

УДК 577.2.01

СТРОЕНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ рДНК ЧЕЛОВЕКА: РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩИХ РЕГИОНОВ

© 2023 г. А. А. Садова^{a, b, *}, Д. Ю. Пантелеев^a, Г. В. Павлова^{a, c, d}

^aИнститут высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, 117485 Россия

^bРоссийский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, 117997 Россия

^cНациональный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко, Москва, 125047 Россия

^dПервый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, 119435 Россия

*e-mail: 89652410866@mail.ru

Поступила в редакцию 09.09.2022 г.

После доработки 08.11.2022 г.

Принята к публикации 16.11.2022 г.

Гены рРНК – одни из самых, на первый взгляд, эволюционно-консервативных последовательностей, при ближайшем рассмотрении удивляют разнообразием строения и набором выполняемых функций. Некодирующие области рибосомных генов содержат регуляторные последовательности, сайты узнавания различных белков, псевдогены, повторяющиеся элементы и гены микроРНК. Рибосомные межгенные спейсеры отвечают не только за морфологические особенности ядрышка и его функционирование – экспрессию рРНК и биогенез рибосом, но и контролируют образование гетерохроматина в ядре, опосредуя дифференцировку клеток. Изменение экспрессии отдельных частей огромных (по сравнению с кодирующими) не кодирующих регионов рДНК в ответ на поступающие сигналы помогает клетке реагировать на различные виды стресса. Нарушение этого процесса может приводить к возникновению различных заболеваний – от онкологических до нейродегенеративных и психических расстройств. В представленном обзоре рассмотрены строение и транскрипция рибосомного межгенного спейсера, а также роль этого спейсера в экспрессии рРНК, развитии наследственных заболеваний и опухолей у человека.

Ключевые слова: рДНК, рРНК, рибосомный межгенный спейсер, IGS-РНК, промоторная РНК, РНК PAPAS

DOI: 10.31857/S0026898423030084, **EDN:** CHNVAJ

ВВЕДЕНИЕ

Рибосомные гены, кодирующие рРНК – главный компонент рибосом, играют важную роль в жизнедеятельности клеток, при этом гены рРНК человека остаются недостаточно изученными.

Сокращения: днРНК – длинные не кодирующие РНК; нкРНК – не кодирующие РНК; рМГС – рибосомный межгенный спейсер; ETS – внешний транскрибируемый спейсер (External Transcribed Spacer); IGS-РНК – РНК, синтезируемые в области рМГС; ITS – внутренний транскрибируемый спейсер (Internal Transcribed Spacer); NOR – ядрышковый организатор (Nucleolus Organizer Region); NoRC – ядрышковый комплекс ремоделирования хроматина (Nucleolar Remodeling Complex); NuRD – комплекс ремоделирования и деацетилирования нуклеосом (Nucleosome Remodeling and Deacetylation); PAPAS – антисмысловые промоторные и пре-рРНК (Promoter and Pre-rRNA Antisense).

Нуклеотидная последовательность рДНК была расшифрована более двух десятилетий назад, но структурные и функциональные особенности повторяющихся элементов, составляющих рибосомный межгенный спейсер (рМГС), не установлены. Эти последовательности не относятся к “мусорной” ДНК, как считалось ранее, они играют важную роль в регуляции роста и пролиферации клеток, а также в их дифференцировке [1]. При нарушении работы рибосомных генов под угрозой находится весь организм, поскольку эти области ДНК не только участвуют в формировании рибосом, но и обеспечивают нормальное функционирование генома, контролируя процессы образования гетерохроматина и подавления экспрессии различных групп генов [2]. Так, в клетках, подвергающихся малигнизации, ядрыш-

ки, главным компонентом которых являются гены рРНК, морфологически отличаются от ядрышек в здоровых клетках, что свидетельствует о перераспределении гетерохроматина в ядре и возможном подавлении транскрипции генов, ответственных за нормальное функционирование клеток [3]. Однако точный механизм этого переключения не до конца понятен. В настоящее время ведется поиск онкомаркеров, которые могли бы оказаться полезными при диагностике опухоли, прогнозировании опухолевой прогрессии и эффективности проводимой терапии [4]. Например, большое внимание привлекает изучение профиля экспрессии некодирующих РНК (нкРНК) в опухолях человека различного происхождения и изменений этого профиля в зависимости от степени злокачественности опухоли [5]. При этом создание панели нкРНК, изменение экспрессии которых может быть характерным для той или иной опухоли и стадии ее развития, затрудняется постоянным обнаружением все новых некодирующих транскриптов [6].

Некодирующие транскрипты, образующиеся в области рМГС, представляют огромный научный и практический интерес, поскольку они могут вносить вклад в регуляцию экспрессии рибосомных генов. Это предположение основано на различиях в профиле экспрессии этих транскриптов, а также в профиле экспрессии рРНК в нормальных и опухолевых клетках. Подобные различия могут использоваться для ранней диагностики и прогноза развития опухоли, определения ее злокачественности [7]. С другой стороны, показано, что в предпромоторной области рДНК млекопитающих синтезируются регуляторные транскрипты, которые стимулируют дифференцировку или специфический ответ клеток на изменение условий среды [8, 9]. Существование аналогичных молекул у человека предсказано на основе биоинформатического анализа данных секвенирования ДНК и транскриптомного анализа, их поиск ведется в настоящее время.

В нашем обзоре проведен последовательный анализ данных о строении рДНК человека, механизмах регуляции экспрессии рРНК, а также о роли рМГС в транскрипции рибосомных генов. Представлено также краткое описание патологий, возникающих при нарушениях функционирования ядрышка.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА

Рибосомные гены — последовательности ДНК, кодирующие рРНК — составляют значительную часть генома человека и формируют в ядре клетки особую зону синтеза рибосом, называемую ядрышком [10]. Четыре вида рРНК эукариот коди-

руются двумя типами рДНК: 5S рДНК располагается на хромосоме 1, транскрибируется РНК-полимеразой III (PolIII) и кодирует лишь 5S рРНК; тогда как гены 18S, 28S и 5.8S рРНК транскрибируются РНК-полимеразой I (PolI) в виде единого предшественника (45S рРНК), включающего внешние (5'- и 3'-ETS) и внутренние (ITS) транскрибируемые спейсеры, который затем подвергается процессингу [11]. Последовательности, кодирующие 45S рРНК, имеют длину около 13 т.п.н., они локализируются на коротких плечах пяти акроцентрических хромосом (13, 14, 15, 21 и 22), образуя кластеры, в которых гены расположены один за другим в ориентации “голова-к-хвосту” и разделены участками длиной около 30 т.п.н., называемыми рМГС [12]. Кластеры рибосомных генов формируют ядрышковые организаторы (NOR, nucleolus organizer regions), которые вместе с другими участками генома и многочисленными белками определяют структуру и морфологию ядрышка (рис. 1) [1].

5S рДНК и 45S рДНК являются повторяющимися областями генома: в геноме человека обнаружено более 200 копий последовательностей, кодирующих 5S рРНК, и более 400 копий 45S рРНК. Сообщение о существовании корреляции между числом копий 5S и 45S рДНК [13] было недавно опровергнуто [14]. Число копий рДНК варьирует в геномах и популяциях человека, а также может изменяться при малигнизации клеток [15]. Интересно отметить, что варьирует не только число копий, но и последовательность каждого рДНК-повтора. Все это приводит к нестабильности локуса, которая, с одной стороны, считается причиной патологии, а с другой, частью нормальной физиологии клетки [16].

К 3'-области рДНК, кодирующей 28S рРНК, прилегают так называемые R-повторы, содержащие Sal-боксы, необходимые для терминации транскрипции (рис. 1) [17]. Показано, что при участии РНК-полимеразы I и фактора терминации транскрипции TTF-1 (transcription termination factor 1) Sal-боксы функционируют также как барьеры вилки репликации (RFB, replication fork barrier), причем в клетках человека, в отличие от других млекопитающих, эти RFB останавливают репликативные вилки независимо от направления их движения [18].

рМГС содержит множество регуляторных последовательностей, способных к связыванию с различными белками и к образованию некодирующих РНК [19]. Они включают микросателлитные и Alu-повторы, консервативные у человека и приматов, псевдоген *cdc27* и многочисленные сайты узнавания фактора транскрипции с-Мус [20, 21].

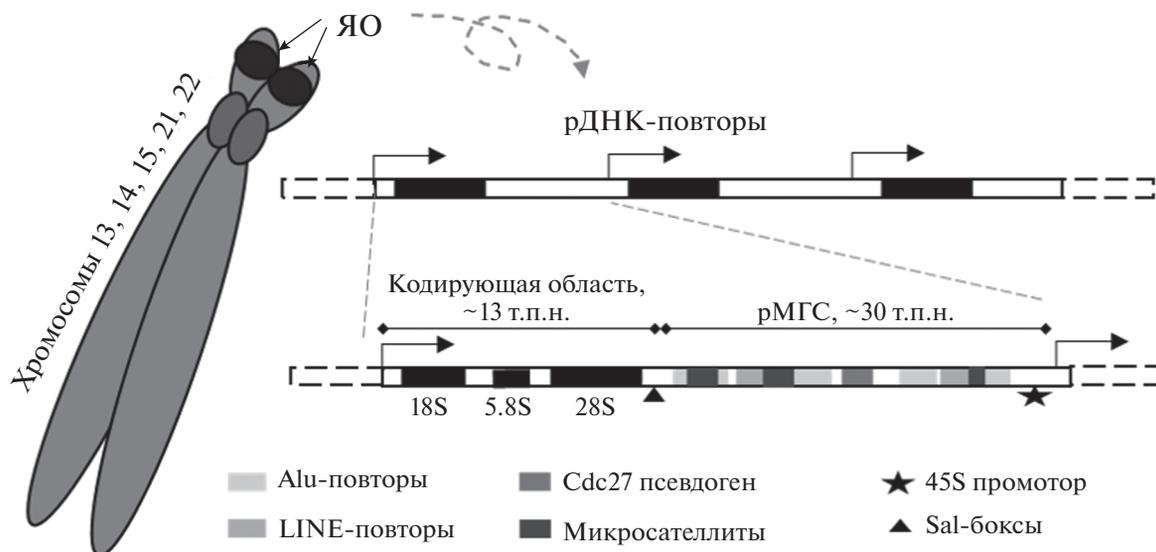


Рис. 1. Схема организации рибосомных генов человека на пяти акроцентрических хромосомах. ЯО – ядрышковые организаторы; рМГС – рибосомный межгенный спейсер; LINE – длинные диспергированные повторы. (Рисунок автора на основе последовательности U13369.1 в базе данных GenBank.)

УЧАСТИЕ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ В ОБРАЗОВАНИИ ГЕТЕРОХРОМАТИНА

Регионы, кодирующие 45S рРНК, относятся к одним из самых транскрипционно активных участков генома, при этом немалая их часть упакована в конститутивный гетерохроматин. Формирование гетерохроматина ядрышка влияет на упаковку в неактивный хроматин и других областей генома: удаление части генов рРНК приводит к снижению образования гетерохроматина во всем ядре клеток дрозофилы и уменьшению репрессии тех или иных генов [2].

