

# **G-КВАДРУПЛЕКСЫ КАК СЕНСОРЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СООТНОШЕНИЯ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>: ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ И ТРАНСЛЯЦИИ**

©2024 г. О. Д. ЛОПИНА\*, С. В. СИДОРЕНКО,  
Д. А. ФЕДОРОВ, Е. А. КЛИМАНОВА\*\*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
биологический факультет, кафедра биохимии, Москва*

I. Введение. II. Структура и разнообразие G-квадруплексов. III. Идентификация G-квадруплексов. IV. Биологическая функция G-квадруплексов. V. Патолофизиологическое значение G-квадруплексов. VI. Одновалентные катионы как потенциальные регуляторы фолдинга G-квадруплексов *in vivo*. VI. Заключение.

## **I. ВВЕДЕНИЕ**

G-квадруплексы – это неканонические четырехнитевые спиральные структуры ДНК и РНК, формирующиеся при наличии в нити нуклеиновой кислоты специфических последовательностей, обогащенных гуаниловыми нуклеотидами. Ядром этих структур являются стопки плоских квадратов, образованные четырьмя взаимодействующими гуанинами. Связывающиеся между плоскостями одно- или двухвалентные катионы могут значительно влиять на стабильность G-квадруплекса. Наиболее стабильны квадруплексы в среде с K<sup>+</sup>, меньшая стабильность характерна для квадруплексов со связанными ионами Na<sup>+</sup>.

Исследование расположения G-квадруплексов в геноме показало, что чаще всего они находятся в регуляторных областях, в частности в промоторах генов, на границе интронов и экзонов, в регуляторных нетранслируемых областях иРНК. Это позволило предположить, что G-квадруплексы обладают определенной биологической функцией. Действительно, фолдинг G-квадруплексов может изменять

---

*Адрес для корреспонденции:* \*e-mail: od\_lopina@mail.ru;  
\*\*e-mail: klimanova.ea@yandex.ru.

доступность специфических белков к регуляторным областям генома, позволяя им регулировать такие процессы, как репликация, транскрипция, сплайсинг генов, трансляция.

Относительно недавно было установлено, что изменение соотношения  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в различных клетках животных влияет на экспрессию генов раннего ответа, в частности гена *Fos*, причем этот эффект не зависит от присутствия ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Это позволило нам предположить, что сенсором соотношения  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  могут быть квадруплексы, расположенные в промоторе этих генов. Действительно, разворачивание G-квадруплексов в области промотора при повышении концентрации  $\text{Na}^+$  потенциально может активировать транскрипцию гена.

До настоящего момента роль  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в регуляции стабильности G-квадруплексов не привлекала внимания исследователей, поскольку концентрация  $\text{Na}^+$  в клетках животных невелика (~10 мМ), а концентрация  $\text{K}^+$  достаточно высока (~140 мМ). Более того, при увеличении соотношения  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  встроенная в плазматическую мембрану Na,K-АТРаза (Na-насос) быстро выкачивает  $\text{Na}^+$  из клетки, обменивая его на внеклеточный  $\text{K}^+$ , таким образом, соотношение концентраций этих катионов внутри клетки поддерживается практически постоянным. Благодаря этому G-квадруплексы должны быть насыщены  $\text{K}^+$ , что стабилизирует их. Однако анализ данных литературы показывает, что в некоторых ситуациях (например, в нейронах, проводящих большую серию нервных импульсов или в интенсивно работающих мышцах), а также при некоторых патологических состояниях (например, при злокачественной трансформации) внутриклеточное соотношение  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  может значительно изменяться.

Настоящий обзор посвящен анализу структуры и свойств G-квадруплексов, их биологической функции, роли в развитии некоторых патологий. Особое внимание уделено рассмотрению возможной роли внутриклеточного соотношения  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  в регуляции стабильности G-квадруплексов, находящихся в промоторах Na,K-чувствительных генов, что позволяет этим структурам участвовать в регуляции транскрипции.

## II. СТРУКТУРА И РАЗНООБРАЗИЕ G-КВАДРУПЛЕКСОВ

Полимерные цепи нуклеиновых кислот способны сворачиваться, формируя различные типы трехмерных структурных образований. Для ДНК наиболее известна классическая правозакрученная винтовая структура, состоящая из двух тяжей и образуемая за счет классического Уотсон-Криковского спаривания азотистых оснований с помощью водородных связей (В-форма). Однако некоторые последовательности

в молекулах ДНК и РНК могут сворачиваться, образуя неканонические вторичные структуры, в частности, левозакрученную Z-ДНК, шпильки, крестообразные структуры, триплексы, i-мотивы и G-квадруплексы [1, 2]. В последние несколько десятилетий растущий интерес исследователей привлекают именно G-квадруплексы – структуры, которые формируются в областях, где в нуклеотидной последовательности содержится много гуаниловых нуклеотидов [3]. Эти четырехнитевые структуры при физиологических условиях характеризуются высокой термодинамической стабильностью, кроме того, они устойчивы к действию нуклеаз [4, 5]. Интерес G-квадруплексы вызывают по той причине, что многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что они играют важную роль во многих основополагающих биологических процессах.

G-квадруплекс формируется из G-тетрад, каждая из которых представляет собой плоскую квадратную структуру, образованную четырьмя гуанинами, расположенными на четырех участках нити нуклеиновой кислоты (рис. 1).

В каждой G-тетраде гуанины взаимодействуют друг с другом попарно за счет формирования восьми Хугстиновских водородных связей [6]. Отдельные плоские квадраты G-тетрад укладываются в стопки из двух или более квартетов, расположенных индивидуальными слоями, что дополнительно стабилизирует структуру за счет  $\pi$ - $\pi$  стэкинговых взаимодействий [7, 8]. Формирование канонического G-квадруплекса с тремя тетрадами наиболее вероятно в случае, если последовательность нуклеотидов (так называемый G-тракт) имеет следующий вид:  $5'-G_3+N_{1-7}G_3+N_{1-7}G_3+N_{1-7}G_3+3'$ , где G – гуанилат, а N – любой другой нуклеотид, включая гуанилат. Из такой последовательности образуются G-квадруплексы, содержащие в стопке 3 тетрады, а участки между тетрадами содержат 7 нуклеотидов. Однако есть и другие типы последовательностей, обогащенные гуанилатами, которые могут сформировать G-квадруплекс, в частности, количество тетрад может быть от 2 до 7, а участки между ними могут иметь длину до 12 нуклеотидов [9, 10]. Последовательности между G-трактами формируют петли, которые укладываются вокруг квадруплекса [2, 11, 12].

Важным фактором, обеспечивающим вклад в стабилизацию G-квадруплексов, является наличие ионов металлов, которые обычно располагаются между плоскостями соседних тетрад (в случае  $K^+$ ) или в плоскости тетрад (в случае  $Na^+$ ) и взаимодействуют с атомами кислорода в 6-м положении гуанина, уменьшая их отрицательный заряд по всей длине стопки (рис. 1) [13]. Какие именно катионы будут свя-

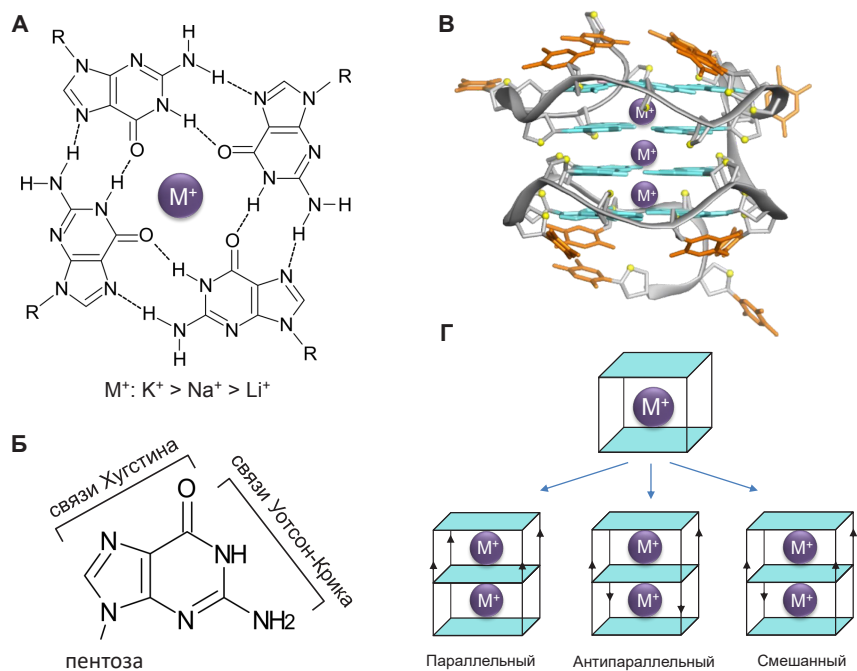


Рисунок 1. Структура квадруплекса.

**А** – образование G-квартета из четырех гуанинов;

**Б** – стороны гуаниновых оснований, образующие Уотсон-Криковские и Хугстинговские водородные связи;

**В** – структура G-квадруплекса, образованного из трех тетрад с боковыми петлями;

**Г** – схема, представляющая различные топологии G-квадруплексов: параллельный (0+4), антипараллельный (4+0) и смешанный (3+1).

зваться с G-квадруплексами, зависит от ионного радиуса катиона, энергии гидратации и способности взаимодействовать с кислородом в 6-м положении гуанинов в тетраде [14]. Наилучшей связывающей способностью из физиологических значимых одновалентных катионов обладает  $K^+$ , поскольку у него наименьший эффективный ионный радиус и меньшая по сравнению с другими физиологическими катионами свободная энергия дегидратации (перед связыванием катионы теряют свою гидратную оболочку). Средство одновалентных катионов к квадруплексам обычно изменяется в ряду:  $K^+ > Rb^+ > Na^+ > Li^+ = Cs^+$  [15]. Стабилизируются квадруплексы и двухвалентными катионами, такими как  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  и  $Pb^{2+}$ .

