

ОГЛЯДИ

УДК 577.214/218

ДЛИННЫЕ НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК – «КАМЕРТОН» В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ

В. В. ГОРДИЮК

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев;
e-mail: vasilij_gordiyuk@yahoo.com*

Большинство транскриптов не являются матрицей для синтеза протеинов, а выполняют разнообразные функции, контролируя такие клеточные процессы, как эмбриогенез и дифференциация, импринтинг и инактивация X-хромосомы, иммунный ответ и реакции на стресс. Значительная часть РНК, в том числе длинные некодирующие РНК (long non-coding RNA; lncRNA), выступают в роли сигнальных молекул, навигационных систем и платформ для сборки сложных рибонуклеиновых комплексов; участвуют в организации специальных клеточных доменов; связывают регуляторные протеины и микроРНК; являются предшественниками малых РНК. LncRNA осуществляют регуляцию транскрипции, альтернативного сплайсинга, редактирования, транспорта, трансляции и деградации мРНК. В процессах ремоделирования хроматина и контроля транскрипции важную роль играет пространственная структура lncRNA. Обзор посвящен различным аспектам функционирования длинных некодирующих РНК.

Ключевые слова: длинные некодирующие РНК, псевдогены, ремоделирование хроматина, альтернативный сплайсинг, редактирование РНК, микроРНК, ЭСК.

У человека выявлено около 20 тыс. генов, кодирующих протеины, что составляет не более 2% его генома [1]. При этом почти 90% генома активно транскрибируется [2]. Соответственно, основная доля транскриптов представлена некодирующими РНК, которые регулируют экспрессию более 70% генов человека [3]. По одной из классификаций, к таким РНК относят 11 групп длинных (lncRNA) и 19 групп малых РНК [4]. Малые РНК (в первую очередь, микроРНК) долгое время доминировали в качестве объектов исследований среди некодирующих транскриптов. Понимание того, что именно lncRNA являются универсальными регуляторами клеточных процессов, в последние годы привело к значительному росту количества работ, посвященных этой теме. В обзоре охарактеризованы особенности этого важного класса РНК в указанном контексте.

1. Генезис длинных некодирующих РНК

По данным каталога GENCODE 15 на 2013 год выявлено свыше 13 тыс. локусов ДНК, кото-

рым соответствует более 22 тыс. транскриптов lncRNA [1]. LncRNA обнаружены в клетке повсеместно: более 30% их локализовано в ядре; 15% – в цитоплазме; около 50% – присутствует в обоих компартментах [5]. Последнее обстоятельство свидетельствует в пользу неоднозначности функций таких транскриптов. Особенности генезиса lncRNA с учетом расположения их ДНК-матрицы позволяют выделить категории межгенных, интронных, энхансерных, промоторных (lncRNA, которые синтезируются с промоторных участков генов) и антисмысловых транскриптов, а также псевдогенов и транскриптов ретротранспозонов [4, 6].

Размер lncRNA колеблется от 200 до нескольких тысяч нуклеотидов (в среднем – около 1 kb), а размер протеинкодирующего транскрипта в среднем составляет 3 kb. Среди длинных некодирующих РНК только межгенные (long intergenic noncoding RNA, lincRNA) чаще сплайсированы по сравнению с мРНК [7]. Межгенные и антисмысловые lncRNA являются более устойчивыми, чем интронные, как и сплайсиро-

ванные по сравнению с транскриптами одного экзона [8]. Кроме того, экспрессия lncRNA более тканеспецифична, чем экспрессия мРНК (78 против 19%) [7]. В частности, для HOTAIR (HOX transcript antisense RNA) показана роль в регуляции тканеспецифической транскрипции [9].

В результате мутаций, дупликаций или ретротранспозиции протеинкодирующих генов образуются псевдогены, 20% которых транскрибируются, но, как правило, не транслируются вследствие генетических аномалий [10]. Не менее 70% транскриптов имеют антисмысловых партнеров, т.е., lncRNA [11].

Следует отметить, что локус в пределах одного гена способен продуцировать разные длинные некодирующие РНК. Например, с промоторной области гена CDKN1A (cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21)) при повреждении ДНК транскрибируется пять lncRNA [12]. Одному гену также может соответствовать несколько псевдогенов [13].

Высокая частота генов lncRNA характерна для импринтных участков генома [4]. Примером вариаций с некодирующими РНК служит импринтный регион H19/IGF2 на 11-й хромосоме, который генерирует разные транскрипты с обеих цепей ДНК. Помимо наиболее исследованной lncRNA H19 с этого локуса могут считываться протеинкодирующий транскрипт HOTS (H19 opposite tumor suppressor) и длинный межгенный антисмысловый транскрипт 91H (long intergenic antisense transcript) [14]. На X-хромосоме с компактного участка (X-инактивационного центра) транскрибируется несколько lncRNA, в том числе антисмысловых, которые действуют как антагонисты (например, TSIX по отношению к XIST и RepA) [15].

В биогенезе (инициации транскрипции, сплайсинга, полиаденилирования) и регуляции функций lncRNA у человека существенная роль принадлежит транспозонам (transposable elements, TE), которые присутствуют в 2/3 длинных некодирующих транскриптов и важны для формирования их вторичной структуры [16].

2. LncRNA и контроль экспрессии генов

Особенности функционирования lncRNA. Длинные некодирующие РНК в клетке выполняют роль сигнальных молекул, «навигационных систем» и платформ для сборки сложных рибонуклеиновых комплексов; участвуют в

организации клеточных доменов; связывают регуляторные протеины и микроРНК; являются предшественниками малых РНК [17]. Кроме того, некоторые lncRNA могут кодировать малые пептиды [18]. Все эти особенности позволяют lncRNA реализовать многочисленные функции, в том числе, запуск эпигенетической регуляции транскрипции. Для lncRNA выявлен широкий спектр мишеней. На уровне взаимодействия РНК-РНК известно гомологичное связывание антисмысловой lncRNA и мРНК, в частности для гена *CDKN1A*. Alu-элементы lncRNA и мРНК обеспечивают образование двухцепочечной РНК, которая привлекает протеин STAU-1 (staufen 1). Тот, в свою очередь, связывается с АТФ-зависимой хеликазой Upf1 (UP Frameshift 1) и другими энзимами, что приводит к деградации мРНК [19].

