

УДК 577.22

# Биогенез эукариотических рибосом: 40S субъединица

А. А. Моралева<sup>1</sup>, А. С. Дерябин<sup>1\*</sup>, Ю. П. Рубцов<sup>1</sup>, М. П. Рубцова<sup>1,2\*</sup>, О. А. Донцова<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия<sup>3</sup>Сколковский институт наук и технологий, Москва, 121205 Россия

\*E-mail: deryabin95@mail.ru, mprubtsova@gmail.com

Поступила в редакцию 29.07.2021

Принята к печати 11.02.2022

DOI: 10.32607/actanaturae.11540

**РЕФЕРАТ** Формирование эукариотических рибосом – это последовательное созревание рибосомных предшественников в ядрышке, нуклеоплазме и цитоплазме. Сотни факторов биогенеза рибосом обеспечивают точный процессинг и формирование третичной структуры рибосомных РНК, а также взаимодействие с ними рибосомных белков. Большая часть знаний о сборке рибосом получена в результате изучения клеток дрожжей, и долгое время считали, что механизмы биогенеза рибосом эукариот очень консервативны. Основные стадии биогенеза рибосом сходны в разных группах эукариот, однако у человека этот процесс значительно сложнее из-за большего размера рибосом и пре-рибосом, а также возникновения регуляторных путей, влияющих на их сборку и функцию. Множество факторов, необходимых для биогенеза именно рибосом человека, выявлено с помощью полногеномных скринингов на основе РНК-интерференции. В данном обзоре на примере 40S субъединицы рассмотрены ключевые аспекты биогенеза рибосом у дрожжей и человека. Механизмы, лежащие в основе этих различий, недостаточно изучены, потому что не существует эффективных методов характеристики пре-рибосомных комплексов человека. Мутации в генах, кодирующих рибосомные белки и факторы биогенеза рибосом, приводят к генетическим заболеваниям (рибосомопатиям), сборка рибосом регулируется онкогенными сигнальными путями, а дефекты биогенеза рибосом связаны с активацией опухолевых супрессоров, что делает задачу понимания механизмов биогенеза рибосом актуальной.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** ядрышко, биогенез рибосом, рибосомопатии.

## ВВЕДЕНИЕ

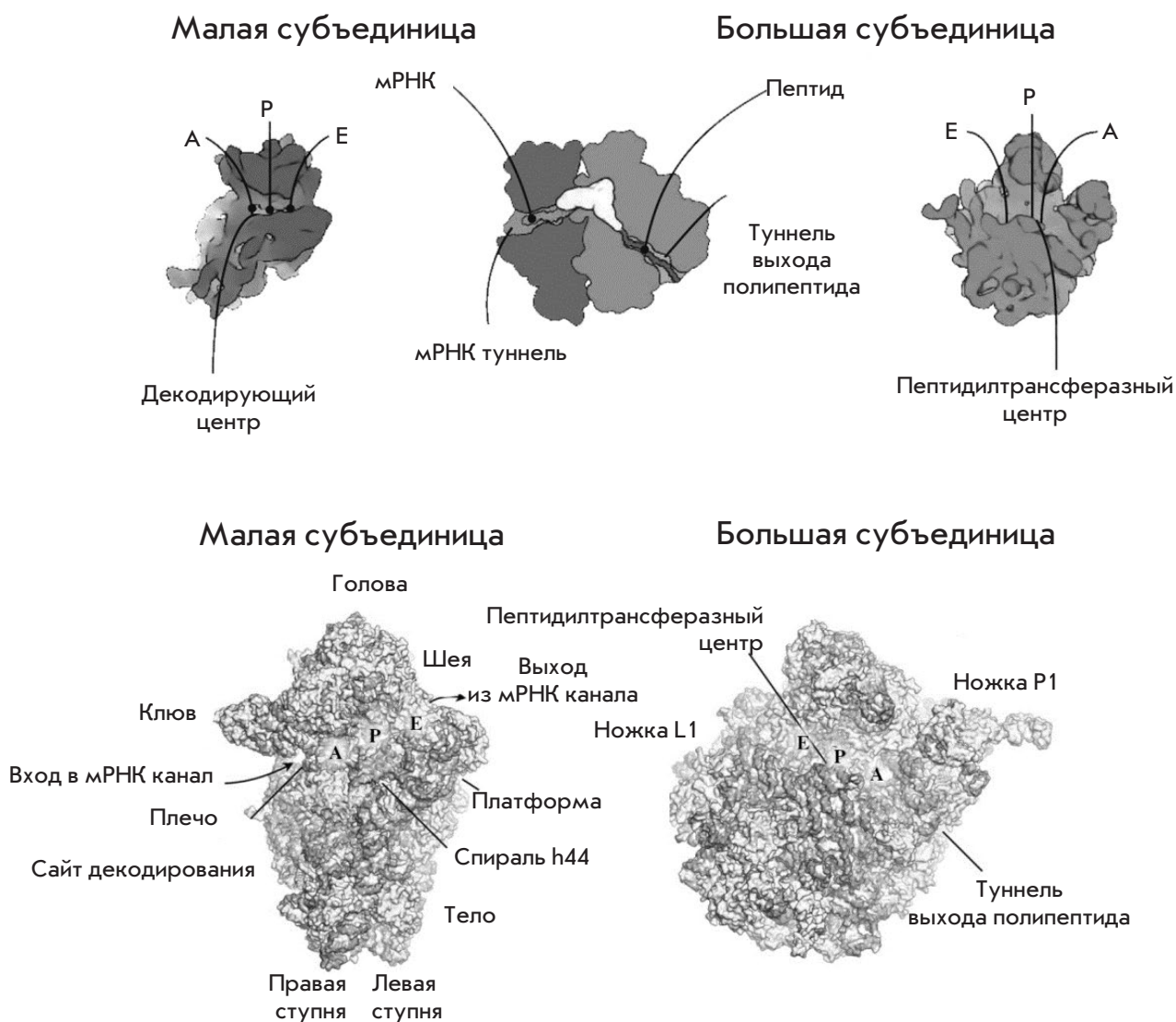
Рибосомы – это молекулярные РНК-белковые машины, обеспечивающие трансляцию генетической информации мРНК в белки. Рибосомы 80S эукариот общей массой 4.3 МДа состоят из двух субъединиц неравного размера (S – константа седиментации). Малая субъединица (40S, или SSU) содержит одну молекулу 18S рРНК и 33 рибосомных белка (RPS, или S). Большая субъединица (60S, или LSU) состоит из трех молекул рРНК (25S/28S, 5.8S и 5S) и, как правило, 47 белков (RPL, или L) [1–4]. Субъединицы содержат несколько функциональных областей, играющих разные роли в процессе трансляции (*рис. 1*); последовательности зрелых рРНК и общая структура рибосом эволюционно консервативны. Синтез рибосом – это фундаментальный для всех форм жизни процесс, и его эффективность определяет пролиферативный и секреторный статус клетки.

В процессе биосинтеза рибосом происходят транскрипция рибосомной ДНК (рДНК) и процес-

синг образующихся предшественников рРНК (пре-рРНК) в зрелые молекулы при участии факторов биогенеза рибосом (ФБР) и рибосомных белков (РБ), а также окончательная сборка всех компонентов в зрелые рибосомы. Только правильное протекание всех этих этапов приводит к формированию функциональных рибосом [5]. Наиболее сложным и интересным процессом является биогенез трех рРНК – 18S, 5.8S и 25S/28S, которые транскрибируются РНК-полимеразой I (Pol I) в виде одного длинного предшественника [6, 7]. Необходимость координации синтеза и процессинга рРНК послужила основанием для формирования специализированной структуры внутри ядра – ядрышка.

## ЯДРЫШКО – ФАБРИКА СБОРКИ РИБОСОМ

Хромосомы эукариот обычно занимают определенные территории ядра, в которых гены кластеризованы для оптимального использования аппарата транскрипции [8]. Синтез предшественников рРНК



**Рис. 1.** Пространственное строение субъединиц рибосомы эукариот. На субъединицах подписаны основные функциональные области. В случае малой субъединицы это: (1) канал, в который уложена мРНК во время трансляции; (2) центр декодирования, где происходит спаривание кодона и антикодона, и (3) сайты связывания тРНК (сайты А, Р, Е). Сайт А (аминоацил) – место, занимаемое входящей аминоксил-тРНК, сайт Р (пептидил) – место, в котором находится тРНК с растущей полипептидной цепью (пептидил-тРНК), сайт Е (выход) – место, где происходит диссоциация тРНК от рибосомы. Основные функциональные домены большой субъединицы: (1) сайты связывания тРНК (А, Р и Е); (2) туннель выхода пептида, который простирается над телом субъединицы, и (3) пептидилтрансферазный центр (ПТЦ). ПТЦ отвечает за образование пептидной связи и располагается в начале туннеля выхода пептида, в консервативной области на границе раздела между двумя субъединицами, которая в основном состоит из рРНК. Сворачивание рРНК в третичные структуры и их ассоциация с рибосомными белками генерируют несколько характерных областей в каждой субъединице. В 40S – это Голова, Шея, Платформа, Тело, Левая ступня, Правая ступня, Плечо и Клюв, а также спираль h44 18S рРНК, в основании которой находится центр декодирования. Основные сайты связывания тРНК (А, Р и Е) расположены в интерфейсе (на поверхности). Входной туннель для мРНК расположен между головой и плечом. Выходной канал, место выхода 5'-конца мРНК, расположен между головой и платформой. Центр декодирования расположен на поверхности раздела и включает три домена от головы, плеча и спирали h44 18S рРНК. Основные особенности большой субъединицы – центральный выступ, ножка L1 и ножка P1. Сайты связывания тРНК (А, Р и Е) расположены на стороне интерфейса вместе с ПТЦ. Последний примыкает ко входу в выходной туннель, из которого выходит растущая полипептидная цепь [24]

и ранние этапы сборки рибосом происходят в области ядра, называемой ядрышко. Структурными детерминантами ядрышка являются ядрышковые организаторы (ЯОР) – области/регионы хромосом, в которых сгруппировано множество копий генов рРНК.

Внутригеномное расположение ЯОР зависит от видовой принадлежности организма. У гаплоидных почкующихся дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) ЯОР локализован на хромосоме 12. У человека ЯОР несут акроцентрические хромосомы 13, 14, 15, 21 и 22 [9–11]. Массивы генов рРНК человека расположены неравномерно на коротких плечах хромосом во вторичных перетяжках между центромерами и теломерами [12, 13]. При делении эукариот ядрышки собираются в конце митоза и остаются функционально активными на протяжении всей интерфазы, распадаясь в начале следующего митоза. Продукция рибосом изменяется в ходе клеточного цикла, достигая максимума в фазе G2 [14]. Морфология ядрышка существенно зависит от условий роста и физиологического статуса клетки [15]. Размер ядрышка коррелирует с пролиферативной активностью клетки; ядрышки быстроделющихся клеток крупнее, чем в клетках с низкой скоростью деления [16]. Объем ядрышка в большинстве опухолевых клеток увеличен по сравнению с клетками, из которых они образовались [17].

Ядрышко – самый крупный отдел ядра, не отделенный мембраной от нуклеоплазмы, его объем составляет 20–25% от объема ядра высших эукариот. По данным электронной микроскопии (ЭМ), более тонкие структуры в составе ядрышка соответствуют основным этапам биогенеза рибосом. Различают фибриллярный центр (ФЦ), плотный фибриллярный компонент (ПФК) и гранулярный компонент (ГК) (рис. 2).

