

У-БОКС-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК 1 (УВ-1) И ЕГО ФУНКЦИИ

©2011 г. И. А. ЕЛИСЕЕВА, Е. Р. КИМ,
С. Г. ГУРЬЯНОВ, Л. П. ОВЧИННИКОВ, Д. Н. ЛЯБИН

Институт белка РАН, г. Пущино, Московская область

I. Введение. II. История открытия и номенклатура семейства У-бокс-связывающих белков. III. Свойства и структурно-функциональная организация У-бокс-связывающих белков. IV. Функции УВ-1 в ядре. V. Функции УВ-1 в цитоплазме. VI. Изменение внутриклеточной локализации УВ-1. VII. Секреция и экстраклеточные функции УВ-1. VIII. Участие УВ-1 в эмбриональном развитии. IX. УВ-1 и онкологические заболевания. X. Структура гена *УВ-1* и регуляция его экспрессии. XI. Попытки использования УВ-1 в терапевтических целях. XII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Мультифункциональный У-бокс-связывающий белок 1 (УВ-1) позвоночных входит в обширное семейство белков, содержащих древний, эволюционно консервативный домен холодового шока. Этот белок участвует в целом ряде клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференцировку и ответ на стрессовые воздействия. Нокаут гена *УВ-1* у мышей приводит к серьезным нарушениям эмбрионального развития и к ранней (пренатальной) гибели животных. Высокое содер-

Принятые сокращения: мРНК – матричные рибонуклеопротеиды; НТО – нетранслируемая область; ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход; А/Р – аланин/пролин-богатый домен; CRS – cytoplasmic retention site (сайт удержания в цитоплазме); CSD – cold shock domain (домен холодового шока); CTD – C-terminal domain (С-концевой домен); dbp А и В – DNA-binding proteins А и В; FRGY1 и 2 – Frog Y-box proteins 1 и 2; IFN γ – interferon γ (интерферон γ); NLS – nuclear localization signal (сигнал ядерной локализации); PABP – poly(A) binding protein (поли(А)-связывающий белок); TGF β – transforming growth factor β (трансформирующий фактор роста β); TNF α – tumor necrosis factor α (фактор некроза опухоли α); УВ-1 – Y-box binding protein 1 (У-бокс-связывающий белок 1).

Адрес для корреспонденции: ovchinn@vega.protres.ru

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11-04-00267 и грантов по Программе Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Фундаментальная наука – медицине».

жание YB-1 характерно для всех органов мышцы на пренатальных и ранних постнатальных стадиях развития, однако экспериментально показано, что его количество постепенно уменьшается с возрастом, и к старости он практически исчезает из всех органов, кроме печени.

YB-1 выполняет свои функции как в цитоплазме, так и в клеточном ядре. Он также может секретироваться из клеток и, связываясь с рецепторами на их поверхности, активировать внутриклеточную сигнализацию.

YB-1 – это ДНК- и РНК-связывающий белок, который проявляет свойства шаперона нуклеиновых кислот, а также взаимодействует с большим количеством других белков. Связываясь с нуклеиновыми кислотами, YB-1 принимает участие практически во всех ДНК- и мРНК-зависимых процессах, включая репликацию и репарацию ДНК, транскрипцию, сплайсинг и трансляцию мРНК. Он упаковывает и стабилизирует мРНК, а также осуществляет глобальную и специфическую регуляцию экспрессии генов на разных уровнях.

Поскольку содержание YB-1 сильно возрастает в раковых клетках, этот белок рассматривается в качестве одного из наиболее ярких маркеров злокачественных опухолей.

Переходя из цитоплазмы в клеточное ядро, YB-1 активирует транскрипцию генов ряда защитных белков, в том числе и белков, обеспечивающих множественную лекарственную устойчивость клеток. Вовлекаясь в процесс репарации ДНК в ядре, YB-1 также повышает устойчивость клеток к ксенобиотикам и ионизирующей радиации. Поэтому ядерная локализация YB-1 является одним из ранних маркеров множественной лекарственной устойчивости раковых клеток.

Повышение концентрации YB-1 в цитоплазме препятствует онкогенной трансформации клеток по PI3K/Akt-киназному сигнальному пути, и вместе с тем, оно может способствовать превращению дифференцированных эпителиальных клеток в мезенхимальные, обладающие повышенной миграционной активностью. Это благоприятствует распространению клеток по организму и метастазированию опухолей. Таким образом, YB-1 может служить в качестве маркера метастазирования раковых опухолей в отдаленные органы.

В данном обзоре мы постарались суммировать и подробно описать наиболее значимые из имеющихся на настоящий момент результатов исследований, посвященных белку YB-1 – одному из самых многофункциональных и интригующих объектов современной молекулярной биологии.

II. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И НОМЕНКЛАТУРА СЕМЕЙСТВА Y-БОКС-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ

Впервые Y-бокс-связывающие белки были описаны в 70-х годах прошлого века как универсальные мажорные компоненты цитоплазматических мРНК из ретикулоцитов птиц (утка) [1, 2] и млекопитающих (кролик) [3]. В последующих работах они были обнаружены в мРНК из других клеток млекопитающих: KB [4], HeLa [5], асцитной карциномы Эрлиха [6], клеток почки [7] и др. [8], а также из ооцитов земноводных (*Xenopus laevis*) [9]. Белки имели подвижность при SDS-гель-электрофорезе, соответствующую белкам с молекулярной массой около 50 кДа, в связи с чем долгое время эти белки обозначали как p50, p54/p56 и т.п. Независимо, эти белки были найдены и впервые просеквенированы по кДНК в 1988 году как ДНК-связывающие белки, взаимодействующие с так называемым Y-бокс мотивом, содержащимся в промоторных участках генов главного комплекса гистосовместимости класса II [10]. Именно тогда появился термин «Y-бокс-связывающие белки». Позднее определение первичной структуры p54/p56 *X. laevis* [11, 12] и p50 кролика [13] позволило отождествить их с Y-бокс-связывающими белками.

В 1988 году японские исследователи показали, что с энхансерной областью гена, кодирующего рецептор эпидермального фактора роста человека, специфично связываются два белка, названные dbpB и dbpA [14]. Оказалось, что dbpB полностью идентичен по аминокислотной последовательности YB-1, а dbpA гомологичен ему примерно на 46%. Оба белка, YB-1 и dbpA, содержали вблизи N-конца эволюционно консервативную последовательность, на 44% идентичную последовательности белка CspA (Cold shock protein A) *Escherichia coli* [15]. Эта часть молекулы YB-1 и его гомологов получила название «домен холодного шока» (CSD), поскольку белок CspA принадлежит к группе так называемых мажорных белков холодного шока бактерий. Присутствие CSD является одной из характерных черт Y-бокс-связывающих белков и позволяет причислить их к более обширной группе белков с доменом холодного шока. Другие представители этой группы могут состоять из одного (бактериальные белки CspA, CspB, CspE, CspD) или из нескольких (белок UNR (Upstream of N-Ras) млекопитающих) доменов холодного шока, и иметь, помимо CSD, дополнительные домены и последовательности, такие как домен цинковых пальцев (белок lin-28 *Caenorhabditis elegans*) или глицин-богатые последовательности (белок lin-28 *C. elegans*, белок RBP16 *Trypanosoma brucei*, белок GRP2 *Arabidopsis thaliana*).

К настоящему времени определены аминокислотные последовательности и выяснены некоторые функции около двух десятков Y-бокс-связывающих белков позвоночных. Хотя многие из них имеют собственные названия, все они могут быть разделены на три подсемейства (табл. 1).

Таблица 1.
Y-бокс-связывающие белки

	YB-1	YB-2	YB-3
<i>Homo sapiens</i> (человек)	YB-1 (Y-box binding protein 1); NSEBP 1 (Nuclease sensitive element binding protein 1); EFI-A (Enhancer factor I subunit A); dbpB (DNA-binding protein B)	YB-2 (Y-box binding protein 2, Germ cell-specific Y-box binding protein); Contrin ; dbpC (DNA-binding protein C)	dbpA (DNA-binding protein A); csdA (Cold shock domain protein A); Single-strand DNA binding protein NF-GMB
<i>Mus musculus</i> (мышь)	MSY-1 (Mouse Y-box binding protein 1); dbpB	MSY-2 (Mouse Y-box binding protein 2)	MSY-3/4 (Mouse Y-box binding protein 3/4); dbpA ; csdA
<i>Rattus norvegicus</i> (крыса)	RYB-a (Rat Y-box binding protein-a); YB-1		
<i>Oryctolagus cuniculus</i> (кролик)	p50 ; YB-1		
<i>Bos taurus</i> (бык)	EFI-A ; YB-1		
<i>Gallus gallus</i> (курица)	Chk-YB-1 (Chicken Y-box protein 1)	Chk-YB-2 (Chicken Y-box protein 2)	
<i>Xenopus laevis</i> (шпорцевая лягушка)	FRGY1 (Frog Y-box protein 1)	FRGY2 (Frog Y-box protein 2); p54/p56 ; mRNP4	YB-3
<i>Danio rerio</i> (рыба сем. Карповых)	YB-1		
<i>Chironomus tentans</i> (комар)	Ct-p50/p40		
<i>Drosophila melanogaster</i> (плодовая мушка, дрозофила)	Yps ; Y-box binding protein		

В первое подсемейство – YB-1 – входят собственно белок YB-1 человека (см. другие названия в табл. 1), белок p50 кролика, chk-YB-1 курицы, EFI-A быка, FRGY1 *X. laevis*, MSY-1 мышцы и некоторые другие. Эти белки, как правило, характерны для соматических клеток и выполняют самые разнообразные функции. Они наиболее изучены, и именно им будет посвящена большая часть нашего обзора.

Ко второму подсемейству – YB-2 – относятся белки FRGY2 (p54/p56) *X. laevis* и MSY-2 мышцы. Белки этого подсемейства из клеток человека получили несколько названий: YB-2, dbpC, contrin. Эти белки характерны для половых клеток.

И наконец, в подсемейство YB-3 входят белки dbpA (csdA) человека, MSY-3 мышцы и YB-3 *X. laevis*. Считается, что белки этого подсемейства синтезируются в период эмбрионального развития и к моменту рождения исчезают [16], однако мРНК YB-3 может детектироваться в некоторых тканях взрослого организма [17]. Отмечается также, что мРНК YB-3 имеет две изоформы: короткую и длинную, образующиеся за счет альтернативного сплайсинга пре-мРНК [17].

По аминокислотной последовательности белки Ct-p50/p40 *Chironomus tentans* и Yps *Drosophila melanogaster* трудно отнести к какому-либо подсемейству Y-бокс-связывающих белков позвоночных, так как их сходство с белками подсемейств YB-1, YB-2 и YB-3 ограничивается только высокой гомологией доменов холодового шока, очень сходным аминокислотным составом и характерным кластерным распределением заряженных аминокислотных остатков в С-концевом домене (CTD).

III. СВОЙСТВА И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ Y-БОКС-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ

ОБЩИЕ СВОЙСТВА Y-БОКС-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ

Главными особенностями белков всех трех подсемейств Y-бокс-связывающих белков позвоночных являются:

1. Высокое содержание аланина и пролина в N-концевом домене (отсюда его другое название – A/P-домен);
2. Присутствие домена холодового шока;
3. Протяженный С-концевой домен, содержащий чередующиеся кластеры положительно и отрицательно заряженных аминокислотных остатков (рис. 1А).

Сравнение аминокислотных последовательностей белков разных подсемейств показало, что их домены холодового шока идентичны более чем на 90% (рис. 1Б), а в остальной части белков заметной гомологии не наблюдается.

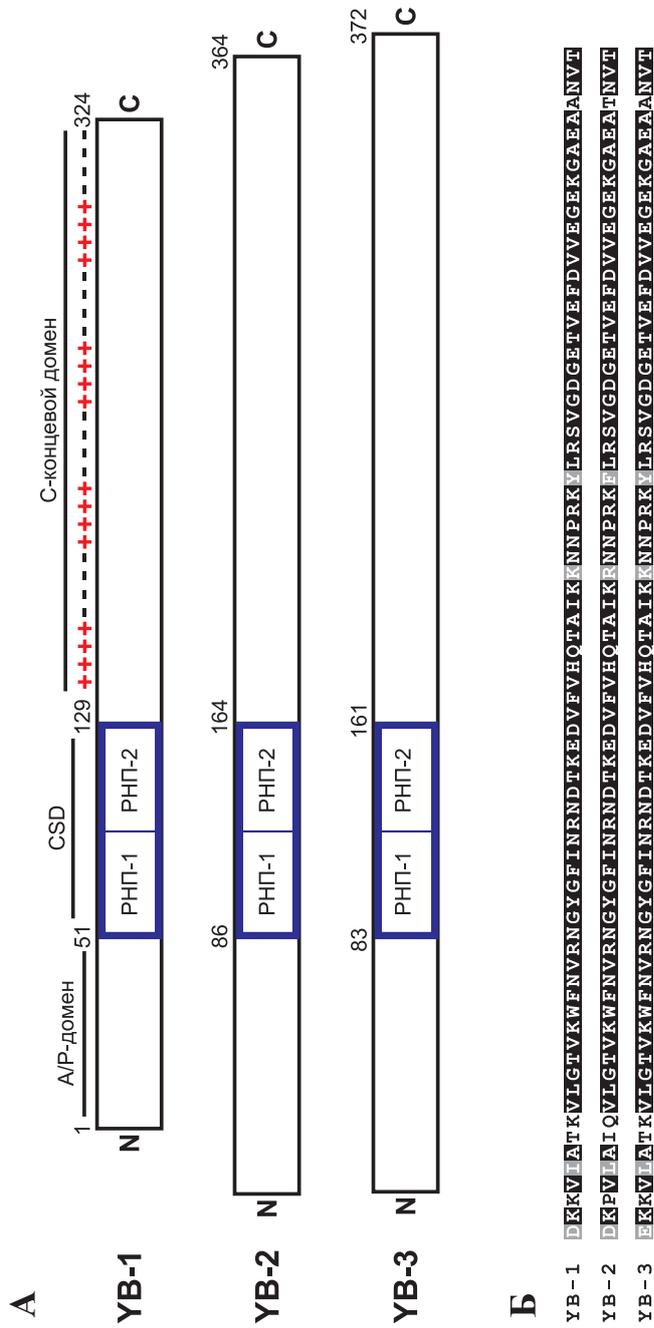


Рис. 1. Доменная организация Y-бокс-связывающих белков.

А – Y-бокс-связывающие белки человека.

Б – Сравнение аминокислотных последовательностей доменов холодого шока Y-бокс-связывающих белков человека.

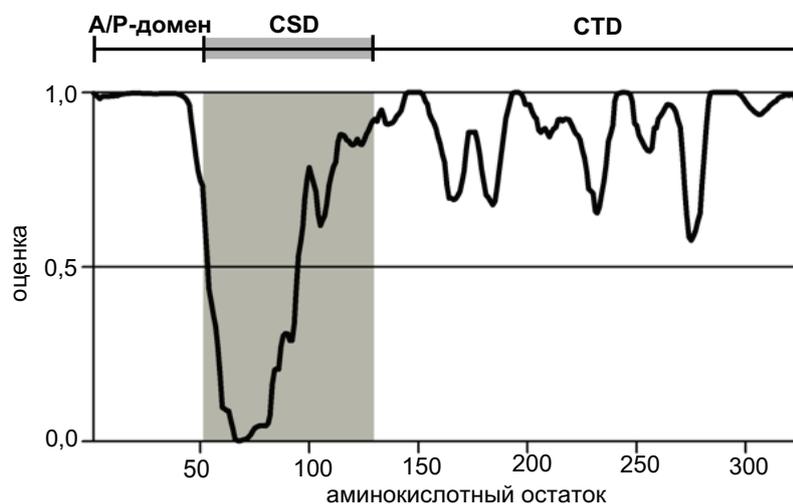


Рис. 2. Неупорядоченность в белке YB-1.

Каждому остатку сопоставлена оценка неупорядоченности по алгоритму PONDR VL-XT (www.pondr.com). Оценка $\geq 0,5$ означает неупорядоченность.

Внутри подсемейств гомология довольно высокая. Например, белок YB-1 человека на 96% идентичен белку MSY-1 мыши, на 80% белку FRGY1 *X. laevis* и на 67% белку YB-1 рыбы *Danio rerio*.

Согласно предсказанию вторичной структуры, N- и C-концевые домены неупорядочены (рис. 2). Вероятно поэтому до сих пор не удалось определить пространственную структуру полноразмерных Y-бокс-связывающих белков. Существует гипотеза, согласно которой конформация этих доменов фиксируется только при связывании с лигандами и может быть различной в комплексах с разными лигандами. По этой причине исследования пространственной структуры методами рентгеноструктурного анализа было бы целесообразно проводить на комплексах Y-бокс-связывающих белков с различными партнерами.

Исходя из данных спектроскопии кругового дихроизма (КД), было высказано предположение, что в белке FRGY2 присутствует структура поли(L-пролиновой) спирали II типа [18].

Пространственная структура белка CspA, который на 44% идентичен CSD YB-1, была определена методами рентгеноструктурного анализа и ядерного магнитного резонанса (ЯМР) относительно давно [19, 20], но только спустя почти десять лет методом ЯМР была установлена структура CSD YB-1 человека [21]. Пространственные структуры CSD YB-1 и CspA оказались очень близкими, что можно

было предположить, исходя из высокой гомологии этих белков. CSD YB-1, так же как и CspA, состоит из пяти β -тяжей, уложенных анти-параллельно в β -баррель, на торцах которого располагаются петли, соединяющие β -тяжи. CSD содержит так называемые консенсусные последовательности РНП-1 (K/N-G-F/Y-G-F-I/V) и РНП-2 (V-F-V-H-F) [22], благодаря которым он способен специфично и неспецифично связывать ДНК [23] и РНК [24, 25].

Согласно данным ЯМР, CSD YB-1 имеет низкую стабильность: при 25°C в растворе только около 70% молекул CSD находятся в нативном состоянии [26], в то время как температура плавления белка CspA *E. coli*, по данным микрокалориметрии, составляет 56°C [27]. Такое различие в стабильности CSD про- и эукариот связывают с наличием в CSD белка YB-1 длинной подвижной петли, которая отсутствует в прокариотических белках [21].

YB-1 и его гомологи образуют олигомеры массой до 800 кДа [13, 23]. С помощью электронной и атомно-силовой микроскопии было определено, что адсорбированные на подложку олигомеры имеют округлую форму, диаметр 35–40 нм и высоту 9–10 нм [28]. Олигомеризация, по-видимому, происходит за счет взаимодействия противоположно заряженных кластеров С-концевых доменов из разных молекул белка [23]. Изолированный CSD является мономером [26].

Недавно было обнаружено, что при высокой ионной силе YB-1 образует протяженные фибриллы диаметром 15–20 нм и длиной несколько микрометров. Фибриллы выглядят как спирали с периодом 50–52 нм [29]. Не исключено, что в формировании фибрилл участвует CSD в частично развернутом состоянии, в котором он существует в растворе в равновесии с CSD в нативном состоянии.

СВОЙСТВА Y-БОКС-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА 1 (YB-1)

YB-1 человека состоит из 324 аминокислотных остатков, среди которых преобладают Arg (11,7%), Gly (12%), Pro (11%) и Glu (8,3%). Рассчитанная по аминокислотной последовательности молекулярная масса белка равна ~35,9 кДа, однако при SDS-гель-электрофорезе YB-1, как уже отмечалось, мигрирует как белок с массой около 50 кДа, то есть ведет себя аномально. Характерной особенностью YB-1 является очень высокая изоэлектрическая точка – около 9,5 [30].

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ YB-1 С ДНК И РНК

YB-1 был обнаружен как ДНК-связывающий белок, специфично взаимодействующий с Y-боксом (5'-CTGATTGG^{c/c}/_{T/T}AA-3'), однако позднее выяснилось, что он может связываться с самыми различными

последовательностями в ДНК [31–33]. При анализе взаимодействия с олигодезоксирибонуклеотидами, иммобилизованными на микрочип, было обнаружено, что наибольшее предпочтение YB-1 проявляет к одноцепочечному мотиву GGGG, затем к одно- и двухцепочечным мотивам CACC и CATC, и еще меньшее сродство к последовательностям, встречающимся в Y-боксах [33]. Связываясь с ДНК, YB-1 значительно понижает температуру плавления двойных спиралей, на три порядка ускоряет образование двойных спиралей ДНК из взаимокomплементарных цепочек при физиологических условиях, а также катализирует обмен комплементарных цепей в несовершенных дуплексах до получения наиболее протяженных и совершенных двойных спиралей, то есть проявляет свойства ДНК-шаперона [28, 33, 34]. В работах многих авторов показано, что YB-1 имеет заметно большее сродство к одноцепочечной форме ДНК, чем к двухцепочечной. Предполагается, что связывание YB-1 с СТ-богатой цепочкой приводит к появлению нуклеозочувствительных участков в ДНК и образованию H-структуры ДНК на второй цепочке [31, 35–37]. Кроме того, YB-1 обладает повышенным сродством к ДНК, содержащей апуриновые сайты, и к ДНК, поврежденной цисплатином или содержащей неспаренные основания [31, 36, 38–40]. Связываясь с такой ДНК, YB-1 вызывает локальное плавление дуплексов, что, вероятно, способствует протеканию эффективной репарации ДНК [36, 40]. Таким образом, можно предположить, что обнаруженные особенности взаимодействия YB-1 с ДНК определяют его функциональную активность в таких процессах как транскрипция и репарация ДНК.

Функции YB-1 в сплайсинге, трансляции, стабилизации и упаковке мРНК определяются его способностью связывать РНК. Было показано, что YB-1 обладает высоким неспецифическим сродством к широкому спектру последовательностей, однако к некоторым из них YB-1 проявляет предпочтение. При связывании с гомополирибонуклеотидами наибольшее сродство YB-1 наблюдалось к поли(G), затем, по мере убывания, к поли(U), поли(A) и поли(C). Константа диссоциации комплексов YB-1 с мРНК глобинов и 16S рРНК составляет 4×10^{-9} М [30, 41]. Специфичная последовательность, с которой предпочтительно взаимодействуют гомологи YB-1 *X. laevis* (FRGY1 и FRGY2), была определена методом SELEX. Она представляет собой гексануклеотидную последовательность 5'-AACAUС-3' и получила название YRS (FRGY recognized sequence) [25]. Позднее похожие последовательности, с которыми специфично связывается YB-1 из разных организмов, были найдены методом футпринтинга в мРНК

УВ-1 (5'-UCCA^A/_GCA-3') [42], мРНК *протамина* (5'-UCCAUCA-3') [43], мРНК *VEGF* (Vascular endothelial growth factor) (5'-AAC^C/_UUCU-3') [44], РНК вируса саркомы Рауса (5'-GUACCACC-3') [45] и (+)РНК вируса Денге (5'-UCCAGGCA-3') [46]. Нетрудно заметить, что все они богаты А и С, и, как показал точечный мутагенез, С в третьем положении, А в четвертом и С в шестом (выделено жирным шрифтом) являются нуклеотидами, определяющими повышенное сродство УВ-1 к этим последовательностям [25, 43].

Стоит отметить, что УВ-1 имеет более высокое сродство к РНК, содержащей окисленное основание 8-оксогуанин. Такого рода модификации могут возникать в условиях окислительного стресса и приводить к различным ошибкам в процессе биосинтеза белка. Предполагается, что УВ-1, узнавая модифицированную мРНК, может выводить ее из трансляции [47].

Связываясь с РНК, УВ-1 плавит ее вторичную структуру, однако плавление происходит не полностью (при взаимодействии с УВ-1 в мРНК α -глобина плавится до 60% первоначальной вторичной структуры) [13]. При физиологических условиях УВ-1 ускоряет отжиг и катализирует обмен комплементарных цепочек РНК до получения наиболее протяженных и совершенных дуплексов, то есть проявляет свойства РНК-шаперона [34]. Важно отметить, что соотношение между РНК-плавящей и РНК-отжигающей активностями УВ-1 зависит от соотношения УВ-1/РНК в комплексе: в не насыщенных белком комплексах преобладает РНК-отжигающая, тогда как в насыщенных – РНК-плавящая активность [13]. Вероятно, при низком соотношении УВ-1/мРНК УВ-1 помогает мРНК принять правильную конформацию, что обеспечивает более корректное распознавание мРНК регуляторными РНК-связывающими факторами.

