Зміст

Ювілеї

До 90-річного ювілею
Кожем'яка Анатолій Іванович 5

Клінічна педіатрія

Мозирська О.В.
Роль топічної антимікотичної терапії в лікуванні атопічного дерматиту в дітей..... 7

Тимошина О.В., Овчаренко Л.С., Вертегел А.О., Андрієнко Т.Г., Самохін І.В., Кряжев О.В.
Вікові особливості поглинальної та цитокініндукуючої функції фагоцитозу у дітей, які часто хворіють на гострі респіраторні інфекції..... 12

Товарницька А.О.
Вплив грудного вигодовування на закриття відкритої артеріальної протоки в недоношених новонароджених 18

Снісарь В.І., Миронов Д.В.
Особливості реакцій організму дітей з онкологічними захворюваннями при внутрішньовенній анестезії з пропофолом..... 26

Випадок із практики

Никитюк С.О., Левенець С.С., Борис З.Я.
Токсикодермія в дитини як ускладнення після укусів клопів 33

Огляд літератури

Леженко Г.О., Абатуров О.Є., Погрібна А.О.
Клінічне значення фероптозу як залізозалежної регульованої загибелі клітин у загальній структурі захворювання 38

Теоретична медицина

Абатуров О.Є., Бабич В.Л.
Механізми дії цитоплазматичних мікроРНК. Частина 3. TNRC6-асоційований механізм мікроРНК-опосередкованої деградації мРНК 43

Contents

Jubilees

To the 90th anniversary of Kozhemiaka Anatolii Ivanovych 5

Clinical Pediatrics

O.V. Mozyrska
Role of antifungal therapy in the treatment of atopic dermatitis in children 7

O.V. Tymoshyna, L.S. Ovcharenko, A.O. Vertehel, T.G. Andrienko, I.V. Samokhin, O.V. Kryazhev
Age-specific features of the absorptive and cytokine-inducing function of phagocytosis in children with recurrent acute respiratory infections 12

A.O. Tovarnytska
Breastfeeding impact on patent ductus arteriosus closure in preterm newborns 18

V.I. Snisar, D.V. Myronov
Features of body reactions in children with oncological diseases during intravenous anesthesia with propofol 26

Case Report

S.O. Nykytyuk, S.S. Levenets, Z.Ya. Borys
Toxicoderma in a child as a complication after a bedbug bite 33

Review of Literature

H.O. Lezhenko, A.E. Abaturov, A.O. Pogribna
Clinical significance of ferroptosis as iron-dependent regulated cell death in the general structure of the disease 38

Theoretical Medicine

A.E. Abaturov, V.L. Babych
Mechanisms of action of cytoplasmic microRNAs. Part 3. TNRC6-associated mechanism of miRNA-mediated mRNA degradation..... 43

Здоров'я дитини

Теоретична медицина / Theoretical Medicine

УДК 575:577.213/.216 DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.17.4.2022.1519

Абатуров О.Є., Бабич В.Л.
Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна

Механізми дії цитоплазматичних мікроРНК. Частина 3. TNRC6-асоційований механізм мікроРНК-опосередкованої деградації мРНК

Резюме. *У науковому огляді наведено механізми дії цитоплазматичних мікроРНК, а саме посттранскрипційний сайленсинг: TNRC6-асоційований механізм мікроРНК-опосередкованої деградації мРНК. Для написання статті здійснювався пошук інформації з використанням баз даних Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. Відомо, що в цитоплазмі клітини у випадках короткого регіону комплементарності мікроРНК викликають посттранскрипційний сайленсинг, використовуючи перший з основних молекулярних механізмів: TNRC6-асоційований механізм мікроРНК-опосередкованої деградації мРНК. Наведено, що протеїни AGO ссавців містять консервативний мотив m7G-cap-binding protein (відомий як домен MID), необхідний для індукції репресії трансляції, опосередкованої мікроРНК. Після зв'язування даного мотиву протеїну AGO з мікроРНК відбувається рекрутинг протеїнів TNRC6 (GW182), які, у свою чергу, рекрутують різні білки (PABPC1, PAN3 і NOT1), що беруть участь в індукції сайленсингу цільового гена. Автори наводять, що триптофанові залишки (Trp), які розміщені в гідрофобних кишенях протеїнових партнерів TNRC6, зумовлюють високий ступінь афінності й специфічності взаємодій. Науковці вважають, що протеїн TNRC6 при взаємодії з протеїнами AGO може одночасно використовувати три GW/WG повтори (мотив-1, мотив-2 і мотив гака), що розташовані в Argonaute-зв'язуючому домені. Тому протеїн TNRC6 може зв'язуватися одночасно з трьома молекулами AGO. Відомо, що протеїни TNRC6 являють собою PABP-взаємодіючі білки, взаємодія яких з PABP опосередковується консервативним PABP-зв'язуючим мотивом 2. Показано, що протеїни TNRC6 взаємодіють із цитоплазматичним протеїном PABPC1 під час трансляції і стабілізації мРНК. Наведено, що протеїновий комплекс CCR4-NOT являє собою висококонсервативне багатофункціональне мультипротеїнове утворення, що має 3'-5'-екзорибонуклеазну активність, за рахунок якої він і контролює обмін мРНК. Отже, TNRC6-асоційований механізм мікроРНК-опосередкованої деградації мРНК у цитоплазмі клітини викликає посттранскрипційний сайленсинг. При цьому відбувається взаємодія TNRC6 з протеїном PABPC1, рекрутинг протеїнами TNRC6 деаденілюючих комплексів PAN2-PAN3 і CCR4-NOT.*

Ключові слова: *мікроРНК; протеїни TNRC6; протеїни PABPC1; деаденілюючий комплекс PAN2-PAN3; деаденілюючий комплекс CCR4-NOT; огляд*

Вступ

У цитоплазмі клітини у випадках короткого регіону комплементарності мікроРНК викликають посттранскрипційний сайленсинг, використовуючи перший з основних молекулярних механізмів: TNRC6-асоційований механізм мікроРНК-опосередкованої деградації мРНК [12, 17, 19].

Протеїни TNRC6

Протеїни AGO ссавців містять консервативний мотив m7G-cap-binding protein (відомий як домен MID), необхідний для індукції репресії трансляції, опосередкованої мікроРНК. Після зв'язування даного мотиву протеїну AGO з мікроРНК відбувається рекрутинг протеїнів TNRC6 (GW182), які, у свою чергу, рекрутують

© «Здоров'я дитини» / «Child's Health» («Zdorov'e rebenka»), 2022
© Видавець Заславський О.Ю. / Publisher Zaslavsky O.Yu., 2022

Для кореспонденції: Абатуров Олександр Євгенович, доктор медичних наук, професор, завідуючий кафедрою педіатрії 1 та медичної генетики, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: alexabaturov@i.ua
For correspondence: Aleksandr Abaturov, MD, PhD, Professor, Head of the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Vernadsky st., 9, Dnipro, 49044, Ukraine; e-mail: alexabaturov@i.ua
Full list of authors information is available at the end of the article.

