

ПОЛИ(А)-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ: СТРОЕНИЕ, ФУНКЦИИ И РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ

© 2013 г.

И. А. ЕЛИСЕЕВА, Д. Н. ЛЯБИН,
Л. П. ОВЧИННИКОВ

Институт белка РАН, Пущино, Россия

I. Введение. II. Структура, доменная организация и взаимодействие с другими молекулами. III. Функции PABPs. IV. Регуляция синтеза и активности PABPs. V. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Поли(А)-связывающие белки (PABPs, poly(A)-binding proteins) – высококонсервативный класс РНК-связывающих белков эукариот, специфически узнающих гомополимерную полиадениловую последовательность, присутствующую на 3'-конце большинства эукариотических мРНК. Данный класс белков не обладает собственной каталитической активностью, но зато связывается с большим числом белков-партнеров и практически со всеми мРНК в клетке. Благодаря этой способности, PABPs являются ключевыми белками в целом ряде клеточных процессов.

Принятые сокращения: НТО – нетранслируемая область; ARE (AU-rich element) – AU-богатый элемент; ARS (adenine-rich autoregulatory sequence) – А-богатая авторегуляторная последовательность; Ср (ceruloplasmin) – церулоплазмин; CPE (cytoplasmic polyadenylation element) – элемент цитоплазматического полиаденилирования; CPEBP (cytoplasmic polyadenylation element binding protein) – белок, взаимодействующий с элементом цитоплазматического полиаденилирования; CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor) – фактор специфичности расщепления и полиаденилирования; EJC (exon junction complex) – комплекс соединения экзонов; eIF (eukaryotic initiation factor) – эукариотический фактор инициации трансляции; eRF (eukaryotic release factor) – фактор терминации трансляции эукариот; GAIT-элемент (interferon γ -activated inhibitor of translation) – трансляционный ингибиторный элемент, активируемый

Окончание списка сокращений см. на сл. стр.

Адрес для корреспонденции: ovchinn@vega.protres.ru

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

Исторически, первый поли(А)-связывающий белок был обнаружен, как мажорный белок цитоплазматических мРНК [1], обладающий повышенным сродством к поли(А)-последовательности [2]. Основной функцией таких белков считалась защита мРНК от деградации. Однако со временем оказалось, что РАВРы участвуют во многих клеточных процессах. Несомненно, что практически во всех процессах главным партнером РАВРы являются мРНК. Поли(А)-связывающие белки сопровождают мРНК на всем протяжении их жизни, от рождения до самой смерти. Присоединяясь в ядре к растущему поли(А)-хвосту, РАВРы определяют его длину и участвуют в транспорте мРНК в цитоплазму, где помогают в проверке мРНК на «значимость» (отсутствие преждевременных стоп-кодонов) и либо отправляют их на «ликвидацию», либо в трансляцию. В зависимости от условий роста клетки и регуляторных последовательностей в мРНК, РАВРы участвуют в определении времени жизни мРНК и в нужный момент отправляют их на деградацию. Связываясь с вирусными РНК, РАВРы участвуют в трансляции и репликации ряда вирусов.

Количество поли(А)-связывающих белков у разных организмов варьирует. Так, у *Xenopus laevis* их три, у *Mus musculus* – два, а у *Arabidopsis thaliana* – целых восемь. У человека найдено 7 белков, которые можно разбить на четыре группы: цитоплазматические белки (РАВРС1, РАВРС3, РАВРС4, РАВРС4L), эмбриональные (еРАВР или РАВРС1L), ядерные (РАВРН1) и РАВРС5, кодируемый X-хромосомой. Наиболее изучены из них РАВРС1 и РАВРН1 [3, 4].

В данном обзоре просуммированы данные о строении и функциях поли(А)-связывающих белков, механизмах регуляции их экспрессии и

Окончание списка сокращений

гамма-интерфероном; hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein) – белки гетерогенных ядерных мРНК; IFN-γ (interferon γ) – гамма-интерферон; MLLE – С-концевой домен РАВР; IRES (internal ribosome entry site) – сайт внутренней посадки рибосомы; Msi1 (Mugashi 1) – РНК-связывающий белок; NMD (nonsense mediated mRNA decay) – деградация мРНК, опосредованная преждевременным стоп-кодоном; РАВРы (poly(A)-binding proteins) – поли(А)-связывающие белки; Paip1/2 (РАВР-interacting protein 1/2) – РАВР-взаимодействующий белок 1/2; РАМ (РАВР-interacting motif) – РАВР-взаимодействующий мотив; PAN2/3 (РАВР-dependent poly(A)-specific ribonuclease 2/3) – РАВР-зависимая поли(А)-специфическая рибонуклеаза 2/3; PAP (poly(A) polymerase) – поли(А)-полимераза; PARN (poly(A)-specific ribonuclease) – поли(А)-специфическая рибонуклеаза; RRM (RNA recognition motif) – РНК-узнающий мотив; PTC (premature termination codon) – преждевременный стоп-кодон; TOP (terminal oligopyrimidine track) – терминальный олигопиримидиновый тракт; UNR (upstream of N-ras) – РНК-связывающий белок с пятью доменами холодового шока.

активности. В основном, речь пойдет о наиболее изученных PABPC1 и PABPN1.

II. СТРУКТУРА, ДОМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДРУГИМИ МОЛЕКУЛАМИ

Разные представители класса поли(А)-связывающих белков имеют различную длину, доменную организацию и гомологию по аминокислотной последовательности (рис. 1А). Отличительной особенностью цитоплазматических представителей является наличие четырех РНК-связывающих мотивов (RRM, RNA recognition motif) в N-концевой части белка, характерных для многих РНК-связывающих белков. RRM (~90–100 а.о.) имеет два высококонсервативных мотива: $(K_R)G^{(F/Y)}(G_A)FVX^{(F/Y)}$ (РНП-1) и $(L_I)(F/Y)(V/I)(G_K)(N/G)(L_M)$ (РНП-2) длиной 8 и 6 аминокислотных остатков соответственно. Аминокислотная последовательность RRM укладывается в четыре β -тяжа и две α -спирали, которые образуют глобулярный домен в виде четырехтяжевого антипараллельного β -листа с примыкающими к нему с двух сторон α -спиралями (рис. 1Б) [5]. РНП-1 и РНП-2 локализуются на двух центральных β -тяжах.

В С-концевой части некоторых цитоплазматических PABPs располагается «спиральный» домен (PABPC или MLLE), состоящий из пяти α -спиралей (рис. 1В). MLLE-домен получил свое название благодаря высококонсервативному аминокислотному мотиву Met-Leu-Leu-Glu в его составе. MLLE-домен встречается только у представителей класса поли(А)-связывающих белков и соединяется с кластером РНК-узнающих мотивов через неструктурированный пролин-метионин богатый линкер.

Ядерный поли(А)-связывающий белок (PABPN1), в отличие от цитоплазматических форм, имеет всего один RRM. На его N-конце располагается кластер отрицательно заряженных аминокислот, а довольно короткий С-конец содержит аргинин-богатую последовательность (рис. 1А) [7].

Поли(А)-связывающие белки специфически взаимодействуют с поли(А)-последовательностью, а также с более низким сродством могут связываться и с другими гомо- и гетерополимерными последовательностями *in vitro* [8]. Константы диссоциации (Kd) PABP с олиго(А) и А-богатыми последовательностями составляют 1–20 нМ (в зависимости от длины поли(А)). Связывание с другими последовательностями в 3–5 раз хуже: Kd = 10–50 нМ [9–11]. Минимальная длина олиго(А), необходимая для взаимодействия с

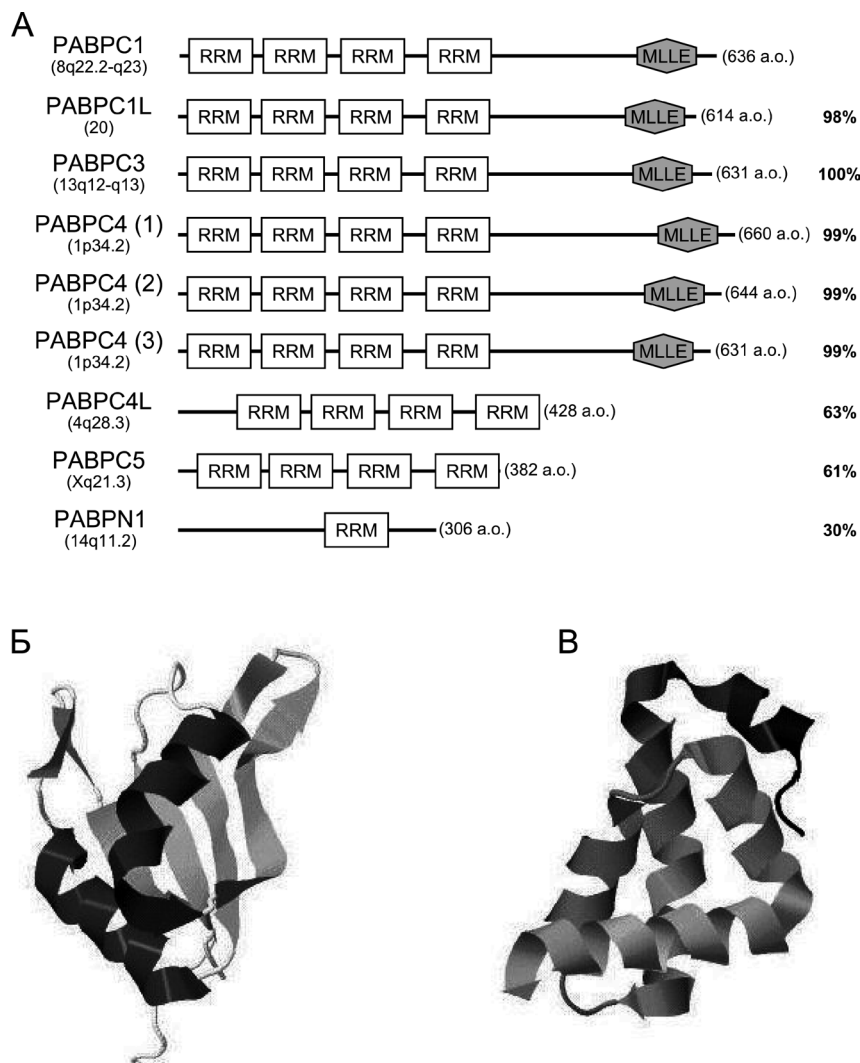


Рис. 1. (А) Доменная организация PABPs человека.

На рисунке указаны положения генов на хромосоме, длина аминокислотной последовательности и гомология с PABPC1. Для белка PABPC4 приведены три известные изоформы. RRM – РНК-связывающий домен, MLLE – α -спиральный С-концевой домен.

(Б) Кристаллическая структура RRM2 PABPC1 (pdb номер: 4F25) [6].

(В) Кристаллическая структура MLLE-домена PABPC1 (pdb номер: 3KUR) [1].

