

НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК

Обзор

© 2007 г. Ю.А. Макарова, Д.А. Крамеров*

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991 Москва, ул. Вавилова, 32; факс: (495)135-1405,
электронная почта: makarova@eimb.ru, kramеров@eimb.ru*

Поступила в редакцию 05.06.07

В последнее десятилетие отмечен прогресс в изучении не кодирующих белки РНК (нкРНК). Благодаря развитию новых экспериментальных подходов обнаружено множество видов таких молекул. Рассмотрены основные группы нкРНК эукариот, успехи в изучении которых достигнуты в последнее время. В частности, обсуждены snoРНК и scaРНК, вовлеченные в модификацию РНК, а также механизмы РНК-сайленсинга с участием miРНК, siРНК, tasiРНК и piРНК. Отдельно рассмотрены транскрипты мобильных генетических элементов типа SINE и родственных им генов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нкРНК, SRA РНК, 7SK РНК, NRSE РНК, snoРНК, scaРНК, miРНК, tasiРНК, piРНК, BC1 РНК, BC200 РНК, 4.5S РНК.

Одним из наиболее динамично развивающихся и увлекательных направлений молекулярной биологии и биохимии является изучение не кодирующих белки РНК (нкРНК). Первые нкРНК были обнаружены полвека назад. Ими оказались рибосомные и транспортные РНК, вовлеченные в процесс трансляции. Позже были обнаружены малые ядерные РНК (U1, U2, U4, U5, U6, U11 и U12), участвующие в сплайсинге. Было открыто еще несколько нкРНК, выполняющих разнообразные функции. Так, 7SL РНК служит каркасом сигнализующей частицы и вовлечена в транспорт белков в ЭПР. РНК, входящая в состав теломеразы, использу-

ется как матрица для синтеза теломерных повторов. РНК обнаружены в составе РНКаз Р и MRP (mitochondrial RNA processing). РНКазы Р осуществляет удаление 5'-концевой лидерной последовательности у пре-тРНК. РНКазы MRP участвует в процессинге пре-рРНК, внося разрыв в первый внутренний транскрибируемый спейсер. Кроме того, в митохондриях она разрушает связь между РНК-затравкой и вновь синтезированной ДНК [1]. Все эти РНК достаточно хорошо изучены и уже описаны в учебниках. Поэтому в данном обзоре они не будут рассматриваться.

В последние несколько лет получены убедительные доказательства того, что у эукариот число генов нкРНК превышает число известных и предсказанных генов, кодирующих белки. Так, с помощью анализа геномных баз данных и клонирования коротких РНК (длиной 20–200 нуклеотидов (н.)), присутствующих в суммарной клеточной РНК или ассоциированных с белками, обнаружены тысячи новых функциональных РНК. Последний подход, оказавшийся очень плодотворным, получил название «РНомика» [2]. Анализ транскрипционной активности генома свидетельствует о том, что транскрибируется значительно большая часть генома, чем предполагалось ранее, причем основная часть новых локусов дает начало длинным полиаденилированным и неполиаденилированным нкРНК.

Представление о масштабах транскрипции генома было получено главным образом благо-

Приняты сокращения: н. – нуклеотиды; п.н. – пары нуклеотидов; а.о. – аминокислотные остатки; нкРНК – некодирующие РНК; дцРНК – двуцепочечная РНК; НТО – нетранслируемая область; SRA (steroid receptor activator) – активатор стероидных рецепторов; NRSE (neuron-restrictive silencer element) – нейронспецифический сайленсер-элемент; РНП – рибонуклеопротеиды; snoРНК (small nucleolar RNAs) – малые ядрышковые РНК; scaРНК (small Cajal-body specific RNAs) – малые РНК из телец Кахаля; snРНК (small nuclear RNAs) – малые ядерные РНК; miРНК (microRNAs) – микро-РНК; siРНК (small interfering RNAs) – малые интерферирующие РНК; tasiРНК transacting siRNAs) – трансдействующие siРНК; piРНК (Piwi-interacting RNAs) – РНК, ассоциированные с белками семейства Piwi; rasiРНК (repeat-associated siRNAs) – малые интерферирующие РНК, ассоциированные с повторами; TGS (transcriptional gene silencing) – транскрипционный сайленсинг генов; SINE (short interspersed elements) – короткие рассеянные по геному элементы.

* Адресат для корреспонденции и запросов отпечатков.

даря развитию нового экспериментального подхода, названного «genomic tiling arrays» (GTA) (to tile — крыть черепицей). При проведении GTA на чипе размещают синтетические олигонуклеотиды или продукты ПЦР, подобранные так, чтобы они равномерно покрывали выбранную последовательность ДНК, например всю хромосому. Они могут располагаться на некотором расстоянии один от другого или перекрываться, как черепица на крыше: начало следующего соответствует концу предыдущего (повторяющиеся последовательности исключают). Чаще всего чипы гибридизуют с кДНК, полученной из полиаденилированной РНК. Этот метод отличается высокой производительностью, независимостью от текущих аннотаций генома и высокой чувствительностью, что позволяет детектировать редкие транскрипты [3].

При исследовании с помощью GTA десяти хромосом человека обнаружено, что 10% геномных последовательностей дает начало цитоплазматическим полиаденилированным транскриптам [4]. Надо отметить, что последовательности, входящие в состав мРНК, составляют не более 2% генома [5]. При изучении тем же методом хромосом 20–22 [6–8] и полного генома человека ($1,5 \cdot 10^9$ н., повторяющиеся последовательности исключены) [9], а также геномов дрозофилы [10, 11] и арабидопсиса [12] получены сходные результаты. Часть обнаруженных транскрибируемых последовательностей соответствует неизвестным ранее экзонам или целым генам, кодирующим белки. Однако 30–50% таких последовательностей входит в состав нкРНК.

Аналогичные данные о масштабах транскрипции генома и числе нкРНК получены с помощью других методов [13–18]. В частности, в соответствии с данными проекта FANTOM3 создания полного каталога транскриптов мыши, число локусов, кодирующих нкРНК, $\geq 22\ 000$ [19, 20].

Таким образом, множество транскрибируемых последовательностей в течение ряда лет оставалось незамеченным. По аналогии с терминологией, принятой в физике, эти транскрипты названы «темная материя» [3]. Входящие в ее состав нкРНК могут быть разделены на длинные (от ~400 до десятков тысяч нуклеотидов) и короткие (20–400 н.).

ДЛИННЫЕ нкРНК

Обнаруженные в геномах человека и модельных организмов десятки тысяч длинных полиаденилированных и неполиаденилированных

нкРНК пока еще мало изучены. Поскольку уровень их транскрипции обычно низкий, можно предполагать, что значительная часть этих РНК выполняет регуляторные функции. Известно альтернативное и широко обсуждаемое [21] предположение о том, что они являются результатом неспецифической транскрипции и не несут функциональной нагрузки. Доводом в пользу существования такого «транскрипционного шума» может служить низкая консервативность существенной части нкРНК [19]. В пользу функциональной значимости этих транскриптов свидетельствует ряд данных. Так, промоторы нкРНК даже более консервативны, чем промоторы генов белков [19]. Кроме того, отсутствие консервативности не всегда указывает на нефункциональность последовательности [22, 23]. Многие нкРНК с известной функцией, например Xist и Air, имеют низкую консервативность.

Большое число нкРНК обладает тканеспецифичной экспрессией и транскрибируется на определенных стадиях развития [4, 8, 12, 24]. Экспрессия значительной части нкРНК меняется после обработки клеток ретиноевой кислотой [25] и липополисахаридами [24]. Некоторые онкологические и наследственные заболевания сопровождаются нарушениями экспрессии нкРНК, хотя в большинстве случаев неясно, являются эти нарушения причиной или следствием болезни [26].

Описаны примеры сквозной транскрипции целых геномных доменов, которые содержат несколько генов, кодирующих белки [26]. Например, домен, включающий в себя три гена α -глобина кур, транскрибируется с образованием РНК длиной 33 000 н. [27]. Эта гигантская РНК деградирует в ядре. Сквозная транскрипция геномного домена, видимо, важна для поддержания интенсивной транскрипции мРНК самих α -глобиновых генов.

Многие нкРНК закодированы в тех же локусах, что и белки, но на другой цепи ДНК. Кроме того, обе цепи в одном локусе могут кодировать разные нкРНК. В таких локусах обе цепи ДНК транскрибируются и образовавшиеся РНК потенциально способны формировать между собой дуплексы. В геноме мыши >70% транскрипционных единиц перекрывается с транскриптами противоположной цепи, причем в половине случаев хотя бы одним из членов пары является нкРНК [20]. Несмотря на то что размер геномов позволяет разместить все гены в отдельных локусах, этот способ организации очень распространен и поэтому, вероятно, имеет биологический смысл [28]. Привлекательным выглядит предположение о том, что антисмысловой транскрипт, например нкРНК, регулирует экспрес-

сию своего партнера. Так как при взаимодействии этих транскриптов образуется дцРНК, то такая регуляция могла бы осуществляться с помощью механизмов РНК-интерференции и редактирования РНК аденозиндезаминазами [29]. Можно также предполагать, что процесс транскрипции одного члена пары будет препятствовать транскрипции другого. Однако экспериментальные свидетельства в пользу регуляторной роли антисмысловых транскриптов весьма немногочисленны и часто не поддаются однозначной интерпретации [28]. Например, при ингибировании экспрессии одного члена пары с помощью siРНК экспрессия другого в ряде случаев возрастала, в ряде случаев снижалась или оставалась на прежнем уровне [20]. Свидетельства в пользу функциональной значимости некодирующих антисмысловых РНК и их возможной регуляторной роли получены в работе [25]. С помощью GTA и иммунопреципитации хроматина авторы картировали сайты связывания транскрипционных факторов p53, Sp1 и cMyc на хромосомах 21 и 22 человека. Оказалось, что 36% сайтов находилось в 3'-областях генов белков, причем расположение этих сайтов статистически достоверно коррелировало с распределением нкРНК. При обработке клеток ретиноевой кислотой для многих пар антисмысловая РНК/ген белка наблюдалась корегуляция. Поскольку промоторные области кодирующих и не кодирующих белок генов содержат сайты связывания одних и тех же транскрипционных факторов и экспрессия многих из этих пар координированно изменяется при внешних воздействиях, можно полагать, что антисмысловые РНК не являются продуктом неспецифической транскрипции и выполняют биологические функции.

Спектр выполняемых нкРНК функций чрезвычайно широк. Так, нкРНК Xist и ее антисмысловой партнер Tsix участвуют в процессах дозовой компенсации у млекопитающих, обеспечивая прекращение экспрессии генов одной из X-хромосом самок [30, 31]. нкРНК roX1 и roX2 вовлечены в дозовую компенсацию у дрозофилы и участвуют в увеличении уровня экспрессии генов единственной X-хромосомы самцов [32]. нкРНК TUG1 необходима для формирования фоторецепторов сетчатки [33]. Несколько нкРНК необходимо для экспрессии snoРНК, закодированных в их интронах [34–38], хотя, возможно, их функции этим не ограничиваются [39]. Некоторые нкРНК вовлечены в регуляцию экспрессии генов, подверженных импринтингу. Например, РНК Air экспрессируется с отцовского аллеля и необходима для репрессии транскрипции локуса Igf2r [40]. Многие длинные нкРНК служат предшест-

венниками коротких нкРНК [41, 42], например некоторые miРНК образуются из экзонов генов, кодирующих нкРНК. В настоящее время установлена функциональная значимость нескольких сотен длинных нкРНК [26]. Информация о них представлена в базе данных RNAdb [43].

Первая попытка систематического изучения функций длинных нкРНК была предпринята авторами работы [44]. Они отобрали 512 консервативных нкРНК и ингибировали их экспрессию с помощью siРНК. В результате было обнаружено шесть нкРНК, необходимых для выживания клеток. Еще одна нкРНК, названная NRON, оказалась репрессором транскрипционного фактора NFAT.

Можно полагать, что появление систематических подходов к изучению функций нкРНК позволит определить, является ли основная масса нкРНК продуктом «транскрипционного шума» или несет функциональную нагрузку. Рассмотрим подробнее SRA РНК – одну из немногих хорошо охарактеризованных длинных (~1000 н.) нкРНК с изученной функцией. Обнаруженная в 1999 г. SRA РНК служит коактиватором рецепторов стероидных гормонов [45]. Рецепторы стероидных гормонов принадлежат к семейству ядерных рецепторов, объединяющему ~50 членов. Все они представляют собой факторы транскрипции, содержащие обычно по два активаторных домена: расположенный на N-конце активаторный домен 1 (AF-1) и расположенный на C-конце активаторный домен 2 (AF-2). AF-1 может быть активирован с помощью фосфорилирования MAP-киназой, тогда как AF-2 активируется лигандами. Для максимального усиления транскрипции необходима активация обоих доменов. Активированный рецептор становится способным к взаимодействию с основными транскрипционными факторами, а также с другими белками, называемыми коактиваторами транскрипции. Коактиваторы могут обладать гистонацетилазной активностью, осуществлять реконструкцию хроматина и рекрутировать РНК-полимеразу II [46, 47]. Почти все известные сегодня коактиваторы являются белками. К немногим исключениям относится SRA РНК. Эта РНК экспрессируется в большинстве тканей и широко представлена в надпочечниках, гипофизе и печени, а незначительно – в молочной железе, матке и яичниках [48]. Интересно, что в злокачественных опухолях молочной железы, матки и яичников, т.е. в опухолях, которые часто зависят от стероидных гормонов, уровень ее экспрессии повышен [48, 49]. SRA РНК полиаденилирована и представлена набором форм (продукты альтернативного сплайсинга) с общей центральной частью и раз-

личной длины 5'- и 3'-концами, причем все они усиливают транскрипцию [45]. Размер разных форм этой РНК варьирует от 900 до 2000 н. SRA РНК имеет развитую вторичную структуру, целостность которой необходима для ее функционирования [50]. *In vivo* SRA РНК обнаружена в рибонуклеопротеидных комплексах массой 600–700 кДа, содержащих также коактиватор стероидных рецепторов NCoA-1/SRC-1 [45].

SRA РНК селективно усиливает транскрипцию генов-мишеней стероидных гормонов [45]. Обнаружено также, что она способна взаимодействовать с рецепторами тиреоидных гормонов, причем такое взаимодействие усиливает экспрессию репортерных генов [51].

