

УДК 577.22

# Биогенез рибосом эукариот: 60S субъединица

А. А. Моралева<sup>1</sup>, А. С. Дерябин<sup>1\*</sup>, Ю. П. Рубцов<sup>1</sup>, М. П. Рубцова<sup>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.11541

**РЕФЕРАТ** Биогенез рибосом – последовательное скоординированное созревание рибосомных предшественников в ядрышке, нуклеоплазме и цитоплазме. В формировании зрелых субъединиц рибосом принимают участие сотни факторов, которые обеспечивают процессинг рибосомных РНК, формирование их третичной структуры, а также взаимодействие с ними рибосомных белков. Основные особенности и стадии биогенеза рибосом одинаковы в разных группах эукариот, однако в клетках человека этот процесс претерпел усложнение из-за увеличения размера рибосом и прерибосом, а также усложнения регуляторных путей, влияющих на их сборку и функцию. С помощью полногеномных скринингов на основе РНК-интерференции выявлено множество факторов, необходимых для биогенеза именно рибосом человека. В первой части обзора суммированы последние результаты изучения процессинга первичного транскрипта рРНК, а также сравниваются процессы созревания малой 40S субъединицы в клетках дрожжей и человека. В представленной второй части обзора основное внимание уделено биогенезу большой 60S субъединицы эукариотических рибосом.

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

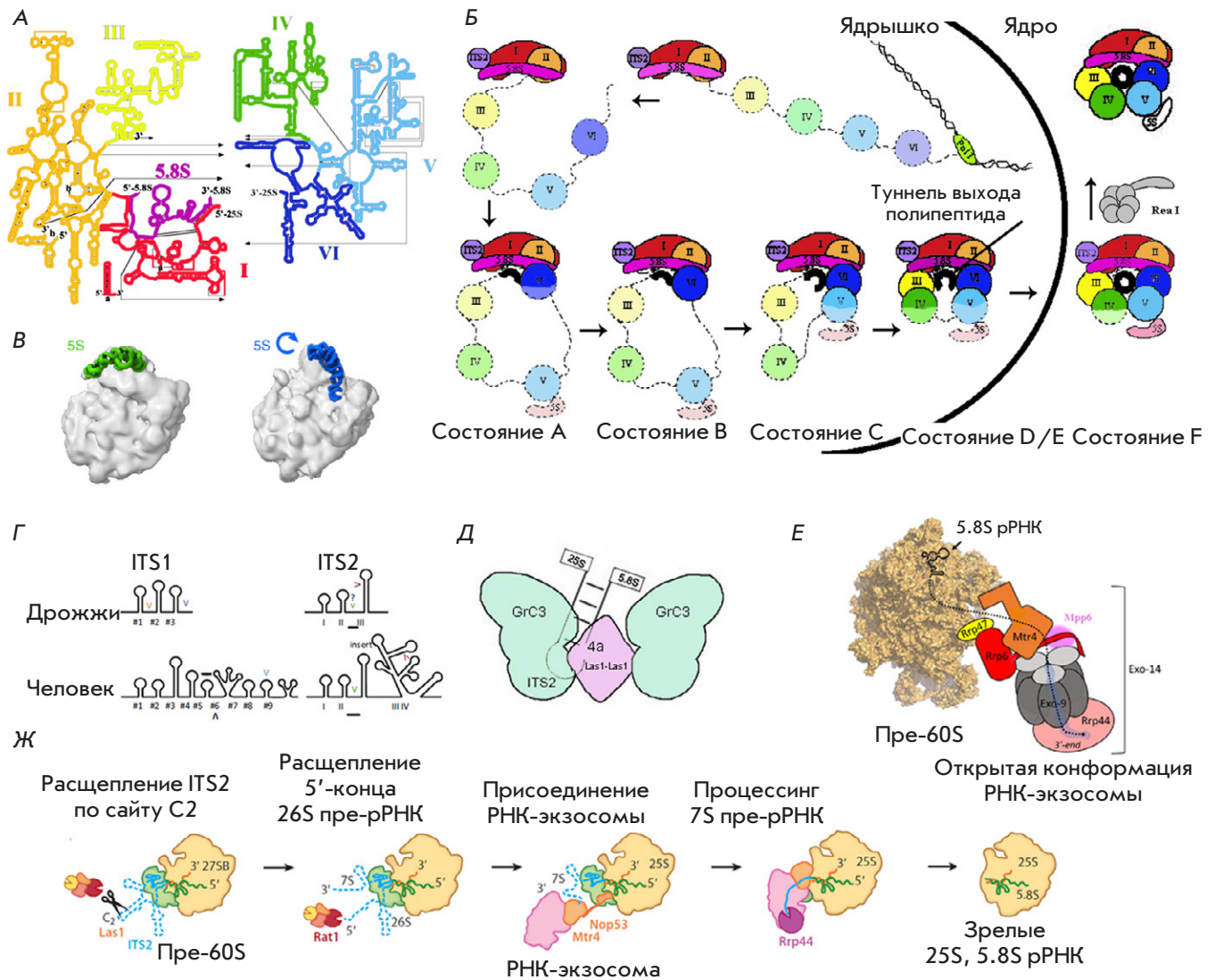
## ВВЕДЕНИЕ

В первой части нашего обзора подробно описаны механизмы формирования и процессинга общего 90S предшественника, биогенез малой 40S субъединицы, а также ядрышко как специальная внутриядерная структура, необходимая для формирования и раннего созревания предшественников рибосом. Во второй части рассмотрение деталей биогенеза рибосом продолжено на примере формирования большой 60S субъединицы человека и дрожжей.

## БИОГЕНЕЗ ПРЕДШЕСТВЕННИКА СУБЪЕДИНИЦЫ 60S

25S рибосомная РНК (рРНК) 60S субъединицы дрожжей состоит из шести консервативных доменов (I–VI), которые более тесно переплетены друг с другом, чем домены 18S рРНК в малой субъединице (SSU) (рис. 1). На внешней поверхности большой субъединицы (LSU) расположены домены I и II 25S и 5.8S рРНК, а домены IV и V входят в состав функциональных центров. Домены III и IV соединяют малую и большую субъединицы. При этом домен III рРНК связывается с другими доменами рРНК в нижней части субъединицы 60S, 5.8S рРНК находится между доменами I и III, а 5S рРНК закреплена поверх доменов II и V (рис. 1). Домен VI связан с доменами I, II и 5.8S рРНК.