PABP, составляет около 12 нуклеотидов. Однако от действия рибонуклеаз PABP, связанный с длинным поли(А)-хвостом, защищает около 27 нуклеотидов [7, 12]. Как и большинство РНК-связывающих белков, PABP использует свой РНК-узнающий мотив для взаимодействия с РНК. Для эффективного связывания с поли(А) необходимы любые два RRM, а для взаимодействия с другими последовательностями – три RRM [7, 10]. Для PABP из *X. laevis* было обнаружено, что специфичностью к поли(А)-последовательностям обладают только первые два домена, а третий и четвертый домены необходимы для неспецифического связывания с РНК [7]. Однако, для человеческого и крысиного PABP было показано, что наибольшим сродством как к поли(А), так и другим гетерогенным последовательностям обладают третий и четвертый домены [11, 13]. По данным этих авторов, первый и второй домены не проявляли специфичности и высокой РНК-связывающей активности. Это объяснялось разной видовой специфичностью и условиями проведения экспериментов. Однако более поздние работы Khanam и Patel, проведенные на человеческом PABP, хорошо согласуются с данными для PABP из *X. laevis*. В них было показано, что первый и второй RRM обладают большим сродством к поли(А), чем третий и четвертый RRM [9, 10].

Кроме РНК, с RRM PABPs также взаимодействуют некоторые белки, такие как Paip1 (PABP-interacting protein 1), Paip2, eIF4G, GW182, MKRN1 (табл.). Стоит отметить, что взаимодействие некоторых белков с RRM может влиять на связывание PABP с поли(А)-последовательностью. Так, было показано, что связывание eIF4G на порядок увеличивает сродство PABP к поли(А)-последовательности [14, 15]. Согласно данным кристаллографических исследований eIF4G регулирует связывание PABP с поли(А) аллостерически. В результате связывания либо с eIF4G (взаимодействует с RRM2), либо с поли(А)-последовательностью (взаимодействует с RRM1-2) РНК-связывающие домены PABP претерпевают конформационные изменения. Увеличение междоменных перетяжек (между RRM) приводит к переходу PABP в более «открытое» состояние, что облегчает связывание второго партнера [6]. При связывании Paip2 с PABP, наоборот, происходит снижение связывания с поли(А), поскольку места связывания Paip2 и поли(А) в молекуле PABP перекрываются [16].

Стоит также отметить, что RRMс содержат сигнал ядерной локализации и сигнал ядерного экспорта, с которыми взаимодействуют импортин Sxm1/Кар108 и экспортин Crm1, соответственно [22].

Таблица.
Некоторые белки, взаимодействующие с РАВР

Белок	Расшифровка	Наличие РАМ2	Место связывания в РАВР	Ссылка
Apc5	субъединица анафаза-стимулирующего комплекса (циклосома)			[17]
Ataxin-2	атаксин 2; белок, ответственный за развитие спиноцереbellарной дегенерации 2 типа	+	MLLE	[18, 19]
AUF1 (hnRNP D)	белок, взаимодействующий с АУ-богатым элементом			[20]
Capsid	белок оболочки Rubella вируса		С-концевая часть	[21]
Crm1	экспортин 1		RRM1 (NES)	[22]
DAZL	РНК-связывающий белок, играющий важную роль в оогенезе			[23]
eIF4B	фактор инициации трансляции 4B		MLLE	[24]
eIF4G	фактор инициации трансляции 4G		RRM1-2	[25]
eRF3	фактор терминации трансляции 3	+	MLLE	[26, 27]
GW182 (TNRC6C)	белок, участвующий в микроРНК-зависимом ингибировании трансляции и деградации мРНК	+	RRM4 MLLE	[28]
HEZL	предполагаемая РНК-хеликаза	+	MLLE	[29]
LARP	белок, родственный La-белку			[30]
LARP 4	белок 4, родственный La-белку	+	MLLE	[31]
MKRN1	makorin 1; белок с доменом цинковых пальцев	+	RRM1-2 MLLE	[32]
Белок N	Белок нуклеокапсида вируса PRRSV (вирус репродуктивного и респираторного синдрома свиней)		Пролин-метионин-богатый линкер MLLE	[33]
Paip1	РАВР взаимодействующий белок 1	+	RRM1-2 MLLE	[34]
Paip2A/2B	РАВР взаимодействующий белок 2	+	RRM2-3 MLLE	[16, 35]
PAN-3	РАВР-зависимая поли(А)-нуклеаза	+	MLLE	[36]
Sxm1/ Kap108	кариоферин (транспортин) 108		RRM4 (NLS)	[22]
TOB1/2	антипролиферативный белок 1/2	+	MLLE	[37, 38]
UNR	РНК-связывающий белок с 5 доменами холодового шока		RRM2-3	[39]

Пролин-метионин богатый линкер, соединяющий кластер РНК-связывающих мотивов с MLLE-доменом, отвечает за мультимеризацию PABP и кооперативное связывание с поли(А)-последовательностью [40, 41]. Было обнаружено, что в пролин-метионин богатом линкере располагаются сайты расщепления протеазами полиовирусов, лентивирусов и калицивирусов [42]. Интересно, что, в отличие от eIF4G, также подвергающегося расщеплению вирусными протеазами, расщепление PABP при полиовирусных инфекциях происходит не полностью (расщеплению подвергается не более 30–60% молекул) [43, 44]. Предполагается, что, благодаря высокому содержанию пролинов, PABP может находиться в нескольких конформациях, некоторые из которых устойчивы к действию вирусных протеаз [44]. Так, было обнаружено, что рибосомо-ассоциированная фракция PABP наиболее чувствительна к действию протеаз. Предполагается, что это может иметь функциональное значение [44, 45].

С-концевой домен MLLE отвечает за взаимодействие с другими белками [3, 46]. Характерной особенностью белков, взаимодействующих с данным доменом, является наличие мотива RAM2 (PABP-interacting motif 2). RAM2 – это 12 аминокислотный мотив, содержащий гидрофобные аминокислотные остатки в положениях 3, 5, 7, 10 и 12. Наиболее важным является стекинг-взаимодействие между ароматическими остатками фенилаланина или тирозина в 10 положении RAM2 и Phe/Tyr567 в молекуле PABP [46, 47]. Наиболее часто RAM2 располагается в неструктурированных областях белков вблизи сайтов фосфорилирования, что может свидетельствовать о регуляции взаимодействия PABP с его партнерами [48]. Стоит отметить, что в некоторых случаях в белках содержатся два RAM мотива, при этом один из них отвечает за специфическое узнавание PABP, а второй стабилизирует белок-белковое взаимодействие [28, 49].

III. ФУНКЦИИ PABPs

Поли(А)-связывающие белки играют важную роль во многих клеточных процессах, таких как трансляция, полиаденилирование, деградация и ядерный экспорт мРНК. Рассмотрим их подробнее.

ПОЛИАДЕНИЛИРОВАНИЕ

В отличие от прокариот, у которых синтез белка сопряжен с синтезом мРНК, у эукариот первичный транскрипт до его трансляции подвергается процессингу, одним из этапов которого является ко-транскрипционное добавление на 3'-конец поли(А)-последовательности

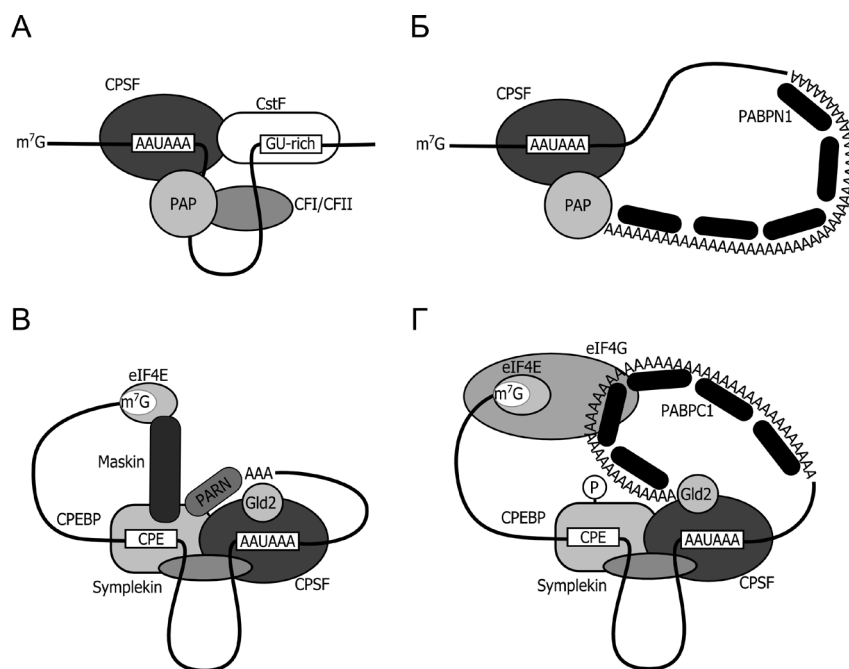


Рис. 2. Модели ядерного (А, Б) и цитоплазматического (В, Г) полиаденилирования.

(А) Модель расщепляющего комплекса (CPSF – специфический фактор расщепления и полиаденилирования, PAP – поли(А)-полимераза, CstF – фактор, стимулирующий расщепление, CF – фактор расщепления).

(Б) Модель полиаденилирующего комплекса.

(В) Модель маскированной мРНК (CPEBP – белок, взаимодействующий с элементом цитоплазматического полиаденилирования (CPE), eIF4E – кэп-связывающий белок, Gld2 – поли(А)-полимераза, Maskin – белок, маскирующий мРНК, PARN – поли(А)-специфическая рибонуклеаза, Symplekin – белок-платформа).

(Г) Модель комплекса цитоплазматического полиаденилирования: после фосфорилирования CPEBP из комплекса уходят PARN и Maskin. PABPC1, взаимодействующий с растущим поли(А)-хвостом, стабилизирует взаимодействие eIF4G с 5'-концом мРНК.

длиной около 200–250 нуклеотидов у млекопитающих и 70–90 – у дрожжей) [3, 50]. Полиаденилирование проходит в две стадии. Сначала РНК подвергается эндонуклеазному расщеплению большим белковым комплексом, главным участником которого является специфический фактор расщепления и полиаденилирования CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor), узнающий сигнал полиаденилирования (AAUAAA или AUUAAA) (рис. 2А). После

расщепления, на расстоянии 20–30 нуклеотидов за сайтом узнавания, 3'-концевая часть мРНК деградирует, а 5'-концевая часть подвергается дальнейшему процессингу на 3'-конце – полиаденилированию, катализируемому поли(А)-полимеразой PAP (poly(A) polymerase) [51]. Было открыто, что PAP может вести синтез самостоятельно, но с очень низкой процессивностью; для более эффективной работы ей необходимо присутствие двух факторов: CPSF и PABPN1, причем действие этих факторов синергичное. PABPN1 стимулирует синтез олиго(А)-праймера поли(А)-полимеразой и защищает растущий поли(А)-хвост от деградации. Последовательное связывание PABPN1 приводит к образованию филаментов диаметром 7 нм и, в конечном итоге, сферической частицы диаметром 21 нм, которая является «молекулярной линейкой», обозначающей, что необходимая длина поли(А)-последовательности достигнута (рис. 2Б). Таким образом, еще одной функцией PABPN1 является контроль длины синтезируемого поли(А)-хвоста [50–52].

Стоит отметить, что некоторые исследователи полагают, что терминация полиаденилирования происходит на более позднем этапе и сопряжена с перестройкой мРНК-белкового комплекса и экспортом мРНК в цитоплазму [53]. Интересно, что за этот процесс может быть ответственен PABPC1, а не PABPN1 [54]. Было обнаружено, что дрожжи, экспрессирующие PABPC1 с мутацией в сигнале ядерной локализации, накапливают гипераденилированную мРНК в ядре [22, 55]. Кроме того, PABPC1 млекопитающих обнаруживается в комплексе с поли(А)-полимеразой и несплайсированной мРНК [56]. Можно предположить, что в ходе реорганизации мРНК-комплексов на белках ядерной поры PABPN1 полностью или частично заменяется PABPC1, что приводит к терминации полиаденилирования и экспорту мРНК.