Примером гибрида РНК-ДНК может служить дуплекс lncRNA с одноцепочечной ДНК и триплекс lncRNA с промоторами генов из локуса *XIST* (X inactive specific transcript), обуславливающий репрессию их транскрипции [20]. Важным свойством lncRNA является способность эффективно взаимодействовать с протеинами. Среди множества примеров: транскрипт из субтеломерных участков хромосом TERRA (telomere repeat encoding RNA), который образует комплекс с TRF2 (telomeric repeat-binding factor 2) и ингибирует активность TERT (telomerase reverse transcriptase). Кроме того, TERRA формирует G-квадруплексы с G-богатыми цепями теломерной ДНК, блокируя ее репликацию [21–23]. Следует отметить, что в теломерных участках ДНК и в рибосомах имеет место комбинация различных типов взаимодействий с участием lncRNA [24].

Взаимодействие длинных некодирующих РНК с различными мишенями позволяет lncRNA регулировать экспрессию генов на разных этапах реализации генетической информации (рис. 1).

LncRNA и эпигенетическая регуляция транскрипции. Комплексы активации/репрессии транскрипции обеспечивают модификации гистонов и, тем самым, контроль состояния хроматина. Не менее 20% lncRNA способны привлекать к генам-мишеням комплекс PRC2 (polycomb repressive complex 2), который блокирует их транскрипцию путем метилирования гистонов и других протеинов [25]. Для 80% протеинко-

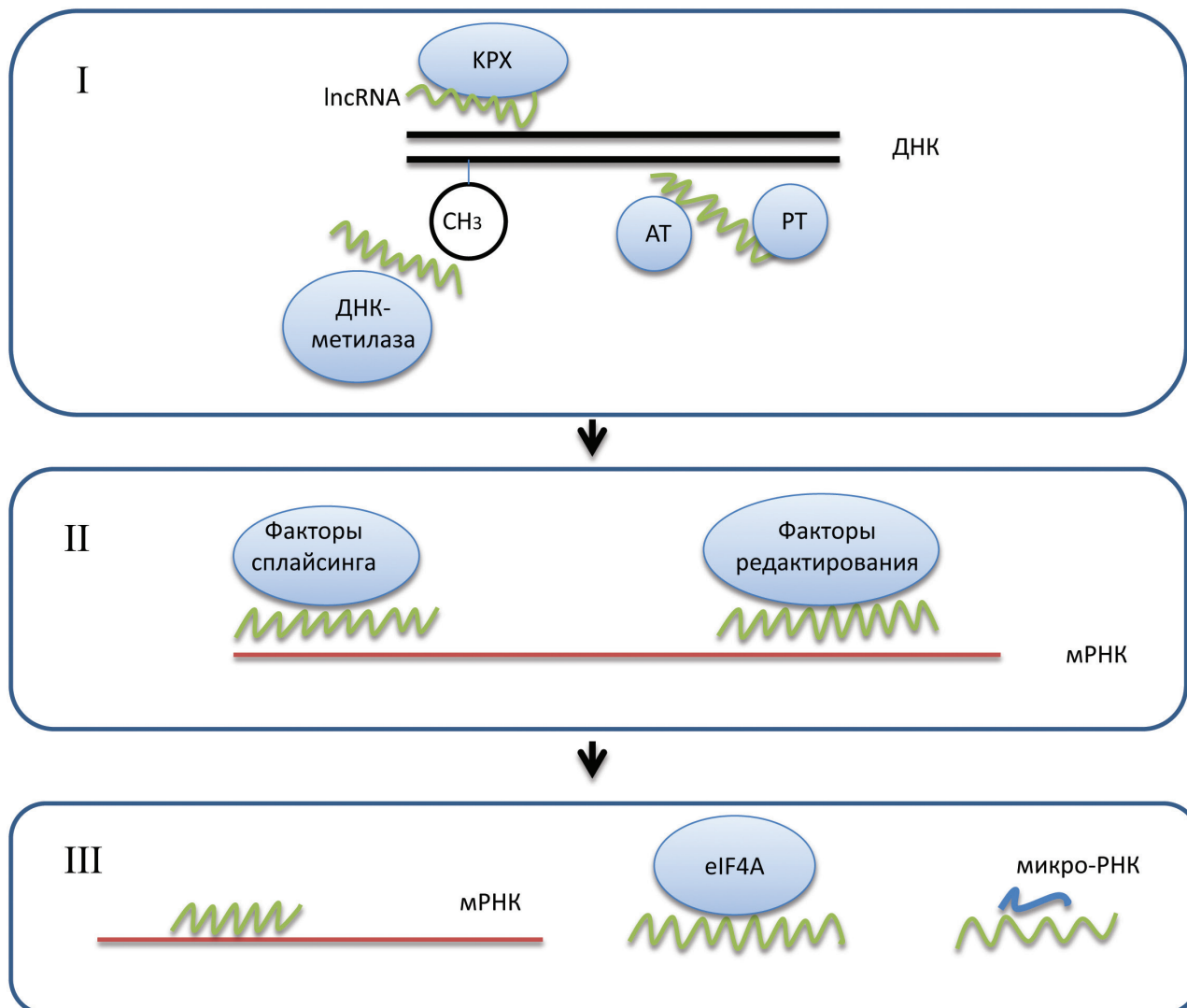


Рис. 1. Длинные некодирующие РНК в регуляции экспрессии генов. I. LncRNA и регуляция транскрипции: привлечение KRX (комплексов ремоделирования хроматина), АТ – активаторов транскрипции, РТ – репрессоров транскрипции, ДНК-метилаза. II. LncRNA и посттранскрипционная регуляция: альтернативного сплайсинга и редактирования мРНК. III. LncRNA и регуляция трансляции: связывание мРНК, протеинов (фактора инициации трансляции eIF4A), микроРНК. LncRNA показаны зеленым цветом

дирующих генов человека в сплайсированных мРНК выявлены транскрипционно активные интроны [26]. Интронные lncRNA могут связываться с H3K27me₃-метилтрансферазой гистонов EZH2 – компонентом комплекса репрессии транскрипции PRC2. Интронная lncRNA привлекает PRC2 к гену H3K4-метилтрансферазы гистонов SMYD3 (SET and MYND domain-containing protein 3), субъединицы протеинового комплекса trxG (trithorax group) – активатора транскрипции, тем самым осуществляя его негативную регуляцию [27].