Механизм, с помощью которого SRA РНК активирует транскрипцию, не вполне ясен. В случае рецепторов тиреоидных гормонов показано, что SRA РНК непосредственно взаимодействует с РНК-связывающим доменом рецептора, который расположен рядом с лигандсвязывающим доменом, содержащим AF-2-мотив [51]. В случае рецепторов стероидных гормонов для активации транскрипции с помощью SRA РНК необходим AF-1-домен, причем непосредственного взаимодействия SRA РНК с рецептором не происходит [45]. Если домен AF-1 рецептора активируется MAP-киназой, SRA РНК усиливает транскрипцию в отсутствие гормона [52]. В случае связывания гормона в рецепторе происходят конформационные изменения, так что AF-2 рекрутирует TFIIH и ассоциированную с ним циклинзависимую киназу CDK7. С помощью CDK7 фосфорилируется AF-1, что приводит к его активации [53]. С каждым из активаторных доменов связываются коактиваторы, которые также взаимодействуют между собой. В результате образуется единый комплекс и достигается максимальное усиление транскрипции. SRA РНК участвует в сборке этого комплекса, прямо взаимодействуя с несколькими коактиваторами и выполняя, видимо, структурную функцию. Кроме того, SRA РНК необходима для активности входящего в состав комплекса коактиватора p72/p68 [54]. О важной роли SRA РНК свидетельствует и тот факт, что коактиваторами рецепторов стероидных гормонов и ретиноевой кислоты оказались псевдоуридинсинтазы mPus1p и mPus3p [55, 56]. Их функция заключается в псевдоуридилровании SRA РНК по нескольким позициям, что, вероятно, вызывает конформационные изменения РНК и позволяет ей взаимодействовать с другими коактиваторами [55]. Поскольку многие коактиваторы транскрипции содержат РНК-связывающие мотивы, можно ожидать, что будут обнаружены другие, подобные SRA, РНК-коактиваторы [57].

SRA РНК взаимодействует по меньшей мере с двумя корепрессорами транскрипции, SHARP и SLIRP. Связывание SHARP препятствует вхождению SRA РНК в ассоциированный с рецептором комплекс коактиваторов [58], тогда как SLIRP конкурирует с коактиватором NCoA-1 за связывание со SRA РНК [59].

Интересно, что при использовании альтернативных стартов транскрипции образуются изоформы SRA РНК, способные кодировать белок. Он был обнаружен в опухолях молочной железы человека [60] и назван SRAP. Показано, что его повышенная экспрессия в клетках опухоли молочной железы человека MCF-7 приводит к снижению транскрипционной активности рецепторов эстрогена [61], однако вопрос о функции SRAP пока остается открытым. Таким образом, ген SRA РНК служит редким примером гена, кодирующего одновременно белковый и РНК-продукты.

КОРОТКИЕ нкРНК

7SK РНК. Эта РНК была описана еще в 1970-х гг. [62], однако ее функция установлена совсем недавно. Длина 7SK РНК человека составляет 331 н. Она локализована в ядре, транскрибируется РНК-полимеразой III и консервативна у позвоночных.

7SK РНК принимает участие в ингибировании активности фактора элонгации транскрипции Р-TEFb. Р-TEFb состоит из циклинзависимой киназы 9 (CDK9) и циклина T1 (CycT1) и необходим для экспрессии генов большинства белков: без него РНК-полимераза II синтезирует только короткие 5'-концевые последовательности пре-мРНК.

Транскрипционную и киназную активность Р-TEFb ингибирует комплекс, который состоит из 7SK РНК и связанного с ее 5'-концевой шпилькой белка HEXIM1. С 3'-концевой шпилькой 7SK РНК связывается CycT1, а другой компонент Р-TEFb, CDK9, взаимодействует с HEXIM1, что приводит к ингибированию активности Р-TEFb. Таким образом, 7SK РНК обеспечивает ассоциацию Р-TEFb и HEXIM1. Интересно, что только активная форма Р-TEFb (с фосфорилированной по T186 CDK9) может взаимодействовать с комплексом 7SK РНК–HEXIM1. Поэтому данным комплексом изымается из оборота активный Р-TEFb, который может обеспечивать элонгацию транскрипции. Таким образом достигается быстрая регуляция интенсивности транскрипции [63].

NRSE РНК. Эта двуцепочечная РНК длиной ~20 н. локализована в ядре [64]. Ее нуклеотид-

ная последовательность идентична последовательности, которая расположена в промоторных областях многих специфических для нейронов генов и названа RE1/NRSE (repressor element 1/neuron-restrictive silencer element) [65, 66]. С RE1, длина которой 19–24 н., связывается фактор транскрипции REST/NRSF (RE1 silencing transcription factor/neuron-restrictive silencer factor) [67, 68]. Этим фактором рекрутируется набор корепрессоров, в частности гистондеацетилазы, благодаря чему транскрипции генов, промоторы которых содержат RE1, не происходит [69]. Ранее было показано, что в зрелых нейронах REST не экспрессируется, а во всех остальных типах клеток подавляет экспрессию специфических для нейронов генов [65, 70–72]. Однако позднее экспрессия REST была обнаружена в некоторых типах зрелых нейронов [72–74].

Механизмы, позволяющие экспрессироваться RE1-содержащим генам в присутствии REST, пока не вполне ясны. По одним данным в зрелых нейронах RE1-содержащие промоторы не связаны с REST [71], по другим такая связь существует [64, 72]. Различия могут быть вызваны тем, что REST имеет разное родство к разным RE1-содержащим промоторам [66].

Авторы, показавшие, что в зрелых нейронах REST остается связанным с промоторами генов-мишеней, обнаружили, что дерепрессию и даже активацию этих генов вызывает РНК NRSE [64]. Она не найдена в нейронах, однако обнаружена в дифференцирующихся по нейрональному пути культивируемых стволовых клетках гиппокампа, а также в том отделе гиппокампа, где происходит нейрогенез.

Экспрессия NRSE РНК в нейрональных стволовых клетках вызывает их дифференцировку по нейрональному пути и сопровождается активацией транскрипции генов, содержащих RE1. Таким образом, NRSE РНК является коактиватором транскрипции [75]. Хотя механизм ее действия пока не выяснен, показано, что она способна ассоциировать с REST, который связан с последовательностью RE1 в составе промотора. Возможно, REST связывает NRSE РНК потому, что ее последовательность идентична последовательности RE1. Предполагают, что ассоциация с NRSE РНК препятствует связыванию с REST корепрессоров транскрипции и приводит к тому, что REST, возможно в результате индуцированных NRSE РНК конформационных изменений, начинает активировать транскрипцию, причем даже в отсутствие NRSE РНК [64]. Можно полагать, что дальнейшие исследования позволят уточнить роль NRSE РНК и фактора транскрипции REST в регуляции транскрипции RE1-содержащих генов.

snoРНК. Малые РНК ядрышек (snoРНК, или snoRNAs) представляют собой большую группу нкРНК: только у млекопитающих их >200. Функции snoРНК определены в 1990-х гг., хотя обнаружили их ~40 лет назад. snoРНК участвуют в разрезании пре-рРНК и обуславливают две самые распространенные модификации РНК: 2'-О-метилирование и псевдоуридилрование. У позвоночных только в рРНК содержится ~100 модификаций каждого вида [76]. Аналогичные РНК обнаружены у археобактерий и названы sРНК (sno-like) [77].

На основании консервативных элементов нуклеотидной последовательности выделяют два семейства snoРНК: C/D и H/ACA (box C/D и box H/ACA snoRNAs). К snoРНК принадлежит также РНК, входящая в состав РНКазы MRP. Эта РНКаза вносит разрыв в сайт A3 первого внутреннего транскрибируемого спейсера пре-рРНК, благодаря чему высвобождается 5,8S рРНК [1]. snoРНК C/D-семейства определяют нуклеотид РНК, который будет подвергнут 2'-О-метилированию. Они имеют длину ~70 н. и содержат так называемые боксы С (UGAUGA), D (CUGA), а также, как правило, их копии С' и D', которые могут быть вырожденными [78]. Консервативные элементы расположены в порядке 5'-С-D'-С'-D'-3', причем боксы С и D сближены за счет комплементарных взаимодействий концевых нуклеотидов snoРНК (схема 1, а). Боксы С, D и концевая шпилька образуют структуру, названную C/D-мотивом [79]. Этот мотив служит местом связывания четырех коровых белков C/D-РНП: NOP56, NOP58, 15,5-кДа белка и фибрилларина [80, 81]. Ассоциация с коровыми белками необходима для ядрышковой локализации snoРНК и предохраняет их концы от деградации [82]. В направлении 5'-конца от бокса D и(или) D' расположены так называемые антисмысловые, или антисенс-элементы – последовательности длиной 10–21 н., комплементарные фрагменту одной из клеточных РНК и способные взаимодействовать с ним. В результате такого взаимодействия нуклеотид РНК, входящий в образующуюся двойную спираль и отделенный четырьмя нуклеотидами от последовательности D и(или) D', подвергается 2'-О-метилированию [83]. Реакцию метилирования осуществляет один из коровых белков C/D-snoРНП – фибрилларин. Большинство C/D-snoРНК содержит один антисенс-элемент и определяет 2'-О-метилирование одного нуклеотида, но некоторые содержат два элемента и обуславливают модификацию двух нуклеотидов.

Почти все snoРНК семейства H/ACA определяют нуклеотид РНК, который будет подвергнут псевдоуридилрованию. Эти РНК имеют

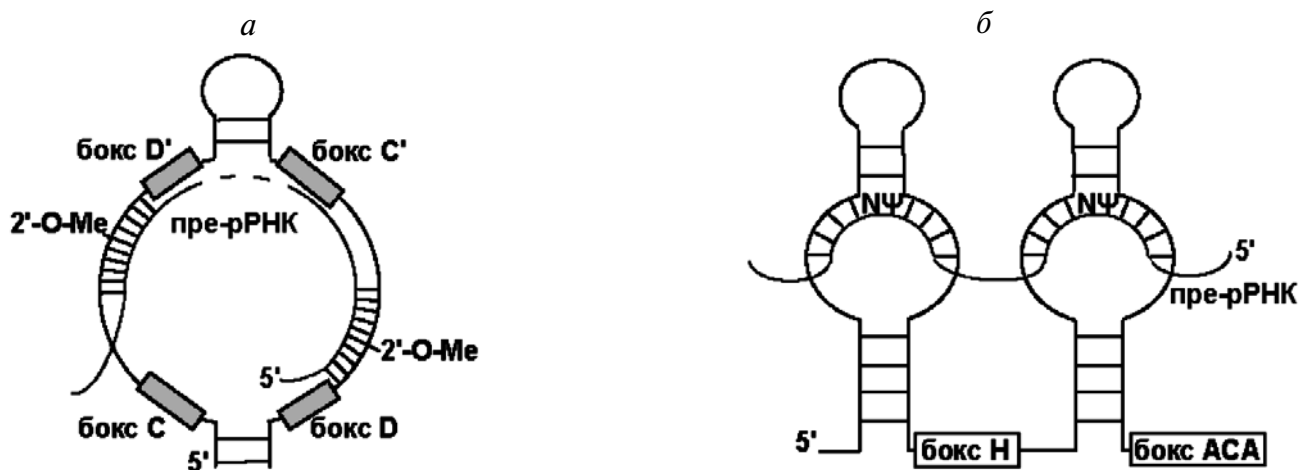


Схема 1. Ядрышковые РНК семейств C/D (a) и H/ACA (б). 2'-O-Me – 2'-О-Метилированный нуклеотид, Ψ – псевдоуридинилированный нуклеотид

длину 100–150 н. и присутствуют в клетке в составе РНП-частиц, содержащих четыре коровых белка: GAR1, дискерин, NHP2 и NOP10 [84, 85]. H/ACA РНК формируют консервативную вторичную структуру, включающую в себя две шпильки, в основании которых расположены так называемые боксы H (ANANNA) и ACA (ACA) (схема 1, б). В состав одной или (реже) обеих шпилек входит антисенс-элемент, состоящий из двух участков длиной 3–10 н., комплементарных фрагменту одной из клеточных РНК [86]. Благодаря взаимодействию антисенс-элемента и РНК-мишени нуклеотид, который будет модифицирован, экспонируется в образующемся одноцепочечном «окне», где узнается псевдоуридинсинтазой дискерином, которая осуществляет модификацию (схема 1, б). Большинство H/ACA-snoРНК содержат один антисенс-элемент и обуславливают модификацию одного нуклеотида, но некоторые содержат два таких элемента и участвуют в модификации двух нуклеотидов.

Несколько РНК семейств C/D (U3, U8, U14, U22) и H/ACA (U17/E1/snR30, E2, E3, snR10) участвуют в разрезании пре-рРНК, действуя, вероятно, как РНК-шапероны [87–89]. Почти все остальные известные snoРНК направляют 2'-О-метилирование и псевдоуридинилирование рРНК и малых ядерных РНК [90], что приводит к стабилизации их вторичной структуры [91]. Мишени некоторых snoРНК пока неизвестны [92–94]. Вероятно, ими окажутся мРНК. Так, недавно обнаружено, что snoРНК MBII-52 регулируется альтернативный сплайсинг мРНК гена серотонинового рецептора 5-HT2C [95]. Делеция гена этой snoРНК вносит вклад в патогенез синдро-

ма Прадера–Вилли – тяжелого наследственного заболевания. Строение и функции snoРНК подробно описаны в обзоре [96].

Интересно, что гены snoРНК могут быть организованы в геноме по-разному. У позвоночных почти все гены snoРНК локализованы в интронах других генов, которые поэтому называются генами-хозяевами, причем один интрон содержит только один ген snoРНК [97]. snoРНК процессируются во время сплайсинга пре-мРНК гена-хозяина [98] или (реже) вырезаются из интронов эндонуклеазами [99]. В этом случае образование мРНК и ядрышковой РНК – альтернативные процессы. Почти все гены-хозяева кодируют белки, однако некоторые продуцируют некодирующие РНК [34, 39].

Большинство генов snoРНК *Drosophila melanogaster* [100] и однодольных растений [101] собрано в кластеры, локализованные в интронах генов-хозяев. У двудольных растений кластеры генов snoРНК транскрибируются с собственных промоторов, а образующаяся полицистронная РНК процессируется эндонуклеазами [101]. Наконец, во всех таксонах эукариот присутствует немного генов snoРНК, представляющих собой самостоятельные транскрипционные единицы. Более подробно организация генов snoРНК рассмотрена в обзоре [102].

scaРНК. Некоторые РНК, относящиеся к семействам C/D и H/ACA, локализованы не в ядрышке, а в тельцах Кахаля (Cajal bodies) и названы поэтому малыми РНК из тельц Кахаля (scaРНК, или scaRNAs) [103]. Тельца Кахаля (ТК), или спиральные тельца (coiled bodies), локализованы в ядре и представляют собой овальные или круглые образования диаметром 0,3–0,5 мкм

[104]. Вероятно, одна из основных функций ТК — созревание и сборка snРНК и snoРНК.

Мишенями scaРНК служат малые ядерные РНК (snRNAs), участвующие в сплайсинге. Помимо C/D и H/ACA scaРНК в составе ТК обнаружены scaРНК длиной 250–300 н., содержащие консервативные последовательности как C/D, так и H/ACA РНК. Такие химерные scaРНК ассоциированы с коровыми белками C/D и H/ACA РНК и участвуют как в 2'-О-метиляции, так и в псевдоуридилации [103, 105].

В составе scaРНК семейства C/D не найдено элементов, обеспечивающих их локализацию в ТК. Поэтому остается неясным, каким образом они удерживаются там. В составе каждой из двух шпилек, формирующих вторичную структуру H/ACA scaРНК и химерных scaРНК, присутствует последовательность UGAG, названная САВ-боксом [106]. САВ-Бокс обеспечивает локализацию этих РНК в тельцах Кахала.