Считается, что за неспецифичное связывание с РНК отвечает СТД, хотя, по некоторым данным, он предпочитает последовательности, богатые пиримидинами [24]. Именно СТД обеспечивает высокое сродство УВ-1 к нуклеиновым кислотам. За специфичное связывание с РНК отвечает домен холодого шока, а СТД и, возможно, А/Р усиливают и стабилизируют это взаимодействие [18, 25, 48].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ УВ-1 С БЕЛКАМИ

Во взаимодействии с белками принимают участие все три домена УВ-1 (рис. 3). **А/Р-домен** содержит участки связывания актина [49], фактора сплайсинга SRp30c [50], фактора транскрипции p53 [51] и циклина D1 [52].

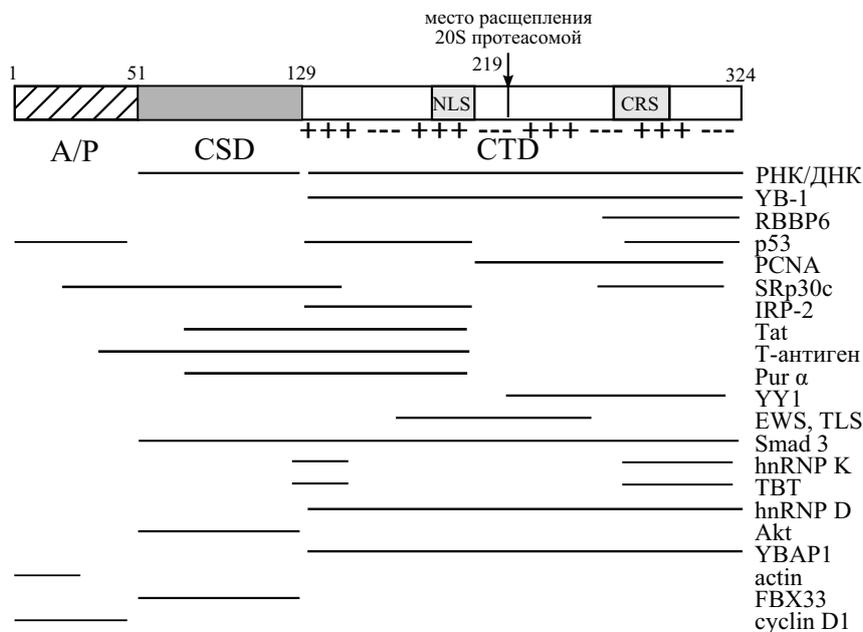


Рис. 3. Схема расположения сайтов связывания партнеров YB-1.

Плюсами и минусами показано расположение кластеров положительно и отрицательно заряженных аминокислот.

CSD способен взаимодействовать с киназой Akt [53] и E3-убиквитинлигазой FBX33 [54].

CTD обеспечивает гомомультимеризацию белка [23, 25, 55]. В этом домене содержатся участки связывания некоторых важных регуляторных белков, таких как hnRNP K [56], hnRNP D [57], TATA-связывающий белок TBP [56], фактор транскрипции p53 [51], YBAP1 (Y-box protein-associated acidic protein 1) [58], PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) [39], IRP-2 (Iron regulatory protein) [59], E3-убиквитинлигаза RBBP6 [60], транскрипционный фактор YY1 [61], TLS (Translocated in liposarcoma protein) и белок EWS (Ewings sarcoma breakpoint region) [62].

CTD и **CSD** совместно формируют участки связывания фактора транскрипции Prg α [63], фактора транскрипции Tat вируса HIV-1 [64], большого Т-антигена полиомавируса JCV [65], транскрипционного фактора Smad 3 [66], фактора сплайсинга SRp30c [50].

Известно, что YB-1 также взаимодействует с транскрипционным фактором Sox1 [67], CARP (Cardiac ankyrin repeat protein) [68],

тубулином [69], Ankrd2 (Ankyrin repeat domain-containing protein 2) [70], белком теплового шока HSP60 [71], транскрипционным фактором RelA [72], транскрипционным фактором CTCF [73], белком Pur β (Purine-rich element binding protein β) [74], транскрипционным фактором AP-2 [75], гистонацетилтрансферазой p300 [66], супрессором опухолей IRF-1 [76] и DEAD-подобной РНК-хеликазой [77]. Однако участки молекулы YB-1, вовлеченные в эти взаимодействия, точно не определены.

ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ YB-1

Известно, что YB-1 подвергается фосфорилированию, ограниченному протеолизу 20S протеасомой, убиквитинилированию и, возможно, ацетилированию.

В работах по тотальному масс-спектрометрическому исследованию фосфопротеома было показано, что YB-1 фосфорилируется по следующим аминокислотным остаткам: Ser165 и/или Ser167, Ser174 и/или Ser176, Ser313 и/или Ser314 и Tyr162 [78–81]. YB-1 может фосфорилироваться киназами ERK2 и GSK3 β , причем такое фосфорилирование увеличивает связывание YB-1 с промотором гена *VEGF* [82].

YB-1 фосфорилируется по Ser102 *in vitro* и *in vivo* киназой Akt [53, 83], а также киназой RSK [84].

YB-1 может полностью расщепляться 26S протеасомой после убиквитинилирования [54], а также подвергаться ограниченному протеолизу (процессингу) 20S протеасомой. В последнем случае YB-1 расщепляется АТФ- и убиквитин-независимо на два фрагмента после Glu219 [85]. Полный или ограниченный протеолиз белка запускается в разных физиологических условиях: полный протеолиз, вероятно, сопряжен с началом апоптоза, так как белок FBX33 (F-box protein 33), который входит в состав YB-1-специфичной E3-убиквитинлигазы и отвечает за узнавание YB-1, активируется именно в это время [54]. Недавно была обнаружена еще одна E3-лигаза, способная убиквитинилировать YB-1 – RBVP6 (Retinoblastoma binding protein 6) [60]. Процессинг под действием 20S протеасомы происходит при обработке клеток ксенобиотиками, повреждающими ДНК [85], а также, вероятно, при обработке эндотелиальных клеток кровеносных сосудов тромбином [86].

Предполагается, что YB-1 может ацетилироваться по остаткам лизина 301 и 304. Данная модификация может играть важную роль в секреции YB-1 из клетки [87].

IV. ФУНКЦИИ YB-1 В ЯДРЕ

В ядре YB-1 принимает участие в транскрипции самых разнообразных генов, в репарации и репликации ДНК и в сплайсинге пре-мРНК.

YB-1 В ТРАНСКРИПЦИИ

YB-1 может оказывать влияние на транскрипцию многих генов, в том числе и вирусных [88]. В частности, YB-1 регулирует активность генов, продукты которых участвуют в делении клеток, апоптозе, иммунном ответе, развитии множественной лекарственной устойчивости, стрессовых ответах, опухолевом росте (табл. 2).

Действие YB-1 на транскрипцию может быть как стимулирующим (позитивным), так и ингибирующим (негативным). Предполагается, что влияние YB-1 на транскрипцию может достигаться за счет его прямого взаимодействия со специфическими Y-бокс-содержащими участками в промоторах генов, а также с одноцепочечными участками ДНК, которые могут и не содержать Y-бокс-последовательности. Образуя комплекс с ДНК, YB-1 может привлекать в этот комплекс другие белки. Кроме того, YB-1 может взаимодействовать с ДНК, только находясь в комплексе с другими белками, или вовлекаться в комплексы с ДНК посредством других белков, связавшихся с ДНК. Детальный механизм влияния YB-1 на транскрипцию ни в одном случае пока не установлен, хотя регуляция транскрипции некоторых генов была исследована довольно подробно. Рассмотрим некоторые из таких примеров.

Достаточно давно было показано, что YB-1 может стимулировать транскрипцию гена *MDR1* (*Multidrug resistance*), кодирующего Р-гликопротеин. Предполагалось, что это происходит в результате связывания YB-1 с Y-бокс-последовательностью в промоторе этого гена [98, 99, 133]. Однако некоторые группы исследователей не находят YB-1 в составе ДНК/белковых комплексов, собирающихся в ядерных лизатах на двухцепочечных олигонуклеотидах, соответствующих участкам промотора гена *MDR1* [134, 135]. Это противоречие может быть объяснено как разными условиями проведения эксперимента, так и разными способами обнаружения YB-1 в составе этих комплексов – нокдауном YB-1 в первом случае и использованием антител во втором случае. Можно предположить, что YB-1 участвует в активации транскрипции гена *MDR1* только в строго определенных условиях и взаимодействует с промотором этого гена только в комплексе с другими белками. Действительно, недавно было показано, что взаимодействие YB-1 с промотором гена *MDR1* зависит от белка APE1 и происходит в комплексе с ним и гистонацетилтрансферазой p300.

Таблица 2.
Некоторые клеточные и вирусные гены, регулируемые УВ-1

Регулируемый ген	Ссылка
1	2
Активация	
ген <i>CCL5</i> (хемокин)	[89, 90]
ген <i>CD44</i> (поверхностный гликопротеид, связывающий гиалуроновую кислоту)	[91]
ген <i>CD49f</i> (интегрин $\alpha 6$)	[91]
ген гелатиназы А/матриксной металлопротеиназы 2	[75, 92–94]
ген ДНК-полимеразы α	[95]
гены <i>EGFR</i> (рецептор фактора роста эпидермиса) и <i>HER-2</i> (рецептор фактора роста эпидермиса человека 2)	[90, 96]
ген <i>MET</i> (рецептор фактора роста гепатоцитов)	[97]
ген <i>MDR1</i> (Р-гликопротеин, отвечающий за формирование множественной лекарственной устойчивости)	[98–100]
ген <i>MLC-2v</i> (легкая цепь миозина 2v)	[68, 101]
ген <i>LRP/MVP</i> (белок, участвующий в защите клеток от ксенобиотиков и в формировании множественной лекарственной устойчивости)	[102]
ген <i>PDGFB</i> (В-цепь фактора роста тромбоцитов)	[86]
ген <i>PI3KCA</i> (каталитическая α -субъединица фосфоинозитол-3-киназы)	[103]
ген <i>PTP1B</i> (тирозиновая фосфатаза)	[104]
ген <i>Smad 7</i> (адапторный белок, участвующий в деградации рецептора TGF β 1)	[105]
гены циклинов А и В1	[106]
поздние гены аденовируса, находящиеся под контролем промотора E2	[107]
гены, находящиеся под контролем TAR-промотора HIV-1	[64, 108]
промоторы полиомавируса JCV (поздние)	[63, 65, 72, 109, 110]
Репрессия	
ген α -актина	[74, 111–113]
ген <i>COL1A1</i> (коллаген типа $\alpha 1(I)$)	[114, 115]
ген <i>COL1A2</i> (коллаген типа $\alpha 2(I)$)	[66, 105, 114, 116, 117]
ген <i>CPS-1</i> (карбомаилфосфатсинтетаза 1)	[118]

Окончание табл. 2 см. на сл. стр.

Окончание табл. 2

1	2
ген <i>Fas</i> (<i>CD95/Apo-1</i>) (рецептор семейства TNF/NGF, участвующий в апоптозе)	[119]
ген <i>GM-CSF</i> (колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов)	[120–122]
ген <i>GRP78/BiP</i> (белковый шаперон, белок теплового шока 5)	[61]
ген матричной металлопротеиназы 12	[123]
ген матричной металлопротеиназы 13	[124]
гены <i>MHC I</i> (белки главного комплекса гистосовместимости I)	[125]
гены <i>MHC II</i> (<i>HLA DRα</i> , <i>I-Aβ</i>) (белки главного комплекса гистосовместимости II)	[126–128]
ген <i>Mrp2/Abcc2</i> (белок, вовлеченный в формирование множественной лекарственной устойчивости)	[129]
ген транскрипционного фактора <i>c-myc</i>	[56, 73]
ген <i>LRP/MVP</i> (белок, участвующий в защите клеток от ксенобиотиков и в формировании множественной лекарственной устойчивости)	[130]
ген <i>p21</i> (ингибитор 1A циклин-зависимой киназы)	[51]
ген <i>p53</i>	[131]
ген рецептора тиротропина	[132]
промоторы полиомавируса JCV (ранние)	[63, 65, 72, 109, 110]
ген <i>VEGF</i> (фактор роста эндотелия сосудов)	[37, 82]

Известно, что гистонацетилтрансфераза p300 привлекает РНК-полимеразу II, способствует переходу хроматина в релаксированное состояние, а также узнает и связывает ацетилированные остатки в регуляторных белках. Сборка комплекса APE1-p300-YB-1 происходит при ацетилировании APE1. Наибольшее связывание YB-1 и p300 с APE1 наблюдается при ацетилировании APE1 по шестому и седьмому остаткам лизина. Интересно, что APE1 является кофактором ряда транскрипционных факторов и взаимодействует с ними в условиях стресса, когда он подвергается различным модификациям. Например, APE1 ацетилируется в условиях ДНК-повреждающего стресса, вызванного обработкой цисплатином или этопозидом [100].

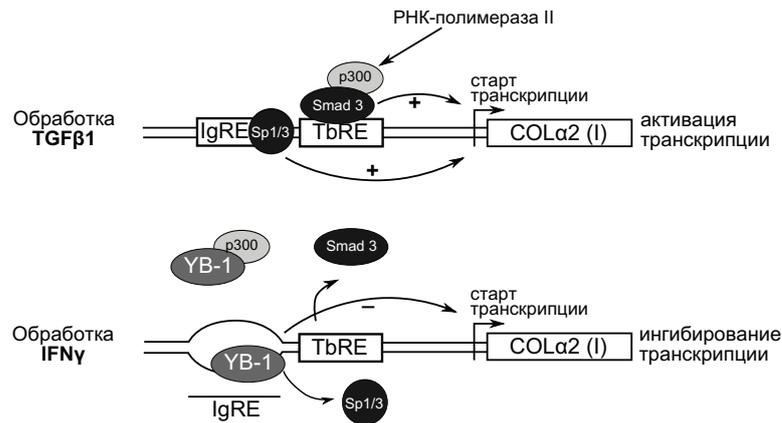
Таким образом, YB-1 участвует в регуляции транскрипции гена *MDR1* в комплексе с другими белками. По всей видимости, активация транскрипции наблюдается только в строго определенных условиях, когда белки-партнеры YB-1 подвергаются регуляторным модификациям.

Первоначально считалось, что YB-1-опосредованная транскрипция зависит от связывания YB-1 с Y-боксом-последовательностью в дуплексных участках в промоторах генов. Однако накапливаются данные о связывании YB-1 с одноцепочечными последовательностями, в том числе и отличными от Y-боксов. При данном типе регуляции транскрипции сайтом для связывания YB-1 являются последовательности, сильно асимметричные в распределении пуриновых и пиримидиновых оснований между двумя цепочками ДНК. Это способствует переходу ДНК в одноцепочечную форму под действием YB-1, поскольку YB-1 связывается преимущественно с пиримидин-богатой цепочкой ДНК [31, 35–37]. Стабилизация одноцепочечного состояния предотвращает связывание факторов транскрипции, которые взаимодействуют с двухцепочечной ДНК.

Одним из примеров такой регуляции является регуляция генов $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -цепей проколлагена I (*COLa1(I)*, *COLa2(I)*). В состав коллагена I типа входят две $\alpha 1$ -цепи и одна $\alpha 2$ -цепь. Транскрипция этих генов регулируется координированно. Для промотора *COLa1(I)* показано YB-1-опосредованное ингибирование транскрипции, вероятно за счет того, что YB-1 связывается с пиримидин-богатой одноцепочечной последовательностью в промоторе этого гена [114, 115]. Регуляция транскрипции гена *COLa2(I)* изучена более подробно (рис. 4А). Было обнаружено, что промотор *COLa2(I)* содержит участки, ответственные за TGF β 1-индуцированную активацию (TbRE) и IFN γ -индуцированное ингибирование транскрипции (IgRE). Стимуляция клеток TGF β 1 приводит к накоплению Smad 3, который в комплексе с p300 связывается с элементом TbRE. p300 привлекает РНК-полимеразу II и активирует транскрипцию. С элементом IgRE взаимодействуют транскрипционные факторы Sp1/3, которые также активируют транскрипцию гена *COLa2(I)*. Оверэкспрессия YB-1 либо обработка клеток IFN γ приводит к YB-1-опосредованному ингибированию транскрипции по двум механизмам. С одной стороны, YB-1 связывается со Smad 3 и p300 (преимущественно с p300), предотвращая их взаимодействие между собой и ассоциацию с TbRE. С другой стороны, YB-1 связывается либо с пиримидин-богатой последовательностью, либо с Y-боксом в составе IgRE, что приводит к ингибированию транскрипции по неизвестному механизму, возможно, за счет стабилизации одноцепочечного состояния и снижения связывания транскрипционных факторов Sp1/3 [66, 105, 114, 116, 117].

Транскрипция гена *VEGF* тонко регулируется в зависимости от внешних условий. Было обнаружено, что YB-1 участвует в одном из механизмов ингибирования транскрипции этого гена.

А. Регуляция транскрипции гена проколлагена (I) цепи α2 (COLα2 (I))



Б. Регуляция транскрипции гена α-актина (SMαA)

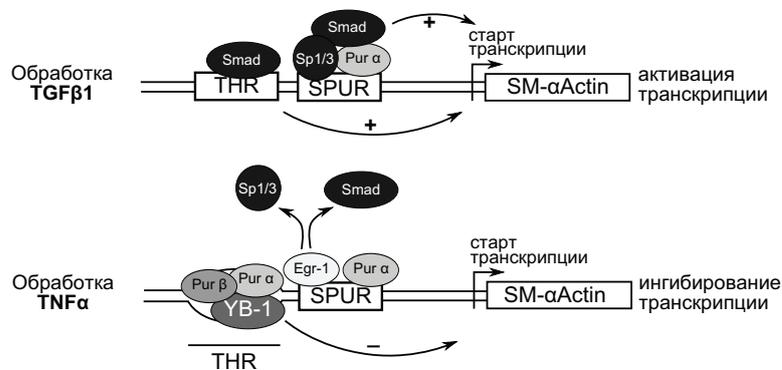


Рис. 4. Схемы регуляции транскрипции генов *COLα2(I)* (А) и *SMαA* (Б).

YB-1 взаимодействует с некодирующей цепью ДНК в промоторе гена *VEGF*, а другой Y-бокс-связывающий белок – dbpA, гомолог YB-1 – взаимодействует с кодирующей цепью ДНК. Стабилизация одноцепочечного состояния ДНК в промоторе, по всей видимости, препятствует связыванию других транскрипционных факторов, что приводит к ингибированию транскрипции. При фосфорилировании YB-1 киназами ERK2 и GSK3β его связывание с промоторной областью повышается, что должно приводить к более эффективному

ингибированию транскрипции [82]. Фосфорилирование YB-1 по остатку Ser102 повышает его связывание с промоторами некоторых генов, таких как *EGFR*, *PIK3CA*, *MET*, и стимулирует их транскрипцию по неизвестному механизму [96, 97, 103, 136–138].

Стабилизация одноцепочечного состояния ДНК может приводить не только к ингибированию транскрипции. Так, связываясь с одноцепочечной ДНК в промоторе гена *ДНК-полимеразы α*, YB-1 стимулирует транскрипцию. Возможно, это происходит в комплексе с другими белками [95].

Еще одним примером участия YB-1 в активации транскрипции может служить ген *c-myc*. YB-1 связывается с СТ-богатой последовательностью в промоторе этого гена и, вероятно, с ТАТА-связывающим белком (ТВР), что приводит к посадке коровых транскрипционных факторов и РНК-полимеразы II. Стоит отметить, что YB-1 не единственный белок, связывающий СТ-богатую последовательность в промоторе гена *c-myc*. Аналогичным свойством обладает hnRNP K. Взаимодействуя с той же областью, он активирует транскрипцию гена *c-myc*. Хотя белки YB-1 и hnRNP K способны формировать комплекс друг с другом, они не оказывают ни синергичного, ни аддитивного влияния на транскрипцию *c-myc*, а наоборот, несколько снижают транскрипцию, индуцированную белком-партнером. По всей видимости, эти белки конкурируют за одну и ту же область и, возможно, активируют транскрипцию гена *c-myc* в различных условиях [56].

YB-1 может регулировать транскрипцию генов в комплексе с другими белками. Например, он связывается с одноцепочечным участком в промоторе гена *металлопротеиназы 2* в комплексе с белками AP-2 и p53, что приводит к активации транскрипции [75, 92–94].

Другими хорошо известными партнерами YB-1 являются белки Puḡa и Puḡβ. В отличие от YB-1, который преимущественно связывается с пиримидин-богатыми последовательностями, Puḡa и/или Puḡβ связывают противоположную пурин-богатую цепочку ДНК. Образование такого комплекса мешает связыванию как белков-активаторов, так и белков-ингибиторов транскрипции [74, 119]. Например, в промоторе гена *α-актина* (*SMαA*, *mVSMαA*) были обнаружены две последовательности, ответственные за TGFβ1-опосредованную активацию транскрипции: асимметричный THR-элемент (или MCAT) и GC-богатая последовательность SPUR (рис. 4Б). После стимуляции TGFβ1 с двухцепочечной последовательностью THR связываются Smad2/3/4, а с последовательностью SPUR – Smad2/3/4, Sp1/3 и Puḡa, что приводит к активации транскрипции. В отсутствие стимуляции TGFβ1 количество белков Smad2/3/4 невелико, и они не

могут конкурировать за связывание THR с комплексом YB-1/PuG α /PuG β , посадка которого стабилизирует одноцепочечное состояние ДНК [74, 111–113]. Недавно было обнаружено, что обработка клеток TNF α (ингибитор сигнального каскада, индуцированного TGF β 1) также приводит к ингибированию транскрипции *SM α A*. В этом случае транскрипционный фактор Egr-1 связывается с GC-богатой последовательностью SPUR и предотвращает связывание факторов Sp1/3. Кроме того, после обработки TNF α усиливается связывание YB-1 с элементом THR. Это может объясняться как снижением конкуренции белков за регуляторную последовательность, так и модификацией YB-1 или его партнеров по MEK1, ERK1/2-сигнальному пути [113].

Интересно, что транскрипция гена *Fas-рецептора* из семейства TNFR/NGFR регулируется очень похожим образом. В промоторной области этого гена были обнаружены два рядом расположенных участка: ингибиторный участок, с которым связываются YB-1, PuG α , PuG β , и активаторный участок, с которым связываются c-Fos и c-Jun. В данном случае PuG β является функциональным антагонистом комплекса YB-1/PuG α , снижая его ингибиторный эффект. Связывание YB-1 и PuG α с противоположными цепочками ингибиторного участка сильно стабилизирует одноцепочечную конформацию, что может приводить к дестабилизации двухцепочечного состояния активаторного участка, расположенного рядом [119].

Таким образом, YB-1, связываясь с одноцепочечной ДНК, не только стабилизирует ее в таком состоянии в области, с которой он связан, но и может дестабилизировать двухцепочечное состояние расположенных рядом областей. Вероятно, это наиболее распространенный механизм влияния YB-1 на транскрипцию.

Интересно, что регуляция транскрипции с некоторых вирусных промоторов осуществляется сходным образом. Так, в геноме полиомавируса JCV человека выделяют регуляторную область, которая содержит разнонаправленные промоторы ранних и поздних генов и состоит из большого количества участков связывания различных белковых факторов. На разных этапах развития вируса в регуляторной области собираются разные белковые комплексы, от состава которых зависит активность промоторов. На ранней стадии развития вируса PuG α связывает пурин-богатую цепочку в регуляторной области и активирует транскрипцию ранних генов, в том числе и *T-антигена*. Далее PuG α взаимодействует с YB-1 и стимулирует его связывание с противоположной пиримидин-богатой цепочкой, что приводит к ингибированию транскрипции с раннего промотора. На поздних ста-

диях развития вируса Т-антиген вытесняет Рига и в комплексе с YB-1 ингибирует транскрипцию с раннего промотора, а также активирует транскрипцию генов с позднего промотора [63, 65, 72, 109, 110].

В рассмотренных ранее примерах YB-1 участвует в регуляции транскрипции не только сам, но и в комплексе с другими белками, однако в обоих случаях его связывание с ДНК специфично и определяется ее последовательностью, а не белок-белковыми взаимодействиями. Вместе с тем, известно несколько примеров, когда YB-1-узнаваемая последовательность в промоторе (или фрагменте) гена не обнаружена, хотя при этом YB-1 участвует в регуляции транскрипции этого гена. Например, YB-1 ингибирует р53-индуцированную транскрипцию гена *p21*, взаимодействуя с р53 [51].