Обширные группы межгенных и антисмысловых РНК также причастны к эпигенетическому контролю экспрессии генов [28]. Так, благодаря особенностям своей структуры ANRIL (antisense non-coding RNA in the INK4 locus) может связываться с субъединицами комплексов PRC1 (polycomb repressive complex 1) и PRC2 [29, 30]. Помимо этого, lncRNA способны взаимодействовать с SWI3B-субъединицей АТФ-зависимого комплекса ремоделирования хроматина SWI/SNF, негативного регулятора транскрипции [31]. Эхансерподобная lncRNA

НОТТИР (HOXA distal transcript antisense RNA), напротив, активирует транскрипцию генов при взаимодействии с протеином WDR5 (WD repeat domain 5), катализатором метилирования гистонов – H3K4me3 [9]. LncRNA XIST за счет привлечения протеина RYBP (RING1 and YY1 binding protein) и PRC1 обеспечивает убиквитинирование гистона H2A (H2AK119u1), а за счет связывания с PRC2 – модификации гистонов, описанные ранее, которые обуславливают транскрипционное молчание (инактивацию) X-хромосомы [32, 6]. Таким образом, lncRNA инициируют эпигенетический контроль на уровне комплексов, ответственных за активацию и репрессию транскрипции.

В процессах ремоделирования хроматина и транскрипции важную роль играют вторичная и третичная структура lncRNA. Благодаря своей пространственной организации эти РНК могут осуществлять конформационную селекцию протеинов в многоплановом функциональном контексте и выступать в роли внутриклеточных «навигационных систем». Так, домен герА lncRNA XIST рекрутирует PRC2 к соответствующему участку X-хромосомы (*цис*-регуляция) [15]. Этот регион XIST содержит две длинные петли с 4-мя повторами в каждой, необходимыми для стабилизации вторичной структуры lncRNA, а также для распознавания и связывания PRC2 [33]. Через домен RepC XIST связывается с транскрипционным фактором YY1, который привлекает ацетилтрансферазы либо деацетилазы гистонов к промоторам генов в зависимости от их активации или репрессии [34]. Межгенная lncRNA HOTAIR способна связываться с разными компонентами PRC2 – метилазой (EZH2) и деметилазой (LSD1) гистонов (*транс*-регуляция) за счет шпилек в месте контакта [35–37].

Длинные некодирующие РНК также осуществляют репрессию транскрипции, привлекая ДНК-метилтрансферазы, например, DNMT1 (DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1) к геномной ДНК [38]. Промоторассоциированные lncRNA (promoter-associated ncRNAs; pncRNAs) связываются 5'-концом с рибосомными генами, рекрутируют метилазу DNMT3b и способствуют их инактивации [39]. Экспрессия самих lncRNA, в свою очередь, регулируется метилированием промоторов их генов, что показано, в частности, для MEG3 (maternally expressed 3) [40].

LncRNA и коактиваторы/корепрессоры транскрипции. LncRNA способны регулировать транскрипцию путем ассоциации с протеинами, ответственными за ее активацию или репрессию. Примером lncRNA как «ловушки» для протеинов может служить PANDA (promoter of CDKN1A antisense DNA damage activated RNA), благодаря своей структуре связывающая транскрипционный фактор NF-YA (nuclear transcription factor Y, alpha) [12]. Шпилька lncRNA GAS5 (growth arrest-specific 5) экранирует ДНК-связывающий домен ядерного глюкокортикоидного рецептора, предотвращая его ассоциацию с геномной ДНК, и тем самым регулирует транскрипцию стероидных гормонов [41]. Экспрессия самих lncRNA может непосредственно контролироваться гормонами. Так, транскрипция HOTAIR стимулируется эстрадиолом [42].

Сложная 3-мерная организация (4 домена с десятками спиральных сегментов и петель) характерна для полифункциональной lncRNA SRA (steroid receptor RNA activator) [20], коактиватора для ядерных рецепторов прогестерона, эстрогена альфа и бета, андрогена; глюкокортикоидного рецептора, ретиноевой кислоты [43]. SRA присутствует в рибонуклеиновом комплексе, содержащем РНК-хеликазы [44].

Сбалансированный механизм в регуляции транскрипции генов демонстрируют lncRNA MALAT1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1) (NEAT2) и TUG1 (taurine upregulated 1 (non-protein coding)). Неметилированный протеин Polycomb 2 (Pc2) посредством связывания с MALAT1 обеспечивает сумоилирование транскрипционного фактора E2F1 и активацию клеточного роста, а связывание метилированного Pc2 с TUG1 обуславливает его репрессию. Таким образом, имеет место координация программ экспрессии генов посредством lncRNA, транскрипционных факторов, их коактиваторов/корепрессоров и негистонового протеина за счет изменения статуса его метилирования [45].

В нейронах отмечена позитивная корреляция синтеза энхансерных lncRNA (eRNA) и мРНК соседних генов, что может свидетельствовать о роли eRNA в их активации [46]. Ультраконсервативные регионы (ultraconserved regions; UCR) ДНК у млекопитающих также служат транскрипционными энхансерами. С этих участ-

ков генома транскрибируется около 300 lncRNA, включая антисмысловые, контролирующие экспрессию свыше тысячи мРНК [47].

Альтернативный сплайсинг и редактирование мРНК: lncRNA и ядерные домены. Длинные некодирующие РНК на посттранскрипционном уровне вовлечены в регуляцию альтернативного сплайсинга и редактирования мРНК.

lncRNA MALAT1 – долгоживущий межгенный транскрипт (время полураспада – более 7 часов) [8]. Ассоциация MALAT1 с серин-аргининовым богатым фактором сплайсинга (serine/arginine (SR) splicing factors) обеспечивает контроль его активности [48]. Poly(A)-подобная структура у MALAT1 защищает эту РНК от разрушения [49]. MALAT1 отвечает за правильную локализацию факторов сплайсинга в особых ядерных компартментах (speckles) и за их привлечение к сайту транскрипции [50]. Всего MALAT1 способна связывать около 90 протеинов [20]. Антисмысловые транскрипты и UCR также регулируют альтернативный сплайсинг мРНК [51, 47]. Кроме этого, длинные некодирующие РНК сами подвержены альтернативному сплайсингу: разные изоформы, в частности, обнаружены для lncRNA H19, а для MEG3 известно 12 изоформ [14, 52].