МАЛЫЕ РНК, ВОВЛЕЧЕННЫЕ В САЙЛЕНСИНГ ГЕНОВ

В 1998 г. было обнаружено, что двуцепочечные РНК (дцРНК) способны подавлять экспрессию генов. Позже выяснилось, что действующее начало в этом процессе — короткие одноцепочечные РНК. Механизм подавления экспрессии генов с помощью этих РНК назван РНК-интерференцией, а также РНК-сайленсингом. Такой механизм обнаружен у представителей всех крупных таксонов эукариот: позвоночных и беспозвоночных животных, грибов, растений и простейших. Подавление экспрессии может происходить как на уровне транскрипции, так и посттранскрипционно. Оказалось, что во всех случаях необходимы сходный набор белков и короткие (21–32 н.) РНК. Они включают в себя микро-РНК (miРНК, или miRNAs), малые интерферирующие РНК (siРНК, или siRNAs), *транс*-действующие siРНК (tasiРНК, или tasiRNAs) и обнаруженные недавно РНК, ассоциированные с белками семейства Piwi (piРНК).

miРНК. miРНК длиной ~22 н. обнаружены у растений, животных и даже некоторых вирусов.

Гены miРНК. Гены некоторых miРНК представляют собой самостоятельные транскрипционные единицы, гены многих других собраны в кластеры. В обоих случаях miРНК транскрибируются в составе длинных кэпированных и полиаденилированных предшественников. Около половины известных miРНК млекопитающих кодируется интронами генов белков и интронами и экзонами генов ncРНК. Несколько генов

miРНК расположено в 3'-нетранслируемых областях (НТО) генов, кодирующих белки. В этом случае образование мРНК и miРНК — альтернативные процессы [107]. Все транскрипты, содержащие последовательности miРНК, относят к первичным miРНК (pri-miРНК, или pri-miRNAs) [42].

Обнаружено, что некоторые копии псевдогенов [108] и мобильных элементов млекопитающих [109] кодируют miРНК. Поскольку копии мобильных элементов содержатся в 3'-НТО многих генов, то произошедшие из повторов (чаще всего это LINE2) miРНК способны регулировать клеточный уровень большого числа неродственных мРНК. Такой способ возникновения может приводить к образованию таксон-специфических miРНК. Например, miРНК miR333 обнаружена только у грызунов, что соответствует ожиданиям, так как она кодируется копией специфического для грызунов короткого ретропозона B2 [109]. Это служит интересным примером возникновения новых генов и иллюстрацией того, как клетка приспособливается «эгоистичную ДНК» для выполнения полезных функций.

Геномы вирусов тоже кодируют miРНК. С момента обнаружения первой такой РНК (2004 г.) их число неуклонно растет. miРНК вирусов могут участвовать в подавлении экспрессии как собственных вирусных генов, так и, вероятно, генов клетки-хозяина [110–112].

Созревание miРНК. В составе pri-miРНК имеется участок длиной ~70 н., включающий в себя последовательность miРНК и способный формировать шпильку. Шпилька вырезается ядерной эндонуклеазой Drosha в комплексе с РНК-связывающим белком Pasha/DGCR8 (названия ортологов соответственно дрозофилы и млекопитающих). С участием белка Exportin5 шпилька, называемая теперь pre-miРНК, переносится в цитоплазму и подвергается действию эндонуклеазы Dicer, ассоциированной с РНК-связывающим белком Loqs/TRBP (названия ортологов соответственно дрозофилы и человека). И Drosha, и Dicer относятся к семейству РНКаз III, члены которого обладают эндонуклеазной активностью по отношению к дцРНК [113]. В результате действия этих двух РНКаз формируется дцРНК длиной ~22 н., содержащая по два неспаренных нуклеотида на 3'-концах. Эта дцРНК входит в состав белкового комплекса, названного RISC (RNA-induced silencing complex). Он включает в себя несколько белков с неидентифицированной функцией и белок семейства Ago, который является основным компонентом RISC [114]. Белки семейства Ago принадлежат к обширной группе белков Argonaute, члены ко-

торой участвуют в процессах РНК-сайленсинга. Они обнаружены у всех исследованных эукариот (за исключением дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*) и даже архей, где их функция пока остается загадкой [115]. Белок семейства Ago ассоциирует с дцРНК и осуществляет разрушение дуплекса, так что miРНК остается в составе RISC, а комплементарная цепь деградирует. Более подробно процессинг miРНК рассмотрен в обзорах [42, 114, 116–118].

Механизмы регуляции экспрессии мРНК с помощью miРНК. miРНК в составе RISC способна комплементарно взаимодействовать с мРНК. Результатом такого взаимодействия является либо деградация мРНК-мишени, либо репрессия ее трансляции.

Деградация мРНК происходит, когда miРНК полностью комплементарна РНК-мишени или содержит 2–3 неспаренных нуклеотида. Помимо этого в составе RISC должен присутствовать белок Ago, обладающий нуклеазной активностью [119]. Такую активность проявляет значительная часть белков этого семейства, хотя у человека ею обладает, вероятно, только один из четырех имеющихся у *Homo sapiens* белков Ago — Ago2 [114]. Обладающий эндонуклеазной активностью Ago в составе RISC разрезает связь между нуклеотидами мРНК, расположенными напротив 10-го и 11-го нуклеотидов miРНК. Образующиеся продукты разрушаются системами деградации мРНК [114, 119].

Несколько miРНК животных и вирусов, а также все изученные miРНК растений полностью или почти полностью комплементарны мРНК-мишеням и поэтому вызывают их деградацию [42, 116]. У животных сайты связывания miРНК расположены обычно в 3'-НТО, а у растений — в кодирующей области [120], что, возможно, позволяет максимально эффективно прекратить синтез белка [42].

Большинство miРНК животных не полностью комплементарны мРНК-мишеням и поэтому вызывают не деградацию, а репрессию трансляции. Комплементарность мРНК-мишени сохраняется обычно только в 5'-части miРНК (нуклеотиды 2–7/8, так называемый seed region), а в оставшейся части могут присутствовать неспаренные нуклеотиды [42, 114]. Благодаря малому размеру seed region одна miРНК может иметь много мРНК-мишеней. Этим, возможно, объясняется высокая консервативность большинства известных miРНК: необходимость взаимодействовать со многими мишенями обуславливает жесткие ограничения на изменчивость miРНК [26]. В то же время существующие алгоритмы обнаружения miРНК в геномных базах данных обычно основаны на поиске консерва-

тивных последовательностей. Поэтому неконсервативные miРНК, если они существуют, не могут быть обнаружены с помощью биоинформационных методов. Действительно, при снятии ограничения на консервативность обнаружено значительное число miРНК, специфических для приматов [23].

Механизмы репрессии трансляции мРНК-мишеней пока не вполне ясны. Имеющиеся данные позволяют предполагать, что репрессия может происходить на разных этапах трансляции: как во время инициации, так и на более поздних стадиях [119, 121]. В ряде случаев трансляция может быть возобновлена, однако часто репрессия сопровождается существенной деградацией мРНК-мишени. Деградация не опосредована механизмом РНК-интерференции, так как комплементарность между miРНК и мРНК неполная. Поскольку стабильность мРНК может быть связана с ее трансляционным статусом, по-видимому, деградация мРНК-мишеней — это следствие репрессии их трансляции. мРНК, трансляция которых прекращена благодаря взаимодействию с miРНК, накапливаются в так называемых Р-тельцах. Р-Тельца (P-bodies, processing bodies) [122, 123] — это места накопления и деградации мРНК, трансляция которых репрессирована тем или иным способом. В Р-тельцах присутствуют белки, вовлеченные в эти процессы, в том числе белки семейства Ago, а также miРНК. В ряде случаев, например при определенных видах стресса, некоторые мРНК могут покинуть Р-тельца и снова участвовать в трансляции.

Вероятно, miРНК направляют деаденилирование мРНК. Обнаружено, что у дрозофилы ассоциированный с miРНК белок dAgo1 из семейства Ago взаимодействует с компонентом Р-тельца — РНК-связывающим белком GW182 [122], который, в свою очередь, рекрутирует деаденилазу. Затем, видимо, происходит удаление кэпа декэпирующим ферментом, состоящим из двух субъединиц: Dcp1 и Dcp2. После этого следует 5'-3'-деградация мРНК экзонуклеазой Xrn1 [121]. Остается, однако, неясным, почему некоторые мишени miРНК деградируют, а у других происходит только репрессия трансляции.

Функции miРНК. Только у человека число экспериментально обнаруженных miРНК превышает 300 [124], а с учетом предсказаний биоинформационными методами составляет 800–1000 [23, 125]. По разным оценкам от 10 [126] до 30% [127] всех генов белков регулируется miРНК. Изученные miРНК, как правило, регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне, хотя могут вызывать и подавление транскрипции гена-мишени [128].

Регуляция экспрессии генов с помощью miРНК отличается у растений и животных: miРНК животных осуществляют, вероятно, тонкую регуляцию работы сотен генов и только у немногих сильно снижают уровень экспрессии [129]. У этих относительно редких генов 3'-НТО содержат несколько сайтов связывания одной или нескольких miРНК, благодаря чему достигается более выраженная репрессия трансляции. 3'-НТО генов, подверженных «тонкой настройке», содержат обычно один сайт связывания miРНК [130]. Интересно, что гены «домашнего хозяйства» имеют короткие 3'-НТО с низкой плотностью сайтов связывания miРНК. Возможно, благодаря этому их транскрипты в значительной степени избегают репрессии трансляции с помощью miРНК [110, 130]. У растений мРНК-мишени содержат обычно один сайт связывания miРНК [120], а результатом взаимодействия с miРНК является деградация мРНК-мишени.

Мишени miРНК растений в отличие от таковых у животных можно предсказать с большой степенью достоверности, поскольку miРНК обычно полностью комплементарны мРНК-мишеням. Оказалось, что примерно половина всех предсказанных мишеней miРНК арабидопсиса — это факторы транскрипции, хотя они составляют только ~6% генов белков [42]. Как правило, одна miРНК регулирует экспрессию нескольких транскрипционных факторов, принадлежащих к одному семейству [120, 131]. miРНК и контролируемые ими факторы транскрипции регулируют основные этапы развития растения, например переход к цветению, образование вегетативных и генеративных органов [116]. Интересно, что мишенями miРНК оказались мРНК DCL1 (гомолога Dicer растений) и белка семейства Ago (Ago1). Это свидетельствует о существовании механизма обратной связи, с помощью которого miРНК определяют уровень своей собственной продукции [42].

miРНК животных имеют гораздо больше различных РНК-мишеней и необходимы для нормального протекания эмбриогенеза и дифференцировки тканей. Они также участвуют в процессе программируемой смерти клеток. Большинство miРНК обладают тканеспецифической экспрессией, причем многие экспрессируются только в нервной системе и необходимы для ее нормального функционирования [42, 110].

Можно полагать, что точечные мутации miРНК и их мишеней способны ослаблять или усиливать экспрессию мРНК-мишеней, а также приводить к появлению новых мишеней. Вероятно, эти эффекты будут иметь разную степень выраженности, от появления разных фенотипов

до развития тяжелых болезней. Первые факты, подтверждающие эти предположения, представлены в обзоре [110]. Так как miРНК участвуют во множестве жизненно важных процессов, нарушения их экспрессии могут приводить к возникновению онкологических заболеваний. В злокачественных опухолях различного происхождения экспрессия большинства miРНК, как правило, снижена [132]. Это соответствует существующему представлению о связи экспрессии miРНК с процессами дифференцировки: в раковых клетках, утративших тканеспецифический профиль транскрипции, экспрессия miРНК снижена. miРНК могут быть как онкосупрессорами, так и онкогенами. В первом случае они снижают экспрессию онкогенов, во втором — онкосупрессоров. Более подробно связь нарушений экспрессии miРНК со злокачественными заболеваниями обсуждается в обзорах [133, 134].

Оказалось, что по уровню транскрипции miРНК можно диагностировать злокачественные новообразования, причем по сравнению с существующими мРНК-маркерами точность диагностики значительно выше [132]. Более того, в ряде случаев профиль экспрессии miРНК позволяет предсказать исход болезни [133]. Участие miРНК в развитии онкологических заболеваний позволяет разрабатывать новые способы лечения. Несколькими исследовательскими группами созданы олигонуклеотиды, комплементарные miРНК и снижающие их активность *in vivo* [135–138]. Экспрессия мРНК-мишеней при этом увеличивается. Эти олигонуклеотиды могут послужить основой лекарств нового поколения.

siРНК. Их длина 21–25 н., они образуются из длинных дцРНК. Источником таких РНК могут быть вирусные инфекции, введенные в геном генетические конструкции, длинные шпильки в составе транскриптов и двунаправленная транскрипция мобильных элементов [114].

дцРНК нарезаются РНКазой Dicer на фрагменты длиной 21–25 н. с выступающими на два нуклеотида 3'-концами, после чего одна из цепей входит в состав RISC и направляет разрезание гомологичных молекул РНК. В составе RISC присутствуют siРНК, соответствующие как плюс-, так и минус-цепям дцРНК [42, 139]. siРНК отличается от miРНК источником возникновения. miРНК кодируются собственными генами и вырезаются из шпильки, образованной предшественником. siРНК собственных генов не имеют и представляют собой фрагменты более длинных РНК. siРНК направляют разрезание РНК-мишени, поскольку полностью ей комплементарны. У растений, грибов и немато-

ды *Caenorhabditis elegans* в процесс подавления экспрессии генов с помощью siРНК вовлечены РНК-зависимые РНК-полимеразы [140]. Для *C. elegans* показано, что siРНК не только направляют разрезание гомологичной РНК, но и служат праймерами для РНК-зависимой РНК-полимеразы, которая достраивает вторую цепь, используя РНК-мишень как матрицу [141]. Образовавшаяся дцРНК нарезается Dicer, и образуются новые siРНК, которые называют вторичными. Таким образом происходит амплификация сигнала.

siРНК регулируют экспрессию генов двумя способами. Во-первых, как кратко описано выше, они направляют разрезание РНК-мишеней. Это явление получило название «quelling» у грибов, «посттранскрипционный сайленсинг генов» у растений (posttranscriptional gene silencing (PTGS)) и «РНК-интерференция» у животных [114]. В этих процессах участвуют siРНК длиной 21–23 н. Во-вторых, siРНК способны подавлять транскрипцию генов, содержащих гомологичные siРНК последовательности [142]. Это явление названо транскрипционным сайленсингом генов (transcriptional gene silencing, TGS) и обнаружено у дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* [143], животных [144, 145] и растений [146]. У растений в TGS участвуют siРНК длиной ~24 н. [146]. siРНК направляют модификации гистонов и метилирование ДНК, что приводит к образованию гетерохроматина и репрессии транскрипции [114]. Лучшее всего TGS изучен у *S. pombe* [143]. Обнаружено, что siРНК *S. pombe* встраиваются в похожий на RISC белковый комплекс, названный RITS (RNA-induced initiation of transcriptional gene silencing). В его составе, как и в случае RISC, siРНК взаимодействует с белком семейства Ago. Вероятно, siРНК способна направлять этот комплекс к гену, который содержит гомологичный siРНК фрагмент. После этого белки RITS рекрутируют метилтрансферазы, в результате чего в локусе, кодирующем ген-мишень siРНК, формируется гетерохроматин, и активная экспрессия гена прекращается. Механизмы TGS описаны в обзоре [147], а пути образования, функции и история открытия siРНК – в обзорах [117, 118, 148–150] и др.

siРНК вовлечены в защиту клетки от вирусов, репрессию транскрипции, регуляцию некоторых генов и формирование центрального гетерохроматина. Важная функция siРНК – подавление экспрессии мобильных элементов. Такое подавление может происходить как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне.