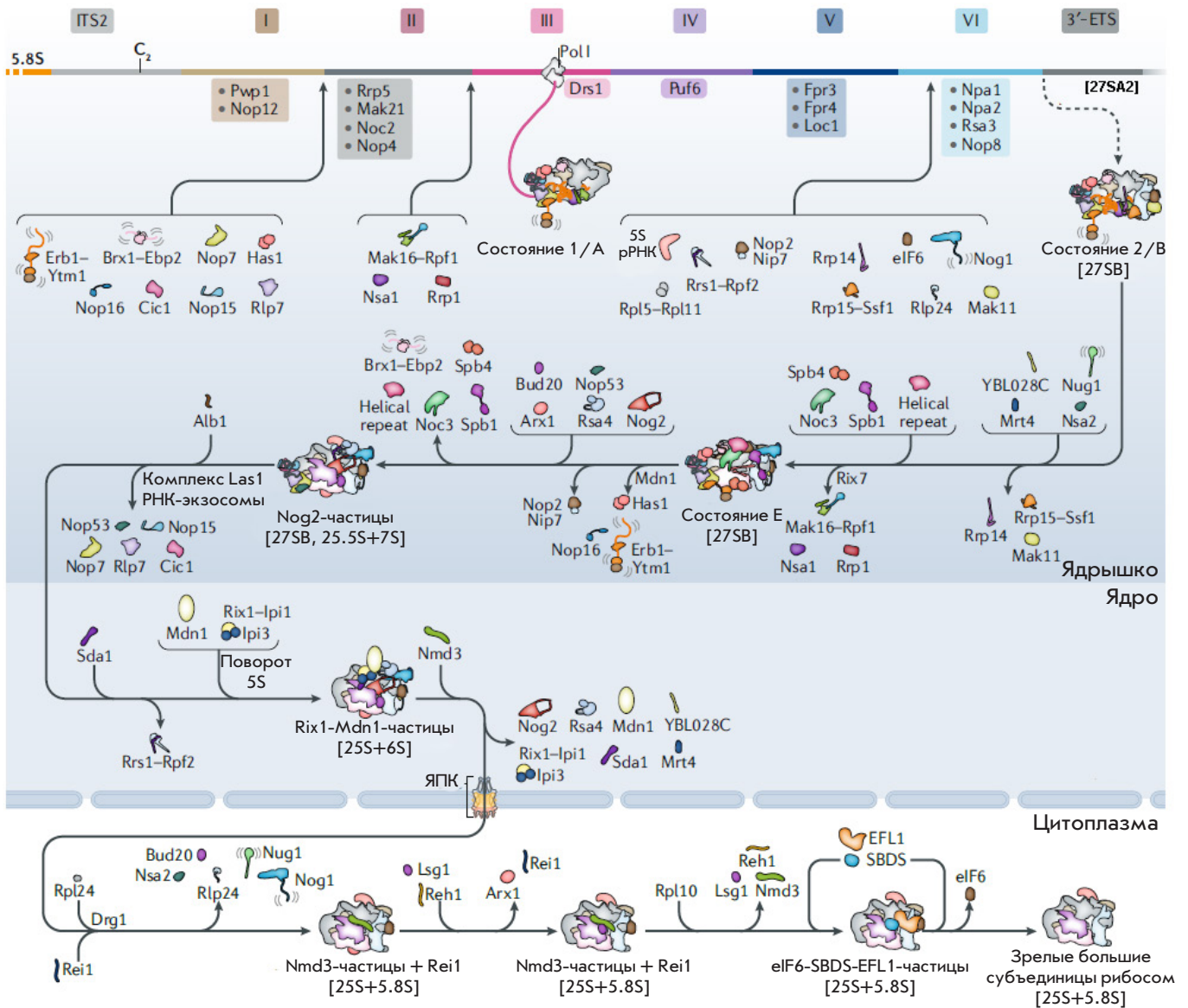
В 2017 году тремя группами исследователей были опубликованы крио-ЭМ-структуры высокого разрешения пре-60S из ядер дрожжей. В этих структурах идентифицированы шесть типов пре-60S частиц, различающихся плотностью упаковки РНК и составом рибосомных белков (RP) [1, 6–8] (рис. 1). Вторичная структура рРНК LSU разделена на шесть доменов, однако эти домены невозможно отчетливо выделить в 3D-структуре, в отличие от четырех доменов 18S рРНК в SSU. Домены I и II 25S рРНК в процессе транскрипции связывают 5.8S и ITS2, образуя структурный каркас для дальнейшей сборки (рис. 1) [1, 7, 8]. Домен VI, после того как РНК-полимераза I (Pol I) завершает его транскрипцию, сразу принимает упорядоченную структуру, в то время как центральные домены (III, IV и V) остаются неупорядоченными, взаимодействуя с факторами сборки рибосом (ФСР), которые препятствуют образованию контактов с 5'-концевыми доменами. В составе зрелой LSU домены I–V формируют туннель выхода пептида, II и VI – GTP-азный центр, а домен V – пептидилтрансферазный центр (ПТЦ) с А- и Р-сайтами. Скоординированный процесс присоединения и диссоциации различных ФСР обеспечивает последовательное формирование этих ключевых структур.



**Рис. 1.** Структура и созревание пре-рРНК дрожжей. А – 25S рРНК содержит шесть доменов (I–VI) вторичной структуры. 5.8S рРНК (показана черным) комплементарно взаимодействует с доменом I 25S рРНК (адаптировано из <https://crw-site.chemistry.gatech.edu/>). Б – последовательность сборки доменов пре-60S пре-рРНК. Цветовая кодировка доменов 25S рРНК соответствует панели (А). Присоединение рибосомных белков и факторов биогенеза к предшественнику 35S рРНК. Формирование туннеля выхода полипептида (черный кружок) начинается с того, что домен VI связывается с доменами I и II и с участком 5.8S предшественника рРНК. Складывание доменов рРНК осуществляется в следующем порядке: VI, V, III и IV. В состоянии F (конечном), домен V полностью свернут [1]. В – поворот 5S рРНК [2]. Г – схема вторичных структур ITS1 и ITS2 дрожжей и человека. Знаком «V» обозначены сайты расщепления. Предсказанные сайты отмечены знаками вопроса, подчеркнуты сайты связывания экзонуклеазы у человека [3]. Д – модель процессинга ITS2 РНКазой РНК [4]. Е – схема взаимодействия ядерной РНК-экзосомы с пре-60S [5]. Ж – удаление ITS2 из частицы пре-60S ферментами процессинга рРНК. Показаны промежуточные соединения, образующиеся во время удаления ITS2 [6]

Например, серия последовательных взаимодействий с ФСР (Nog1, Rei1 и Reh1), происходящих сразу после окончания формирования туннеля выхода полипептида, способствует завершению фолдинга [9–13]. Домен VI, который соответствует 3'-концу 25S рРНК, стабильно включается в основу частицы, замыкая кольцо рРНК и оставляя свободными домены III–V [1, 7, 8] (рис. 2). Они последовательно собираются во-

круг образующегося позднее туннеля выхода растущего полипептида, оставляя ПТЦ в незрелой конформации. Последовательность событий отличается от пути биогенеза 40S, где укладка рРНК происходит последовательно от 5'- к 3'-концу 18S рРНК. Примечательно, что предварительным условием для образования этих кольцеобразных промежуточных соединений рРНК в 60S субчастице является