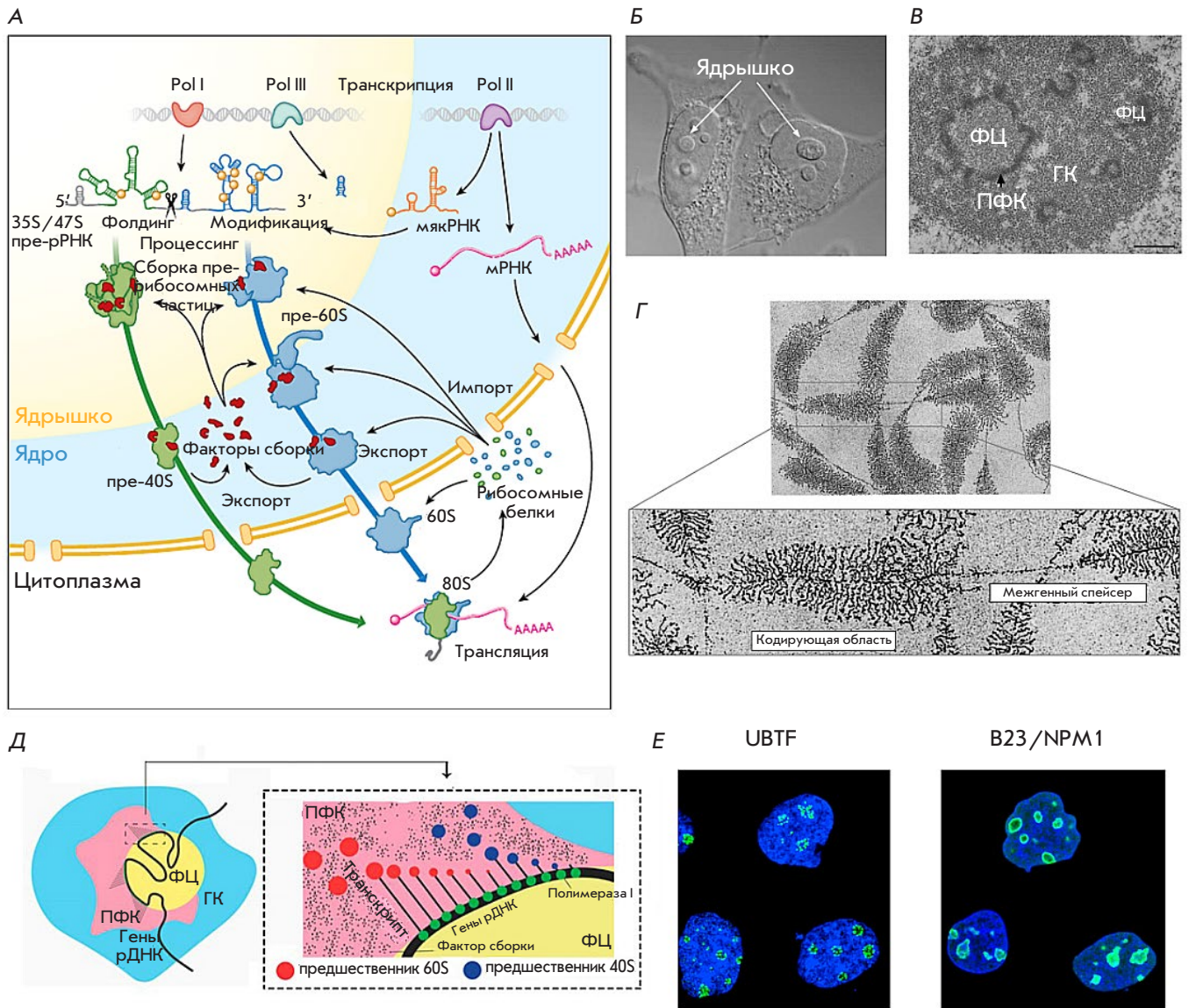
Биогенез рибосом – это векторный процесс, который начинается с синтеза рРНК на границе ФЦ и ПФК, продолжается в ПФК и практически завершается в ГК. Таким образом, ФЦ содержат рДНК, а также субъединицы Pol I, ДНК-топоизомеразы I и фактор UBF [18]. В ПФК происходит синтез, а также ранние стадии процессинга рРНК. Так, фибрилларин, Norp140 и малые ядрышковые РНК (мякРНК) участвуют в ранних стадиях процессинга рРНК и локализуются в ПФК [18–21]. Мутация основного сайта фосфорилирования казеинкиназой СК2 (мажорного белка гранулярного компонента нуклеофозмина (NPM/B23) человека) приводит к отделению ГК от ФЦ/ПФК, что свидетельствует о переходе между этапами сборки пре-40S и пре-60S субъединиц рибосомы на границе ПФК и ГК.

Ядрышковая стадия сборки предшественников SSU и LSU у дрожжей, которая завершается экспортом в нуклеоплазму, занимает разное время. Так, SSU покидают ядрышко примерно через 10 мин после начала сборки, почти вдвое быстрее LSU [21–23]. Распределение этапов созревания рибосом по разным структурам в архитектуре ядрышка у высших эукариот не определено.

Недавно были предложены новые механизмы, управляющие образованием ядрышек на основании многофазной организации, обусловленной разделением фаз жидкость–жидкость [13]. Предполагается, что пре-рРНК рекрутирует определенные белки, что приводит к разделению фаз. Пространственное разделение, физические и композиционные особенности субнуклеолярных фаз могут оптимизировать процессинг пре-рРНК, обеспечивая направленный транспорт и иерархию процессов сборки пре-рибосом. Ранние стадии процессинга пре-рРНК и ковалентная модификация высококонсервативных остатков в составе рРНК (метилование рибозы, оснований и псевдоуридилирование), которые существенны для структурной организации рибосомы и регуляции процесса трансляции [24–26], происходят в ПФК (рис. 2). Внешний ГК выполняет роль временного «карантина» для неправильно свернутых ядерных белков, которые накапливаются в стрессовых условиях [13, 27].

В протеоме ядрышек человека обнаружены гомологи ~90% дрожжевых белков ядрышка [28]. Классификация функций ядрышковых белков показывает, что ~30% из них связаны с биогенезом рибосом [29]. Нарушение регуляции функционирования ядрышковых белков может приводить к остановке клеточного цикла и апоптозу либо, наоборот, способствовать трансформации клеток и ускорять пролиферацию [30]. РБ также играют важную роль в процессе сборки, поскольку, как полагают, стабилизируют вторичную структуру рРНК, способствуя формированию третичных структур, компетентных для расщепления, и предотвращают неправильный фолдинг. РБ из клеток HeLa (32 белка) можно разделить на две категории в зависимости от их участия в ранних или поздних стадиях процессинга. Момент присоединения РБ к пре-рибосомам коррелирует с их вкладом на стадии расщепления РНК-предшественников [6]. Процессинг пре-рРНК является определяющим фактором формирования зрелых функциональных рибосом, и основное внимание в настоящем обзоре мы уделим именно последовательному созреванию продукта транскрипции Pol I – общего предшественника 18S, 5.8S и 25S/28S рРНК.





**Рис. 2.** Биогенез эукариотических рибосом. А – общая схема [5]; Б – ядрышки клеток HeLa, фазовый контраст [18]; В – электронная микрофотография ядрышка клеток HeLa. Показаны: гранулярный компонент (ГК), фибриллярные центры (ФЦ) и плотный фибриллярный компонент (ПФК) [19]; Г – тандемные повторы генов рибосомной и транскрибирующиеся рРНК ооцита тритона визуализированы по методу Миллера (<http://www.cellimagelibrary.org>); Д – взаимное расположение подотделов ядрышек человека [13]; Е – локализация факторов процессинга рибосом UBTF в ПФК и B23 в ГК ядрышек клеток человека A-43, окрашенных специфическими антителами (<https://www.proteinatlas.org/>)

## БИОГЕНЕЗ РИБОСОМ

### Основные стадии процессинга и различия в строении предшественников рРНК дрожжей и человека

В результате транскрипции генов рРНК образуется предшественник пре-рРНК (35S в дрожжах, 47S в клетках человека), в состав которого входят последовательности 18S, 5.8S и 25S/28S рРНК, фланкированные внешними транскрибируемыми спейсе-

рами (5'-ETS и 3'-ETS) и разделенные внутренними транскрибируемыми спейсерами (ITS1, между 18S и 5.8S; ITS2, между 5.8S и 25S/28S) (рис. 3). При последовательном созревании пре-рРНК образуются РНК-интермедиаты. Сворачивание протяженных рРНК – сложная задача, поскольку размер позволяет этим молекулам находиться в альтернативных стабильных нефункциональных структурах. В отличие от относительно слабых взаимодействий, которые поддерживают пространственную структуру

белков (например, альфа-спиралей и бета-листов), примерно половина рРНК со сформированной третичной структурой состоит из прочных двойных спиралей в А-форме [13]. Поэтому нелогичным представляется существование протяженных не-транскрибируемых спейсеров ETS и ITS (около половины первичного транскрипта рРНК), которые только усложняют структуру предшественников рРНК. Роль внешних спейсеров, по-видимому, состоит в том, чтобы снизить вероятность мутаций рРНК в результате ошибок РНК-полимераз, которые чаще возникают в 5'- и 3'-концевых частях транскриптов. Хотя последовательности спейсеров различаются, их концы эволюционно консервативны и складываются в несколько шпильчатых структур [31]. Последовательности некодирующего спейсера ITS1 менее консервативны [32], что затрудняет предсказание сайтов расщепления даже у близких видов. Последовательности ITS1 млекопитающих обычно в 2–3 раза длиннее, они имеют намного более высокое содержание G + C, чем у дрожжей (мышь – 70.1%; дрожжи – 35.2%) [33, 34].

Поскольку рРНК выполняет одновременно структурную и каталитическую функцию, то не удивительно, что ключевые аспекты созревания рибосомных субъединиц – это формирование структурных доменов в рРНК, сворачивание трехмерной структуры, а также сопутствующие этим процессам вырезание и удаление спейсеров из сложных РНК-комплексов. Кроме того, в состав предшественника большой субъединицы пре-60S должны быть включены 5S рРНК и ассоциированные с ней рибосомные белки (рис. 3) [6]. РНК-белковый состав комплексов рибосомных предшественников изучают с использованием комбинации биохимических подходов, в частности, нозерн-блотинга, быстрой амплификации концов кДНК (RACE) в сочетании с секвенированием ДНК, вестерн-блотинга с антителами к РБ и ФСР, а также масс-спектрометрии и криоэлектронной микроскопии (крио-ЭМ) высокого разрешения для характеристики элементов вторичной и третичной структуры. Сочетание этих методов позволило картировать основные сайты расщепления пре-рРНК у дрожжей, мыши и человека [6, 35] и определить белково-нуклеиновый состав и 3D-структуру отдельных комплексов.

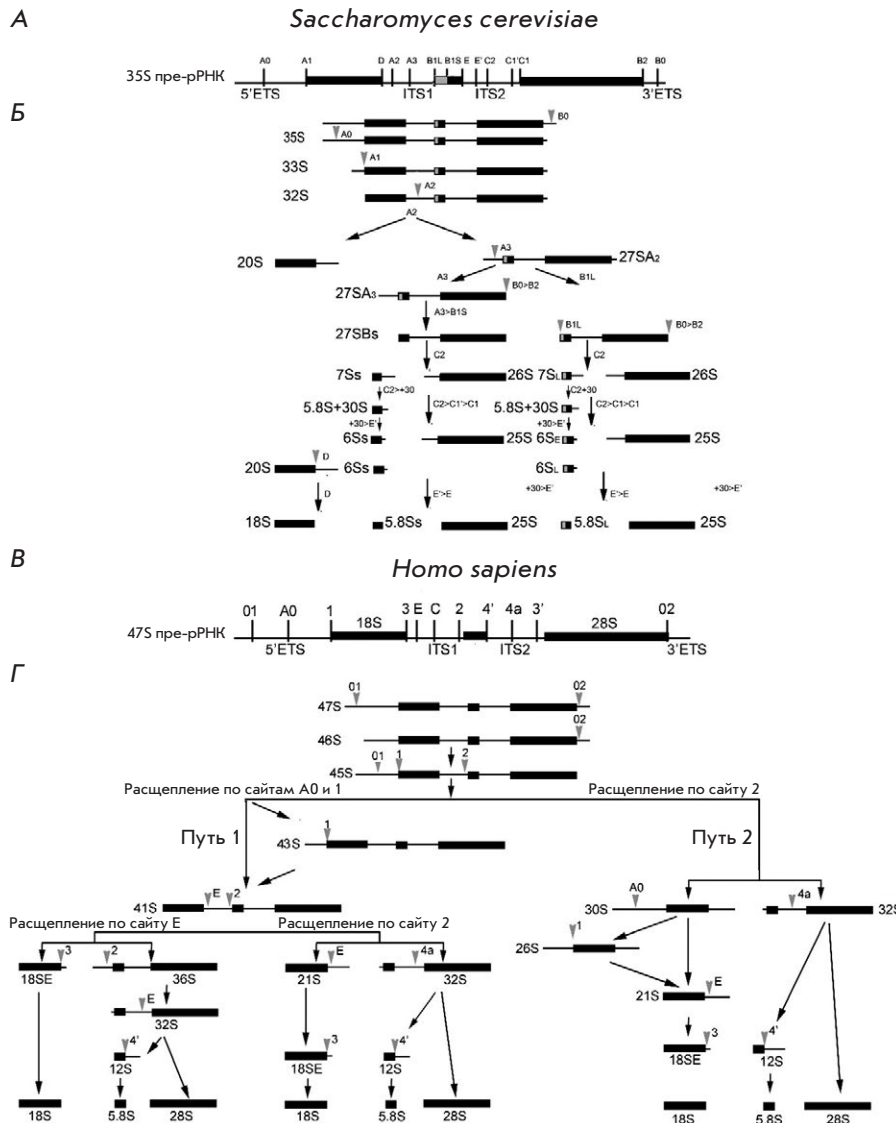
### Биогенез рибосом *Saccharomyces cerevisiae*, процессинг рРНК

Схема разрезания и укорочения концов пре-рРНК *S. cerevisiae* представлена на рис. 3А, Б. Rnt1 (гомолог РНКазы III) котранскрипционно гидролизует 3'-ETS по сайту В0 в первичных транскриптах 35S пре-рРНК [35–38]. Последующее расщепление

по сайтам А0, А1 и А2 взаимосвязано (рис. 3Б), а в быстрорастущих клетках в 50–70% случаев происходит котранскрипционное расщепление в ITS1. Расщепление по А0, А1 и А2 осуществляет SSU-процессома, содержащая мкРНК U3. Эндонуклеазы Utp24 и Rcl1 гидролизуют пре-рРНК по сайтам А1 и А2 соответственно [39, 40]. Продукты 20S и 27SA2 далее формируют SSU и LSU соответственно. 20S выходит в цитоплазму, превращаясь в 18S после расщепления по сайту D нуклеазой Nob1 (рис. 3).