Хотя в первичной структуре G-квадруплексов есть определенное сходство, они формируют достаточно разнообразные вторичные структуры. Это обусловлено полярностью образующих их нитей и особенностью петель, связывающих плоские гуаниновые тетрады, а также количеством тетрад [16]. G-квадруплексы можно разделить на группы, в зависимости от ориентации G-трактов: они могут быть параллельными, антипараллельными и смешанными, в зависимости от ориентации направления нитей (рис.1). Если четыре G-тракта располагаются в одном направлении, то топология G-квадруплекса определяется как параллельная или 4+0 (4 параллельных +0 антипараллельных G-трактов, рис.1). Если G-тракты в квадруплексе располагаются в противоположных направлениях, он называется антипараллельным, или имеющим топологию 2+2 (2 G-тракта параллельных+2 антипараллельных, рис. 1). Наконец, в случае, когда 3 из 4 G-трактов параллельны, а 4-й антипараллелен, то он имеет топологию 3+1[12]. При этом G-квадруплексы могут быть внутримолекулярными и межмолекулярными, т.е. формироваться из одной нити нуклеиновой кислоты (внутримолекулярные) или из разных нитей нуклеиновых кислот (межмолекулярные). G-квадруплексы образуются из нитей как ДНК, так и РНК. Кроме того, в формировании G-квадруплекса могут быть вовлечены одновременно нити ДНК и РНК (гибридные квадруплексы).

Каждая тетрада в стопке способна поворачиваться относительно соседней. Это обеспечивает образование спиральной структуры G-квадруплекса, которая почти всегда бывает правозакрученной [17]. Петли, связывающие параллельные G-тракты, взаимодействуют с другими частями молекулы или с другими молекулами, кроме того, из длинных петель могут формироваться структуры в виде кэпа на наружных G-тетрадах. В настоящее время предпринимаются попытки создать библиотеки спектров кругового дихроизма различных по структуре G-квадруплексов (параллельные, антипараллельные, смешанные) с целью определения структуры G-квадруплексов по КД-спектру [18].

Термодинамическая стабильность G-квадруплексов зависит от их топологии, размера петель и их нуклеотидной последовательности [11]. После разворачивания повторная укладка квадруплексов осуществляется по-разному: некоторые квадруплексы сворачиваются в одну стадию, в то время как другие проходят через несколько промежуточных состояний [12]. Двунитевые шпильки из двух G-трактов и трехнитевые структуры, образующиеся при взаимодействии трех G-трактов, рассматриваются как интермедиаты сворачивания или разворачивания G-квадруплексов. Конформации

со сдвинутыми G-трактами, в которых они уложены не так, как в нативной конформации, и конформации, образующиеся при частичном связывании катионов, по-видимому, также являются промежуточными интермедиатами.

В отличие от G-квадруплексов ДНК, G-квадруплексы, сформированные из РНК, характеризуются преимущественно (если не исключительно) параллельной топологией [19, 20], что обеспечивает их большую стабильность [21]. Параллельная топология РНК-квадруплексов обусловлена геометрией N-гликозидной связи в рибонуклеотидах [16].

### III. ИДЕНТИФИКАЦИЯ G-КВАДРУПЛЕКСОВ

К выявлению мотива, формирующего G-тетрады, первоначально привело наблюдение, свидетельствующее об ассоциации молекул гуаниловой кислоты в растворе с образованием геля [22]. В начале 60-х годов прошлого века с использованием метода дифракции рентгеновских лучей было показано, что гуаниловая кислота способна формировать тетрамерные структуры [23]. В дальнейшем способность к ассоциации участков ДНК, обогащенных гуанинами, была подтверждена данными о формировании *in vitro* четырехнитевых G-квадруплексных структур из олигонуклеотидов, находящихся в областях, которые обеспечивают рекомбинацию при переключении синтеза классов иммуноглобулинов [24].

В биофизических исследованиях с использованием различных олигонуклеотидов было установлено, что многие последовательности ДНК и РНК, содержащие G-тракты, разделенные другими нуклеотидными последовательностями, могут формировать G-квадруплексы: эти данные были получены методом ЯМР, в экспериментах с круговым дихроизмом и УФ-плавлением олигонуклеотидов [16, 25].

С использованием биоинформационного анализа были выявлены потенциальные последовательности, способные формировать G-квадруплексы. В геноме человека идентифицировано более 376 000 потенциальных G-квадруплексных последовательностей [26]. В настоящее время предложены различные алгоритмы, которые используются для выявления потенциальных G-квадруплексов в геномах разных видов и в отдельных нуклеотидных последовательностях [27]. Следует отметить, что идентификация G-тракта в геноме еще не доказывает, что *in vivo* в этой области образуется G-квадруплекс, наличие G-тракта просто указывает, что формирование G-квадруплекса возможно.

Для выявления в геноме G-квадруплексов применяются высокопроизводительное секвенирование (секвенирование нового поколения,

next-generation sequencing). На основе этого метода разработаны два подхода: собственно, секвенирование G-квадруплексов (G4-seq) и иммунопреципитация хроматина с антителами к G-квадруплексам с последующим секвенированием (G4 ChIP-seq). Кроме того, для идентификации G-квадруплексов был использован метод остановки ДНК-полимеразной реакции. Присутствие сформированного G-квадруплекса в ДНК приводит к возникновению стерического препятствия для ДНК-полимеразы. Сравнение мест остановки полимеразы в среде, где квадруплексы устойчивы (например, в среде с  $K^+$ ) и в условиях, когда они дестабилизированы (в частности, в среде с  $Li^+$ ), позволяет обнаружить 5'-конец G-квадруплекса. Использование технологии G4-seq в сочетании с методом остановки ДНК-полимеразной реакции позволило идентифицировать 716310 последовательностей, потенциально формирующих в геноме человека G-квадруплексы [28], что почти в 2 раза больше, чем количество предполагаемых G-квадруплексов, идентифицированных методами биоинформатики. Среди G-квадруплексных структур, выявленных методом G4-seq, присутствует множество неканонических G-квадруплексов с длинными петлями и/или кэпами, которые трудно предсказать методами биоинформатики.

Доказательства формирования G-квадруплексов в клетке были получены с использованием методов молекулярной биологии и геномных технологий. Сначала G-квадруплексы были визуализированы с использованием иммунофлуоресцентного анализа с применением специфичных по отношению к G-квадруплексам антител. Впервые наличие G-квадруплекса в теломере инфузории были продемонстрировано в 2001 году с использованием одноцепочечного варибельного фрагмента антитела (антигенного участка, scFv) [29]. Затем в фиксированных клетках человека с помощью флуоресцентно меченого антитела BG4 были идентифицированы G-квадруплексы как в теломерной, так и в нетеломерной ДНК, причем распределение G-квадруплексов в ДНК изменялось в зависимости от стадии клеточного цикла [30]. Это антитело было использовано также для визуализации G-квадруплекса в структуре РНК, находящейся в цитоплазме клеток человека [31].

Для идентификации G-квадруплексов в клеточных структурах были применены также специфические химические лиганды, способные взаимодействовать с G-квадруплексами *in vitro* и обеспечивать их стабилизацию [32]. В настоящее время описано несколько сотен небольших молекул, их взаимодействие с G-квадруплексами исследовано в основном на теломерных квадруплексах *in vitro* [33, 34], информации об их взаимодействии с G-квадруплексами *in vivo* пока

достаточно мало [35]. Среди малых лигандов, связывающихся с G-квадруплексами, можно упомянуть природный продукт теломестатин, полученный из стрептомицетов [36], производные антрахинонов [37], замещенные акридины [38], производные перилентетракарбок-сидиимида [39] и хинолина [40]. К последней группе относится пири-достатин, который часто используется в исследованиях, проводимых с G-квадруплексами.

Многие из лигандов, взаимодействующих с G-квадруплексами, имеют плоскую ароматическую структуру, которая обеспечивает связывание лиганда с терминальным квартетом G-квадруплекса посредством  $\pi$ - $\pi$  стэкинговых взаимодействий [41, 42]. Кроме того, комплекс «G-квадруплекс-лиганд» стабилизируется электростатическим притяжением между фосфатными группами нитей G-квадруплекса и положительно заряженными группами боковых цепей лиганда. Исследованные соединения достаточно эффективно связываются с G-квадруплексами, однако в основном они взаимодействуют с различными типами G-структур с относительно одинаковой специфичностью, хотя в последнее время синтезируются соединения с большей селективностью, например, некоторые из них способны преимущественно связываться с параллельными G-квадруплексами [43].

Для визуализации G-квадруплексов в клетке часто используют флуоресцентные или флуорогенные лиганды, связывающиеся с G-квадруплексами [44]. Обычно они хорошо проникают в клетки, поэтому отпадает необходимость подвергать их обработке, увеличивающей проницаемость клеточной мембраны (стадия, которая необходимая для того, чтобы флуоресцентные антитела проникли в клетку).

В последнее время выявить индивидуальные G-квадруплексы в живой клетке удалось с применением метода single molecule fluorescent imaging [45]. С этой целью был использован специфичный к G-квадруплексам флуоресцентный лиганд (SiR-PyPDS), являющийся производным пиридостатина. Клетки обрабатывали низкими концентрациями метки (20 нМ), поэтому лишь малая часть (~4%) G-квадруплексов связывалась с меткой, что минимизировало действие лиганда на динамику сворачивания G-квадруплексов. Благодаря высокой чувствительности метода в ядре живой клетки были выявлены индивидуальные G-квадруплексы, а также были зафиксированы флуктуации между свернутым и развернутым состоянием меченых G-квадруплексов. Кроме того, удалось показать, что образование G-квадруплексов зависит от стадии клеточного цикла и нарушается при подавлении процессов репликации и транскрипции специфическими ингибиторами.



#### **IV. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ G-КВАДРУПЛЕКСОВ**

Изучение геномов различных организмов выявило, что мотивы, способные формировать G-квадруплексы, располагаются в них не случайным образом. Локализация G-квадруплексов свидетельствует об их важности для функционирования генома [26, 46, 47]. Во-первых, G-трактов, способных формировать квадруплексы, больше у эукариотических организмов. Более того, у эукариот они встречаются в областях, обеспечивающих регуляцию важных для функционирования клетки процессов. У человека в геноме особенно богаты G-трактами, способными формировать G-квадруплексы, регуляторные области генома, такие как промоторы генов, участки связывания транскрипционных факторов, границы между интронами и экзонами, теломеры [48, 49]. Помимо этого, G-квадруплексные последовательности в значительных количествах присутствуют в точках начала репликации, в генах рибосомных РНК, в микро(мини)сателлитных повторах, в длинных концевых повторах ретротранспозонов, энхансерах, инсуляторах [50].

Анализ транскрипции генов, содержащих в промоторах G-квадруплексы, показал, что эти структуры способны как усиливать, так и ингибировать транскрипцию [41, 51]. В настоящее время особенно хорошо описана регуляция транскрипции онкогенов [41, 48]. Функционирование G-квадруплексов как регуляторов транскрипции зависит от их конформации и стабильности, которые, в свою очередь, определяются наличием в них G-содержащих повторов и фланкирующих последовательностей, длины повторов, а также от воздействия факторов окружающей среды. Установлено, что G-квадруплексы играют также важную роль в репликации ДНК, эпигенетической модификации, сохранении стабильности генома. Кроме того, G-квадруплексы способны регулировать процессинг пре-иРНК, включая аденилирование и альтернативный сплайсинг [52].

