

## ОДИН АНЦЕСТРАЛЬНЫЙ ДОМЕН – МНОЖЕСТВО БОЛЕЗНЕЙ?

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»

---

*SMN-ген (survival motor neuron gene) был идентифицирован как ген, ответственный за развитие трёх форм спинальной мышечной атрофии (СМА) – патологии, при которой клеточная гибель, возможно по механизму апоптоза, приводит к недостатку моторных нейронов в спинном мозге и стволовых структурах. В дальнейшем было установлено, что мультифункциональный белок, считанный с этого гена, необходим для развития и жизнедеятельности многих организмов, включая человека. Благодаря протяженной инвертированной дупликации, имевшей место более 5 миллионов лет назад перед разделением линии человека и шимпанзе, и последующего мутирования одной из образованных таким образом копий, у человека имеется два гена, локализованные в области q13 пятой хромосомы – теломерный (SMN1 или SMNt) и центромерный (SMN2 или SMNc). И хотя эти гены имеют почти сходное строение, каждый из них продуцирует различное количество альтернативно сплайсируемых транскриптов: основным производным SMN1 является транскрипт полной длины, в то время как основной транскрипт SMN2 – это транскрипт без экзона 7. У подавляющего большинства пациентов со СМА SMN1-ген делеционно изменён либо отсутствует. И хотя в настоящее время считается, что моторные нейроны особенно чувствительны к таким мутационным изменениям, показано также, что редукция полноразмерного белка негативно влияет на развитие и функционирование других органов и тканей.*

*Полноразмерный белок имеет длину в 294 аминокислоты, и состоит из нескольких доменов. Установлено, что SMN регулирует многие аспекты метаболизма РНК, а также задействован в других важных для жизнедеятельности организмов процессах, таких, например,*

как репарация ДНК, клеточный сигналинг, функционирование митохондрий. Функциональная способность SMN дополняется наличием и правильным действием его многочисленных белков-партнёров по формированию разнообразных белковых комплексов. SMN принадлежит к классу белков, содержащих tudor-домен. Кодирован этот домен экзоном 3.

Для лучшего понимания патогенеза СМА и некоторых других заболеваний, в данной работе мы попытались проанализировать данные относительно других белков, содержащих домен «Tudor».

**Ключевые слова:** SMN-ген, Tudor-домен, экзэнцефалия, рак молочной железы, лёгкие.

**V. P. Sokolnik**

### **ONE ANCESTRAL DOMAIN – MANY DISEASES?**

*The survival of motor neurons (SMN) gene has been identified as the disease-causing gene in all three forms of spinal muscular atrophy (SMA). The multifunctional SMN protein is required for the survival of many organisms. Due to a large inverted duplication located at chromosome 5q, the human genome contains two SMN genes (SMN1, telomeric copy; SMN2, centromeric copy). Although the two genes are nearly identical and contain nine exons, each gene produces different amounts of alternatively spliced transcripts, the full-length transcript being the major product of SMN1 and a transcript lacking exon 7 being the major product of SMN2. SMA results from homozygous deletions or mutations in SMN1. Motor neurons are particularly sensitive to the loss of SMN, although reduced SMN affects non-neuronal tissues, including muscle, heart, lungs, intestine and testis.*

*Human SMN contains 294 amino acids and harbors multiple domains, including N-terminal lysine-rich region, central Tudor domain and C-terminal proline-rich and YG domains. SMN impacts various aspects of RNA metabolism through the formation of ribonucleoprotein (RNP) complexes or interaction with their components. SMN plays an important role in DNA repair, transcription, pre-mRNA splicing, histone mRNA processing, translation, selenoprotein synthesis, macromolecular trafficking, stress granule formation, cell signaling and cytoskeleton maintenance. SMN functions are dictated by the variety and the abundance of its interacting partners. To a better understanding of SMA and other pathological conditions, here we reviewed reports that provide insights into other tudor domain containing proteins, mainly SMN functional neighbors in both – the building of nucleoprotein granules or involvement in pathological development.*

**Key words:** SMN, Tudor-domain, exencephaly, breast cancer, lung.

Первоначально Tudor-домен был открыт у дрозофилы, как локус, функция которого состоит в регуляции эмбрионального развития и фертильности. Позже белки, имеющие такие домены, обнаружены у многих организмов, включая человека (Simple Modular Architecture Research Tools, <http://smart.embl.de/>). Типичными представителями семейства белков, содержащих этот домен (TDRDs – tudor domain containing proteins), являются белки, считанные с генов SMN (survival motor neuron gene).

SMN-ген идентифицирован группой французских исследователей, возглавляемой J. Melki и A. Munnich, в 1995 г. как детерминирующий ген для спинальной мышечной атрофии (СМА) – патологии, при которой клеточная гибель, возможно по механизму апоптоза, приводит к недостатку моторных нейронов в спинном мозге и стволовых структурах [1, 2]. Заболевание характеризуется высокой клинической вариабельностью и проявляется мышечной атрофией и слабостью. И хотя в настоящее время установлено,

что моторные нейроны особенно чувствительны к недостатку полноразмерных белков, считанных с генов SMN, мутации, приводящие к этому, по видимому, негативно влияют на развитие и функционирование других органов и тканей, включая сердечно-сосудистую и костную ткани, лёгкие, печень, поджелудочную железу, кишечник, селезёнку и яичко [3, 4].