Нельзя не упомянуть о существовании еще одного механизма влияния YB-1 на транскрипцию. Он остается наименее изученным на сегодняшний день. Известно, что при некоторых воздействиях, таких как ДНК-повреждающий стресс или обработка тромбоцитов эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, YB-1 может расщепляться 20S протеасомой после Glu219 [85, 86]. Укороченный белок, лишенный сигнала цитоплазматического удержания, переходит в ядро и может вовлекаться в процессы репарации и транскрипции. Было обнаружено, что после обработки эндотелиальных клеток тромбоцитом укороченный YB-1 стимулирует транскрипцию гена В-цепи тромбоцитарного фактора роста PDGF. Детальный механизм этого процесса неизвестен [86]. Транскриптомный анализ показал, что группы генов, на транскрипцию которых влияет укороченный либо полноразмерный YB-1, очень похожи, однако наблюдается ряд отличий [139]. По всей видимости, укороченный YB-1 может действовать на транскрипцию как по механизму полноразмерного белка, так и по собственному механизму, например, узнавая другие последовательности или привлекая другие белки.

YB-1 В РЕПАРАЦИИ ДНК

Предположение об участии YB-1 в репарации ДНК было выдвинуто еще в 1991 году, когда Lenz и Hasegawa с коллегами идентифицировали YB-1 как белок, обладающий повышенным сродством к ДНК, содержащей апуриновые сайты [31, 38]. В пользу этого предположения также свидетельствуют данные о том, что YB-1 обладает повышенным сродством к ДНК, поврежденной цисплатином или содержащей неспаренные основания, а также данные о способности YB-1 эффективно плавить дуплексы такой ДНК [36, 39, 40]. С предположением об участии YB-1 в репарации также согласуются данные

о способности YB-1 проявлять слабую 3'-5'-экзонуклеазную активность на одноцепочечной ДНК и слабую эндонуклеазную активность на двухцепочечной ДНК. Считается, что нуклеазная активность YB-1 сравнима с таковой белка p53 и, предположительно, должна сильно зависеть от последовательности и структуры ДНК [36, 40, 139]. Также было показано, что YB-1 повышает выживаемость клеток в стрессовых условиях, может переходить в ядро и, возможно, активировать транскрипцию некоторых генов, вовлеченных в репарацию [95, 131]. Кроме того, YB-1 взаимодействует *in vivo* и *in vitro* с различными белками, принимающими участие в репарации, и может влиять на активность некоторых из них. Было показано, что YB-1 взаимодействует со следующими белками:

эксцизионной репарации оснований: PCNA [39], p53 [51], hNth1 [140, 141], NEIL-2 [142], ДНК-лигаза III α [142], ДНК-полимераза β [142], ДНК-полимераза δ [40], WRN [40, 143], Ku80 [40], MSH2 [40], APE-1 [100, 144];

эксцизионной репарации нуклеотидов: PCNA [39], p53 [51], DNA лигаза III α [142], ДНК-полимераза δ [40], APE-1 [100, 144];

мисматч-репарации: PCNA [39]; MSH2 [40];

репарации одноцепочечных разрывов в ДНК: ДНК-лигаза III α [142], APE-1 [100, 144];

репарации двухцепочечных разрывов в ДНК: WRN [40, 143], Ku80 [40];

рекомбинационной репарации: WRN [40, 143], MSH2 [40].

Таким образом, YB-1 может участвовать практически во всех типах репарации. Интересно отметить, что YB-1 взаимодействует с большинством белков-участников эксцизионной репарации оснований (рис. 5), что дает основание предположить, что именно в этом типе репарации YB-1 наиболее важен.

Установлено, что мышинные эмбриональные стволовые клетки, гетерозиготные по *YB-1* (*YB-1*^{+/-}), обладают повышенной чувствительностью к ДНК-перешивающим агентам, таким как цисплатин и митомицин С. Однако их чувствительность к другим ДНК-повреждающим стрессам, таким как обработка эпозидом, рентгеновское и УФ-облучение, остается неизменной [145]. Эти данные позволяют предположить, что YB-1 может непосредственно вовлекаться в процесс репарации аддуктов ДНК с цисплатином и митомицином С. Известно, что цисплатин- и митомицин С-модифицированная ДНК репарируется в клетке как системами мисматч-репарации, так и системами эксцизионной репарации оснований и нуклеотидов. Последние – наиболее часто используемые клеткой механизмы. Вероятно, YB-1 непосредственно вовлечен в ранние стадии репарации данного

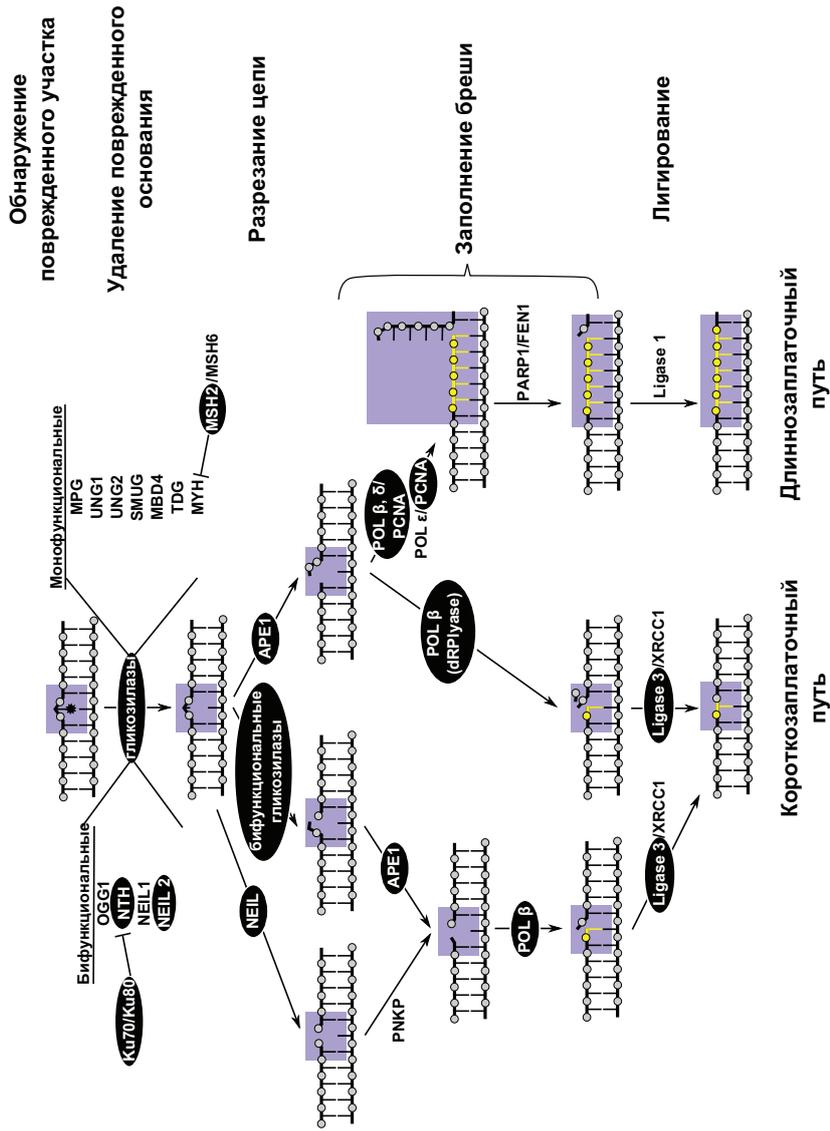


Рис. 5. Схема эксцизионной репарации оснований. Названия белков-партнеров γВ-1 указаны в темных овалах.

типа. Как уже упоминалось, YB-1, связываясь с поврежденной ДНК, может плавить дуплексы, содержащие неспаренные или поврежденные нуклеотиды, и проявлять очень слабую нуклеазную активность. Кроме того, YB-1 усиливает ферментативную активность ДНК-гликозилаз hNth1 и NEIL-2 [140–142], взаимодействует с их белками-партнерами PCNA и p53 и, возможно, в качестве белка-платформы участвует в сборке репарационного комплекса.

YB-1 В РЕПЛИКАЦИИ ДНК

Считается, что YB-1 может участвовать в репликации ДНК. В пользу этого свидетельствуют некоторые косвенные данные. Так, YB-1 переходит в ядро в цикле клеточного деления на границе фаз G1 и S [106]. Увеличение количества YB-1 в клетке коррелирует с повышением уровня PCNA, ДНК-топоизомеразы II α и ДНК-полимеразы α [95, 106, 146, 147]. Кроме того, показано, что снижение количества YB-1 в клетках сопровождается прекращением их пролиферации [95, 148]. YB-1 способен положительно влиять не только на репликацию клеточной ДНК, но и на репликацию генома аденовирусов [107].

YB-1 В СПЛАЙСИНГЕ ПРЕ-мРНК

YB-1 может участвовать в сплайсинге пре-мРНК. Было обнаружено, что гомологи белка YB-1 из *Ch. tentans* присоединяются к пре-мРНК в ходе транскрипции и находятся в комплексе с ней на всех стадиях ее созревания [149]. У млекопитающих YB-1 обнаружен в составе сплайсосом на стадии образования А-комплекса (АТФ-зависимое присоединение snRNP U2 к точке ветвления) и В-комплекса (присоединение тройственного комплекса snRNP U4, U5 и U6) [150, 151].

Известно, что в клетках эукариот сплайсинг пре-мРНК осуществляется ко-транскрипционно. YB-1 присоединяется к транскрипционному комплексу за счет взаимодействия с протоонкобелками TLS и EWS, которые связываются своими N-концевыми частями с гиперфосфорилированной РНК-полимеразой II, а C-концевыми частями – с YB-1 и рядом других белков, входящих в состав сплайсосомы [62, 152, 153]. Привлекая белок YB-1 в этот комплекс, TLS способствует его вовлечению в систему сплайсинга мРНК. При некоторых видах рака C-концевые части TLS и EWS заменяются в результате мутации на фрагменты других белков. Мутантные формы белков продолжают связываться с РНК-полимеразой II, но уже не связывают YB-1. Присутствие таких форм белков препятствует связыванию YB-1 и предотвращает YB-1-опосредованный сплайсинг.

В условиях ДНК-повреждающего стресса взаимодействие EWS с YB-1 значительно снижается. Это препятствует вовлечению YB-1 в сплайсинг разных мРНК, в частности, мРНК *MDM-2* [153]. В отсутствие EWS, так же как и в условиях ДНК-повреждающего стресса, наблюдается образование альтернативно сплайсированной мРНК *MDM-2*, лишенной некоторых экзонов. Такая мРНК не является долгоживущей, и с нее не синтезируется функциональный белковый продукт [153]. Стоит отметить, что MDM-2 – это убиквитинлигаза белка p53, а белок p53 – транскрипционный активатор промотора гена *MDM-2*. В условиях ДНК-повреждающего стресса количество p53 повышается, вероятно, за счет снижения количества функционально активного белка MDM-2 [153]. Ранее было показано, что в условиях такого стресса YB-1 взаимодействует с p53 и может влиять на p53-регулируемую транскрипцию [51]. Места связывания p53 и EWS в молекуле YB-1 перекрываются. Вероятно, взаимодействие YB-1-p53 может нарушать взаимодействие YB-1 с EWS, что препятствует участию YB-1 в сплайсинге, но делает его более доступным для участия в процессах репарации и регуляции транскрипции генов, вовлеченных в ответ на ДНК-повреждающий стресс.

На каких стадиях самой реакции сплайсинга участвует YB-1, пока не известно. Возможно, он действует благодаря связыванию с некоторыми факторами сплайсинга, такими как SRp30c и SRrp86 [50, 154], или распознает определенные последовательности в пре-мРНК [155, 156].

Для некоторых мРНК было показано участие YB-1 в регуляции их альтернативного сплайсинга [51, 62, 153, 155, 157]. YB-1 в комплексе с белком MBLN-1 может стимулировать альтернативный сплайсинг мРНК α -актинина [158]. В мРНК *NF1* (нейрофиброматоза 1) в 37 экзоне была обнаружена область с высокой частотой мутаций. Однонуклеотидные замены в ней приводили к исключению 37 экзона из мРНК. Оказалось, что этот экзон содержит нуклеотидную последовательность АСААС, с которой взаимодействуют белки YB-1 и p72, стимулирующие включение 37 экзона в мРНК. Мутации в этой последовательности приводят к снижению связывания с ней этих двух белков и к стимуляции связывания негативных регуляторов DAZAP1, hnRNP A1, A2. Однако, вероятно, существуют и другие белки – функциональные гомологи YB-1 и p72 – также стимулирующие включение 37 экзона [156].

YB-1 стимулирует включение экзона v4 в мРНК *CD44*. Он узнает А/С-богатую последовательность ACE (A/C-rich exon enhancer element) в экзоне v2 этой мРНК [155]. Кроме YB-1, с этой последовательностью также взаимодействуют белки p72 и Tra2- β 1, которые

стимулируют включение не только экзона v4, но и v5. Функциональная активность фактора сплайсинга Tra2- β 1 значительно повышается в присутствии УВ-1 [157]. По всей вероятности, эти белки действуют в составе единого комплекса, хотя прямых данных об их взаимодействии пока нет.

Таким образом, роль УВ-1 в сплайсинге скорее всего заключается в узнавании специфических последовательностей в пре-мРНК и привлечении к ним факторов сплайсинга. По всей вероятности, УВ-1 не является коровым компонентом сплайсосомы, а необходим лишь для регуляции сплайсинга определенных мРНК.

УВ-1 В РАЗБОРКЕ ЯДРЫШЕК

Появилось несколько сообщений об участии УВ-1-подобных белков в разборке ядрышек. Оказалось, что белок ооцитов земноводных FRGY2 отвечает за обратимую разборку ядрышек, которая происходит после овуляции [159]. На клетках HeLa было продемонстрировано, что УВ-1 также вовлекается в процесс разборки ядрышек, связываясь с B23 – одним из белков ядрышек. Белок B23 взаимодействует со многими белками и пре-рРНК в ядрышках и может быть вовлечен в процессинг пре-рРНК. Роль УВ-1 в этом случае может заключаться в том, что он уводит из ядрышек белок B23 и ассоциированные с ним белки, что приводит к последующей разборке ядрышек [160].

V. ФУНКЦИИ УВ-1 В ЦИТОПЛАЗМЕ

В цитоплазме УВ-1 является главным упаковочным белком мРНК, регулирует трансляцию мРНК, обеспечивает ее стабильность и участвует в ее локализации. Важно отметить, что все перечисленные функции УВ-1 взаимосвязаны.

УВ-1 КАК УПАКОВОЧНЫЙ БЕЛОК мРНК

Как известно, вся мРНК в цитоплазме эукариотических клеток находится в форме мРНК. Эти частицы с уникальными физико-химическими характеристиками делятся на два класса: свободные цитоплазматические (нетранслируемые) и транслируемые мРНК полисом [161–163]. Оба класса мРНК имеют узкое плотностное распределение и низкую величину плавучей плотности в CsCl. У свободных мРНК она составляет около 1,39 г/см³, что соответствует очень высокому соотношению белок/РНК, равному 3:1 (около 75% белка). У полисомных мРНК величина плавучей плотности несколько выше – 1,45 г/см³, что соответствует соотношению белок/РНК 2:1

(около 65% белка). Величина плавучей плотности мРНК (соотношение белок/РНК) существенно не зависит от размера мРНК, и, следовательно, белок должен более или менее равномерно распределяться по всей длине мРНК. Несмотря на очень высокое содержание белка в мРНК обоих классов, их мРНК чрезвычайно чувствительна к действию эндорибонуклеаз. Это свидетельствует о поверхностном, экспонированном расположении мРНК в частицах [164].

В состав мРНК входит большое количество разных белков, узнающих специфические последовательности и/или специфические элементы пространственной структуры индивидуальных мРНК (главным образом, в 5' и 3' нетранслируемых областях (НТО)). Эти белки отвечают за селективный трансляционный контроль, регуляцию времени жизни индивидуальных мРНК и за их специфическое внутриклеточное распределение. Такие белки выглядят как миноры в препаратах белков суммарных мРНК.

Другие белки мРНК представлены как мажоры в суммарных препаратах мРНК. Они ассоциированы с большинством или даже со всеми мРНК и находятся на них в большом числе копий. Наиболее известны два мажорных белка мРНК в клетках млекопитающих: YB-1 (или его гомологи) и поли(А)-связывающий белок РАВР (Poly(A) binding protein) [1–3]. РАВР ассоциирован главным образом с поли(А)-хвостами поли(А)⁺ мРНК полисом. YB-1 входит в состав как полисомных, так и свободных мРНК, причем в последних его количество, в расчете на единицу веса мРНК, вдвое превышает его содержание в полисомных мРНК [165]. Таким образом, переход мРНК в полисомы сопровождается присоединением РАВР и диссоциацией примерно половины первоначального количества YB-1. Было показано, что YB-1 является одним из наиболее прочно связанных с мРНК белков мРНК: значительная часть его остается на мРНК при высокой концентрации моновалентных катионов, вызывающей диссоциацию других белков мРНК [41]. Подсчитано, что YB-1 составляет около 0,1% тотального белка в клетках Cos-1 и HeLa и что в среднем на каждую клеточную мРНК приходится 5–10 молекул YB-1 [166]. Количество белка, ассоциированного с каждой конкретной мРНК, зависит от ее длины и трансляционного статуса.

Таким образом, белок YB-1 и его гомологи – универсальные белки, ассоциированные со всеми или многими мРНК, находящимися как в нетранслируемом, так и в транслируемом состоянии. Исходя из этого, было высказано предположение, что YB-1 определяет уникальные физико-химические свойства мРНК. Действительно, на модельном комплексе, включающем YB-1 и мРНК, было продемонстрировано, что

одного этого белка оказывается достаточно для формирования частиц, полностью соответствующих природным мРНК как по коэффициенту седиментации, так и по величине плавучей плотности, то есть по соотношению белок/мРНК [28]. Так же как и в природных мРНК, мРНК в комплексах с УВ-1 экспонирована на поверхности, поскольку обладает повышенной чувствительностью к эндорибонуклеазам. Заметной рибонуклеазной активности у самого белка УВ-1 в этой работе обнаружено не было.

Дальнейшее изучение комплексов УВ-1 с мРНК показало, что при относительно низком соотношении УВ-1/мРНК, характерном для полисомных транслируемых мРНК, УВ-1 связан с мРНК в виде мономера двумя РНК-связывающими доменами – CSD и STD. Это приводит к разворачиванию мРНК, что, возможно, делает содержащуюся в них мРНК доступной для взаимодействия с факторами инициации трансляции, а также с рибосомами. При высоком соотношении УВ-1/мРНК, характерном для свободных нетранслируемых мРНК, молекулы УВ-1 взаимодействуют с мРНК только посредством CSD, в то время как STD, вероятно, взаимодействуют друг с другом, что приводит к образованию крупных мультимерных комплексов УВ-1, состоящих примерно из 15–18 молекул белка. Эти мультимеры имеют диаметр примерно 20 нм, высоту – 7 нм и упаковывают на своей поверхности отрезок мРНК длиной около 600–700 нуклеотидных остатков. В таком комплексе концы мРНК, вероятно, становятся недоступными для взаимодействия с белками аппарата инициации трансляции и экзонуклеазами [28]. Таким образом, упаковывая мРНК, УВ-1 может влиять на ее трансляционный статус и время жизни в клетке (рис. 6). При этом влияние на трансляцию может быть как позитивным, так и негативным, в зависимости от соотношения УВ-1/мРНК (см. следующий подраздел).

Необходимо отметить, что из экстрактов клеток NIH3T3 в ассоциации с УВ-1 удалось выделить 18% видов клеточных мРНК [83, 167]. Эти результаты могут означать, что остальные виды мРНК либо ассоциированы с гомологами УВ-1, либо упаковываются другими белками.

ВЛИЯНИЕ УВ-1 НА ТРАНСЛЯЦИЮ

Действие УВ-1 на трансляцию зависит от соотношения УВ-1/мРНК. При высоких соотношениях УВ-1 ингибирует трансляцию, а при низких, наоборот, активизирует.

УВ-1 способен ингибировать процесс трансляции как в бесклеточных системах, так и в культуре клеток млекопитающих [13, 41,

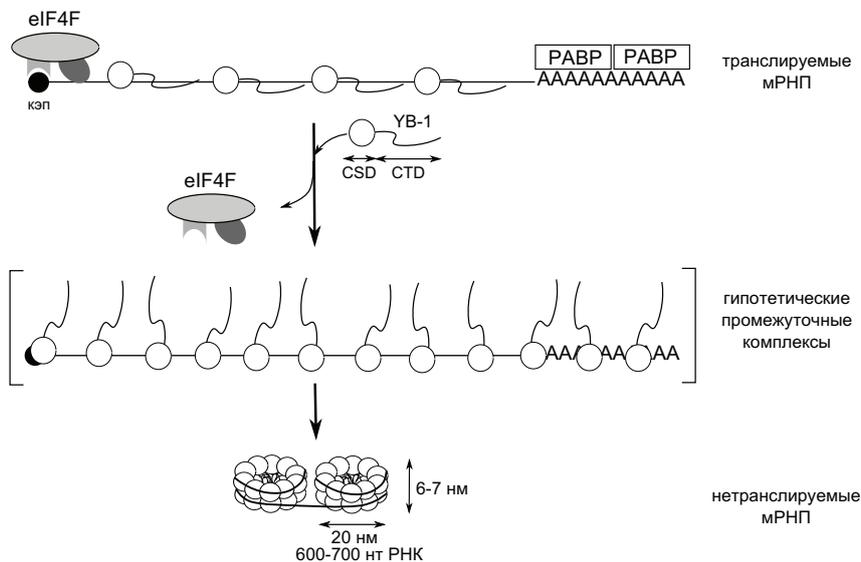


Рис. 6. Схема, показывающая особенности структурной организации ненасыщенных (транслируемых) и насыщенных белком YB-1 (нетранслируемых) комплексов мРНК с мажорными белками мРНК и фактором инициации eIF4F.

Переход мРНК из транслируемого в нетранслируемое состояние сопровождается двукратным увеличением числа молекул YB-1, вытесняющих eIF4F и PABP с мРНК, и компактизацией комплекса за счет мультимеризации YB-1. Цифрами указаны линейные размеры мультимера YB-1 на мРНК в нетранслируемых насыщенных комплексах, полученные методами атомно-силовой и электронной микроскопии, а также размер сегмента РНК, упакованного на поверхности мультимерной белковой глобулы (рисунок взят из [168] с изменениями).

166, 169]. Ингибирование трансляции наблюдается исключительно на стадии инициации до присоединения малой субчастицы рибосомы к мРНК, так что мРНК обнаруживается в форме свободных мРНК. За ингибирование отвечает, в основном, CTD YB-1. Этот домен, так же как и целый YB-1, вытесняет из комплекса с мРНК фактор инициации трансляции eIF4G [170]. Было показано, что CSD YB-1 может взаимодействовать с кэп-структурой или с прилегающей к ней областью, что приводит к вытеснению eIF4E и eIF4V. Таким образом, YB-1 может вытеснять из комплекса с мРНК субъединицы фактора eIF4F (eIF4G, eIF4E и eIF4V) и ингибировать трансляцию на стадии инициации [170–172].

Интересно, что при увеличении концентрации YB-1 в бесклеточной системе трансляции наблюдается усиление стимуляции трансляции под действием PABP [173]. В основе этого явления, по-видимому,

лежит, с одной стороны, конкуренция между YB-1 и eIF4F за связывание с мРНК, а с другой – взаимодействие PABP с eIF4G, повышающее сродство eIF4G к мРНК [174, 175]. При низких концентрациях YB-1 eIF4F эффективно связывается с мРНК в области кэп-структуры и обеспечивает активную трансляцию мРНК даже при низкой концентрации PABP. При высоких концентрациях YB-1 этот белок вытесняет eIF4F из комплекса с мРНК и ингибирует трансляцию. В этих условиях увеличение количества PABP и его взаимодействие с eIF4G повышают сродство eIF4F к мРНК и, как следствие, его конкурентоспособность за связывание с мРНК. В результате eIF4F вытесняет YB-1 из комплекса с мРНК, что приводит к активации трансляции под действием PABP [173].