Предполагается, что, соседствуя с прицентромерными (у мышей) или прителомерными (у человека) областями, рибосомные гены могут распространять гетерохроматизацию на эти участки генома, формируя перинуклеолярный гетерохроматин [20]. При этом ассоциированными с ядрышком оказываются не только теломерные повторы и центромерная сателлитная ДНК, но и “молчашие” участки большинства хромосом человека, названные доменами, ассоциированными с ядрышком (NAD, nucleolar-associated domains) [21]. В NAD идентифицировано более тысячи генов, которые относятся к разным семействам (например, гены обонятельных рецепторов, Т-клеточных рецепторов и иммуноглобулинов), но обладают при этом важными общими чертами: эти гены входят в состав больших генных кластеров, а их экспрессия тканеспецифична [22]. Методом Hi-C показана ассоциация 45S рДНК с генами, продукты которых локализуются в митохондриях, а также с генами, кодирующими рибосомные белки [23].

Образование гетерохроматина в ядрышке регулируется хроматинремоделлирующим комплексом NoRC (см. раздел Регуляция экспрессии рибосомных генов), ключевым компонентом которого является белок TIP5 [24]. Подавление экспрессии белка TIP5 приводит к нарушению формирования не только внутриядрышкового, но и перинуклеолярного гетерохроматина, включающего центромерные и перицентромерные участки хромосом [25]. Нокдаун всего комплекса вызывает нарушение сегрегации хромосом в митозе, что ведет к хромосомным aberrациям и дестабилизации генома [26].

С TIP5 взаимодействует множество белков и других регуляторных молекул, локализующихся как в ядрышке, так и в нуклеоплазме, и участвующих в ремоделировании хроматина. Показано, что в образовании ядрышкового хроматина участвует поли(ADP-рибоза)полимераза 1 (PARP1), которая контактирует с TIP5 посредством промоторной РНК: после связывания этого комплекса с неактивными промоторами рибосомных генов PARP1 модифицирует гистоны и другие белки хроматина с помощью поли(ADP-рибозы), вызывая эпигенетически наследуемое подавление экспрессии этих участков рДНК [27]. Однако если PARP1 локализуется в нуклеоплазме, то это, напротив, способствует формированию открытого хроматина и активирует транскрипцию [28]. PARP1 контролирует активное состояние промоторов генов плюрипотентности в стволовых клетках, поэтому при его нокдауне наблюдаются признаки дифференцировки клеток [29]. Как и все семейство поли(ADP-рибоза)полимераз, PARP1

выполняет множество функций, начиная от регуляции экспрессии генов и управления механизмом репарации ДНК, до участия в процессах воспаления и апоптоза [30]. Тот факт, что PARP1 обнаруживается в активно транскрибируемых участках генома и присутствует при этом в неактивном гетерохроматине ядрышка, говорит о многогранной роли этого фермента и подтверждает сложный характер взаимодействий между доменами хроматина ядерных структур [31].

Еще один партнер TTP5 – Тау. В ядре клетки он ассоциирован с перичентромерным хроматином и отвечает за его стабилизацию [32]. Нокадаун этого гена приводит к снижению количества репрессивных гистоновых меток в ядрышковом гетерохроматине и способствует повышению транскрипции рибосомных генов. По-видимому, Тау может препятствовать внесению модификаций хроматинремоделирующим комплексом NoRC [33].

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ

Поскольку молекулы рРНК являются основным компонентом рибосом, регуляция транскрипции их генов и процессинга тесно связаны с функционированием, ростом и делением клеток. Инициация транскрипции генов 45S рРНК происходит в результате связывания белка UBF (upstream binding factor) – главного транскрипционного фактора РНК-полимеразы I – с элементом UCE (upstream control element) в промоторной области рДНК. UBF стимулирует инициацию транскрипции, вытесняя гистон H1, расплетая ДНК и привлекая РНК-полимеразу I на промотор [34]. Именно уровень этого белка в клетке определяет активность доступных для транскрипции промоторов рДНК; в отсутствие UBF экспрессия рибосомных генов подавляется [35]. Для формирования полного преинициаторного комплекса необходимо, чтобы с коровым промотором (CP, core promoter element) связался комплекс белков SL1, в состав которого входят TBP (TATA-binding protein) и ассоциированные с ним многочисленные факторы TAF_I (TBP-associated factors) [36]. Последние отвечают за рекрутирование фермента и его специфическое взаимодействие с последовательностью промотора, а также за привлечение дополнительных факторов транскрипции [37]. Таким образом, представление об РНК-полимеразе I как о холоферменте, состоящем из многих белков, необходимых как для инициации транскрипции, так и для элонгации, определяет возможность сложноорганизованной регуляции экспрессии рибосомных генов (рис. 2а) [38].

Как уже сказано, геном человека содержит большое количество копий рибосомных генов, при этом значительная часть рДНК в дифференцированных клетках не транскрибируется, по-

скольку упакована в гетерохроматин. Сочетания модификаций гистонов контролируют экспрессию рибосомных генов. Несмотря на присутствие консервативных маркеров в определенных частях рДНК, клеточные популяции могут иметь собственный профиль (набор и распределение) гистоновых модификаций. Например, в эмбриональных стволовых клетках, кератиноцитах, эндотелиальных и опухолевых клетках H3K4me2 присутствует на участке 28–29 т.п.н. рМГС и в предпромоторной области, а распределение H3K27me3 во всех четырех типах клеток кардинально отличается [43]. Неактивное состояние рибосомных генов поддерживается благодаря сложной согласованной работе нескольких белковых комплексов, отвечающих за ремоделирование хроматина [44].

Ядрышковый ремоделирующий комплекс (NoRC, nucleolar remodeling complex) состоит из субъединицы SNF2h (sucrose-nonfermenting protein 2 homolog), обладающей АТФазной активностью, и белка TTP5 (TTF-I-interacting protein 5), содержащего ДНК-связывающий домен и взаимодействующего с фактором терминации транскрипции TTF-I. Формирование комплекса начинается с TTF-I, который, связываясь с проксимальным элементом промотора T₀, рекрутирует остальные компоненты NoRC. Комплекс подавляет экспрессию нижележащего рибосомного гена за счет сдвига нуклеосомы относительно промотора, что препятствует инициации транскрипции на данном участке [24, 45]. При этом к промотору привлекаются ферменты, ответственные за метилирование ДНК (DNMT1 и DNMT3b) и деацетилирование гистонов (HDAC1), что приводит к образованию гетерохроматина в этой области и долговременному сайленсингу рибосомных генов (рис. 2б) [8].

Таким образом, NoRC отвечает за формирование конститутивного гетерохроматина, который эпигенетически наследуется клетками в процессе дифференцировки [46]. Здесь необходимо отметить, что метилирование ДНК в области промоторов и энхансеров рДНК у млекопитающих служит своеобразным маркером “молчащих” рибосомных генов, а также старения клеток. Эти данные позволяют судить о возрасте организма и даже предсказывать продолжительность жизни [47]. Белок TTF-I не только участвует в терминации транскрипции рибосомных генов, но может также определять их топологию. Показано, что активно транскрибирующиеся гены рРНК образуют ДНК-петли, в основании которых находятся промотор и терминатор, а их взаимодействие опосредуется TTF-I [48].

Более сложно устроен комплекс NuRD (nucleosome remodeling and deacetylation), состоящий из нескольких субъединиц и осуществляющий обра-

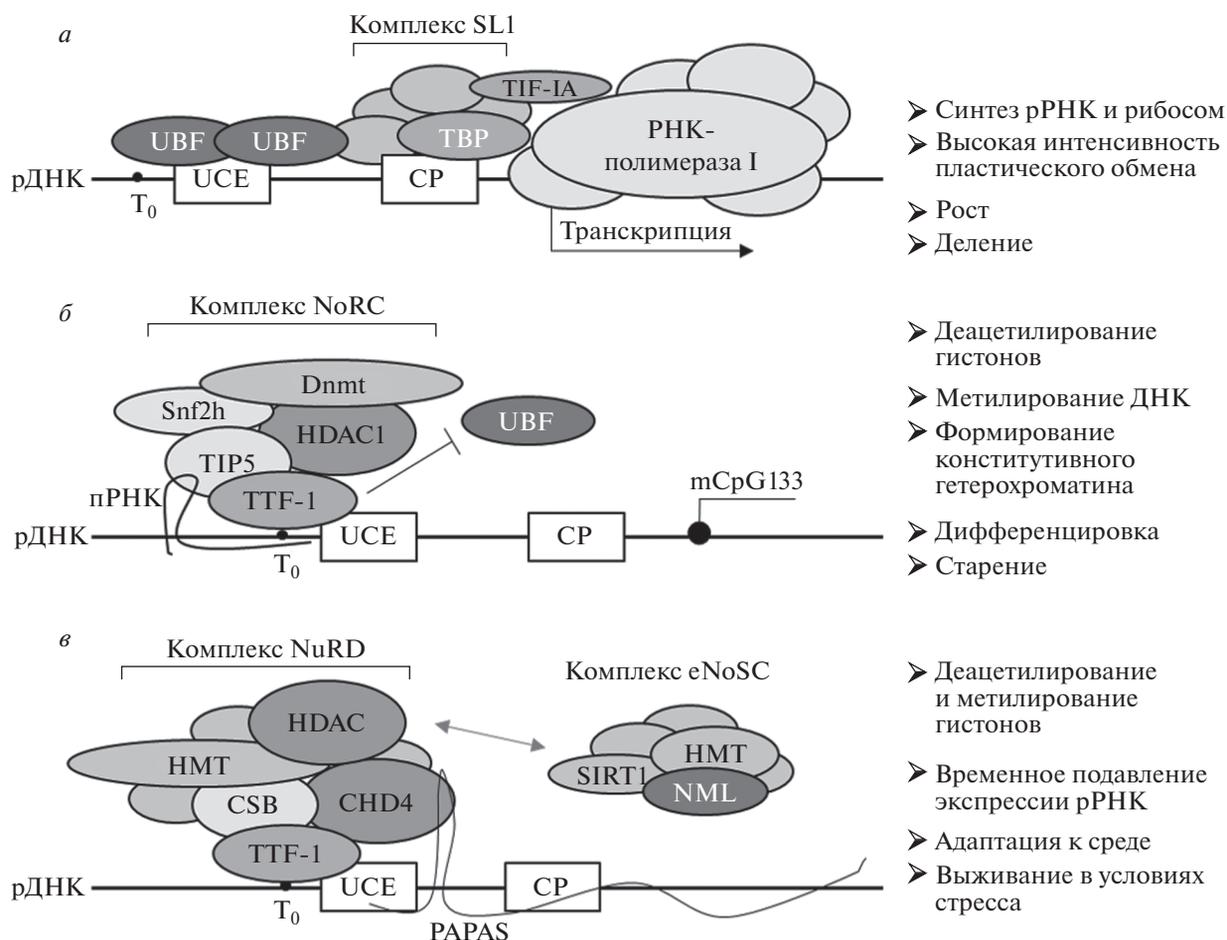


Рис. 2. Схема регуляции экспрессии рДНК. *а* – Преинициаторный комплекс (PIC) РНК-полимеразы I. Сборка PIC осуществляется за счет взаимодействия UBF, который связывается с элементом UCE, комплекса SL1, ассоциированного с коровым промотором через TBP, а также транскрипционного фактора TIF-1A и РНК-полимеразы I. Кроме TBP, в состав SL1 входят факторы специфичности TAF₁ (согласно [39]). *б* – Сборка комплекса NoRC на промоторе рДНК: TTF-1 узнает T₀, привлекает в комплекс TIP5, ассоциированный с ним белок Snf2, затем включаются деацетилаза гистона H4 (HDAC1) и ДНК-метилтрансфераза (Dnmt). Дополнительно белок TIP5 может рекрутироваться к промоторной РНК, комплементарно взаимодействующей с промоторной областью рДНК. Таким образом, NoRC обеспечивает репрессию транскрипции рДНК, поскольку UBF не может связаться с промотором, а транскрипция блокирована (согласно [40]). *в* – Сборка комплекса NuRD, опосредованная TTF-1, происходит после взаимодействия дефосфорилированного белка CHD4 и некодирующей РНК PAPAS, активация которых может быть вызвана повышением температуры (согласно [41]). В условиях недостатка глюкозы активируется деацетилаза SIRT1, которая после взаимодействия с TTF-1 рекрутирует другие белки комплекса eNoSC, осуществляющие образование гетерохроматина в этой области (согласно [42]).