G-квадруплексы обнаруживаются в регуляторных областях иРНК, включая 5'- и 3'-UTR, они способны регулировать инициацию трансляции. Формирующие квадруплексы G-тракты обнаружены в 5'-UTR иРНК, транскрибируемой примерно с 3000 генов человека [53, 54]. Исследования, направленные на изучение роли G-квадруплексов в инициации трансляции, позволили идентифицировать G-квадруплексы как потенциальные ингибиторы этого процесса, способные предотвращать кэп-зависимую трансляцию. Кроме того, G-квадруплексы в различных иРНК обнаружены в области участка внутренней посадки рибосомы (IRES), который позволяет иницировать кэп-независимую трансляцию.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ G-КВАДРУПЛЕКСОВ С БЕЛКАМИ

G-квадруплексы, сформированные из обоих типов нуклеиновых кислот, способны взаимодействовать с различными белками [55]. Известно, что G-квадруплексы могут стерически препятствовать выполнению функции нуклеиновой кислоты (например, репликации, транскрипции или трансляции, стабилизации генома). Связывающиеся с G-квадруплексами белки могут обеспечивать формирование стабильной G-квадруплексной структуры, либо напротив, инициировать разворачивание G-квадруплексов. По этой причине выполнение биологической функции G-квадруплексов часто сопровождается связыванием специфических белков, которые способны инициировать образование стерического препятствия для работы определенных ферментов (например, теломеразы или ДНК-зависимой ДНК-полимеразы) или, напротив, ликвидировать его.

Белки, специфично связывающиеся с G-квадруплексами, подразделяют на три основных типа [56] в соответствии с тем, какое действие они оказывают на структуру G-квадруплекса: белки, стабилизирующие G-квадруплексы; белки, разворачивающие G-квадруплексы; белки с собственными функциями, локализация которых определяется их связыванием с G-квадруплексами (рис. 2). Кроме того, эти белки можно разделить на две группы в зависимости от того, взаимодействуют ли они с G-квадруплексами ДНК или РНК. Однако в связи с тем, что имеются разнообразные G-квадруплексы и множество взаимодействующих с ними белков, довольно трудно дать заключение по каждому комплексу «G-квадруплекс-белок» и отнести белок к той или иной категории [57].

G-квадруплексы связываются с белками различным образом: они могут взаимодействовать с внешними G-тетрадами, бороздками его четырехнитевой спирали или с областью, сформированной петлями [57]. Белки, взаимодействующие с G-квадруплексами, хорошо приспособлены к селективному связыванию, таким образом, изучение характера их взаимодействия с G-квадруплексами может быть полезным для создания новых химических лигандов, направленных на определенные G-квадруплексы, с целью получения терапевтических препаратов [58].

*Белки, разворачивающие G-квадруплексы*

Репликация ДНК невозможна без разворачивания G-квадруплексов. Это может осуществляться с помощью различных хеликаз, включая следующие: BLM (белок синдрома Блума), FANCD1 (белок J анемии Фанкони), WRN (белок синдрома Вернера), ATR-X (белок синдрома

альфа-талассемии и умственной отсталости) и хеликазы PIF1, способная разворачивать гибридные ДНК-РНК квадруплексы на концах хромосом [59–64]. С использованием метода, позволяющего регистрировать единичную молекулу хеликазы PIF1, удалось увидеть, как хеликаза разрывает двойную спираль ДНК и разворачивает G-квадруплекс [64].

Некоторые белки, не являющиеся хеликазами, также обеспечивают разворачивание G-квадруплексов. Например, к ним относится гетеронуклеарный рибонуклеопротеид A1 (hnRNP A1). Было показано, что сам белок и N-концевой продукт его протеолиза (UP1) связываются с G-квадруплексом теломерной ДНК и разворачивают его [65].

Клеточный белок с мотивами цинковых пальцев (белок 9 с цинковыми пальцами), связывающийся с нуклеиновыми кислотами (CNBP) и локализующийся в ядре и цитоплазме, также взаимодействует с G-квадруплексами и разворачивает их. Есть экспериментальные данные, демонстрирующие, что CNBP по отношению к нуклеиновым кислотам (РНК и ДНК) функционирует как шаперон, взаимодействующий с G-квадруплексами [66]. Благодаря этому CNBP способен регулировать различные процессы, происходящие в клетке, в частности, транскрипцию [67] и трансляцию [66].

Показано в частности, что CNBP, связываясь с промотором гена *Мус*, усиливает его транскрипцию *in vivo* и *in vitro* [68]. Разворачивание G-квадруплексов обеспечивают также связывающийся с однотяжной ДНК белок защиты теломеров 1 (POT1) [69] и белок репликации А (RPA) [70].

#### *Белки, стабилизирующие G-квадруплексы*

Другие белки, такие как нуклеолин и LARK (известный также как РНК-связывающий белок 4 (RBM4)), связываясь с G-квадруплексами, стабилизируют их. Установлено, что RBM4 активирует трансляцию иРНК гена фактора роста эндотелия (*Vegfa*) за счет специфического связывания с G-квадруплексом, находящимся в области участка внутренней посадки рибосомы (IRES). Это активирует кэп-независимую трансляцию, в результате чего возможен синтез белка в условиях стресса, когда подавлена кэп-зависимая трансляция [71].

Нуклеолин представляет собой ядрышковый фосфопротеин, экспрессирующийся в делящихся клетках и играющий важную роль в биогенезе рибосом [72], ремоделировании хроматина [73], транскрипции [53] и апоптозе [74]. Этот белок с высоким сродством связывается *in vitro* с G-квадруплексом гена *Мус*, стабилизируя его структуру. Показано, что нуклеолин также взаимодействует с промотором гена *Мус* в условиях *in vivo* [51].

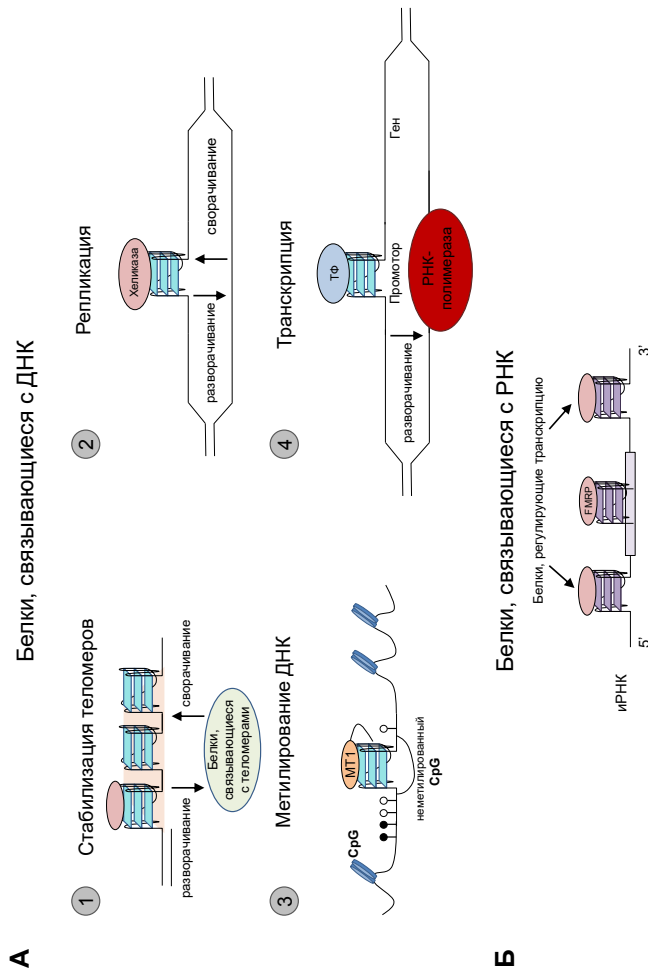


Рис. 2. Регуляция биологических процессов белками, связывающимися с G-квадруплексами.

**А** – белки, взаимодействующие с ДНК: 1 – стабилизация теломеров белками, обеспечивающими сворачивание G-квадруплексов в теломерах; 2 – репликация: обеспечение инициации репликации хеликазами, разворачивающими G-квадруплексы; 3 – эпигенетические воздействия: разворачивание хроматина путем связывания метилтрансферазы 1 (MT1) с G-квадруплексом и ее ингибирования; 4 – инициация транскрипции: разворачивание G-квадруплекса в промоторе гена при связывании транскрипционного фактора (ТФ) и освобождения промотора для посадки РНК-полимеразы.

**Б** – белки, связывающиеся с G-квадруплексами иРНК в регуляторных областях (3'- и 5'-UTR), регулируют транскрипцию, белок FMRP, взаимодействующий с квадруплексом иРНК, обеспечивает ее транспорт в цитоплазме.

Среди белков, стабилизирующих G-квадруплексы, необходимо упомянуть и теломерные белки. У эукариот концы хромосом защищены за счет того, что они связаны со специфическими белками. Это предотвращает деградацию теломерной однонитевой ДНК нуклеазами, а также узнавание ее репарационными системами в качестве стабильного двуникового разрыва [75]. Установлено, что в области теломеров, для последовательности которых характерно наличие повторов (у человека это TTAGGG), *in vivo* формируются G-квадруплексы [76]. С однотяжной ДНК, находящейся в теломере, связывается шелтериновый комплекс, состоящий из 6 белков. Один из этих белков (POT1) (protection of telomeres 1) связывается с однотяжной ДНК и регулирует сворачивание и разворачивание G-квадруплексов совместно с белком TPP1 (telomere repeat binding factor 1). Этот фактор связывается с белком POT1, что усиливает взаимодействие POT1 с ДНК [77] и регулирует доступ теломеразы к однотяжному 3'-концу [78].

*Белки с собственными функциями,  
связывающиеся с G-квадруплексами*

Среди таких белков следует отметить ДНК-метилтрансферазу, активность которой подавляется в результате связывания с G-квадруплексами, расположенными в областях с незначительно метилированными островками CpG последовательности ДНК [79, 80]. Благодаря этому наличие G-квадруплексов защищает цитозин этих областей от избыточного метилирования, регулируя эпигенетический статус генома.