У разных организмов (*Trypanosoma brucei* [151], *C. elegans* [152], *D. melanogaster* [153],

Arabidopsis thaliana [146, 154, 155], *Danio rerio* [156] и *Mus musculus* [157]) найдены siРНК, последовательности которых соответствуют фрагментам различных геномных повторов, в том числе мобильных элементов. Эти siРНК часто называют малыми интерферирующими РНК, ассоциированными с повторами (rasiРНК – repeat-associated siRNAs (rasiRNAs)). Они образуются, например, в результате нарезания РНКазой Dicer дцРНК, синтезированных при двунаправленной транскрипции мобильных элементов (антисмысловая цепь образует тогда, когда мобильный элемент встраивается рядом с клеточным промотором). Длина таких rasiРНК составляет 21–23 н. [139, 157].

Однако в последнее время стало понятно, что rasiРНК не представляют собой гомогенного класса: помимо описанных выше коротких rasiРНК обнаружены более длинные rasiРНК (24–32 н.). В отличие от коротких rasiРНК они ассоциированы с другими белками группы Argonaute и образуются, вероятно, не при нарезании дцРНК, а в результате процессинга длинного однонитевого предшественника. Эти длинные rasiРНК принадлежат к семейству недавно обнаруженных piРНК [158–161].

tasiРНК. У цветковых растений и мхов [162] обнаружены siРНК, которые кодируются собственными генами и направляют разрезание мРНК других, негомологичных генов. По этой причине они названы трансдействующими siРНК (tasiRNAs). От miРНК и siРНК их отличает путь образования.

Найдено пять генов, в результате транскрипции которых образуются полиаденилированные и, вероятно, кэпированные предшественники tasiРНК: TAS1a, TAS1b, TAS1c, TAS2 и TAS3 [163–166]. TAS1a, TAS1b и TAS1c РНК кодируются паралогами локусами и имеют некоторое сходство с TAS2 РНК, так что все четыре локуса, вероятно, являются паралогами [165]. Все пять транскриптов не имеют протяженных открытых рамок считывания и могут кодировать пептиды длиной не более 50 а.о. Поэтому авторы, описавшие эти гены, полагают наиболее вероятным, что TAS РНК не кодируют белок. Следует, впрочем, отметить, что у растений известны примеры транскриптов, кодирующих короткие функциональные пептиды (в частности, пептиды, кодируемые геном ENOD40 бобовых, имеют длину 12 и 24 а.о. [167, 168]).

Все TAS РНК служат мишенями miРНК, которые направляют их разрезание: TAS1a, TAS1b, TAS1c и TAS2 РНК взаимодействуют с miРНК miR173 [165, 166], а TAS3 РНК – с miR390 [166]. В результате TAS РНК разрезаются на две части. 5'-Концевая часть TAS3, а у остальных TAS РНК

3'-концевая часть переводятся в двуцепочечную форму РНК-зависимой РНК-полимеразой RDR6 [165, 166, 169]. Образовавшиеся дцРНК нарезаются на фрагменты длиной 21 н. с выступающими 3'-концами РНКазой III DCL4 (Dicer-like 4) – гомологом Dicer животных [165, 170] (схема 2). В результате образуются tasiРНК. В составе первичного транскрипта почти все обнаруженные tasiРНК расположены или вплотную, или на расстоянии, кратном 21 н. Таким образом, место разреза TAS РНК, заданное miРНК, определяет фазу образующихся tasiРНК.

Все гены TAS РНК имеют два экзона. В случае генов TAS1a, TAS1b, TAS1c и TAS2 сайт разрезания miРНК и все обнаруженные tasiРНК (~10 для каждой TAS РНК) локализованы в интроне. Таким образом, процессингу с участием RDR6 подвергаются несплайсированные TAS РНК. TAS3 РНК продуцирует две практически идентичные tasiРНК, расположенные вплотную в экзоне. Почти все найденные tasiРНК соответствуют фрагментам последовательности TAS РНК. Однако для каждого транскрипта найдена хотя бы одна tasiРНК, соответствующая минус-цепи. Такие РНК могут регулировать содержание в клетке собственного предшественника [165, 166].

tasiРНК, вероятно, входят в состав RISC и, подобно miРНК и siРНК, направляют разрезание генов-мишеней [171] (схема 2). Мишенью продуктов TAS3 РНК служат мРНК транскрипционных факторов ARF2, ARF3 и ARF4 (auxin response factors) [166, 169]. Нарушение продукции этих tasiРНК приводит к фенотипическим дефектам [172]. Мишенями остальных tasiРНК служат несколько генов с неидентифицированной функцией [163–166].

Как и в случае miРНК, сходство между TAS РНК и мРНК-мишенью сохраняется только в пределах фрагмента, соответствующего последовательности tasiРНК.

TAS1a, TAS1b, TAS1c и TAS2 РНК не консервативны (найлены только у *A. thaliana*) [163]. TAS3 РНК, напротив, обнаружена у многих представителей однодольных и двудольных, хотя сходство предполагаемых гомологов сохраняется только в пределах фрагмента, кодирующего tasiРНК [166, 169].

TAS1a и TAS2 РНК помимо РНК длиной 21 н. продуцируют несколько siРНК длиной 24 н. Мишени этих РНК пока не обнаружены, однако известно, что у растений малые РНК такой длины участвуют в транскрипционном сайленсинге. Для образования tasiРНК длиной 24 н., вероятно, используется альтернативный путь, поскольку для их процессинга не нужно участия miРНК и необходим DCL3 [165] – еще один

растительный гомолог Dicer животных, который участвует в продукции длинных siРНК, вовлеченных в транскрипционный сайленсинг [173].

Несмотря на то что пути образования и функции tasiРНК неплохо изучены, на многие вопросы пока нет ответа. Неясно, например, почему матрицами для RDR6 служат продукты разрезания именно TAS РНК, хотя miРНК участвуют в деградации многих РНК. Возможно, в случае TAS1 и TAS2 РНК это связано с тем, что сайт узнавания miR173 локализован в интроне [165] и путь образования tasiРНК направляют белки, связанные с несплайсированной РНК. Неясно также, почему в двуцепочечную форму переводится только один из продуктов разрезания TAS РНК и почему в одном случае

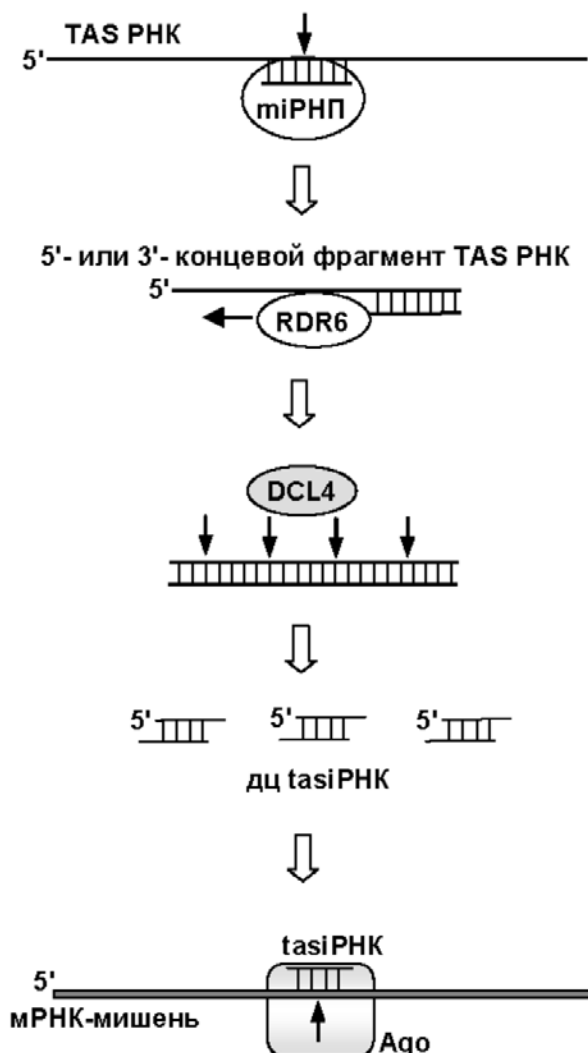


Схема 2. Механизм образования и действия tasiРНК. Черными вертикальными стрелками отмечены места разрезания РНК

это — 5'-концевая часть РНК, в других — 3'-концевая [171].

Обнаружение *tasi*РНК увеличило число известных функций *mi*РНК: оказалось, что они не только регулируют экспрессию генов, но и вовлечены в образование других регуляторных РНК.

***pi*РНК.** В 2006 г. пять исследовательских групп сообщили об обнаружении нового класса малых РНК [157, 160, 161, 174, 175]. Эти РНК были найдены у мыши, крысы и человека и, поскольку обнаружены в связи с иммунопреципитированными белками семейства *Piwi*, названы *pi*РНК (*Piwi*-interacting RNAs). Белки семейства *Piwi* принадлежат к большой группе белков *Argonaute*. У животных к этой группе относятся также белки семейства *Ago*, осуществляющие сайленсинг РНК с участием *mi*РНК и *si*РНК [115]. Белки семейства *Piwi* экспрессируются почти исключительно в клетках зародышевой линии и необходимы для поддержания стволовых клеток зародышевой линии, сперматогенеза и репрессии активности мобильных элементов [159, 176, 177]. Самцы мышей, несущие мутации в каждом белке семейства *Piwi* (*Mili*, *Miwi* и *Miwi2*), имеют дефекты сперматогенеза и стерильны [176, 178, 179].

У млекопитающих *pi*РНК, как и белки семейства *Piwi*, найдены только в семенниках. Длина *pi*РНК 26–32 н., т.е. они длиннее, чем *mi*РНК и *si*РНК. Вероятно, существуют две популяции *pi*РНК [157]: первая содержит РНК длиной 26–28 н. и обнаружена в связи с белком *Mili* [160], вторая ассоциирована с белком *Miwi* и содержит РНК длиной 28–32 н. [161, 175]. *pi*РНК, ассоциированных с третьим членом семейства *Piwi* млекопитающих (*Miwi2*), пока не обнаружено.

*pi*РНК обеих популяций имеют фосфатную группу на 5'-конце. В 80–90% случаев первым нуклеотидом на 5'-конце является U [157, 160, 161, 174, 175]. Последний нуклеотид на 3'-конце 2'-О-метилирован [180, 181]. Значение этой модификации неизвестно, однако у растений *mi*РНК и *si*РНК модифицированы таким же образом, что, вероятно, повышает их стабильность [116, 182, 183]. Возможно, у животных эта модификация имеет то же значение, поскольку в клетках млекопитающих 2'-О-метилированные по нескольким положениям синтетические *si*РНК стабильнее немодифицированных аналогов [184]. При инкубации 2'-О-метилированных по 3'-концу и немодифицированных синтетических *pi*РНК с экстрактом семенников мыши модифицированные РНК также оказались более стабильными [180]. Кроме того, 2'-О-метилирование может облегчать связывание *pi*РНК с

белками семейства *Piwi*, поскольку белки семейства *Ago* животных имеют пониженное сродство к РНК с такой модификацией [185]. Вероятно, *pi*РНК дрозофилы и *D. rerio* тоже 2'-О-метилированы [177, 186].

Число найденных *pi*РНК у млекопитающих превышает 50 000 [161], т.е. существенно больше числа известных малых РНК других классов. Приблизительно 17% *pi*РНК соответствует повторяющимся последовательностям, в том числе мобильным элементам [160, 161, 174, 175]. Отметим, что количество *pi*РНК, соответствующих повторам, меньше, чем доля повторяющихся последовательностей в геноме (у грызунов 17 и ~42% соответственно [174, 175]).

Прочие *pi*РНК кодируются уникальными последовательностями, которые, как оказалось, собраны в кластеры размером от 1000 до ~100 000 п.н. В 90% случаев кластеры расположены в участках, не содержащих аннотированных генов или повторов, хотя иногда находятся в интронах и экзонах, причем в последнем случае они соответствуют сенс-цепи мРНК [161, 174, 175]. Каждый кластер содержит от ~10 до 4500 *pi*РНК [160, 161, 175]. Интересно, что *pi*РНК кодируются только одной цепью ДНК. Такой способ организации предполагает, что *pi*РНК образуются из длинных первичных транскриптов. Это предположение подтверждается наличием семенникспецифичных EST и мРНК, соответствующих локусам *pi*РНК [157, 160, 174]. Таким образом, процессинг *pi*РНК, вероятно, отличается от процессинга *mi*РНК и *si*РНК. В пользу существования специфического пути процессинга свидетельствует и то, что в составе кластеров *pi*РНК не обнаружено развитых вторичных структур, характерных для *pri-mi*РНК [157, 160, 161, 174, 175]. Кроме того, найдены только сенс-последовательности уникальных *pi*РНК, что может свидетельствовать об отсутствии дцРНК-предшественников [157].

В некоторых случаях кластеры *pi*РНК расположены рядом, но кодируются разными цепями (схема 3, *a*), что может указывать на двунаправленную транскрипцию с общего промотора [160]. Наиболее крупные кластеры *pi*РНК грызунов имеют ортологов у человека, хотя сходства последовательностей *pi*РНК в большинстве случаев не обнаруживается [160, 161].

Уровень экспрессии *pi*РНК меняется в ходе созревания гамет. Они начинают детектироваться, когда сперматоциты (диплоидные предшественники сперматозоидов) вступают в профазу первого деления мейоза, в так называемую стадию толстых нитей — пахитену. Во время этой стадии происходит кроссинговер. После образования сперматид (гаплоидных продуктов мейо-

за) содержание рiРНК сильно снижается, и в зрелой сперме они, вероятно, отсутствуют [157, 160, 161, 175]. Таким образом, рiРНК млекопитающих пока обнаружены только в созревающих гаметах самцов.

Функции рiРНК и механизмы их процессинга пока остаются загадкой. Однако некоторые сведения получены в результате недавних исследований рiРНК дрозофилы. У дрозофилы имеются три белка семейства Piwi: Piwi, Aubergine (Aub) и Ago3. В отличие от таковых у млекопитающих эти белки обнаружены не только в семенниках, но и в яичниках, причем их экспрессия не ограничивается клетками зародышевой линии [158, 187–189]. Как и у млекопитающих, белки Piwi необходимы для поддержания стволовых клеток зародышевой линии [190] и продукции гамет [191]. Кроме того, мутации в генах этих белков приводят к активации перемещения мобильных элементов [192–194].

Подробно рiРНК дрозофилы исследованы в работе [158]. Ранее в семенниках дрозофилы были обнаружены gasiРНК длиной 24–27 н. [153]. В работах [186, 188, 189] показана ассоциация gasiРНК с белками Piwi, Aub и Ago3. Таким образом, большинство gasiРНК дрозофилы может быть отнесено к рiРНК.