Созревание пре-рРНК 27SA2 приводит к образованию альтернативных форм 27SB, отличающихся дополнительными 7–8 нуклеотидами на 5'-конце. Примерно 80% 27SA2 по сайту А3 расщепляет РНКазу MRP, а белки Rat1–Rail (Rrp17) укорачивают ее до сайта В1S (возможно, вместе с 5'-3'-экзонуклеазой Xrn1). Остальные 20% 27SA2 неизвестная РНКазы режет по сайту В1L, причем гидролиз по В1L и В2 происходит одновременно (рис. 3). В результате расщепления 27S В1S и В1L по сайту С2 внутри ITS2 образуются пре-рРНК 7S (предшественник 5.8S) и пре-рРНК 26S (предшественник 25S). РНК-экзосома, содержащая субъединицы Rrp6, Ngl2 и экзонуклеазу Rex, укорачивает пре-рРНК 7S до сайта Е, соответствующего 3'-концу 5.8S. Формирование 3'-конца 5.8S рРНК завершается в цитоплазме, возможно с участием Ngl2, которому приписывают функцию нуклеазы, активной и в ядре, и в цитоплазме. В результате нарушения кинетики процессинга пре-рРНК в точках от А0 до А2 могут образовываться aberrantные рРНК, что происходит при нокдауне генов белков, необходимых для процессинга по сайту А3 пре-рРНК 27SA2: Cic1, Erb1, Nop7, Nop12 и Nop1 (рис. 3) [41]. Неоптимальные условия роста, а также мутации, влияющие на синтез SSU или LSU, влияют на порядок разрезания РНК [42], что приводит к накоплению и расщеплению пре-рРНК 35S сразу в сайте А3, но не в А0, А1 и А2, с образованием 23S, aberrantного продукта, который, по-видимому, не пригоден для созревания 18S рРНК [43].

Процессинг пре-рРНК и присоединение рибосомных белков требуют многих вспомогательных ФСР, в число которых входят РНК-хеликазы, рибонуклеазы, GTP-азы и АТР-азы, РНК-шапероны, а также белки, не обладающие ферментативной активностью [44]. Некоторые ФСР временно блокируют переходы между структурами предшественников субчастиц, предотвращая неправильную укладку рРНК или преждевременное связывание ФСР и РБ, необходимых на более поздних стадиях сборки. По мере структурного «созревания» субъединиц связывание ФСР имитирует присоединение факторов трансляции или субстратов (например, тРНК или мРНК) и,



**Рис. 3.** Схемы созревания транскрипта 35S пре-рРНК у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (А) и транскрипта 47S пре-рРНК человека (В). Три из четырех рРНК: 18S, 5.8S и 25S (у дрожжей)/28S (у человека), синтезируются Pol I в виде одного длинного транскрипта. Кодированные последовательности «зрелых» рРНК окружают 5'-, 3'-ETS, ITS1 и ITS2 некодирующие спейсеры. На схеме показано взаимное расположение известных и предсказанных сайтов расщепления. Б – процессинг пре-рРНК у почкующихся дрожжей. Г – упрощенная схема процессинга пре-рРНК у человека. Первичный транскрипт, 47S пре-рРНК, первоначально расщепляется на обоих концах молекулы, по сайтам O1 и O2, образуя предшественник 45S, который процессируется по двум альтернативным путям [6]. Обозначение «>» (например, C2>C1'>C1) обозначает последовательное укорачивание соответствующих 3'- или 5'-концов пре-рРНК с помощью нуклеаз

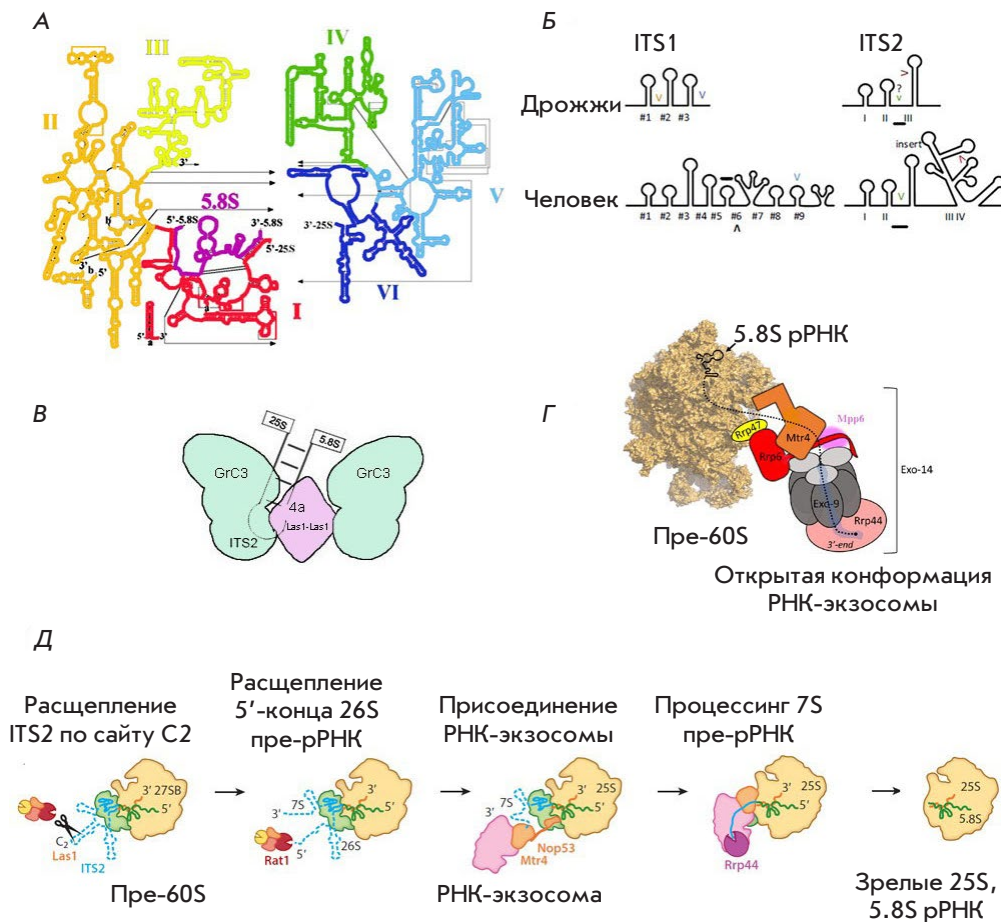
блокируя связывание последних, исключает участие в инициации трансляции незрелых частиц.

Самый ранний крупный комплекс РНП–90S образуется котранскрипционно. Структуры ранних интермедиатов визуализированы при помощи методов крио-ЭМ [45, 46]. Одновременно с транскрипцией рРНК подвергается ковалентным модификациям, большинство из которых сгруппированы в функционально важных доменах и, как полагают, также обеспечивают формирование структуры рРНК [47]. В трехмерной структуре 80S рибосомы человека при помощи крио-ЭМ выявили модификации 130 отдельных положений рРНК (метилирования и псевдоуридинирования) [48]. Псевдоуридинирование осуществляют синтазы Cbf5 и Gar1, Nor10 и Nhp2, относящиеся к классу H/ACA мякРНП, а метилирование 2'-О-рибозы – белки, ассоциированные с C/D-бок мякРНК, такие,

как метилтрансфераза Nor1 (фибриллин у человека), гетеродимер Nor56–Nor58 и Snu13 [49, 50]. Внесение модификаций, вероятно, осуществляется во время транскрипции и первоначального сворачивания пре-рРНК, поскольку мякРНК более эффективно гибридизуются с частично развернутой пре-рРНК. Некоторые мякРНК, необходимые для сборки рибосом, не модифицируют пре-рРНК, а стабилизируют структуры, выгодные для сборки и созревания пре-рибосомных частиц. Предшественники субъединиц также модифицируют специфические метилтрансферазы [5, 51] и ацетилазы [52], не требующие участия мякРНК.

В сборке дрожжевых рибосом участвуют 19 РНК-хеликаз, включая хеликазы с DEAD-бок и DEAH-бок, но их роль в этом процессе пока остается неясной [53]. Три хеликазы (Has1, Mtr4 и Prp43) вовлечены в сборку обеих субъединиц [54, 55].





**Рис. 4.** Структура и созревание пре-рРНК дрожжей. А – 25S рРНК содержит шесть доменов (I–VI) вторичной структуры. 5.8S рРНК (показана черным) образует комплементарное взаимодействие с доменом I 25S рРНК (адаптировано из <https://crw-site.chemistry.gatech.edu/>). Б – схема вторичных структур ITS1 и 2 дрожжей и человека. Знаком «V» обозначены сайты расщепления. Предсказанные сайты отмечены знаками вопроса, подчеркиваниями обозначены сайты связывания экзонуклеазы у человека. В – модель процессинга ITS2 РНКазой РНК [49, 52]. Г – схема взаимодействия ядерной РНК-экзосомы с пре-60S [78]. Д – удаление ITS2 из частицы пре-60S путем действия ферментов процессинга РНК. Показаны промежуточные соединения во время удаления ITS2 [5]

Энергетику процесса обеспечивают GTP-азы (Bms1, Nog1, Nog2, Nug1, Lsg1 и Efl1), АТФ-азы (Rio1, Rio2 и Far7) и ААА-АТФазы (Mdn1, Drg1 и Rix7) [56]. Роль этих факторов заключается в поддержании необратимости процессов сборки.

### Процессинг ITS2 дрожжей

ITS2 – структурный элемент, который служит основой для нескольких этапов сборки 60S, аналогично 5'-ETS на ранних стадиях созревания 18S рРНК. Удаление ITS2, расположенного между 5.8S и 25S рРНК, считается одним из наиболее сложных этапов сборки рибосом. Несмотря на небольшую длину (всего несколько сотен нуклеотидов), ITS2 дрожжей сильно структурирован и образует плотное консервативное ядро [57, 58]. Изучение структуры пре-рРНК *in vivo* показало, что ITS2 складывается в длинную шпильчатую структуру, на самом конце стебля которой расположен участок расщепления C2 (рис. 4) [59]. Нарушения последовательности и структуры шпильки блокируют процессинг ITS2, указывая на огромное значение для сборки рибосом [60, 61]. Как следует из крио-ЭМ-структуры, у основания пре-60S ITS2 уложен в форме лап

при участии нескольких факторов сборки [62–64]. Предложена модель, согласно которой ITS2 рРНК и связанные с ней факторы биогенеза (Nsa3, Nor7, Erb1, Rlp7, Nor15) облегчают гибридизацию 5.8S и домена I 25S рРНК. Правильность этой модели подтверждается данными о том, что мутации в этих белках ингибируют процессинг ITS2 на ранних стадиях [65–68].