В геноме человека SMN-гены локализованы в локусе q13 пятой хромосомы – крайне нестабильной области генома из-за наличия большого количества транспозонных элементов, транскрибируемых псевдогенов и копий микросателлитной ДНК [5, 6]. Они представляют собой две почти одинаковые паралогичные копии – SMN1 (SMNt) и SMN2 (SMNc). Оба гена имеют по 9 экзонов. В норме оба гена транскрибируются. Нуклеотидные последовательности SMN1 и SMN2 идентичны почти полностью, однако, SMN2-ген продуцирует, главным образом, транскрипт, теряющий экзон 7 (SMN delta 7). Причиной этого факта является замена нуклеотида 840С на Т внутри

экзона 7 в гене SMN2. Данная замена приводит к альтернативному сплайсингу, в результате чего только незначительное количество транскриптов SMN2 являются полноразмерными, содержат экзон 7 и не отличаются от мРНК полной длины, считанных с гена SMN1. Полноразмерные транскрипты генов SMN1 и SMN2 содержат стоп-кодон в экзоне 7 и кодируют белок длиной в 294 аминокислоты [7–11]. Имеющаяся информация свидетельствует, что кроме экзона 7 дифференциально сплайсируются также экзоны 3 и 5, причем транскрипты, в которых эти экзоны отсутствуют, транскрибируются главным образом из SMNc, в то время как мРНК полной длины являются продуктами обеих копий [7]. Подавляющее большинство пациентов со СМА имеют делеционные изменения гена SMN1, хотя информация о точных местах точек разрыва в большинстве случаев отсутствует. Предполагается, что наличие большого количества транспозонных элементов способствует механизмам возникновения делеций. Вероятно также, что, например, Alu-повторы в этом гене способствуют *de novo* мутациям в стволовых и прогениторных герментативных клетках [6].

Выделяют три структурных и, возможно, функциональных домена в SMN-белке полной длины: N-терминальный домен; центральный домен, содержащий tudor-домен, фланкированный на N-терминальном конце лизинобогатой областью (K-rich), а на C-терминальном – пролинобогатой участком (P-rich); C-терминальный домен, включающий в себя тирозин-глициновый бокс (YG-box) и участок, кодируемый экзоном 7 [8].

Считается, что ключевой функцией SMN-белка является биогенез малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП). SMN имеет отношение к формированию многих других клеточных РНП, содержащих кодирующие и некодирующие РНК, и играет существенную роль в транскрипции и посттранскрипционной регуляции генной экспрессии [8–10]. SMN имеет также отношение к ядерно-цитоплазматическому транспорту, апоптозу, репарации ДНК, формированию теломеразного комплекса и стресс-гранул, клеточному сигналингу, эндоцитозу и автофагии, регуляции митохондриальной активности, участвует в формировании нервно-мышечных соединений и аксональном транспорте мРНК [3]. Недавно опубликованы данные, указывающие на то, что, возможно, SMN ассоциирован с PRC2 (Polycomb Repressive Complex 2) в различных клеточных линиях в разной степени и участвует в регуляции собственной экспрессии

через PRC2-опосредованную эпигенетическую модуляцию [11]. Известно, что белки поликомбовых комплексов составляют семейство транскрипционных репрессоров, играющих существенную роль в развитии организмов и в биологии стволовых клеток [12, 13]. Получены также данные, указывающие на то, что SMN имеет отношение к регуляции пролиферации и дифференцировки стволовых клеток в процессах развития нервной системы и других органов [4, 14].

И хотя первичным патоморфологическим дефектом СМА считается гибель моторных нейронов спинного мозга и ствола, вторично приводящая к атрофии мышц и респираторной недостаточности, полученные на СМА-модельных животных данные позволили предположить, что дефект гена SMN имеет отношение к цитологическим изменениям в других отделах ЦНС, например, в конечном мозге и сетчатке глаза. Кроме того, этот дефект может реализоваться в лёгких, поджелудочной железе, печени, сердце и стать причиной их нарушенного функционирования, что, в свою очередь, детерминирует тяжесть клинического течения заболевания [15–20]. Кроме этого анализ скелетных осложнений у пациентов со СМА, скелетных аномалий у СМА-модельных животных, а также изучение данных по экспрессии SMN-белков и их сигналингу позволили исследователям сделать вывод о функциональной роли SMN в развитии костной системы [19].