Участие в организации специальных клеточных компартментов демонстрирует и lncRNA NEAT1 (MEN) – архитектурный компонент ядерных телец (paraspeckles), где осуществляется редактирование мРНК [53]. Отмечено, что вокруг сайта транскрипции генов формируются кластеры таких образований [54]. Протеин HNRNPK (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K) инициирует синтез и накопление NEAT1 [55].

Матричные РНК с инвертированными Alu-повторами редактируются в большей степени, нежели обычные транскрипты [56]. Редактированию подвержены и сами lncРНК, что обеспечивает их вариабельность и расширяет функциональный потенциал [57].

lncRNA также влияют на экспрессию генов, участвуя в контроле ядерно-цитоплазматического транспорта мРНК. Так, lncRNA XIST способна взаимодействовать с протеином hnRNPU (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U), важным для процессинга и экспорта в цитоплазму мРНК [58], благодаря чему клеточная эстафета с участием lncRNA выходит на уровень регуляции трансляции.

lncRNA как предшественники малых РНК. Примерно половина последовательностей ДНК-матриц для микроРНК заключена в генах lncRNA [59]. Так, из последнего интрона lncRNA MEG3 образуется miR-770 [60]. На 3'-концах lncRNA MALAT1 и NEAT1 присутствуют вторичные структуры, подобные архитектуре тРНК, которые привлекают РНКазу Р, важную для процессинга РНК. В результате из транскрипта MALAT1, помимо соответствующей lncRNA, образуется тРНК-подобная малая ncRNA. Она стабилизируется триплетом CCA на 3'-конце и экспортируется в цитоплазму [61]. SRA также вовлечена в процессинг микроРНК [62]. Шпилька lncRNA H19, соответствующая первому экзону гена, является предшественником двух микроРНК (miR-675-3p и miR-675-5p) [63]. Процессинг микроРНК-675 ингибируется протеином HuR (Hu antigen R) за счет его связывания с транскриптом H19, иллюстрируя дополнительный уровень регуляции экспрессии мишеней miR-675 [64].

Из «шпильки» транскрипта псевдогена могут формироваться антисмысловые siRNA для соответствующего гена: например, таким путем образуются siRNA для *HDAC1* [65]. Малая ядрышковая РНК (snoRNA) U50 считается из интрона гена lncRNA GAS5 [66]. Некодирующие транскрипты кластера импринтных генов – delta-like homolog 1 gene and the type III iodothyronine deiodinase gene (*Dlk1-Dio3*) на 14-й хромосоме человека генерируют около сотни малых РНК (microRNA и snoRNA) [67].

lncRNA и регуляция трансляции. Многочисленные примеры свидетельствуют об участии lncRNA в контроле синтеза протеинов через различные механизмы. Как предсказал в 2009 г. компьютерный анализ, псевдогены могут интерферировать с негативными регуляторами стабильности мРНК, микроРНК, что вскоре подтвердили экспериментально для псевдогенов *PTENP1* и *KRASPI* [68, 69]. Антисмысловые транскрипт *BACE-AS* (antisense transcript of the Alzheimer-associated b-secretase-1), напротив, увеличивает стабильность мРНК *BACE*, маскируя сайты для miR-485-5p [70].

Сложные межмолекулярные взаимодействия демонстрирует lncRNA HULC (highly upregulated in liver cancer). Киназа PRKACB (protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, beta) активирует протеин GREB (growth regulation by

estrogen in breast cancer), увеличивая экспрессию HULC, а также обеспечивая связывание miR-372 с этой lncRNA, в результате чего микроРНК теряет способность инактивировать трансляцию киназы [71].

При избытке транскрипта псевдогена для *HMGAI* (high mobility group A1) за счет его присоединения к протеину alpha-CP1 (стабилизатору мРНК) происходит деградация мРНК *HMGAI* [72]. LncRNA-p21 при связывании с мРНК бета-катенина препятствует ее трансляции [73]. Совместная транскрипция гена *NOS* (NO-синтетаза) и антисмыслового транскрипта к его псевдогену ведет к формированию дуплекса РНК и блоку трансляции гена при связывании с рибосомой. Кроме того, с матрицы антисмыслового транскрипта синтезируется дефектный протеин NOS, который также выступает в качестве негативного регулятора синтеза NO [74].

Антисмысловая РНК к мРНК компонента транскрипционного комплекса PU.1 при связывании фактора инициации трансляции eIF4A блокирует синтез протеина [75]. LncRNA BC200, транскрибируемая с участием RNAPol III, имеет высокую степень гомологии с транспозоном Alu и также служит негативным регулятором для фактора eIF4A [4]. Поскольку snoRNA участвуют в процессинге рибосомных РНК, то возможен механизм регуляции трансляции со стороны lncRNA и через синтез snoRNA.

3. LncRNA и физиология клетки

Функционирование клетки обеспечивается наличием цитоскелета, в организации которого участвуют lncRNA: например, они регулируют формирование цитокератиновых филаментов за счет привлечения соответствующих протеинов [76]. Некодирующие транскрипты также важны для обмена веществ: SRA регулирует адипогенез и обмен глюкозы [43]. Следует отметить участие lncRNA в регуляции мейоза: некодирующий транскрипт локуса *smc2* обеспечивает спаривание гомологичных хромосом и препятствует анеупloidии [77]. В данном обзоре мы кратко остановимся на участии lncRNA в регуляции ответа на стресс, иммунитет и на программы развития организма (рис. 2).

LncRNA и регуляция ответа на стресс. Исследования показали возможность соотношения экспрессии наборов длинных некодирующих РНК и групп генов, кодирующих сигнальные

протеины (например, для путей NFkappa B и p53), а также выявления изменений экспрессии lncRNA при различных физиологических состояниях и патологиях [24].

