

特集：リボソームの機能調節と疾患

I. 核小体・rDNA 構造とリボソーム RNA 転写

I-2 リボソーム RNA 遺伝子と核小体構造の調節

奥 脇 暢

核小体は光学顕微鏡で明瞭に観察できる核内構造である。主な機能はリボソーム合成であるが、近年、細胞周期の制御、テロメラーゼなどのRNPの形成、ウイルス感染やDNAダメージなどさまざまなストレスへの応答、細胞の栄養状態の検知など多彩な役割を持つことが明らかになってきた。また、核小体機能の異常が多くの疾患の原因となることもわかってきた。このような背景から核小体の機能をターゲットとした創薬研究も進められている。本稿では、古くからの研究によって蓄積されてきたrRNA遺伝子領域の構造と機能を概説し、次いで核小体構造形成の分子基盤とそのダイナミクスについて最近の知見も交えながら議論する。

1. rRNA 遺伝子の構造

核小体はrRNA遺伝子を含む染色体領域(nucleolar organizer region: NOR)を中心に形成される。ヒトの細胞では、およそ400コピーのrRNA遺伝子が5本の染色体に分散して存在する。rRNA遺伝子は18S, 5.8S, 28Sの3種類のrRNAをコードし、これらのrRNAは一本の前駆体RNA(rRNA前駆体あるいは45S rRNA)としてRNAポリメラーゼI(Pol I)によって転写され、段階的に修飾と切断を受け成熟する。一方、独立の遺伝子にコードされる5S rRNAはRNAポリメラーゼIIIによって転写され、成熟後核小体で60Sリボソーム前駆体に取り込まれる。ヒトの3種類のrRNAをコードする遺伝子は配列が決定されており¹⁾、約43 kb(43,000塩基対)が一つのユニットである(図1)。rRNAをコードする領域は約13.3 kbであり、29.7 kbは遺伝子間領域(intergenic spacer: IGS)と呼ばれる。このユニットが一つの染色体あたり20~40コピー連

なっている。転写される領域は三つのrRNAをコードする領域と、5'側, 3'側のexternal transcribed spacer(ETS), 3種類のrRNA遺伝子間の領域, internal transcribed spacer(ITS)から構成される。IGS領域の重要な機能は転写の調節と転写の終結の制御である。rRNA遺伝子のプロモーターは二つの制御領域, 転写開始点(+1)近傍のcore promoter element(CPE, およそ-31から+6)とその上流(-30から-167)のupstream promoter element(UPE)領域から構成される。これらの領域には二つの転写因子UBF(upstream binding factor)とSL1複合体[TBPとPol Iに特異的なTBP associated factor(TAF)から形成される]が結合し、正確な転写の開始を制御する^{2,3)}。また、IGS領域にはほかにスパーサープロモーターと呼ばれるプロモーター配列が存在する。rRNAの合成を制御するプロモーター(45S rRNAプロモーター)とスパーサープロモーターの間には、マウスでは140塩基対を一つのユニットとするリピート配列が存在し、この領域が45S rRNAプロモーターの活性化に関わることが知られている⁴⁾。この領域にはUBFが相互作用することが知られているが、この領域による転写促進の分子機構は明らかになっていない。

スパーサープロモーターはマウスではrRNA転写開始位置の約2,000塩基対上流に存在する。このプロモーター様の構造はアフリカツメガエルでも保存されており、アフリ

筑波大学医学・医療系(〒305-8575 つくば市天王台1-1-1)

The ribosome RNA gene and nucleolar structure
Mitsuru Okuwaki (Faculty of Medicine, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8575, Japan)

