol. 17. P. 274–280.
- Marzluff W. F., Koreski K. P. Birth and death of histone mRNAs // Trends Genet. 2017. Vol. 33. P. 745–759.
- Marzluff W. F., Gongidi P., Woods K. R., Jin J., Maltais L. J. The human and mouse replication-dependent histone genes // Genomics. 2002. Vol. 80. P. 487–498.
- Marzluff W. F., Wagner E. J., Duronio R. J. Metabolism and regulation of canonical histone mRNAs: life without a poly(A) tail // Nat. Rev. Genet. 2008. Vol. 9. P. 843–854.
- Masiello I., Siciliani S., Biggiogera M. Perichromatin region: a moveable feast // Histochem. Cell Biol. 2018. Vol. 150. P. 227–233.
- Mason M., Schuller A., Skordalakes E. Telomerase structure function // Curr. Opin. Struct. Biol. 2011. Vol. 21. P. 92–100.

- Massenet S., Pellizzoni L., Paushkin S., Mattaj I. W., Dreyfuss G. The SMN complex is associated with snRNPs throughout their cytoplasmic assembly pathway // *Mol. Cell. Biol.* 2002. Vol. 22. P. 6533–6541.
- Massenet S., Bertrand E., Verheggen C. Assembly and trafficking of box C/D and H/ACA snoRNPs // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 680–692.
- Matera A. G. Of coiled bodies, gems, and salmon // *J. Cell. Biochem.* 1998. Vol. 70. P. 181–192.
- Matera A. G. Nuclear bodies: multifaceted subdomains of the interchromatin space // *Trends Cell Biol.* 1999. Vol. 9. P. 302–309.
- Matera A. G., Frey M. R. Coiled bodies and gems: Janus or gemini? // *Am. J. Hum. Genet.* 1998. Vol. 63. P. 317–321.
- Matera A. G., Wang Z. A day in the life of the spliceosome // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014. Vol. 15. P. 108–121.
- Matera A. G., Ward D. C. Nucleoplasmic organization of small nuclear ribonucleoproteins in cultured human cells // *J. Cell Biol.* 1993. Vol. 121. P. 715–727.
- Matera A. G., Terns R. M., Terns M. P. Non-coding RNAs: lessons from the small nuclear and small nucleolar RNAs // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007. Vol. 8. P. 209–220.
- Matera A. G., Izaguirre-Sierra M., Praveen K., Rajendra T. K. Nuclear bodies: random aggregates of sticky proteins or crucibles of macromolecular assembly? // *Dev. Cell.* 2009. Vol. 17. P. 639–647.
- Matsura Y. Mechanistic insights from structural analyses of Ran-GTPase-driven nuclear export of proteins and RNAs // *J. Mol. Biol.* 2016. Vol. 428. P. 2025–2039.
- McLaurin D. M., Logan M. K., Lett K. E., Hebert M. D. Molecular determinants that govern scaRNA processing by Drosha/DGCR8 // *Biol. Open.* 2020. Vol. 9: Art. ID: bio054619.
- McLaurin D. M., Tucker S. K., Siddique S. J., Challagundla L., Gibert Y., Hebert M. D. A novel role for coilin in vertebrate innate immunity // *FASEB J.* 2025. Vol. 39. Art. ID: e70580.
- Medina R., Ghule P. N., Cruzat F., Barutcu A. R., Montecino M., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. Epigenetic control of cell cycle-dependent histone gene expression is a principal component of the abbreviated pluripotent cell cycle // *Mol. Cell. Biol.* 2012. Vol. 32. P. 3860–3871.
- Meier U. T. Comparison of the rat nucleolar protein Nopp140 with its yeast homolog SRP40. Differential phosphorylation in vertebrates and yeast // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271. P. 19376–19384.
- Meier U. T. The many facets of H/ACA ribonucleoproteins // *Chromosoma.* 2005. Vol. 114. P. 1–14.
- Meier U. T. RNA modification in Cajal bodies // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 693–700.
- Meier U. T., Blobel G. Nopp140 shuttles on tracks between nucleolus and cytoplasm // *Cell.* 1992. Vol. 70. P. 127–138.
- Meier U. T., Blobel G. NAP57, a mammalian nucleolar protein with a putative homolog in yeast and bacteria // *J. Cell Biol.* 1994. Vol. 127. Vol. 1505–1514.
- Meng F., Na I., Kurgan L., Uversky V. N. Compartmentalization and functionality of nuclear disorder: intrinsic disorder and protein-protein interactions in intra-nuclear compartments // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. Vol. 17. Art. ID: 24.
- Mesentsev Y., Surkova A., Kamyshatskaya O., Nassonova E., Smirnov A. Re-isolation and re-valuation of boundaries of *Thecamoeba terricola* Greeff, 1886 (Amoebozoa, Discosea, Thecamoebida), with description of *Thecamoeba vicaria* n. sp. // *Eur. J. Protistol.* 2023. Vol. 91. Art. ID: 126030.
- Miele A., Braastad C. D., Holmes W. F., Mitra P., Medina R., Xie R., Zaidi S. K., Ye X., Wei Y., Harper J. W., van Wijnen A. J., Stein J. L., Stein G. S. HiNF-P directly links the cyclin E/CDK2/p220NPAT pathway to histone H4 gene regulation at the G1/S phase cell cycle transition // *Mol. Cell. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 6140–6153.

- Migliorini P., Baldini C., Rocchi V., Bombardieri S. Anti-Sm and anti-RNP antibodies // *Autoimmunity*. 2005. Vol. 38. P. 47–54.
- Milin A. N., Deniz A. A. Reentrant phase transitions and non-equilibrium dynamics in membraneless organelles // *Biochemistry*. 2018. Vol. 57. P. 2470–2477.
- Milovic-Holm K., Kriehoff E., Jensen K., Will H., Hofmann T. G. FLASH links the CD95 signaling pathway to the cell nucleus and nuclear bodies // *EMBO J*. 2007. Vol. 26. P. 391–401.
- Mitrea D. M., Kriwacki R. W. Phase separation in biology; functional organization of a higher order // *Cell Commun. Signal*. 2016. Vol. 14. Art. ID: 1.
- Mohamad N., Bodén M. The proteins of intra-nuclear bodies: a data-driven analysis of sequence, interaction and expression // *BMC Syst. Biol*. 2010. Vol. 4. Art. ID: 44.
- Mohanta A., Chakrabarti K. Dbr1 functions in mRNA processing, intron turnover and human diseases // *Biochimie*. 2021. Vol. 180. P. 134–142.
- Monneron A., Bernhard W. Fine structural organization of the interphase nucleus in some mammalian cells // *J. Ultrastruct. Res*. 1969. Vol. 27. P. 266–288.
- Montgomery T. S. H. Jr. Comparative cytological studies, with especial regard to the morphology of the nucleolus // *J. Morphol*. 1898. Vol. 15. P. 265–582.
- Morency E., Sabra M., Catez F., Texier P., Lomonte P. A novel cell response triggered by inter-phase centromere structural instability // *J. Cell Biol*. 2007. Vol. 177. P. 757–768.
- Moreno Díaz de la Espina S., Alverca E., Cuadrado A., Franca S. Organization of the genome and gene expression in a nuclear environment lacking histones and nucleosomes: the amazing dinoflagellates // *Eur. J. Cell Biol*. 2005. Vol. 84. P. 137–149.
- Moreno-Castro C., Prieto-Sánchez S., Sánchez-Hernández N., Hernández-Munain C., Suñé C. Role for the splicing factor TCERG1 in Cajal body integrity and snRNP assembly // *J. Cell Sci*. 2019. Vol. 132. Art. ID: jcs232728.
- Morimoto M., Boerkoel C. F. The role of nuclear bodies in gene expression and disease // *Biology*. 2013. Vol. 2. P. 976–1033.
- Mouaikel J., Verheggen C., Bertrand E., Tazi J., Bordonné R. Hypermethylation of the cap structure of both yeast snRNAs and snoRNAs requires a conserved methyltransferase that is localized to the nucleolus // *Mol. Cell*. 2002. Vol. 9. P. 891–901.
- Mouaikel J., Narayanan U., Verheggen C., Matera A. G., Bertrand E., Tazi J., Bordonné R. Interaction between the small nuclear RNA cap hypermethylase and the spinal muscular atrophy protein, survival of motor neuron // *EMBO Rep*. 2003. Vol. 4. P. 616–622.
- Mowry K. L., Steitz J. A. Identification of the human U7 snRNP as one of several factors involved in the 3' end maturation of histone pre-messenger RNA's // *Science*. 1987. Vol. 238. P. 1682–1687.
- Mroczek S., Dziembowski A. U6 RNA biogenesis and disease association // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2013. Vol. 4. P. 581–592.
- Musawi S., Donnio L. M., Zhao Z., Magnani C., Rassinoux P., Binda O., Huang J., Jacquier A., Couderc L., Lomonte P., Martinat C., Schaeffer L., Mottet D., Côté J., Mari P.-O., Giglia-Mari G. Nucleolar reorganization after cellular stress is orchestrated by SMN shuttling between nuclear compartments // *Nat. Commun*. 2023. Vol. 14. Art. ID: 7384.
- Musgrove C., Jansson L. I., Stone M. D. New perspectives on telomerase RNA structure and function // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2018. Vol. 9. Art. ID: 10.1002/wrna. 1456.
- Na J.-H., Lee W.-K., Yu Y. How do we study the dynamic structure of unstructured proteins: a case study on Nopp140 as an example of a large, intrinsically disordered protein // *Int. J. Mol. Sci*. 2018. Vol. 19. Art. ID: 381.
- Nachtergaele S., He C. The emerging biology of RNA post-transcriptional modifications // *RNA Biol*. 2017. Vol. 14. P. 156–163.
- Nagpal N., Agarwal S. Telomerase RNA processing: Implications for human health and disease // *Stem Cells*. 2020. Vol. 1. Art. ID: 10.1002/stem. 3270.

- Nakielny S., Dreyfuss G. Transport of proteins and RNAs in and out of the nucleus // *Cell*. 1999. Vol. 99. P. 677–690.
- Nandakumar J., Bell C. F., Weidenfeld I., Zaug A. J., Leinwand L. A., Cech T. R. The TEL patch of telomere protein TPP1 mediates telomerase recruitment and processivity // *Nature*. 2012. Vol. 492. P. 285–289.
- Narayanan A., Speckmann W., Terns R., Terns M. P. Role of the box C/D motif in localization of small nucleolar RNAs to coiled bodies and nucleoli // *Mol. Biol. Cell*. 1999. Vol. 10. P. 2131–2147.
- Narayanan U., Achsel T., Lührmann R., Matera A. G. Coupled *in vitro* import of U snRNPs and SMN, the spinal muscular atrophy protein // *Mol. Cell*. 2004. Vol. 16. P. 223–234.
- Narita T., Yung T. M. C., Yamamoto J., Tsuboi Y., Tanabe H., Tanaka K., Yamaguchi Y., Handa H. NELF interacts with CBC and participates in 3' end processing of replication-dependent histone mRNAs // *Mol. Cell*. 2007. Vol. 26. P. 349–365.
- Navascues J., Berciano M. T., Tucker K. E., Lafarga M., Matera A. G. Targeting SMN to Cajal bodies and nuclear gems during neuritogenesis // *Chromosoma*. 2004. Vol. 112. P. 398–409.
- Navascués J., Bengoechea R., Tapia O., Vaqué J. P., Lafarga M., Berciano MT. Characterization of a new SUMO-1 nuclear body (SNB) enriched in pCREB, CBP, c-Jun in neuron-like UR61 cells // *Chromosoma*. 2007. Vol. 116. P. 441–451.
- Navascues J., Bengoechea R., Tapia O., Casafont I., Berciano M. T., Lafarga M. SUMO-1 transiently localizes to Cajal bodies in mammalian neurons // *J. Struct. Biol*. 2008. Vol. 163. P. 137–146.
- Nayyar R. P., Barr M. L. Histochemical studies on the accessory body of Cajal in neurones of the cat // *J. Comp. Neurol*. 1968. Vol. 132. P. 125–134.
- Naz M., Zhang L., Chen C., Yang S., Dou H., Mann S., Li J. Self-assembly of stabilized droplets from liquid-liquid phase separation for higher-order structures and functions // *Commun. Chem*. 2024. Vol. 7. Art. ID: 79.
- Nesic D., Tanackovic G., Krämer A. A role for Cajal bodies in the final steps of U2 snRNP biogenesis // *J. Cell Sci*. 2004. Vol. 117. P. 4423–4433.
- Nguyen T. H. D., Tam J., Wu R. A., Greber B. J., Toso D., Nogales E., Collins K. Cryo-EM structure of substrate-bound human telomerase holoenzyme // *Nature*. 2018. Vol. 557. P. 190–195.
- Nick P. Protists—the dark matter of eukaryotic evolution // *Protoplasma*. 2025. Vol. 262. P. 431–433.
- Niedojadło J., Kubicka E., Kalich B., Smoliński D. J. Poly(A) RNAs including coding proteins RNAs occur in plant Cajal bodies // *PLoS One*. 2014. Vol. 9. Art. ID: e111780.
- Nizami Z. F., Gall J. G. Pearls are novel Cajal body-like structures in the *Xenopus* germinal vesicle that are dependent on RNA pol III transcription // *Chromosome Res*. 2012. Vol. 20. P. 953–969.
- Nizami Z., Deryusheva S., Gall J. G. Cajal bodies and histone locus bodies in *Drosophila* and *Xenopus* // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol*. 2010a. Vol. 75. P. 313–320.
- Nizami Z., Deryusheva S., Gall J. G. The Cajal body and histone locus body // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2010b. Vol. 2. Art. ID: a000653.
- Noguchi K., Suzuki H., Abe R., Horiuchi K., Onoguchi-Mizutani R., Akimitsu N., Ogawa S., Akiyama T., Ike Y., Ino Y., Kimura Y., Ryo A., Doi H., Tanaka F., Suzuki Y., Toyoda A., Yamaguchi Y., Takahashi H. Multi-omics analysis using antibody-based *in situ* biotinylation technique suggests the mechanism of Cajal body formation // *Cell Rep*. 2024. Vol. 43. Art. ID: 114734.
- Norppa A. J., Chowdhury I., van Rooijen L. E., Ravantti J. J., Snel B., Varjosalo M., Frilander M. J. Distinct functions for the paralogous RBM41 and U11/U12–65K proteins in the minor spliceosome // *Nucleic Acids Res*. 2024. Vol. 52. P. 4037–4052.