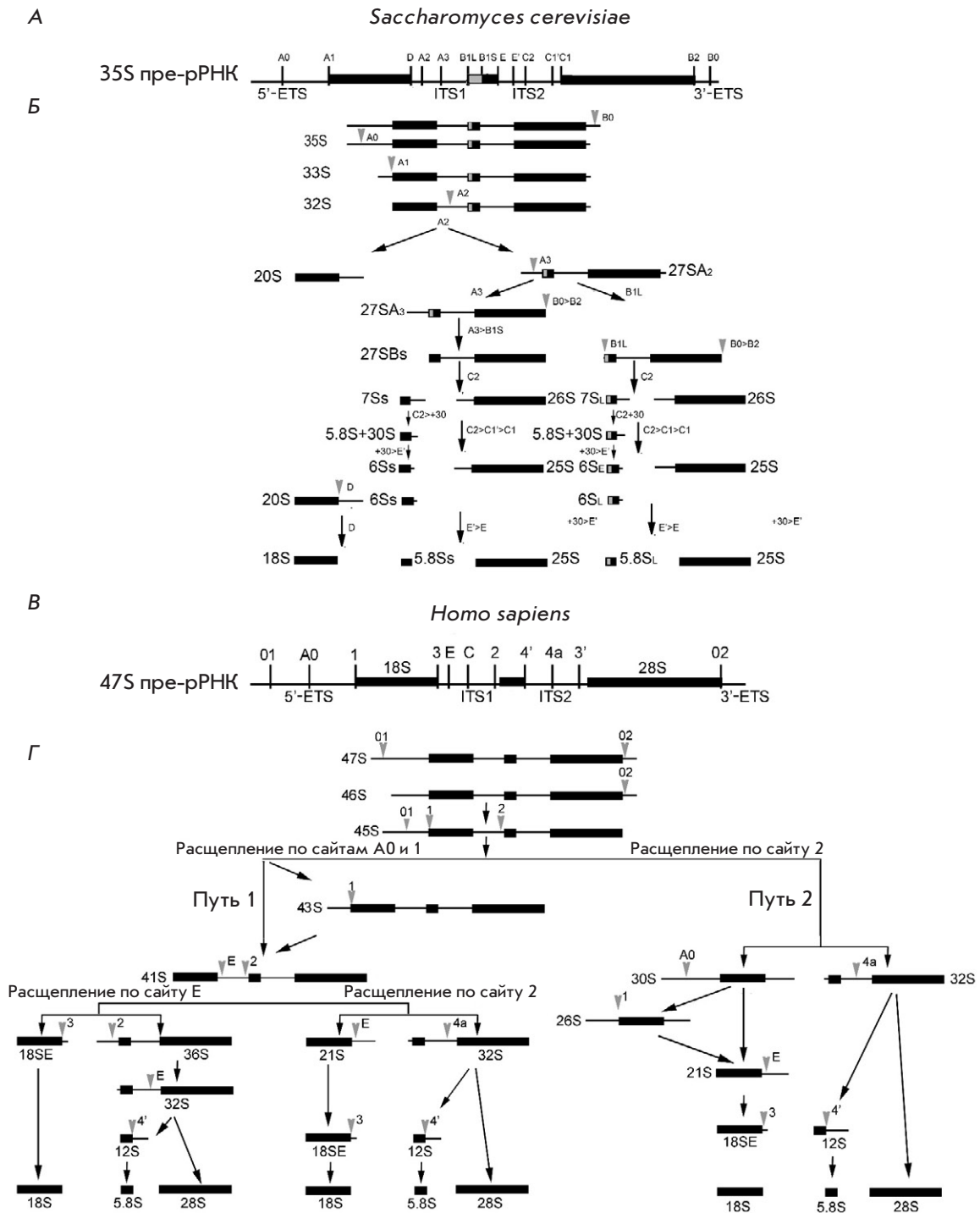


**Рис. 2.** Схема сборки большой субъединицы дрожжей. Показаны последовательные стадии созревания большой рибосомной субъединицы (60S), начиная с самых ранних стадий в ядрышке, через стадии в нуклеоплазме и, наконец, в цитоплазме. Показаны части рДНК, из которых образуются 5.8S рРНК, ITS2, домены I–VI 25S рРНК и 3'-ETS. Адаптировано из [14]. Факторы сборки и комплексы, структура которых известна, схематично изображены; если структуры не установлены, приведены их текстовые аббревиатуры

удаление внутреннего транскрибируемого спейсера 1 (ITS1) и внешнего транскрибируемого спейсера – 3'-ETS (рис. 3), поскольку эти последовательности стерически препятствуют ассоциации домена VI рРНК с другими доменами. Кольцевой промежуточный продукт охватывает как 5'-, так и 3'-конец рРНК и может защищать рРНК от деградации, но не препятствует модификации гетероциклических оснований. Закрепление 5'- и 3'-концов, вероятно, облегчает сборку подвижных соседних доменов, формируя своеобразный каркас. Домен V особенно «выигрывает» от предварительной сборки других до-

менов рРНК, так как его участки должны сформировать контакты с несколькими доменами, включая 5S рРНК (рис. 1, 2). В ходе этого процесса конформация комплекса меняется трижды (рис. 1, 2).

Некоторые ФСР, такие, как Rrp5, Mak21, Noc2 и Nop4, по-видимому, способствуют уплотнению рРНК на самых ранних котранскрипционных стадиях биогенеза LSU, образуя жесткую опору для согласованного сворачивания РНК [14–19]. Структуры прерибосомных частиц мутантов с дефицитом этих ФСР имеют более рыхлую структуру [14, 18]. Ранние ФСР (Npa1, Npa2, Rsa3 и Nop8) и РНК-



**Рис. 3.** Схемы созревания транскрипта 35S пре-рРНК 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. Процессинг пре-рРНК у почкующихся дрожжей (Б). Упрощенная схема процессинга пре-рРНК человека (Г). Первичный транскрипт, 47S пре-рРНК, первоначально расщепляется на обоих концах молекулы, по сайтам 01 и 02, образуя предшественник 45S, который процессируется по двум альтернативным путям [51]. «>» (например, C2> C1'> C1) обозначает последовательное укорачивание соответствующих 3'- или 5'-концов пре-рРНК с помощью нуклеаз



хеликазы Dbp6 образуют стабильный комплекс, который может выполнять структурную функцию [19, 20]. Шесть других РНК-хеликаз (Dbp2, Dbp3, Dbp7, Dbp9, Mak5 и Prp43) также необходимы на начальных этапах сборки, требующих ремоделирования структур РНК (для обзора см. [20, 21]). Интересно, что расщепление по A2 и A3 ITS1 связано с транскрипцией и процессингом последовательностей, удаленных друг от друга в первичной структуре на несколько тысяч нуклеотидов. Котранскрипционное расщепление в сайте A2 происходит, когда синтезированы домены I и II 25S рРНК [22, 23]. Гидролиз по A3 происходит после окончания транскрипции и процессинга 3'-ETS [24]. Возможно, в результате фолдинга РНК, опосредованного белками, формируются структуры, способные взаимодействовать с ФСР и нуклеазами. Например, связывание Rrp5 ITS1 как в процессоме SSU (сайт A2), так и в частицах пре-60S (сайт A3) [25–27] может регулировать расщепление в этих местах и координировать сборку обеих субчастиц [16, 18, 28, 29].

Ранние ядрышковые частицы пре-60S содержат приблизительно 30 ФСР и 30 рибосомных белков (табл. 1). Большинство из них, по-видимому, стабилизируют структуру, а часть обладает ферментативной активностью, которая может контролировать переход между ключевыми этапами в процессе сборки 60S. Например, факторы Nop2 и Spb1 важны для независимого от мякРНК метилирования РНК. Субстрат и функция хеликазы Has1 не установлены, как и функции GTP-аз Nog1 и Nug1, которые, вероятно, необходимы для высвобождения Nop2 и Spb1 из более поздних пре-60S субчастиц. Интересно, что белки семейства Brix вместе с белками-партнерами [31–34], по-видимому, сворачивают рРНК, соединяя вместе разные домены. Например, димер Ssf1–Rrp15 связывает домены III и VI рРНК; комплекс Vrx1–Ebp2 – стык доменов I и II. Rpf1–Mak16 контактирует с 5.8S рРНК и доменами I, II и VI. Белки семейства Brix, Rpf2 и Rrs1 взаимодействуют с 5S рРНК и доменом V в частице Nog2 пре-60S [13], а комплекс Imp4–Mpp10 связывает 5'-ETS и зарождающийся 3'-домен внутри частицы 90S.

Выделение пре-60S в комплексе с фактором Nsa1 позволило установить, что при образовании LSU комплекс Nsa1–Rpf1–Mak16–Rrp1 стабилизирует поверхность, контактирующую с растворителем; комплекс Rlp24–Nog1–Mrt4–Mak16–Tif6–Nsa2 взаимодействует преимущественно с доменами V и VI; а комплекс Nsa3–Nop15–Rlp3–Nop7–Erb1–Ytm1 организует ITS2 при формировании «стопы». Подобно нескольким ФСР 90S субчастицы, Erb1 имеет длинный N-конец, который «извивается» по поверхности пре-60S, контактируя с отдален-

ными факторами, включая димер Vrx1–Ebp2, хеликазу Has1, Nop16 и фактор «стопы» Nop7 [1, 7, 8]. Более того,  $\beta$ -пропеллерный домен Erb1 стабильно взаимодействует с фактором Ytm1, служащим субстратом АТФ-азы Rea1 [35]. На определенном этапе Rea1 создает механохимическую силу для удаления Ytm1 и расположенного в глубине структуры Erb1. Примечательно, что другие белковые комплексы содержат также белки (Nsa1, Rlp24), которые диссоциируют при помощи таких ААА-АТФ-аз, как Rix7 и Drg1 [35, 36].