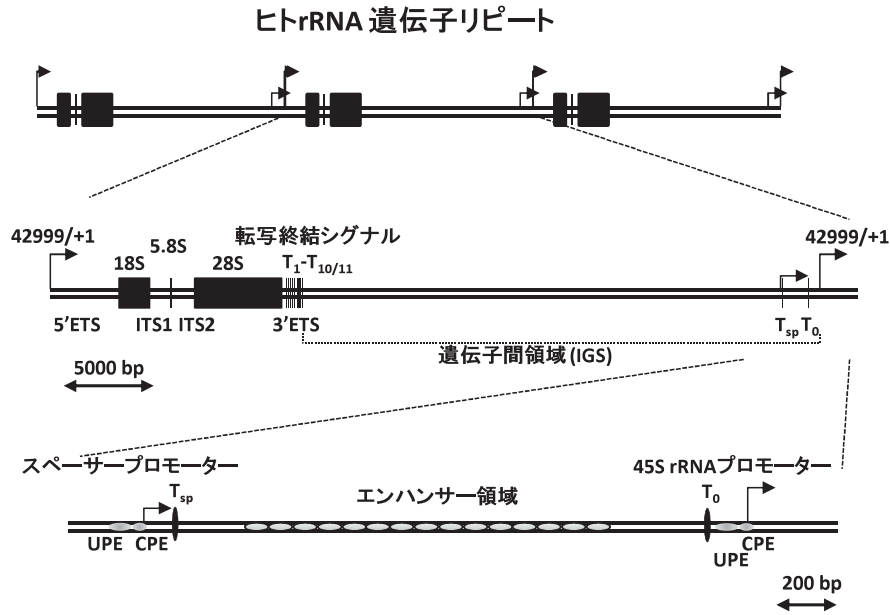


図1 リボソーム RNA 遺伝子領域の構造

ヒトのリボソーム RNA 遺伝子領域の構造を模式的に示した。約 43,000 塩基対からなる rRNA 遺伝子のユニットがリピートを形成する。一つのユニットは 18S, 5.8S, 28S rRNA をコードする領域と, intergenic spacer (IGS) 領域で構成される。rRNA の転写は upstream promoter element (UPE) と core promoter element (CPE) の二つの領域から形成されるプロモーターによって制御される。プロモーター配列は 45S rRNA プロモーターに加え, 転写開始点上流約 2,000 塩基対の領域にもみられ, スペーサープロモーターと呼ばれる。転写終結配列 T₁~T_{10/11} は 28S rRNA 配列の下流に位置する。また 45S rRNA プロモーター領域の上流 (T₀) とスペーサープロモーターの下流にも同様の配列 (T_{sp}) がみられる。rRNA プロモーターとスペーサープロモーターの間には転写を促進するエンハンサー領域が存在する。

カツメガエルのスペーサープロモーターの機能は転写産物を合成するというよりも, 転写因子や Pol I を 45S rRNA プロモーター近傍にとどめることで, これらの転写因子のリザーバーのような役割を果たしていることが示唆されてきた²⁾。しかし, スペーサープロモーターからの転写産物 (pRNA) が, nucleolar remodeling complex (NoRC) と相互作用し, rRNA 転写の抑制に関わることが報告された³⁾。スペーサープロモーター領域にも UBF や Pol I のサブユニットが局在することから, スペーサープロモーターからの転写も Pol I に依存するものと考えられるが, 45S rRNA プロモーターとスペーサープロモーターがどのように制御されるのかはよくわかっていない。DNA 結合因子である CTCF (CCCTC binding factor) がスペーサープロモーター近傍に結合し, UBF や Pol I をリクルートしていることが示唆されている⁶⁾。

転写の終結はマウスでは 18 塩基対が 10 回, ヒトでは 11 塩基対が 11 回繰り返すリピート配列 (制限酵素 Sal I の認識配列を含むことから Sal ボックスと呼ばれ, T₁~T_{10/11} で表記される) で起こる。転写の終結は Pol I の伸長の停止と Pol I の DNA からの解離, 転写産物の 3'末端の形成から構成される。Sal ボックスには Pol I と直接相互作用

する因子 transcription termination factor (TTF)-I が結合し, DNA の構造を変化させることで Pol I の伸長を停止させる⁷⁾。Pol I と転写産物の解離は polymerase I and transcript releasing factor によって起こる⁸⁾。転写産物の 3'末端の形成機構に関してはほとんど明らかになっていない。

転写終結のシグナル配列は, 転写開始点より 170 塩基対上流 (T₀ 配列) や, スペーサープロモーターの下流 (T_{sp} 配列) にも見いだされている。いずれの配列近傍にも TTF-I が相互作用することが示されている⁹⁾。プロモーター領域上流における転写終結配列の存在は, IGS 領域からの転写を遮断し, 効率的に rRNA を合成するために重要な役割を担っているものと考えられる。TTF-I が NoRC 複合体をリクルートし, スペーサープロモーターからの転写産物 (pRNA) と協調的に rRNA の発現を抑制しているというモデルが提唱されている¹⁰⁾。さらに, TTF-I は転写開始点と終結点近傍をループ状に束ねる活性を持ち, プロモーター領域, コード領域, IGS 領域を空間的に分断することが示唆されている⁹⁾。このような染色体構造の形成が, 核小体の構造形成にも大きく影響を与えているものと考えられる。

また, IGS 領域には Alu エlement などレトロトランス

ポゾン由来の配列が散在している。また最近の次世代シーケンサーを用いた解析から、IGS領域のヒストン修飾状態や転写産物が網羅的に解析されている¹¹⁾。これまで転写は起こらないと考えられてきたIGS領域からの転写産物がIGS領域全体から検出されており、これらの転写産物もrRNA遺伝子発現の調節や核小体の構造の調節に関連している可能性もある。転写開始点の下流28~29 kb領域には活性化状態のヒストン修飾が濃縮されていることも見いだされ、この領域の役割も興味深い。最近、この領域を含むIGSからの転写産物が細胞のアシドーシス処理あるいは熱処理によって上昇し、この転写産物が核内のVHLやHDM2などのユビキチンリガーゼやHSP70を一時的に核小体に蓄積させる役割を持つことが報告された¹²⁾。このシステムは、通常核質で機能する因子を核小体に蓄積させることによって隔離し、それらの機能を抑制することが示唆されている。IGS領域の転写がどのように制御されるのか、転写産物がどのようにクロマチン上に残るのか、不明な点はまだまだ多い。