- Nostramo R. T., Hopper A. K. Beyond rRNA and snRNA: tRNA as a 2'-O-methylation target for nucleolar and Cajal body box C/D RNPs // *Genes Dev.* 2019. Vol. 33. P. 739–740.
- Nottrott S., Urlaub H., Lührmann R. Hierarchical, clustered protein interactions with U4/U6 snRNA: a biochemical role for U4/U6 proteins // *EMBO J.* 2002. Vol. 21. P. 5527–5538.
- Novotný I., Blažíková M., Staněk D., Herman P., Malinský J. *In vivo* kinetics of U4/U6. U5 tri-snRNP formation in Cajal bodies // *Mol. Biol. Cell.* 2011. Vol. 22. P. 513–523.
- Novotný I., Podolská K., Blažíková M., Valášek L. S., Svoboda P., Staněk D. Nuclear LSM8 affects number of cytoplasmic processing bodies via controlling cellular distribution of Like-Sm proteins // *Mol. Biol. Cell.* Vol. 2012. Vol. 23. P. 3776–3785.
- Novotný I., Malinová A., Stejskalová E., Matějů D., Klimešová K., Roithová A., Švéda M., Knejzlík Z., Staněk D. SART3-dependent accumulation of incomplete spliceosomal snRNPs in Cajal bodies // *Cell Rep.* 2015. Vol. 10. P. 429–440.
- Nozawa R.-S., Gilbert N. RNA: nuclear glue for folding the genome // *Trends Cell Biol.* Vol. 29. P. 201–211.
- Ochs R. L., Stein, T. W. Jr, Tan E. M. Coiled bodies in the nucleolus of breast cancer cells // *J. Cell Sci.* 1994. Vol. 107. P. 385–399.
- Ogawa C., Usui K., Aoki M., Ito F., Itoh M., Kai C., Kanamori-Katayama M., Hayashizaki Y., Suzuki H. Gemin2 plays an important role in stabilizing the survival of motor neuron complex // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 11122–11134.
- Ogawa S. Splicing factor mutations in myelodysplasia // *Int. J. Hematol.* 2012. Vol. 96. P. 438–442.
- Oh W., Lee E.-W., Lee D., Yang M.-R., Ko A., Yoon C.-H., Lee H. W., Bae Y.-S., Choi C. Y., Song J. Hdm2 negatively regulates telomerase activity by functioning as an E3 ligase of hTERT // *Oncogene.* 2010. Vol. 29. P. 4101–4112.
- Ohazama S., Fujimoto A., Konda D., Yokoyama R., Nakagawa S., Maita H. Dissecting the role of SMN multimerization in its dissociation from the Cajal body using harmine as a tool compound // *J. Cell Sci.* 2024. Vol. 137. Art. ID: jcs261834.
- Ojha S, Malla S, Lyons SM. snoRNPs: functions in ribosome biogenesis // *Biomolecules.* 2020. Vol. 10. Art. ID: 783.
- Olson M. O., Hingorani K., Szebeni A. Conventional and nonconventional roles of the nucleolus // *Int Rev Cytol.* 2002. 219. P. 199–266.
- Otter S., Grimmer M., Neuenkirchen N., Chari A., Sickmann A., Fischer U. A comprehensive interaction map of the human survival of motor neuron (SMN) complex // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 5825–5833.
- Ozawa, , Furuhashi H., Masuko K., Numao E., Makino T., Yano T., Kurata S. Organ identity specification factor WGE localizes to the histone locus body and regulates histone expression to ensure genomic stability in *Drosophila* // *Genes Cells.* 2016. Vol. 21. P. 442–456.
- Palm W., de Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres // *Annu. Rev. Genet.* 2008. Vol. 42. P. 301–334.
- Papasaikas P., Valcárcel J. The Spliceosome: The ultimate RNA chaperone and sculptor // *Trends Biochem. Sci.* 2016. Vol. 41. P. 33–45.
- Parfenov V. N., Davis D. S., Pochukalina G. N., Kostyuchek D., Murti K. G. Dynamics of distribution of splicing components relative to the transcriptional state of human oocytes from antral follicles // *J. Cell Biochem.* 1998. Vol. 69. P. 72–80.
- Paushkin S., Gubitz A. K., Massenet S., Dreyfuss G. The SMN complex, an assemblysome of ribonucleoproteins // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2002. Vol. 14. P. 305–312.
- Pellizzoni L., Baccon J., Charroux B., Dreyfuss G. The survival of motor neurons (SMN) protein interacts with the snoRNP proteins fibrillarin and GAR1 // *Curr. Biol.* 2001a. Vol. 11. P. 1079–1088.
- Pellizzoni L., Charroux B., Rappsilber J., Mann M., Dreyfuss G. A functional interaction between the survival motor neuron complex and RNA polymerase II // *J. Cell Biol.* 2001b. Vol. 152. P. 75–85.

- Pellizzoni L., Baccon J., Rappsilber J., Mann M., Dreyfuss G. Purification of native survival of motor neurons complexes and identification of Gemin 6 as a novel component // *J. Biol. Chem.* 2002a. Vol. 277. P. 7540–7545.
- Pellizzoni L., Yong J., Dreyfuss G. Essential role for the SMN complex in the specificity of snRNP assembly // *Science*. 2002b. Vol. 298. P. 1775–1779.
- Pena E., Berciano M. T., Fernandez R., Ojeda J. L., Lafarga M. Neuronal body size correlates with the number of nucleoli and Cajal bodies, and with the organization of the splicing machinery in rat trigeminal ganglion neurons // *J. Comp. Neurol.* 2001. Vol. 430. P. 250–263.
- Petri S., Grimmmler M., Over S., Fischer U., Gruss O. J. Dephosphorylation of survival motor neurons (SMN) by PPM1G/PP2C γ governs Cajal body localization and stability of the SMN complex // *J. Cell Biol.* 2007. Vol. 179. P. 451–465.
- Phair R. D., Misteli T. High mobility of proteins in the mammalian cell nucleus // *Nature*. 2000. Vol. 404. P. 604–609.
- Pikaard C. S. Cell biology of the *Arabidopsis* nuclear siRNA pathway for RNA-directed chromatin modification // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2006. Vol. 71. P. 473–480.
- Pillai R. S., Grimmmler M., Meister G., Will C. L., Lührmann R., Fischer U., Schümperli D. Unique Sm core structure of U7 snRNPs: assembly by a specialized SMN complex and the role of a new component, Lsm11, in histone RNA processing // *Genes Dev.* 2003. Vol. 17. P. 2321–2333.
- Pirrotta V., Li H.-B. A view of nuclear Polycomb bodies // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2012. Vol. 22. P. 101–109.
- Platani M., Goldberg I., Swedlow J. R., Lamond A. I. *In vivo* analysis of Cajal body movement, separation, and joining in live human cells // *J. Cell Biol.* 2000. Vol. 151. P. 1561–1574.
- Pochukalina G. N., Ilicheva N. V., Podgornaya O. I., Voronin A. P. Nucleolus-like body of mouse oocytes contains lamin A and B and TRF2 but not actin and topo II // *Mol. Cytogenet.* 2016. Vol. 9. Art. ID: 50.
- Podlevsky J. D., Chen J. J. It all comes together at the ends: telomerase structure, function, and biogenesis // *Mutat. Res.* 2012. Vol. 730. P. 3–11.
- Polak P. E., Simone F., Kaberlein J. J., Luo R. T., Thirman M. J. ELL and EAF1 are Cajal body components that are disrupted in MLL–ELL leukemia // *Mol. Biol. Cell.* 2003. Vol. 14. P. 1517–1528.
- Pollock C., Huang S. The perinucleolar compartment // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010. Vol. 2. Art. ID: a000679.
- Poltronieri P., Miwa M., Masutani M. ADP-ribosylation as post-translational modification of proteins: use of inhibitors in cancer control // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. Art. ID: 10829.
- Pontes O., Pikaard C. S. siRNA and miRNA processing: new functions for Cajal bodies // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2008. Vol. 18. P. 197–203.
- Pontes O., Li C. F., Costa Nunes P., Haag J., Ream T., Vitins A., Jacobsen S. E., Pikaard C. S. The *Arabidopsis* chromatin-modifying nuclear siRNA pathway involves a nucleolar RNA processing center // *Cell*. 2006. Vol. 126. P. 79–92.
- Poole A. R., Hebert M. D. SMN and coilin negatively regulate dyskerin association with telomerase RNA // *Biol. Open.* 2016. Vol. 5. P. 726–735.
- Poole A. R., Enwerem I. I., Vicino I. A., Coole J. B., Smith S. V., Hebert M. D. Identification of processing elements and interactors implicate SMN, coilin and the pseudogene-encoded *coilp1* in telomerase and box C/D scaRNP biogenesis // *RNA Biol.* 2016. Vol. 13. P. 955–972.
- Poole A. R., Vicino I., Adachi H., Yu Y.-T., Hebert M. D. Regulatory RNPs: a novel class of ribonucleoproteins that potentially contribute to ribosome heterogeneity // *Biol. Open.* 2017. Vol. 6. P. 1342–1354.
- Potashkin J. A., Derby R. J., Spector D. L. Differential distribution of factors involved in pre-mRNA processing in the yeast cell nucleus // *Mol. Cell. Biol.* 1990. Vol. 10. P. 3524–3534.

- Pradet-Balade B., Girard C., Boulon S., Paul C., Azzag K., Bordonné R., Bertrand E., Verheggen C. CRM1 controls the composition of nucleoplasmic pre-snoRNA complexes to licence them for nucleolar transport // *EMBO J.* 2011. Vol. 30. P. 2205–2218.
- Prasad A., Bharathi V., Sivalingam V., Girdhar A., Patel B. K. Molecular mechanisms of TDP-43 misfolding and pathology in amyotrophic lateral sclerosis // *Front. Mol. Neurosci.* 2019. Vol. 12. Art ID: 25.
- Protter D. S. W., Rao B. S., Van Treeck B., Lin Y., Mizoue L., Rosen M. K., Parker R. Intrinsically disordered regions can contribute promiscuous interactions to RNP granule assembly // *Cell Rep.* 2018. Vol. 22. P. 1401–1412.
- Puvion E., Puvion-Dutilleul F. Ultrastructure of the nucleus in relation to transcription and splicing: roles of perichromatin fibrils and interchromatin granules // *Exp. Cell Res.* 1996. Vol. 229. P. 217–225.
- Puvion-Dutilleul F., Besse S., Chan E. K. L., Tan E. M., Puvion E. p80-coilin: a component of coiled bodies and interchromatin granule-associated zones // *J. Cell Sci.* 1995a. Vol. 108. P. 1143–1153.
- Puvion-Dutilleul F., Venturini L., Guillemain M. C., de Thé H., Puvion E. Sequestration of PML and Sp100 proteins in an intranuclear viral structure during herpes simplex virus type 1 infection // *Exp. Cell Res.* 1995b. Vol. 221. P. 448–461.
- Qin J., Autexier C. Regulation of human telomerase RNA biogenesis and localization // *RNA Biol.* 2021. Vol. 18. P. 305–315.
- Qu L., Ji Y., Zhu X., Zheng X. hCINAP negatively regulates NF- κ B signaling by recruiting the phosphatase PP1 to deactivate IKK complex // *J. Mol. Cell Biol.* 2015. Vol. 7. P. 529–542.
- Quénet D. Histone variants and disease // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2018. Vol. 335. P. 1–39.
- Quinodoz S. A., Jachowicz J. W., Bhat P., Ollikainen N., Banerjee A. K., Goronzy I. N., Blanco M. R., Chovanec P., Chow A., Markaki Y., Thai J., Plath K., Guttman M. RNA promotes the formation of spatial compartments in the nucleus // *Cell.* 2021. Vol. 184. P. 5775–5790. e30.
- Raimer A. C., Gray K. M., Matera A. G. SMN — A chaperone for nuclear RNP social occasions? // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 701–711.
- Rajendra T. K., Praveen K., Matera AG. Genetic analysis of nuclear bodies: from nondeterministic chaos to deterministic order // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2010. Vol. 75. P. 365–374.
- Raker V. A., Hartmuth K., Kastner B., Lührmann R. Spliceosomal U snRNP core assembly: Sm proteins assemble onto an Sm site RNA nonanucleotide in a specific and thermodynamically stable manner // *Mol. Cell Biol.* 1999. Vol. 19. P. 6554–6565.
- Raška I., Ochs R. L., Andrade L. E., Chan E. K., Burlingame R., Peebles C., Gruol D., Tan E. M. Association between the nucleolus and the coiled body // *J. Struct. Biol.* 1990. Vol. 104. P. 120–127.
- Raška I., Andrade L. E. C., Ochs R. L., Chan E. K. L., Chang C. M., Roos G., Tan E. M. Immunological and ultrastructural studies of the nuclear coiled body with autoimmune antibodies // *Exp. Cell Res.* 1991. Vol. 195. P. 27–37.
- Raška I., Koberna K., Malinský J., Fidlerová H., Mašata M. The nucleolus and transcription of ribosomal genes // *Biol. Cell.* 2004. Vol. 96. P. 579–594.
- Raška I., Shaw P. J., Cmarko D. New insights into nucleolar architecture and activity // *Int. Rev. Cytol.* 2006. Vol. 255. P. 177–235.
- Ratti A., Buratti E. Physiological functions and pathobiology of TDP-43 and FUS/TLS proteins // *J. Neurochem.* 2016. Vol. 138. P. 95–111.
- Ray Chaudhuri A., Nussenzweig A. The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017. Vol. 18. P. 610–621.
- Rebelo L., Almeida F., Ramos C., Bohmann K., Lamond A. I., Carmo-Fonseca M. The dynamics of coiled bodies in the nucleus of adenovirus-infected cells // *Mol. Biol. Cell.* 1996. Vol. 7. P. 1137–1151.

