



УДК 577.29'112

МНОГОГРАННАЯ РОЛЬ БЕЛКОВ СПЛАЙСОСОМЫ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ

© 2019 г. К. С. Ануфриева*, **, ***, #, В. О. Шендер*, **, Г. П. Арапиди*, **, ***, М. А. Лагарькова**, В. М. Говорун*, **, ***

*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10

**ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

***Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

Поступила в редакцию 11.05.2018 г.

После доработки 13.05.2018 г.

Принята к публикации 15.05.2018 г.

Сплайсосома в эукариотических клетках необходима для удаления интронных последовательностей (сплайсинга) в транскрибируемых предшественниках мРНК. В процесс сплайсинга пре-мРНК вовлечено более 200 белков, которые, координируя альтернативный сплайсинг большинства эукариотических генов, участвуют в регуляции множества важных клеточных процессов. Однако появляется все больше исследований, в которых продемонстрированы функции белков сплайсосомы, напрямую не связанные с процессом сплайсинга: (I) ДНК-репарация, (II) образование R-петель, (III) удлинение теломера, (IV) экспорт мРНК из ядра, (V) регуляция M-фазы. В обзоре будут обобщены данные о неканонических функциях белков сплайсосомы. Принимая во внимание тот факт, что в опухолевых клетках часто обнаруживаются мутации в сплайсинговых генах, тщательное исследование неканонических функций, которые могут вносить вклад в неопластическую трансформацию, является перспективным для разработки эффективных методов лечения онкологических заболеваний, а также для создания препаратов, задерживающих клеточное старение.

Ключевые слова: сплайсинг пре-мРНК, белки сплайсосомы

DOI: 10.1134/S0132342319010032

ВВЕДЕНИЕ

Сплайсинг пре-мРНК – это широко распространенный и чрезвычайно гибкий процесс в клетке, позволяющий быстро изменить представленность транскриптов, а, вследствие этого, разнообразить протеом клетки [1–3]. Сплайсинг пре-мРНК катализируется сплайсосомой, которая представляет собой высоко динамичную структуру и состоит из рибонуклеопротеиновых комплексов, которые, в свою очередь, содержат ряд малых ядерных РНК и около 200 белков [4]. Большая часть этих белков является регуляторами сплайсинга [1]. Несмотря на то что сплайсинг катализируется малыми ядерными РНК [5], правильное узнавание сайтов сплайсинга осуществляется за счет РНК-белковых и белок-белковых взаимодействий. В зависимости от набора белков, которые в данный момент времени входят в состав сплайсосомы, экзоны способны сшиваться по-разному [6]. Это может приводить к появле-

нию новых изоформ белков – такой процесс называется альтернативным сплайсингом.

Альтернативный сплайсинг регулируется сложной сетью взаимодействий сплайсинговых факторов со специфическими участками мРНК. Сплайсинговые факторы могут являться активаторами или репрессорами. Существует два семейства сплайсинговых факторов – семейство SR (serin/arginine rich proteins) и гетерогенных ядерных рибонуклеопротеинов (hnRNP). SR-белки на N-конце содержат один или два РНК-связывающих мотива, которые обеспечивают специфическое взаимодействие с молекулами РНК, а C-конец включает домен, обогащенный аргинином и серином, что необходимо для белок-белковых взаимодействий. hnRNP также имеют несколько РНК-связывающих мотивов и содержат неструктурированные домены, которые, возможно, участвуют в белок-белковых взаимодействиях. Считается, что SR-белки усиливают сплайсинг, а hnRNP – подавляют, но, в зависимости от контекста, один и тот же белок может как подавлять, так и активи-

Автор для связи: (тел.: +7 (915) 108-89-68; эл. почта: anufrieva@phystech.edu).

ровать сплайсинг, приводя к возникновению сложных регуляторных отношений [1].

До недавнего времени считалось, что единственной функцией белков сплайсосомы является процессинг пре-мРНК. Однако новые данные свидетельствуют о том, что белки сплайсосомы имеют целый ряд неожиданных функций, не связанных с процессом сплайсинга.

Действительно, было показано, что некоторые белки сплайсосомы участвуют в репарации ДНК или накапливаются в местах повреждения ДНК. В дополнение к непосредственному участию в репарации ДНК [7], белки сплайсосомы включены в поддержание стабильности генома при помощи регуляции образования R-петель [8] и репликации теломер [7]. Предотвращение повреждений ДНК – это приоритетный процесс для клетки, поскольку целостность генома является определяющим фактором выживаемости [9]. Совмещение функций белков сплайсосомы как регуляторов стабильности генома и как участников альтернативного сплайсинга, безусловно, возможно только благодаря их взаимодействию не только с хроматином [10, 11], но и с транскрибируемыми мРНК, что, по-видимому, позволяет им эффективно координировать работу и быстро переключаться между различными функциями, в соответствии с мгновенными потребностями клетки.

Кроме того, было продемонстрировано, что белки сплайсосомы активно участвуют в регуляции M-фазы клеточного цикла независимо от своих основных функций [12, 13]. Митоз является строго регулируемым процессом, потому что потеря контроля над процессом деления ведет к неопластической трансформации клетки. Переход клетки в M-фазу и сам процесс митоза усиленно контролируются многими межмолекулярными взаимодействиями для предотвращения геномной нестабильности [14]. Неудивительно, что механизм контроля M-фазы клеточного цикла тесно связан с активностью белков сплайсосомы.

Продемонстрировано также, что белки сплайсосомы могут регулировать уровень экспрессии генов, контролируя не только процессинг мРНК, но и экспорт мРНК из ядра в цитоплазму [15].

Таким образом, новые знания о неканонических функциях белков сплайсосомы приводят к пониманию того, что сплайсинговые факторы способны напрямую или косвенно регулировать рост и выживание клеток. В связи с этим, мутации, возникающие в белках сплайсосомы, могут приводить к нарушению контроля клеточного цикла и целостности генома, что часто наблюдается при злокачественных новообразованиях.