Авторы работы [158] показали, что в отличие от млекопитающих у дрозофилы ~80% рiРНК соответствуют повторяющимся последовательностям генома – разным типам мобильных элементов и повторам ДНК, содержащимся в гетерохроматине. Как и у млекопитающих, гены рiРНК собраны в кластеры, причем значительная часть рiРНК, соответствующих повторам, тоже транскрибируется с небольшого числа локусов.

рiРНК дрозофилы участвуют в репрессии активности мобильных элементов в клетках зародышевой линии. Свидетельства в пользу этого получены в работах [186, 188]. В работе [158] показано, что локусом *flamenco*, определяющим репрессию ряда мобильных элементов и содержащим их множественные копии, кодируется крупный кластер рiРНК. Мутации в этом локусе приводят к снижению экспрессии кодируемых им рiРНК и увеличению количества транскриптов контролируемого *flamenco* ретротранспозона *gypsy*.

В работах [158, 189] предложена модель репрессии активности мобильных элементов с помощью рiРНК. Показано, что примерно в 80% случаев белки Piwi и Aub связывают рiРНК, комплементарные последовательностям мобильных элементов, т.е. антисенс-рiРНК, а Ago3 – сенс-рiРНК [158]. Аналогичные результаты получены в работах [186, 188, 189].

В популяциях антисенс- и сенс-рiРНК обнаружены молекулы с комплементарными 5'-концевыми участками, причем в составе предполагаемого дуплекса их 5'-концы отделены от другого десятью нуклеотидами. У 83 и 72% молекул РНК, связанных соответственно с Piwi и Aub, первым нуклеотидом на 5'-конце является U, однако только 37% молекул РНК, связанных с Ago3, имеют U на 5'-конце.

Для объяснения этих данных была предложена следующая модель [158, 189]. Из транс-

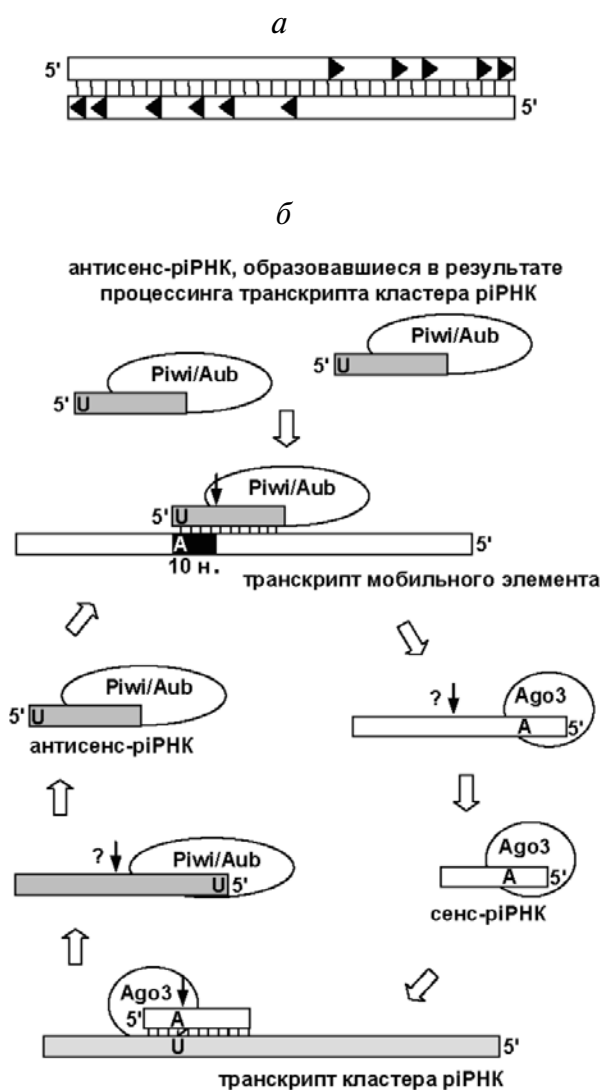


Схема 3. Кластеры рiРНК в геноме (а) и предполагаемый механизм образования вторичных рiРНК (б). Черные треугольники – гены рiРНК. Вертикальными стрелками отмечены места разрезания РНК. Знаком «?» отмечены сайты действия неустановленных нуклеаз. В составе транскрипта мобильного элемента черным выделен 10-нуклеотидный участок комплементарного взаимодействия антисенс-рiРНК и образующейся сенс-рiРНК

крипта кластера рiРНК образуются антисенс-рiРНК, ассоциируют с Piwi или Aub и направляют разрезание транскриптов мобильных элементов. Белки класса Argonaute, к которым принадлежат Piwi, Aub и Ago3, разрезают фосфодиэфирную связь в РНК-мишени, расположенную напротив 10-го и 11-го нуклеотидов гидовой РНК. В результате 5'-конец одного из двух образовавшихся фрагментов будет отделен от 5'-конца антисенс-рiРНК как раз десятью нуклеотидами (схема 3, б). Этот фрагмент, вероятно, ассоциирует с Ago3, и в результате возникает новая сенс-рiРНК. Механизм процессинга ее 3'-конца пока неизвестен. По аналогии с образованием siРНК она может быть названа вторичной. Комплексом Ago3 и вторичной рiРНК разрезается мишень, вероятнее всего первичный транскрипт кластера рiРНК, который содержит антисмысловые последовательности мобильных элементов. Транскрипты кластеров рiРНК действительно были обнаружены [158]. Механизм процессинга 3'-концов новых рiРНК тоже пока неизвестен. Образовавшиеся антисенс-рiРНК могут как осуществлять сайленсинг мобильных элементов, так и направлять генерацию новых сенс-рiРНК. Такая амплификация позволяет усилить сайленсинг в ответ на усиление экспрессии мобильных элементов. Эта модель учитывает известные свойства белков Piwi, Aub и Ago3, в частности наличие у этих белков эндонуклеазной активности [188, 189]. Она также объясняет, почему 5'-концы связанных с Ago3 рiРНК не обогащены U. Более того, можно ожидать, что вторичные рiРНК будут обогащены адениловыми остатками в позиции 10, поскольку эта позиция комплементарна 5'-концевому U антисенс-рiРНК. Действительно, у 73% связанных с Ago3 рiРНК десятым нуклеотидом является А.

Однако на многие вопросы пока нет ответов. Например, неясно, чем задается исходная асимметрия в связывании рiРНК белками Piwi, поскольку большинство локусов, кодирующих рiРНК, содержат копии транспозонов в обеих ориентациях.

В работе [159] получены свидетельства в пользу того, что рiРНК млекопитающих также вовлечены в репрессию активности мобильных элементов. В семенниках мыши авторами обнаружена еще одна популяция рiРНК, ассоциированная с белком Mili. В отличие от описанных ранее рiРНК эти РНК обнаружены в сперматогониях, а позже присутствуют одновременно с рiРНК, которые начинают детектироваться в пахитене мейоза I. Препакитенные рiРНК тоже кодируются кластерами, однако по сравнению с пахитенными рiРНК доля молекул этих РНК,

соответствующих повторам ДНК (в основном это мобильные элементы), выше и составляет 35%.

Мутации в гене Mili вызывают увеличение экспрессии ретроэлементов L1 и IAP в 5–10 раз. Интересно, что рiРНК, соответствующие элементам L1 и IAP, обогащены комплементарными молекулами, причем в предполагаемом дуплексе их 5'-концы отстоят один от другого ровно на 10 нуклеотидов. Более того, сенс-рiРНК, соответствующие последовательностям L1 и IAP, обогащены А в позиции 10. Поэтому можно предполагать, что и у млекопитающих белки Piwi и ассоциированные с ними рiРНК служат частью консервативного механизма репрессии мобильных элементов, эффективность которого дополнительно повышена благодаря амплификации исходного сигнала.

В работе [177] получены свидетельства в пользу того, что аналогичный механизм репрессии активности мобильных элементов существует и у рыб (*D. rerio*). В то же время были определены и специфические признаки. Например, рiРНК *D. rerio* обнаружены как в семенниках, так и в яичниках, а их процессинг, видимо, отличается от такового у млекопитающих.

Поскольку значительная часть рiРНК, особенно у млекопитающих, не связана с мобильными элементами, можно полагать, что эти РНК выполняют и другие, пока неизвестные функции [195, 196].

МАЛЫЕ РНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГЕНАМИ БЕЛКОВ

В опубликованной в июне 2007 г. работе [41] сообщается об обнаружении нескольких новых групп малых РНК. При исследовании генома человека с помощью ГТА (повторяющиеся последовательности исключены) авторы определили большое число неописанных ранее коротких РНК (длиной 20–200 н.), из которых ~70% может быть установлено с помощью Нозерн-блот-гибридизации и ОТ-ПЦР. Значительная часть этих РНК консервативна, что свидетельствует в пользу их биологической значимости. Последовательности, соответствующие ~40% коротких РНК, обнаружены также в составе более длинных (длиннее 200 н.) полиаденилированных РНК, которые кодируются теми же локусами, что и короткие РНК. Эти длинные РНК, возможно, служат предшественниками коротких РНК.

Оказалось, что последовательности многих коротких РНК соответствуют промоторным областям генов белков, и поэтому эти РНК были

названы малыми РНК, ассоциированными с промоторами (promoter associated sRNAs (PASRs)). Обнаружены также короткие РНК, последовательности которых соответствуют 3'-концевым участкам генов. Эти РНК названы малыми РНК, ассоциированными с концами генов (termini-associated sRNAs (TASRs)). С РНК обеих групп ассоциированы ~50% генов белков, причем уровень экспрессии PASR РНК пропорционален уровню экспрессии ассоциированного с ними гена белка. Полученные результаты позволяют предполагать, что локусы, кодирующие гены белков, кодируют также наборы нкРНК. Сходные результаты были получены в работе [197], где были обнаружены нкРНК, соответствующие 5'-концевым участкам генов белков. Таким образом, гены, кодирующие белки, могут быть окружены множеством нкРНК, выполняющих, вероятно, регуляторные функции [41].

МАЛЫЕ РНК – ТРАНСКРИПТЫ SINE И РОДСТВЕННЫХ ИМ ГЕНОВ

По геномам млекопитающих и многих других эукариот разбросано огромное число (10^5 – 10^6) копий повторяющихся последовательностей ДНК, именуемых короткими ретропозонами, или SINE [198]. Их длина не превышает 500 п.н. Размножение SINE происходит благодаря процессу ретропозиции, который включает в себя транскрипцию этих элементов РНК-полимеразой III и обратную транскрипцию, сопряженную с интеграцией синтезирующейся ДНК в новый участок генома. Обратной транскриптазой в этом процессе служит полипептид, закодированный в другом типе мобильных генетических элементов – LINE (long interspersed elements). Благодаря накапливающимся мутациям, копии SINE отличаются одна от другой 5–30% оснований. В совокупности такие копии образуют семейство SINE. В геноме обычно имеется не более четырех семейств SINE, причем каждое из них характерно только для одного или нескольких семейств (иногда отрядов) организмов.

Два семейства SINE, которые были описаны первыми (B1 грызунов [199] и Alu приматов [200]), произошли эволюционно от 7SL РНК, малой цитоплазматической РНК, участвующей в синтезе секретлируемых белков [201]. Потеря участка длиной 182 н. из центральной части нуклеотидной последовательности 7SL РНК была ключевым событием при возникновении этих SINE. Alu состоит из двух последовательностей, гомологичных 7SL РНК и расположенных в одной ориентации. Таким образом, Alu

является димерным SINE длиной ~300 п.н., в котором правый и левый мономеры сходны, но далеко не идентичны. B1 представляет собой мономерный SINE, и его нуклеотидная последовательность больше напоминает левый мономер Alu, чем правый [202].

Почти все остальные семейства SINE происходят от тех или иных видов тРНК [198]. На 5'-конце таких SINE располагается участок, имеющий некоторое сходство с последовательностью тРНК. Затем обычно следует участок неизвестного происхождения, специфичный для каждого семейства SINE. На 3'-конце SINE находится А-богатый хвост (млекопитающие и растения) или участок, состоящий из нескольких очень коротких прямых повторов (рептилии и рыбы). Некоторые свойства SINE, как и других мобильных генетических элементов, свидетельствуют об их эгоистической или паразитической природе. Так, они характеризуются узким таксономическим распространением, способностью быстро размножаться в геноме, а интегрируясь в гены, могут вызывать нарушение работы последних [198]. В то же время накапливаются данные, хотя в некоторых случаях противоречивые, что малые РНК, образующиеся при транскрипции SINE РНК-полимеразой III, могут выполнять определенные функции в клетках. Рассмотрим подробнее возможные функции этих малых РНК.

Известно, что при стрессовых воздействиях (тепловой шок, вирусная инфекция и др.) в клетках многократно увеличивается уровень малых РНК, транскрибирующихся с SINE [203, 204]. Было предположено, что эти малые РНК важны для выживания клеток при стрессах. Для исследования данного вопроса Чу и соавт. [205] котрансфицировали человеческие клетки плазмидами двух видов, один из которых нес Alu-элемент, а другой – репортерный ген, кодирующий люциферазу. Введение в клетки экзогенного Alu-элемента (SINE человека) не только сильно увеличивало содержание РНК, транскрибированной с Alu полимеразой III (в исходных клетках оно почти нулевое), но также значительно усиливало синтез люциферазы, хотя содержание ее мРНК не возрастало [205]. На основании этого был сделан вывод, что повышенное содержание Alu РНК стимулирует трансляцию. По аналогии с малой аденовирусной VAI РНК было предположено, что Alu РНК оказывает такое действие на трансляцию, влияя на активность протеинкиназы PKR (double-stranded RNA-activated protein kinase R). Было показано, что Alu РНК, как и VAI РНК, способна связываться с PKR, а это уменьшает активность PKR [205]. Такое связывание ведет к снижению осу-

шествяемого PKR фосфорилирования фактора инициации трансляции eIF-2a, что, в свою очередь, вызывает активацию трансляции. Для стимуляции трансляции важен участок в правом мономере Alu, нуклеотидная последовательность которого характерна для этого мономера и не представлена в левом мономере [206]. Было предположено, что высокое содержание Alu РНК в клетках, подвергнутых стрессу, помогает им пережить этот стресс посредством активации трансляции вышеописанным путем, включающим в себя ингибирование PKR и активирование eIF-2a [205].

Однако в более поздних работах той же группы исследователей эта схема подтвердилась далеко не во всем. Во-первых, при изучении индивидуальных копий Alu выяснилось, что транскрипция многих из них при тепловом шоке клеток не только не усиливается, но и ослабевает [207], т.е. многие Alu, видимо, не вовлечены в клеточный ответ на стресс. Во-вторых, в опытах по котрансфекции клеток репортерным геном и Alu под действием последнего происходит активация трансляции не всех мРНК, а только транскрибирувавшейся с репортерного гена, причем этот эффект через некоторое время (22 ч) после трансфекции затухает [206]. Возможно, это пока загадочное явление как-то связано со способностью фактора инициации eIF4G различать новые и старые мРНК [208]. В-третьих, в опытах с клетками, полученными от мышей с нокаутом гена PKR, выяснилось, что воздействие Alu РНК (как и VA1 РНК) на трансляцию не зависит от активности PKR [206]. Таким образом, для выяснения механизма и подтверждения биологического значения эффекта стимуляции трансляции под действием транскриптов SINE необходимы дальнейшие исследования.

