

УДК 577.29

Особенности процессинга теломеразных РНК дрожжей и человека

М. П. Рубцова^{1,2,3*}, Д. П. Василькова¹, Ю. В. Нарайкина^{3,4}, О. А. Донцова^{1,2,3}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40

³Сколковский институт науки и технологий, 143026, Москва, территория инновационного центра «Сколково», ул. Нобеля, 3

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 73

*E-mail: mprubtsova@gmail.com

Поступила в редакцию 28.07.2016

Принята к печати 13.09.2016

РЕФЕРАТ Теломераза – один из ключевых компонентов аппарата поддержания длины концов линейных хромосом эукариот – теломер. В результате удаления затравки, используемой для репликации ДНК, линейные хромосомы укорачиваются в каждом раунде деления. На концах линейных хромосом находятся специальные повторяющиеся теломерные последовательности, которые предотвращают потерю генетической информации в результате недорепликации. В соматических клетках высших эукариот теломеры укорачиваются, пока не становятся настолько короткими, что уже не могут выполнять свою функцию. В таких обстоятельствах клетка претерпевает кризис и, как правило, погибает. В редких случаях происходит активация теломеразы, и клетка приобретает неограниченный потенциал деления. Некоторые клетки (половые, эмбриональные, стволовые, а также соматические клетки с высоким пролиферативным потенциалом) поддерживают теломеразную активность, необходимую им для выполнения своих функций. В большинстве соматических клеток теломераза не активна. Для активности теломеразы *in vitro* необходимы два основных компонента – теломеразная обратная транскриптаза и теломеразная РНК. Реактивация теломеразы в раковых клетках происходит в результате восстановления экспрессии гена обратной транскриптазы. Экспрессия теломеразной РНК в большинстве клеток человека конститутивна, что позволяет предполагать другие функции этой РНК, еще недостаточно изученные. Настоящий обзор посвящен биоге-незу теломеразных РНК дрожжей и человека. Мы решили остановиться именно на этих организмах ввиду того, что в последние годы произошел прорыв в изучении процессинга теломеразных РНК разных видов дрожжей и человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА процессинг, сплайсинг, теломераза, теломеразная РНК, транскрипция, экзосома.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ TER – теломеразная РНК; hTR – теломеразная РНК человека; TLC1 – теломеразная РНК *Saccharomyces cerevisiae*; TERT – теломеразная обратная транскриптаза; мяРНК – малые ядерные РНК.

ВВЕДЕНИЕ

Теломераза представляет собой рибонуклеопротеидный комплекс, содержащий обратную транскриптазу (TERT) – белковую субъединицу, обеспечивающую полимеразную активность, и теломеразную РНК (TER) [1, 2]. Теломеразная РНК содержит матрицу для синтеза теломер, а также выполняет важную архитектурную функцию, действуя как структурный каркас для формирования активного фермента [3]. В формировании активного цен-

тра теломеразы участвуют разные элементы сложной пространственной структуры теломеразной РНК, которые способствуют эффективному добавлению нуклеотидов в процессе синтеза теломерного повтора, а также транслокации фермента на теломере, необходимой для процессивного синтеза длинной теломерной последовательности [4]. С разными доменами теломеразной РНК взаимодействуют дополнительные белковые факторы, необходимые для ее стабилизации, эффективной сборки и регу-

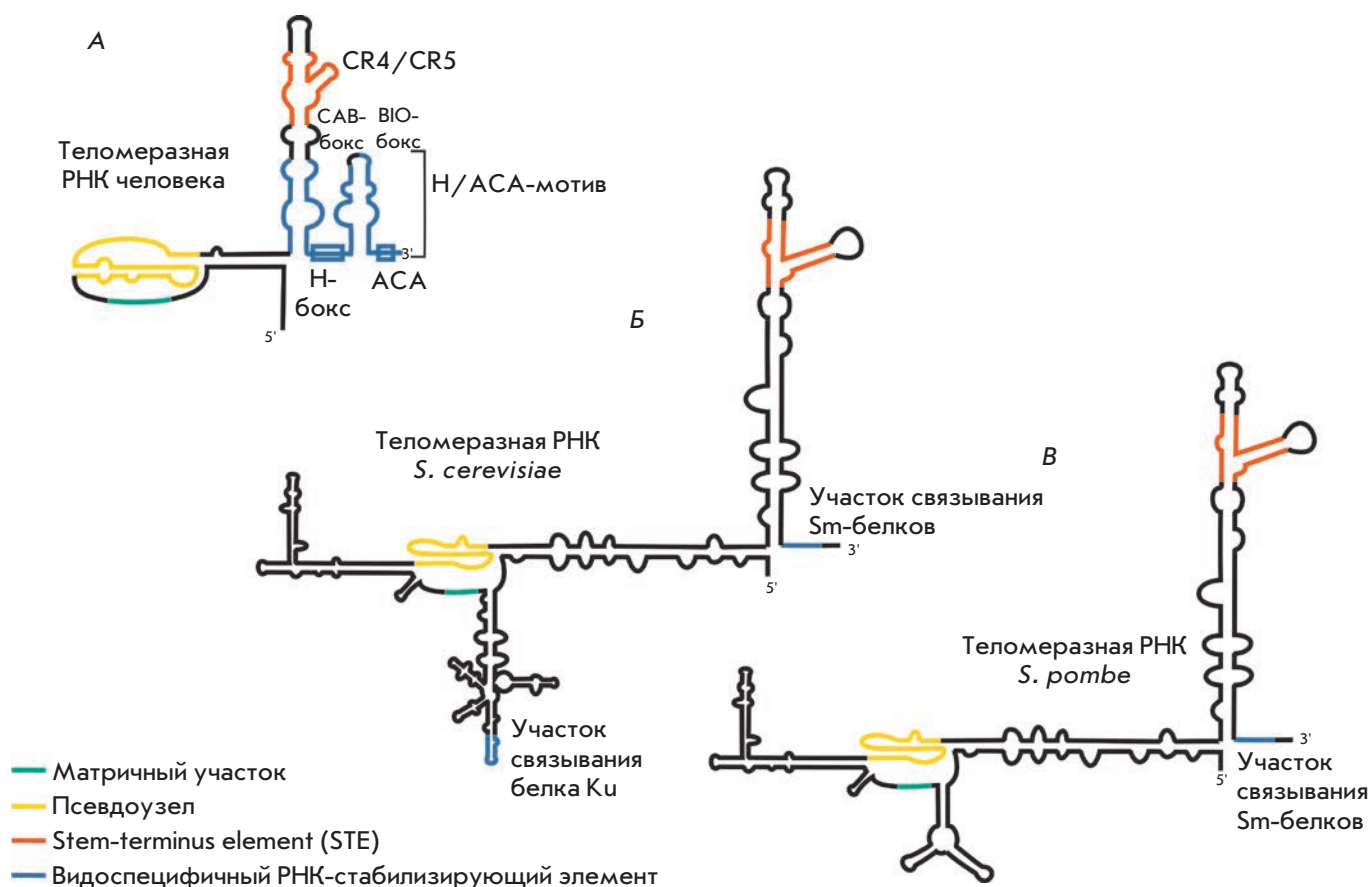


Рис. 1. Структура теломеразных РНК. А – схематическое изображение вторичной структуры теломеразной РНК человека. Б – схематическое изображение вторичной структуры теломеразной РНК *S. cerevisiae*. В – схематическое изображение вторичной структуры теломеразной РНК *S. pombe*

ляции активности фермента, локализации и транспорта внутри клетки.