Ранее нами выявлено отсутствие экзона 7 в гене SMNc у плода первого триместра с экзэнцефалией. Кроме этого, в родословной семьи имелись такие заболевания, как спинно-мозговая грыжа, врождённый порок сердца (у отца данного плода), рак молочной железы в родословной со стороны матери. В то время нам не удалось обнаружить аналогичные данные в доступной литературе. В подобных исследованиях нельзя исключить методические просчёты, связанные с потерей чувствительности методов. Тем не менее, для ответа на вопрос, действительно ли такое генетическое изменение могло бы способствовать развитию заболеваний, имеющих в родословной данной семьи, мы решили проанализировать литературу относительно функциональных нагрузок других белков, содержащих домен Tudor. SMN относится к семейству белков TDRD (tudor domain containing proteins), а его tudor-домен, как было отмечено выше, располагается в центральной части белка и кодируется экзоном 3. Основанием для такого анализа, на наш взгляд,

могут являться данные, указывающие на то, что некоторые из этих белков локализируются вместе с SMN в одних и тех же мультибелковых комплексах и задействованы в одних и тех же внутриклеточных процессах.

### Функциональные свойства белков TDRDs

Как уже было отмечено выше, локус «tudor» был открыт как ген необходимый для сборки полярной плазмы в процессе оогенеза у мушки *Drosophila subobscura* в 1948 году. Позже было показано, что у он задействован в детерминации/образовании примордиальных герментативных клеток и в нормально протекающих процессах эмбриональной абдоминальной сегментации [21].

В настоящее время установлено, что белки, содержащие домен tudor, как правило, входят в состав различных мультибелковых комплексов и являются многофункциональными. Показано, что они вовлечены в процессы, регулирующие структуру хроматина, процессинг proPНК, сборку сплайсосом, PНК-интерференцию (iPНК). Многие TDRD-белки, также как и SMN, имеют отноше-

ние к функционированию и сборке транскрипционных комплексов, к сборке и активности spoPНК (малые ядрышковые PНК), к функционированию теломеразного комплекса, задействованы в процессах репарации ДНК. Предполагается, что посредством этой активности TDRD-белки, включая и SMN, могут влиять на различные аспекты развития организмов: деление клеток, дифференцировку, включая гаметогенез, геномную стабильность. Мутации, затрагивающие данный домен, или изменения в экспрессии этих белков могут приводить к развитию многих заболеваний, в том числе болезней развития, нейродегенеративных и злокачественных патологий [22].

В таблице приведены цитогенетические сведения и данные молекулярных исследований некоторых TDRD при дефектах нервной трубки и раке молочной железы. Спектр этих заболеваний мы выбрали потому, что они присутствовали в родословной семьи, где мы наблюдали дефект SMN. Известно также, что респираторная недостаточность приводит к гибели пациентов со СМА, поэтому данные об аномалиях в лёгких были также включены.

**Таблица. Tudor-домен кодирующие гены, их хромосомная локализация, информация о цитогенетических аномалиях, затрагивающих данные участки генома, а также данные о молекулярных дефектах, при некоторых патологических состояниях**

Ген	ХЛГ	ЛХП	ДНТ	РМЖ	ЛП	Лит
TDRD3	13q21.2	13q21.2qter моносомия	Анэнцефалия	Hetloss	В клеточной линии VM-RC-LCD аденокарциномы лёгких отсутствуют оба аллеля TDRD3	23, 24, 25
PCDH20?	13q21.2					25
TDRD4 (RNF17)	13q12.12	13q12/qter моносомия	Энцефалоцеле	Hetloss		24, 26
BRCA2?	13q12-13					
TDRD20B (PHF20L1)	8q24.22	Трисомия 8, тетрасомия 8		Amp, overexp	PPB	27
MKS3?	8q22.1	Mut	Экзэнцефалия			28
ARID4B	1q42.1-q43	1q42qter трисомия		Amp, overexp		27
TDRD21 (SETDB1)	1q21.3			Amp, overexp	Amp, overexp при раках лёгких	27, 29
TDRD18 (LBR)	1q42.12	1q42qter трисомия (в сочетании с моносомным сегментом 13q21qter); 1q42.13qter трисомия (в сочетании с моносомным сегментом 13q32.1qter); 1q42.1qter трисомия (в сочетании с моносомией 8p23.3)	Экзэнцефалия/акрания;  энцефалоцеле;  макроцефалия	Amp, overexp		24, 30, 27
TDRD2 (TDRKH)	1q21.3			Amp, overexp		27

Ген	ХЛГ	ЛХП	ДНТ	РМЖ	ЛП	Лит
TDRD10	1q21.3			Amp, overexp		27
TDRD5	1q25.2			Amp, overexp		27
TDRD 16A (SMN1)	5q13.2			Hom del	Респираторная недостаточность	27
TDRD 16B (SMN2)	5q13.2			Hom del		27
HNRNPQ ?					Ассоциация между HNRNPQ аллелям rs16876385-С и раком лёгких	31
TDRD14A (JMJD2A, KDM4A)	1p34.2-p34.1			Overexp		27, 32
TDRD14B (JMJD2B, KDM4B)	19p13.3			Overexp		27, 32
TDRD14C (JMJD2C KDM4C)	9p24.1			Amp, overexp		27, 32
TDRD22 (UHRF1)	19p13.3			Overexp	Overexp при раке лёгких	33
TDRD23 (UHRF2)	9p24.1					27
TDRD30(TP53BP1)	15q15.3			Mut		27
TDRD 11 (SND1)	7q32.1			Overexp	Регулирует экспрессию генов, связанных с образованием метастазов и химиорезистентностью при раке лёгких	34

