

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЯДЕР СЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТОК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЛАКТИРУЮЩИХ И НЕЛАКТИРУЮЩИХ КРЫС

© К. В. Тютина,<sup>1,2</sup> В. Г. Скопичев,<sup>2</sup> Д. С. Боголюбов,<sup>1</sup> И. О. Боголюбова<sup>1,3,\*</sup>

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

<sup>2</sup>С.-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, 196084,  
и <sup>3</sup>Восточно-Европейский институт психоанализа, Санкт-Петербург. 197198;

\* электронный адрес: [ibogol@mail.ru](mailto:ibogol@mail.ru)

Изучены особенности структурно-функциональной организации основных ядерных компартментов и распределения их ключевых молекулярных компонентов (хроматин-ремоделирующего белка ATRX, РНК-полимеразы I и II, фактора сплайсинга белка SC35) в ядрах секреторных клеток молочной железы с различным функциональным статусом. Не выявлено принципиальных различий в ультраструктурной организации ядер между секреторными клетками лактирующей и нелактирующей молочных желез. В то же время с помощью фотометрического анализа показана большая интенсивность иммунофлуоресцентного мечения нуклеоплазмы секреторных клеток молочной железы лактирующих животных антителами к белкам ATRX и SC35. По-видимому, данное наблюдение отражает происходящие в клетках лактирующей молочной железы изменения структурно-функционального состояния хроматина и перераспределение факторов сплайсинга между местами их депонирования и сайтами транскрипции.

Ключевые слова: секреторные клетки молочной железы, клеточное ядро, ядерные домены, РНК-полимеразы I и II, хроматинремоделирующий белок ATRX, SR-белок SC35.

Процессы функционирования молочной железы всегда находились в центре внимания широкого круга исследователей в связи с целым рядом фундаментальных и прикладных проблем физиологии, медицины, ветеринарии и животноводства. Наряду с этим, несмотря на значительное количество работ, затрагивающих различные аспекты функционирования молочной железы человека и животных, спектр основных направлений исследований несколько ограничен. Активно ведутся в настоящее время исследования процессов дифференцировки клеток молочной железы, в том числе в русле проблем канцерогенеза (Oakes et al., 2014; Visvader, Stingl, 2014). Традиционно большое внимание уделяется вопросам гуморальной регуляции развития и функциональной активности молочной железы. В этом направлении достигнут значительный прогресс в расшифровке основных сигнальных путей с участием как хорошо известных гормонов (пролактин и эстрогенов) и их рецепторов, так и целого ряда других биологически активных веществ и регуляторных молекул (нейропептидов, факторов транскрипции, микроРНК и др.) (Manavathi et al., 2014; Mars-hall et al., 2014; Musumeci et al., 2015).

Современные зарубежные исследования тех или иных аспектов функционирования молочной железы проводятся, как правило, либо на тканево-органном, либо на молекулярно-генетическом уровне. При этом клеточный и особенно субклеточный уровни организации и функционирования молочной железы остаются относительно мало изученными. Отечественные исследования секреторных клеток молочной железы на ультраструктурном

уровне также являются крайне немногочисленными. Отдельные работы по данной проблеме, опубликованные отечественными авторами, в лучшем случае содержат данные о размерах лактоцитов и их ядер или описание ультраструктурных особенностей клеток, полученное с помощью рутинной электронной микроскопии (Ремизова, 2014; Щипакин, Горшков, 2014).

По сути, полноценными широкомасштабными комплексными цитофизиологическими исследованиями молочной железы и процесса лактации на ультраструктурном уровне, проведенными в России, остаются работы, выполненные под руководством И. И. Грачева в конце прошлого века (см.: Грачев и др., 1976; Грачев, 1991, 1995). Однако за 30 лет, прошедших со времени опубликования первых крупных работ Грачева с соавторами, наши представления об ультраструктурной организации клетки в целом значительно расширились. В первую очередь это касается вопросов организации клеточного ядра и его основных компартментов. В настоящее время не подлежит сомнению, что в регуляции транскрипционной активности важное место принадлежит не только особенностям компактизации хроматина и специфической позиции хромосом в ядре, но и экстрахромосомным ядерным доменам — высокоорганизованным структурам нуклеоплазмы (Misteli, 2007; Гаврилов, Разин, 2015). Соответственно можно ожидать, что изменение функционального статуса молочной железы будет коррелировать с изменениями функциональной компартиментализации ядер лактоцитов и перераспределением в них основных компонентов ядерного метаболизма.

Цель настоящей работы заключалась в изучении особенностей структурно-функциональной организации клеточного ядра и внутриядерного распределения ключевых молекулярных компонентов основных ядерных компартментов (хроматинре моделирующего белка ATRX, РНК-полимеразы I и II, фактора сплайсинга SC35) в ядрах секреторных клеток молочной железы у неполовозрелых крыс, лактирующих крыс и крыс после завершения лактации.

### Материал и методика

Объектом работы служили беспородные белые крысы.