РОЛЬ БЕЛКОВ СПЛАЙСОСОМЫ В РЕПАРАЦИИ ДНК

ДНК клетки постоянно подвергается повреждениям из-за ошибок репликации, укорочения теломер и множества экзогенных факторов, воздействующих на ДНК, таких как УФ-излучение, токсины, активные формы кислорода [16]. В ходе эволюции у млекопитающих развилась сложная сеть сигнальных путей и механизмов репарации ДНК, позволяющих клетке справляться с различными повреждениями ДНК и поддерживать геномную стабильность [17]. Для быстрого распознавания участков повреждений ДНК клетке необходимо локально останавливать транскрипцию и обеспечивать доступ белков репарации к поврежденной ДНК. Учитывая, что на участках повреждения ДНК транскрипция остановлена [18], можно ожидать, что ассоциация компонентов сплайсосомы с этими участками будет уменьшаться. Однако множество исследований показывает, что различные белки сплайсосомы привлекаются к разрывам ДНК, что подчеркивает важную роль этих белков в репарации ДНК.

В ряде случаев локализация белков сплайсосомы вблизи участков повреждения ДНК зависит от ферментов, катализирующих поли-ADP-рибозилирование. Poly(ADP-Rib)-полимеразы (PARP) осуществляют свои функции на ранних стадиях репарации ДНК, они присоединяют poly(ADP-Rib) (PAR) к белкам хроматина. Белки, участвующие в восстановлении ДНК, распознают цепи PAR на белках хроматина и связываются с ними посредством PAR-связывающего домена. Было показано, что несколько белков сплайсосомы имеют родство к PAR, что позволяет данным белкам сплайсосомы привлекаться в места повреждения ДНК (рис. 1а, справа). Белки сплайсосомы, такие как RBMX [19], NONO [20], FUS [21], hnRNPU [22], ассоциированы с разрывами ДНК посредством взаимодействия с poly(ADP-Rib)-полимером.

Уменьшение копийности мРНК RBMX увеличивает чувствительность клетки к ДНК-повреждающими агентам, а у FUS-дефицитных мышей наблюдается повышенная чувствительность к радиотерапии [23]. Роль белка FUS в восстановлении ДНК заключается в его способности привлекать белок гистон-деацетилазу 1 (HDAC1), чье рекрутирование и стабильное удержание на месте разрыва ДНК необходимо для ее правильного восстановления [24, 25]. Наследственные мутации в гене FUS, связанные с амиотрофическим боковым склерозом, приводят к менее эффективному взаимодействию с HDAC1, в результате чего дефектный белок FUS не способен восстанавливать ДНК [24].

Еще одним белком сплайсосомы, участвующим в восстановлении одноцепочечных разрывов ДНК, является фактор 19, процессирующий

пре-мРНК (PRP19), являющийся убиквитинлигазой E3. PRP19 непосредственно связывается с репликативным белком A (RPA) и локализуется вместе с ним на сайтах повреждения ДНК (рис. 1а, слева). RPA связывается с одноцепочечной ДНК и координирует репликацию, рекомбинацию и восстановление ДНК [26]. Комплекс, состоящий из одноцепочечной ДНК, связанной с белком RPA, является промежуточным звеном в восстановлении ДНК и ключевой структурой, которая активирует белок ATR (атаксия-телеангиэктазия и Rad3-родственный белок) [27]. Показано, что после одноцепочечного повреждения ДНК PRP19 способствует убиквитинилированию RPA и накоплению белка, взаимодействующего с ATR (ATRIP), в местах повреждения ДНК, активируя, таким образом, ATR [28]. Более того, мутации белка PRP19, нарушающие связывание с RPA или функционирование PRP19 как убиквитинлигазы E3, ухудшают процесс репарации при повреждении ДНК. Таким образом, активация ATR и восстановление одноцепочечных разрывов в клетке управляется механизмом, опосредованным убиквитинилированием белка RPA белком PRP19 [28].

Белок сплайсосомы SFPQ способен связываться с участком ДНК, поврежденным ионизирующим излучением [29]. SFPQ участвует в сращивании концов ДНК при двуцепочечных разрывах [30–32]. Также было показано, что взаимодействие SFPQ с белком RAD51 увеличивает активность рекомбиназы в области двуцепочечных разрывов при восстановлении ДНК с помощью гомологичной рекомбинации [33]. Понижение представленности белка SFPQ в клетке усиливало клеточную чувствительность к сшивающим и алкилирующим агентам и понижало эффективность репарации ДНК методом гомологичной рекомбинации [31]. SFPQ связывается с ядерным матриксом и белком сплайсосомы MATR3, инактивация экспрессии MATR3 увеличивает задержку SFPQ на участках повреждения ДНК [29].

Посттрансляционная ковалентная модификация белков после повреждения ДНК играет решающую роль в ответе клетки на генотоксический стресс [34]. Было показано, что препараты, повреждающие ДНК, вызывают масштабные посттрансляционные модификации у белков сплайсосомы, такие как сумоилирование, ацетилирование, фосфорилирование [35–40]. Тем не менее, все эти факты не обязательно подразумевают наличие у белков сплайсосомы непосредственной функции репарации ДНК. Эти изменения могут быть частью стратегии координации репарации ДНК в клетке.

СПЛАЙСИНГОВЫЕ ФАКТОРЫ – РЕГУЛЯТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ R-ПЕТЕЛЬ

РНК-ДНК-гибридные структуры (R-петли), которые образуются во время транскрипции, также могут влиять на стабильность генома. R-петля – структура, которая во время транскрипции частично или полностью гибридизуется с одноцепочечной ДНК, оставляя при этом другую цепь ДНК не спаренной. Неспаренная цепь ДНК в R-петлях подвержена повреждениям [41]. Несмотря на то что образование R-петель пагубно влияет на целостность генома, R-петли могут быть потенциальными регуляторами экспрессии генов. Например, R-петли, образованные в GC-богатых участках, находящихся после промоторной области, защищают эти участки от метилирования, способствуя при этом экспрессии гена [42, 43]. Образование R-петель на 3'-концах генов может влиять и на эффективную терминацию транскрипции. R-петли формируются в G-богатых областях терминации, способствуя остановке РНК-полимеразы [44]. Таким образом, баланс образования и разрушения R-петель в клетке имеет важное значение для сохранения целостности генома и регуляции экспрессии генов. Этот баланс поддерживают белки сплайсосомы. Взаимодействие сплайсинговых факторов с РНК может препятствовать образованию R-петель [45, 46] как минимум посредством двух механизмов (рис. 1б).

