

УДК 577.218

Некодирующие РНК, регулирующие транскрипцию в клетках эукариот

О. Ю. Буренина^{1,2*}, Т. С. Орецкая^{2,3}, Е. А. Кубарева³

¹Сколковский институт науки и технологий, 143026, Сколково, ул. Нобеля, 3

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40

*E-mail: alunit@inbox.ru

Поступила в редакцию 02.11.2016

Принята к печати 30.08.2017

РЕФЕРАТ В клетках эукариот обнаружено множество относительно небольших (длиной до 1000 нуклеотидных остатков) молекул РНК, выполняющих различные регуляторные функции, в том числе при ремоделировании хроматина и пролиферации. Эти РНК не подвергаются трансляции, т.е. являются некодирующими (нкРНК). В обзоре описаны нкРНК эукариот, участвующие в регуляции транскрипции главным образом посредством взаимодействия с РНК-полимеразой II (РНКП II) и/или с ее основными факторами транскрипции белковой природы. Обобщены сведения о регуляторных функциях SRA РНК, 7SK и TAR РНК, U1 мяРНК, GAS5 РНК и DHFR РНК. Особое внимание уделено свойствам B1 и B2 РНК мыши и Alu РНК человека, способных связываться с активным центром РНКП II. Обнаружение бактериальных аналогов малых нкРНК эукариот, вовлеченных в регуляцию транскрипции, а именно 6S РНК, позволяет предположить общность их эволюционного происхождения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА некодирующие РНК, РНК-полимераза, регуляция транскрипции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ нкРНК – некодирующие РНК; н.о. – нуклеотидный остаток (при числе); ПИК – преинициаторный комплекс; РНКП – РНК-полимераза; РНП – рибонуклеопротеин; мяРНК – малые ядерные РНК; SINE – от англ. «short interspersed elements», короткие диспергированные повторы.

ВВЕДЕНИЕ

По данным транскриптомного анализа лишь 1.5% от общего числа РНК в клетках эукариот кодируют белки, в то время как остальные транскрипты являются некодирующими (нкРНК). «Репертуар» генов, кодирующих белки, оставался, по-видимому, относительно статичным в ходе эволюции, а число генов нкРНК возрастало при переходе к более сложным организмам. Постоянно экспрессирующиеся в клетке рибосомные, транспортные, малые ядерные и малые ядрышковые нкРНК условно классифицируют как нкРНК домашнего хозяйства – по аналогии с названием наиболее важных для клетки генов [1]. Однако большинство нкРНК выполняют регуляторные функции и участвуют в не менее значимых и часто разнонаправленных молекулярных процессах, таких, как импринтинг и деметилирование ДНК, активация и репрессия транскрипции генов, а также ремоделирование хроматина, интерференция РНК и альтернативный сплайсинг [2–4]. Уровень синтеза многих нкРНК изменяется в различных стрессовых условиях, при онкологических и неврологических заболеваниях [5, 6]. Огромную роль нкРНК играют

в дифференцировке клеток [7]. Учитывая, что это лишь малая часть известных на сегодняшний день свойств и функций нкРНК, можно предположить, что их вклад в поддержание нормального функционирования клетки не менее значителен, чем вклад белковых факторов.

нкРНК принято разделять на короткие (~20–30 н.о.), к которым относят микроРНК (miR), малые интерферирующие (siРНК), а также РНК, взаимодействующие с белками PIWI (P-element induced wimpy testis, piРНК) [8]; малые нкРНК длиной до 200 н.о. и длинные нкРНК (>200 н.о.). Среди малых нкРНК широкую известность получили РНК, ассоциированные с промотором (раРНК), хотя в этом классе встречаются представители разной длины [9]. Термин длинные некодирующие РНК (lncРНК) чаще применяют к транскриптам длиной несколько тысяч нуклеотидов, относящихся к длинным межгенным нкРНК (lincРНК) и энхансерным РНК (eРНК) [10]. Тем не менее, встречаются и чрезвычайно протяженные нкРНК, состоящие из нескольких сотен тысяч нуклеотидов – очень длинные межгенные нкРНК (very long intergenic ncРНК, vlincРНК) и макроРНК [11].

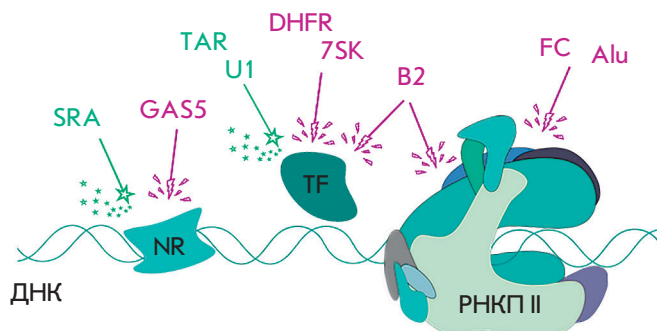


Рис. 1. Известные нкРНК, активирующие (зеленые) или ингибирующие (сиреневые) транскрипцию, взаимодействуя с РНКП II и/или основными транскрипционными факторами (TF), или другими регуляторными белками, включая ядерные рецепторы (NR)

Принимая во внимание многообразие классов и функций нкРНК, неудивительно, что многие из них участвуют в регуляции транскрипции в клетках эукариот. Это происходит, в первую очередь, за счет различных эпигенетических механизмов, в частности, ремоделирования хроматина (эта область функционирования нкРНК относится к наиболее изученным) [12, 13]. Среди таких нкРНК наиболее известны: XIST РНК (X-inactive specific transcript), roX РНК, HOTAIR (Hox transcript antisense intergenic RNA); энхансерные РНК NRIP1, GREB1 и KLK; NEAT1 РНК (nuclear enriched abundant transcript 1), ответственная за формирование параспеклов в ядрах опухолевых клеток. В регуляции котранскрипционного сплайсинга участвуют MALAT1 РНК (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) и H19 РНК, служащие также терапевтическими мишенями при различных, в том числе онкологических, заболеваниях [14]. Кроме того, существуют нкРНК, взаимодействующие с РНК-полимеразой II (РНКП II) или транскрипционными факторами в составе преинициаторного (ПИК) или элонгационного комплексов. К последним относятся 7SK мяРНК и TAR РНК, регулирующие активность фактора элонгации транскрипции Р-TEFb; малая ядерная РНК U1 (U1 мяРНК), взаимодействующая с инициаторным фактором TFIIF; SRA РНК, активирующая рецепторы стероидов, и некоторые другие (рис. 1). Эти нкРНК вовлечены в сложные многостадийные механизмы регуляции и взаимодействуют, как правило, с целым каскадом белков, косвенно воздействуя на процесс транскрипции. Кодированные мобильными генетическими элементами (SINE) B1 и B2 РНК мыши и Alu РНК человека, напротив, способны связывать саму РНКП II [15]. К настоящему времени их комплексы с ферментом не закристаллизованы. Единственная

нкРНК, структура комплекса которой с РНКП II решена методом рентгеноструктурного анализа (РСА), – синтетический аптамер FC РНК, состоящий из двух коротких шпилек [16]. Поскольку во вторичной структуре почти всех перечисленных регуляторных нкРНК содержатся короткие шпилечные элементы, которые и взаимодействуют с активным центром РНКП II, их часто рассматривают как аптамеры к ферменту [17].

Согласно общепринятой классификации TAR РНК, B1 РНК, B2 РНК и U1 мяРНК следует относить к малым нкРНК, тогда как Alu РНК, 7SK РНК, DHFR РНК, SRA РНК и GAS5 РНК являются длинными нкРНК (lncРНК). Конкретные свойства и функции каждой из этих нкРНК подробно рассмотрены в настоящем обзоре. Структурные особенности взаимодействия FC РНК с РНКП II подробно описаны в работе [16].

РЕГУЛЯТОРНЫЕ РНК, КОДИРУЕМЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ЭЛЕМЕНТАМИ СЕМЕЙСТВА SINE

SINE (short interspersed elements) – это ретротранспозоны длиной от 80 до 500 п.н., хаотично расположенные в геноме высших эукариот. Нуклеотидные последовательности SINE, обладающие 65–90% сходством, образуют семейства, и число гомологичных SINE может варьировать от 10^3 до 10^6 копий на клетку [18]. Исторически SINE рассматривали как «генетический мусор», используемый для установления филогенетических связей и изучения видообразования млекопитающих, пока не обнаружили, что транскрипция SINE-«генов» активируется в клетках в ответ на тепловой шок [19]. Предполагают, что это обусловлено повышением доступности SINE для транскрипции в процессе ремоделирования хроматина, а также активацией фактора транскрипции TFIIC, связывающего промоторные области SINE. Как оказалось, SINE вовлечены в процессы регуляции экспрессии генов, локализации мРНК и могут служить энхансерами или мобильными промоторами РНКП II [20]. На данный момент известно, что SINE не кодируют белки и транскрибируются РНКП III, образуя соответствующие SINE РНК. Неожиданным стало открытие способности некоторых SINE РНК связывать РНКП II и ингибировать транскрипцию. Основные результаты получены для B1 и B2 РНК мыши и Alu РНК человека [14, 21]. Повышение уровня экспрессии этих нкРНК в клетках происходит при воздействии УФ- и γ -излучения, вирусных инфекциях, обработке этанолом, антибиотиками и противоопухолевыми препаратами [14]. Эти данные, несомненно, указывают на важную функциональную роль B1, B2 и Alu РНК в жизнедеятельности клетки.