2. 核小体の構造

核小体は光学顕微鏡で容易に観察される(図2A)。核小体は膜構造を持たないにも関わらず、周囲との境界がはっきり観察される。電子顕微鏡による観察から、核小体は3層の構造から形成されることが知られている¹³⁾(図2B, C)。中心部分はfibrillar center (FC)、その周囲をdense fibrillar component (DFC)が取り囲み、この二つの構造体はgranular component (GC)の中に埋め込まれている(図2C, D)。FC領域は通常の染色では電子密度の低い球状の領域として観察される。FCの数はそれぞれの核小体によって異なるが、一般的にFCの数は増殖速度に依存して増える傾向にある。DFCはより凝集した繊維状の構造体で、FCよりも電子密度が高い領域として観察される。GCはFC-DFCからなる構造体を取り囲むように存在し、小さな粒状の構造体が集合したように観察される。FCには転写因子UBFやPol Iのサブユニットが局在するが、活性化状態のrDNAはFCとDFCの境界領域に存在することが示唆されている。活性化状態のDNAは電子顕微鏡では観察することが困難なため、転写の場所がどこであるのか長い間議論が続いている。DFC領域は転写因子やPol Iサブユニットに加え、rRNAの修飾や切断に関わる因子が局在する。GCは転写されたrRNAの成熟に加え、リボソーム前駆体の集合が起こる場所である。電子顕微鏡でGC領域に観察される顆粒は、集合の最終段階のリボソーム前駆体あるいは細胞質に輸送される前に貯蔵されたりボソーム前駆体であると考えられる。

ヒトの細胞では、rRNA遺伝子は13, 14, 15, 21, 22番染色体にコードされる。分裂期の構造を観察すると、い

ずれの染色体もセントロメア領域に形成される一次狭窄部位に加え、二次狭窄部位を持ち、NORは二次狭窄部位に位置する。上述のとおり核小体はNORを中心に形成されるが、核小体にはほかの染色体領域も集合していることが示されている^{14, 15)}。精製した核小体のDNAをプローブとした蛍光*in situ*ハイブリダイゼーション(FISH)解析から、rRNA遺伝子領域に加え、セントロメアの領域を含むことが示され、さらに網羅的なDNA配列解析から、サテライトDNA、LINEやSINEなどのトランスポゾン由来配列など繰り返し配列や、テロメア領域、抑制状態の遺伝子領域が検出されている。光学顕微鏡で観察可能なことや、生化学的にほかのクロマチン領域から分離・生成できるという核小体の特性は、ヘテロクロマチン領域が核小体の‘膜’あるいは‘殻’として存在するためであると考えられる。

3. 分裂期における核小体の崩壊

核小体は細胞分裂とともに崩壊し、G1期初期に再形成される。FCに局在する転写因子UBFは細胞周期を通じてNOR上に局在する。一方、間期にDFCやGC領域に局在するrRNA前駆体の切断や修飾に関わる因子はNORから解離し、一部は凝縮した染色体の周囲を取り囲むように局在すると同時に、一部は細胞全体に拡散する。細胞全体に拡散した一部の因子はドット(nucleolar derived foci: NDF)を形成する。核膜の崩壊と核小体の崩壊のタイミング、核膜形成と核小体形成のタイミングについては蛍光タンパク質を利用したライブセルイメージングによって詳細に解析されている¹⁶⁾。分裂期にはrRNAの転写はほぼ完全に抑制される。rRNA前駆体の成熟に関わる活性も分裂期には抑制されており、分裂期に入る直前に合成されたrRNA前駆体はG1期に入るまで成熟せずに維持され、娘細胞に分配された後に成熟する。rRNA前駆体はDFCやGCの因子と複合体を形成したまま、染色体表層や細胞全体に拡散して維持されている。転写やrRNA前駆体の成熟の活性抑制において、サイクリンB/cdc2が重要な役割を担っている。転写因子SL1のTAFI110サブユニットのサイクリンB/cdc2によるリン酸化が、SL1とUBFの相互作用を抑制することが報告されており¹⁷⁾、このリン酸化が分裂期の転写抑制において重要な役割を担っているものと考えられている。また、染色体の凝縮が始まる前中期から中期にかけてPol Iは一時的にNOR領域から解離することが報告されており¹⁶⁾、Pol Iの解離も分裂期に転写を抑制する重要な制御機構であると考えられる。Pol Iの解離がどのように制御されるかは明らかになっていない。GCに主に局在しrRNA前駆体の成熟に関わるヌクレオホスミン/B23は、分裂期にはほかのGCやDFC因子と同様に、染色体周辺と細胞全体に拡散する。サイクリンB/cdc2のリン酸化によってB23のRNA結合活性は抑制されることから、B23