Экстремальные для клетки условия стимулируют синтез этих РНК. LncRNA HSR1 (heat shock RNA1) образует комплекс с HSF1 (heat shock transcription factor 1), чем вызывает 200-кратное повышение экспрессии протеинов теплового шока [78]. Транскрипт ретротранспозонов SINE B2 (short interspersed nuclear elements B2), напротив, препятствует транскрипции генов хит-шока за счет связывания РНК-полимеразы II [79, 6]. В ответ на клеточный стресс из межгенных участков перед сайтом старта транскрипции рибосомных генов экспрессируются некодирующие РНК. Они привлекают VHL (von Hippel-Lindau tumor suppressor, E3 ubiquitin protein ligase), ДНК-метил-трансферазу DNMT1, тем самым блокируя транскрипцию [80]. LncRNA, связанные с процессами альтернативного сплайсинга и редактирования РНК, также могут контролировать транскрипцию различных генов при тепловом шоке и инфекциях [81].

LncRNA участвуют в координации p53-зависимой экспрессии генов. Так, при повреждении ДНК p53 активирует lincRNA-p21, которая взаимодействует с компонентами репрессивного комплекса [82]. При стрессе p53 дольше избегает деградации; кроме того, увеличивается его синтез. Матричная РНК для p53 способна стимулировать его трансляцию, а при связывании с убиквитинлигазой MDM2 – предотвращать деградацию p53 [44]. Таким образом, подобные бифункциональные РНК помимо способности кодировать протеины обладают свойствами регуляторных, некодирующих РНК.

Промоторные lncRNA для гена *CCND1* (cyclin D1) выступают в качестве корепрессоров транскрипции: они взаимодействуют с GREB-связующим протеином TLS (translocated in liposoma), который ингибирует гистоновую ацетилтрансферазу p300 и обуславливает молчание *CCND1* при генотоксическом стрессе [83, 84].

LncRNA, вирусная инфекция и иммунитет. Известно около 500 lncRNA, изменяющих экспрессию при иммунном ответе на вирусную инфекцию [85]. Сами вирусы, в частности онкогенный KSHV (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus), применяют адаптивную стратегию при участии lncRNA для формирования триплексной структуры, стабилизирующей мРНК

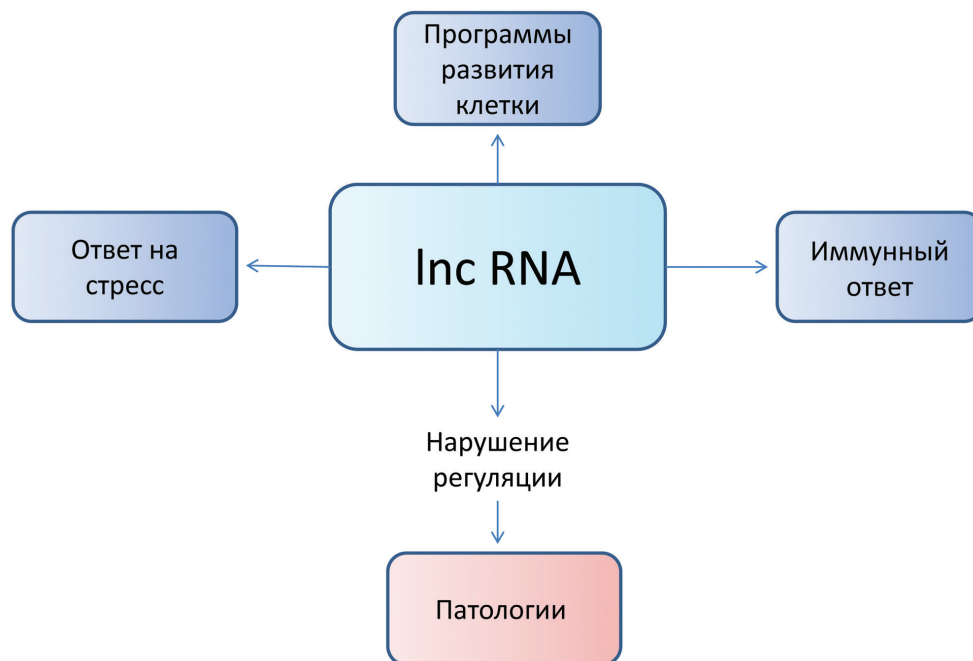


Рис. 2. *lncRNA* и регуляция клеточных процессов

вируса [86]. С повторов (LTRs – long terminal repeats) эндогенного ретровируса VL30 в гепатоцитах считываются некодирующие РНК – регуляторы транскрипции расположенных рядом генов [87]. *lncRNA* NEAT1 в ядерных органеллах регулирует репликацию HIV-1 (human immunodeficiency viruses type 1) в Т-клетках иммунной системы [88].

lncRNA NRON (noncoding repressor of NFAT) препятствует ядерной аккумуляции NFAT (nuclear factor of activated T-cells) за счет связывания с транспортными протеинами, тем самым участвуя в иммунорегуляции [89]. В регуляцию воспалительных процессов вовлечена *lncRNA* SRA [43].

lncRNA и регуляция программ развития. В эмбриональных стволовых клетках (ЭСК) более 60% *lncRNA* считываются из промоторов протеинкодирующих генов. Транскрипция пар *lncRNA*/mRNA, как правило, скоординирована. За счет этого *lncRNA* контролируют статус клетки и процессы дифференцировки в ЭСК [90]. Высокая экспрессия в ЭСК отмечена, в частности, для длинной изоформы *lncRNA* NEAT1 [80]. Для ~75% *lncRNA*, продуцируемых в ЭСК, найдены сайты связывания с факторами транскрипции, которые активны в плюрипотентных клетках (OCT4, SOX2, NANOG, cMYC и др.). В контроль эмбриогенеза вовлечены, в

частности, OCT4-активируемые и NANOG-репрессорируемые *lncRNA* [91].

Кроме того, *lncRNA* играют ключевую роль в перепрограммировании соматических клеток. Упомянутые выше OCT4, SOX2 и NANOG регулируют синтез *lncRNA*-RoR (regulator of reprogramming), важной для формирования колоний индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPS-induced pluripotent stem cell) [92].