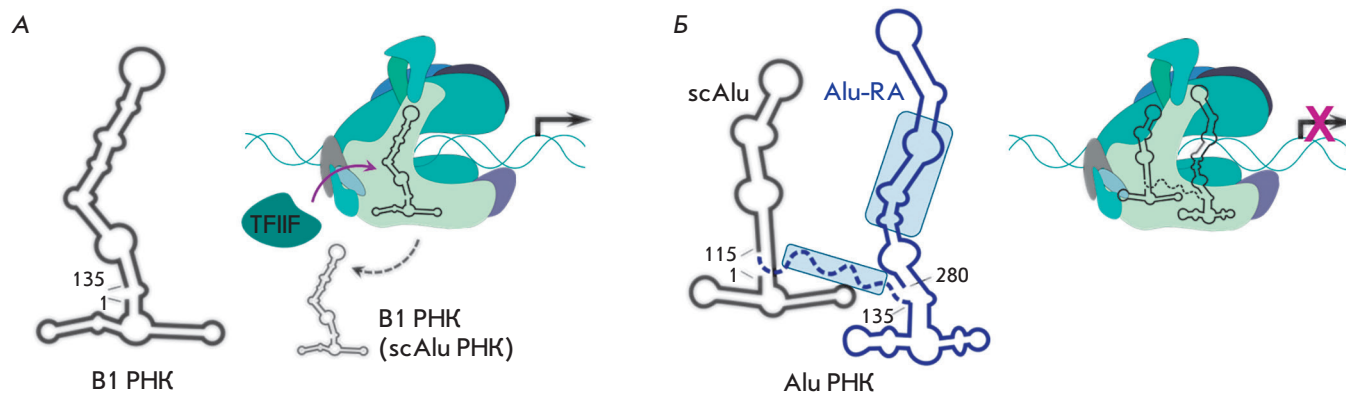


Рис. 2. Схема функционирования V1 РНК мыши (А) и Alu РНК человека (Б). Слева представлены схематические изображения вторичных структур нкРНК. Структурные элементы, обуславливающие ингибирующий эффект Alu РНК, выделены голубыми рамками; функциональный домен (Alu-RA РНК) – синим цветом. А-богатый линкер изображен прерывистой линией. Справа представлены условные схемы взаимодействия РНКП II с V1, scAlu и Alu РНК. Процесс транскрипции обозначен черной стрелкой. V1 и scAlu РНК вытесняются фактором TFIIIF из комплекса с РНКП II и не способны ингибировать транскрипцию, в отличие от Alu РНК

Alu РНК человека и V1 РНК мыши

Свое название SINE-элемент Alu получил благодаря присутствию в нем участков, узнаваемых эндонуклеазой рестрикции из *Arthrobacter luteus* (R.AluI). В геноме человека содержится более 1 млн копий Alu, кодирующих Alu РНК, что составляет около 10.6% ядерной ДНК. В геноме мышей SINE, кодирующие V1 РНК, встречаются реже – не более 550000 на клетку. Обе эти РНК относятся к семейству ретропов малой цитоплазматической 7SL РНК [22] и имеют схожую вторичную структуру (рис. 2). Полноразмерная Alu РНК длиной ~280 н.о. представляет собой тандемный повтор двух V1-подобных элементов, соединенных 20-звенным А-богатым линкером. В ходе процессинга Alu РНК образуется scAlu РНК длиной 118 н.о., которая локализуется в цитоплазме и является полным аналогом V1 РНК мыши (рис. 2) [23]. Alu РНК имеет необычное строение, ее структурированные части были названы «левой» (идентичной scAlu РНК) и «правой рукой» (Alu-RA (right arm), 135–280 н.о. Alu РНК). Каждый домен Alu РНК может связывать одну молекулу РНКП II, но только взаимодействие Alu-RA (или полноразмерной Alu РНК) с ферментом приводит к ингибированию транскрипции. V1 РНК мыши, несмотря на высокое сродство к РНКП II, не способна влиять на транскрипцию (рис. 2А), хотя химерная РНК, состоящая из V1 РНК и Alu-RA, обладает всеми свойствами полноразмерной Alu РНК [24, 25].

Помимо двух РНКП-связывающих доменов, расположенных в «левой» и «правой руке», Alu РНК имеет два домена, обеспечивающих ингибирование транскрипции и локализованных в центральной об-

ласти «правой руки» и в районе А-богатого линкера (рис. 2Б). V1 РНК и scAlu РНК соответственно имеют только РНКП-связывающий домен. По данным криоэлектронной микроскопии как Alu, так и V1 РНК взаимодействуют с доменом «зажим» РНКП II вблизи активного центра фермента [26]. Каким же образом происходит транскрипция в случае нефункциональных V1 РНК и scAlu РНК? Показано, что за «освобождение» РНКП II от ассоциированных с ней V1 РНК и scAlu РНК отвечает фактор транскрипции TFIIIF, вызывающий диссоциацию этих нкРНК из ПИК, в то время как Alu РНК остается связанной с полимеразой (рис. 2). При этом контактов между самим TFIIIF и V1 или scAlu РНК не обнаружено [27]. Вероятно, конформационные изменения в РНКП, вызываемые присоединением TFIIIF, приводят к нарушению РНК-белковых контактов. Поскольку в условиях *in vivo* TFIIIF обычно ассоциирован с РНКП II еще до сборки ПИК на промоторе, вероятно, «бесполезное» связывание нкРНК, не регулирующих транскрипционную активность РНКП, просто не происходит.

Точный механизм взаимодействия Alu РНК с ПИК до конца не выяснен. В условиях *in vitro* ингибирование наблюдалось только при добавлении Alu РНК до инициации транскрипции с промотора, хотя эффективность синтеза abortивных транскриптов в присутствии Alu РНК падала в ~10 раз. При этом методом «торможения» в геле показано, что Alu РНК комигрирует вместе с ДНК в составе ПИК РНКП II [23]. Таким образом, ингибирование транскрипции осуществляется не за счет конкуренции с ДНК, а в результате изменения активности фермента вследствие образования специфических нкРНК-

белковых контактов. Тем не менее, Alu РНК не может остановить активную транскрипцию и выполняет свои функции до стадии инициации.

В2 РНК мыши

В2 РНК транскрибируется РНКП III в присутствии факторов TFIIIV и TFIIIC с соответствующих В2 SINE (относящихся к семейству ретропов тРНК^{Ala}), количество которых оценивается в $\sim 10^5$ копий на клетку [28]. Эта РНК выделяется вместе с РНКП II при иммуносоождении ядерных экстрактов клеток, подвергнутых тепловому шоку [29], и способна ингибировать транскрипцию *in vitro* [25]. Нокаун В2 РНК в клетках мыши приводит к повышению уровня экспрессии актина и гексокиназы II, тогда как в условиях теплового шока их гены репрессированы [24]. Увеличение количества В2 РНК зафиксировано при клеточном ответе на различные факторы стресса, а также в эмбриональных и опухолевых клетках [30]. Таким образом, важная роль этой нкРНК как ингибитора транскрипции не вызывает сомнений. К сожалению, количество данных о характере функционирования В2 РНК *in vivo* весьма незначительно, однако механизм действия этой нкРНК изучен достаточно детально.

Клетки мыши содержат не менее четырех вариантов В2-транскриптов различной длины: ~ 150 , ~ 180 , ~ 240 и ~ 500 н.о. Два наиболее протяженных варианта полиаденилированы и весьма стабильны ($\tau_{1/2} = 60$ мин), тогда как время деградации транскрипта 180 н.о. составляет всего 3–4 мин. Самый короткий 150-звенный вариант В2 РНК более устойчив и характеризуется значением $\tau_{1/2}$ около 20 мин [31]. В 2004 г. была определена вторичная структура именно транскрипта длиной ~ 180 н.о. [25], в которой условно выделяют три части (рис. 3А): (1) протяженный двухцепочечный участок (1–72 н.о.), в центре которого находится расплетенный фрагмент; (2) слабо структурированный участок (73–153 н.о.), содержащий три небольшие шпильки; (3) короткая 3'-концевая неструктурированная AU-богатая область (154–178 н.о.), консервативная у всех SINE.

Методом футпринтинга установлено, что РНКП II связывает наименее структурированную половину молекулы (73–155 н.о.), а 5'-концевая шпилька не обязательна ни для связывания В2 РНК с РНКП II, ни для репрессии транскрипции. Анализ различных делеционных мутантов В2 РНК позволил определить участок длиной 51 н.о. (81–131 н.о.), который непосредственно взаимодействует с РНКП II и ингибирует транскрипцию *in vitro* с такой же эффективностью, как и полноразмерная В2 РНК [31]. Причем наиболее важную роль в ингибировании транскрипции играет неструктурированная область В2 РНК (99–115 н.о.),

фланкированная двумя шпильками. Удаление любой из них приводит к потере ингибирующей способности полностью функционального делеционного производного В2 РНК (81–131 н.о.). В то же время отсутствие этих шпилек в полноразмерной В2 РНК не сказывалось на ее свойствах. При этом все перечисленные делеционные мутанты В2 РНК специфически связывали РНКП при сборке ПИК на промоторе [31, 32]. Таким образом, для репрессии транскрипции необходимо правильное позиционирование одноцепочечного участка (99–115 н.о.) В2 РНК в комплексе с РНКП II, которое, по-видимому, может осуществлять любая из имеющихся шпилечных структур.

Сходство структурной организации В2 РНК и Alu РНК указывает на то, что помимо активного центра (блокирование которого приводит к глобальному ингибированию синтеза мРНК) РНКП II содержит дополнительный докинг-центр, высокоспецифичный к нкРНК. Как и в случае Alu РНК, в условиях *in vitro* образуется тройной комплекс РНКП II с В2 РНК и промотором одновременно [25]. Таким образом, В2 РНК может также связываться с РНКП после образования ее стабильного комплекса с промотором и ингибировать транскрипцию уже на стадии инициации. При этом невозможным становится не только синтез полноразмерных мРНК, но и абортных транскриптов. В результате экспериментов по кросслинкингу и футпринтингу ПИК, связанного с В2 РНК, установлено, что эта нкРНК мешает правильной координации промотора в активном центре полимеразы, тем самым переводя ПИК в инертную форму. По сути, В2 РНК меняет конформацию «закрытого» комплекса РНКП и препятствует его переходу в «открытый» и, тем более, в инициаторный комплексы. В то же время все ассоциированные с ПИК факторы, в частности ТВР и TFIIIV, остаются связанными с промотором и удерживают комплекс на ДНК [25].