Как PABPN1, так и PABPC1 являются белками, мигрирующими между ядром и цитоплазмой. Предполагается, что PABPC1 вытесняет PABPN1 с поли(А)-хвоста в ядре и в связанном с мРНК состоянии мигрирует в цитоплазму [50, 56]. Кроме того, оба белка обнаруживаются в комплексе с CBP80/CBP20*-связанной мРНК и мРНК, имеющей преждевременный стоп-кодон (PTC, premature termination codon). Считается, что мРНК после перехода в цитоплазму проверяется на функциональную целостность в первом раунде трансляции,

* CBP80/CBP20 (cap binding protein) – гетеродимерный ядерный кэп-связывающий белок, находится в комплексе с мРНК только в первом раунде трансляции. После того, как РНК прошла проверку на «значимость» CBP80/CBP20 вытесняется eIF4E.

и подвергается деградации, если в ее составе есть РТС [57]. В ходе первого раунда трансляции оставшийся PABPN1 замещается на PABPC1, причем данный процесс трансляционно-зависимый [56, 58].

Недавно было обнаружено, что в клетках, нокаутированных по *PABPN1*, не наблюдается нарушений в транскрипции, процессинге, полиаденилировании и ядерном экспорте мРНК. Вероятно, в отсутствие PABPN1 цитоплазматические гомологи берут на себя его функции. Было показано, что при нокауте *PABPN1* белок PABPC4 переходит в ядро, а количество белка PABPC5 увеличивается в цитоплазме. По всей видимости, PABPC4 функционально заменяет PABPN1 в ядре, а PABPC5 – PABPC4 в цитоплазме. Стоит отметить, что при нокауте *PABPN1* увеличивается число апоптозных клеток. Возможно, PABPN1 обладает какими-то антиапоптозными функциями [59].

Эти данные позволяют предположить, что цитоплазматические формы поли(А)-связывающих белков в ядре могут участвовать в созревании мРНК, проверке ее в первом раунде трансляции, деградации, опосредованной обнаружением стоп кодона в транскрипте, а также транспорте мРНК из ядра в цитоплазму.

Стоит отметить, что полиаденилирование может осуществляться и в цитоплазме во время созревания в раннем эмбриональном развитии и в нейронах [60, 61]. Ключевым белком, регулирующим цитоплазматическое полиаденилирование, является СРЕВР (cytoplasmic polyadenylation element binding protein). Он узнает СРЕ-элемент (cytoplasmic polyadenylation element) в 3' НТО мРНК-мишеней. СРЕВР связывается с процессированной мРНК в ядре. После экспорта мРНК в цитоплазму СРЕВР привлекает к мРНК-мишени некоторые белки такие как CPSF, неканоническую поли(А)-полимеразу Gld-2, деаденилазу PARN, eIF4E-связывающий белок Maskin и белок-платформу Symplekin [62]. Было показано, что в составе этого комплекса активность деаденилазы PARN доминирует над активностью полимеразы, что приводит к укорочению поли(А)-хвоста с 100–250 нт до 20–30 нт (рис. 2В). Кроме того, в нефосфорилированном состоянии СРЕВР хорошо связывает белок Maskin, имеющий высокое сродство к кэп-связывающему белку eIF4E; он вытесняет eIF4G из комплекса с eIF4E, что приводит к ингибированию трансляции. Стоит отметить, что поли(А)-связывающие белки не связываются с коротким поли(А)-хвостом этих мРНК [63, 64]. После стимуляции ооцитов или активации рецептора NMDAR (N-methyl-D-aspartate receptor) в нервных клетках происходит фосфорилирование СРЕВР, что приводит к повышению сродства СРЕВР к CPSF и диссоциации PARN [65–67]. В таком комплексе добавление поли(А)-хвоста происходит

без последующего укорочения деаденилазой (рис. 2Г). С вновь синтезированной поли(А)-последовательностью связывается PAVPC1 (или ePAVP), который, в свою очередь, взаимодействуя с eIF4G, повышает его сродство к eIF4E. Эта последовательность событий приводит к вытеснению Maskin из комплекса с eIF4E и образованию классической циклической структуры (с участием PAVP, eIF4G, eIF4E), а следовательно, к эффективной трансляции [63, 67–69].

ТРАНСЛЯЦИЯ

Классическими стимуляторами белкового синтеза являются поли(А)-хвост на 3'-конце и кэп-структура на 5'-конце мРНК. Предполагается, что цитоплазматический поли(А)-связывающий белок (PAVPC1, далее PAVP), ассоциированный с поли(А)-хвостом, стимулирует инициацию трансляции. Ряд данных позволяет предложить детальный механизм этого процесса. Обнаружено, что PAVP может взаимодействовать с инициаторным фактором eIF4G двумя первыми РНК-узнающими мотивами [25, 70, 71]. eIF4G, белок кэп-связывающего инициаторного комплекса (eIF4F), является «платформой» для связывания других белков этого комплекса, таких как eIF4E (кэп-связывающий белок), eIF4A (АТФ-зависимая РНК-хеликаза), а также eIF3 (мультисубъединичный фактор инициации трансляции, взаимодействующий с 40S субчастицей рибосомы). Расположение сайтов связывания PAVP и eIF4E в разных частях молекулы eIF4G (рис. 3А) позволило построить модель, объясняющую, как молекула PAVP, находящаяся на 3'-конце, может стимулировать инициацию. Молекула PAVP, связанная с поли(А)-хвостом, взаимодействует с eIF4F через eIF4G, увеличивая его сродство к кэпу примерно в 40 раз [14, 15] и способствуя образованию структуры, замкнутой в кольцо («closed loop») (рис. 3Б) [72]. Образованию подобной структуры может также способствовать взаимодействие фактора терминации eRF3 с поли(А)-связывающим белком [26, 27]. PAVP, связанный N-концевой частью с поли(А) и eIF4G, взаимодействует С-концом с eRF3, что приводит к сближению в пространстве AUG и стоп-кодона (рис. 3В). Считается, что замкнутая в кольцо структура облегчает реинициацию трансляции и рециклинг рибосом [26, 73].

Появляется все больше работ, указывающих на то, что PAVP оказывает влияние на трансляцию и по другим механизмам [74]. Так, например, показано, что мутантная форма PAVP, не способная стимулировать поли(А)-зависимую трансляцию, а также связывать eIF4G, сохраняет способность стимулировать кэп-зависимую трансляцию [71]. Более того, было показано, что разные домены PAVP могут

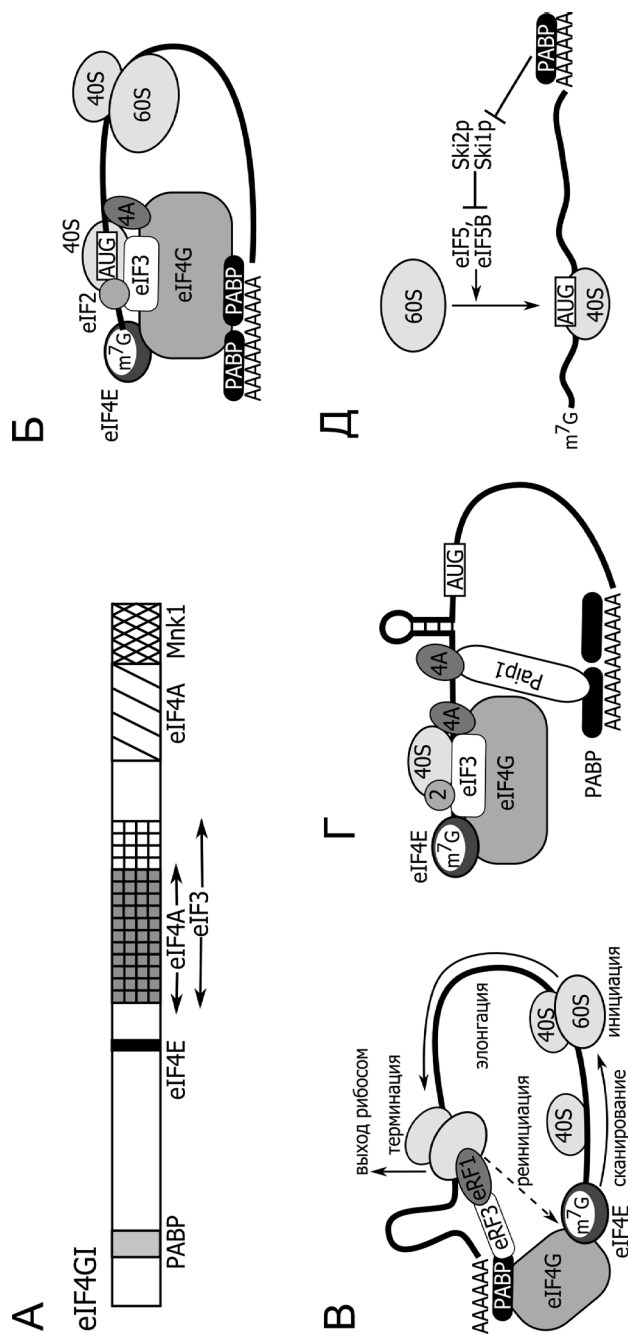


Рис. 3. (А) eIF4G: расположение доменов, взаимодействующих с другими белками.

(Б) «Closed loop» модель.

(В) Модель рециклинга рибосом.

(Г) Модель стимуляции трансляции белком Pabp1.

(Д) Модель влияния PABP на стимуляцию присоединения 60S субчастицы. Подробности в тексте.

стимулировать трансляцию независимо, причем активность каждого тандема РНК-связывающих доменов РАВР оказалась соизмеримой с активностью полноразмерного белка [70]. Например, RRM1-2 стимулировал трансляцию через взаимодействие с eIF4G. Однако, RRM3-4, неспособный селективно связываться с поли(А) и не взаимодействующий ни с одним известным фактором трансляции, также обладал способностью значительно стимулировать трансляцию. Возможно, этот факт указывает на то, что РАВР может обладать по крайней мере двумя различными активностями, обеспечивающими стимуляцию кэп- и поли(А)-зависимой инициации трансляции, действуя либо *in cis*, находясь на поли(А)-хвосте, либо *in trans*, непосредственно взаимодействуя с факторами инициации трансляции или другими регуляторными белками [71]. Так например, РАВР, взаимодействуя с инициаторным фактором eIF4B, увеличивает хеликазную активность комплекса eIF4A-eIF4B, служащего для расплетания вторичной структуры 5' нетранслируемой области мРНК, что облегчает сканирование 40S субчастицей рибосомы 5' НТО [24]. Стоит отметить, что экзогенная поли(А)-последовательность *in trans* может стимулировать кэп-зависимую трансляцию в бесклеточной системе на основе лизата ретикулоцитов кролика, т.е. образование структуры «closed-loop» в данном случае не требуется [75].

