

W komórkowej orkiestrze

– o temacie muzycznym (sno)RNA

Ewa Sitarska

Streszczenie:

Wśród coraz większej liczby badanych rodzajów RNA najpowszechniej znane są mRNA, tRNA i rRNA. Niektóre małe RNA (snRNA, miRNA, siRNA), a w szczególności małe jądrowe RNA (snoRNA) okazały się uczestniczyć w wielu ważnych procesach komórkowych. Badania przeprowadzone w ostatnich latach pozwalają na coraz lepsze zrozumienie różnorodnych funkcji i oddziaływań RNA. Małe jądrowe RNA wykazują zdolność do tworzenia kompleksów z białkami i najczęściej w postaci małych jądrowych rybonukleoprotein uczestniczą w chemicznej modyfikacji (2'-O-metylacja, pseudourydylacja) nukleotydów rRNA i snRNA. Na podstawie konserwowanych sekwencji występujących w snoRNA można wyróżnić C/D i H/ACA snoRNA, których kompleksy charakteryzują się odmiennymi strukturami i funkcjami. Przegląd specyficznych i precyzyjnych oddziaływań RNA, a w szczególności snoRNA, pozwoli zrozumieć jego kluczowe znaczenie dla funkcjonowania komórki.

Słowa kluczowe: RNA, modyfikacja RNA, parowanie zasad, snoRNA, snoRNP, 2'-O-metylacja, pseudourydylacja, sekwencja C/D, sekwencja H/ACA

otrzymano: 4.02.2013; przyjęto: 4.02.2013; opublikowano: 4.03.2013



Ewa Sitarska: studentka IV roku na kierunkach psychologia i biotechnologia w ramach Kolegium Międzywydziałowych Studiów Matematyczno-Przyrodniczych UW; praca licencjacka na kierunku biotechnologia wykonana w Zakładzie Biologii Molekularnej na Wydziale Biologii UW na temat małych jądrowych snoRNA

Preludium

Gdy w 1953 r. James D. Watson i Francis Crick wykorzystując badania Rosalind Franklin odkryli strukturę DNA, wydawało się, że sposób, w jaki funkcjonuje komórka, można wyjaśnić właśnie na jej modelu. Co jednak okazało się po kilkudziesięciu latach badań zainspirowanych modelem dwuniciowej helisy DNA? Nośnika informacji jakim jest DNA nie można określić ani jako dyrygenta, ani nawet pierwszych skrzypiec komórkowej orkiestry. Spełnia on raczej funkcję zapisu nutowego, który poprzez dynamiczną interpretację, w zależności od publiczności i charakteru zjawiska, staje się muzyką. Na pierwszym planie pojawiają się, wcześniej niedocenione, a także w przeważającym stopniu nieznane, cząsteczki RNA. Później odkryte, ale uważane za drugoplanowe elementy ekspresji genów, okazują się mieć ogromny wpływ na jej przebieg, ze względu na wielość funkcji i struktur oraz dynamiczny charakter.

Te same utwory muzyczne mogą być odczytywane i interpretowane na wiele różnych sposobów, mimo wykorzystywania uniwersalnych technik. To dyrygent i orkiestra nadają utworowi kształt i charakter. W podobny sposób zachowuje się RNA, który działając głównie na podstawie tworzenia się par zasad wchodzi w ogromną liczbę interakcji. Ponadto, tworząc drugorzędowe struktury potrafi oddziaływać z przeróżnymi białkami, co sprawia, że odgrywa kluczową rolę w tworzeniu komórkowej muzyki.

Każdy instrumentalista grając swoją partię wchodzi w dialog z innymi. Brak takiego dialogu może zaowocować zagubieniem charakteru utworu. Obok najbardziej znanych instrumentalistów, takich jak mRNA (matrycowy RNA), tRNA (transportujący RNA) i rRNA (rybosomowy RNA), istnieje jeszcze wiele innych – chociażby snRNA, czyli małe jądrowe RNA (ryc. 1) Poszczególne rodzaje RNA oddziałują wzajemnie ze sobą na różnych

etapach procesów zachodzących w komórce, czasem również przyczyniając się do biogenezy innych cząsteczek RNA. Okazało się, że w ekspresji genów ważną partię grają również małe regulatorowe RNA, m.in. snoRNA (małe jądrowe RNA). Nie dość, że ich funkcja jest silnie związana z powstawaniem funkcjonalnych rybosomów, które są podstawowym narzędziem do tworzenia białek, to jeszcze prawdopodobnie ich działalność rozszerza się, przeplata i wpływa na funkcjonowanie innych cząsteczek RNA. Aby zrozumieć temat muzyczny snoRNA niezbędne jest przyjrzenie się jego dialogom z innymi cząsteczkami RNA, które wspólnie przyczyniają się do utworzenia dynamicznego i harmonijnego eukariotycznego transkryptomu.

Kodujący, ale czy solista?

Najpopularniejszym kwasem rybonukleinowym i jednocześnie jedynym kodującym jest mRNA (matrycowy RNA). Cząsteczki mRNA są transkryptami genów kodujących białka informujących o sekwencji aminokwasów w poszczególnych polipeptydach, które w dalszym etapie ekspresji genomu ulegają translacji przy pomocy rybosomów. Ponadto, cząsteczki mRNA charakteryzują się krótkim okresem półtrwania zarówno u prokariotów (kilka minut), jak i u eukariotów (kilka godzin). Dzięki ich szybkiemu procesowi degradacji skład transkryptomu jest bardzo zmienny, co nadaje dynamiczny charakter procesom odbywającym się w jądrze komórkowym (Brown, 2007).

Powstanie funkcjonalnego mRNA u bakterii nie wymaga żadnych dodatkowych procesów, ponieważ wyjściowy transkrypt mRNA większości genów może bezpośrednio zostać wykorzystany do translacji. Inaczej wygląda to u organizmów eukariotycznych, u których pre-mRNA musi przejść proces dojrzewania, aby powstała w pełni funkcjonalna cząsteczka mRNA.

Obróbka posttranskrypcyjna polega na modyfikowaniu końców (do 5'- dodawana jest czapeczka, do 3'- ogon poli-A) oraz wycinaniu intronów, a dodatkowo również cięciu przez endonukleazy bądź chemicznym modyfikowaniu (Brown, 2007).

Kodujący RNA spełnia niewątpliwie jedną z najważniejszych funkcji w komórce, będąc podstawą do następnych etapów ekspresji genów. Ciekawym faktem jest to, że nie stanowi on więcej niż 4% całego komórkowego RNA. Co się dzieje z pozostałymi 96% rybonukleinowej materii? Dlaczego tak niewielka część RNA zostaje wykorzystywana w późniejszych etapach powstawania białek? Większość cząsteczek kwasu rybonukleinowego to formy niekodujące. Mimo, że są one mniej znane, nie ulega wątpliwości jak bardzo jest istotne ich znaczenie, skomplikowanie i precyzja procesów, za które są odpowiedzialne. W jaki sposób wpływają na funkcjonowanie komórki?