різні білки (PABPC1, PAN3 і NOT1), що беруть участь в індукції сайленсингу цільового гена [4, 41].

Протеїни TNRC6 (A, B, C) у N-термінальному регіоні містять множинні гліцин-триптофанові повтори (glycine-tryptophan — GW), у центральному регіоні — домен, асоційований з убіквітином (UBA), домен, багатий глутаміном (Q), домен MID і примикаючий до C-термінального регіону мотив розпізнавання РНК (RNA recognition motif — RRM) (рис. 1) [4].

Триптофанові залишки (Trp), що розміщені в гідрофобних кишенях протеїнових партнерів TNRC6, зумовлюють високий ступінь афінності й специфічності взаємодій. Так, на підставі вивчення кристалічної структури протеїну AGO2 людини встановлено, що W-зв'язуючі кишені містять залишки Trp, які визначають білок-білкові взаємодії [33]. Протеїн TNRC6 при взаємодії з протеїнами AGO може одночасно використовувати три GW/WG повтори (мотив-1, мотив-2 і мотив гака), які розташовані в Argonaute-зв'язуючому домені. Тому протеїн TNRC6 може зв'язуватися одночасно з трьома молекулами AGO [16].

Взаємодія TNRC6 із протеїном PABPC1

Протеїни TNRC6 являють собою PABP-взаємодіючі білки (PABP (poly(A)-binding protein) — Interacting Protein — PAIP), взаємодія яких з PABP опосередковується консервативним PABP-зв'язуючим мотивом 2 (PABP-binding motif 2 — PAM2) [41]. Протеїни TNRC6 взаємодіють із цитоплазматичним протеїном PABPC1 під час трансляції і стабілізації мРНК. Протеїн PABPC1 захищає 3'-кінець мРНК від дії екзонуклеази [25]. Протеїн PABPC1 являє собою висококонсервативний еукаріотичний білок, який пов'язує полі(A)-хвіст мРНК. Протеїн PABPC1 бере участь у розпізнаванні РНК за рахунок чотирьох мотивів РНК-рекогніції (RRM1-RRM4) N-термінального регіону і є платформою для різних протеїнів, що беруть участь у регуляції трансляції і деградації мРНК. Протеїн PABPC1 взаємодіє з еукаріотичним фактором eIF4G, який пов'язаний з 5'-кеп структурою мРНК, і ця взаємодія ініціює замикання молекули мРНК. Вважається, що конформація замкнутого контуру РНК стимулює трансляцію і захищає 3'-, 5'-кінці мРНК від деградації. Взаємодія TNRC6 з PABPC1 перешкоджає зв'язуванню PABPC1 з eIF4G і зацикленню мРНК, що перешкоджає трансляції (рис. 2) [37].

Також вважають, що взаємодія білків TNRC6 із PABPC1 супроводжується зниженням афінітету протеїну PABPC до полі(A)-хвоста молекули мРНК і прискорює мікроРНК-опосередковане деаденілювання мРНК. Незважаючи на те, що взаємодія TNRC6 із PABPC1 бере участь у розвитку сайленсингу, це не є абсолютно необхідним етапом даного процесу. Вважають, що протеїн PABPC1 або не потрібен для сайленсингу, або потрібен тільки для пригнічення поліаденільованих РНК-мішеней [4].

Рекрутинг протеїнами TNRC6 деаденілюючих комплексів

Протеїни TNRC6 за допомогою сайленсингового домену взаємодіють із протеїнами PAN3 і NOT1, які є субодиницями деаденілюючих комплексів PAN2-PAN3 (poly(A)specific ribonuclease subunit 2-poly(A) specific ribonuclease subunit 3) і CCR4-NOT (carbon catabolite-repression 4-NOT) [4, 24, 35].

Усі білок-кодуючі мРНК, окрім деяких гістонових мРНК, містять 3'полі(A)-хвіст, який підтримує стабільність молекули мРНК і визначає ефективність трансляції. Посттранскрипційна регуляція експресії генів у більшості випадків контролюється через вплив, який визначає стан полі(A)-хвоста молекули мРНК. Зміна довжини полі(A)-хвоста тонко регулює активність процесу трансляції [44]. Процес видалення полі(A)-хвоста молекули мРНК, або деаденілювання, є першим молекулярним механізмом, що обмежує швидкість трансляції. Швидкість видалення полі(A)-хвостів є основним фактором, який обумовлює період напіввиведення мРНК, причому нестійкі транскрипти піддаються більш активному деаденілюванню. Процес деаденілювання може регулюватися сигналами навколишнього середовища. Активність деаденілювання збігається зі швидкістю вивільнення протеїну PABPC, що необхідний для ефективної ініціації трансляції [42]. Дійсно, першою стадією деградації молекули мРНК зазвичай є вкорочення або видалення полі(A)-хвоста, а найбільш значущим чинником, що визначає активність деградації мРНК, є активність деаденілюючих механізмів [18].

Відповідно до сучасних уявлень деаденілювання мРНК обумовлене послідовною дією двох цитоплазматичних деаденілюючих комплексів: PAN2-PAN3 і CCR4-NOT. Полі(A)-хвіст мРНК спочатку обрізується комплексом PAN2-PAN3 до довжини, що становить приблизно 50–110 нт; після чого скорочені хвости мРНК швидко деградують під впливом комплексу CCR4-NOT [7, 42].

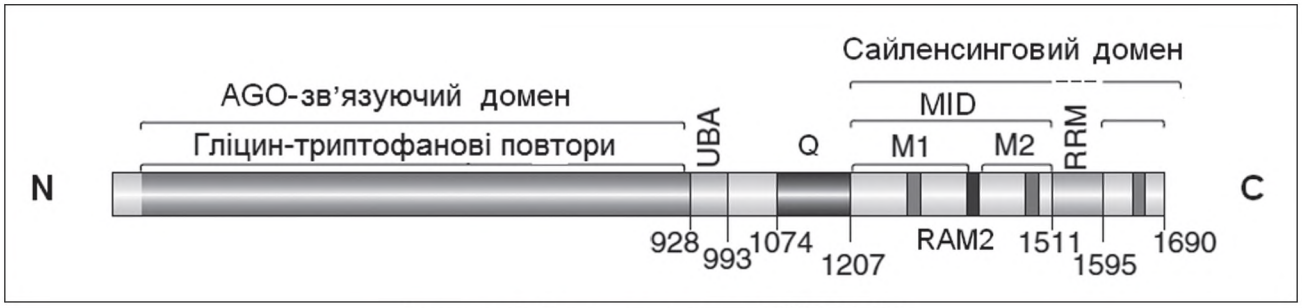

Рисунок 1. Будова молекули TNRC6C [4]

Деаденілюючий комплекс PAN2-PAN3

Доменна будова молекул протеїну PAN2 (127 кДа) і його партнера PAN3 (76 кДа) подана на рис. 3.