- Reeves W. H., Narain S., Satoh M. Henry Kunkel, Stephanie Smith, clinical immunology, and split genes // *Lupus*. 2003. Vol. 12. P. 213–217.
- Reichow S., Hamma T., Ferré-D'Amaré A., Varani G. The structure and function of small nucleolar ribonucleoproteins // *Nucleic Acids Res.* 2007. Vol. 35. P. 1452–1464.
- Relitti N., Saraswati A. P., Federico S., Khan T., Brindisi M., Zisterer D., Brogi S., Gemma S., Butini S., Campiani G. Telomerase-based cancer therapeutics: a review on their clinical trials // *Curr. Top. Med. Chem.* 2020. Vol. 20. P. 433–457.
- Renvoisé B., Khoobarry K., Gendron M. C., Cibert C., Viollet L., Lefebvre S. Distinct domains of the spinal muscular atrophy protein SMN are required for targeting to Cajal bodies in mammalian cells // *J. Cell Sci.* 2006. Vol. 119. P. 680–692.
- Renvoisé B., Colasse S., Burlet P., Viollet L., Meier U. T., Lefebvre S. The loss of the snoRNP chaperone Nopp140 from Cajal bodies of patient fibroblasts correlates with the severity of spinal muscular atrophy // *Hum. Mol. Genet.* 2009. Vol. 18. P. 1181–1189.
- Renvoisé B., Quérol G., Verrier E. R., Burlet P., Lefebvre S. A role for protein phosphatase PP1 γ in SMN complex formation and subnuclear localization to Cajal bodies // *J. Cell Sci.* 2012. Vol. 125. P. 2862–2874.
- Richard P., Kiss T. Integrating snoRNP assembly with mRNA biogenesis // *EMBO Rep.* 2006. Vol. 7. P. 590–592.
- Richard P., Darzacq X., Bertrand E., Jády B., Verheggen C., Kiss T. A common sequence motif determines the Cajal body-specific localization of box H/ACA scaRNAs // *EMBO J.* 2003. Vol. 22. P. 4283–4293.
- Rivas G., Minton A. P. Macromolecular crowding in vitro, in vivo, and in between // *Trends Biochem. Sci.* 2016. Vol. 41. P. 970–981.
- Roake C. M., Artandi S. E. Regulation of human telomerase in homeostasis and disease // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2020. Vol. 21. P. 384–397.
- Rodier F., Muñoz D. P., Teachenor R., Chu V., Le O., Bhaumik D., Coppé J.-P., Campeau E., Beauséjour C. M., Kim S.-H., Davalos A. R., Campisi J. DNA-SCARS: Distinct nuclear structures that sustain damage-induced senescence growth arrest and inflammatory cytokine secretion // *J. Cell Sci.* 2011. Vol. 124. P. 68–81.
- Rodrigues S. H., Silva N. P., Delício L. R., Granato C., Andrade L. E. The behavior of the coiled body in cells infected with adenovirus in vitro // *Mol. Biol. Rep.* 1996. Vol. 23. P. 183–189.
- Roithová A., Staněk D. Analysis of spliceosomal snRNA localization in human HeLa cells using microinjection // *J. Vis. Exp.* 2019. Vol. 150. Art. ID: e59797.
- Roithová A., Klimešová K., Pánek J., Will C. L., Lührmann R., Staněk D., Girard C. The Sm-core mediates the retention of partially-assembled spliceosomal snRNPs in Cajal bodies until their full maturation // *Nucleic Acids Res.* 2018. Vol. 46. P. 3774–3790.
- Romeo V., Griesbach E., Schümperli D. CstF64: cell cycle regulation and functional role in 3' end processing of replication-dependent histone mRNAs // *Mol. Cell. Biol.* 2014. Vol. 34. P. 4272–4284.
- Roundtree I. A., Evans M. E., Pan T., He C. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation // *Cell.* 2017. Vol. 169. P. 1187–1200.
- Rubtsova M., Dontsova O. Human telomerase RNA: Telomerase component or more? // *Bio-molecules.* 2020. Vol. 10. Art. ID: 873.
- Sabra M., Texier P., El Maalouf J., Lomonte P. The Tudor protein survival motor neuron (SMN) is a chromatin-binding protein that interacts with methylated lysine 79 of histone H3 // *J. Cell Sci.* 2013. Vol. 126. P. 3664–3677.
- Sahebi M., Hanafi M. M., van Wijnen A. J., Azizi P., Abiri R., Ashkani S., Taheri S. Towards understanding pre-mRNA splicing mechanisms and the role of SR proteins // *Gene.* 2016. Vol. 587. P. 107–119.
- Saifitdinova A., Derjusheva S., Krasikova A., Gaginskaya E. Lampbrush chromosomes of the chaffinch (*Fringilla coelebs* L.) // *Chromosome Res.* 2003. Vol. 11. P. 99–113.

- Salimi-Jeda A., Badrzadeh F., Esghaei M., Abdoli A. The role of telomerase and viruses interaction in cancer development, and telomerase-dependent therapeutic approaches // *Cancer Treat. Res. Commun.* 2021. Vol. 27. Art. ID: 100323.
- Sánchez-Álvarez M., Goldstrohm A. C., Garcia-Blanco M. A., Suñé C. Human transcription elongation factor CA150 localizes to splicing factor-rich nuclear speckles and assembles transcription and splicing components into complexes through its amino and carboxyl regions // *Mol. Cell. Biol.* 2006. Vol. 26. P. 4998–5014.
- Sandin S., Rhodes D. Telomerase structure // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2014. Vol. 25. P. 104–110.
- Santama NI, Ogg SC, Malekkou A, Zographos SE, Weis K, Lamond AI. Characterization of hCINAP, a novel coilin-interacting protein encoded by a transcript from the transcription factor TAFII32 locus // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. P. 36429–36441.
- Sanz-García M., Vázquez-Cedeira M., Kellerman E., Renbaum P., Levy-Lahad E., Lazo P. A. Substrate profiling of human vaccinia-related kinases identifies coilin, a Cajal body nuclear protein, as a phosphorylation target with neurological implications // *J. Proteomics.* 2011. Vol. 75. P. 548–560.
- Sarkar A., Gasperi W., Begley U., Nevins S., Huber S. M., Dedon P. C., Begley T. J. Detecting the epitranscriptome // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2021. Vol. 12. Art. ID: e1663.
- Sawyer I. A., Shevtsov S. P., Dundr M. Spectral imaging to visualize higher-order genomic organization // *Nucleus.* 2016a. Vol. 7. P. 325–338.
- Sawyer I. A., Dundr M. Nuclear bodies: Built to boost // *J. Cell Biol.* 2016. Vol. 213. P. 509–511.
- Sawyer I. A., Sturgill D., Sung M.-H., Hager G. L., Dundr M. Cajal body function in genome organization and transcriptome diversity // *Bioessays.* 2016b. Vol. 38. P. 1197–1208.
- Sawyer I. A., Hager G. L., Dundr M. Specific genomic cues regulate Cajal body assembly // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 791–803.
- Sawyer I. A., Sturgill D., Dundr M. Membraneless nuclear organelles and the search for phases within phases // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2019. Vol. 10. Art. ID: e1514.
- Sawyer I. A., Dundr M. Nuclear bodies. In: *Nuclear architecture and dynamics* / C. Lavelle, J.-M. Victor (eds.). Vol. 2. Academic Press, 2018. P. 235–256.
- Schaffert N., Hossbach M., Heintzmann R., Achsel T., Lührmann R. RNAi knockdown of hPrp31 leads to an accumulation of U4/U6 di-snRNPs in Cajal bodies // *EMBO J.* 2004. Vol. 23. P. 3000–3009.
- Scherl A., Couté Y., Déon C., Callé A., Kindbeiter K., Sanchez J. C., Greco A., Hochstrasser D., Diaz J. J. Functional proteomic analysis of human nucleolus // *Mol. Biol. Cell.* 2002. Vol. 13. P. 4100–4109.
- Schmid A., DiDonato C. J. Animal models of spinal muscular atrophy // *J. Child Neurol.* 2007. Vol. 22. P. 1004–1012.
- Schmid M., Jensen T. H. The nuclear RNA exosome and its cofactors // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019. Vol. 1203. P. 113–132.
- Schmidt J. C., Dalby A. B., Cech T. R. Identification of human TERT elements necessary for telomerase recruitment to telomeres // *Elife.* 2014. Vol. 3. Art. ID: e03563.
- Schmidt J. C., Zaug A. J., Cech T. R. Live cell imaging reveals the dynamics of telomerase recruitment to telomeres // *Cell.* 2016. Vol. 166. P. 1188–1197. e9.
- Schmidt J. C., Cech T. R. Human telomerase: biogenesis, trafficking, recruitment, and activation // *Genes Dev.* 2015. Vol. 29. P. 1095–1105.
- Schul W., Groenhout B., Koberna K., Takagaki Y., Jenny A., Manders E. M., Raška I., van Driel R., de Jong L. The RNA 3' cleavage factors CstF 64 kDa and CPSF 100 kDa are concentrated in nuclear domains closely associated with coiled bodies and newly synthesized RNA // *EMBO J.* 1996. Vol. 15. P. 2883–2892.
- Schul W., van Driel R., de Jong L. Coiled bodies and U2 snRNA genes adjacent to coiled bodies are enriched in factors required for snRNA transcription // *Mol. Biol. Cell.* 1998. Vol. 9. P. 1025–1036.