Иммунофлуоресцентное мечение проводили на препаратах-отпечатках, которые фиксировали 4%-ным параформальдегидом на PBS в течение 40 мин при комнатной температуре во влажной камере. Иммуноцитохимическое окрашивание проводили по стандартной методике, включающей в себя пермеабиллизацию клеток в 0.5%-ном растворе Тритона X-100 на PBS в течение 10 мин при комнатной температуре и обработку 10%-ной фетальной сывороткой на PBS в течение 10 мин для предупреждения неспецифического связывания антител. В качестве первичных антител использовали моноклональные антитела к двухцепочечной ДНК (Chemicon Int., США) в разведении 1 : 400, белку SC35 (Fu, Maniatis, 1990) в концентрации 20 мг/мл, РНК-полимеразе II (ARNA3) (Krämer et al., 1980) в концентрации 5 мкг/мл и к РНК-полимеразе I (Ochs et al., 1994) в разведении 1 : 100, а также поликлональные антитела к белку ATRX в разведении 1 : 100. В качестве вторичных антител использовали конъюгированные с FITC козы антитела к иммуноглобулинам мыши в разведении 1 : 128, иммуноглобулинам кролика (1 : 200) и к иммуноглобулинам человека (1 : 100). Как с первичными, так и со вторичными антителами препараты инкубировали в течение 75 мин при комнатной температуре. Препараты заключали в среду Vectashield с добавлением 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI) (0.25 мкг/мл) и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Axioskop (Karl Zeiss).

Для иммуноэлектронной микроскопии фрагменты молочной железы фиксировали в смеси 4%-ного формальдегида, приготовленного из параформальдегида, и 0.5%-ного глутарового альдегида на PBS в течение 1.5 ч при комнатной температуре с постфиксацией в 2%-ном параформальдегиде при 4 °С не менее 12 ч. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации образцы заливали в спирторастворимую смолу LR

White. Полимеризацию смолы проводили при 57 °С. Ультратонкие срезы изготавливали с помощью ультрамикротомы Reichert (Германия).

Окрашивание срезов с помощью антител проводили непосредственно на сетках. Для предупреждения неспецифического связывания антител сетки инкубировали в смеси 0.05 % Tween 20 и 0.5 % желатина на PBS в течение 10 мин при комнатной температуре. Обработку срезов первыми антителами проводили при температуре 4 °С не менее 12 ч, вторыми — 90 мин при комнатной температуре. Для промывки сеток использовали смесь 0.05 % Tween 20 и 0.1 % желатина на PBS. Сетки контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранил-ацетата в течение 10 мин при комнатной температуре. Изучение срезов проводили на электронном микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Определение относительной интенсивности флуоресценции проводили на цифровых изображениях с помощью программы ImageJ. Для оценки достоверности различий между экспериментальными группами использовали критерий Манна—Уитни.

Использованные реактивы: моноклональные антитела к двухцепочечной ДНК (Chemicon Int., США); поликлональные антитела к белку ATRX (Santa Cruz, Inc., США); козы антитела к иммуноглобулинам мыши, кролика и человека, конъюгированные с FITC (Molecular Probes, США) или с коллоидным золотом (BBInternational, США); среда Vectashield (Vector Laboratories, Inc., Великобритания); смола LR White, DAPI (Sigma, США).

### Результаты

Для выявления особенностей организации ядер лактоцитов в зависимости от функционального статуса молочной железы провели сравнительный анализ ядер лактоцитов крыс трех групп — до достижения половой зрелости, в период лактации и после завершения лактационного цикла.

Во всех группах ядра лактоцитов имели вытянутую форму, отношение большего диаметра к меньшему составляло в среднем  $1.3 \pm 0.3$ . Средняя площадь ядер лактоцитов составляла до начала полового созревания около 270 мкм<sup>2</sup>, в период лактации — около 290, после завершения лактации — около 320 мкм<sup>2</sup>, однако достоверность различий между исследованными выборками подтвердить не удалось.

В ядрах функционально неактивных лактоцитов у неполовозрелых крыс распределение хроматина в целом

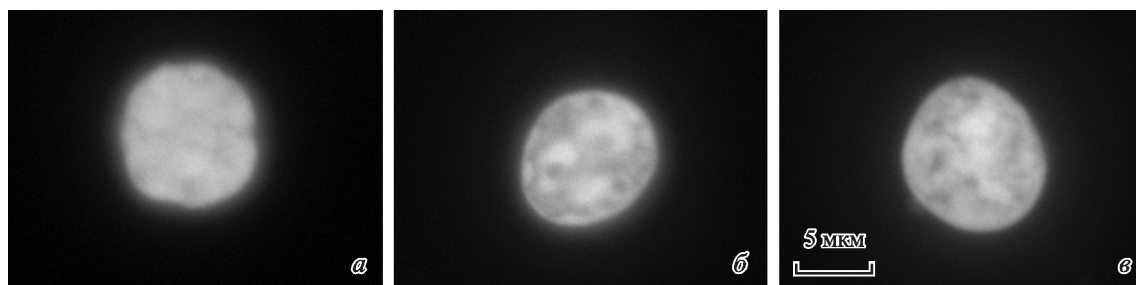


Рис. 1. Хроматин в ядрах лактоцитов неполовозрелой крысы (а), лактирующей крысы (б) и крысы после завершения лактации (в). Во всех случаях хроматин распределен по всему объему ядра, в котором присутствуют участки гетерохроматина, которые особенно заметны в ядрах лактоцитов лактирующих и завершивших лактацию животных. Окраска DAPI. Об. 100×.