Niekodująca orkiestra

Niekodujący RNA to wszystkie cząsteczki kwasu rybonukleinowego, które nie ulegają translacji prowadzącej do syntezy polipeptydu, jednak mimo to pełnią wiele zróżnicowanych funkcji. Nie tylko odgrywają ważną rolę w regulacji ekspresji genów wykorzystując wiele mechanizmów, lecz także uczestniczą w translacji (tRNA i rRNA), dojrzewaniu i modyfikacji pierwotnych transkryptów (snRNA, snoRNA) czy replikacji DNA (RNA telomerazy). Niekodujący RNA pośredniczy również w procesach związanych z centralnym układem nerwowym, takich jak: rozwój mózgu, plastyczność synaptyczna oraz patogeneza chorób neurodegeneracyjnych (Qureshi i Mehler, 2012). U ssaków naczelnych najszybciej ewoluują niekodujące obszary genomu, mogące dać początek nowym ncRNA, które są głównie zaangażowane w regulację genów odpowia-

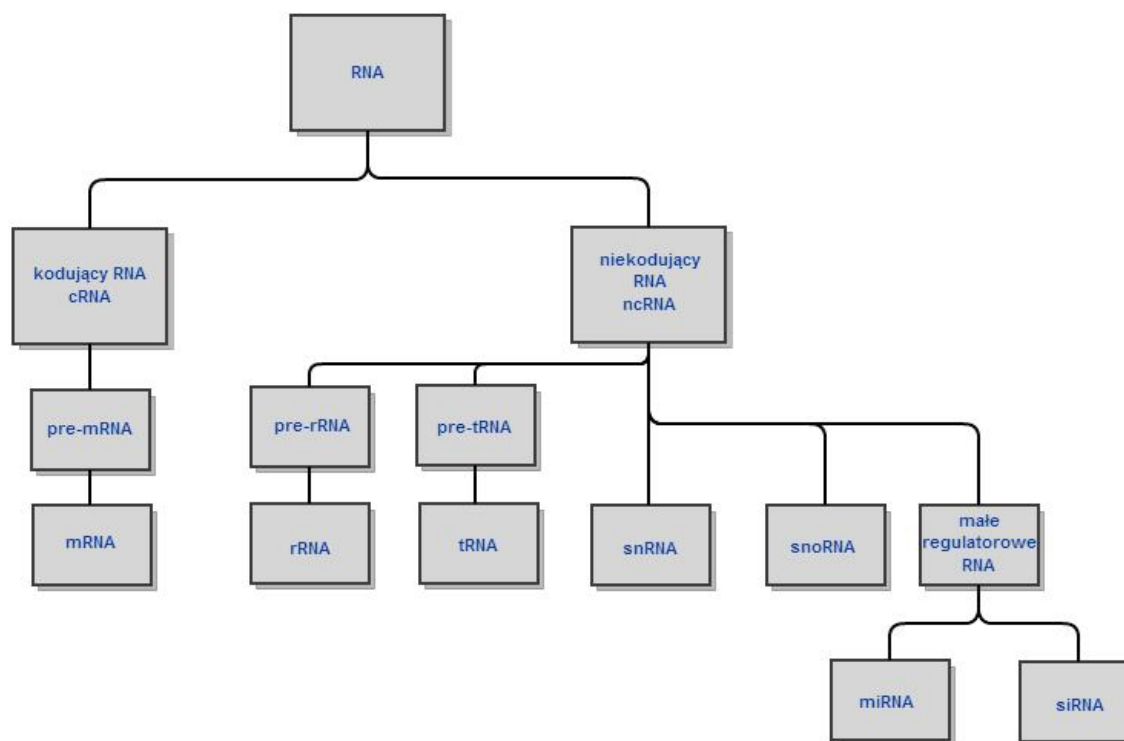
dających za rozwój neuronów. Ciekawe jest również to, że proporcjonalnie większa ilość sekwencji niekodujących w genomie jest związana z odpowiednio większym stopniem złożoności rozwoju organizmu (Qureshi i Mehler, 2012).

Na przestrzeni ostatnich lat odkryto ogromną liczbę nowych ncRNA, jednak funkcje i pochodzenie wielu z nich nadal pozostają tajemnicą. Jednymi z nowopoznaczonych ncRNA są snoRNA (małe jąderkowe RNA), które funkcjonują przeważnie w postaci kompleksów rybonukleoproteinowych (snoRNP). Aby zrozumieć złożoność procesu regulacji ekspresji genów i jej efektu – powstawania białek, a także roli snoRNP w tym

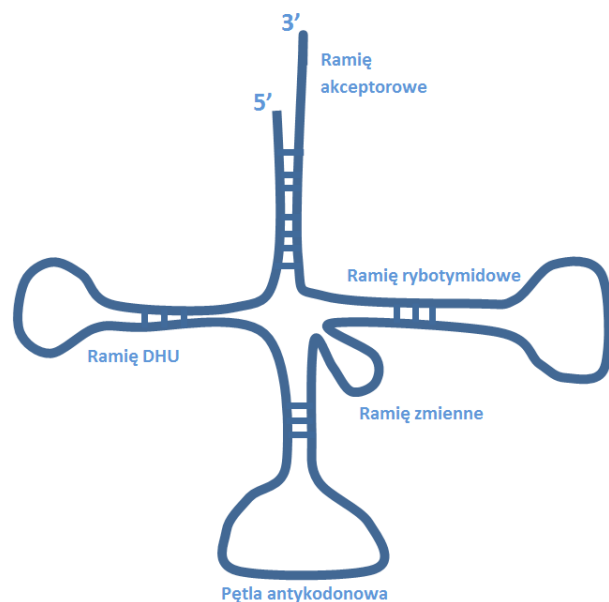
procesie, należy poznać ich funkcje i wzajemne interakcje poznanych rodzajów ncRNA, ponieważ zakresy ich działania się przenikają.

Niekodujący, a popularni

Następne miejsce po mRNA na „top liście” najbardziej znanych i popularnych kwasów rybonukleinowych zajmują tRNA i rRNA. Mimo, że ilość tRNA w komórce jest około osiem razy mniejsza niż ilość rRNA, to jednak jego funkcje transportujące i mnogość typów powoduje, że zagadnienie to zajmuje wielu badaczy. W każdej komórce znajduje się więcej niż 20 rodza-



Ryc. 1. Schematyczny podział RNA



Ryc. 2. Schematyczna cząsteczka tRNA

jów cząsteczek tRNA, które mogą występować w stanie wolnym lub w formie amino-acylo-tRNA, gdy są związane z danym aminokwasem. Po przyłączeniu do wolnych aminokwasów z cytoplazmy mają one za zadanie transportować je do rybosomów (Allison, 2007).

Dojrzała cząsteczka transportująca powstaje z pierwotnych transkryptów w wyniku działania RNaz, a następnie jej zasady ulegają serii modyfikacji, zarówno u prokariotów, jak i u eukariotów. Mimo różnic w mechanizmie przeprowadzającym dojrzewanie tRNA w zależności od organizmu, wydaje się, że jest on podobny nawet u odległych ewolucyjnie form życia (Brown, 2007).

Cząsteczka tRNA ma dość charakterystyczny kształt, ponieważ posiada cztery ramiona, które odpowiadają odmiennym funkcjom (ryc. 2). Pętla DHU

(dihydrouacylowa) zawiera nietypowy dla RNA dihydroksyuracyl, który informuje, jaki rodzaj aminokwasu może się przyłączyć do tRNA. Chemicznie aktywowane aminokwasy dołączają się do ramienia akceptorowego za pomocą wiązania diestrowego, natomiast pętla antykodonowa jest odpowiedzialna za rozpoznawanie i wiązanie się z kodonem w mRNA. Ostatni fragment koniczyny – ramię rybotymidowe (pseudourydynowe) służy do łączenia się z rybosomem i umacniania tRNA na matrycy. Występuje w nim zmodyfikowana zasada – pseudourydyna, która jest efektem działalności snoRNP.

Podobnie jak cząsteczki transportujące, rRNA również powstają w wyniku dojrzewania pierwotnego transkryptu i mogą występować zarówno w postaci jednociowej, jak i dwuniciowej. rRNA spełnia bardzo ważną funkcję, ponieważ wspólnie z elementami białkowymi tworzy kluczowe do procesu syntezy białek, składające się z dwóch podjednostek, rybosomy. Mają one odmienną budowę i istnieją różnice w procesie ich dojrzewania u eukariotów i prokariotów. Powstawanie podjednostek rybosomowego RNA w komórkach eukariotycznych zachodzi w jąderku, z wyjątkiem podjednostki 5S. Za transkrypcję cząsteczek rRNA na matrycy DNA odpowiada polimeraza RNA I oraz polimeraza RNA III (w przypadku wcześniej wspomnianej podjednostki 5S rRNA). Aby stworzyć funkcjonalne cząsteczki kwasu rybonukleinowego, białka rybosomalne i jądkowe przyłączają się do pierwotnego transkryptu prekursora 45S pre-rRNA natychmiast po jego syntezie i kształtują 80S pre-rRNP. Elementy białkowe są bardzo istotne zarówno podczas procesu tworzenia się rybosomu, jak i później, gdy będą stanowiły 1/3 masy podjednostek rybosomowych. Ostatnie etapy powstawania funkcjonalnego rRNA polegają na usunięciu części regionów pre-rRNA w reakcjach z udziałem enzymów endonukleolitycznych i egzonukleolitycznych, a na-

stępnie na modyfikacjach pozostałej części cząsteczki, z których najczęstsze to 2'-O-metylacja rybozy oraz przekształcanie urydyny w pseudourydynę. U prokariotów posttranskrypcyjne dojrzewanie zaczyna się od uformowania wewnątrzcząsteczkowej struktury drugorzędowej składającej się z ramion i pętli, która umożliwia utworzenie kompleksów z białkami. Po związaniu białek w RNA zachodzą modyfikacje i w wyniku tego transkrypt zostaje pocięty w taki sposób, że uwalniane są prekursor RNA (5S, 16S i 23S), które pod wpływem innych RNaz stają się dojrzałymi jego cząsteczkami (Allison, 2007).