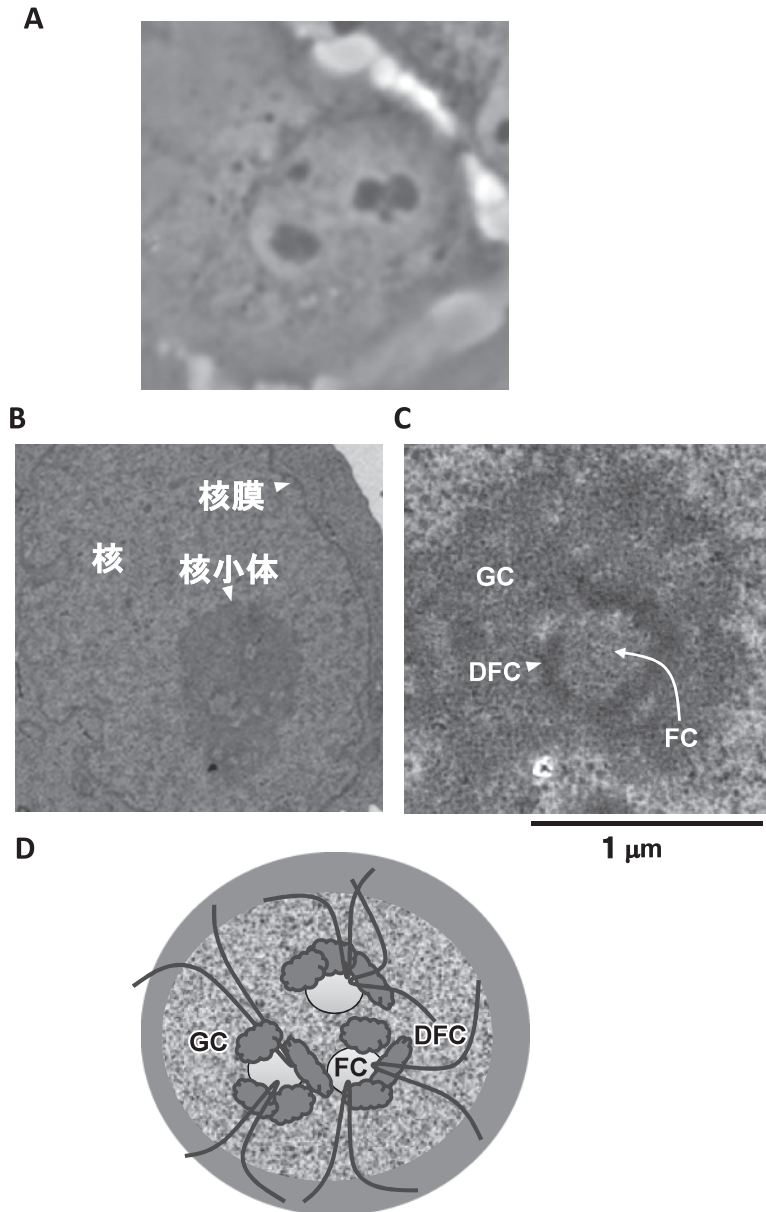


図2 核小体の構造

(A) U2OS細胞の光学顕微鏡写真。(B, C) U2OS細胞の電子顕微鏡写真。細胞質と核を隔てる核膜と核の内部には明らかにほかの核内とは電子密度の異なる核小体がみられる。坂本順子氏(筑波大学医学・医療系)の協力により撮影。(D) 核小体構造の模式図。fibrillar center (FC)はやや電子密度の高いdense fibrillar component (DFC)に囲まれ、FCとDFCはgranular component (GC)に埋め込まれる形で存在する。周囲はヘテロクロマチンで覆われ、クロマチンは核小体内部にも侵入している。

の核小体局在の制御およびB23のrRNA前駆体成熟の活性制御に関しては、サイクリンB/cdc2によるリン酸化が重要である¹⁸⁾。しかし、rRNA前駆体の成熟に関わる因子の分裂期における制御機構はほとんど明らかになっておらず、今後の課題である。分裂期の細胞をサイクリン依存性キナーゼ(Cdk)阻害剤ロスコビチンで処理すると、分裂期の細胞の転写抑制が一部回復する¹⁹⁾。一方、rRNA前駆

体はロスコビチン処理した後も切断されずに維持されることから、分裂期におけるrRNA前駆体の成熟活性の抑制にはCdkの活性のみでは十分でないことが示唆される。

分裂期の染色体表層には多くのRNP複合体が局在する²⁰⁾。上述のとおりrRNA前駆体を含む核小体因子も多くが染色体表層に分布する。染色体表層に局在することの意味は明らかになっていないが、それぞれの因子を二つの娘

細胞に均等に分配する仕組みなのかもしれない。また、一部の核小体因子のノックダウンが、染色体の分配異常を引き起こすことが報告されており^{21,22)}、分裂期の染色体機能の制御に積極的に関わる可能性もある。染色体の表層の構造は、核膜の崩壊した後の染色体を保護する役割も示唆されている²³⁾。しかし、核小体由来のRNPがどのように染色体表層に係留されるのかはほとんど明らかになっていない。