СТРУКТУРА ТЕЛОМЕРАЗНЫХ РНК

Теломеразные РНК дрожжей и млекопитающих, несмотря на высокую степень вариации как размеров, так и нуклеотидных последовательностей, содержат четыре консервативных структурных элемента, необходимых для образования и функционирования фермента [5–11]. Матричный участок, как следует из его названия, служит матрицей для синтеза теломер [3], псевдоузел участвует в позиционировании матричного участка в активном центре фермента [12] и вместе со STE-элементом (stem-terminus element) взаимодействует с TERT, а видоспецифичный 3'-концевой элемент обеспечивает стабильность теломеразной РНК [13] и необходим для правильной внутриклеточной локализации теломеразной РНК [14–16] (рис. 1).

ПРОЦЕССИНГ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ ТЕЛОМЕРАЗНЫХ РНК

Процессинг и локализация теломеразной РНК *Saccharomyces cerevisiae* (TLC1)

В процессе транскрипции РНК-полимераза II синтезирует две формы теломеразной РНК: длинную полиаденилированную и короткую неполиаденилированную. Судьба длинной полиаденилированной формы в настоящий момент плохо изучена. Известно, что доля этой формы составляет 10% от всей теломеразной РНК клетки, но она не поддерживает активность теломеразы [17]. Предполагается, что длинная полиаденилированная теломеразная РНК может процессироваться до зрелой каталитически активной формы. Известно, что экспрессия TLC1 дрожжей *S. cerevisiae* под контролем сильного промотора (pGal4), направляющего экспрессию белок-кодирующих генов, приводит к накоплению полиа-

денилированной формы, но не влияет на содержание неполиаденилированной, а нарушение системы полиаденилирования блокирует образование полиаденилированной формы и сильно снижает количество зрелой TLC1 в клетке [17, 18]. Эти данные позволяют предполагать, что длинный полиаденилированный первичный транскрипт может подвергаться процессингу с образованием зрелой теломеразной РНК, хотя экспериментальных данных, подтверждающих такой механизм, до сих пор не получено.

В клетках дрожжей в образовании двух форм первичного транскрипта теломеразной РНК принимают участие разные транскрипционные комплексы, ассоциированные с РНК-полимеразой II. РНК-полимераза II на стадии инициации транскрипции образует комплекс с факторами терминации и процессинга, т.е. промотор определяет механизм терминации. Оказалось, что полиаденилированная и неполиаденилированная формы первичного транскрипта теломеразной РНК *S. cerevisiae* образуются независимо. Нарушение сигналов полиаденилирования приводит к исчезновению длинной полиаденилированной формы TLC1, но не влияет на образование неполиаденилированной зрелой формы [18]. TLC1 ассоциирована с факторами терминации транскрипции Nrd1-Nab3-Sen1, характерными для некодирующих РНК [19]. В 3'-концевой области гена *TLC1* находятся участки связывания факторов терминации Nab3 и Nrd1, делеция которых приводит к накоплению полиаденилированного первичного транскрипта [18, 19]. Известно, что факторы терминации Nrd1, Nab3 и Sen1 ассоциированы с комплексом, состоящим из РНК-полимеразы II, кеп-связывающего комплекса (CBP80, CBP20), экзосомы и TRAMP [20]. В состав TRAMP входят белки TRF4/5 (неканоническая поли(А)-полимераза), Air1/2 (РНК-связывающий белок) и РНК-хеликаза MTR4 [21, 22]. TRF4 добавляет короткую олиго(А)-последовательность, создавая неструктурированный 3'-конец таких некодирующих РНК, как малые ядерные, ядрышковые и TLC1, который может процессироваться экзосомой [18, 23–26]. Работу экзосомы ограничивают Sm-белки, ассоциированные с 3'-концевым участком зрелой теломеразной РНК. Если экзосома не встречает на своем пути преграды в виде комплекса Sm-белков, то она полностью деградирует малые ядерные и ядрышковые РНК, а также теломеразную РНК [27] (рис. 2).

Локализация в клетке и сборка активного теломеразного комплекса *S. cerevisiae*

Один из важных этапов биогенеза теломеразной РНК и самой теломеразы – правильная внутриклеточная локализация их компонентов (рис. 2). Как уже сказано, первичный транскрипт теломеразной РНК

как дрожжей, так и человека подвергается котранскрипционному процессингу с последующим созреванием или деградацией при помощи экзосомы. При правильном созревании теломеразная РНК *S. cerevisiae* оказывается в ядрышке, где происходит гиперметилование ее кеп ферментом Tgs1 [28]. Триметилированная процессированная форма TLC1 экспортируется из ядра системой ядерно-цитоплазматического транспорта [29]. За экспорт теломеразной РНК отвечают Crm1/Xpo1, а также факторы экспорта мРНК Mex67 и Dbp5/Rat8. В цитоплазме теломеразная РНК образует комплекс с белковыми субъединицами теломеразы Est1, Est2 и Est3, после чего факторы импорта в ядро, Mtr10 и Kap122, переносят фермент обратно в ядро [29–31], где в поздней S-фазе он взаимодействует с теломерами и удлиняет их.

