

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ И ОРГАНИЗАЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ КОНДЕНСАТОВ

Обзор

© 2024 А.А. Валяева^{1,2,3*}, Е.В. Шеваль^{2,3}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики,
119991 Москва, Россия; электронная почта: valyaeva.anp@gmail.com

² НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра клеточной биологии и гистологии, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 10.10.2023

После доработки 19.11.2023

Принята к публикации 20.11.2023

Клетки эукариот отличаются высокой степенью компартментализации внутреннего содержимого, что обеспечивает точную и контролируемую регуляцию внутриклеточных процессов. Для реализации многих процессов, в том числе разных этапов транскрипции, в клетке формируются динамические безмембранные компартменты, называемые биомолекулярными конденсатами. Транскрипционные конденсаты, содержащие различные транскрипционные факторы и РНК-полимеразу, формируются за счет высоко- и низкоспецифичных взаимодействий между белками, ДНК и находящимися поблизости РНК. В данном обзоре обсуждаются новые данные, демонстрирующие важную роль низкоспецифичных мультивалентных белок-белковых и РНК-белковых взаимодействий в организации и регуляции транскрипции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: транскрипция, РНК, РНК-полимераза, транскрипционные конденсаты, природно неупорядоченные домены.

DOI: 10.31857/S0320972524040087 EDN: ZFGMNJ

ВВЕДЕНИЕ

Экспрессия генов в ядре обеспечивается активностью трех РНК-полимераз – РНК-полимеразы I (RNAPI), осуществляющей транскрипцию предшественника 25S, 18S и 5,8S рибосомных РНК (рРНК), РНК-полимеразы II (RNAPII), осуществляющей транскрипцию большей части матричных РНК (мРНК), а также РНК-полимеразы III (RNAPIII), которая осуществляет транскрипцию рибосомной 5S-рРНК, тРНК, 7SL РНК и некоторых других малых РНК. Регуляция транскрипции представляет собой сложный процесс, в который, даже в самых

простых случаях, вовлечено множество различных белков и РНК, аккумулирующихся в целевых сайтах клеточного ядра. Классическим примером такой аккумуляции является ядрышко – самая крупная органелла ядра, в которой происходит транскрипция и процессинг пре-рРНК, а также сборка пре-рибосом [1, 2].

Важнейшей особенностью клеточного ядра, которая обеспечивает возможность осуществлять транскрипцию и гибко ее регулировать, является высокая подвижность ядерных белков. Еще в 2000 году были получены первые данные о том, что многие белки в составе ядрышка, интерхро-

Принятые сокращения: ГК – гранулярный компонент ядрышка; ПФК – плотный фибриллярный компонент ядрышка; CTD – С-концевой домен РНК-полимеразы II; FBL – фибрилларин; IDR – природно неупорядоченный домен; PRC2 – Polycomb-репрессивный комплекс 2; RNAPI – РНК-полимераза I; RNAPII – РНК-полимераза II; RNAPIII – РНК-полимераза III.

* Адресат для корреспонденции.

магиновых гранул и хроматина связаны со структурами не стабильно, а находятся в постоянном достаточно быстром обмене с окружающей нуклеоплазмой [3, 4]. В рамках данного обзора особый интерес представляет характер связи и обмена транскрипционных факторов, которые отвечают за осуществление относительно продолжительного процесса – транскрипции. Теоретически транскрипция могла бы быть активирована при постоянном связывании транскрипционных факторов с промоторами. Однако уже первые эксперименты показали, что глюкокортикоидный рецептор, который при связывании с хроматином модулирует экспрессию генов гормонозависимым образом, подвергается быстрому обмену между целевым сайтом на хроматине и окружающей нуклеоплазмой [3]. Позднее было показано, что глюкокортикоидный рецептор и белок, взаимодействующий с глюкокортикоидным рецептором 1 (GRIP-1), находятся в динамическом равновесии с промотором и должны многократно возвращаться к матрице в ходе активации транскрипции [5]. Другие транскрипционные факторы также связаны с промоторами динамично, находясь на самом промоторе в течение относительно небольшого времени – от долей секунды до нескольких десятков секунд [6]. Динамическая сборка на промоторе была показана и для субъединиц RNAPII [7].

Высокая скорость обмена была показана и для некоторых факторов транскрипции рРНК – UBF [8–10], TAFI48, PAF53 и TIF-IA/Rrn3 [9]. Динамическое поведение демонстрировали на промоторе и субъединицы RNAPI, что свидетельствовало о стохастичности и малой эффективности сборки комплексов, необходимых для транскрипции [9].

Поведение транскрипционных факторов описывается моделью 3D-сканирования генома (3D genome-scanning model) [6] или, как иногда говорят, моделью диффузии и сродства (diffusion and affinity model). Данная модель предполагает, что белки свободно и с большой скоростью диффундируют во всем объеме ядра, периодически взаимодействуя с его компонентами. Большая часть таких взаимодействий неспецифична и нефункциональна. Однако при взаимодействии с целевыми сайтами благодаря высокоаффинным взаимодействиям белки могут временно иммобилизоваться, что с некоторой, по-видимому, весьма невысокой вероятностью может завершаться формированием функциональных макромолекулярных комплексов.

Однако эта модель не в состоянии описать все количественные закономерности, связанные с регуляцией активности генома. Например, были представлены расчеты, что скорость, с которой белки находят свои сайты на ДНК в бактериальных клетках, примерно в 100 раз выше, чем прогнозируется только на основе диффузии [11, 12].

В настоящее время предложено несколько механизмов, которые способны повышать эффективность накопления белков, а также точность такого накопления. Как минимум некоторые из этих механизмов зависят преимущественно от низкоспецифичных взаимодействий между молекулами, что может приводить, в частности, к формированию безмембранных структур, которые в настоящее время принято называть биомолекулярными конденсатами, аккумулирующими молекулы, необходимые для эффективной транскрипции. Так как формирование конденсатов во многих случаях зависит от взаимодействия между белками и РНК, в рамках данного обзора мы последовательно рассмотрим роль белков и РНК, участвующих в организации и регуляции транскрипции путем формирования транскрипционных конденсатов.

КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ТРАНСКРИПЦИИ

Регуляция транскрипции генов базируется, прежде всего, на многочисленных высокоаффинных (специфических) взаимодействиях различных белков с энхансерами и промоторами. Так, активация транскрипции зависит от взаимодействия комплекса Mediator с энхансером и промотором, что облегчает посадку RNAPII в ходе инициации транскрипции [13, 14]. Однако ряд данных свидетельствует, что инициация транскрипции может приводить к формированию достаточно значительных по размеру комплексов – транскрипционных фабрик, внутри которых концентрируется множество транскрибируемых генов. Такая гипотеза привлекательна, прежде всего, тем, что позволяет надеяться на согласованную регуляцию множества генов, собранных в рамках одной транскрипционной фабрики. В пользу существования таких комплексов, прежде всего, свидетельствуют микроскопические данные о формировании кластеров молекул RNAPII в ядрах животных [15–20]. Эти данные изначально были получены методами обычной флуоресцентной, а не локализационной микроскопии с супер-разрешением, которая позволяет определять число молекул в определенной области. Результаты, полученные методами микроскопии с супер-разрешением, свидетельствуют о том, что транскрипционные фабрики невелики и преимущественно образованы всего несколькими молекулами RNAPII [21].

В составе транскрипционных фабрик также аккумулируются субъединицы комплекса Mediator [22]. Предполагается, что крупные кластеры RNAPII и комплекса Mediator (<10% от всех кластеров) могут быть идентичны описанным ранее кластерам супер-энхансеров. Экспрессия

некоторых важных генов контролируется множеством энхансеров (супер-энхансерами) [23–27]. Опубликованные данные свидетельствуют, что крупные кластеры RNAPII и комплекса Mediator, как правило, перекрываются с супер-энхансер-содержащими локусами [22, 28–30].

Прижизненные наблюдения свидетельствуют о том, что такие транскрипционные фабрики формируются как динамические, коротко живущие агрегаты, включающие молекулы RNAPII [31–33]. Похожая ситуация показана и для транскрипционных факторов Zelda и Bicoid в развивающихся эмбрионах дрозофилы [34]. Оба эти фактора образуют динамические короткоживущие конденсаты, которые временно взаимодействуют с участками активной Bicoid-зависимой транскрипции, активируя ее.

Наконец, следует учитывать микроскопические результаты визуализации транскрипции длинных генов. Такие гены образуют достаточно протяженные петли, вдоль которых, по-видимому, движутся молекулы RNAPII [35, 36]. Эти петли напоминают петли в хромосомах типа ламповых щеток [37–39]. Таким образом, последние данные не подтверждают идею о существовании высокоупорядоченных транскрипционных фабрик, скорее, речь идет о высокодинамичных комплексах. Такие комплексы в настоящее время принято называть транскрипционными конденсатами [40].

РОЛЬ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ФОРМИРОВАНИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ КОНДЕНСАТОВ

Представления о биомолекулярных конденсатах возникли при изучении безмембранных органелл [41, 42]. Позднее эти представления были распространены на любые комплексы, которые не демонстрируют стехиометричности своего состава

[43]. В формировании таких комплексов – вне зависимости от их размера – важную роль играют многочисленные низкоаффинные взаимодействия между молекулами. Ключевую (но не исключительную) роль в этом играют взаимодействия, в которые вовлечены природно неупорядоченные домены белков (IDR) [44–47] (рис. 1, а и б). Важное значение также имеют мультивалентные взаимодействия с участием структурированных доменов [48, 49]. По роли в формировании конденсатов белковые молекулы разделяют на молекулы-скэффолды (scaffold molecules), т.е. молекулы, вовлеченные в мультивалентные взаимодействия и способствующие формированию конденсатов, и белки-клиенты (client proteins), накапливающиеся в уже сформированных конденсатах [49]. IDR, хотя и не обладают высокой аффинностью, но, так же как высокоаффинные РНК-связывающие домены, могут быть основой для мультивалентных взаимодействий: либо в случае большой протяженности IDR, либо в случае олигомеризации белковых молекул (рис. 1, в).

