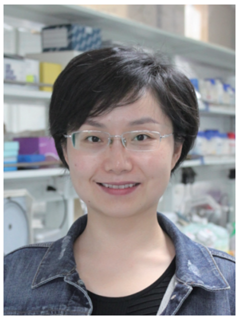
领域前沿 • 中国



陈玲玲, 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所研究员、博士生导师, 从事长链非编码RNA(lncRNA)代谢与功能研究。2011年回国以来, 主要集中于新型lncRNA家族的发现、自身加工代谢机制及其在细胞核结构和功能调控等领域开展前沿性探索, 在Cell、Nat Rev Mol Cell Biol、Mol Cell等期刊发表责任作者论文30余篇。入选霍华德•休斯国际研究员(HHMI International Research Scholar)、基金委国家优秀青年基金和中组部万人计划"青年拔尖人才"; 曾获中国青年女科学家奖、全球华人生物学家协会青年研究员奖(CBIS Young Investigator Award)等。目前担任国际期刊Trends in Genetics、Genome Biology和Journal of Biological Chemistry的编委。

小核仁RNA相关的长链非编码RNA家族的发现与功能研究

邢宇航[1] 陈玲玲[1,2]*

([1]中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031;
[2]上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

摘要 真核生物的基因组通过转录以及转录后加工可以生成多种长度大于200个核苷酸并且不具有编码蛋白能力的长链非编码RNA。很多已知的长链非编码RNA与mRNA的结构相似, 均含有5′端的帽子及3′端的尾巴。最近, 该实验室发现并报道了一系列具有特殊结构的新型长链非编码RNA分子家族。该文主要介绍含有snoRNA结构的*sno-lncRNAs*(snoRNA-related lncRNAs)、*SPAs*(5′ snoRNA capped and 3′ polyadenylated lncRNAs)以及*SLERT*(snoRNA-ended lncRNA enhances pre-ribosomal RNA transcription)的特性与功能。

关键词 长链非编码RNA; 小胖威利综合征; 核糖体RNA转录; 肿瘤生成

Long Noncoding RNAs Stabilized by Small Nucleolar RNA-Protein (snoRNP) Ends

Xing Yuhang[1], Chen Lingling[1,2]*

([1]*Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*; [2]*School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China*)

Abstract Eukaryotic DNA transcription and RNA processing produce many long noncoding RNA (lncRNA) species that are longer than 200 nucleotides and lack significant protein-coding potential. Although most

国家自然科学基金(批准号: 91440202)资助的课题
*通讯作者。Tel: 021-54921021, E-mail: linglingchen@sibcb.ac.cn
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.91440202)
*Corresponding author. Tel: +86-21-54921021, E-mail: linglingchen@sibcb.ac.cn
网络出版时间: 2017-09-19 12:12:22 URL: http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170919.1212.002.html

lncRNAs transcribed from Pol II promoters have a 7-methyl guanosine (m^7G) cap and 3′ polydenosine at their ends as mRNAs, we recently have reported new types of linear lncRNA species that are stabilized by small nucleolar RNA-protein (snoRNP) caps at the 5′ end or of both ends. Here we mainly discuss the biogenesis and functional implication of these unusually processed lncRNAs.

Keywords long noncoding RNA; Prader-Willi syndrome; pre-rRNA transcription; tumorigenesis

大规模基因组以及转录组测序分析表明, 人类的基因组中大于75%的部分为转录活跃区域, 而这些活跃区域转录产物绝大部分由非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA)组成[1-2]。非编码RNA是一类能够被正常转录产生但并不翻译为蛋白质的RNA。非编码RNA可以分为"持家"非编码RNA、短链非编码RNA、长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)等。"持家"非编码RNA包括转运RNA(tRNA)、核糖体RNA(rRNA)与小核仁RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)等。短链非编码RNA包括microRNA(miRNA)、小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)和piwi相互作用的RNA(Piwi-interacting RNA, piRNA)[3]。长链非编码RNA则是指长度大于200个核苷酸但是不编码功能性蛋白或者多肽的一类RNA分子[4]。越来越多的研究表明, 长链非编码RNA在基因转录调控以及转录后加工等多个方面参与细胞的生命活动[5-7]。大部分长链非编码RNA的结构与mRNA相似, 均含有5′端的m^7G(7-methyl guanosine)帽子以及3′端的poly(A)尾巴。