Было установлено, что малая РНК, образующаяся при транскрипции копий B2 (тРНК-родственный SINE из геномов мышей и грызунов четырех родственных семейств [209]), *in vitro* способна связываться с РНК-полимеразой II и эффективно ее ингибировать [210, 211]. Было предположено, что таким путем происходит выключение транскрипции подавляющего большинства генов, которое наблюдается при тепловом шоке. Однако остается непонятным, каким образом избегают репрессии гены, кодирующие белки теплового шока, транскрипция которых, напротив, сильно активируется при повышенной температуре.

ID – семейство SINE, которое произошло от аланиновой тРНК^(CGC) и характерно для всего отряда грызунов. ID-Элемент состоит только из тРНК-родственной последовательности и А-богатого хвоста. При использовании ID в качестве

гибридизационного зонда в мозге грызунов была обнаружена малая цитоплазматическая РНК длиной 160 н., обозначенная как BC1 (brain cytoplasmic) [212]. Оказалось, что она является транскриптом одной из копий ID, которую стали называть геном BC1 РНК [213]. Эта РНК весьма консервативна у грызунов. Многие копии ID, в свою очередь, образовались при ретропозиции BC1 РНК, благодаря тому что она экспрессируется не только в нервной ткани, но и в клетках половой линии [213]. Нокаут гена BC1, хотя и не нарушал нормального развития, приводил к ослаблению поискового поведения и увеличению беспокойства мышей [214].

У некоторых приматов обнаружены свои специфические для нервной ткани и семенных малые РНК: BC200 у человека [215] и человекообразных обезьян и G22 у лемуров семейства Lorisidae [216]. Однако, если BC200 содержит мономерный Alu-элемент, G22 РНК образована последовательностью обычного димерного Alu. Обе РНК имеют протяженные А-богатые участки на своих 3'-концах. Полагают, что гены BC200 и G22 возникли независимо в результате интеграции элементов Alu разного типа в одно и то же место геномов у предков соответственно антропоидов и лоризид. Последовательность ДНК, расположенная перед генами BC200 и G22 РНК, определяет тканевую специфичность их экспрессии [217].

По-видимому, все три РНК (BC1, BC200 и G22) выполняют сходные функции. Показано, что они транспортируются в дендриты, но не в аксоны нейронов [217, 218]. В транспорте важную роль играет белок PUR α , с которым эти РНК образуют комплексы. За образование комплекса ответственны G-богатые участки, расположенные в 5'-концевых районах этих РНК [219]. В дендритах BC1 и BC200 РНК локализуются в областях, где происходит трансляция мРНК, и, возможно, участвуют в регуляции этого процесса. Показано, что BC1 способна связываться своей А-богатой 3'-концевой половиной с поли(А)-связывающим белком и фактором инициации трансляции eIF4A. Именно этим, видимо, объясняется способность BC1 ингибировать трансляцию [220]. Имеются также данные [221], хотя и несколько противоречивые [220], о регуляции трансляции специфических видов мРНК с участием комплекса BC1 РНК с белком FMRP (fragile X mental retardation protein). Предполагается, что этот комплекс, образованный взаимодействием N-конца FMRP с 5'-концевой половиной BC1, связывается с некоторыми мРНК благодаря комплементарному спариванию между BC1РНК и мРНК, вызывая ингибирование трансляции последней [221].

Во всех тканях мышей и крыс обнаруживаются еще две малые РНК (4.5S_H и 4.5S_I), генетически связанные с SINE и синтезируемые РНК-полимеразой III. Нуклеотидная последовательность 4.5S_H имеет большое сходство с таковой у B1-элемента, хотя и короче ее. Гены 4.5S_H РНК входят в состав многочисленных длинных tandemных повторов и, несомненно, происходят от B1 [222, 223]. Большая часть 4.5S_H находится в ядре и является короткоживущей. Некоторые молекулы 4.5S_H ассоциированы с мРНК за счет комплементарных взаимодействий [222]. Нуклеотидная последовательность 4.5S_I обладает некоторым сходством с таковыми B2- и ID-элементов. Поэтому, возможно, гены 4.5S_I произошли от одного из этих SINE [209]. 4.5S_I локализуется в ядре и характеризуется продолжительным временем жизни. 4.5S_H РНК имеется не только у грызунов семейства мышиных, но и у представителей пяти других родственных семейств [223]. 4.5S_I обнаруживается у грызунов только четырех семейств [224]. Таким образом, эти РНК характеризуются узким таксономическим распространением и поздним возникновением в эволюции грызунов. Нуклеотидные последовательности обеих РНК весьма консервативны, что явно указывает на наличие у них каких-то функций, хотя и до сих пор не установленных.

Известно, что miРНК образуются из длинных РНК, синтезирующихся РНК-полимеразой II. Однако для четырех miРНК человека недавно было показано, что они вырезаются из малых РНК, синтезирующихся РНК-полимеразой III, путем транскрипции копий Alu-элементов и фланкирующих их с 3'-конца последовательностей [225]. miРНК образуются из участков, расположенных в этих 3'-концевых последовательностях транскриптов. Полагают, что в геноме человека такие гены miРНК, транскрипция ко-

торых осуществляется благодаря наличию промотора РНК-полимеразой III в Alu, исчисляются десятками.

Все вышеприведенные примеры показывают, что по крайней мере отдельные копии SINE могут приобретать функции, становясь генами для малых некодирующих РНК. Как правило, эти РНК имеют узкое таксономическое распределение, и было предложено называть их стено-РНК (стено – узкий) [224]. Можно предположить, что такие РНК вносят определенный вклад в возникновение специфических для отдельных таксономических групп организмов морфологических, физиологических и поведенческих признаков.

Обнаружение в последнее десятилетие десятков тысяч новых нкРНК изменило существующие представления о роли, которую играют РНК в клетке. Оказалось, что нкРНК выполняют множество функций с использованием неизвестных ранее механизмов. нкРНК участвуют в регуляции транскрипции генов, сплайсинге и регуляции деградации мРНК. Они вовлечены в трансляцию и ее регуляцию, в процессинг и модификацию рибосомных РНК, в защиту от вирусных инфекций и мутагенной активности мобильных генетических элементов, а также в ряд других процессов. РНК явно потеснили белки на их пьедестале главных молекул, обеспечивающих жизнедеятельность клеток. Скорее всего, мир нкРНК только начал открываться исследователям, и в полной мере значение таких РНК можно оценить лишь в будущем.

Авторы признательны Н.С. Васецкому за оказанную помощь.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 05-04-49553).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van Eenennaam, H., Jarrous, N., van Venrooij, W.J., and Pruijn, G.J. (2000) *IUBMB Life*, **49**, 265–272.
2. Huttenhofer, A., Kiefmann, M., Meier-Ewert, S., O'Brien, J., Lehrach, H., Bachellerie, J.P., and Brosius, J. (2001) *EMBO J.*, **20**, 2943–2953.
3. Johnson, J.M., Edwards, S., Shoemaker, D., and Schadt, E.E. (2005) *Trends Genet.*, **21**, 93–102.
4. Cheng, J., Kapranov, P., Drenkow, J., Dike, S., Brubaker, S., Patel, S., Long, J., Stern, D., Tammana, H., Helt, G., Sementchenko, V., Piccolboni, A., Bekiranov, S., Bailey, D.K., Ganesh, M., Ghosh, S., Bell, I., Gerhard, D.S., and Gingeras, T.R. (2005) *Science*, **308**, 1149–1154.
5. International Human Genome Sequencing Consortium (2004) *Nature*, **431**, 931–945.
6. Schadt, E.E., Edwards, S.W., GuhaThakurta, D., Holder, D., Ying, L., Svetnik, V., Leonardson, A., Hart, K.W., Russell, A., Li, G., Cavet, G., Castle, J., McDonagh, P., Kan, Z., Chen, R., Kasarskis, A., Margarint, M., Caceres, R.M., Johnson, J.M., Armour, C.D., Garrett-Engele, P.W., Tsinoremas, N.F., and Shoemaker, D.D. (2004) *Genome Biol.*, **5**, R73.
7. Rinn, J.L., Euskirchen, G., Bertone, P., Martone, R., Luscombe, N.M., Hartman, S., Harrison, P.M., Nelson, F.K., Miller, P., Gerstein, M., Weissman, S., and Snyder, M. (2003) *Genes Dev.*, **17**, 529–540.
8. Kampa, D., Cheng, J., Kapranov, P., Yamanaka, M., Brubaker, S., Cawley, S., Drenkow, J., Piccolboni, A., Bekiranov, S., Helt, G., Tammana, H., and Gingeras, T.R. (2004) *Genome Res.*, **14**, 331–342.

9. Bertone, P., Stolc, V., Royce, T.E., Rozowsky, J.S., Urban, A.E., Zhu, X., Rinn, J.L., Tongprasit, W., Samanta, M., Weissman, S., Gerstein, M., and Snyder, M. (2004) *Science*, **306**, 2242–2246.
10. Stolc, V., Gauhar, Z., Mason, C., Halasz, G., van Batenburg, M.F., Rifkin, S.A., Hua, S., Herreman, T., Tongprasit, W., Barbano, P.E., Bussemaker, H.J., and White, K.P. (2004) *Science*, **306**, 655–660.
11. Manak, J.R., Dike, S., Sementchenko, V., Kapranov, P., Biemar, F., Long, J., Cheng, J., Bell, I., Ghosh, S., Piccolboni, A., and Gingeras, T.R. (2006) *Nat. Genet.*, **38**, 1151–1158.
12. Yamada, K., Lim, J., Dale, J.M., Chen, H., Shinn, P., Palm, C.J., Southwick, A.M., Wu, H.C., Kim, C., Nguyen, M., Pham, P., Cheuk, R., Karlin-Newmann, G., Liu, S.X., Lam, B., Sakano, H., et al. (2003) *Science*, **302**, 842–846.
13. Chen, J., Sun, M., Lee, S., Zhou, G., Rowley, J.D., and Wang, S.M. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 12257–12262.
14. Saha, S., Sparks, A.B., Rago, C., Akmaev, V., Wang, C.J., Vogelstein, B., Kinzler, K.W., and Velculescu, V.E. (2002) *Nat. Biotechnol.*, **20**, 508–512.
15. Jongeneel, C.V., Delorenzi, M., Iseli, C., Zhou, D., Haudenschild, C.D., Khrebtukova, I., Kuznetsov, D., Stevenson, B.J., Strausberg, R.L., Simpson, A.J., and Vasicek, T.J. (2005) *Genome Res.*, **15**, 1007–1014.
16. Semon, M., and Duret, L. (2004) *Trends Genet.*, **20**, 229–232.
17. Ota, T., Suzuki, Y., Nishikawa, T., Otsuki, T., Sugiyama, T., Irie, R., Wakamatsu, A., Hayashi, K., Sato, H., Nagai, K., Kimura, K., Makita, H., Sekine, M., Obayashi, M., Nishi, T., Shibahara, T., et al. (2004) *Nat. Genet.*, **36**, 40–45.
18. Washietl, S., Hofacker, I.L., Lukasser, M., Huttenhofer, A., and Stadler, P.F. (2005) *Nat. Biotechnol.*, **23**, 1383–1390.
19. Carninci, P., Kasukawa, T., Katayama, S., Gough, J., Frith, M.C., Maeda, N., Oyama, R., Ravasi, T., Lenhard, B., Wells, C., Kodzius, R., Shimokawa, K., Bajic, V.B., Brenner, S.E., Batalov, S., Forrest, A.R., Zavolan, M., Davis, M.J., Wilming, L.G., Aidinis, V., Allen, J.E., et al. (2005) *Science*, **309**, 1559–1563.
20. Katayama, S., Tomaru, Y., Kasukawa, T., Waki, K., Nakanishi, M., Nakamura, M., Nishida, H., Yap, C.C., Suzuki, M., Kawai, J., Suzuki, H., Carninci, P., Hayashizaki, Y., Wells, C., Frith, M., Ravasi, T., Pang, K.C., Hallinan, J., Mattick, J., Hume, D.A., Lipovich, L., Batalov, S., Engstrom, P.G., Mizuno, Y., Faghihi, M.A., Sandelin, A., Chalk, A.M., Mottagui-Tabar, S., Liang, Z., Lenhard, B., and Wahlestedt, C. (2005) *Science*, **309**, 1564–1566.
21. Dennis, C. (2002) *Nature*, **418**, 122–124.
22. Pang, K.C., Frith, M.C., and Mattick, J.S. (2006) *Trends Genet.*, **22**, 1–5.
23. Bentwich, I., Avniel, A., Karov, Y., Aharonov, R., Gilad, S., Barad, O., Barzilai, A., Einat, P., Einav, U., Meiri, E., Sharon, E., Spector, Y., and Bentwich, Z. (2005) *Nat. Genet.*, **37**, 766–770.
24. Ravasi, T., Suzuki, H., Pang, K.C., Katayama, S., Furuno, M., Okunishi, R., Fukuda, S., Ru, K., Frith, M.C., Gongora, M.M., Grimmond, S.M., Hume, D.A., Hayashizaki, Y., and Mattick, J.S. (2006) *Genome Res.*, **16**, 11–19.
25. Cawley, S., Bekiranov, S., Ng, H.H., Kapranov, P., Sekinger, E.A., Kampa, D., Piccolboni, A., Sementchenko, V., Cheng, J., Williams, A.J., Wheeler, R., Wong, B., Drenkow, J., Yamanaka, M., Patel, S., Brubaker, S., Tammanna, H., Helt, G., Struhl, K., and Gingeras, T.R. (2004) *Cell*, **116**, 499–509.
26. Mattick, J.S., and Makunin, I.V. (2006) *Hum. Mol. Genet.*, R17–R29.
27. Razin, S.V., Rynditch, A., Borunova, V., Ioudinkova, E., Smalko, V., and Scherrer, K. (2004) *J. Cell. Biochem.*, **92**, 445–457.
28. Werner, A., and Berdal, A. (2005) *Physiol. Genomics*, **23**, 125–131.
29. Kumar, M., and Carmichael, G.G. (1998) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **62**, 1415–1434.
30. Brown, C.J., Ballabio, A., Rupert, J.L., Lafreniere, R.G., Grompe, M., Tonlorenzi, R., and Willard, H.F. (1991) *Nature*, **349**, 38–44.
31. Lee, J.T., Davidow, L.S., and Warshawsky, D. (1999) *Nat. Genet.*, **21**, 400–404.
32. Franke, A., and Baker, B.S. (1999) *Mol. Cell*, **4**, 117–122.
33. Young, T.L., Matsuda, T., and Cepko, C.L. (2005) *Curr. Biol.*, **15**, 501–512.
34. Tycowski, K.T., Shu, M.D., and Steitz, J.A. (1996) *Nature*, **379**, 464–466.
35. Smith, C.M., and Steitz, J.A. (1998) *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 6897–6909.
36. Pelczar, P., and Filipowicz, W. (1998) *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 4509–4518.
37. Tanaka, R., Satoh, H., Moriyama, M., Satoh, K., Morishita, Y., Yoshida, S., Watanabe, T., Nakamura, Y., and Mori, S. (2000) *Genes Cells*, **5**, 277–287.
38. Bortolin, M.L., and Kiss, T. (1998) *RNA*, **4**, 445–454.
39. Makarova, J.A., and Kramerov, D.A. (2005) *Gene*, **363**, 51–60.
40. Rougeulle, C., and Heard, E. (2002) *Trends Genet.*, **18**, 434–437.
41. Kapranov, P., Cheng, J., Dike, S., Nix, D.A., Dutttagupta, R., Willingham, A.T., Stadler, P.F., Hertel, J., Hackermueller, J., Hofacker, I.L., Bell, I., Cheung, E., Drenkow, J., Dumais, E., Patel, S., Helt, G., Ganesh, M., Ghosh, S., Piccolboni, A., Sementchenko, V., Tammanna, H., and Gingeras, T.R. (2007) *Science*, **316**, 1484–1488.
42. Du, T., and Zamore, P.D. (2005) *Development*, **132**, 4645–4652.
43. Pang, K.C., Stephen, S., Engstrom, P.G., Tajul-Arifin, K., Chen, W., Wahlestedt, C., Lenhard, B., Hayashizaki, Y., and Mattick, J.S. (2005) *Nucl. Acids Res.*, **33**, D125–D130.
44. Willingham, A.T., Orth, A.P., Batalov, S., Peters, E.C., Wen, B.G., Aza-Blanc, P., Hogenesch, J.B., and Schultz, P.G. (2005) *Science*, **309**, 1570–1573.
45. Lanz, R.B., McKenna, N.J., O'Nate, S.A., Albrecht, U., Wong, J., Tsai, S.Y., Tsai, M.J., and O'Malley, B.W. (1999) *Cell*, **97**, 17–27.
46. Aranda, A., and Pascual, A. (2001) *Physiol. Rev.*, **81**, 1269–1304.
47. Glass, C.K., and Rosenfeld, M.G. (2000) *Genes Dev.*, **14**, 121–141.
48. Lanz, R.B., Chua, S.S., Barron, N., Soder, B.M., DeMayo, F., and O'Malley, B.W. (2003) *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 7163–7176.
49. Murphy, L.C., Simon, S.L., Parkes, A., Leygue, E., Dotzlaw, H., Snell, L., Troup, S., Adeyinka, A., and Watson, P.H. (2000) *Cancer Res.*, **60**, 6266–6271.
50. Lanz, R.B., Razani, B., Goldberg, A.D., and O'Malley, B.W. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 16081–16086.
51. Xu, B., and Koenig, R.J. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 33051–33056.
52. Deblois, G., and Giguere, V. (2003) *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, **85**, 123–131.
53. Chen, D., Riedl, T., Washbrook, E., Pace, P.E., Coombes, R.C., Egly, J.M., and Ali, S. (2000) *Mol. Cell*, **6**, 127–137.
54. Watanabe, M., Yanagisawa, J., Kitagawa, H., Takeyama, K., Ogawa, S., Arao, Y., Suzawa, M., Kobayashi, Y., Yano, T., Yoshikawa, H., Masuhiro, Y., and Kato, S. (2001) *EMBO J.*, **20**, 1341–1352.