В пользу того, что транскрипция может сопровождаться формированием биомолекулярных конденсатов, свидетельствует способность некоторых белков, участвующих в транскрипции, к формированию конденсатов *in vitro*. Наиболее детальные данные имеются для некоторых белков ядрышка, особенно для двух ключевых ядрышковых белков – FBL и NPM1 [50]. Многие другие белки, которые вовлечены в различные аспекты регуляции активности генома, также способны формировать конденсаты *in vitro* (в ряде случаев анализ ограничивался IDR этих белков, однако даже такие данные, по-видимому, достаточны для установления потенциальной способности белков участвовать в образовании биомолекулярных конденсатов). Так, к ним относятся компоненты комплекса Mediator и RNAPII [22, 28, 29], TAZ [51], BRD4 [28], факторы транскрипции OCT4 [52] и TAF15 [53].

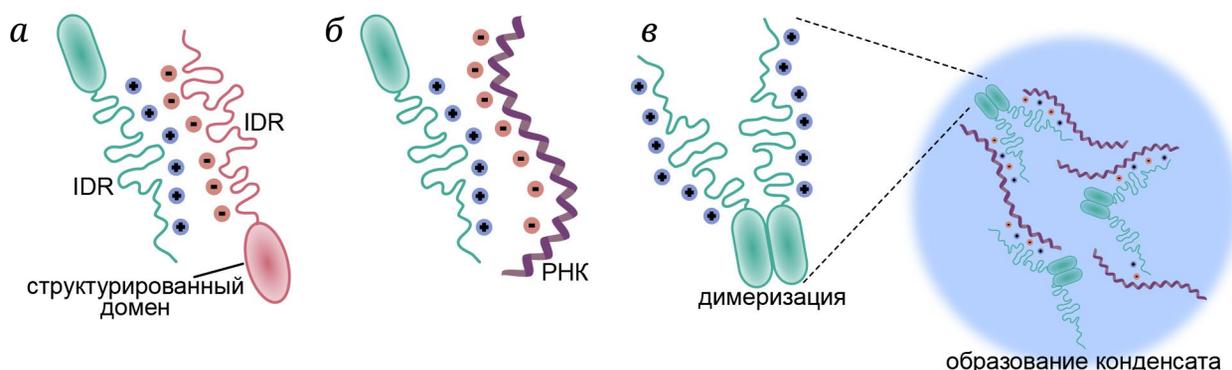


Рис. 1. Роль природно неупорядоченных доменов (IDR) в формировании биомолекулярных конденсатов. а – Электростатические взаимодействия между IDR белков в случае присутствия доменов с разным зарядом. б – Взаимодействия между IDR белка и РНК. в – Формирование биомолекулярного конденсата за счет мультивалентных взаимодействий, обеспечиваемых димерами белков со связывающими молекулы РНК IDR

Одно из наиболее эффектных подтверждений того, что в ходе активации транскрипции происходит формирование биомолекулярных конденсатов, зависящих от IDR, получено при изучении сигнального пути Wnt/ β -катенин [54]. β -Катенин при активации сигнального пути транслоцируется в ядро, где образует комплекс с транскрипционными факторами LEF/TCF. Этот комплекс рекрутирует дополнительные кофакторы и усиливает экспрессию целевых генов. LEF1 вместе с β -катенином способен формировать биомолекулярные конденсаты как *in vitro*, так и *in vivo*, причем формирование этих конденсатов необходимо для активации транскрипции. Примечательно, что LEF1 с нарушенным IDR теряет свою активность, которая может быть восстановлена путем замены на природно неупорядоченный домен другого белка (Fused in sarcoma, FUS). Это лишний раз подчеркивает роль неспецифических взаимодействий в процессах регуляции транскрипции.

Также были получены данные о том, что IDR могут не только повышать эффективность транскрипции за счет привлечения разных белковых молекул в транскрипционные конденсаты, но и повышать точность узнавания транскрипционными факторами промоторов. Транскрипционные факторы содержат ДНК-связывающие домены, которые специфически связываются с короткими мотивами последовательностей ДНК. Однако ДНК-связывающие домены занимают лишь часть последовательностей транскрипционных факторов, большая же часть последовательностей этих белков имеет низкую сложность и лишены стабильной 3D-структуры [55–57]. Как уже упоминалось выше, IDR не способны реализовывать высокоаффинные и высокоспецифические взаимодействия. Однако такие участки способны «направлять» транскрипционные факторы к определенным геномным локусам (т.е. повышать специфичность узнавания промотора), действуя совместно с высокоаффинными ДНК-связывающими доменами [58–60].

РОЛЬ С-КОНЦЕВОГО ДОМЕНА RNAPII В ОРГАНИЗАЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ КОНДЕНСАТОВ

Особую роль в организации процессов транскрипции играет С-концевой домен RNAPII (CTD). CTD представляет собой IDR, который содержит множество гептадных повторов с консенсусной последовательностью Туг 1-Ser 2-Pro 3-Thr 4-Ser 5-Pro 6-Ser 7 [61–63]. У различных организмов длина CTD варьирует в широких пределах – от 26 повторов (у *Saccharomyces cerevisiae*) до 52 повторов (у человека).

При экспрессии в клетках CTD накапливается в сайтах активной транскрипции, что может говорить о его потенциальной роли в накоплении RNAPII в целевых сайтах [64]. Данные о его непосредственной роли в процессе транскрипции противоречивы. Каталитическая активность RNAPII обеспечивается консервативными субъединицами фермента RPB1 и RPB2, но не CTD [65], и поэтому кажется логичным, что RNAPII с делетированным CTD может осуществлять транскрипцию *in vitro*, но не *in vivo* [66]. Этот вопрос изучался разными авторами, но наиболее свежее исследование, проведенное с использованием клеток Raji, говорит о том, что CTD не является обязательным для транскрипции в живых клетках [67]. Представленные в этой работе данные свидетельствуют, что CTD необходим не столько для транскрипции *per se*, сколько для точной посадки RNAPII в целевые сайты, а также регуляции процессов, связанных с транскрипцией, и созревания транскриптов.

Последовательности CTD человека и дрожжей способны формировать конденсаты *in vitro*, при этом образующиеся агрегаты имеют сферическую форму и включают в себя интактную RNAPII [68]. Важно, что способность к кластеризации RNAPII в ядре коррелирует с числом гептадных повторов: укорочение человеческого CTD до длины CTD из дрожжей уменьшает накапливаемую концентрацию RNAPII и ее ассоциацию с хроматином в клетках человека, а удлинение повторов увеличивает кластеризацию молекул RNAPII [69]. Моделирование подтверждает, что длина CTD способствует посадке молекул RNAPII на промотор и замедляет их освобождение с него, а также что взаимодействие CTD–CTD позволяет концентрировать множество молекул RNAPII в одной точке. Также несколько работ свидетельствуют о том, что CTD участвует в привлечении комплекса Mediator [22, 28, 70]. А разрушение комплекса Mediator ведет к распаду крупных комплексов гипофосфорилированной RNAPII [71].

Процитированные выше работы свидетельствуют о том, что формирование биомолекулярных конденсатов, которые аккумулируют RNAPII, различные транскрипционные факторы и другие белки, может быть ключевым механизмом интенсификации процессов транскрипции. Однако этот механизм может быть малоэффективным у *S. cerevisiae*, так как CTD у этого организма намного короче, чем, например, у человека, а более длинный CTD приводит к более сильным взаимодействиям CTD–CTD и формированию менее динамичных конденсатов [68]. Нельзя исключать, что именно по этой причине в ядрах *S. cerevisiae* молекулы RNAPII не формируют кластеров, как это типично для ядер клеток человека [72]. Наблюдения над единичными молекулами RNAPII в клетках

живых дрожжей показали, что CTD отвечает за ограничение диффузии RNAPII в области ядра, обогащенной активными генами, но без видимого формирования конденсатов. В случае укорочения CTD наблюдалось нарушение ограничения диффузии, увеличивалось время поиска целевого сайта, нарушалось формирование преинициаторного комплекса. По мнению авторов работы, эти отличия могут быть связаны с особенностями организации транскрипции в условиях небольшого ядра дрожжевых клеток, где все компоненты собраны в ограниченной области, что делает формирование транскрипционных конденсатов избыточным [72].

Важные данные были получены с помощью оптогенетической системы, которая позволяет индуцировать биомолекулярные конденсаты на основе IDR транскрипционных регуляторов семейства FET (таких как FUS, Ewings sarcoma (EWS) и TAF15) [73]. IDR этих белков способны инициировать процесс разделения фаз в живых клетках, при этом TAF15 способен взаимодействовать с CTD RNAPII, привлекая молекулы RNAPII в состав конденсатов. Интересно, что зарождающиеся кластеры CTD в праймированных геномных локусах снижают энергетический барьер для роста конденсатов TAF15, которые, в свою очередь, дополнительно рекрутируют RNAPII для запуска транскрипции. Таким образом, авторы выявили механизм, который по принципу положительной обратной связи усиливает накопление RNAPII в сайтах транскрипции, что ведет к повышению эффективности транскрипции. При этом полученные данные свидетельствуют, что элонгация происходит вне индуцированных конденсатов, так как молекулы RNAPII с немодифицированным CTD колокализуются с конденсатами IDR TAF15, а фосфорилированный CTD высвобождается в окружающую область.

Таким образом, имеющиеся данные показывают, что неспецифические взаимодействия неупорядоченного CTD RNAPII способны повышать эффективность транскрипции. При этом следует учитывать, что многие данные, на которых базируются представления о механизмах формирования транскрипционных конденсатов и роли IDR в их образовании, получены в результате опытов *in vitro* или опытов с самими IDR, а не с целыми белками. В составе интактных белков IDR могут вести себя иначе. Так, в недавней работе были представлены данные в пользу того, что IDR недостаточны для индукции кластеризации транскрипционных факторов [74], т.е. этот вопрос требует дальнейшего изучения.