Примечания: ХЛГ – хромосомная локализация гена, ЛХП – локализация хромосомных повреждений, ДНТ – дефекты нервной трубки, РМЖ – рак молочной железы, ЛП – повреждения в лёгких, Amp – амплификация, Overexp – повышенный уровень экспрессии, Hetloss – гетерозиготная делеция, Mut – мутация, ? – гены, расположенные в тех же локусах и имеющие отношение к заболеваниям, перечисленным в таблице; TDRD – tudor domain containing protein, PPB – плеврально-блестящая бластома. Сокращённое название генов (в скобках приведены другие известные названия): TDRD3, TDRD4 (RNF17 – ring finger protein 17), TDRD20B (PHF20L1 – PHD finger protein 20-like1), TDRD21 (SETDB1 – SET domain bifurcated 1), TDRD18 (LBR – lamin B receptor), TDRD2 (TDRKH – tudor and KH domain containing), TDRD 16A (SMN1 – survival of motor neuron 1, telomeric), TDRD 16B (SMN2 – survival of motor neuron 2, centromeric), ARID4B (AT rich interactive domain-containing protein 4B), TDRD23 (UHRF2 – ubiquitin-like with PHD and RING finger domains 2), TDRD30 (TP53BP1 – tumor protein p53 binding protein 1), TDRD14A (JMJD2A, KDM4A, lysine demethylase 4A), TDRD14B (JMJD2B, KDM4B, lysine demethylase 4B), TDRD14C (JMJD2C, KDM4C, lysine demethylase 4C), MKS (Meckel – Gruber syndrome, TMEM 67 – transmembrane protein 67), HNRNPQ (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q), PCDH20 (protocadherin 20).

### TDRD и дефекты развития нервной системы

С эмбриологической точки зрения, экзэнцефалия – это порок развития, когда дефекты в смыкании нервной пластинки в головном отделе эмбриона приводят к гиперпролиферации недифференцированной нервной ткани и последующей ее дегенерации. По общепринятому мнению медицинской общественности у человека следствием экзэнцефалии является анэнцефалия, а в медицинской литературе порок обычно классифицируют как экзэнцефалия/анэнцефалия/акrania. Имеются данные, позволяющие предположить, что клинические проявления некоторых форм СМА могут также являться результатом несостоявшегося должным образом нейрогенеза [2, 14, 15].

Около 70 случаев дефектов нервной трубки (ДНТ), сочетающихся с дистальной моносо-

мией 13q, имеется в литературе [24]. Как видно из таблицы, по крайней мере два TDRD-гена расположены в данной области – это TDRD3 в локусе 13q21.2 и TDRD4 (RNF17) в локусе 13q12.12. На основании цитогенетических данных, можно предположить, что эти гены могли бы иметь отношение к дефектам нервной трубки. Так, TDRD3 (tudor domain containing protein 3) – это мультидоменный белок, часто локализующийся на промоторах активно транскрибируемых генов. В своей структуре содержит ОВ-домен (oligonucleotide-binding fold domain), локализованный в N'-терминальной области, UBA-домен (ubiquitin-associated), и Tudor в C'-участке. Локализуется в ядре и цитоплазме, прочитывает метки метилированного аргинина в гистонах H3R17me2a и H4R3me2a [35]. Также показано, что TDRD3 ассоциируется с C-терминальным доменом РНК-полимеразы II и является компонентом комплекса топоизомеразы 3β (TOP3β),

где TDRD3 играет роль своеобразного молекулярного моста между TOP3β и метилированными по аргинину гистонами (преимущественно H4R3me2a). TOP3β относится к подклассу 1A ДНК-топоизомераз, которые вовлечены в демонтаж R-петель – структур нуклеиновых кислот, образованных гибридами РНК/ДНК. Так как нарушения в регуляции формирования R-петель способствуют развитию ряда нейродегенеративных заболеваний, исследователи полагают, что увеличение количества этих структур при отсутствии TDRD3 может способствовать патогенезу таких заболеваний [23, 36]. TOP3β является также компонентом рибонуклеопротеинового комплекса матричной РНК (мРНК) в цитоплазме. Рекрутирование TOP3β на РНК сопровождается корекрутированием белка FRMP (fragile X mental retardation protein) – генного продукта, имеющего отношение к синдрому FXS (fragile X mental retardation syndrome). В норме FRMP ингибирует трансляцию нейрональных мРНК. Отсутствие этого белка при FXS приводит к изменению в характере экспрессии этих РНК. Предполагается, что механизм для рекрутирования FRMP и TOP3β на мРНК обеспечивает TDRD3, который является объединяющим фактором при формировании гетеромерного TTF (TOP3β-TDRD3-FMRP)-комплекса. TDRD3 способен прочесть метки ассиметрично диметилированного аргинина в С-терминальном домене РНК-полимеразы II и в хвостах гистонов H3 и H4 и способствует формированию гетеродимерного комплекса TDRD3-TOP3β на транскрипционных стартовых сайтах, а после присоединения FRMP содействует переносу гетеротримерного комплекса TTF на РНК и обеспечивает формирование на ней комплекса EJC (exon junction complex) [23]. Предполагается, что TOP3β, FMRP и TDRD3 работают вместе и в составе комплекса на полирибосомах, где регулируют трансляцию мРНК, важных для развития нервной системы. Нарушение этих взаимодействий приводит к развитию шизофрении и аутизма [37].