Как уже отмечалось, участие YB-1 в трансляции не ограничивается только одним ингибированием этого процесса. При удалении YB-1 из лизата или при добавлении мРНК в высокой концентрации процесс трансляции также останавливается. Добавление YB-1 в такие лизаты ведет к активации трансляции [41, 48, 176]. YB-1 стимулирует процесс белкового синтеза исключительно на стадии инициации, не оказывая влияния на элонгацию и терминацию [176]. Удаление белка YB-1 из лизатов ретикулоцитов кролика приводит к накоплению 48S преинициаторного комплекса, то есть остановка белкового синтеза в лизате, дефицитном по YB-1, может происходить или на этапе присоединения 60S субчастицы рибосомы к 48S комплексу, или на предыдущем этапе сканирования 5' НТО мРНК малой субчастицей рибосомы до иницирующего кодона. [176]. Опыты по реконструкции преинициаторного комплекса 48S из очищенных компонентов (мРНК, 40S субчастиц рибосомы и факторов инициации трансляции) показали, что при ограниченном количестве факторов инициации YB-1 стимулирует образование 48S преинициаторного комплекса, в котором малая субчастица рибосомы завершила сканирование 5' НТО мРНК и находится на иницирующем кодоне [177].

Существует несколько гипотез, объясняющих стимулирующее действие YB-1 на трансляцию. Согласно первой из них, YB-1 препятствует неспецифическому связыванию РНК-связывающих факторов инициации трансляции по всей молекуле мРНК, что вызывает их концентрирование в районе кэп-структуры и 5' НТО [41, 178]. По второй гипотезе, YB-1 облегчает продвижение малой субчастицы рибосомы вдоль 5' НТО мРНК к иницирующему кодону за счет своей способности плавить вторичную структуру мРНК [176, 177]. Также было обнаружено, что гомолог YB-1 из *Ch. tentans* взаимодействует с DEAD-бокс-содержащей РНК-хеликазой (hgr84). Причем мРНК,

содержащие оба этих белка, входят в состав полисом. Можно предположить, что образование подобного комплекса активирует трансляцию за счет более эффективного расплетания вторичной структуры мРНК, облегчая сканирование 5' НТО [77].

Итак, YB-1 оказывает двойное действие на трансляцию самых разных мРНК: при относительно низком соотношении YB-1/мРНК (вплоть до соотношения, наблюдаемого в полисомных мРНК) YB-1 стимулирует трансляцию, а при насыщении мРНК белком (как в свободных мРНК) YB-1 проявляет активность репрессора трансляции.

Кроме глобальной регуляции белкового синтеза, YB-1 может принимать участие в избирательной регуляции трансляции некоторых мРНК. Для мРНК *ферритина* показано, что IRP-2 в условиях низкой концентрации ионов железа связывается со шпилечной структурой IRE (Iron-responsive element) в 5' НТО мРНК и избирательно ингибирует ее трансляцию. В условиях высокой концентрации железа YB-1 связывается с окисленной формой IRP-2 и предотвращает взаимодействие IRP-2 с 5' НТО мРНК. Таким образом, YB-1 снимает ингибиторный эффект IRP-2 на трансляцию мРНК *ферритина* в условиях высокой концентрации ионов железа [59].

Недавно было показано, что YB-1 связывается с высокоструктурированной G/C-богатой 5' НТО мРНК *TGFβ*. Предсказанная теплота плавления вторичной структуры 5' НТО этой мРНК ниже той, которая необходима для предотвращения сканирования 5' НТО 43S-преинициаторным комплексом. Однако ультрацентрифугирование в градиенте концентрации сахарозы показало, что эта мРНК находится преимущественно в составе свободных мРНК. Предполагается, что связывание YB-1 с 5' НТО стабилизирует ее вторичную структуру и препятствует инициации трансляции [179].

Связывание YB-1 со специфической последовательностью в 3' НТО некоторых мРНК также приводит к избирательному ингибированию трансляции этих мРНК при относительно низкой концентрации YB-1, которая еще не приводит к значительному ингибированию тотального белкового синтеза. Одним из примеров такой регуляции является авторегуляция синтеза самого YB-1 [42, 180], которая будет описана более подробно в разделе «Х. Структура гена *YB-1* и регуляция его экспрессии». При избирательном ингибировании трансляции мРНК протамина мышцы под действием белков MSY-2/MSY-4, мышечных гомологов YB-1, эти белки связываются со специфической последовательностью в 3' НТО этой мРНК [43]. Куриные белки chk-YB-1 и chk-YB-2, специфично связываясь с Ψ-последовательностью из 5' LTR (Long-terminal repeats) вируса саркомы Рауса, избирательно подавляют

трансляцию репортерной мРНК с этой последовательностью в качестве 5' НТО [45]. Эксперименты на клеточных культурах показали, что инфицирование клеток вирусом Денге значительно повышается при нокауте гена *YB-1*. Оказалось, что YB-1 способен подавлять трансляцию (+)цепи РНК вируса Денге, специфично связываясь с последовательностью 5'-UCCAGGCA-3', находящейся в шпилечной структуре в 3' НТО этой РНК [46].

Существует еще один механизм влияния YB-1 на трансляцию. В клетках NIH3T3 часть YB-1-ассоциированных мРНК кодирует ростовые факторы, а также белки, синтезирующиеся в ответ на различные стрессовые воздействия. Эти мРНК относятся к так называемым «слабым» матрицам, имеющим сильно структурированную 5' нетранслируемую область, и транслируются только при высокой концентрации факторов инициации трансляции, особенно eIF4E. В отсутствие факторов, стимулирующих клеточный рост, YB-1 ингибирует трансляцию «слабых» матриц, вытесняя с кэп-структуры мРНК фактор инициации eIF4E (в составе eIF4F). При запуске клеточных сигнальных путей внешними стимулами происходит активация многих киназ, в том числе и киназы Akt, которая фосфорилирует YB-1 по Ser102 в CSD. Фосфорилированный YB-1 имеет пониженное сродство к кэп-структуре и/или прилегающей к ней области мРНК, что способствует связыванию eIF4E с кэп-структурой «слабых» мРНК и вовлечению их в трансляцию [83].

YB-1 может влиять на трансляцию, происходящую и по кэп-независимому механизму, в том числе по механизму внутренней посадки рибосомы на специальный участок мРНК, обогащенный вторичной структурой, называемый IRES (Internal Ribosome Entry Site). Так, установлено, что YB-1 положительно регулирует трансляцию IRES-содержащих мРНК протоонкогенов семейства *myc* [181, 182]. Кроме того, было обнаружено, что YB-1 вовлечен в трансляционную регуляцию ряда мРНК генов, ответственных за эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), в частности, мРНК *Snail1* [183, 184]. Эта мРНК имеет высокоструктурированную 5' НТО, и инициация ее трансляции происходит по кэп-независимому механизму при более высоких концентрациях YB-1, чем оптимальные для трансляции большинства клеточных мРНК по кэп-зависимому механизму [184].

Таким образом, регуляция трансляции «слабых» матриц белком YB-1, по всей видимости, может наблюдаться для большого круга мРНК, транслируемых как по кэп-зависимому, так и по кэп-независимому механизму.

СТАБИЛИЗАЦИЯ мРНК ПОД ДЕЙСТВИЕМ УВ-1

УВ-1 и его гомологи способны эффективно стабилизировать мРНК, препятствуя их распаду в клетках и клеточных лизатах. При этом основную роль в стабилизации мРНК играет CSD белка УВ-1. Наибольшая стабилизация мРНК достигается при высоком соотношении УВ-1/мРНК, что сопряжено с выходом мРНК из полисом и прекращением их трансляции. Стоит отметить, что эффективная стабилизация мРНК наблюдалась как для долгоживущих, так и для короткоживущих мРНК, таких как мРНК *TNF α* [171]. Другими словами, стабилизация мРНК под действием УВ-1 происходит по универсальному механизму, который не зависит от дестабилизирующих AU-богатых элементов ARE (AU-rich element) в 3' НТО мРНК, но зависит от соотношения УВ-1/мРНК.

В опытах по УФ-сшивкам УВ-1 с мРНК, радиоактивно меченной по кэп-структуре, и в экспериментах по аффинному связыванию на кэп-сефарозу было показано, что CSD, стабилизирующий мРНК, и, возможно, первая половина С-концевого домена УВ-1 взаимодействуют с кэп-структурой и/или прилегающей к ней областью [171, 172]. Стабилизация мРНК под действием УВ-1 на первый взгляд выглядит парадоксально, поскольку, как было сказано раньше, мРНК в составе мРНИП экспонирована и очень чувствительна к эндорибонуклеазам [13]. Парадокс может быть объяснен, если вспомнить, что мРНК в клетке обычно разрушается экзорибонуклеазами с двух концов [185], и предположить, что структура мРНИП, в которых мРНК насыщена белком УВ-1, такова, что при общей экспонированности мРНК оба ее конца спрятаны и недоступны для действия экзорибонуклеаз так же, как и для взаимодействия с другими белками, в том числе с факторами инициации трансляции.

Кроме общей стабилизации мРНК, УВ-1 способен избирательно защищать от деградации некоторые мРНК. Так, он может повышать стабильность мРНК *ренина*, специфически взаимодействуя с CU-богатыми элементами в 3' НТО этой мРНК вместе с пятью другими белками – нуклеолином, белками hnRNP E1, α CP (или PCBP), hnRNP K, динамином и MINT-гомологичным белком. Повышение внутриклеточного количества сAMP (после обработки клеток форскалином) приводит к увеличению содержания как УВ-1, так и пяти других белков, что сопровождается увеличением времени жизни мРНК *ренина* [186].

Стабильность мРНК *IL-2* увеличивается в условиях активации JNK-сигнального каскада. Было обнаружено, что за эту стабилизацию отвечает JRE (JNK-response element), находящийся в 5' НТО мРНК

IL-2. С этим элементом связываются два белка: YB-1 и нуклеолин. Предполагается, что при активации JNK-сигнального каскада наряду с этими двумя белками в стабилизацию вовлекается какой-то третий белок, либо модифицированный, либо вновь синтезированный, который осуществляет взаимосвязь между 5' JRE и дестабилизирующими AU-богатыми элементами в 3' НТО [187].

Стабильность мРНК ростового фактора эндотелия сосудов (*VEGF*) повышается в ответ на стимуляцию цитокинами и стрессовые воздействия (например, гипоксию). Было показано, что белки YB-1 и РТВ (*Polyurimidine tract binding protein*) связываются со специфическими для них перекрывающимися последовательностями как в 5', так и в 3' НТО мРНК *VEGF* [44]. Предполагается, что стабилизация мРНК *VEGF* является результатом этого связывания.

Кроме того, показано, что YB-1 взаимодействует с ARE-элементом в 3' НТО мРНК колониестимулирующего фактора гранулоцитов и макрофагов *GM-CSF* (*Granulocyte macrophage colony-stimulating factor*) в эозинофилах, стимулированных TNF α и фибронектином. Повышение содержания YB-1 в эозинофилах приводит к стабилизации мРНК *GM-CSF* и увеличению выживаемости этих клеток. Предполагается, что YB-1 участвует в стабилизации мРНК *GM-CSF*, находясь в комплексе с другими белками, такими как HuR и hnRNP C [188, 189].

Итак, YB-1 может стабилизировать мРНК двумя способами. В первом случае YB-1 образует насыщенные комплексы с мРНК, в которых 5' и 3' концы молекулы спрятаны внутрь белковых глобул и недоступны для действия экзорибонуклеаз. Во втором случае YB-1 узнает специфические последовательности в некоторых мРНК и в комплексе с другими белками стабилизирует их по неизвестному механизму.

VI. ИЗМЕНЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ YB-1

Как правило, основная масса YB-1 находится в цитоплазме в ассоциации с мРНК. Однако, в ответ на некоторые внутри- и внеклеточные сигналы значительная доля YB-1 может перемещаться в клеточное ядро.

Эксперименты с фрагментами YB-1 показали, что в молекуле этого белка присутствуют две последовательности, регулирующие его распределение между ядром и цитоплазмой, – это сигнал ядерной локализации NLS (*Nuclear localization signal*) между аминокислотными

остатками 186 и 205 и сайт удержания в цитоплазме CRS (Cytoplasmic retention site) между остатками 267 и 293 [106, 190]. Важно отметить, что эффект CRS превалирует над NLS, и поэтому YB-1 обычно находится в цитоплазме. N-концевая часть белка (A/P-CSD) также имеет небольшую тенденцию к ядерной локализации [190]. С помощью мутационного анализа было установлено, что NLS YB-1 является неканоническим, поскольку присутствие в его составе остатков положительно заряженных аминокислот необязательно [190].

ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ YB-1 МЕЖДУ ЦИТОПЛАЗМОЙ И ЯДРОМ

Достаточно давно было высказано предположение, что переход YB-1 и его гомологов из ядра в цитоплазму может происходить вместе со вновь синтезированной мРНК [191]. Понижение концентрации мРНК в цитоплазме за счет ослабления ее синтеза и/или усиления деградации могло бы способствовать освобождению и обратному переходу этих белков в клеточное ядро, что должно активировать процесс транскрипции. Благодаря описанному механизму, YB-1 и его гомологи могут поддерживать необходимое соотношение между скоростью синтеза мРНК некоторых генов в ядре и содержанием мРНК в цитоплазме. Было показано, что в зрелых ооцитах *X. laevis*, в которых большое количество маскированной мРНК накоплено в цитоплазме, а клеточное ядро малоактивно в процессе транскрипции, подавляющее количество FRGY2 находится в цитоплазме [192]. Следующие два факта свидетельствуют в пользу того, что YB-1 удерживается в цитоплазме за счет связывания с мРНК. Во-первых, подавляющее количество YB-1 в цитоплазме клеток HeLa обнаруживается в комплексе с мРНК [166]. Во-вторых, замена фенилаланинового и тирозинового остатков в консенсусной последовательности РНП-1 YB-1, приводящая к сильному снижению связывания белка с РНК в клеточных лизатах, вызывает переход мутированного белка из цитоплазмы в ядро [190]. Однако в этой работе не было проведено прямых экспериментов по связыванию мутантного белка с РНК в условиях *in vitro*. В то же время существует возможность того, что YB-1 может удерживаться в цитоплазме за счет взаимодействия с белками-партнерами. Так например, фрагменты FRGY2, не способные связывать мРНК, тем не менее остаются в цитоплазме [48].

Переход YB-1 из цитоплазмы в ядро наблюдается в следующих случаях. Во-первых, в определенный момент клеточного цикла, а именно на границе фаз G1/S [106]. Для перехода важны CSD и аминокислотные остатки 171–225. Переходя в ядро, YB-1 обеспечивает транскрипцию генов циклинов A и B1, что способствует нормальному

прохождению клеточного цикла [106]. Во-вторых, при облучении клеток ультрафиолетовым светом (УФ), при обработке ДНК-повреждающими химическими агентами, при окислительном стрессе и в результате воздействия повышенных температур [99, 142, 193, 194]. В этих случаях YB-1 в ядре стимулирует транскрипцию генов множественной лекарственной устойчивости, участвует в процессах репарации и, таким образом, повышает выживаемость клеток. В-третьих, YB-1 обнаруживается в ядре после инфицирования клеток аденовирусами [107]. При этом ядерный YB-1 стимулирует транскрипцию поздних вирусных генов, репликацию генома вируса и сборку вирионов. Наконец, переход YB-1 в ядро можно стимулировать некоторыми ростовыми факторами и цитокинами, например, эмбриональной телячьей сывороткой и IFN γ [66, 195].

Перемещение YB-1 из цитоплазмы в ядро может также происходить в результате его взаимодействия с другими белками. Например, YB-1 может взаимодействовать с фактором сплайсинга SRp30c [50]. На клетках HeLa и HEK-293 было показано, что при гиперэкспрессии с плазмиды белок SRp30c локализуется преимущественно в ядрах, и его распределение по ядру имеет «крупчатый» характер. Синтезированный с плазмиды белок YB-1 проявляет преимущественно цитоплазматическую диффузную локализацию. При одновременной гиперэкспрессии двух белков YB-1 переходит в ядро и колокализуется с SRp30c, при этом распределение обоих белков имеет «некрупчатый», диффузный характер. Если же клетки подвергнуть тепловому шоку, при котором SRp30c перемещается в индуцированные стрессом ядерные тельца Sam68, или SNB (SLM/Sam68 nuclear bodies), то взаимодействие YB-1 с SRp30c нарушается, и YB-1 возвращается в цитоплазму. Эти данные показывают, что SRp30c способствует переходу YB-1 в ядро, и в этом случае ядерная локализация YB-1 поддерживается за счет взаимодействия с SRp30c [50].

Другим известным белком, который может участвовать в транспорте YB-1 в ядро, является p53. На нескольких клеточных линиях было продемонстрировано, что ядерная локализация YB-1 коррелирует с гиперэкспрессией p53, причем важно, чтобы p53 был функционально активным (мутантные формы p53, не обладающие активностью фактора транскрипции, не стимулируют переход YB-1 в ядро) [196, 197]. При облучении УФ заметно стимулируется p53-зависимый переход YB-1 в ядро [143].

Существуют данные о связи перехода YB-1 в ядро с его посттрансляционными модификациями. Косвенно об этом свидетельствует то, что переход YB-1 в ядро фибробластов человека при стимуляции

IFN γ подавляется ингибиторами киназ Jak1/Jak2 и казеинкиназы II, а переход под действием ультрафиолета – ингибитором протеинкиназы C [66, 193]. Данные о влиянии фосфорилирования YB-1 киназой Akt на его ядерно-цитоплазматическое распределение противоречивы. Эксперименты на клетках MCF-7 и SCOV-3 говорят о том, что фосфорилирование индуцирует переход YB-1 в ядро [53, 195], а результаты, полученные для фибробластов NIH3T3 и CEF, свидетельствуют об отсутствии такой зависимости [83, 198].

Относительно недавно был открыт еще один механизм регуляции ядерно-цитоплазматического транспорта YB-1, связанный с его протеолитическим процессингом. Стимуляция перехода YB-1 в ядро в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов под действием тромбина сопровождается расщеплением YB-1 на два фрагмента, и при этом в ядро переходит больший, N-концевой фрагмент белка [86, 199]. Позднее было установлено место расщепления YB-1 (перед Gly220) и протеаза, отвечающая за этот процесс [85]. Этой протеазой оказалась 20S протеасома, которая убиквитин- и АТР-независимо отщепляет от YB-1 сайт удержания в цитоплазме, что и обуславливает его перемещение в ядро [85]. Ограниченный протеолиз YB-1 20S протеасомой индуцируется в ответ на ДНК-повреждающий стресс. Укороченный YB-1, возможно, имеет функции, отличные от таковых полноразмерного белка. Так, по всей видимости, развитие множественной лекарственной устойчивости коррелирует с появлением укороченной, а не полноразмерной формы YB-1 в ядре [85].

Механизм транспорта YB-1 в ядро и из ядра мало изучен. Было продемонстрировано, что YB-1 может связываться с кариоферрином $\beta 2$ – фактором, который обеспечивает импорт в ядро некоторых белков, участвующих в процессинге мРНК [200]. Показано, что экспорт YB-1 из ядра не зависит от Cgm1 – белка семейства экспортинов, отвечающих за ядерный экспорт многих ядерно-цитоплазматических белков [190].

ЛОКАЛИЗАЦИЯ YB-1 В ЦИТОПЛАЗМЕ И ЯДРЕ

Основная масса YB-1 в цитоплазме ассоциирована с мРНК и имеет диффузное распределение. YB-1 находится в составе как транслируемых мРНК полисом, так и свободных нетранслируемых мРНК.

A/P-домен YB-1 имеет мотив, характерный для актин-связывающих белков. YB-1 взаимодействует как с мономерным, так и с полимерным актином и в модельных экспериментах декорирует актиновые микрофиламенты внутри клетки [49]. Белок сохраняет свою способность связываться с актином, находясь в комплексах с мРНК

при относительно небольшом соотношении YB-1/мРНК, характерном для транслируемых мРНК. Однако, YB-1 утрачивает свою способность взаимодействовать с актином в составе комплексов, в которых мРНК насыщена этим белком, то есть в составе нетранслируемых свободных мРНК. Это означает, что YB-1 может локализовать транслируемую мРНК на актиновом скелете.

С другой стороны, было показано, что YB-1 может взаимодействовать как с димерным $\alpha\beta$ -тубулином, так и с микротрубочками и способен ускорять сборку микротрубочек из димерного тубулина. При относительно низких соотношениях YB-1/мРНК мРНК конкурирует с тубулином за YB-1. Однако при высоких значениях этого соотношения YB-1 способствует ассоциации мРНК с микротрубочками [69]. Предполагается, что YB-1 может локализовать мРНК, находящиеся в форме свободных нетранслируемых мРНК, на тубулиновом цитоскелете и участвовать в транспорте таких мРНК по микротрубочкам.

Кроме того, YB-1 был обнаружен в составе centrosом как интерфазных, так и митотических клеток [201, 202]. Не исключено, что YB-1 ассоциирован с centrosомами благодаря его средству к тубулину.

YB-1 может встречаться, наряду с мРНК, в составе цитоплазматических гранул. На сегодняшний день установлена локализация YB-1 в двух типах таких гранул – в стресс-гранулах SG (Stress granules) и тельцах процессинга РВ (Processing bodies). При стрессовых воздействиях большая часть YB-1 ассоциирована с SG.

SG образуются в клетке в ответ на тепловой шок, гипоксию, окислительный стресс, вирусную инфекцию и др. Образование таких гранул в эксперименте стимулируется солями мышьяка. Формирование SG инициируется фосфорилированием eIF2 α , которое приводит к ингибированию белкового синтеза на стадии инициации. Такие гранулы содержат, помимо YB-1 и мРНК, факторы инициации трансляции eIF2 α , eIF3, eIF4E, eIF4A, eIF4G, белки G3BP, PABP, Hu-R, TIAR, 40S субчастицы рибосом и др. Предполагается, что эти гранулы являются формой хранения мРНК, где она защищена от действия рибонуклеаз. Такая мРНК может быть повторно использована в трансляции при восстановлении благоприятных условий [203, 204].

РВ присутствуют в клетке практически всегда. Белковый состав этих гранул значительно отличается от состава SG. В состав РВ входят белки, вовлеченные в деградацию мРНК – экзорибонуклеаза Xrn1, декэпирующие белки DCP1/DCP2 и их коактиваторы Hedls/GE-1, белки, участвующие в деградации aberrантной мРНК (UPF1, SMG5,

SMG7, Lsm1), белки, участвующие в микроРНК-зависимой деградации мРНК (GW182, RISC, Ago2) и др. Считается, что эти гранулы служат местом деградации мРНК. При нормальных условиях роста в них присутствует также YB-1, но в меньшем количестве, чем в SG [203, 204].

Для локализации YB-1 в составе ПВ необходимы А/Р-домен, CSD и участок С-концевого домена (205–281). Для его локализации в составе SG необходим участок CSD (44–128) [204]. В отличие от RAP55 (RNA-associated protein 55), который по окончании стресса быстро перемещается из SG в ПВ, YB-1 еще какое-то время остается связанным с SG. Возможно, тем самым YB-1 помогает восстановить трансляцию и способствует вовлечению в состав полисом мРНК, находящихся в составе SG [204].

Исследование процесса формирования SG показало, что вначале образуется большое количество очень мелких SG, а затем они сливаются в более крупные гранулы, причем процесс слияния активный (не за счет свободной диффузии) и зависит от сборки и разборки микротрубочек. Считается, что щелочные белки мРНК, такие как YB-1 и PABP, могут способствовать ассоциации стресс-гранул с микротрубочками [205].

В клеточном ядре Y-бокс-связывающие белки могут находиться на хроматине как в результате взаимодействия с ДНК в промоторных и поврежденных участках, подвергающихся репарации, так и в ассоциации со вновь синтезирующейся мРНК. В последнем случае Y-бокс-связывающие белки будут уходить из хроматина при обработке эндорибонуклеазами, разрушающими растущие цепи пре-мРНК [149].