ДВА ТИПА ТРАНСКРИПЦИОННЫХ КОНДЕНСАТОВ ОБЕСПЕЧИВАЮТ РАЗДЕЛЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ИНИЦИАЦИИ И ЭЛОНГАЦИИ

Внедренные в последние годы методы микроскопии с супер-разрешением позволяют оценивать расстояние между транскрипционными факторами и зарождающимися транскриптами. Так, в случае генов *Pou5f1* и *Nanog* зарождающиеся транскрипты находились ближе к элонгирующим молекулам RNAPII, но были удалены от локусов, обогащенных фактором транскрипции SOX2 и BRD4 [75]. Эти наблюдения свидетельствуют о пространственном разделении комплексов элонгации и инициации. Интересно, что результаты, полученные на репортерном гене HIV-1, показывают, что комплекс инициации (инициаторный конденсат) существует в течение относительно непродолжительного времени (~1 мин), за которое в зону промотора рекрутируются молекулы RNAPII [76]. По-видимому, в ходе транскрипции (и последующего сплайсинга и транспорта из ядра) молекулы

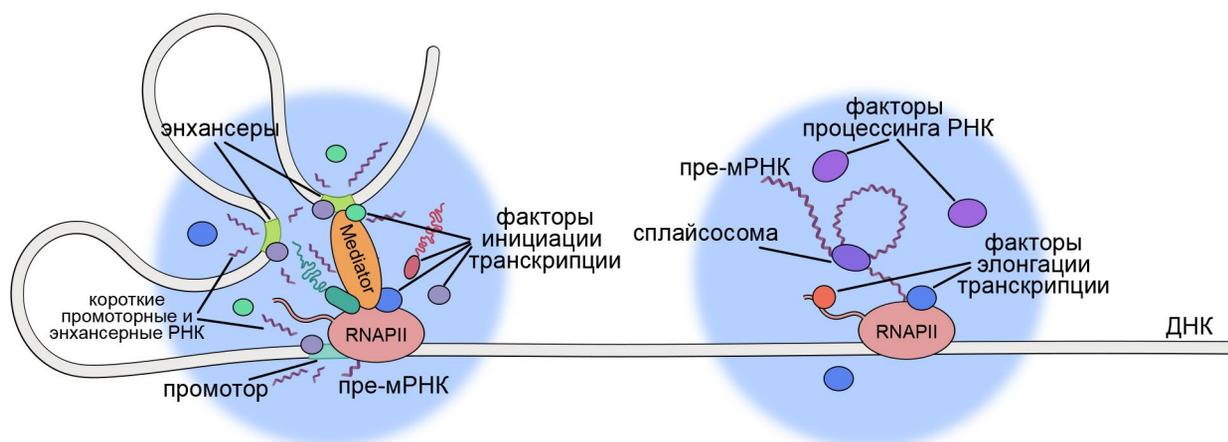


Рис. 2. Модели инициаторного и элонгационного конденсатов, обеспечивающих регуляцию транскрипции РНК-полимеразой II (RNAPII)

проходят через несколько конденсатов, что позволяет добиться высокой эффективности каждого из этапов жизненного цикла молекул РНК [77].

Таким образом, к настоящему времени получены достаточно убедительные данные о существовании конденсатов, в которых концентрируются компоненты, вовлеченные в инициацию транскрипции (рис. 2). Несколько более спорной видится ситуация с существованием элонгационных конденсатов. Как уже упоминалось выше, длинные гены формируют протяженные петли, вдоль которых во время транскрипции движутся молекулы RNAPII [35, 36]. Вероятнее всего, описанные закономерности могут быть распространены и на все остальные гены, однако это требует экспериментального подтверждения хотя бы основных положений. Тем не менее эти морфологические наблюдения плохо стыкуются с представлениями о существовании обособленных элонгационных конденсатов. Дальнейшие эксперименты смогут уточнить эти данные и снять существующие противоречия.

РОЛЬ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ОРГАНИЗАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ПРЕ-рРНК

Ядрышко представляет собой результат транскрипции с относительно небольших участков генома, содержащих множество генов рРНК, которые получили название ядрышковых организаторов [78]. В ядрышках накапливается примерно 80 рибосомных белков и более 200 факторов сборки пре-рибосом [79]. Кроме того, ядрышко содержит большое количество других белков, которые не имеют отношения или имеют только опосредованное отношение к главной функции ядрышка – производству пре-рибосом [80].

По сравнению с большинством ядерных телец, ядрышки имеют относительно сложную внутреннюю организацию. Активные ядрышки млекопитающих, птиц и некоторых рептилий состоят из трех отдельных субкомпартов: фибриллярного центра (ФЦ), плотного фибриллярного компонента (ПФК) и гранулярного компонента (ГК), которые хорошо видны при электронной микроскопии [81, 82]. ПФК и ГК формируются в процессе биогенеза рибосом.

Транскрипция рДНК происходит на границе ФЦ и ПФК; как следствие, ПФК представляет собой скопление белков, вовлеченных в ранний процессинг пре-рРНК. Основную роль в поддержании структурной целостности этого субкомпарта ядрышка играет белок фибрилларин (FBL), который связывается с молекулами пре-рРНК еще в ходе транскрипции [83]. Таким образом, тран-

скрибируемые молекулы пре-рРНК нуклеируют формирование ПФК, в котором одновременно происходит и транскрипция, и первые этапы процессинга пре-рРНК. Важно, что этот процесс зависит от неупорядоченного *N*-концевого участка FBL, обогащенного глицинами и аргининами (GAR-домена) [83]. FBL представляет собой крайне консервативную метилтрансферазу, аминокислотная последовательность и пространственная структура которой мало изменились от архей до высших эукариот [84]. Появление GAR-домена, по-видимому, позволило FBL приобрести дополнительные функции, необходимые для белка в составе намного более сложных эукариотических клеток. В частности, этот домен играет роль сигнала ядерной локализации [85]. Еще одной такой функцией можно считать участие GAR-домена в организации ПФК [83].

ГК традиционно рассматривается в качестве компартмента, где происходит процессинг пре-рРНК и сборка пре-рибосом. Поддержание структурной целостности ГК определяется динамическими взаимодействиями между пре-рибосомами, в чем ключевую роль играет белок NPM1 [86]. По мере созревания свойства ГК меняются, что обеспечивает направленность транспорта пре-рибосом от ПФК к периферии ядрышка [87].

Таким образом, как и в случае транскрипционных конденсатов RNAPII, внутри ядрышка формируется несколько конденсатов, что задает направленность процессу перемещения молекул синтезированных пре-рРНК.

РОЛЬ СИНТЕЗИРУЕМЫХ ТРАНСКРИПТОВ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Нуклеация процессов разделения фаз при формировании биомолекулярных конденсатов во многих случаях зависит от молекул РНК, которые являются удачным субстратом для мультивалентных взаимодействий. Ниже разбираются ключевые работы, которые свидетельствуют о том, что молекулы РНК могут быть вовлечены в низкоспецифические взаимодействия, участвующие в регуляции транскрипции.

Разнообразные РНК и сам процесс транскрипции влияют на трехмерную структуру хроматина и на опосредованную состоянием хроматина экспрессию генов [88–92]. Активная транскрипция и накопление в генном локусе хроматин-ассоциированных транскриптов, к которым можно отнести пре-мРНК и другие зарождающиеся РНК, поддерживают открытое состояние хроматина посредством положительной обратной связи. Эта роль транскриптов в регуляции состояния хроматина и связанной с ним генной экспрессии, по-видимому,

обеспечивается как путем электростатических взаимодействий с одноименно заряженной ДНК и гистоновыми белками, имеющими противоположный заряд [93], так и путем связывания с различными белковыми факторами, входящими в состав хроматина [94].

Факторы транскрипции и модификации хроматина YY1, CTCF, DNMT1 и DNMT3A представляют собой примеры ДНК-связывающих факторов, чья ассоциация с хроматином может регулироваться зарождающимися транскриптами [95]. В случае повсеместно экспрессируемого транскрипционного фактора YY1 взаимодействие с зарождающимися РНК стабилизирует его расположение в сайтах связывания на хроматине – преимущественно в промоторных участках [96]. Обратное действие оказывают зарождающиеся РНК на ассоциацию с хроматином метилтрансфераз DNMT1 и DNMT3A [97, 98]. Для метилтрансферазы DNMT1, осуществляющей поддерживающее метилирование CpG-островков ДНК, с помощью методов полногеномного анализа РНК-белкового интерактома (fRIP-seq) показано взаимодействие с различными зарождающимися транскриптами [99], в том числе с мРНК собственного гена [100]. При этом DNMT1 предпочитает связывание с неканонической структурой G-квадруплекса, называемой pUG-фолд, причем аффинность связывания оказывается пропорциональна длине GU-повтора [100]. Взаимодействие с pUG-фолдом РНК предотвращает связывание DNMT1 с ДНК, тем самым ингибируя активность этого фермента. Однако некоторые длинные некодирующие РНК, наоборот, привлекают метилтрансферазу к конкретным участкам хроматина, не подавляя ее активности [101–105], или даже определяют ее локализацию в клетке [106].

Подобные антагонистические отношения с зарождающимися транскриптами были обнаружены и для Polycomb-репрессивного комплекса 2 (PRC2) [107]. PRC2 представляет собой комплекс эпигенетической регуляции транскрипции, который метилирует остаток лизина 27 гистона H3 и посредством этого участвует в подавлении генной экспрессии. В связи с выполняемой функцией PRC2 в первую очередь ассоциирован с CpG-островками в репрессированных генах. Однако с помощью высокопроизводительных методов секвенирования РНК, взаимодействующих с компонентами PRC2 (CLIP/iCLIP-seq), были продемонстрированы взаимодействия PRC2 с пре-мРНК большинства активных генов [107, 108]. Ингибирование RNAPII или деградация всей РНК в клетке приводили к рекрутированию PRC2 к хроматину активных генов [109–111], причем эффект был обратимым [112, 113]. В экспериментах *in vitro* было показано, что РНК вытесняет PRC2 из комплексов с нуклеосомами и ингибирует его каталитическую активность [107,

114–116], причем большую аффинность проявляют РНК, способные формировать G-квадруплексные структуры [112, 117]. Оттитровывая на себя комплексы PRC2, зарождающиеся транскрипты снижают вероятность связывания этих репрессивных комплексов с хроматином, тем самым предотвращая «замалчивание» своих генов. Также было выдвинуто предположение, что все события взаимодействия PRC2 с хроматином опосредованы «мостиком» из РНК [118]. Тем не менее наблюдаемые в эксперименте rChIP-seq свидетельства обязательного наличия РНК в комплексе с PRC2 для его размещения на хроматине [118], по-видимому, являются артефактом эксперимента и нормализации по причине того, что обработка иммунопреципитированного хроматина РНКазой А и соникация в растворе с низкой ионной силой приводят к снижению специфичности иммунопреципитации и увеличению фонового сигнала неспецифической преципитации хроматина [119, 120]. Таким образом, активная транскрипция, в результате которой образуются новые транскрипты, связывающие и иммобилизующие репрессивные эпигенетические регуляторы, поддерживает саму себя.