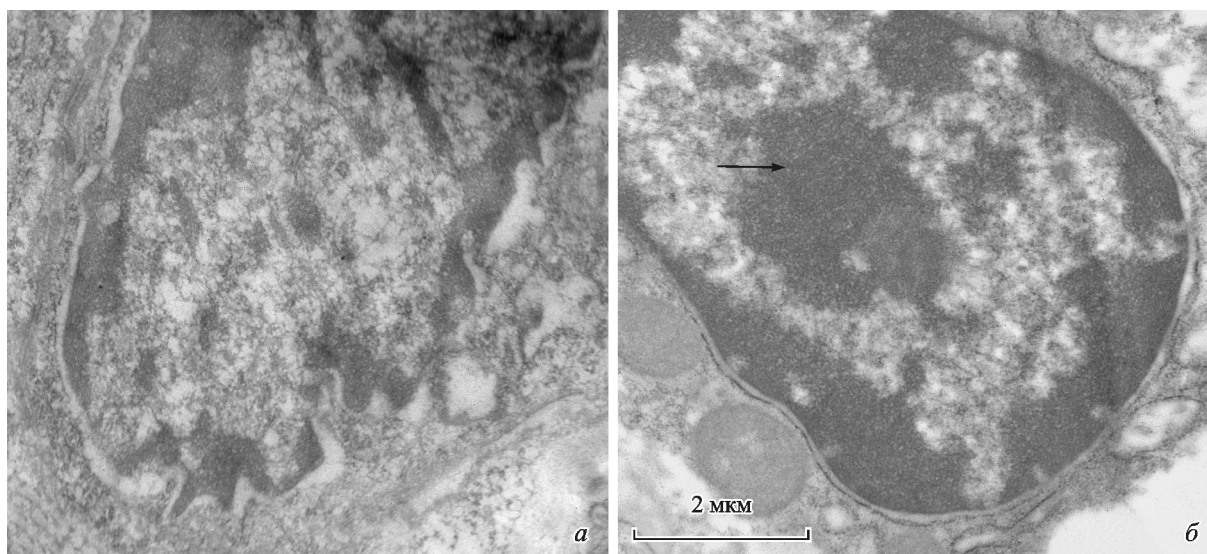


Рис. 2. Общий вид ядра лактоцита неполовозрелой (а) и лактирующей (б) крысы на ультраструктурном уровне.

Независимо от лактационного статуса клетки гетерохроматин занимает преимущественно периферическое положение, крупные области гетерохроматина наблюдаются также в центральной части ядра лактоцитов у лактирующих животных (стрелка).

имеет диффузный характер, хотя на периферии и в центральной части ядра можно видеть отдельные области гетерохроматина (рис. 1, а). Для функционально активных лактоцитов характерно менее диффузное распределение хроматина, в центральной части ядра можно видеть выраженные глыбки гетерохроматина (в среднем от 1 до 3 на ядро) (рис. 1, б). Присутствие гетерохроматина в центральной части ядра характерно и для ядер лактоцитов крыс после завершения лактации (рис. 1, в).

На ультраструктурном уровне подтверждается наличие выраженных областей большей электронной плотности по периферии ядра лактоцита независимо от его лактационного статуса (рис. 2, а, б), а также присутствие подобных зон в центральной части ядра в клетках лактирующих крыс (рис. 2, б, стрелка).

Иммуноцитохимическое мечение ДНК на ультраструктурном уровне с помощью моноклональных антител к двухцепочечной ДНК подтверждает данные, полученные на светооптическом уровне с помощью DAPI. Электронно-плотные области, выявляемые в центре и по периферии ядра, интенсивно метятся антителами к ДНК (рис. 3) и представляют собой, таким образом, зоны локализации гетерохроматина.

В большинстве клеток центральные области гетерохроматина находятся в тесной пространственной взаимосвязи с ядрышком (рис. 3, б). Кроме ядрышек в ядрах лактоцитов можно наблюдать отдельные кластеры интерхроматиновых гранул, которые по их морфологическим признакам трудно отличить от хроматина (рис. 3, в).

Следует отметить, что по особенностям ультраструктурной организации ядра лактоцитов лактирующих и нелактирующих крыс мало различаются между собой. В связи с этим нами был проведен анализ распределения РНК-полимеразы II в ядрах лактоцитов неполовозрелых нелактирующих и половозрелых лактирующих крыс на ультраструктурном уровне.

Несмотря на различный функциональный статус молочной железы, распределение РНК-полимеразы II в ядрах лактоцитов имело сходный характер. Мечение носило диффузный характер и было ассоциировано пре-

имущественно с периферией зон гетерохроматина. Каких-либо участков повышенной концентрации метки к РНК-полимеразе II на ультраструктурном уровне мы не наблюдали. Интересно, что в целом для ядер секреторных клеток молочной железы нелактирующих крыс была характерна большая интенсивность мечения антителами к РНК-полимеразе II, чем для лактирующих крыс ( $1.55 \pm 0.28$  и  $0.53 \pm 0.10$  зерна коллоидного золота на  $1 \text{ мкм}^2$  соответственно) (рис. 4). Выявленные различия достоверны для  $p \leq 0.01$ .