Существует три фазы процессинга ITS2: (1) расщепление и фосфорилирование сайта C2 комплексом Las1–Grc3; (2) гидролиз 5'-конца экзонуклеазой Rat1; (3) гидролиз 3'-конца РНК-экзосомой (рис. 4). Процессинг ITS2 активирует тетрамерный комплекс ферментов из двух димеров эндонуклеазы семейства HEPN Las1 с полинуклеотидкиназой Grc3 (функционируют только в виде димеров, уровень белков регулируется) [69]. N-Концевой домен HEPN содержит каталитический мотив RφxxxH (φ – это H, D или N, а x – любая аминокислота) [70]. Дефицит ортолога Las1 дрожжей, LAS1L (Las1-like) млекопитающих, приводит к ингибированию процессинга ITS2 и пролиферации клеток [71]. Истощение клеток дрожжей по Las1 также блокирует процессинг ITS2, что указывает на консервативность функций Las1 в про-

цессинге ITS2 у эукариот [69, 72]. Расщепление C2 и фосфорилирование являются связанными процессами, фосфорилирование препятствует повторному лигированию продуктов расщепления C2, 7S пре-рРНК с 2'-3'-циклофосфатом и 26S пре-рРНК с 5'-гидроксилом [60, 61, 73]. Grc3 рекрутирует 5' → 3' экзонуклеазу Rat1 (Xrn2 млекопитающих) к сайту C2 26S пре-рРНК [61, 74, 75]. Rat1/Xrn2 (не специфичная к определенной последовательности) гидролизует одноцепочечную РНК с концевым 5'-монофосфатом, в направлении 5' → 3' [76]. Дрожжевая Rat1 и активирующий ее кофактор, нуклеаза Rai1, образуют димерный комплекс, который связывает Las1-Grc3 через Grc3 [73] в пре-60S частицах [73, 76, 77]. Связь между Rat1-Rai1 и Grc3 достаточно слабая, что подразумевает дополнительные взаимодействия в сайте C2 [60, 73, 78]. Аминокислотные последовательности Grc3/No19 и Rat1/Xrn2 очень консервативны, что предполагает консервативность Grc3-зависимого рекрутирования Rat1 к сайту C2. Детали молекулярного взаимодействия Grc3/No19 с Rat1/Xrn2 неизвестны, что затрудняет понимание механизма укорочения 5'-конца ITS2.

РНК-экзосома гидролизует 3'-конец 7S пре-рРНК после разрезания 5'-конца ITS2 (рис. 4). РНК-экзосома представляет собой мультисубъединичный 3' → 5'-рибонуклеазный комплекс, гидролизующий любые известные формы РНК [79, 80]. В ее составе выделяют ядро из 9 субъединиц (Ехо-9), образующих двухслойное кольцо с центральным каналом (рис. 4) [78, 79, 81–83]. Ядро Ехо-9 не обладает каталитической активностью и нуждается в многочисленных партнерах для деградации РНК. Каталитическая активность РНК-экзосомы зависит от фермента Rrp44, обладающего экзонуклеазной и 3' → 5'-экзонуклеазной активностью [84, 85]. Rrp44 связывает ядро Ехо-9, образуя комплекс Ехо-10 [79, 81], который взаимодействует с дополнительной 3' → 5' нуклеазой, Rrp6, формируя Ехо-11 [82, 86–89]. Дополнительные белки Mpp6, Rrp47 и Rrp6 привлекают в экзосому кофактор Mtr4, который усиливает связывание комплекса с пре-рибосомами. Взаимодействие Mtr4 с Nor53 направляет Ехо-11 к ITS2, а с Utp18 – к 5'-ETS (рис. 4Д) [90]. Хеликаза Mtr4 расплетает конец ITS2 в направлении 3' → 5' [91–93], обеспечивая Rrp44 возможность гидролизовать 3'-конец пре-рРНК 7S. Результирующий транскрипт кодирует 5.8S с довеском из 30 нуклеотидов ITS2 (рис. 4) [92, 94, 95]. Далее ITS2 расщепляет нуклеаза Rrp6, формируя 6S пре-рРНК [92]. Недавняя крио-ЭМ-структура РНК-экзосомы показала, что она претерпевает структурные перестройки при связывании с пре-60S [78, 96], образуя внутри ядра РНК-экзосомы канал, через который

7S пре-рРНК попадает в активный сайт экзонуклеазы Rrp44 [78, 95, 96] (рис. 4).

### Процессинг рРНК человека

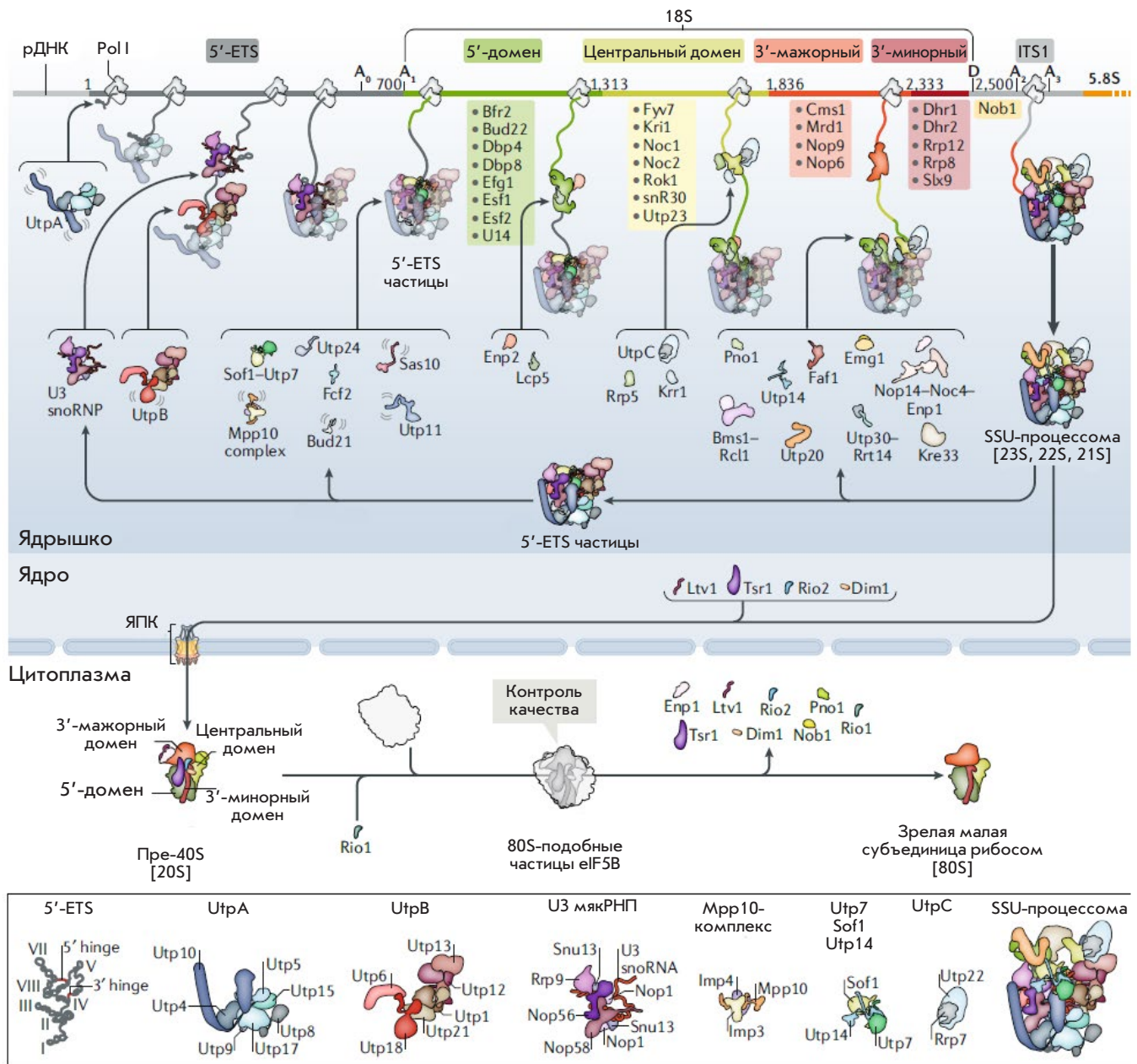
Процессинг 18S рРНК человека включает больше шагов, чем в клетках дрожжей [23, 35] (рис. 3). На первом этапе процессинга первичный транскрипт 47S (рис. 3) укорачивается с обоих концов по сайтам A0 (или 01) и 02 с высвобождением 5'- и 3'-ETS, соответственно, и образованием предшественника 45S пре-рРНК (рис. 3), который затем укорачивается посредством двух альтернативных путей. В клетках человека расщепление 47S пре-рРНК в сайтах A0 и 02 скоординировано во времени. Нарушение этой координации приводит к накоплению интермедиата 46S. 45S пре-рРНК процессируется с помощью параллельных путей (1 и 2) с образованием многочисленных промежуточных продуктов (рис. 3Г). Важную роль в процессинге (помимо экзонуклеаз) играют также экзонуклеазы, укорачивающие рРНК с концов.

Часть молекул пре-рРНК человека расщепляется, по-видимому, котранскрипционно, как и в клетках дрожжей. Предполагается, что у млекопитающих пре-рРНК котранскрипционно расщепляется только по сайту A' [97]. Стоит отметить, что существуют условия, благоприятствующие одному из альтернативных путей. Например, мутации в U3 или U8 мякРНК нарушают порядок расщепления пре-рРНК [98]. Первое расщепление 47S пре-рРНК происходит по сайту 01, расположенному на несколько сотен нуклеотидов ниже старта транскрипции, в области связывания C/D мякРНК U3 в 5'-ETS. Порядок расщепления предшественников зависит также от вида и типа клеток, физиологических условий и стадий клеточного цикла и нарушается при патологиях [6, 99–101].

Ключевые ФСП и РБ, участвующие в процессинге пре-рРНК, а также анализ различий в аппарате процессинга рРНК дрожжей и человека будут приведены при рассмотрении деталей сборки отдельных предшественников SSU и LSU.

Хотя синтез и созревание рРНК являются ключевыми событиями в биогенезе субъединиц рибосом, не меньшее значение имеют и другие аспекты этого процесса, такие, как включение в структуру на определенных этапах рибосомных белков, а также ФСП (рис. 5). В процессе сборки рибосом реализуются четыре основных принципа: (1) постепенное снижение конформационной свободы пре-рРНК; (2) последовательность и временная динамика связывания отдельных факторов сборки, обеспечиваемых молекулярной мимикрией и молекулярными переключателями; (3) необратимость ключевых кон-



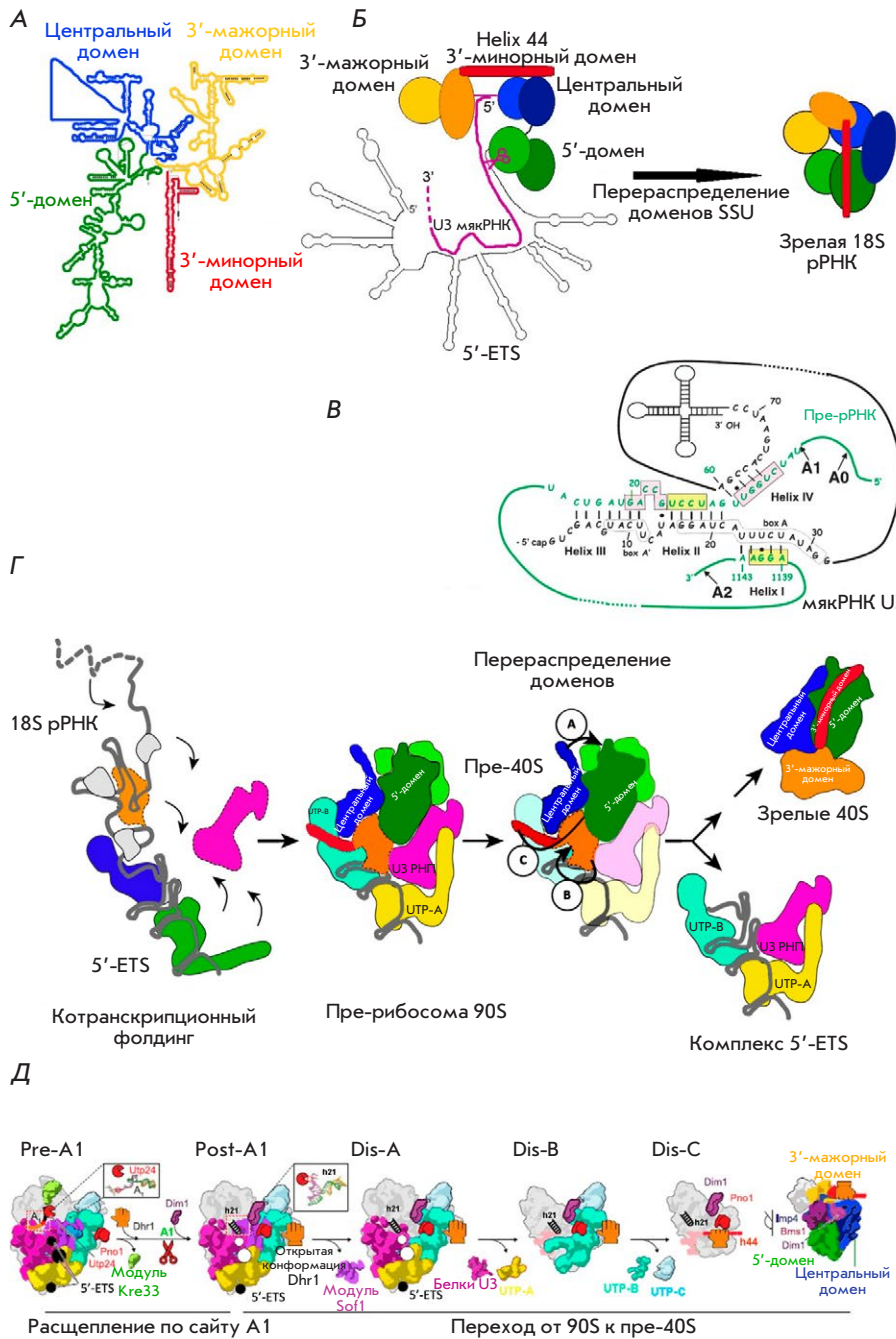


**Рис. 5.** Факторы и комплексы, участвующие в сборке малой субъединицы дрожжей. Показаны основные стадии созревания 40S субъединицы дрожжей. Сверху представлена рДНК, в которой выделены основные домены 18S рРНК: 5'-ETS, ITS1, 5'-домен, центральный домен, 3'-мажорный, 3'-минорный домены. Там же указаны сайты (A0, A1, D и A2). Ниже приведены промежуточные пре-рибосомные частицы: комплекс 5'-ETS, процессома SSU и пре-40S. Промежуточные компоненты комплексов пре-рРНК указаны в квадратных скобках под каждой частицей. На данном рисунке приведены факторы сборки рибосом и комплексы с известной структурой в виде изображений, структуры которых не установлены – в виде текстовых аббревиатур. Белки, которые присоединились к растущей процессоме SSU на более ранней стадии, показаны как «прозрачные», в отличие от новых, непрозрачных компонентов. Адаптировано из [44]

трольных точек, которая зависит от потребления энергии и ферментов, изменяющих длину и структуру РНК; (4) структурная и функциональная коррекция функциональных центров обеих рибосомных субчастиц.