Podsumowując, wspólne dla obu tych procesów jest to, że z pierwotnych transkryptów tworzących się z genów kodujących rRNA u eukariotów i prokariotów powstają cząsteczki prekursorowe, które następnie są w dużej mierze cięte przez RNazę III. Skutkiem cięć i innych modyfikacji (np. 2'-O-metylacja rybozy oraz przekształcanie urydyny w pseudourydynę) jest powstanie dojrzałego rRNA. Powstałe rRNA jest rybozymem, czyli cząsteczką posiadającą aktywność katalityczną, a obecne w jej strukturze liczne białka rybosomowe, będące kofaktorami w procesie translacji, zwiększają jego wydajność.

W cieniu pierwszych skrzypiec – niekodujące RNA drugiego planu

Mimo niewielkich rozmiarów oraz istnienia w cieniu swoich większych i lepiej poznanych braci małe regulatorowe RNA (miRNA, siRNA) okazują się odgrywać nie mniej kluczową rolę w ekspresji genów. Wpływają one na bardzo wiele różnych funkcji komórki, m.in. na procesy proliferacji, apoptozy oraz różnicowania. Nadal pozostają także tajemnicze, ponieważ ich spektrum działania jeszcze nie zostało to końca wyjaśnione.

O miRNA wiadomo więcej, ponieważ są najpowszechniej występującymi w komórkach roślinnych i zwierzęcych krótkimi regulatorowymi RNA. Krótkie, bo przeciętna ich długość wynosi 22 nukleotydy. Współdziałając z białkami biorą one udział w posttranskrypcyjnym wyciszaniu genów w sposób charakterystyczny dla funkcjonowania różnych rodzajów RNA, a mianowicie poprzez tworzenia się par zasad z docelowym mRNA. Najprawdopodobniej dzięki wyżej wymienionym oddziaływaniom wpływają na procesy rozwojowe, podział i różnicowanie komórek, ponieważ wzór ich ekspresji różni się w komórkach zdrowych i nowotworowych, zależnie od rodzaju nowotworu (Crocce i Calin, 2005). Wpływają także na procesy apoptozy, regulację cyklu komórkowego oraz metabolizm komórkowy, których zaburzenia mogą prowadzić do powstania nowotworu.

Ponadto miRNA charakteryzują się także dosyć zróżnicowaną ekspresją pod innymi względami – niektóre z nich podlegają ekspresji konstytutywnej na stałym poziomie podczas całego cyklu rozwojowego organizmu, natomiast inne ulegają transkrypcji tylko w określonych warunkach. (Murchison i Hannon, 2004). W znacznym stopniu wyrażane są także w neuronach, gdzie odgrywają kluczową rolę w procesach różnicowania, synaptogenezy oraz plastyczności. Coraz więcej wyników badań w tej dziedzinie ujawnia ogromny wpływ miRNA na wyższe czynności poznawcze i ich związek z szeregiem zaburzeń i chorób neurologicznych (Fiore i wsp., 2011).

Skąd się biorą te małe fragmenty RNA, które z tak dużą specyficznością tworzą pary zasad? Ponad połowa ich genów jest umieszczona w sekwencjach intronowych, ale inne znajdują się również w eksonach. Wykazano również, że niektóre miRNA ssaków pochodzą z sekwencji powtórzeniowych, głównie transpozonów, bądź powstają z pseudogenów. Zatem mogą mieć bar-

dzo zróżnicowaną genezę, która prawdopodobnie ma związek z ich funkcjami i celem oddziaływania. Stale są odkrywane nowe mechanizmy powstawania i funkcjonowania miRNA. Warto wspomnieć o tym, że systemowe analizy wykazały istnienie licznych stabilnych miRNA pochodzących od sekwencji charakterystycznych dla innych małych RNA – snoRNA (małe jąderkowe RNA) oraz scaRNA (małe specyficzne dla ciał Cajala RNA) (Ender i wsp., 2008). Istnieje znaczne prawdopodobieństwo, że udział sekwencji H/ACA i C/D snoRNA w tworzeniu miRNA jest szeroko rozpowszechnionym mechanizmem. Odkrycia te wydają się świadczyć o skomplikowanym mechanizmie przechodzenia różnych form RNA w siebie nawzajem, a to świadczy o rozwiniętych sposobach regulacji ekspresji genów.

Podobnej wielkości siRNA (małe interferujące RNA) – przeważnie ich długość wynosi 22 nukleotydy – również w głównej mierze zajmują się wyciszaniem genów. Tworzone są one z długich dwuniciowych cząsteczek prekursorowych o zróżnicowanej długości oraz rozmaitym pochodzeniu. Jednak w przeciwieństwie do miRNA istnieje niewiele endogennych źródeł siRNA. Zwykle powstają one na skutek wprowadzenia do organizmu dsRNA (dwuniciowego RNA) bądź poprzez ekspresję transgenów – materiału genetycznego pochodzącego z innego organizmu. Następnie są one włączane do kompleksu (RNA-induced silencing complex) złożonego z wielu białek, co powoduje rozdzielenie się obydwu nici, z których jedna pozostaje połączona z kompleksem. Jeśli zostanie znalezione mRNA z sekwencją komplementarną do sekwencji siRNA, dochodzi do interakcji poprzez tworzenie się par zasad, która skutkuje cięciem i degradacją transkryptu mRNA, a jednocześnie wyciszeniem transkrypcji genów. U roślin siRNA bierze udział w organizowaniu chromosomów oraz wyciszaniu ekspresji genów na drodze metylacji DNA. Ponadto w bardzo interesujący sposób przyczynia się

do ochrony organizmu przed infekcjami wirusowymi i ekspresją transgenów. Komórki roślinne wykorzystują wirusowy RNA jako matrycę do syntezy dsRNA, które po odpowiednim trawieniu jest źródłem siRNA kierowanym przeciwko wirusom (Nakahara i Carthew, 2004).

W jądrze utworu

Poznana znacznie później niż rRNA i tRNA grupa małych, niekodujących transkryptów, które funkcjonują w nukleoplazmie jako rybozomy w procesie wycinania intronów została nazwana małymi jądrowymi RNA (snRNA). Wycinanie intronów z pre-mRNA jest podstawowym mechanizmem umożliwiającym ekspresję genów; widać zatem jak długo cząsteczki te potrafią się ukrywać w komórkowym wnętrzu, mimo że są niezbędne na tak ważnym etapie powstawania białek. W organizmach eukariotycznych większość intronów zostaje usunięta przez spliceosom czyli złożony, dynamiczny kompleks składający się z różnych rodzajów snRNA (U1, U2, U4, U5, U6) oraz licznych białek. Według klasyfikacji snRNA można podzielić na dwie klasy (Lsm, Sm) na podstawie powszechnie występujących motywów oraz kofaktorów białkowych. Klasa Sm charakteryzuje się występowaniem w strukturze 5'-trimetyloguanozydowej (TMG) czapeczki, sekwencji wiążącej grupę siedmiu białek Sm, których oligomery wraz z snRNA tworzą strukturę heteroheptamerycznego pierścienia oraz struktury typu łożyska i pętla (ang. *stem loop*) na końcu 3'. Ponadto czapeczka 5' wraz z długością cząsteczki są kluczowymi determinantami transportu podczas wieloetapowej biogenezy Sm, odbywającej się w wielu przedziałach komórki. W odróżnieniu od Sm, cząsteczki klasy Lsm nigdy nie opuszczają jądra. Klasa Lsm charakteryzuje się tym, że zawiera 5'-monometylofosforanową czapeczkę oraz na 3' końcu ciąg urydyn, które formują

miejsce łączące dla heteroheptamerycznego pierścienia białek Lsm (Matera i wsp., 2007).