Параллельно с изучением структурно-функциональной организации ядер лактоцитов на ультраструктурном уровне было проведено исследование распределения некоторых ключевых компонентов ядерного метаболизма с помощью непрямого иммунофлуоресцентного мечения (рис. 5). Результаты визуальных наблюдений дополнены данными фотометрического анализа относительной интенсивности мечения нуклеоплазмы (рис. 6).

При использовании антител к хроматинремоделирующему белку ATRX во всех случаях наблюдаемый паттерн флуоресцентного мечения складывается из диффузного мечения нуклеоплазмы и большого числа зон более интенсивной флуоресценции, хорошо видимых на этом фоне (рис. 5, а, г, ж). Следует обратить внимание на то, что диффузное свечение нуклеоплазмы в большей степени выражено в ядрах лактирующих клеток молочной железы (рис. 5, з). Это подтверждается и данными фотометрического анализа. Относительная интенсивность флуоресценции антител, ассоциированных с белком ATRX, выше в ядрах функционально активных лактоцитов, чем в ядрах лактоцитов, полученных из нелактирующих молочных желез ( $p \leq 0.05$ ) (рис. 6, а).

При использовании антител к белку SC35 для всех ядер характерны фоновое мечение нуклеоплазмы и отдельные области более яркой флуоресценции (рис. 5, б, д, з). По-видимому, эти зоны более интенсивного мечения соответствуют кластерам интерхроматиновых гранул, или ядерным спеклам (speckles). В то же время необходимо обратить внимание на то, что в ядрах лактоцитов вне зависимости от их функционального состояния мы не на-

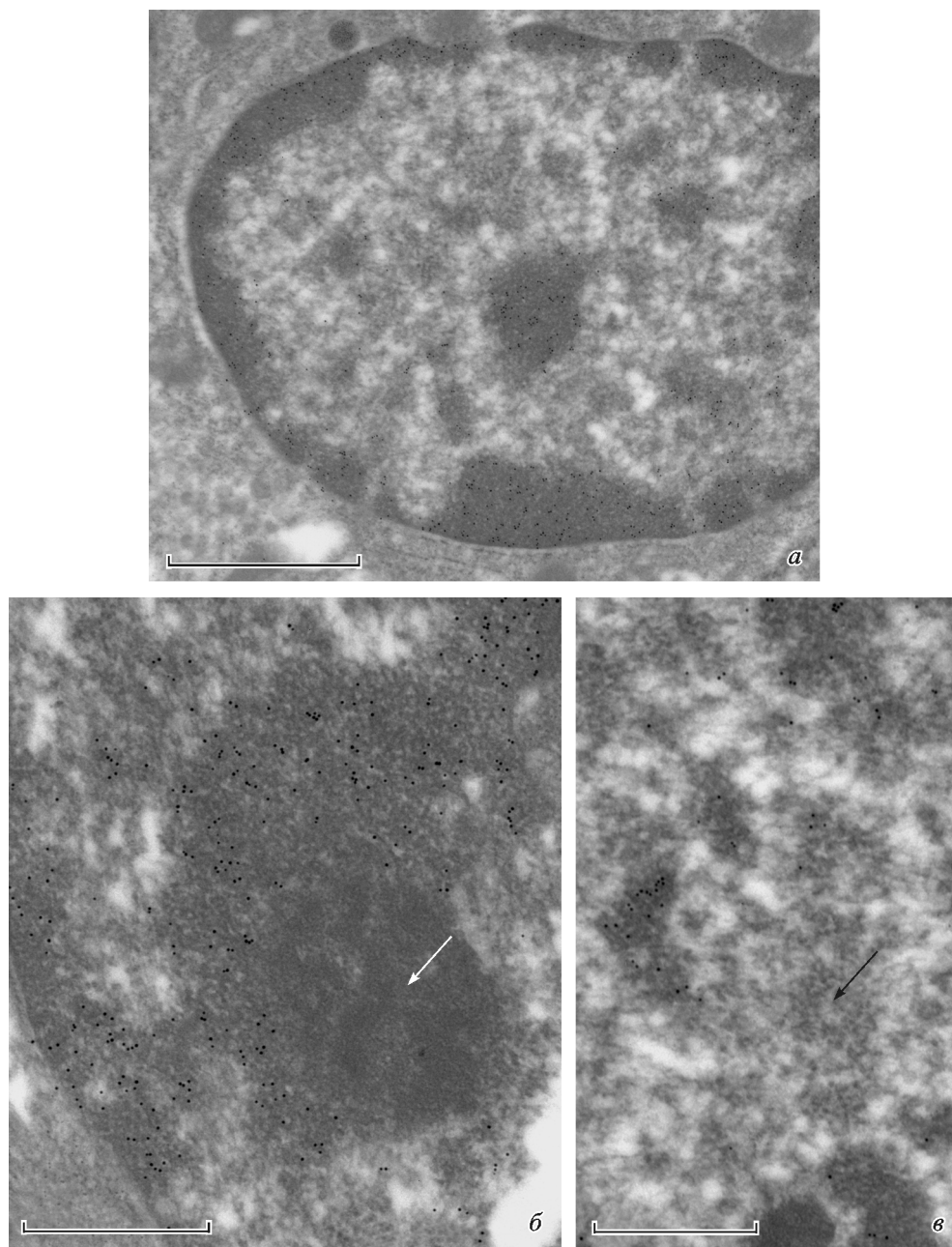


Рис. 3. Фрагменты ядер секреторных клеток молочной железы лактирующей крысы. Иммуноцитохимическое выявление ДНК с помощью моноклональных антител.