Процессинг теломеразных РНК делящихся дрожжей

Теломеразная РНК претерпела в процессе эволюции значительные изменения, которые коснулись как структуры, так и механизма процессинга. В настоящий момент не остается сомнений, что у всех организмов теломеразная РНК синтезируется в виде длинного предшественника, правильный процессинг которого приводит к появлению зрелой каталитически активной теломеразной РНК. Теломеразная РНК участвует в тонкой регуляции состояния клетки, поэтому для правильного функционирования теломеразной РНК ее количество в клетке необходимо поддерживать на физиологическом уровне. В делящихся дрожжах (*Schizosaccharomycetes*) [32], дрожжах *Hansenula polymorpha* (*Saccharomycetaceae*) [33] и других грибах (*Sordariaceae*, *Trichocomaceae*) [34] предшественник теломеразной РНК синтезируется РНК-полимеразой II в виде полиаденилированного транскрипта (рис. 3). Первичный транскрипт теломеразной РНК в клетках этих организмов содержит два экзона, интрон и поли(А)-последовательность на 3'-конце. Процессинг первичного транскрипта осуществляет сплайсосома. В результате первой стадии сплайсинга (разрезание в 5'-участке сплайсинга) образуется зрелая форма теломеразной РНК. Впервые процессинг, осуществляемый сплайсосомой, был обнаружен в клетках дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* [32]. Как известно, сплайсинг является строгокоординированным процессом, все стадии которого протекают очень быстро и в строго определенном порядке. На первой стадии 2'-гидроксильная группа аденозина в точке ветвления, находящейся в середине участка ветвления, атакует 5'-концевой участок сплайсинга по сахарофосфатному остову. В результате образуется интермедиат, имеющий структу-

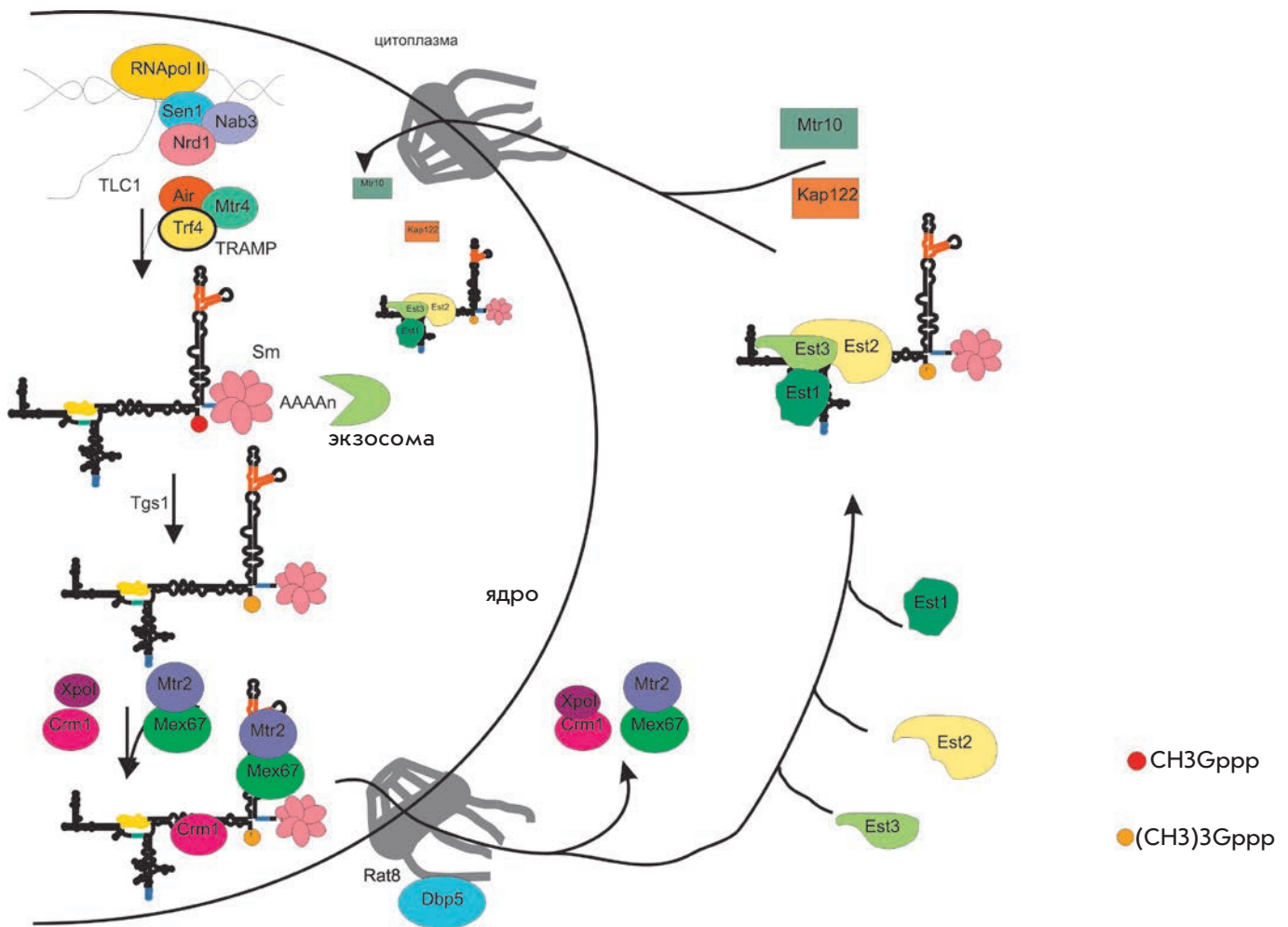


Рис. 2. Модель процессинга и локализации теломеразной РНК *S. cerevisiae*

ру лассо, где 5'-конец интрона присоединен к точке ветвления через 2'-5'-связь. Освободившаяся 3'-гидроксильная группа 5'-концевого экзона атакует 3'-концевой участок сплайсинга, что приводит к соединению экзонов и выщеплению интрона в виде лариата. В состав сплайсосомы входят малые ядерные РНК (мяРНК) U1, U2, U4, U5 и U6, которые за счет комплементарных взаимодействий с разными участками пре-мРНК направляют и обеспечивают быстрое и точное прохождение сплайсинга [35]. Оказалось, что замедление сплайсинга предшественника ТЕР после эффективной первой стадии обусловлено особенностями регуляторных участков самой теломеразной РНК [32, 36]. В *S. pombe* расстояние между точкой ветвления и 3'-концевым участком сплайсинга теломеразной РНК равно 22 нуклеотидам [32], что примерно в 2 раза больше, чем у большинства интронов этого организма [37]. Укорочение интрона до 14 нуклеотидов приводит к полному сплайсингу