- Schul W., Adelaar B., van Driel R., de Jong L. Coiled bodies are predisposed to a spatial association with genes that contain snoRNA sequences in their introns // *J. Cell. Biochem.* 1999a. Vol. 75. P. 393–403.
- Schul W., van der Kraan I., Matera A. G., van Driel R., de Jong L. Nuclear domains enriched in RNA 3' processing factors associate with coiled bodies and histone genes in a cell cycle-dependent fashion // *Mol. Biol. Cell.* 1999b. Vol. 10. P. 3815–3824.
- Schulz S., Chachami G., Kozackiewicz L., Winter U., Stankovic-Valentin N., Haas P., Hofmann K., Urlaub H., Ovaas H., Wittbrodt J., Meulmeister E., Melchior F. Ubiquitin-specific protease-like 1 (USPL1) is a SUMO isopeptidase with essential, non-catalytic functions // *EMBO Rep.* 2012. Vol. 13. P. 930–938.
- Schümperli D., Pillai R. S. The special Sm core structure of the U7 snRNP: far-reaching significance of a small nuclear ribonucleoprotein // *Cell. Mol. Life Sci.* 2004. Vol. 61. P. 2560–2570.
- Sehgal P. B., Westley J., Lerea K. M., DiSenso-Browne S., Etlinger J. D. Biomolecular condensates in cell biology and virology: phase-separated membraneless organelles (MLOs) // *Anal. Biochem.* 2020. Vol. 597. Article ID: 113691.
- Selenko P., Sprangers R., Stier G., Bühler D., Fischer U., Sattler M. SMN tudor domain structure and its interaction with the Sm proteins // *Nat. Struct. Biol.* 2001. Vol. 8. P. 27–31.
- Sexton A. N., Regalado S. G., Lai C. S., Cost G. J., O'Neil C. M., Urnov F. D., Gregory P. D., Jaenisch R., Collins K., Hockemeyer D. Genetic and molecular identification of three human TPP1 functions in telomerase action: recruitment, activation, and homeostasis set point regulation // *Genes Dev.* 2014. Vol. 28. P. 1885–1899.
- Shan X., Chiang P. M., Price D. L., Wong P. C. Altered distributions of Gemini of coiled bodies and mitochondria in motor neurons of TDP-43 transgenic mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2010. Vol. 107. P. 16325–16330.
- Shan L., Li P., Yu H., Chen L.-L. Emerging roles of nuclear bodies in genome spatial organization // *Trends Cell Biol.* 2024. Vol. 34. P. 595–605.
- Shanbhag R., Kurabi A., Kwan J. J., Donaldson L. W. Solution structure of the carboxy-terminal Tudor domain from human Coilin // *FEBS Lett.* 2010. Vol. 584. P. 4351–4356.
- Sharp P. A., Chakraborty A. K., Henninger J. E., Young R. A. RNA in formation and regulation of transcriptional condensates // *RNA.* 2022. Vol. 28. P. 52–57.
- Shav-Tal Y., Blechman J., Darzacq X., Montagna C., Dye B. T., Patton J. G., Singer R. H., Zipori D. Dynamic sorting of nuclear components into distinct nucleolar caps during transcriptional inhibition // *Mol. Biol. Cell.* 2005. Vol. 16. P. 2395–2413.
- Shaw J., Love A. J., Makarova S. S., Kalinina N. O., Harrison B. D., Taliansky M. E. Coilin, the signature protein of Cajal bodies, differentially modulates the interactions of plants with viruses in widely different taxa // *Nucleus.* 2014. Vol. 5. P. 85–94.
- Shay J. W., Wright W. E. Telomeres and telomerase: three decades of progress // *Nat. Rev. Genet.* 2019. Vol. 20. P. 299–309.
- Shevelyov Y. Y., Ulianov S. V. The nuclear lamina as an organizer of chromosome architecture // *Cells.* 2019. Vol. 8. Art. ID: 136.
- Shevtsov S. P., Dundr M. Nucleation of nuclear bodies by RNA // *Nat. Cell Biol.* 2011. Vol. 13. P. 167–173.
- Shi Y. The Spliceosome: a protein-directed metalloribozyme // *J. Mol. Biol.* 2017a. Vol. 429. P. 2640–2653.
- Shi Y. Mechanistic insights into precursor messenger RNA splicing by the spliceosome // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017b. Vol. 18. P. 655–670.
- Shim S.-H. Super-resolution microscopy of genome organization // *Genes Genomics.* 2021. Vol. 43. P. 281–287.
- Shin Y., Brangwynne C. P. Liquid phase condensation in cell physiology and disease // *Science.* 2017. Vol. 357. Art. ID: eaaf4382.

- Shishova K. V., Khodarovich Y. M., Lavrentyeva E. A., Zatsepina O. V. High-resolution microscopy of active ribosomal genes and key members of the rRNA processing machinery inside nucleolus-like bodies of fully-grown mouse oocytes // *Exp. Cell Res.* 2015a. Vol. 337. P. 208–218.
- Shishova K. V., Lavrentyeva E. A., Dobrucki J. W., Zatsepina O. V. Nucleolus-like bodies of fully-grown mouse oocytes contain key nucleolar proteins but are impoverished for rRNA // *Dev. Biol.* 2015b. Vol. 397. P. 267–281.
- Shpargel K. B., Ospina J. K., Tucker K. E., Matera A. G., Hebert M. D. Control of Cajal body number is mediated by the coilin C-terminus // *J. Cell Sci.* 2003. Vol. 116. P. 303–312.
- Shpargel K. B., Matera A. G. Gemin proteins are required for efficient assembly of Sm-class ribonucleoproteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2005. Vol. 102. P. 17372–17377.
- Shukla S., Schmidt J. C., Goldfarb K. C., Cech T. R., Parker R. Inhibition of telomerase RNA decay rescues telomerase deficiency caused by dyskerin or PARN defects // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2016. Vol. 23. P. 286–292.
- Sicoli G., Sieme D., Overkamp K., Khalil M., Backer R., Griesinger C., Willbold D., Rezaei-Ghaleh N. Large dynamics of a phase separating arginine-glycine-rich domain revealed via nuclear and electron spins // *Nat. Commun.* 2024. Vol. 15. Art. ID: 1610.
- Singh A. K., Lakhotia S. C. Dynamics of hnRNPs and omega speckles in normal and heat shocked live cell nuclei of *Drosophila melanogaster* // *Chromosoma.* 2015. Vol. 124. P. 367–383.
- Singh R. N., Howell M. D., Ottesen E. W., Singh N. N. Diverse role of survival motor neuron protein // *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.* 2017. Vol. 1860. P. 299–315.
- Skrajna A., Yang X.-C., Bucholc K., Zhang J., Hall T. M. T., Dadlez M., Marzluff W. F., Dominiski Z. U7 snRNP is recruited to histone pre-mRNA in a FLASH-dependent manner by two separate regions of the stem-loop binding protein // *RNA.* 2017. Vol. 23. P. 938–951.
- Sleeman J. E., Lamond A. I. Newly assembled snRNPs associate with coiled bodies before speckles, suggesting a nuclear snRNP maturation pathway // *Curr. Biol.* 1999. Vol. 9. P. 1065–1074.
- Sleeman J. E., Lyon C. E., Platani M., Kreivi J.-P., Lamond A. I. Dynamic interaction between splicing snRNPs, coiled bodies and nucleoli revealed using snRNP protein fusions to the green fluorescent protein // *Exp. Cell Res.* 1998. Vol. 243. P. 290–304.
- Sleeman J. E., Ajuh P., Lamond A. I. snRNP protein expression enhances the formation of Cajal bodies containing p80-coilin and SMN // *J. Cell Sci.* 2001. Vol. 114. P. 4407–4419.
- Sleeman J. E., Trinkle-Mulcahy L., Prescott A. R., Ogg S. C., Lamond A. I. Cajal body proteins SMN and Coilin show differential dynamic behaviour in vivo // *J. Cell Sci.* 2003. Vol. 116. P. 2039–2050.
- Slusher AL, Kim J. J., Ludlow AT. The role of alternative RNA splicing in the regulation of hTERT, telomerase, and telomeres: implications for cancer therapeutics // *Cancers (Basel).* 2020. Vol. 12. Art. ID: 1514.
- Šmigová J., Juda P., Cmarko D., Raška I. Fine structure of the “PcG body” in human U-2 OS cells established by correlative light-electron microscopy // *Nucleus.* 2011. Vol. 2. P. 219–228.
- Smith E. R., Lin C., Garrett A. S., Thornton J., Mohaghegh N., Hu D., Jackson J., Saraf A., Swanson S. K., Seidel C., Florens L., Washburn M. P., Eissenberg J. C., Shilatifard A. The little elongation complex regulates small nuclear RNA transcription // *Mol. Cell.* 2011. Vol. 44. P. 954–965.
- Smith E. M., Pendlebury D. F., Nandakumar J. Structural biology of telomeres and telomerase // *Cell Mol. Life Sci.* 2020. Vol. 77. P. 61–79.
- Smith E. W., Lattmann S., Liu Z. B., Ahsan B., Rhodes D. Insights into POT1 structural dynamics revealed by cryo-EM // *PLoS One.* 2022. Vol. 17. Art. ID: e0264073.
- Smith K. P., Carter K. C., Johnson C. V., Lawrence J. B. U2 and U1 snRNA gene loci associate with coiled bodies // *J. Cell. Biochem.* 1995. Vol. 59. P. 473–485.

- Smith K. P., Lawrence J. B. Interactions of U2 gene loci and their nuclear transcripts with Cajal (coiled) bodies: evidence for pre-U2 within Cajal bodies // *Mol. Biol. Cell.* 2000. Vol. 11. P. 2987–2998.
- Smith-Sonneborn J. Telomerase biology associations offer keys to cancer and aging therapeutics // *Curr. Aging Sci.* 2020. Vol. 13. P. 11–21.
- Snaar S., Wiesmeijer K., Jochemsen A. G., Tanke H. J., Dirks R. W. Mutational analysis of fibrillar and its mobility in living human cells // *J. Cell Biol.* 2000. Vol. 151. P. 653–662.
- Solymosy F., Pollák T. Uridylate-rich small nuclear RNAs (UsnRNAs), their genes and pseudo-genes, and UsnRNPs in plants: structure and function. A comparative approach // *Crit. Rev. Plant Sci.* 1993. Vol. 12. P. 275–369.
- Son A., Park J.-E., Kim V. N. PARN and TOE1 constitute a 3' end maturation module for nuclear non-coding RNAs // *Cell Rep.* 2018. Vol. 23. P. 888–898.
- Spector D. L. Nuclear domains // *J. Cell Sci.* 2001. Vol. 114. P. 2891–2893.
- Spector D. L., Lark G., Huang S. Differences in snRNP localization between transformed and nontransformed cells // *Mol. Biol. Cell.* 1992. Vol. 3. P. 555–569.
- Speer S. L., Stewart C. J., Sapir L., Harries D., Pielak G. J. Macromolecular crowding is more than hard-core repulsions // *Annu. Rev. Biophys.* 2022. Vol. 51. P. 267–300.
- Sperandio S., Barat C., Cabrita M. A., Gargaun A., Berezovski M. V., Tremblay M. J., de Belle I. TOE1 is an inhibitor of HIV-1 replication with cell-penetrating capability // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2015. Vol. 112. P. E3392–E3401.
- Staley J. P., Woolford J. L. Jr. Assembly of ribosomes and spliceosomes: complex ribonucleoprotein machines // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2009. Vol. 21. P. 109–118.
- Staněk D. Cajal bodies and snRNPs — friends with benefits // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 671–679.
- Staněk D. Coilin and Cajal bodies // *Nucleus.* 2023. Vol. 14. Art. ID: 2256036.
- Staněk D., Neugebauer K. M. Detection of snRNP assembly intermediates in Cajal bodies by fluorescence resonance energy transfer // *J. Cell Biol.* 2004. Vol. 166. P. 1015–1025.
- Staněk D., Neugebauer K. M. The Cajal body: a meeting place for spliceosomal snRNPs in the nuclear maze // *Chromosoma.* 2006. Vol. 115. P. 343–354.
- Staněk D., Rader S. D., Klingauf M., Neugebauer K. M. Targeting of U4/U6 small nuclear RNP assembly factor SART3/p110 to Cajal bodies // *J. Cell Biol.* 2003. Vol. 160. P. 505–516.
- Staněk D., Přidalová-Hnilicová J., Novotný I., Huranová M., Blažíková M., Wen X., Sapra A., Neugebauer K. Spliceosomal small nuclear ribonucleoprotein particles repeatedly cycle through Cajal bodies // *Mol. Biol. Cell.* 2008. Vol. 19. P. 2534–2543.
- Stejskalová E., Staněk D. Splicing factor U1–70K interacts with the SMN complex and is required for nuclear Gem integrity // *J. Cell Sci.* 2014. Vol. 127. P. 3909–3915.
- Stepanova I. S., Bogolyubov D. S., Skovorodkin I. N., Parfenov V. N. Cajal bodies and interchromatin granule clusters in cricket oocytes: composition, dynamics and interactions // *Cell Biol. Int.* 2007. Vol. 31. P. 203–214.
- Stern J. L., Zyner K. G., Pickett H. A., Cohen S. B., Bryan T. M. Telomerase recruitment requires both TCAB1 and Cajal bodies independently // *Mol. Cell. Biol.* 2012. Vol. 32. P. 2384–2395.
- Stroberg W., Schnell S. On the origin of non-membrane-bound organelles, and their physiological function // *J. Theor. Biol.* 2017. Vol. 434. P. 42–49.
- Strom A. R., Brangwynne C. P. The liquid nucleome — phase transitions in the nucleus at a glance // *J. Cell Sci.* 2019. Vol. 132. Art. ID: jcs235093.
- Strzelecka M., Oates A. C., Neugebauer K. M. Dynamic control of Cajal body number during zebrafish embryogenesis // *Nucleus.* 2010a. Vol. 1. P. 96–108.
- Strzelecka M., Trowitzsch S., Weber G., Lührmann R., Oates A. C., Neugebauer K. M. Coilin-dependent snRNP assembly is essential for zebrafish embryogenesis // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2010b. Vol. 17. P. 403–409.

