

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-226

**РОЛЬ ФАЗОВЫХ ПЕРЕХОДОВ БИОПОЛИМЕРОВ  
В ФОРМИРОВАНИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИИ А-ТЕЛЕЦ\*****THE ROLE OF PHASE TRANSITIONS OF BIOPOLYMERS  
IN THE FORMATION AND FUNCTIONING OF A-BODIES**

А. А. Гаврилова, Я. И. Мокин, А. В. Фонин

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

A. A. Gavrilova, Y. I. Mokin, A. V. Fonin

*Institute of Cytology RAS, Saint Petersburg*✉ [asultanbekova@incras.ru](mailto:asultanbekova@incras.ru)**Аннотация**

Ядрышки при стрессовом воздействии трансформируются в различные структуры. Один из типов таких структур — А-тельца — амилоидоподобные немембранные органеллы, содержащие некодирующую РНК и сотни белков в амилоидном состоянии. Мы представили уточненную модель их формирования, в которой «драйвером» образования этих амилоидных структур является некодирующая РНК.

**Abstract**

Nucleoli transform into various structures under stress. One type of such structure is A-bodies — amyloid-like membraneless organelles consisting of non-coding RNA and hundreds of proteins in the amyloid state. We studied the structure of the biopolymer components of A-bodies and presented a refined model of their formation, in which the “driver” of the formation of these amyloid structures is non-coding RNA.

Обратимая иммобилизация белков в ядрышке (ядрышковая секвестрация) известна уже более двух десятилетий [1]. Стрессовые условия могут вызывать изменения структуры ядрышка, и в основе этих изменений лежит процесс разделения фаз жидкость-жидкость (LLPS). В результате теплового воздействия и внеклеточного ацидоза образуются амилоидоподобные структуры — А-тельца, содержащие некодирующую РНК, транскрибируемую с межгенного спейсера рибосомальной ДНК (rIGSRNA), и сотни белков в амилоидном состоянии. Эти структуры играют важную роль в ответе клеток на стресс. Их функции заключаются в иммобилизации и сохранении белков без необходимости их синтеза *de novo* после окончания стрессового воздействия. Различные стрессовые воздействия (тепловой шок и внеклеточный ацидоз) вызывают образование А-телец, содержащих разные типы rIGSRNA и существенно различающихся по протеомному составу [2].

Для определения механизма образования А-телец была осуществлена визуализация с помощью конфокальной микроскопии, электронной микроскопии и иммуноэлектронной микроскопии. Продемонстрирована локализация маркерного белка VHL (Von Hippel-Lindau protein), меченого EGFP после теплового воздействия.

Мы исследовали механизм образования А-телец и структуру их биополимерных компонентов, сосредоточившись на изменениях, вызванных различными типами стресса. Биоинформатический анализ протеомного состава А-телец показал значительное содержание «клиентских» белков LLPS в протеоме. А-тельца, сформированные под воздействием внеклеточного ацидоза, обладают более выраженными жидко-капельными свойствами, чем А-тельца, которые образуются при тепловом шоке [3].

Формирование А-телец инициируется сложной коацервацией rIGSRNA с белками. Молекулы rIGSRNA действуют как «драйверы» LLPS при образовании А-телец. Учитывая отсутствие точных данных о структуре rIGSRNA, мы проанализировали транскриптом клеток MCF7 после теплового шока. Этот анализ показал повышение регуляции транскриптов rIGSRNA по сравнению с нестрессированными клетками. rIGSRNA кодируется в межгенной спейсерной области рибосомальной ДНК и имеет чувствительную к тепловому шоку область в районе 16 кб, что было определено с помощью РНК-секвенирования. Четырнадцать участков сверхэкспрессии идентифицированы в области chr21:8,404,499–8,408,349 (HSU13369) в клетках MCF-7, подвергшихся тепловому шоку. Проанализировав полученные данные, мы выбрали наиболее вероятный транскрипт. По литературным дан-

\* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 23-45-000-41).

© А. А. Гаврилова, Я. И. Мокин, А. В. Фонин, 2024

ным, интерференция РНК с использованием siRNA, комплементарной этой области, предотвращало образование А-телец [4].

Сверхэкспрессия индуцируемого стрессом локуса rIGSRNA была подтверждена с помощью количественной ПЦР. Далее, используя метод T7 транскрипции, получили, выделили и охарактеризовали целевую rIGSRNA. С помощью метода кругового дихроизма было показано, что rIGSRNA образует вторичную структуру типа «псевдоузел», что противоречит существующей гипотезе, в соответствии с которой rIGSRNA не имеет упорядоченной структуры. Мы также визуализировали образование кластеров rIGSRNA в ядрышках клеток MCF-7, подвергшихся тепловому стрессу, с помощью метода флуоресцентной гибридизации *in situ*.

В совокупности наши исследования раскрывают ранее неизвестные особенности биогенеза А-телец. Мы полагаем, что формирование А-телец начинается с этапа специфического взаимодействия rIGSRNA с белками, с дальнейшим формированием жидко-капельных «очагов», которые по мере слияния образуют зрелую структуру. Специфичность формирования А-телец различного типа обусловлена вторичной структурой некодирующей РНК, экспрессируемой при разных типах стресса. Таким образом, реорганизация ядрышек в А-тельца является способом клеточного ответа на стресс, в котором иммобилизация белка с помощью некодирующей РНК — это специфический посттрансляционный регуляторный механизм.

### Литература

1. Audas T. E., Jacob M. D., Lee S. Immobilization of proteins in the nucleolus by ribosomal intergenic spacer noncoding RNA // *Mol. Cell*. 2012. Vol. 45 (2). P. 147–157.
2. Audas T. E., Audas D. E., Jacob M. D. et al. Adaptation to Stressors by Systemic Protein Amyloidogenesis // *Dev. Cell*. 2016. Vol. 39 (2). P. 155–168.
3. Mokin Y. I., Gavrilova A. A., Fefilova A. S. et al. Nucleolar- and Nuclear-Stress-Induced Membrane-Less Organelles: A Proteome Analysis through the Prism of Liquid-Liquid Phase Separation // *Int. J. Mol. Sci*. 2023. Vol. 24 (13). P. 11007.
4. Wang M., Tao X., Jacob M. D. et al. Stress-Induced Low Complexity RNA Activates Physiological Amyloidogenesis // *Cell Rep*. 2018. Vol. 24 (7). P. 1713–1721.