Zarówno białka Sm jak i Lsm tworzą kompleksy pierścieniowe, które są wymagane do procesów splicingu pre-mRNA, degradacji mRNA i formowania telomerów (He i Parker, 2000). W sekwencjach Sm/Lsm niektóre ich elementy, takie jak kwas asparaginowy, asparagina i arginina, które przyczyniają się do utworzenia miejsca wiążącego RNA, są wysoce konserwowane. Światło pierścienia ma taki kształt, że umożliwia interakcję z jednoniciowym RNA. snRNA przyłącza się do pierścienia jednym nukleotydem charakterystycznej sekwencji skierowanej do każdego białka kompleksu (Khusial i wsp., 2005).

Sm wykazuje aktywność biologiczną w kompleksach z białkami. Kompleksy białek i cząsteczki snRNA tworzą małe jądrowe rybonukleoproteiny. Poza wyjątkowym U7, które bierze udział w obróbce 3' histonowego pre-mRNA, inne bogate w urydyny snRNP formują jądro spliceosomu i katalizują usunięcie intronów z pre-mRNA. Ich rola polega na rozpoznaniu odpowiednich obszarów intronu oraz interakcji opartej na komplementarnym tworzeniu się par zasad pomiędzy spliceosomowym snRNA oraz połączeniami intronu i eksonu. W ten proces jest zaangażowanych więcej niż 150 białek pomocniczych (Matera i wsp., 2007).

Dojrzałe spliceosomowe snRNA są w znacznej mierze 2'-O-metylowane oraz pseudouridyloowane przez snoRNP. Zmodyfikowane nukleotydy są relatywnie silnie zakonserwowane i często znajdują się w regionach o funkcjonalnym znaczeniu w splicingu pre-mRNA, co pokazuje, jak ważny jest proces powstawania cząsteczek snRNA, w którym istotną rolę odgrywają cząsteczki snoRNP. O interakcji snRNA oraz snoRNA świadczy fakt, że białka Sm (SmB, SmD) specyficznie oddziałują ze strukturą H/ACA oraz telomerazą RNA (Karijolic i Yu, 2010).

Znajomość rodzajów, funkcji i wszelkich charakterystycznych aspektów wspomnianych kodujących i niekodujących kwasów rybonukleinowych, a także mechanizmów ich działania warto mieć w pamięci, aby móc odnieść się do nich podczas bardziej szczegółowego poznawania małych jądrowych RNA. Pozwoli to pogłębić zrozumienie mechanizmów i stworzyć spójny krajobraz dynamicznych oddziaływań RNA w komórce (tabela 1).

Mniejsi, ale nie młodsi bracia muzycy

O nich rzadko mówi się na lekcjach biologii, nie mają charakterystycznego kształtu koniczyny, nie tworzą rybosomów ani nie są znane jako synonimy „wyciszania genów”. Prawdopodobnie są też czasem mylone ze snRNA, ponieważ ich nazwa tylko nieznacznie się różni od nazw innych RNA. snoRNA, czyli małe jądrowe RNA, to grupa zróżnicowanych funkcjonalnie oraz metabolicznie stabilnych cząsteczek, które są zlokalizowane w strukturze interfazowego jądra. Ciekawe jest to, że spośród małych RNA okazują się one jednymi z najstarszych ewolucyjnie. Badania ostatnich lat potwierdziły również występowanie w komórkach eukariotycznych około 200 rodzajów snoRNA, co wynika najprawdopodobniej z ich swoistości substratowej, ponieważ pojedyncza cząsteczka kwasu rybonukleinowego potrafi modyfikować najczęściej tylko jeden lub dwa rodzaje substratów (Cavaille i wsp., 1996). Liczba cząstek snoRNA w danym jąderku w zależności od jego rodzaju waha się między ponad 100 a 200000.

snoRNA charakteryzują się zdolnością do tworzenia specyficznych kompleksów rybonukleoproteinowych z przeróżnymi białkami (np. fibrylaryną, dyskretyną) znajdującymi się w jąderku i w takiej formie są najczęściej obecne w komórce. Kompleksy snoRNP uczestniczą w chemicznej modyfikacji nukleotydów rRNA, snRNA,

Tabela 1. Porównanie wielkości RNA

Wielkości różnych rodzajów RNA	
Rodzaj RNA	Długość cząsteczki (jednostka miary=nukleotydy)
rRNA	100-4500
snRNA	~150
tRNA	74-95
snoRNA	60-300
miRNA	19-24
siRNA	~22

a także są zaangażowane w formowanie się prawidłowej struktury pre-rRNA, cięcie pre-rRNA, a zatem dojrzewanie rRNA (Karijolic i Yu, 2010). Podczas swojego krótkiego okresu trwania, jedna cząsteczka pre-rRNA może się przejściowo połączyć nawet z około 150 rodzajami snoRNA. Badania wykazują ponadto, że snoRNA uczestniczą w modyfikacjach tRNA u archebakterii (Bachelier i wsp., 2002), a także mogą brać udział w modyfikacjach mRNA w organizmach eukariotycznych (Cavaille i wsp., 2000). Konsekwencje dysfunkcji snoRNA mogą także przyczynić się w nieoczekiwany sposób do ontogenezy (Williams i Farzaneh, 2012).

Niewątpliwie zakres działania snoRNA i jego interakcje z innymi rodzajami RNA są znaczące dla wielu istotnych dla komórki procesów. Na czym polega wyjątkowość tych charakterystycznych sekwencji i modyfikacji, o których tak często się wspomina w kontekście snoRNA?

Sztuka wirtuozerska snoRNA

Na podstawie zakonserwowanych sekwencji oraz struktury wśród snoRNA można wyróżnić kilka klas. Dwie podstawowe to cząsteczki zawierają sekwencje

C/D oraz sekwencje H/ACA. Przeprowadzają one dwie modyfikacje pre-rRNA, które najprawdopodobniej ułatwiają fałdowanie oraz zapewniają stabilność: 2'-O-metylację oraz pseudourydylację (Dieci i wsp., 2009).

Pośród cząsteczek snoRNA można wyodrębnić grupę, której cechą szczególną jest posiadanie dwóch krótkich sekwencji nazwanych C (UGAUGA) oraz D (CUGA) (ryc. 3). Najczęściej dwie sekwencje są zlokalizowane w pobliżu siebie na końcach 5' i 3' snoRNA, ale mogą występować także dodatkowe ich powtórzenia w środkowej części łańcucha nukleotydowego, mogące być niewiernymi kopiami (C', D'). W dojrzałych snoRNA sekwencje C i D zapewniają stabilność struktury cząsteczki oraz lokalizację cząsteczek snoRNA w jąderku w przypadku drożdży i kręgowców (Samarsky i wsp., 1998). Jednak jedną z najważniejszych cech snoRNA zawierających sekwencje C/D jest to, że zwykle posiadają one (sąsiadujące z D) sekwencje o długości od 10 do 22 nukleotydów komplementarne do sekwencji dojrzałego rRNA, co świadczy o możliwości oddziaływania z pre-rRNA. Ponadto położenie sekwencji D dokładnie określa, który nukleotyd z nici RNA poddawany jest metylacji (Scott i wsp., 2012). Zostało udowodnione, że modyfikacji ulega piąty nukleotyd położony za sekwencją D lub D' (Bachellerie i wsp., 2002).