snoRNA是一类长度为70~200个核苷酸的保守的非编码RNA, 定位于核仁或者Cajal body中, 参与rRNA转录后修饰过程。哺乳动物中大部分的snoRNA来自于编码基因的内含子, 由mRNA成熟过程中被剪切下的内含子经脱分支和核酸外切酶作用而形成。snoRNA根据功能和结构可以分为两类, 即box C/D和box H/ACA snoRNA。snoRNA通过与特定蛋白相结合, 形成小核仁核糖核蛋白复合物(small-nucleolar ribonucleoprotein complexes, snoRNPs)来行使相应功能[8-9]。我们实验室通过前期创建的无poly(A)尾转录组分离纯化和高通量RNA测序技术[10]发现了一系列结构特殊的长链非编码RNA, 其中包括两端以snoRNA结尾的*sno-lncRNAs*(snoRNA-related lncRNAs)[11-12]以及5′端为snoRNA而3′端则是poly(A)尾巴的*SPAs*(5′ snoRNA capped and 3′ polyadenylated lncRNAs)[13]。本文主要围绕这几类新发现并均含有snoRNA的长链非编码RNA介绍相关进展。

1 两端以box C/D snoRNA结尾的*sno-lncRNAs*加工机制与功能

小胖威利综合征(Prader-Willi syndrome, PWS)是一种15号染色体异常的基因遗传疾病, 临床表现为发育迟缓、智能障碍、食量增加以及性腺发育不良等[14]。我们通过在人源胚胎干细胞H9中进行无poly(A)尾转录组分离的RNA测序发现了在15q11-q13印记区域的无poly(A)组分中有较高表达水平的5条长链非编码RNA。这些长链非编码RNA两端均以box C/D snoRNA结尾, 因此, 我们将其命名为*sno-lncRNAs*。*sno-lncRNAs*本身并没有独立的基因启动子, 而是来源于*SNRPN*(small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N)基因转录本的内含子区域。随后, 我们利用Northern blot技术验证了*sno-lncRNAs*在多种人细胞中表达, 并发现*sno-lncRNAs*两端的snoRNA可以结合相应的蛋白形成snoRNP复合物, 而正是这些snoRNP复合物使*sno-lncRNAs*稳定存在。我们利用DNA/RNA荧光原位杂交(DNA/RNA fluorescence *in situ* hybridization, DNA/RNA FISH)技术对*sno-lncRNAs*在人源胚胎干细胞中的定位进行了检测。结果发现, *sno-lncRNAs*定位于细胞核内的自身转录位点附近, 与经典的box C/D snoRNA的细胞内定位有所差异。进一步的研究发现, *sno-lncRNAs*在细胞核中可以与剪接因子RBFOX2(RNA binding protein fox-1 homolog 2)结合。利用反义寡核苷酸技术(antisense oligodeoxynucleotides, ASO)对*sno-lncRNAs*进行敲除发现, RBFOX2所调控的相关基因的剪接形式发生了改变, 说明*sno-lncRNAs*可以通过与RBFOX2结合来影响其调控pre-mRNA剪接的功能。根据上述实验结果可推测, 在正常个体发育早期的细胞中, *sno-lncRNAs*在细胞核内可以充当"分子海绵"来"吸附"RBFOX2, 使其发挥正常功能; 而在PWS病人的细胞中则缺少*sno-lncRNAs*的表达, 这种缺失造成了RBFOX2在细胞核内的散乱分布, 从而改变了

相关基因的可变剪接, 最终可能导致了PWS疾病的发生。我们的研究发现了一类全新的结构独特的长链非编码RNA家族, 并解释了其独特的生成加工机制, 拓展了人们对于长链非编码RNA的认识。另外, PWS是一类多系统紊乱的疾病, 疾病成因复杂, 其病理机制至今仍未被阐明。PWS病人细胞中缺失*sno-lncRNAs*, 对这种疾病特异性缺失的长链非编码RNA的功能研究有助于更加深入地了解PWS的病理机制, 同时也为今后针对PWS的治疗提供了理论基础。

2 对*sno-lncRNAs*的物种特异性分析及其特性的应用研究

临床研究表明, 大于70%的PWS病人是由chr15q11-q13染色体缺失所导致的, 但是现有的小鼠PWS基因区域缺失模型不能完全模拟人PWS的临床症状。我们在可导致PWS的最小染色体缺失区域中发现了5个可转录产生*sno-lncRNAs*的基因。通过比较人、猴、小鼠的无poly(A)转录组发现, PWS区域*sno-lncRNAs*仅在灵长类动物中表达, 而在小鼠转录组中不表达[15]。尽管组成*sno-lncRNAs*的snoRNA基因在这3个物种中均保守存在, 但是这个区域的可变剪接具有物种特异性: 在人类基因组中, 可变剪接导致单内含子中存在2个snoRNAs, 因此可以形成*sno-lncRNAs*; 而在小鼠基因组中, 单内含子仅有1个snoRNA, 因此不能形成*sno-lncRNAs*。该项工作发现, 多内含子snoRNA通过可变剪接形成熟的*sno-lncRNAs*并具有物种特异性, 揭示了人类特异的PWS区域*sno-lncRNAs*在疾病发生中可能的重要性, 也提示PWS小鼠模型不能很好地模拟人类疾病的原因可能是由于这些进化不保守的长链非编码RNA。