VII. СЕКРЕЦИЯ И ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫЕ ФУНКЦИИ YB-1

Недавно было обнаружено, что YB-1 может секретироваться из клеток в условиях воспалительного стресса при их обработке липополисахаридом, пероксидом водорода, фактором роста тромбоцитов PDGF-BB или TGFβ [87]. Согласно данным микроскопии, YB-1 секретируется не по классическому механизму секреции белков, то есть не через аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум. В пользу этого дополнительно свидетельствуют: (1) отсутствие в YB-1 канонической N-концевой сигнальной последовательности, необходимой для секреции по классическому механизму, (2) сохранение молекулярной массы (то есть отсутствие N-концевого укорочения) секретируемого YB-1 и (3) отсутствие влияния на секрецию YB-1 рефелдина А, ингибитора классической секреции белков.

Транспорт УВ-1 из клеток подавляется резерпином –ингибитором АТФ-зависимой упаковки биоаминов в везикулы. Исследования показали, что в условиях воспалительного стресса УВ-1 колокализует с одним из маркеров транспорта везикул – белком RAB7. Эти данные говорят о том, что УВ-1 так же, как некоторые провоспалительные белки (IL-1 β , MIF, HMGB1, FGF2), секретируется по неклассическому механизму в составе везикул эндолизосомального происхождения.

Секреция УВ-1 строго зависит от присутствия в его СТД остатков лизина 301 и 304, так как замена этих остатков на аланин полностью ингибирует экспорт УВ-1 из клетки. Предполагается, что ацетилирование остатков лизина 301 и 304 играет важную роль при секреции УВ-1 из клетки [87].

Показано, что УВ-1, а также его 16-аминокислотный фрагмент из CSD (73–88), могут функционировать как ростовой фактор. При добавлении к культивируемым клеткам в наномолярных концентрациях он стимулирует деление и миграцию мезангиальных клеток крысы и клеток почек человека [87]. Обнаружено, что УВ-1 взаимодействует с EGF-подобными повторами экстраклеточного домена рецептора Notch-3. После взаимодействия этого рецептора с УВ-1 внутриклеточный домен Notch-3 переходит в ядро, где в комплексе с транскрипционным фактором RBP-Жк (Recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J) активирует гены-мишени, такие как транскрипционные факторы семейства HES (Hairly and enhancer of split). Интересно, что на крысиной модели мезангиопролиферативного нефрита в почечных клубочках был обнаружен высокий уровень как рецептора Notch-3, так и УВ-1. Более того, на 7-ой день заболевания УВ-1 и экстраклеточный домен Notch-3 детектируются в моче больных животных. Таким образом, присутствие УВ-1 в моче может служить диагностическим признаком мезангиопролиферативных заболеваний [206]. Недавно было обнаружено, что экстраклеточный УВ-1 может негативно регулировать экспрессию Notch-3 по неизвестному механизму [207]. Стоит отметить, что рецепторы семейства Notch играют важную роль в эмбриональном развитии организма, а их сверхэкспрессия приводит к различным заболеваниям, в том числе и к раковой трансформации [208]. Однако пока не ясно, какую роль при этом играет экстраклеточный УВ-1 и его взаимодействие с Notch-3.

VIII. УЧАСТИЕ YB-1 В ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

В опытах по выключению гена *YB-1* у эмбрионов мыши (нокаутирование) удалось выяснить, что *YB-1^{-/-}* эмбрионы развиваются нормально до 13,5 дней (стадия E13,5), после чего рост эмбриона резко замедляется, наблюдаются аномалии в формировании нервной трубки и другие нарушения [209, 210]. Если особи с таким генотипом и рождаются, то они нежизнеспособны и быстро погибают. Эти данные свидетельствуют о важной роли YB-1 в позднем эмбриогенезе. Можно было ожидать, что выключение синтеза YB-1 – белка, участвующего в таких важных клеточных процессах как транскрипция и трансляция – должно привести к серьезным нарушениям функционирования клетки. Однако при анализе культуры фибробластов, полученных из *YB-1^{-/-}* эмбрионов на стадии E13,5, не было обнаружено значительных изменений в транскрипции и трансляции. Такие фибробласты обладали лишь повышенной чувствительностью к различным стрессовым воздействиям (окислительный, генотоксический стресс) и пониженной способностью к росту и делению [209, 210]. В связи с этим интересно отметить, что культивируемые куриные клетки линии DT40 с нокаутированным геном *YB-1* (*YB-1^{-/-}*) не отличаются от контрольных клеток при оптимальных условиях роста, однако их деление полностью останавливается при субоптимальной температуре [58].

Было высказано предположение, что функции YB-1 в его отсутствие могут выполнять его паралоги – MSY-3/4 и/или MSY-2. Напомним, что во взрослом организме *MSY-2* и *MSY-3/4* экспрессируются только в половых клетках (хотя *MSY-3/4* и синтезируется в эмбриональных клетках, к рождению этот белок полностью исчезает). Эти данные позволяют предположить, что в эмбрионах *YB-1^{-/-}* белки *MSY-3/4* выполняют не только свои функции, но до определенного момента могут компенсировать отсутствие YB-1. Для проверки этого предположения были получены мыши, нокаутированные по гену *MSY-3/4*, и мыши, нокаутированные как по этому гену, так и по гену *YB-1*. Оказалось, что мыши из первой группы не имеют других патологий, кроме потери фертильности. Двойные мутантные эмбрионы (*YB-1^{-/-}* и *MSY-3/4^{-/-}*) имеют серьезные нарушения и погибают к 8,5–11,5 дню развития [209]. Результаты этих опытов позволяют заключить, что *MSY-3/4* действительно на ранних стадиях развития эмбриона могут функционально заменять YB-1, однако для нормального развития на более поздних стадиях необходимы дополнительные функции YB-1, которые, вероятно, не может выполнять его паралог. Следует обратить внимание еще на одно обстоятельство, связанное

с влиянием нокаута гена *YB-1* на формирование нервной трубки. Одним из ключевых этапов этого процесса является ЭМП, то есть, смена клетками фенотипа, характерного для эпителиальных клеток, на мезенхимальный [211]. Данный переход сопровождается повышением подвижности клеток и их миграцией, что необходимо для успешного прохождения этапа формирования нервной трубки. Поскольку установлено, что оверэкспрессия *YB-1* в Ras-трансформированных клетках вызывает ЭМП (см. подробнее в разделе «IX. YB-1 и онкологические заболевания»), можно предположить, что нарушения в формировании нервной трубки при нокауте гена *YB-1* связаны с участием YB-1 в ЭМП. В пользу такого предположения косвенно свидетельствует и тот факт, что другой важный участник процесса ЭМП – белок Twist – является транскрипционным регулятором экспрессии гена *YB-1*.

IX. YB-1 И ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Изучение механизмов онкогенеза является одним из приоритетных направлений медико-биологических исследований. Учитывая многообразие функций белка YB-1, можно ожидать, что он вовлечен в формирование опухолевого фенотипа клеток. Более 10 лет назад были получены первые данные о количестве и локализации YB-1 в клетках опухолей молочной железы и о связи этих показателей с прогнозом на выживание [212]. С этого момента количество публикаций о роли YB-1 в онкогенезе постоянно растет.

На сегодняшний день все данные об участии белка YB-1 в развитии злокачественных опухолей можно разделить на две группы. Согласно первой группе данных, YB-1 может рассматриваться как онкобелок, который стимулирует клеточную пролиферацию, повышает множественную лекарственную устойчивость и способствует метастазированию. Другие же исследования говорят о том, что в ряде случаев YB-1 может выступать как супрессор опухолей. Рассмотрим эти данные более подробно.

YB-1 КАК ОНКОМАРКЕР

Известно, что количество мРНК и белка YB-1 часто бывает повышено в опухолях различного происхождения, в том числе и злокачественных [146, 212–222]. При этом многие авторы полагают, что появление YB-1 в ядрах клеток или его повышенное содержание в тканях, прилежащих к опухоли, являются признаками более агрессивных и запущенных опухолей [213, 214, 217, 218, 220, 223]. В связи с этим предлагается

рассматривать YB-1 как прогностический маркер в отношении агрессивности течения заболевания и устойчивости опухолей к химиотерапии, по крайней мере, в случае рака молочной железы [212, 214, 222, 224]. Однако, не всегда удается обнаружить корреляцию между экспрессией *YB-1* и клинико-патологическими признаками опухоли, такими как ее размер, способность к метастазированию и т.п. [214, 225, 226]. Последний раз данные о роли YB-1 в злокачественных новообразованиях были суммированы в работе 2005 года [227]. Основные выводы с тех пор не изменились, однако материал был существенно расширен (табл. 3).

РОЛЬ YB-1 В ФОРМИРОВАНИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Существенным препятствием на пути лечения раковых заболеваний становится приобретение клетками опухоли устойчивости к лекарственным препаратам.

Белок YB-1 снижает чувствительность клеток к химиопрепаратам разных классов, применяемым при лечении раковых заболеваний [85, 98, 145, 219, 240–242]. Механизм этого процесса до конца не ясен. Предполагается, что YB-1 может действовать либо через белки, обеспечивающие множественную лекарственную устойчивость, либо он сам принимает непосредственное участие в репарации ДНК (см. раздел «IV. Функции YB-1 в ядре»). Известно, что вероятность излечения различных видов рака без рецидивов после химиотерапии ниже, если *YB-1* был оверэкспрессирован в опухоли и/или он локализован в ядре [213, 214, 220, 223, 233, 237]. В свете последних открытий представляется особенно важной способность YB-1 защищать от действия лекарств стволовые клетки, в том числе и стволовые клетки опухолей, что может быть причиной рецидивов рака [91, 145].

Молекулярные механизмы возникновения множественной лекарственной устойчивости различны. Одним из них является повышенный синтез клеткой белков-транспортеров семейства ABC (*ATP-binding cassette*), в частности, Р-гликопротеина (продукта гена *MDR1*).

Ряд исследователей связывает множественную лекарственную устойчивость клеток в культуре и в клинических образцах опухолей с белком YB-1. Так, было найдено, что ядерная локализация белка YB-1 или увеличение экспрессии гена *YB-1* коррелирует с ростом количества Р-гликопротеина при разных типах рака [194, 212, 217, 220, 224, 225, 234, 235, 243]. Однако при анализе случаев колоректальной карциномы и протоковой карциномы молочной железы такой корреляции не обнаружено [146, 226].

Таблица 3.
УВ-1 в злокачественных новообразованиях человека

Исследованная опухоль	Возможное участие УВ-1 в прогрессии опухоли	Ссылки
1	2	3
Опухоли молочной железы (классификация согласно гистологии)		
Инвазивные протоковые и дольковые карциномы	Ядерная локализация УВ-1 коррелирует с синтезом Р-гликопротеина	[212]
	УВ-1 стимулирует синтез EGFR и HER-2	[137]
	Содержание УВ-1 является ярким неблагоприятным прогностическим признаком	[228]
	Наблюдается корреляция между высоким содержанием мРНК <i>УВ-1</i> и агрессивным течением болезни – ранним появлением метастазов в отдаленных органах	[229]
Рак (гистологический подтип не определен)	Повышенное содержание УВ-1 коррелирует с повышенным риском рецидива после операции	[214]
	Ядерная локализация УВ-1 положительно коррелирует с синтезом HER-2, отрицательно – с синтезом ER α и CXCR4 и указывает на пониженную вероятность выживания	[138]
Инвазивная протоковая карцинома	Ядерная локализация УВ-1 коррелирует с синтезом прогестеронового рецептора и Р-гликопротеина, но не связана с выживанием	[216]
	Частота рецидивов при отсутствии адъювантной химиотерапии ниже при низком уровне УВ-1	[226]
	Повышенное содержание УВ-1 коррелирует с потерей кадгерина E и является признаком высокой вероятности метастазирования и плохого прогноза	[184]
	Повышенная экспрессия <i>УВ-1</i> коррелирует с метастазированием опухолей малого размера в отдаленные органы. Ядерная локализация УВ-1 коррелирует с размером опухоли более 5 см	[222]
Рак (различные подтипы)	Ядерная локализация УВ-1 коррелирует с синтезом Р-гликопротеина, затрудняет лечение паклитакселом	[194]

Продолжение табл. 3 см. на сл. стр.

Продолжение табл. 3

1	2	3
Опухоли молочной железы (классификация согласно экспрессии биологических маркеров)		
Базальный рак	ΥВ-1 активирует транскрипцию <i>EGFR</i> , снижает чувствительность клеток к ингибитору тирозинкиназной активности <i>EGFR</i> (Iressa)	[96]
Опухоли с амплификацией гена <i>HER-2</i>	ΥВ-1 стимулирует пролиферацию клеток и защищает их от апоптоза	[230, 231]
Рак (люминальный А, люминальный Б, базальный и <i>HER2</i> /нео-положительный)	Цитоплазматическая локализация ΥВ-1 в опухолях малого размера коррелирует с экспрессией нескольких генов множественной лекарственной устойчивости. После неoadъювантной химиотерапии ΥВ-1 может переходить в ядра клеток в случае больших и малых опухолей	[232]
Опухоли яичников		
Серозная аденокарцинома	Ядерная локализация ΥВ-1 коррелирует с плохим прогнозом	[233]
Эпителиальный рак разных гистологических подтипов	ΥВ-1 больше содержится во вторичных очагах, чем в первичных	[215]
Карциномы (в основном серозные)	Ядерная локализация ΥВ-1 коррелирует с содержанием Р-гликопротеина, LRP/MVP и pAkt, а также с плохим прогнозом	[234]
Опухоли костей		
Различные гистологические подтипы	Ядерная локализация ΥВ-1 коррелирует с содержанием Р-гликопротеина и ускоренной пролиферацией	[235]
Опухоли кишечника		
Колоректальная карцинома	Количество ΥВ-1 коррелирует с экспрессией маркеров пролиферации	[146]
Опухоли кожи		
Меланома	По мере развития заболевания количество ΥВ-1 растет, он стимулирует пролиферацию и устойчивость к лекарствам	[219]

Окончание табл. 3 см. на сл. стр.

Окончание табл. 3

1	2	3
Опухоли легких		
Плоскоклеточный рак	Ядерная локализация YB-1 связана с клинико-патологическими факторами и плохим прогнозом	[213]
Немелкоклеточный рак	Ядерная локализация YB-1 коррелирует с метастазированием в отдаленные органы, стадией заболевания и плохим прогнозом	[223]
	В опухолевых клетках наблюдается пониженное содержание мРНК YB-1	[236]
Аденокарцинома	Ядерная локализация YB-1 связана с пониженной вероятностью выживания	[237]
Опухоли мягких тканей		
Синовиальная саркома	Ядерная локализация YB-1 коррелирует с повышенной экспрессией <i>MDR1</i> и <i>MRP1</i> и плохим прогнозом	[225]
Эмбриональная рабдомиосаркома	Ядерная локализация YB-1 коррелирует с повышенным содержанием <i>MDR1</i> и <i>LRP/MVP</i> и ускоренной пролиферацией	[238]
Опухоли нервной системы		
Детская глиобластома	<i>YB-1</i> гиперэкспрессирован в клетках данных опухолей	[239]
Мультиформная глиобластома	<i>YB-1</i> гиперэкспрессирован в клетках опухоли по сравнению с нормальными клетками	[240]
Опухоли предстательной железы		
Аденокарцинома	По мере развития заболевания количество YB-1 растет, и он перемещается в ядро клетки	[217]
Опухоли печени		
Гепатоклеточная карцинома	Повышенное содержание и ядерная локализация YB-1 коррелируют с инвазией в портальную и печеночные вены, более поздней стадией заболевания и плохим прогнозом	[218]
Новообразования системы кровотока		
Множественная миелома	Синтез YB-1 ассоциирован с высокой способностью к пролиферации	[241]
Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома	Ядерная локализация YB-1 коррелирует с повышенным содержанием Р-гликопротеина, более поздней стадией заболевания и плохим прогнозом	[220]

Механизм, по которому YB-1 регулирует уровень Р-гликопротеина, представляет большой интерес. YB-1 был выделен как белок, который связывается с регуляторной областью промотора гена *MDR1* [98]. Считается, что YB-1 принимает участие в активации транскрипции этого гена, в частности, в условиях стресса [99]. Для некоторых клеточных линий известно, что при нокауте *YB-1* возрастает чувствительность клеток к лекарственным препаратам, вызывающим повреждение ДНК [98, 219]. И наоборот, при оверэкспрессии *YB-1* в эпителиальных клетках молочной железы их чувствительность к доксорубину снижается [212]. В ряде работ было показано, что YB-1 может стимулировать транскрипцию репортерных генов, находящихся под контролем промотора гена *MDR1* [133]. Однако до сих пор нет прямых экспериментальных данных об участии YB-1 в транскрипции гена *MDR1*; более того, есть работы, опровергающие эту гипотезу. Так, по данным ряда авторов, YB-1 не был обнаружен в составе ДНК-белковых комплексов, собирающихся в ядерных экстрактах клеток на двухцепочечных олигонуклеотидах, соответствующих участкам промотора гена *MDR1* [134, 135]. Мутации в промоторе *MDR1*, снижающие его транскрипционную активность, мало сказываются на его связывании с YB-1. Кроме того, было показано, что ни краткосрочное, ни долгосрочное подавление экспрессии *YB-1* в клетках карциномы желудка и поджелудочной железы не оказывало влияния на чувствительность этих клеток к лекарственным препаратам, а также на количество Р-гликопротеина [244]. Таким образом, механизм, по которому YB-1 стимулирует экспрессию *MDR1* остается неизвестным. По-видимому, он напрямую не участвует в транскрипции гена *MDR1*, либо не является ключевым фактором транскрипции, по крайней мере, в некоторых типах клеток. Возможно, что переход YB-1 в ядро или увеличение его экспрессии и активация *MDR1* – независимые события, происходящие в клетках в ответ на стрессовые воздействия. Кроме того, не исключено, что YB-1 стимулирует экспрессию или активность Р-гликопротеина на посттранскрипционном уровне.

Имеется несколько сообщений о роли белка YB-1 в активации других генов, опосредующих множественную лекарственную устойчивость. Так, показано, что при временной оверэкспрессии *YB-1* в клетках повышается количество мРНК и белка LRP/MVP (Lung resistance-related protein/Major vault protein), и повышение количества YB-1 сопровождается усилением транскрипции с репортерных конструкций под контролем промотора *LRP/MVP* [102, 245]. Аналогичные данные получены и о влиянии YB-1 на количество

мРНК *MRP1* (Multidrug resistance-associated protein 1) и *BCRP* [99, 225, 245]. Однако механизм действия YB-1 в этих случаях также не установлен.

YB-1 КАК ОНКОБЕЛОК

Итак в клетках, подвергшихся раковой трансформации, белок YB-1 часто либо локализован в ядре, либо его содержание в клетках повышено. Многие исследователи рассматривают такие изменения не просто как следствие раковой трансформации клеток, а как одну из существенных причин этого явления. Рассмотрим несколько примеров.

Имеющиеся на сегодняшний день многочисленные данные указывают на то, что YB-1 стимулирует пролиферацию клеток. Первоначально было замечено, что повышенное содержание YB-1 в клинических образцах или его ядерная локализация коррелируют с экспрессией маркеров пролиферации [146, 235]. В дальнейшем было убедительно показано, что время удвоения клеток в культуре и в организме увеличивается как при временном (транзиторном), так и при постоянном подавлении экспрессии *YB-1*; при этом в популяции возрастает доля клеток, находящихся в фазе G1 [58, 209, 210, 237, 240, 246, 247]. Оверэкспрессия же *YB-1* приводит к гиперплазии [248]. Особо стоит отметить, что раковые клетки многих типов при подавлении экспрессии *YB-1* теряют способность к росту без контакта с подложкой и к формированию колоний в мягком агаре [96, 230, 240, 249].

Предложено несколько механизмов, согласно которым YB-1 мог бы влиять на пролиферацию клеток. Во-первых, YB-1 может быть вовлечен в регуляцию синтеза белков, которые прямо задействованы в репликации ДНК. Так, показано, что при подавлении синтеза YB-1 снижается транскрипция репортерных генов под контролем промотора гена *ДНК-топоизомеразы II α* [146]. Аналогичные результаты были получены с промотором гена *ДНК-полимеразы α* [95]. Более того, продемонстрировано, что YB-1 обнаруживается в составе комплекса, который собирается на этом промоторе после стимуляции клеток сывороткой, и, вероятно, отвечает за перевод участков данного промотора в одноцепочечное состояние. Во-вторых, YB-1 может регулировать количество белков, с которыми связан переход от одной стадии клеточного цикла к другой. Известно, что YB-1 перемещается в ядро клетки на границе фаз G1/S и активирует транскрипцию генов *циклинов A и B1* [106]. Кроме того, YB-1 активирует транскрипцию гена *CDC6* (Cell division control protein 6), который контролирует прохождение митоза [250]. При участии YB-1 осуществляется IRES-зависимая трансляция мРНК протоонкогена *c-тус*, который способен

стимулировать пролиферацию клеток [181]. Также отмечалось, что при подавлении экспрессии *YB-1* количество циклина D1 понижается, а количество ингибитора клеточного цикла p21^{CIP1} повышается по неустановленному механизму [219, 241, 250].

Кроме стимуляции пролиферации, *YB-1* может защищать некоторые линии раковых клеток от апоптоза [230, 241, 247]. На сегодняшний день известно несколько различных механизмов такой защиты. Первый состоит в том, что *YB-1* может модулировать активность регулятора апоптоза p53. В свою очередь, p53 в зависимости от условий может активировать две группы генов: гены, отвечающие за остановку клеточного цикла, и проапоптотические гены. *YB-1* препятствует p53-зависимой активации транскрипции проапоптотических генов и, в меньшей степени, активации генов первой группы [196, 197]. Недавно был предложен другой механизм ингибирования апоптоза белком *YB-1*. Было замечено, что при подавлении экспрессии *YB-1* в линии клеток рака молочной железы, сверхэкспрессирующих рецептор HER-2, инактивируется PTEN/mTOR/STAT3-путь, который обычно препятствует апоптозу [230]. Кроме того, *YB-1* является репрессором транскрипции гена *Fas-рецептора*, с которого начинается проапоптотический сигнальный путь [119]. По всей вероятности, ингибирование апоптоза белком *YB-1* не является универсальным механизмом, а характерно, скорее всего, для небольшого числа клеточных линий, так как в большинстве случаев при снижении количества *YB-1* происходит просто снижение уровня пролиферации клеток, а не их апоптотическая гибель.

В последние годы особое внимание уделяется исследованию роли белка *YB-1* в развитии рака молочной железы. В опытах с трансгенными мышами было показано, что сверхэкспрессия *YB-1* является причиной злокачественного перерождения тканей молочной железы [248]. Выяснилось, что повышение количества *YB-1* в клетке приводит к аномалиям митоза, связанным с ненормальным состоянием centrosом – появлялись клетки с несколькими ядрами и неправильным набором хромосом [202, 248].

Недавно были получены экспериментальные данные, которые позволяют предполагать, что *YB-1* может быть вовлечен в транскрипционную активацию ряда компонентов сигнальных путей, имеющих большое значение при развитии рака молочной железы. Так, показано, что сверхэкспрессия *YB-1* сопровождается повышением уровней EGFR, PIK3CA, MET и HER-2 [96, 97, 103, 136–138]. *YB-1* стимулирует транскрипцию генов этих белков только в том случае, когда он фосфорилирован по Ser102. В связи с этим было предложено

рассматривать YB-1 как потенциальную мишень при терапии разных типов рака молочной железы [138, 230].

YB-1 не только принимает участие в злокачественном перерождении клеток, но и способствует последующему процессу метастазирования. Известно, что при подавлении экспрессии *YB-1* в раковых клетках снижается их способность к миграции и инвазии [103, 219, 240]. Это может быть связано с тем, что YB-1 способен активировать транскрипцию гена металлопротеиназы *ММР-2* (*Matrix metalloproteinase 2*), которая расщепляет компоненты базальных мембран [75]. Кроме того, YB-1 стимулирует активность МТ1-ММР (*Membrane type 1 matrix metalloproteinase*), что может опосредовать инвазию раковых клеток [251]. Считается, что YB-1 модулирует рециркуляцию этого фермента в мембране.

Подробно описан механизм, по которому YB-1 стимулирует метастазирование при раке молочной железы [184]. Считается, что важным этапом на пути метастазирования опухоли является так называемый эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). В ходе этого процесса клетки утрачивают кубоидальную форму, апикально-базальную полярность, межклеточные контакты и способность формировать гроздевидные сфероиды, приобретают фибробластоподобную морфологию и более активно мигрируют в гелевой среде. Такое превращение сопровождается практически полной потерей E-кадгерина и других маркеров эпителиальных клеток. Вместо этого клетки синтезируют N-кадгерин и ряд других маркеров мезенхимальных клеток. Недавно было показано, что эпителиальные клетки молочной железы (НМЛЕ), претерпевшие ЭМП, обладают свойствами стволовых клеток, то есть большим пролиферативным потенциалом и способностью к дифференцировке (хотя и ограниченной только двумя типами миепителиальных клеток) [183].