- Sullivan E., Santiago C., Parker E. D., Dominski Z., Yang X., Lanzotti D. J., Ingledue T. C., Marzluff W. F., Duronio R. J. *Drosophila* stem loop binding protein coordinates accumulation of mature histone mRNA with cell cycle progression // *Genes Dev.* 2001. Vol. 15. P. 173–187.
- Sullivan K. D., Steiniger M., Marzluff W. F. A core complex of CPSF73, CPSF100, and Symplekin may form two different cleavage factors for processing of poly(A) and histone mRNAs // *Mol. Cell.* 2009. Vol. 34. P. 322–332.
- Sun J., Xu H., Subramony S. H., Hebert M. D. Interactions between Coilin and PIASy partially link Cajal bodies to PML bodies // *J. Cell Sci.* 2005. Vol. 118. P. 4995–5003.
- Sun Y., Zhang Y., Aik W. S., Yang X.-C., Marzluff W. F., Walz T., Dominski Z., Tong L. Structure of an active human histone pre-mRNA 3'-end processing machinery // *Science.* 2020. Vol. 367. P. 700–703.
- Suzuki T. The expanding world of tRNA modifications and their disease relevance // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2021. Vol. 22. P. 375–392.
- Suzuki T., Izumi H., Ohno M. Cajal body surveillance of U snRNA export complex assembly // *J. Cell Biol.* 2010. Vol. 190. P. 603–612.
- Świątek P. Oogenesis in the leech *Glossiphonia heteroclita* (Annelida, Hirudinea, Glossiphonidae). I. Ovary structure and previtellogenic growth of oocytes // *J. Morphol.* 2005. Vol. 266. P. 309–318.
- Świątek P., Jaglarz M. K. SnRNPs are present in the karyosome capsule in the weevil germinal vesicle // *Tissue Cell.* 2004. Vol. 36. P. 253–262.
- Takagaki Y., Manley J. L. Complex protein interactions within the human polyadenylation machinery identify a novel component // *Mol. Cell. Biol.* 2000. Vol. 20. P. 1515–1525.
- Takahashi H., Takigawa I., Watanabe M., Anwar D., Shibata M., Tomomori-Sato C., Sato S., Ranjan A., Seidel C. W., Tsukiyama T., Mizushima W., Hayashi M., Ohkawa Y., Conway J. W., Conaway R. C., Hatakeyama S. MED26 regulates the transcription of snRNA genes through the recruitment of little elongation complex // *Nat. Commun.* 2015. Vol. 6. Art. ID: 5941.
- Takai, H.; Smogorzewska, A.; De Lange, T. DNA damage foci at dysfunctional telomeres // *Curr. Biol.* 2003. Vol. 13. P. 1549–1556.
- Takata H., Nishijima H., Maeshima K., Shibahara K. I. The integrator complex is required for integrity of Cajal bodies // *J. Cell Sci.* 2012. Vol. 125. P. 166–175.
- Talbert P. B., Henikoff S. Histone variants on the move: substrates for chromatin dynamics // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017. Vol. 18. P. 115–126.
- Taliansky M., Roberts I. M., Kalinina N., Ryabov E. V., Raj S. K., Robinson D. J., Oparka K. J. An umbraviral protein, involved in long-distance RNA movement, binds viral RNA and forms unique, protective ribonucleoprotein complexes // *J. Virol.* 2003. Vol. 77. P. 3031–3040.
- Taliansky M. E., Love A. J., Kołowerzo-Lubnau A., Smoliński D. J. Cajal bodies: Evolutionarily conserved nuclear biomolecular condensates with properties unique to plants // *Plant Cell.* 2023. Vol. 35. P. 3214–3235.
- Tan E. M. Special antibodies for the study of systemic lupus erythematosus: an analysis // *Arthritis Rheum.* 1982. Vol. 25. P. 753–756.
- Tang J., Agrawal T., Cheng Q., Qu L., Brewer M. D., Chen J., Yang X. Phosphorylation of Daxx by ATM contributes to DNA damage-induced p53 activation // *PLoS One.* 2013. Vol. 8. Art. ID: e55813.
- Tang M., Li Y., Zhang Y., Chen Y., Huang W., Wang D., Zaug A. J., Liu D., Zhao Y., R Cech T., Ma W., Songyang Z. Disease mutant analysis identifies a new function of DAXX in telomerase regulation and telomere maintenance // *J. Cell Sci.* 2015a. Vol. 128. P. 331–341.
- Tang S.-Y., Wan Y.-P., Wu Y.-M. Death domain associated protein (Daxx), a multi-functional protein // *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2015b. Vol. 20. P. 788–97.
- Tapia O., Bengoechea R., Berciano M. T., Lafarga M. Nucleolar targeting of coilin is regulated by its hypomethylation state // *Chromosoma.* 2010. Vol. 119. P. 527–540.

- Tapia O., Bengoechea R., Palanca A., Arteaga R., Val-Bernal J. F., Tizzano E. F., Berciano M. T., Lafarga M. Reorganization of Cajal bodies and nucleolar targeting of coilin in motor neurons of type I spinal muscular atrophy // *Histochem. Cell Biol.* 2012. Vol. 137. P. 657–667.
- Tapia O., Lafarga V., Bengoechea R., Palanca A., Lafarga M., Berciano M. T. The SMN Tudor SIM-like domain is key to SmD1 and coilin interactions and to Cajal body biogenesis // *J. Cell Sci.* 2014. Vol. 127. P. 939–946.
- Tatomer D. C., Rizzardi L. F., Curry K. P., Witkowski A. M., Marzluff W. F., Duronio R. J. *Drosophila* Symplekin localizes dynamically to the histone locus body and tricellular junctions // *Nucleus.* 2014. Vol. 5. P. 613–625.
- Terns M. P., Terns R. M. Macromolecular complexes: SMN—the master assembler // *Curr. Biol.* 2001. Vol. 11. P. R862–R864.
- Tesařík J., Kopečný V., Plachot M., Mandelbaum J., Da Lage C., Fléchon J.-E. Nucleologenesis in the human embryo developing *in vitro*: ultrastructural and autoradiographic analysis // *Dev. Biol.* 1986. Vol. 115. P. 193–203.
- Thandapani P., O'Connor T. R., Bailey T. L., Richard S. Defining the RGG/RG motif // *Mol. Cell.* 2013. Vol. 50. P. 613–623.
- Theimer C. A., Feigon J. Structure and function of telomerase RNA // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2006. Vol. 16. P. 307–318.
- Theimer C. A., Jády B. E., Chim N., Richard P., Breece K. E., Kiss T., Feigon J. Structural and functional characterization of human telomerase RNA processing and Cajal body localization signals // *Mol. Cell.* 2007. Vol. 27. P. 869–881.
- Tholen J., Galej W. P. Structural studies of the spliceosome: Bridging the gaps // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2022. Vol. 77. Art. ID: 102461.
- Thompson B. K., Haggar R. A., Barr M. L. The accessory body of Cajal in nerve cell nuclei of the cat // *J. Comp. Neurol.* 1957. Vol. 108. P. 253–267.
- Tikhomirova M. A., Zharikova A. A., Musinova Y. R., Sheval E. V. Immunocytochemical detection of proteins within cellular structures inaccessible to specific antibodies // *Histochem. Cell Biol.* 2025. Vol. 163. Art. ID: 53.
- Tiziano F. D., Tizzano E. F. 25 years of the SMN genes: the Copernican revolution of spinal muscular atrophy // *Acta Myol.* 2020. Vol. 39. P. 336–344.
- Tolkunova E., Malashicheva A., Parfenov V. N., Sustmann C., Grosschedl R., Tomilin A. PIAS proteins as repressors of Oct4 function // *J. Mol. Biol.* 2007. Vol. 374. P. 1200–1212.
- Tomlinson R. L., Ziegler T. D., Supakorndej T., Terns R. M., Terns M. P. Cell cycle-regulated trafficking of human telomerase to telomeres // *Mol. Biol. Cell.* 2006. Vol. 17. P. 955–965.
- Tomlinson R. L., Abreu E. B., Ziegler T., Ly H., Counter C. M., Terns R. M., Terns M. P. Telomerase reverse transcriptase is required for the localization of telomerase RNA to Cajal bodies and telomeres in human cancer cells // *Mol. Biol. Cell.* 2008. Vol. 19. P. 3793–3800.
- Tomlinson R. L., Li J., Culp B. R., Terns R. M., Terns M. P. A Cajal body-independent pathway for telomerase trafficking in mice // *Exp. Cell Res.* 2010. Vol. 316. P. 2797–2809.
- Tortoriello G., Accardo M. C., Scialò F., Angrisani A., Turano M., Furia M. A novel *Drosophila* antisense scaRNA with a predicted guide function // *Gene.* 2009. Vol. 436. P. 56–65.
- Toyota C. G., Davis M. D., Cosman A. M., Hebert M. D. Coilin phosphorylation mediates interaction with SMN and SmB' // *Chromosoma.* 2010. Vol. 119. P. 205–215.
- Trinkle-Mulcahy L., Sleeman J. E. The Cajal body and the nucleolus: "In a relationship" or "It's complicated"? // *RNA Biol.* 2017. Vol. 14. P. 739–751.
- Trivedi R., Nagarajaram H. A. Intrinsically disordered proteins: an overview // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. Art. ID: 14050.
- Tsumoto K., Sakuta H., Takiguchi K., Yoshikawa K. Nonspecific characteristics of macromolecules create specific effects in living cells // *Biophys. Rev.* 2020. Vol. 12. P. 425–434.
- Tsvetkov A., Alexandrova O., Bogolyubov D., Gruzova M. Nuclear bodies from cricket and mealworm oocytes contain splicing factors of pre-mRNA // *Eur. J. Entomol.* 1997. Vol. 94. P. 393–407.

- Tucker K. E., Massello L. K., Gao L., Barber T. J., Hebert M. D., Chan E. K., Matera A. G. Structure and characterization of the murine p80 coilin gene, *Coil* // J. Struct. Biol. 2000. Vol. 129. P. 269–277.
- Tucker K. E., Berciano M. T., Jacobs E. Y., LePage D. F., Shpargel K. B., Rossire J. J., Chan E. K., Lafarga M., Conlon R. A., Matera A. G. Residual Cajal bodies in coilin knockout mice fail to recruit Sm snRNPs and SMN, the spinal muscular atrophy gene product // J. Cell Biol. 2001. Vol. 154. P. 293–307.
- Tucker S. K., McLaurin D. M., Hebert M. D. Cajal body formation is regulated by coilin SUMOylation // J. Cell Sci. 2024. Vol. 137. Art. ID: jcs263447.
- Tucker S. K., Seale B. C., Brown D. T., Hebert M. D. Coilin and SUMOylation influence PARP1 dynamics and the DNA damage response // J. Cell Sci. 2025. Vol. 138. Art. ID: jcs263953.
- Tuma R., Stolk J. A., Roth M. B. Identification and characterization of a sphere organelle protein // J. Cell Biol. 1993. Vol. 122. P. 767–773.
- Turner K. J., Vasu V., Griffin D. K. Telomere biology and human phenotype // Cells. 2019. Vol. 8. Art. ID: 73.
- Turoverov K. K., Kuznetsova I. M., Fonin A. V., Darling A. L., Zaslavsky B. Y., Uversky V. N. Stochasticity of biological soft matter: emerging concepts in intrinsically disordered proteins and biological phase separation // Trends Biochem. Sci. 2019. Vol. 44. P. 716–728.
- Tycowski K. T., Shu M.-D., Steitz J. A. A mammalian gene with introns instead of exons generating stable RNA products // Nature. 1996. Vol. 379. P. 464–466.
- Tycowski K. T., You Z. H., Graham P. J., Steitz J. A. Modification of U6 spliceosomal RNA is guided by other small RNAs // Mol. Cell. 1998. Vol. 2. P. 629–638.
- Tycowski K. T., Aab A., Steitz J. A. Guide RNAs with 5' caps and novel box C/D snoRNA-like domains for modification of snRNAs in Metazoa // Curr. Biol. 2004. Vol. 14. P. 1985–1995.
- Tycowski K. T., Shu M.-D., Kukoyi A., Steitz J. A. A conserved WD40 protein binds the Cajal body localization signal of scaRNP particles // Mol. Cell. 2009. Vol. 34. P. 47–57.
- Underwood J. M., Becker K. A., Stein G. S., Nickerson J. A. The ultrastructural signature of human embryonic stem cells // J. Cell. Biochem. 2017. Vol. 118. P. 764–774.
- Uversky V. N. Intrinsically disordered proteins in overcrowded milieu: Membrane-less organelles, phase separation, and intrinsic disorder // Curr. Opin. Struct. Biol. 2017. Vol. 44. P. 18–30.
- Venteicher A. S., Artandi S. E. TCAB1: driving telomerase to Cajal bodies // Cell Cycle. 2009. Vol. 8. P. 1329–1331.
- Venteicher A. S., Abreu E. B., Meng Z., McCann K. E., Terns R. M., Veenstra T. D., Terns M. P., Artandi S. E. A human telomerase holoenzyme protein required for Cajal body localization and telomere synthesis // Science. 2009. Vol. 323. P. 644–648.
- Verheggen C., Bertrand E. CRM1 plays a nuclear role in transporting snoRNPs to nucleoli in higher eukaryotes // Nucleus. 2012. Vol. 3. P. 132–137.
- Verheggen C., Mouaikel J., Thiry M., Blanchard J. M., Tollervey D., Bordonné R., Lafontaine D. L., Bertrand E. Box C/D small nucleolar RNA trafficking involves small nucleolar RNP proteins, nucleolar factors and a novel nuclear domain // EMBO J. 2001. Vol. 20. P. 5480–5490.
- Verheggen C., Lafontaine D. L. J., Samarsky D., Mouaikel J., Blanchard J. M., Bordonné R., Bertrand E. Mammalian and yeast U3 snoRNPs are matured in specific and related nuclear compartments // EMBO J. 2002. Vol. 21. P. 2736–2745.
- Villegas J. A., Heidenreich M., Levy E. D. Molecular and environmental determinants of biomolecular condensate formation // Nat. Chem. Biol. 2022. Vol. 18. P. 1319–1329.
- Vitali P., Kiss T. Cooperative 2'-O-methylation of the wobble cytidine of human elongator tRNA^{Met}(CAT) by a nucleolar and a Cajal body-specific box C/D RNP // Genes Dev. 2019. Vol. 33. P. 741–746.
- Vogan J. M., Collins K. Dynamics of human telomerase holoenzyme assembly and subunit exchange across the cell cycle // J. Biol. Chem. 2015. Vol. 290. P. 21320–21335.