тимое подавление экспрессии рибосомных генов в дифференцированных клетках (рис. 2*в*). В состав NuRD входит множество белков: деацетилазы гистонов, АТФ-зависимые хеликазы, а также белки, не имеющие каталитической активности, но взаимодействующие с ДНК. Как и NoRC, NuRD привлекается на промотор рДНК белком TTF-1, связанным с T₀. При этом в отличие от долговременного подавления экспрессии, наблюдаемого при воздействии NoRC, NuRD временно останавливает транскрипцию рибосомных генов, а рДНК остается доступной для транскрипционных факторов [49]. Так, при взаимодействии это-

го комплекса с белком CSB (Cockayne syndrome group B) на рДНК привлекаются гистон-метилтрансферазы, вносящие модификации, характерные для активно транскрибируемых генов [50].

Вообще, экспрессия рДНК характеризуется высокой пластичностью в ответ на такие стимулы окружающей среды, как доступность питательных веществ и факторов роста [51].

Специализированный трехкомпонентный комплекс eNoSC (energy-dependent nucleolar silencing complex), обратимо подавляющий экспрессию рибосомных генов в условиях голодания (недостатка глюкозы), состоит из белка SIRT1, гистон-

метилтрансферазы SUV39H1 и нуклеометилина NML (nucleomethylin). Сборка комплекса на рДНК, как и в случае с NuRD, опосредуется TTF-I. Повышение уровня NAD^+ в клетке (маркер низкоэнергетического состояния) напрямую активирует SIRT1, который деацетилюет гистон H3 в области промотора рДНК, переводя рибосомный ген в неактивное состояние (рис. 2б) [52]. Интересно, что этот путь регулирует не только биосинтез рРНК и рибосом, но и определяет дальнейшую судьбу клетки в условиях недостатка питания. Снижение содержания РНК в ядрышке в присутствии eNoSC вызывает транслокацию белков из ядрышка в нуклеоплазму и активацию белка p53, ответственного за запуск репарации ДНК, задержку клеточного цикла и инициацию апоптоза [53].

В регуляции экспрессии рибосомных генов участвуют не только белки, но и множество нкРНК, функция которых чаще всего связана с определением специфичности того или иного белкового комплекса. нкРНК обеспечивают очень точную регуляцию экспрессии в ответ на стимулы различной природы и стремительно меняющиеся условия среды [54].

Длинные некодирующие РНК (днРНК), происходящие из самих рибосомных генов, могут как прямо, так и опосредованно регулировать экспрессию рДНК. Например, в условиях теплового шока нкРНК IGS₁₆RNA и IGS₂₂RNA, транскрибируемые с соответствующих областей рМГС, участвуют в структурном и функциональном ремоделировании ядрышка: они контролируют изменение локализации белков и подавление транскрипции рДНК [55].

Однако основная роль некодирующих транскриптов, синтезирующихся с рДНК, заключается в привлечении компонентов ремоделирующих комплексов и облегчении их сборки. В клетках млекопитающих в предпромоторной области рДНК экспрессируется промоторная РНК, которая участвует в подавлении экспрессии рибосомных генов за счет двух функционально отличающихся доменов [56]. Эта молекула длиной ~200 нуклеотидов имеет 20-нуклеотидную последовательность на 5'-конце, комплементарную промотору рДНК и T₀ – сайту связывания TTF-I, и может образовывать в этом месте триплекс ДНК-РНК, который специфически узнается ДНК-метилтрансферазой DNMT3b, вносящей репрессивные метки в эту область. Именно участок узнавания промотора определяет функциональность и эффективность всего процесса сайленсинга рДНК [57]. Вторая ключевая последовательность промоторной РНК состоит из ~90 нуклеотидов и способна образовывать устойчивую структуру типа стебель с петлей, которая необходима для взаимодействия с TIP5 и сборки NoRC (рис. 2б) [58].

Область, кодирующая промоторную РНК, может транскрибироваться РНК-полимеразой II в обратной ориентации, при этом образуются гетерогенные антисмысловые днРНК, названные PAPAS (promoter and pre-rRNA antisense), которые могут комплементарно взаимодействовать с промотором и началом рРНК-кодирующей последовательности [56]. При недостатке питания или остановке роста в клеточных культурах повышается содержание РНК PAPAS, которые привлекают гистон-метилтрансферазу Suv4-20h2, что стимулирует образование гетерохроматина и снижение синтеза рРНК [59]. Повышение продукции PAPAS происходит также при других видах стресса (например, при тепловом шоке), однако в этом случае они по-другому регулируют образование гетерохроматина. Показано, что РНК PAPAS, имеющая участки, комплементарные энхансерной и промоторной области рДНК, связывается с ней, образуя РНК-ДНК-триплекс за счет хугстиновских взаимодействий, и привлекает дефосфорилированный в условиях стресса белок CHD4 – компонент комплекса NuRD, отвечающего за сайленсинг рибосомных генов (рис. 2б) [41].

Показана особая регуляция процессов обучения и синаптической пластичности в клетках гиппокампа, где днРНК (LoNA) подавляет экспрессию рРНК на уровне транскрипции, привлекая белок нуклеолин (NLC) и стимулируя образование гетерохроматина в области промотора рДНК за счет модификации гистонов. В этом случае ни UBF, ни РНК-полимераза I не могут связаться с промоторной областью, что приводит к нарушению формирования преинициаторного комплекса [60]. Сходным образом, по-видимому, действуют продукты транскрипции Alu-повторов, входящих в состав интронов белкокодирующих генов, транскрибируемых РНК-полимеразой II (AluРНК): показано их взаимодействие с нуклеолином. Очевидно, что эти транскрипты исключительно важны для организации гетерохроматина ядрышка, поскольку при специфическом ингибировании AluРНК антисмысловыми олигонуклеотидами, как и при ингибировании РНК-полимеразы II α -аманитином, ядрышко распадается на мелкие домены, что не наблюдается при ингибировании рибосом или других РНК-полимераз [61]. В эмбриональных стволовых клетках человека экспрессируется необычная РНК SLERT (snoRNA-ended lncRNA enhances pre-ribosomal RNA transcription), модулирующая активность РНК-геликазы DDX21, которая ингибирует РНК-полимеразу I. Подавление или потеря SLERT приводит к замедлению роста и пролиферации клеток в колониях, а в организме голых мышей (Nude) с ксенографтами клеток с нокаутом SLERT – к сниженной массе опухоли по сравнению с контролем [62].

ТРАНСКРИПЦИЯ РИБОСОМНОГО МЕЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА

Результаты ряда исследований подтверждают факт транскрипции рМГС у млекопитающих и человека [63, 64]. Зоны рМГС, обогащенные консервативными последовательностями, ассоциированы с точками начала транскрипции и транскрибируются во многих тканях и клеточных линиях [65]. Показано, что рДНК транскрибируется как в прямом (смысловом), так и в обратном (антисмысловом) направлении, в результате образуются нкРНК, выполняющие определенные функции [54, 64, 65].

Изучение малых нкРНК, синтезирующихся в придатках яичек человека, позволило предсказать существование микроРНК hsa-mir-6724, гомологичной последовательности предпромоторной области рМГС [66]. И хотя роль hsa-mir-6724 пока не установлена, предполагается, что она может быть связана со старением стволовых клеток [67].

В клеточных линиях человека обнаружены дрРНК (IGS₂₁RNA и IGS₂₈RNA), транскрибирующиеся с соответствующих областей рМГС в условиях ацидоза, а также IGS₁₆RNA и IGS₂₂RNA, которые транскрибируются и выполняют определенные функции в условиях теплового шока, привлекая в ядрышко различные белки [53, 68]. Предполагается, что эти молекулы синтезируются независимо от рРНК и других транскриптов в этой области, то есть они могут иметь собственные промоторы, однако пока это не установлено [68].

Показано, что в модуляции ядрышковой организации и регуляции транскрипции рибосомных генов в ходе дифференцировки клеток мышей может участвовать промоторная РНК [69], которая транскрибируется РНК-полимеразой I и контролируется собственным спейсерным промотором. Предшественник этой молекулы (длинной ~2 т.н.) подвергается процессингу с образованием транскриптов длиной 150–300 нуклеотидов, которые разрушаются, если не оказываются связанными и стабилизированными фактором TIP5 [70]. Обнаружено повышение уровня первичного транскрипта, дающего начало промоторной РНК, в эмбриональных стволовых клетках (ESC), в то время как в нейральных стволовых клетках (NPC) обнаружена процессированная молекула промоторной РНК. Предполагается, что созревание промоторной РНК происходит в ходе дифференцировки клеток, когда эта РНК способствует формированию гетерохроматина (рис. 3) [9].

В рДНК человека выявлены области, гомологичные спейсерному промотору у мышей и других грызунов, в которых идентифицированы сайты связывания белков UBF и TBP, а также РНК-полимеразы I, причем к TBP прилегает консенсусная последовательность, узнаваемая TTF-I (T_{sp}).

По-видимому, спейсерный промотор человека является активным и регулируется подобно промотору у мышей (рис. 4) [71]. Экспрессия этого участка выявлена в линиях клеток рака легкого человека, а образующаяся в результате нкРНК ассоциирована с регуляцией транскрипции рДНК [72]. Соответствующий промоторной РНК транскрипт обнаружен в клеточной линии K562 хронического миелолейкоза человека [43].

В области рМГС синтезируется еще одна хорошо изученная РНК – PAPAS. Эта длинная (10 т.н.) антисмысловая РНК транскрибируется РНК-полимеразой II независимо от промоторов (инициация происходит в случайных сайтах) в условиях стресса и теплового шока. Как и промоторная РНК, PAPAS способствует структурированию хроматина в области промотора рибосомных генов [59].