Регуляция инициации трансляции может осуществляться также и через взаимодействие РАВР с белками Paip1, Paip2A и Paip2B. Эти белки связываются с поли(А)-связывающим белком похожим образом – двумя мотивами РАМ. РАМ1 связывается с N-концевой частью молекулы РАВР (с RRM 1 и 2), а РАМ2 – с С-концевой. В обоих случаях блокируется взаимодействие РАВР с eIF4G. Однако при взаимодействии с Paip1 РАВР все равно стимулирует трансляцию, благодаря тому, что Paip1, связанный с РАВР, приобретает сродство к eIF4A, что способствует более эффективному расплетанию вторичной структуры 5' НТО (рис. 3Г) [34, 76]. Кроме того, возможно образование комплекса РАВР-Paip1-eIF3, что также стимулирует трансляцию [77]. В отличие от Paip1, белки Paip2A и Paip2B, взаимодействуя с РАВР, уменьшают его способность связываться с поли(А), eIF4G и Paip1, что приводит к ингибированию инициации трансляции [16]. Кроме того, появились данные о регуляции количества Paip2 в клетках в ответ на изменение количества РАВР. При снижении уровня поли(А)-связывающего белка, Paip2 подвергается полиубиквитинилированию убиквитин-лигазой (HYD) с последующей деградацией 26S протеасомой [35]. Интересно, что С-концевой MLLE домен поли(А)-связывающего белка, с кото-

рым связываются Paip2, Paip1 и некоторые другие белки, высокоомологичен одному из субстрат-узнающих доменов HYD. Предполагается, что связывание Paip2 с HYD происходит аналогично его связыванию с PABP. Возможно, подобной регуляции подвергаются и другие белки, взаимодействующие с С-концевым доменом PABP [78, 79].

Недавно было показано, что избыточное количество PABP ингибирует трансляцию *in vitro*. Был предложен механизм, согласно которому избыточный PABP конкурирует с поли(А)-связанным PABP за взаимодействие с eIF4F. В случае взаимодействия свободного PABP с eIF4F происходит дестабилизация комплекса (поли(А)-PABP-eIF4G) и снижение кэп-узнающей активности eIF4E, что приводит к ингибированию трансляции [80]. Добавление Paip2 снимает ингибирующее действие избытка PABP. По всей видимости, аналогичная ситуация наблюдается *in vivo* на финальных этапах сперматогенеза. В это время происходит увеличение количества Paip2A и активация трансляции мРНК регуляторных белков, таких как Pgm (протамины) и Trs (транзиторные белки). Мыши, нокаутные по *Paip2A*, фертильны и имеют нарушения на последних стадиях сперматогенеза, когда происходит повышение содержания PABP [80]. При сравнении протеомов элонгированных сперматид контрольных и нокаутных по *Paip2A* мышей было показано, что изменяется экспрессия лишь небольшого числа белков, вовлеченных в метаболизм, размножение, трансляцию и организацию цитоскелета. Можно предположить, что обнаруженный механизм реализуется лишь для ограниченного числа мРНК, трансляция которых наиболее чувствительна к количеству PABP и/или eIF4E [81].

Найдено, что PABP может оказывать стимулирующее воздействие на инициацию трансляции на стадии присоединения 60S субчастицы [74, 82]. При изучении дрожжей с делецией гена *pabp* были обнаружены супрессорные мутации в целом ряде генов. Одна из них (мутация в гене рибосомного белка L46) может указывать на прямое взаимодействие PABP с большой субчастицей рибосомы [83]. Кроме того, для *S.cerevisiae* показано, что поли(А)-связывающий белок повышает активность пятой группы инициаторных факторов (eIF5, eIF5B) путем подавления их ингибиторов Ski1p, Ski2p, что способствует присоединению 60S субчастицы (рис. 3Д) [84].

О важности взаимодействия между PABP и факторами инициации трансляции говорит тот факт, что некоторые вирусы могут использовать PABP и eIF4G как мишени для исключения синтеза белков клетки хозяина [42]: ротавирусный белок NSP3A связывается с

eIF4G, вытесняя PABP из комплекса с кэп-связывающими белками [85, 86]; пикорнавирусные протеазы расщепляют PABP, вызывая его функциональную инактивацию [45, 87, 88]; а некоторые вирусные протеазы отщепляют N-конец eIF4G, лишая его способности связываться с PABP [24].

Большинство вирусных РНК, не содержащих IRES (сайт внутренней посадки рибосомы), не используют поли(А)-связывающий белок для эффективной трансляции. Однако есть несколько исключений, например, коксакивирус 3 (CBV3) [89], некоторые полиовирусы [43], цитомегаловирус HCMV [90, 91] и др. Стоит отметить, что доступность/количество PABP может служить «переключателем» между вирусной трансляцией и репликацией [42]. Например, расщепление PABP в ходе инфекции вирусом гепатита А ингибирует IRES-зависимую трансляцию и стимулирует репликацию. Обнаружено, что за это ответственен N-концевой фрагмент PABP [92]. Другой механизм реализуется в случае инфекции вирусом Rubella. Вирусный белок Capsid связывается с С-концевым доменом PABP и уводит его из трансляции. Стоит отметить, что PABP взаимодействует только со свободным пулом белка Capsid, который не задействован в сборке вирионов [21].

Кроме глобальной регуляции белкового синтеза, PABP принимает участие и в специфической регуляции трансляции некоторых мРНК. При этом PABP может быть связан как с поли(А)-хвостом или А-богатыми участками, так и с другими последовательностями за счет белок-белковых взаимодействий.

Связывание с поли(А)-хвостом мРНК

Было обнаружено, что ингибирование инициации трансляции некоторых мРНК, таких как *msl-2* [93], *Cp* (церулоплазмин) [94] наблюдается только в присутствии поли(А)-хвоста и PABP.

Механизм ингибирования был подробно изучен для мРНК церулоплазмينا *Cp*. 3' НТО мРНК *Cp* содержит 29 нт. регуляторный участок – GAIT-элемент (interferon γ -activated inhibitor of translation), с которым связывается крупный мультибелковый комплекс. Одним из ключевых белков этого комплекса является рибосомальный белок L13a. Через 2–4 часа после стимуляции клеток IFN- γ начинается синтез церулоплазмينا, в течение всего этого времени L13a в нефосфорилированном состоянии находится на рибосоме. Через 16–24 часа происходит фосфорилирование L13a и освобождение его с рибосомы. Свободный белок взаимодействует с глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой (GADPH) и с пре-GAIT

комплексом, состоящим из фосфорилированной Glu-Pro-тРНКсинте-тазы и hnRNPQ1 (рис. 4А). Образовавшийся 450 кДа-комплекс взаимодействует с ГАИТ-элементом в 3' НТО мРНК *церилоплазмينا* [94–96]. При сближении ГАИТ комплекса с 5' НТО (за счет циклизации РАВР-поли(А)-eIF4F) L13a связывается с С-концевой частью eIF4G, ответственной за связывание с eIF3. Это приводит к блокированию присоединения 43S-преинициаторного комплекса и, как следствие, к ингибированию инициации трансляции [97]. Позднее было показано, что целая группа мРНК имеет аналогичную регуляцию, среди них мРНК *VEGF*, *APOL2*, *CCL22*, *CCR4* и др. [98].

Связывание с А-богатыми участками в 3' НТО мРНК

Наиболее часто РАВР взаимодействует с А-богатыми участками в регуляторных областях мРНК. Связываясь с А-богатой областью в 3' НТО мРНК *YB-1* (рис. 4Б) РАВР стимулирует ее трансляцию за счет вытеснения негативного регулятора (YB-1) из той же области [99–101]. Кроме того, было показано, что присутствие поли(А)-хвоста в молекуле мРНК снимает стимулирующее действие РАВР за счет образования 3'-кольцевой циклической структуры [102]. Связываясь с А-богатыми областями в 3' НТО РНК вируса некротической мозаики красного клевера (RCNMV) [103], вируса Денге [104] и др., РАВР стимулирует трансляцию по неизвестному механизму. Однако связывание РАВР может приводить и к ингибированию трансляции, например для мРНК *PAVP* (рис. 4В и раздел «Регуляция синтеза и активности РАВРs»).

Опосредованное связывание с А-небогатыми участками в 3' НТО мРНК

Стимуляция инициации трансляции под действием РАВР может наблюдаться и в случае мРНК без поли(А)-хвоста или с коротким поли(А)-хвостом, в 3' нетранслируемой области которых располагается элемент $U_{(2-10)}[G/C]U_{(2-10)}$, сайт для связывания РАВР-взаимодействующего белка DAZL [105]. Среди известных мишеней DAZL мРНК *Sycp3*, *HuB*, *Mvh* и др. В системе *in vitro* было показано, что DAZL может связываться в 3' НТО и привлекать РАВР (рис. 4Г) [23].

Взаимодействие РАВР с 3' НТО-связанными белками может приводить и к ингибированию трансляции. Так, например, некоторые мРНК, такие как *numb*, *p21^{WAF1}*, *c-mos*, *doublecortin* и *Adenomatous Polyposis Coli*, содержат сайт связывания белка Msi1 (Musashi 1) – $[G/A]U_{(1-3)}AGU$. Взаимодействие данного белка с РАВР приводит к невозможности связывания последнего с eIF4G и, как следствие, к

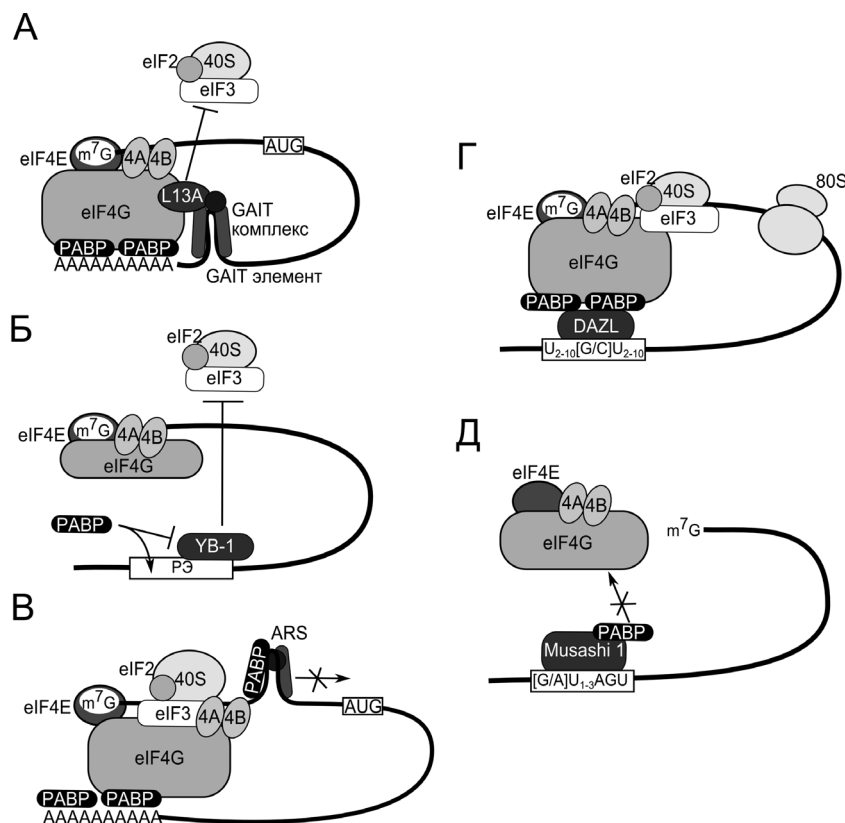


Рис. 4. (А) Модель ингибирования трансляции мРНК *церилоплазм*. Сближение ингибиторного комплекса (GAIT-комплекса), блокирующего присоединение 40S-преинициаторного комплекса, с 5' концом мРНК происходит за счет взаимодействия PABP-eIF4G. GAIT-элемент – трансляционный ингибиторный элемент, активируемый гамма-интерфероном.