2'-O-metylacja, w którą są zaangażowane C/D snoRNA, jest często występującą nukleotydową modyfikacją RNA, podczas której grupa metylowa ($-CH_3$) zostaje dołączona do grupy 2'-OH w rybozie (ryc. 4). W regionach istotnych dla działania rybosomów i spliceosomów zwykle można znaleźć metylowane nukleozydy. Przykładowo występujące u ssaków małe jądrowe RNA (U1, U2, U4, U5, U6) zawierają razem 30 miejsc metylacji, przeprowadzanych przez snoRNA. Wskazuje na to obecność w małych jądrowych RNA komplementarnych sekwencji do snoRNA, które przeprowadzają metylację. Najczęściej metylacje znajdują się w sekwencjach zaangażowa-

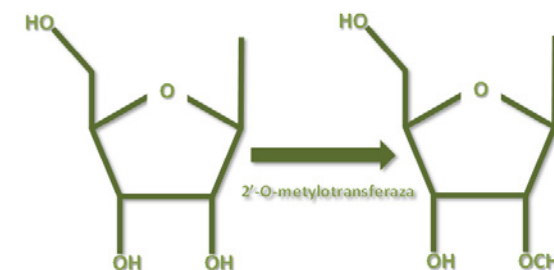
nych w interakcje pomiędzy RNA, co sugeruje, że mogą odgrywać ważną rolę w kontroli splicingu. Ponadto metylacja adenozyne może zapobiegać jej przekształcaniu w inozynę (prekursor w syntezie AMP i GMP), spełniać funkcję regulatorową w ekspresji serotoniny (metylacja receptora serotoniny), a modyfikacje 5' końca snRNA (U2) u kręgowców są niezbędne także w procesach rekrutacji kompleksów białkowych (snRNPs).

Nawet kilka przykładów konsekwencji 2'-O-metylacji przeprowadzanych przez snoRNA zawierające sekwencje C/D pokazuje szerokie spektrum ich działania w zależności od substratu modyfikacji oraz jego miejsca. Nie można zapominać także, że istnieją w komórkach różnych organizmów snoRNA, dla których nie znaleziono jeszcze żadnych komplementarnych rRNA lub innych stabilnych RNA. Istnieje prawdopodobieństwo, że przeprowadzają one modyfikacje jeszcze niezidentyfikowanych oraz niekodujących RNA, co zwiększa wpływ 2'-O-metylacji prowadzonej przez snoRNA na funkcjonowanie komórek, a także procesów zachodzących w jąderku.

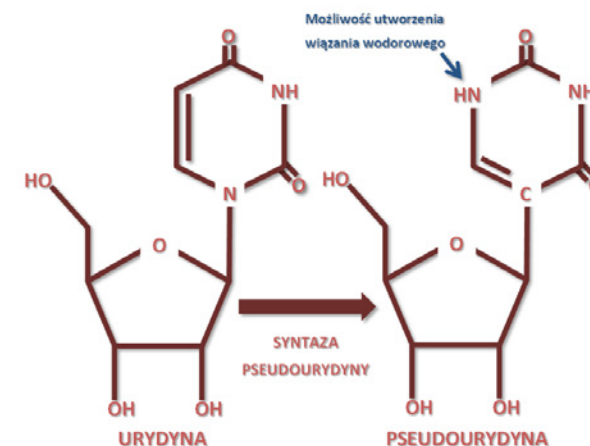
W zespole łatwiej – oddziaływania z białkami (snRNPs)

snoRNA zawierające sekwencje C/D, podobnie jak inne małe jądrowe RNA, spełniają swoje funkcje najczęściej występując w kompleksach z niewielkimi białkami. Białka, z którymi łączą się snoRNA są wymagane, aby zapewnić im odpowiednią lokalizację w jąderku, stabilność, a także nadają im aktywność enzymatyczną. Powyższe kompleksy otrzymały nazwę snRNPs – małych jądrowych rybonukleoprotein. Ich powstawanie jest dynamicznym procesem rekrutacji białek do charakterystycznych dla nich snoRNA.

Zarówno w organizmach eukariotycznych, jak i u archebakterii występujące w kompleksach ze snoR-



Ryc. 3. Reakcja 2'-O-metylacji



Ryc. 4. Reakcja pseudourydylacji

NA białka wykazują silną homologię strukturalną i funkcjonalną, co w kontekście dalekiego pochodzenia ewolucyjnego obydwu grup organizmów świadczy o istocie tych zjawisk dla funkcjonowania jąderka, a w perspektywie całej komórki.

Kto gra? – białka kompleksu

Niektóre białka okazują się bardziej istotne dla powstawania snRNP. U eukariotów w kompleksach ze

snoRNA zawierającymi sekwencje C/D znajdują się cztery rodzaje białek: 15,5 kDa, Nop56, Nop58 oraz fibrylaryna. U archebakterii natomiast występują trzy rdzeniowe rodzaje białek: L7Ae (odpowiednik 15,5 kDa) Nop5 (odpowiednik Nop56/58) oraz fibrylaryna (tabela 2).

Białko L7Ae jako pierwsze bezpośrednio łączy się z C/D snoRNA poprzez rozpoznanie charakterystycznej struktury nazywanej K-zwrotem (ang. *K-turn*), która powstaje dzięki oddziaływaniu ze sobą sekwencji C i D snoRNA. Białko L7Ae po połączeniu się z K-zwrotem snoRNA pełni funkcję platformy dla powstającej cząstki snoRNP (Clouet-d'Orval i wsp., 2005). To do niej dołączają się później kolejne białka. Podobnie zachowuje się homologiczne białko 15,5 kDa u eukariontów (ryc. 5). U archebakterii powtórzenia sekwencji C i D w snoRNA są identyczne, dlatego też białka L7Ae łączą się z K-zwrotami, co zachowuje symetrię w strukturze cząsteczki (ryc. 6). Inaczej wygląda to zjawisko w przypadku eukariontów. U nich sekwencje C oraz D mogą być niewiernymi kopiami (C' i D'), co czasem uniemożliwia formowanie się K-zwrotów. W rezultacie białko 15,5 kDa może nie być w stanie samo połączyć się ze snoRNA w niektórych miejscach. Nadal jednak zachowuje funkcję platformy, ponieważ przyczynia się do tworzenia architektury kompleksu poprzez budowanie interakcji między Nop56 i Nop58. Struktura kompleksu jest mimo wszystko zachowana, gdyż Nop56 i Nop58

dodatkowo łączą się swoiście do sekwencji C i jego niewiernej kopii C' (Ye i wsp., 2009).

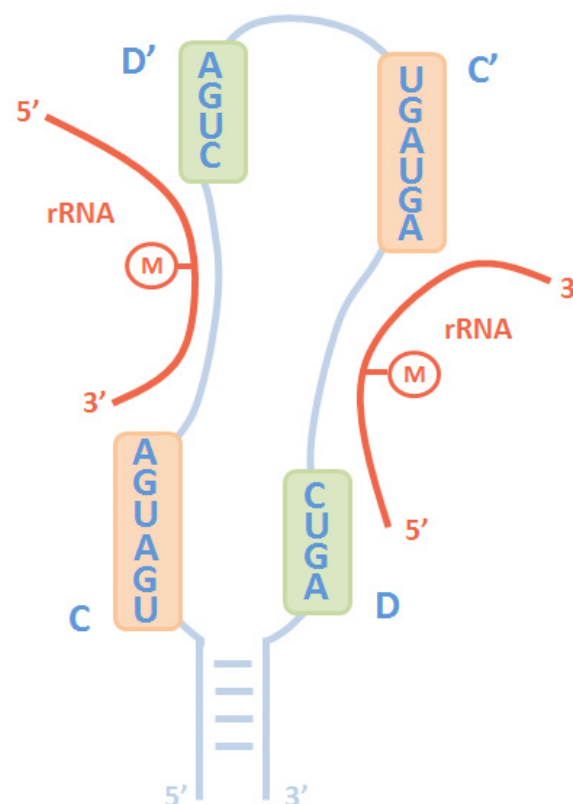
Fibrylaryna, obecna zarówno u archebakterii, jak i u eukariontów, stanowi element kompleksu posiadający właściwości katalityczne. Nie potrafi jednak przeprowadzać modyfikacji nukleotydowych w warunkach, w których inne białka tworzące kompleks snoRNP są nieobecne, nawet jeśli pozostaje w kompleksie ze snoR-

NA (Reichow i wsp., 2007). Oprócz tego oddziałuje z sekwencjami D i D' snoRNA.