- Vogan J. M., Zhang X., Youmans D. T., Regalado S. G., Johnson J. Z., Hockemeyer D., Collins K. Minimized human telomerase maintains telomeres and resolves endogenous roles of H/ACA proteins, TCAB1, and Cajal bodies // *eLife*. 2016. Vol. 5. Art. ID: e18221.
- Voinnet O. Use, tolerance and avoidance of amplified RNA silencing by plants // *Trends Plant Sci*. 2008. Vol. 13. P. 317–328.
- Wagner E. J., Marzluff W. F. ZFP100, a component of the active U7 snRNP limiting for histone pre-mRNA processing, is required for entry into S phase // *Mol. Cell Biol*. 2006. Vol. 26. P. 6702–6712.
- Wagner E., Clement S. L., Lykke-Andersen J. An unconventional human Ccr4–Caf1 deadenylase complex in nuclear Cajal bodies // *Mol. Cell Biol*. 2007. Vol. 27. P. 1686–1695.
- Walker M. P., Tian L., Matera A. G. Reduced viability, fertility and fecundity in mice lacking the Cajal body marker protein, coilin // *PLoS One*. 2009. Vol. 4. Art. ID: e6171.
- Wang C., Query C. C., Meier U. T. Immunopurified small nucleolar ribonucleoprotein particles pseudouridylate rRNA independently of their association with phosphorylated Nopp140 // *Mol. Cell Biol*. 2002. Vol. 22. P. 8457–8466.
- Wang L., Yang W., Li B., Yuan S., Wang F. Response to stress in biological disorders: Implications of stress granule assembly and function // *Cell Prolif*. 2021. Vol. 54. Art. ID: e13086.
- Wang Q., Sawyer I. A., Sung M.-H., Sturgill D., Shevtsov S. P., Pegoraro G., Hakim O., Baek S., Hager G. L., Dundr M. Cajal bodies are linked to genome conformation // *Nat. Commun*. 2016. Vol. 7. Art. ID: 10966.
- Wang Y., Feigon J. Structural biology of telomerase and its interaction at telomeres // *Curr. Opin. Struct. Biol*. 2017. Vol. 47. P. 77–87.
- Wang Y., Wang H. CCT6A regulates cervical cancer cell glycolysis and proliferation under hypoxic conditions via the telomerase Cajal body protein 1/telomerase reverse tranase // *Gynecol. Obstet. Invest*. 2025. Vol. 90. P. 30–41.
- Watkins N., Lemm I., Ingelfinger D., Schneider C., Hossbach M., Urlaub H., Lührmann R. Assembly and maturation of the U3 snoRNP in the nucleoplasm in a large dynamic multi-protein complex // *Mol. Cell*. 2004. Vol. 16. P. 789–798.
- Webster S. F., Ghalei H. Maturation of small nucleolar RNAs: from production to function // *RNA Biol*. 2023. Vol. 20. P. 715–736.
- Wei Y., Jin J., Harper J. W. The cyclin E/Cdk2 substrate and Cajal body component p220(NPAT) activates histone transcription through a novel LisH-like domain // *Mol. Cell Biol*. 2003. Vol. 23. P. 3669–3680.
- Wei M.-T., Elbaum-Garfinkle S., Holehouse A. S., Chen C. C.-H.; Feric M., Arnold C. B., Priestley R. D., Pappu R. V., Brangwynne C. P. Phase behaviour of disordered proteins underlying low density and high permeability of liquid organelles // *Nat. Chem*. 2017. Vol. 9. P. 1118–1125.
- Weinrich S. L., Pruzan R., Ma L., Ouellette M., Tesmer V. M., Holt S. E., Bodnar A. G., Lichtsteiner S., Kim N. W., Trager J. B., Taylor R. D., Carlos R., Andrews W. H., Wright W. E., Shay J. W., Harley C. B., Morin G. B. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit hTERT // *Nat. Genet*. 1997. Vol. 17. P. 498–502.
- Wheeler R. J., Hyman A. A. Controlling compartmentalization by non-membrane-bound organelles // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*. 2018. Vol. 373. Art. ID: 20170193.
- White A. E., Leslie M. E., Calvi B. R., Marzluff W. F., Duronio R. J. Developmental and cell cycle regulation of the *Drosophila* histone locus body // *Mol. Biol. Cell*. 2007. Vol. 18. P. 2491–2502.
- White A. E., Burch B. D., Yang X.-C., Gasdaska P. Y., Dominski Z., Marzluff W. F., Duronio R. J. *Drosophila* histone locus bodies form by hierarchical recruitment of components // *J. Cell Biol*. 2011. Vol. 193. P. 677–694.
- White L., Erbay B., Blair G. E. The Cajal body protein p80-coilin forms a complex with the adenovirus L4–22K protein and facilitates the nuclear export of adenovirus mRNA // *mBio*. 2023. Vol. 14. Art. ID: e0145923.

- Whitehead S. E., Jones K. W., Zhang X., Cheng X., Terns R. M., Terns M. P. Determinants of the interaction of the spinal muscular atrophy disease protein SMN with the dimethylarginine-modified box H/ACA small nucleolar ribonucleoprotein GAR1 // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 48087–48093.
- Wierzbicki A. T., Ream T. S., Haag J. R., Pikaard C. S. RNA polymerase V transcription guides ARGONAUTE4 to chromatin // *Nat. Genet.* 2009. Vol. 41. P. 630–634.
- Will C. L., Lührmann R. Spliceosome structure and function // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011. Vol. 3. Art. ID: a003707.
- Will C. L., Urlaub H., Achsel T., Gentzel M., Wilm M., Lührmann R. Characterization of novel SF3b and 17S U2 snRNP proteins, including a human Prp5p homologue and an SF3b DEAD-box protein // *EMBO J.* 2002. Vol. 21. P. 4978–4988.
- Wolin S. L., Cedervall T. The La protein // *Annu. Rev. Biochem.* 2002. Vol. 71. P. 375–403.
- Wong J. M. Y., Kusdra L., Collins K. Subnuclear shuttling of human telomerase induced by trans-formation and DNA damage // *Nat. Cell Biol.* 2002. Vol. 4. P. 731–736.
- Wu C.-H., Gall J. G. U7 small nuclear RNA in C snurposomes of the *Xenopus* germinal vesicle // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1993. Vol. 90. P. 6257–6259.
- Wu C.-Y., Curtis A., Choi Y. S., Maeda M., Xu M. J., Berg A., Joneja U., Mason R. W., Lee K. H., Wang W. Identification of the phosphorylation sites in the survival motor neuron protein by protein kinase A // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. Vol. 1814. P. 1134–1139.
- Wu L., Fidan K., Um J.-Y., Ahn K. S. Telomerase: Key regulator of inflammation and cancer // *Pharmacol. Res.* 2020. Vol. 155. Art. ID: 104726.
- Wu Z., Murphy C., Callan H. G., Gall J. G. Small nuclear ribonucleoproteins and heterogeneous nuclear ribonucleoproteins in the amphibian germinal vesicle: loops, spheres and snurposomes // *J. Cell Biol.* 1991. Vol. 113. P. 465–483.
- Wu Z., Murphy C., Wu C.-H. H., Tsvetkov A., Gall J. G. Snurposomes and coiled bodies // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1994. Vol. 58. P. 747–754.
- Wu Z., Jiang Q., Clarke P. R., Zhang C. Phosphorylation of Crm1 by CDK1-cyclin-B promotes Ran-dependent mitotic spindle assembly // *J. Cell. Sci.* 2013. Vol. 126. P. 3417–3428.
- Wurth L., Gribbling-Burrer A.-S., Verheggen C., Leichter M., Takeuchi A., Baudrey S., Martin F., Krol A., Bertrand E., Allmang C. Hypermethylated-capped selenoprotein mRNAs in mammals // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. P. 8663–8677.
- Xi L., Cech T. R. Inventory of telomerase components in human cells reveals multiple subpopulations of hTR and hTERT // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. P. 8565–8577.
- Xi L., Schmidt J. C., Zaug A. J., Ascarrunz D. R., Cech T. R. A novel two-step genome editing strategy with CRISPR-Cas9 provides new insights into telomerase action and TERT gene expression // *Genome Biol.* 2015. Vol. 16. Art. ID: 231.
- Xie R. L., Liu L., Mitra P., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. Transcriptional activation of the histone nuclear factor P (HiNF-P) gene by HiNF-P and its cyclin E/CDK2 responsive co-factor p220^{NPAT} defines a novel autoregulatory loop at the G1/S phase transition // *Gene.* 2007. Vol. 402. P. 94–102.
- Xie R., Medina R., Zhang Y., Hussain S., Colby J., Ghule P., Sundararajan S., Keeler M., Liu L.-J., van der Deen M., Mitra P., Lian J. B., Rivera-Perez J. A., Jones S. N., Stein J. L., van Wijnen A. J., Stein G. S. The histone gene activator HINFP is a nonredundant cyclin E/CDK2 effector during early embryonic cell cycles // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2009. Vol. 106. P. 12359–12364.
- Xin H., Liu D., Wan M., Safari A., Kim H., Sun W., O'Connor M. S., Songyang Z. TPP1 is a homologue of ciliate TEBP- β and interacts with POT1 to recruit telomerase // *Nature.* 2007. Vol. 445. P. 559–562.
- Xu H., Hebert M. D. A novel EB-1/AIDA-1 isoform, AIDA-1c, interacts with the Cajal body protein coilin // *BMC Cell Biol.* 2005. Vol. 6. Art. ID: 23.

- Xu H., Pillai R. S., Azzouz T. N., Shpargel K. B., Kambach C., Hebert M. D., Schümperli D., Matera A. G. The C-terminal domain of coilin interacts with Sm proteins and U snRNPs // *Chromosoma*. 2005. Vol. 114. P. 155–166.
- Xue Y., Gibbons R., Yan Z., Yang D., McDowell T. L., Sechi S., Qin J., Zhou S., Higgs D., Wang W. The ATRX syndrome protein forms a chromatin-remodeling complex with Daxx and localizes in promyelocytic leukemia nuclear bodies // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2003. Vol. 100. P. 10635–10640.
- Xue Z., Huang K., Cai C., Cai L., Jiang C.-Y., Feng Y., Liu Z., Zeng Q., Cheng L., Sun Y. E., Liu J.-Y., Horvath S., Fan G. Genetic programs in human and mouse early embryos revealed by single-cell RNA sequencing // *Nature*. 2013. Vol. 500. P. 593–597.
- Yan Y., Yuan X., Xue C., He Y. Human coilin interacting nuclear ATPase protein in cancer: uncovering new insights into pathogenesis and therapy // *Am. J. Transl. Res*. 2020. Vol. 12. P. 4051–4058.
- Yan S., Lin S., Qiu H., Wang X., He Y., Wang C., Huang Y. Regulation of telomerase towards tumor therapy // *Cell Biosci*. 2023. Vol. 13. Art. ID: 228.
- Yang X.-C., Burch B. D., Yan Y., Marzluff W. F., Dominski Z. FLASH, a proapoptotic protein involved in activation of caspase-8, is essential for 3' end processing of histone pre-mRNAs // *Mol. Cell*. 2009. Vol. 36. P. 267–278.
- Yang X.-C., Sabath I., Dębski J., Kaus-Drobek M., Dadlez M., Marzluff W. F., Dominski Z. A complex containing the CPSF73 endonuclease and other polyadenylation factors associates with U7 snRNP and is recruited to histone pre-mRNA for 3'-end processing // *Mol. Cell Biol*. 2013. Vol. 33. Vol. 28–37.
- Yang X.-C., Sabath I., Kunduru L., van Wijnen A. J., Marzluff W. F., Dominski Z. A conserved interaction that is essential for the biogenesis of histone locus bodies // *J. Biol. Chem*. 2014. Vol. 289. P. 33767–33782.
- Yang Y., Isaac C., Wang C., Dragon F., Pogacic V., Meier U. T. Conserved composition of mammalian box H/ACA and box C/D small nucleolar ribonucleoprotein particles and their interaction with the common factor Nopp140 // *Mol. Biol. Cell*. 2000. Vol. 11. P. 567–577.
- Yang Y., Chen Y., Zhang C., Huang H., Weissman S. M. Nucleolar localization of hTERT protein is associated with telomerase function // *Exp. Cell Res*. 2002. Vol. 277. P. 201–209.
- Yao Y., Tan H. W., Liang Z.-L., Wu G.-Q., Xu Y.-M., Lau A. T. Y. The impact of coilin non-synonymous SNP variants E121K and V145I on cell growth and Cajal body formation: the first characterization // *Genes (Basel)*. 2020. Vol. 11. Art. ID: 895.
- Yashiro Y., Tomita K. Function and regulation of human terminal uridylyltransferases // *Front. Genet*. 2018. Vol. 9. Art. ID: 538.
- Ye X., Wei Y., Nalepa G., Harper J. W. The cyclin E/Cdk2 substrate p220(NPAT) is required for S-phase entry, histone gene expression, and Cajal body maintenance in human somatic cells // *Mol. Cell Biol*. 2003. Vol. 23. P. 8586–8600.
- Yeo G., Holste D., Kreiman G., Burge C. B. Variation in alternative splicing across human tissues // *Genome Biol*. 2004. Vol. 5. Art. ID: R74.
- Yin Q.-F., Yang L., Zhang Y., Xiang J.-F., Wu Y.-W., Carmichael G. G., Chen L.-L. Long non-coding RNAs with snoRNA ends // *Mol. Cell*. 2012. Vol. 48. P. 219–230.
- Yong J., Kasim M., Bachorik J. L., Wan L., Dreyfuss, G. Gemin5 delivers snRNA precursors to the SMN complex for snRNP biogenesis // *Mol. Cell*. 2010. Vol. 38. P. 551–562.
- Yong J., Wan L., Dreyfuss G. Why do cells need an assembly machine for RNA–protein complexes? // *Trends Cell Biol*. 2004. V. 14. P. 226–232.
- Yoshimoto R., Kataoka N., Okawa K., Ohno M. Isolation and characterization of post-splicing lariat-intron complexes // *Nucleic Acids Res*. 2009. Vol. 37. P. 891–902.
- Yoshizawa T., Nozawa R.-S., Jia T. Z., Saio T., Mori E. Biological phase separation: cell biology meets biophysics // *Biophys Rev*. 2020. Vol. 12. P. 519–539.