(Б) Модель стимуляции трансляции мРНК *YB-1*. PABP вытесняет негативный регулятор YB-1 с регуляторного элемента (PЭ) в 3' НТО.

(В) Модель автоингибирования трансляции мРНК *PABP*. PABP в комплексе с другими белками связывается с А-богатой авторегуляторной последовательностью (ARS) в 5' НТО собственной мРНК и блокирует дальнейшее сканирование 5' НТО.

(Г) Модель стимуляции трансляции, опосредованная DAZL. Белок DAZL, связываясь со специфической последовательностью в 3' НТО неполиаденилированной мРНК привлекает PABP и стимулирует трансляцию за счет PABP-eIF4G взаимодействия.

(Д) Модель ингибирования трансляции, опосредованная Musashi 1. Белок Msi1, связываясь со специфической последовательностью, привлекает PABP, что приводит к невозможности последнего взаимодействовать с eIF4G.

ингибированию трансляции. Стоит отметить, что взаимодействие Msi1 с PABP наблюдается только в нервных клетках и может происходить в отсутствие РНК [106, 107].

Кроме того, PABP входит в состав регуляторных комплексов некоторых мРНК, таких как *PRE*, *Tim* [108], *caudal* [109], *инсулин* [110], *gurken* [111]. Однако его роль в этих комплексах пока не выяснена.

ДЕГРАДАЦИЯ И СТАБИЛИЗАЦИЯ мРНК

Поли(А)-связывающий белок принимает участие в различных процессах стабилизации и деградации мРНК (рис. 5). Так, взаимодействие поли(А)-связывающего белка с фактором терминации eRF3 важно как для эффективной трансляции (как обсуждалось ранее), так и для регуляции стабильности мРНК. Взаимодействие этих белков приводит к уменьшению числа молекул PABP, связанных с поли(А)-хвостом [26]. В каждом раунде трансляции происходит укорочение незащищенного поли(А)-хвоста. Когда его длина сокращается до 10–15 нуклеотидов запускаются механизмы деградации мРНК [3]. Эти данные позволяют назвать взаимодействие (eRF3-PABP) «молекулярными часами», определяющими время жизни мРНК в клетке. Стоит отметить, что взаимодействие eRF3-PABP, по всей видимости, очень важно в регуляции и запуске NMD (nonsense mediated mRNA decay). Ключевыми белками NMD являются UPF1 и белки EJC (exon junction complex). Было показано, что PABP конкурирует с UPF1 за связывание с eRF3. Увеличение конкуренции за счет оверэкспрессии PABP приводит к повышению терминации и снижению деградации мРНК по NMD. Кроме того, было обнаружено, что наличие сайта связывания PABP ближе к стоп-кодону, чем сайт EJC, препятствует деградации мРНК [112, 113].

В клетках существует несколько различных путей деградации мРНК [114]. Наиболее общий способ деградации реализуется через деаденилирование, декэпирование и последующее экзонуклеазное расщепление. Поли(А)-связывающий белок оказывает влияние на разные стадии этого процесса. На стадии деаденилирования PABP может оказывать как ингибирующее действие на комплекс CCR4-NOT (мультибелковый комплекс, деаденилирующий большинство мРНК) и PARN, так и стимулирующее действие на деаденилирующий комплекс PAN2/3, осуществляющий обрезание вновь синтезированного поли(А)-хвоста [115] и специфическую деградацию RAD5 мРНК [114, 116]. Стоит отметить, что, по мнению некоторых исследователей, PABP не влияет на ферментативную

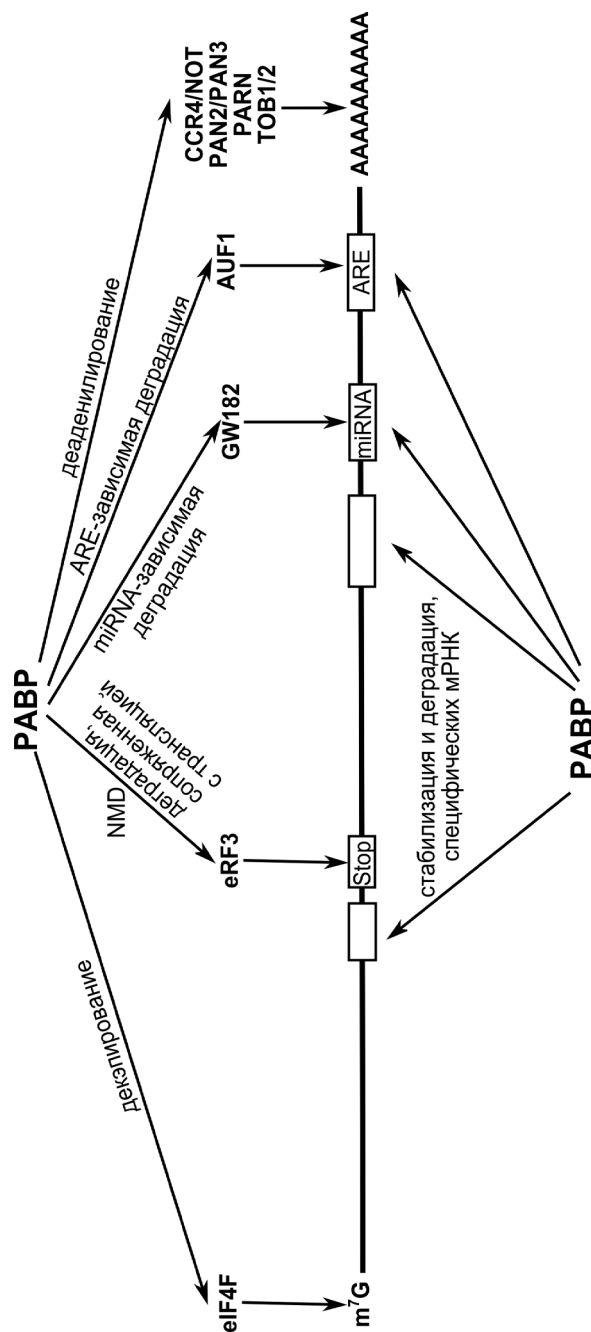


Рис. 5. Участие PABP в различных процессах стабилизации и деградации мРНК.

Взаимодействие PABP с eIF4G ингибирует декэпирование и стабилизирует мРНК. Взаимодействуя с белками CCR4-NOT, PARN, TOB1/2, PAN2/3, PABP может влиять на процессы деаденирования и выбор пути деградации. Через взаимодействие с GW182 PABP может принимать участие в микроРНК-опосредованном ингибировании трансляции и деградации мРНК мишеней. Кроме того, PABP участвует в стабилизации и деградации мРНК, контролируемых специальными последовательностями в мРНК, например, ARE (AU-богатый элемент нестабильности).

активность деаденилаз. Предполагается, что роль PABP может заключаться в выборе пути деградации: CCR4/POP2/NOT или PAN2/PAN3. Известно, что деаденилазы PAN2/PAN3 могут привлекаться за счет прямого взаимодействия PABP-PAN3. Деаденилаза CCR4-NOT привлекается не напрямую, а через белки-адаптеры – TOB1/2. Показано, что в комплексе с PABP может находиться либо один, либо другой деаденилазный комплекс [37, 117].

Контроль на стадии декэпирования осуществляется преимущественно за счет стабилизации кэп-связывающего комплекса, благодаря взаимодействию поли(А)-связывающего белка с eIF4G. Существует предположение, что PABP сам по себе может стерически затруднять посадку белков, активирующих декэпирующие ферменты (например, Lsm1p-7p) [114].

В последнее время большое внимание в литературе уделяется участию PABP в микроРНК-зависимой репрессии трансляции и деградации мРНК [118]. МикроРНК транскрибируются в виде предшественников с сильно развитой вторичной структурой, затем с помощью эндонуклеаз Drossha (в ядре) и Diser (в цитоплазме) нарезаются на двухспиральные 21–22 нуклеотидные фрагменты с выступающими концами. Одна из цепей частично комплементарна 3' НТО мРНК мишени, вторая цепь подвергается деградации [119]. Связываясь со своими мишенями, микроРНК ингибируют трансляцию и/или запускают их деградацию.

Считается, что у млекопитающих микроРНК регулируют около 60% всех клеточных мРНК [120]. Процессы микроРНК-зависимого деаденилирования, репрессии трансляции и деградации мРНК активно изучаются [121]. Однако детального механизма действия микроРНК на трансляцию до сих пор нет. Согласно последним данным полногеномных исследований, вначале происходит ингибирование трансляции, а затем запускается процесс деаденилирования, который наиболее часто завершается декэпированием и деградацией мРНК [122, 123]. В различных экспериментальных системах (разные организмы, разные ткани/условия) кинетики репрессии и деаденилирования сильно отличаются. В некоторых системах отделить процессы репрессии и деградации друг от друга практически невозможно [124], а в других системах процесс деаденилирования не наблюдается совсем [125]. По всей видимости, у различных организмов или при различных процессах микроРНК-зависимая регуляция несколько отличается. Несмотря на то, что есть несколько упоминаний о реактивации репрессированных мРНК [125], на данный момент не очень

понятно, обратимы ли в большинстве случаев процессы репрессии и деаденилирования мРНК.

Главным компонентом микроРНК-зависимого процесса является комплекс RISC, состоящий из микроРНК, белка Ago (Аргонавт) и белка-платформы GW-182 (у *Drosophila melanogaster*) или его паралога у других организмов. МикроРНК, связанная с белком Ago, за счет частичного комплементарного спаривания доставляет репрессирующий комплекс к мРНК-мишени. Белок-платформа GW182 привлекает остальных участников ингибиторного комплекса: PABP, деаденилазные комплексы CCR4-NOT и PAN2/3, Е3-убиквитинлигазу EDD [121]. Главным белком-партнером PABP в этом процессе является белок GW182 или TNRC6 (гомолог у человека). Однозначного ответа на вопрос о роли PABP в этом процессе пока нет. Некоторые исследователи считают, что PABP важен для микроРНК-опосредованной репрессии трансляции [28, 126], другие – что для деградации мРНК [127, 128]. Было показано, что GW182 может конкурировать с eIF4G и, вероятно, с поли(А)-хвостом за связывание PABP, что может приводить к ингибированию трансляции и деградации мРНК [118, 128]. Согласно одной из гипотез, связывание GW182 с мРНК приводит к снижению связанных с мРНК eIF4E (сопряжено с декэпированием), eIF4G (сопряжено с деаденилированием) и PABP (предполагается, что сопряжено с ингибированием трансляции), причем снижение связывания PABP может наблюдаться в отсутствие деаденилирования [129]. Кроме того, предполагается, что PABP может привлекать деаденилазный комплекс CCR4-NOT за счет взаимодействия с белком-адаптером TOB1/2 [117, 127]. В литературе обсуждается еще одна гипотеза, согласно которой PABP привлекает к мРНК белки комплекса RISC за счет взаимодействия с GW182. Связывание RISC с мРНК приводит к вытеснению PABP, после чего запускаются механизмы репрессии трансляции и деградации мРНК [126]. Стоит отметить, что недавно появился ряд исследований, в которых показано, что PABP не принимает прямого участия ни в деградации мРНК, ни в ингибировании трансляции под действием микроРНК [130, 131]. МикроРНК-опосредованная регуляция трансляции – это очень сложный и все еще малоизученный процесс, поэтому однозначно ответить на вопрос, какое из исследований (предположений) наиболее близко к действительности, достаточно сложно. Можно допустить, что в клетках могут реализовываться все сценарии, и выбор одного из них зависит от определенных условий, конкретной микроРНК или мРНК-мишени.