SMN (TDRD 16A) также имеет отношение к регуляции формирования R-петель. Недавно установлено, что симметрично диметилированный остаток аргинина (R1810me2s) в карбокситерминальном домене РНК-полимеразы II рекрутирует SMN. SMN взаимодействует также с сенаксинном. Предполагается, что R1810me2s, SMN и сенаксин являются компонентами пути R-loop и контролируют терминацию транскрипции. Дефекты этого механизма также могут способство-

вать развитию нейродегенеративных заболеваний [38].

Ещё одним геном, который локализован в местах хромосомных перестроек, приводящих к дефектам нервной трубки, является ген TDRD4 (RNF17), расположенный в локусе 13q12.12. В структуре белков, считанных с этого гена, содержится 4 Tudor домена, домен RING finger и домен PfamTudor (база данных SMART и HUGO Gene Nomenclature Committee). Наиболее известной из экспериментальных исследований функцией этого белка является биогенез рiРНК (PIWI-взаимодействующие РНК), которые регулируют активность транспозонных элементов (TE) во время сперматогенеза [39]. Установлено, что компоненты биогенеза рiРНК присутствуют также и в мозге млекопитающих. Так, экспрессия RNF17 имеет место в гиппокампе и префронтальной коре – двух из известных мест локализации нейрональных стволовых клеток у взрослых организмов. В этих отделах мозга обнаружены и другие белки из семейства TDRD, а именно Tdrd1 (10q25.3), Tdrd9 (14.q32.33), Tdrd6 (6p12.3), Tdrd5 (1q25.2), Tdrd12, (19q13.11), Tdrkh (1q21.3) [40]. Показано, что RNF17 градиентно экспрессируется по мере дифференцировки стволовых клеток и имеют отношение к регуляции, как пролиферации этих клеток, так и дифференцировки их потомков у насекомых и млекопитающих, включая человека. Сходными свойствами обладает и SMN [14, 41].

На основании имеющихся цитогенетических данных [24] можно предположить, что дисбаланс ещё двух генов, кодирующих белки из семейства TDRD, которые расположены в локусе q42 хромосомы 1, также может быть предрасполагающим фактором к дефектам нервной трубки. Этими генами являются ARID4B и TDRD18 (LBR).

### **Роль TDRDs в механизмах развития и канцерогенеза**

В настоящее время установлено, что изменённая регуляция некоторых TDRD-белков имеет место при различных формах злокачественных новообразований. Так, при раке молочной железы установлена оверэкспрессия KDM4A, KDM4B, KDM4C [27, 32]. При этом показано, что KDM4C (TDRD 14C) амплифицирован и имеет повышенную экспрессию при наиболее агрессивном базально-подобном раке молочной железы, где он функционирует как трансформирующий онкоген [27]. KDM4A, KDM4B, KDM4C – это лизин-специфичные деметилазы. В структуре белков

KDM4 наряду с 2-мя Tudor-доменами и доменом JmjC (jumonji C), имеются домены JmjN (jumonji N) и 2 PHD (plant homeodomain). Tudor-домены этих белков необходимы для присоединения к метилированным лизиновым остаткам гистонов H3K4, H3K9 и H4K20, а домены JmjC и JmjN наделяют белки деметилазной активностью по отношению к триметилированным лизиновым остаткам гистонов H3K9 и H3K36 [22]. Имеются экспериментальные данные, указывающие на то, что дефицит гена Kdm2B (Fbxl10 – F-box and leucine-rich repeat protein 10), который относится к семейству деметилаз, содержащих домен JmjC, приводит к развитию экзэнцефалии. Предполагается, что Fbxl10 вносит значительный вклад в эмбриональное развитие нервной трубки, так как регулирует клеточную пролиферацию и гибель. И хотя этот ген не содержит домен TDRD, белок обладает деметилазной активностью по отношению к H3K4me3 и H3K6me1-2. Гистоновою метку H3K4me3 способны прочесть некоторые из TDRD-белков, например, TDRD14A, TDRD24, TDRD29.

Соответственно, ARID4B (AT rich interactive domain-containing protein 4B) сверхэкспрессируется в (ER)-позитивном (estrogen receptor-positive) раке и, по-видимому, может быть использован как предиктор развития метастатической болезни [27, 42].

UHRF1 (ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains – TDRD22) также имеет изменённую экспрессию при различных онкологических заболеваниях. В своём составе кроме tandemного Tudor-домена этот белок содержит и другие консервативные домены, такие как ubiquitin-like domain (UBL – ubiquitin-like), PHD finger, SRA-домен (SET- and RING-associated) и RING-домен. Известно, что Tudor-домена прочитывает посттрансляционную модифицированную гистоновою метку H3K9me3 и присоединяется к ней с высокой степенью аффинности, обеспечивая доставку DNMT1 (DNA methyltransferase 1) к гетерохроматину и метилирование ДНК. Предполагается, что и UHRF2 (ubiquitin-like with PHD and RING finger domains 2 – TDRD23) может иметь отношение к регулированию клеточной пролиферации при раке молочной железы, так как задействован в эпигенетическом контроле ингибиторов клеточного цикла [27].