Пока неясно, когда и как 5S РНП (5S рРНК, uL18/Rpl5, uL5/Rpl11) включается в самые ранние частицы пре-60S. Взаимодействие происходит с 5S РНП в свернутой конформации и, следовательно, требует конформационного поворота на 180° на более поздних этапах созревания 60S [6, 13, 37]. Эта стадия сочетается с формированием ПТЦ, правильность образования которого проверяется удалением Rsa4 с помощью огромной Rea1 ААА-АТФ-азы и GTP-зависимой диссоциации Nug2 [38, 39]. Связывание факторов ядерного экспорта с пре-60S и последующий транспорт происходят после преодоления контрольных точек качества сборки [39]. Несмотря на строгую систему контроля точности сборки в ядре, пре-60S частицы, содержащие ITS2 и связанные с ней факторы, могут попадать в цитоплазму и даже участвовать в трансляции [40–42].

### **Транспорт пре-60S в цитоплазму и контроль качества предшественников субъединиц**

Транспорт из ядрышка в нуклеоплазму сопровождается обменом белковыми факторами, которые способствуют ремоделированию и последующему экспорту предшественников из ядра. В цитоплазме рибосомы пре-60S проходят последние стадии созревания, включая удаление ФСР, присоединение нескольких последних РР и проверку качества функциональных центров.

Адаптерный белок Nmd3 с последовательностью ядерного экспорта контролирует взаимодействие экспортина Crm1/Xpo1 с субъединицей 60S, облегчая ее транспорт в цитоплазму [6, 43–46]. Обнаружено взаимодействие практически готовых 60S субъединиц с неканоническими факторами экспорта [6, 46].

В цитоплазме предшественник пре-40S, связываясь с несколькими ФСР, блокирующими доступ к каналу мРНК и Р-сайту связывания инициаторной тРНК, проходит контроль качества. Впоследствии при участии АТФ-азы Fab7 и фактора инициации трансляции эукариот 5В (eIF5B) 40S присоединяется к большой субъединице 60S, при этом GTP-азный центр eIF5B должен находиться в активной

Таблица 1. Факторы сборки большой субъединицы рибосом [20, 30]

Факторы биогенеза рибосом; компоненты LSU <i>Saccharomyces cerevisiae</i>					
Номер кластера			<i>Homo sapiens</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Функция
8	8	4	PDCD11	Rrp5	Структурный
	4		RBM28	Nop4	Структурный
1			DDX51	Dbp6	DEAD-бокс-хеликаза
	1		DDX50	Dbp3	«
1	1		DDX31	Dbp7	«
1	4		DDX56	Dbp9	«
1	1		DDX24	Mak5	«
			DDX54	Dbp10	«
	2		GAR1	Gar1	Кофактор псевдоуридин-синтазы
2	2		NHP2	Nhp2	Кофактор псевдоуридин-синтазы
	8		NOP10	Nop10	Кофактор псевдоуридин-синтазы
6	6	6	DKC1	Cbf5	Псевдоуридин-синтаза
2	2	2	NOP56	Nop56	Основной компонент ВохС/Д мЯКРПП
			NOP58	Nop58	То же
2	2	2	FBL	Nop1	«
2	2	11	NHP2L1	Snu13	«
			KIAA0020	Puf6	Структурный
1			PWP1	Pwp1	Структурный
			RBM34	Nop12	Структурный
4	4	4	DDX27	Drs1	DEAD-бокс-хеликаза
6	11	11	PAK1IP1	Mak11	Структурный
			PPAN	Ssf1	«
			PPAN	Ssf2	«
4	4	4	RRP15	Rrp15	«
9	11		SURF6	Rrp14	«
4	4	4	WDR74	Nsa1	«
4	4	4	RRP1/NOP52	Rrp1	«
4	10	10	RPF1	Rpf1	«
4	4	4	MAK16	Mak16	«
			NVL	Rix7	AAA-АТФ-аза
4	4	4	EBNA1BP2	Ebp2	Структурный
4	4	4	BRX1	Brx1	«
4	4	4	BOP1	Erb1	«
		4	WDR12	Ytm1	«
8	8	8	DDX18	Has1	DEAD-бокс-хеликаза
4	4	11	NOC2L	Noc2	Структурный
1			FTSJ3	Spb1	рРНК-метилаза
			DDX55	Spb4	DEAD-бокс-хеликаза
1			NOP2	Nop2	рРНК-метилаза
1			NIP7	Nip7	Структурный
			NOC3L	Noc3	«
4	4	4	PES1	Nop7	«
4	4	4	MKI67IP	Nop15	«
				Cic1	«
	8		eIF6	eIF6	«
11	11	11	GLTSCR2	Nop53	Структурный, связывание РНК. Экзосомы
2			RSL24D1	Rlp24	Структурный
4	4	4	GTPBP4	Nog1	GTP-аза
			MRTO4	Mrt4	Структурный
4	1	1	NSA2	Nsa2	Структурный
1			GNL3	Nug1	GTP-аза
11		11	RRS1	Rrs1	Структурный
		1	RPF2	Rpf2	Структурный
11		11	GNL2	Nog2	GTP-аза
			NLE1	Rsa4	Структурный
			WDR18	Ipi3	Структурный
			MDN1	Mdn1	AAA-АТФ-аза
11	11		SDAD1	Sda1	Структурный
Частицы, содержащие Nmd3					
2			NMD3	Nmd3	«
		2	ZNF622	Rei1	«
			ZNF622	Reh1	«
	6		LSG1	Lsg1	АТФ-аза

конформации. Образование комплекса гарантирует способность зрелой 40S обеспечивать гидролиз GTP. Формирование зрелого 3'-конца 18S рРНК эндонуклеазой Nob1 сопровождается диссоциацией оставшихся ФСП от 40S, диссоциацией комплекса 40S и 60S, что сигнализирует о готовности малой субчастицы к финальной стадии процессинга [12, 47–49].

### Биогенез рибосом у человека гораздо сложнее, чем у дрожжей

Основные этапы и молекулярные события биогенеза рибосом консервативны. Долгое время считалось, что большинство стадий образования субъединиц в клетках человека и *Saccharomyces cerevisiae* одинаковы, но это оказалось сильным упрощением ситуации. Ядрышки человека имеют три отдела, а не два, как у дрожжей, они участвуют в большем числе клеточных процессов [50, 51] и содержат по меньшей мере в 20 раз больше белков, чем у дрожжей (до 300 у дрожжей; 6000 у человека) [52]. Сложность физиологических процессов у многоклеточных организмов определяет потребность в новых способах регуляции формирования рибосом, о чем свидетельствует, например, зависимость синтеза 40S субъединиц у мышей от циркадных ритмов [53, 54].