4. 核小体の形成

細胞分裂後、G1期初期にrRNAの転写やrRNA前駆体の成熟活性の回復に伴って核小体は再形成される。核小体の中心はNORであることから、拡散していた核小体タンパク質とRNAの複合体(RNP)がNOR上に集合する形で核小体が形成される。Pol Iのサブユニットは分裂中期に一度解離し、後期には再度NORにリクルートされる。その後、主にDFCに局在するRNPがNORに集合し、最終的にGCの因子が集合して核小体ができ上がる。NORへの集合過程で、DFCやGCの因子は前の細胞周期に合成されたrRNA前駆体とともに、NORとは異なる核内領

域にpre-nucleolar body (PNB)と呼ばれるドット状の構造を形成する(図3)。G1期の進行とともにPNBは消失する。転写活性が完全に回復していないG1初期にはrRNA前駆体の成熟に関わる因子の需要も少ないため、これらの因子はすぐに核小体へ集合しないものと考えられてきた。最近、FISHによってrRNA前駆体を定量的に検出することによって、PNBは前の細胞周期のrRNA前駆体を含むこと、rRNA前駆体の成熟とともに消失すること、rRNA前駆体の成熟を人工的に抑制するとPNBが長時間維持されることが示された。したがって、PNBの役割は前の細胞周期で処理しきれなかったrRNA前駆体を、成熟したりリボソームに変換する機能を持つことが示唆される²⁴⁾。すでに合成されたrRNA前駆体を再度核小体に運び、核小体で成熟させるのに比べ、効率の面から考えてもPNBにおいて処理するのは理にかなったメカニズムかもしれない。しかし、PNBで前の細胞周期のrRNA前駆体の成熟が起こるならば、分裂期にrRNA前駆体の成熟を止める意味はないようにも思える。PNB因子の構成は分裂期に細胞質にみられるNDFや染色体表層に局在するRNP構成因子とほとんど同じであることから、RNP複合体の構成は少なく