Вовлеченность зарождающихся транскриптов в регуляцию связывания хроматин-ассоциированных белковых факторов с хроматином, по-видимому, не ограничивается описанными выше случаями, а является намного более распространенным, чем считалось ранее, механизмом контроля структуры и состояния хроматина. Так, эксперименты по ингибированию транскрипции и деградации РНК в клетках показали, что при исчезновении РНК с хроматина одновременно происходят изменения хроматин-ассоциированного протеома [121, 122]. Остановка транскрипции и сопутствующее снижение числа зарождающихся транскриптов приводят к обогащению в хроматиновой фракции белков-модификаторов и факторов ремоделирования хроматина (ДНК-метилтрансферазы семейства DNMT, EHMT1/2, MLL2/SET1A, HUSH, NuRD, NURE, NoRC, CHRAC, NuA4, INO80, BAF, ATRX/DAXX, когезин, CTCF, SMCHD1, SAFB) и транскрипционных факторов (POU5F1, ZFP57, UBF1, TP53, MYBL2 и UTF1), в то время как число связанных с хроматином факторов процессинга РНК снижается. Аналогичная картина качественного изменения хроматин-ассоциированного протеома наблюдается в случае разрушения РНК [121]. При этом среди хроматин-ассоциированных белков оказывается большая доля известных РНК-связывающих белков [122]. Эти белки, часто обладая IDR или участками низкой сложности, благодаря связыванию с зарождающимися транскриптами, находящимися в непосредственной близости с RNAPII, способны обеспечить формирование биомолекулярных конденсатов по механизму

разделения фаз, что способствует концентрации необходимых для экспрессии генов факторов в сайте транскрипции.

РОЛЬ СИНТЕЗИРУЕМЫХ ТРАНСКРИПТОВ В ФОРМИРОВАНИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ КОНДЕНСАТОВ

Многие транскрипционные факторы, взаимодействующие с хроматином в регуляторных участках (промоторных, энхансерных), как оказалось, помимо ДНК-связывающего и эффекторного доменов, имеют консервативный РНК-связывающий домен, который напоминает аргинин-богатый мотив (ARM) белка Tat ВИЧ-1 [123]. Совместный анализ ДНК-белковых взаимодействий (ChIP-seq) и РНК-белковых интерактомов (CLIP-seq) нескольких факторов транскрипции (GATA1, YY1 и CTCF) продемонстрировал наличие взаимодействий данных факторов с РНК, происходящими из локусов, расположенных рядом с сайтами связывания факторов на хроматине (энхансерные, промоторные и зарождающиеся транскрипты). Мутации в ARM-подобном домене приводили к снижению экспрессии таргетных генов, а его делеция увеличила долю свободно диффундирующих в ядре транскрипционных факторов. Эти наблюдения дают основания предположить, что взаимодействия транскрипционных факторов с зарождающимися РНК посредством ARM-подобного домена могут способствовать образованию транскрипционных конденсатов и обеспечивать тонкую регуляцию генной экспрессии.

В соответствии с описанными наблюдениями кажется привлекательной модель организации транскрипционных конденсатов, опосредованной взаимодействием в локусе транскрипции зарождающихся РНК и белковых факторов, обладающих РНК-связывающими доменами и неструктурированными участками, способствующими образованию биомолекулярных конденсатов [122, 124]. В экспериментах, использующих *in vitro* и *in silico* системы, было продемонстрировано, что молекулы РНК (как промоторные, так и энхансерные) вне зависимости от своей последовательности способствовали образованию транскрипционных конденсатов, включающих в себя комплекс Mediator [125]. Однако такой эффект наблюдался только в небольшом диапазоне концентраций РНК при фиксированной концентрации комплекса Mediator. При таких концентрациях РНК в системе достигалось состояние равновесия между отрицательным зарядом нуклеиновой кислоты, пропорциональным ее длине, и положительным зарядом белковых факторов. Увеличение количества РНК, несущих отрицательный заряд, в системе приводило к на-

рушению равновесия и разрушению конденсата. Состоятельность предложенной авторами работы модели регуляции транскрипции по принципу отрицательной обратной связи при участии зарождающихся РНК была продемонстрирована также в *in vivo* экспериментах. Инициация транскрипции и появление коротких зарождающихся транскриптов приводили к образованию транскрипционного конденсата и сопутствующему повышению экспрессии репортерного гена. Однако при достижении избыточного уровня транскрипции и пороговой концентрации зарождающихся РНК происходило снижение экспрессии репортерного гена и разрушение временно образованных транскрипционных конденсатов, образуемых за счет неспецифических электростатических взаимодействий между синтезируемыми транскриптами и белковыми факторами [124–126]. Такой механизм регуляции генной экспрессии осуществляется в энхансерах посредством короткоживущих энхансерных РНК [125, 126]. При взаимодействии или слиянии энхансер- и промотор-ассоциированных конденсатов этот механизм может обеспечивать наблюдаемые для многих генов «взрывы» транскрипции [126, 127].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопленные в последние годы данные свидетельствуют, что транскрипция сопровождается формированием молекулярных комплексов с нестехиометрическим составом – транскрипционных конденсатов. По-видимому, формирование таких конденсатов определяется сочетанием действия высокоаффинных, специфических взаимодействий и неспецифических взаимодействий между белками, РНК и участками ДНК, входящих в состав этих конденсатов. Как и в случае других описанных биомолекулярных конденсатов, транскрипционные конденсаты, в состав которых входит RNAPII, крайне динамичны. В то же время транскрипционные конденсаты, образованные в результате активности RNAPI, формируют стабильные безмембранные структуры – ядрышки. Тем не менее во многом формирование транскрипционных конденсатов сходно в случае RNAPI и RNAPII.

Ключевую роль в формировании транскрипционных конденсатов играют IDR белков, вовлеченных в транскрипцию. По-видимому, такие домены, хотя и участвуют в неспецифических взаимодействиях, способны существенно повышать эффективность и специфичность формирования комплексов, принимающих участие в транскрипции. Это касается разных процессов: и поиска целевого сайта в пространстве ядра, и взаимодействия отдельных компонентов друг с другом.

При этом важно, что в таких процессах могут быть задействованы положительные обратные связи, т.е. взаимодействие молекул ведет к формированию транскрипционного конденсата, что облегчает привлечение дополнительных молекул тех же белков, а также, вероятно, других, участвующих в процессе, молекул. Последнее особенно ярко видно на примере ядрышка, которое привлекает в свой состав множество разных молекул [80], с чем отчасти связана мультифункциональность этой структуры [128].

Важную роль в регуляции процессов транскрипции играют и сами новосинтезируемые транскрипты. Транскрипты, еще связанные с полимеразой, или РНК, задержавшиеся в транскрипционном конденсате, благодаря большому отрицательному заряду своего сахарофосфатного остова способны привлекать к сайту транскрипции РНК-связывающие белки за счет неспецифических взаимодействий с положительно заряженными IDR, помимо специфических взаимодействий, обеспечиваемых вторичными структурами РНК. Длина РНК, которая для разных типов РНК может варьировать от нескольких десятков до нескольких тысяч нуклеотидов, обеспечивает возможность мультивалентных взаимодействий с белками. Описанная способность зарождающихся транскриптов привлекать к сайту транскрипции белковые факторы может быть использована для создания инструментов регуляции генной экспрессии, действующих системы CRISPR-Cas9 с активаторными доменами транскрипционных факторов [129].

Однако следует отметить, что многие идеи до сих пор не нашли полного экспериментального подтверждения. Так, до сих пор мало дан-

ных о структуре элонгационных транскрипционных конденсатов. Некоторые морфологические наблюдения говорят, что элонгация некоторых генов происходит на протяженных нитях ДНК, напоминающих петли хромосом типа ламповых щеток [35, 36]. Эти наблюдения не противоречат однозначно идее о существовании элонгационных конденсатов, хотя и вызывают некоторые сомнения. Кроме того, следует принимать во внимание данные о разрушении транскрипционных конденсатов под действием большой концентрации транскрибируемых молекул РНК [124–126]. Такое разрушение конденсатов как раз может облегчать перемещение молекул RNAPII вдоль молекулы ДНК. Эти вопросы требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, высокая эффективность транскрипции и гибкость ее регуляции связана в значительной степени со слабыми, неспецифическими, но множественными взаимодействиями, которые ведут к формированию крайне динамичных на молекулярном уровне транскрипционных конденсатов.

Вклад авторов. А.А. Валяева и Е.В. Шеваль – сбор и обсуждение литературных данных, написание и редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-74-20134).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Scheer, U., and Hock, R. (1999) Structure and function of the nucleolus, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **11**, 385-390, [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(99\)80054-4](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(99)80054-4).
2. Hernandez-Verdun, D., Roussel, P., Thiry, M., Sirri, V., and Lafontaine, D. L. J. (2010) The nucleolus: structure/function relationship in RNA metabolism, *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, **1**, 415-431, <https://doi.org/10.1002/wrna.39>.
3. McNally, J. G., Müller, W. G., Walker, D., Wolford, R., and Hager, G. L. (2000) The glucocorticoid receptor: rapid exchange with regulatory sites in living cells, *Science*, **287**, 1262-1265, <https://doi.org/10.1126/science.287.5456.1262>.
4. Phair, R. D., and Misteli, T. (2000) High mobility of proteins in the mammalian cell nucleus, *Nature*, **404**, 604-609, <https://doi.org/10.1038/35007077>.
5. Becker, M., Baumann, C., John, S., Walker, D. A., Vigneron, M., McNally, J. G., and Hager, G. L. (2002) Dynamic behavior of transcription factors on a natural promoter in living cells, *EMBO Rep.*, **3**, 1188-1194, <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kvf244>.
6. Phair, R. D., Scaffidi, P., Elbi, C., Vecerová, J., Dey, A., Ozato, K., Brown, D. T., Hager, G., Bustin, M., and Misteli, T. (2004) Global nature of dynamic protein-chromatin interactions in vivo: three-dimensional genome scanning and dynamic interaction networks of chromatin proteins, *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 6393-6402, <https://doi.org/10.1128/MCB.24.14.6393-6402.2004>.
7. Kimura, H., Sugaya, K., and Cook, P. R. (2002) The transcription cycle of RNA polymerase II in living cells, *J. Cell Biol.*, **159**, 777-782, <https://doi.org/10.1083/jcb.200206019>.