Рибосомы человека имеют больший размер, чем рибосомы дрожжей. Они содержат больше рибосомных белков, которые нередко крупнее дрожжевых. рРНК человека сравнимы по размеру с дрожжевыми за исключением 28S рРНК, которая в 1.5 раза больше. Наиболее значительно различаются размеры ETS и ITS: у человека они содержат много моно- и динуклеотидных повторов, которые, возможно, возникли вследствие ошибок репликации. Усложнение структуры рибосом высших эукариот и, соответственно, рРНК неизбежно влияет на биогенез рибосом [26], что выражается в появлении большего числа предшественников [55]. Биогенез 40S субчастиц человека сопровождается образованием минимум двух дополнительных предшественников, содержащих 30S и 21S пре-рРНК (рис. 3) [15, 56]. У дрожжей 70–80% зарождающихся транскриптов пре-рРНК подвергаются котранскрипционному расщеплению в ITS1, в то время как у млекопитающих первичный транскрипт почти всегда расщепляется посттранскрипционно [23, 57]. Показано, что процессинг ITS1 в клетках человека происходит сложнее, чем в клетках дрожжей, и нуждается как в эндо-, так и в экзонуклеолитической активности [57–59].

Отличительной чертой биогенеза эукариотических рибосом является модульная сборка прерибосомных комплексов. Как у дрожжей, так и у человека UTP-A, UTP-B и UTP-C, а также мякРНК U3, гетеродимеры RCL1–BMS1 и комплексы IMP3–

IMP4–MPP10 и EMG1 собираются на вновь синтезируемом пре-рРНК-транскрипте и образуют ядро так называемой процессомы SSU. Сходным образом некоторые комплексы, такие, как PeBoW человека (Nop7–Erb1–Ytm1 у дрожжей) [60] и PELP1–TEX10–WDR18 (Rix1–Ipi3–Ipi1 у дрожжей) [61], действуют во время биогенеза пре-60S субчастиц. Несмотря на эволюционную консервативность, их состав различается у разных видов; у человека выявлено несколько дополнительных РНК-хеликаз, например, DDX21 для UTP-B и DDX27 для PeBoW [62, 63]. Все это указывает на дополнительные стадии ремоделирования на ранних стадиях сборки прерибосом у человека.

Продукция 18S рРНК в клетках млекопитающих может происходить в условиях подавления синтеза 28S рРНК [64–67]. Дефицит нескольких рибосомных белков LSU человека [57] не препятствует образованию как 18S рРНК, так и ее прямого предшественника – 18S-E пре-рРНК, несмотря на серьезное снижение эффективности синтеза 28S рРНК. Эти данные подтверждают модель, согласно которой ранние этапы сборки каждой рибосомной субчастицы контролируют проксимальное расщепление в ITS1. Примечательно, что этот способ расщепления предшественников SSU и LSU не исключает существования факторов, которые могут участвовать в обоих расщеплениях ITS1. В клетках млекопитающих разделение предшественников SSU и LSU происходит одновременно, что затрудняет анализ стадий процессинга. Дефицит различных факторов сборки SSU и LSU мышцы приводит к ингибированию одного из двух расщеплений ITS1 [68]. Существует гипотеза, согласно которой расщепление в двух сайтах ITS1 пре-рРНК мышцы, соответствующих сайтам E и C у человека, скоординированы с ранними этапами сборки SSU или LSU. В результате этого каждая субчастица остается прикрепленной к ITS1 до тех пор, пока не достигнет стадии созревания, готовой к отщеплению ITS1 [68].

В отсутствие ряда факторов сборки LSU ингибирует расщепление в сайте A2, что приводит к накоплению аберрантных 35S пре-рРНК [69–71] и остановке процессинга. В отличие от дрожжей, в клетках млекопитающих расщепление транскрипта происходит в любом из двух сайтов, расположенных в ITS1, что приводит к генерации основных предшественников, которые созревают до 18S и 5.8S/28S рРНК (рис. 3). Дефекты ранних этапов сборки LSU в клетках млекопитающих ингибируют расщепление в 3'-области ITS1. Разделение РНК рибосомных субчастиц у млекопитающих включает расщепление ITS1 в двух сайтах, в отличие от одного у дрожжей.

Информации о структуре прерибосом человека очень мало, потому что не существует надежных методов их выделения и очистки. Идентификация факторов синтеза рибосом человека стала возможной только при проведении высокопроизводительных скринингов на основе малых интерферирующих РНК, которые позволяют выявить дефекты продукции промежуточных звеньев пре-рРНК, накопление рибосом или компонентов прерибосом в ядрышке или нуклеоплазме [30, 72]. Такой скрининг позволил идентифицировать 286 белков, включая ортологи ФСР дрожжей, а также 74 специфичных для человека белка и мякРНК, которые, возможно, являются ФСР [30, 73] (табл. 1). Недавно с помощью скрининга факторов, влияющих на количество или морфологию ядрышек, обнаружили 139 потенциальных ФСР [74]. Однако роль отдельных ФСР человека практически не изучена. Состав, активность и структура промежуточных комплексов также изучены недостаточно, потому что большинство данных получено путем экстраполяции данных анализа прерибосом дрожжей. В ряде случаев функции даже гомологичных факторов синтеза рибосом могут различаться, например, *Nip7* и *Spb1* дрожжей необходимы для созревания 5.8S и 25S рРНК, а их гомологи – *NIP7* и *FTSJ3* человека – участвуют в синтезе 18S рРНК [75]. Отдельную проблему представляет сложность идентификации ФСР, которые непосредственно участвуют в сборке субчастиц, и их отличия от белков/сигнальных путей, которые опосредованно влияют на продукцию рибосом.

Проведен высокопроизводительный скрининг функций ядрышковых белков человека путем снижения их уровня с помощью малых интерферирующих РНК. Результаты этого скрининга позволяют разделить белки ядрышка на 12 функциональных кластеров в зависимости от их влияния на определенные стадии процессинга пре-рРНК. В разных типах клеток, включая первичные клеточные линии, наблюдали возникновение сходных дефектов [30]. Например, клетки с дефицитом *UTP18* накапливают aberrантную 34S пре-рРНК, что обусловлено ингибированием реакций раннего расщепления предшественника рРНК (в сайтах 01, A0 и 1). Клетки, лишенные *RPS11*, накапливают значительные количества 30S пре-рРНК из-за отсутствия процессинга в сайтах A0 и 1. *NOL9* в первую очередь участвует в процессинге *ITS2*, так как 32S пре-рРНК накапливается в отсутствие этого белка. 43S и 26S пре-рРНК обнаруживают в больших количествах в клетках с дефицитом *RPS3*, чем в контрольных клетках, указывая на участие этого белка в расщеплении сайтов A0 и 1. В клетках, лишенных *RPS3*, накапливается укороченная версия 21S – 21S-C (рис. 3).

Белки *MDN1*, *NVL2* и *AFGH2* человека являются гомологами трех дрожжевых AAA-АТФ-аз (*Rea1/Mdn1*, *Rix7*, *Drg1* соответственно), участвующих в высвобождении специфических факторов биогенеза пре-60S субчастиц [76]. Присутствие *MDN1* в комплексах пре-60S и *PELP1-TEX10-WDR18* (комплекс *Rix1* в дрожжах) позволяет предположить, что этот фермент выполняет сходные функции у разных организмов – от дрожжей до человека [77]. Общие роли играют также некоторые РНК-хеликазы. Например, *Dhr1* дрожжей и *DHX37* человека опосредуют высвобождение мякРНК *U3* [78–81]. При этом у нескольких РНК-хеликаз человека выявлены дополнительные функции, связанные с биогенезом рибосом. Например, *DDX51* требуется для высвобождения специфичной для многоклеточных мякРНК *U8* из комплексов пре-LSU [82], а *DDX21* координирует процессинг пре-рРНК с транскрипцией, облегчая доступ «поздних» мякРНК пре-40S к комплексам [63, 78, 83].