Протеїни TNRC6 рекрутують протеїн PAN3 за рахунок своїх повторів GW/WG. Також протеїн PAN3 рекрутується на мРНК-мішені, взаємодіючи з протеїном PABPC1. Необхідно відзначити, що протеїн PAN3 безпосередньо зв'язується псевдокіназним/С-термінальним доменом з молекулою мРНК, а N-термінальним цинковим пальцем — з полі(А)-хвостом мРНК. У той же час ізольований протеїн PAN2, що має екзонуклеазну активність, позбавлений можливості взаємодіяти з мРНК. Після зв'язування з TNRC6 і мРНК протеїн PAN3 рекрутує PAN2, який С-термінальним екзонуклеазним доменом здійснює первинне деаденілювання мРНК (рис. 4) [46].

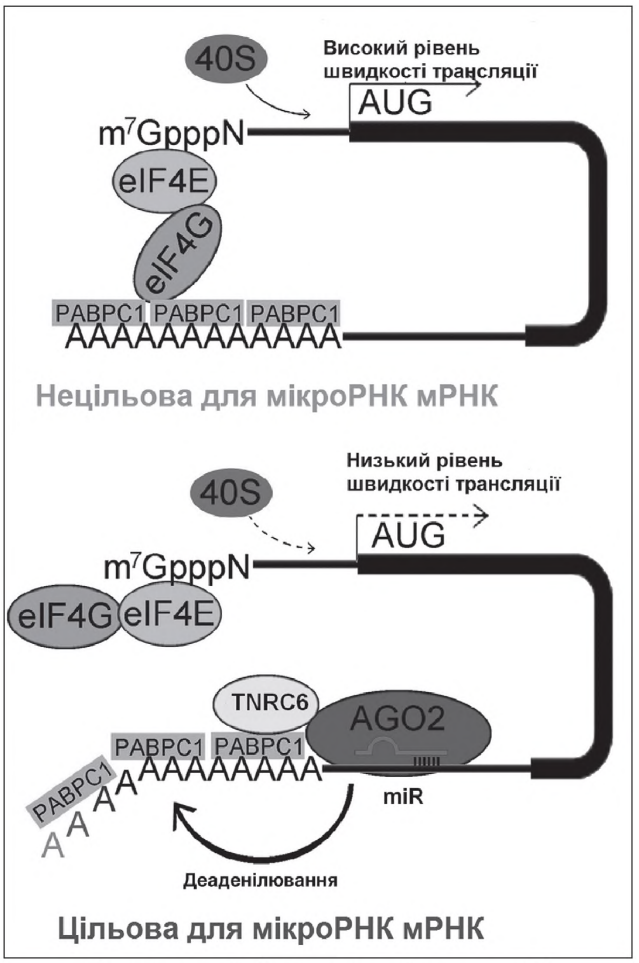

Рисунок 2. Сайленсинг, обумовлений порушенням взаємодії PABPC1 з eIF4G [48]

Необхідно відзначити, що комплекс PAN2-PAN3 відіграє не основну роль у процесі деаденілювання мРНК. Продемонстровано, що дефіцит протеїну PAN2 не запобігає процесу деградації мікроРНК-мішеней, тоді як зниження рівня презентабельності компонентів комплексу CCR4-NOT супроводжується зниженням активності деаденілювання і подальшої деградації молекул мРНК [6, 31].

Деаденілюючий комплекс CCR4-NOT

Протеїни TNRC6 рекрутують комплекс CCR4-NOT за рахунок безпосередньої взаємодії триптофанових повторів як N-, так і С-термінальних доменів з протеїном NOT1 (CNOT1 у людини). Необхідно підкреслити, що взаємодія між TNRC6 і комплексом CCR4-NOT відіграє незамінну роль в індукції мікроРНК-опосередкованого сайленсингу генів. Протеїновий комплекс CCR4-NOT являє собою висококонсервативне багатофункціональне мультипротеїнове утворення, що має 3'-5'-екзорибонуклеазну активність, за рахунок якої він і контролює обмін мРНК [13].

Спочатку субодиниці комплексу CCR4-NOT були ідентифіковані як регулятори транскрипції. Зокрема, продемонстровано, що одним з найбільш частих місць локалізації комплексу CCR4-NOT є промоторні регіони ДНК, де він взаємодіє з транскрипційними факторами TFIID (TATA binding protein) і SAGA (Spt-Ada-Gcn5 acetyltransferase), полегшуючи триметилювання лізинових залишків 4 гістона Н3 (H3K4me3) [23, 27]. Комплекс CCR4-NOT регулює експресію генів як на транскрипційному, так і на трансляційному рівнях. Так, у ядрі клітини він бере участь у модифікації хроматину, елонгації транскрипції, експорті РНК, транскрипції і відновленні ДНК. У цитоплазмі кліти-

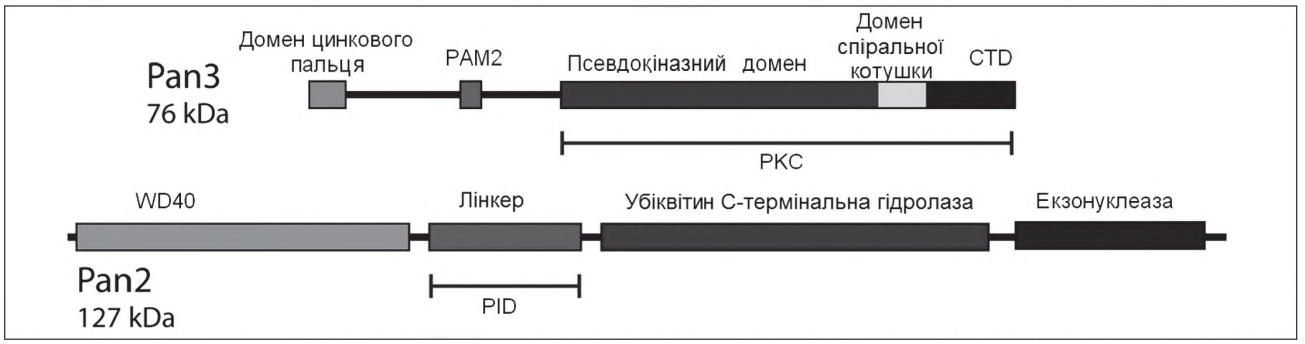

Рисунок 3. Схематичне зображення протеїнів PAN3 і PAN2 [45]

Примітка: N-термінальний регіон протеїну PAN3 містить домен цинкового пальця і PABP-зв'язуючий мотив 2 (PAM2); З-термінальний регіон — псевдокіназний домен, домен спіральної котушки і С-термінальний домен (C-terminal domain — CTD), які утворюють структурну одиницю псевдокінази і С-термінального домену (pseudokinase and C-terminal domains — PKC). Протеїн PAN2 містить домен WD40, домен неактивний убіквітин С-термінальної гідролази (ubiquitin C-terminal hydrolase — UCH) і домен екзонуклеази. Довга лінкерна ділянка (PAN3 interacting domain — PID) з'єднує домени WD40 і UCH.