### Сборка 90S пре-рРНК

По мере выхода транскрипта из контакта с Pol I 5'-ETS рРНК складывается в структуры «стебель–петля», создавая платформу для присоединения ФСР, РБ, а также сворачивания четырех доменов SSU



**Рис. 6.** Схема доменных перестроек при созревании 40S субъединицы. А – 18S рРНК содержит три домена вторичной структуры: 5'-домен, центральный домен, 3'-мажорный и 3'-минорный домены (адаптировано из <https://crw-site.chemistry.gatech.edu/>); Б – схематическое изображение процессомы SSU (слева) и зрелой 18S (справа). Домены 18S представлены в виде геометрических фигур разного цвета: зеленый – 5'-домен, синий – центральный, желтый – 3'-мажорный, красный прямоугольник – 3'-минорный домен, розовая линия U3 рРНК [13]; В – взаимодействие пар оснований между дрожжевой U3 мЯКРНК и 18S частью дрожжевой пре-рРНК. Три детально описанных взаимодействия между Box A и Box A' в мЯКРНК U3 и тремя сегментами 18S части пре-рРНК, которые участвуют в формировании структуры центрального псевдоузла в зрелой 18S рРНК [23, 35]; Г – модель образования 90S и ее превращения в пре-40S. Модули мЯКРНК UTP-A (желтый), UTP-B (голубой) и U3 (розовый) котранскрипционно связываются с 35S пре-рРНК. Дальнейшее уплотнение приводит к образованию 90S комплекса. Общая укладка 5'-домена 18S рРНК напоминает «зрелую» конформацию, но при трансформации пре-40S пре-рибосомы 90S в зрелую малую 40S субъединицу необходимы структурные перестройки в центральном, 3'-мажорном (оранжевый) и 3'-минорном (красный) доменах [23, 35]. Д – схема трансформации 90S в пре-40S при расщеплении A1. Модули факторов сборки и выбранные белки окрашены и помечены соответствующим образом. Хеликаза Dhr1 показана в виде хватающей руки

(рис. 6А). Поскольку эти структуры формируются котранскрипционно, они создают сайты посадки ряда комплексов ФСР, включая молекулярные шапероны UTP-A, UTP-B и мЯКРНК U3, обеспечивая упорядоченность сборки. На этом этапе основную роль играют шпильчатые структуры, образуемые 5'-ETS (рис. 6А, Б) [44]. Значительная вариабельность первичных структур 5'-ETS и ITS разных видов свидетельствует о ключевой роли в биогенезе рибосом пространственной структуры, формируемой этими элементами [102]. Спариваясь с основаниями

рРНК, U3 мЯКРНК делает структуру рРНК жесткой. В крио-ЭМ-структуре 90S можно выделить частично выступающий комплекс 3'-концевой части мЯКРНК U3 с основными факторами C/D-box (Nor1, Nor56, Nor58, Snu13, Rrp9). Одноцепочечная 5'-концевая часть U3 глубоко проникает внутрь частицы SSU, гибридизуясь с короткими консервативными нуклеотидными последовательностями 18S рРНК и 5'-ETS (рис. 6Б). Этот процесс сопровождается образованием 5'- и 3'-петель и способствует выщеплению 18S пре-рРНК за счет образования Box A и Box

Таблица 1. Факторы сборки малой рибосомной субъединицы [44]

Факторы биогенеза рибосом компонента SSU у <i>Saccharomyces cerevisiae</i>					
Номер кластера			Человек	<i>S. cerevisiae</i>	Функция
2	2	8	DDX47	Rrp3	DEAD-бокс-хеликаза
6	2	2	DDX49	Dbp8	DEAD-бокс-хеликаза
1	1	1	DDX42	Rok1	DEAD-бокс-хеликаза
1	1	1	EIF4A3	Fal1	DEAD-бокс-хеликаза
2			Rrp36	Rrp36	Структурный
11	11		MYBBP1A	Pol5	То же
2	2		ABT1	Esf2	«
1	1	1	Esf1	Esf1	«
3			Utp23	Utp23	«
4	4	11	NOC2L	Noc2	«
8	3	3	RBM19	Mrd1	«
		2	C14orf21	Nop9	«
1			Rrp8	Rrp8	pРНК-метилтрансфераза
				Компоненты H/ACA	
		2	Gar1	Gar1	Кофактор псевдоуридинсинтазы
2	2		Nhp2	Nhp2	Кофактор псевдоуридинсинтазы
			Nop10	Nop10	Кофактор псевдоуридинсинтазы
				Комплекс UtpA	
2	2	2	CIRH1A	Utp4	Структурный
2	2	5	WDR43	Utp5	То же
2	2		HEATR1	Utp10	«
1	1	1	Utp15	Utp15	«
5	5	2	WDR75	Utp17/Nan1	«
				Комплекс UtpB	
2	2	2	PWP2	Utp1/Pwp2	«
2	8	8	Utp6	Utp6	«
2	2	2	WDR3	Utp12	«
2	2	2	TBL3	Utp13	«
2	2		Utp18	Utp18	Структурный, несет мотив связывания экзосомы
2	2	2	WDR36	Utp21	Структурный
				U3 snoRNP	
2	2	2	Nop56	Nop56	ВохС/D мякРНК основной компонент
2	2		Nop58	Nop58	ВохС/D мякРНК основной компонент
2	2	2	FBL	Nop1	ВохС/D мякРНК основной компонент
2	2	11	NHP2L1	Snu13	ВохС/D мякРНК основной компонент
2	2	2	Rrp9	Rrp9	Специфический фактор U3 мякРНК
				Комплекс Mpp10	
8	8	8	MPHOSPH10	Mpp10	Структурный
2	2	2	Imp3	Imp3	То же

Факторы биогенеза рибосом компонента SSU у <i>Saccharomyces cerevisiae</i>					
Номер кластера			Человек	<i>S. cerevisiae</i>	Функция
2	2	8	Imp4	Imp4	«
				Отдельные факторы	
	2	8	DCAF13	Sof1	«
8	8	8	WDR46	Utp7	«
2		2	DNTTIP2	Fcf2	«
2	2	8	FCF1	Utp24	A1, A2 нуклеаза
1	2		UTP3	Sas10/Utp3	Структурный, несет мотив связывания экзосомы
2	2	8	UTP11L	Utp11	Структурный
				5'-домен	
2	2	8	AATF	Bfr2	То же
2	2	8	NOL10	Enp2	«
2	2	2	NOL6	Utp22	«
				Центральный домен	
2	8	8	RRP7A	Rrp7	«
8	8	4	PDCD11	Rrp5	«
1	2		Krr1	Krr1	«
1	2		BYSL	Enp1	«
				3'-главный домен	
2	2	2	NOP14	Nop14	«
2	2	2	NOC4L	Noc4	«
7	7	7	Rrp12	Rrp12	«
1			NAT10	Kre33	Цитозин ацетилтрансфераза/хеликаза
1	2	2	Bms1	Bms1	GTP-аза
2	2		Rcl1	Rcl1	Структурный
1	1		EMG1	Emg1/Nep1	pРНК-метилтрансфераза
4	4	4	RSL1D1	Utp30	Структурный
6	6	6	Pno1	Pno1	То же
2	2	8	Utp20	Utp20	«
8	8	4	UTP14A	Utp14	Dhr1-связывание
				Rrt14	«
				Faf1	«
				Dhr1	DEAH-бокс-хеликаза
2			Nob1	Nob1	Нуклеаза сайта D
	5	5	DHX33	Dhr2	DEAH-бокс-хеликаза
1			DHX35		
1	1		C1orf107	Utp25	Структурный
10	10	10	WBSCR22	Bud23	pРНК-метилтрансфераза
			TRMT112	Trm112	Адаптор метилтрансферазы
9	9	9	Ltv1	Ltv1	Структурный
		4	Tsr1	Tsr1	То же
		4	RIOK1	Rio1	«
	10		RIOK2	Rio2	«
			CSNK1A1	Hrr25	Казеинкиназа
4	8		DIMT1L	Dim1	pРНК-деметиلاза



A' [44, 103–109] (рис. 6Б). Непосредственная близость этих сайтов к 5'-области U3 мякРНК обеспечивает критическое пространственное ограничение, задающее топологию созревающей частицы. Комплекс, содержащий свернутый 5'-ETS 18S пре-рРНК с нерасщепленным сайтом A1 и ранние РБ, внедряется в структуру, образованную факторами биогенеза (~60 белков) и мякРНК U3 (рис. 6, табл. 1). Для своевременного расщепления в сайтах A1 и A2 необходимо зависящее от U3 формирование конформации 35S пре-рРНК, которая препятствует образованию центрального псевдоузла – характерной структуры, расположенной в центре декодирования в зрелой 18S рРНК (рис. 6). Ряд ранних ФСР (Utp11, Sas10, Mpp10 и Fcf2) (рис. 5) ограничивают домены пре-рРНК внутри частицы, связываясь либо с белком, либо с элементами РНК. В 90S пре-рибосоме только 5'-домен имеет конформацию, близкую к зрелой, и, соответственно, содержит РБ (рис. 6). Центральный домен виден только частично, а 3'-концевые домены невозможно распознать в структуре 90S. Таким образом, сворачивание зарождающейся 18S рРНК происходит в направлении от 5'- к 3'-концу, но блокируется на промежуточных стадиях, которые требуют привлечения дополнительных ФСР (рис. 5, 6). В структуре 90S субчастицы обнаружена GTP-аза Bms1. Считается, что этот фермент после гидролиза GTP инициирует конформационные изменения, необходимые для процессинга пре-рРНК и превращения 90S в пре-40S субчастицу. В соответствии с этой гипотезой, Bms1 расположен на границе раздела ряда доменов пре-18S, контактируя с несколькими ФСР, стабилизирующими переходную структуру 90S (рис. 5).

Приблизительно 18 из 60 ФСР в частице 90S представляют собой  $\beta$ -пропеллерные белки, служащие основой для межбелковых взаимодействий, которые обычно формируются в процессе образования макромолекулярных комплексов [110]. Кроме того, несколько белков с повторами Trp и Asp (WD) в составе 90S связываются непосредственно со специфическими сайтами рРНК. Другая большая группа ФСР 90S – это  $\alpha$ -спиральные белки. Большие белки Utp20 (~220 кДа) и Utp10 (~180 кДа) связаны друг с другом, достигая отдаленных областей на частице 90S своими длинными  $\alpha$ -спиралями. Например, Utp10 простирается от основания 90S, где расположен 5'-ETS, до вершины 90S (5'-домен), где он связывается с Utp20, обернутым вокруг головы частицы 90S (рис. 5, 6). Такие отдаленные контакты облегчают связь между различными областями и/или способствуют распознаванию конформации, общей для согласования этапов созревания [5]. Некоторые факторы биогенеза 90S частично или полностью развернуты. Эти полипептиды нахо-

дятся как на поверхности, так и глубоко погружены в структуру 90S субчастиц. В качестве типичного примера можно привести Mpp10, который, наматываясь вокруг 90S, контактирует с Imp3, Imp4, Bms1, Utp12, Utp13 (UTP-B) и некоторыми частями 18S рРНК (рис. 5, 6). Аналогично, Nop14 своими длинными N- и C-концевыми участками связывает Noc4, Emg1 и Rcl1. Эти элементы не только стабилизируют комплекс 90S, но и участвуют в дальних взаимодействиях и/или в конформационном зондировании [5].