Первый механизм (рис. 1б, справа) опосредован прямой функцией белков сплайсосомы, которые взаимодействуют с РНК и не дают одноцепочечной ДНК связаться с ней. Появление R-петель в клетках человека было экспериментально подтверждено после снижения представленности нескольких сплайсинговых факторов в клетке, а именно SRSF1, SRSF2, SRSF3, AQR, SRPK2, SNRPA1 [45, 47–49]. Удаление этих факторов приводит к нестабильности генома и репликативному стрессу. В исследовании Шэфика [49] было показано, что весь рибонуклеопротеидный комплекс U2 важен для предотвращения образования R-петель в геноме.

Второй механизм (рис. 1б, слева) опосредован способностью белков сплайсосомы взаимодействовать с ДНК-топоизомеразой 1 (TOP1). TOP1 управляет топологией ДНК во время ее транскрипции и репликации и может предотвращать накопление R-петель [50, 51]. Снижение представленности TOP1 вызывает повреждения ДНК и дефекты репликации, вызванные увеличением количества R-петель. Один из возможных механизмов заключается в том, что TOP1 привлекает белки сплайсосомы к сайтам образования R-петель [52]. Так, было показано, что ингибирование активности белков TOP1 или SRSF1 по-отдельности приводило к повреждениям ДНК, в то время как одновременное снижение представленности

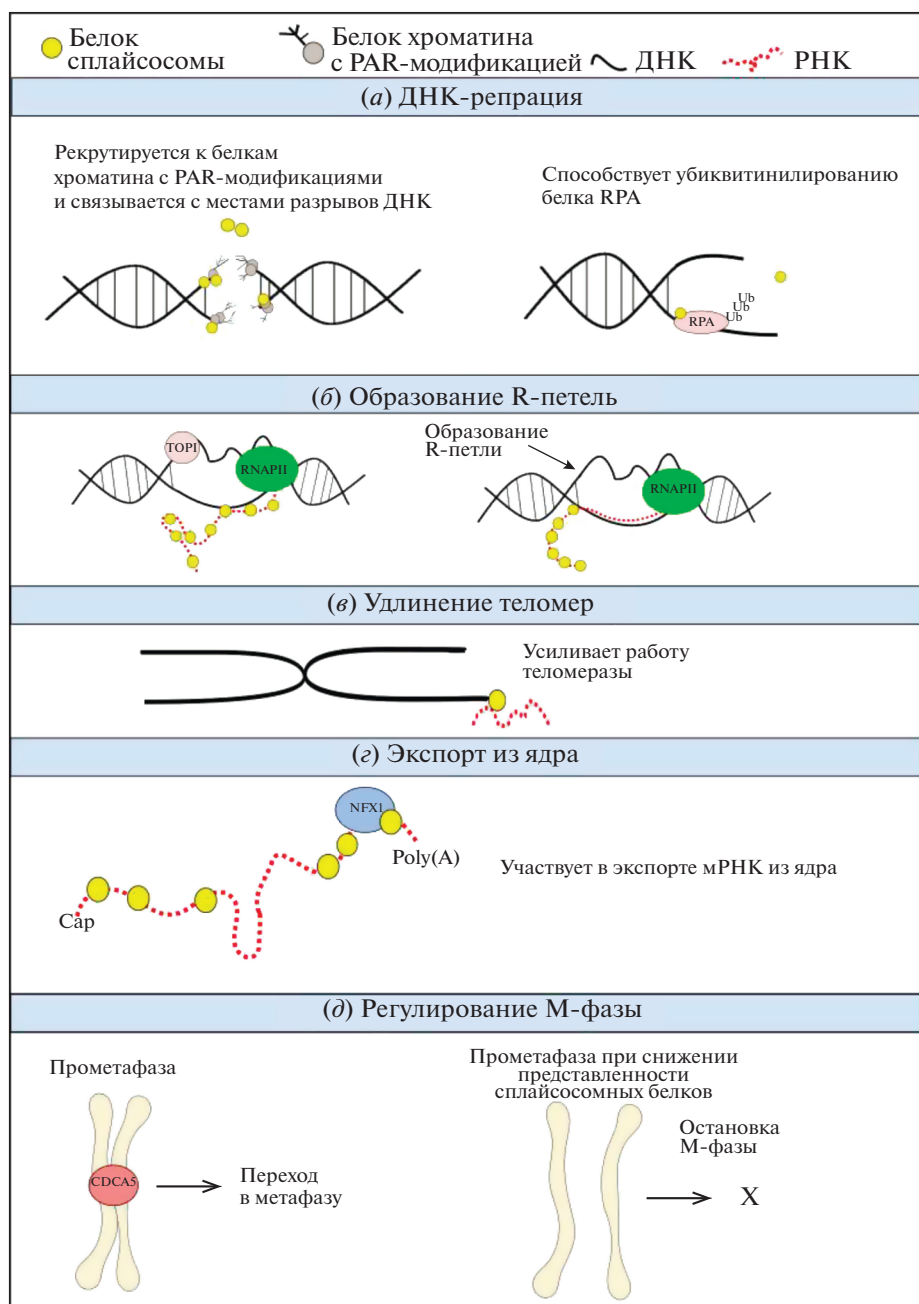


Рис. 1. Неканонические функции белков сплайсосомы. На рисунке схематично отображены основные механизмы, описанные в тексте. Порядок описания механизмов на рисунке соответствует порядку описания их в тексте.

сти обоих белков не оказывало аддитивного эффекта, что указывает на вовлеченность обоих белков в один и тот же путь предотвращения геномной нестабильности в S-фазе [52]. Взаимодействие с топоизомеразой I было продемонстрировано для сплайсинговых факторов SRSF1, r54nrb, PSF, HuR, hnRNPs A2/B1, A1, A0, U, K [53]. Таким образом, эти данные убедительно свидетельствуют о том, что белки сплайсосомы могут играть прямую роль в поддержании стабильности генома.