Изучение экспрессии РНК в различных частях рМГС в клетках человека показало, что время жизни этих транскриптов неодинаково [73]. Более стабильными и имеющими более длинный период полураспада по сравнению с рРНК оказались молекулы, синтезирующиеся в предпромоторной области и соответствующие промоторной РНК. При этом более устойчивыми к распаду оказались РНК, происходящие из областей IGS₂₄ и IGS₂₈ [73], также исследованные в этой работе.

Обнаружено, что гиперпродукция белка РНФ6, наблюдаемая при различных заболеваниях, снижает синтез пре-рРНК, мешая РНК-полимеразе I во время элонгации, но повышает экспрессию некодирующих регионов IGS₃₆ и IGS₃₉ рибосомных генов [74]. Предполагается, что экспрессия этих участков индуцируется при транскрипционном стрессе, вызванном ингибированием транскрипции генов рРНК, а образующиеся в результате транскрипты могут способствовать сайленсингу рРНК-кодирующих областей. Интересно, что указанные молекулы синтезируются РНК-полимеразой I, а их количество обратно пропорционально количеству рРНК. Это значит, что в нормальных условиях фермент генерирует предшественник рРНК, а в условиях стресса “переключается” на некодирующие участки и транскрибирует регуляторные молекулы, необходимые для защиты ядра и клетки.

Недавно мы обнаружили экспрессию предпромоторной области рДНК в клеточных культурах глиом и глиобластом [75], а также различия в экспрессии отдельных участков исследуемой области в опухолевых и в условно нормальных клетках. Участие рМГС и транскриптов, происходящих из его отдельных областей, в борьбе клетки с различными видами стресса подтверждается резким повышением экспрессии области IGS₄₀ с образованием антисмысловых транскриптов при обработке

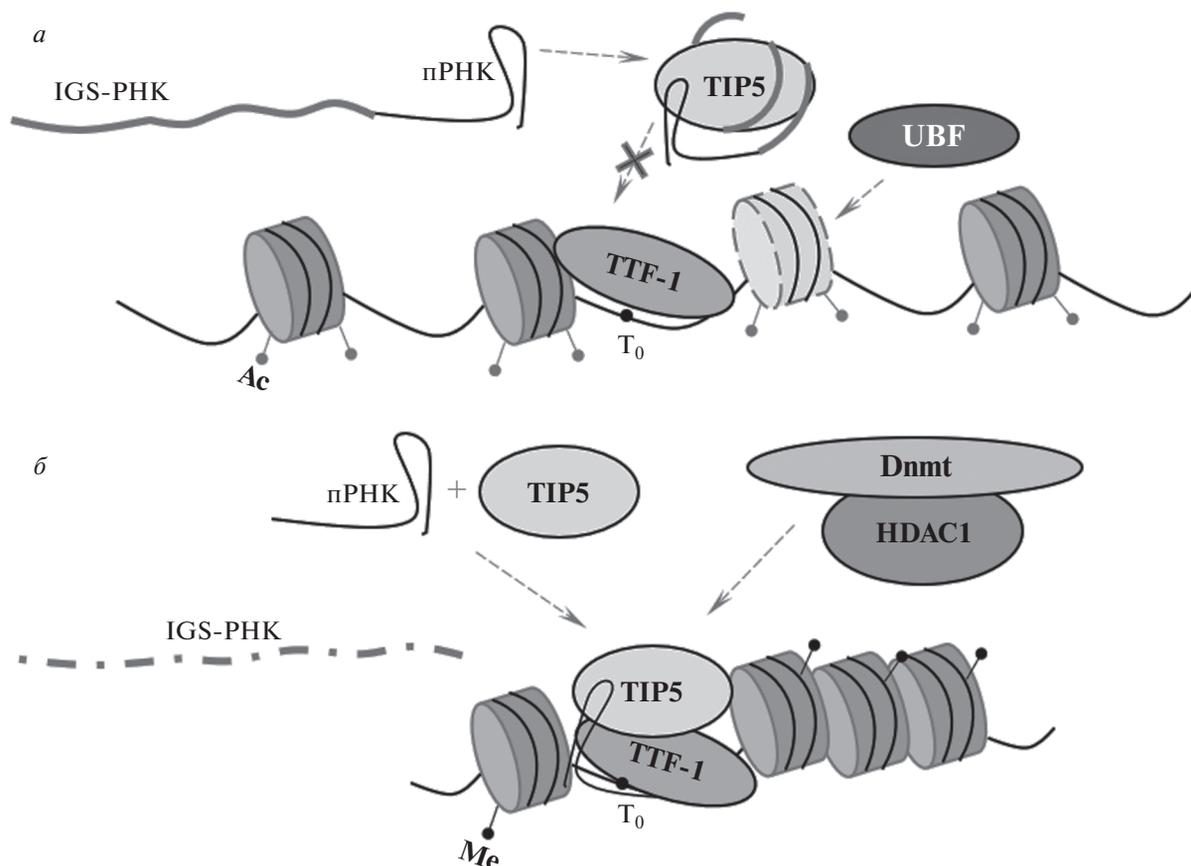


Рис. 3. Модель организации хроматина в ядре и ядрышке эмбриональных стволовых клеток (ESC) (а) и дифференцированных клеток (б). В ESC непроцессированный транскрипт IGS-РНК препятствует взаимодействию TIP5 с TTF-1. В этом случае не происходит привлечения ремоделирующего комплекса NoRC и образования гетерохроматина в этой области. По мере дифференцировки клеток IGS-РНК подвергается процессингу с образованием промоторной РНК (пРНК), которая способствует взаимодействию TIP5 с TTF-1, в результате чего рекрутируется ремоделирующий комплекс, транскрипция подавляется, формируется гетерохроматин. (Рисунок автора по описанию, данному в [9].)

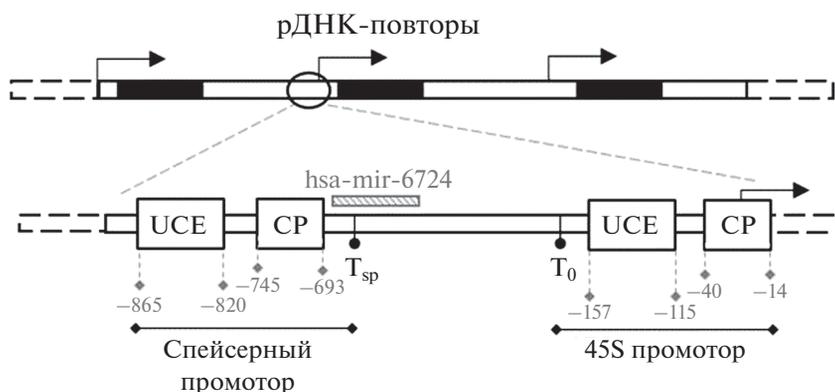


Рис. 4. Схема организации предпромоторного участка рибосомных генов человека. Стрелка указывает точку начала транскрипции рРНК; UCE – вышележащий контрольный элемент; CP – коровый промотор; T_{sp} и T₀ – сайты связывания транскрипционного фактора TTF-1.

клеток альфа-аманитином. Этот эффект нивелировался актиномицином Д, что может указывать на участие РНК-полимеразы I в транскрипции рДНК в обратном направлении [76].

Наконец, недавно было показано прямое участие РНК-полимеразы II в биогенезе рибосом [77]. И хотя о присутствии этого фермента в ядрышке ранее не сообщалось, оказалось, что он ассоциирован со спейсерными участками рибосомных генов и вовлечен в транскрипцию рМГС в антисмысловом направлении. Образующиеся при этом длинные РНК можно сравнить со своеобразным “щитом”, который закрывает некодирующие области для РНК-полимеразы I. Эта гипотеза хорошо согласуется с приведенными выше данными, поскольку при нарушении работы РНК-полимеразы II – транскрипционном стрессе – РНК-полимераза I начинает синтезировать упомянутые ранее нкРНК (IGS₁₆RNA, IGS₂₁RNA, IGS₂₂RNA, IGS₂₈RNA), что вызывает реорганизацию ядрышка и прекращение синтеза рРНК и сборку рибосом.

НАРУШЕНИЕ СИНТЕЗА РИБОСОМ ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Нарушение образования гетерохроматина в рДНК может привести к дестабилизации генома, дезинтеграции ядрышка, старению клетки и развитию множества заболеваний [78]. Поскольку активность рибосомных генов регулируется различными механизмами, изменение биогенеза рибосом может быть обусловлено как нарушениями в самих рибосомных генах, так и в генах, кодирующих регуляторные белки и РНК.

Так, в рДНК из фибробластов, полученных от пациентов с синдромом Вернера, увеличено количество метилированных CpG-островков, а продолжительность жизни этих клеток снижена [79]. Изменение профиля метилирования рДНК, наблюдаемое при болезни Альцгеймера, приводит к снижению синтеза рРНК и уменьшению количества рибосом [80, 81]. Снижение метилирования ДНК в области промотора и 5'-ETS рибосомных генов выявлено у пациентов с пограничными расстройствами [82]. Сообщается также о существовании связи между гиперметилованными промоторами генов рРНК и сниженной экспрессией рРНК, соответственно, и склонностью к суициду, ассоциированному с жестоким обращением в детстве [83]. Нестабильность рДНК характерна и для других нейродегенеративных заболеваний, при которых профиль метилирования промоторов рибосомных генов не отличается от профиля в здоровых клетках [84]. Возрастные изменения профиля метилирования CpG-островков рибосомных генов предлагается использовать в качестве маркера старения [47].

Особое значение имеет тонкая настройка экспрессии рДНК в головном мозге млекопитающих. Транскрипция рДНК, как первый этап синтеза рибосом, может изменяться под воздействием стимулов окружающей среды, что лежит в основе синаптической пластичности [85]. Во время обучения и запоминания информации в ядрах гиппокампа происходит увеличение синтеза рРНК *de novo* и формирование пула рибосом, необходимого, по-видимому, для синтеза большого количества новых белков, участвующих в формировании нейронных связей. Если при этом специфически ингибировать активность РНК-полимеразы I, то произойдет нарушение формирования долговременной памяти, но не обучения и запоминания [86]. Регуляция этого процесса, по-видимому, связана с увеличением синтеза поли(ADP-рибозы) в ядрышках клеток гиппокампа ферментом PARP1, который активируется киназами PKA и ERK, отвечающими за долговременную синаптическую пластичность [87].

Некоторые симптомы тяжелых наследственных заболеваний, вызванных хромосомными перестройками и геномными мутациями, связывают с изменением числа копий рибосомных генов. Так, при синдроме Дауна отмечено повышенное содержание активных рибосомных генов, причем у новорожденных оно варьирует в более широких пределах, чем у взрослых индивидов [88]. Тем не менее, увеличение транскрипционной активности этого локуса может быть обусловлено общим повышением копийности рДНК из-за наличия дополнительной хромосомы 21, поскольку на ее коротких плечах расположены повторы рибосомных генов. Недавно обнаружили механизм эпигенетической компенсации трисомии: у взрослых индивидов с синдромом Дауна синтез рРНК снижен за счет гиперметилования промоторов рДНК [89].