Найдено более 20 *lncRNA*, которые, в свою очередь, индуцируют экспрессию таких факторов транскрипции, как NANOG, OCT4 и др. [93]. Синтез OCT4 может регулироваться антисмысловой *lncRNA* к его P5-псевдогену [94]. Несомненный функциональный контекст имеет различие в локализации транскриптов псевдогенов для OCT4: OCT4-P1 и OCT4-P4 присутствуют в ядре, а OCT4-P3 – в цитоплазме [95].

Для 30% *lncRNA* в ЭСК выявлена ассоциация, по крайней мере, с одним из комплексов ремоделирования хроматина [96]. Например, показано, что *lncRNA* регулируют нейрогенез через связывание с фактором транскрипции SOX2 и PRC2 [97]. Ряд *lncRNA* в ЭСК способны взаимодействовать и с PRC2, и с PRC1, и с гистоновой деметилазой Jarid1b [96]. При этом синтез самих некодирующих РНК в ЭСК контролируется этими комплексами [98].

Таким образом, в ЭСК и iPSC наблюдается координация действия факторов транскрипции, ассоциированных с плюрипотентностью, комплексов ремоделирования хроматина и длинных некодирующих РНК, причем интегрирующая роль принадлежит lncRNA [93].

Мы имели возможность убедиться, что длинные некодирующие РНК принимают участие в контроле таких кардинальных процессов, как эмбриогенез и дифференциация, импринтинг и инактивация X-хромосомы, иммунный ответ и реакция на стресс, а также ряда других. Благодаря доменам с различной пространственной организацией эти РНК служат связующими звеньями между специфическими регуляторными компонентами, формируя уникальные функциональные комплексы. LncRNA включены в многоуровневые системы контроля клеточных функций, и тем самым могут претендовать на роль молекулярных «менеджеров». Более того, предполагается существование своеобразного РНК-кода, реализуемого через lncRNA, полная расшифровка которого потребует еще немало усилий от исследователей [24].

Соответственно, возникновение различных патологий связано с нарушениями синтеза и функционирования lncRNA. Ограничимся несколькими общими примерами. Дисбаланс в регуляции lncRNA может служить причиной транслокаций и обусловленных ими заболеваний [99]. Эти РНК вовлечены в формирование нейродегенеративных патологий и злокачественных новообразований [17]. Показана роль lncRNA в развитии аутоиммунных заболеваний, в частности, некодирующего транскрипта псевдогена к *HMGAI* для диабета II-го типа [72]. Сложные жизненные циклы одноклеточных паразитов человека, например, малярийного плазмодия, координируются lncRNA [100]. Влияние вирусов на клеточные процессы, как и иммунный ответ на вирусную инфекцию, также реализуются с участием длинных некодирующих РНК [85, 87]. Кроме того, в эволюционном аспекте lncRNA

можно рассматривать как неисчерпаемый резерв для образования новых генов [101]. Эти транскрипты, несомненно, заставили по-новому взглянуть на удивительный мир РНК в микрокосме клетки.

Работа выполнена при поддержке гранта Государственного агентства по вопросам науки, инноваций и информатизации № 0111U005988.

ДОВГІ НЕКОДУЮЧІ РНК – «КАМЕРТОН» В РЕГУЛЯЦІЇ КЛІТИННИХ ПРОЦЕСІВ

В. В. Гордіюк

Інститут молекулярної біології і
генетики НАН України, Київ;
e-mail: vasilij_gordiyuk@yahoo.com

Більшість транскриптів не є матрицею для синтезу протеїнів, вони виконують різноманітні функції, контролюючи такі клітинні процеси, як ембриогенез і диференціація, імпринтинг і інактивация X-хромосомы, імунна відповідь та реакція на стрес. Значна частина таких РНК, довгі некодуючі РНК (lncRNA), виконує роль сигнальних молекул, навігаційних систем і платформ для збирання складних рибонуклеїнових комплексів; бере участь в організації спеціальних клітинних доменів; зв'язує регуляторні протеїни і мікроРНК; є попередниками малих РНК. LncRNA здійснюють регуляцію транскрипції, альтернативного сплайсингу, редагування, транспорту, трансляції і деградації мРНК. У процесах ремоделювання хроматину і контролю транскрипції важливу роль відіграє просторова структура lncRNA. Огляд висвітлює різні аспекти функціонування довгих некодуючих РНК.

Ключові слова: довгі некодуючі РНК, псевдогени, ремоделювання хроматину, альтернативний сплайсинг, редагування РНК, мікроРНК, ЕСК.

LONG NON-CODING RNAs – «TUNING FORK» IN REGULATION OF CELL PROCESSES

V. V. Gordiyuk

Institute of Molecular Biology and Genetics,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: vasilij_gordiyuk@yahoo.com

Most of RNA transcripts, instead of serving templates for protein synthesis, perform different functions such as control of embryogenesis, differentiation, imprinting, X-chromosome inactivation, immune response, and stress reactions. A large portion of these RNAs are denoted as long non-coding RNAs (lncRNAs) which function as signaling molecules, navigating systems and platforms for ribonucleic complexes assembly. They also participate in the organization of specific cellular domains. Moreover, they are able to bind regulatory proteins and micro-RNAs, and serve as precursors for small RNAs. It was shown that lncRNAs participate in transcription regulation; they are also involved in alternative splicing, RNA editing, traffic, translation and degradation of RNA. The three-dimensional structure of lncRNAs plays a crucial role in processes of chromatin remodeling and transcription regulation. In this review we discuss various aspects of lncRNAs functioning.

Key words: long non-coding RNAs, pseudogenes, chromatin remodeling, alternative splicing, RNA editing, micro-RNA, ESC.