*a* — центральные и периферические зоны гетерохроматина; *б* — ядрышко (белая стрелка), находящееся в тесной пространственной связи с центральной зоной гетерохроматина; *в* — кластер интерхроматиновых гранул (черная стрелка). Масштабные отрезки: *a* — 2 мкм; *б*, *в* — 1 мкм.

блюдали типичных спеклов, описанных для соматических клеток. Несмотря на общий сходный характер мечения ядер при использовании антител к белку SC35, в ядрах секреторных клеток молочной железы лактирующих животных в большей степени выражено диффузное свечение нуклеоплазмы (рис. 5, *д*). Согласно результатам фотометрического анализа, средние значения относительной интенсивности флуоресценции нуклеоплазмы составляют  $7.09 \pm 5.41$  у лактирующих крыс,  $5.65 \pm 2.09$  — у неполовозрелых крыс и  $1.39 \pm 0.05$  — у крыс после завершения лактации (рис. 6, *б*). Несмотря на различия между средними значениями, статистически достоверных различий между лактирующими и неполовозрелыми животными по данному показателю выявить не удалось, тогда как

у животных после завершения лактации интенсивность мечения нуклеоплазмы достоверно ниже ( $p \leq 0.05$ ).

Можно отметить и определенные различия между распределением РНК-полимеразы I в ядрах лактоцитов с различным функциональным статусом (рис. 5, *в*, *е*, *и*). В ядрах лактоцитов из молочных желез неполовозрелых, а также лактирующих крыс, как правило, выявляются несколько крупных зон флуоресцентного мечения, которые, по-видимому, соответствуют участкам активного синтеза рРНК (рис. 5, *в*, *е*). В ядрах лактоцитов после завершения лактации на фоне диффузного мечения нуклеоплазмы можно видеть только мелкие точечные зоны более интенсивной флуоресценции (рис. 5, *и*). При этом интенсивность мечения нуклеоплазмы при использовании антител

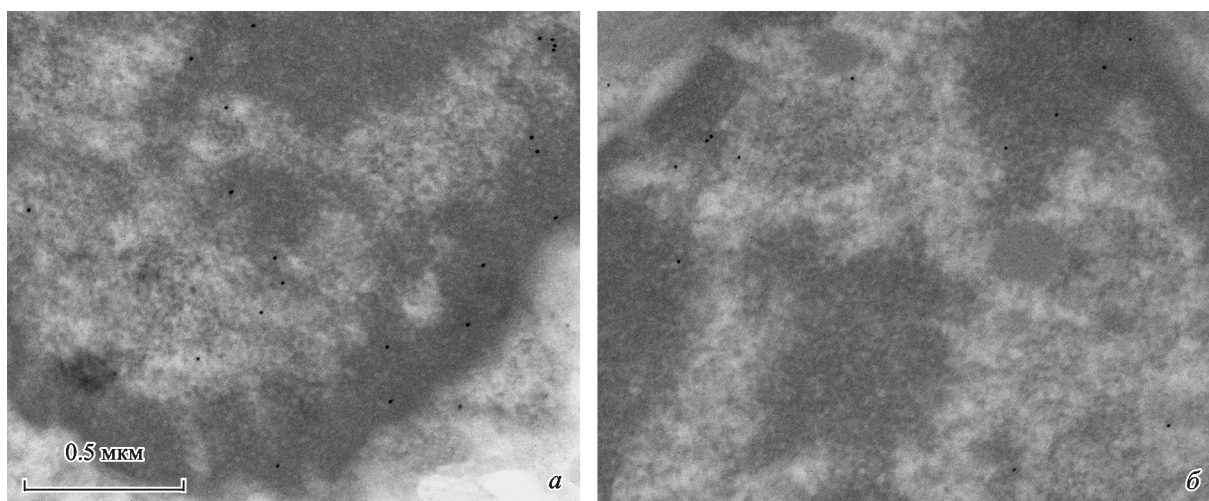


Рис. 4. Выявление РНК-полимеразы II в ядрах секреторных клеток молочной железы нелактирующей (а) и лактирующей (б) крысы. Не наблюдается выраженных различий между характером распределения частиц коллоидного золота, конъюгированного с антителами, в ядрах лактоцитов из нелактирующей и лактирующей молочных желез.