## **V. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ G-КВАДРУПЛЕКСОВ**

Поскольку G-квадруплексы принимают участие в регуляции многих важнейших биологических процессов, таких как транскрипция, сплайсинг, трансляция, стабилизация генома, им отводят также значительную роль в возникновении многих заболеваний, включая онкологические [81] и нейродегенеративные [82]. Более того, почти все вирусы человека имеют G-квадруплексы в регуляторных областях генома, что позволяет рассматривать эти структуры в качестве антивирусных мишеней [83].

Мечение G-квадруплексов антителами и секвенирование иммунопреципитированных G-квадруплексов в иммортализованных клетках показало, что для раковых клеток характерен повышенный уровень

G-квадруплексов по сравнению с нормальными клетками [84–86]. Предполагается, что формирование и/или стабилизация G-квадруплексов может быть потенциальным терапевтическим подходом для борьбы с опухолевыми клетками [87–89]. В связи с этим были проведены эксперименты, в которых оценивалось влияние стабилизации G-квадруплексов за счет связывания малых химически синтезированных молекул на клетки иммортализованных культур.

Известно, что у 85–90% раковых клеток возрастает теломеразная активность, благодаря чему они способны делиться без укорочения теломеров [90]. Оказалось, что присутствие стабильных G-квадруплексов в области теломеров снижает связывание теломеразы и блокирует теломеразную активность как *in vitro* [91,92], так и *in vivo* [92–94]. Таким образом, стабилизацию G-квадруплексов в теломерах, по-видимому, можно использовать для ингибирования теломеразы в опухолях, предотвращая неконтролируемую репликацию. Поскольку соматические клетки теломеразу не экспрессируют, на них стабилизаторы теломерных G-квадруплексов не должны оказывать влияния. В значительной части проведенных исследований было установлено, что стабилизация G-квадруплексов в области теломеров подавляет рост опухолевых клеток [35, 95].

Дестабилизацию G-квадруплексов рассматривают также как процесс, влияющий на экспрессию онкогенов [21, 96]. Большинство промоторов онкогенов содержит больше G-трактов, чем промоторы регуляторных или подавляющих опухоли генов [41,97]. В экспериментах *in vitro* и *in cellulo* установлено, что факторы, влияющие на формирование G-квадруплексов в промоторах онкогенов, изменяют экспрессию этих генов. Это показано для таких генов, как *Myc* [98], *Kit* [99], *Vegf* [100], *Bcl2* [101] и *Kras* [102].

Особенно хорошо влияние различных факторов на G-квадруплексы исследовано в случае экспрессии *Myc* [98,103]. Известно, что этот ген кодирует транскрипционный фактор MYC, который активируется примерно у 70% всех типов раковых клеток [104] и влияет на онкогенез путем изменения клеточной пролиферации, метаболизма и иммунной эвазии [105, 106]. Было установлено, что в области промотора P1 гена *Myc*, который контролирует 85–90% транскрипционной активности гена, может формироваться внутримолекулярный G-квадруплекс, который является репрессором транскрипции. С G-квадруплексом в области промотора может связываться нуклеолин, что увеличивает стабильность G-квадруплекса [51]. Более того, суперэкспрессия нуклеолина снижает активность промотора *Myc*. Известно также, что малые химические лиганды также способны стабилизировать

G-квадруплекс в промоторе гена *Myc* и редуцировать рост опухоли, что коррелирует со снижением экспрессии самого *Myc* [107]. Поскольку большинство стабилизаторов G-квадруплексов не являются селективными, нельзя исключить, что на рост опухоли они могут влиять не за счет воздействия на промотор *Myc*, а с помощью иных механизмов [108].

В определенных условиях воздействие на G-квадруплексы приводит к нестабильности генома [109, 110]. Изменение структуры G-квадруплекса, которое не требуется клетке или происходит не в нужном месте или не в то время, приводит к изменениям в репликации ДНК и может индуцировать повреждение молекулы или ее рекомбинацию [111, 112]. Действительно, воздействие на ДНК химическими лигандами, стабилизирующими G-квадруплексы, увеличивает количество разрывов в двойной нити ДНК, приводит к паузам в репликации и проблемам в формировании ядрышка, а также вызывает изменения в состоянии теломеров [113–116].

Увеличение скорости мутагенеза, вызываемое G-квадруплексами, наилучшим образом происходит в клетках, где отсутствуют функционирующие хеликазы, разворачивающие G-квадруплексы (например, FANCI, BLM) [62, 117, 118]. Это позволяет предполагать, что различные изменения в геноме (точечные мутации, вставки, делеции), наблюдаемые в большом количестве в раковых клетках, могут возникать благодаря наличию сформированных G-квадруплексов.

G-квадруплексы, по-видимому, играют также важную роль в развитии нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, фронтотемпоральная деменция, болезнь Паркинсона. Наиболее исследована роль G-квадруплексов в регуляции транскрипции гена *C9orf72*, мутация которого может приводить к развитию бокового амиотрофического склероза и фронтотемпоральной деменции, двух близких по этиологии заболеваний, характеризующихся потерей нейронов. Для обоих заболеваний характерны общие генетические дефекты и neuropатологические симптомы, поэтому они рассматриваются как близкие [119, 120].

Наиболее частой причиной семейных (генетических) форм этих заболеваний является мутация, при которой происходит экспансия гексануклеотидов (HRE), (GGGGCC)*n* в открытой рамке считывания 72 в некодирующей области гена *C9orf72*, находящегося в 9 хромосоме [121]. У пациентов с боковым амиотрофическим склерозом и фронтотемпоральной деменцией обнаруживаются сотни и даже тысячи таких гексануклеотидных повторов, в то время как у здоровых

людей количество повторов обычно не превышает 25. На основе мутантного гена *C9orf72* синтезируются удлиненные РНК-транскрипты, образующие стабильные G-квадруплексы [122, 123]. Эти РНК-транскрипты накапливаются в цитоплазме, кроме того, на основе такого транскрипта происходит синтез аномального полипептида путем трансляции, инициируемой повтором и независимой от кодона AUG [124]. Если система протеолиза не справляется с удалением полученных полипептидов, то это приводит к образованию в цитоплазме нейронов нерастворимых немембранных структур (так называемых стресс-гранул), включающих белки и РНК [125]. Такие структуры возникают, когда в супернасыщенном растворе происходит разделение жидкости на две фазы: более плотная фаза отделяется от более разведенной [126].

Почти во всех случаях бокового амиотрофического склероза и в половине случаев фронтотемпоральной деменции в составе стресс-гранул обнаруживается белок TDP-43. Этот белок, имеющий множественные функции, взаимодействует с ДНК и РНК и отвечает за аксональный транспорт иРНК и регуляцию локального синтеза белка вблизи синапса [127]. Все основные РНК-мишени TDP-43 содержат множество G-трактов [128], он связывается с РНК через формируемые ими G-квадруплексы. Мишенями TDP-43 являются также иРНК белка PSD-95 и кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII $\alpha$ ), которые транспортируются по микротрубочкам к синапсу на основе распознавания G-тракта, расположенного в 3'UTR [128, 129]. Это позволяет полагать, что TDP-43 связывает и транспортирует к местам локального синтеза содержащие G-квадруплексы иРНК белков, синтезируемых вблизи синапса. TDP-43 взаимодействует *in vitro* с HRE иРНК *C9orf72*, а преинкубация этого белка с РНК, содержащей гексаповторы, снижает способность TDP-43 взаимодействовать с молекулами транспортируемых иРНК PSD-95 и CaMKII $\alpha$ . Таким образом, связывание TDP-43 с HRE иРНК *C9orf72* может нарушать способность этого белка транспортировать другие иРНК [128].

Второй белок с множественными функциями [130–132], который, по-видимому, вовлечен в развитие нейродегенеративных заболеваний – это белок FMRP, или белок синдрома ломкой X-хромосомы (fragile X mental retardation protein). Это наследственное заболевание, характеризующееся задержками в развитии и умственной отсталостью, именно потеря FMRP или его функции приводит к возникновению заболевания [133]. FMRP – это нейрональный белок, который обладает способностью связываться с РНК [134] и играет важную роль в регуляции нейрональной трансляции [135]. Взаимо-



действие G-квадруплексов РНК с белками, такими как FMRP, регулирует их локализацию и локальную трансляцию [129]. Ряд иРНК, являющихся мишенями FMRP, доставляются к местам локального синтеза, расположенным вблизи синапсов, и участвуют в их долговременной активации [134]. Анализ мышей с нокаутом гена, кодирующего FMRP у мышей, показал, что иРНК, транспортируемые в нейрональных клетках с участием этого белка, содержат в 3' UTR много G-квадруплексных последовательностей [133]. В связывании G-квадруплексов иРНК с FMRP принимает участие RGG-домен этого белка, константа диссоциации комплекса «RGG домен-G-квадруплекс РНК» в присутствии  $K^+$  составляет ~30 нМ [133]. FMRP ускоряет формирование стресс-гранул [136] и в значительных количествах присутствует в этих гранулах [137].

## VI. ОДНОВАЛЕНТНЫЕ КАТИОНЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ФОЛДИНГА G-КВАДРУПЛЕКСОВ *IN VIVO*

Одновалентные катионы являются важным специфическим фактором, стабилизирующим G-квадруплексы, однако до настоящего времени изменение внутриклеточной концентрации  $Na^+$  и  $K^+$  не рассматривали как потенциальный регулятор стабильности G-квадруплексов, влияющий на процессы, которые контролируют G-квадруплексы (в частности, на транскрипцию и трансляцию). Отсутствие интереса к этому связано с тем, что в клетке  $K^+$ , обладающий максимальным сродством к G-квадруплексам и наилучшим образом стабилизирующий их, присутствует в высоких концентрациях (120–140 мМ) [138], а  $Na^+$ , сродство которого к квадруплексам ниже, в значительно более низких концентрациях (8–10 мМ) [138]. Лишь в 20016 году в литературе впервые появилась идея о том, что роль одновалентных катионов в формировании квадруплексов и их локальная концентрация в клетке указывают на потенциальное регуляторное значение этих катионов [139].