8. Chen, D., and Huang, S. (2001) Nucleolar components involved in ribosome biogenesis cycle between the nucleolus and nucleoplasm in interphase cells, *J. Cell Biol.*, **153**, 169-176, <https://doi.org/10.1083/jcb.153.1.169>.
9. Dundr, M., Hoffmann-Rohrer, U., Hu, Q., Grummt, I., Rothblum, L. I., Phair, R. D., and Misteli, T. (2002) A kinetic framework for a mammalian RNA polymerase *in vivo*, *Science*, **298**, 1623-1626, <https://doi.org/10.1126/science.1076164>.
10. Stixová, L., Bártová, E., Matula, P., Daněk, O., Legartová, S., and Kozubek, S. (2011) Heterogeneity in the kinetics of nuclear proteins and trajectories of substructures associated with heterochromatin, *Epigenetics Chromatin*, **4**, 5, <https://doi.org/10.1186/1756-8935-4-5>.
11. Mirny, L., Slutsky, M., Wunderlich, Z., Tafvizi, A., Leith, J., and Kosmrlj, A. (2009) How a protein searches for its site on DNA: the mechanism of facilitated diffusion, *J. Phys. A Math. Theor.*, **42**, 434013, <https://doi.org/10.1088/1751-8113/42/43/434013>.
12. Jana, T., Brodsky, S., and Barkai, N. (2021) Speed-specificity trade-offs in the transcription factors search for their genomic binding sites, *Trends Genet.*, **37**, 421-432, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.12.001>.
13. Richter, W. F., Nayak, S., Iwasa, J., and Taatjes, D. J. (2022) The Mediator complex as a master regulator of transcription by RNA polymerase II, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **23**, 732-749, <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00498-3>.
14. Rengachari, S., Schilbach, S., and Cramer, P. (2023) Mediator structure and function in transcription initiation, *Biol. Chem.*, **404**, 829-837, <https://doi.org/10.1515/hsz-2023-0158>.
15. Bregman, D. B., Du, L., van der Zee, S., and Warren, S. L. (1995) Transcription-dependent redistribution of the large subunit of RNA polymerase II to discrete nuclear domains, *J. Cell Biol.*, **129**, 287-298, <https://doi.org/10.1083/jcb.129.2.287>.
16. Van Steensel, B., Brink, M., van der Meulen, K., van Binnendijk, E. P., Wansink, D. G., de Jong, L., de Kloet, E. R., and van Driel, R. (1995) Localization of the glucocorticoid receptor in discrete clusters in the cell nucleus, *J. Cell Sci.*, **108**, 3003-3011, <https://doi.org/10.1242/jcs.108.9.3003>.
17. Iborra, F. J., Pombo, A., Jackson, D. A., and Cook, P. R. (1996) Active RNA polymerases are localized within discrete transcription "factories" in human nuclei, *J. Cell Sci.*, **109**, 1427-1436, <https://doi.org/10.1242/jcs.109.6.1427>.
18. Grande, M. A., van der Kraan, I., de Jong, L., and van Driel, R. (1997) Nuclear distribution of transcription factors in relation to sites of transcription and RNA polymerase II, *J. Cell Sci.*, **110**, 1781-1791, <https://doi.org/10.1242/jcs.110.15.1781>.
19. Pombo, A., Jackson, D. A., Hollinshead, M., Wang, Z., Roeder, R. G., and Cook, P. R. (1999) Regional specialization in human nuclei: visualization of discrete sites of transcription by RNA polymerase III, *EMBO J.*, **18**, 2241-2253, <https://doi.org/10.1093/emboj/18.8.2241>.
20. Osborne, C. S., Chakalova, L., Brown, K. E., Carter, D., Horton, A., Debrand, E., Goyenechea, B., Mitchell, J. A., Lopes, S., Reik, W., and Fraser, P. (2004) Active genes dynamically colocalize to shared sites of ongoing transcription, *Nat. Genet.*, **36**, 1065-1071, <https://doi.org/10.1038/ng1423>.
21. Castells-Garcia, A., Ed-Daoui, I., González-Almela, E., Vicario, C., Ottestrom, J., Lakadamyali, M., Neguembor, M. V., and Cosma, M. P. (2022) Super resolution microscopy reveals how elongating RNA polymerase II and nascent RNA interact with nucleosome clutches, *Nucleic Acids Res.*, **50**, 175-190, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1215>.
22. Cho, W.-K., Spille, J.-H., Hecht, M., Lee, C., Li, C., Grube, V., and Cisse, I. I. (2018) Mediator and RNA polymerase II clusters associate in transcription-dependent condensates, *Science*, **361**, 412-415, <https://doi.org/10.1126/science.aar4199>.
23. Hnisz, D., Abraham, B. J., Lee, T. I., Lau, A., Saint-André, V., Sigova, A. A., Hoke, H. A., and Young, R. A. (2013) Super-enhancers in the control of cell identity and disease, *Cell*, **155**, 934-947, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.053>.
24. Whyte, W. A., Orlando, D. A., Hnisz, D., Abraham, B. J., Lin, C. Y., Kagey, M. H., Rahl, P. B., Lee, T. I., and Young, R. A. (2013) Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes, *Cell*, **153**, 307-319, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.035>.
25. Lovén, J., Hoke, H. A., Lin, C. Y., Lau, A., Orlando, D. A., Vakoc, C. R., Bradner, J. E., Lee, T. I., and Young, R. A. (2013) Selective inhibition of tumor oncogenes by disruption of super-enhancers, *Cell*, **153**, 320-334, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.036>.
26. Mansour, M. R., Abraham, B. J., Anders, L., Berezovskaya, A., Gutierrez, A., Durbin, A. D., Etchin, J., Lawton, L., Salan, S. E., Silverman, L. B., Loh, M. L., Hunger, S. P., Sanda, T., Young, R. A., and Look, A. T. (2014) Oncogene regulation. An oncogenic super-enhancer formed through somatic mutation of a noncoding intergenic element, *Science*, **346**, 1373-1377, <https://doi.org/10.1126/science.1259037>.
27. Wang, X., Cairns, M. J., and Yan, J. (2019) Super-enhancers in transcriptional regulation and genome organization, *Nucleic Acids Res.*, **47**, 11481-11496, <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1038>.
28. Sabari, B. R., Dall'Agnese, A., Boija, A., Klein, I. A., Coffey, E. L., Shrinivas, K., Abraham, B. J., Hannett, N. M., Zamudio, A. V., Manteiga, J. C., Li, C. H., Guo, Y. E., Day, D. S., Schuijers, J., Vasile, E., Malik, S., Hnisz, D., Lee, T. I., Cisse, I. I., Roeder, R. G., Sharp, P. A., Chakraborty, A. K., and Young, R. A. (2018) Coactivator condensation at super-enhancers links phase separation and gene control, *Science*, **361**, eaar3958, <https://doi.org/10.1126/science.aar3958>.
29. Guo, Y. E., Manteiga, J. C., Henninger, J. E., Sabari, B. R., Dall'Agnese, A., Hannett, N. M., Spille, J. H., Afeyan, L. K., Zamudio, A. V., Shrinivas, K., Abraham, B. J., Boija, A., Decker, T. M., Rimel, J. K., Fant, C. B., Lee, T. I., Cisse, I. I.,