В клетках человека идентифицированы несколько новых прерибосомных мини-комплексов [82]. Так, антиапоптотический фактор транскрипции *AATF*, нейрогидин (*NGDN*) и *NOL10* образуют ядрышковый подкомплекс (*ANN*) [84]. Эти белки взаимодействуют с ранними прерибосомами, а отсутствие любого из компонентов *ANN* приводит к нарушению расщепления пре-рРНК на ранних стадиях биогенеза. *XND*, ядрышковый комплекс, состоящий из *NF-kB*-репрессирующего фактора (*NKRF*), РНК-хеликазы *DHX15* и 5'-3'-экзонуклеазы *XRN2*, также участвует в ранних стадиях сборки рибосом человека [85]. *NKRF* рекрутирует *XRN2* в прерибосомные комплексы, где он принимает участие в процессинге пре-рРНК и удалении вырезанных фрагментов пре-рРНК. *NKRF* также стимулирует АТФ-азную и хеликазную активность *DHX15* [85], т.е., по-видимому, эти белки совместно функционируют на ранней стадии ремоделирования пре-рРНК. Дрожжевой гомолог *DHX15*, *Prp43*, участвует в высвобождении мякРНК из частиц пре-60S и способствует расщеплению 3'-конца 18S рРНК [86, 87]. Фактор транскрипции, гетеродимер *NF45-NF90*, связывает двухцепочечную РНК в составе пре-60S. Отсутствие этих факторов, хотя и не влияет на процессинг рРНК, но вызывает изменения морфологии ядрышек и накопление пре-60S-комплексов [88].

Недавно в лаборатории Бекмана определили крио-ЭМ-структуры поздних ядерных и цитоплазматических комплексов пре-40S субчастиц человека [89]. Структура одного из промежуточных состояний позволила выявить положение фактора биогенеза *RRP12* и двух метилтрансфераз (*BUD23* и *TRM112*) в голове 40S субчастицы. Более поздняя цитоплаз-



матическая пре-40S частица человека очень сходна с пре-40S дрожжей с консервативными ФСР в идентичных положениях. Таким образом, структура пре-40S и последние стадии механизма процессинга 18S рРНК являются эволюционно консервативными [89].

### **Рибосомные белки и их роль в формировании структуры рРНК и созревающих субчастиц**

Основная роль рибосомных белков заключается в поддержании структуры и функции рибосом, а также продукции активных рибосом. Математическое моделирование показало фундаментальное преимущество сборки сложных комплексов, в частности рибосом, из многочисленных некрупных рибосомных белков, а не из небольшого числа более крупных полипептидов [90]. Известно, что большинство человеческих РР представлены в единственном варианте, а многие РР дрожжей имеют две изоформы. Удивительно, но ~50% транскриптов, которые синтезирует РНК-полимераза II человека, – это мРНК РР [91], и концентрация 80 РР в клетке тщательно поддерживается на уровне, оптимальном для сборки рибосом. Большинство генов РР имеют один или несколько общих промоторных элементов (GABP, Sp1, YY1) для синхронизации транскрипции. мРНК всех РР содержат 5'-концевую олигопиримидиновый тракт (5'-ТОР), что позволяет также корегулировать их трансляцию [92]. Рибосомные белки, как правило, положительно заряжены, склонны к агрегации и деградации. Шапероны, связываясь (часто котрансляционно) с вновь синтезируемыми РР, стабилизируют их, а также облегчают импорт в ядро и присоединение к прерибосомным комплексам [93, 94]. В клетках человека найдены гомологи многих шаперонов РР дрожжей – это белки Vcp1/BCCIP, Syo1/HEATR3, Rrb1/GRWD1, Sgt1/AMMP и Tsr2/TSR2. В то же время другие, например Acl4 и Yar1, у многоклеточных организмов, по-видимому, не сохранились [78, 93, 95–98]. Примечательно, что рибосомные белки RPL5 (uL18) и RPL11 (uL5) связываются с прерибосомами в виде подкомплекса вместе с 5S рРНК [99]. Пре-5S рРНК синтезируется с помощью РНК-полимеразы III, и для созревания ее 3'-конца необходимы экзонуклеазы REX1, REX2 и REX3, а также RPL5 [100–102]. Как у дрожжей, так и у человека Rrs1/RRS1 и Rpf2/BXDC1 необходимы для интеграции 5S РНП в комплексы пре-60S, а белок-супрессор опухолей PICT1/GLTSCR2 является дополнительным фактором в клетках человека [102, 103]. Взаимодействие многих РР с прерибосомами изначально нестабильно, но правильное сворачивание и образование третичных структур в рРНК постепенно приводит к стабильному включению их в рибосомные комплексы. Фундаментальной особенностью сборки рибосом,

которая сохраняется не только у эукариот, но происходит также в ходе синтеза прокариотических рибосом [104], является иерархическое включение РР, что способствует последовательной организации отдельных доменов субъединиц. Сначала белки 5'-, центрального и 3'-минорного доменов 18S рРНК формируют «тело» SSU, а затем происходит сборка «головы» и «клюва» [105]. Точно так же РР, находящиеся на поверхности LSU, которая контактирует с растворителем, включаются в структуру на первых этапах сборки, а белки, которые связываются с межсубъединичным интерфейсом и с центральным протуберанцем, встраиваются позже [106]. Универсальный характер иерархического порядка включения РР предполагает, что пошаговая сборка, стабилизация и уплотнение различных доменов рибосомных субчастиц являются важным механизмом, который помогает обеспечить правильность продвижения по пути сборки.

### **ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

На протяжении многих лет сложный путь биогенеза эукариотической рибосомы изучали по большей части на клетках дрожжей, где простота генетических манипуляций в сочетании с возможностью выделения большого количества прерибосомных комплексов для композиционного и структурного анализа позволили получить большое количество данных о фундаментальных аспектах сборки рибосом. Недавние исследования подтверждают, что многие этапы сборки рибосом у дрожжей и человека схожи, а возникающие различия дают важную информацию о конкретных стадиях биогенеза, которые адаптировались в ходе эволюции. Хотя обнаружено множество факторов, необходимых для биогенеза рибосом человека, вполне вероятно, что перечень ФСР будет значительно расширен. Основные задачи заключаются в том, чтобы определить, какие из факторов, необходимых для синтеза рибосом, непосредственно связаны с прерибосомными комплексами, и проанализировать отдельные роли таких белков во время сборки субъединиц. Недавно полученные крио-ЭМ-структуры прерибосом дрожжей предоставили огромное количество информации о временном порядке, распределении и молекулярных функциях многих ФСР. Структурный анализ прерибосом должен значительно улучшить наше понимание сборки рибосом человека. ●