Исследования, проведенные в лаборатории профессора С.Н. Орлова, показали, что длительное (в течение 3 ч) подавление активности  $Na,K$ -АТФазы в культивируемых гладкомышечных клетках аорты крысы (RVSMC), клетках аденокарциномы человека (HeLa) и клетках эндотелия пупочной вены человека (HUVEC), сопровождающееся увеличением внутриклеточного соотношения концентраций  $Na^+$  и  $K^+$ , приводит к изменению экспрессии большого количества генов. Предположение, что изменение в экспрессии генов обусловлено изменением концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  за счет влияния

$\text{Na}^+$  на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ -обменник и/или потенциал-зависимые Са-каналы не подтвердилось, так как ингибирование  $\text{Na}$ , $\text{K}$ -АТФазы в присутствии внутри- и внеклеточных хелаторов  $\text{Ca}^{2+}$  (ВАРТА и ЭГТА соответственно) сопровождалось изменением экспрессии 135 генов, общих для всех трех типов клеток. Раньше всего на изменение соотношения  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  реагировали гены раннего ответа, среди которых были транскрипционные факторы *Fos*, *Jun* и другие [140, 141]. Эти данные показывают, что существуют гены раннего ответа, активность которых регулируется внутриклеточным соотношением концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  и не зависит от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ .

Анализ данных по связыванию  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  с различными белками показал, что на сегодняшний день в литературе нет информации о белках, способных быть сенсорами соотношения концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , за исключением  $\text{Na}$ , $\text{K}$ -АТФазы, которая сама вовлечена в создание градиента этих катионов и встроена в плазматическую мембрану, поэтому не может быть сенсором. Но функцию сенсоров вполне могут выполнять неканонические структуры нуклеиновых кислот, G-квадруплексы [142].

G-квадруплексы обнаружены во многих генах, кодирующих транскрипционные факторы, в частности, они присутствуют в промоторе гена *Fos* [143], транскрипция которого увеличивается четырехкратно уже через 30 мин после добавления к клетке убаина, ингибитора  $\text{Na}$ , $\text{K}$ -АТФазы, что значительно увеличивает в клетке соотношение концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  [140]. Белок *Fos* является членом семейства транскрипционных факторов AP-1. Характерно, что активация экспрессии *Fos* наблюдалась также при подавлении активности фермента другим способом – устранением ионов  $\text{K}^+$  из окружающей клетку среды. Таким образом, было показано, что индуктором экспрессии является именно изменение соотношения  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , а не связывание убаина с ферментом.

Один из важнейших вопросов, возникающих при рассмотрении регуляторной роли соотношения концентрации  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в клетке – это вопрос о том, в каких условиях возможно изменение этого соотношения. Во всех клетках животных  $\text{Na}$ , $\text{K}$ -АТФаза, встроенная в плазматическую мембрану, постоянно обменивает внутриклеточный  $\text{Na}^+$  на внеклеточный  $\text{K}^+$ , перемещая оба катиона против концентрационного градиента и затрачивая на это энергию АТФ [144]. Хотя  $\text{Na}^+$  может входить в клетку, а  $\text{K}^+$  выходить из нее через различные каналы и системы вторичного транспорта, градиент концентраций этих катионов на плазматической мембране поддерживается благодаря работе  $\text{Na}$ , $\text{K}$ -АТФазы.

Na,K-АТРаза (Na-насос) активируется ионами Na<sup>+</sup> с внутренней стороны мембраны и ионами K<sup>+</sup> – с наружной [144]. Благодаря этому активность Na-насоса лимитируется именно концентрацией Na<sup>+</sup> внутри клетки и в меньшей степени - K<sup>+</sup> снаружи. По мере входа Na<sup>+</sup> активность Na,K-АТРаза быстро возрастает и может увеличиться более чем на порядок за счет активации входящими в клетку ионами Na<sup>+</sup>. Этого обычно достаточно, чтобы убрать из клетки входящий по градиенту концентраций Na<sup>+</sup> и вернуть в клетку выходящий из нее K<sup>+</sup>, довольно быстро восстановив градиент этих катионов. Однако в некоторых случаях активности Na-насоса оказывается недостаточно для ликвидации последствий пассивного проникновения этих катионов через плазматическую мембрану.

В первую очередь это касается возбудимых тканей, в частности, нейронов, где при прохождении импульса открываются потенциал-зависимые Na- и K-каналы. Обнаружено, что при интенсивной стимуляции нейрона концентрация Na<sup>+</sup> в шипиках дендритов может возрасти с 8–10 мМ до 50 мМ [145], а в пресинаптической области аксона до 21–62 мМ [146]. При интенсивных физических упражнениях соотношение внутриклеточных концентраций Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> в скелетной мышце возрастает в 5–10 раз [147, 148].

Кроме того, изменение внутриклеточной концентрации Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> наблюдается при некоторых патологиях. Иногда это обусловлено подавлением активности Na-насоса. Например, при сердечной недостаточности повышение внутриклеточной концентрации Na<sup>+</sup> наблюдается у животных [149, 150] и у человека [151]. Это может быть обусловлено нехваткой АТФ, необходимой для работы насоса (при каждом сокращении сердце потребляет до 2% от общего количества АТФ в сердечной мышце [151] или ингибированием Na,K-АТРаза за счет взаимодействия SH-групп фермента с окисленным глутатионом при гипоксии [152]). При гипоксии в гладкомышечных клетках сосудов наблюдается также 3-кратное повышение и 2-кратное уменьшение концентраций внутриклеточного Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> соответственно [153].

Внутриклеточная концентрация ионов Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> изменяется при некоторых патологиях и в невозбудимых тканях, в частности, при злокачественной трансформации [154]. Повышение внутриклеточной концентрации Na<sup>+</sup> в этом случае обусловлено активацией Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-антипортера, который обменивает один внутриклеточный H<sup>+</sup> на один внеклеточный Na<sup>+</sup>. Известно, что в раковых клетках происходит активация гликолиза, что в свою очередь увеличивает скорость функционирования одной из изоформ Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-антипортера (NHE1), который обеспечивает подщелачивание цитоплазмы и повышение

внутриклеточной концентрации  $\text{Na}^+$  [155, 156]. Кроме того, изменение внутриклеточного соотношения одновалентных катионов наблюдается в клетках эндотелия при их гиперосмотической стимуляции с помощью  $\text{NaCl}$  [157], этот процесс сопровождается увеличением активности  $\text{Na, K-ATPазы}$  [158].

## VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, экспериментальные данные показывают, что внутриклеточное соотношение концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  может изменяться в возбудимых интенсивно работающих тканях (нейроны, скелетные мышцы), в клетках, контактирующих с жидкостями с высокой концентрацией  $\text{Na}^+$  (эндотелий), а также при некоторых патологических состояниях (гипоксия, злокачественное перерождение). По-видимому, при патологиях изменение соотношения  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  будет достаточно устойчивым и затронет как цитоплазму, так и ядро. Эти изменения способны привести к нарушениям в конформации G-квадруплексов, находящихся в области промоторов  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -чувствительных генов, кодирующих регуляторы транскрипции (например, *Fos*), что повлечет за собой изменение экспрессии таких генов. При непродолжительной и неинтенсивной работе возбудимых клеток, где высока активность  $\text{Na, K-ATPазы}$ , изменение соотношения концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  будет скорее всего локальным и не затронет ядра, в частности, в нервной ткани оно в основном будет распространяться на пресинаптические зоны. В этом случае можно ожидать изменения в локальном синтезе белков в рибосомах этих зон, поскольку транспорт иРНК из ядра к синапсу осуществляется в виде рибонуклеопротеиновых комплексов, в которых транспортируемая иРНК также формирует квадруплексы. Изменение соотношения  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  может привести к изменению конформации G-квадруплексов в иРНК и к активации локального синтеза белков после проведения импульсов, что будет основой для долговременной активации синапса. Таким образом,  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , связываясь с G-квадруплексами, могут регулировать их конформацию и, по-видимому, транскрипцию и трансляцию. Однако эти предположения нуждаются в экспериментальной проверке.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

- Bacolla, A., Wells, R.D. (2004) Non-B DNA conformations, genomic rearrangements, and human disease, *The Journal of Biological Chemistry*, **279**, 47411–47414.
- Bochman, M.L., Paeschke, K., Zakian, V.A. (2012) DNA secondary structures, stability and function of G-quadruplex structures, *Nature Reviews Genetics*, **13**, 770–780.
- Phan, A.T. (2010) Human telomeric G-quadruplex: structures of DNA and RNA sequences, *The FEBS Journal*, **277**, 1107–1117.
- Davis, J.T. (2004) G-Quartets 40 Years Later: From 5'-GMP to Molecular Biology and Supramolecular Chemistry, *Angewandte Chemie International Edition*, **43**, 668–698.
- Williamson, J.R., Raghuraman, M.K., Cech, T.R. (1989) Monovalent cation-induced structure of telomeric DNA: The G-quartet model, *Cell*, **59**, 871–880.
- Zahn, M., Berthold, N., Kieslich, B., Knappe, D., Hoffmann, R., Sträter, N. (2013) Structural studies on the forward and reverse binding modes of peptides to the chaperone DnaK, *Journal of Molecular Biology*, **425**, 2463–2479.
- Webba da Silva, M. (2007) Geometric formalism for DNA quadruplex folding, *Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, **13**, 9738–9745.
- Lech, C.J., Heddi, B., Phan, A.T. (2013) Guanine base stacking in G-quadruplex nucleic acids, *Nucleic Acids Research*, **41**, 2034–2046.
- Li, X., Zheng, K., Zhang, J., et al. (2015) Guanine-vacancy-bearing G-quadruplexes responsive to guanine derivatives, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, 14581–14586.
- Marsico, G., Chambers, V.S., Sahakyan, A.B., et al. (2019) Whole genome experimental maps of DNA G-quadruplexes in multiple species, *Nucleic Acids Research*, **47**, 3862–3874.
- Rachwal, P.A., Brown, T., Fox, K.R. (2007) Effect of G-Tract Length on the Topology and Stability of Intramolecular DNA Quadruplexes, *Biochemistry*, **46**, 3036–3044.
- Harkness, R.W., Mittermaier, A.K. (2017) G-quadruplex dynamics, *Biochimica Et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics*, **1865**, 1544–1554.
- Ida, R., Wu, G. (2008) Direct NMR Detection of Alkali Metal Ions Bound to G-Quadruplex DNA, *Journal of the American Chemical Society*, **130**, 3590–3602.
- Balaratnam, S., Basu, S. (2015) Divalent cation-aided identification of physico-chemical properties of metal ions that stabilize RNA g-quadruplexes, *Biopolymers*, **103**, 376–386.
- Venczel, E.A., Sen, D. (1993) Parallel and antiparallel G-DNA structures from a complex telomeric sequence, *Biochemistry*, **32**, 6220–6228.
- Burge, S., Parkinson, G.N., Hazel, P., Todd, A.K., Neidle, S. (2006) Quadruplex DNA: sequence, topology and structure, *Nucleic Acids Research*, **34**, 5402–5415.
- Chung, W.J., Heddi, B., Schmitt, E., Lim, K.W., Mechulam, Y., Phan, A.T. (2015) Structure of a left-handed DNA G-quadruplex, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, 2729–2733.
- del Villar-Guerra, R., Trent, J.O., Chaires, J.B. (2018) G-Quadruplex Secondary Structure Obtained from Circular Dichroism Spectroscopy, *Angewandte Chemie International Edition*, **57**, 7171–7175.