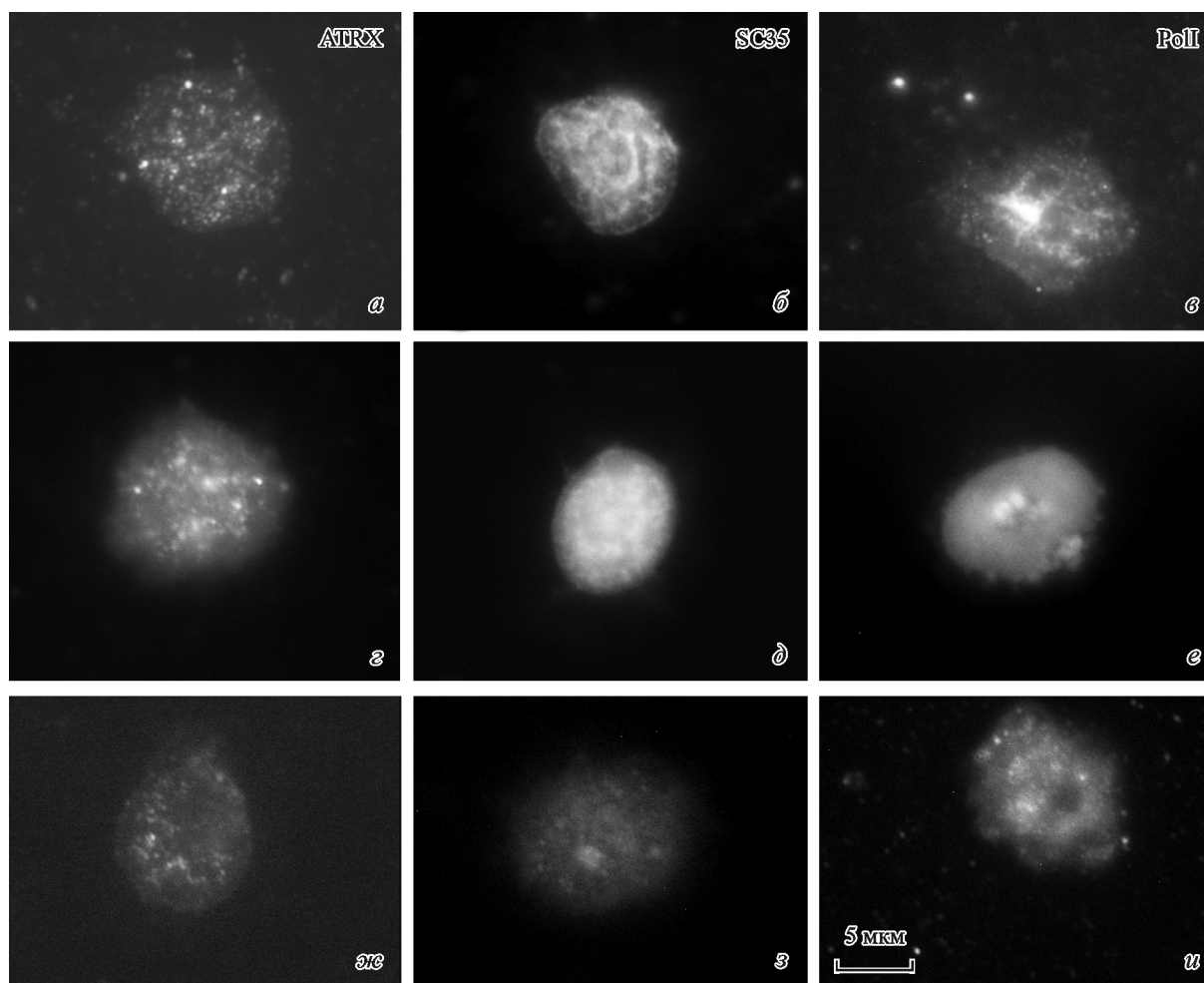


Рис. 5. Иммунофлуоресцентное выявление белков ATRX (а, г, ж), SC35 (б, д, з) и РНК-полимеразы I (Pol I; в, е, и) в ядрах лактоцитов неполовозрелой крысы (а—в), лактирующей крысы (г—е) и крысы после завершения лактации (ж—и). Об. 100×.

С помощью антител к белку ATRX в ядре лактоцитов выявляются локальные зоны интенсивной флуоресценции на фоне диффузного свечения нуклеоплазмы, которое наиболее выражено в клетках лактирующей молочной железы. При использовании антител к белку SC35 на фоне диффузного свечения нуклеоплазмы, соответствующего, по-видимому, перихроматиновым фибриллам, выявляются ядерные спеклы, которые, однако, выглядят не вполне типично для соматических клеток. При использовании антител к РНК-полимеразе I в ядрах лактоцитов неполовозрелых и лактирующих крыс выявляются зоны, соответствующие, по-видимому, участкам активного синтеза рРНК.

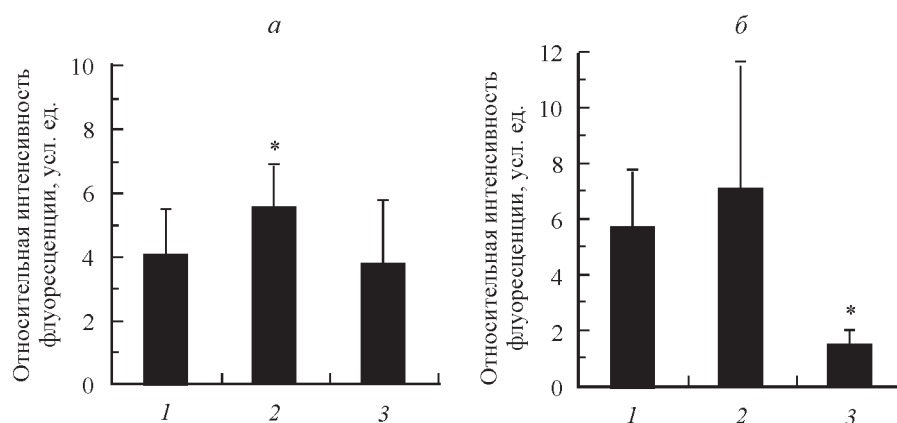


Рис. 6. Относительная интенсивность флуоресцентного мечения нуклеоплазмы лактоцитов при использовании антител к белкам ATRX (а) и SC35 (б).