如同研究蛋白一样, 研究lncRNA功能也需要通过质粒载体将其在细胞内过表达。然而, 目前已有的真核表达载体多数是用来表达编码基因的, 载体上含有转录元件、翻译元件和一些促进核质运输的元件。因此, 这些载体表达的转录本就会按照mRNA的方式进行加工并且运到细胞质中。使用这些载体外源表达一些仅定位在细胞核中的lncRNA时, 这些 RNA也经常会被运到胞质里, 对上述现有技术中所存在的问题, 利用*sno-lncRNAs*分子不含5′帽子和3′尾巴并可以滞留在细胞核中的特征, 我们研发了snoVector质粒表达体系用于表达细胞核内的lncRNA[16]。该载体可以表达基因组中不同来源的RNA, 并将其滞留在细胞核内。例如, 利用snoVector表达细胞核的一条lncRNA *NEAT1*(nuclear enriched abundant transcript 1), 不仅使之滞留在细胞核内, 还具有内源*NEAT1*的活性, 即调控细胞核亚结构paraspeckles的组装和功能[17]。因此, 该snoVector体系为研究细胞核内lncRNA的功能提供了有效工具。

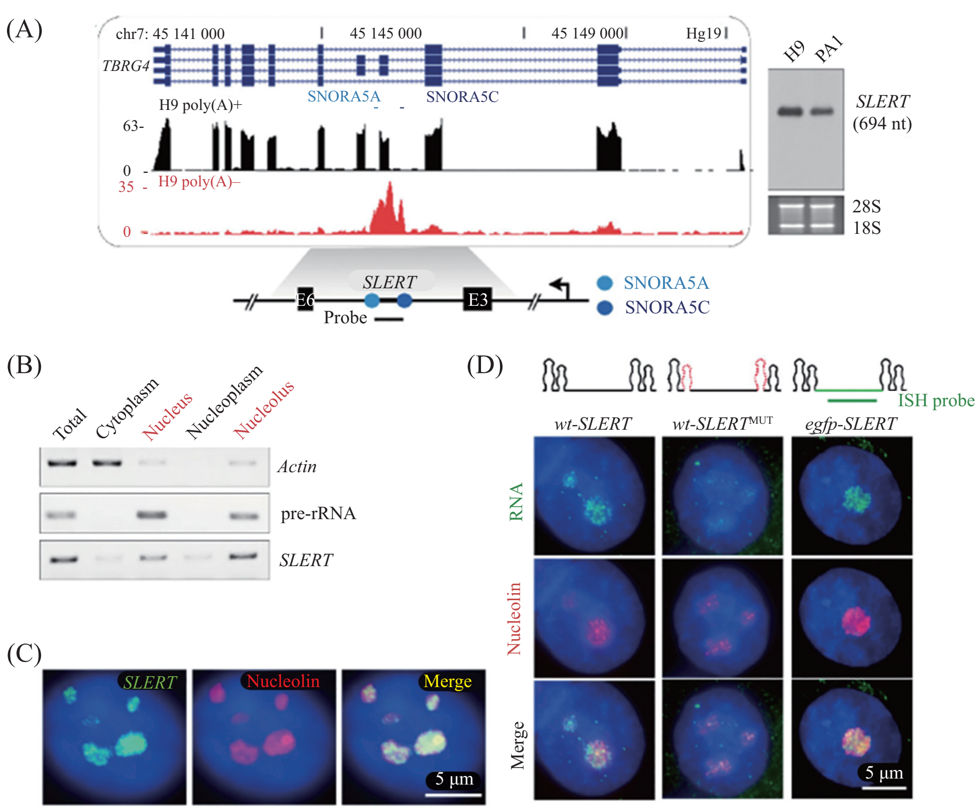
3 5′端为snoRNA、3′端为poly(A)尾巴的SPAs加工机制与功能

PWS病人细胞中缺失的基因印记区域可以产生多种snoRNA, 为了进一步探究PWS疾病形成原因并寻找更多的与snoRNA相关的lncRNA, 我们进行了box C/D snoRNA相应的结合蛋白Fibrillarin的RNA免疫共沉淀(RNA-immunoprecipitation, RIP)实验。该工作使得我们发现了另外一类新型的长链非编码RNA, 其5′端是box C/D snoRNA而非经典的m^7G帽子, 3′端则是poly(A)尾巴, 我们将其命名为*SPAs*。在人源胚胎干细胞中, *SPA1*和*SPA2*是两条表达丰富的长链非编码RNA, 来源于PWS关键15q11-q13缺失区域。*SPAs*由多顺反子基因*SNURF-SNRPN*转录产生, 生成过程依赖于其上游较弱的转录终止信号、5′端snoRNA帽子以及相应蛋白因子CPSF和XRN2。与*sno-lncRNAs*的细胞定位类似, DNA/RNA荧光原位杂交显示, *SPAs*也定位在细胞核中其转录位点附近, 并且可以与*sno-lncRNAs*定位在一起形成聚集簇。为了深入探究*SPAs*的作用功能, 利用RNA pulldown的技术对其结合蛋白进行了检测。实验结果表明, *SPAs*与*sno-lncRNAs*类似, 可以与剪接因子TDP43、RBFOX2、hnRNPM结合。利用超高分辨率三维结构照明显微镜(3D-structured illumination microscopy, 3D-SIM)对*SPAs*、*sno-lncRNAs*以及结合相应蛋白进行了观察, 发现*SPAs*与*sno-lncRNAs*在细胞核内形成一个半径约为1 μm的积聚小体。