Оверэкспрессия *YB-1* в цитоплазме эпителиальных клеток молочной железы MCF10AT, в которых активирован Ras-МАРК-сигнальный путь, приводит к тому, что эти клетки претерпевают эпителиально-мезенхимальный переход. Удалось выяснить и молекулярный механизм ЭМП в этом случае [184]. На первом этапе необходим активированный Ras-МАРК-сигнальный путь. По-видимому, в это время происходит активация генов транскрипционных факторов, регулирующих ЭМП, таких как *Snail1*, *HMG*, *Lef-1*, *TCF4*, *Zeb2/Sip1*, *HIF1 α* , *bHLH*, *Twist* и др. На втором этапе ЭМП необходим YB-1, так как он стимулирует кэп-независимый синтез по крайней мере одного из регуляторов ЭМП, *Snail1*, но возможно и ряда других белков. На следующем этапе *Snail1* и другие транскрипционные факторы

запускают глобальные фенотипические изменения, характерные для ЭМП. Важно отметить, что повышение содержания YB-1 вызывает также снижение в клетках количества белков, отвечающих за пролиферацию (в частности, циклинов). В результате этого клетки, сверхэкспрессирующие *YB-1*, характеризуются низкой частотой делений. Замедление пролиферации под действием YB-1, вероятно, способствует выживанию клеток в условиях нарушения контакта с внеклеточным матриксом, а именно в таких условиях метастатические клетки оказываются при попадании в кровеносные сосуды.

Инъецированные в жировые подушечки молочной железы мыши клетки MCF10AT, сверхэкспрессирующие *YB-1*, давали через три месяца мелкие опухоли с метастазами в различные органы, в то время как клетки с нормальным уровнем YB-1 формировали более крупные опухоли, но локализованные в месте инъекции [184].

Таким образом, YB-1 стимулирует приобретение опухолевыми клетками инвазивного фенотипа за счет ЭМП, затормаживает их пролиферацию и делает более устойчивыми к апоптозу, то есть наделяет клетки свойствами, которые позволяют им переместиться из первичной опухоли в другие органы и сформировать микрометастазы. Кроме того, такой набор свойств защищает клетки от действия большинства противораковых препаратов, так как они поражают в первую очередь активно пролиферирующие клетки. Один из важных выводов из работы Евдокимовой и соавторов состоит в том, что по крайней мере при некоторых видах рака молочной железы сверхэкспрессия *YB-1* стимулирует метастазирование опухоли, но одновременно и подавляет рост опухолей. Таким образом, в некоторых случаях подавление синтеза YB-1 может приводить не к излечению, а к активации деления метастазировавших клеток. Этот факт необходимо учитывать при разработке схем лечения. Результаты этой работы подтверждаются и другими группами исследователей. Так, установлено, что раковые опухоли молочной железы малых размеров, сверхэкспрессирующие *YB-1*, имеют тенденцию к раннему метастазированию [222].

YB-1 КАК АНТИОНКОБЕЛОК

Хотя большинство исследователей соглашается с тем, что YB-1 обладает онкогенным действием, есть ряд работ, которые убедительно доказывают, что в отдельных случаях этот белок, находясь в цитоплазме, может выступать в качестве антионкобелка. Так, было обнаружено, что количество мРНК *YB-1* снижается при онкогенной трансформации эмбриональных куриных фибробластов, вызванной сверхэкспрессией онкобелков R13K и Akt, а дополнительный синтез

YB-1 с плазмиды такой трансформации препятствует [172]. Исследование механизма этого явления позволило установить, что YB-1 не прямо влияет на активность киназы Akt, а его действие проявляется на уровне ингибирования трансляции [83, 190]. Оказалось, что в нормальных условиях большое количество слабых матриц, среди которых мРНК белков, имеющих отношение к росту и делению клеток, находятся в составе YB-1-содержащих нетранслируемых мРНК. Фосфорилирование YB-1 киназой Akt по Ser102 приводит к снижению его сродства к кэп-структуре и кэп-прилежащей области мРНК. В результате ингибирующее действие YB-1 на кэп-зависимую трансляцию за счет вытеснения с кэп-структуры фактора инициации трансляции eIF4E снижается [83, 198]. При этом ранее репрессированные слабые мРНК, кодирующие пролиферативные факторы, переходят в транслируемое состояние, что ведет к неконтролируемому делению клеток. При гиперэкспрессии *YB-1* с плазмиды увеличивается содержание нефосфорилированной формы YB-1, которая прежде всего ингибирует трансляцию слабых матриц, что в свою очередь подавляет неконтролируемое деление клеток, вызванное гиперактивацией PI3K-Akt-киназного пути.

Х. СТРУКТУРА ГЕНА *YB-1* И РЕГУЛЯЦИЯ ЕГО ЭКСПРЕССИИ

Принимая во внимание, что YB-1 осуществляет регуляцию многочисленных ДНК- и мРНК-зависимых процессов, следует ожидать, что его содержание и функциональная активность в клетке строго контролируются.

Первые исследования регуляции синтеза YB-1 начались с анализа промотора и структуры гена *YB-1*. Ген *YB-1* человека расположен в первой хромосоме (1p34), состоит из 19 тысяч пар оснований и включает в себя 8 экзонов. При этом мРНК *YB-1* после сплайсинга имеет длину всего около 1500 нуклеотидных остатков. Выяснилось, что в промоторе гена *YB-1* отсутствуют наиболее характерные для большинства генов регуляторные последовательности: ТАТА-бокс и ССААТ-элемент. Однако в нем имеется несколько Е-боксов (САТСТG), в начале первого экзона (+24 – +281) содержится много СG-повторов, а также GATA-мотивы, которые необходимы для транскрипции гена *YB-1* [252].

Northern-блот анализ показал, что мРНК *YB-1* распределяется по разным тканям неравномерно. Больше всего ее найдено в семенниках, скелетных мышцах и в селезенке, мало – в почках, печени и легких [253]. По другим данным, большое количество мРНК *YB-1* обнару-

живается только в почках и семенниках [17]. Было также отмечено, что уровень мРНК *YB-1* клетках печени эмбрионов гораздо выше, чем во взрослом организме [32, 253]. Количество мРНК *YB-1* может меняться при различных стрессовых воздействиях [254] и при стимуляции клеток к пролиферации [32, 253]. Данные об экспрессии *YB-1*, полученные на микрочипе Affymetrix U133 (<http://biogps.gnf.org/#goto=genereport&id=4904>), показали, что количество мРНК *YB-1* заметно выше в клетках семенников, клетках фетального мозга, ранних предшественниках клеток эритроидного и лимфоидного рядов и некоторых других. Количество белка *YB-1* в разных тканях также сильно варьирует. Много белка детектируется в семенниках, печени и селезенке. Он практически отсутствует в скелетных мышцах, сердце и легких [255], и кроме того, было обнаружено, что количество *YB-1* в тканях мышцы может изменяться в зависимости от ее возраста [255]. В мозге, сердце и мышцах мышцы содержание *YB-1* уменьшается в течение нескольких недель после рождения, а в семенниках, селезенке, почках и легких такое уменьшение наблюдается только в период старения животного. В печени же количество *YB-1* остается неизменным на протяжении всей жизни мышцы. Возможно, наблюдаемая зависимость в распределении *YB-1* по тканям связана с тем, насколько активно в них идут пролиферативные процессы. К сожалению, еще не проводилось систематических исследований по одновременному определению количества как белка *YB-1*, так и мРНК *YB-1*. Однако на основании имеющихся фрагментарных данных можно сделать вывод, что содержание белка *YB-1* в тканях зачастую не коррелирует с количеством мРНК *YB-1*. Другими словами, регуляция экспрессии гена *YB-1* может осуществляться не только на уровне транскрипции, но и на посттранскрипционном уровне.

В опытах на клетках КВ было установлено, что при их обработке цисплатином происходит шестикратное увеличение количества мРНК *YB-1* за счет активации транскрипции гена. Для активации необходимо присутствие Е-бокса в промоторе гена, а также двух взаимодействующих друг с другом белков – р73 и с-Мус. В присутствии цисплатина р73 стимулирует взаимодействие с-Мус с белком Мах и способствует связыванию этого комплекса с Е-боксом, вызывая активацию транскрипции [256]. Недавно было показано, что синтез мРНК *YB-1* стимулируется при связывании с Е-боксом другого фактора транскрипции – Twist [249]. Shiota с коллегами [242] установили, что белок PCDP4 (Programmed cell death protein 4) способен связываться с ДНК-связывающим доменом Twist и препятствовать активации экспрессии гена *YB-1*. Способствовать активации экспрессии *YB-1*

может другой Twist-связывающий белок – PCAF (p300/CBP-associated factor) [257]. Недавно было показано, что экспрессия *YB-1* негативно регулируется белком Foxo3a [258] и снижается при ингибировании интегрин-связанной киназы ILK [259]. В этих случаях также предполагается Twist-опосредованный механизм регуляции синтеза *YB-1*.

Для транскрипции гена *YB-1* в клетках K562 необходим GATA-мотив в промоторе гена. Связывание с ним белков GATA-1 и GATA-2, являющихся транскрипционными факторами, приводит к активации транскрипции гена *YB-1*. Синтез мРНК увеличивается на пролиферативной стадии дифференцировки коммитированных к эритропоэзу клеток K562 [260, 261].

Интересно, что уровень мРНК *YB-1* в некоторых тканях и клетках напрямую связан с уровнем экспрессии факторов транскрипции, взаимодействующих с промотором гена *YB-1*. Например, в ранних предшественниках клеток эритроидного ряда транскрипционные факторы GATA-1 и GATA-2 экспрессируются заметно сильнее, чем в остальных клетках организма [261]. Белок Math2 (Neurod6), транскрипционный фактор, связывающийся с E-боксом промотора гена *YB-1*, обнаруживается только в фетальном мозге, где наблюдается высокий уровень мРНК *YB-1* [262].

Данные о регуляции синтеза *YB-1* на посттранскрипционном уровне появились относительно недавно и связаны с участием в этом процессе как 3' НТО [180], так и 5' НТО мРНК *YB-1* [263].

Fukuda с коллегами [263] продемонстрировали, что в клетках человека KB3-1 и H1299 белок *YB-1* ингибирует свой собственный синтез, специфически связываясь с 5' НТО мРНК *YB-1*. Оказалось, что 5' НТО мРНК *YB-1*, исследуемой в данной работе, длиннее на 200 нуклеотидов, чем 5' НТО мРНК *YB-1* человека, мыши, крысы и кролика, взятых из базы данных PubMed (например, NM_004559.3 для мРНК *YB-1* человека). Именно с этой добавочной последовательностью, находящейся на 5' конце, и взаимодействует *YB-1*, поэтому результаты Fukuda и др. вызывают некоторые сомнения. В то же время, данные результаты можно объяснить различием стартовой точки транскрипции гена *YB-1* в разных линиях клеток или типах тканей, что, в свою очередь, предполагает наличие еще одного возможного механизма регуляции синтеза *YB-1*.

С другой стороны, наши эксперименты в бесклеточной системе трансляции показали, что регуляция синтеза *YB-1* осуществляется при участии ~80-нуклеотидного регуляторного элемента, находящегося в 3' НТО мРНК *YB-1*. С этим элементом специфически взаимодействуют два мажорных белка цитоплазматических мРНК – сам *YB-1*

и РАВР. Было выяснено, что РАВР стимулирует трансляцию мРНК *УВ-1* даже в отсутствие 3' концевой поли(А)-последовательности у мРНК [180], а *УВ-1* ее избирательно ингибирует при относительно низких концентрациях, которые оптимальны для трансляции других клеточных мРНК [264]. Оба белка оказывают свое позитивное или негативное действие на стадии инициации трансляции, на этапе присоединения мРНК к малой субчастице рибосом или на более раннем этапе взаимодействия мРНК с факторами инициации трансляции. Данные футпринт-анализа показали, что регуляторный элемент содержит две последовательности (УССАГСА и УССААСА), специфически взаимодействующие с *УВ-1* (1137–1144 и 1164–1171), а также А-богатую (около 50% А) область – сайт связывания двух молекул РАВР (1149–1205). Сайты связывания этих двух белков перекрываются, что обуславливает их конкуренцию за связывание с регуляторным элементом [42]. Это приводит к тому, что ингибирование трансляции мРНК *УВ-1* под действием *УВ-1* преодолевается в результате повышения концентрации РАВР в системе трансляции.

Интересно, что трансляция мРНК *РАВР* негативно авторегулируется за счет специфического связывания РАВР с 60-нуклеотидным А-богатым элементом в 5' НТО своей мРНК [265].

В совокупности, описанные механизмы контроля синтеза *УВ-1* и РАВР позволяют поддерживать концентрацию и соотношение этих двух белков на уровне, оптимальном для трансляции других клеточных мРНК.

В последние годы утвердилось мнение, что важную роль в регуляции экспрессии генов играют микрорегуляторные РНК (микроРНК, *microRNA*, *miRNA*) [266]. Регуляция осуществляется либо путем репрессии трансляции, либо за счет дестабилизации мРНК. В обоих случаях участвует 3' нетранслируемая область мРНК. Многие специализированные базы данных и поисковые интернет-сервисы предсказывают потенциальные микрорегуляторные РНК для практически любой мРНК, в том числе мРНК *УВ-1*. Потенциально значимыми для регуляции трансляции или стабильности мРНК *УВ-1* могут быть около 20–30 микроРНК, но до недавнего времени не было экспериментальных доказательств такой регуляции. В 2010 г. появилось сообщение [267], что в результате стимуляции мезангиальных клеток фактором TGF β в течение суток происходит резкое снижение уровня белка *УВ-1* и мРНК *УВ-1*. Одновременно с этим повышается экспрессия микроРНК *miR-216a*, имеющей потенциальный сайт связывания в мРНК *УВ-1*. Эксперименты с репортерной мРНК *люциферазы*, содержащей либо 3' НТО мРНК *УВ-1*, либо

3' НТО мРНК YB-1 с мутациями в *miR-216a*-связывающем сайте, подтвердили предположение о регуляции стабильности мРНК YB-1 при участии этой микроРНК. Предполагается, что TGF β -индуцируемая деградация мРНК YB-1 и, как следствие, выключение синтеза YB-1 необходимы для вовлечения YB-1-репрессированных мРНК (в частности, мРНК *Tsc22*) в трансляцию. В результате изменяется профиль экспрессии генов в соответствии с поступившим сигналом (TGF β), в частности, повышается синтез белков экстраклеточного матрикса, в том числе коллагена. Интересно, что избыточный синтез этих белков, вызванный гиперэкспрессией TGF β при диабетической нефропатии, коррелирует с пониженной экспрессией YB-1. С этой точки зрения, YB-1 может рассматриваться как потенциальная терапевтическая мишень при лечении подобных заболеваний.

XI. ПОПЫТКИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ YB-1 В ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ

Выяснение механизмов участия YB-1 в онкотрансформации клеток и в других патологиях позволило предложить несколько перспективных подходов не только к диагностике, но и к терапии рака и некоторых других заболеваний.

Так, Dunn с сотрудниками предлагают использовать для лечения рака молочной железы фрагмент YB-1, конъюгированный с пептидом, обеспечивающим его транспорт в клетку [268]. Данный фрагмент CSD содержит фосфорилируемый остаток Ser102 и, согласно молекулярному моделированию, является хорошим субстратом для киназ RSK, Akt и PKC. Как уже отмечалось, повышенное фосфорилирование YB-1 может приводить к неконтролируемому синтезу некоторых онкобелков [83, 97] и более агрессивному течению болезни. Можно ожидать, что проникший в клетку фрагмент YB-1 будет конкурировать с полноразмерным белком за связывание с киназами, предотвращать фосфорилирование YB-1 и, тем самым, снижать негативный эффект фосфорилированного YB-1. Эксперименты показали, что фрагмент YB-1 на 90% снижал скорость роста культивируемых раковых клеток молочной железы и простаты и повышал их чувствительность к трастузумабу, но при этом не подавлял рост нормальных клеток.

В другом исследовании [269, 270] для терапии рака предлагается использовать свойство YB-1 поддерживать репликацию аденовируса, несущего мутацию в гене *E1A* [107]. Размножение такого мутантного аденовируса происходит только в клетках с высокой концентрацией и ядерной локализацией YB-1, которые в большей степени характерны

для раковых клеток. Следовательно, литический эффект аденовируса избирательно направлен на раковые клетки.

Nasegawa и Higashi с коллегами, изучая синтетическое низкомолекулярное вещество HSc025 как средство против фиброза печени, обнаружили взаимодействие этого соединения с YB-1 и стимуляцию им перехода YB-1 из цитоплазмы в клеточное ядро. Предполагается, что YB-1 служит молекулярной мишенью для HSc025. Перешедший в ядро YB-1 связывается с промоторами генов коллагенов *COL1A1* и *COL1A2* и подавляет их транскрипцию, что препятствует развитию фиброза [271, 272].

Имеются перспективы использования YB-1 при терапии вирусных заболеваний, основанные на его способности по-разному влиять на трансляцию клеточных и вирусных РНК. Как уже упоминалось выше, трансляция РНК вируса Денге сильнее подавляется YB-1, чем трансляция большинства клеточных мРНК, благодаря его повышенному сродству к специфической последовательности в 3' НТО (+)цепи вирусной РНК [46].

ХII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Со времени публикации последнего обстоятельного обзора, посвященного Y-бюкс-связывающим белкам, прошло около 7 лет [273]. Можно смело утверждать, что за этот период времени наши знания о функциях этих белков существенно расширились.

Представленные в этом обзоре данные убедительно свидетельствуют о широком спектре функций белка YB-1 в организме. Показано, что YB-1 участвует практически во всех ДНК- и мРНК-зависимых процессах в клетке. Он является системным регулятором экспрессии генов на разных уровнях как в ядре, так и в цитоплазме. YB-1 упаковывает мРНК в мРНП, может участвовать в локализации мРНП на разных компонентах клеточного скелета и, возможно, вовлечен в регуляцию формирования самого клеточного скелета. Этот белок заслуживает особого внимания благодаря его участию в онкотрансформации клеток, метастазировании опухолей, в воспалительных процессах и процессах, связанных с вирусной инфекцией. Для исследований в этом направлении характерна все более явная прикладная, медицинская составляющая.

Необходимо отметить несколько крупных фундаментальных открытий, сделанных при исследовании YB-1 в последние годы. К неожиданным и многообещающим следует отнести, в первую очередь, данные о секреции YB-1 и его экстраклеточном действии. Весьма интригующей является вовлеченность YB-1 в процессы

раннего эмбрионального развития. Серьезные успехи достигнуты в изучении механизма участия YB-1 в PI3K/Akt-опосредованной регуляции синтеза некоторых важных клеточных белков на уровне трансляции. Наконец, был предложен механизм действия YB-1 в процессе эпителиально-мезенхимального перехода, что имеет отношение не только к онкологии, но и к клеточной дифференцировке и морфогенезу.

Участие YB-1 в самых разных клеточных процессах является предпосылкой для дальнейших исследований этого белка по целому ряду направлений. Одним из них представляется анализ спектра генов, регулируемых белком YB-1, в зависимости от его внутри- и экстраклеточного содержания, внутриклеточного распределения, ковалентных модификаций и клеточного контекста. Несмотря на определенный прогресс, наблюдаемый в изучении механизмов регуляции экспрессии генов под действием YB-1 как на уровне транскрипции, так и трансляции, полученные результаты – это только первые шаги на длинном пути выяснения всего возможного разнообразия таких механизмов. Исследование механизмов, регулирующих ядерно-цитоплазматический транспорт и секрецию YB-1 – еще одна актуальная задача, решение которой определило бы подходы к контролю внутриклеточной локализации YB-1, его секреции и, что более важно, к регуляции клеточных процессов с участием YB-1. Дальнейший поиск белковых партнеров YB-1 и выяснение функционального значения взаимодействия YB-1 с этими партнерами представляется необходимым звеном для понимания роли таких взаимодействий в жизни клетки и организма в целом. Изучение молекулярной структуры YB-1 в комплексе с различными партнерами также является перспективным направлением дальнейшей работы, поскольку структура YB-1, как яркого представителя нативно неструктурированных белков, может быть многообразной и зависеть от партнеров по комплексам. Поскольку процессы, в которых участвуют YB-1 и его гомологи, зависят от концентрации этих белков, необходимо продолжить изучение механизмов, регулирующих их содержание в клетке.

В совокупности, решение перечисленных фундаментальных задач не только обогатит наши знания о регуляции клеточных процессов, в которые вовлечен YB-1, но и будет иметь важное практическое значение как для физиологии, так и для медицины.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность проф. А.А. Ставровской за ценные замечания и Е.В. Серебровой за помощь в подготовке публикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Morel, C., Kayibanda, B., Scherrer, K. (1971) FEBS Lett., **18**, 84–88.
2. Morel, C., Gander, E.S., Herzberg, M., Dubochet, J., Scherrer, K. (1973) Eur. J. Biochem., **36**, 455–464.
3. Blobel, G. (1972) Biochem. Biophys. Res. Commun., **47**, 88–95.
4. Lindberg, U., Sundquist, B. (1974) J. Mol. Biol., **86**, 451–468.
5. Kumar, A., Pederson, T. (1975) J. Mol. Biol., **96**, 353–365.
6. van Venrooij, W.J., van Eekelen, C.A., Jansen, R.T., Princen, J.M. (1977) Nature, **270**, 189–191.
7. Irwin, D., Kumar, A., Malt, R.A. (1975) Cell, **4**, 157–165.
8. Jain, S.K., Pluskal, M.G., Sarkar, S. (1979) FEBS Lett., **97**, 84–90.
9. Darnbrough, C.H., Ford, P.J. (1981) Eur. J. Biochem., **113**, 415–424.
10. Didier, D.K., Schiffenbauer, J., Woulfe, S.L., Zacheis, M., Schwartz, B.D. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **85**, 7322–7326.
11. Tafuri, S.R., Wolffe, A.P. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **87**, 9028–9032.
12. Murray, M.T., Schiller, D.L., Franke, W.W. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **89**, 11–15.
13. Evdokimova, V.M., Wei, C.L., Sitikov, A.S., Simonenko, P.N., Lazarev, O.A., Vasilenko, K.S., Ustinov, V.A., Hershhey, J.W., Ovchinnikov, L.P. (1995) J. Biol. Chem., **270**, 3186–3192.
14. Sakura, H., Maekawa, T., Imamoto, F., Yasuda, K., Ishii, S. (1988) Gene, **73**, 499–507.
15. Goldstein, J., Pollitt, N.S., Inouye, M. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **87**, 283–287.
16. Lu, Z.H., Books, J.T., Ley, T.J. (2006) Mol. Cell. Biol., **26**, 8410–8417.
17. Mastrangelo, M.A., Kleene, K.C. (2000) Mol. Hum. Reprod., **6**, 779–788.
18. Manival, X., Ghisolfi-Nieto, L., Joseph, G., Bouvet, P., Erard, M. (2001) Nucleic Acids Res., **29**, 2223–2233.
19. Newkirk, K., Feng, W., Jiang, W., Tejero, R., Emerson, S.D., Inouye, M., Montelione, G.T. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **91**, 5114–5118.
20. Schindelin, H., Jiang, W., Inouye, M., Heinemann, U. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **91**, 5119–5123.
21. Kloks, C.P.A.M., Spronk, C.A.E.M., Lasonder, E., Hoffmann, A., Vuister, G.W., Grzesiek, S., Hilbers, C.W. (2002) J. Mol. Biol., **316**, 317–326.
22. Landsman, D. (1992) Nucleic Acids Res., **20**, 2861–2864.
23. Tafuri, S.R., Wolffe, A.P. (1992) New Biol., **4**, 349–359.
24. Lodomery, M., Sommerville, J. (1994) Nucleic Acids Res., **22**, 5582–5589.
25. Bouvet, P., Matsumoto, K., Wolffe, A.P. (1995) J. Biol. Chem., **270**, 28297–28303.
26. Kloks, C.P.A.M., Tessari, M., Vuister, G.W., Hilbers, C.W. (2004) Biochemistry, **43**, 10237–10246.
27. Petrosian, S.A., Makhatadze, G.I. (2000) Protein Sci., **9**, 387–394.
28. Skabkin, M.A., Kiselyova, O.I., Chernov, K.G., Sorokin, A.V., Dubrovin, E.V., Yaminsky, I.V., Vasiliev, V.D., Ovchinnikov, L.P. (2004) Nucleic Acids Res., **32**, 5621–5635.
29. Selivanova, O.M., Guryanov, S.G., Enin, G.A., Skabkin, M.A., Ovchinnikov, L.P., Serdyuk, I.N. (2010) Biochemistry Mosc., **75**, 115–120.
30. Minich, W.B., Maidebura, I.P., Ovchinnikov, L.P. (1993) Eur. J. Biochem., **212**, 633–638.
31. Hasegawa, S.L., Doetsch, P.W., Hamilton, K.K., Martin, A.M., Okenquist, S.A., Lenz, J., Boss, J.M. (1991) Nucleic Acids Res., **19**, 4915–4920.
32. Grant, C.E., Deeley, R.G. (1993) Mol. Cell. Biol., **13**, 4186–4196.
33. Zasedateleva, O.A., Krylov, A.S., Prokopenko, D.V., Skabkin, M.A., Ovchinnikov, L.P., Kolchinsky, A., Mirzabekov, A.D. (2002) J. Mol. Biol., **324**, 73–87.