Напомним, что в клетках мыши экспрессируется также В1 РНК, связывающая РНКП II, но не способная ингибировать транскрипцию. В1 РНК имеет сравнимое с В2 РНК сродство к полимеразе и способна вытеснять В2 РНК из ПИК. Следовательно, В1 РНК должна препятствовать функционированию В2 РНК. Однако в экспериментах *in vitro* было показано, что В2 РНК может ингибировать транскрипцию даже в том случае, когда ПИК предварительно был связан с В1 РНК [27]. Как осуществляется конкуренция между этими двумя нкРНК *in vivo* не установлено. Поскольку нефункциональный аналог существует и у Alu РНК человека, можно предположить, что эти неактивные нкРНК – В1 и scAlu РНК, в определенных условиях могут заменять соответственно В2 и Alu РНК и вновь стимулировать транскрипцию.

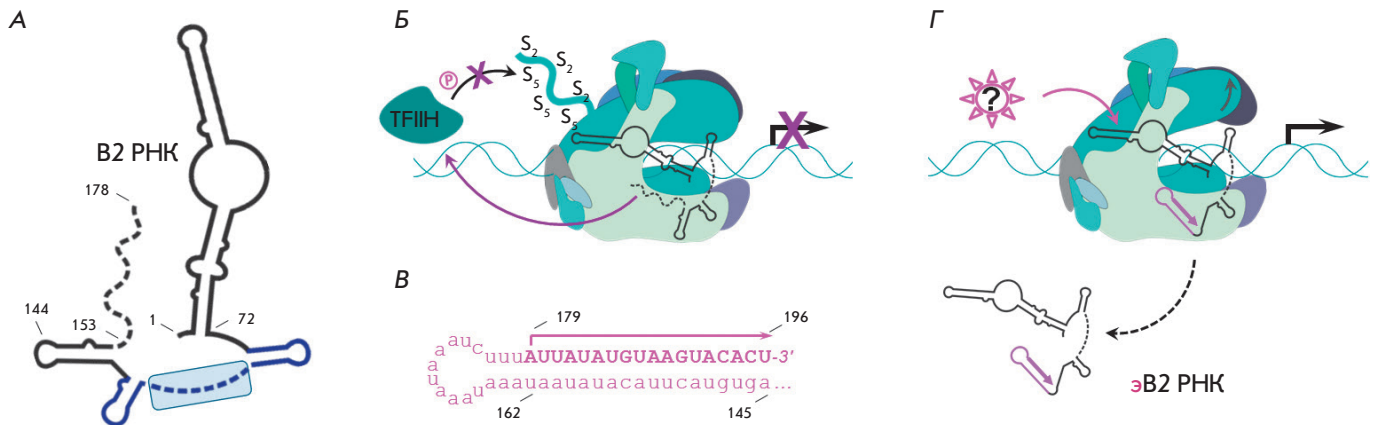


Рис. 3. Схема функционирования B2 РНК мыши. А – схематичное изображение вторичной структуры B2 РНК мыши. Неструктурированные части молекулы обозначены пунктирной линией, функциональная часть – синим цветом, ингибирующий домен выделен голубой рамкой. Б – «выключая» киназную активность TFIIF, B2 РНК предотвращает инициацию транскрипции. Остатки Ser2 и Ser5 CTD Rpb1 обозначены как «S₂» и «S₃», фосфорилирование – «P» в круге. В – нуклеотидная последовательность 3'-концевого участка (145–178 н.о.) B2 РНК, удлиняющегося на 18 н.о. [34]. Г – в результате элонгации 3'-конца B2 РНК (эB2 РНК) образуется новая шпилька (выделена розовым цветом), приводящая к конформационным изменениям РНКП II (показаны серой стрелкой) и диссоциации РНК. Процесс транскрипции с ДНК-матрицы обозначен черной стрелкой, транскрипция на матрице B2 РНК – розовой

Интересно, что помимо непосредственного «физического» блокирования активного центра РНКП II, B2 РНК специфически ингибирует киназную активность фактора транскрипции TFIIF (рис. 3Б). В состав TFIIF входит циклинзависимая киназа 7 (CDK7), в обычных условиях фосфорилирующая остатки серина в составе гептапептидных повторов YSPTSPS (главным образом Ser5) С-концевого домена (CTD) большой субъединицы (Rpb1) РНКП II. Модификация Ser2 и Ser5 CTD Rpb1 чрезвычайно важна для транскрипции. Она происходит на различных стадиях транскрипции: в инициаторном комплексе домен не фосфорилирован и, наоборот, гиперфосфорилирован при элонгации транскрипции [33]. Таким образом, B2 РНК не только создает конформационные затруднения самой РНКП II, но и делает невозможным переход в стадию элонгации, влияя на функционирование фактора транскрипции. Хотя TFIIF не является основной мишенью B2 РНК, и его репрессия обусловлена скорее всего взаимодействием B2 РНК с ПИК, этот случай уникален для подобных нкРНК.

Еще более удивительным свойством B2 РНК оказалась ее способность к собственной элонгации в комплексе с РНКП II [34]. При этом фермент использует 3'-конец молекулы B2 РНК в качестве матрицы для транскрипции и синтезирует *de novo* 18 «дополнительных» нуклеотидных остатков, образу-

ющих протяженную стабильную шпильку (рис. 3В,Г). Элонгация B2 РНК приводит к диссоциации молекулы из ПИК и, по-видимому, обеспечивает обратимость ингибирования. Высвободившаяся удлиненная B2 РНК подвергается деградации. Анализ данных компьютерного моделирования свидетельствует о том, что удлинение цепи B2 РНК (как и любой другой РНК, находящейся в активном центре полимеразы) должно приводить к частичному открытию домена «зажим» РНКП II и, как следствие, к ослаблению связывания лиганда с ферментом. По сути, образующийся новый структурный элемент элонгированной B2 РНК «выталкивает» молекулу из ПИК. Отметим, что элонгация B2 РНК пока изучена в условиях *in vitro* только при обработке комплекса B2 РНК с РНКП II клеточным экстрактом [34]. Полагают, что РНК-зависимая транскрипция РНКП II инициируется белковым фактором, природа которого неизвестна.

Поскольку большинство РНК-полимераз являются ДНК-зависимыми (за исключением РНКП ретровирусов), удлинение B2 РНК представляет своего рода исключение из правила, так как фермент меняет свою субстратную специфичность. На сегодняшний день известно лишь несколько подобных примеров, также связанных с функционированием нкРНК. Например, данный механизм используется вирусом гепатита δ, а также виридами растений для репликации соб-

ственных геномов. Не имея своей РНК-полимеразы, эти патогенные кольцевые нкРНК используют РНКП клеток хозяев, перепрограммируя их на синтез РНК с РНК-матрицы [35]. Более ярким примером может быть прокариотическая 6S РНК, которая, как и В2 РНК, ингибирует транскрипцию за счет взаимодействий с РНКП. В определенных условиях бактериальная РНКП может синтезировать на матрице 6S РНК короткие транскрипты длиной до 30 н.о. (пРНК). При этом фермент диссоциирует из комплекса с 6S РНК и возобновляет транскрипцию с промоторов генов [36]. Таким образом, несмотря на колоссальные различия в процессах транскрипции у про- и эукариот, между функционированием 6S РНК бактерий и В2 РНК мыши можно отметить несомненное сходство.

НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК, РЕГУЛИРУЮЩИЕ АКТИВНОСТЬ ОСНОВНЫХ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ

U1 мяРНК

U1 мяРНК – одна из пяти основных мяРНК, формирующих ядро сплайсосомы. U1 мяРНК человека имеет длину 164 н.о. и ассоциирована с белками U1-А, U1-С и U1-70к, а также с восемью белками семейства Sm, образующими вместе комплекс U1 мяРНП (~245 кДа). Основная функция U1 мяРНП – узнавание премРНК на первой (иницирующей) стадии сборки сплайсосомы, осуществляемое благодаря комплементарным взаимодействиям 5'-концевого участка U1 мяРНП с сайтом сплайсинга интронов [37]. Тем не менее, помимо своей основной роли, U1 мяРНК способна взаимодействовать с циклином Н (CycH) в составе ТFIIN, что, в свою очередь, приводит к повышению киназной активности другой субъединицы этого фактора – CDK7 (рис. 4А). В условиях транскрипции *in vitro* было показано, что присутствие в реакционной смеси U1 мяРНК повышает скорость образования первой фосфодиэфирной связи, а эффективность инициации транскрипции увеличивается более чем в 10 раз. Кроме того, U1 мяРНК стимулирует abortивную инициацию, а также реинициацию транскрипции с промотора, предшествующего 5'-концевому сайту сплайсинга [38]. Помимо ТFIIN, U1 мяРНК может взаимодействовать с другим фактором транскрипции – TAF15, ассоциированным с TFIID в составе ПИК и предположительно участвующим в стадии элонгации [39]. Так или иначе, U1 мяРНК активирует процесс транскрипции, в отличие от других описанных выше регуляторных нкРНК.