在此核积聚小体内, *SPAs*与*sno-lncRNAs*结合了大量的可变剪接调控蛋白TDP43、RBFOX2、hnRNPM。随后, 利用基因编辑技术对*SPAs*进行敲除发现, *SPAs*的缺失影响了TDP43、RBFOX2、hnRNPM等蛋白与一部分pre-mRNA的结合, 进而影响了相应基因的可变剪接。由于*SPAs*产生于PWS的核心基因缺失区域, 这些RNA分子的表达缺失可能与PWS的发生、发展密切相关。因此, *SPAs*的研究为探索PWS的致病机理奠定了重要的理论基础。

4　两端为box H/ACA结尾的*SLERT*加工机制与功能

通过对前期创建的无poly(A)尾转录组测序和分析, 我们还发现了另外一条全新的*sno-lncRNA*, 该lncRNA两端以box H/ACA snoRNA(图1A), 我们将其命名为*SLERT*(snoRNA-ended lncRNA enhances pre-ribosomal RNA transcription)。*SLERT*全长为694个核苷酸, 位于人七号染色体*TBRG4*(transforming growth factor beta regulator 4)基因的第3个内含子中, 由pre-RNA可变剪接生成。为了研究*SLERT*的定位情况, 我们进行了人卵巢癌PA1细胞的核质分离实验, 发现*SLERT*位于细胞核的核仁中(图1B)。随后, 我们对*SLERT*原位FISH以及细胞核仁蛋白Nucleolin免疫染色发现, 两者在细胞中位置基本一致(图1C), 进一步证实了*SLERT*定位在细胞核的核仁中。由于很大一部分snoRNA同样定位在核仁中, 我们猜想, *SLERT*的定位可能与其两端snoRNA相关。随后, 我们构建了两端snoRNA部分缺失的*SLERT*, 并将之转入细胞中进行定位观测, 最终发现snoRNA被破坏的*SLERT*散乱分布在细胞核中(图1D), 证明了*SLERT*在细胞核核仁中的定位由其两端的snoRNA介导。

为研究*SLERT*的功能, 我们利用CRISPR/CAS9基因编辑技术对*SLERT*进行敲除。由于*SLERT*定位于细胞核的核仁中, 而核仁是RNA聚合酶I(RNA polymerase I, Pol I)转录生成核糖体RNA的场所, 我们猜测, *SLERT*可能参与了这个过程。利用Northern blot的实验方法在*SLERT* KO的细胞株中检测核糖体前体RNA(pre-rRNA)发现, pre-rRNA的表达大幅下降(图2A), 表明*SLERT*在正常人细胞中可以促进Pol I转录。为阐明*SLERT*在Pol I转录中的作用, 我们利用了tRSA pulldown的方法对其结合的蛋白进行了检测, 发现DDX21可与其相结合。DDX21是一类RNA解旋酶[18], 最近有报道其与rRNA的生成加工相关[19]。随后, 我们利用Western blot的实验方法对质谱结果分析进一步验证了*SLERT*与DDX21的结合(图2B)。另外, 体外纯化蛋白DDX21与*SLERT*