Стоит упомянуть об участии РАВР в стабилизации/деградации мРНК, контролируемой специфическими последовательностями в 3' НТО. Наличие ARE-элемента (AU-rich element) нестабильности приводит к быстрой деградации мРНК. Было обнаружено, что ключевой белок ARE-зависимой деградации AUF1 взаимодействует с поли(А)-хвостом, что приводит к вытеснению РАВР и, как следствие, может играть важную роль в ингибировании трансляции и деградации мРНК [20, 132].

Обнаружено, что поли(А)-связывающий белок может также принимать участие в ARE-независимых механизмах стабилизации специфических мРНК. Так, РАВР ингибирует эндонуклеазу ErEN (erythroid cell-riched endonuclease) мишенью которой является CRE (cytosine-rich element, С-богатая последовательность) в 3' НТО α -глобиновой мРНК. РАВР, связанный с поли(А)-хвостом, взаимодействует с α -СР белками (poly(C)-binding protein, поли(С)-связывающий белок), повышая их сродство к специфической последовательности. Это приводит к защите CRE от действия эндонуклеазы [133].

Еще одним примером является регуляция стабильности мРНК *нейрофиламента NF-L*. РАВР, связываясь с элементом нестабильности этой мРНК, защищает его от деградации альдозазой С. Кроме того, свободный РАВР взаимодействует с димерной формой альдозазы (активная форма) и препятствует ее связыванию с мРНК [134].

В случае мРНК транскрипционного фактора *c-fos* элемент нестабильности mCRD (major protein-coding region determinant), расположенный в 3' НТО и части кодирующей области, защищает связанный с ней белковый комплекс: UNR (белок, содержащий пять доменов холодового шока), РАВР, Paip1, hnRNPd и hnRNQ. Рибосома, достигая белкового комплекса, вытесняет его с mCRD, что является сигналом начала деаденилирования и последующей деградации мРНК [135].

Существует еще несколько упоминаний об участии РАВР в регуляции стабильности мРНК. Поли(А)-связывающий белок может как стабилизировать мРНК, например, *oscar* [136] или *TIMP1*, так и дестабилизировать, например, *MKK2*, *GAPDH* и др. [137]. Однако механизм действия РАВР в этих случаях не известен.

IV. РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА И АКТИВНОСТИ PABPs

Как уже обсуждалось ранее, регуляция активности PABP может осуществляться за счет PABP-связывающих белков (Paip1, Paip2, DAZL, GW182 и др.), их модификации и деградации [48, 138]. Доступность PABP для конкретного процесса также может определяться его локализацией, так как PABP мигрирует между ядром и цитоплазмой [54]. Было показано, что накопление PABP в ядре наблюдается при некоторых стрессах, таких как окислительный стресс [139], облучение ультрафиолетом [140], тепловой шок [141] и некоторые вирусные инфекции (ротавирус, вирус простого герпеса) [142, 143]. Известно, что PABP переносится в ядро кариоферином 108, но как осуществляется регуляция накопления PABP в ядре не известно [22]. Недавно было показано, что дрожжевой PABN1 (Pab2) переносится в ядро кариоферином β 2. Метилирование по аргинину в сигнале ядерной локализации белком Rmt1 приводит к снижению импорта Pab2 в ядро. Стоит отметить, что данный механизм реализуется только для дрожжевого белка, аналогичного сигнала в белке человека не найдено [144]. В некоторых случаях активируется не импорт в ядро, а нарушается экспорт из ядра. PABP экспортируется из ядра двумя путями: Crm1-зависимым и мРНК-зависимым [22]. При некоторых стрессах происходит блокирование сплайсинга и полиаденилирования и, как следствие, транспорта мРНК [140, 145]. В результате этого незадействованный PABP накапливается в ядре.

Синтез поли(А)-связывающего белка может регулироваться на стадии трансляции. мРНК PABP содержит в 5' НТО две регуляторные последовательности: TOP (terminal oligopyrimidine track) и А-богатую авторегуляторную последовательность ARS (adenine-rich autoregulatory sequence).

Считается, что ARS осуществляет конститутивный контроль синтеза PABP в клетке. Ранее предполагалось, что PABP специфически ингибирует трансляцию собственной мРНК (рис. 4В), связываясь с А-богатой областью в 5' НТО [146]. Но в более поздних работах показано, что PABP связывается с ARS в несколько раз хуже, чем с поли(А)-последовательностью. Причем обнаружено, что при замене ARS на поли(А)-последовательность ингибирование трансляции в три раза слабее, чем в исходной мРНК. Эти исследования наводят на мысль о несколько ином, более сложном механизме регуляции. ARS состоит из 4–6 олиго(А)-последовательностей, соединенных между собой консервативными пиримидин-богатыми линкерами определенной длины. Видимо, такое строение и способствует более

эффективному ингибированию трансляции. Было обнаружено, что с последовательностью ARS кроме PABP могут также взаимодействовать UNR и IGF2BP1 (Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1). Эти три белка образуют комплекс, который связывается с последовательностью ARS и останавливает сканирование 48S-преинициаторного комплекса, что приводит к ингибированию трансляции мРНК *PABP* [10, 147, 148].

Наличие TOP-последовательности характерно для мРНК белков, синтез которых контролируется при росте и развитии клеток (например, рибосомальные белки, элонгационные факторы). Механизм регуляции трансляции TOP-содержащих мРНК не ясен, однако известно, что активация трансляции наблюдается при активации mTORC1 сигнального каскада [149]. Мишенями mTOR-киназы являются белки 4EBP (eIF4E связывающие белки) и S6-киназа. На модели цитомегаловирусной инфекции, при которой наблюдается активация mTOR, было показано, что для активации трансляции мРНК *PABP* необходимо только гиперфосфорилирование 4EBP, но не S6-киназы [90, 91]. Кроме того, в регуляции трансляции TOP-содержащих мРНК могут участвовать и другие белки. Например, при миотической дистрофии второго типа (для данного заболевания характерно уменьшение количества белка ZNF9) снижается трансляция TOP-мРНК, в том числе и мРНК *PABP*. Механизм действия ZNF9 на трансляцию на данный момент не известен [150]. Другими белками, участвующими в регуляции трансляции TOP-мРНК, могут являться белки стрессовых гранул TIA-1 и TIAR. Было показано, что при аминокислотном голодании TIA-1 и TIAR взаимодействуют с TOP-последовательностью и уводят мРНК из полисом в стресс-гранулы [151]. Таким образом, синтез поли(А)-связывающего белка синхронизирован с синтезом других компонентов аппарата трансляции.

Стоит отметить, что количество PABP увеличивается после выхода из теплового шока [141] и уменьшается при нокдауне *LARP4* (*La related protein 4*) [31]. Однако механизм такой регуляции не исследован.

Предполагается, что функциональная активность PABP может регулироваться фосфорилированием. Так, у растений показано, что гипофосфорилированный PABP плохо связывает поли(А) и eIF4G [152]. В экстракте клеток HeLa, гиперэкспрессирующих PABP, было обнаружено, что PABP может фосфорилироваться по ERK1/2 сигнальному пути. Предполагается, что такое фосфорилирование может стимулировать трансляцию [137]. Недавно было обнаружено, что эмбриональный гомолог ePABP также подвергается

фосфорилированию при созревании ооцитов. Все обнаруженные модификации располагаются в пролин-богатом линкере. Показано, что гиперфосфорилированная форма ePABP взаимодействует *in vivo* с поли(А)-хвостом мРНК, кэпом, полисомами и белками цитоплазматического полиаденилирования. Кроме того, только гиперфосфорилированная форма PABP может связываться с белком-регулятором Paip2 [153]. Таким образом, фосфорилирование может оказаться важной модификацией для функционирования и других представителей семейства поли(А)-связывающих белков.

Стоит упомянуть, что, кроме фосфорилирования, недавно были найдены и другие пост-трансляционные модификации PABP, такие как метилирование остатков глутаминовой и аспарагиновой кислоты, а также метилирование и ацетилирование остатков лизина. Наибольший интерес представляет ацетилирование остатков лизина. Обнаружено, что оно изменяется по клеточному циклу: количество неацетилированной формы падает и исчезает к началу митоза. Предполагается, что ацетилирование PABP по некоторым остаткам может приводить к понижению связывания eRF3 и повышению связывания Paip2 [154].

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

PABPs – это белки, внимание к которым приковано очень давно, в первую очередь, благодаря их уникальному свойству взаимодействовать с поли(А)-хвостами мРНК. В дальнейшем это позволило установить роль PABPs в трансляции, стабильности мРНК и в других процессах, где участвует поли(А)-хвост мРНК. Важную роль PABPs в трансляции подчеркивает тот факт, что многие исследователи считают их неканоническими факторами трансляции. Однако, как часто бывает в таких случаях, интенсивное изучение свойств и функций PABPs привело к неоднозначности в трактовке механизмов регулируемых ими процессов. Несмотря на множество данных до сих пор точно не установлено, каким образом PABPs участвуют в микроРНК-опосредованном ингибировании трансляции и/или деградации мРНК. Нуждается в уточнении и механизм замены на мРНК ядерного PABP на цитоплазматический.

Помимо решения этих задач, предстоит ответить на новые вызовы. Данные о регуляции активности PABPs за счет ковалентных модификаций, которые появляются в последнее время, могут стать импульсом к исследованию новых механизмов функционирования PABPs в клетке. Большой интерес вызывает наличие довольно боль-

шого количества гомологов PABPs и то, как распределяются функции между ними. Можно также отметить появление данных о белках, как и PABPs обладающих повышенным сродством к поли(А)-последовательностям (например, hnRNP Q), что, вероятно, важно в механизме специфической регуляции трансляции или стабильности мРНК. Специфичность PABPs не только к гомополи(А)рибонуклеотидам, но и к AU-богатым последовательностям позволяет предположить существование новых функций PABPs в РНК-зависимых процессах.

Таким образом, несмотря на многолетнюю историю исследования PABPs, многие аспекты их функционирования в клетке не раскрыты полностью. С развитием методов исследования клеточных процессов можно ожидать появления новых фактов, позволяющих иначе взглянуть на роль PABPs в жизнедеятельности клетки и организма, в целом.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность Е. В. Серебровой за помощь в подготовке рукописи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Blobel, G. (1972) Biochemical and Biophysical Research Communications, **47**, 88–95.
2. Blobel, G. (1973) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **70**, 924–928.
3. Mangus, D.A., Evans, M.C., Jacobson, A. (2003) Genome Biol., **4**, 223.
4. Goss, D.J., Kleiman, F.E. (2013) Wiley interdisciplinary reviews RNA, **4**, 167–179.
5. Deo, R.C., Bonanno, J.B., Sonenberg, N., Burley, S.K. (1999) Cell, **98**, 835–845.
6. Safaee, N., Kozlov, G., Noronha, A.M., Xie, J., Wilds, C.J., Gehring, K. (2012) Mol. Cell, **48**, 375–386.
7. Kühn, U., Pieler, T. (1996) J. Mol. Biol., **256**, 20–30.
8. Burd, C.G., Matunis, E.L., Dreyfuss, G. (1991) Mol. Cell Biol., **11**, 3419–3424.
9. Khanam, T., Muddashetty, R.S., Kahvejian, A., Sonenberg, N., Brosius, J. (2006) RNA Biol., **3**, 170–177.
10. Patel, G.P., Bag, J. (2006) FEBS Journal, **273**, 5678–5690.
11. Sladic, R.T., Lagnado, C.A., Bagley, C.J., Goodall, G.J. (2004) Eur. J. Biochem., **271**, 450–457.
12. Baer, B.W., Kornberg, R.D. (1983) J. Cell Biol., **96**, 717–721.
13. Mullin, C., Duning, K., Barnekow, A., Richter, D., Kremerskothen, J., Mohr, E. (2004) FEBS Lett., **576**, 437–441.
14. Von Der Haar, T., Ball, P.D., McCarthy, J.E. (2000) J. Biol. Chem., **275**, 30551–30555.
15. Wei, C.C., Balasta, M.L., Ren, J., Goss, D.J. (1998) Biochemistry, **37**, 1910–1916.
16. Khaleghpour, K., Kahvejian, A., De Crescenzo, G., Roy, G., Svitkin, Y. V.