55. Zhao, X., Patton, J.R., Davis, S.L., Florence, B., Ames, S.J., and Spanjaard, R.A. (2004) *Mol. Cell*, **15**, 549–558.
56. Zhao, X., Patton, J.R., Ghosh, S.K., Fischel-Ghodsian, N., Shen, L., and Spanjaard, R.A. (2007) *Mol. Endocrinol.*, **21**, 686–699.
57. Lonard, D.M., and O'Malley, B.W. (2006) *Cell*, **125**, 411–414.
58. Shi, Y., Downes, M., Xie, W., Kao, H.Y., Ordentlich, P., Tsai, C.C., Hon, M., and Evans, R.M. (2001) *Genes Dev.*, **15**, 1140–1151.
59. Hatchell, E.C., Colley, S.M., Beveridge, D.J., Epis, M.R., Stuart, L.M., Giles, K.M., Redfern, A.D., Miles, L.E., Barker, A., MacDonald, L.M., Arthur, P.G., Lui, J.C., Golding, J.L., McCulloch, R.K., Metcalf, C.B., Wilce, J.A., Wilce, M.C., Lanz, R.B., O'Malley, B.W., and Leadman, P.J. (2006) *Mol. Cell*, **22**, 657–668.
60. Emberley, E., Huang, G.J., Hamedani, M.K., Czosnek, A., Ali, D., Grolla, A., Lu, B., Watson, P.H., Murphy, L.C., and Leygue, E. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **301**, 509–515.
61. Chooniedass-Kothari, S., Hamedani, M.K., Troup, S., Hube, F., and Leygue, E. (2006) *Int. J. Cancer*, **118**, 1054–1059.
62. Zieve, G., and Penman, S. (1976) *Cell*, **8**, 19–31.
63. Zhou, Q., and Yik, J.H. (2006) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **70**, 646–659.
64. Kuwabara, T., Hsieh, J., Nakashima, K., Taira, K., and Gage, F.H. (2004) *Cell*, **116**, 779–793.
65. Schoenherr, C.J., and Anderson, D.J. (1995) *Science*, **267**, 1360–1363.
66. Bruce, A.W., Donaldson, I.J., Wood, I.C., Yerbury, S.A., Sadowski, M.I., Chapman, M., Gottgens, B., and Buckley, N.J. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 10458–10463.
67. Kraner, S.D., Chong, J.A., Tsay, H.J., and Mandel, G. (1992) *Neuron*, **9**, 37–44.
68. Mori, N., Schoenherr, C., Vandenbergh, D.J., and Anderson, D.J. (1992) *Neuron*, **9**, 45–54.
69. Huang, Y., Myers, S.J., and Dingledine, R. (1999) *Nat. Neurosci.*, **2**, 867–872.
70. Chong, J.A., Tapia-Ramirez, J., Kim, S., Toledo-Aral, J.J., Zheng, Y., Boutros, M.C., Altshuller, Y.M., Frohman, M.A., Kraner, S.D., and Mandel, G. (1995) *Cell*, **80**, 949–957.
71. Ballas, N., Grunseich, C., Lu, D.D., Speh, J.C., and Mandel, G. (2005) *Cell*, **121**, 645–657.
72. Sun, Y.M., Greenway, D.J., Johnson, R., Street, M., Belyaev, N.D., Deuchars, J., Bee, T., Wilde, S., and Buckley, N.J. (2005) *Mol. Biol. Cell*, **16**, 5630–5638.
73. Palm, K., Belluardo, N., Metsis, M., and Timmusk, T. (1998) *J. Neurosci.*, **18**, 1280–1296.
74. Calderone, A., Jover, T., Noh, K.M., Tanaka, H., Yokota, H., Lin, Y., Grooms, S.Y., Regis, R., Bennett, M.V., and Zukin, R.S. (2003) *J. Neurosci.*, **23**, 2112–2121.
75. Cao, X., Yeo, G., Muotri, A.R., Kuwabara, T., and Gage, F.H. (2006) *Annu. Rev. Neurosci.*, **29**, 77–103.
76. Weinstein, L.B., and Steitz, J.A. (1999) *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **11**, 378–384.
77. Omer, A.D., Lowe, T.M., Russell, A.G., Eberhardt, H., Eddy, S.R., and Dennis, P.P. (2000) *Science*, **288**, 517–522.
78. Kiss-Laszlo, Z., Henry, Y., and Kiss, T. (1998) *EMBO J.*, **17**, 797–807.
79. Samarsky, D.A., Fournier, M.J., Singer, R.H., and Bertrand, E. (1998) *EMBO J.*, **17**, 3747–3757.
80. Gautier, T., Berges, T., Tollervey, D., and Hurt, E. (1997) *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 7088–7098.
81. Filipowicz, W., and Pogacic, V. (2002) *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **14**, 319–327.
82. Kiss, T. (2004) *J. Cell. Sci.*, **117**, 5949–5951.
83. Tollervey, D. (1996) *Science*, **273**, 1056–1057.
84. Watkins, N.J., Gottschalk, A., Neubauer, G., Kastner, B., Fabrizio, P., Mann, M., and Luhrmann, R. (1998) *RNA*, **4**, 1549–1568.
85. Henras, A., Henry, Y., Bousquet-Antonelli, C., Noaillac-Depeyre, J., Gelugne, J.P., and Caizergues-Ferrer, M. (1998) *EMBO J.*, **17**, 7078–7090.
86. Ganot, P., Bortolin, M.L., and Kiss, T. (1997) *Cell*, **89**, 799–809.
87. Gerbi, S.A., Borovjagin, A.V., and Lange, T.S. (2003) *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **15**, 318–325.
88. Tollervey, D., and Kiss, T. (1997) *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **9**, 337–342.
89. Mishra, R.K., and Eliceiri, G.L. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 4972–4977.
90. Tycowski, K.T., You, Z.H., Graham, P.J., and Steitz, J.A. (1998) *Mol. Cell*, **2**, 629–638.
91. Peculis, B. (1997) *Curr. Biol.*, **7**, R480–R482.
92. Runte, M., Huttenhofer, A., Gross, S., Kiefmann, M., Horsthemke, B., and Buiting, K. (2001) *Hum. Mol. Genet.*, **10**, 2687–2700.
93. Vitali, P., Royo, H., Seitz, H., Bachellerie, J.P., Huttenhofer, A., and Cavaille, J. (2003) *Nucl. Acids Res.*, **31**, 6543–6551.
94. Kiss, A.M., Jady, B.E., Bertrand, E., and Kiss, T. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 5797–5807.
95. Kishore, S., and Stamm, S. (2006) *Science*, **311**, 230–232.
96. Макарова Ю.А., Крамеров Д.А. (2007) *Молекуляр. биология*, **41**, 246–259.
97. Maxwell, E.S., and Fournier, M.J. (1995) *Annu. Rev. Biochem.*, **64**, 897–934.
98. Kiss, T., and Filipowicz, W. (1995) *Genes Dev.*, **9**, 1411–1424.
99. Caffarelli, E., Arese, M., Santoro, B., Fragapane, P., and Bozzoni, I. (1994) *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 2966–2974.
100. Huang, Z.P., Zhou, H., Liang, D., and Qu, L.H. (2004) *J. Mol. Biol.*, **341**, 669–683.
101. Brown, J.W., Echeverria, M., and Qu, L.H. (2003) *Trends Plant. Sci.*, **8**, 42–49.
102. Макарова Ю.А., Крамеров Д.А. (2007) *Генетика*, **43**, 149–158.
103. Darzacq, X., Jady, B.E., Verheggen, C., Kiss, A.M., Bertrand, E., and Kiss, T. (2002) *EMBO J.*, **21**, 2746–2756.
104. Gall, J.G. (2000) *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **16**, 273–300.
105. Jady, B.E., and Kiss, T. (2001) *EMBO J.*, **20**, 541–551.
106. Richard, P., Darzacq, X., Bertrand, E., Jady, B.E., Verheggen, C., and Kiss, T. (2003) *EMBO J.*, **22**, 4283–4293.
107. Cai, X., Hagedorn, C.H., and Cullen, B.R. (2004) *RNA*, **10**, 1957–1966.
108. Devor, E.J. (2006) *J. Hered.*, **97**, 186–190.
109. Smalheiser, N.R., and Torvik, V.I. (2005) *Trends Genet.*, **21**, 322–326.
110. Kloosterman, W.P., and Plasterk, R.H. (2006) *Dev. Cell*, **11**, 441–450.
111. Scaria, V., Hariharan, M., Maiti, S., Pillai, B., and Brahmachari, S.K. (2006) *Retrovirology*, **3**, 68.
112. Qi, P., Han, J.X., Lu, Y.Q., Wang, C., and Bu, F.F. (2006) *Cell. Mol. Immunol.*, **3**, 411–419.
113. Carmell, M.A., and Hannon, G.J. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 214–218.
114. Tomari, Y., and Zamore, P.D. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 517–529.
115. Parker, J.S., and Barford, D. (2006) *Trends Biochem. Sci.*, **31**, 622–630.
116. Vaucheret, H. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 759–771.
117. Котельников Р.Н., Шпиз С.Г., Калмыкова А.И., Гвоздев В.А. (2006) *Молекуляр. биология*, **40**, 595–608.
118. Вильгельм А.Э., Чумаков С.П., Прасолов В.С. (2006) *Молекуляр. биология*, **40**, 387–403.