Последний этап преобразования 90S – стадия отделения комплекса пре-40S. Этот шаг тесно связан с расщеплением предшественника 35S по сайтам A1 и A2 на первом этапе пути биогенеза предшественника большой субчастицы 60S. Интересно, что Utp24 расположен близко к сайту A1 в частице 90S, но не может выполнять свою функцию, потому что другой ФСР, Sof1, маскирует сайт расщепления A1. Таким образом, для перехода пре-рибосомы 90S на следующую стадию сборки требуются значительные конформационные перестройки, вызванные взаимодействием с ней новых ФСР (например, хеликаз) и/или гидролизом макроэргических связей. В частице 90S присутствует несколько дополнительных ферментов, например, ацетилтрансфераза Kre33 или метилтрансферазы Nop1 и Emg1. Несмотря на то что РНК-хеликазы вовлечены в структурные перестройки РНК, включая диссоциацию мякРНК, в 90S комплексе они отсутствуют. Можно предположить, что переход 90S в пре-40S стимулируется хеликазой Dhr1/Ecm16, так как показано, что она нарушает спаривание оснований между мякРНК U3 и пре-рРНК и участвует в отщеплении 5'-ETS [111, 112]. Многие факторы связывают пре-рРНК временно и только до расщепления по сайту A2. К ним относят небольшие РНК (U14, snR10 и snR30 [113, 114]) и белки, которые связаны с каждым из субдоменов 18S рРНК [115–117], хотя их роль в настоящее время мало понятна (рис. 5).

Взаимодействие белков, таких, как Mpp10, Utp11 и Sas10 (рис. 5), и спаривание оснований мякРНК U3 с 5'-ETS и 18S рРНК (рис. 5) обеспечивают дополнительную устойчивость частицы, преимущественно действуя как локальные стабилизаторы структурных элементов РНК [31, 44]. Белки, содержащие спиральные повторы (Nop14, Noc4, Rrp5, Utp10 и Utp20) и играющие в основном структурную роль, а также некоторые ферменты, такие, как метилтрансфераза Emg1 [118], ацетилтрансфераза-хеликаза Kre33 [52] и GTP-аза Bms1 [31, 52], расположены во внешних областях процессомы SSU. Временной порядок, в котором ферменты действуют на инкапсулированные пре-18S рРНК, еще предстоит определить.

### Переход от 90S пре-рРНК к 40S пре-рРНК. Отделение 5'-ETS

Ингибирование РНК-экзосомы в результате мутации в Utp18 [53] или остановка сборки 90S на укороченной с 3'-конца пре-рРНК [46, 119, 120] стабилизируют комплекс 5'-ETS РНК с UTP-A, UTP-B, U3 мякРНК и рядом других факторов биогенеза, отделяемый на этапе перехода от 90S к пре-40S субчастице [5, 53]. Деградация 5'-ETS РНК-экзосомой должна приводить к рециркуляции факторов биогенеза [90, 91].

Дальнейшие этапы созревания требуют координированного расщепления по сайту A1 5'-ETS и A2 ITS1, что служит сигналом к разделению 18S рРНК и 5.8S/25S рРНК (рис. 6) [5, 36, 44].

Диссоциация факторов обеспечивает возможность образования контактов между четырьмя доменами 18S рРНК, что уплотняет структуру (рис. 6). Крио-ЭМ-структуры, показывающие переход от 90S к пре-40S, позволили выявить семь промежуточных состояний пре-рибосомных частиц Pre-A1, Post-A1, Dis-C, Dis-A и Dis-B, последовательно сменяющих друг друга в процессе биогенеза (рис. 6Д) [121].

В состоянии Pre-A1 наблюдается позиционирование спирали h21 пре-18S рРНК в ее зрелое/правильное положение (рис. 6Д). Одновременно с расщеплением по сайту A1 изменения структуры приводят к образованию промежуточного продукта Post-A1. Последовательная диссоциация нескольких модулей факторов сборки через промежуточные состояния Dis-C, Dis-A и Dis-B приводит к постепенному упрощению комплекса при сохранении основных взаимодействий в 90S субчастице. Вероятно, решающий шаг в демонтаже промежуточного продукта 90S зависит от степени созревания доменов пре-40S, что отражается в степени его уплотнения. Уплотнение рРНК происходит в результате ремоделирования структуры рРНК и РНК, что делает возможным образование центра декодирования [44]. Степень уплотнения может быть сигналом разборки каркаса 5'-ETS, что видно из структур, предшествующих расщеплению A1 [90]. Это предположение согласуется с зависимостью расщепления A1 от активности хеликазы Mtr4, возможно, ремоделирующей 5'-ETS [103]. Поворот и смещение спиралей РНК, начинающиеся в 3'-области 5'-ETS, делают возможным перемещение Pno1 и h45 и, одновременно, присоединение хеликазы Dhr1, которая формирует часть спирали h1 рРНК, необходимой для разрезания A1 эндонуклеазой Utp24. Этот сложный процесс сопутствует диссоциации нескольких факторов, дальнейшей дестабилизации промежуточного 90S комплекса и вытеснения 5'-ETS. В результате происходит высвобождение РНК-белковых комплексов и образование пре-40S (рис. 5) [121].

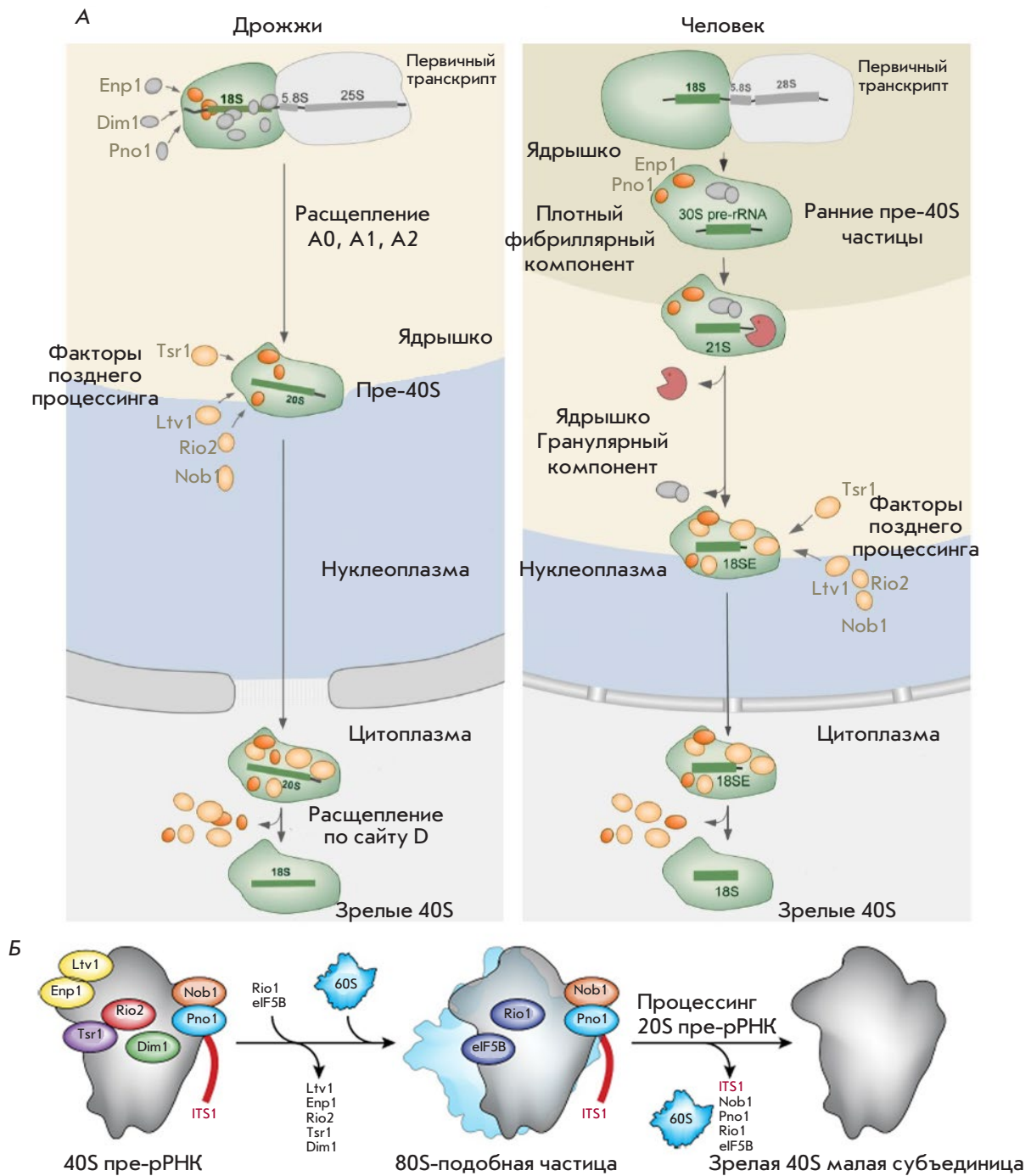
### Экспорт пре-40S частиц

Внутри 90S комплекса образуется пре-рРНК 20S (рис. 3), которая содержит 18S рРНК и часть ITS1. Пре-рРНК 20S является компонентом самых ранних пре-40S частиц. Пре-40S связываются с несколькими ФСР – белком ядрышка Tsr1 и цитоплазматическими белками Ltv1, Rio2 и Nob1 (рис. 5) – и быстро транспортируются в цитоплазму. Из-за большого размера пре-рибосомы перемещаются через ядерные поры по одной. Кариоферин Crm1/Xpo1 при участии Ran/Gsp1 переносит их в цитоплазму GTP-зависимым способом [122]. Rrp12 вместе с Crm1 связывается с 90S и участвует в процессинге 35S пре-рРНК по сайту A0 [123]. Снижение количества Rrp12 либо Crm1 вызывает накопление пре-40S комплекса в нуклеоплазме [124]. По крайней мере три ФСР: Dim2, Ltv1 и Rio2, присутствующие в пре-40S частицах, содержат предсказанные или функциональные сигналы экспорта из ядра, но ни один из них по отдельности не является необходимым для экспорта. Функции других факторов, участвующих в экспорте субъединиц пре-40S, на настоящий момент не установлены.

### Процессинг пре-40S субчастиц в цитоплазме

Частицы пре-40S, согласно данным, полученным биохимическими и структурными методами, имеют относительно простой состав ФСР при переходе к зрелой структуре 18S рРНК. Первая структура частицы пре-40S, полученная при помощи крио-ЭМ, выявила почти сформированные 5'- и центральный (платформенный) домены, тогда как 3'-домен (области «головы» и «клюва») еще не достиг зрелой конформации. Пре-40S субчастица, попавшая в цитоплазму, содержит семь ФСР, способствующих событиям позднего созревания (рис. 7). В цитоплазме происходят два основных события: структурные перестройки, формирующие «клюв», и расщепление 20S пре-рРНК по сайту D эндонуклеазой Nob1. Они тесно связаны с механизмами контроля качества и проверкой функциональных центров, которые гарантируют, что рибосомные субъединицы трансляционно компетентны [125]. Созреванию «клюва» способствует высвобождение ФСР и факторов экспорта, стабильное присоединение нескольких рибосомных белков и конформационная перестройка, результатом которой является формирование сайта декодирования. Фосфорилирование белков Ltv1 и Enp1 киназой Hrr25 позволяет им вытеснить и правильно разместить зрелый белок Rps3, что способствует Nob1-зависимому расщеплению 20S пре-рРНК по сайту D [122].