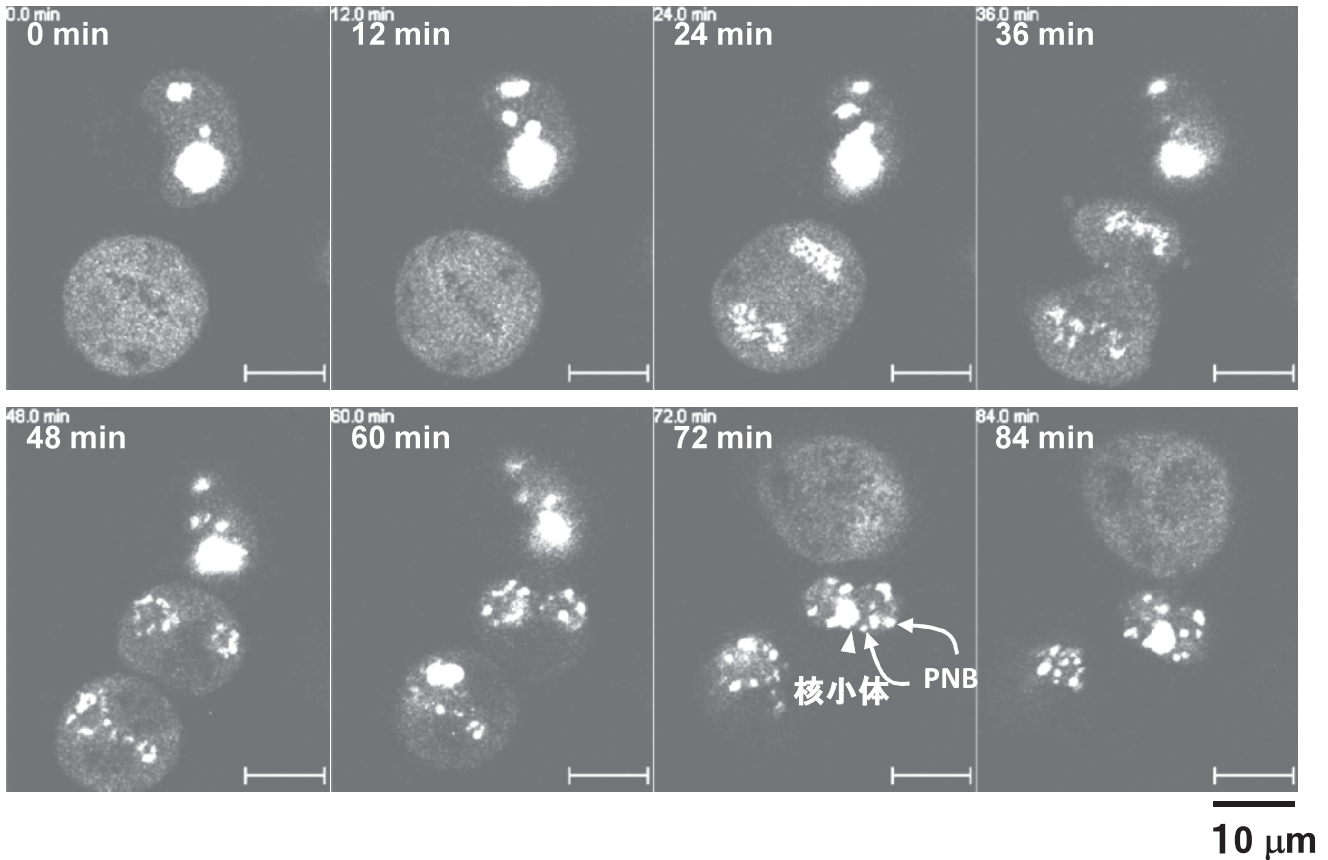


図3 分裂期からG1期の核小体因子の動態

GFP-B23を恒常的に発現するHeLa細胞を用いてB23の局在を継時的に観察した。分裂期には拡散していたシグナルが染色体周辺に集合し、核膜が形成されると核内で小さなドット(pre-nucleolar body: PNB)と核小体が形成される。PNBはやがて消失する。PNBは矢印で、新規に形成された核小体は矢頭で示した。

とも一部は分裂期にも保たれている。rRNA 前駆体の成熟過程が分裂期に抑制される分子機構を明らかにすることで、PNB を形成すること、分裂期にも RNP 複合体を維持していること、分裂期に rRNA 前駆体の成熟を抑制することの意義を明らかにできるかもしれない。

蛍光タンパク質を融合した B23 や Nop52 など GC に局在する核小体因子の動態をタイムラプス解析で追跡すると、PNB の大きさは分裂後徐々に大きくなっていくのが観察される²⁵⁾(図 3)。PNB どうしが融合するようすは観察されないことから、細胞質で NDF に含まれずに拡散していた RNP 構成因子が PNB に集合し、サイズが徐々に大きくなるものと考えられる。PNB において前の細胞周期の rRNA 前駆体をもとにリボソーム形成が起こると同時に、分裂後に新たに形成された核小体において新規の rRNA 前駆体をもとにリボソーム形成が起こる。拡散していた RNP が PNB に集積する分子機構はほとんどわかっていないが、拡散していた RNP 因子のタンパク質間相互作用、タンパク質-RNA 相互作用の増強が PNB や核小体サイズの増加につながるものと考えられる。上述のとおり、PNB は rRNA 前駆体をリボソーム前駆体に変換し、それが細胞質に輸送された段階で消失することから、rRNA 前駆体が PNB 集合の核となっているものと考えられる。核内に形成されるドット上の構造体(核内ボディー)は、しばしば RNA を核として形成されることが報告されている。たとえば、paraspeckle は、機能は明らかではないが多くの RNA 結合タンパク質が集積して形成される。paraspeckle 形成には nuclear enriched abundant transcript (NEAT) 1 および NEAT2 と呼ばれる長鎖非コード RNA が関与することが示された²⁶⁻²⁹⁾。これらの RNA の発現を抑制すると paraspeckle 構造が消失することから、NEAT RNA が paraspeckle の核となっているものと考えられる。また、histone locus body (HLB) と呼ばれる細胞周期依存的に発現するヒストン遺伝子領域に形成される核内ボディーは、ヒストン mRNA 前駆体とその 3'末端形成に関わる因子が集合して形成される。人工的にヒストン mRNA 前駆体を、染色体に挿入されたラクトースオペレーター (*LacO*) 配列上に係留すると、この領域に HLB 構成因子が集合し、HLB 様の核内ボディーが形成されることも報告されている³⁰⁾。同様にスプライシング部位を持つ人工的な mRNA 前駆体を *LacO* 配列上に係留すると、SC35 などのスペックル構成因子が集合することも示されている。いずれの例においても特定の RNA が核となって核内ボディーが形成されており、RNA とタンパク質との特異的な相互作用のダイナミクスが核内ボディー形成の実体であると推察される。以上の例を参考にすると、PNB 構造は rRNA 前駆体を核として同様の分子機構で形成されるものと考えられる。核小体構造形成においては、rRNA 遺伝子領域を含む