119. Valencia-Sanchez, M.A., Liu, J., Hannon, G.J., and Parker, R. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 515–524.
120. Rhoades, M.W., Reinhart, B.J., Lim, L.P., Burge, C.B., Bartel, B., and Bartel, D.P. (2002) *Cell*, **110**, 513–520.
121. Pillai, R.S., Bhattacharyya, S.N., and Filipowicz, W. (2007) *Trends Cell Biol.*, **17**, 118–126.
122. Anderson, P., and Kedersha, N. (2006) *J. Cell. Biol.*, **172**, 803–808.
123. Sheth, U., and Parker, R. (2003) *Science*, **300**, 805–808.
124. Griffiths-Jones, S., Grocock, R.J., van Dongen, S., Bateman, A., and Enright, A.J. (2006) *Nucl. Acids Res.*, **34**, D140–D144.
125. Berezikov, E., Guryev, V., van de Belt, J., Wienholds, E., Plasterk, R.H., and Cuppen, E. (2005) *Cell*, **120**, 21–24.
126. John, B., Enright, A.J., Aravin, A., Tuschl, T., Sander, C., and Marks, D.S. (2004) *PLoS Biol.*, **2**, e363.
127. Lewis, B.P., Burge, C.B., and Bartel, D.P. (2005) *Cell*, **120**, 15–20.
128. Bao, N., Lye, K.W., and Barton, M.K. (2004) *Dev. Cell*, **7**, 653–662.
129. Bartel, D.P., and Chen, C.Z. (2004) *Nat. Rev. Genet.*, **5**, 396–400.
130. Stark, A., Brennecke, J., Bushati, N., Russell, R.B., and Cohen, S.M. (2005) *Cell*, **123**, 1133–1146.
131. Kidner, C.A., and Martienssen, R.A. (2005) *Curr. Opin. Plant. Biol.*, **8**, 38–44.
132. Lu, J., Getz, G., Miska, E.A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B.L., Mak, R.H., Ferrando, A.A., Downing, J.R., Jacks, T., Horvitz, H.R., and Golub, T.R. (2005) *Nature*, **435**, 834–838.
133. Garzon, R., Fabbri, M., Cimmino, A., Calin, G.A., and Croce, C.M. (2006) *Trends Mol. Med.*, **12**, 580–587.
134. Zhang, B., Pan, X., Cobb, G.P., and Anderson, T.A. (2007) *Dev. Biol.*, **302**, 1–12.
135. Meister, G., Landthaler, M., Dorsett, Y., and Tuschl, T. (2004) *RNA*, **10**, 544–550.
136. Hutvagner, G., Simard, M.J., Mello, C.C., and Zamore, P.D. (2004) *PLoS Biol.*, **2**, E98.
137. Krutzfeldt, J., Rajewsky, N., Braich, R., Rajeev, K.G., Tuschl, T., Manoharan, M., and Stoffel, M. (2005) *Nature*, **438**, 685–689.
138. Orom, U.A., Kauppinen, S., and Lund, A.H. (2006) *Gene*, **372**, 137–141.
139. Elbashir, S.M., Lendeckel, W., and Tuschl, T. (2001) *Genes Dev.*, **15**, 188–200.
140. Sharp, P.A. (2001) *Genes Dev.*, **15**, 485–490.
141. Sijen, T., Fleenor, J., Simmer, F., Thijssen, K.L., Parrish, S., Timmons, L., Plasterk, R.H., and Fire, A. (2001) *Cell*, **107**, 465–476.
142. Bernstein, E., and Allis, C.D. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 1635–1655.
143. Verdell, A., Jia, S., Gerber, S., Sugiyama, T., Gygi, S., Grewal, S.I., and Moazed, D. (2004) *Science*, **303**, 672–676.
144. Kawasaki, H., and Taira, K. (2004) *Nature*, **431**, 211–217.
145. Morris, K.V., Chan, S.W., Jacobsen, S.E., and Looney, D.J. (2004) *Science*, **305**, 1289–1292.
146. Hamilton, A., Voynet, O., Chappell, L., and Baulcombe, D. (2002) *EMBO J.*, **21**, 4671–4679.
147. Кленов М.С., Гвоздев В.А. (2005) *Биохимия*, **70**, 1187–1198.
148. Гвоздев В.А. (2003), *Генетика*, **39**, 151–156.
149. Аравин А.А., Вагин В.В., Наумова Н.М., Розовский Я.М., Кленов М.С., Гвоздев В.А. (2002) *Онтогенез*, **33**, 349–360.
150. Аравин А.А., Кленов М.С., Вагин В.В., Розовский Я.М., Гвоздев В.А. (2002) *Молекуляр. биология*, **36**, 240–251.
151. Djikeng, A., Shi, H., Tschudi, C., and Ullu, E. (2001) *RNA*, **7**, 1522–1530.
152. Sijen, T., and Plasterk, R.H. (2003) *Nature*, **426**, 310–314.
153. Aravin, A.A., Lagos-Quintana, M., Yalcin, A., Zavolan, M., Marks, D., Snyder, B., Gaasterland, T., Meyer, J., and Tuschl, T. (2003) *Dev. Cell*, **5**, 337–350.
154. Mette, M.F., van der Winden, J., Matzke, M., and Matzke, A.J. (2002) *Plant. Physiol.*, **130**, 6–9.
155. Llave, C., Kasschau, K.D., Rector, M.A., and Carrington, J.C. (2002) *Plant. Cell*, **14**, 1605–1619.
156. Chen, P.Y., Manninga, H., Slanchev, K., Chien, M., Russo, J.J., Ju, J., Sheridan, R., John, B., Marks, D.S., Gaidatzis, D., Sander, C., Zavolan, M., and Tuschl, T. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 1288–1293.
157. Watanabe, T., Takeda, A., Tsukiyama, T., Mise, K., Okuno, T., Sasaki, H., Minami, N., and Imai, H. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 1732–1743.
158. Brennecke, J., Aravin, A.A., Stark, A., Dus, M., Kellis, M., Sachidanandam, R., and Hannon, G.J. (2007) *Cell*, **128**, 1089–1103.
159. Aravin, A.A., Sachidanandam, R., Girard, A., Fejes-Toth, K., and Hannon, G.J. (2007) *Science*, **316**, 744–747.
160. Aravin, A., Gaidatzis, D., Pfeffer, S., Lagos-Quintana, M., Landgraf, P., Iovino, N., Morris, P., Brownstein, M.J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Chien, M., Russo, J.J., Ju, J., Sheridan, R., Sander, C., Zavolan, M., and Tuschl, T. (2006) *Nature*, **442**, 203–207.
161. Girard, A., Sachidanandam, R., Hannon, G.J., and Carmell, M.A. (2006) *Nature*, **442**, 199–202.
162. Talmor-Neiman, M., Stav, R., Klipcan, L., Buxdorf, K., Baulcombe, D.C., and Arazi, T. (2006) *Plant J.*, **48**, 511–521.
163. Vazquez, F., Vaucheret, H., Rajagopalan, R., Lepers, C., Gascioli, V., Mallory, A.C., Hilbert, J.L., Bartel, D.P., and Crete, P. (2004) *Mol. Cell*, **16**, 69–79.
164. Peragine, A., Yoshikawa, M., Wu, G., Albrecht, H.L., and Poethig, R.S. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 2368–2379.
165. Yoshikawa, M., Peragine, A., Park, M.Y., and Poethig, R.S. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 2164–2175.
166. Allen, E., Xie, Z., Gustafson, A.M., and Carrington, J.C. (2005) *Cell*, **121**, 207–221.
167. Van de Sande, K., Pawlowski, K., Czaja, I., Wieneke, U., Schell, J., Schmidt, J., Walden, R., Matvienko, M., Wellink, J., van Kammen, A., Franssen, H., and Bisseling, T. (1996) *Science*, **273**, 370–373.
168. Rohrig, H., Schmidt, J., Miklashevichs, E., Schell, J., and John, M. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 1915–1920.
169. Williams, L., Carles, C.C., Osmont, K.S., and Fletcher, J.C. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 9703–9708.
170. Xie, Z., Allen, E., Wilken, A., and Carrington, J.C. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 12984–12989.
171. Vaucheret, H. (2005) *Sci. STKE*, **2005**, pe43.
172. Hunter, C., Willmann, M.R., Wu, G., Yoshikawa, M., de la Luz Gutierrez-Nava, M., and Poethig, S.R. (2006) *Development*, **133**, 2973–2981.
173. Xie, Z., Johansen, L.K., Gustafson, A.M., Kasschau, K.D., Lellis, A.D., Zilberman, D., Jacobsen, S.E., and Carrington, J.C. (2004) *PLoS Biol.*, **2**, E104.
174. Lau, N.C., Seto, A.G., Kim, J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Bartel, D.P., and Kingston, R.E. (2006) *Science*, **313**, 363–367.
175. Grivna, S.T., Beyret, E., Wang, Z., and Lin, H. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 1709–1714.
176. Carmell, M.A., Girard, A., van de Kant, H.J., Bourc'his, D., Bestor, T.H., de Rooij, D.G., and Hannon, G.J. (2007) *Dev. Cell*, **12**, 503–514.
177. Houwing, S., Kamminga, L.M., Berezikov, E., Cronembold, D., Girard, A., van den Elst, H., Filipov, D.V., Blaser,

- H., Raz, E., Moens, C.B., Plasterk, R.H., Hannon, G.J., Draper, B.W., and Ketting, R.F. (2007) *Cell*, **129**, 69–82.
178. Kuramochi-Miyagawa, S., Kimura, T., Ijiri, T.W., Isobe, T., Asada, N., Fujita, Y., Ikawa, M., Iwai, N., Okabe, M., Deng, W., Lin, H., Matsuda, Y., and Nakano, T. (2004) *Development*, **131**, 839–849.
179. Deng, W., and Lin, H. (2002) *Dev. Cell*, **2**, 819–830.
180. Kirino, Y., and Mourelatos, Z. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 347–348.
181. Ohara, T., Sakaguchi, Y., Suzuki, T., Ueda, H., Miyauchi, K., and Suzuki, T. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 349–350.
182. Yu, B., Yang, Z., Li, J., Minakhina, S., Yang, M., Padgett, R.W., Steward, R., and Chen, X. (2005) *Science*, **307**, 932–935.
183. Li, J., Yang, Z., Yu, B., Liu, J., and Chen, X. (2005) *Curr. Biol.*, **15**, 1501–1507.
184. Czauderna, F., Fechtner, M., Dames, S., Aygun, H., Klippel, A., Pronk, G.J., Giese, K., and Kaufmann, J. (2003) *Nucl. Acids Res.*, **31**, 2705–2716.
185. Ma, J.B., Ye, K., and Patel, D.J. (2004) *Nature*, **429**, 318–322.
186. Vagin, V.V., Sigova, A., Li, C., Seitz, H., Gvozdev, V., and Zamore, P.D. (2006) *Science*, **313**, 320–324.
187. Cox, D.N., Chao, A., and Lin, H. (2000) *Development*, **127**, 503–514.
188. Saito, K., Nishida, K.M., Mori, T., Kawamura, Y., Miyoshi, K., Nagami, T., Siomi, H., and Siomi, M.C. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 2214–2222.
189. Gunawardane, L.S., Saito, K., Nishida, K.M., Miyoshi, K., Kawamura, Y., Nagami, T., Siomi, H., and Siomi, M.C. (2007) *Science*, **315**, 1587–1590.
190. Cox, D.N., Chao, A., Baker, J., Chang, L., Qiao, D., and Lin, H. (1998) *Genes Dev.*, **12**, 3715–3727.
191. Lin, H., and Spradling, A.C. (1997) *Development*, **124**, 2463–2476.
192. Savitsky, M., Kwon, D., Georgiev, P., Kalmykova, A., and Gvozdev, V. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 345–354.
193. Kalmykova, A.I., Klenov, M.S., and Gvozdev, V.A. (2005) *Nucl. Acids Res.*, **33**, 2052–2059.
194. Sarot, E., Payen-Groschene, G., Bucheton, A., and Pelisson, A. (2004) *Genetics*, **166**, 1313–1321.
195. O'Donnell, K.A., and Boeke, J.D. (2007) *Cell*, **129**, 37–44.
196. Lin, H. (2007) *Science*, **316**, 397.
197. Davis, C.A., and Ares, M., Jr. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 3262–3267.
198. Kramerov, D., and Vassetzky, N. (2005) *Int. Rev. Cytol.*, **247**, 165–221.
199. Krayev, A.S., Kramerov, D.A., Skryabin, K.G., Ryskov, A.P., Bayev, A.A., and Georgiev, G.P. (1980) *Nucl. Acids Res.*, **8**, 1201–1215.
200. Deininger, P.L., Jolly, D.J., Rubin, C.M., Friedmann, T., and Schmid, C.W. (1981) *J. Mol. Biol.*, **151**, 17–33.
201. Ullu, E., and Tschudi, C. (1984) *Nature*, **312**, 171–172.
202. Quentin, Y. (1994) *Genetica*, **93**, 203–215.
203. Fornace, A.J., Jr., and Mitchell, J.B. (1986) *Nucl. Acids Res.*, **14**, 5793–5811.
204. Liu, W.M., Chu, W.M., Choudary, P.V., and Schmid, C.W. (1995) *Nucl. Acids Res.*, **23**, 1758–1765.
205. Chu, W.M., Ballard, R., Carpick, B.W., Williams, B.R., and Schmid, C.W. (1998) *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 58–68.
206. Rubin, C.M., Kimura, R.H., and Schmid, C.W. (2002) *Nucl. Acids Res.*, **30**, 3253–3261.
207. Li, T.H., and Schmid, C.W. (2001) *Gene*, **276**, 135–141.
208. Novoa, I., and Carrasco, L. (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 2445–2454.
209. Serdobova, I.M., and Kramerov, D.A. (1998) *J. Mol. Evol.*, **46**, 202–214.
210. Allen, T.A., Von Kaenel, S., Goodrich, J.A., and Kugel, J.F. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 816–821.
211. Espinoza, C.A., Allen, T.A., Hieb, A.R., Kugel, J.F., and Goodrich, J.A. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 822–829.
212. Martignetti, J.A., and Brosius, J. (1995) *Mol. Cell. Biol.*, **15**, 1642–1650.
213. Kim, J., Martignetti, J.A., Shen, M.R., Brosius, J., and Deininger, P. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 3607–3611.
214. Lewejohann, L., Skryabin, B.V., Sachser, N., Prehn, C., Heiduschka, P., Thanos, S., Jordan, U., Dell'omo, G., Vysotski, A.L., Pleskacheva, M.G., Lipp, H.P., Tiedge, H., Brosius, J., and Prior, H. (2004) *Behav. Brain Res.*, **154**, 273–289.
215. Tiedge, H., Chen, W., and Brosius, J. (1993) *J. Neurosci.*, **13**, 2382–2390.
216. Ludwig, A., Rozhdetsvensky, T.S., Kuryshev, V.Y., Schmitz, J., and Brosius, J. (2005) *J. Mol. Biol.*, **350**, 200–214.
217. Khanam, T., Rozhdetsvensky, T.S., Bundman, M., Galiveti, C.R., Handel, S., Sukonina, V., Jordan, U., Brosius, J., and Skryabin, B.V. (2007) *Nucl. Acids Res.*, **35**, 529–539.
218. Muslimov, I.A., Santi, E., Homel, P., Perini, S., Higgins, D., and Tiedge, H. (1997) *J. Neurosci.*, **17**, 4722–4733.
219. Johnson, E.M., Kinoshita, Y., Weinreb, D.B., Wortman, M.J., Simon, R., Khalili, K., Winckler, B., and Gordon, J. (2006) *J. Neurosci. Res.*, **83**, 929–943.
220. Wang, H., Iacoangeli, A., Lin, D., Williams, K., Denman, R.B., Hellen, C.U., and Tiedge, H. (2005) *J. Cell. Biol.*, **171**, 811–821.
221. Zalfa, F., Adinolfi, S., Napoli, I., Kuhn-Holsken, E., Urlaub, H., Achsel, T., Pastore, A., and Bagni, C. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 33403–33410.
222. Schoeniger, L.O., and Jelinek, W.R. (1986) *Mol. Cell. Biol.*, **6**, 1508–1519.
223. Gogolevskaya, I.K., Koval, A.P., and Kramerov, D.A. (2005) *Mol. Biol. Evol.*, **22**, 1546–1554.
224. Gogolevskaya, I.K., and Kramerov, D.A. (2002) *J. Mol. Evol.*, **54**, 354–364.
225. Borchert, G.M., Lanier, W., and Davidson, B.L. (2006) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **13**, 1097–1101.

NONCODING RNAs

J. A. Makarova, D. A. Kramerov

*V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology,
Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32,
Moscow 119991, Russia; fax: (495) 135-1405,
E-mail: makarova@eimb.ru; kramerov@eimb.ru*

Received June 5, 2007

Studies on non-protein-coding RNAs (ncRNAs) have made substantial progress in the last decade. Due to the development of new experimental approaches, a wide variety of such molecules have been found. In this review, major groups of eukaryotic ncRNAs successfully studied in recent years are considered. For example, snoRNAs and scaRNAs involved in RNA modification as well as miRNAs, siRNAs, tasiRNAs, and piRNAs participating in RNA silencing are discussed. The transcripts of SINEs and SINE-like genes are considered in particular.

Key words: ncRNA, SRA RNA, 7SK RNA, NRSE RNA, snoRNA, scaRNA, miRNA, tasiRNA, piRNA, BC1 RNA, BC200 RNA, 4.5S RNA