- Sharp, P. A., Taatjes, D. J., and Young, R. A. (2019) Pol II phosphorylation regulates a switch between transcriptional and splicing condensates, *Nature*, **572**, 543-548, <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1464-0>.
30. Shrinivas, K., Sabari, B. R., Coffey, E. L., Klein, I. A., Boija, A., Zamudio, A. V., Schuijers, J., Hannett, N. M., Sharp, P. A., Young, R. A., and Chakraborty, A. K. (2019) Enhancer features that drive formation of transcriptional condensates, *Mol. Cell*, **75**, 549-561.e7, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.07.009>.
31. Chen, X., Wei, M., Zheng, M. M., Zhao, J., Hao, H., Chang, L., Xi, P., and Sun, Y. (2016) Study of RNA polymerase II clustering inside live-cell nuclei using bayesian nanoscopy, *ACS Nano*, **10**, 2447-2454, <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b07257>.
32. Cisse, I. I., Izeddin, I., Causse, S. Z., Boudarene, L., Senecal, A., Muresan, L., Dugast-Darzacq, C., Hajj, B., Dahan, M., and Darzacq, X. (2013) Real-time dynamics of RNA polymerase II clustering in live human cells, *Science*, **341**, 664-667, <https://doi.org/10.1126/science.1239053>.
33. Cho, W.-K., Jayanth, N., English, B. P., Inoue, T., Andrews, J. O., Conway, W., Grimm, J. B., Spille, J. H., Lavis, L. D., Lionnet, T., and Cisse, I. I. (2016) RNA Polymerase II cluster dynamics predict mRNA output in living cells, *Elife*, **5**, e13617, <https://doi.org/10.7554/eLife.13617>.
34. Mir, M., Stadler, M. R., Ortiz, S. A., Hannon, C. E., Harrison, M. M., Darzacq, X., and Eisen, M. B. (2018) Dynamic multifactor hubs interact transiently with sites of active transcription in *Drosophila* embryos, *Elife*, **7**, e40497, <https://doi.org/10.7554/eLife.40497>.
35. Leidescher, S., Ribisel, J., Ullrich, S., Feodorova, Y., Hildebrand, E., Galitsyna, A., Bultmann, S., Link, S., Thanisch, K., Mulholland, C., Dekker, J., Leonhardt, H., Mirny, L., and Solovei, I. (2022) Spatial organization of transcribed eukaryotic genes, *Nat. Cell Biol.*, **24**, 327-339, <https://doi.org/10.1038/s41556-022-00847-6>.
36. Ball, M. L., Koestler, S. A., Muresan, L., Rehman, S. A., O'Holleran, K., and White, R. (2023) The anatomy of transcriptionally active chromatin loops in *Drosophila* primary spermatocytes using super-resolution microscopy, *PLoS Genet.*, **19**, e1010654, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010654>.
37. Morgan, G. T. (2007) Localized co-transcriptional recruitment of the multifunctional RNA-binding protein CELF1 by lampbrush chromosome transcription units, *Chromosome Res.*, **15**, 985-1000, <https://doi.org/10.1007/s10577-007-1179-1>.
38. Morgan, G. T. (2018) Imaging the dynamics of transcription loops in living chromosomes, *Chromosoma*, **127**, 361-374, <https://doi.org/10.1007/s00412-018-0667-8>.
39. Krasikova, A., Fishman, V., and Kulikova, T. (2023) Lampbrush chromosome studies in the post-genomic era, *Bioessays*, **45**, e2200250, <https://doi.org/10.1002/bies.202200250>.
40. Rippe, K., and Papantonis, A. (2021) RNA polymerase II transcription compartments: from multivalent chromatin binding to liquid droplet formation? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **22**, 645-646, <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00401-6>.
41. Brangwynne, C. P., Eckmann, C. R., Courson, D. S., Rybarska, A., Hoege, C., Gharakhani, J., Jülicher, F., and Hyman, A. A. (2009) Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation, *Science*, **324**, 1729-1732, <https://doi.org/10.1126/science.1172046>.
42. Shin, Y., and Brangwynne, C. P. (2017) Liquid phase condensation in cell physiology and disease, *Science*, **357**, eaaf4382, <https://doi.org/10.1126/science.aaf4382>.
43. Bhat, P., Honson, D., and Guttman, M. (2021) Nuclear compartmentalization as a mechanism of quantitative control of gene expression, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **22**, 653-670, <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00387-1>.
44. Elbaum-Garfinkle, S., Kim, Y., Szczepaniak, K., Chen, C.-H., Eckmann, C. R., Myong, S., and Brangwynne, C. P. (2015) The disordered P granule protein LAF-1 drives phase separation into droplets with tunable viscosity and dynamics, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 7189-7194, <https://doi.org/10.1073/pnas.1504822112>.
45. Molliex, A., Temirov, J., Lee, J., Coughlin, M., Kanagaraj, A. P., Kim, H. J., Mittag, T., and Taylor, J. P. (2015) Phase separation by low complexity domains promotes stress granule assembly and drives pathological fibrillization, *Cell*, **163**, 123-133, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.015>.
46. Nott, T. J., Petsalaki, E., Farber, P., Jervis, D., Fussner, E., Plochowitz, A., Craggs, T. D., Bazett-Jones, D. P., Pawson, T., Forman-Kay, J. D., and Baldwin, A. J. (2015) Phase transition of a disordered nuage protein generates environmentally responsive membraneless organelles, *Mol. Cell*, **57**, 936-947, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.01.013>.
47. Pak, C. W., Kosno, M., Holehouse, A. S., Padrick, S. B., Mittal, A., Ali, R., Yunus, A. A., Liu, D. R., Pappu, R. V., and Rosen, M. K. (2016) Sequence determinants of intracellular phase separation by complex coacervation of a disordered protein, *Mol. Cell*, **63**, 72-85, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.05.042>.
48. Li, P., Banjade, S., Cheng, H.-C., Kim, S., Chen, B., Guo, L., Llaguno, M., Hollingsworth, J. V., King, D. S., Banani, S. F., Russo, P. S., Jiang, Q. X., Nixon, B. T., and Rosen, M. K. (2012) Phase transitions in the assembly of multivalent signaling proteins, *Nature*, **483**, 336-340, <https://doi.org/10.1038/nature10879>.
49. Banani, S. F., Rice, A. M., Peeples, W. B., Lin, Y., Jain, S., Parker, R., and Rosen, M. K. (2016) Compositional control of phase-separated cellular bodies, *Cell*, **166**, 651-663, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.010>.
50. Feric, M., Vaidya, N., Harmon, T. S., Mitrea, D. M., Zhu, L., Richardson, T. M., Kriwacki, R. W., Pappu, R. V., and Brangwynne, C. P. (2016) Coexisting liquid phases underlie nucleolar subcompartments, *Cell*, **165**, 1686-1697, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.047>.

51. Lu, Y., Wu, T., Gutman, O., Lu, H., Zhou, Q., Henis, Y. I., and Luo, K. (2020) Phase separation of TAZ compartmentalizes the transcription machinery to promote gene expression, *Nat. Cell Biol.*, **22**, 453-464, <https://doi.org/10.1038/s41556-020-0485-0>.
52. Boija, A., Klein, I. A., Sabari, B. R., Dall'Agnesse, A., Coffey, E. L., Zamudio, A. V., Li, C. H., Shrinivas, K., Manteiga, J. C., Hannett, N. M., Abraham, B. J., Afeyan, L. K., Guo, Y. E., Rimel, J. K., Fant, C. B., Schuijers, J., Lee, T. I., Taatjes, D. J., and Young, R. A. (2018) Transcription factors activate genes through the phase-separation capacity of their activation domains, *Cell*, **175**, 1842-1855.e16, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.042>.
53. Altmeyer, M., Neelsen, K. J., Teloni, F., Pozdnyakova, I., Pellegrino, S., Gröfte, M., Rask, M. D., Streicher, W., Jungmichel, S., Nielsen, M. L., and Lukas, J. (2015) Liquid demixing of intrinsically disordered proteins is seeded by poly(ADP-ribose), *Nat. Commun.*, **6**, 8088, <https://doi.org/10.1038/ncomms9088>.
54. Zhao, B., Li, Z., Yu, S., Li, T., Wang, W., Liu, R., Zhang, B., Fang, X., Shen, Y., Han, Q., Xu, X., Wang, K., Gong, W., Li, T., Li, A., Zhou, T., Li, W., and Li, T. (2023) LEF1 enhances β -catenin transactivation through IDR-dependent liquid-liquid phase separation, *Life Sci Alliance*, **6**, e202302118, <https://doi.org/10.26508/lsa.202302118>.
55. Liu, J., Perumal, N. B., Oldfield, C. J., Su, E. W., Uversky, V. N., and Dunker, A. K. (2006) Intrinsic disorder in transcription factors, *Biochemistry*, **45**, 6873-6888, <https://doi.org/10.1021/bi0602718>.
56. Minezaki, Y., Homma, K., Kinjo, A. R., and Nishikawa, K. (2006) Human transcription factors contain a high fraction of intrinsically disordered regions essential for transcriptional regulation, *J. Mol. Biol.*, **359**, 1137-1149, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.04.016>.
57. Staby, L., O'Shea, C., Willemoës, M., Theisen, F., Kragelund, B. B., and Skriver, K. (2017) Eukaryotic transcription factors: paradigms of protein intrinsic disorder, *Biochem. J.*, **474**, 2509-2532, <https://doi.org/10.1042/BCJ20160631>.
58. Brodsky, S., Jana, T., Mittelman, K., Chapal, M., Kumar, D. K., Carmi, M., and Barkai, N. (2020) Intrinsically disordered regions direct transcription factor *in vivo* binding specificity, *Mol. Cell*, **79**, 459-471.e4, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.05.032>.
59. Sandra, U. S., Shukla, A., and Kolthur-Seetharam, U. (2020) Search and capture: disorder rules gene promoter selection, *Trends Genet.*, **36**, 721-722, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.07.005>.
60. Jonas, F., Carmi, M., Krupkin, B., Steinberger, J., Brodsky, S., Jana, T., and Barkai, N. (2023) The molecular grammar of protein disorder guiding genome-binding locations, *Nucleic Acids Res.*, **51**, 4831-4844, <https://doi.org/10.1093/nar/gkad184>.
61. Meinhart, A., Kamenski, T., Hoepfner, S., Baumli, S., and Cramer, P. (2005) A structural perspective of CTD function, *Genes Dev.*, **19**, 1401-1415, <https://doi.org/10.1101/gad.1318105>.
62. Eick, D., and Geyer, M. (2013) The RNA polymerase II carboxy-terminal domain (CTD) code, *Chem. Rev.*, **113**, 8456-8490, <https://doi.org/10.1021/cr400071f>.
63. Zaborowska, J., Eglhoff, S., and Murphy, S. (2016) The pol II CTD: new twists in the tail, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **23**, 771-777, <https://doi.org/10.1038/nsmb.3285>.
64. Lu, F., Portz, B., and Gilmour, D. S. (2019) The C-terminal domain of RNA polymerase II is a multivalent targeting sequence that supports *Drosophila* development with only consensus heptads, *Mol. Cell*, **73**, 1232-1242.e4, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.01.008>.
65. Bernecky, C., Herzog, F., Baumeister, W., Plitzko, J. M., and Cramer, P. (2016) Structure of transcribing mammalian RNA polymerase II, *Nature*, **529**, 551-554, <https://doi.org/10.1038/nature16482>.
66. Zehring, W. A., Lee, J. M., Weeks, J. R., Jokerst, R. S., and Greenleaf, A. L. (1988) The C-terminal repeat domain of RNA polymerase II largest subunit is essential *in vivo* but is not required for accurate transcription initiation *in vitro*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 3698-3702, <https://doi.org/10.1073/pnas.85.11.3698>.
67. Yahia, Y., Pigeot, A., El Aabidine, A. Z., Shah, N., Karasu, N., Forné, I., Krebs, S., Blum, H., Esnault, C., Sexton, T., Imhof, A., Eick, D., and Andrau, J. C. (2023) RNA polymerase II CTD is dispensable for transcription and required for termination in human cells, *EMBO Rep.*, **24**, e56150, <https://doi.org/10.15252/embr.202256150>.
68. Boehning, M., Dugast-Darzacq, C., Rankovic, M., Hansen, A. S., Yu, T., Marie-Nelly, H., McSwiggen, D. T., Kokic, G., Dailey, G. M., Cramer, P., Darzacq, X., and Zweckstetter, M. (2018) RNA polymerase II clustering through carboxy-terminal domain phase separation, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **25**, 833-840, <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0112-y>.
69. Quintero-Cadena, P., Lenstra, T. L., and Sternberg, P. W. (2020) RNA Pol II length and disorder enable cooperative scaling of transcriptional bursting, *Mol. Cell*, **79**, 207-220.e8, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.05.030>.
70. Flores-Solis, D., Lushpinkska, I. P., Polyansky, A. A., Changiarath, A., Boehning, M., Mirkovic, M., Walshe, J., Pietrek, L. M., Cramer, P., Stelzl, L. S., Zagrovic, B., and Zweckstetter, M. (2023) Driving forces behind phase separation of the carboxy-terminal domain of RNA polymerase II, *Nat. Commun.*, **14**, 5979, <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41633-8>.
71. Jaeger, M. G., Schwalb, B., Mackowiak, S. D., Velychko, T., Hanzl, A., Imrichova, H., Brand, M., Agerer, B., Chorn, S., Nabet, B., Ferguson, F. M., Müller, A. C., Bergthaler, A., Gray, N. S., Bradner, J. E., Bock, C., Hnisz, D., Cramer, P., and Winter, G. E. (2020) Selective Mediator dependence of cell-type-specifying transcription, *Nat. Genet.*, **52**, 719-727, <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0635-0>.