19. Kumari, S., Bugaut, A., Huppert, J.L., Balasubramanian, S. (2007) An RNA G-quadruplex in the 5' UTR of the NRAS proto-oncogene modulates translation, *Nature Chemical Biology*, **3**, 218–221.
20. Vorlíčková, M., Kejnovská, I., Sagi, J., et al. (2012) Circular dichroism and guanine quadruplexes, *Methods (San Diego, Calif.)*, **57**, 64–75.
21. Joachimi, A., Benz, A., Hartig, J.S. (2009) A comparison of DNA and RNA quadruplex structures and stabilities, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **17**, 6811–6815.
22. Bang, I. (1910) Untersuchungen über die guanylsäure, *Biochemische Zeitschrift*, **26**, 293–311.
23. Gellert, M., Lipsett, M.N., Davies, D.R. (1962) Helix formation by guanylic acid, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **48**, 2013–2018.
24. Sen, D., Gilbert, W. (1988) Formation of parallel four-stranded complexes by guanine-rich motifs in DNA and its implications for meiosis, *Nature*, **334**, 364–366.
25. Mergny, J.-L., Lacroix, L. (2009) UV Melting of G-Quadruplexes, *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, **37**, 17.1.1-17.1.15.
26. Huppert, J.L., Balasubramanian, S. (2005) Prevalence of quadruplexes in the human genome, *Nucleic Acids Research*, **33**, 2908–2916.
27. Teng, F.-Y., Jiang, Z.-Z., Guo M., et al. (2021) G-quadruplex DNA, a novel target for drug design, *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, **78**, 6557–6583.
28. Chambers, V.S., Marsico, G., Boutell, J.M., Di Antonio, M., Smith, G.P., Balasubramanian, S. (2015) High-throughput sequencing of DNA G-quadruplex structures in the human genome, *Nature Biotechnology*, **33**, 877–881.
29. Schaffitzel, C., Berger, I., Postberg, J., Hanes, J., Lipps, H.J., Plückthun, A. (2001) In vitro generated antibodies specific for telomeric guanine-quadruplex DNA react with *Stylonychia lemnae* macronuclei, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**, 8572–8577.
30. Biffi, G., Tannahill, D., McCafferty, J., Balasubramanian, S. (2013) Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells, *Nature Chemistry*, **5**, 182–186.
31. Biffi, G., Di Antonio, M., Tannahill, D., Balasubramanian, S. (2014) Visualization and selective chemical targeting of RNA G-quadruplex structures in the cytoplasm of human cells, *Nature Chemistry*, **6**, 75–80.
32. Zafferani, M., Hargrove, A.E. (2021) Small molecule targeting of biologically relevant RNA tertiary and quaternary structures, *Cell Chemical Biology*, **28**, 594–609.
33. Monchaud, D., Teulade-Fichou, M.-P. (2008) A hitchhiker's guide to G-quadruplex ligands, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **6**, 627–636.
34. Yang, D., Okamoto, K. (2010) Structural insights into G-quadruplexes: towards new anticancer drugs, *Future Medicinal Chemistry*, **2**, 619–646.
35. Neidle, S. (2010) Human telomeric G-quadruplex: The current status of telomeric G-quadruplexes as therapeutic targets in human cancer, *The FEBS Journal*, **277**, 1118–1125.
36. Kim, M.-Y., Vankayalapati, H., Shinya, K., Wierzba, K., Hurley, L.H. (2002) Telomestatin, a Potent Telomerase Inhibitor That Interacts Quite Specifically with the Human Telomeric Intramolecular G-Quadruplex, *Journal of the American Chemical Society*, **124**, 2098–2099.
37. Sun, D., Thompson, B., Cathers, B.E. et al. (1997) Inhibition of human telomerase by a G-quadruplex-inter-

- active compound, *Journal of Medicinal Chemistry*, **40**, 2113–2116.
38. Moore, M.J.B., Schultes, C.M., Cuesta, J., et al. (2006) Trisubstituted Acridines as G-quadruplex Telomere Targeting Agents. Effects of Extensions of the 3,6- and 9-Side Chains on Quadruplex Binding, Telomerase Activity, and Cell Proliferation, *Journal of Medicinal Chemistry*, **49**, 582–599.
39. Kern J.T., Thomas, P.W., Kerwin, S.M. (2002) The Relationship between Ligand Aggregation and G-Quadruplex DNA Selectivity in a Series of 3,4,9,10-Perylenetetra-carboxylic Acid Diimides, *Biochemistry*, **41**, 11379–11389.
40. De Cian, A., DeLemos, E., Mergny, J.-L., Teulade-Fichou, M.-P., Monchaud, D. (2007) Highly Efficient G-Quadruplex Recognition by Bis-quinolinium Compounds, *Journal of the American Chemical Society*, **129**, 1856–1857.
41. Balasubramanian, S., Hurley, L.H., Neidle, S. (2011) Targeting G-quadruplexes in gene promoters: a novel anticancer strategy?, *Nature Reviews Drug Discovery*, **10**, 261–275.
42. Neidle, S. (2016) Quadruplex Nucleic Acids as Novel Therapeutic Targets, *Journal of Medicinal Chemistry*, **59**, 5987–6011.
43. Wu, S., Wang, L., Zhang, N., et al. (2016) A Bis(methylpiperazinylstyryl)phenanthroline as a Fluorescent Ligand for G-Quadruplexes, *Chemistry – A European Journal*, **22**, 6037–6047.
44. Umar, M.I., Ji, D., Chan, C.-Y., Kwok, C.K. (2019) G-Quadruplex-Based Fluorescent Turn-On Ligands and Aptamers: From Development to Applications, *Molecules*, **24**, 2416.
45. Di Antonio, M., Ponjavic, A., Radzevičius, A., et al. (2020) Single-molecule visualization of DNA G-quadruplex formation in live cells, *Nature Chemistry*, **12**, 832–837.
46. Hänsel-Hertsch, R., Di Antonio, M., Balasubramanian, S. (2017) DNA G-quadruplexes in the human genome: detection, functions and therapeutic potential, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **18**, 279–284.
47. Rigo, R., Palumbo, M., Sissi, C. (2017) G-quadruplexes in human promoters: A challenge for therapeutic applications, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, **1861**, 1399–1413.
48. Huppert, J.L., Balasubramanian, S. (2007) G-quadruplexes in promoters throughout the human genome, *Nucleic Acids Research*, **35**, 406–413.
49. Eddy, J., Maizels, N. (2008) Conserved elements with potential to form polymorphic G-quadruplex structures in the first intron of human genes, *Nucleic Acids Research*, **36**, 1321–1333.
50. Dolinnaya, N.G., Ogloblina, A.M., Yakubovskaya, M.G. (2016) Structure, properties, and biological relevance of the DNA and RNA G-quadruplexes: Overview 50 years after their discovery, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 1602–1649.
51. González, V., Guo, K., Hurley, L., Sun, D. (2009) Identification and characterization of nucleolin as a c-myc G-quadruplex-binding protein, *The Journal of Biological Chemistry*, **284**, 23622–23635.
52. Soemedi, R., Cygan, K.J., Rhine, C.L., et al. (2017) The effects of structure on pre-mRNA processing and stability, *Methods (San Diego, Calif.)*, **125**, 36–44.
53. Bugaut, A., Balasubramanian S. (2012) 5'-UTR RNA G-quadruplexes: translation regulation and targeting, *Nucleic Acids Research*, **40**, 4727–4741.
54. Beaudoin, J.-D., Perreault, J.-P. (2013) Exploring mRNA 3'-UTR G-quadruplexes: evidence of roles in both alternative polyadenylation

- and mRNA shortening, *Nucleic Acids Research*, **41**, 5898–5911.
55. Brázda, V., Hároníková, L., Liao, J.C.C., Fojta, M. (2014) DNA and RNA Quadruplex-Binding Proteins, *International Journal of Molecular Sciences*, **15**, 17493–17517.
  56. Kosiol, N., Juranek, S., Brossart, P., Heine, A., Paeschke, K. (2021) G-quadruplexes: a promising target for cancer therapy, *Molecular Cancer*, **20**, 40.
  57. Meier-Stephenson, V. (2022) G4-quadruplex-binding proteins: review and insights into selectivity, *Biophysical Reviews*, **14**, 635–654.
  58. Grasso, N., Graziano, R., Marzano, S., et al. (2023) Unveiling the interaction between DNA G-quadruplexes and RG-rich peptides, *International Journal of Biological Macromolecules*, **253**, 126749.
  59. Sun, H., Karow, J.K., Hickson, I.D., Maizels, N. (1998) The Bloom's syndrome helicase unwinds G4 DNA, *The Journal of Biological Chemistry*, **273**, 27587–27592.
  60. Crabbe, L., Verdun, R.E., Haggblom, C.I., Karlseder, J. (2004) Defective telomere lagging strand synthesis in cells lacking WRN helicase activity, *Science (New York, N.Y.)*, **306**, 1951–1953.
  61. Sarkies, P., Reams, C., Simpson, L.J., Sale, J.E. (2010) Epigenetic instability due to defective replication of structured DNA, *Molecular Cell*, **40**, 703–713.
  62. Wu, Y., Shin-ya, K., Brosh, R.M. (2008) FANCF helicase defective in Fanconi anemia and breast cancer unwinds G-quadruplex DNA to defend genomic stability, *Molecular and Cellular Biology*, **28**, 4116–4128.
  63. Li, Y., Syed, J., Suzuki Y., et al. (2016) Effect of ATRX and G-Quadruplex Formation by the VNTR Sequence on  $\alpha$ -Globin Gene Expression, *ChemBioChem*, **17**, 928–935.
  64. Valle-Orero, J., Rieu, M., Tran, P.L.T., et al. (2022) Strand switching mechanism of Pif1 helicase induced by its collision with a G-quadruplex embedded in dsDNA, *Nucleic Acids Research*, **50**, 8767–8778.
  65. Ling, X., Yao, Y., Ding, L., Ma, J. (2023) The mechanism of UP1 binding and unfolding of human telomeric DNA G-quadruplex, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms*, **1866**, 194985.
  66. Calcaterra, N.B., Armas, P., Weiner, A.M.J., Borgognone, M. (2010) CNBP: a multifunctional nucleic acid chaperone involved in cell death and proliferation control, *IUBMB life*, **62**, 707–714.
  67. David, A.P., Pipier, A., Pascutti F., et al. (2019) CNBP controls transcription by unfolding DNA G-quadruplex structures, *Nucleic Acids Research*, **47**, 7901–7913.
  68. Borgognone, M., Armas, P., Calcaterra, N.B. (2010) Cellular nucleic-acid-binding protein, a transcriptional enhancer of c-Myc, promotes the formation of parallel G-quadruplexes, *The Biochemical Journal*, **428**, 491–498.
  69. Takasugi, T., Gu, P., Liang, F., Staco, I., Chang, S. (2023) Pot1b<sup>-/-</sup> tumors activate G-quadruplex-induced DNA damage to promote telomere hyperelongation, *Nucleic Acids Research*, **51**, 9227–9247.
  70. Olson, C.L., Barbour, A.T., Wieser, T.A., Wuttke, D.S. (2023) RPA engages telomeric G-quadruplexes more effectively than CST, *Nucleic Acids Research*, **51**, 5073–5086.
  71. Niu, K., Zhang, X., Song, Q., Feng, Q. (2022) G-Quadruplex Regulation of VEGFA mRNA Translation by RBM4, *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, 743.
  72. Ginisty, H., Sicard, H., Roger, B., Bouvet, P. (1999) Structure and func-