DHFR нкРНК

Ген *DHFR* кодирует дигидрофолатредуктазу – один из основных ферментов метаболизма фолатов. Около

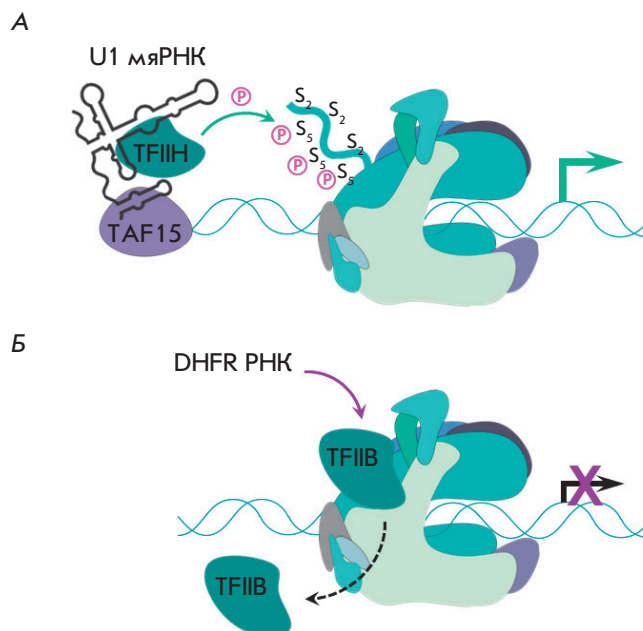


Рис. 4. Схема функционирования U1 мяРНК (А) и DHFR нкРНК (Б). Вторичная структура U1 мяРНК адаптирована из [37], для DHFR нкРНК структурные данные отсутствуют. Стимулируя ТFIIN-зависимое фосфорилирование CTD Rpb1 РНКП II, U1 мяРНК активирует процесс транскрипции (условно показан зеленой стрелкой). DHFR нкРНК ингибирует транскрипцию, вытесняя транскрипционный фактор TFIIB из ПИК

99% мРНК *DHFR* транскрибируются с основного промотора и содержат шесть экзонов. В условиях сынхронного голодания и замедления роста клеток «включается» альтернативный промотор, расположенный на расстоянии ~450 н.о. от основной точки инициации транскрипции. В результате преждевременной терминирования транскрипции во втором интроне образуется короткий продукт экспрессии с минорного промотора – DHFR нкРНК, длина которой варьирует от 800 до 2–3 т.н.о. [40]. Функциональной частью молекулы считается участок длиной ~400 н.о., комплементарный промоторной области собственного гена и содержащий протяженные поли(dG)-последовательности, благодаря которым DHFR нкРНК образует с промотором пурин-пурин-пиримидиновый триплекс, имеющий Н-форму и препятствующий сборке ПИК [41]. Таким образом, DHFR нкРНК относится к классу нкРНК, ассоциированных с промотором [9]. Кроме того, она способна взаимодействовать с транскрипционным фактором TFIIB в составе ПИК, что приводит к его диссоциации [42]. Поскольку связывание TFIIB с промотором является ключевой стадией сборки ПИК, а DHFR нкРНК полностью предотвращает этот процесс, наступает ингибирование транскрипции. Какой

именно участок DHFR нкРНК отвечает за взаимодействие с TFIIВ, неизвестно, как, впрочем, и детали процессинга самой DHFR нкРНК.

7SK и TAR РНК

7SK РНК человека и TAR РНК ВИЧ являются, вероятно, самыми известными эукариотическими нкРНК, участвующими в регуляции элонгации транскрипции. Обе нкРНК выступают в роли платформ для сборки белковых ассоциатов, модулирующих активность элонгационного комплекса РНКП II, а также взаимодействуют с фактором Р-TEFb [43–45].

Р-TEFb – ключевой транскрипционный фактор, который стимулирует переход РНКП II, приостановленной на промоторе (так называемые паузы транскрипции, необходимые для 5'-кэпирования растущей цепи мРНК), в стадию активной элонгации. Р-TEFb состоит из циклинзависимой киназы 9 (CDK9) и циклина T1 или его аналогов CusT2a и CusT2b (далее CusT). Его основная функция состоит в фосфорилировании Ser2 CTD Rpb1 РНКП II, а также репрессоров транскрипции NELF и DSIF [46] (рис. 5А). Привлечение Р-TEFb к полимеразе осуществляется благодаря различным ДНК-связывающим белкам, в первую очередь Brd4, а также классическим транскрипционным факторам, таким, как NF-κB, HSF, p53, c-Myc и др. После преодоления паузы Р-TEFb связывает ряд других белков, образующих суперэлонгационный комплекс (SEC) РНКП II [47].

В отсутствие Р-TEFb РНКП II способна синтезировать только короткие 5'-концевые последовательности пре-мРНК, т.е. этот фактор необходим для синтеза большинства клеточных мРНК. Взаимодействуя с Р-TEFb, 7SK мяРНК ингибирует его активность, что является важным регуляторным механизмом экспрессии генов в клетках эукариот. С другой стороны, высвобождение Р-TEFb из комплекса с 7SK мяРНК может служить сигналом для роста и пролиферации клеток [48]. TAR РНК ВИЧ, наоборот, активирует Р-TEFb, что способствует инициации транскрипции с 5'-концевого вирусного промотора (5'-LTR) [45]. В данном обзоре описаны лишь основные особенности этих нкРНК и принципы их функционирования.

7SK мяРНК имеет длину 332 н.о. и состоит из четырех основных длинных шпильчатых структур, соединенных неструктурированными участками, и дополнительных малых шпилек. Хотя геном человека содержит сотни псевдогенов 7SK мяРНК, эта РНК (~2×10⁵ копий на клетку) транскрибируется РНКП III с единственного истинного гена, расположенного в шестой хромосоме. Нуклеотидная последовательность этого гена высококонсервативна у позвоночных [49]. В процессе посттранскрипционной модифи-

кации нуклеазы отщепляют от 7SK РНК 3'-концевые 1–3 н.о., а затем происходит аденилирование, приводящее к существованию в клетке трех различных вариантов 7SK мяРНК длиной 330, 331 и 332 н.о., из которых наиболее устойчив 331-звенный. Помимо этого, 7SK мяРНК кэпируется с 5'-конца: метилтрансфераза MePCE метилирует 5'-концевой остаток гуанозина по γ-фосфатной группе. Такой процесс не характерен для транскриптов, синтезированных РНКП III, и к настоящему времени описан только для U6 и 7SK мяРНК [50].

Примерно 90% 7SK мяРНК в клетке остаются связанными с MePCE и вместе с белком LARP7 образуют так называемое ядро рибонуклеопротеинового комплекса 7SK мяРНК (рис. 5Б). MePCE и LARP7 также образуют контакты друг с другом, дополнительно обеспечивая стабильность мяРНК; в таком виде 7SK РНК надежно защищена от деградации. Далее с комплексом связывается белок HEXIM в форме димера, состоящего из взаимозаменяемых паралога HEXIM1 и/или HEXIM2. Аргинин-богатый РНК-связывающий домен (ARM) HEXIM связывает 5'-концевую шпильку 7SK мяРНК, при этом конформация белка изменяется, и он может взаимодействовать с CusT Р-TEFb. Дополнительно С-концевой домен LARP7 связывает CDK9, обеспечивая прочную структуру всего комплекса. По-видимому, 7SK РНК также участвует в образовании контактов с Р-TEFb. В итоге фактор теряет киназную активность, что не позволяет ему обеспечивать элонгацию транскрипции [48, 51, 52].

Однако не весь Р-TEFb оказывается связанным с 7SK мяРНК. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в клеточном ядре свободная и связанная формы Р-TEFb находятся в постоянно поддерживаемом равновесии, контролируемом с помощью различных сигнальных механизмов. Например, ряд гетерогенных ядерных рибонуклеопротеинов (hnRNP) и РНК-хеликаза А (RHA), связываясь с ядром 7SK мяРНК, блокируют доступ Р-TEFb (рис. 5Б). Еще один механизм связан с временной инактивацией Р-TEFb, поскольку только активированная форма белка (с фосфорилированным остатком T186 в так называемой Т-петле CDK9) может взаимодействовать с 7SK мяРНК. За этот процесс отвечают серин-треониновые фосфатазы, включая PPM1G, которую привлекает NF-κB. Ряд белков может также ацетилировать CusT, фосфорилировать HEXIM, деметилировать 7SK мяРНК с 5'-конца или осуществлять протеолиз MePCE, что приводит к дестабилизации комплекса и диссоциации Р-TEFb. После высвобождения из 7SK мяРНК фактор вновь модифицируется [52]. Отметим, что значительная часть Р-TEFb в комплексе с 7SK мяРНК ассоции-