и деградации теломеразной РНК [32]. Дальнейший анализ участков сплайсинга выявил интересные особенности [31, 35]. Оказалось, что неполная комплементарность 5'-концевого участка сплайсинга U1 мяРНК [32], высокая степень комплементарности участка ветвления и U2 мяРНК, большое расстояние между точкой ветвления и 3'-концевым участком сплайсинга, а также слабый полипиримидиновый тракт синергично снижают скорость перехода ко второй стадии сплайсинга [36]. В процессинге теломеразной РНК *S. pombe* участвуют белки PrP22 и PrP43, являющиеся хеликазами с DExD/H-боксом [36]. Эти белки, используя энергию гидролиза АТФ, высвобождают интермедиаты сплайсинга при замедлении второй стадии (лигирование экзонов). Таким образом происходит высвобождение сплайсосомы, застывшей на интермедиатах, когда переход ко второй стадии сплайсинга затруднен [38]. Мутации, ингибирующие АТФ-азную активность этих белков, значительно

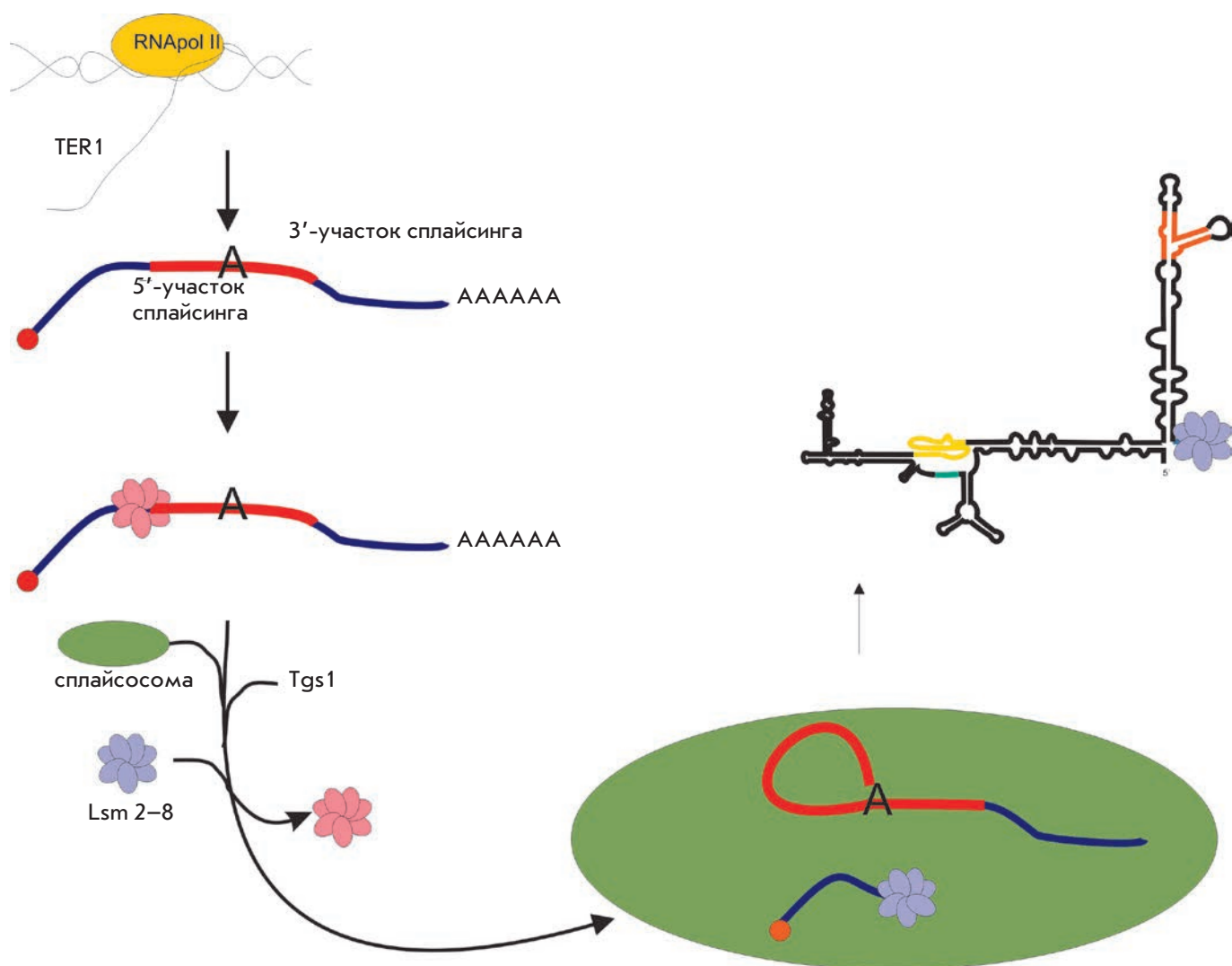


Рис. 3. Модель процессинга теломеразной РНК *S. pombe*

увеличивают содержание полностью сплайсированной формы TER1 [36].

Известно, что с теломеразной РНК дрожжей *S. cerevisiae* связаны Sm-белки [39], которые также взаимодействуют с U1, U2, U4 и U5 мяРНК [40, 41]. Участок связывания Sm-белков расположен в нескольких нуклеотидах от 3'-конца зрелой формы [39]. В клетках *S. pombe* сплайсосома разрезает TER1 на расстоянии одного нуклеотида от участка связывания Sm-белков, что может нарушать стабильность этого комплекса. Оказалось, что Sm-белки взаимодействуют с полиаденилированным предшественником TER1 и способствуют его разрезанию сплайсосомой [42]. Smd2 привлекает Tgs1, который осуществляет посттранскрипционное гиперметилирование TER1 с образованием 2,2,7-триметилгуанозинового 5'-кепа. После

разрезания и гиперметилирования TER1 Sm-белки диссоциируют и замещаются Lsm-белками (рис. 3), которые защищают теломеразную РНК от деградации экзосомой [42].

Впоследствии выяснилось, что другие виды дрожжей, а также грибов поддерживают процессинг теломеразной РНК путем разрезания предшественника сплайсосомой. У *S. cryophilus* и *S. octoporus* 5'-концевой участок сплайсинга содержит цитозин в третьем положении, что стабилизирует взаимодействие с U6 мяРНК на первой стадии и замедляет переход ко второй [43]. У *Aspergillus* sp. и *Neurospora crassa* первый нуклеотид 5'-концевого участка сплайсинга – аденин – важен для высвобождения процессированного продукта после первой стадии сплайсинга [33, 42]. Предполагается, что об-