34. Skabkin, M.A., Evdokimova, V., Thomas, A.A., Ovchinnikov, L.P. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 44841–44847.
35. MacDonald, G.H., Itoh-Lindstrom, Y., Ting, J.P. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 3527–3533.
36. Izumi, H., Imamura, T., Nagatani, G., Ise, T., Murakami, T., Uramoto, H., Torigoe, T., Ishiguchi, H., Yoshida, Y., Nomoto, M., Okamoto, T., Uchiumi, T., Kuwano, M., Funa, K., Kohno, K. (2001) *Nucleic Acids Res.*, **29**, 1200–1207.
37. Coles, L.S., Diamond, P., Lambrusco, L., Hunter, J., Burrows, J., Vadas, M.A., Goodall, G.J. (2002) *Nucleic Acids Res.*, **30**, 4845–4854.
38. Lenz, J., Okenquist, S.A., LoSardo, J.E., Hamilton, K.K., Doetsch, P.W. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 3396–3400.
39. Ise, T., Nagatani, G., Imamura, T., Kato, K., Takano, H., Nomoto, M., Izumi, H., Ohmori, H., Okamoto, T., Ohga, T., Uchiumi, T., Kuwano, M., Kohno, K. (1999) *Cancer Res.*, **59**, 342–346.
40. Gaudreault, I., Guay, D., Lebel, M. (2004) *Nucleic Acids Res.*, **32**, 316–327.
41. Minich, W.B., Ovchinnikov, L.P. (1992) *Biochimie*, **74**, 477–483.
42. Skabkina, O.V., Lyabin, D.N., Skabkin, M.A., Ovchinnikov, L.P. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 3317–3323.
43. Giorgini, F., Davies, H.G., Braun, R.E. (2001) *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 7010–7019.
44. Coles, L.S., Bartley, M.A., Bert, A., Hunter, J., Polyak, S., Diamond, P., Vadas, M.A., Goodall, G.J. (2004) *Eur. J. Biochem.*, **271**, 648–660.
45. Swamynathan, S.K., Nambiar, A., Guntaka, R.V. (2000) *Biochem. J.*, **348 Pt 2**, 297–305.
46. Paranjape, S.M., Harris, E. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 30497–30508.
47. Hayakawa, H., Uchiumi, T., Fukuda, T., Ashizuka, M., Kohno, K., Kuwano, M., Sekiguchi, M. (2002) *Biochemistry*, **41**, 12739–12744.
48. Matsumoto, K., Meric, F., Wolffe, A.P. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 22706–22712.
49. Ruzanov, P.V., Evdokimova, V.M., Korneeva, N.L., Hershey, J.W., Ovchinnikov, L.P. (1999) *J. Cell. Sci.*, **112 (Pt 20)**, 3487–3496.
50. Raffetseder, U., Frye, B., Rauen, T., Jürchott, K., Royer, H., Jansen, P.L., Mertens, P.R. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 18241–18248.
51. Okamoto, T., Izumi, H., Imamura, T., Takano, H., Ise, T., Uchiumi, T., Kuwano, M., Kohno, K. (2000) *Oncogene*, **19**, 6194–6202.
52. Khandelwal, P., Padala, M.K., Cox, J., Guntaka, R.V. (2009) *Int. J. Cell Biol.*, **2009**, 243532.
53. Sutherland, B.W., Kucab, J., Wu, J., Lee, C., Cheang, M.C.U., Yorida, E., Turbin, D., Dedhar, S., Nelson, C., Pollak, M., Leighton Grimes, H., Miller, K., Badve, S., Huntsman, D., Blake-Gilks, C., Chen, M., Pallen, C.J., Dunn, S.E. (2005) *Oncogene*, **24**, 4281–4292.
54. Lutz, M., Wempe, F., Bahr, I., Zopf, D., von Melchner, H. (2006) *FEBS Lett.*, **580**, 3921–3930.
55. Murray, M.T. (1994) *Biochemistry*, **33**, 13910–13917.
56. Shnyreva, M., Schullery, D.S., Suzuki, H., Higaki, Y., Bomsztyk, K. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 15498–15503.
57. Moraes, K.C.M., Quaresma, A.J.C., Maehnss, K., Kobarg, J. (2003) *Biol. Chem.*, **384**, 25–37.
58. Matsumoto, K., Tanaka, K.J., Tsujimoto, M. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 1779–1792.
59. Ashizuka, M., Fukuda, T., Nakamura, T., Shirasuna, K., Iwai, K., Izumi, H., Kohno, K., Kuwano, M., Uchiumi, T. (2002) *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 6375–6383.
60. Chibi, M., Meyer, M., Skepu, A., G Rees, D.J., Moolman-Smook, J.C., Pugh, D.J.R. (2008) *J. Mol. Biol.*, **384**, 908–916.

61. Li, W.W., Hsiung, Y., Wong, V., Galvin, K., Zhou, Y., Shi, Y., Lee, A.S. (1997) *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 61–68.
62. Chansky, H.A., Hu, M., Hickstein, D.D., Yang, L. (2001) *Cancer Res.*, **61**, 3586–3590.
63. Safak, M., Gallia, G.L., Khalili, K. (1999) *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 2712–2723.
64. Ansari, S.A., Safak, M., Gallia, G.L., Sawaya, B.E., Amini, S., Khalili, K. (1999) *J. Gen. Virol.*, **80** (Pt 10), 2629–2638.
65. Safak, M., Gallia, G.L., Ansari, S.A., Khalili, K. (1999) *J. Virol.*, **73**, 10146–10157.
66. Higashi, K., Inagaki, Y., Fujimori, K., Nakao, A., Kaneko, H., Nakatsuka, I. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 43470–43479.
67. Ohba, H., Chiyoda, T., Endo, E., Yano, M., Hayakawa, Y., Sakaguchi, M., Darnell, R.B., Okano, H.J., Okano, H. (2004) *Neurosci. Lett.*, **358**, 157–160.
68. Zou, Y., Evans, S., Chen, J., Kuo, H.C., Harvey, R.P., Chien, K.R. (1997) *Development*, **124**, 793–804.
69. Chernov, K.G., Mechulam, A., Popova, N.V., Pastre, D., Nadezhdina, E.S., Skabkina, O.V., Shanina, N.A., Vasiliev, V.D., Tarrade, A., Melki, J., Joshi, V., Baconnais, S., Toma, F., Ovchinnikov, L.P., Curmi, P.A. (2008) *BMC Biochem.*, **9**, 23.
70. Kojic, S., Medeot, E., Guccione, E., Krmac, H., Zara, I., Martinelli, V., Valle, G., Faulkner, G. (2004) *J. Mol. Biol.*, **339**, 313–325.
71. Ohashi, S., Atsumi, M., Kobayashi, S. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **385**, 545–550.
72. Raj, G.V., Safak, M., MacDonald, G.H., Khalili, K. (1996) *J. Virol.*, **70**, 5944–5953.
73. Chernukhin, I.V., Shamsuddin, S., Robinson, A.F., Carne, A.F., Paul, A., El-Kady, A.I., Lobanenkova, V.V., Klenova, E.M. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 29915–29921.
74. Kelm, R.J.J., Elder, P.K., Getz, M.J. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 38268–38275.
75. Mertens, P.R., Alfonso-Jaume, M.A., Steinmann, K., Lovett, D.H. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 32957–32965.
76. Narayan, V., Halada, P., Hernychová, L., Chong, Y.P., Záková, J., Hupp, T.R., Vojtesek, B., Ball, K.L. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 14291–14303.
77. Nashchekin, D., Zhao, J., Visa, N., Daneholt, B. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 14263–14272.
78. Rush, J., Moritz, A., Lee, K.A., Guo, A., Goss, V.L., Spek, E.J., Zhang, H., Zha, X., Polakiewicz, R.D., Comb, M.J. (2005) *Nat. Biotechnol.*, **23**, 94–101.
79. Olsen, J.V., Blagoev, B., Gnäd, F., Macek, B., Kumar, C., Mortensen, P., Mann, M. (2006) *Cell*, **127**, 635–648.
80. Molina, H., Horn, D.M., Tang, N., Mathivanan, S., Pandey, A. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 2199–2204.
81. Dephoure, N., Zhou, C., Villén, J., Beausoleil, S.A., Bakalarski, C.E., Elledge, S.J., Gygi, S.P. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 10762–10767.
82. Coles, L.S., Lambrusco, L., Burrows, J., Hunter, J., Diamond, P., Bert, A.G., Vadas, M.A., Goodall, G.J. (2005) *FEBS Lett.*, **579**, 5372–5378.
83. Evdokimova, V., Ruzanov, P., Anglesio, M.S., Sorokin, A.V., Ovchinnikov, L.P., Buckley, J., Triche, T.J., Sonenberg, N., Sorensen, P.H.B. (2006) *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 277–292.
84. Stratford, A.L., Fry, C.J., Desilets, C., Davies, A.H., Cho, Y.Y., Li, Y., Dong, Z., Berquin, I.M., Roux, P.P., Dunn, S.E. (2008) *Breast Cancer Res.*, **10**, R99.
85. Sorokin, A.V., Selyutina, A.A., Skabkina, M.A., Guryanov, S.G., Nazimov, I.V., Richard, C., Th'ng, J., Yau, J., Sorensen, P.H.B., Ovchinnikov, L.P., Evdokimova, V. (2005) *EMBO J.*, **24**, 3602–3612.

86. Stenina, O.I., Shaneyfelt, K.M., DiCorleto, P.E. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 7277–7282.
87. Frye, B.C., Halfier, S., Djudjaj, S., Muehlenberg, P., Weber, S., Raffetseder, U., En-Nia, A., Knott, H., Baron, J.M., Dooley, S., Bernhagen, J., Mertens, P.R. (2009) EMBO Rep., **10**, 783–789.
88. Kohno, K., Izumi, H., Uchiumi, T., Ashizuka, M., Kuwano, M. (2003) Bioessays, **25**, 691–698.
89. Krohn, R., Raffetseder, U., Bot, I., Zerneck, A., Shagdarsuren, E., Liehn, E.A., van Santbrink, P.J., Nelson, P.J., Biessen, E.A., Mertens, P.R., Weber, C. (2007) Circulation, **116**, 1812–1820.
90. Raffetseder, U., Rauen, T., Djudjaj, S., Kretzler, M., En-Nia, A., Tacke, F., Zimmermann, H.W., Nelson, P.J., Frye, B.C., Floege, J., Stefanidis, I., Weber, C., Mertens, P.R. (2009) Kidney Int., **75**, 185–196.
91. To, K., Fotovati, A., Reipas, K.M., Law, J.H., Hu, K., Wang, J., Astanehe, A., Davies, A.H., Lee, L., Stratford, A.L., Raouf, A., Johnson, P., Berquin, I.M., Royer, H., Eaves, C.J., Dunn, S.E. (2010) Cancer Res., **70**, 2840–2851.
92. Mertens, P.R., Harendza, S., Pollock, A.S., Lovett, D.H. (1997) J. Biol. Chem., **272**, 22905–22912.
93. Mertens, P.R., Alfonso-Jaume, M.A., Steinmann, K., Lovett, D.H. (1999) J. Am. Soc. Nephrol., **10**, 2480–2487.
94. Mertens, P.R., Steinmann, K., Alfonso-Jaume, M.A., En-Nia, A., Sun, Y., Lovett, D.H. (2002) J. Biol. Chem., **277**, 24875–24882.
95. En-Nia, A., Yilmaz, E., Klinge, U., Lovett, D.H., Stefanidis, I., Mertens, P.R. (2005) J. Biol. Chem., **280**, 7702–7711.
96. Stratford, A.L., Habibi, G., Astanehe, A., Jiang, H., Hu, K., Park, E., Shadeo, A., Buys, T.P.H., Lam, W., Pugh, T., Marra, M., Nielsen, T.O., Klinge, U., Mertens, P.R., Aparicio, S., Dunn, S.E. (2007) Breast Cancer Res., **9**, R61.
97. Finkbeiner, M.R., Astanehe, A., To, K., Fotovati, A., Davies, A.H., Zhao, Y., Jiang, H., Stratford, A.L., Shadeo, A., Boccaccio, C., Comoglio, P., Mertens, P.R., Eirew, P., Raouf, A., Eaves, C.J., Dunn, S.E. (2009) Oncogene, **28**, 1421–1431.
98. Ohga, T., Koike, K., Ono, M., Makino, Y., Itagaki, Y., Tanimoto, M., Kuwano, M., Kohno, K. (1996) Cancer Res., **56**, 4224–4228.
99. Stein, U., Jürchott, K., Walther, W., Bergmann, S., Schlag, P.M., Royer, H.D. (2001) J. Biol. Chem., **276**, 28562–28569.
100. Sengupta, S., Mantha, A.K., Mitra, S., Bhakat, K.K. (2011) Oncogene, **30**, 482–493.
101. Zou, Y., Chien, K.R. (1995) Mol. Cell. Biol., **15**, 2972–2982.
102. Stein, U., Bergmann, S., Scheffer, G.L., Scheper, R.J., Royer, H., Schlag, P.M., Walther, W. (2005) Oncogene, **24**, 3606–3618.
103. Astanehe, A., Finkbeiner, M.R., Hojabrpour, P., To, K., Fotovati, A., Shadeo, A., Stratford, A.L., Lam, W.L., Berquin, I.M., Duronio, V., Dunn, S.E. (2009) Oncogene, **28**, 2406–2418.
104. Fukada, T., Tonks, N.K. (2003) EMBO J., **22**, 479–493.
105. Dooley, S., Said, H.M., Gressner, A.M., Floege, J., En-Nia, A., Mertens, P.R. (2006) J. Biol. Chem., **281**, 1784–1795.
106. Jurchott, K., Bergmann, S., Stein, U., Walther, W., Janz, M., Manni, I., Piaggio, G., Fietze, E., Dietel, M., Royer, H. (2003) J. Biol. Chem., **278**, 27988–27996.
107. Holm, P.S., Bergmann, S., Jurchott, K., Lage, H., Brand, K., Ladhoff, A., Mantwill, K., Curiel, D.T., Dobbstein, M., Dietel, M., Gansbacher, B., Royer, H. (2002) J. Biol. Chem., **277**, 10427–10434.

108. Sawaya, B.E., Khalili, K., Amini, S. (1998) *J. Gen. Virol.*, **79** (Pt 2), 239–246.
109. Chen, N.N., Chang, C.F., Gallia, G.L., Kerr, D.A., Johnson, E.M., Krachmarov, C.P., Barr, S.M., Frisquet, R.J., Bollag, B., Khalili, K. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 1087–1091.
110. Chen, N.N., Khalili, K. (1995) *J. Virol.*, **69**, 5843–5848.
111. Kelm, R.J.J., Wang, S., Polikandriotis, J.A., Strauch, A.R. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 38749–38757.
112. Zhang, A., Liu, X., Cogan, J.G., Fuerst, M.D., Polikandriotis, J.A., Kelm, R.J.J., Strauch, A.R. (2005) *Mol. Biol. Cell*, **16**, 4931–4940.
113. Liu, X., Kelm, R.J.J., Strauch, A.R. (2009) *Mol. Biol. Cell*, **20**, 2174–2185.
114. Dhalla, A.K., Ririe, S.S., Swamy-nathan, S.K., Weber, K.T., Guntaka, R.V. (1998) *Biochem. J.*, **336** (Pt 2), 373–379.
115. Norman, J.T., Lindahl, G.E., Shakib, K., En-Nia, A., Yilmaz, E., Mertens, P.R. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 29880–29890.
116. Higashi, K., Kouba, D.J., Song, Y.J., Uitto, J., Mauviel, A. (1998) *Matrix Biol.*, **16**, 447–456.
117. Higashi, K., Inagaki, Y., Suzuki, N., Mitsui, S., Mauviel, A., Kaneko, H., Nakatsuka, I. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 5156–5162.
118. Chen, Y., Sekine, K., Nakamura, K., Yanai, H., Tanaka, M., Miyajima, A. (2009) *Gastroenterology*, **137**, 330–340.
119. Lasham, A., Lindridge, E., Rudert, F., Onrust, R., Watson, J. (2000) *Gene*, **252**, 1–13.
120. Coles, L.S., Diamond, P., Occhiodoro, F., Vadas, M.A., Shannon, M.F. (1996) *Nucleic Acids Res.*, **24**, 2311–2317.
121. Coles, L.S., Diamond, P., Occhiodoro, F., Vadas, M.A., Shannon, M.F. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 14482–14493.
122. Diamond, P., Shannon, M.F., Vadas, M.A., Coles, L.S. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 7943–7951.
123. Samuel, S., Twizere, J., Bernstein, L.R. (2005) *Biochem. J.*, **388**, 921–928.
124. Samuel, S., Beifuss, K.K., Bernstein, L.R. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1769**, 525–531.
125. Saji, M., Shong, M., Napolitano, G., Palmer, L.A., Taniguchi, S.I., Ohmori, M., Ohta, M., Suzuki, K., Kirshner, S.L., Giuliani, C., Singer, D.S., Kohn, L.D. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 20096–20107.
126. Ting, J.P., Painter, A., Zeleznik-Le, N.J., MacDonald, G., Moore, T.M., Brown, A., Schwartz, B.D. (1994) *J. Exp. Med.*, **179**, 1605–1611.
127. Lloberas, J., Maki, R.A., Celada, A. (1995) *Mol. Cell. Biol.*, **15**, 5092–5099.
128. Montani, V., Taniguchi, S.I., Shong, M., Suzuki, K., Ohmori, M., Giuliani, C., Napolitano, G., Saji, M., Fiorentino, B., Reimold, A.M., Ting, J.P., Kohn, L.D., Singer, D.S. (1998) *Endocrinology*, **139**, 280–289.
129. Geier, A., Mertens, P.R., Gerloff, T., Dietrich, C.G., En-Nia, A., Kullak-Ublick, G.A., Karpen, S.J., Matern, S., Gartung, C. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **309**, 612–618.
130. Tian, B., Liu, J., Liu, B., Dong, Y., Liu, J., Song, Y., Sun, Z. (2011) *J. Cell. Physiol.*, in press.
131. Lasham, A., Moloney, S., Hale, T., Homer, C., Zhang, Y.F., Murison, J.G., Braithwaite, A.W., Watson, J. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 35516–35523.
132. Ohmori, M., Shimura, H., Shimura, Y., Kohn, L.D. (1996) *Mol. Endocrinol.*, **10**, 76–89.
133. Ohga, T., Uchiumi, T., Makino, Y., Koike, K., Wada, M., Kuwano, M., Kohno, K. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 5997–6000.

134. Sundseth, R., MacDonald, G., Ting, J., King, A.C. (1997) *Mol. Pharmacol.*, **51**, 963–971.
135. Hu, Z., Jin, S., Scotto, K.W. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 2979–2985.
136. Berquin, I.M., Pang, B., Dziubinski, M.L., Scott, L.M., Chen, Y.Q., Nolan, G.P., Ethier, S.P. (2005) *Oncogene*, **24**, 3177–3186.
137. Wu, J., Lee, C., Yokom, D., Jiang, H., Cheang, M.C.U., Yorida, E., Turbin, D., Berquin, I.M., Mertens, P.R., Ifner, T., Gilks, C.B., Dunn, S.E. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 4872–4879.
138. Fujii, T., Kawahara, A., Basaki, Y., Hatori, S., Nakashima, K., Nakano, K., Shirouzu, K., Kohno, K., Yanagawa, T., Yamana, H., Nishio, K., Ono, M., Kuwano, M., Kage, M. (2008) *Cancer Res.*, **68**, 1504–1512.
139. Guay, D., Evoy, A., Paquet, E., Garand, C., Bachvarova, M., Bachvarov, D., Lebel, M. (2008) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **40**, 2492–2507.
140. Marenstein, D.R., Ocampo, M.T., Chan, M.K., Altamirano, A., Basu, A.K., Boorstein, R.J., Cunningham, R.P., Teebor, G.W. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 21242–21249.
141. Guay, D., Garand, C., Reddy, S., Schmutte, C., Lebel, M. (2008) *Cancer Sci.*, **99**, 762–769.
142. Das, S., Chattopadhyay, R., Bhakat, K.K., Boldogh, I., Kohno, K., Prasad, R., Wilson, S.H., Hazra, T.K. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 28474–28484.
143. Guay, D., Gaudreault, I., Massip, L., Lebel, M. (2006) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **38**, 1300–1313.
144. Chattopadhyay, R., Das, S., Maiti, A.K., Boldogh, I., Xie, J., Hazra, T.K., Kohno, K., Mitra, S., Bhakat, K.K. (2008) *Mol. Cell. Biol.*, **28**, 7066–7080.
145. Shibahara, K., Uchiyumi, T., Fukuda, T., Kura, S., Tominaga, Y., Maehara, Y., Kohno, K., Nakabeppu, Y., Tsuzuki, T., Kuwano, M. (2004) *Cancer Sci.*, **95**, 348–353.
146. Shibao, K., Takano, H., Nakayama, Y., Okazaki, K., Nagata, N., Izumi, H., Uchiyumi, T., Kuwano, M., Kohno, K., Itoh, H. (1999) *Int. J. Cancer*, **83**, 732–737.
147. Gu, C., Oyama, T., Osaki, T., Kohno, K., Yasumoto, K. (2001) *Anticancer Res.*, **21**, 2357–2362.
148. van Roeyen, C.R.C., Eitner, F., Martinkus, S., Thielges, S.R., Ostendorf, T., Bokemeyer, D., Lüscher, B., Lüscher-Firzlauff, J.M., Floege, J., Mertens, P.R. (2005) *J. Am. Soc. Nephrol.*, **16**, 2985–2996.
149. Soop, T., Nashchekin, D., Zhao, J., Sun, X., Alzhanova-Ericsson, A.T., Björkroth, B., Ovchinnikov, L., Daneholt, B. (2003) *J. Cell. Sci.*, **116**, 1493–1503.
150. Hartmuth, K., Urlaub, H., Vornlocher, H., Will, C.L., Gentzel, M., Wilm, M., Lührmann, R. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 16719–16724.
151. Deckert, J., Hartmuth, K., Boehringer, D., Behzadnia, N., Will, C.L., Kastner, B., Stark, H., Urlaub, H., Lührmann, R. (2006) *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 5528–5543.
152. Rapp, T.B., Yang, L., Conrad, E.U.3., Mandahl, N., Chansky, H.A. (2002) *J. Orthop. Res.*, **20**, 723–729.
153. Dutertre, M., Sanchez, G., De Cian, M., Barbier, J., Dardenne, E., Grataudou, L., Dujardin, G., Le Jossic-Corcos, C., Corcos, L., Auboeuf, D. (2010) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 1358–1366.
154. Li, J., Hawkins, I.C., Harvey, C.D., Jennings, J.L., Link, A.J., Patton, J.G. (2003) *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 7437–7447.
155. Stickeler, E., Fraser, S.D., Honig, A., Chen, A.L., Berget, S.M., Cooper, T.A. (2001) *EMBO J.*, **20**, 3821–3830.
156. Skoko, N., Baralle, M., Buratti, E., Baralle, F.E. (2008) *FEBS Lett.*, **582**, 2231–2236.
157. Watermann, D.O., Tang, Y., Zur Hausen, A., Jäger, M., Stamm, S.,