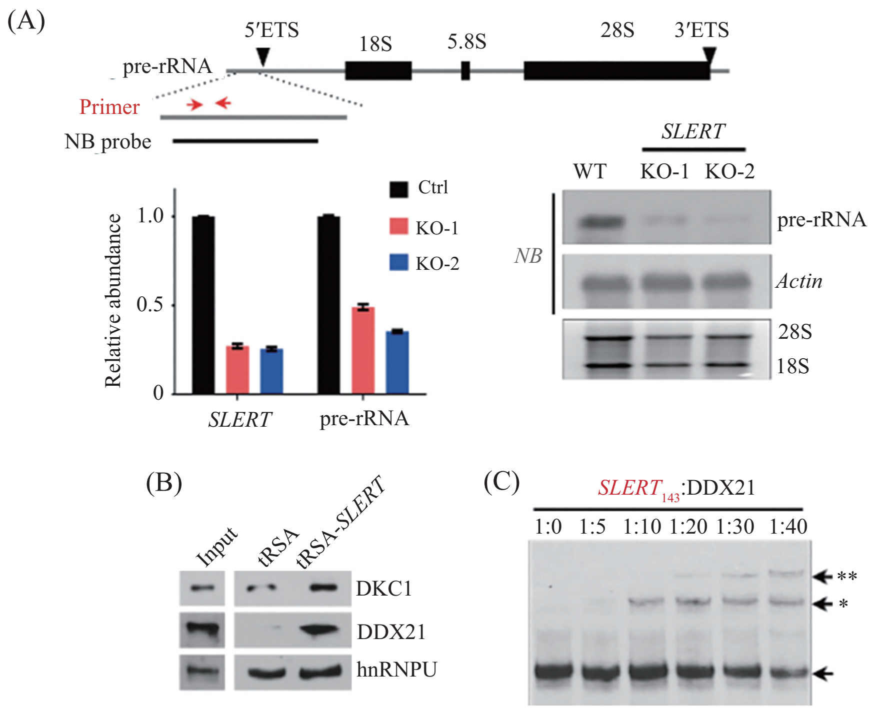


A: 人源胚胎干细胞H9的RNA测序结果以及Northern blot验证*SLERT*存在; B: 人源卵巢癌细胞PA1的核质分离; C: *SLERT*以及核仁蛋白Nucleolin在PA1细胞中的的染色; D: *SLERT*以及其突变体与核仁蛋白Nucleolin在人源宫颈癌细胞HeLa中的的染色。

A: RNA-seq data of H9 cells and Northern blot detected *SLERT* in H9 and PA1 cells; B: subcellular fractionation of PA1 cells; C: co-staining of *SLERT* and Nucleolin in PA1 cells; D: co-staining of *SLERT* mutant and Nucleolin in HeLa cells.

图1　*SLERT*的发现及特性研究(根据参考文献[12]修改)

Fig.1　Identification of box H/ACA *sno-lncRNA SLERT* (modified from reference [12])



A: *SLERT*敲除导致了pre-rRNA表达量的下降; B: *SLERT*结合蛋白的鉴定; C: *SLERT*$_{143}$在体外可与DDX21直接结合。*表示DDX21单体, **表示DDX21多聚体, 箭头表示RNA单体。

A: *SLERT* knockout (KO) reduced the steady-state level of pre-rRNA; B: identification of proteins associated with *SLERT*; C: *SLERT*$_{143}$ interacted with DDX21 *in vitro*. One and two asterisks denoted monomer and multimer status, respectively, and the arrow without any asterisk indicated RNA-only.

图2 *SLERT*增强了pre-rRNA的转录并与DDX21相结合(根据参考文献[12]修改)

Fig.2 *SLERT* enhances pre-rRNA transcription and is associated with DDX21 (modified from reference [12])

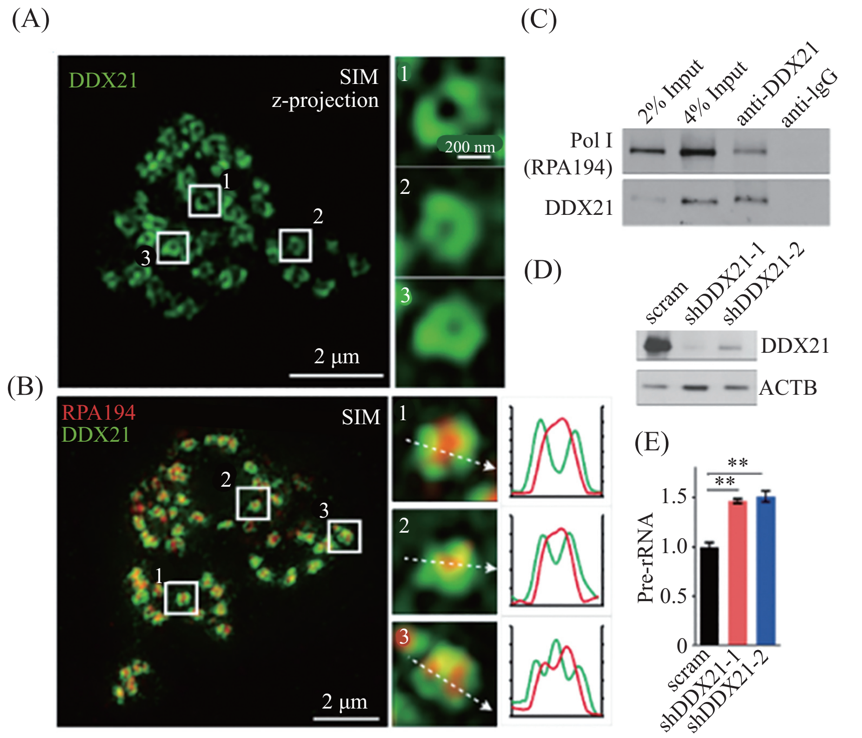
的凝胶迁移实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)证明, *SLERT*可以与DDX21直接结合(图2C)。