Недавно были опубликованы данные геномного и транскрипционного анализа 41 TDRD-гена при раке молочной железы по базам данных TCGA и METABRIC. Была идентифицирована ассоциация между изменениями в количестве копий,

генной экспрессии, клинико-патологическими особенностями и продолжительностью жизни пациентов. Показано, что 7 TDRD-генов (PHF20L1, ARIB4B, SETDB1 (set domain bifurcated 1 – TDRD 21), LBR, TDRKH, TDRD10, и TDRD5) имели высокий уровень амплификации (более чем в 10 % раков молочной железы по базе данных TCGA). Шесть из этих генов расположены в q локусе хромосомы 1. При этом PHF20L1 имел наибольшую частоту амплификации (17,62 %), SMN1 и SMN2 имели наибольшую частоту гомозиготных делеций (1,46 %), а TP53BP1 наиболее часто мутировал (1,46 %). Следует отметить, что амплификация и сверхэкспрессия PHF20L1 преобладали в базальноподобном и ламинальном (подтип В) раках молочной железы и были связаны со значительно более коротким промежутком жизни пациентов. Этими же исследователями проанализировано 29 клеточных линий рака молочной железы, содержащие клетки с shPHK (short hairpin RNAs; для этих shPHK мишенью являлись гены TDRD). Показано, что такие клетки более чем в 10 из 29 анализируемых клеточных линий значительно подавлялись со временем в клеточной популяции. Наиболее частой мишенью для shPHK в этих клеточных линиях становились гены PHF20L1, TDRD3, SMN1, SMN2, SMNDC1. PHF20L1-белок содержит N-терминальный tudor and C-терминальный домен PHD (plant homeodomain domain). По мнению авторов работы tudor-домен, вероятно, играет критическую роль в канцерогенезе, так как может принимать участие в регуляции метилирования ДНК, стабилизируя ДНК-метилтрансферазу (DNMT1) при раке молочной железы [27].

Таким образом, многие гены, кодирующие TDRD-белки, изменены при раке молочной железы. Некоторые из них могут располагаться в одних и тех же РНК-протеиновых гранулах. Например, в стресс-гранулах (SGs) – цитоплазматических структурах, вовлеченных в метаболизм мРНК, трансляционная инициация которых останавливается во время стресса, содержатся TDRD3, TDRD16 (SMN), TDRD11 (SND1). В этих структурах также происходит активация синтеза специфических белков, необходимых для того, чтобы справиться с различными формами стресса, такими как, например, повреждение ДНК. Формирование этих гранул нарушается при различных патологических условиях, включая нейродегенерацию и канцерогенез [3, 22]. В клеточных линиях человека TDRD3 присоединяется к метилированному аргинину белка FMRP (fragile X mental

retardation protein). Предполагается, что TDRD3 может служить адаптором для рекрутирования последнего в SGs [22]. Ассоциация FMRP и SMN-комплекса обнаружена в клетках SH-SY5Y нейробластомы человека и клетках MN1 (murine motor neuron MN-1 cells) [43].

Как отмечено выше, TDRD3 и SMN задействованы в контроле транскрипционного функционирования РНК-полимеразы II, препятствуя формированию незапланированных гибридов между РНК и ДНК (R-loops). Имеются данные, указывающие на то, что и BRCA2 (супрессор опухолей) также задействован в предохранении от образования R-loops. Известно, что мутации, инактивирующие BRCA2 предрасполагают к раку молочной железы и формированию злокачественных опухолей во многих других органах. Предполагается, что инактивация BRCA2 индуцирует многочисленные повреждения ДНК в результате дефектного контроля РНК-полимеразы II [44]. Известно также, что и BRCA1, белок-супрессор опухолей, также задействован в ответе на повреждение ДНК, и что клетки дефицитные по нему имеют повышенный риск образования R-петель. Предполагается, однако, что действуют эти два белка на разных сайтах функционирования полимеразы II [44]. Кроме этого, имеются данные, указывающие на то, что если функция BRCA1 была утрачена частично, экспериментальные животные часто имели экзэнцефалию [45].

Повреждения двойной спирали ДНК (DSBs – double-strand breaks) могут возникать как спонтанно, так и индуцироваться различными факторами эндогенной и экзогенной природы, такими, например, как ионизирующая радиация либо ингибиторы топоизомераз. В механизмах ответа на повреждение ДНК задействованы, по крайней мере, ещё 4 TDRD – ARID4B, RNF17 (TDRD4) и функционирующие антагонистично KDM4A (TDRD14A) и 53BP1 (TDRD30) [26, 46]. Гомологическая рекомбинация (HR) служит одним из способов репарации ДНК при таких повреждениях. Мутации в генах, задействованных в HR, обнаружены при многих болезнях, сопровождающихся повышенным риском канцерогенеза [47, 48]. Было показано, что комплекс SMN-Gemin 2 взаимодействует с белком RAD51, что может указывать на определенную роль в гомологической рекомбинации также и SMN [3, 47].