72. Ling, Y. H., Ye, J., Yu, C., Liang, C., Park, G., et al. (2023) Disordered C-terminal domain drives spatiotemporal confinement of RNAPII to enhance search for chromatin targets, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.07.31.551302>.
73. Wei, M.-T., Chang, Y.-C., Shimobayashi, S. F., Shin, Y., Strom, A. R., and Brangwynne, C. P. (2020) Nucleated transcriptional condensates amplify gene expression, *Nat. Cell Biol.*, **22**, 1187-1196, <https://doi.org/10.1038/s41556-020-00578-6>.
74. Hannon, C. E., and Eisen, M. B. (2023) Intrinsic protein disorder is insufficient to drive subnuclear clustering in embryonic transcription factors, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.03.27.534457>.
75. Li, J., Dong, A., Saydaminova, K., Chang, H., Wang, G., et al. (2019) Single-molecule nanoscopy elucidates RNA polymerase II transcription at single genes in live cells, *Cell*, **178**, 491-506.e28, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.029>.
76. Forero-Quintero, L. S., Raymond, W., Handa, T., Saxton, M. N., Morisaki, T., et al. (2021) Live-cell imaging reveals the spatiotemporal organization of endogenous RNA polymerase II phosphorylation at a single gene, *Nat. Commun.*, **12**, 3158, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23417-0>.
77. Ishov, A. M., Gurumurthy, A., and Bungert, J. (2020) Coordination of transcription, processing, and export of highly expressed RNAs by distinct biomolecular condensates, *Emerg. Top Life Sci.*, **4**, 281-291, <https://doi.org/10.1042/ETLS20190160>.
78. McClintock, B. (1934) The relation of a particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea mays*, *Zeitschr. Zellforschung Mikroskopische Anatomie*, **21**, 294-326, <https://doi.org/10.1007/BF00374060>.
79. Correll, C. C., Bartek, J., and Dundr, M. (2019) The nucleolus: a multiphase condensate balancing ribosome synthesis and translational capacity in health, aging and ribosomopathies, *Cells*, **8**, 869, <https://doi.org/10.3390/cells8080869>.
80. Ahmad, Y., Boisvert, F.-M., Gregor, P., Cogley, A., and Lamond, A. I. (2009) NOPdb: Nucleolar Proteome Database-2008 update, *Nucleic Acids Res.*, **37**, D181-D184, <https://doi.org/10.1093/nar/gkn804>.
81. Scheer, U., and Weisenberger, D. (1994) The nucleolus, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **6**, 354-359, [https://doi.org/10.1016/0955-0674\(94\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0955-0674(94)90026-4).
82. Lamaye, F., Galliot, S., Alibardi, L., Lafontaine, D. L. J., and Thiry, M. (2011) Nucleolar structure across evolution: the transition between bi- and tri-compartmentalized nucleoli lies within the class Reptilia, *J. Struct. Biol.*, **174**, 352-359, <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2011.02.003>.
83. Yao, R.-W., Xu, G., Wang, Y., Shan, L., Luan, P.-F., Wang, Y., Wu, M., Yang, L. Z., Xing, Y. H., Yang, L., and Chen, L. L. (2019) Nascent pre-rRNA sorting via phase separation drives the assembly of dense fibrillar components in the human nucleolus, *Mol. Cell*, **76**, 767-783.e11, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.08.014>.
84. Shubina, M. Y., Musinova, Y. R., and Sheval, E. V. (2016) Nucleolar methyltransferase fibrillarin: evolution of structure and function, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 941-950, <https://doi.org/10.1134/S0006297916090030>.
85. Shubina, M. Y., Arifulin, E. A., Sorokin, D. V., Sosina, M. A., Tikhomirova, M. A., Serebryakova, M. V., Smirnova, T., Sokolov, S. S., Musinova, Y. R., and Sheval, E. V. (2020) The GAR domain integrates functions that are necessary for the proper localization of fibrillarin (FBL) inside eukaryotic cells, *PeerJ*, **8**, e9029, <https://doi.org/10.7717/peerj.9029>.
86. Mitrea, D. M., Cika, J. A., Guy, C. S., Ban, D., Banerjee, P. R., Stanley, C. B., Nourse, A., Deniz, A. A., and Kriwacki, R. W. (2016) Nucleophosmin integrates within the nucleolus via multi-modal interactions with proteins displaying R-rich linear motifs and rRNA, *Elife*, **5**, e13571, <https://doi.org/10.7554/eLife.13571>.
87. Riback, J. A., Eeftens, J. M., Lee, D. S. W., Quinodoz, S. A., Donlic, A., et al. (2023) Viscoelasticity and advective flow of RNA underlies nucleolar form and function, *Mol. Cell*, **83**, 3095-3107.e9, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.08.006>.
88. Heinz, S., Texari, L., Hayes, M. G. B., Urbanowski, M., Chang, M. W., et al. (2018) Transcription elongation can affect genome 3D structure, *Cell*, **174**, 1522-1536.e22, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.047>.
89. Barutcu, A. R., Blencowe, B. J., and Rinn, J. L. (2019) Differential contribution of steady-state RNA and active transcription in chromatin organization, *EMBO Rep.*, **20**, e48068, <https://doi.org/10.15252/embr.201948068>.
90. Saldaña-Meyer, R., Rodriguez-Hernaez, J., Escobar, T., Nishana, M., Jácome-López, K., Nora, E. P., Bruneau, B. G., Tsirigos, A., Furlan-Magaril, M., Skok, J., and Reinberg, D. (2019) RNA interactions are essential for CTCF-mediated genome organization, *Mol. Cell*, **76**, 412-422.e5, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.08.015>.
91. Quinodoz, S. A., Jachowicz, J. W., Bhat, P., Ollikainen, N., Banerjee, A. K., et al. (2021) RNA promotes the formation of spatial compartments in the nucleus, *Cell*, **184**, 5775-5790.e30, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.10.014>.
92. Boeren, J., and Gribnau, J. (2021) Xist-mediated chromatin changes that establish silencing of an entire X chromosome in mammals, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **70**, 44-50, <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.11.004>.
93. Dueva, R., Akopyan, K., Pederiva, C., Trevisan, D., Dhanjal, S., Lindqvist, A., and Farnebo, M. (2019) Neutralization of the positive charges on histone tails by RNA promotes an open chromatin structure, *Cell Chem. Biol.*, **26**, 1436-1449.e5, <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2019.08.002>.
94. Nozawa, R.-S., Boteva, L., Soares, D. C., Naughton, C., Dun, A. R., Buckle, A., Ramsahoye, B., Bruton, P. C., Saleeb, R. S., Arnedo, M., Hill, B., Duncan, R. R., et al. (2017) SAF-A regulates interphase chromosome structure through oligomerization with chromatin-associated RNAs, *Cell*, **169**, 1214-1227.e18, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.029>.
95. Skalska, L., Beltran-Nebot, M., Ule, J., and Jenner, R. G. (2017) Regulatory feedback from nascent RNA to chromatin and transcription, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **18**, 331-337, <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.12>.