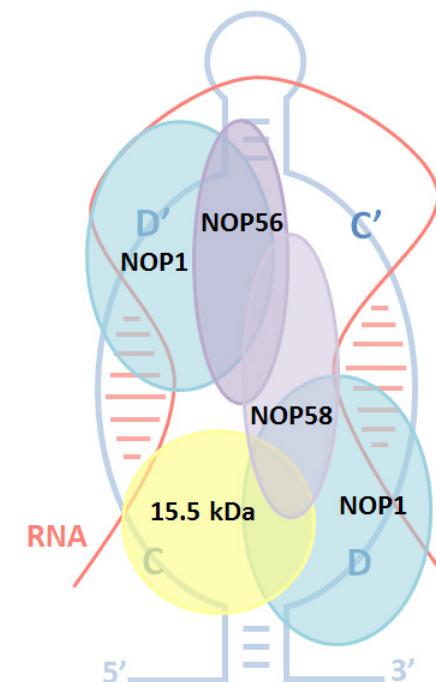
Białko Nop5 jest silnie konserwowane i pełni w tworzącym się kompleksie rybonukleoproteinowym u archebakterii funkcję szkieletu. Badania wskazują na to, że istnienie heterodimeru powstałego poprzez połączenie się Nop5 i fibrylaryny jest strukturą, która zwiększa wydajność aktywności katalitycznej kompleksu, a w szczególności fibrylaryny. Powinowactwo fibrylaryny do Nop5 pozwala jej na przyłączenie się do kompleksu (Ye i wsp., 2009). Nop56/58, będące homologami Nop5, mają własne specyficzne sposoby oddziaływania, które również są w znacznym stopniu związane z fibrylaryną (Lechertier i wsp., 2009).

Tabela 2. Białka tworzące kompleks z C/D snoRNA u eukariontów i ich odpowiedniki u archebakterii (zaadoptowane z: Clouet-d'Orval i wsp., 2005)

Eukarionty	Archibakterie
Fibrylaryna	Fibrylaryna
15,5 kDa	L7Ae
Nop5	Nop56 i Nop58



Ryc. 5. Struktura C/D snoRNA i jego interakcja z rRNA poprzez parowanie zasad. M – miejsce zachodzenia 2'-O-metylacji



Ryc. 6. C/D snoRNP u eukariontów

Warto zwrócić uwagę na to, że oprócz opisanych powyżej niektórych interakcji białek rdzeniowych w każdym kompleksie snoRNP występują białka i oddziaływania charakterystyczne dla konkretnego kompleksu. W każdym kompleksie oprócz białek rdzeniowych występuje wiele innych białek. Mogą one brać udział w procesie tworzenia kompleksu, dołączać się tylko w odpowiednich momentach i pełnić różne funkcje. Wszystkie te białka mają charakterystyczne sposoby oddziaływań. Przyjrzenie się dokładniej budowie oraz funkcjom lepiej poznanych snoRNA, a także powstałych poprzez rekrutację do nich białek snoRNP umożliwi obserwację ich różnorodności oraz udziału w procesach odbywających się w jąderku. Jednak nie można zapomnieć, że niektóre opisane oddziaływania białek rdzeniowych ze sobą oraz ze snoRNA to tylko bardzo mały wycinek całości.

Skrzypce czy altówka? – snoRNA zawierające sekwencje H/ACA

Wśród małych jądrowych RNA można wyróżnić drugą grupę cząsteczek charakteryzującą się szczególną strukturą drugorzędową oraz zawierających konserwowane sekwencje H (ANANNA, gdzie N oznacza dowolny nukleotyd) i ACA. Pierwsza z tych sekwencji jest zdecydowanie mniej konserwowana u archebakterii niż u eukariontów. Trzynukleotydowa sekwencja ACA, w której prawie zawsze w drugiej pozycji zlokalizowana jest cytozyna, leży bliżej końca 3' cząsteczki snoRNA (Tollervey i Kiss, 1997).

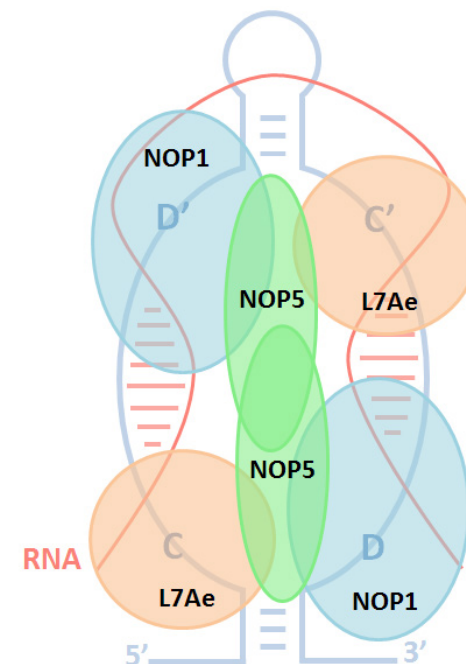
W strukturze H/ACA snoRNA można wyróżnić dwa regiony tworzące dwuniciowe struktury spinki do włosów przedzielone jednoniciowym regionem zawieszonym oraz ogon na końcu 3' (ryc. 7). Jedna lub obydwie spinki do włosów posiadają w swoim wnętrzu pętle (9-13 nukleotydów), nazywane kieszeniami pseudourydylacji

czyli modyfikacji urydyny polegającej na jej izomeryzacji (Kiss, 2002). Mają one potencjał do oddziaływania według reguły tworzenia się par zasad z rRNA i formowania krótkich struktur o charakterze helis. Działanie kieszeni pseudourydylacyjnej polega na tym, że sekwencja rRNA zawierająca w sobie urydynę ulegającą modyfikacji zostaje podczas oddziaływania w pętli niesparowana. W ten sposób powstaje przestrzeń, w której cząsteczka H/ACA snoRNA wraz z towarzyszącymi jej białkami, katalizującymi powyższą reakcję, mogą doprowadzić do izomeryzacji urydyny (Kiss, 2002).

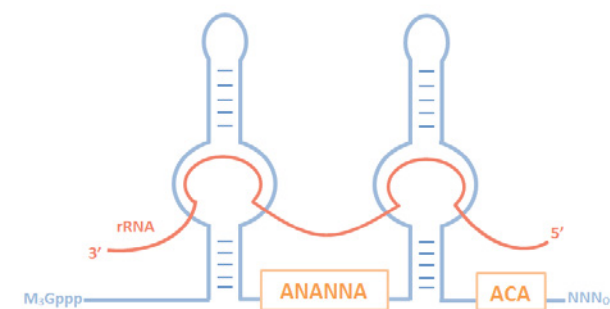
Pseudourydylacja jest obok 2'-O-metylacji drugą najczęściej występującą modyfikacją obecną w najbardziej zakonserwowanych fragmentach rRNA i jej liczba wynosi około 100 w ludzkim rRNA (Tollervey i Kiss, 1997) (ryc. 8). Jedną z jej funkcji jest zwiększanie stabilizacji RNA. W wyniku pseudourydylacji powstaje możliwość utworzenia dodatkowego wiązania wodorowego, które przyczynia się do ustabilizowania RNA (Karijolith i Yu, 2010).