TDRD3, также как и SMN, взаимодействует с X-сцепленной убиквитин специфической пепти-

дазой 9 (USP9X – ubiquitin-specific protease 9X). Предполагается, что TDRD3 способствует локализации USP9X в стресс-гранулах и потенциально регулирует де-убиквитиновую активность USP9X. Предполагается также, что существует недавно открытый регуляторный путь для апоптоза раковых клеток (в том числе и при раке молочной железы), который включает в себя взаимодействие TDRD3 и USP9X. Существенным в этом процессе является метилирование аргинина в USP9X [35]. Установлено, что взаимодействие USP9X и SMN предохраняет последний белок от протеосомальной деградации. Предполагается, однако, что USP9X, который взаимодействует с TDRD3 или с SMN, принадлежит к разным пулам тотального белка, и эти пулы определяются характером метилирования – ADMA (asymmetrical dimethyl-arginine) или SDMA (symmetrical dimethyl-arginine) [35]. Показано, что клеточная локализация USP9X является комплексной, динамичной, и зависит от клеточного типа и статуса.

Известно также, что USP9X задействован в формировании плотных соединений между клетками и клеточной полярности, имеет отношение к механизмам эндоцитоза и клеточной гибели, оказывает влияние на развития организмов, широко экспрессируется в стволовых клетках, включая бластомеры, предимплантационные эмбрионы и неврональные стволовые клетки. Дефицит USP9X приводил к нарушению морфогенеза твёрдой извилины гиппокампа (одного из основных мест персистирования нейрогенеза в мозге взрослых млекопитающих), а анализ клеточной популяции в постнатальный период в этой области показал редукцию стволовых клеток, нейробластов и нейронов, а также аномальную морфологию нейробластов [49]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что USP9X регулирует рост и функции постмитотических нейронов. Таким образом, эти сведения указывают на то, что USP9X задействован во многих аспектах невронального развития (также как и SMN) и мутации в гене, кодирующем этот белок, также как и в SMN, связаны с развитием некоторых форм спинальной мышечной атрофии.

Имеются данные о том, что мутации или вариации в количестве копий USP9X обнаружены не только при раке молочной железы, но и при многих других типах злокачественных новообразований. Отмечено также, что USP9X может действовать, в зависимости от типа и стадии рака, как онкоген, так и как супрессор опухолей [50].



### **TDRD, легочные аномалии и дефекты развития некоторых других органов**

Данные по РНК-секвенированию с помощью технологий следующего поколения, указывают на то, что соотношение *Smn delta7/Smn* полной длины значительно выше в лёгких, чем в других тканях в норме [51]. Предполагается также, что полиморфизм rs16876385-С в гене *HNRNPQ* (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q), возможно, является фактором риска для рака лёгких с ранним проявлением. *HNRNPQ* – это модулятор сплайсинга *SMN* и его оверэкспрессия обеспечивает включение экзона 7 в мРНК, считанной с гена *SMN2*. Авторы работы полагают, что данный полиморфный вариант *HNRNPQ* может изменить сплайсинговые возможности *SMN2* и тем самым способствовать онкогенезу в лёгких [31]. Следует отметить, что высокий уровень экспрессии *SMND7* отмечен также в жировой ткани, мозге, молочной железе, щитовидной железе, простате [51].

По крайней мере, ещё несколько *TDRD*-белков, по-видимому, имеют отношение к легочным заболеваниям: уже упомянутые выше *TDRD3*, *TDRD22* (*UHRF1*), а также *TDRD 21* (*SETDB1*) и *TDRD 11* (*SND1-staphylococcal nuclease and tudor domain containing 1*). *SND1* содержит в своей структуре четыре tandemных повтора *SN* (*staphylococcal nuclease-like*) в N-терминальной области, за которыми располагается *Tudor*-домен и 5-й *SN*-домен в C-терминальной части. Ген *SND1* локализован в локусе q32.1 хромосомы 7 [<http://www.genenames.org>]. Имеются клинические и экспериментальные доказательства того, что *SND1* опосредует формирование метастазов в лёгких при раке молочной железы, так как регулирует экспрессию генов, ассоциированных с образованием метастазов и химиорезистентностью [52].