ни комплекс CCR4-NOT є основним деаденілятором і відіграє провідну роль у деградації мРНК і репресії трансляції, обумовленій укороченням полі(А)-хвоста мРНК, а також обумовлює рекрутинг комплексу декепування мРНК. У цитоплазмі клітини комплекс CCR4-NOT колокалізується з полісомою [21].

Комплекс CCR4-NOT бере участь у регуляції експресії більшості генів, зокрема, понад 85 % генів геному дріжджів [1].

Основний комплекс CCR4-NOT складається як мінімум з трьох NOT-протеїнів (NOT1, NOT2, NOT3/NOT5) і двох каталітичних білків з різних родин, одна з яких містить нуклеази DEDD (Asp-Glu-Asp-Asp) типу — POP2, CAF1z, PARN і PAN2; друга — нуклеази EEP (endonuclease-exonuclease-phosphatase) — ендонуклеазно-екзонуклеазні фосфатази (CCR4, Nocturnin, Angel та 2'Pde) (табл. 1). Найбільш часто в комплексі CCR4-NOT одночасно присутні нуклеази POP2 і CCR4. Необхідно відзначити, що нуклеазна активність фосфатази CCR4p переважає таку нуклеази POP2 [47].

При реалізації мікроРНК-опосередкованого деаденілювання мРНК відбувається рекрутування CNOT1 за рахунок його взаємодії з консервативними W-мотивами протеїну TNRC6 (Gly/Ser/Thr-Trp (G/S/TW) або Trp-Gly/Ser/Thr (WG/S/T), Gly/Ser/Thr-Trp (G/S/TW) або Trp-Gly/Ser/Thr (WG/S/T)). Незважаючи на те, що обидва мотиви — G/S/TW і WG/S/T — протеїнів TNRC6 можуть брати участь у зв'язуванні CNOT1, у процесуальному деаденілюванні таргетних мРНК бере участь тільки один з них [21].

Комплекс CCR4-NOT організований у вигляді функціональних модулів, які з'єднуються з субодиницею CNOT1, що відіграє роль платформи, на якій і формується мультипротеїнове утворення. Різні домени протеїну CNOT1 зв'язуються зі своїми партнерами: N-термінальна ділянка протеїну CNOT1 взаємодіє з протеїном CNOT11, який зв'язується з CNOT10; середній домен еукаріотичного фактора ініціації 4G (middle domain of eukaryotic initiation factor 4G — MIF4G) безпосередньо зв'язується з CAF1a (CNOT7), CAF1b (CNOT8) і CAF40 (CNOT9); 3-термінальна ділянка протеїну CNOT1 асоціюється з комплексом CNOT2/CNOT3 (рис. 5). Завдяки цим взаємодіям протеїн CNOT1 забезпечує резистентність окремих протеїнів комплексу CCR4-NOT до механізмів протеолізу. Протеїн CNOT1, незважаючи на те, що сам не має каталітичних доменів, є незамінним компонентом деаденілюючого комплексу CCR4-NOT [36, 47].

Протеїн CNOT1 також служить платформою для РНК-зв'язуючих протеїнів (тристетрапроліну, протеїнів родин PUMILIO і NANOS), які визначають специфічність активності комплексу CCR4-NOT для деяких цільових мРНК [43]. Так, тристетрапролін (tristetraprolin — TTP) являє собою RBP, який опосередковує швидку деградацію мРНК, що містять AU (аденілат і уридилат) —

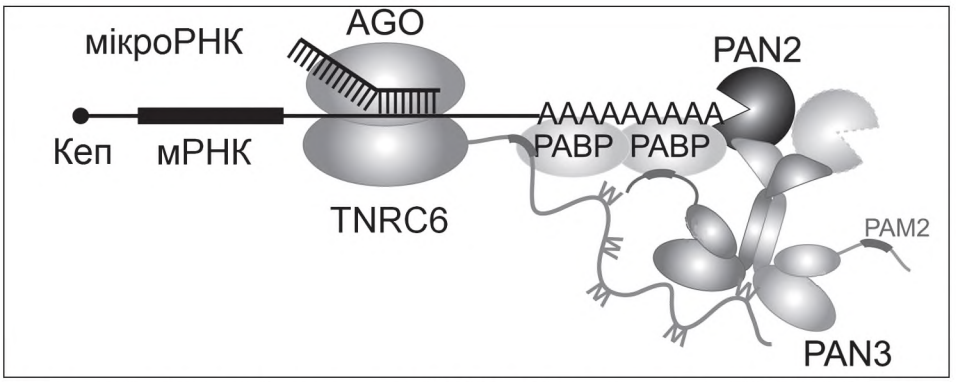

Рисунок 4. Взаємодія комплексу PAN2-PAN3 з протеїном TNRC6 і мРНК [8]

Таблиця 1. Протеїни комплексу CCR4-NOT [9]

Протеїн	Ген		
	Drosophila	*Saccharomyces cerevisiae*	*Homo sapiens*
NOT1	*NOT1*	*NOT1/CDC39*	*CNOT1*
NOT2	*Regena (Rga)*	*NOT2/CDC36*	*CNOT2*
NOT5	*NOT3*	*NOT5*	*CNOT3*
CAF1	*POP2*	*CAF1/POP2*	*CAF1a/CNOT7/CAF1 і CAF1b/CNOT8/POP2/CALIF*
CCR4	*twin*	*CCR4*	*CCR4a/CNOT6C і CCR4b/CNOT6L*
CAF40	*Rcd1*	*CAF40*	*CNOT9/Rcd1/CAF40/RQCD1*
NOT4	*NOT4*	*NOT4/MOT2/SIG1*	*CNOT4*
NOT10	*NOT10*		*CNOT10*
NOT11	*NOT11*		*CNOT11/C2orf29*
CAF130		*CAF130*	
NOT3		*NOT3*	
TAB182			*TAB182*

багатий елемент (AU-rich element — ARE). Структури ARE є цис-діючими елементами, присутніми в 3'UTR-ділянці різноманітних транскриптів мРНК, що кодують протеїни, асоційовані із запальною реакцією. Родина TIS11 РНК-зв'язуючих протеїнів, що складається з TTP і факторів 1 і 2 бутиратної відповіді (butyrate response factors — BRF), відіграє ключову роль у регуляції експресії мРНК, що містять ARE. Завдяки їх здатності зв'язувати й відправляти мРНК, що містять ARE, у процес швидкої деградації даний клас RBP реструктує експресію низки прозапальних генів [32]. Протеїн TTP може рекрутувати комплекс CCR4-NOT тільки в присутності CNOT1 [5]. У свою чергу, цитоплазматичний NOT1 рекрутує на ARE-мРНК деаденілази CNOT7 (CAF1/POP2) і CNOT6 (CCR4), тим самим ініціюючи розпад його цільових мРНК. Протеїн TTP є істотним репресором запальної реакції, тому що забезпечує рекрутування комплексу CCR4-NOT на мРНК прозапальних цитокінів TNF-α, CXCL8/IL-8, і молекули адгезії ICAM-1, сприяючи їх деградації [30].