У индивидов без хромосомных аномалий значения копийности рибосомных генов, отличные от средних, ассоциированы с другими заболеваниями. Так, число копий рДНК в клетках крови больных шизофренией выше, чем в контрольной группе [90, 91]. Здесь необходимо отметить, что копийность рибосомных генов, в отличие от других повторяющихся элементов генома (например, теломерных повторов), не изменяется под воздействием психоэмоционального стресса, в том числе хронического, как при шизофрении [92]. Увеличенное число копий рДНК выявлено также у больных муковисцидозом [93], а сниженное – при ревматоидном артрите [94]. В настоящее время обсуждается взаимосвязь между числом рибосомных генов и патогенезом таких заболеваний, как ревматоидный артрит и шизофрения, а также генетические предпосылки обеих патологий, способные объяснить феномен их обратной коморбидности (дистропии) [95, 96].

Интересно, что число копий рибосомных генов индивидуально для каждого человека, однако в отдельно взятых популяциях среднее значение остается постоянным, а пределы вариации сужены в группе лиц старческого возраста по сравнению с группой более молодых индивидов. Предполагается, что малое число копий рДНК, как и слишком большое количество рибосомных генов, может быть ассоциировано с более короткой продолжительностью жизни [97]. Сниженную копию рибосомных генов предлагается использовать в качестве маркера прогноза когнитивных нарушений в пожилом возрасте [98].

Профиль экспрессии молекул, отвечающих за регуляцию биосинтеза рРНК, может изменяться как в течение жизни клетки, так и при развитии заболеваний. Например, отмечена повышенная экспрессия антисмысловой РНК PAPAS, участвующей в ремоделировании хроматина рДНК, в стареющих клетках и сниженная — в опухолевых клетках [56]. Обнаружена кольцевая РНК, способная регулировать биогенез рибосом на стадии контроля процессинга рРНК, профиль экспрессии которой изменяется при атеросклерозе [99].

Заболевания, связанные с нарушением синтеза рибосом в результате повреждения генов, кодирующих белки, отвечающие за контроль синтеза рРНК и сборку рибонуклеопротеиновых комплексов в ходе созревания рибосом, носят название рибосомопатий [100, 101]. Так, мутация в гене *TSC1*, кодирующем кофактор РНК-полимеразы I, вызывает синдром Тричера–Коллинза (TCS), при котором наблюдается нарушение формирования тканей лицевой части черепа [102]. Снижение уровня транскрипционных факторов РНК-полимеразы I и, как следствие, уменьшение синтеза 45S рРНК показано при детском церебральном параличе [103]. В клетках, моделирующих болезнь Хантингтона, повышена экспрессия гистон-метилтрансферазы ESET, которая осуществляет триметилирование транскрипционного фактора UBF. При этом наблюдается сайленсинг рибосомных генов [104]. Аномально высокий уровень экспрессии самого UBF и повышенный синтез рРНК обнаружен в клетках головного мозга эмбрионов с недостатком фолиевой кислоты, что приводит к неполному закрытию нервной трубки в эмбриогенезе и, как следствие, к развитию такого порока, как расщепление позвоночника (*spina bifida*) [105]. В целом, сбои на каждом из этапов биогенеза рибосом — от транскрипции рДНК до образования иницирующего трансляцию комплекса — приводят к развитию нейропатологий на любой стадии развития и рассматриваются как один из ключевых факторов нейродегенеративных заболеваний [106].

ЭКСПРЕССИЯ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

Наблюдение за изменениями экспрессии рДНК, структурой рибосомных генов и морфологией ядрышка в опухолевых клетках заслуживает отдельного внимания, поскольку они могут служить диагностическими маркерами злокачественных образований [107]. Известно, что при злокачественном перерождении клеток число копий рДНК нестабильно (может как возрастать, так и уменьшаться) [108]. Таким образом, определение копию рДНК может использоваться для прогноза возникновения злокачественных новообразований: обнаружена корреляция между вариациями числа копий рДНК и риском развития рака легкого у курильщиков [7]. Показано также повышение экспрессии рибосомных генов при одновременном снижении числа их копий в активно делящихся опухолевых клетках [109]. Высокий уровень продукции рРНК, наблюдаемый при относительном уменьшении количества рибосомных генов, может объясняться повышенной активностью РНК-полимеразы I, а также тем, что изменения затрагивают процессинг рРНК в опухолях [110, 111]. Кроме того, в опухолевых клетках часто встречается повышенная экспрессия транскрипционных факторов, управляющих синтезом других необходимых для биогенеза рибосом белков и регулирующих таким образом пролиферативную активность клеток [112]. Транскрипционные факторы, в свою очередь, подвергаются регуляции путем ковалентных модификаций, которые осуществляются белками-продуктами онкогенов и генов-супрессоров опухолевого роста, поэтому изменение активности последних при злокачественном перерождении клеток не может не отражаться на синтезе рРНК. Например, pRB — онкосупрессор, экспрессия которого снижена во многих опухолях, подавляет транскрипцию рибосомных генов, препятствуя формированию преинициаторного комплекса на промоторе рДНК [113]. Напротив, продукт онкогена c-Myc, чья активность в опухолевых клетках обычно повышена, стабилизирует преинициаторный комплекс и стимулирует транскрипцию рибосомных генов [114]. Поскольку транскрипция рДНК может регулироваться и эпигенетически, альтернативное метилирование CpG-островков и модификация гистонов в этой области в опухолевых клетках ассоциированы с увеличением продукции рРНК [115]. В свете того, что высокий уровень пролиферации опухолей связан с увеличением биосинтеза белка в клетках, ядрышко и ассоциированные с ним молекулы, включая рибосомные и регуляторные белки, рДНК и рРНК, рассматриваются в качестве многообещающих потенциальных мишеней в направленной противоопухолевой терапии [3]. Опухолевые клеточные линии, используемые в

лабораториях как для изучения отдельных аспектов канцерогенеза, так и в фундаментальных исследованиях, могут иметь отличную от нормы копийность рибосомных генов, профиль метилирования, активность экспрессии и т.д., что необходимо учитывать при выборе той или иной культуры в качестве модельного объекта.

K562 — первая иммортализованная клеточная линия хронического миелоидного лейкоза — содержит так называемую филадельфийскую хромосому и другие хромосомные перестройки, затрагивающие, в частности, хромосому 17 [116]. Промоторная область рДНК в этой клеточной линии обогащена модификациями гистонов, характерными для активно транскрибируемых областей генома, в ней также показан синтез промоторной РНК [43]. В клетках K562 снижен уровень метилирования ДНК в области промотора рибосомных генов и в области, кодирующей 28S, что обычно связано с повышенной транскрипционной активностью [117].

Из клеток аденокарциномы альвеолярного базального эпителия человека получена клеточная линия A549 [118], которая широко используется в качестве модельного объекта для изучения рака легкого, разработки терапевтических подходов и испытания противоопухолевых препаратов. Данные секвенирования и иммунопреципитации хроматина, а также результаты CAGE-анализа свидетельствуют о том, что область 28–32 т.п.н. рМГС и промоторная область консервативны во многих линиях опухолевых клеток человека, в том числе, в линиях K562 и A549. Эти области транскрибируются с образованием нкРНК, получивших названия IGS₂₈RNA и промоторная РНК [65].

MCF7 (Michigan Cancer Foundation-7) — клеточная линия рака молочной железы [119], служит модельным объектом для изучения чувствительности и резистентности опухолевых клеток к эстрогенам. Благодаря нестабильности генома (вариабельности числа хромосом), клетки MCF7 обладают высокой способностью к адаптации и эволюции [120]. Показано, что в линиях опухолевых клеток молочной железы, в том числе в MCF7, ядерный белок BRCA1 ассоциирован с промоторными областями рибосомных генов, а также со спейсерными промоторами, расположенными в рМГС, и, стимулируя синтез рРНК, принимает участие в регуляции активности РНК-полимеразы I [121].

Клеточная линия PC3 (Prostate cancer 3), полученная из клеток метастаз рака предстательной железы IV степени злокачественности в костную ткань [122], характеризуется повышенной активностью РНК-полимеразы I, обусловленной, по-видимому, увеличением экспрессии онкогена *MUC*, принимающего участие в транскрипции

рибосомных генов [123]. В клетках PC3 повышена экспрессия днРНК, которая, как предполагается, ассоциирована с путями процессинга рРНК и биогенеза рибосом [124].

Изучение нарушения механизмов синтеза рибосом, а также изменения доменов ядерного генома, вовлеченных в этот процесс, особенно рДНК, является многообещающим подходом к анализу и диагностике таких злокачественных новообразований, как глиобластома. Показано, что уменьшение количества копий рибосомных генов в глиобластомах, как и в других видах опухолей, и изменение нуклеотидной последовательности рДНК коррелируют с повышенной пролиферацией клеток и высоким уровнем продукции рРНК и рибосом [15]. С одной стороны, это может происходить из-за увеличения активности РНК-полимеразы I, что наблюдается в первичных культурах глиобластомы при пассировании [110], а с другой, из-за повышения экспрессии рРНК в результате изменения профиля метилирования рДНК [125].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рибосомные гены не только кодируют рРНК, они участвуют также в образовании гетерохроматина в процессе дифференцировки и старения клеток, отвечают за ее судьбу в условиях стресса [126]. Эти последовательности, включающие несколько миллионов пар нуклеотидов, кодируют множество нкРНК, огромное количество ферментов и белков, формируют ядрышко — сложную динамическую структуру внутри ядра [127]. Нарушение транскрипции и процессинга рРНК, образования гетерохроматина, строения и функционирования ядрышка так или иначе отражается на работе всех систем органов, проявляясь в виде тяжелых заболеваний нервной системы или возникновения опухолей [100, 101].

нкРНК, транскрибируемые в области спейсера рибосомных генов, открыты сравнительно недавно, но уже совершенно ясно, что изучение этих молекул имеет огромное значение. В области рМГС синтезируются как смысловые, так и антисмысловые днРНК [77]. При этом генерация длинных антисмысловых транскриптов усиливается в стрессовых ситуациях [128]. Взаимодействуя с различными белками посредством специфических последовательностей или вторичных структур, эти молекулы привлекают их к определенным областям рДНК, осуществляя тонкую настройку как транскрипции, так и временной или постоянной упаковки этих участков генома в неактивный гетерохроматин [69].

Исследование транскриптов, синтезируемых в области рМГС человека, и определение их роли в поддержании физиологического состояния кле-

ток и в развитии патологических процессов позволит уточнить и дополнить знания о процессах регуляции экспрессии генов, формирования гетерохроматина и дифференцировки клеток. Принимая во внимание важность постоянства структуры и функционирования рДНК для нормального существования клетки и всего организма, а также тот факт, что последовательность рДНК в опухолевых клетках часто изменена или экспрессия рРНК отличается от экспрессии в здоровых клетках, представляется особенно важным обратиться к изучению свойств транскриптов, происходящих из рМГС – некодирующей области рибосомных генов.