NOR がその核になるものと考えられる。実際ショウジョウバエを用いた遺伝学的解析では、完全長の rRNA 遺伝子 1 コピーを染色体に挿入すると、挿入された領域に核小体様の構造が形成されることが報告されている³¹⁾。また、出芽酵母においても同様の結果が得られており³²⁾、いずれの場合も核小体様の構造形成と rRNA 合成に、rRNA 遺伝子のリピート構造は必要ないことが示されている。ただ、ショウジョウバエや出芽酵母の rRNA 遺伝子は IGS 領域が短く、高等真核細胞の rRNA 遺伝子においても同様の結果が得られるかは不明である。高等真核細胞の核小体形成においては、転写因子 UBF の重要性が示唆されている。UBF 結合配列を並べた約 2×10^6 塩基対の配列をヒトの細胞に導入すると、UBF が結合しこの領域に狭窄部位を形成する³³⁾。この領域には UBF を介して Pol I のサブユニットや転写と初期の rRNA 前駆体プロセッシングを仲介する因子がリクルートされる^{33,34)}。しかしながら、この領域における転写は起こらず、rRNA 前駆体の成熟に関わる因子はリクルートされないことから、核小体は形成されない。この領域は核小体の中の FC 様の構造を反映したものである可能性がある。また、マイクロインジェクションによって、45S rRNA 遺伝子プロモーターとその下流の一部を細胞に導入すると、そのプラスミド上に UBF や Pol I のサブユニットがリクルートされ、同時に rRNA 前駆体の成熟に関わる因子もリクルートされることが報告されている³⁵⁾。上述のヒストン遺伝子領域に形成される HLB の形成においては、ヒストン mRNA の存在とは独立して、ヒストン遺伝子領域の特定の DNA 配列が、HLB 構成因子をリクルートすることが報告されている³⁶⁾。したがって HLB の形成に関しては、RNA と DNA 配列、さらにそれを構成する因子の協調的な複合体形成が核内における HLB 形成に重要であることが示唆される。核小体の構造形成においても HLB の形成と同様の分子機構で集合するものと考えられる。UBF が NOR に集積することで核小体の基盤が形成され、UBF が結合した染色体領域から転写産物が合成されると、合成された rRNA 前駆体が核となって rRNA 前駆体の成熟に必要な因子の集合を誘導し、結果として核小体の構造が形成される、という多段階の形成機構が考えられる。しかしながら、核小体の形成はさらに複雑である。核小体の数は、NOR を持つ染色体の数に比べて明らかに少ない。このことは、いくつもの染色体領域に分散した NOR が一つの核小体に集合していることを意味する。また核小体の膜あるいは殻となる染色体領域がどのように核小体に集合するのかもまったくわかっておらず、核小体の構造形成を理解する上で大きな課題である。この点を明らかにするためには、長大な IGS 領域の DNA やそこに相互作用する因子、また IGS から合成される RNA の核小体構造形成への役割を含めて、何かブレークスルーが必要である。

5. おわりに

本稿では、核小体の基盤を作る rRNA 遺伝子の構造とその機能領域、核小体形成のダイナミクスについて概説した。rRNA の転写は、増殖細胞で起こる転写全体の約 40~60% を占めているものと考えられ、エネルギー消費量においても多くを占める重要な反応である。核小体の機能は増殖細胞において特に活性化されていることから、古くからがんの病理診断にも利用されてきた。核小体の機能を抑制することは細胞増殖の停止につながり、核小体は抗がん剤開発のよいターゲットとなりうる。最近 Pol I の特異的な阻害剤が、核小体ストレスを引き起こし、p53 を介したアポトーシスを誘導することが報告された³⁷⁾。B 細胞リンパ腫や白血病への利用が期待される。しかしながら、核小体機能抑制によるアポトーシスの誘導には野生型の p53 が必要である。腫瘍によっては p53 に変異が入っている場合もあり、Pol I の阻害剤の有効性は期待できないかもしれない。本稿で考察した核小体形成の基盤が解明されることで、これまでとは異なる細胞増殖阻害剤の開発につながる可能性があり、核小体構造形成の分子基盤の解明は今後の重要な研究課題である。