Протеїн CNOT1 безпосередньо С-термінальним доменом взаємодіє з паралогією NANOS ссавців (NANOS1, NANOS2 і NANOS3), що зумовлює вибір мРНК генів, які беруть участь у розвитку зародкових клітин особин мишей і людей [14, 20].

Гомологічні протеїни CNOT2 і CNOT3 функціонують як позитивні модулятори каталітичної деаденілазної активності комплексу CCR4-NOT і сприяють деградації цільових мРНК [3].

Субодиниця NOT4 комплексу CCR4-NOT є Е3 убіквітин-лігазою родини RING, яка каталізує убіквітинілювання протеїнів [10]. Протеїн CNOT4 бере участь у контролі над процесом трансляції. CNOT4 асоціюється з полісомою і бере участь у деградації дефектних протеїнових продуктів, утворення яких пов'язане із зупинкою трансляції [15]. Протеїн CNOT4 бере участь у кліренсі аберантних протеїнів, імовірно, за рахунок потенціювання збірки протеасоми [28].

Протеїн CNOT5 має РНК-зв'язуючу активність і здатністю підтримувати цілісність комплексу CCR4-NOT [39].

Протеїн CCR4 (у людини існує два його гомологи — CNOT6C/CCR4a і CNOT6L/CCR4b) характеризується наявністю двох висококонсервативних доменів: С-термінального деаденілюючого домену і домену, багатого лейциновими повторами (leucine-rich repeat — LRR). Домен LRR має здатність зв'язуватися з протеїном CAF1, сприяючи його вбудовуванню в комплекс CCR4-NOT. Слід зазначити, що, на відміну від CNOT6L, протеїн CNOT6C практично не впливає на рівень мРНК [36].

Людські ортологи CNOT7 (hCAF1a) і CNOT8 (hCAF1b) протеїну CAF1, що має рибонуклеазний D-домен субродини DEDD, взаємодіють з доменом MIF4G протеїну CNOT1 і виконують свою основну дію — деаденілювання мРНК [22]. Протеїн CNOT9 (CAF40), який зв'язується із середнім доменом (DUF3819) протеїну CNOT1, не має деаденілюючої активності, але здатний доменом, що містить armadillo-повтори (ARM repeat domain), зв'язуватися з РНК [11, 34].

Взаємодіючи з N-термінальним регіоном протеїну CNOT1, протеїни CNOT10 і CNOT11 обумовлюють

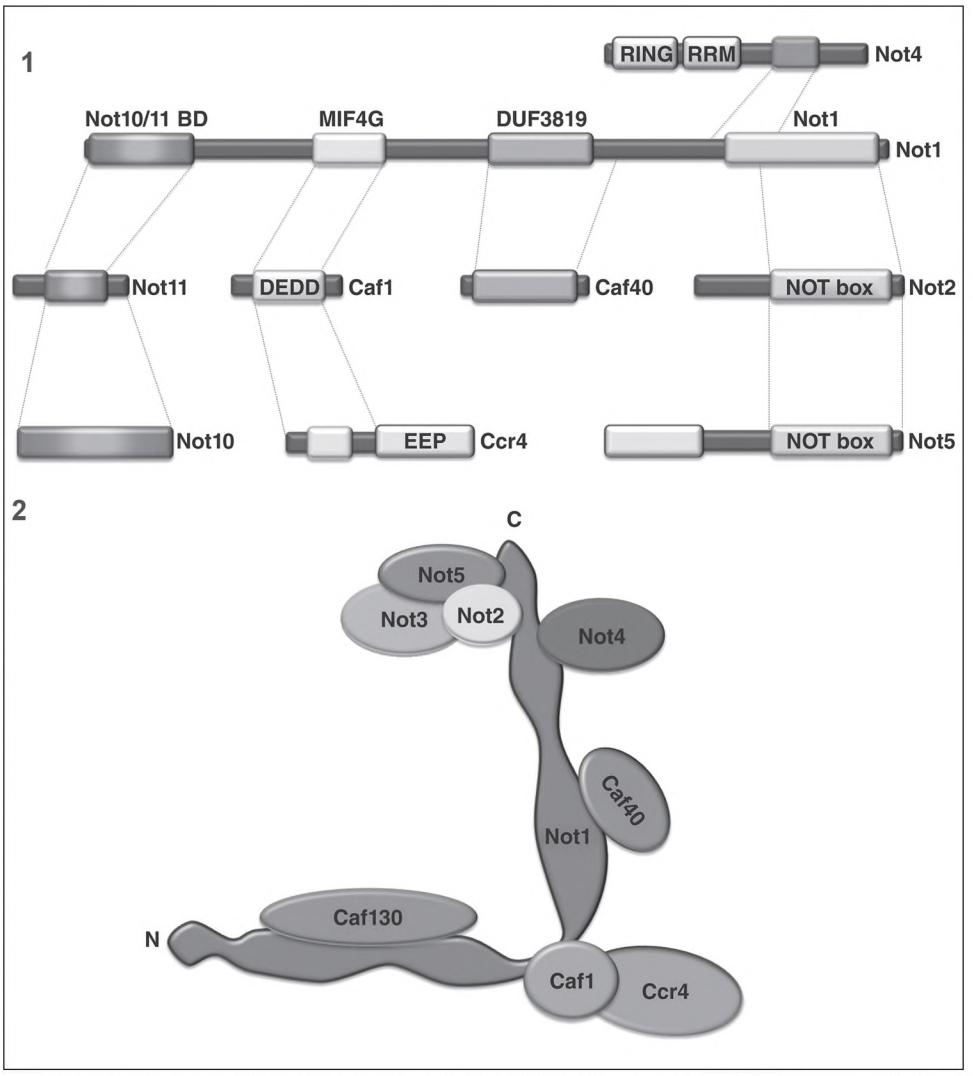

Рисунок 5. Протеїни комплексу CCR4-NOT: 1) доменна будова протеїнів комплексу CCR4-NOT; 2) модель комплексу CCR4-NOT [9]