БЕЛКИ СПЛАЙСОСОМЫ РЕГУЛИРУЮТ УДЛИНЕНИЕ ТЕЛОМЕР

Теломеры защищают концы линейных хромосом от потери генетической информации и представляют собой сложную систему для поддержания целостности хромосом. Репликативное укорочение теломер ведет к клеточному старению, которое, в свою очередь, приводит к прекращению деления клеток. Теломераза, которая добавляет тандемные повторы (TTAGGG) к концам

хромосом, наоборот, удлиняет теломеры, тем самым продлевая жизнь клеток и увеличивая число их делений. Теломераза – это обратная транскриптаза, которая в качестве матрицы для удлинения теломер использует специальную теломеразную РНК (TERRA). Интересно, что, согласно недавним исследованиям, несколько сплайсинговых факторов участвуют в защите и репликации теломер. Эти исследования раскрывают еще одну функцию сплайсинговых факторов как защитников целостности генома.

Первые данные, свидетельствующие о роли сплайсинговых факторов в регуляции репликации теломер, были получены в исследовании [54], в котором при понижении представленности белка hnRNPA1 сплайсосомы наблюдали укорочение теломер. Было показано, что hnRNPA1 связывается с теломерными последовательностями ДНК, повышает активность теломеразы и участвует в удлинении теломер, а также облегчает удаление репликативного белка А (RPA) из одноцепочечной теломерной ДНК [54–57]. Согласно другим работам, hnRNPA1 участвует в репликации теломер, помогая размыканию G-квадруплексов [56]. Эти экспериментальные данные можно объяснить тем, что консенсусный мотив hnRNPA1 похож на последовательность теломеразной РНК (TERRA). Возможно, поэтому появляется все больше исследований, подтверждающих важную роль hnRNPA1 в функционировании как теломерных РНК [58], так и самой теломеразы (hTR) [59, 60].

Несколько других сплайсинговых факторов – hnRNPC и hnRNPU, также способны аффинно связываться с комплексом теломеразы [61], а белки hnRNPA/B и hnRNPF связываются с теломерной РНК (TERRA) [58], контролируя ее количество и локализацию. Белки сплайсосомы, не являющиеся членами семейства гетерогенных ядерных рибонуклеопротеинов, например, FUS, также участвуют в регуляции теломер. FUS взаимодействует с G-квадруплексом, образованным теломерной ДНК и TERRA, усиливая действие теломеразы (рис. 1в) [62].

Давно известным фактом является то, что уменьшение длины теломер непосредственно связано с клеточным старением. Однако совсем недавно удалось установить, что в стареющих клетках происходит изменение экспрессии сплайсосомных генов [63]. Изменение экспрессии более одной трети сплайсинговых факторов наблюдалось в стареющих первичных фибробластах и эндотелиальных клетках человека [63]. Более того, восстановление экспрессии сплайсосомных генов в стареющих клетках позволило исследователям задержать и предотвратить клеточное старение первичных фибробластов человека [64]. Восстановление экспрессии сплайсинговых факторов также способствовало

удлинению теломер в стареющих фибробластах [64]. Таким образом, неканоническая роль белков сплайсосомы в репликации теломер может служить перспективной мишенью для создания препаратов, задерживающих клеточное старение.

СПЛАЙСИНГОВЫЕ ФАКТОРЫ УЧАСТВУЮТ В ЯДЕРНОМ ЭКСПОРТЕ мРНК

Уровень экспрессии генов регулируется не только в процессе транскрипции и процессинга мРНК, но и за счет контроля экспорта мРНК из ядра в цитоплазму [15]. После выхода в цитоплазму мРНК становятся доступными для трансляции, но при этом некоторые мРНК могут быть эффективнее экспортированы в цитоплазму, благодаря наличию определенных мотивов в не-транслируемых областях этих транскриптов [65]. Одинаковый уровень наработки некоторых транскриптов, но разная эффективность транспорта в цитоплазму приводят к изменениям в протеоме клетки. Наиболее распространенными транспортерами мРНК являются белки NXF1 [66, 67] и CRM1 [65, 68]. Недавние исследования убедительно продемонстрировали, что белки сплайсосомы тоже являются транспортерами мРНК в цитоплазму, взаимодействуя с белком NXF1 [69] (рис. 1з).

Впервые перемещение белков сплайсосомы серин-аргининового семейства (SR) между ядром и цитоплазмой были показаны на клеточных линиях HeLa и 293T [70, 71]. Недавно было установлено, что белки сплайсосомы семейства SR являются непосредственными участниками экспорта мРНК из ядра [72]. Основываясь на этих и других исследованиях, 12 канонических SR-белков были разделены на участвующие (SRSF1, SRSF3, SRSF4, SRSF6, SRSF7 и SRSF10) и не участвующие (SRSF2, SRSF5, SRSF8, SRSF9, SRSF11 и SRSF12) в экспорте мРНК [73]. Белки SRSF1, SRSF3, SRSF7 и SRSF10 перемещаются между ядром и цитоплазмой с высокой скоростью, в отличие от белков SRSF4 и SRSF6 [74–76]. Однако, впоследствии Ботти с коллегами показали, что, хотя белки SRSF2 и SRSF5 не являются экспортерами мРНК в клеточной линии HeLa, они активно участвуют в транспорте мРНК в плюрипотентных клетках эмбриональной карциномы мыши P19. Этими же авторами установлено, что нейронная дифференцировка клеток P19 ведет к значительному снижению свойств SRSF5 как белка-транспортера [77].

SR-белки, наряду с белком NXF1, играют важную роль адаптеров для экспорта мРНК из ядра в цитоплазму [69]. В частности, при нокдауне SR-генов, в цитоплазме снизилась представленность, в общей сложности, более чем 1000 мРНК, что свидетельствует о необходимости для экспорта этих мРНК специфических SR-белков [78]. Белки

SRSF3 и SRSF7 способствуют взаимодействию NXF1 с мРНК [78], а именно, NXF1 связывается с мРНК в непосредственной близости к сайтам связывания SR-белков. Например, SRSF3 и NXF1 часто совместно связываются с 3'-концом транскрипта [78]. Примечательно, что NXF1 не имеет собственных специфических мотивов для связывания с мРНК, однако, в исследовании Мюллера-МакНиколла [78] было показано, что мотивы связывания NXF1 аналогичны мотивам связывания SRSF3. Эти наблюдения поддерживают гипотезу о совместном действии SR-белков и NXF1 после альтернативного сплайсинга для содействия эффективному экспорту полностью процессированных мРНК.

БЕЛКИ СПЛАЙСОСОМЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Роль отдельных сплайсинговых факторов в регуляции клеточного цикла была показана в многочисленных исследованиях [79–83]. Однако только несколько глобальных работ подтверждают данную взаимосвязь. Для выявления белков, участвующих в самом делении клеток или в его регуляции, Киттлер с коллегами [84] провели широкомасштабный скрининг с помощью различных интерферирующих РНК (siRNA-скрининг), в результате которого было выяснено, что большинство белков сплайсосомы необходимы для правильного деления клеток. При валидации этого скрининга с использованием видеомикроскопии, детально визуализирующей пространственные и временные изменения процессов митоза и цитокинеза, авторы обнаружили, что нокаут экспрессии семи сплайсосомных генов вызывает серьезные проблемы в регуляции клеточного цикла, а также аномалии деления клеток.

Позднее, та же группа исследователей [85, 86] провела глобальный siRNA-скрининг для выявления генов, участвующих в прогрессии клеточного цикла и в клеточном делении. Выяснилось, что нокаут 18 сплайсосомных генов приводил к аресту клеточного цикла в G1- и S-фазах, но преимущественно в M-фазе. Однако эти работы не дали конкретного ответа о точных молекулярных механизмах регуляции клеточного цикла белками сплайсосомы.

Было отмечено, что дефекты в альтернативном сплайсинге приводят к неправильному расхождению хромосом во время митоза [12]. Понижение представленности белков сплайсосомы вызывает задержку клеток на стадии прометафазы, и хромосомы неправильно присоединяются к веретену деления (рис. 1d). На основании недавних исследований высказано предположение, что процесс когезии сестринских хроматид особенно чувствителен к снижению представленности компонентов сплайсосомы [13, 87–89]. Процесс когезии

сестринских хроматид важен для ориентации хромосом в митотическом веретене деления. Потеря субъединиц сплайсосомы увеличивает скорость диссоциации комплекса когезина с хроматином, в результате этого происходит расщепление сестринских хроматид, что, в конечном итоге, приводит к неисправностям клеточного деления.

Точный механизм, в результате которого нокаут белков сплайсосомы ведет к нарушению когезии сестринских хроматид, не известен. Существует версия, что снижение представленности сплайсинговых факторов опосредует неправильное процессирование белка, кодируемого геном *CDCA5* (Sorogin), необходимого для стабильной ассоциации когезина с хроматином [13]. Это, в свою очередь, ведет к снижению представленности функционального белка *CDCA5* в клетке, что, при этом, значительно коррелирует с удержанием интрона в этом гене. Происходящие одновременно – наработка в клетке безинтронного транскрипта *CDCA5* и понижение представленности белка-регулятора когезии сестринских хроматид *WAPL*, восстанавливают надлежащее сцепление сестринских хроматид, вызванное недостатком белков сплайсосомы в клетке [13].

Примечательным является тот факт, что белки сплайсосомы, недостаток которых вызывает дефект когезии сестринских хроматид, принадлежат разным комплексам сплайсосомы и участвуют на разных этапах альтернативного сплайсинга [12]. Тот факт, что компоненты разных комплексов сплайсосомы необходимы для когезии предполагает, что альтернативный сплайсинг, в целом, может быть причиной потери когезии сестринских хроматид.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспрессия абберантных форм транскриптов и возникновение мутаций в белках сплайсосомы являются факторами, способствующими развитию различных заболеваний. Нарушение альтернативного сплайсинга особенно характерно для опухолевых клеток. В последние годы было создано множество лекарственных препаратов, направленных на уменьшение активности сплайсосомы или активности белков, образованных в результате альтернативного сплайсинга. Например, ингибиторы сплайсинга (Сплайсостатин А, Пладиенолид В) в доклинических и клинических исследованиях показали себя как перспективные химиопрепараты для лечения онкологических заболеваний. Было доказано, что эти низкомолекулярные ингибиторы эффективно убивают раковые клетки как *in vitro* [90, 91], так и *in vivo*, однако в клинических испытаниях I фазы были выявлены множественные побочные эффекты из-за высокой токсичности соединений [92].