- Young P. J., Le T. T., thi Man N., Burghes A. H., Morris G. E. The relationship between SMN, the spinal muscular atrophy protein, and nuclear coiled bodies in differentiated tissues and cultured cells // *Exp. Cell Res.* 2000. Vol. 256. P. 365–374.
- Young P. J., Le T. T., Dunckley M., Nguyen T. M., Burghes A. H., Morris G. E. Nuclear gems and Cajal (coiled) bodies in fetal tissues: nucleolar distribution of the spinal muscular atrophy protein, SMN // *Exp. Cell Res.* 2001. Vol. 265. P. 252–261.
- Young P. J., Day P. M., Zhou J., Androphy E. J., Morris G. E., Lorson C. L. A direct interaction between the survival motor neuron protein and p53 and its relationship to spinal muscular atrophy // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 2852–2859.
- Yu Y.-T., Shu M.-D., Narayanan A., Terns R. M., Terns M. P., Steitz J. A. Internal modification of U2 small nuclear (snRNA) occurs in nucleoli of *Xenopus* oocytes // *J. Cell Biol.* 2001. Vol. 152. P. 1279–1288.
- Yuan X., Xu D. Telomerase reverse transcriptase (TERT) in action: cross-talking with epigenetics // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20. Art. ID: 3338.
- Yuan G., Klämbt C., Bachelier J.-P., Brosius J., Hüttenhofer A. RNomics in *Drosophila melanogaster*: identification of 66 candidates for novel non-messenger RNAs // *Nucleic Acids Res.* 2003. Vol. 31. P. 2495–2507.
- Zadrobílková E., Walker G., Čepička I. Morphological and molecular evidence support a close relationship between the free-living archamoebae *Mastigella* and *Pelomyxa* // *Protist.* 2015. Vol. 166. P. 14–41.
- Zannini L., Buscemi G., Fontanella E., Lisanti S., Delia D. REGγ/PA28γ proteasome activator interacts with PML and Chk2 and affects PML nuclear bodies number // *Cell Cycle.* 2009. Vol. 8. P. 2399–2407.
- Zaslavsky B. Y., Ferreira L. A., Darling A. L., Uversky V. N. The solvent side of proteinaceous membrane-less organelles in light of aqueous two-phase systems // *Int. J. Biol. Macromol.* 2018. Vol. 117. P. 1224–1251.
- Zatsepina O. V., Bouniol-Baly C., Amirand C., Debey P. Functional and molecular reorganization of the nucleolar apparatus in maturing mouse oocytes // *Dev. Biol.* 2000. Vol. 223. P. 354–370.
- Zatsepina O., Baly C., Chebrout M., Debey P. The step-wise assembly of a functional nucleolus in preimplantation mouse embryos involves the Cajal (coiled) body // *Dev. Biol.* 2003. Vol. 253. P. 66–83.
- Żelazowska M., Jaglarz M. K. Oogenesis in phthirapterans (Insecta: Phthiraptera). I. Morphological and histochemical characterization of the oocyte nucleus and its inclusions // *Arthr. Struct. Dev.* 2004. Vol. 33. P. 161–172.
- Zhang J., Zhang F., Zheng X. Depletion of hCINAP by RNA interference causes defects in Cajal body formation, histone transcription, and cell viability // *Cell. Mol. Life Sci.* 2010. Vol. 67. P. 1907–1918.
- Zhang J., Bai D., Ma X., Guan J., Zheng X. hCINAP is a novel regulator of ribosomal protein–HDM2–p53 pathway by controlling NEDDylation of ribosomal protein S14 // *Oncogene.* 2014. Vol. 33. P. 246–254.
- Zhang J.-M., Genois M. M., Ouyang J., Lan L., Zou L. Alternative lengthening of telomeres is a self-perpetuating process in ALT-associated PML bodies // *Mol. Cell.* 2021. Vol. 81. P. 1027–1042. e4.
- Zhang R., So B. R., Li P., Yong J., Glisovic T., Wan L., Dreyfuss G. Structure of a key intermediate of the SMN complex reveals Gemin2’s crucial function in snRNP assembly // *Cell.* 2011. Vol. 146. P. 384–395.
- Zhao D. Y., Gish G., Braunschweig U., Li Y., Ni Z., Schmitges F. W., Zhong G., Liu K., Li W., Moffat J., Vedadi M., Min J., Pawson T. J., Blencowe B. J., Greenblatt J. F. SMN and symmetric arginine dimethylation of RNA polymerase II C-terminal domain control termination // *Nature.* 2016. Vol. 529. P. 48–53.

- Zhao J., Dynlacht B., Imai T., Hori T., Harlow E. Expression of NPAT, a novel substrate of cyclin E-Cdk2, promotes S phase entry // *Genes Dev.* 1998. Vol. 12. P. 456–461.
- Zhao J., Kennedy B., Lawrence B., Barbie D., Matera A., Fletcher J., Harlow E. NPAT links cyclin E-Cdk2 to the regulation of replication-dependent histone gene transcription // *Genes Dev.* 2000. Vol. 14. P. 2283–2297.
- Zhao X., Li Z.-H., Terns R. M., Terns M. P., Yu Y.-T. An H/ACA guide RNA directs U2 pseudouridylation at two different sites in the branchpoint recognition region in *Xenopus* oocytes // *RNA*. 2002. Vol. 8. P. 1515–1525.
- Zhao Y., Sfeir A. J., Zou Y., Buseman C. M., Chow T. T., Shay J. W., Wright W. E. Telomere extension occurs at most chromosome ends and is uncoupled from fill-in in human cancer cells // *Cell*. 2009. Vol. 138. P. 463–475.
- Zheng L. L., Wang F. Y., Cong X. X., Shen Y., Rao X. S., Huang D. S., Fan W., Yi P., Wang X. B., Zheng L., Zhou Y. T., Luo Y. Interaction of heat shock protein Cpn10 with the cyclin E/Cdk2 substrate nuclear protein ataxia-telangiectasia (NPAT) is involved in regulating histone transcription // *J. Biol. Chem.* 2015. Vol. 290. P. 29290–29300.
- Zhong F. L., Batista L. F. Z., Freund A., Pech M. F., Venteicher A. S., Artandi S. E. TPP1 OB-fold domain controls telomere maintenance by recruiting telomerase to chromosome ends // *Cell*. 2012. Vol. 150. P. 481–494.
- Zhou H.-X., Rivas G., Minton A. P. Macromolecular crowding and confinement: biochemical, biophysical, and potential physiological consequences // *Annu. Rev. Biophys.* 2008. Vol. 37. P. 375–397.
- Zhou H.-X., Nguemaha V., Mazarakos K., Qin S. Why do disordered and structured proteins behave differently in phase separation? // *Trends Biochem. Sci.* 2018. Vol. 43. P. 499–516.
- Zhou H.-X., Kota D., Qin S., Prasad R. Fundamental aspects of phase-separated biomolecular condensates // *Chem. Rev.* 2024. Vol. 124. P. 8550–8595.
- Zhu L., Brangwynne C. P. Nuclear bodies: the emerging biophysics of nucleoplasmic phases // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2015. Vol. 34. P. 23–30.
- Zhu Y., Tomlinson R. L., Lukowiak A. A., Terns R. M., Terns M. P. Telomerase RNA accumulates in Cajal bodies in human cancer cells // *Mol. Biol. Cell*. 2004. Vol. 15. P. 81–90.

ГЛОССАРИЙ

Безмембранная органелла (*membrane-less organelle*) — биомолекулярный конденсат полимерных биомолекул, имеющий размер 0.1–0.2 мкм и более; они возникают в условиях макромолекулярного краудинга в результате жидкофазного разделения внутренне неупорядоченных белков.

Белковое тело (центромерное белковое тело) — специфическая ядерная органелла ооцитов птиц, ассоциированная с центромерными районами хромосом-ламповых щеток.

Внутреннее тело — см. **Binnenkörper**.

Геминны — ключевые белки SMN-комплексов, компоненты ядерных органелл, называемых близнецами ТК — **gems** (см.).

Гломерулосома — ядерное тельце со специфической ультраструктурой, на срезах напоминающей перерезанный многожильный кабель, но неизвестными пока функциями и молекулярным составом.

Дискерин — псевдоуридинсинтаза, компонент малых ядрышковых (*sno/sca*) РНП класса H/ACA; является одновременно белком ядрышка и телец Кахаля.

Зародышевый пузырек (*germinal vesicle, vesicula germinativa*) — то же, что ядро ооцита на стадии диплотены мейоза.

Интегратор (*Integrator complex, INT*) — обеспечивает нуклеолитическое расщепление 3'-конца первичных транскриптов малых ядерных РНК; субъединицы комплекса Интегратор (*INTS4, INTS9 и INTS11*) являются одними из ключевых компонентов телец Кахаля, поддерживающих структурную целостность телец Кахаля, а также телец гистоновых локусов.

Интерхроматиновые гранулы — см. *кластер интерхроматиновых гранул*.

Капсула кариосферы — особый экстрахромосомный ядерный компартмент диплотенных ооцитов некоторых животных; если формируется, является неотъемлемой частью **кариосферы** (см.). Имеет сложное строение, состоит из разнообразных фибриллярных структур, таких как производные центральных элементов синаптонемных комплексов и др. Маркерным компонентом служит фибриллярный актин (F-актин), который аккумулируется в значительных количествах и выявляется с помощью фаллоидина. С капсулой кариосферы могут быть ассоциированы ядерные органеллы, включая ядрышки, **спеклы** (см.), тельца Кахаля или их аналоги в ядре ооцита. Биологическое значение неизвестно.

Кариосома — частный случай **кариосферы** (см.), при котором мейотические хромосомы (биваленты) образуют простой компактный клубок, не ассоциированный с **капсулой кариосферы** (см.).

Кариосфера — мейоз-специфическая структура, образованная конденсированными хромосомами, собранными в локальной области крупно-

го ядра гаметocyта (чаще оocyта). Формируется на стадии диплотены профазы мейоза, что служит морфологическим отражением транскрипционной инактивации или, по крайней мере, значительного ее снижения. Если в оогенезе существует стадия ламповых щеток, образуется после этой стадии. У человека сохраняется продолжительное время после разборки оболочки ядра оocyта во время первого мейотического деления. По-видимому, обеспечивает правильное расхождение гомологичных хромосом в мейозе.

Кластер интерхроматиновых гранул (interchromatin granule cluster) — то же, что **спекл** (см.) в терминах электронной микроскопии. В типичном случае состоит из гранул размером 25–30 нм.

Коилин — фосфопротеин, структурный белок **телец Кахаля** (см.); также присутствует в составе **телец гистоновых локусов** (см.) и **телец-жемчужин** (см.).

Малые РНК, специфические для телец Кахаля (small Cajal body-specific RNAs, scaRNAs), — разновидность **малых ядрышковых РНК** (см.), имеющих локализацию преимущественно в тельцах Кахаля.

Малые ядерные РНК (small nuclear RNAs) — малые некодирующие РНК, обеспечивающие сплайсинг пре-мРНК, и U7 малая ядерная РНК, обеспечивающая специфический процессинг 3'-конца пре-мРНК гистонов.