文 献

- 1) Gonzalez, I.L. & Sylvester, J.E. (1995) *Genomics*, **27**, 320-328.
- 2) Moss, T., Langlois, F., Gagnon-Kugler, T., & Stefanovsky, V. (2007) *Cell Mol. Life Sci.*, **64**, 29-49.
- 3) Grummt, I. (2003) *Genes Dev.*, **17**, 1691-1702.
- 4) Pikaard, C.S., Pape, L.K., Henderson, S.L., Ryan, K., Paalman, M.H., Lopata, M.A., Reeder, R.H., & Sollner-Webb, B. (1990) *Mol. Cell Biol.*, **10**, 4816-4825.
- 5) Mayer, C., Schmitz, K.M., Li, J., Grummt, I., & Santoro, R. (2006) *Mol. Cell*, **22**, 351-361.
- 6) van de Nobelen, S., Rosa-Garrido, M., Leers, J., Heath, H., Soochit, W., Joosen, L., Jonkers, I., Demmers, J., van der Reijden, M., Torrano, V., Grosveld, F., Delgado, M.D., Renkawitz, R., Galjart, N., & Sleutels, F. (2010) *Epigenetics Chromatin*, **3**, 19.
- 7) Smid, A., Finsterer, M., & Grummt, I. (1992) *J. Mol. Biol.*, **227**, 635-647.
- 8) Nemeth, A., Perez-Fernandez, J., Merkl, P., Hamperl, S., Gerber, J., Griesenbeck, J., & Tschochner, H. (2013) *Biochim. Biophys. Acta*, **1829**, 306-317.
- 9) Nemeth, A., Guibert, S., Tiwari, V.K., Ohlsson, R., & Langst, G. (2008) *EMBO J.*, **27**, 1255-1265.
- 10) Grummt, I. (2007) *Hum. Mol. Genet.*, **16**, R21-R27.
- 11) Zentner, G.E., Saiakhova, A., Manaenkova, P., Adams, M.D., & Scacheri, P.C. (2011) *Nucleic Acids Res.*, **39**, 4949-4960.
- 12) Audas, T.E., Jacob, M.D., & Lee, S. (2012) *Mol. Cell*, **45**, 147-157.
- 13) Hernandez-Verdun, D. (2006) *Histochem. Cell Biol.*, **125**, 127-137.
- 14) van Koningsbruggen, S., Gierlinski, M., Schofield, P., Martin, D., Barton, G.J., Ariyurek, Y., den Dunnen, J.T., & Lamond, A.I. (2010) *Mol. Biol. Cell*, **21**, 3735-3748.
- 15) Nemeth, A., Conesa, A., Santoyo-Lopez, J., Medina, I., Montaner, D., Péterfia, B., Solovei, I., Cremer, T., Dopazo, J., & Längst, G. (2010) *PLoS Genet.*, **6**, e1000889.
- 16) Leung, A.K., Gerlich, D., Miller, G., Lyon, C., Lam, Y.W., Lleres, D., Daigle, N., Zomerdijk, J., Ellenberg, J., & Lamond, A.I. (2004) *J. Cell Biol.*, **166**, 787-800.
- 17) Heix, J., Vente, A., Voit, R., Budde, A., Michaelidis, T.M., & Grummt, I. (1998) *EMBO J.*, **17**, 7373-7381.
- 18) Okuwaki, M., Tsujimoto, M., & Nagata, K. (2002) *Mol. Biol. Cell*, **13**, 2016-2030.
- 19) Sirri, V., Roussel, P., & Hernandez-Verdun, D. (2000) *J. Cell Biol.*, **148**, 259-270.
- 20) Moyné, G. & Garrido, J. (1976) *Exp. Cell Res.*, **98**, 237-247.
- 21) Ma, N., Matsunaga, S., Takata, H., Ono-Maniwa, R., Uchiyama, S., & Fukui, K. (2007) *J. Cell Sci.*, **120**, 2091-2105.
- 22) Gambe, A.E., Matsunaga, S., Takata, H., Ono-Maniwa, R., Baba, A., Uchiyama, S., & Fukui, K. (2009) *FEBS Lett.*, **583**, 1951-1956.
- 23) Van Hooser, A.A., Yuh, P., & Heald, R. (2005) *Chromosoma*, **114**, 377-388.
- 24) Carron, C., Balor, S., Delavoie, F., Plisson-Chastang, C., Faubladiere, M., Gleizes, P.E., & O'Donohue, M.F. (2012) *J. Cell Sci.*, **125**, 4532-4542.
- 25) Savino, T.M., Gebrane-Younes, J., De Mey, J., Sibarita, J.B., & Hernandez-Verdun, D. (2001) *J. Cell Biol.*, **153**, 1097-1110.
- 26) Sasaki, Y.T., Ideue, T., Sano, M., Mituyama, T., & Hirose, T. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 2525-2530.
- 27) Clemson, C.M., Hutchinson, J.N., Sara, S.A., Ensminger, A. W., Fox, A.H., Chess, A., & Lawrence, J.B. (2009) *Mol. Cell*, **33**, 717-726.
- 28) Sunwoo, H., Dinger, M.E., Wilusz, J.E., Amaral, P.P., Mattick, J.S., & Spector, D.L. (2009) *Genome Res.*, **19**, 347-359.
- 29) Chen, L.L. & Carmichael, G.G. (2009) *Mol. Cell*, **35**, 467-478.
- 30) Shevtsov, S.P. & Dundr, M. (2011) *Nat. Cell Biol.*, **13**, 167-173.
- 31) Karpen, G.H., Schaefer, J.E., & Laird, C.D. (1988) *Genes Dev.*, **2**, 1745-1763.
- 32) Oakes, M.L., Johzuka, K., Vu, L., Eliason, K., & Nomura, M. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**, 6223-6238.
- 33) Mais, C., Wright, J.E., Prieto, J.L., Raggett, S.L., & McStay, B. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 50-64.
- 34) Prieto, J.L. & McStay, B. (2007) *Genes Dev.*, **21**, 2041-2054.
- 35) Kopp, K., Gasiorowski, J.Z., Chen, D., Gilmore, R., Norton, J. T., Wang, C., Leary, D.J., Chan, E.K., Dean, D.A., & Huang, S. (2007) *Mol. Biol. Cell*, **18**, 394-403.
- 36) Salzler, H.R., Tatomer, D.C., Malek, P.Y., McDaniel, S.L., Orlando, A.N., Marzluff, W.F., & Duronio, R.J. (2013) *Dev. Cell*, **24**, 623-634.
- 37) Bywater, M.J., Poortinga, G., Sanij, E., Hein, N., Peck, A., Cullinane, C., Wall, M., Cluse, L., Drygin, D., Anderes, K., Huser, N., Proffitt, C., Bliesath, J., Haddach, M., Schwaebe, M. K., Ryckman, D.M., Rice, W.G., Schmitt, C., Lowe, S.W., Johnstone, R.W., Pearson, R.B., McArthur, G.A., & Hannan, R.D. (2012) *Cancer Cell*, **22**, 51-65.