Данная работа финансирована Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2020-809 (13.1902.21.0030).

Статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McStay B. (2016) Nucleolar organizer regions: genomic 'dark matter' requiring illumination. *Genes Dev.* **30**(14), 1598–1610.
2. Paredes S., Maggert K. (2009) Ribosomal DNA contributes to global chromatin regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**(42), 17829–17834.
3. Stepiński D. (2018) The nucleolus, an ally, and an enemy of cancer cells. *Histochem. Cell Biol.* **150**(6), 607–629.
4. Rajesh Y., Pal I., Banik P., Chakraborty S., Borkar S., Dey G., Mukherjee A., Mandal M. (2017) Insights into molecular therapy of glioma: current challenges and next generation blueprint. *Acta Pharmacol. Sinica.* **38**(5), 591–613.
5. Moore L., Kivinen V., Liu Y., Annala M., Cogdell D., Liu X., Liu C., Sawaya R., Yli-Harja O., Shmulevich I., Fuller G.N., Zhang W., Nykter M. (2013) Transcriptome and small RNA deep sequencing reveals deregulation of miRNA biogenesis in human glioma. *J. Pathol.* **229**(3), 449–459.
6. Brower J., Clark P., Lyon W., Kuo J. (2014) MicroRNAs in cancer: glioblastoma and glioblastoma cancer stem cells. *Neurochem. Internat.* **77**, 68–77.
7. Hosgood H., Hu W., Rothman N., Klugman M., Weinstein S., Virtamo J., Albanes D., Cawthon R., Lan Q. (2019) Variation in ribosomal DNA copy number is associated with lung cancer risk in a prospective cohort study. *Carcinogenesis.* **40**(8), 975–978.
8. Santoro R., Grummt I. (2005) Epigenetic mechanism of rRNA gene silencing: temporal order of NoRC-mediated histone modification, chromatin remodeling, and DNA methylation. *Mol. Cell. Biol.* **25**(7), 2539–2546.
9. Savić N., Bär D., Leone S., Frommel S., Weber F., Vollenweider E., Ferrari E., Ziegler U., Kaech A., Shakhova O., Cinelli P., Santoro R. (2014) LncRNA maturation to initiate heterochromatin formation in the nucleolus is required for exit from pluripotency in eSCs. *Cell Stem Cell.* **15**(6), 720–734.
10. McConkey E., Hopkins J. (1964) The relationship of the nucleolus to the synthesis of ribosomal RNA in HeLa cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **51**(6), 1197–204.
11. Schwarzacher H., Wachtler F. (1993) The nucleolus. *Anat. Embryol.* **188**(6), 515–536.
12. Gonzalez I., Sylvester J. (1995) Complete sequence of the 43-kb human ribosomal DNA repeat: analysis of the intergenic spacer. *Genomics.* **27**(2), 320–328.
13. Gibbons J., Branco A., Godinho S., Yu S., Lemos B. (2015) Concerted copy number variation balances ribosomal DNA dosage in human and mouse genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **112**(8), 2485–2490.
14. Hall A., Turner T., Queitsch C. (2021) Thousands of high-quality sequencing samples fail to show meaningful correlation between 5S and 45S ribosomal DNA arrays in humans. *Sci. Rep.* **11**(1), 449.
15. Wang M., Lemos B. (2017) Ribosomal DNA copy number amplification and loss in human cancers is linked to tumor genetic context, nucleolus activity, and proliferation. *PLoS Genet.* **13**(9), e1006994.
16. Smirnov E., Chmúrčáková N., Liška F., Bažantová P., Cmarko D. (2021) Variability of human rDNA. *Cells.* **10**(2), 196.
17. Erickson J., Schmickel R. (1985) A molecular basis for discrete size variation in human ribosomal DNA. *Am. J. Hum. Genet.* **37**(2), 311–325.
18. Akamatsu Y., Kobayashi T. (2015) The human RNA polymerase I transcription terminator complex acts as a replication fork barrier that coordinates the progress of replication with rRNA transcription activity. *Mol. Cell. Biol.* **35**(10), 1871–1881.
19. Jacob M., Audas T., Mullineux S., Lee S. (2012) Where no RNA polymerase has gone before: novel functional transcripts derived from the ribosomal intergenic spacer. *Nucleus.* **3**(4), 315–319.
20. Guetg C., Santoro R. (2012) Formation of nuclear heterochromatin: the nucleolar point of view. *Epigenetics.* **7**(8), 811–814.
21. van Koningsbruggen S., Gierlinski M., Schofield P., Martin D., Barton G., Ariyurek Y., den Dunnen J., Lamond A. (2010) High-resolution whole-genome sequencing reveals that specific chromatin domains from most human chromosomes associate with nucleoli. *Mol. Biol. Cell.* **21**(21), 3735–3748.
22. Németh A., Conesa A., Santoyo-Lopez J., Medina I., Montaner D., Péterfia B., Solovei I., Cremer T., Dopazo J., Längst G. (2010) Initial genomics of the human nucleolus. *PLoS Genet.* **6**(3), e1000889.
23. Yu S., Lemos B. (2018) The long-range interaction map of ribosomal DNA arrays. *PLoS Genet.* **14**(3), e1007258.
24. Strohner R., Németh A., Jansa P., Hofmann-Rohrer U., Santoro R., Längst G., Grummt I. (2001) NoRC – a novel member of mammalian ISWI-containing chromatin remodeling machines. *EMBO J.* **20**(17), 4892–4900.
25. Guetg C., Lienemann P., Sirri V., Grummt I., Hernandez-Verdun D., Hottiger M., Fussenegger M., Santoro R. (2010) The NoRC complex mediates the heterochromatin formation and stability of silent rRNA genes and centromeric repeats. *EMBO J.* **29**(13), 2135–2146.

26. Postepska-Igielska A., Kronic D., Schmitt N., Greulich-Bode K., Boukamp P., Grummt I. (2013) The chromatin remodelling complex NoRC safeguards genome stability by heterochromatin formation at telomeres and centromeres. *EMBO Rep.* **14**(8), 704–710.
27. Guetg C., Scheifele F., Rosenthal F., Hottiger M., Santoro R. (2012) Inheritance of silent rDNA chromatin is mediated by PARP1 via noncoding RNA. *Mol. Cell.* **45**(6), 790–800.
28. Krishnakumar R., Kraus W. (2010) PARP-1 regulates chromatin structure and transcription through a KDM5B-dependent pathway. *Mol. Cell.* **39**(5), 736–749.
29. Roper S., Chrysanthou, S., Senner C., Sienerth A., Gnan S., Murray A., Masutani M., Latos P., Hemberger M. (2014) ADP-ribosyltransferases Parp1 and Parp7 safeguard pluripotency of ES cells. *Nucl. Acids Res.* **42**(14), 8914–8927.
30. Schreiber V., Dantzer F., Amé J.C., de Murcia G. (2006) Poly(ADP-ribose): novel functions for an old molecule. *Nat. Rev.* **7**(7), 517–528.
31. Nalabothula N., Al-jumaily T., Eteleeb A., Flight R., Xiaorong S., Moseley H., Rouchka E., Fondufe-Mittendorf Y. (2015) Genome-wide profiling of PARP1 reveals an interplay with gene regulatory regions and DNA methylation. *PLoS One.* **10**(8), e0135410.
32. Mansuroglu Z., Benhelli-Mokrani H., Marcato V., Sultan A., Violet M., Chauderlier A., Delattre L., Loyens A., Talahari S., Bégard S., Nessler F., Colin M., Souès S., Lefebvre B., Buée L., Galas M.C., Bonnefoy E. (2016) Loss of Tau protein affects the structure, transcription and repair of neuronal pericentromeric heterochromatin. *Sci. Rep.* **6**, 33047.
33. Maina M., Bailey L., Wagih S., Biasetti L., Pollack S., Quinn J., Thorpe J., Doherty A., Serpell L. (2018) The involvement of Tau in nucleolar transcription and the stress response. *Acta Neuropathol. Commun.* **6**(1), 70.
34. Kuhn A., Grummt I. (1992) Dual role of the nucleolar transcription factor UBF: trans-activator and antirepressor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **89**(16), 7340–7344.
35. Sanij E., Poortinga G., Sharkey K., Hung S., Holloway T., Quin J., Robb E., Wong L., Thomas W., Stefanovsky V., Moss T., Rothblum L., Hannan K.M., McArthur G.A., Pearson R.B., Hannan R.D. (2008) UBF levels determine the number of active ribosomal RNA genes in mammals. *J. Cell. Biol.* **183**(7), 1259–1274.
36. Hannan K., Hannan R., Rothblum L. (1998) Transcription by RNA polymerase I. *Front. Biosci.* **3**, d376–d398.
37. Grummt I. (1999) Regulation of mammalian ribosomal gene transcription by RNA polymerase I. *Prog. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.* **62**, 109–154.
38. Grummt I. (2010) Wisely chosen paths – regulation of rRNA synthesis. *FEBS J.* **277**(22), 4626–4639.
39. Tanaka Y., Tsuneoka M. (2018) Control of ribosomal RNA transcription by nutrients. In: *Gene Expression and Regulation in Mammalian Cells – Transcription Toward the Establishment of Novel Therapeutics*. Ed. Uchiumi F. London: IntechOpen. Ch. 2.
40. Matthews D., Olson M. (2006) What is new in the nucleolus?: workshop on the nucleolus: new perspectives. *EMBO Rep.* **7**(9), 870–873.
41. Zhao Z., Senturk N., Song C., Grummt I. (2018) IncRNA PAPAS tethered to the rDNA enhancer recruits hypophosphorylated CHD4/NuRD to repress rRNA synthesis at elevated temperatures. *Genes Dev.* **32**(11–12), 836–848.
42. Grummt I., Ladurner A. (2008) A metabolic throttle regulates the epigenetic state of rDNA. *Cell.* **133**(4), 577–580.
43. Zentner G., Saiakhova A., Manaenkov P., Adams M., Scacheri P. (2011) Integrative genomic analysis of human ribosomal DNA. *Nucl. Acids Res.* **39**(12), 4949–4960.
44. Srivastava R., Srivastava R., Ahn S. (2016) The epigenetic pathways to ribosomal DNA silencing. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **80**(3), 545–563.
45. Li J., Längst G., Grummt I. (2006) NoRC-dependent nucleosome positioning silences rRNA genes. *EMBO J.* **25**(24), 5735–5741.
46. Li J., Santoro R., Koberna K., Grummt I. (2005) The chromatin remodeling complex NoRC controls replication timing of rRNA genes. *EMBO J.* **24**(1), 120–127.
47. Wang M., Lemos B. (2019) Ribosomal DNA harbors an evolutionarily conserved clock of biological aging. *Genome Res.* **29**(3), 325–333.
48. Németh A., Guibert S., Tiwari V., Ohlsson R., Längst G. (2008) Epigenetic regulation of TTF-I-mediated promoter–terminator interactions of rRNA genes. *EMBO J.* **27**(8), 1255–1265.
49. Xie W., Ling T., Zhou Y., Feng W., Zhu Q., Stunnenberg H., Grummt I., Tao W. (2012) The chromatin remodeling complex NuRD establishes the poised state of rRNA genes characterized by bivalent histone modifications and altered nucleosome positions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **109**(21), 8161–8166.
50. Yuan X., Feng W., Imhof A., Grummt I., Zhou Y. (2007) Activation of RNA polymerase I transcription by cockayne syndrome group B protein and histone methyltransferase G9a. *Mol. Cell.* **27**(4), 585–595.
51. Salifou K., Ray S., Verrier L., Aguirrebengoa M., Trouche D., Panov K., Vandromme M. (2016) The histone demethylase JMJD2A/KDM4A links ribosomal RNA transcription to nutrients and growth factors availability. *Nat. Commun.* **7**, 10174.
52. Murayama A., Ohmori K., Fujimura A., Minami H., Yasuzawa-Tanaka K., Kuroda T., Oie S., Daitoku H., Okuwaki M., Nagata K., Fukamizu A., Kimura K., Shimizu T., Yanagisawa J. (2008) Epigenetic control of rDNA loci in response to intracellular energy status. *Cell.* **133**(4), 627–639.
53. Kumazawa T., Nishimura K., Kuroda T., Ono W., Yamaguchi C., Katagiri N., Tsuchiya M., Masumoto H., Nakajima Y., Murayama A., Kimura K., Yanagisawa J. (2011) Novel nucleolar pathway connecting intracellular energy status with p53 activation. *J. Biol. Chem.* **286**(23), 20861–20869.
54. Yan Q., Zhu C., Guang S., Feng X. (2019) The functions of non-coding RNAs in rRNA regulation. *Front. Genet.* **10**, 290.
55. Jacob M., Audas T., Uniacke J., Trinkle-Mulcahy L., Lee S. (2013) Environmental cues induce a long non-coding RNA-dependent remodeling of the nucleolus. *Mol. Biol. Cell.* **24**(18), 2943–2953.
56. Bierhoff H., Schmitz K., Maass F., Ye J., Grummt I. (2010) Noncoding transcripts in sense and antisense