*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

1. 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.
2. Thoms M., Mitterer V., Kater L., Falquet L., Beckmann R., Kressler D., Hurt E. // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. № 1. P. 1–13.
3. Coleman A.W. // *Trends Genet.* 2015. V. 31. № 3. P. 157–163.
4. Pillon M.C., Hsu A.L., Krahn J.M., Williams J.G., Goslen K.H., Sobhany M., Borgnia M.J., Stanley R.E. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2019. V. 26. № 9. P. 830–839.
5. Pillon M.C., Lo Y.-H., Stanley R.E. // *DNA Repair (Amst.)*. 2019. V. 81. e102653.
6. Baßler J., Hurt E. // *Annu. Rev. Biochem.* 2019. V. 88. № 1. P. 281–306.
7. Zhou D., Zhu X., Zheng S., Tan D., Dong M.-Q., Ye K. // *Protein Cell*. 2019. V. 10. № 2. P. 120–130.
8. 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.
9. Greber B.J., Gerhardy S., Leitner A., Leibundgut M., Salem M., Boehringer D., Leulliot N., Aebersold R., Panse V.G., Ban N. // *Cell*. 2016. V. 164. № 1–2. P. 91–102.
10. Ma C., Wu S., Li N., Chen Y., Yan K., Li Z., Zheng L., Lei J., Woolford J.L., Gao N. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2017. V. 24. № 3. P. 214–220.
11. Greber B.J., Boehringer D., Montellese C., Ban N. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012. V. 19. № 12. P. 1228–1233.
12. Correll C.C., Bartek J., Dundr M. // *Cells*. 2019. V. 8. № 8. e869.
13. 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.
14. Klinge S., Woolford J.L. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019. V. 20. № 2. P. 116–131.
15. Mullineux S.-T., Lafontaine D.L.J. // *Biochimie*. 2012. V. 94. № 7. P. 1521–1532.
16. Venema J., Tollervey D. // *EMBO J*. 1996. V. 15. № 20. P. 5701–5714.
17. Young C.L., Karbstein K. // *RNA*. 2011. V. 17. № 3. P. 512–521.
18. Lebaron S., Segerstolpe Å., French S.L., Dudnakova T., de Lima Alves F., Granneman S., Rappsilber J., Beyer A.L., Wieslander L., Tollervey D. // *Mol. Cell*. 2013. V. 52. № 5. P. 707–719.
19. Granneman S., Petfalski E., Tollervey D. // *EMBO J*. 2011. V. 30. № 19. P. 4006–4019.
20. Sloan K.E., Bohnsack M.T. // *Trends Biochem. Sci.* 2018. V. 43. № 4. P. 237–250.
21. Rodríguez-Galán O., García-Gómez J.J., De la Cruz J. // *Biochim. Biophys. Acta – Gene Regul. Mech.* 2013. V. 1829. № 8. P. 775–790.
22. Turowski T.W., Tollervey D. // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2015. V. 6. № 1. P. 129–139.
23. Koš M., Tollervey D. // *Mol. Cell*. 2010. V. 37. № 6. P. 809–820.
24. Allmang C., Tollervey D. // *J. Mol. Biol.* 1998. V. 278. № 1. P. 67–78.
25. Chaker-Margot M., Hunziker M., Barandun J., Dill B.D., Klinge S. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2015. V. 22. № 11. P. 920–923.
26. Zhang L., Wu C., Cai G., Chen S., Ye K. // *Genes Dev*. 2016. V. 30. № 6. P. 718–732.
27. 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.
28. Eppens N.A., Rensen S., Granneman S., Raué H.A., Venema J. // *RNA*. 1999. V. 5. № 6. P. 779–793.
29. Hierlmeier T., Merl J., Sauert M., Perez-Fernandez J., Schultz P., Bruckmann A., Hamperl S., Ohmayer U., Rachel R., Jacob A., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 2. P. 1191–1210.
30. Tafforeau L., Zorbas C., Langhendries J.-L., Mullineux S.-T., Stamatopoulou V., Mullier R., Wacheul L., Lafontaine D.L.J. // *Mol. Cell*. 2013. V. 51. № 4. P. 539–551.
31. Madru C., Lebaron S., Blaud M., Delbos L., Pipoli J., Pasmant E., Réty S., Leulliot N. // *Genes Dev*. 2015. V. 29. № 13. P. 1432–1446.
32. Baßler J., Ahmed Y.L., Kallas M., Kornprobst M., Calviño F.R., Gnädig M., Thoms M., Stier G., Ismail S., Kharde S., et al. // *Protein Sci.* 2017. V. 26. № 2. P. 327–342.
33. Asano N., Kato K., Nakamura A., Komoda K., Tanaka I., Yao M. // *Nucl. Acids Res.* 2015. V. 43. № 9. P. 4746–4757.
34. Kharde S., Calviño F.R., Gumiero A., Wild K., Sinning I. // *Nucl. Acids Res.* 2015. V. 43. № 14. P. 7083–7095.
35. Baßler J., Kallas M., Pertschy B., Ulbrich C., Thoms M., Hurt E. // *Mol. Cell*. 2010. V. 38. № 5. P. 712–721.
36. Hiraishi N., Ishida Y., Sudo H., Nagahama M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018. V. 495. № 1. P. 116–123.
37. Leidig C., Thoms M., Holdermann I., Bradatsch B., Berninghausen O., Bange G., Sinning I., Hurt E., Beckmann R. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 3491–3499.
38. Baßler J., Paternoga H., Holdermann I., Thoms M., Granneman S., Barrio-Garcia C., Nyarko A., Stier G., Clark S.A., Schraivogel D., et al. // *J. Cell Biol.* 2014. V. 207. № 4. P. 481–498.
39. Matsuo Y., Granneman S., Thoms M., Manikas R.G., Tollervey D., Hurt E. // *Nature*. 2014. V. 505. № 7481. P. 112–116.
40. Sarkar A., Thoms M., Barrio-Garcia C., Thomson E., Flemming D., Beckmann R., Hurt E. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2017. V. 24. № 12. P. 1107–1115.
41. Biedka S., Micic J., Wilson D., Brown H., Diorio-Toth L., Woolford J.L. // *J. Cell Biol.* 2018. V. 217. № 7. P. 2503–2518.
42. Rodríguez-Galán O., García-Gómez J.J., Kressler D., de la Cruz J. // *RNA Biol.* 2015. V. 12. № 8. P. 838–846.
43. Thomas F., Kutay U. // *J. Cell Sci.* 2003. V. 116. № 12. P. 2409–2419.
44. Trotta C.R., Lund E., Kahan L., Johnson A.W., Dahlberg J.E. // *EMBO J*. 2003. V. 22. № 11. P. 2841–2851.
45. Gadal O., Strauß D., Kessl J., Trumppower B., Tollervey D., Hurt E. // *Mol. Cell Biol.* 2001. V. 21. № 10. P. 3405–3415.
46. 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.
47. Ghalei H., Trepreau J., Collins J.C., Bhaskaran H., Strunk B.S., Karbstein K. // *Mol. Cell*. 2017. V. 67. № 6. P. 990–1000.
48. 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.
49. Strunk B.S., Novak M.N., Young C.L., Karbstein K. // *Cell*. 2012. V. 150. № 1. P. 111–121.
50. Hernandez-Verdun D., Roussel P., Thiry M., Sirri V., Lafontaine D.L.J. // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2010. V. 1. № 3. P. 415–431.
51. Boisvert F.-M., van Koningsbruggen S., Navascués J., Lamond A.I. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007. V. 8. № 7. P. 574–585.
52. 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.
53. Preußner M., Heyd F. // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2016. V. 468. № 6. P. 983–991.
54. Sinturel F., Gerber A., Mauvoisin D., Wang J., Gatfield D., Stubblefield J.J., Green C.B., Gachon F., Schibler U. // *Cell.* 2017. V. 169. № 4. P. 651–663.
55. Fernández-Pevida A., Kressler D., de la Cruz J. // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2015. V. 6. P. 191–209.