Данные крио-ЭМ частиц пре-40S дрожжей и человека выявили значительное структурное подобие позиций ассоциированных поздних ФСР, которые за-



**Рис. 7.** Поздние стадии созревания субъединиц рибосом человека и дрожжей и субклеточная локализация основных участников сборки. **А** – промежуточные продукты пре-рибосомы 40S у дрожжей *S. cerevisiae* (слева) и у человека *H. sapiens* (справа). Стабильное выявление двух дополнительных пре-рРНК (30S и 21S) в клетках человека указывает на то, что существуют по крайней мере две отдельные стадии раннего созревания, которые не наблюдаются у дрожжей. Сходные составы цитоплазматических частиц пре-40S предполагают сходство позднего созревания у дрожжей и человека. **Б** – схема контроля качества цитоплазматической субъединицы пре-40S. Указаны только факторы сборки с известными сайтами связывания [125]



нимают функционально важные сайты и блокируют формирование функциональных рибосом [5, 126–128]. В частности, ФСР Tsr1, Enp1, Rio2 и Pno1/Dim2 совместно контролируют неполностью сформированные сайты в составе пре-40S: центр декодирования и мРНК-связывающую канавку (рис. 7). На ранних этапах Enp1 и Ltv1 занимают сайт связывания рибосомного eS10 в 3'-мажорном домене («голова» и «клюв»), диссоциируя при фосфорилировании протеинкиназой Hrr25 [5, 129–131]. Диссоциация Enp1/Ltv1 приводит к присоединению eS31 и перемещению С-концевого домена uS3, что стабилизирует взаимодействие между «телом» и «головой» 40S [132]. Механизм своевременного расщепления 20S пре-рРНК эндонуклеазой Nob1 может быть объяснен с помощью крио-ЭМ-структур. РНК-связывающий белок Pno1 маскирует сайт расщепления на 3'-конце зрелой 18S рРНК. Конформационная перестройка и взаимодействие пре-40S субчастицы со зрелой 60S субчастицей являются проверочными шагами, необходимыми для взаимодействия с Nob1, осуществляющей превращение 20S пре-рРНК в 18S рРНК [5, 38, 133–137]. Крио-ЭМ-анализ поздних пре-40S частиц человека подтверждает модель, в которой Rio1-АТФ взаимодействует с рибосомным белком RPS26, вытесняя Dim2 с 3'-конца 20S пре-рРНК. В результате, пре-рРНК становится доступной для взаимодействия

с эндонуклеазой Nob1. Гидролиз АТФ и высвобождение ADP приводят к диссоциации комплекса Rio1 и 40S субъединицы. Механизм блокировки с двумя ключами – Rio1 и RPS26 – гарантирует согласованность преобразования частиц в компетентные для трансляции 40S субчастицы [138]. Координация образования 80S-подобной частицы с окончательным созреванием 18S рРНК гарантирует, что только правильно собранные 40S субчастицы будут участвовать в трансляции.

Таким образом, несмотря на обилие данных, полученных для *S. cerevisiae*, и высокую консервативность биогенеза рибосом у эукариот, архитектура процессинга общего для обеих субъединиц 90S предшественника и предшественника малой 40S субъединицы у высших эукариот претерпела значительные изменения, детали которых еще предстоит изучить.

Дальнейшее описание биогенеза большой 60S субъединицы будет представлено в следующей части обзора. ●

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-00796 А «Анализ белково-нуклеинового состава интермедиатов сборки рибосомных субчастиц в генетически модифицированных клетках человека».*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ban N., Nissen P., Hansen J., Moore P.B., Steitz T.A. // *Science*. 2000. V. 289. № 5481. P. 905–920.
- Jenner L., Melnikov S., de Loubresse N.G., Ben-Shem A., Iskakova M., Urzhumtsev A., Meskauskas A., Dinman J., Yusupova G., Yusupov M. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2012. V. 22. № 6. P. 759–767.
- Klinge S., Voigts-Hoffmann F., Leibundgut M., Ban N. // *Trends Biochem. Sci.* 2012. V. 37. № 5. P. 189–198.
- Melnikov S., Ben-Shem A., Garreau De Loubresse N., Jenner L., Yusupova G., Yusupov M. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012. V. 19. № 6. P. 560–567.
- Baßler J., Hurt E. // *Annu. Rev. Biochem.* 2019. V. 88. № 1. P. 281–306.
- Mullineux S.T., Lafontaine D.L.J. // *Biochimie*. 2012. V. 94. № 7. P. 1521–1532.
- Hadjiolov A.A., Nikolaev N. // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1978. V. 31. P. 95–144.
- Misteli T. // *Sci. Am.* 2011. V. 304. № 2. P. 66–73.
- van Sluis M., McStay B. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2017. V. 46. P. 81–86.
- Mangan H., Gailín M., McStay B. // *FEBS J.* 2017. V. 284. № 23. P. 3977–3985.
- Henderson A.S., Warburton D., Atwood K.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1972. V. 69. № 11. P. 3394–3398.
- Németh A., Längst G. // *Trends Genet.* 2011. V. 27. № 4. P. 149–156.
- Correll C.C., Bartek J., Dundr M. // *Cells*. 2019. V. 8. № 8. P. 869.
- Wang F., Ying C., Shang G., Jiao M., Hongfang Z. // *Micron*. 2013. V. 49. P. 15–20.
- DiMario P.J. // *Int. Rev. Cytol.* 2004. V. 239. P. 99–178.
- Thiry M., Lafontaine D.L.J. // *Trends Cell Biol.* 2005. V. 15. № 4. P. 194–199.
- Montanaro L., Treré D., Derenzini M. // *Am. J. Pathol.* 2008. V. 173. № 2. P. 301–310.
- Olson M.O.J. *The Nucleolus*. New York, NY. Springer New York, 2011. 414 c.
- Dragon F., Compagnone-Post P.A., Mitchell B.M., Porwancher K.A., Wehner K.A., Wormsley S., Settlege R.E., Shabanowitz J., Osheim Y., Beyer A.L., et al. // *Nature*. 2002. V. 417. № 6892. P. 967–970.
- Grandi P., Rybin V., Baßler J., Petfalski E., Strauß D., Marzioch M., Schäfer T., Kuster B., Tschochner H., Tollervy D., et al. // *Mol. Cell*. 2002. V. 10. № 1. P. 105–115.
- Pöll G., Braun T., Jakovljevic J., Neueder A., Jakob S., Woolford J.L., Tschochner H., Milkereit P. // *PLoS One*. 2009. V. 4. № 12. P. 8249.
- Henras A.K., Plisson-Chastang C., O'Donohue M.F., Chakraborty A., Gleizes P.E. // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2015. V. 6. № 2. P. 225–242.
- Rabl J., Leibundgut M., Ataíde S.F., Haag A., Ban N. // *Science*. 2011. V. 331. № 6018. P. 730–736.
- Laptev I., Shvetsova E., Levitskii S., Serebryakova M., Rubtsova M., Bogdanov A., Kamenski P., Sergiev P., Dontsova O. // *RNA Biol.* 2020. V. 17. № 4. P. 441–450.
- Laptev I., Shvetsova E., Levitskii S., Serebryakova M., Rubtsova M., Zgoda V., Bogdanov A., Kamenski P., Sergiev P., Dontsova O. // *Nucleic Acids Res.* 2020. V. 48. № 14. P. 8022–8034.
- Frottin F., Schueder F., Tiwary S., Gupta R., Körner R., Schlichthaerle T., Cox J., Jungmann R., Hartl F.U., Hipp M.S.

- // Science. 2019. V. 365. № 6451. P. 342–347.
27. Andersen J.S., Lam Y.W., Leung A.K.L., Ong S.-E., Lyon C.E., Lamond A.I., Mann M. // Nature. 2005. V. 433. № 7021. P. 77–83.
  28. Boisvert F.-M., van Koningsbruggen S., Navascués J., Lamond A.I. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2007. V. 8. № 7. P. 574–585.
  29. Moraleva A., Magoulas C., Polzikov M., Hacot S., Mertani H.C., Diaz J.-J., Zatssepina O. // Cell Cycle. 2017. V. 16. № 20. P. 1979–1991.
  30. Barandun J., Chaker-margot M., Hunziker M., Molloy K.R., Chait B.T., Klinge S. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2017. V. 24. № 11. P. 944–953.
  31. Coleman A.W. // PLoS One. 2013. V. 8. № 11. P. 79122.
  32. Wang M., Anikin L., Pestov D.G. // Nucleic Acids Res. 2014. V. 42. № 17. P. 11180–11191.
  33. Grisendi S., Mecucci C., Falini B., Pandolfi P.P. // Nat. Rev. Cancer. 2006. V. 6. № 7. P. 493–505.
  34. Tomecki R., Sikorski P.J., Zakrzewska-Placzek M. // FEBS Lett. 2017. V. 591. № 13. P. 1801–1850.
  35. Woolford J.L., Baserga S.J. // Genetics. 2013. V. 195. № 3. P. 643–681.
  36. Allmang C., Tollervey D. // J. Mol. Biol. 1998. V. 278. № 1. P. 67–78.
  37. Lebaron S., Schneider C., van Nues R.W., Swiatkowska A., Walsh D., Böttcher B., Granneman S., Watkins N.J., Tollervey D. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2012. V. 19. № 8. P. 744–753.
  38. Bleichert F., Granneman S., Osheim Y.N., Beyer A.L., Baserga S.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. № 25. P. 9464–9469.
  39. Horn D.M., Mason S.L., Karbstein K. // J. Biol. Chem. 2011. V. 286. № 39. P. 34082–34087.
  40. Granneman S., Petfalski E., Tollervey D. // EMBO J. 2011. V. 30. № 19. P. 4006–4019.
  41. Osheim Y.N., French S.L., Keck K.M., Champion E.A., Spasov K., Dragon F., Baserga S.J., Beyer A.L. // Mol. Cell. 2004. V. 16. № 6. P. 943–954.
  42. Venema J., Tollervey D. // Annu. Rev. Genet. 1999. V. 33. P. 261–311.
  43. Klinge S., Woolford J.L. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2019. V. 20. № 2. P. 116–131.
  44. Koš M., Tollervey D. // Mol. Cell. 2010. V. 37. № 6. P. 809–820.
  45. Zhang L., Wu C., Cai G., Chen S., Ye K. // Genes Dev. 2016. V. 30. № 6. P. 718–732.
  46. Sharma S., Lafontaine D.L.J. // Trends Biochem. Sci. 2015. V. 40. № 10. P. 560–575.
  47. Natchiar S.K., Myasnikov A.G., Kratzat H., Hazemann I., Klaholz B.P. // Nature. 2017. V. 551. № 7681. P. 472–477.
  48. Kiss T., Fayet-Lebaron E., Jády B.E. // Mol. Cell. 2010. V. 37. № 5. P. 597–606.
  49. Watkins N.J., Bohnsack M.T. // Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2012. V. 3. № 3. P. 397–414.
  50. Sharma S., Yang J., Watzinger P., Kötter P., Entian K.D. // Nucleic Acids Res. 2013. V. 41. № 19. P. 9062–9076.
  51. Sharma S., Langhendries J.L., Watzinger P., Kötter P., Entian K.D., Lafontaine D.L.J. // Nucleic Acids Res. 2015. V. 43. № 4. P. 2242–2258.
  52. Kornprobst M., Turk M., Kellner N., Cheng J., Flemming D., Koš-Braun I., Koš M., Thoms M., Berninghausen O., Beckmann R., et al. // Cell. 2016. V. 166. № 2. P. 380–393.
  53. Rodríguez-Galán O., García-Gómez J.J., De la Cruz J. // Biochim. Biophys. Acta – Gene Regul. Mech. 2013. V. 1829. № 8. P. 775–790.
  54. Martin R., Straub A.U., Doebele C., Bohnsack M.T. // RNA Biol. 2013. V. 10. № 1. P. 4–18.
  55. Kressler D., Hurt E., Bergler H., Baßler J. // Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res. 2012. V. 1823. № 1. P. 92–100.
  56. Schultz J., Maisel S., Gerlach D., Müller T., Wolf M. // RNA. 2005. V. 11. № 4. P. 361–364.
  57. Joseph N., Krauskopf E., Vera M.I., Michot B. // Nucleic Acids Res. 1999. V. 27. № 23. P. 4533–4540.
  58. Burlacu E., Lackmann F., Aguilar L.C., Belikov S., van Nues R., Trahan C., Hector R.D., Dominelli-Whiteley N., Cockroft S.L., Wieslander L., et al. // Nat. Commun. 2017. V. 8. № 1. P. 714.
  59. Pillon M.C., Sobhany M., Borgnia M.J., Williams J.G., Stanley R.E., Baker D. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2017. V. 114. № 28. P. 5530–5538.
  60. Fromm L., Falk S., Flemming D., Schuller J.M., Thoms M., Conti E., Hurt E. // Nat. Commun. 2017. V. 8. № 1. P. 1–11.
  61. Wu S., Tutuncuoglu B., Yan K., Brown H., Zhang Y., Tan D., Gamalinda M., Yuan Y., Li Z., Jakovljevic J., et al. // Nature. 2016. V. 534. № 7605. P. 133–137.
  62. Sanghai Z.A., Miller L., Molloy K.R., Barandun J., Hunziker M., Chaker-Margot M., Wang J., Chait B.T., Klinge S. // Nature. 2018. V. 556. № 7699. P. 126–129.
  63. Kater L., Thoms M., Barrio-Garcia C., Cheng J., Ismail S., Ahmed Y.L., Bange G., Kressler D., Berninghausen O., Sinning I., et al. // Cell. 2017. V. 171. № 7. P. 1599–1610.
  64. van Nues R.W., Rientjes J.M.J., Morré S.A., Mollee E., Planta R.J., Venema J., Raué H.A. // J. Mol. Biol. 1995. V. 250. № 1. P. 24–36.
  65. van der Sande C.A.F.M., Kwa M., van Nues R.W., van Heerikhuizen H., Raué H.A., Planta R.J. // J. Mol. Biol. 1992. V. 223. № 4. P. 899–910.
  66. Gadal O., Strauss D., Petfalski E., Gleizes P.E., Gas N., Tollervey D., Hurt E. // J. Cell Biol. 2002. V. 157. № 6. P. 941–951.
  67. Adams C.C., Jakovljevic J., Roman J., Harnpicharnchai P., Woolford J.L. // RNA. 2002. V. 8. № 2. P. 150–165.
  68. Castle C.D., Sardana R., Dandekar V., Borgianini V., Johnson A.W., Denicourt C. // Nucleic Acids Res. 2013. V. 41. № 2. P. 1135–1150.
  69. Anantharaman V., Makarova K.S., Burroughs A.M., Koonin E.V., Aravind L. // Biol. Direct. 2013. V. 8. № 1. P. 8–15.
  70. Castle C.D., Cassimere E.K., Lee J., Denicourt C. // Mol. Cell. Biol. 2010. V. 30. № 18. P. 4404–4414.
  71. Schillewaert S., Wacheul L., Lhomme F., Lafontaine D.L.J. // Mol. Cell. Biol. 2012. V. 32. № 2. P. 430–444.
  72. Gasse L., Flemming D., Hurt E. // Mol. Cell. 2015. V. 60. № 5. P. 808–815.
  73. Wang M., Pestov D.G. // Nucleic Acids Res. 2011. V. 39. № 5. P. 1811–1822.
  74. Geerlings T.H., Vos J.C., Raue H.A. // RNA. 2000. V. 6. № 12. P. 1698–1703.
  75. Stevens A., Poole T.L. // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. № 27. P. 16063–16069.
  76. Xiang S., Cooper-Morgan A., Jiao X., Kiledjian M., Manley J.L., Tong L. // Nature. 2009. V. 458. № 7239. P. 784–788.
  77. Pillon M.C., Lo Y.H., Stanley R.E. // DNA Repair (Amst.). 2019. V. 9. № 81. P. 102653.
  78. Chlebowski A., Lubas M., Jensen T.H., Dziembowski A. // Biochim. Biophys. Acta – Gene Regul. Mech. 2013. V. 1829. № 6–7. P. 552–560.
  79. Januszyn K., Lima C.D. // Curr. Opin. Struct. Biol. 2014. V. 24. № 1. P. 132–140.
  80. Lykke-Andersen S., Tomecki R., Jensen T.H., Dziembowski A. // RNA Biol. 2011. V. 8. № 1. P. 61–66.
  81. Liu Q., Greimann J.C., Lima C.D. // Cell. 2006. V. 127. № 6. P. 1223–1237.
  82. Zinder J.C., Lima C.D. // Genes Dev. 2017. V. 31. № 2. P. 88–100.