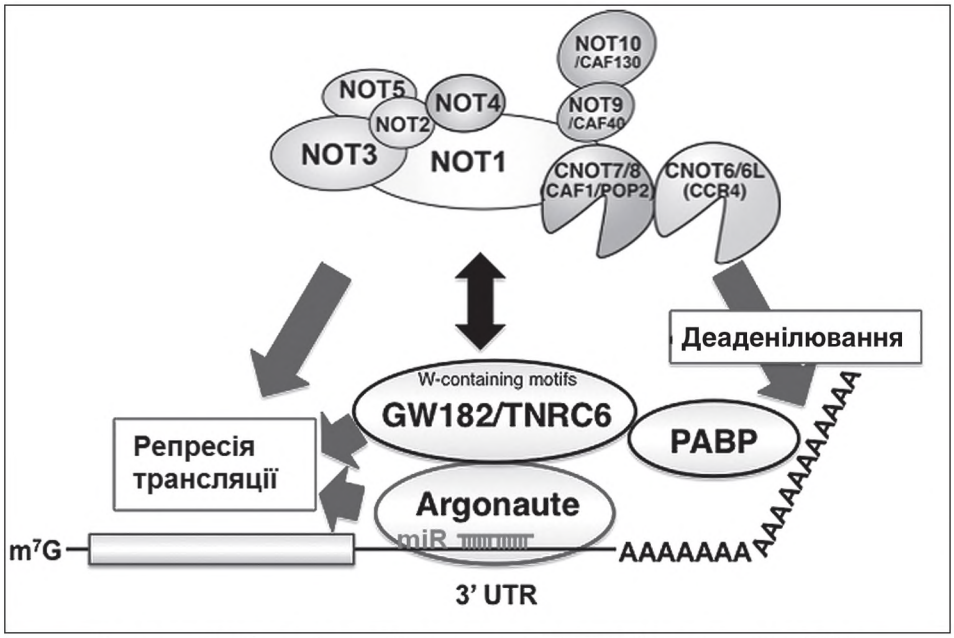

Рисунок 6. Механізми дії комплексу CCR4-NOT при мікроРНК-опосередкованому сайленсингу гена [21]

Примітка: потенційні механізми дії CCR4-NOT: 1) деаденілювання: TNRC6-опосередкований рекрутинг комплексу CCR4-NOT сприяє деаденілюванню цільових мРНК; комплекс CCR4-NOT, відщеплюючи аденінову нуклеотиду хвоста мРНК, вивільняє протеїн PABP, що роз'єднує 5'- і 3'-кінці РНК і зупиняє трансляцію; 2) репресія трансляції (механізми не розшифровані); 3) декепування: комплекс CCR4-NOT рекрутує протеїни декепінгу.

рекрутинг каталітичного модуля комплексу CCR4-NOT [2].

Асоціація комплексу CCR4-NOT з протеїнами TNRC6 індукує деаденілювання і, як наслідок, вивільнення PABP з його комплексу з полі(A)-хвостом молекули мРНК, що призводить до порушення цілісності петлі мРНК і обумовлює репресію трансляції. Цікаво те, що репресія трансляції, індукована мікроРНК, не залежить від активності деаденілювання комплексом CCR4-NOT, і молекулярний механізм, за допомогою якого miRISC пригнічує трансляцію, як і раніше, значною мірою залишається невідомим. Існують дані, що комплекс miRISC пригнічує сканування рибосом за рахунок рекрутування DEAD-box РНК гелікази eIF4AII, яке обумовлено взаємодією з комплексом CCR4-NOT (рис. 6) [26].

Протеїн CNOT1 пов'язує й інші субодиниці CCR4-NOT з мРНК. Протеїн CNOT1 також рекрутує трансляційний репресор і активатор декепування — Dhh1 у дріжджів і DDX6 у людини [40].

Marta Ukleja та співавтори [38] запропонували модель взаємодії комплексу CCR4-NOT з мРНК, згідно з якою комплекс CCR4-NOT зв'язується з мРНК у той час, коли її 5'- і 3'-кінці просторово об'єднані. Компоненти CCR4 і CAF1 або їх гомологи комплексу CCR4-NOT зв'язуються з 3'-кінцем мРНК і здійснюють деаденілювання, а геліказа 6 DEAD-box (DEAD-box helicase 6 — DDX6), асоційована з комплексом CCR4-NOT, зв'язується з 5'-кінцем мРНК і сприяє декепуванню. Причому обидва процеси відбуваються одночасно. Цікавим є те, що модуль деаденілювання і мРНК, що підлягають репресії, виключно пов'язані з однією стороною комплексу CCR4-NOT.

Деаденілюванню мРНК можуть піддаватися 3'-5'-деградації, здійснюваній екзорибонуклеазами DIS3 (DIS3 homolog, exosome endoribonuclease andexoribo 3'-5'-exoribonuclease) і DIS3L2 (DIS3 like 3'-5'-exoribonuclease 2) [29].

Висновки

Отже, TNRC6-асоційований механізм мікроРНК-опосередкованої деградації мРНК у цитоплазмі клітини викликає посттранскрипційний сайленсинг. При цьому відбувається взаємодія TNRC6 з протеїном PABPC1, рекрутинг протеїнами TNRC6 деаденілюючих комплексів PAN2-PAN3 і CCR4-NOT.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Список літератури

1. *Azzouz N., Panasenko O.O., Deluen C. et al. Specific roles for the Ccr4-Not complex subunits in expression of the genome. RNA. 2009 Mar. 15(3). 377-83. doi: 10.1261/rna.1348209.*

2. *Bawankar P., Loh B., Wohlbold L. et al. NOT10 and C2orf29/NOT11 form a conserved module of the CCR4-NOT complex that docks onto the NOT1 N-terminal domain. RNA Biol. 2013 Feb. 10(2). 228-44. doi: 10.4161/rna.23018.*

3. *Boland A., Chen Y., Raisch T. et al. Structure and assembly of the NOT module of the human CCR4-NOT complex. Nat. Struct. Mol. Biol. 2013 Nov. 20(11). 1289-97. doi: 10.1038/nsmb.2681.*

4. *Braun J.E., Huntzinger E., Izaurralde E. The role of GW182 proteins in miRNA-mediated gene silencing. Adv. Exp. Med. Biol. 2013. 768. 147-63. doi: 10.1007/978-1-4614-5107-5_9.*

5. *Bulbrook D., Brazier H., Mahajan P. et al. Tryptophan-Mediated Interactions between Tristetraprolin and the CNOT9 Subunit Are Required for CCR4-NOT Deadenylase Complex Recruitment. J. Mol. Biol. 2018 Mar 2. 430(5). 722-736. doi: 10.1016/j.jmb.2017.12.018.*

6. *Chekulaeva M., Mathys H., Zipprich J.T. et al. miRNA repression involves GW182-mediated recruitment of CCR4-NOT through conserved W-containing motifs. Nat. Struct. Mol. Biol. 2011 Oct 7. 18(11). 1218-26. doi: 10.1038/nsmb.2166.*

7. *Chen C.Y., Shyu A.B. Mechanisms of deadenylation-dependent decay. Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2011 Mar-Apr. 2(2). 167-83. doi: 10.1002/wrna.40.*

8. *Christie M., Boland A., Huntzinger E. et al. Structure of the PAN3 pseudokinase reveals the basis for interactions with the PAN2 deadeny-*

lase and the GW182 proteins. Mol. Cell. 2013 Aug 8. 51(3). 360-73. doi: 10.1016/j.molcel.2013.07.011.