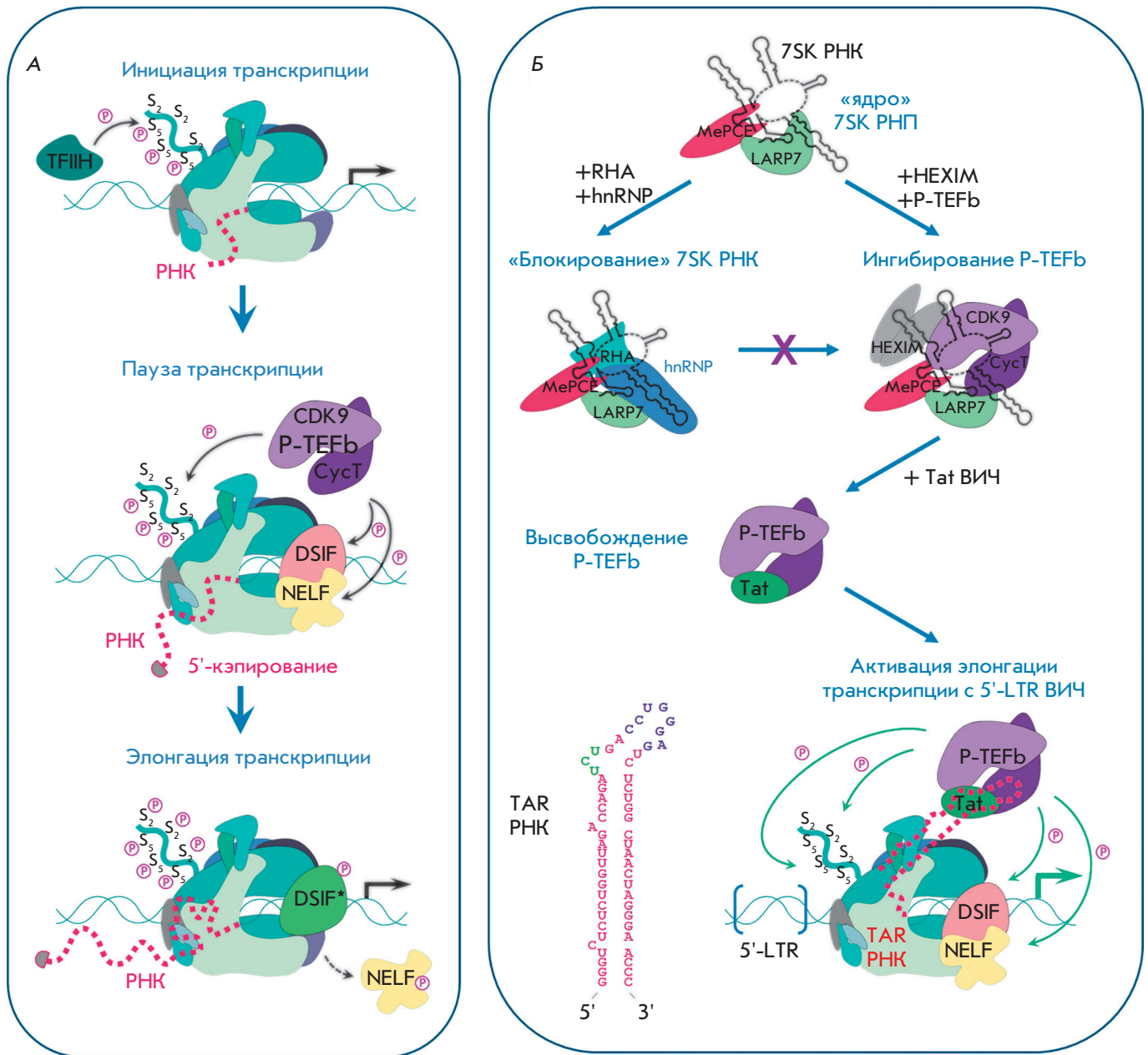


Рис. 5. Регуляция транскрипции с участием 7SK РНК человека и TAR РНК ВИЧ. А – схема основных стадий транскрипции, осуществляемой РНКП II [46]. Для инициации транскрипции TFIIH фосфорилирует остатки Ser5 CTD Rpb1 РНКП. Синтезировав короткий участок мРНК, РНКП останавливается, и с ней связываются негативные элонгационные факторы NELF и DSIF: наступает транскрипционная пауза. После кэпирования 5'-конца растущей цепи РНК процесс транскрипции возобновляется: ДНК-связывающие белки привлекают фактор P-TEFb, фосфорилирующий CTD Rpb1 РНКП и факторы NELF и DSIF. Последний превращается в активатор транскрипции (DSIF*, обозначен зеленым цветом), а модифицированная форма NELF диссоциирует из комплекса, позволяя РНКП перейти в стадию элонгации. Б – схема сборки альтернативных белковых комплексов на 7SK РНК. Связывание RHA и hnRNP с «ядром» 7SK РНП предотвращает ингибирование P-TEFb. Белок ВИЧ Tat способен вытеснять P-TEFb из 7SK РНП и привлекать его к РНКП, «приостановленной» вблизи стартовой точки транскрипции. TAR РНК, взаимодействуя с Tat и CysT, активирует киназную активность P-TEFb, и фактор гиперфосфорилирует CTD Rpb1 РНКП и NELF/DSIF, что приводит к элонгации вирусного транскрипта

рована с хроматином (например, посредством белка Brd4, взаимодействующего с ацилированными гистонами H3 и H4), и описанные механизмы часто осуществляются котранскрипционно. Brd4 также может связывать Р-TEFb в комплексе с 7SK мяРНП и инициировать изменение конформации СуcТ и диссоциацию CDK9 [53].

Более известен механизм диссоциации Р-TEFb из комплекса с 7SK мяРНП в клетках, зараженных ВИЧ, в котором принимает участие TAR РНК (рис. 5Б). TAR РНК – это 5'-концевой структурный элемент (шпилька) растущей цепи вирусной РНК, синтезирующейся с 5'-LTR. В отсутствие дополнительной активации РНКП II не способна синтезировать с 5'-LTR транскрипты длиной более 60–80 н.о., и TAR РНК, состоящая из 59 н.о., является минимальным фрагментом, после которого наступает пауза транскрипции. Для стимуляции элонгации TAR РНК связывается с вирусным белком Tat, который привлекает к 5'-LTR различные транскрипционные факторы, включая Р-TEFb [54]. Данное взаимодействие обусловлено специфическими контактами между аргинин-богатым РНК-связывающим доменом (ARM) Tat и тринуклеотидной боковой петлей 5'-UCU-3' в TAR РНК. При этом апикальная петля TAR РНК и фланкирующий ее участок взаимодействуют с СуcТ (рис. 5Б). Эта область молекулы имитирует 5'-концевую шпильку 7SK мяРНК, что позволяет TAR РНК также связывать ARM HEXIM и в отсутствие Tat не допускать активацию Р-TEFb. Кроме того, Tat непосредственно взаимодействует с СуcТ и CDK9, образуя стабильный комплекс, кристаллическая структура которого была решена в 2010 г. [55]. Связывая так называемую Т-петлю CDK9, Tat меняет субстратную специфичность киназы, которая начинает фосфорилировать не только Ser2 в CTD Rpb1, но и остатки Ser5 [56]. Это позволяет ВИЧ активировать элонгацию транскрипции даже без привлечения TFIIH (рис. 5Б). Формирование тройного комплекса Tat-TAR-Р-TEFb регулируется набором ферментов, осуществляющих ацетилирование, фосфорилирование, метилирование и убиквитинирование Tat [54].

Очевидно, что между комплексом Tat-TAR РНК и 7SK мяРНП должна существовать конкуренция за связывание с Р-TEFb. Как оказалось, Tat может вытеснять фактор элонгации из его комплекса с 7SK мяРНП благодаря непосредственному взаимодействию Tat с СуcТ и изменению конформации Р-TEFb [57, 58]. Похожий механизм описан для РНК-связывающих белков SRSF1 и SRSF2, вовлеченных в процессы сплайсинга и метаболизма РНК в клетках млекопитающих и, как правило, ассоциированных с промоторными областями активно транскрибируемых генов. Оба белка способны связывать 5'-кон-

цевую шпильку 7SK мяРНК, образуя альтернативный 7SK мяРНП. Если растущая цепь РНК содержит последовательность ESE (exonic-splicing enhancer), SRSF1 и SRSF2 связываются с ней, высвобождая активный Р-TEFb в непосредственной близости от РНКП II и стимулируя элонгацию транскрипции нужного гена [59].

НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЕ С ДРУГИМИ ТРАНСКРИПЦИОННЫМИ ФАКТОРАМИ

SRA РНК

SRA РНК (steroid receptor activator) человека – длинная нкРНК, участвующая в активации эстрогеновых (ER), прогестероновых (PR), глюкокортикоидных (GR) и других ядерных рецепторов. Так же, как и 7SK мяРНК, SRA РНК выступает в роли платформы для связывания (в том числе и конкурентного) различных факторов транскрипции, важнейшие из которых – CTCF, SLIRP и SHARP, а также РНК-хеликазы р68 и р72 [60, 61]. Кроме того, SRA РНК модулирует активность транскрипционного фактора MyoD, играющего ключевую роль в дифференцировке мышечных клеток [62]. SRA РНК присутствует во всех тканях человека, хотя более высокий ее уровень наблюдается в тканях печени, сердца и в скелетных мышцах [63]. Экспрессия SRA РНК повышена при поликистозе яичников и раке молочной железы у женщин, что обуславливает растущий интерес к этой РНК как к одной из терапевтических мишеней [61].

Ген *sra1*, кодирующий SRA РНК, высококонсервативен в геноме мыши, крысы и человека. Он имеет длину около 6500 н.о. и состоит из пяти экзонов. В клетках человека обнаружено не менее 20 различных изоформ SRA РНК длиной от 700 до 1500 н.о. Большинство транскриптов содержат кор-элемент длиной 687 н.о., соответствующий экзонам 2–5, и отличаются 5'- и 3'-концевыми участками [64]. В 2012 г. методами химического и ферментативного пробинга была установлена вторичная структура 873-звенного варианта SRA РНК, состоящая из 25 шпилек (H1–H25) различной длины и формы, условно разделяемых на четыре домена D1–D4 и 12 главных структурных элементов STR1–STR12 (рис. 6А) [65]. Анализ делеционных производных позволил выявить шесть наиболее важных STR, ответственных за связывание с теми или иными белками. При этом удаление любого STR приводило к полной или частичной потере молекулой ее функциональных свойств, т.е. все основные взаимодействия осуществляются именно благодаря мультиплетной структуре SRA РНК [66].