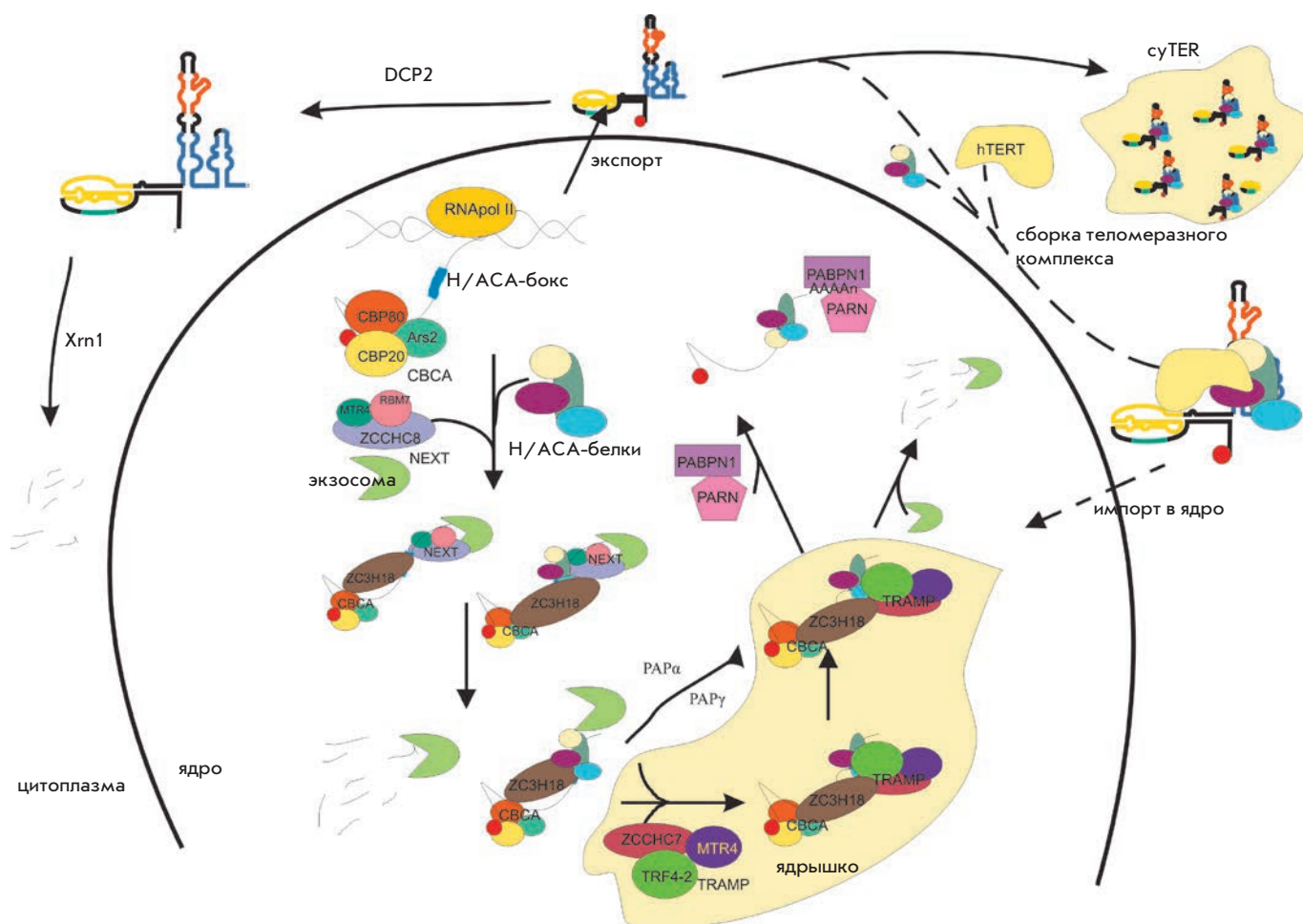


Рис. 4. Модель процессинга и локализации теломеразной РНК человека

разование неканонических взаимодействий между первым и последним гуанозином в интроне необходимо для позиционирования 3'-концевого участка сплайсинга во второй реакции трансэтерификации и лигирования экзонов [44], а замена гуанозина на аденин в теломеразных РНК, наиболее близких к общему предку грибов семейств *Pezizomycotina* и *Taphrinomycotina*, препятствует образованию правильной трехмерной структуры и приводит к остановке сплайсинга после первой реакции трансэтерификации и последующей диссоциации застывшей сплайсосомы [34, 36, 43].

Кардинальные различия в механизме процессинга теломеразных РНК у эволюционно-родственных организмов не влияют на строгий контроль количества и качества теломеразной РНК в клетке. В клетках дрожжей экзосома деградирует неправильно процессированную теломеразную РНК так же, как РНК, не образовавшую комплекс с белками, регулирующими ее локализацию и активность.

Процессинг и локализация теломеразной РНК человека

Теломеразные РНК дрожжей и человека значительно различаются длиной и структурой, однако при этом сохраняется консервативность основных элементов, важных для формирования и функционирования теломеразного комплекса. Зрелая теломеразная РНК человека (hTR) состоит из 451 нуклеотида [45]. Транскрипцию гена *hTTR* осуществляет РНК-полимераза II [46]. Промотор гена *hTTR* достаточно хорошо картирован, а терминаторная область изучена плохо [47]. Предполагается, что сначала образуется первичный транскрипт, длина которого до сих пор не определена. Удлиненную до 541 нуклеотида форму теломеразной РНК человека выявили первоначально методом обратной транскрипции с последующей ПЦР-амплификацией [45]. Более свежие данные, полученные методом высокопроизводительного секвенирования, свидетельствуют о существовании первичного транскрипта теломеразной РНК

длиной до 1451 нуклеотида [48]. 3'-Концевой домен теломеразной РНК человека образует структуру, схожую со структурами, общими для РНК семейства H/ACA [49]. Эта структура состоит из двух шпильек, соединенных одноцепочечной петлей H, и содержит одноцепочечный мотив 5'-ACA-3', находящийся в 3 нуклеотидах от 3'-конца зрелой теломеразной РНК (рис. 1). H/ACA-шпильки ассоциированы с набором из четырех белков: дискерина, NHP2, NOP10 и GAR1 [13]. H/ACA-шпилька и белки, связанные с ней, обеспечивают стабильность теломеразной РНК, так же как и других H/ACA-РНК. Известно, что H/ACA-РНК служат гидами при направленном псевдоуридилровании рибосомных РНК, но мишень теломеразной РНК не определена, поэтому H/ACA-мотиву в ее составе отводится только стабилизирующая функция.

Совмещение методов глубокого секвенирования и определения 3'-конца РНК (3'-RACE) позволило выявить гетерогенность 3'-конца теломеразной РНК человека [50]. Оказалось, что 3'-концевая последовательность может содержать от одного до семи дополнительных нуклеотидов, соответствующих геномной последовательности, и короткий олиго(A)-участок (1–10 нуклеотидов). Таким образом, можно заключить, что теломеразная РНК синтезируется в виде удлиненного предшественника, который процессируется с образованием промежуточной олигоденилированной формы.