9. Collart M.A. The Ccr4-Not complex is a key regulator of eukaryotic gene expression. Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2016 Jul. 7(4). 438-54. doi: 10.1002/wrna.1332.

10. Collart M.A. The Not4 RING E3 Ligase: A Relevant Player in Co-translational Quality Contro. ISRN Mol. Biol. 2013 Jan 21. 2013:548359. doi: 10.1155/2013/548359.

11. Collart M.A., Panasenko O.O. The Ccr4-Not Complex: Architecture and Structural Insights. Subcell. Biochem. 2017. 83. 349-379. doi: 10.1007/978-3-319-46503-6_13.

12. Corley M., Burns M.C., Yeo G.W. How RNA-Binding Proteins Interact with RNA: Molecules and Mechanisms. Mol Cell. 2020 Apr 2. 78(1). 9-29. doi: 10.1016/j.molcel.2020.03.011.

13. Das S. Unraveling the CNOT: A new player in the autophagy-cell death nexus. Sci Signal. 2018 Feb 6. 11(516). pii: eaar6364. doi: 10.1126/scisignal.aar6364.

14. De Keuckelaere E., Hulpiau P., Saeys Y. et al. Nanos genes and their role in development and beyond. Cell. Mol. Life Sci. 2018 Jun. 75(11). 1929-1946. doi: 10.1007/s00018-018-2766-3.

15. Dimitrova L.N., Kuroha K., Tatematsu T., Inada T. Nascent peptide-dependent translation arrest leads to Not4p-mediated protein degradation by the proteasome. J. Biol. Chem. 2009 Apr 17. 284(16). 10343-52. doi: 10.1074/jbc.M808840200.

16. Elkayam E., Faehnle C.R., Morales M. et al. Multivalent Recruitment of Human Argonaute by GW182. Mol. Cell. 2017 Aug 17. 67(4). 646-658.e3. doi: 10.1016/j.molcel.2017.07.007.

17. Fabian M.R., Sonenberg N. The mechanics of miRNA-mediated gene silencing: a look under the hood of miRISC. Nat. Struct. Mol. Biol. 2012 Jun 5. 19(6). 586-93. doi: 10.1038/nsmb.2296.

18. Geissler R., Grimson A. A position-specific 3'UTR sequence that accelerates mRNA decay. RNA Biol. 2016 Nov. 13(11). 1075-1077. Doi: 10.1080/15476286.2016.1225645.

19. Ghidini A., Cléry A., Halloy F., Allain FHT, Hall J. RNA-PROTACs: Degraders of RNA-Binding Proteins. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2021 Feb 8. 60(6). 3163-3169. doi: 10.1002/anie.202012330.

20. Han K., Chen S., Cai M. et al. Nanos3 not nanos1 and nanos2 is a germ cell marker gene in large yellow croaker during embryogenesis. Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 2018 Apr. 218. 13-22. doi: 10.1016/j.cbpb.2018.01.002.

21. Inada T., Makino S. Novel roles of the multi-functional CCR4-NOT complex in post-transcriptional regulation. Front. Genet. 2014 May 20. 5. 135. doi: 10.3389/fgene.2014.00135.

22. Jadhav G.P., Kaur I., Maryati M. et al. Discovery, synthesis and biochemical profiling of purine-2,6-dione derivatives as inhibitors of the human poly(A)-selective ribonuclease Caf1. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2015 Oct 1. 25(19). 4219-24. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.07.095.

23. James N., Landrieux E., Collart M.A. A SAGA-independent function of SPT3 mediates transcriptional deregulation in a mutant of the Ccr4-not complex in Saccharomyces cerevisiae. Genetics. 2007 Sep. 177(1). 123-35. Doi: 10.1534/genetics.107.076299.

24. Kuzuoglu-Öztürk D., Huntzinger E., Schmidt S., Izaurralde E. The Caenorhabditis elegans GW182 protein AIN-1 interacts with PAB-1 and subunits of the PAN2-PAN3 and CCR4-NOT deadenylase complexes. Nucleic Acids Res. 2012 Jul. 40(12). 5651-65. doi: 10.1093/nar/gks218.

25. Lemay J.F., Lemieux C., St-André O., Bachand F. Crossing the borders: poly(A)-binding proteins working on both sides of the fence. RNA Biol. 2010 May-Jun. 7(3). 291-5. PMID: 20400847.

26. Meijer H.A., Kong Y.W., Lu W.T. et al Translational repression and eIF4A2 activity are critical for microRNA-mediated gene regulation. Science. 2013 Apr 5. 340(6128). 82-5. doi: 10.1126/science.1231197.

27. Mulder K.W., Brenkman A.B., Inagaki A. et al. Regulation of histone H3K4 tri-methylation and PAF complex recruitment by the Ccr4-Not complex. Nucleic Acids Res. 2007. 35(7). 2428-39. Doi: 10.1093/nar/gkm175.

28. Panasenko O.O. The role of the E3 ligase Not4 in cotranslational quality control. Front. Genet. 2014 May 19. 5. 141. doi: 10.3389/fgene.2014.00141.

29. Pashler A.L., Towler B.P., Jones C.I., Newbury S.F. The roles of the exoribonucleases DIS3L2 and XRN1 in human disease. Biochem. Soc. Trans. 2016 Oct 15. 44(5). 1377-1384.

30. Patial S., Blackshear P.J. Tristetraprolin as a Therapeutic Target in Inflammatory Disease. Trends Pharmacol. Sci. 2016 Oct. 37(10). 811-821. doi: 10.1016/j.tips.2016.07.002.

31. Piao X., Zhang X., Wu L., Belasco J.G. CCR4-NOT deadenylates mRNA associated with RNA-induced silencing complexes in human cells. Mol. Cell. Biol. 2010 Mar. 30(6). 1486-94. doi: 10.1128/MCB.01481-09.