- tions of nucleolin, *Journal of Cell Science*, **112**, 761–772.
73. Angelov, D., Bondarenko, V.A., Almagro S., et al. (2006) Nucleolin is a histone chaperone with FACT-like activity and assists remodeling of nucleosomes, *The EMBO Journal*, **25**, 1669–1679.
  74. He, T.-C., Sparks, A.B., Rago C., et al. (1998) Identification of c-MYC as a Target of the APC Pathway, *Science*, **281**, 1509–5012.
  75. Verdun, R.E., Karlseder, J. (2007) Replication and protection of telomeres, *Nature*, **447**, 924–931.
  76. Fernando, H., Rodriguez, R., Balasubramanian, S. (2008) Selective Recognition of a DNA G-Quadruplex by an Engineered Antibody, *Biochemistry*, **47**, 9365–9371.
  77. Wang, F., Podell, E.R., Zaug, A.J., et al. (2007) The POT1–TPP1 telomere complex is a telomerase processivity factor, *Nature*, **445**, 506–510.
  78. Ye, J.Z.-S., Hockemeyer, D., Krutchinsky, A.N., et al. (2004) POT1-interacting protein PIP1: a telomere length regulator that recruits POT1 to the TIN2/TRF1 complex, *Genes & Development*, **18**, 1649–1654.
  79. Mao, S.-Q., Ghanbarian, A.T., Spiegel, J., et al. (2018) DNA G-quadruplex structures mold the DNA methylome, *Nature Structural & Molecular Biology*, **25**, 951–957.
  80. Cree, S.L., Fredericks, R., Miller, A., et al. (2016) DNA G-quadruplexes show strong interaction with DNA methyltransferases in vitro, *FEBS Letters*, **590**, 2870–2883.
  81. Nakanishi, C., Seimiya, H. (2020) G-quadruplex in cancer biology and drug discovery, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **531**, 45–50.
  82. Wang, E., Thombre, R., Shah, Y., Lantanich, R., Wang, J. (2021) G-Quadruplexes as pathogenic drivers in neurodegenerative disorders, *Nucleic Acids Research*, **49**, 4816–4830.
  83. Ruggiero, E., Richter, S.N. (2020) Chapter Four - Viral G-quadruplexes: New frontiers in virus pathogenesis and antiviral therapy, In: Neidle S, ed. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Vol54. Academic Press, 2020, 101–131.
  84. Hänsel-Hertsch, R., Beraldi, D., Lensing, S.V., et al. (2016) G-quadruplex structures mark human regulatory chromatin, *Nature Genetics*, **48**, 1267–1272.
  85. Biffi, G., Tannahill, D., Miller, J., Howat, W.J., Balasubramanian, S. (2014) Elevated levels of G-quadruplex formation in human stomach and liver cancer tissues, *PLoS One*, **9**, e102711.
  86. Hänsel-Hertsch, R., Spiegel, J., Marsico, G., Tannahill, D., Balasubramanian, S. (2018) Genome-wide mapping of endogenous G-quadruplex DNA structures by chromatin immunoprecipitation and high-throughput sequencing, *Nature Protocols*, **13**, 551–564.
  87. Ruggiero, E., Richter, S.N. (2018) G-quadruplexes and G-quadruplex ligands: targets and tools in antiviral therapy, *Nucleic Acids Research*, **46**, 3270–3283.
  88. Carvalho, J., Mergny, J.-L., Salgado, G.F., Queiroz, J.A., Cruz, C. (2020) G-quadruplex, Friend or Foe: The Role of the G-quartet in Anticancer Strategies, *Trends in Molecular Medicine*, **26**, 848–861.
  89. Cimino-Reale, G., Zaffaroni, N., Folini, M. (2016) Emerging Role of G-quadruplex DNA as Target in Anticancer Therapy, *Current Pharmaceutical Design*, **22**, 6612–6624.
  90. Kim, N.W., Piatyszek, M.A., Prowse K.R. et al. (1994) Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer, *Science (New York, N.Y.)*, **266**, 2011–2015.

91. Zahler, A.M., Williamson, J.R., Cech, T.R., Prescott, D.M. (1991) Inhibition of telomerase by G-quartet DNA structures, *Nature*, **350**, 718–720.
92. Moye, A.L., Porter, K.C., Cohen, S.B., et al. (2015) Telomeric G-quadruplexes are a substrate and site of localization for human telomerase, *Nature Communications*, **6**, 7643.
93. Paeschke, K., Simonsson, T., Postberg, J., Rhodes, D., Lipps, H.J. (2005) Telomere end-binding proteins control the formation of G-quadruplex DNA structures in vivo, *Nature Structural & Molecular Biology*, **12**, 847–854.
94. Paudel, B.P., Moye, A.L., Assi, H.A., El-Khoury, R., Cohen, S.B., et al. (2020) A mechanism for the extension and unfolding of parallel telomeric G-quadruplexes by human telomerase at single-molecule resolution, *eLife*, **9**, e56428.
95. Tan, J., Lan, L. (2020) The DNA secondary structures at telomeres and genome instability, *Cell & Bioscience*, **10**, 47.
96. Zyner, K.G., Mulhearn, D.S., Adhikari, S., et al. (2019) Genetic interactions of G-quadruplexes in humans, *eLife*, **8**, e46793.
97. De, S., Michor, F. (2011) DNA secondary structures and epigenetic determinants of cancer genome evolution, *Nature Structural & Molecular Biology*, **18**, 950–955.
98. Siddiqui-Jain, A., Grand, C.L., Bearss, D.J., Hurley, L.H. (2002) Direct evidence for a G-quadruplex in a promoter region and its targeting with a small molecule to repress c-MYC transcription, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99**, 11593–11598.
99. Rankin, S., Reszka, A.P., Huppert, J., et al. (2005) Putative DNA Quadruplex Formation within the Human c-kit Oncogene, *Journal of the American Chemical Society*, **127**, 10584–10589.
100. Sun, D., Guo, K., Rusche, J.J., Hurley, L.H. (2005) Facilitation of a structural transition in the polypurine/polypyrimidine tract within the proximal promoter region of the human VEGF gene by the presence of potassium and G-quadruplex-interactive agents, *Nucleic Acids Research*, **33**, 6070–7080.
101. Dexheimer, T.S., Sun, D., Hurley, L.H. (2006) Deconvoluting the Structural and Drug-Recognition Complexity of the G-Quadruplex-Forming Region Upstream of the bcl-2 P1 Promoter, *Journal of the American Chemical Society*, **128**, 5404–5415.
102. Cogoi, S., Xodo, L.E. (2006) G-quadruplex formation within the promoter of the KRAS proto-oncogene and its effect on transcription, *Nucleic Acids Research*, **34**, 2536–2549.
103. Yang, D., Hurley, L.H. (2006) Structure of the Biologically Relevant G-Quadruplex in The c-MYC Promoter, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, **25**, 951–968.
104. Dang, C.V. (2012) MYC on the path to cancer, *Cell*, **149**, 22–35.
105. Lin, C.Y., Lovén, J., Rahl, P.B., et al. (2012) Transcriptional amplification in tumor cells with elevated c-Myc, *Cell*, **151**, 56–67.
106. Whitfield, J.R., Beaulieu, M.-E., Soucek, L. (2017) Strategies to Inhibit Myc and Their Clinical Applicability, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **5**.
107. Felsenstein, K.M., Saunders, L.B., Simmons, J.K., et al. (2016) Small Molecule Microarrays Enable the Identification of a Selective, Quadruplex-Binding Inhibitor of MYC Expression, *ACS Chemical Biology*, **11**, 139–148.
108. Boddupally, P.V.L., Hahn, S., Beman, C., et al. (2012) Anticancer Activity and Cellular Repression of c-MYC by the G-Quadruplex-Stabilizing