1 — неполовозрелые крысы, 2 — лактирующие крысы, 3 — крысы после завершения лактации; звездочки — группы, достоверно отличающиеся от остальных по данному показателю ( $p \leq 0.05$ ).

к РНК-полимеразе I выше в ядрах клеток молочной железы в период лактации, чем после ее завершения ( $4.53 \pm 5.76$  и  $1.81 \pm 0.40$  соответственно,  $p \leq 0.05$ ).

### Обсуждение

Нами был проведен сравнительный анализ ультраструктурных особенностей организации ядер секреторных клеток молочной железы с различной функциональной активностью, а также анализ внутриядерного распределения таких ключевых элементов ядерного метаболизма, как РНК-полимеразы I и II, хроматинре моделирующий белок ATRX, фактор сплайсинга белок SC35.

Спектр антигенов, изученных в ходе проведенных иммуноцитохимических исследований, позволил охватить все основные функциональные компартменты клеточного ядра — хроматин, ядрышко, а также практически неизученный в ядрах секреторных клеток молочной железы интерхроматиновый компартмент.

Выбор в качестве объекта исследования белка ATRX обусловлен его ролью в процессах функционального ремоделинга хроматина, которые в свою очередь являются важнейшим механизмом регуляции экспрессии генов. Наблюдаемое перераспределение белка ATRX в ядрах лактирующих клеток можно объяснить полифункциональностью этого белка, который, по последним данным, не только входит в состав конститутивного гетерохроматина, но и, по-видимому, выполняет функцию транскрипционного фактора (Ratnakumar, Bernstein, 2013).

Белок SC35, выявляемый с помощью использованных нами антител, представляет собой один из факторов сплайсинга, а также является маркерным белком кластеров интерхроматиновых гранул — универсальных ядерных доменов интерхроматиновой области ядра. Эти структуры являются чрезвычайно динамичными, а их структурно-функциональная организация, как и внутриядерное распределение белка SC35, коррелирует с функциональной активностью ядра (Spector, Lamond, 2011).

Нам не удалось выявить выраженные различия по количеству и морфологическим особенностям кластеров интерхроматиновых гранул между ядрами лактоцитов с различным функциональным статусом как на светоопти-

ческом, так и на ультраструктурном уровнях. Несмотря на это, согласно результатам фотометрического анализа, средние значения относительной интенсивности нуклеоплазмы выше у лактирующих крыс. Выявленные различия в распределении белка SC35 в ядрах лактоцитов с разным функциональным статусом полностью соответствует современным представлениям о внутриядерной динамике факторов сплайсинга, которые при активации транскрипционной активности ядра перемещаются из депонирующих их ядерных доменов к местам транскрипции (Zeng et al., 1997).

РНК-полимераза I является ведущим фактором ядрышковой транскрипции, поэтому ее распределение и интенсивность мечения могут рассматриваться как информативные показатели функциональной активности этой ядерной органеллы (Sirri et al., 2008). Интересно, что интенсивность мечения нуклеоплазмы при использовании антител к РНК-полимеразе I также выше в ядрах клеток молочной железы в период лактации. Это наблюдение сложно интерпретировать на основании проведенных исследований. Возможно, повышение концентрации РНК-полимеразы I в свободном состоянии в нуклеоплазме отражает процессы интенсивного перераспределения факторов ядрышковой транскрипции, характерные для функционально активных клеток.

Таким образом, изменения функциональной активности лактоцитов крыс сопровождаются внутриядерным перераспределением таких значимых компонентов ядерного метаболизма, как хроматинре моделирующий белок ATRX, фактор сплайсинга белок SC35 и РНК-полимераза I. Можно заключить, что предлагаемый нами комплексный подход к оценке структурно-функциональной организации клеточных ядер лактоцитов для анализа субклеточных регуляторных механизмов секреторных клеток молочной железы является эффективным. При этом необходимо отметить обязательное использование иммуноцитохимических методов, позволяющих оценивать внутриядерное перераспределение основных компонентов ядерного метаболизма. Использование только рутинного ультраструктурного анализа является недостаточным, так как структурная организация интерхроматинового пространства ядра мало различается в секреторных клетках из молочных желез с разным функциональным статусом.

Работа выполнена при финансовой поддержке правительства Санкт-Петербурга (грант в сфере научной и научно-технической деятельности).