96. Sigova, A. A., Abraham, B. J., Ji, X., Molinie, B., Hannett, N. M., Guo, Y. E., Jangi, M., Giallourakis, C. C., Sharp, P. A., and Young, R. A. (2015) Transcription factor trapping by RNA in gene regulatory elements, *Science*, **350**, 978-981, <https://doi.org/10.1126/science.aad3346>.
97. Holz-Schietinger, C., and Reich, N. O. (2012) RNA modulation of the human DNA methyltransferase 3A, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 8550-8557, <https://doi.org/10.1093/nar/gks537>.
98. Di Ruscio, A., Ebralidze, A. K., Benoukraf, T., Amabile, G., Goff, L. A., et al. (2013) DNMT1-interacting RNAs block gene-specific DNA methylation, *Nature*, **503**, 371-376, <https://doi.org/10.1038/nature12598>.
99. Hendrickson, D. G., Kelley, D. R., Tenen, D., Bernstein, B., and Rinn, J. L. (2016) Widespread RNA binding by chromatin-associated proteins, *Genome Biol.*, **17**, 28, <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0878-3>.
100. Jansson-Fritzberg, L. I., Sousa, C. I., Smallegan, M. J., Song, J. J., Gooding, A. R., Kasinath, V., Rinn, J. L., and Cech, T. R. (2023) DNMT1 inhibition by pUG-fold quadruplex RNA, *RNA*, **29**, 346-360, <https://doi.org/10.1261/rna.079479.122>.
101. Mohammad, F., Mondal, T., Guseva, N., Pandey, G. K., and Kanduri, C. (2010) Kcnq1ot1 noncoding RNA mediates transcriptional gene silencing by interacting with Dnmt1, *Development*, **137**, 2493-2499, <https://doi.org/10.1242/dev.048181>.
102. Chalei, V., Sansom, S. N., Kong, L., Lee, S., Montiel, J. F., et al. (2014) The long non-coding RNA Dali is an epigenetic regulator of neural differentiation, *Elife*, **3**, e04530, <https://doi.org/10.7554/eLife.04530>.
103. Bao, X., Wu, H., Zhu, X., Guo, X., Hutchins, A. P., Luo, Z., Song, H., Chen, Y., Lai, K., Yin, M., Xu, L., Zhou, L., Chen, J., Wang, D., et al. (2015) The p53-induced lincRNA-p21 derails somatic cell reprogramming by sustaining H3K9me3 and CpG methylation at pluripotency gene promoters, *Cell Res.*, **25**, 80-92, <https://doi.org/10.1038/cr.2014.165>.
104. O'Leary, V. B., Hain, S., Maugg, D., Smida, J., Azimzadeh, O., Tapio, S., Ovsepian, S. V., et al. (2017) Long non-coding RNA PARTICLE bridges histone and DNA methylation, *Sci. Rep.*, **7**, 1790, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01875-1>.
105. Somasundaram, S., Forrest, M. E., Moinova, H., Cohen, A., Varadan, V., LaFramboise, T., Markowitz, S., and Khalil, A. M. (2018) The DNMT1-associated lincRNA DACOR1 reprograms genome-wide DNA methylation in colon cancer, *Clin. Epigenetics*, **10**, 127, <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0555-3>.
106. Jones, R., Wijesinghe, S., Wilson, C., Halsall, J., Liloglou, T., and Kanhere, A. (2021) A long intergenic non-coding RNA regulates nuclear localization of DNA methyl transferase-1, *iScience*, **24**, 102273, <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102273>.
107. Beltran, M., Yates, C. M., Skalska, L., Dawson, M., Reis, F. P., et al. (2016) The interaction of PRC2 with RNA or chromatin is mutually antagonistic, *Genome Res.*, **26**, 896-907, <https://doi.org/10.1101/gr.197632.115>.
108. Kaneko, S., Son, J., Shen, S. S., Reinberg, D., and Bonasio, R. (2013) PRC2 binds active promoters and contacts nascent RNAs in embryonic stem cells, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **20**, 1258-1264, <https://doi.org/10.1038/nsmb.2700>.
109. Kaneko, S., Son, J., Bonasio, R., Shen, S. S., and Reinberg, D. (2014) Nascent RNA interaction keeps PRC2 activity poised and in check, *Genes Dev.*, **28**, 1983-1988, <https://doi.org/10.1101/gad.247940.114>.
110. Riising, E. M., Comet, I., Leblanc, B., Wu, X., Johansen, J. V., and Helin, K. (2014) Gene silencing triggers polycomb repressive complex 2 recruitment to CpG islands genome wide, *Mol. Cell*, **55**, 347-360, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.06.005>.
111. Hosogane, M., Funayama, R., Shirota, M., and Nakayama, K. (2016) Lack of transcription triggers H3K27me3 accumulation in the gene body, *Cell Rep.*, **16**, 696-706, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.06.034>.
112. Beltran, M., Tavares, M., Justin, N., Khandelwal, G., Ambrose, J., et al. (2019) G-tract RNA removes Polycomb repressive complex 2 from genes, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 899-909, <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0293-z>.
113. Garland, W., Comet, I., Wu, M., Radzisheuskaya, A., Rib, L., Vitting-Seerup, K., Lloret-Llinares, M., Sandelin, A., Helin, K., and Jensen, T. H. (2019) A functional link between nuclear RNA decay and transcriptional control mediated by the polycomb repressive complex 2, *Cell Rep.*, **29**, 1800-1811.e6, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.10.011>.
114. Cifuentes-Rojas, C., Hernandez, A. J., Sarma, K., and Lee, J. T. (2014) Regulatory interactions between RNA and polycomb repressive complex 2, *Mol. Cell*, **55**, 171-185, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.05.009>.
115. Zhang, Q., McKenzie, N. J., Warneford-Thomson, R., Gail, E. H., Flanigan, S. F., Owen, B. M., Lauman, R., Levina, V., Garcia, B. A., Schittenhelm, R. B., Bonasio, R., and Davidovich, C. (2019) RNA exploits an exposed regulatory site to inhibit the enzymatic activity of PRC2, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 237-247, <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0197-y>.
116. Song, J., Gooding, A. R., Hemphill, W. O., Love, B. D., Robertson, A., et al. (2023) Structural basis for inactivation of PRC2 by G-quadruplex RNA, *Science*, **381**, 1331-1337, <https://doi.org/10.1126/science.adh0059>.
117. Wang, X., Goodrich, K. J., Gooding, A. R., Naeem, H., Archer, S., Paucek, R. D., Youmans, D. T., Cech, T. R., and Davidovich, C. (2017) Targeting of polycomb repressive complex 2 to RNA by short repeats of consecutive guanines, *Mol. Cell*, **65**, 1056-1067.e5, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.02.003>.
118. Long, Y., Hwang, T., Gooding, A. R., Goodrich, K. J., Rinn, J. L., and Cech, T. R. (2020) RNA is essential for PRC2 chromatin occupancy and function in human pluripotent stem cells, *Nat. Genet.*, **52**, 931-938, <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0662-x>.
119. Healy, E., Zhang, Q., Gail, E. H., Agius, S. C., Sun, G., Bullen, M., Pandey, V., Das, P. P., Polo, J. M., et al. (2023) The apparent loss of PRC2 chromatin occupancy as an artefact of RNA depletion, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.08.16.553488>.

120. Hickman, A. H., and Jenner, R. G. (2023) Apparent RNA bridging between PRC2 and chromatin is an artefact of non-specific chromatin precipitation upon RNA degradation, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.08.16.553503>.
121. Skalska, L., Begley, V., Beltran, M., Lukauskas, S., Khandelwal, G., Faull, P., Bhamra, A., Tavares, M., Wellman, R., Tvardovskiy, A., Foster, B. M., Ruiz de Los Mozos, I., Herrero, J., Surinova, S., Snijders, A. P., Bartke, T., and Jenner, R. G. (2021) Nascent RNA antagonizes the interaction of a set of regulatory proteins with chromatin, *Mol. Cell*, **81**, 2944-2959.e10, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.05.026>.
122. Shao, W., Bi, X., Pan, Y., Gao, B., Wu, J., Yin, Y., Liu, Z., Peng, M., Zhang, W., Jiang, X., Ren, W., Xu, Y., Wu, Z., Wang, K., Zhan, G., Lu, J. Y., Han, X., Li, T., Wang, J., Li, G., et al. (2022) Phase separation of RNA-binding protein promotes polymerase binding and transcription, *Nat. Chem. Biol.*, **18**, 70-80, <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00904-5>.
123. Oksuz, O., Henninger, J. E., Warneford-Thomson, R., Zheng, M. M., Erb, H., Vancura, A., Overholt, K. J., Hawken, S. W., Banani, S. F., Lauman, R., Reich, L. N., Robertson, A. L., Hannett, N. M., Lee, T. I., Zon, L. I., Bonasio, R., and Young, R. A. (2023) Transcription factors interact with RNA to regulate genes, *Mol. Cell*, **83**, 2449-2463.e13, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.06.012>.
124. Maharana, S., Wang, J., Papadopoulos, D. K., Richter, D., Pozniakovskiy, A., Poser, I., Bickle, M., Rizk, S., Guillén-Boixet, J., Franzmann, T. M., Jahnelt, M., Marrone, L., Chang, Y. T., Sternecker, J., Tomancak, P., Hyman, A. A., and Alberti, S. (2018) RNA buffers the phase separation behavior of prion-like RNA binding proteins, *Science*, **360**, 918-921, <https://doi.org/10.1126/science.aar7366>.
125. Henninger, J. E., Oksuz, O., Shrinivas, K., Sagi, I., LeRoy, G., Zheng, M. M., Andrews, J. O., Zamudio, A. V., Lazaris, C., Hannett, N. M., Lee, T. I., Sharp, P. A., Cissé, I. I., Chakraborty, A. K., and Young, R. A. (2021) RNA-mediated feedback control of transcriptional condensates, *Cell*, **184**, 207-225.e24, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.030>.
126. Sharp, P. A., Chakraborty, A. K., Henninger, J. E., and Young, R. A. (2022) RNA in formation and regulation of transcriptional condensates, *RNA*, **28**, 52-57, <https://doi.org/10.1261/rna.078997.121>.
127. Pownall, M. E., Miao, L., Vejnar, C. E., M'Saad, O., Sherrard, A., Frederick, M. A., Benitez, M. D. J., Boswell, C. W., Zaret, K. S., Bewersdorf, J., and Giraldez, A. J. (2023) Chromatin expansion microscopy reveals nanoscale organization of transcription and chromatin, *Science*, **381**, 92-100, <https://doi.org/10.1126/science.ade5308>.
128. Iarovaia, O. V., Minina, E. P., Sheval, E. V., Onichtchouk, D., Dokudovskaya, S., Razin, S. V., and Vassetzky, Y. S. (2019) Nucleolus: a central hub for nuclear functions, *Trends Cell Biol.*, **29**, 647-659, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2019.04.003>.
129. Liang, Y., Xu, H., Cheng, T., Fu, Y., Huang, H., Qian, W., Wang, J., Zhou, Y., Qian, P., Yin, Y., Xu, P., Zou, W., and Chen, B. (2022) Gene activation guided by nascent RNA-bound transcription factors, *Nat. Commun.*, **13**, 7329, <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35041-7>.

NONSPECIFIC INTERACTIONS IN TRANSCRIPTION REGULATION AND ORGANIZATION OF TRANSCRIPTIONAL CONDENSATES

Review

A. A. Valyaeva^{1,2,3*} and E. V. Sheval^{2,3}

¹ School of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; e-mail: valyaeva.ann@gmail.com

² Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

³ Department of Cell Biology and Histology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

Eukaryotic cells are characterized by a high degree of compartmentalization of their internal contents, which ensures precise and controlled regulation of intracellular processes. During many processes, including different stages of transcription, dynamic membrane-free compartments called biomolecular condensates are formed. Transcription condensates contain various transcription factors and RNA polymerase and are formed by high and low specificity interactions between protein factors, DNA and nearby RNA. This review discusses recent data demonstrating the important role of nonspecific multivalent protein-protein and RNA-protein interactions in the organization and regulation of transcription.

Keywords: transcription, RNA, RNA polymerase, transcriptional condensates, intrinsically disordered regions