Малые ядрышковые РНК (small nucleolar RNAs, snoRNAs) — малые некодирующие РНК-гиды, обеспечивающие 2'-O-метилирование и/или псевдоуридинилирование других РНК.

Немембранная органелла — то же, что **безмембранная органелла** (см.).

Симплекин — термочувствительный белок, регулятор специфического процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов, служит платформой, объединяющей его молекулярные факторы в единый комплекс. В S-фазе клеточного цикла входит в состав телец гистоновых локусов.

Снёрпосома (snurposome) — любая ядерная органелла, содержащая малые ядерные РНП. Термин имеет исключительно историческое значение. В оocyтах амфибий В-снёрпосомами (B-snurposomes) раньше называли ядерные **спеклы**, или **кластеры интерхроматиновых гранул** (см.).

Спекл (nuclear speckle) — ядерная органелла, аккумулирующая факторы сплайсинга пре-мРНК, прежде всего SR-белки. На ультраструктурном уровне соответствует кластеру интерхроматиновых гранул. Термин обычно используют по отношению к результатам флуоресцентной микроскопии.

Сплайсосома — РНП-комплекс, катализирующий сплайсинг пре-мРНК.

Сфера (сферическая органелла) — исторический термин для обозначения телец гистоновых локусов в оocyтах амфибий. Обычно физически связаны с одним или несколькими **спеклами** (см.).

Теломераза — РНП-комплекс, отвечающий за длину теломер; содержит **теломеразную РНК** (см.) и **TERT** (см.); компоненты теломеразы концентрируются в тельцах Кахаля.

Теломеразная РНК (telomerase RNA component, TR/TERC) — один из ключевых РНК-компонентов телец Кахаля, особая scaРНК (SCARNA19), служит «шаблоном» (template) для синтеза теломерных повторов ДНК с помощью **TERT** (см.).

Тельца - близнецы [телец Кахаля] — см. **gems**.

Тельца - жемчужины (pearls) — специфические коилинсодержащие ядерные органеллы ооцитов *Xenopus*, связанные с участками расположения генов, транскрибируемых РНК-полимеразой III.

Тельце гистоновых локусов (histone locus body) — ядерная органелла, связанная со специфическим процессингом 3'-конца пре-мРНК гистонов. Маркерными компонентами служат: U7 малый ядерный РНП, белки **FLASH** (см.) и **NPAT** (см.).

Тельце Кахаля (Cajal body) — ядерная органелла, связанная с пост-транскрипционным процессингом малых ядерных РНК сплайсинга, сборкой и рециклированием малых ядерных РНП-субъединиц **сплайсосом** (см.).

Фибрилларин — 2'-O-метилтрансфераза, компонент малых ядрышковых (sno/sca) РНП класса C/D; является одновременно белком ядрышка и телец Кахаля.

Ядерная органелла — безмембранная органелла (см.), находящаяся в клеточном ядре.

Ядерное тельце (nuclear body) — то же, что и **ядерная органелла** (см.).

Vinnköpfer (внутреннее тело, endobody) — специфическая, обычно одиночная, крупная коилинсодержащая ядерная органелла правильной сферической формы, присутствующая в ооцитах некоторых насекомых. Соответствует тельцам Кахаля и/или тельцам гистоновых локусов.

C/D — класс малых ядрышковых (sno/sca) РНК, содержащих домены (боксы) C (RUGAUGA) и D (CUGA), которые обеспечивают метилирование нуклеотидов в молекулах РНК-субстратов.

CAB (CAB box) — специфический домен ugAG в молекулах специфических для телец Кахаля малых РНК (scaRNA) класса H/ACA; служит одним из факторов локализации этих РНК в тельцах Кахаля.

CINAP (coilin-interacting nuclear ATPase protein) — аденилаткиназа (у человека hAK6), оказывающая влияние на формирование телец Кахаля, их количество и локализацию главных молекулярных компонентов телец Кахаля и телец гистоновых локусов.

Cleavage body (тельце расщепления) — исторический термин для ядерных телец, содержащих факторы расщепления (cleavage factors — например, CstF64 и CPSF100) пре-мРНК гистонов, необходимые в ходе специфического процессинга этих пре-мРНК. По-видимому, с современной точки зрения эти тельца соответствуют **тельцам гистоновых локусов** (см.).

Coiled body — историческое название тельца Кахаля.

Coiled threads — перекрученные тяжи толщиной 40–60 нм, базовый морфологический (ультраструктурный) элемент типичных телец Кахаля.

Core-shell configuration — сложная структура безмембранных органелл по типу «сердцевина—оболочка», которая возникает за счет вторичного разделения полимерных биомолекул на фазы.

CTD — С-концевой домен большой субъединицы РНК-полимеразы II.

EAF1 (ELL-associated factor 1) — один из компонентов телец Кахаля; белок, взаимодействующий с ELL (см.).

ELL (Elongation factor for RNA polymerase II) — фактор элонгации первичных транскриптов, в том числе, малых ядерных РНК; входит в состав телец Кахала и, по современным представлениям, является их надежным молекулярным маркером.

Endobody — внутреннее тело, см. **Binnenkörper**.

FLASH (FLICE-associated huge protein) — фактор специфического процессинга 3'-конца пре-мРНК гистонов; образует стабильные комплексы с U7 малым ядерным РНП. Является резидентным структурным белком телец гистоновых локусов и одним из ключевых (молекулярно-диагностических) их маркеров.

Gems (близнецы телец Кахаля) — ядерные органеллы, которые содержат SMN и присутствуют отдельно от телец Кахаля; если такие тельца (gems) в ядре отсутствуют, SMN локализуется в самих тельцах Кахаля.

Gemins — белки, входящие в состав ядерных органелл — близнецов телец Кахаля (**gems**, см.), ключевые белки SMN-комплексов

H/ACA — класс малых ядрышковых (sno/sca) РНК, содержащих домены (боксы) H (ANANNA) и ACA, которые обеспечивают псевдоуридинирование нуклеотидов в молекулах РНК-субстратов.

HSC (histone pre-mRNA cleavage complex) — молекулярный комплекс, содержащий эндонуклеазу CPSF73 и осуществляющий специфическое расщепление (cleavage) молекулы пре-мРНК гистонов.

HERDS (heterogeneous ectopic RNP-derived structures) — разнородные РНП-содержащие ядерные органеллы, возникающие в результате инактивации транскрипции, например, в условиях экспериментального подавления транскрипции ингибиторами, при спонтанном и индуцированном апоптозе, в ходе эритропоэза, сперматогенеза, раннего эмбрионального развития и особенно — в клетках млекопитающих, находящихся в условиях гибернации (спячки). Содержат молекулярные компоненты разных ядерных органелл, в том числе маркерные компоненты телец Кахаля.

HIST — локус генов, кодирующих гистоны.

ICE1 (Interactor of Little Elongation Complex ELL subunit 1) — фактор инициации транскрипции генов, кодирующих малые ядерные РНК; служит структурной основой **LEC** (см.); компонент телец Кахаля.

INTS — субъединицы комплекса **Интегратор** (см.).

LEC (little elongation complex) — малый элонгирующий комплекс, участвующий в транскрипции генов малых ядерных РНК; компоненты LEC входят в состав телец Кахаля.

M E D 2 6 (Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 26) — фактор элонгации транскриптов малых ядерных РНК, рекрутирующий **LEC** (см.); компонент телец Кахаля.

M u t e (muscle wasted) — ортолог **YARP** (см.) позвоночных у дрозофилы, компонент телец гистоновых локусов.

M x c (multi sex combs) — ортолог **NPAT** (см.) позвоночных у дрозофилы, ключевой компонент (один из диагностических маркеров) телец гистоновых локусов.

N E L F (negative elongation factor) — транскрипционный фактор, участвующий в синтезе пре-мРНК гистонов и специфическом процессинге их 3'-конца; напрямую взаимодействует с **SLBP** (см.). Концентрируется в участках расположения генов гистонов и, по-видимому, входит в состав телец гистоновых локусов.

N O L C 1 (nucleolar and Cajal body phosphoprotein 1) — шаперон малых ядрышковых (sno/sca) РНП; присутствует в тельцах Кахаля и в ядрышках.

N O P P 1 4 0 — ядрышковый фосфопротеин, синоним **NOLC1** (см.).

N P A T (nuclear protein at the ataxia-telangiectasia mutated [ATM] locus) — коактиватор транскрипции генов, кодирующих гистоны, физически взаимодействует с киназным комплексом циклин Е—CDK2. Является резидентным структурным белком телец гистоновых локусов и одним из ключевых (молекулярно-диагностических) их маркеров.

P e a r l s — см. **тельца-жемчужины**.

S A R T 3 (squamous cell carcinoma antigen recognized by T-cells 3; spliceosome associated factor 3) — сплайсосомный белок, который участвует в целенаправленном связывании U6 малого ядерного РНП (mono-snRNP) с тельцами Кахаля, а также в формировании и рециклировании РНП-субъединицы (tri-snRNP) сплайсосомы U4/U6·U5.

S c a R N A (scaRNP) — малые РНК (РНП), специфичные для **телец Кахаля** (см.).

S L B P (stem-loop binding protein; histone RNA hairpin-binding protein) — белок, взаимодействующий с U7 малым ядерным РНП и специфически распознающий пре-мРНК гистонов и в ходе специфического процессинга их 3'-конца. Является компонентом телец гистоновых локусов.

S M N (survival motor neuron protein) — ключевой компонент SMN-комплексов, обеспечивающих формирование различных РНП; структурный белок **gems** (см.) и телец Кахаля; первоначально был известен как гемин-1.

S m - э п и т о п — симметричные диметиларгинины в RG-доменах Sm-белков B/B', D1 и SmD3, которые распознаются антителами Y12 — первыми антителами, использованными для характеристики молекулярного состава ядерных органелл.

S n R N A (snRNP) — **малые ядерные РНК (РНП)** (см.).

S n o R N A (snoRNP) — **малые ядрышковые РНК (РНП)** (см.).

S P H - 1 (sphere protein 1) — историческое название коилина амфибий.

T A R D B P (trans-activating response region DNA-binding protein) — см. **TDP-43**.

T C A B 1 (telomerase Cajal body protein 1) — фосфопротеин, ключевой структурный белок телец Кахаля, шаперон холоэнзима теломеразы; то же, что **WDR79** и **WRAP53β**.

T D P - 4 3 — ДНК/РНК-связывающий белок, регулятор сплайсинга пре-мРНК, распознает UG-богатые мотивы многих РНК. Этот белок рассматривают в качестве одного из факторов локализации в тельцах Кахаля scaРНК класса **C/D** (см.).

T E R C (telomerase RNA component) — то же, что **теломеразная РНК** (см.).

T E R T (telomerase reverse transcriptase) — РНК-зависимая ДНК-полимераза, синтезирующая теломерные повторы.

T G S 1 — триметилгуанозинсинтаза, фермент, формирующий 2,2,7-триметилгуанозиновый кэп на 5'-конце молекул малых ядерных РНК; ядерная фракция **TGS1** локализуется преимущественно в тельцах Кахаля

T O E 1 (target of EGR1 protein 1) — компонент телец Кахаля, нетипичная деаденилаза (3'→5'-экзонуклеаза), участвующая в процессинге 3'-конца малых ядерных РНК и ряда других некодирующих РНК, включая scaРНК и **теломеразную РНК** (см.).

T R — **теломеразная РНК** (см.); у человека hTR.

U S P L 1 (ubiquitin-specific peptidase-like protein 1) — ассоциированная с тельцами Кахаля SUMO-изопептидаза; входит в состав молекулярных комплексов, связывающихся с генами, кодирующими малые ядерные РНК.

W D R 7 9 (WD40 repeat-containing protein 79) — то же, что **TCAB1** (см.).

Wobble stem — специфический участок с неоднозначным спариванием оснований G • U/U • G в молекулах scaРНК класса **C/D**.

W R A P 5 3 (WD repeat containing antisense to TP53, WD40-содержащий белок **WRAP53β**) — то же, что **TCAB1** (см.).

Y A R P (Yin Yang 1-associated protein-related protein) — компонент телец гистоновых локусов, образует комплексы с **NPAT** (см.).

Z P R 1 (zinc finger protein ZPR1) — белок, накапливающийся в тельцах Кахаля, gems и/или тельцах гистоновых локусов; играет ключевую роль в локализации **SMN** (см.) в ядерных органеллах; выполняет определенную структурную роль.

Научное издание

Дмитрий Сергеевич Боголюбов

**ТЕЛЬЦА КАХАЛЯ
и другие коилинсодержащие
структуры клеточного ядра**

Издано при финансовой поддержке федерального государственного
бюджетного учреждения «Санкт-Петербургское отделение
Российской академии наук»

Распространяется бесплатно

Оператор верстки *Д. В. Романова*
Дизайнер обложки *О. Д. Курта*

Подписано в печать 29.09.2025. Формат 70×100 ¹/₁₆.
Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 22,75. Тираж 200 экз. Заказ № 921

Издательство
«Центр содействия образованию»
191023, Санкт-Петербург, наб. р. Фонтанки, 15
Тел.: (812) 310-79-29, +7 (981) 699-65-95
center2065@gmail.com

Отпечатано в типографии «Поликона» (ИП А.М. Коновалов)
190020, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 134