目前, 人们对于DDX21功能还知之甚少, 为了探究DDX21在pre-rRNA转录中的作用, 我们首先采用了3D-SIM技术对其在细胞中的定位进行观察。令人惊奇的是, DDX21在PA1细胞的核仁中呈现出直径约为400 nm的环状排布(图3A), 而当用Pol I转录抑制剂actinomycin D处理细胞之后, 这些环状结构也随之消失, 提示DDX21的环状排布可能与Pol I转录相关。随后, 我们将DDX21与Pol I的大亚基RPA194共同染色, 3D-SIM观察结果显示, Pol I处于DDX21环状结构的中央(图3B), 提示DDX21可能与Pol I相互作用。后续的蛋白免疫共沉淀实验(Co-immunoprecipitation, Co-IP)也证实了这一点(图3C)。我们利用shRNA技术对DDX21蛋白进行了敲除操作(图3D), 发现DDX21缺失后细胞的pre-rRNA的表达水平相比对照组有了明显上升(图3E), 提示DDX21通过结合Pol I来抑制转录。

为阐释*SLERT*、DDX21以及Pol I在转录调控过程中的关系, 我们在*SLERT*敲除以及过表达细胞中对DDX21环的直径大小以及pre-rRNA生成量进行了统计。结果表明, *SLERT*表达量越多, 相应的DDX21环的直径越长, 而pre-rRNA的生成也随之增加(图4A)。这说明, *SLERT*是通过改变DDX21环直径的长度来调控Pol I的转录。进一步的荧光能量共振转移(Förster resonance energy transfer, FRET)实验证明, *SLERT*可以改变单个与之结合的DDX21的分子构象(图4B), 从而起到调控DDX21环状排布的作用。另外, 在*SLERT*敲除的细胞中进行蛋白免疫共沉淀实验表明, 在缺少*SLERT*的情况下, DDX21与Pol I的结合更加紧密(图4C), 抑制转录的效果更强。

有研究表明, 很多肿瘤的发生都与rRNA的异常有关[20-21], 而*SLERT*能够促进rRNA的产生[12], 提示*SLERT*可能与肿瘤发生相关。将*SLERT*敲除的细胞注射到裸鼠背部并使其生长, 我们发现, *SLERT*的缺失可以抑制小鼠的体外的肿瘤生长, 使肿瘤体积减小(图4D)及体重减轻(图4E), 这表明*SLERT*通过调控Pol I转录而对肿瘤生成起到促进作用。

本研究首次在人类细胞中发现了可以调控Pol I转录的长链非编码RNA, 并阐释了此RNA独特的改



A: DDX21在核仁中形成环状排布; B: Pol I位于DDX21环的中心区域; C: 在PA1细胞中, DDX21可以与Pol I结合; D: 利用shRNA对DDX21蛋白进行敲除; E: DDX21的敲除导致了pre-rRNA表达量的增加, $**P<0.01$。

A: DDX21 forms ring-shaped structures in the nucleolus; B: the Pol I complexes are located within DDX21 rings; C: DDX21 interacts with RPA194 in PA1 cells; D: DDX21 knockdown by two different shRNAs; E: DDX21 knockdown led to enhanced steady-state levels of pre-rRNAs, $**P<0.01$.