Известно, что мяРНК, содержащие H/ACA-мотивы, подвергаются процессингу при помощи экзосомы [51]. В клетках млекопитающих экзосому к ее субстрату привлекают несколько белковых комплексов. Известно, что комплекс TRAMP (TRF4, ZCCHC7 и MTR4) участвует в деградации некодирующих РНК и aberrантных транскриптов в ядрышке. Для этого белок TRF4 олигоденилирует транскрипт, что служит сигналом для деградации экзосомой [51, 52]. Комплекс NEXT (RBM7, ZCCHC8 и MTR4) привлекает экзосому на активно транскрибируемые РНК и так называемые PROMoter uPstream Transcripts (PROMPTs), синтез которых начинается перед промоторами кодирующих генов [53, 54]. NEXT взаимодействует с кеп-связывающим комплексом (CBC), образуя комплекс CBCN и осуществляя ко-транскрипционный кеп-зависимый 3'-процессинг или деградацию РНК в ядре [54–57].

Инактивирующие мутации в гене *PARN1*, кодирующем поли(A)-рибонуклеазу 1, были обнаружены недавно у больных с выраженными проявлениями дискератоza, заболевания, связанного с короткими теломерами [58]. Оказалось, что нарушения в функционировании, а также нокдаун гена *PARN1* приводят к снижению общего количества теломеразной

РНК в клетках при увеличении доли непротессированной олигоденилированной РНК [16, 47, 58, 59]. В группе Baumann обнаружили, что сплайсостатин А, ингибитор сплайсинга, не влияет на процессинг теломеразной РНК человека [48], в то время как изогингетин, который блокирует работу не только сплайсосомы, но и экзосомы [55], ингибирует процессинг этой РНК, приводя к накоплению 3'-удлиненной формы. В клетках со сниженным содержанием белка RRP40, основного компонента экзосомы, а также ассоциированных с ней двух нуклеаз – RRP6 и DIS3 – происходит накопление удлиненной с 3'-конца и зрелой форм теломеразной РНК и снижение количества олигоденилированной формы. Зрелая теломеразная РНК накапливается и при нокдауне компонента микропроцессора DGCR8. Оказалось, что DGCR8 участвует в привлечении экзосомы к мяРНК и теломеразной РНК, регулируя таким образом их общее количество в клетке [60]. Нокдаун компонентов NEXT, а также комплекса CBC способствует накоплению 3'-удлиненной формы теломеразной РНК [48]. Белок TRF4, компонент TRAMP, а также канонические поли(A)-полимеразы PAP α и PAP γ осуществляют олигоденилирование предшественника теломеразной РНК [61]. Интересно, что олигоденилирование теломеразной РНК белком TRF4 способствует ее деградации, а PAP α/γ участвует в процессинге с образованием зрелой теломеразной РНК [61]. Олигоденилированную форму теломеразной РНК человека стабилизирует PABPN1 (ядерный поли(A)-связывающий белок 1), который стимулирует синтез поли(A)-последовательности и привлекает PARN, способствуя созреванию hTR. Свободная олиго(A)-последовательность, не защищенная PABPN1, служит сигналом деградации РНК комплексом TRAMP с экзосомой [61].

Одну из важных ролей в процессинге теломеразной РНК человека играют белки, взаимодействующие с доменом H/ACA. Дискерин, NOP10, NHP2, NAF1 и GAR1 являются РНК-шаперонами, и их взаимодействие с теломеразной РНК в ходе процессинга стабилизирует ее, предотвращая деградацию экзосомой. Дискерин защищает теломеразную РНК от деградации ядерной 3'-5'-экзосомой. Нокдаун дискерина и мутации, нарушающие связывание теломеразной РНК с этим белком, приводят к снижению количества зрелой формы теломеразной РНК в клетках, тогда как нокдаун дискерина и PARN1 вызывают накопление теломеразной РНК в цитоплазматических тельцах, названных cyTER (cytoplasmic TER). Деградация теломеразной РНК с 5'-конца, осуществляемая декепирующим белком DCP2 и 5'-3'-экзонуклеазой XRN1 [16], также свидетельствует о цитоплазматической локализации теломеразной РНК.

Суммируя данные по процессингу теломеразной РНК человека, можно предложить общую схему ее синтеза и созревания (рис. 4). Первичный транскрипт во время синтеза РНК-полимеразой II кеппируется и взаимодействует с дискерином, NOP10, NHP2 и NAF1, которые стабилизируют и защищают РНК от деградации [62]. Часть теломеразной РНК, с которой связан дискерин и другие шапероны, претерпевает процессинг с образованием зрелой формы. Для этого комплекс NEXT с экзосомой привлекается СВС-комплексом и укорачивает длинный предшественник в ядре до тех пор, пока не встречает преграду в виде комплекса белков, связанных с мотивом H/ACA [48]. Такой продукт содержит от одного до семи дополнительных нуклеотидов на 3'-конце. Ядерные поли(А)-полимеразы PAPA, PAPγ и TRF4, компонент ассоциированного с экзосомой ядрышкового комплекса TRAMP, олигоаденилируют такой субстрат [48, 60]. Олигоаденилированный предшественник взаимодействует с PABPN1 [60], который защищает его от дальнейшей деградации, а также привлекает PARN1 [16, 48, 59, 60]. PARN1 аккуратно укорачивает олиго(А)-последовательность и оставшиеся дополнительные нуклеотиды, образуя зрелую форму теломеразной РНК. Первичный транскрипт, который не образовал комплекс с дискерином и другими шаперонами, подвергается деградации комплексом TRAMP с экзосомой. Некоторая часть первичного транскрипта экспортируется из ядра в цитоплазму, где декепируется белком DCP2 и подвергается деградации цитоплазматической 5'-3'-экзонуклеазой XRN1 [16].

Известно, что в опухолевых клетках линии HeLa теломеразная РНК накапливается в тельцах Кахаля. В структуре теломеразной РНК выделяют участок, так называемый САВ-бокс, отвечающий за ее локализацию в тельцах Кахаля, где происходит взаимодействие теломеразы с теломерой [63]. Мутации в САВ-боксе [14], так же как и мутации в белке ТСАВ1 [64], нарушают локализацию теломеразной РНК человека в тельцах Кахаля. ТСАВ1 взаимодействует с САВ-боксом теломеразной РНК и обеспечивает ее локализацию в тельцах Кахаля [64]. И мутации, и отсутствие ТСАВ1 не влияют на ферментативную активность теломеразы, но препятствуют ее локализации в тельцах Кахаля и на теломерах [65]. Вероятно, hTERT может образовать комплекс с hTR как в ядре, так и в цитоплазме, но в локализации теломеразы на теломере участвуют тельца Кахаля и непосредственно теломеразная РНК.