1. www.encodegenes.org/releases/15.html
2. Clark M. B., Amaral P. P., Schlesinger F. J. et al. // PLoS Biol. – 2011. – **9**, N 7. – e1000625.
3. Beiter T., Reich E., Williams R. W., Simon P. // Cell Mol. Life Sci. – 2009. – **66**, N 1. – P. 94–112.
4. Gibb E. A., Brown C. J., Lam W. L. // Mol. Cancer. – 2011. – **10**. – e38.
5. Kapranov P., Cheng J., Dike S. et al. // Science. – 2007. – **316**, N 5830. – P. 1484–1488.
6. Lee J. T. // Science. – 2012. – **338**, N 6113. – P. 1435–1439.
7. Maruyama R., Suzuki H., Yamamoto E. et al. // Tumor Biol. – 2012. – **33**. – P. 277–285.
8. Clark M. B., Johnston R. L., Inostroza-Ponta M. et al. // Genome Res. – 2012. – **22**, N 5. – P. 885–898.
9. Wang K. C., Yang Y. W., Liu B. et al. // Nature. – 2011. – **472**. – P. 120–124.
10. Harrison P. M., Zheng D., Zhang Z. et al. // Nucleic Acids Res. – 2005. – **33**. – P. 2374–2383.
11. Katayama S., Tomaru Y., Kasukawa T. et al. // Science. – 2005. – **309**, N 5740. – P. 1564–1566.
12. Hung T., Wang Y., Lin M. F. et al. // Nat. Genet. – 2011. – **43**, N 7. – P. 621–629.
13. Suo G., Han J., Wang X., Zhang J. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2005. – **337**, N 4. – P. 1047–1051.
14. Matouk I., Raveh E., Ohana P. et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – **14**. – P. 4298–4316.
15. Lee J. T. // Cold Spring Harb Perspect. Biol. – 2010. – **9**. – a003749.
16. Kapusta A., Kronenberg Z., Lynch V. J. et al. // PLoS Genet. – 2013. – **9**, N 4. – e1003470.
17. Niland C. N., Merry C. R., Khalil A. M. // Front Genet. – 2012. – **3**. – P. 25.
18. Ingolia N. T., Lareau L. F., Weissman J. S. // Cell. – 2011. – **147**, N 4. – P. 789–802.
19. Gong C., Maquat L. E. // Nature. – 2011. – **470**, N 7333. – P. 284–288.
20. Novikova I. V., Hennelly S. P., Sanbonmatsu K. Y. // Bioarchitecture. – 2012. – **6**, N 2. – P. 189–199.
21. Redon S., Reichenbach P., Lingner J. // Nucleic Acids Res. – 2010. – **38**, N 17. – P. 5797–5806.
22. Sampl S., Pramhas S., Stern C. et al. // Transl. Oncol. – 2012. – **5**, N 1. – P. 56–65.
23. Feuerhahn S., Iglesias N., Panza A. et al. // FEBS Lett. – 2010. – **584**, N 17. – P. 3812–3818.
24. Guttman M., Rinn J. L. // Nature. – 2012. – **482**. – P. 339–346.
25. Rinn J. L., Chang H. Y. // Annu. Rev. Biochem. – 2012. – **81**. – P. 145–166.
26. Louro R., El-Jundi T., Nakaya H. I. et al. // Genomics. – 2008. – **92**. – P. 18–25.
27. Guil S., Soler M., Portela A. et al. // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2012. – **19**, N 7. – P. 664–670.
28. Lee C., Kikyo N. // Cell Biosci. – 2012. – **6**, N 2. – P. 37.
29. Yap K. L., Li S., Muñoz-Cabello A. M. et al. // Mol. Cell. – 2010. – **38**. – P. 662–674.
30. Kotake Y., Nakagawa T., Kitagawa K. et al. // Oncogene. – 2011. – **30**. – P. 1956–1962.
31. Zhu Y., Rowley M. J., Böhmendorfer G., Wierzbicki A. T. // Mol. Cell. – 2013. – **49**, N 2. – P. 298–309.
32. Tavares L., Dimitrova E., Oxley D. et al. // Cell. – 2012. – **148**. – P. 664–678.