- orientation regulate the epigenetic state of ribosomal RNA genes. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **75**, 357–364.
57. Schmitz K., Mayer C., Postepska A., Grummt I. (2010) Interaction of noncoding RNA with the rDNA promoter mediates recruitment of DNMT3b and silencing of rRNA genes. *Genes Dev.* **24**(20), 2264–2269.
 58. Mayer C., Neubert M., Grummt I. (2008) The structure of NoRC-associated RNA is crucial for targeting the chromatin remodelling complex NoRC to the nucleolus. *EMBO Rep.* **9**(8), 774–780.
 59. Bierhoff H., Dammert M., Brocks D., Dambacher S., Schotta G., Grummt I. (2014) Quiescence-induced LncRNAs trigger H4K20 trimethylation and transcriptional silencing. *Mol. Cell.* **54**(4), 675–682.
 60. Li D., Zhang J., Wang M., Li X., Gong H., Tang H., Chen L., Wan L., Liu Q. (2018) Activity dependent LoNA regulates translation by coordinating rRNA transcription and methylation. *Nat. Commun.* **9**(1), 1726–1739.
 61. Caudron-Herger M., Pankert T., Seiler J., Németh A., Voit R., Grummt I., Rippe K. (2015) Alu element-containing RNAs maintain nucleolar structure and function. *EMBO J.* **34**(22), 2758–2774.
 62. Xing Y., Yao R., Zhang Y., Guo C., Jiang S., Xu G., Dong R., Yang L., Chen L. (2017) SLERT regulates DDX21 rings associated with Pol I transcription. *Cell.* **169**(4), 664–678.
 63. Morgan G., Reeder R., Bakken A. (1983) Transcription in cloned spacers of *Xenopus laevis* ribosomal DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **80**(21), 6490–6494.
 64. Kuhn A., Grummt I. (1987) A novel promoter in the mouse rDNA spacer is active *in vivo* and *in vitro*. *EMBO J.* **6**(11), 3487–3492.
 65. Agrawa S., Ganley A. (2018) The conservation landscape of the human ribosomal RNA gene repeats. *PLoS One.* **13**(12), e0207531.
 66. Li Y., Wang H., Wan F., Liu F., Liu J., Zhang N., Jin S., Li J. (2012) Deep sequencing analysis of small non-coding RNAs reveals the diversity of microRNAs and piRNAs in the human epididymis. *Gene.* **497**(2), 330–335.
 67. Ma X., Liu H., Zheng Y., Dai Y., Lingling E., Zhang R., Zhang S. (2022) Genome-wide screening of different expressed genes and its potential associations with aging dental pulp stem cells. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* <https://doi.org/10.2174/1386207325666220705120904>
 68. Pirogov S., Gvozdev V., Klenov M. (2019) Long non-coding RNAs and stress response in the nucleolus. *Cells.* **8**(7), 668.
 69. Mayer C., Schmitz K., Li J., Grummt I., Santoro R. (2006) Intergenic transcripts regulate the epigenetic state of rRNA genes. *Mol. Cell.* **22**(3), 351–361.
 70. McStay B., Grummt I. (2008) The epigenetics of rRNA genes: from molecular to chromosome biology. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **24**, 131–157.
 71. Mars J.C., Sabourin-Felix M., Tremblay M., Moss T. (2017) A deconvolution protocol for ChIP-seq reveals analogous enhancer structures on the mouse and human ribosomal RNA genes. *G3.* **8**(1), 303–314.
 72. Shiao Y., Lupascu S., Gu Y., Kasprzak W., Hwang C., Fields J., Leighty R., Quiñones O., Shapiro B., Alvorod W., Anderson L. (2009) An intergenic non-coding RNA correlated with expression of the rRNA and frequency of an rRNA single nucleotide polymorphism in lung cancer cells. *PLoS One.* **4**(10), e7505.
 73. Vacík T., Kerečiče S., Raška I., Cmarko D., Smirnov E. (2019) Life time of some RNA products of rDNA intergenic spacer in HeLa cells. *Histochem. Cell. Biol.* **152**(4), 271–280.
 74. Todd M., Huh M., Picketts D. (2016) The sub-nucleolar localization of PHF6 defines its role in rDNA transcription and early processing events. *Eur. J. Hum. Genet.* **24**(10), 1453–1459.
 75. Sadova A., Kupriyanova N., Pavlova G. (2020) Mapping and quantification of non-coding RNA originating from the rDNA in human glioma cells. *Cancers.* **12**(8), 2090.
 76. Sadova A., Pantelev D., Pavlova G. (2021) Zooming in: PAGE-northern blot helps to analyze anti-sense transcripts originating from human rIGS under transcriptional stress. *Noncoding RNA.* **7**(3), 50.
 77. Abraham K., Khosraviani N., Chan J., Gorthi A., Samman A., Zhao D.Y., Wang M., Bokros M., Vidya E., Ostrowski L.A., Oshidari R., Pietrobon V., Patel P.S., Algouneh A., Singhania R., Liu Y., Yerlici V.T., De Carvalho D.D., Ohh M., Dickson B.C., Hakem R., Greenblatt J.F., Lee S., Bishop A.J.R., Mekhail K. (2020) Nucleolar RNA polymerase II drives ribosome biogenesis. *Nature.* **585**(7824), 298–302.
 78. Warmerdam D., Wolthuis R. (2019) Keeping ribosomal DNA intact: a repeating challenge. *Chromosome Res.* **27**(1–2), 57–72.
 79. Machwe A., Orren D.K., Bohr V.A. (2000) Accelerated methylation of ribosomal RNA genes during the cellular senescence of Werner syndrome fibroblasts. *FASEB J.* **14**(12), 1715–1724.
 80. Zeng J., Libien J., Shaik F., Wolk J., Hernández A. (2016) Nucleolar PARP-1 expression is decreased in Alzheimer's disease: consequences for epigenetic regulation of rDNA and cognition. *Neural. Plasticity.* **2016**, 8987928.
 81. Pietrzak M., Rempala G., Nelson P., Hetman M. (2011) Epigenetic silencing of nucleolar rRNA genes in Alzheimer's disease. *PLoS One.* **6**(7), e22585.
 82. Teschler S., Gotthardt J., Dammann G., Dammann R. (2016) Aberrant DNA methylation of rDNA and PRIMA1 in borderline personality disorder. *Int. J. Mol. Sci.* **17**(1), E67.
 83. McGowan P., Sasaki A., Huang T., Unterberger A., Suderman M., Ernst C., Meaney M., Turecki G., Szyf M. (2008) Promoter-wide hypermethylation of the ribosomal RNA gene promoter in the suicide brain. *PLoS One.* **3**(5), e2085.
 84. Hallgren J., Pietrzak M., Rempala G., Nelson P., Hetman M. (2014) Neurodegeneration-associated instability of ribosomal DNA. *Biochim. Biophys. Acta.* **1842**(6), 860–868.
 85. Dastidar S., Nair D. (2022) A ribosomal perspective on neuronal local protein synthesis. *Front. Mol. Neurosci.* **15**, 823135.
 86. Allen K., Regier M., Hsieh C., Tsokas P., Barnard M., Phatarpekar S., Wolk J., Sacktor T., Fenton A., Hernández A. (2018) Learning-induced ribosomal RNA is required for memory consolidation in mice: evidence of differentially expressed rRNA variants in learning and memory. *PLoS One.* **13**(10), e020337.