- Stickeler, E.* (2006) *Cancer Res.*, **66**, 4774–4780.
158. *Onishi, H., Kino, Y., Morita, T., Futai, E., Sasagawa, N., Ishiura, S.* (2008) *J. Neurosci. Res.*, **86**, 1994–2002.
159. *Gonda, K., Fowler, J., Katoku-Kikyo, N., Haroldson, J., Wudel, J., Kikyo, N.* (2003) *Nat. Cell Biol.*, **5**, 205–210.
160. *Gonda, K., Wudel, J., Nelson, D., Katoku-Kikyo, N., Reed, P., Tamada, H., Kikyo, N.* (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 8153–8160.
161. *Spirin, A.S., Belitsina, N.V., Aitkhozhin, M.A.* (1964) *Zh. Obshch. Biol.*, **25**, 321–338.
162. *Henshaw, E.C.* (1968) *J. Mol. Biol.*, **36**, 401–411.
163. *Perry, R.P., Kelley, D.E.* (1968) *J. Mol. Biol.*, **35**, 37–59.
164. *Ovchinnikov, L.P., Skabkin, M.A., Ruzanov, P.V., Evdokimova, V.M.* (2001) *Mol. Biol. (Mosk)*, **35**, 462–471.
165. *Minich, W.B., Korneyeva, N.L., Berezin, Y.V., Ovchinnikov, L.P.* (1989) *FEBS Lett.*, **258**, 227–229.
166. *Davydova, E.K., Evdokimova, V.M., Ovchinnikov, L.P., Hershey, J.W.* (1997) *Nucleic Acids Res.*, **25**, 2911–2916.
167. *Dong, J., Akcakanat, A., Stivers, D.N., Zhang, J., Kim, D., Meric-Bernstam, F.* (2009) *RNA Biol.*, **6**, 59–64.
168. *Скабкин М.А., Лябин Д.Н., Овчинников Л.П.* (2006) *Молек. Биол.*, **40**, 620–633.
169. *Minich, W.B., Volyanik, E.V., Korneyeva, N.L., Berezin, Y.V., Ovchinnikov, L.P.* (1990) *Mol. Biol. Rep.*, **14**, 65–67.
170. *Nekrasov, M.P., Ivshina, M.P., Chernov, K.G., Kovrigina, E.A., Evdokimova, V.M., Thomas, A.A.M., Hershey, J.W.B., Ovchinnikov, L.P.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 13936–13943.
171. *Evdokimova, V., Ruzanov, P., Imataka, H., Raught, B., Svitkin, Y., Ovchinnikov, L.P., Sonenberg, N.* (2001) *EMBO J.*, **20**, 5491–5502.
172. *Bader, A.G., Felts, K.A., Jiang, N., Chang, H.W., Vogt, P.K.* (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 12384–12389.
173. *Svitkin, Y.V., Evdokimova, V.M., Brasey, A., Pestova, T.V., Fantus, D., Yanagiya, A., Imataka, H., Skabkin, M.A., Ovchinnikov, L.P., Merrick, W.C., Sonenberg, N.* (2009) *EMBO J.*, **28**, 58–68.
174. *Gross, J.D., Moerke, N.J., von der Haar, T., Lugovskoy, A.A., Sachs, A.B., McCarthy, J.E.G., Wagner, G.* (2003) *Cell*, **115**, 739–750.
175. *Kahvejian, A., Svitkin, Y.V., Suka-rieh, R., M'Boutchou, M., Sonenberg, N.* (2005) *Genes Dev.*, **19**, 104–113.
176. *Evdokimova, V.M., Kovrigina, E.A., Nashchekin, D.V., Davydova, E.K., Hershey, J.W., Ovchinnikov, L.P.* (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 3574–3581.
177. *Pisarev, A.V., Skabkin, M.A., Thomas, A.A., Merrick, W.C., Ovchinnikov, L.P., Shatsky, I.N.* (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 15445–15451.
178. *Svitkin, Y.V., Ovchinnikov, L.P., Dreyfuss, G., Sonenberg, N.* (1996) *EMBO J.*, **15**, 7147–7155.
179. *Jenkins, R.H., Bennagi, R., Martin, J., Phillips, A.O., Redman, J.E., Fraser, D.J.* (2010) *PLoS ONE*, **5**, e12283.
180. *Skabkina, O.V., Skabkin, M.A., Popova, N.V., Lyabin, D.N., Penalva, L.O., Ovchinnikov, L.P.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 18191–18198.
181. *Cobbold, L.C., Spriggs, K.A., Haines, S.J., Dobbyn, H.C., Hayes, C., de Moor, C.H., Lilley, K.S., Bushell, M., Willis, A.E.* (2008) *Mol. Cell. Biol.*, **28**, 40–49.
182. *Cobbold, L.C., Wilson, L.A., Sawicka, K., King, H.A., Kondrashov, A.V., Spriggs, K.A., Bushell, M., Willis, A.E.* (2010) *Oncogene*, **29**, 2884–2891.
183. *Mani, S.A., Guo, W., Liao, M., Eaton, E.N., Ayyanan, A., Zhou, A.Y., Brooks, M., Reinhard, F.,*

- Zhang, C.C., Shipitsin, M., Campbell, L.L., Polyak, K., Brisken, C., Yang, J., Weinberg, R.A. (2008) *Cell*, **133**, 704–715.
184. Evdokimova, V., Tognon, C., Ng, T., Ruzanov, P., Melnyk, N., Fink, D., Sorokin, A., Ovchinnikov, L.P., Davicioni, E., Triche, T.J., Sorensen, P.H.B. (2009) *Cancer Cell*, **15**, 402–415.
185. Parker, R., Song, H. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 121–127.
186. Skalweit, A., Doller, A., Huth, A., Kähne, T., Persson, P.B., Thiele, B. (2003) *Circ. Res.*, **92**, 419–427.
187. Chen, C.Y., Gherzi, R., Andersen, J.S., Gaietta, G., Jürchott, K., Royer, H.D., Mann, M., Karin, M. (2000) *Genes Dev.*, **14**, 1236–1248.
188. Capowski, E.E., Esnault, S., Bhattacharya, S., Malter, J.S. (2001) *J. Immunol.*, **167**, 5970–5976.
189. Esnault, S., Malter, J.S. (2003) *J. Immunol.*, **171**, 6780–6787.
190. Bader, A.G., Vogt, P.K. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 2095–2106.
191. Ranjan, M., Tafuri, S.R., Wolffe, A.P. (1993) *Genes Dev.*, **7**, 1725–1736.
192. Bouvet, P., Wolffe, A.P. (1994) *Cell*, **77**, 931–941.
193. Koike, K., Uchiumi, T., Ohga, T., Toh, S., Wada, M., Kohno, K., Kuwano, M. (1997) *FEBS Lett.*, **417**, 390–394.
194. Fujita, T., Ito, K., Izumi, H., Kimura, M., Sano, M., Nakagomi, H., Maeno, K., Hama, Y., Shingu, K., Tsuchiya, S., Kohno, K., Fujimori, M. (2005) *Clin. Cancer Res.*, **11**, 8837–8844.
195. Basaki, Y., Hosoi, F., Oda, Y., Fotovati, A., Maruyama, Y., Oie, S., Ono, M., Izumi, H., Kohno, K., Sakai, K., Shimoyama, T., Nishio, K., Kuwano, M. (2007) *Oncogene*, **26**, 2736–2746.
196. Zhang, Y.F., Homer, C., Edwards, S.J., Hananeia, L., Lasham, A., Royds, J., Sheard, P., Braithwaite, A.W. (2003) *Oncogene*, **22**, 2782–2794.
197. Homer, C., Knight, D.A., Hananeia, L., Sheard, P., Risk, J., Lasham, A., Royds, J.A., Braithwaite, A.W. (2005) *Oncogene*, **24**, 8314–8325.
198. Bader, A.G., Vogt, P.K. (2008) *Oncogene*, **27**, 1179–1182.
199. Stenina, O.I., Poptic, E.J., DiCorleto, P.E. (2000) *J. Clin. Invest.*, **106**, 579–587.
200. Lee, B.J., Cansizoglu, A.E., Süel, K.E., Louis, T.H., Zhang, Z., Chook, Y.M. (2006) *Cell*, **126**, 543–558.
201. Janz, M., Jürchott, K., Karawajew, L., Royer, H.D. (2000) *Gene Funct. Dis.*, **1**, 57–59.
202. Davies, A.H., Barrett, I., Pambid, M.R., Hu, K., Stratford, A.L., Freeman, S., Berquin, I.M., Pelech, S., Hieter, P., Maxwell, C., Dunn, S.E. (2011) *Oncogene*, in press.
203. Kedersha, N., Anderson, P. (2007) *Meth. Enzymol.*, **431**, 61–81.
204. Yang, W., Bloch, D.B. (2007) *RNA*, **13**, 704–712.
205. Chernov, K.G., Barbet, A., Hamon, L., Ovchinnikov, L.P., Curmi, P.A., Pastré, D. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 36569–36580.
206. Rauen, T., Raffetseder, U., Frye, B.C., Djudjaj, S., Mühlenberg, P.J.T., Eitner, F., Lendahl, U., Bernhagen, J., Dooley, S., Mertens, P.R. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 26928–26940.
207. Raffetseder, U., Rauen, T., Boor, P., Ostendorf, T., Hanssen, L., Floege, J., En-Nia, A., Djudjaj, S., Frye, B.C., Mertens, P.R. (2011) *Nephron Exp. Nephrol.*, **118**, e100–e108.
208. Liu, J., Sato, C., Cerletti, M., Wagers, A. (2010) *Curr. Top. Dev. Biol.*, **92**, 367–409.
209. Lu, Z.H., Books, J.T., Ley, T.J. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 4625–4637.
210. Uchiumi, T., Fotovati, A., Sasaguri, T., Shibahara, K., Shimada, T., Fukuda, T., Nakamura, T., Izumi, H., Tsuzuki, T., Kuwano, M., Kohno, K. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 40440–40449.
211. Thiery, J.P., Acloque, H., Huang, R.Y.J., Nieto, M.A. (2009) *Cell*, **139**, 871–890.

212. Bargou, R.C., Jürchott, K., Wagener, C., Bergmann, S., Metzner, S., Bomert, K., Mapara, M.Y., Winzer, K.J., Dietel, M., Dörken, B., Royer, H.D. (1997) *Nat. Med.*, **3**, 447–450.
213. Shibahara, K., Sugio, K., Osaki, T., Uchiyumi, T., Maehara, Y., Kohno, K., Yasumoto, K., Sugimachi, K., Kuwano, M. (2001) *Clin. Cancer Res.*, **7**, 3151–3155.
214. Janz, M., Harbeck, N., Dettmar, P., Berger, U., Schmidt, A., Jürchott, K., Schmitt, M., Royer, H. (2002) *Int. J. Cancer*, **97**, 278–282.
215. Yahata, H., Kobayashi, H., Kamura, T., Amada, S., Hirakawa, T., Kohno, K., Kuwano, M., Nakano, H. (2002) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **128**, 621–626.
216. Saji, H., Toi, M., Saji, S., Koike, M., Kohno, K., Kuwano, M. (2003) *Cancer Lett.*, **190**, 191–197.
217. Giménez-Bonafé, P., Fedoruk, M.N., Whitmore, T.G., Akbari, M., Ralph, J.L., Ettinger, S., Gleave, M.E., Nelson, C.C. (2004) *Prostate*, **59**, 337–349.
218. Yasen, M., Kajino, K., Kano, S., Tobita, H., Yamamoto, J., Uchiyumi, T., Kon, S., Maeda, M., Obulhasim, G., Arii, S., Hino, O. (2005) *Clin. Cancer Res.*, **11**, 7354–7361.
219. Schitteck, B., Psenner, K., Sauer, B., Meier, F., Iftner, T., Garbe, C. (2007) *Int. J. Cancer*, **120**, 2110–2118.
220. Xu, W., Zhou, L., Qin, R., Tang, H., Shen, H. (2009) *Eur. J. Haematol.*, **83**, 313–319.
221. Rubinstein, D.B., Stortchevoi, A., Boosalis, M., Ashfaq, R., Guillaume, T. (2002) *Cancer Res.*, **62**, 4985–4991.
222. Генс Г.П., Стромская Т.П., Калита О.В., Вайман А.В., Рыбалкина Е.Ю., Овчинников Л.П., Сорокин А.В., Коробкова Л.И., Астраханцев А.Ф., Муха С.Ф., Моисеева Н.И., Ставровская А.А. (2009) *Клин. лаб. диагн.*, **4**, 21–24.
223. Gessner, C., Woischwill, C., Schumacher, A., Liebers, U., Kuhn, H., Stiehl, P., Jürchott, K., Royer, H.D., Witt, C., Wolff, G. (2004) *Eur. Respir. J.*, **23**, 14–19.
224. Вайман А.В., Генс Г.П., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Сорокин А.В., Гурьянов С.Г., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. (2007) *Молекулярная медицина*, **1**, 31–37.
225. Oda, Y., Ohishi, Y., Saito, T., Hino-shita, E., Uchiyumi, T., Kinukawa, N., Iwamoto, Y., Kohno, K., Kuwano, M., Tsuneyoshi, M. (2003) *J. Pathol.*, **199**, 251–258.
226. Huang, J., Tan, P., Li, K., Matsumoto, K., Tsujimoto, M., Bay, B. (2005) *Int. J. Oncol.*, **26**, 607–613.
227. Matsumoto, K., Bay, B. (2005) *J. Mol. Genet. Med.*, **1**, 11–17.
228. Habibi, G., Leung, S., Law, J.H., Gelmon, K., Masoudi, H., Turbin, D., Pollak, M., Nielsen, T.O., Huntsman, D., Dunn, S.E. (2008) *Breast Cancer Res.*, **10**, R86.
229. Генс Г.П., Моисеева Н.И., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Вайман А.В., Ставровская А.А. (2010) *Клин. лаб. диагн.*, **2**, 29–32.
230. Lee, C., Dhillon, J., Wang, M.Y.C., Gao, Y., Hu, K., Park, E., Astanehe, A., Hung, M., Eirew, P., Eaves, C.J., Dunn, S.E. (2008) *Cancer Res.*, **68**, 8661–8666.
231. Генс Г.П., Моисеева Н.И., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Вайман А.В., Ставровская А.А. (2010) *Клин. лаб. диагн.*, **2**, 29–32.
232. Генс Г.П., Моисеева Н.И., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Вайман А.В., Овчинников Л.П., Ставровская А.А. (2010) *Российский биотерапевтический журнал*, **4**, 17–24.
233. Kamura, T., Yahata, H., Amada, S., Ogawa, S., Sonoda, T., Kobayashi, H., Mitsumoto, M., Kohno, K., Kuwano, M., Nakano, H. (1999) *Cancer*, **85**, 2450–2454.
234. Oda, Y., Ohishi, Y., Basaki, Y., Kobayashi, H., Hirakawa, T., Wake, N., Ono, M., Nishio, K., Kuwano, H.

- M., Tsuneyoshi, M.* (2007) *Cancer Sci.*, **98**, 1020–1026.
235. *Oda, Y., Sakamoto, A., Shinohara, N., Ohga, T., Uchiyumi, T., Kohno, K., Tsuneyoshi, M., Kuwano, M., Iwamoto, Y.* (1998) *Clin. Cancer Res.*, **4**, 2273–2277.
236. *Тычко Р.А., Опарина Н.Ю., Зиновьева О.Л., Кропотова Е.С., Зиновьева М.В., Машикова Т.Д., Овчинников Л.П.* (2009) *Труды МФТИ*, **1**, 111–119.
237. *Kashihara, M., Azuma, K., Kawahara, A., Basaki, Y., Hattori, S., Yanagawa, T., Terazaki, Y., Takamori, S., Shirouzu, K., Aizawa, H., Nakano, K., Kage, M., Kuwano, M., Ono, M.* (2009) *J. Thorac. Oncol.*, **4**, 1066–1074.
238. *Oda, Y., Kohashi, K., Yamamoto, H., Tamiya, S., Kohno, K., Kuwano, M., Iwamoto, Y., Tajiri, T., Taguchi, T., Tsuneyoshi, M.* (2008) *Cancer Sci.*, **99**, 726–732.
239. *Faury, D., Nantel, A., Dunn, S.E., Guiot, M., Haque, T., Hauser, P., Garami, M., Bognár, L., Hanzély, Z., Liberski, P.P., Lopez-Aguilar, E., Valera, E.T., Tone, L.G., Carret, A., Del Maestro, R.F., Gleave, M., Montes, J., Pietsch, T., Albrecht, S., Jabado, N.* (2007) *J. Clin. Oncol.*, **25**, 1196–1208.
240. *Gao, Y., Fotovati, A., Lee, C., Wang, M., Cote, G., Guns, E., Toyota, B., Faury, D., Jabado, N., Dunn, S.E.* (2009) *Mol. Cancer Ther.*, **8**, 3276–3284.
241. *Chatterjee, M., Rancso, C., Stühmer, T., Eckstein, N., Andrulis, M., Gerecke, C., Lorentz, H., Royer, H., Bargou, R.C.* (2008) *Blood*, **111**, 3714–3722.
242. *Shiota, M., Izumi, H., Tanimoto, A., Takahashi, M., Miyamoto, N., Kashiwagi, E., Kidani, A., Hirano, G., Masubuchi, D., Fukunaka, Y., Yasuniwa, Y., Naito, S., Nishizawa, S., Sasaguri, Y., Kohno, K.* (2009) *Cancer Res.*, **69**, 3148–3156.
243. *Вайман, А.В., Стромская, Т.П., Рыбалкина, Е.Ю., Сорокин, А.В., Овчинников, Л.П., Ставровская, А.А.* (2007) *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, **143**, 442 – 445.
244. *Kaszubiak, A., Kupstat, A., Müller, U., Hausmann, R., Holm, P.S., Lage, H.* (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **357**, 295–301.
245. *Vaiman, A.V., Stromskaya, T.P., Rybalkina, E.Y., Sorokin, A.V., Guryanov, S.G., Zobotina, T.N., Mechetner, E.B., Ovchinnikov, L.P., Stavrovskaya, A.A.* (2006) *Biochemistry Mosc.*, **71**, 146–154.
246. *Yu, Y., Yip, G.W., Tan, P., Thike, A.A., Matsumoto, K., Tsujimoto, M., Bay, B.* (2010) *Int. J. Oncol.*, **37**, 483–492.
247. *Shiota, M., Yokomizo, A., Itsumi, M., Uchiyumi, T., Tada, Y., Song, Y., Kashiwagi, E., Masubuchi, D., Naito, S.* (2010) *BJU Int.*, in press.
248. *Bergmann, S., Royer-Pokora, B., Fietze, E., Jürchott, K., Hildebrandt, B., Trost, D., Leenders, F., Claude, J., Theuring, F., Bargou, R., Dietel, M., Royer, H.* (2005) *Cancer Res.*, **65**, 4078–4087.
249. *Shiota, M., Izumi, H., Onitsuka, T., Miyamoto, N., Kashiwagi, E., Kidani, A., Yokomizo, A., Naito, S., Kohno, K.* (2008) *Cancer Res.*, **68**, 98–105.
250. *Basaki, Y., Taguchi, K., Izumi, H., Murakami, Y., Kubo, T., Hosoi, F., Watari, K., Nakano, K., Kawaguchi, H., Ohno, S., Kohno, K., Ono, M., Kuwano, M.* (2010) *Eur J Cancer*, **46**, 954–965.
251. *Lovett, D.H., Cheng, S., Cape, L., Pollock, A.S., Mertens, P.R.* (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **398**, 482–488.
252. *Makino, Y., Ohga, T., Toh, S., Koike, K., Okumura, K., Wada, M., Kuwano, M., Kohno, K.* (1996) *Nucleic Acids Res.*, **24**, 1873–1878.
253. *Ito, K., Tsutsumi, K., Kuzumaki, T., Gomez, P.F., Otsu, K., Ishikawa,*

- K. (1994) *Nucleic Acids Res.*, **22**, 2036–2041.
254. Tanaka, T., Kondo, S., Iwasa, Y., Hiai, H., Toyokuni, S. (2000) *Am. J. Pathol.*, **156**, 2149–2157.
255. Miwa, A., Higuchi, T., Kobayashi, S. (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1760**, 1675–1681.
256. Uramoto, H., Izumi, H., Ise, T., Tada, M., Uchiyumi, T., Kuwano, M., Yasumoto, K., Funo, K., Kohno, K. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 31694–31702.
257. Shiota, M., Yokomizo, A., Tada, Y., Uchiyumi, T., Inokuchi, J., Tatsugami, K., Kuroiwa, K., Yamamoto, K., Seki, N., Naito, S. (2010) *Cancer Sci.*, **101**, 1797–1806.
258. Shiota, M., Song, Y., Yokomizo, A., Kiyoshima, K., Tada, Y., Uchino, H., Uchiyumi, T., Inokuchi, J., Oda, Y., Kuroiwa, K., Tatsugami, K., Naito, S. (2010) *Clin. Cancer Res.*, **16**, 5654–5663.
259. Kalra, J., Sutherland, B.W., Stratford, A.L., Dragowska, W., Gelmon, K.A., Dedhar, S., Dunn, S.E., Bally, M.B. (2010) *Oncogene*, **29**, 6343–6356.
260. Yokoyama, H., Harigae, H., Takahashi, S., Takahashi, S., Furuyama, K., Kaku, M., Yamamoto, M., Sasaki, T. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **303**, 140–145.
261. Yokoyama, H., Harigae, H., Takahashi, S., Kameoka, J., Miyamura, K., Ishizawa, K., Kaku, M., Sasaki, T. (2003) *Int. J. Hematol.*, **78**, 213–218.
262. Ohashi, S., Fukumura, R., Higuchi, T., Kobayashi, S. (2009) *Mol. Cell. Biochem.*, **327**, 267–275.
263. Fukuda, T., Ashizuka, M., Nakamura, T., Shibahara, K., Maeda, K., Izumi, H., Kohno, K., Kuwano, M., Uchiyumi, T. (2004) *Nucleic Acids Res.*, **32**, 611–622.
264. Скабкина О.В., Скабкин М.А., Лябин Д.Н., Овчинников Л.П. (2004) Докл. АН, **359**, 548–550.
265. de Melo Neto, O.P., Standart, N., Martins de Sa, C. (1995) *Nucleic Acids Res.*, **23**, 2198–2205.
266. Fabian, M.R., Sonenberg, N., Filipowicz, W. (2010) *Annu. Rev. Biochem.*, **79**, 351–379.
267. Kato, M., Wang, L., Putta, S., Wang, M., Yuan, H., Sun, G., Lanting, L., Todorov, I., Rossi, J.J., Natarajan, R. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 34004–34015.
268. Law, J.H., Li, Y., To, K., Wang, M., Astanehe, A., Lambie, K., Dhillon, J., Jones, S.J.M., Gleave, M.E., Eaves, C.J., Dunn, S.E. (2010) *PLoS ONE*, **5**, e12661.
269. Holzmüller, R., Mantwill, K., Haczek, C., Rognoni, E., Anton, M., Kasajima, A., Weichert, W., Treue, D., Lage, H., Schuster, T., Schlegel, J., Gänsbacher, B., Holm, P.S. (2010) *Int. J. Cancer*, in press.
270. Rognoni, E., Widmaier, M., Haczek, C., Mantwill, K., Holzmüller, R., Gansbacher, B., Kolk, A., Schuster, T., Schmid, R.M., Saur, D., Kaszubiak, A., Lage, H., Holm, P.S. (2009) *Cancer Gene Ther.*, **16**, 753–763.
271. Hasegawa, M., Matsushita, Y., Horikawa, M., Higashi, K., Tomigahara, Y., Kaneko, H., Shirasaki, F., Fujimoto, M., Takehara, K., Sato, S. (2009) *Arthritis Rheum.*, **60**, 3465–3475.
272. Higashi, K., Tomigahara, Y., Shirasaki, H., Miyata, K., Mikami, T., Kimura, T., Moro, T., Inagaki, Y., Kaneko, H. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 4485–4492.
273. Скабкин М.А., Скабкина О.В., Овчинников Л.П. (2004) Успехи биол. химии, **44**, 3–52.