33. Maenner S., Blaud M., Fouillen L. et al. // PLoS Biol. – 2010. – **8**, N 1. – e1000276.
34. Jeon Y., Lee J. T. // Cell. – 2011. – **146**. – P. 119–133.
35. Rinn J. L., Kertesz M., Wang J. K. et al. // Cell. – 2007. – **129**, N 7. – P. 1311–1323.
36. Tsai M. C., Manor O., Wan Y. et al. // Science. – 2010. – **329**. – P. 689–693.
37. Zhao J., Ohsumi T. K., Kung J. T. et al. // Mol. Cell. – 2010. – **40**, N 6. – P. 939–953.
38. Mohammad F., Mondal T., Guseva N. et al. // Development. – 2010. – **137**. – P. 2493–2499.
39. Schmitz K. M., Mayer C., Postepska A., Grummt I. // Genes Dev. – 2010. – **24**, N 20. – P. 2264–2269.
40. Balik V., Srovnal J., Sulla I. et al. // J. Neurooncol. – 2013. – **112**, N 1. – P. 1–8.
41. Kino T., Hurt D. E., Ichijo T. et al. // Sci. Signal. – 2010. – **3**, N 107. – ra8.
42. Bhan A., Hussain I., Ansari K. I. et al. // J. Mol. Biol. – 2013. – **425**, N 19. – P. 3707–3722.
43. Xu B., Gerin I., Miao H. et al. // PLoS One. – 2010. – **5**, N 12. – e14199.
44. Ulveling D., Francastel C., Hubé F. // Biochimie. – 2011. – **93**, N 4. – P. 633–644.
45. Yang L., Lin C., Liu W. et al. // Cell. – 2011. – **147**. – P. 773–788.
46. Kim T. K., Hemberg M., Gray J. M. et al. // Nature. – 2010. – **465**. – P. 182–187.
47. Hudson R. S., Yi M., Volfovsky N. et al. // Mol. Cancer. – 2013. – **12**. – doi:10. [Epub ahead of print].
48. Tripathi V., Ellis J. D., Shen Z. et al. // Mol. Cell. – 2010. – **39**, N 6. – P. 925–938.
49. Hutchinson J. N., Ensminger A. W., Clemson C. M. et al. // BMC Genomics. – 2007. – **8**. – P. 39.
50. Bernard D., Prasanth K. V., Tripathi V. et al. // EMBO J. – 2010. – **29**. – P. 3082–3093.
51. Morrissy A. S., Malachi G., Marra M. A. // Genome Res. – 2011. – **8**. – P. 1203–1212.
52. Zhang X., Rice K., Wang Y. et al. // Endocrinology. – 2010. – **151**, N 3. – P. 939–947.
53. Nagano T., Fraser P. // Cell. – 2011. – **145**, N 2. – P. 178–181.
54. Mao Y. S., Sunwoo H., Zhang B., Spector D. L. // Nat. Cell Biol. – 2010. – **13**. – P. 95–101.
55. Naganuma T., Hirose T. // RNA Biol. – 2013. – **10**, N 3. [Epub ahead of print].
56. Chen L. L., Carmichael G. G. // Mol. Cell. – 2009. – **35**. – P. 467–478.
57. Sie C.P., Kuchka M. // Biochemistry (Mosc). – 2011. – **76**, N 8. – P. 869–881.
58. Hasegawa Y., Brockdorff N., Kawano S. et al. // Dev. Cell. – 2010. – **19**. – P. 469–476.
59. Ip J. Y., Nakagawa S. // Dev. Growth Differ. – 2012. – **54**, N 1. – P. 44–54.
60. Hagan J. P., O'Neill B. L., Stewart C. L. et al. // PLoS One. – 2009. – **4**, N 2. – e4352.
61. Wilusz J. E., Freier S. M., Spector D. L. // Cell. – 2008. – **135**, N 5. – P. 919–932.
62. Redfern A. D., Colley S. M., Beveridge D. J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – **110**, N 16. – P. 6536–6541.
63. Cai X., Cullen B. R. // RNA. – 2007. – **13**. – P. 313–316.
64. Keniry A., Oxley D., Monnier P. et al. // Nat. Cell Biol. – 2012. – **14**. – P. 659–665.
65. Tam O. H., Aravin A. A., Stein P. et al. // Nature. – 2008. – **453**. – P. 534–538.
66. Mourtada-Maarabouni M., Pickard M. R., Hedge V. L. et al. // Oncogene. – 2009. – **28**, N 2. – P. 195–208.
67. da Rocha S. T., Edwards C. A., Ito M. et al. // Trends Genet. – 2008. – **24**. – P. 306–316.
68. Poliseno L., Haimovic A., Christos P. J. et al. // J. Invest. Dermatol. – 2011. – **131**, N 12. – P. 2497–2500.
69. Muro E. M., Mah N., Andrade-Navarro M. A. // Biochimie. – 2011. – **93**, N 11. – P. 1916–1921.
70. Faghihi M. A., Zhang M., Huang J. et al. // Genome Biol. – 2010. – **11**, N 5. – R56.
71. Wang J., Liu X., Wu H. et al. // Nucleic Acids Res. – 2010. – **38**, N 16. – P. 5366–5383.
72. Chiefari E., Iiritano S., Paonessa F. et al. // Nat. Commun. – 2010. – **27**, N 1. – P. 40.
73. Yoon J. H., Abdelmohsen K., Srikantan S. et al. // Mol. Cell. – 2012. – **47**. – P. 648–655.
74. Korneev S. A., Kemenes I., Bettini N. L. et al. // Sci. Rep. – 2013. – **3**. – P. 1027.
75. Ebralidze A. K., Guibal F. C., Steidl U. et al. // Genes Dev. – 2008. – **22**. – P. 2085–2092.
76. Wilusz J. E., Sunwoo H., Spector D. L. // Genes Dev. – 2009. – **23**, N 13. – P. 1494–504.
77. Ding D. Q., Okamasa K., Yamane M. et al. // Science. – 2012. – **336**. – P. 732–736.
78. Shamovsky I., Nudler E. // Methods Mol. Biol. – 2009. – **540**. – P. 265–279.
79. Mariner P. D., Walters R. D., Espinoza C. A. et al. // Mol. Cell. – 2008. – **29**, N 4. – P. 499–509.
80. Batista P. J., Chang H. Y. // Curr. Opin. Cell Biol. – 2013. – **25**, N 2. – P. 95–99.
81. Nakagawa S., Naganuma T., Shioi G., Hirose T. // J. Cell Biol. – 2011. – **193**. – P. 31–39.

82. Huarte M., Guttman M., Feldser D. et al. // Cell. – 2010. – **142**, N 3. – P. 409–419.
83. Wang X., Arai S., Song X. et al. // Nature. – 2008. – **454**. – P. 126–130.
84. Song X., Wang X., Arai S., Kurokawa R. // Methods Mol. Biol. – 2012. – **809**. – P. 609–622.
85. Peng X., Gralinski L., Armour C. D. et al. // MBio. – 2010. – **5**. – e00206-10.
86. Tycowski K. T., Shu M. D., Borah S. et al. // Cell Rep. – 2012. – **2**. – P. 26–32.
87. Herquel B., Ouararhni K., Martianov I. et al. // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2013. – **20**, N 3. – P. 339–346.
88. Zhang Q., Chen C. Y., Yedavalli V. S. et al. // MBio. – 2013. – **4**, N 1. – e00596-12.
89. Sharma S., Findlay G. M., Bandukwala H. S. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. – **108**, N 28. – P. 11381–11386.
90. Sigova A. A., Mullen A. C., Molinie B. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – **110**, N 8. – P. 2876–2881.
91. Sheik Mohamed J., Gaughwin P. M., Lim B. et al. // RNA. – 2010. – **16**. – P. 324–337.
92. Loewer S., Cabili M. N., Guttman M. et al. // Nat. Genet. – 2010. – **42**. – P. 1113–1117.
93. Ghosal S., Das S., Chakrabarti J. // Stem. Cells Dev. – 2013. – **22**, N 16. – P. 2240–2253.
94. Hawkins P. G., Morris K. V. // Transcription. – 2010. – **1**. – P. 165–175.
95. Zhao S., Yuan Q., Hao H. et al. // J. Pathol. – 2011. – **223**. – P. 672–682.
96. Guttman M., Donaghey J., Carey B. W. et al. // Nature. – 2011. – **477**. – P. 295–300.
97. Ng S. Y., Johnson R., Stanton L. W. // EMBO J. – 2011. – **31**. – P. 522–533.
98. Wu S. C., Kallin E. M., Zhang Y. // Cell Res. – 2010. – **20**, N 10. – P. 1109–1116.
99. Maass P. G., Rump A., Schulz H. et al. // J. Clin. Invest. – 2012. – **122**. – P. 3990–4002.
100. Bright A. T., Winzeler E. A. // BMC Biol. – 2011. – **9**. – P. 50.
101. Tautz D., Domazet-Lošo T. // Nat. Rev. Genet. – 2011. – **12**. – P. 692–702.

Получено 18.06.2013