Тем не менее, представленные в данном обзоре неканонические функции белков сплайсосомы также необходимо учитывать с точки зрения их онкогенного потенциала. Так, например, функции белков сплайсосомы, опосредующие регуляцию стабильности генома, представляют собой перспективную мишень для разработки новых терапевтических подходов, которые могут быть использованы в комбинированной терапии для увеличения радио- или химиочувствительности опухолевых клеток. Возможно, такая комбинированная терапия позволит снизить терапевтические дозы препаратов и избежать побочных эффектов терапии ингибиторами сплайсинга у пациентов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-20205).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dvinge H., Kim E., Abdel-Wahab O., Bradley R.K. // *Nat. Rev. Cancer*. 2016. V. 16. № 7. P. 413–430.
2. Oltean S., Bates D.O. // *Oncogene*. 2014. V. 33. № 46. P. 5311–5318.
3. Dvinge H., Bradley R.K. // *Genome Med*. 2015. V. 7. № 1. P. 45.
4. Hegele A., Kamburov A., Grossmann A., Sourlis C., Wovro S., Weimann M., Will C.L., Pena V., Lührmann R., Stelzl U. // *Mol. Cell*. 2012. V. 45. № 4. P. 567–580.
5. Fica S.M., Tuttle N., Novak T., Li N.-S., Lu J., Koodathingal P., Dai Q., Staley J.P., Piccirilli J.A. // *Nature*. 2013. V. 503. № 7475. P. 229–234.
6. Pagliarini V., Naro C., Sette C. // *Biomed Res. Int*. 2015. V. 2015. P. 543067–543080.
7. Naro C., Bielli P., Pagliarini V., Sette C. // *Front. Genet*. 2015. V. 6. P. 142–152.
8. Chan Y.A., Hieter P., Stirling P.C. // *Trends Genet*. 2014. V. 30. № 6. P. 245–253.
9. Iyama T., Wilson D.M. // *DNA Repair*. 2013. V. 12. № 8. P. 620–636.
10. Sapra A.K., Oesterreich F.C., Pabis M., Listerman I., Bardehle N., Neugebauer K.M. *Alternative pre-mRNA Splicing*. (Weinheim, Germany. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2012. P. 416–427.)
11. Kfir N., Lev-Maor G., Glaich O., Alajem A., Datta A., Sze S.K., Meshorer E., Ast G. // *Cell Rep*. 2015. V. 11. № 4. P. 618–629.
12. Hofmann J.C., Husedzinovic A., Gruss O.J. // *Nucleus*. 2010. V. 1. № 6. P. 447–459.
13. Sundaramoorthy S., Vazquez-Novelle M.D., Lekomtsev S., Howell M., Petronczki M. // *EMBO J*. 2014. V. 33. № 22. P. 2623–2642.
14. Hayashi M.T., Karlseder J. // *Oncogene*. 2013. V. 32. № 39. P. 4593–4601.
15. Delaleau M., Borden K.L.B. // *Cells*. 2015. V. 4. № 3. P. 452–473.
16. Lodish H., Berk A., Lawrence Zipursky S., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell J. *DNA Damage and Repair and Their Role in Carcinogenesis*. (W.H. Freeman. 2000.)
17. Wahl G.M., Carr A.M. // *Nat. Cell Biol*. 2001. V. 3. № 12. P. 277–286.
18. Shanbhag N.M., Rafalska-Metcalf I.U., Balane-Bolivar C., Janicki S.M., Greenberg R.A. // *Cell*. 2010. V. 141. № 6. P. 970–981.
19. Adamson B., Smogorzewska A., Sigoillot F.D., King R.W., Elledge S.J. // *Nat. Cell Biol*. 2012. V. 14. № 3. P. 318–328.
20. Krietsch J., Caron M.-C., Gagné J.-P., Ethier C., Vignard J., Vincent M., Rouleau M., Hendzel M.J., Poirier G.G., Masson J.-Y. // *Nucl. Acids Res*. 2012. V. 40. № 20. P. 10287–10301.
21. Mastrocola A.S., Kim S.H., Trinh A.T., Rodenkirch L.A., Tibbetts R.S. // *J. Biol. Chem*. 2013. V. 288. № 34. P. 24731–24741.
22. Britton S., Dernoncourt E., Delteil C., Froment C., Schiltz O., Salles B., Frit P., Calsou P. // *Nucleic Acids Res*. 2014. V. 42. № 14. P. 9047–9062.
23. Kuroda M., Sok J., Webb L., Baechtold H., Urano F., Yin Y., Chung P., de Rooij D.G., Akhmedov A., Ashley T., et al. // *EMBO J*. 2000. V. 19. № 3. P. 453–462.
24. Wang W.-Y., Pan L., Su S.C., Quinn E.J., Sasaki M., Jimenez J.C., Mackenzie I.R.A., Huang E.J., Tsai L.-H. // *Nat. Neurosci*. 2013. V. 16. № 10. P. 1383–1391.
25. Gong J., Huang M., Wang F., Ma X., Liu H., Tu Y., Xing L., Zhu X., Zheng H., Fang J., et al. // *Nucleic Acids Res*. 2017. V. 45. № 22. P. 12862–12876.
26. Maréchal A., Zou L. // *Cell Res*. 2015. V. 25. № 1. P. 9–23.
27. Zou L., Elledge S.J. // *Science*. 2003. V. 300. № 5625. P. 1542–1548.
28. Maréchal A., Li J.-M., Ji X.Y., Wu C.-S., Yazinski S.A., Nguyen H.D., Liu S., Jiménez A.E., Jin J., Zou L. // *Mol. Cell*. 2014. V. 53. № 2. P. 235–246.
29. Salton M., Lerenthal Y., Wang S.-Y., Chen D.J., Shiloh Y. // *Cell Cycle*. 2010. V. 9. № 8. P. 1568–1576.
30. Kuhnert A., Schmidt U., Monajembashi S., Franke C., Schlott B., Grosse F., Greulich K.O., Saluz H.-P., Hänel F. // *J. Cell. Biochem*. 2012. V. 113. № 5. P. 1744–1753.
31. Rajesh C., Baker D.K., Pierce A.J., Pittman D.L. // *Nucleic Acids Res*. 2011. V. 39. № 1. P. 132–145.
32. Bladen C.L., Udayakumar D., Takeda Y., Dynan W.S. // *J. Biol. Chem*. 2005. V. 280. № 7. P. 5205–5210.
33. Morozumi Y., Takizawa Y., Takaku M., Kurumizaka H. // *Nucleic Acids Res*. 2009. V. 37. № 13. P. 4296–4307.
34. Polo S.E., Jackson S.P. // *Genes Dev*. 2011. V. 25. № 5. P. 409–433.
35. Beli P., Lukashchuk N., Wagner S.A., Weinert B.T., Olsen J.V., Baskcomb L., Mann M., Jackson S.P., Choudhary C. // *Mol. Cell*. 2012. V. 46. № 2. P. 212–225.
36. Edmond V., Moysan E., Khochbin S., Matthias P., Brambilla C., Brambilla E., Gazzeri S., Eymen B. // *EMBO J*. 2011. V. 30. № 3. P. 510–523.
37. Mo Y.-Y., Yu Y., Shen Z., Beck W.T. // *J. Biol. Chem*. 2002. V. 277. № 4. P. 2958–2964.
38. Matsuoka S., Ballif B.A., Smogorzewska A., McDonald E.R. 3rd, Hurov K.E., Luo J., Bakalarski C.E., Zhao Z., Soli-