32. Sanduja S., Blanco F.F., Dixon D.A. The roles of TTP and BRF proteins in regulated mRNA decay. Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2011 Jan-Feb. 2(1). 42-57. doi: 10.1002/wrna.28.

33. Schirle N.T., MacRae I.J. The crystal structure of human Argonaute2. Science. 2012 May 25. 336(6084). 1037-40. doi: 10.1126/science.1221551.

34. Sgromo A., Raisch T., Backhaus C. et al. Drosophila Bag-of-marbles directly interacts with the CAF40 subunit of the CCR4-NOT complex to elicit repression of mRNA targets. RNA. 2018 Mar. 24(3). 381-395. doi: 10.1261/rna.064584.117.

35. Sheu-Gruttadauria J., MacRae I.J. Phase Transitions in the Assembly and Function of Human miRISC. Cell. 2018 May 3. 173(4). 946-957.e16. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.051.

36. Shirai Y.T., Suzuki T., Morita M. et al. Multifunctional roles of the mammalian CCR4-NOT complex in physiological phenomena. Front. Genet. 2014 Aug 21. 5. 286. doi: 10.3389/fgene.2014.00286.

37. Tritschler F., Huntzinger E., Izaurralde E. Role of GW182 proteins and PABPC1 in the miRNA pathway: a sense of déjà vu. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2010 May. 11(5). 379-84. doi: 10.1038/nrm2885.

38. Ukleja M., Cuellar J., Siwaszek A. et al. The architecture of the Schizosaccharomyces pombe CCR4-NOT complex. Nat. Commun. 2016 Jan 25. 7. 10433. doi: 10.1038/ncomms10433.

39. Villanyi Z., Ribaud V., Kassem S. et al. The Not5 subunit of the ccr4-not complex connects transcription and translation. PLoS Genet. 2014 Oct 23. 10(10). e1004569. doi: 10.1371/journal.pgen.1004569.

40. Villanyi Z., Collart M.A. Building on the Ccr4-Not architecture. Bioessays. 2016 Oct. 38(10). 997-1002. doi: 10.1002/bies.201600051.

41. Wakiyama M., Ogami K., Iwaoka R. et al. MicroRNP-mediated translational activation of nonadenylated mRNAs in a mammalian cell-free system. Genes Cells. 2018 Apr 6. doi: 10.1111/gtc.12580.

42. Webster M.W., Stowell J.A.W., Tang T.T.L., Passmore L.A. Analysis of mRNA deadenylation by multi-protein complexes. Methods. 2017 Aug 15. 126:95-104. doi: 10.1016/j.ymeth.2017.06.009.

43. Wells M.L., Perera L., Blackshear P.J. An Ancient Family of RNA-Binding Proteins: Still Important! Trends Biochem. Sci. 2017 Apr. 42(4). 285-296. doi: 10.1016/j.tibs.2016.12.003.

44. Wiederhold K., Passmore L.A. Cytoplasmic deadenylation: regulation of mRNA fate. Biochem. Soc. Trans. 2010 Dec. 38(6). 1531-6. doi: 10.1042/BST0381531.

45. Wolf J., Valkov E., Allen M.D. et al. Structural basis for Pan3 binding to Pan2 and its function in mRNA recruitment and deadenylation. EMBO J. 2014 Jul 17. 33(14). 1514-26. doi: 10.15252/embj.201488373.

46. Wolf J., Passmore L.A. mRNA deadenylation by Pan2-Pan3. Biochem. Soc. Trans. 2014 Feb. 42(1). 184-7. doi: 10.1042/BST20130211.

47. Xu K., Bai Y., Zhang A. et al. Insights into the structure and architecture of the CCR4-NOT complex. Front Genet. 2014 May 16. 5. 137. doi: 10.3389/fgene.2014.00137.

48. Zhang H., Sheng C., Yin Y. et al. PABPC1 interacts with AGO2 and is responsible for the microRNA mediated gene silencing in high grade hepatocellular carcinoma. Cancer Lett. 2015 Oct 10. 367(1). 49-57. doi: 10.1016/j.canlet.2015.07.010.

Отримано/Received 11.05.2022
Рецензовано/Revised 22.05.2022
Прийнято до друку/Accepted 27.05.2022

Information about authors
Aleksandr Abaturov, MD, PhD, Professor, Head of the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; https://orcid.org/0000-0001-6291-5386.
Veronika Babych, PhD, Assistant at the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; https://orcid.org/0000-0001-9261-9051.

Conflicts of interests. Authors declare the absence of any conflicts of interests and their own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript.

A.E. Abaturov, V.L. Babych
Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine

Mechanisms of action of cytoplasmic microRNAs. Part 3. TNRC6-associated mechanism of miRNA-mediated mRNA degradation

Abstract. The scientific review presents the mechanisms of action of cytoplasmic miRNAs, namely posttranscriptional silencing: the TNRC6-associated mechanism of miRNA-mediated mRNA degradation. To write the article, information was searched using databases Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. It is known that in the cytoplasm of cells in cases of short region, miRNA complementarities cause posttranscriptional silencing, using the first of the main molecular mechanisms: the TNRC6-associated mechanism of miRNA-mediated mRNA degradation. Mammalian AGO proteins have been shown to contain the conserved m7G-cap-binding protein motif (known as the MID domain), which is required to induce microRNA-mediated translation repression. After binding of this AGO motif to microRNAs, TNRC6 proteins (GW182) are recruited that, in turn, recruits various proteins (PABPC1, PAN3 and NOT1) involved in the induction of the target gene silencing. The authors state that tryptophan residues, which are placed in the hydrophobic pockets of TNRC6 protein partners, cause a high degree of affinity and specificity of interactions. Scientists believe that the TNRC6 protein when interacting with AGO proteins can simultaneously use three GW/WG repeats (motif 1, motif 2 and hook motif), which are located in the Argonaute-binding domain. Therefore, the TNRC6 protein can bind to three AGO molecules simultaneously. TNRC6 proteins are known to be PABP-interacting proteins whose interaction with PABP is mediated by conservative PABP-binding motif 2. TNRC6 proteins have been shown to interact with the cytoplasmic PABPC1 protein during mRNA translation and stabilization. It is shown that the CCR4-NOT protein complex is a highly conserved multifunctional multiprotein formation having 3'-5'-exoribonuclease activity, due to which it controls mRNA metabolism. Thus, the TNRC6-associated mechanism of miRNA-mediated mRNA degradation in the cytoplasm of the cell causes posttranscriptional silencing. In this mechanism, there is an interaction of TNRC6 with PABPC1 protein, recruitment of deadenylating complexes PAN2-PAN3 and CCR4-NOT by the TNRC6 proteins.

Keywords: microRNA; miRNA; miR; TNRC6 proteins; PABPC1 proteins; deadenylating complex PAN2-PAN3; deadenylating complex CCR4-NOT; review