В последних работах по изучению процессинга и локализации теломеразных РНК дрожжей и человека показано, что количество теломеразной РНК

в клетке находится под очень строгим контролем. Предполагается, что процессинг и деградация теломеразной РНК являются конкурирующими процессами, баланс которых регулирует количество теломеразной РНК в клетке. Обнаружение теломеразной РНК в цитоплазме ставит новые вопросы. Непонятно, необходима ли эта стадия для процессинга или сборки теломеразы или теломеразная РНК человека выполняет в клетке альтернативные функции, некоторые из которых описаны ранее [66].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Теломераза поддерживает пролиферативный потенциал клеток, что делает ее одним из важнейших объектов изучения старения и трансформации клетки. Нарушения в функционировании теломеразы приводят к развитию опухолей и теломеропатий. Один из основных компонентов теломеразы – теломеразная РНК, ген которой экспрессируется в большинстве типов клеток на протяжении всей жизни. Экспрессия гена *hTERT*, кодирующего второй компонент теломеразы, тонко регулируется, и активация фермента зависит от появления белка hTERT в клетке. Механизм синтеза и процессинга теломеразной РНК привлекает внимание ученых уже больше 10 лет, а за последнее время произошел настоящий прорыв в изучении этой важной стадии биогенеза теломеразы. Одной из наиболее важных особенностей процессинга теломеразных РНК является тонкая регуляция количества этой молекулы в клетке. Как у дрожжей, так и у человека в процессинге теломеразной РНК участвует экзосома, которая быстро деградирует РНК, не защищенную РНК-шаперонами. Оказывается, большая часть продукта транскрипции гена теломеразной РНК деградирует в процессе биогенеза. Нарушения процессинга приводят к деградации теломеразной РНК, что вызывает развитие ряда заболеваний, относящихся к теломеропатиям.

Несмотря на прогресс в понимании механизмов процессинга теломеразной РНК, остаются вопросы, ответы на которые пока не найдены. Полное и детальное понимание как механизмов функционирования, так и биогенеза теломеразы позволит разработать новые подходы к терапии заболеваний, развитие которых связано с нарушениями системы поддержания теломер. ●