- mini N., Lerenthal Y., et al.* // Science. 2007. V. 316. № 5828. P. 1160–1166.
39. *Bensimon A., Schmidt A., Ziv Y., Elkon R., Wang S.-Y., Chen D.J., Aebersold R., Shiloh Y.* // Sci. Signal. 2010. V. 3. № 151. P. 1–15.
40. *Leva V., Giuliano S., Bardoni A., Camerini S., Crescenzi M., Lisa A., Biamonti G., Montecucco A.* // Nucleic Acids Res. 2012. V. 40. № 3. P. 1106–1117.
41. *Aguilera A., García-Muse T.* // Mol. Cell. 2012. V. 46. № 2. P. 115–124.
42. *Ginno P.A., Lim Y.W., Lott P.L., Korf I., Chédin F.* // Genome Res. 2013. V. 23. № 10. P. 1590–1600.
43. *Ginno P.A., Lott P.L., Christensen H.C., Korf I., Chüdín F.* // Mol. Cell. 2012. V. 45. № 6. P. 814–825.
44. *Skourti-Stathaki K., Proudfoot N.J., Gromak N.* // Mol. Cell. 2011. V. 42. № 6. P. 794–805.
45. *Li X., Manley J.L.* // Cell. 2005. V. 122. № 3. P. 365–378.
46. *Huertas P., Aguilera A.* // Mol. Cell. 2003. V. 12. № 3. P. 711–721.
47. *Sridhara S.C., Carvalho S., Grosso A.R., Gallego-Paez L.M., Carmo-Fonseca M., de Almeida S.F.* // Cell Rep. 2017. V. 18. № 2. P. 334–343.
48. *Sollner J., Stork C.T., García-Rubio M.L., Paulsen R.D., Aguilera A., Cimprich K.A.* // Mol. Cell. 2014. V. 56. № 6. P. 777–785.
49. *Tanikawa M., Sanjiv K., Helleday T., Herr P., Mortusewicz O.* // Oncogenesis. 2016. V. 5. № 12. P. 1–13.
50. *Shafiq S., Chen C., Yang J., Cheng L., Ma F., Widemann E., Sun Q.* // Mol. Plant. 2017. V. 10. № 6. P. 821–833.
51. *Marinello J., Bertoncini S., Aloisi I., Cristini A., Malagoli Taghiazucchi G., Forcato M., Sordet O., Capranico G.* // PLoS One. 2016. V. 11. № 1. P. 1–18.
52. *Tuduri S., Crabbü L., Conti C., Touriure H., Holtgreve-Grez H., Jauch A., Pantesco V., De Vos J., Thomas A., Theillet C., et al.* // Nat. Cell Biol. 2009. V. 11. № 11. P. 1315–1324.
53. *Czubaty A., Girstun A., Kowalska-Loth B., Trzcicka A.M., Purta E., Winczura A., Grajkowski W., Staroc K.* // Biochim. Biophys. Acta. 2005. V. 1749. № 1. P. 133–141.
54. *LaBranche H., Dupuis S., Ben-David Y., Bani M.R., Wellinger R.J., Chabot B.* // Nat. Genet. 1998. V. 19. № 2. P. 199–202.
55. *Ford L.P., Wright W.E., Shay J.W.* // Oncogene. 2002. V. 21. № 4. P. 580–583.
56. *Zhang Q.-S., Manche L., Xu R.-M., Krainer A.R.* // RNA. 2006. V. 12. № 6. P. 1116–1128.
57. *Flynn R.L., Centore R.C., O'Sullivan R.J., Rai R., Tse A., Songyang Z., Chang S., Karlseder J., Zou L.* // Nature. 2011. V. 471. № 7339. P. 532–536.
58. *Lopez de Silanes I., Stagno d'Alcontres M., Blasco M.A.* // Nat. Commun. 2010. V. 1. P. 33–43.
59. *Le P.N., Maranon D.G., Altina N.H., Battaglia C.L.R., Bailey S.M.* // Front. Oncol. 2013. V. 3. P. 91–105.
60. *Ting N.S.Y., Pohorelic B., Yu Y., Lees-Miller S.P., Beatlie T.L.* // Nucleic Acids Res. 2009. V. 37. № 18. P. 6105–6115.
61. *Fu D., Collins K.* // Mol. Cell. 2007. V. 28. № 5. P. 773–785.
62. *Takahama K., Takada A., Tada S., Shimizu M., Sayama K., Kurokawa R., Oyoshi T.* // Chem. Biol. 2013. V. 20. № 3. P. 341–350.
63. *Holly A.C., Melzer D., Pilling L.C., Fellows A.C., Tanaka T., Ferrucci L., Harries L.W.* // Mech. Ageing Dev. 2013. V. 134. № 9. P. 356–366.
64. *Latorre E., Birar V.C., Sheerin A.N., Jeynes J.C.C., Hooper A., Dawe H.R., Melzer D., Cox L.S., Faragher R.G.A., Ostler E.L., Harries L.W.* // BMC Cell Biol. 2017. V. 18. № 1. P. 31–46.
65. *Carmody S.R., Wente S.R.* // J. Cell Sci. 2009. V. 122. № Pt 12. P. 1933–1937.
66. *Aibara S., Katahira J., Valkov E., Stewart M.* // Nucleic Acids Res. 2015. V. 43. № 3. P. 1883–1893.
67. *Kang Y., Cullen B.R.* // Genes Dev. 1999. V. 13. № 9. P. 1126–1139.
68. *Hutten S., Kehlenbach R.H.* // Trends Cell Biol. 2007. V. 17. № 4. P. 193–201.
69. *Huang Y., Gattoni R., Stévenin J., Steitz J.A.* // Mol. Cell. 2003. V. 11. № 3. P. 837–843.
70. *Sanford J.R., Gray N.K., Beckmann K., Cáceres J.F.* // Genes Dev. 2004. V. 18. № 7. P. 755–768.
71. *Swartz J.E., Bor Y.-C., Misawa Y., Rekosh D., Hammarskjöld M.-L.* // J. Biol. Chem. 2007. V. 282. № 27. P. 19844–19853.
72. *Mikkola M. L.* // Semin. Cell Dev. Biol. 2014. V. 32. P. 11–21.
73. *Hammarskjöld M.-L., Rekosh D.* // J. Cell Biol. 2017. V. 216. № 7. P. 1875–1877.
74. *Cáceres J.F., Sreaton G.R., Krainer A.R.* // Genes Dev. 1998. V. 12. № 1. P. 55–66.
75. *Sapra A.K., Ankö M.-L., Grishina I., Lorenz M., Pabis M., Poser I., Rollins J., Weiland E.-M., Neugebauer K.M.* // Mol. Cell. 2009. V. 34. № 2. P. 179–190.
76. *Cazalla D., Zhu J., Manche L., Huber E., Krainer A.R., Cáceres J.F.* // Mol. Cell. Biol. 2002. V. 22. № 19. P. 6871–6882.
77. *Botti V., McNicoll F., Steiner M.C., Richter F.M., Solovyeva A., Wegener M., Schwich O.D., Poser I., Zarnack K., Wittig I., et al.* // J. Cell Biol. 2017. V. 216. № 7. P. 1993–2009.
78. *Müller-McNicoll M., Botti V., de Jesus Domingues A.M., Brandl H., Schwich O.D., Steiner M.C., Curk T., Poser I., Zarnack K., Neugebauer K.M.* // Genes Dev. 2016. V. 30. № 5. P. 553–566.
79. *Huen M.S.Y., Sy S.M.H., Leung K.M., Ching Y.-P., Tipoe G.L., Man C., Dong S., Chen J.* // Cell Cycle. 2010. V. 9. № 13. P. 2679–2685.
80. *Tripathi K., Parnaik V.K.* // J. Biosci. 2008. V. 33. № 3. P. 345–354.
81. *Mu R., Wang Y.-B., Wu M., Yang Y., Song W., Li T., Zhang W.-N., Tan B., Li A.-L., Wang N., et al.* // Cell Death Dis. 2014. V. 5. P. 1–12.
82. *Abramczuk M.K., Burkard T.R., Rolland V., Steinmann V., Duchek P., Jiang Y., Wissel S., Reichert H., Knoblich J.A.* // Development. 2017. V. 144. № 21. P. 3932–3945.
83. *Dominguez D., Tsai Y.-H., Weatheritt R., Wang Y., Blencowe B.J., Wang Z.* // Elife. 2016. V. 5. <http://dx.doi.org/doi/10.7554/eLife.10288>
84. *Kittler R., Putz G., Pelletier L., Poser I., Heninger A.-K., Drechsel D., Fischer S., Konstantinova I., Habermann B.,*