- 11-Piperazinylquinoline Is Not Dependent on Direct Targeting of the G-Quadruplex in the c-MYC Promoter, *Journal of Medicinal Chemistry*, **55**, 6076–86.
109. Varshney, D., Spiegel, J., Zyner, K., Tannahill, D., Balasubramanian, S. (2020) The regulation and functions of DNA and RNA G-quadruplexes, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **21**, 459–474.
110. Sato, K., Knipscheer, P. (2023) G-quadruplex resolution: From molecular mechanisms to physiological relevance, *DNA Repair*, **130**, 103552.
111. Lerner, L.K., Sale, J.E. (2019) Replication of G Quadruplex DNA, *Genes*, **10**, 95.
112. Bryan, T.M. (2019) Mechanisms of DNA Replication and Repair: Insights from the Study of G-Quadruplexes, *Molecules*, **24**, 3439.
113. De Magis, A., Manzo, S.G., Russo M. et al. (2019) DNA damage and genome instability by G-quadruplex ligands are mediated by R loops in human cancer cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **116**, 816–825.
114. Rodriguez, R., Miller, K.M., Forment, J.V., et al. (2012) Small-molecule-induced DNA damage identifies alternative DNA structures in human genes, *Nature Chemical Biology*, **8**, 301–310.
115. Salvati, E., Leonetti, C., Rizzo, A., et al. (2007) Telomere damage induced by the G-quadruplex ligand RHPS4 has an antitumor effect, *The Journal of Clinical Investigation*, **117**, 3236–3247.
116. Rodriguez, R., Müller, S., Yeoman, J.A., Trentesaux, C., Riou, J.-F., Balasubramanian, S. (2008) A Novel Small Molecule That Alters Shelterin Integrity and Triggers a DNA-Damage Response at Telomeres, *Journal of the American Chemical Society*, **130**, 15758–15759.
117. Paeschke, K., Capra, J.A., Zakian, V.A. (2011) DNA replication through G-quadruplex motifs is promoted by the *Saccharomyces cerevisiae* Pif1 DNA helicase, *Cell*, **145**, 678–691.
118. Wang, Y., Yang, J., Wild, A.T., et al. (2019) G-quadruplex DNA drives genomic instability and represents a targetable molecular abnormality in ATRX-deficient malignant glioma, *Nature Communications*, **10**, 943.
119. Lomen-Hoerth, C., Anderson, T., Miller, B. (2002) The overlap of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia, *Neurology*, **59**, 1077–1079.
120. Umoh, M.E., Dammer, E.B., Dai, J., et al. (2018) A proteomic network approach across the ALS-FTD disease spectrum resolves clinical phenotypes and genetic vulnerability in human brain, *EMBO molecular medicine*, **10**, 48–62.
121. Renton, A.E., Majounie, E., Waite, A., et al. (2011) A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD, *Neuron*, **72**, 257–268.
122. Fratta, P., Mizielińska, S., Nicoll, A.J., et al. (2012) C9orf72 hexanucleotide repeat associated with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia forms RNA G-quadruplexes, *Scientific Reports*, **2**, 1016.
123. Haeusler, A.R., Donnelly, C.J., Periz, G., et al. (2014) C9orf72 nucleotide repeat structures initiate molecular cascades of disease, *Nature*, **507**, 195–200.
124. Gitler, A.D., Tsuiji, H. (2016) There has been an awakening: Emerging mechanisms of C9orf72 mutations in FTD/ALS, *Brain Research*, **1647**, 19–29.
125. An, H., Shelkovernikova, T.A. (2019) Stress granules regulate paraspeckles: RNP granule continuum at work, *Cell Stress*, **3**, 385–387.

126. Boeynaems, S., Alberti, S., Fawzi, N.L., et al. (2018) Protein Phase Separation: A New Phase in Cell Biology, *Trends in Cell Biology*, **28**, 420–435.
127. Mackenzie, I.R., Rademakers, R., Neumann, M. (2010) TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia, *The Lancet. Neurology*, **9**, 995–1007.
128. Ishiguro, A., Kimura, N., Watanabe, Y., Watanabe, S., Ishihama, A. (2016) TDP-43 binds and transports G-quadruplex-containing mRNAs into neurites for local translation, *Genes to Cells*, **21**, 466–481.
129. Darnell, J.C., Jensen, K.B., Jin, P., Brown, V., Warren, S.T., Darnell, R.B. (2001) Fragile X mental retardation protein targets G quartet mRNAs important for neuronal function, *Cell*, **107**, 489–499.
130. Dichtenberg, J.B., Swanger, S.A., Antar, L.N., Singer, R.H., Bassell, G.J. (2008) A Direct Role for FMRP in Activity-Dependent Dendritic mRNA Transport Links Filopodial-Spine Morphogenesis to Fragile X Syndrome, *Developmental cell*, **14**, 926–939.
131. Muddashetty, R.S., Kelić, S., Gross, C., Xu, M., Bassell, G.J. (2007) Dysregulated Metabotropic Glutamate Receptor-Dependent Translation of AMPA Receptor and Postsynaptic Density-95 mRNAs at Synapses in a Mouse Model of Fragile X Syndrome, *Journal of Neuroscience*, **27**, 5338–5348.
132. Zalfa, F., Eleuteri, B., Dickson, K.S., et al. (2007) A new function for the fragile X mental retardation protein in regulation of PSD-95 mRNA stability, *Nature Neuroscience*, **10**, 578–587.
133. Goering, R., Hudish, L.I., Guzman, B.B., et al. (2020) FMRP promotes RNA localization to neuronal projections through interactions between its RGG domain and G-quadruplex RNA sequences, *eLife*, **9**, e52621.
134. Costa-Mattioli, M., Sossin, W.S., Klann, E., Sonenberg, N. (2009) Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory, *Neuron*, **61**, 10–26.
135. Darnell, J.C., Van Driesche, S.J., Zhang, C., et al. (2011) FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism, *Cell*, **146**, 247–261.
136. Didiot, M.-C., Subramanian, M., Flatter, E., Mandel, J.-L., Moine, H. (2009) Cells Lacking the Fragile X Mental Retardation Protein (FMRP) have Normal RISC Activity but Exhibit Altered Stress Granule Assembly, *Molecular Biology of the Cell*, **20**, 428–437.
137. Zhang, Y., Gaetano, C.M., Williams, K.R., Bassell, G.J., Mihailescu, M.R. (2014) FMRP interacts with G-quadruplex structures in the 3'-UTR of its dendritic target Shank1 mRNA, *RNA Biology*, **11**, 1364–1374.
138. Verkhatsky, A., Parpura, V., Vardjan, N., Zorec, R. (2019) Physiology of Astroglia, In: Verkhatsky A, Ho MS, Zorec R, Parpura V, eds. *Neuroglia in Neurodegenerative Diseases*. Singapore: Springer, 2019, 45–91.
139. Bhattacharyya, D., Mirihana, Archchilage, G., Basu, S. (2016) Metal Cations in G-Quadruplex Folding and Stability, *Frontiers in Chemistry*, **4**, 38.
140. Taurin, S., Dulin, N.O., Pchejetski, D., et al. (2002) c-Fos Expression in Ouabain-Treated Vascular Smooth Muscle Cells from rat Aorta: Evidence for an Intracellular-Sodium-Mediated, Calcium-Independent Mechanism, *The Journal of Physiology*, **543**, 835–847.
141. Koltsova, S.V., Trushina, Y., Haloui, M., et al. (2012) Ubiquitous [Na<sup>+</sup>]

- i/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-Sensitive Transcriptome in Mammalian Cells: Evidence for Ca<sup>2+</sup>-Independent Excitation-Transcription Coupling, *PLOS ONE*, **7**, e38032.
142. Klimanova, E.A., Sidorenko, S.V., Tverskoi, A.M., et al. (2019) Search for Intracellular Sensors Involved in the Functioning of Monovalent Cations as Secondary Messengers, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1280–1295.
143. Klimanova, E.A., Sidorenko, S.V., Abramicheva, P.A., Tverskoi, A.M., Orlov, S.N., Lopina, O.D. (2020) Transcriptomic Changes in Endothelial Cells Triggered by Na,K-ATPase Inhibition: A Search for Upstream Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> Sensitive Genes, *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 7992.
144. Skou, J.C. (1965) Enzymatic Basis for Active Transport of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> Across Cell Membrane, *Physiological Reviews*, **45**, 596–618.
145. Rose, C.R., Konnerth, A. (2001) NMDA Receptor-Mediated Na<sup>+</sup> Signals in Spines and Dendrites, *Journal of Neuroscience*, **21**, 4207–4214.
146. Zhu, Y., Li, D., Huang, H. (2020) Activity and Cytosolic Na<sup>+</sup> Regulate Synaptic Vesicle Endocytosis, *Journal of Neuroscience*, **40**, 6112–6120.
147. Kapilevich, L.V., Kironenko, T.A., Zaharova, A.N., Kotelevtsev, Y.V., Dulin, N.O., Orlov, S.N. (2015) Skeletal muscle as an endocrine organ: Role of [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-mediated excitation-transcription coupling, *Genes & Diseases*, **2**, 328–336.
148. Kironenko, T.A., Milovanova, K.G., Zakharova, A.N., et al. (2021) Effect of Dynamic and Static Load on the Concentration of Myokines in the Blood Plasma and Content of Sodium and Potassium in Mouse Skeletal Muscles, *Biochemistry (Moscow)*, **86**, 370–381.
149. Despa, S., Islam, M.A., Weber, C.R., Pogwizd, S.M., Bers, D.M. (2002) Intracellular Na<sup>+</sup> Concentration Is Elevated in Heart Failure But Na/K Pump Function Is Unchanged, *Circulation*, **105**, 2543–2548.
150. Pogwizd, S.M., Sipido, K.R., Verdondck, F., Bers, D.M. (2003) Intracellular Na in animal models of hypertrophy and heart failure: contractile function and arrhythmogenesis, *Cardiovascular Research*, **57**, 887–896.
151. Pieske, B., Maier, L.S., Piacentino, V., Weisser, J., Hasenfuss, G., Houser, S. (2002) Rate Dependence of [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> and Contractility in Non-failing and Failing Human Myocardium, *Circulation*, **106**, 447–453.
152. Petrushanko, I.Y., Yakushev, S., Mitkevich, V.A., et al. (2012) S-glutathionylation of the Na,K-ATPase catalytic  $\alpha$  subunit is a determinant of the enzyme redox sensitivity, *The Journal of Biological Chemistry*, **287**, 32195–32205.
153. Koltsova, S.V., Shilov, B., Birulina, J.G., et al. (2014) Transcriptomic Changes Triggered by Hypoxia: Evidence for HIF-1 $\alpha$ -Independent, [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>/[K<sup>+</sup>]<sub>i</sub>-Mediated, Excitation-Transcription Coupling, *PLoS ONE*, **9**, e110597–e110597.
154. Weisburger, J.H. (1994) Vitamins and Minerals in the Prevention and Treatment of Cancer, *Journal of the American College of Nutrition*, Hinsdale, Illinois, United States. **13**, 211–212.
155. Reshkin, S.J., Cardone, R.A., Harguindey, S. (n.d.) Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> Exchanger, pH Regulation and Cancer, *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, **8**, 85–99.
156. Boardman, L., Huett, M., Lamb, J.F., Newton, J.P., Polson, J.M. (1974) Evidence for the genetic control of the sodium pump density in HeLa cells, *The Journal of Physiology*, **241**, 771–794.

- 
157. Shiyan, A.A., Sidorenko, S.V., Fedorov, D., et al. (2019) Elevation of Intracellular Na<sup>+</sup> Contributes to Expression of Early Response Genes Triggered by Endothelial Cell Shrinkage, *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, **53**, 638–647.
158. Fedorov, D.A., Sidorenko, S.V., Yusipovich, A.I., et al. (2021) Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> imbalance contributes to gene expression in endothelial cells exposed to elevated NaCl, *Heliyon*, **7**, e08088.