图3 DDX21在核仁中成环状排布并抑制Pol I的转录(根据参考文献[12]修改)

Fig.3 DDX21 forms ring-like structures and inhibit Pol I transcription (modified from reference [12])

变DDX21蛋白构象的功能, 拓展了长链非编码RNA的作用机制。该研究通过多种实验手段揭示了DDX21环直径的大小对于Pol I转录的调控机制以及*SLERT*对DDX21环的控制作用, 以崭新的视角揭示了Pol I转录的新机制, 为进一步研究核仁结构及功能提供了新的方向, 同时, 也为针对Pol I转录的肿瘤靶向治疗提供了新的靶标。

5 总结与展望

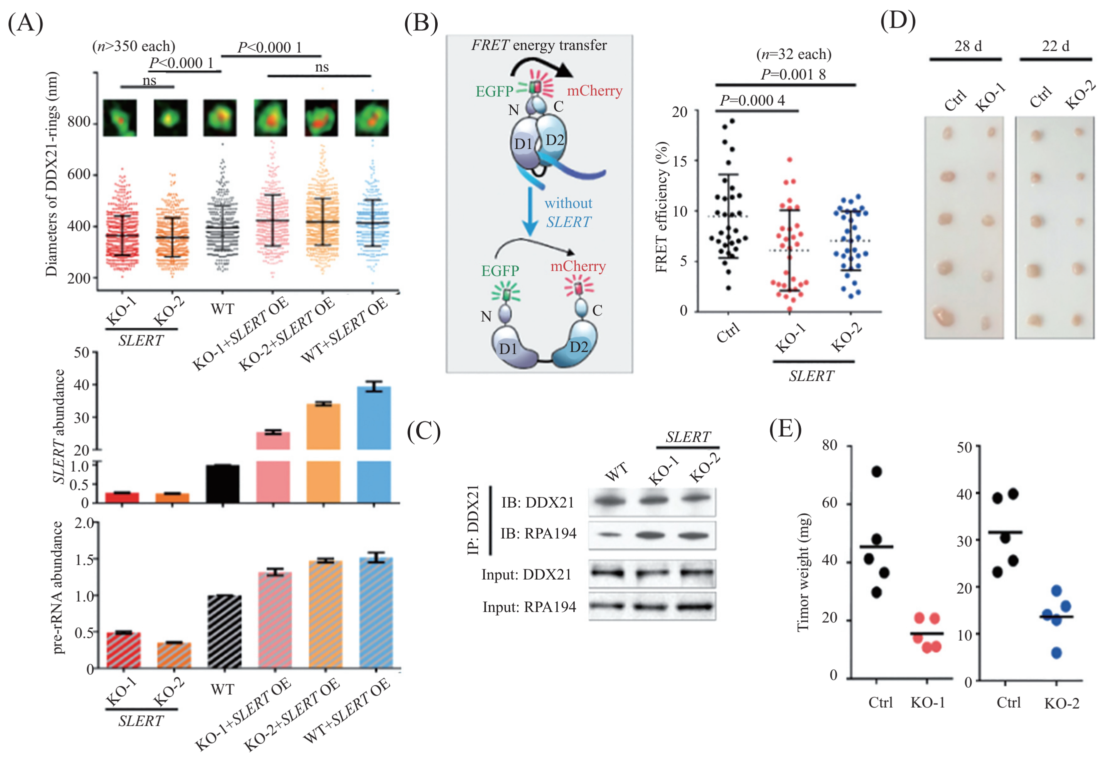
通过对哺乳动物转录组包括无poly(A)尾RNA转录组的分离纯化分析, 我们发现了一系列分子末端含有snoRNP特殊结构的新型长链非编码RNA分子家族, 揭示了哺乳动物细胞转录组的复杂性。这些含有snoRNA结构的新型长链非编码RNA结构特殊, 其产生具有物种特异性, 并且在人细胞中表达量非常丰富, 提示这些RNA分子在人类细胞功能中可能扮演着极为重要的角色。更为重要的是, 这些新的长链非编码RNA分子与细胞核仁Pol I转录调控偶联的肿瘤发生以及小胖威利综合征等人类疾病密切关联。总之, 我们的研究初步解析了这些疾病相关的长链非编码RNA的加工生成机制及作用功能, 为进一步认识人类疾病的发生、发展提供了新的研究思路, 也为相关疾病的治疗奠定了理论基础。随着今后生物学技术方法的不断完善发展以及对人类转录组进行更加深入的分析和研究, 未来人们有望发现更多新类型的特殊长链非编码RNA。这些曾经被称为“转录组垃圾”的RNA分子很可能以不同的形式更加广泛地参与到细胞的各种层次调控中去, 拓展并加深人们对于正常生命活动以及疾病发生的认识与理解。

参考文献 (References)

1 Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi A, *et al*. Landscape of transcription in human cells. Nature 2012; 489(7414): 101-8.