- Imataka, H., O'Connor-McCourt, M., Sonenberg, N. (2001) *Mol. Cell Biol.*, **21**, 5200–5213.
17. Koloteva-Levine, N., Pinchasi, D., Pereman, I., Zur, A., Brandeis, M., Elroy-Stein, O. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 3577–3587.
18. Kozlov, G., Safaee, N., Rosenauer, A., Gehring, K. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 13599–13606.
19. Lessing, D., Bonini, N.M. (2008) *PLoS Biol.*, **6**, e29.
20. Lu, J.-Y., Bergman, N., Sadri, N., Schneider, R.J. (2006) *RNA*, **12**, 883–893.
21. Ilkow, C.S., Mancinelli, V., Beatch, M.D., Hobman, T.C. (2008) *J. Virol.*, **82**, 4284–4294.
22. Brune, C., Munchel, S.E., Fischer, N., Podtelejnikov, A. V., Weis, K. (2005) *RNA*, **11**, 517–531.
23. Collier, B., Gorgoni, B., Loveridge, C., Cooke, H.J., Gray, N.K. (2005) *EMBO J.*, **24**, 2656–2666.
24. Bushell, M., Wood, W., Carpenter, G., Pain, V.M., Morley, S.J., Clemens, M.J. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 23922–23928.
25. Imataka, H., Gradi, A., Sonenberg, N. (1998) *EMBO J.*, **17**, 7480–7489.
26. Hoshino, S., Imai, M., Kobayashi, T., Uchida, N., Katada, T. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 16677–16680.
27. Uchida, N., Hoshino, S.-I., Imataka, H., Sonenberg, N., Katada, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 50286–50292.
28. Huntzinger, E., Braun, J.E., Heimstädt, S., Zekri, L., Izaurralde, E. (2010) *EMBO J.*, **29**, 4146–4160.
29. Hasgall, P.A., Hoogewijs, D., Faza, M.B., Panse, V.G., Wenger, R.H., Camenisch, G. (2011) *PLoS One*, **6**, e22107.
30. Blagden, S.P., Gatt, M.K., Archambault, V., Lada, K., Ichihara, K., Lilley, K.S., Inoue, Y.H., Glover, D.M. (2009) *Dev. Biol.*, **334**, 186–197.
31. Yang, R., Gaidamakov, S.A., Xie, J., Lee, J., Martino, L., Kozlov, G., Crawford, A.K., Russo, A.N., Conte, M.R., Gehring, K., Maraia, R.J. (2011) *Mol. Cell Biol.*, **31**, 542–556.
32. Miroci, H., Schob, C., Kindler, S., Ölschläger-Schütt, J., Fehr, S., Jungnitz, T., Schwarbacher, S.W., Bagni, C., Mohr, E. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 1322–1334.
33. Wang, X., Bai, J., Zhang, L., Wang, X., Li, Y., Jiang, P. (2012) *Antiviral Res.*, **96**, 315–323.
34. Roy, G., De Crescenzo, G., Khaleghpour, K., Kahvejian, A., O'Connor-McCourt, M., Sonenberg, N. (2002) *Mol. Cell Biol.*, **22**, 3769–3782.
35. Berlanga, J.J., Baass, A., Sonenberg, N. (2006) *RNA*, **12**, 1556–1568.
36. Siddiqui, N., Mangus, D.A., Chang, T.-C., Palermino, J.-M., Shyu, A.-B., Gehring, K. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 25067–25075.
37. Ezzeddine, N., Chang, T.-C., Zhu, W., Yamashita, A., Chen, C.-Y.A., Zhong, Z., Yamashita, Y., Zheng, D., Shyu, A.-B. (2007) *Mol. Cell Biol.*, **27**, 7791–7801.
38. Okochi, K., Suzuki, T., Inoue, J., Matsuda, S., Yamamoto, T. (2005) *Genes Cells*, **10**, 151–163.
39. Chang, T.-C., Yamashita, A., Chen, C.-Y.A., Yamashita, Y., Zhu, W., Durdan, S., Kahvejian, A., Sonenberg, N., Shyu, A.-B. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 2010–2023.
40. Lin, J., Fabian, M., Sonenberg, N., Meller, A. (2012) *Biophys. J.*, **102**, 1427–1434.

41. Melo, E.O., Dhalia, R., Martins de Sa, C., Standart, N., De Melo Neto, O.P. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 46357–46368.
42. Smith, R.W.P., Gray, N.K. (2010) *Biochem. J.*, **426**, 1–12.
43. Bonderoff, J.M., Larey, J.L., Lloyd, R.E. (2008) *J. Virol.*, **82**, 9389–93899.
44. Rivera, C.I., Lloyd, R.E. (2008) *Virology*, **375**, 59–72.
45. Kuyumcu-Martinez, N.M., Joachims, M., Lloyd, R.E. (2002) *J. Virol.*, **76**, 2062–2074.
46. Kozlov, G., De Crescenzo, G., Lim, N.S., Siddiqui, N., Fantus, D., Kahvejian, A., Trempe, J.-F., Elias, D., Ekiel, I., Sonenberg, N., O'Connor-McCourt, M., Gehring, K. (2004) *EMBO J.*, **23**, 272–281.
47. Kozlov, G., Ménade, M., Rosenauer, A., Nguyen, L., Gehring, K. (2010) *J. Mol. Biol.*, **397**, 397–407.
48. Huang, K.-L., Chadee, A.B., Chen, C.-Y.A., Zhang, Y., Shyu, A.-B. (2013) *RNA*, **19**, 295–305.
49. Kononenko, A. V., Mitkevich, V. A., Atkinson, G.C., Tenson, T., Dubovaya, V.I., Frolova, L.Y., Makarov, A.A., Hauryliuk, V. (2010) *Nucleic Acids Res.*, **38**, 548–558.
50. Keller, R.W., Kühn, U., Aragón, M., Bornikova, L., Wahle, E., Bear, D.G. (2000) *J. Mol. Biol.*, **297**, 569–583.
51. Wahle, E., Rüegsegger, U. (1999) *FEMS Microbiol. Rev.*, **23**, 277–295.
52. Kühn, U., Gündel, M., Knoth, A., Kerwitz, Y., Rüdel, S., Wahle, E. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 22803–22814.
53. Chekanova, J.A., Belostotsky, D.A. (2003) *RNA*, **9**, 1476–1490.
54. Lemay, J.-F., Lemieux, C., St-André, O., Bachand, F. (2010) *RNA Biol.*, **7**, 291–295.
55. Dunn, E.F., Hammell, C.M., Hodge, C.A., Cole, C.N. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 90–103.
56. Hosoda, N., Lejeune, F., Maquat, L.E. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**, 3085–3097.
57. Maquat, L.E., Hwang, J., Sato, H., Tang, Y. (2010) *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, **75**, 127–134.
58. Sato, H., Maquat, L.E. (2009) *Genes Dev.*, **23**, 2537–2550.
59. Bhattacharjee, R.B., Bag, J. (2012) *PLoS One*, **7**, e53036.
60. Richter, J.D., Lasko, P. (2011) *Cold Spring Harb Perspect Biol*, **3**, a002758.
61. Darnell, J.C., Richter, J.D. (2012) *Cold Spring Harb Perspect Biol*, **4**, a012344.
62. Richter, J.D. (2007) *Trends Biochem. Sci.*, **32**, 279–285.
63. Kim, J.H., Richter, J.D. (2006) *Mol. Cell*, **24**, 173–183.
64. Kuersten, S., Goodwin, E.B. (2003) *Nat. Rev. Genet.*, **4**, 626–637.
65. Tay, J., Hodgman, R., Sarkissian, M., Richter, J.D. (2003) *Genes Dev.*, **17**, 1457–1462.
66. Atkins, C.M., Nozaki, N., Shigeri, Y., Soderling, T.R. (2004) *J. Neurosci.*, **24**, 5193–5201.
67. Udagawa, T., Swanger, S.A., Takeuchi, K., Kim, J.H., Nalavadi, V., Shin, J., Lorenz, L.J., Zukin, R.S., Bassell, G.J., Richter, J.D. (2012) *Mol. Cell*, **47**, 253–266.
68. De Moor, C.H., Richter, J.D. (1999) *EMBO J.*, **18**, 2294–2303.
69. Groisman, I., Jung, M.-Y., Sarkissian, M., Cao, Q., Richter, J.D. (2002) *Cell*, **109**, 473–483.
70. Gray, N.K., Collier, J.M., Dickson, K.S., Wickens, M. (2000) *EMBO J.*, **19**, 4723–4733.