Тем не менее, наиболее важным для взаимодействия с ядерными рецепторами является до-

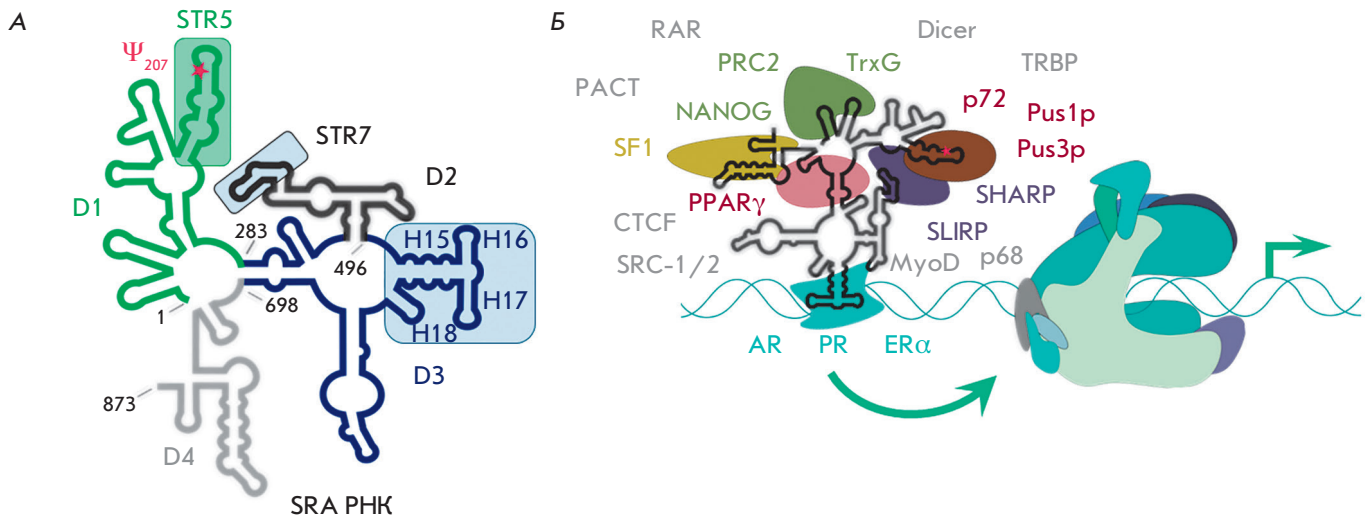


Рис. 6. Схематичное изображение вторичной структуры SRA PHK человека (А) и ее известных на данный момент белков-партнеров (Б) согласно Лиу и соавт. [61]. Домены SRA PHK выделены цветом: D1 – зеленым, D2 – черным, D3 – синим, D4 – серым. Остаток U207, подвергающийся псевдоуридилрованию, отмечен звездочкой. На панели А главные структурные элементы SRA PHK, образующие контакты с белками, выделены рамками. На панели Б условно изображены (и подписаны соответствующими цветами) белки, образующие контакты с SRA PHK. Ядерные рецепторы (AR – андрогенный, PR – прогестероновый, ER α – эстрогеновый α) выделены голубым. Серым шрифтом обозначены остальные белки, связывающиеся с SRA PHK

мен D3 (494–699 н.о.). Входящий в его состав элемент H15–H18 (505–575 н.о.) высококонсервативен у позвоночных. Интересно, что индивидуальная экспрессия этого элемента приводит, наоборот, к ингибированию транскрипции ER α -зависимых генов [67]. Переключение функции SRA PHK с активации на репрессию ядерных рецепторов также наблюдалось при замене чрезвычайно важного остатка U207 в STR5 на аденозин. U207 является сайтом псевдоуридилрования, осуществляемого псевдоуридинсинтазами Pus1p и Pus3p – коактиваторами ядерных рецепторов. Например, непосредственное взаимодействие SRA PHK с Pus1p в клетках мышцы активирует транскрипцию генов, зависимых от рецепторов ретиноевой кислоты (mRARc) [68]. Синтетический олигонуклеотид, идентичный STR5, способен конкурировать с полноразмерной SRA PHK и блокировать Pus1p, предотвращая модификацию этой нкPHK, что приводит к ингибированию транскрипции AR- и ER α -зависимых генов [69].

STR7 SRA PHK взаимодействует с PHK-узнающими мотивами (RRM) факторов SHARP и SLIRP, инициируя тем самым как активацию, так и ингибирование транскрипции различных генов. Еще один партнер SRA PHK – рецептор PPAR γ , регулирующий экспрессию генов, вовлеченных в контроль адипогенеза и чувствительности к инсулину [60].

Так или иначе, SRA PHK это один из важнейших звеньев контроля активности ядерных рецепторов, участвующий в различных регуляторных механизмах, в которые вовлечены целые каскады белков (рис. 6Б).

Как и для других нкPHK в клетке существуют механизмы подавления активности SRA PHK, главным образом с участием белка SRAP, закодированного в 39% SRA PHK-транскриптов, что представляет собой пример своеобразной саморегуляции. Фактически SRA PHK является кодирующей PHK, хотя основную функцию все же выполняет некодирующий вариант транскрипта гена *sra1*. На данный момент не до конца ясно, способен ли SRAP непосредственно связывать SRA PHK и препятствовать ее взаимодействию с другими белками, или этот процесс осуществляется через факторы транскрипции, ассоциированные с SRA PHK или ядерными рецепторами [70]. Тем не менее, соотношение между количеством транслируемого и нетранслируемого продуктов транскрипции гена *sra1* является одним из ключевых моментов регуляции транскрипции в клетке. Например, при дифференцировке миоцитов равновесие сильно смещается в сторону некодирующей SRA PHK, и она может беспрепятственно взаимодействовать с активаторами транскрипции, привлекая их на MyoD-зависимый промотор и активируя транскрипцию соответствующих генов [71].

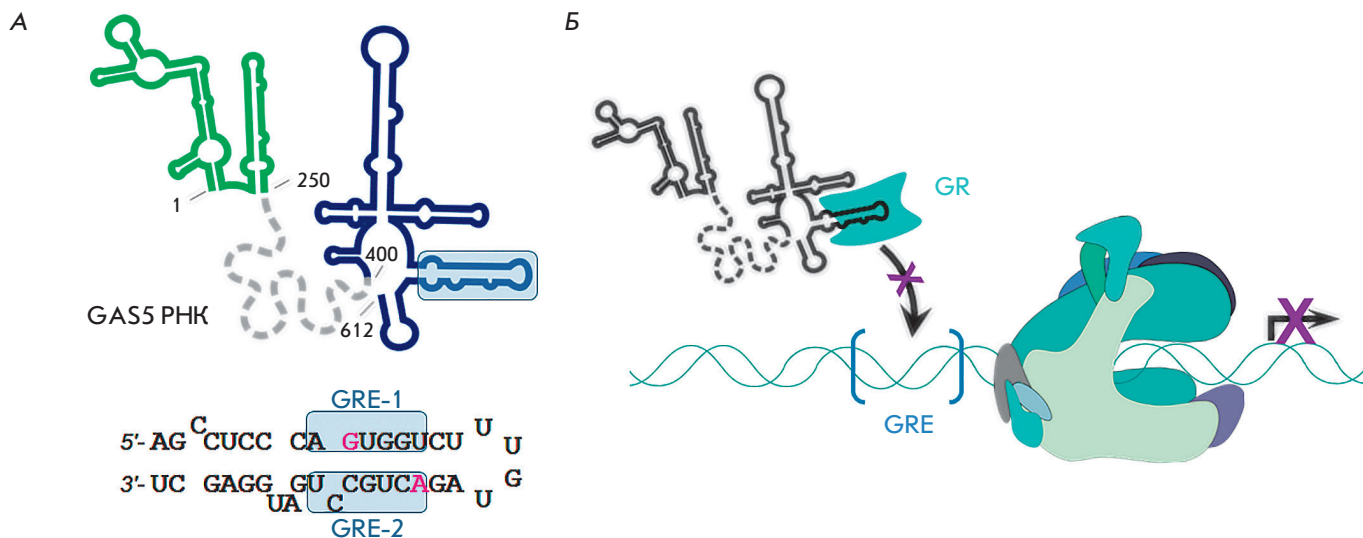


Рис. 7. Схема ингибирования транскрипции глюкокортикоидзависимых генов в присутствии GAS5 РНК. А — предсказанная вторичная структура GAS5 РНК (вверху) и нуклеотидная последовательность функциональной области (шпильки), содержащей участки GRE-1 и GRE-2, имитирующие промотор (внизу). Остатки G540 и C554 выделены розовым. Зеленым цветом выделен фрагмент GAS5 РНК, взаимодействующий с белком NS3 HCV; серым — домен, ответственный за взаимодействия с miR (его вторичная структура не описана). Оба домена, по-видимому, не участвуют в регуляции транскрипции. Б — GAS5 РНК ингибирует транскрипцию, связывая ядерные рецепторы и предотвращая их взаимодействие с GRE-содержащими промоторами

GAS5 РНК

Еще одна длинная нкРНК, контролирующая транскрипцию через регуляцию ядерных рецепторов — GAS5 РНК (growth arrest-specific 5). В обычных условиях GAS5 РНК быстро подвергается деградации. Однако в условиях сывороточного голодания в остановленных на определенной стадии роста (арестованных) клетках или при обработке ингибиторами трансляции наблюдается индукция ее экспрессии и повышение стабильности, с чем и связано название этой нкРНК [72]. Основная функция GAS5 РНК — ингибирование глюкокортикоидного рецептора GR — фактора транскрипции, ответственного за активацию глюкокортикоидзависимых генов. GR является ДНК-связывающим белком, который узнает нуклеотидные последовательности GRE (glucocorticoid responsive element) в промоторных областях контролируемых генов. Функциональный участок GAS5 РНК имитирует GRE и, связываясь с GR, блокирует его доступ к промоторам, тем самым предотвращая активацию их транскрипции (рис. 7). GAS5 РНК может взаимодействовать не только с GR, но и с другими ядерными рецепторами, связывающимися GRE, в частности с рецепторами андрогенов, прогестерона и др. [73]. Последние исследования, проведенные *in vitro* и *in vivo*, однозначно указывают на важную роль GAS5 РНК в инициации апоптоза различных видов опухолевых клеток и в ингибировании пролиферации

и метастазирования, а также в регуляции иммунного ответа при различных воспалительных, бактериальных и вирусных заболеваниях [74, 75].