2 Hangauer MJ, Vaughn IW, McManus MT. Pervasive transcription of the human genome produces thousands of previously unidentified long intergenic noncoding RNAs. PLoS Genet 2013; 9(6): e1003569.

3 Chen LL, Carmichael GG. Long noncoding RNAs in mammalian cells: what, where, and why? Wiley Interdiscip Rev RNA 2010; 1(1): 2-21.



A: *SLERT*表达量、DDX21环的大小以及pre-rRNA的产量之间呈正相关性; ns: 差异性不显著; B: *SLERT*结合DDX21并改变其单个分子构象; C: *SLERT*的缺失导致DDX21与Pol I结合增强; D、E: 利用*SLERT*敲除细胞进行裸鼠体外成瘤实验。

A: the positive correlation of *SLERT* expression, DDX21 ring size, and pre-rRNA production; ns: not significant; B: binding of *SLERT* induces conformational change of individual DDX21 molecules; C: *SLERT* depletion leads to increased interaction between DDX21 and RPA194; D,E: Xenograft assay of *SLERT* knockout (KO) cells in nude mouse.

图4 *SLERT*通过控制DDX21环的大小来促进Pol I的转录并促进肿瘤生成(根据参考文献[12]修改)

Fig.4 *SLERT* promotes Pol I transcription and tumorigenesis by controlling the sizes of DDX21 ring-shaped structures (modified from reference [12])

4 Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. Cell 2013; 154(1): 26-46.

5 Chen LL. Linking long noncoding RNA localization and function. Trends Biochem Sci 2016; 41(9): 761-72.

6 Quinn JJ, Chang HY. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. Nat Rev Genet 2016; 17(1): 47-62.

7 Wu H, Yang L, Chen LL. The diversity of long noncoding RNAs and their generation. Trends Genet 2017; 33(8): 540-52.

8 Bratkovic T, Rogelj B. Biology and applications of small nucleolar RNAs. Cell Mol Life Sci 2011; 68(23): 3843-51.

9 Watkins NJ, Bohnsack MT. The box C/D and H/ACA snoRNPs: Key players in the modification, processing and the dynamic folding of ribosomal RNA. Wiley Interdiscip Rev RNA 2012; 3(3): 397-414.

10 Yang L, Duff MO, Graveley BR, Carmichael GG, Chen LL. Genomewide characterization of non-polyadenylated RNAs. Genome Biol 2011; 12(2): R16.

11 Yin QF, Yang L, Zhang Y, Xiang JF, Wu YW, Carmichael GG, *et al*. Long noncoding RNAs with snoRNA ends. Mol Cell 2012; 48(2): 219-30.

12 Xing YH, Yao RW, Zhang Y, Guo CJ, Jiang S, Xu G, *et al*. *SLERT* regulates DDX21 rings associated with Pol I transcription. Cell 2017; 169(4): 664-78.

13 Wu H, Yin QF, Luo Z, Yao RW, Zheng CC, Zhang J, *et al*. Unusual processing generates SPA lncRNAs that sequester multiple RNA binding proteins. Mol Cell 2016; 64(3): 534-48.

14 Cassidy SB, Schwartz S, Miller JL, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. Genet Med 2012; 14(1): 10-26.

15 Zhang XO, Yin QF, Wang HB, Zhang Y, Chen T, Zheng P, *et al*. Species-specific alternative splicing leads to unique expression of sno-lncRNAs. BMC Genomics 2014; 15: 287.

16 Yin QF, Hu SB, Xu YF, Yang L, Carmichael GG, Chen LL. SnoVectors for nuclear expression of RNA. Nucleic Acids Res 2015; 43(1): e5.

17 Chen LL, Carmichael GG. Altered nuclear retention of mRNAs containing inverted repeats in human embryonic stem cells: Functional role of a nuclear noncoding RNA. Mol Cell 2009; 35(4): 467-78.

18 Valdez BC, Henning D, Perumal K, Busch H. RNA-unwinding and RNA-folding activities of RNA helicase II Gu–two activities in separate domains of the same protein. Eur J Biochem 1997; 250(3): 800-7.

19 Calo E, Flynn RA, Martin L, Spitale RC, Chang HY, Wysocka J. RNA helicase DDX21 coordinates transcription and ribosomal RNA processing. Nature 2015; 518(7538): 249-53.

20 Peltonen K, Colis L, Liu H, Trivedi R, Moubarek MS, Moore HM, *et al*. A targeting modality for destruction of RNA polymerase I that possesses anticancer activity. Cancer Cell 2014; 25(1): 77-90.

21 Nguyen le XT, Raval A, Garcia JS, Mitchell BS. Regulation of ribosomal gene expression in cancer. J Cell Physiol 2015; 230(6): 1181-8.