Из экспериментальных данных следует, что мутантный *Tudor-SN* вызывает дефекты сперматогенеза, а именно повышенную пролиферацию сперматогоний, аккумуляцию сперматоцитов, дефекты мейотического цитокинеза, уменьшение количества сперматид. В настоящее время установлено, что этот белок имеет отношение к разнообразным молекулярным функциям, например, взаимодействует с рядом транскрипционных факторов (*cMyb*, *STAT5*, *STAT6*), которые задействованы в различных сигнальных путях в клетках. *Snd1* также существенен для регуляции посттранскрипционных процессов через взаимодействия

с РНК или с белками, ассоциированными с РНК. Так, *Snd1* входит в состав RISC-комплекса (RNA-induced silencing complex), с помощью которого регулируется генная экспрессия, посредством деградации мРНК либо репрессии транскрипции или трансляции. Кроме этого показано, что *Snd1* может действовать как РНКаза для некоторых типов мiРНК, *Snd1* входит в состав сплайсосом и способствует их сборке и активности [53, 54]. Этот белок взаимодействует также с белками из семейства *PIWI*, которые вместе с рiРНК функционируют в первичных половых клетках и в развивающихся клетках половой линии, где регулируют активность ретротранспозонов. *Snd1* присоединяется к симметрично диметилированным по аргинину *PIWI*-белкам. Установлено, что у млекопитающих процессы рiРНК активны, главным образом, в клетках гонад самцов, а белки *TDRD 1, 2, 4–7, 9, 12* также задействованы в биогенезе рiРНК, который состоит из двух этапов: первичного процессинга рiРНК, имеющего место как в соматических клетках, так и в клетках половой линии, и вторичного, являющегося специфичным для гонад регуляторам транспозонов и защищающего геном от чрезмерной активности этих генетических элементов [22]. Многие из этих белков входят в состав герментативных гранул – рибонуклеопротеиновых органелл, являющиеся детерминантами половых клеток на ранних стадиях их цитогенеза. Эти структуры лишены мембраны и образованы электронно-плотным гранулярно-фибрилярным материалом, который в зависимости от локализации назван по-разному: *nuage* (облачко) – в половой плазме ооцитов *Xenopus laevis*; хроматоидное тело – в цитоплазме развивающихся половых клеток млекопитающих; нюашь или интермитохондриальный цемент – представляющий собой маленькие тельца, которые часто связаны с ядерной мембраной или локализуются среди митохондрий. Предполагается, что эти образования осуществляют функциональную роль в поддержании статуса как стволовых клеток герментативной линии, так и других стволовых клеток [55, 56]. В настоящее время показано, что три семейства белков наиболее обильно представлены в этих гранулах – *DEAD-box* РНК-геликазы, *TDRD* и *Piwi*-белки [56]. Показано, что белки *TDRD* вовлечены в сборку этих гранул и защищают ДНК от излишней активности транспозонов [57–58]. С ролью упомянутых выше *SMN* и *RNF17* в развитии репродуктивных органов, а также нервной сис-

темы можно ознакомиться в работах Ottesen E. W. с соавт.; Pan J. с соавт.; Wasik K. A. с соавт.; Grice S. J. and Liu J. L. [4, 39, 57, 41].

Ещё одним белком, имеющим отношение к легочным заболеваниям, является метилтрансфераза TDRD 21 (SETDB1), которая относится как к семейству белков «Tudor», так и к семейству белков «KMT» (лизиниметилтрансферазы, содержащие Set-домен (подсемейство Suv 39). SETDB1 участвует в метилировании H3K9me1, H3K9me2, и вместе с другими белками способен конвертировать H3K9me2 в H3K9me3. В структуре SETDB1 имеется также домен methyl-CpG binding. Белок является как в ядре, так и в цитоплазме. В s-фазу клеточного цикла он локализуется на перичентрическом гетерохроматине в составе комплекса, имеющего отношение к конверсии H3K9me1 в H3K9me3. По-видимому, SETDB1 имеет также отношение к формированию эмбриональных стволовых клеток, регуляции клеточной пролиферации и дифференцировки, он необходим для должного осуществления митоза и мейоза [59]. Повышенная экспрессия этого белка имеет место не только при раках лёгкого и молочной железы, но и при многих других онкологических заболеваниях [59].

Также как и SMN, SETDB1 широко экспрессируется на ранних стадиях развития мозга, затем по мере развития его экспрессия снижается. В мозге мутантных по этому гену экспериментальных животных имеет место снижение триметилирования лизина 9 гистона H3 (H3K9me3). Наблюдалась также дерепрессия ретротранспо-

зонов и изменение в экспрессии многих как неврональных, так и несвойственных для нейронов генов. Среди них, например, Sox 9 и Rnf 17. Исследователи предполагают, что Setdb1 играет существенную роль в поддержании неврональной идентичности через подавление как ретротранспозиции, так и экспрессии несвойственных для нейронов генов [60].

Таким образом:

Экспрессии SMN, как и других TDRDs, регулируется специфическим образом в зависимости от ткани и стадии развития в эмбриогенезе [14, 41, 61].

SMN, как и другие TDRDs, имеет отношение к поддержанию ниш стволовых клеток на должном уровне, а также задействован в регуляции пролиферации и дифференцировки этих клеток [40, 62, 63].

SMN, как и другие TDRDs, локализуется в рибосомных комплексах, взаимодействует со многими важнейшими белками-регуляторами развития и клеточных функций.

SMN, как и другие TDRDs, имеет отношение к поддержанию стабильности генома и репарационным процессам [3, 22, 47, 57].

Мутации и изменения в экспрессии SMN, как и других TDRDs, отмечены при многих заболеваниях, включая болезни развития, нейродегенеративные заболевания, и злокачественные трансформации.

*С использованной литературой можно ознакомиться в редакции.*

*Поступила 25.09.2019 г.*