Dialogi dźwięków – oddziaływania z białkami

snoRNA zawierające sekwencje H/ACA tworzą w pełni dojrzałą cząsteczkę snoRNP w kompleksie z czterema konserwowanymi białkami, do których należą Cbf5 (dyskretyna u ludzi), Nhp2 (L7Ae u archebakterii), Nop10 oraz Gar1 (ryc. 9). Ze względu na różne funkcje tych białek w kompleksie snoRNP, przyłączają się one do niego w odmienny sposób. W badaniach *in vitro* wykazano, że Cbf5 łączy się bezpośrednio z sekwencjami H/ACA oraz niezależnie od obecności innych białek. Nhp2 natomiast przyłącza się do tego kompleksu poprzez oddziaływania białko-białko i wraz z Cbf5 tworzy stabilny rdzeń kompleksu. L7Ae u archebakterii zachowuje się inaczej, a mianowicie przyłącza się



Ryc. 7. C/D snoRNP u archeonów. Białka kompleksu: Nop1=fibrylaryna, Nop5, L7Ae

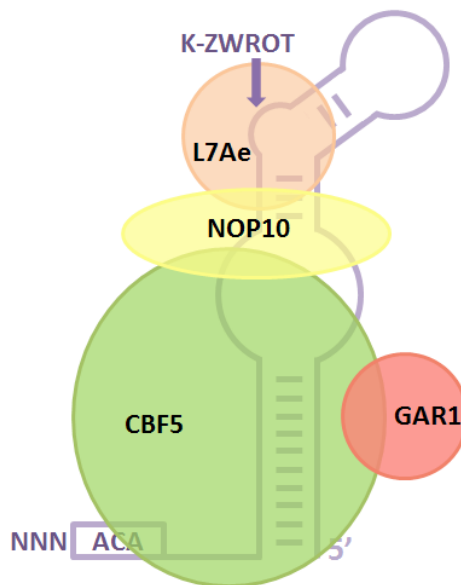


Ryc. 8. Struktura H/ACA snoRNA, jego charakterystyczne sekwencje H (ANANNA) i ACA i interakcja z rRNA

do K-zwrotu snoRNA. Warto podkreślić, że obecność K-zwrotu jest szczególną cechą H/ACA snoRNA tylko u archebakterii, eukarionty nie posiadają tej struktury. L7Ae charakteryzuje się tym, że nie oddziałuje z innymi białkami z kompleksu bez obecności H/ACA snoRNA. Konserwowana sekwencja ACA jest miejscem wiązania białka Cbf5 do kompleksu. Zachodzi również interakcja między nim a Gar1 oraz Nop10 bez udziału sekwencji H/ACA (Kiss i wsp., 2010). Warto zaznaczyć, że między białkami Gar1 oraz Nop10 nie ma interakcji.

W kompleksie H/ACA snoRNP Cbf5 (dyskretyna) spełnia bardzo ważną funkcję, ponieważ nie tylko jest katalizatorem modyfikacji urydyny, lecz także poprzez specjalne domeny jest głównym czynnikiem rekrutacji białek H/ACA snoRNA (Hamma i Ferre D'Amare, 2006). Cbf5 oddziałuje również z innymi białkami, które nie są akumulowane w jąderku, ale biorą udział w powstawaniu kompleksu H/ACA snoRNP poprzez zapewnienie metabolicznej stabilności partnerów interakcji.

Główną poznaną funkcją H/ACA snoRNPs jest pseudouracylowanie rRNA oraz snRNA, jednak niektóre rodzaje snoRNP uczestniczą również w obróbce pre-rRNA oraz syntezie telomerów (łańcuch H/ACA snoRNA jest fragmentem telomerazy) (Rouda i Skordalakes, 2007). Zatem są istotne dla trzech podstawowych procesów komórkowych: syntezy białek, splicingu mRNA oraz utrzymaniu integralności genomu (Kiss i wsp., 2010). Oczywiście poza białkami rdzeniowymi i snoRNA w tych procesach uczestniczy bardzo dużo innych białek. Niektóre z nich przyłączają się do kompleksu tylko czasowo, inne natomiast pomagają w procesie tworzenia snoRNP. W ostatnich latach odkryto wiele sekwencji H/ACA snoRNA o nieznanym do tej pory funkcjonowaniu, a wiele pozostaje pewnie jeszcze nieodkrytych. Prawdopodobnie mechanizmy i sposoby oddziaływania białek i RNA, o których wiemy, są tylko niewielką częścią, tego co naprawdę się dzieje. Zro-



Ryc. 9. H/ACA snoRNP u archeonów. Białka kompleksu: Gar1, Cbf5 (dyskretyna), Nop10, L7Ae; NNN-nukleotydy

zumienie skomplikowanych i precyzyjnych interakcji zachodzących w komórce pozwoli poszerzyć wyobraźnię. W rezultacie umożliwi to przewidywanie skutków zmian w jej funkcjonowaniu i zastosowanie tej wiedzy w medycynie.

Wyjątkowy muzykant

Ostatnia, trzecia większa klasa kompleksów snoRNP jest czasem traktowana bardziej jako wyjątek niż oddzielna jednostka. Mowa tu o składających się z komponentów białkowych i kompleksów rybonukleinowych RNazy MRP i RNazy P, które są strukturalnie oraz funkcjonalnie związane. Obydwie cząsteczki snoRNP mają aktywność endonukleolityczną i są zaangażowane m.in. w obróbkę pre-rRNA oraz pre-tRNA

(Pluk i wsp., 1999). Przewiduje się, że RNazy MRP i P posiadają bardzo podobny pod względem struktury drugorzędowej element RNA. Ponadto mają w zależności od gatunku organizmu od 7 do 10 wspólnych białek, odpowiadających za stabilność i funkcję obydwu cząsteczek, a także komponenty charakterystyczne dla każdej z nich. Obydwie RNazy nie wykazują właściwości katalitycznych w nieobecności składników białkowych, ale też w obydwu to komponenty RNA mają właściwości enzymatyczne. Najprawdopodobniej białka te spełniają funkcje pomocnicze, np. poprzez ułatwianie interakcji z RNA będącym substratem (Eenennaam, 2002).

Badania małych jąderkowych kwasów rybonukleinowych rozpoczęły się całkiem niedawno, a już znane są przykłady schorzeń i chorób, których podłożem jest nieprawidłowe funkcjonowanie bądź brak tych cząsteczek. Chociażby brak lub nieprawidłowe funkcjonowanie dyskretyny bądź sekwencji H/ACA skutkuje u ludzi chorobą genetyczną zwaną *Dyskeratosis congenita*, która charakteryzuje się posiadaniem krótszych telomerów (Kiss, 2002). Zespół Pradera-Willego, o skomplikowanym obrazie genetycznym i fenotypie, jest spowodowany delecją fragmentu chromosomu 15. Okazuje się, że kluczowe aspekty fenotypu tego zespołu mają związek z brakiem ekspresji, przeważnie w mózgu, grupy C/D snoRNA (Peters, 2008). Zróżnicowane profile ekspresji snoRNA i innych niekodujących RNA w obszarach mózgu związanych z zapamiętywaniem i uczeniem się korelują z patologią schorzeń neurodegeneracyjnych i neuropsychiatrycznych (Mehler, 2008). Prawdopodobnie w przyszłości niektóre małe niekodujące RNA będą wykorzystywane w medycynie w terapiach przeciwko nowotworom, a także jako ich biomarkery (Martens-Uzunova i wsp., 2013).

Biogeneza, a także mechanizmy związane ze szczególnym funkcjonowaniem wszystkich rodzajów snoRNA pozostaje z pewnością niekompletna, a część hipo-

tez niewątpliwie okaże się w przyszłości nietrafnych. Dlaczego? Ponieważ pełne zrozumienie powstania, regulacji ekspresji snoRNA, a także jego oddziaływania na wiele elementów i procesów w komórce wymaga najpierw rozwikłania złożoności relacji pomiędzy poznaną liczbą rodzin RNA, które tworzą eukariotyczny transkryptom. A nadal wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi. Co więcej, pewnie niektóre pytania nie zostały jeszcze postawione. Z naukowego punktu widzenia nadal widoczny jest tylko czubek rybonukleinowej góry.

Gdzie w orkiestrze RNA?