- Grabner H., Yaspo ML, Himmelbauer H, Korn B, Neugebauer K, Pisabarro MT, Buchholz F // *Nature*. 2004. V. 432. № 7020. P. 1036–1040. <http://paperpile.com/b/sqYDrJ/RWkc5>.
85. Kittler R., Pelletier L., Heninger A.-K., Slabicki M., Theis M., Miroslaw L., Poser I., Lawo S., Grabner H., Kozak K., Wagner J., Surendranath V., Richter C., Bowen W., Jackson A.L., Habermann B., Hyman A.A., Buchholz F. // *Nat. Cell Biol.* 2007. V. 9. № 12. P. 1401–1412.
86. Kittler R., Surendranath V., Heninger A.-K., Slabicki M., Theis M., Putz G., Franke K., Caldarelli A., Grabner H., Kozak K., Wagner J., Rees E., Korn B., Frenzel C., Sachse C., Sönnichsen B., Guo J., Schelter J., Burchard J., Linsley P.S., Jackson A.L., Habermann B., Buchholz F. // *Nat. Methods*. 2007. V. 4. № 4. P. 337–344.
87. van der Lelij P., Stocsits R.R., Ladurner R., Petzold G., Kreidl E., Koch B., Schmitz J., Neumann B., Ellenberg J., Peters J.-M. // *EMBO J.* 2014. V. 33. № 22. P. 2643–2658.
88. Oka Y., Varmark H., Vitting-Seerup K., Beli P., Waage J., Hakobyan A., Mistrik M., Choudhary C., Rohde M., Bekker-Jensen S., Mailand N. // *EMBO Rep.* 2014. V. 15. № 9. P. 956–964.
89. Watrin E., Demidova M., Watrin T., Hu Z., Prigent C. // *EMBO Rep.* 2014. V. 15. № 9. P. 948–955.
90. Bonnal S., Vigevani L., Valc̄rcel J. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2012. V. 11. № 11. P. 847–859.
91. Webb T.R., Joyner A.S., Potter P.M. // *Drug Discov. Today*. 2013. V. 18. № 1–2. P. 43–49.
92. Eskens F.A.L.M., Ramos F.J., Burger H., O'Brien J.P., Piera A., de Jonge M.J.A., Mizui Y., Wiemer E.A.C., Carreras M.J., Baselga J., Tabernero J. // *Clin. Cancer Res.* 2013. V. 19. № 22. P. 6296–6304.

The Diverse Roles of Spliceosomal Proteins in Regulation of Cell Processes

K. S. Anufrieva^{*, **, ***, #}, V. O. Shender^{*, **, *}, G. P. Arapidi^{*, **, ***, *},
M. A. Lagarkova^{**}, and V. M. Govorun^{*, **, ***, *}

[#] Phone: +7 (915) 108-89-68; e-mail: anufrieva@phystech.edu

^{*}Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997 Russia
ul. Miklukho-Maklaya 16/10

^{**}FRCC PCM Physical-Chemical Medicine FMBA of Russia, Moscow, Russia

^{***}Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudnyi, Russia

The spliceosome is necessary for the removal of intron sequences in transcribed pre-mRNA in eukaryotic cells. More than 200 proteins are involved in the process of pre-mRNA splicing; they coordinate the alternative splicing of most eukaryotic genes, which participate in the regulation of a variety of important cellular processes. However, a growing number of studies demonstrate the functions of spliceosomal proteins that are not directly related to the splicing process such as (I) R-loop formation, (II) DNA repair, (III) telomere elongation, (IV) M-phase regulation, and (V) mRNA export from the nucleus. In this review, we summarize the data on the non-canonical functions of the spliceosomal proteins. Taking into account the fact that mutations in spliceosomal genes are commonly found in tumor cells, a careful study of noncanonical functions of spliceosomal proteins may provide new insights into development of effective methods of cancer treatment and design of drugs for delaying cell aging.

Keywords: pre-mRNA splicing, spliceosomal proteins