87. Allen K., Gourov A., Harte C., Gao P., Lee C., Sylvain D., Splett J., Oxberry W., van de Nes P., Troy-Regier M., Wolk J., Alarcon J.M., Hernández A.I. (2014) Nucleolar integrity is required for the maintenance of long-term synaptic plasticity. *PLoS One*. **9**(8), e104364.
88. Lyapunova N., Porokhovnik L., Kosyakova N., Mandron I., Tsvetkova T. (2017) Effects of the copy number of ribosomal genes (genes for rRNA) on viability of subjects with chromosomal abnormalities. *Gene*. **611**, 47–53.
89. Ravaioli F., Zampieri M., Morandi L., Pirazzini C., Pellegrini C., De Fanti S., Gensous N., Pirazzoli G., Sambati L., Ghezzi A., Ciccarone F., Reale A., Monti D., Salvioli S., Caiafa P., Capri M., Bürkle A., Moreno-Villanueva M., Garagnani P., Franceschi C., Bacalini M.G. (2022) DNA methylation analysis of ribosomal DNA in adults with Down syndrome. *Front. Genet.* **13**, 792165.
90. Chestkov I.V., Jestkova E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Kolesina N.Y., Porokhovnik L.N., Lyapunova N.A., Izhevskaya V.L., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. (2018) Abundance of ribosomal RNA gene copies in the genomes of schizophrenia patients. *Schizophr. Res.* **197**, 305–314.
91. Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Zakharova N.V., Shmarina G.V., Veiko R.V., Umriukhin P.E., Kostyuk G.P., Kutsev S.I., Izhevskaya V.L., Veiko N.N., Kostyuk S.V. (2020). Copy number variations of satellite III (1q12) and ribosomal repeats in health and schizophrenia. *Schizophr. Res.* **223**, 199–212.
92. Umriukhin P., Ershova E., Filev A., Agafonova O., Martynov A., Zakharova N., Veiko R., Porokhovnik L., Kostyuk G., Kutsev S., Veiko N., Kostyuk S. (2022) The psychoemotional stress-induced changes in the abundance of SatIII (1q12) and telomere repeats, but not ribosomal DNA, in human leukocytes. *Genes (Basel)*. **13**(2), 343.
93. Кондратьева Е., Ершова Е., Воронкова А., Шмарина Г., Красовский С., Жекайте Е., Петрова Н., Мельяновская Ю., Одинаева Н., Вейко Н., Костюк С. (2021) Вариация числа копий рибосомных генов в геномах больных муковисцидозом. *Мед. генет.* **20**(2), 49–60.
94. Вейко Н., Шубаева Н., Цветкова Т., Мандрон И., Малиновская Т., Сперанский А., Ляпунова Н. (2005) Особенности количественных характеристик комплекса рибосомных генов у пациентов с тяжелыми формами ревматоидного артрита. *Мед. генет.* **4**(4), 74.
95. Zamanpoor M., Ghaedi H., Omrani M. (2020) The genetic basis for the inverse relationship between rheumatoid arthritis and schizophrenia. *Mol. Genet. Genom. Med.* **8**(11), e1483.
96. Porokhovnik L., Lyapunova N. (2019) Dosage effects of human ribosomal genes (rDNA) in health and disease. *Chromosome Res.: Internat. J. Mol., Supramol. Evol. Aspects Chromosome Biol.* **27**(1–2), 5–17.
97. Malinovskaya E., Ershova E., Golimbet V., Porokhovnik L., Lyapunova N., Kutsev S., Veiko N., Kostyuk S. (2018) Copy number of human ribosomal genes with aging: unchanged. *Front. Genet.* **9**, 306.
98. Veiko N., Ershova E., Veiko R., Umriukhin P., Kurmyshev M., Kostyuk G., Kutsev S., Kostyuk S. (2022) Mild cognitive impairment is associated with low copy number of ribosomal genes in the genomes of elderly people. *Front. Genet.* **13**, 967448.
99. Holdt L., Stahring A., Sass K., Pichler G., Kulak N., Wilfert W., Kohlmaier A., Herbst A., Northoff B., Nicolaou A., Gäbel G., Beutner F., Scholz M., Thiery J., Musunuru K., Krohn K., Mann M., Teupser D. (2016) Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans. *Nat. Commun.* **7**, 12429.
100. Narla A., Ebert B. (2010) Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. *Blood*. **115**(16), 3196–3205.
101. Mills E., Green R. (2017) Ribosomopathies: there's strength in numbers. *Science*. **358**(6363), eaan2755.
102. Calo E., Gu B., Bowen M., Aryan F., Zalc A., Liang J., Flynn R., Swigut T., Chang H., Attardi L., Wysocka J. (2018) Tissue-selective effects of nucleolar stress and rDNA damage in developmental disorders. *Nature*. **554**(7690), 112–117.
103. Von Walden F., Gantelius S., Liu C., Borgström H., Björk L., Gremark O., Stål P., Nader G., Ponté N. (2018) Muscle contractures in patients with cerebral palsy and acquired brain injury are associated with extracellular matrix expansion, pro-inflammatory gene expression, and reduced rRNA synthesis. *Muscle Nerve*. **58**(2), 277–285.
104. Hwang Y., Han D., Kim K., Min S., Kowall N., Yang L., Lee J., Kim Y., Ryu H. (2014) ESET methylates UBF at K232/254 and regulates nucleolar heterochromatin plasticity and rDNA transcription. *Nucl. Acids Res.* **42**(3), 1628–1643.
105. Xie Q., Li C., Song X., Wu L., Jiang Q., Qiu Z., Cao H., Yu K., Wan C., Li J., Yang F., Huang Z., Niu B., Jiang Z., Zhang T. (2017) Folate deficiency facilitates recruitment of upstream binding factor to hot spots of DNA double-strand breaks of rRNA genes and promotes its transcription. *Nucl. Acids Res.* **45**(5), 2472–2489.
106. Hetman M., Slomnicki L. (2019) Ribosomal biogenesis as an emerging target of neurodevelopmental pathologies. *J. Neurochem.* **148**(3), 325–347.
107. Smirnov E., Chmúrčiaková N., Cmarko D. (2021) Human rDNA and cancer. *Cells*. **10**(12), 3452.
108. Valori V., Tus K., Laukaitis C., Harris D., LeBeau L., Maggert K. (2019) Human rDNA copy number is unstable in metastatic breast cancers. *Epigenetics*. **15**(1–2), 85–106.
109. Xu B., Li H., Perry J., Singh V., Unruh J., Yu Z., Zakari M., McDowell W., Li L., Gerton J. (2017) Ribosomal DNA copy number loss and sequence variation in cancer. *PLoS Genet.* **13**(6), e1006771.
110. Baskaran S., Mayrhofer M., Kultima H., Bergström T., Elfineh L., Cavellier L., Isaksson A., Nelander S. (2018) Primary glioblastoma cells for precision medicine: a quantitative portrait of genomic (in)stability during the first 30 passages. *Neuro-Oncol.* **20**(8), 1080–1091.
111. Belin S., Beghin A., Solano-González E., Bezin L., Brunet-Manquat S., Textoris J., Prats A., Mertani H., Dumontet C., Diaz J. (2009) Dysregulation of ribosome biogenesis and translational capacity is associated with tumor progression of human breast cancer cells. *PLoS One*. **4**(9), e7147.

112. Rajput P., Shukla S., Kumar V. (2015) The HBx oncoprotein of hepatitis B virus potentiates cell transformation by inducing c-Myc-dependent expression of the RNA polymerase I transcription factor UBF. *Virology*. **12**, 62.
113. Grandori C., Gomez-Roman N., Felton-Edkins Z., Ngouenet C., Galloway D., Eisenman R., White R. (2005) c-Myc binds to human ribosomal DNA and stimulates transcription of rRNA genes by RNA polymerase I. *Nat. Cell. Biol.* **7**(3), 311–318.
114. Hannan K., Hannan R., Smith S., Jefferson L., Lun M., Rothblum L. (2000) Rb and p130 regulate RNA polymerase I transcription: Rb disrupts the interaction between UBF and SL-1. *Oncogene*. **19**(43), 4988–4999.
115. Frescas D., Guardavaccaro D., Bassermann F., Koyama-Nasu R., Pagano M. (2007) JHDM1B/FBXL10 is a nucleolar protein that represses transcription of ribosomal RNA genes. *Nature*. **450**(7167), 309–313.
116. Lozzio C., Lozzio B. (1975) Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. *Blood*. **45**(3), 321–334.
117. Foltankova V., Legartova S., Kozubek S., Bartova E. (2012) Tumor-specific histone signature and DNA methylation in multiple myeloma and leukemia cells. *Neoplasma*. **59**(4), 450–462.
118. Giard D., Aaronson S., Todaro G., Arnstein P., Kersey J., Dosik H., Parks W. (1973) *In vitro* cultivation of human tumors: establishment of cell lines derived from a series of solid tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* **51**(5), 1417–1423.
119. Soule H., Vazquez J., Long A., Albert S., Brennan M. (1973) A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* **51**(5), 1409–1416.
120. Lee A., Oesterreich S., Davidson N. (2015) MCF-7 cells – changing the course of breast cancer research and care for 45 years. *J. Natl. Cancer Inst.* **107**(7), djv073.
121. Johnston R., D'Costa Z., Ray S., Gorski J., Harkin D., Mullan P., Panov K. (2016) The identification of a novel role for BRCA1 in regulating RNA polymerase I transcription. *Oncotarget*. **7**(42), 68097–68110.
122. Kaighn M., Narayan K., Ohnuki Y., Lechner J., Jones L. (1979) Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest. Urol.* **17**(1), 16–23.
123. Zhang D., Park D., Zhong Y., Lu Y., Rycak K., Gong S., Chen X., Liu X., Chao H., Whitney P., Calhoun-Davis T., Takata Y., Shen J., Iyer V.R., Tang, D.G. (2016) Stem cell and neurogenic gene-expression profiles link prostate basal cells to aggressive prostate cancer. *Nat. Commun.* **7**, 10798.
124. Yan Y., Chen Z., Xiao Y., Wang X., Qian K. (2019) Long non-coding RNA SNHG6 is upregulated in prostate cancer and predicts poor prognosis. *Mol. Biol. Rep.* **46**(3), 2771–2778.
125. Holmberg Olausson K., Nister M., Lindstrom M. (2014) Loss of nucleolar histone chaperone NPM1 triggers rearrangement of heterochromatin and synergizes with a deficiency in DNA methyltransferase DNMT3a to drive ribosomal DNA transcription. *J. Biol. Chem.* **289**(50), 34601–34619.
126. Kobayashi T. (2008) A new role of the rDNA and nucleolus in the nucleus – rDNA instability maintains genome integrity. *Bioessays*. **30**(3), 267–272.
127. O'Sullivan J., Pai D., Cridge A., Engelke D., Ganley A. (2013) The nucleolus: a raft adrift in the nuclear sea or the keystone in nuclear structure? *Biomol. Concepts*. **4**(3), 277–286.
128. Audas T., Jacob M., Lee S. (2012) Immobilization of proteins in the nucleolus by ribosomal intergenic spacer noncoding RNA. *Mol. Cell.* **45**(2), 147–157.

Human rDNA Structure, Expression, and Non-Canonical Functions: the Role of Non-Coding Regions

A. A. Sadova^{1, 2, *}, D. Yu. Panteleev¹, and G. V. Pavlova^{1, 3, 4}

¹Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117485 Russia

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia

³Burdenko National Medical Research Center for Neurosurgery, Moscow, 125047 Russia

⁴First Moscow State Medical University, Moscow, 119435 Russia

*e-mail: 89652410866@mail.ru

The review is dedicated to analyzing and summarizing the data on the part of human genome encoding 45S rRNA. The sequences which seem evolutionary conserved on the first glance astonish one with their variability in structure and a variety of functions on closer examination. The major part of rDNA is non-coding and contains regulatory elements, protein binding sites, pseudogenes, repetitive sequences, and microRNA genes. Ribosomal intergenic spacers are not only in charge with the nucleolus morphology and functioning, namely, the rRNA expression and ribosome biogenesis, but also control nuclear chromatin formation thus mediating cell differentiation. Besides, alterations in the expression of these non-coding regions of rDNA in response to environmental stimuli underlies the keen sense of cell to various types of stressors. Malfunctioning of this process may result in a wide range of pathologies from oncology to neurodegenerative disease and mental illness. Here we observe to-date materials on the structure and transcription of the ribosomal intergenic spacer in humans and its role in rRNA expression, in-born disease development, and cancer.

Keywords: rDNA, rRNA, pRNA, PAPAS, IGS RNAs