56. Stepiński D. // *Histochem. Cell Biol.* 2018. V. 150. № 6. P. 607–629.
57. Carron C., O'Donohue M.F., Choessel V., Faubladiet M., Gleizes P.E. // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. № 1. P. 280–291.
58. Preti M., O'Donohue M.F., Montel-Lehry N., Bortolin-Cavaillé M.L., Choessel V., Gleizes P.E. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 8. P. 4709–4723.
59. Sloan K.E., Mattijssen S., Lebaron S., Tollervey D., Pruijn G.J.M., Watkins N.J. // *J. Cell Biol.* 2013. V. 200. № 5. P. 577–588.
60. Hölzel M., Rohrmoser M., Schlee M., Grimm T., Harasim T., Malamoussi A., Gruber-Eber A., Kremmer E., Hiddemann W., Bornkamm G.W., et al. // *J. Cell Biol.* 2005. V. 170. № 3. P. 367–378.
61. Finkbeiner E., Haindl M., Muller S. // *EMBO J.* 2011. V. 30. № 6. P. 1067–1078.
62. Kellner M., Rohrmoser M., Forné I., Voss K., Burger K., Mühl B., Gruber-Eber A., Kremmer E., Imhof A., Eick D. // *Exp. Cell Res.* 2015. V. 334. № 1. P. 146–159.
63. Sloan K.E., Leisegang M.S., Doebele C., Ramírez A.S., Simm S., Saffertal C., Kretschmer J., Schorge T., Markoutsas S., Haag S., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2015. V. 43. № 1. P. 553–564.
64. Lapik Y.R., Fernandes C.J., Lau L.F., Pestov D.G. // *Mol. Cell.* 2004. V. 15. № 1. P. 17–29.
65. Strezoska Ž., Pestov D.G., Lau L.F. // *Mol. Cell Biol.* 2000. V. 20. № 15. P. 5516–5528.
66. Strezoska Z., Pestov D.G., Lau L.F. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. № 33. P. 29617–29625.
67. Robledo S., Idol R.A., Crimmins D.L., Ladenson J.H., Mason P.J., Bessler M. // *RNA.* 2008. V. 14. № 9. P. 1918–1929.
68. Wang M., Anikin L., Pestov D.G. // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. № 17. P. 11180–11191.
69. Saveanu C., Namane A., Gleizes P.-E., Lebreton A., Rousselle J.-C., Noaillac-Depeyre J., Gas N., Jacquier A., Fromont-Racine M. // *Mol. Cell Biol.* 2003. V. 23. № 13. P. 4449–4460.
70. Talkish J., Campbell I.W., Sahasranaman A., Jakovljevic J., Woolford J.L. // *Mol. Cell Biol.* 2014. V. 34. № 10. P. 1863–1877.
71. Kallstrom G., Hedges J., Johnson A. // *Mol. Cell Biol.* 2003. V. 23. № 12. P. 4344–4355.
72. Badertscher L., Wild T., Montellese C., Alexander L.T., Bammert L., Sarazova M., Stebler M., Csucs G., Mayer T.U., Zamboni N., et al. // *Cell Rep.* 2015. V. 13. № 12. P. 2879–2891.
73. Nieto B., Gaspar S.G., Moriggi G., Pestov D.G., Bustelo X.R., Dosil M. // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. P. 156–173.
74. Farley-Barnes K.I., McCann K.L., Ogawa L.M., Merkel J., Surovtseva Y.V., Baserga S.J. // *Cell Rep.* 2018. V. 22. № 7. P. 1923–1934.
75. Morello L.G., Coltri P.P., Quaresma A.J.C., Simabuco F.M., Silva T.C.L., Singh G., Nickerson J.A., Oliveira C.C., Moore M.J., Zanchin N.I.T. // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 12. e29174.
76. Kressler D., Hurt E., Bergler H., Baßler J. // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* 2012. V. 1823. № 1. P. 92–100.
77. Raman N., Weir E., Müller S. // *Mol. Cell.* 2016. V. 64. № 3. P. 607–615.
78. Bohnsack K.E., Bohnsack M.T. // *EMBO J.* 2019. V. 38. № 13. e100278.
79. Choudhury P., Hackert P., Memet I., Sloan K.E., Bohnsack M.T. // *RNA Biol.* 2019. V. 16. № 1. P. 54–68.
80. 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.
81. Martin R., Straub A.U., Doebele C., Bohnsack M.T. // *RNA Biol.* 2013. V. 10. № 1. P. 4–18.
82. Srivastava L., Lapik Y.R., Wang M., Pestov D.G. // *Mol. Cell Biol.* 2010. V. 30. № 12. P. 2947–2956.
83. Calo E., Flynn R.A., Martin L., Spitale R.C., Chang H.Y., Wysocka J. // *Nature.* 2015. V. 518. № 7538. P. 249–253.
84. Bammert L., Jonas S., Ungricht R., Kutay U. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 20. P. 9803–9820.
85. Memet I., Doebele C., Sloan K.E., Bohnsack M.T. // *Nucl. Acids Res.* 2017. V. 45. № 9. P. 5359–5374.
86. Bohnsack M.T., Martin R., Granneman S., Ruprecht M., Schleiff E., Tollervey D. // *Mol. Cell.* 2009. V. 36. № 4. P. 583–592.
87. Pertschy B., Schneider C., Gnädig M., Schäfer T., Tollervey D., Hurt E. // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 50. P. 35079–35091.
88. Wandrey F., Montellese C., Koos K., Badertscher L., Bammert L., Cook A.G., Zemp I., Horvath P., Kutay U. // *Mol. Cell Biol.* 2015. V. 35. № 20. P. 3491–3503.
89. Ameismeier M., Cheng J., Berninghausen O., Beckmann R. // *Nature.* 2018. V. 558. № 7709. P. 249–253.
90. Reuveni S., Ehrenberg M., Paulsson J. // *Nature.* 2017. V. 547. № 7663. P. 293–297.
91. Li B., Nierras C.R., Warner J.R. // *Mol. Cell Biol.* 1999. V. 8. P. 5393–5404.
92. Mayer C., Grummt I. // *Oncogene.* 2006. V. 25. P. 6384–6391.
93. Pillet B., Mitterer V., Kressler D., Pertschy B. // *BioEssays.* 2017. V. 39. № 1. P. 1–12.
94. Landry-Voyer A.M., Bergeron D., Yague-Sanz C., Baker B., Bachand F. // *Nucl. Acids Res.* 2020. V. 48. № 22. P. 12900–12916.
95. Pausch P., Singh U., Ahmed Y.L., Pillet B., Murat G., Altegoer F., Stier G., Thoms M., Hurt E., Sinning I., et al. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. e7494.
96. Pillet B., García-Gómez J.J., Pausch P., Falquet L., Bange G., de la Cruz J., Kressler D. // *PLoS Genet.* 2015. V. 11. № 10. e1005565.
97. Schütz S., Fischer U., Altvater M., Nerurkar P., Peña C., Gerber M., Chang Y., Caesar S., Schubert O.T., Schlenstedt G., et al. // *Elife.* 2014. V. 3. e03473.
98. Wyler E., Wandrey F., Badertscher L., Montellese C., Alper D., Kutay U. // *FEBS Lett.* 2014. V. 588. № 20. P. 3685–3691.
99. Calviño F.R., Kharde S., Ori A., Hendricks A., Wild K., Kressler D., Bange G., Hurt E., Beck M., Sinning I. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 6510.
100. van Hoof A., Lennertz P., Parker R. // *EMBO J.* 2000. V. 19. № 6. P. 1357–1365.
101. Ciganda M., Williams N. // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2011. V. 2. № 4. P. 523–533.
102. Sloan K.E., Bohnsack M.T., Watkins N.J. // *Cell Rep.* 2013. V. 5. № 1. P. 237–247.
103. Zhang J., Harnpicharnchai P., Jakovljevic J., Tang L., Guo Y., Oeffinger M., Rout M.P., Hiley S.L., Hughes T., Woolford J.L. // *Genes Dev.* 2007. V. 21. № 20. P. 2580–2592.
104. Chen S.S., Williamson J.R. // *J. Mol. Biol.* 2013. V. 425. № 4. P. 767–779.
105. O'Donohue M.F., Choessel V., Faubladiet M., Fichant G., Gleizes P.E. // *J. Cell Biol.* 2010. V. 190. № 5. P. 853–866.
106. Nicolas E., Parisot P., Pinto-Monteiro C., De Walque R., De Vleeschouwer C., Lafontaine D.L.J. // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. e11390.