Работа по изучению механизмов процессинга теломеразных РНК осуществлена при поддержке РФФИ (грант № 14-04-01637 А), работа по анализу внутриклеточной локализации теломеразных РНК выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-14-10047).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Greider C.W., Blackburn E.H. // *Cell*. 1987. V. 51. № 6. P. 887–898.
2. Morin G.B. // *Cell*. 1989. V. 59. № 3. P. 521–529.
3. Shippen-Lentz D., Blackburn E.H. // *Science*. 1990. V. 247. № 4942. P. 546–552.
4. Blackburn E.H., Collins K. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011. V. 3. № 5. a003558.
5. Theimer C.A., Feigon J. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2006. V. 16. № 3. P. 307–318.
6. Egan E.D., Collins K. // *RNA*. 2012. V. 18. № 10. P. 1747–1759.
7. Schmidt J.C., Cech T.R. // *Genes Dev.* 2015. V. 29. № 11. P. 1095–1105.
8. Zhang Q., Kim N.-K., Feigon J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. № 51. P. 20325–20332.
9. Qi X., Li Y., Honda S., Hoffmann S., Marz M., Mosig A., Podlevsky J.D., Stadler P.F., Selker E.U., Chen J.J.-L. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 1. P. 450–462.
10. Webb C.J., Zakian V.A. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2008. V. 15. № 1. P. 34–42.
11. Евфратов С.А., Смекалова Е.М., Головин А.В., Логвина Н.А., Зверева М.Э., Донцова О.А. // *Acta Naturae*. 2014. Т. 6. № 2. С. 41–47.
12. Niederer R.O., Zappulla D.C. // *RNA*. 2015. V. 21. № 2. P. 254–261.
13. Fu D., Collins K. // *Mol. Cell*. 2003. V. 11. № 5. P. 1361–1372.
14. Jády B.E., Bertrand E., Kiss T. // *J. Cell Biol.* 2004. V. 164. № 5. P. 647–652.
15. Kiss T., Fayet-Lebaron E., Jády B.E. // *Mol. Cell*. 2010. V. 37. № 5. P. 597–606.
16. Shukla S., Schmidt J.C., Goldfarb K.C., Cech T.R., Parker R. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2016. V. 23. № 4. P. 286–292.
17. Chapon C., Cech T.R., Zaugg A.J. // *RNA* 1997. V. 3. № 11. P. 1337–1351.
18. Смекалова Е.М., Шубернецкая О.С., Зверева М.Э., Громенко Е.В., Рубцова М.П., Донцова О.А. // *Биохимия*. 2012. Т. 77. № 10. С. 1350–1361.
19. Jamonnak N., Creamer T.J., Darby M.M., Schaugency P., Wheelan S.J., Corden J.L. // *RNA*. 2011. V. 17. № 11. P. 2011–2025.
20. Noël J.-F., Larose S., Abou Elela S., Wellinger R.J. // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. № 12. P. 5625–5636.
21. Vasiljeva L., Buratowski S. // *Mol. Cell*. 2006. V. 21. № 2. P. 239–248.
22. Porrua O., Libri D. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2015. V. 16. № 3. P. 190–202.
23. Jia H., Wang X., Anderson J.T., Jankowsky E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. № 19. P. 7292–7297.
24. Jia H., Wang X., Liu F., Guenther U.-P., Srinivasan S., Anderson J.T., Jankowsky E. // *Cell*. 2011. V. 145. № 6. P. 890–901.
25. Wyers F., Rougemaille M., Badis G., Rousselle J.-C., Dufour M.-E., Boulay J., Régnault B., Devaux F., Namane A., Séraphin B., et al. // *Cell*. 2005. V. 121. № 5. P. 725–737.
26. Houseley J., LaCava J., Tollervey D. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006. V. 7. № 7. P. 529–539.
27. Coy S., Volanakis A., Shah S., Vasiljeva L. // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3675052/>.
28. Mouaikel J., Verheggen C., Bertrand E., Tazi J., Bordonné R. // *Mol. Cell*. 2002. V. 9. № 4. P. 891–901.
29. Gallardo F., Olivier C., Dandjinou A.T., Wellinger R.J., Chartrand P. // *EMBO J*. 2008. V. 27. № 5. P. 748–757.
30. Ferrezuelo F., Steiner B., Aldea M., Fitcher B. // *Mol. Cell Biol.* 2002. V. 22. № 17. P. 6046–6055.
31. Wu H., Becker D., Krebber H. // *Cell Rep*. 2014. V. 8. № 6. P. 1630–1638.
32. Box J.A., Bunch J.T., Tang W., Baumann P. // *Nature*. 2008. V. 456. № 7224. P. 910–914.
33. Smekalova E.M., Malyavko A.N., Zvereva M.I., Mardanov A.V., Ravin N.V., Skryabin K.G., Westhof E., Dontsova O.A. // *RNA*. 2013. V. 19. № 11. P. 1563–1574.
34. Qi X., Rand D.P., Podlevsky J.D., Li Y., Mosig A., Stadler P.F., Chen J.J.-L. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 6105.
35. Wahl M.C., Will C.L., Lührmann R. // *Cell*. 2009. V. 136. № 4. P. 701–718.
36. Kannan R., Hartnett S., Voelker R.B., Berglund J.A., Staley J.P., Baumann P. // *Genes Dev.* 2013. V. 27. № 6. P. 627–638.
37. Zhang M.Q., Marr T.G. // *Nucl. Acids Res.* 1994. V. 22. № 9. P. 1750–1759.
38. Semlow D.R., Staley J.P. // *Trends Biochem. Sci.* 2012. V. 37. № 7. P. 263–273.
39. Seto A.G., Zaugg A.J., Sobel S.G., Wolin S.L., Cech T.R. // *Nature*. 1999. V. 401. № 6749. P. 177–180.
40. Raker V.A., Plessel G., Lührmann R. // *EMBO J*. 1996. V. 15. № 9. P. 2256–2269.
41. Patel S.B., Bellini M. // *Nucl. Acids Res.* 2008. V. 36. № 20. P. 6482–6493.
42. Tang W., Kannan R., Blanchette M., Baumann P. // *Nature*. 2012. V. 484. № 7393. P. 260–264.
43. Kannan R., Helston R.M., Dannebaum R.O., Baumann P. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 6104.
44. Parker R., Siliciano P.G. // *Nature*. 1993. V. 361. № 6413. P. 660–662.
45. Feng J., Funk W.D., Wang S.S., Weinrich S.L., Avilion A.A., Chiu C.P., Adams R.R., Chang E., Allsopp R.C., Yu J. // *Science*. 1995. V. 269. № 5228. P. 1236–1241.
46. Egan E.D., Collins K. // *Mol. Cell Biol.* 2012. V. 32. № 13. P. 2428–2439.
47. Zhao J.Q., Hoare S.F., McFarlane R., Muir S., Parkinson E.K., Black D.M., Keith W.N. // *Oncogene*. 1998. V. 16. № 10. P. 1345–1350.
48. Tseng C.-K., Wang H.-F., Burns A.M., Schroeder M.R., Gaspari M., Baumann P. // *Cell Rep*. 2015. V. 13. № 10. P. 2232–2243.
49. Mitchell J.R., Collins K. // *Mol. Cell*. 2000. V. 6. № 2. P. 361–371.
50. Goldfarb K.C., Cech T.R. // *BMC Mol. Biol.* 2013. V. 14. P. 23.
51. Berndt H., Harnisch C., Rammelt C., Stöhr N., Zirkel A., Dohm J.C., Himmelbauer H., Tavanez J.-P., Hüttelmaier S., Wahle E. // *RNA*. 2012. V. 18. № 5. P. 958–972.
52. Rammelt C., Bilen B., Zavolan M., Keller W. // *RNA*. 2011. V. 17. № 9. P. 1737–1746.
53. LaCava J., Houseley J., Saveanu C., Petfalski E., Thompson E., Jacquier A., Tollervey D. // *Cell*. 2005. V. 121. № 5. P. 713–724.
54. Ntini E., Järvelin A.I., Bornholdt J., Chen Y., Boyd M., Jørgensen M., Andersson R., Hoof I., Schein A., Andersen P.R., et al. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2013. V. 20. № 8. P. 923–928.
55. Andersen P.R., Domanski M., Kristiansen M.S., Storrval H., Ntini E., Verheggen C., Schein A., Bunkenborg J., Poser I., Hallais M., et al. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2013. V. 20. № 12. P. 1367–1376.
56. Lubas M., Christensen M.S., Kristiansen M.S., Domanski M., Falkenby L.G., Lykke-Andersen S., Andersen J.S., Dziembowski A., Jensen T.H. // *Mol. Cell*. 2011. V. 43. № 4. P. 624–637.
57. Lubas M., Andersen P.R., Schein A., Dziembowski A., Kudla G., Jensen T.H. // *Cell Rep*. 2015. V. 10. № 2. P. 178–192.
58. Tummala H., Walne A., Collopy L., Cardoso S., de la Fuente

- J., Lawson S., Powell J., Cooper N., Foster A., Mohammed S., et al. // *J. Clin. Invest.* 2015. V. 125. № 5. P. 2151–2160.
59. Moon D.H., Segal M., Boyraz B., Guinan E., Hofmann I., Cahan P., Tai A.K., Agarwal S. // *Nat. Genet.* 2015. V. 47. № 12. P. 1482–1488.
60. Macias S., Cordiner R.A., Gautier P., Plass M., Cáceres J.F. // *Mol. Cell.* 2015. V. 60. № 6. P. 873–885.
61. Nguyen D., Grenier St-Sauveur V., Bergeron D., Dupuis-Sandoval F., Scott M.S., Bachand F. // *Cell Rep.* 2015. V. 13. № 10. P. 2244–2257.
62. Egan E.D., Collins K. // *Mol. Cell. Biol.* 2010. V. 30. № 11. P. 2775–2786.
63. Cristofari G., Adolf E., Reichenbach P., Sikora K., Terns R.M., Terns M.P., Lingner J. // *Mol. Cell.* 2007. V. 27. № 6. P. 882–889.
64. Venteicher A.S., Abreu E.B., Meng Z., McCann K.E., Terns R.M., Veenstra T.D., Terns M.P., Artandi S.E. // *Science.* 2009. V. 323. № 5914. P. 644–648.
65. Stern J.L., Zyner K.G., Pickett H.A., Cohen S.B., Bryan T.M. // *Mol. Cell. Biol.* 2012. V. 32. № 13. P. 2384–2395.
66. Рубцова М.П., Василькова Д.П., Малявко А.Н., Нарайкина Ю.В., Зверева М.Э., Донцова О.А. // *Acta Naturae.* 2012. Т. 4. № 2. С. 44–61.