Hipoteza „Świata RNA” zakłada, że to kwasy rybonukleinowe dały początek pierwszym formom materii żywej, a następnie zostały zastąpione przez lepiej wyspecjalizowane DNA i białka. Nie wiadomo, czy jest ona wiarygodna. Niewątpliwie jednak różne rodzaje kwasów rybonukleinowych, nawet jeśli są odpowiedzialne za specyficzne modyfikacje nukleotydów, są istotnym elementem dla procesów zachodzących w komórce. W ostatnich latach dzięki badaniom poszczególnych rodzajów RNA odkrywano ich nowe klasy, funkcje oraz oddziaływania. Zauważono także ich ogromny wpływ na regulację ekspresji genów. Niekodujące RNA wpływają na zjawiska komórkowe, takie jak ścieżki sygnałowe i adaptacyjne, odpowiedź na stres oraz przebieg apoptozy. Ich odkrycie było jednym z przełomowych momentów w historii biologii molekularnej. Ogromny zakres działania niekodujących RNA sprawia, że są doskonałym obiektem poszukiwania nowych metod terapeutycznych. Lepsze poznanie ich roli w procesach rozwojowych i nowotworzenia w komórkach umożliwi ich zastosowanie w naukach medycznych. Szczególnie imponująca precyzja i spektrum działania jąderkowych małych kwasów rybonukleinowych pokazuje jak niezwykle mechanizmy umożliwiają

prawidłowe funkcjonowanie komórki. Można zatem przypuszczać, że podobnie jak w muzyce, choć w momencie słuchania utworu nie zwracamy uwagi na poszczególne dźwięki, fraza każdego instrumentu ma znaczenie w danym momencie. I w żadnej z nich, podobnie jak w RNA, nie ma miejsca na przypadkowość.

Literatura

- Abelson J, Trotta C, Li H (1998). tRNA splicing. *J Biol Chem*. 273:12685–12688.
- Allison LA (2007). *Podstawy biologii molekularnej*. Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego
- Bachelier JP, Cavaillé J, Hüttenhofer A (2002). The expanding snoRNA world. *Biochimie*. 84:775-790.
- Brown TA, (2007). *Genomy*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN
- Cavaillé J, Buiting K, Kieffmann M, Lalande M, Brannan CI, Horsthemke B, Bachelier J-P, Brosius J, Hüttenhofer A. (2000). Identification of brain-specific and imprinted small nucleolar RNA genes exhibiting an unusual genomic organization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97:14311-14316.
- Clouet-d'Orval B, Gaspin C, Mougin A (2005). Two different mechanisms for tRNA ribose methylation in Archaea: a short survey. *Biochimie*. 87:889-895.
- Croce CM, Calin GA (2005). miRNAs, Cancer, and Stem Cell Division. *Cell*. 122: 6-7.
- Dieci G, Plaag R, Montanini B (2009). Eukaryotic snoRNAs: A paradigm for gene expression flexibility. *Genomics*. 94:83-88.
- Eenennaam H (2002). *The human RNase MRP complex. Composition, assembly and role in human disease*. UB Nijmegen
- Ender C, Krek A, Friedländer MR, Beitzinger M, Weinmann L, Chen W, Pfeffer S, Rajewsky N, Meister G. (2008). A human snoRNA with microRNA-like functions. *Mol Cell*. 32(4):519-28.
- Filipowicz W, Pogačić V (2002). Biogenesis of small nucleolar ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol*. 14:319-327.
- Fiore R, Khudayberdiev S, Saba R, Schratt G (2011). MicroRNA function in the nervous system. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 102:47-100.
- Jansson MD, Lund AH, (2012). MicroRNA and cancer *Mol Oncol*. 6:590-610.
- Hamma T, Ferré-D'Amare AR (2006). Pseudouridine synthases. *Chem. Biol*. 13:1125-1135.
- He W, Parker R (2000). Functions of Lsm proteins in mRNA degradation and splicing. *Curr Opin Cell Biol*. 12:346-350.
- Karijolich J, Yu Y-T (2010). Spliceosomal snRNA modifications and their function. *RNA Biol*. 7:192–204.
- Kazantsev AV, Pace NR (2006). Bacterial RNase P: a new view of an ancient enzyme. *Nat Rev Micro*. 4:729-740.
- Khusial P, Plaag R, Zieve GW (2005). LSm proteins form heptameric rings that bind to RNA via repeating motifs. *Trends Biochem Sci*. 30:522-528.
- Kiss T, (2001). Small nucleolar RNA-guided post transcriptional modification of cellular RNAs. *EMBO J*. 20:3617-3622.
- Kiss T, (2002). Small Nucleolar RNAs. *Cell*. 109:145-148.
- Kiss T, Fayet-Lebaron E, Jány BE (2010). Box H/ACA small ribonucleoproteins. *Mol Cell*. 37:597-606.
- Lafontaine DL, Tollervey D (1998). Birth of the snoRNPs: the evolution of the modification-guide snoRNAs. *Trends Biochem Sci*. 23:383–388.
- Lechertier T, Grob A, Hernandez-Verdun D, Roussel P (2009). Fibrillar and Nop56 interact before being co-assembled in box C/D snoRNPs. *Exp Cell Res*. 315:928-942.
- Martens-Uzunova ES, Olvedy M, Jenster G, (2013). Beyond microRNA – Novel RNAs derived from small non-coding RNA and their implication in cancer, *Cancer Lett*.
- Matera AG, Terns RM, Terns MP, (2007). Non-coding RNAs: lessons from the small nuclear and small nucleolar RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 8:209-220.
- Mehler MF (2008). Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease. *Progress neurobiol*. 86:305-341.
- Murchison EP, Hannon GJ (2004). miRNAs on the move: miRNA biogenesis and the RNAi machinery. *Curr Opin Cell Biol*. 16:223-229.
- Nakahara K, Carthew RW (2004). Expanding roles for miRNAs and siRNAs in cell regulation. *Curr Opin Cell Biol*. 16:127-133.
- Peters J (2008). Prader-Willi and snoRNAs. *Nat Genet*. 40:688–689.
- Pluk H, Eenennaam H, Rutjes SA, Puijij GJ, Venrooij WJ (1999). RNA-protein interactions in the human RNase MRP ribonucleoprotein complex. *RNA*. 5:512–524.
- Qureshi IA, Mehler MF (2012). Emerging roles of non-coding RNAs in brain evolution, development, plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*. 13:528–541.
- Reichow SL, Hamma T, Ferre-D'Amare AR, Varani G (2007). The structure and function of small nucleolar ribonucleoproteins. *Nucleic Acids Res*. 35:1452-1464.
- Röther S, Meister G (2011). Small RNAs derived from longer non-coding RNAs. *Biochimie*. 93:1905-1915.
- Rouda S, Skordalakes E (2007). Structure of the RNA-binding domain of telomerase: Implications for RNA recognition and binding. *Structure*. 15:1403–1412.
- Samarsky DA, Fournier MJ, Singer RH, Bertrand E (1998). The snoRNA box C/D motif directs nucleolar targeting and also couples

- snoRNA synthesis and localization. *EMBO J.* 17:3747-3757.
- Scott MS, Ono M, Yamada K, Endo A, Barton GJ, Lamond AI (2012). Human box C/D snoRNA processing conservation across multiple cell types. *Nucleic Acids Res.* 40:3676–3688.
- Tollervey D, Kiss T (1997). Function and synthesis of small nucleolar RNAs. *Curr Opin Cell Biol.* 9:337-342.
- Williams GT, Farzaneh F, (2012). Are snoRNAs and snoRNA host genes new players in cancer. *Nat Rev Cancer.* 19:12:84-8.
- Ye K, Jia R, Lin J, Ju M, Peng J, Xu A, Zhang L (2009). Structural organization of box C/D RNA-guided RNA methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 106:13808-13813.

Conducting the cellular orchestra – the musical theme of snoRNA

Ewa Sitarska

Among a rising number of different kinds of RNA molecules the best known are mRNA, tRNA and rRNA. Small non-coding RNA molecules (snRNA, miRNA, siRNA) and in particular small nucleolar RNA molecules (snoRNA) have emerged as important classes of molecules in various processes. Research from recent years enables us to have a better understanding of various functions and interactions within an enormous amount of RNA molecules. Small nucleolar RNA molecules form complexes with proteins and mostly in the form of small nucleolar ribonucleoproteins participate in chemical modification (2'-O-methylation, pseudouridylation) of rRNA and snRNA nucleotides. Based on the presence of short conserved sequence motifs two major classes of snoRNAs may be described: C/D and H/ACA snoRNA, whose complexes are characterized by different structures and functions. An overview of specific and precise RNA interactions, in particular of snoRNA, will enable us to understand its crucial role for the cell function.

Key words: RNA, RNA modification, base-pairing, snoRNA, snoRNP, 2'-O-methylation, pseudouridylation, C/D sequence, H/ACA sequence