### Список литературы

- Гаврилов А. А., Разин С. В. 2015. Компартиментализация клеточного ядра и пространственная организация генома. Молекуляр. биол. 49 (1) : 26—45. (Gavrilov A. A., Razin S. V. 2015. Compartmentalization of the cell nucleus and spatial organization of the genome. Mol. Biol. (Moscow). 49 (1) : 21—39.)
- Грачев И. И. 1991. Современные достижения физиологии и биохимии лактации. Л.: Наука. 123 с. (Grachev I. I. 1991. Modern achievements of lactation physiology and biochemistry. L.: Nauka. 123 p.)
- Грачев И. И. 1995. Клеточные механизмы регуляции секреции молока. М.: Элиста. 95 с. (Grachev I. I. 1995. Cell mechanisms of the lactation regulation. M.: Elista. 95 p.)
- Грачев И. И., Попов С. М., Скопичев В. Г. 1976. Цитофизиология секреции молока. Л.: Наука. 242 с. (Grachev I. I., Popov S. M., Scopichev V. G. 1976. Cytophysiology of milk secretion. L.: Nauka. 242 p.)
- Ремизова Е. В. 2014. Морфология секреторного эпителия молочной железы коз. Вет. врач. 6 : 48—52. (Remizova E. V. 2014. Morphology of secretory epithelial cells in goat mammary gland. Vet. Vrach. 6 : 48—52.)
- Щипакин М. В., Горшков А. Н. 2014. Ультраструктурные изменения молочной железы коз зааненской породы в период лактации. Актуал. вопр. вет. биол. 4 : 47—50. (Shchipakin M. V., Gorshkov A. N. 2014. Ultrastructural changes of the mammary gland of Saanen goats in the period of lactation. Actual. Vopr. Vet. Biol. 4 : 47—50.)
- Fu X.-D., Maniatis T. 1990. Factor required for mammalian spliceosome assembly is localized to discrete regions in the nucleus. Nature. 343 : 437—441.
- Krämer A., Haars R., Kabisch R., Will H., Bautz F.A., Bautz E. K. 1980. Monoclonal antibody directed against RNA polymerase II of *Drosophila melanogaster*. Mol. Gen. Genet. 180 : 193—199.
- Manavathi B., Samanthapudi V. S., Gajulapalli V. N. 2014. Estrogen receptor coregulators and pioneer factors: the orchestrators of mammary gland cell fate and development. Front. Cell Develop. Biol. 2 : 34. doi: 10.3389/fcell.2014.00034.
- Marshall A. M., Hernandez L. L., Horseman N. D. 2014. Serotonin and serotonin transport in the regulation of lactation. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 19 : 139—146.
- Misteli T. 2007. Beyond the sequence: cellular organization of genome function. Cell. 128 : 787—800.
- Musumeci G., Castrogiovanni P., Szychlińska M. A., Aiello F. C., Vecchio G. M., Salvatorelli L., Magro G., Imbesi R. 2015. Mammary gland: from embryogenesis to adult life. Acta Histochem. doi: 10.1016/j.acthis.2015.02.013.
- Oakes S. R., Gallego-Ortega D., Ormandy C. J. 2014. The mammary cellular hierarchy and breast cancer. Cell Mol. Life Sci. 71 : 4301—4324.
- Ochs R. L., Stein T. W., Tan E. M. 1994. Coiled bodies in the nucleolus of breast cancer cells. J. Cell Sci. 107 : 385—399.
- Ratnakumar K., Bernstein E. 2013. ATRX. The case of a peculiar chromatin remodeler. Epigenetics. 8 : 3—9.
- Sirri V., Urcuqui-Inchima S., Roussel P., Hernandez-Verdun D. 2008. Nucleolus: the fascinating nuclear body. Histochem. Cell Biol. 129 : 13—31.
- Spector D. L., Lamond A. I. 2011. Nuclear speckles. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 3 : a000646.
- Visvader J. E., Stingl J. 2014. Mammary stem cells and the differentiation hierarchy: current status and perspectives. Genes Develop. 28 : 1143—1158.
- Zeng C., Kim E., Warren S. L., Berget S. M. 1997. Dynamic relocation of transcription and splicing factors dependent upon transcriptional activity. EMBO J. 16 : 1401—1412.

Поступила 5 XI 2015

### NUCLEAR STRUCTURE IN THE SECRETORY CELLS OF MAMMARY GLANDS IN LACTATING AND NON-LACTATING RATS

K. V. Tyutina,<sup>1,2</sup> V. G. Skopichev,<sup>2</sup> D. S. Bogolyubov,<sup>1</sup> I. O. Bogolyubova<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064,

<sup>2</sup> St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, St. Petersburg, 196084, and

<sup>3</sup> East European Institute of Psychoanalysis, St. Petersburg, 197198;

\* e-mail: ibogol@mail.ru

The features of structural and functional organization of the main nuclear compartments and distribution of their key molecular components (chromatin-remodeling protein ATRX, RNA polymerase I and II, and the splicing factor SC35) has been studied in the nuclei of mammary gland cells at different functional states. No significant differences between the nuclei of the cells in the lactating and non-lactating mammary glands have been revealed at the ultrastructural level. At the same time, photometric analysis has revealed higher intensity of nucleoplasmic immunofluorescent staining of mammary glands in the lactating animals when antibodies against the proteins ATRX and SC35 were used. Apparently, this observation reflects the changes of the structural and functional status of chromatin as well as the redistribution of splicing factors between the sites of their deposition and transcription.

**Key words:** secretory cells of mammary gland, cell nucleus, nuclear domains, RNA polymerase I and II, chromatin-remodeling protein ATRX, SR-protein SC35.