GAS5 РНК человека кодируется геном *gas5*, который содержит 12 экзонов, перемежающихся с 10 интронами, кодирующими малые ядрышковые РНК. После транскрипции, осуществляемой РНКП II, пре-мРНК гена *gas5* подвергается полиаденилированию и альтернативному сплайсингу, что приводит к появлению различных изоформ GAS5 РНК, основными из которых являются GAS5a (612 н.о.) и GAS5b (651 н.о.) РНК, содержащие экзоны 7а или 7b соответственно. Более длинные варианты GAS5 РНК (~1200–1800 н.о.) встречаются реже и содержат одну или несколько последовательностей, кодирующих малые ядрышковые РНК [72, 76]. В нормальных условиях GAS5 РНК локализуется в цитоплазме, оставаясь ассоциированной с рибосомой. Но при задержке роста клеток она транслоцируется в ядро, где и взаимодействует с рецептором GR [76].

Вторичная структура GAS5 РНК представлена набором шпилек, а функциональный участок, идентифицированный путем делеционного анализа, расположен в 3'-концевой части молекулы (400–598 н.о., рис. 7А), которая встречается по всех изоформах GAS5 РНК. Основные контакты образуются между GR и стеблем шпильки GRE-1/GRE-2 (539–544 и 553–559 н.о.), имитирующей конформацию палин-

дромной GRE-последовательности ДНК d(5'-AGAA-CANNNTGTTCT-3'/3'-TCTTGTNNNACAAGA-5', где N = A, T, C, G). Остатки G540 и C554 в GAS5 РНК консервативны среди консенсусных GRE-последовательностей человека и взаимодействуют соответственно с K442 и R447 в ДНК-связывающем домене белка GR. Замена C554U в GAS5 РНК при сохранении стабильности двойной спирали приводила к потере способности этой РНК ингибировать GR-зависимую транскрипцию с промотора MMTV (mouse mammary tumor virus) *in vivo* [76]. Таким образом, GAS5 РНК конкурирует с GRE-содержащими промоторами за связывание с GR по аналогии с бактериальной 6S РНК, также имитирующей промотор и ингибирующей РНКП [36]. Было показано, что трансфекция опухолевых клеточных линий олигонуклеотидами, идентичными участку 538–560 н.о. GAS5 РНК, приводит к эффективной индукции апоптоза и снижению выживаемости клеток [77], что, возможно, позволит в будущем использовать их в терапевтических целях.

Количество GAS5 РНК в клетке регулируется с помощью системы NMD (nonsense-mediated RNA decay), осуществляющей деградацию «бессмысленных» последовательностей мРНК, и сигнального пути, зависящего от киназы mTOR (mammalian target of rapamycin). Предполагается, что в условиях активного клеточного роста может происходить mTOR-зависимая трансляция короткой открытой рамки считывания (ORF), локализованной в GAS5 РНК (напомним, что нкРНК в этих условиях ассоциирована с рибосомой). Однако большое число стоп-кодонов в ORF и малая длина потенциально синтезируемого пептида приводят к активации NMD и деградации GAS5 РНК. В случае клеточного ареста и низкой концентрации комплекса mTOR GAS5 РНК не транслируется, и ее уровень возрастает [73].

Помимо своей основной функции GAS5 РНК связывает онкогенные miR-21, miR-222 и miR-103, выступая тем самым в роли миРНК-губки и предотвращая их влияние на экспрессию генов [74, 78]. Более того, в последних исследованиях обнаружено, что 5'-концевой участок GAS5 РНК (1–250 н.о.) способен связывать белок NS3 вируса гепатита С (HCV) и ингибировать его функцию, подавляя тем самым репликацию HCV [79]. Очевидно, мультифункциональность GAS5 РНК обусловлена различными доменами молекулы, каждый из которых отвечает за взаимодействие с определенной мишенью (рис. 7).

ДРУГИЕ РНК, УЧАСТВУЮЩИЕ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ

В настоящее время известны десятки различных нкРНК, модулирующих активность транскрипцион-

ных факторов. Большинство из них «работают» лишь в определенных (стрессовых) условиях и зачастую тканеспецифичны [13, 17]. Например, NRSE РНК (neuron-restrictive silencer element) экспрессируется в стволовых клетках и связывается с транскрипционным репрессором NRSF/REST, ответственным за молчание нейронспецифичных генов. Механизм этого РНК-белкового взаимодействия аналогичен механизму GAS5 РНК: NRSE РНК представляет собой короткую (~20 п.о.) двухцепочечную РНК, имитирующую структуру промотора. Связанный с NRSE РНК фактор NRSF/REST превращается в активатор транскрипции и «включает» экспрессию нейронспецифичных генов [80]. TSU РНК (trophoblast STAT utron) – 5'-нетранслируемый конец мРНК гена, кодирующего фактор транскрипции STAT1, связывает собственный белок, имитируя STAT-связывающий промотор, и ингибирует тем самым экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости [81]. Длинная некодирующая РНК HSR1 (~600 н.о.) активирует HSF1 – основной фактор транскрипции теплового шока, который инициирует работу элонгационного комплекса РНКП II, остановленного на промоторах стрессовых генов [82]. Другие нкРНК влияют на активность факторов транскрипции, изменяя их клеточную локализацию, например, NRON РНК и lncРНК-p21 [83].

Отдельного внимания заслуживают кольцевые РНК (circРНК, или ciРНК) – продукты альтернативного сплайсинга, в результате которого происходит замыкание 5'- и 3'-концов молекулы. По последним данным более 100 кольцевых РНК ассоциировано с РНКП II, и, по крайней мере, некоторые из них активируют транскрипцию собственных генов [84]. Предполагается, что кольцевые нкРНК косвенно взаимодействуют с РНКП II через рибонуклеопротеиновый комплекс U1 сплайсосомы, однако конкретный механизм их действия не известен [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее время появляются все новые данные о различных нкРНК, вовлеченных в регуляцию транскрипции в клетках эукариот как на уровне конкретных генов, так и в более глобальном масштабе. Чаще всего это длинные нкРНК, регулирующие этот процесс на стадиях ремоделирования хроматина. В данном обзоре описаны те нкРНК, механизмы действия которых тесно связаны с контролем функционирования транскрипционного комплекса РНКП II. Рассмотренные нкРНК имеют и ряд других, не менее важных свойств. Например, Alu РНК связывает белки SRP9/14 (signal recognition particle) и в составе этого РНП ингибирует инициацию трансляции. Отметим, что в свободном виде Alu РНК, на-

против, способна активировать этот процесс [85]. У1 мРНК представляет собой один из основных компонентов сплайсосомы, и ее участие в активации транскрипционных факторов не столь значимо. В то же время способность GAS5 РНК взаимодействовать с онкогенными miR может оказаться не менее важной, чем способность связывать GR-рецепторы. Наконец, показано, что B2 РНК регулирует транскрипцию, не только взаимодействуя с РНКП II и подавляя ее активность, но и непосредственно связываясь с генами белков теплового шока и ингибируя

их экспрессию в отсутствие стресса. При повышении температуры B2 РНК подвергается деградации, инициированной белком EZH2 в составе комплекса PRC2, и освобождает эти гены для активной транскрипции [86]. Эти и другие факты свидетельствуют о многообразии свойств и функций нкРНК, и, несомненно, указывают на их чрезвычайную важность для жизнедеятельности клетки. ●