83. Schneider C., Leung E., Brown J., Tollervey D. // *Nucleic Acids Res.* 2009. V. 37. № 4. P. 1127–1140.
84. Lorentzen E., Conti E. // *Methods Enzymol.* 2008. V. 447. P. 417–435.
85. Wasmuth E.V., Januszky K., Lima C.D. // *Nature.* 2014. V. 511. № 7510. P. 435–439.
86. Cristodero M., Böttcher B., Diepholz M., Scheffzek K., Clayton C. // *Mol. Biochem. Parasitol.* 2008. V. 159. № 1. P. 24–29.
87. Dziembowski A., Lorentzen E., Conti E., Séraphin B. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2007. V. 14. № 1. P. 15–22.
88. Makino D.L., Schuch B., Stegmann E., Baumgärtner M., Basquin C., Conti E. // *Nature.* 2015. V. 524. № 7563. P. 54–58.
89. Thoms M., Thomson E., Baßler J., Griesel S., Hurt E. // *Cell.* 2015. V. 162. P. 1029–1038.
90. De la Cruz J., Kressler D., Tollervey D., Linder P. // *EMBO J.* 1998. V. 17. № 4. P. 1128–1140.
91. Allmang C., Kufel J., Chanfreau G., Mitchell P., Petfalski E., Tollervey D. // *EMBO J.* 1999. V. 18. № 19. P. 5399–5410.
92. Jia H., Wang X., Anderson J.T., Jankowsky E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. № 19. P. 7292–7297.
93. Allmang C., Petfalski E., Podtelejnikov A., Mann M., Tollervey D., Mitchell P. // *Genes Dev.* 1999. V. 13. № 16. P. 2148–2158.
94. Kummer E., Ban N. // *Biochemistry.* 2018. V. 57. № 32. P. 4765–4766.
95. Schuller J.M., Falk S., Fromm L., Hurt E., Conti E. // *Science.* 2018. V. 360. № 6385. P. 219–222.
96. Sloan K.E., Bohnsack M.T., Schneider C., Watkins N.J. // *RNA.* 2014. V. 20. № 4. P. 540–550.
97. Langhendries J.L., Nicolas E., Doumont G., Goldman S., Lafontaine D.L.J. // *Oncotarget.* 2016. V. 7. № 37. P. 59519–59534.
98. Hadjiolova K.V., Nicoloso M., Mazan S., Hadjiolova A.A., Bachellerie J.P. // *Eur. J. Biochem.* 1993. V. 212. № 1. P. 211–215.
99. Gerbi SA, Borovjagin AV. Pre-Ribosomal RNA Processing in Multicellular Organisms. *Madame Curie Bioscience Database.* Austin, TX: Landes Bioscience, 2000–2013.
100. Belin S., Beghin A., Solano-González E., Bezin L., Brunet-Manquat S., Textoris J., Prats A.C., Mertani H.C., Dumontet C., Diaz J.J. // *PLoS One.* 2009. V. 4. № 9. P. 7147.
101. Coleman A.W. // *Trends Genet.* 2015. V. 31. № 3. P. 157–163.
102. Sun Q., Zhu X., Qi J., An W., Lan P., Tan D., Chen R., Wang B., Zheng S., Zhang C., et al. // *eLife.* 2017. V. 6. e22086.
103. Cheng J., Kellner N., Berninghausen O., Hurt E., Beckmann R. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2017. V. 24. № 11. P. 954–964.
104. Dutca L.M., Gallagher J.E.G., Baserga S.J. // *Nucleic Acids Res.* 2011. V. 39. № 12. P. 5164–5180.
105. Puchta O., Cseke B., Czaja H., Tollervey D., Sanguinetti G., Kudla G. // *Science.* 2016. V. 352. № 6287. P. 840–844.
106. Beltrame M., Henry Y., Tollervey D. // *Nucleic Acids Res.* 1994. V. 22. № 20. P. 5139–5147.
107. Marmier-Gourrier N., Cléry A., Schlotter F., Senty-Ségault V., Branlant C. // *Nucleic Acids Res.* 2011. V. 39. № 22. P. 9731–9745.
108. Barandun J., Hunziker M., Klinge S. // *Curr. Opin Struct. Biol.* 2018. V. 49. P. 85–93.
109. Rout M.P., Field M.C. // *Annu. Rev. Biochem.* 2017. V. 86. P. 637–657.
110. Zhu J., Liu X., Anjos M., Correll C.C., Johnson A.W. // *Mol. Cell. Biol.* 2016. V. 36. № 6. P. 965–978.
111. Sardana R., Liu X., Granneman S., Zhu J., Gill M., Papoulas O., Marcotte E.M., Tollervey D., Correll C.C., Johnson A.W. // *PLoS Biol.* 2015. V. 13. № 2. e1002083.
112. Hierlmeier T., Merl J., Sauert M., Perez-Fernandez J., Schultz P., Bruckmann A., Hamperl S., Ohmayer U., Rachel R., Jacob A., et al. // *Nucleic Acids Res.* 2013. V. 41. № 2. P. 1191–1210.
113. De La Cruz J., Karbstein K., Woolford J.L. // *Annu. Rev. Biochem.* 2015. V. 84. P. 93–129.
114. Krogan N.J., Peng W.T., Cagney G., Robinson M.D., Haw R., Zhong G., Guo X., Zhang X., Canadien V., Richards D.P., et al. // *Mol. Cell.* 2004. V. 13. № 2. P. 225–239.
115. McCann K.L., Charette J.M., Vincent N.G., Baserga S.J. // *Genes Dev.* 2015. V. 29. № 8. P. 862–875.
116. Ferreira-Cerca S., Pöll G., Gleizes P.E., Tschochner H., Milkereit P. // *Mol. Cell.* 2005. V. 20. № 2. P. 263–275.
117. Shi Z., Fujii K., Kovary K.M., Genuth N.R., Röst H.L., Teruel M.N., Barna M. // *Mol. Cell.* 2017. V. 67. № 1. P. 71–83.
118. Chaker-Margot M., Hunziker M., Barandun J., Dill B.D., Klinge S. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2015. V. 22. № 11. P. 920–923.
119. Hunziker M., Barandun J., Petfalski E., Tan D., Delan-Forino C., Molloy K.R., Kim K.H., Dunn-Davies H., Shi Y., Chaker-Margot M., et al. // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. № 12090. P. 1–10.
120. Cheng J., Lau B., La Venuta G., Ameismeier M., Berninghausen O., Hurt E., Beckmann R. // *Science.* 2020. V. 369. № 6509. P. 1470–1476.
121. Hutten S., Kehlenbach R.H. // *Trends Cell Biol.* 2007. V. 17. № 4. P. 193–201.
122. Moriggi G., Nieto B., Dosil M. // *PLoS Genet.* 2014. V. 10. № 12. e1004836.
123. Nieto B., Gaspar S.G., Moriggi G., Pestov D.G., Bustelo X.R., Dosil M. // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 156.
124. Nerurkar P., Altvater M., Gerhardy S., Schütz S., Fischer U., Weirich C., Panse V.G. // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2015. V. 319. P. 107–140.
125. Strunk B.S., Loucks C.R., Su M., Vashisth H., Cheng S., Schilling J., Brooks C.L., Karbstein K., Skiniotis G. // *Science.* 2011. V. 333. № 6048. P. 1449–1453.
126. Larburu N., Montellese C., O'Donohue M.F., Kutay U., Gleizes P.E., Plisson-Chastang C. // *Nucleic Acids Res.* 2016. V. 44. № 17. P. 8465–8478.
127. Johnson M.C., Ghalei H., Doxtader K.A., Karbstein K., Stroupe M.E. // *Structure.* 2017. V. 25. № 2. P. 329–340.
128. Schäfer T., Maco B., Petfalski E., Tollervey D., Böttcher B., Aebi U., Hurt E. // *Nature.* 2006. V. 441. № 7093. P. 651–655.
129. Ghalei H., Schaub F.X., Doherty J.R., Noguchi Y., Roush W.R., Cleveland J.L., Elizabeth M., Karbstein K. // *J. Cell Biol.* 2015. V. 208. № 6. P. 745–759.
130. Mitterer V., Gantenbein N., Birner-Gruenberger R., Murat G., Bergler H., Kressler D., Pertschy B. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. № 1. P. 1–11.
131. Scaiola A., Peña C., Weisser M., Böhringer D., Leibundgut M., Klingauf-Nerurkar P., Gerhardy S., Panse V.G., Ban N. // *EMBO J.* 2018. V. 37. № 7. e98499.
132. Turowski T.W., Lebaron S., Zhang E., Peil L., Dudnakova T., Petfalski E., Granneman S., Rappsilber J., Tollervey D. // *Nucleic Acids Res.* 2014. V. 42. № 19. P. 12189–12199.
133. Strunk B.S., Novak M.N., Young C.L., Karbstein K. // *Cell.* 2012. V. 150. № 1. P. 111–121.
134. Ferreira-Cerca S., Kiburu I., Thomson E., Laronde N., Hurt E. // *Nucleic Acids Res.* 2014. V. 42. № 13. P. 8635–8647.
135. Belhabich-Baumas K., Joret C., Jády B.E., Plisson-Chastang C., Shayan R., Klopp C., Henras A.K., Henry Y., Mougain A. // *Nucleic Acids Res.* 2017. V. 45. № 18. P. 10824–10836.
136. Ghalei H., Trepreau J., Collins J.C., Bhaskaran H., Strunk B.S., Karbstein K. // *Mol. Cell.* 2017. V. 67. № 6. P. 990–1000.
137. Plassart L., Shayan R., Montellese C., Rinaldi D., Larburu N., Pichereaux C., Lebaron S., O'donohue M.-F., Kutay U., Marcoux J., et al. // *eLife.* 2021. V. 10. e61254.
138. Sleeman J.E. // *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 2004. V. 362. № 1825. P. 2775–2793.