71. Otero, L.J., Ashe, M.P., Sachs, A.B. (1999) *EMBO J.*, **18**, 3153–3163.
72. Wells, S.E., Hillner, P.E., Vale, R.D., Sachs, A.B. (1998) *Mol. Cell*, **2**, 135–140.
73. Rajkowitsch, L., Vilela, C., Berthelot, K., Ramirez, C.V., McCarthy, J.E.G. (2004) *J. Mol. Biol.*, **335**, 71–85.
74. Kahvejian, A., Svitkin, Y. V., Sukarieh, R., M'Boutchou, M.-N., Sonenberg, N. (2005) *Genes & Development*, **19**, 104–113.
75. Borman, A.M., Michel, Y.M., Malnou, C.E., Kean, K.M. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 36818–36824.
76. Craig, A.W., Haghighat, A., Yu, A.T., Sonenberg, N. (1998) *Nature*, **392**, 520–523.
77. Martineau, Y., Derry, M.C., Wang, X., Yanagiya, A., Berlanga, J.J., Shyu, A.-B., Imataka, H., Gehring, K., Sonenberg, N. (2008) *Mol. Cell Biol.*, **28**, 6658–6667.
78. Lim, N.S., Kozlov, G., Chang, T.-C., Groover, O., Siddiqui, N., Volpon, L., De Crescenzo, G., Shyu, A.-B., Gehring, K. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 14376–14382.
79. Yoshida, M., Yoshida, K., Kozlov, G., Lim, N.S., De Crescenzo, G., Pang, Z., Berlanga, J.J., Kahvejian, A., Gehring, K., Wing, S.S., Sonenberg, N. (2006) *EMBO J.*, **25**, 1934–1944.
80. Yanagiya, A., Delbes, G., Svitkin, Y. V., Robaire, B., Sonenberg, N. (2010) *J. Clin. Invest.*, **120**, 3389–3400.
81. Delbes, G., Yanagiya, A., Sonenberg, N., Robaire, B. (2012) *Biol. Reprod.*, **86**, 95.
82. Jacobson, A. (1996) *Translational Control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 451–480. Volume 30.
83. Proweller, A., Butler, J.S. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 10859–10865.
84. Searfoss, A., Dever, T.E., Wickner, R. (2001) *Mol. Cell Biol.*, **21**, 4900–4908.
85. Padilla-Noriega, L., Paniagua, O., Guzmán-León, S. (2002) *Virology*, **298**, 1–7.
86. Piron, M., Vende, P., Cohen, J., Poncet, D. (1998) *EMBO J.*, **17**, 5811–5821.
87. Joachims, M., Van Breugel, P.C., Lloyd, R.E. (1999) *J. Virol.*, **73**, 718–727.
88. Kerekatte, V., Keiper, B.D., Badorff, C., Cai, A., Knowlton, K.U., Rhoads, R.E. (1999) *J. Virol.*, **73**, 709–717.
89. Bradrick, S.S., Dobrikova, E.Y., Kaiser, C., Shveygert, M., Gromeier, M. (2007) *RNA*, **13**, 1582–1593.
90. Perez, C., McKinney, C., Chulunbaatar, U., Mohr, I. (2011) *J. Virol.*, **85**, 156–164.
91. McKinney, C., Perez, C., Mohr, I. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 5627–5632.
92. Zhang, B., Morace, G., Gauss-Müller, V., Kusov, Y. (2007) *Nucleic Acids Res.*, **35**, 5975–5984.
93. Duncan, K.E., Strein, C., Hentze, M.W. (2009) *Mol. Cell*, **36**, 571–582.
94. Mazumder, B., Seshadri, V., Imataka, H., Sonenberg, N., Fox, P.L. (2001) *Mol. Cell Biol.*, **21**, 6440–6449.
95. Mazumder, B., Sampath, P., Seshadri, V., Maitra, R.K., DiCorleto, P.E., Fox, P.L. (2003) *Cell*, **115**, 187–198.
96. Sampath, P., Mazumder, B., Seshadri, V., Gerber, C.A., Chavatte, L., Kinter, M., Ting, S.M., Dignam, J.D., Kim, S., Driscoll, D.M., Fox, P.L. (2004) *Cell*, **119**, 195–208.
97. Kapasi, P., Chaudhuri, S., Vyas, K., Baus, D., Komar, A.A., Fox, P.L., Merrick, W.C., Mazumder, B. (2007) *Mol. Cell*, **25**, 113–126.

98. *Iyas, K., Chaudhuri, S., Leaman, D.W., Komar, A.A., Musiyenko, A., Barik, S., Mazumder, B.* (2009) *Mol. Cell Biol.*, **29**, 458–470.
99. *Skabkina, O. V., Skabkin, M.A., Popova, N. V., Lyabin, D.N., Penalva, L.O., Ovchinnikov, L.P.* (2003) *The Journal of Biological Chemistry*, **278**, 18191–18198.
100. *Skabkina, O. V., Lyabin, D.N., Skabkin, M.A., Ovchinnikov, L.P.* (2005) *Molecular and Cellular Biology*, **25**, 3317–3323.
101. *Lyabin, D.N., Eliseeva, I.A., Skabkina, O. V., Ovchinnikov, L.P.* (2011) *RNA Biol.*, **8**, 883–892.
102. *Eliseeva, I.A., Ovchinnikov, L.P., Lyabin, D.N.* (2012) *RNA Biology*, **9**, 1473–1487.
103. *Iwakawa, H.-O., Tajima, Y., Taniguchi, T., Kaido, M., Mise, K., Tomari, Y., Taniguchi, H., Okuno, T.* (2012) *J. Virol.*, **86**, 7836–7849.
104. *Polacek, C., Friebe, P., Harris, E.* (2009) *J. Gen. Virol.*, **90**, 687–92.
105. *Reynolds, N., Collier, B., Maratou, K., Bingham, V., Speed, R.M., Taggart, M., Semple, C.A., Gray, N.K., Cooke, H.J.* (2005) *Hum. Mol. Genet.*, **14**, 3899–909.
106. *Kawahara, H., Imai, T., Imataka, H., Tsujimoto, M., Matsumoto, K., Okano, H.* (2008) *J. Cell Biol.*, **181**, 639–53.
107. *Ohyama, T., Nagata, T., Tsuda, K., Kobayashi, N., Imai, T., Okano, H., Yamazaki, T., Katahira, M.* (2011) *Nucleic Acids Res.*, **40**, 3218–3231.
108. *Lim, C., Lee, J., Choi, C., Kilman, V.L., Kim, J., Park, S.M., Jang, S.K., Allada, R., Choe, J.* (2011) *Nature*, **470**, 399–403.
109. *Singh, N., Morlock, H., Hanes, S.D.* (2011) *Dev. Biol.*, **352**, 104–15.
110. *Kulkarni, S.D., Muralidharan, B., Panda, A.C., Bakthavachalu, B., Vindu, A., Seshadri, V.* (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 14146–56.
111. *Clouse, K.N., Ferguson, S.B., Schüpbach, T.* (2008) *Dev. Biol.*, **313**, 713–24.
112. *Ivanov, P. V., Gehring, N.H., Kunz, J.B., Hentze, M.W., Kulozik, A.E.* (2008) *EMBO J.*, **27**, 736–47.
113. *Singh, G., Rebbapragada, I., Lykke-Andersen, J.* (2008) *PLoS Biol.*, **6**, e111.
114. *Parker, R., Song, H.* (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 121–7.
115. *Brown, C.E., Sachs, A.B.* (1998) *Mol. Cell Biol.*, **18**, 6548–59.
116. *Kühn, U., Wahle, E.* (2004) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1678**, 67–84.
117. *Ezzeddine, N., Chen, C.-Y.A., Shyu, A.-B.* (2012) *Mol. Cell Biol.*, **32**, 1089–98.
118. *Tritschler, F., Huntzinger, E., Izaurralde, E.* (2010) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 379–84.
119. *Lai, E.C.* (2003) *Curr. Biol.*, **13**, r925–r936.
120. *Friedman, R.C., Farh, K.K.-H., Burge, C.B., Bartel, D.P.* (2009) *Genome Res.*, **19**, 92–105.
121. *Fabian, M.R., Sonenberg, N.* (2012) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **19**, 586–593.
122. *Bazzini, A.A., Lee, M.T., Giraldez, A.J.* (2012) *Science*, **336**, 233–237.
123. *Djuranovic, S., Nahvi, A., Green, R.* (2012) *Science*, **336**, 237–240.
124. *Eulalio, A., Huntzinger, E., Nishihara, T., Rehwinkel, J., Fauser, M., Izaurralde, E.* (2009) *RNA*, **15**, 21–32.
125. *Bhattacharyya, S.N., Habermacher, R., Martine, U., Closs, E.I., Filipowicz, W.* (2006) *Cell*, **125**, 1111–1124.

126. Moretti, F., Kaiser, C., Zdanowicz-Specht, A., Hentze, M.W. (2012) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **19**, 603–608.
127. Fabian, M.R., Mathonnet, G., Sundermeier, T., Mathys, H., Zipprich, J.T., Svitkin, Y. V., Rivas, F., Jinek, M., Wohlschlegel, J., Doudna, J.A., Chen, C.-Y.A., Shyu, A.-B., Yates, J.R., Hannon, G.J., Filipowicz, W., Duchaine, T.F., Sonenberg, N. (2009) *Mol. Cell*, **35**, 868–880.
128. Zekri, L., Huntzinger, E., Heimstädt, S., Izaurralde, E. (2009) *Mol. Cell Biol.*, **29**, 6220–6231.
129. Zekri, L., Kuzuoğlu-Öztürk, D., Izaurralde, E. (2013) *EMBO J.*, **32**, 1052–1065.
130. Fukaya, T., Tomari, Y. (2011) *EMBO J.*, **30**, 4998–5009.
131. Mishima, Y., Fukao, A., Kishimoto, T., Sakamoto, H., Fujiwara, T., Inoue, K. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **109**, 1104–1109.
132. Sagliocco, F., Laloo, B., Cosson, B., Laborde, L., Castroviejo, M., Rosenbaum, J., Ripoche, J., Grosset, C. (2006) *Biochem. J.*, **400**, 337–347.
133. Wang, Z., Kiledjian, M. (2000) *Mol. Cell Biol.*, **20**, 6334–6341.
134. Stefanizzi, I., Cañete-Soler, R. (2007) *Brain. Res.*, **1139**, 15–28.
135. Grosset, C., Chen, C.Y., Xu, N., Sonenberg, N., Jacquemin-Sablon, H., Shyu, A.B. (2000) *Cell*, **103**, 29–40.
136. Vazquez-Pianzola, P., Urlaub, H., Suter, B. (2011) *Dev. Biol.*, **357**, 404–418.
137. Ma, S., Musa, T., Bag, J. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 3145–3156.
138. Brooks, S.A. (2010) *Wiley interdisciplinary reviews RNA*, **1**, 240–252.
139. Salaun, C., MacDonald, A.I., Laralde, O., Howard, L., Lochtie, K., Burgess, H.M., Brook, M., Malik, P., Gray, N.K., Graham, S. V. (2010) *J. Virol.*, **84**, 8539–8548.
140. Burgess, H.M., Richardson, W.A., Anderson, R.C., Salaun, C., Graham, S. V., Gray, N.K. (2011) *J. Cell Sci.*, **124**, 3344–3355.
141. Ma, S., Bhattacharjee, R.B., Bag, J. (2009) *FEBS J.*, **276**, 552–570.
142. Dobrikova, E., Shveygert, M., Walters, R., Gromeier, M. (2010) *J. Virol.*, **84**, 270–279.
143. Harb, M., Becker, M.M., Vitour, D., Baron, C.H., Vende, P., Brown, S.C., Bolte, S., Arold, S.T., Poncet, D. (2008) *J. Virol.*, **82**, 11283–11293.
144. Mallet, P.-L., Bachand, F. (2013) *Traffic*, **14**, 282–294.
145. Arnold, M.M., Brownback, C.S., Taraporewala, Z.F., Patton, J.T. (2012) *J. Gen. Virol.*, **93**, 1483–1489.
146. Bag, J., Wu, J. (1996) *Eur. J. Biochem.*, **237**, 143–152.
147. Bag, J. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 47352–47360.
148. Patel, G.P., Ma, S., Bag, J. (2005) *Nucleic Acids Res.*, **33**, 7074–7089.
149. Hornstein, E., Git, A., Braunstein, I., Avni, D., Meyuhas, O. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 1708–1714.
150. Huichalaf, C., Schoser, B., Schneider-Gold, C., Jin, B., Sarkar, P., Timchenko, L. (2009) *J. Neurosci.*, **29**, 9042–9049.
151. Damgaard, C.K., Lykke-Andersen, J. (2011) *Genes Dev.*, **25**, 2057–2068.
152. Le, H., Browning, K.S., Gallie, D.R. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 17452–17462.
153. Friend, K., Brook, M., Bezirci, F.B., Sheets, M.D., Gray, N.K., Seli, E. (2012) *Biochem. J.*, **445**, 93–100.

154. *Brook, M., McCracken, L., Reddington, J.P., Lu, Z.-L., Morrice,*

N.A., Gray, N.K. (2012) *Biochem. J.*, **441**, 803–812.