*Работа выполнена в рамках гранта РФФ
(№ 14-24-00061).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Yang Z., Li X., Yang Y., He Z., Qu X., Zhang Y. // Cell Death Dis. 2016. V. 7. № 9. P. e2389.
- Francia S. // Front Genet. 2015. V. 13. № 6. P. 320.
- Kaikkonen M.U., Lam M.T.Y., Glass C.K. // Cardiovasc. Res. 2011. V. 90. № 3. P. 430–440.
- Castelnuovo M., Stutz F. // Curr. Opin. Cell Biol. 2015. V. 34. P. 16–22.
- Esteller M. // Nat. Rev. Genet. 2011. V. 12. № 12. P. 861–874.
- Khurana E., Fu Y., Chakravarty D., Demichelis F., Rubin M.A., Gerstein M. // Nat. Rev. Genet. 2016. V. 17. № 2. P. 93–108.
- Lopez-Pajares V. // Pflug. Arch. 2016. V. 468. № 6. P. 971–981.
- Iwasaki Y.W., Siomi M.C., Siomi H. // Annu. Rev. Biochem. 2015. V. 84. P. 405–433.
- Yan B.X., Ma J.X. // Cell Mol. Life Sci. 2012. V. 69. № 17. P. 2833–2842.
- Lam M.T., Li W., Rosenfeld M.G., Glass C.K. // Trends Biochem. Sci. 2014. V. 39. № 4. P. 170–182.
- St. Laurent G., Wahlestedt C., Kapranov P. // Trends Genet. 2015. V. 31. № 5. P. 239–251.
- Rutenberg-Schoenberg M., Sexton A.N., Simon M.D. // Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2016. V. 17. P. 69–94.
- Eidem T.M., Kugel J.F., Goodrich J.A. // J. Mol. Biol. 2016. V. 428. № 12. P. 2652–2659.
- Boon R.A., Jaé N., Holdt L., Dimmeler S. // J. Am. Coll. Cardiol. 2016. V. 67. № 10. P. 1214–1226.
- Walters R.D., Kugel J.F., Goodrich J.A. // IUBMB Life. 2009. V. 61. № 8. P. 831–837.
- Kettenberger H., Eisenführ A., Brueckner F., Theis M., Famulok M., Cramer P. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2006. V. 13. № 1. P. 44–48.
- Mondragón E., Maher L.J. // Nucl. Acids Ther. 2016. V. 26. № 1. P. 29–43.
- Kramerov D.A., Vassetzky N.S. // Heredity. 2011. V. 107. № 6. P. 487–495.
- Fornace A.J.Jr., Alamo I.Jr., Hollander M.C., Lamoreaux E. // Exp. Cell Res. 1989. V. 182. № 1. P. 61–74.
- Elbarbary R.A., Lucas B.A., Maquat L.E. // Science. 2016. V. 351. № 6274. P. aac7247.
- Ponicsan S.L., Kugel J.F., Goodrich J.A. // Curr. Opin. Genet. Dev. 2010. V. 20. № 2. P. 149–155.
- Vassetzky N.S., Ten O.A., Kramerov D.A. // Gene. 2003. V. 319. P. 149–160.
- Mariner P.D., Walters R.D., Espinoza C.A., Drullinger L.F., Wagner S.D., Kugel J.F., Goodrich J.A. // Mol. Cell. 2008. V. 29. № 4. P. 499–509.
- Allen T.A., Von Kaenel S., Goodrich J.A., Kugel J.F. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2004. V. 11. № 9. P. 816–821.
- Espinoza C.A., Allen T.A., Hieb A.R., Kugel J.F., Goodrich J.A. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2004. V. 11. № 9. P. 822–829.
- Kassube S.A., Fang J., Grob P., Yakovchuk P., Goodrich J.A., Nogales E. // J. Mol. Biol. 2013. V. 425. № 19. P. 3639–3648.
- Wagner S.D., Kugel J.F., Goodrich J.A. // Mol. Cell Biol. 2010. V. 30. № 1. P. 91–97.
- Kramerov D.A., Vassetzky N.S. // Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2011. V. 2. P. 772–786.
- Allen T.A., Von Kaenel S., Goodrich J.A., Kugel J.F. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2004. V. 11. № 9. P. 816–821.
- Bladon T.S., Frégeau C.J., McBurney M.W. // Mol. Cell Biol. 1990. V. 10. № 8. P. 4058–4067.
- Espinoza C.A., Goodrich J.A., Kugel J.F. // RNA. 2007. V. 13. № 4. P. 583–596.
- Ponicsan S.L., Kugel J.F., Goodrich J.A. // Noncoding RNA. 2015. V. 1. P. 4–16.
- Sansó M., Fisher R.P. // Transcription. 2013. V. 4. № 4. P. 146–152.
- Wagner S.D., Yakovchuk P., Gilman B., Ponicsan S.L., Drullinger L.F., Kugel J.F., Goodrich J.A. // EMBO J. 2013. V. 32. № 6. P. 781–790.
- Flores R., Ruiz-Ruiz S., Serra P. // Semin Liver Dis. 2012. V. 32. № 3. P. 201.
- Буренина О.Ю., Елкина Д.А., Хартманн Р.К., Орецкая Т.С., Кубарева Е.А. // Биохимия. 2015. Т. 80. № 3. С. 1641–1661.
- Guro J., O'Reilly D. // WIREs RNA. 2015. V. 6. № 1. P. 79–92.
- Kwek K.Y., Murphy S., Furger A., Thomas B., O'Gorman W., Kimura H., Proudfoot N.J., Akoulitchev A. // Nat. Struct. Biol. 2002. V. 9. № 11. P. 800–805.
- Leichter M., Marko M., Ganou V., Patrinoú-Georgoula M., Tora L., Guialis A. // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1814. № 12. P. 1812–1824.
- Masters J.N., Attardi G. // Mol. Cell Biol. 1985. V. 5. № 3. P. 493–500.
- Blume S.W., Meng Z., Shrestha K., Snyder R.C., Emanuel P.D. // J. Cell Biochem. 2003. V. 88. № 1. P. 165–180.
- Martianov I., Ramadass A., Serra Barros A., Chow N., Akoulitchev A. // Nature. 2007. V. 445. № 7128. P. 666–670.
- Yang Z., Zhu Q., Luo K., Zhou Q. // Nature. 2001. V. 414. № 6861. P. 317–322.
- Nguyen V.T., Kiss T., Michels A.A., Bensaude O. // Nature. 2001. V. 414. № 6861. P. 322–325.
- Wei P., Garber M.E., Fang S.M., Fischer W.H., Jones K.A. // Cell. 1998. V. 20. № 4. P. 451–462.
- Jonkers I., Lis J.T. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2015. V. 16. № 3. P. 167–177.
- McNamara R.P., Bacon C.W., D'Orso I. // Cell Cycle. 2016. V. 15. № 16. P. 2115–2123.

48. Peterlin B.M., Brogie J.E., Price D.H. // Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2012. V. 3. № 1. P. 92–103.
49. Wassarman D.A., Steitz J.A. // Mol. Cell. Biol. 1991. V. 11. № 7. P. 3432–3445.
50. Gupta S., Busch R.K., Singh R., Reddy R. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 31. P. 19137–19142.
51. D'Orso I. // RNA Biol. 2016. V. 13. № 6. P. 545–553.
52. Quaresma A.J.C., Bugai A., Barboric M. // Nucl. Acids Res. 2016. V. 44. № 16. P. 7527–7539.
53. Liu W., Ma Q., Wong K., Li W., Ohgi K., Zhang J., Aggarwal A., Rosenfeld M.G. // Cell. 2013. V. 155. № 7. P. 1581–1595.
54. Karn J., Stoltzfus M.C. // Cold Spring Harb. Perspect Med. 2012. V. 2. № 2. P. a006916.
55. Tahirov T.H., Babayeva N.D., Varzavand K., Cooper J.J., Sedore S.C., Price D.H. // Nature. 2010. V. 465. № 7299. P. 747–751.
56. Zhou M., Halanski M.A., Radonovich M.F., Kashanchi F., Peng J., Price D.H., Brady J.N. // Mol. Cell. Biol. 2000. V. 20. № 14. P. 5077–5086.
57. Krueger B.J., Varzavand K., Cooper J.J., Price D.H. // PLoS One. 2010. V. 5. № 8. P. e12335.
58. Ott M., Geyer M., Zhou Q. // Cell Host Microbe. 2011. V. 10. № 5. P. 426–435.
59. Ji X., Zhou Y., Pandit S., Huang J., Li H., Lin C.Y., Xiao R., Burge C.B., Fu X.D. // Cell. 2013. V. 153. № 4. P. 855–868.
60. Leygue E. // Nucl. Recept. Signal. 2007. V. 5. P. e006.
61. Liu C., Wu H.-T., Zhu N., Shi Y.-N., Liu Z., Ao B.-X., Liao D.-F., Zheng X.-L., Qin L. // Clin. Chim. Acta. 2016. V. 459. P. 137–146.
62. Caretti G., Schiltz R.L., Dilworth F.J., Di Padova M., Zhao P., Ogryzko V., Fuller-Pace F.V., Hoffman E.P., Tapscott S.J., Sartorelli V. // Dev. Cell. 2006. V. 11. № 4. P. 547–560.
63. Colley S.M., Leedman P.J. // Biochimie. 2011. V. 93. № 11. P. 1966–1972.
64. Lanz R.B., Razani B., Goldberg A.D., O'Malley B.W. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. № 25. P. 16081–16086.
65. Novikova I.V., Hennelly S.P., Sanbonmatsu K.Y. // Nucl. Acids Res. 2012. V. 40. № 11. P. 5034–5051.
66. Sanbonmatsu K.Y. // Biochim. Biophys. Acta. 2016. V. 1859. № 1. P. 41–45.
67. Jung E., Jang S., Lee J., Kim Y., Shin H., Park H.-S., Lee Y. // Mol. Biol. Rep. 2016. V. 43. № 10. P. 1019–1025.
68. Zhao X., Patton J.R., Ghosh S.K., Fischel-Ghodsian N., Shen L., Spanjaard R.A. // Mol. Endocrinol. 2007. V. 21. № 3. P. 686–699.
69. Ghosh S.K., Patton J.R., Spanjaard R.A. // Biochemistry. 2012. V. 51. № 41. P. 8163–8172.
70. McKay D.B., Xi L., Barthel K.K., Cech T.R. // J. Mol. Biol. 2014. V. 426. № 8. P. 1766–1785.
71. Hube F., Velasco G., Rollin J., Furling D., Francastel C. // Nucl. Acids Res. 2011. V. 39. № 2. P. 513–525.
72. Tani H., Torimura M., Akimitsu N. // PLoS One. 2013. V. 8. № 1. P. e55684.
73. Pickard M.R., Williams G.T. // Genes. 2015. V. 6. № 3. P. 484–499.
74. Yu X., Li Z. // Oncol Lett. 2015. V. 10. № 3. P. 1953–1958.
75. Mayama T., Marr A.K., Kino T. // Horm. Metab. Res. 2016. V. 48. № 8. P. 550–557.
76. Kino T., Hurt D.E., Ichijo T., Nader N., Chrousos G.P. // Sci. Signal. 2010. V. 3. № 107. P. ra8.
77. Pickard M.R., Williams G.T. // Oncotarget. 2016. V. 7. № 9. P. 10104–10116.
78. Guo C., Song W., Sun P., Jin L., Dai H. // J. Biomed. Sci. 2015. V. 22. P. 100.
79. Qian X., Xu C., Zhao P., Qi Z. // Virology. 2016. V. 492. P. 155–165.
80. Kuwabara T., Hsieh J., Nakashima K., Taira K., Gage F.H. // Cell. 2004. V. 116. № 6. P. 779–793.
81. Peyman J.A. // Biol. Reprod. 1999. V. 60. № 1. P. 23–31.
82. Shamovsky I., Ivannikov M., Kandel E.S., Gershon D., Nudler E. // Nature. 2006. V. 440. № 7083. P. 556–560.
83. Meng X., Li X., Zhang P., Wang J., Zhou Y., Chen M. // Brief Bioinform. 2017. V. 18. № 4. P. 547–557.
84. Li Z., Huang C., Bao C., Chen L., Lin M., Wang X., Zhong G., Yu B., Hu W., Dai L. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2015. V. 22. № 3. P. 256–264.
85. Chen L.L., Yang L. // Trends Cell Biol. 2017. V. 27. № 7. P. 480–490.
86. Zovoilis A., Cifuentes-Rojas C., Chu H.P., Hernandez A.J., Lee J.T. // Cell. 2016. V. 167. № 7. P. 1788–1802.