



## Біогенез мікроРНК. Частина 1. Матурація пре-мікроРНК. Матурація канонічних мікроРНК

For citation: Zdorov'e Rebenka. 2021;16(2):200-207. doi: 10.22141/2224-0551.16.2.2021.229886

**Резюме.** У науковому огляді наведено біогенез мікроРНК. 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. У статті подана коротка характеристика послідовності РНК, що кодують мікроРНК. Підкреслено, що мікроРНК залежно від розташування послідовності, що кодує їх в геномі, розподілені на дві великі групи: канонічні і неканонічні тіР. Встановлено, що один локус послідовності, що кодує мікроРНК, може генерувати серію некодуючих зрілих транскриптів. Виділяють канонічний та неканонічний (альтернативний) шляхи матурації пре-мікроРНК. Канонічний шлях матурації мікроРНК обумовлений функціонуванням протеїнів DROSHA і DICER. Розкрито внутрішньоядерний процесинг пре-мікроРНК протеїном DROSHA, що призводить до утворення пре-мікроРНК, які транспортуються з ядра клітини в цитоплазму, де під впливом протеїну DICER перетворюються в дуплексні мікроРНК. Дуплексні мікроРНК рекрутуються протеїнами Argonaute (AGO), на яких вони розкручуються, в результаті чого одна з двох ниток РНК стає зрілою мікроРНК. Неканонічні первинні транскрипти мікроРНК можуть піддаватися DROSHA-, DGCR8-незалежному і DICER-незалежному процесингу. Порушення функціонування протеїнів мікропроцесора та ядерного експорту пре-мікроРНК супроводжується розвитком деяких захворювань людини. Таким чином, у біогенезі мікроРНК виділяють канонічний та неканонічний (альтернативний) шляхи матурації пре-мікроРНК. Канонічний шлях матурації первинних транскриптів мікроРНК обумовлений функціонуванням протеїнів DROSHA і DICER. Неканонічний шлях матурації пре-мікроРНК виконується за рахунок DROSHA-, DGCR8-незалежного і DICER-незалежного процесингу. Порушення функціонування різних механізмів канонічного шляху матурації пре-мікроРНК пов'язане з розвитком деяких захворювань людини.

**Ключові слова:** мікроРНК; матурація пре-мікроРНК; протеїни Argonaute (AGO); огляд

### Вступ

Послідовності РНК, що кодують мікроРНК, розташовуються в міжгенних регіонах, екзонах та інтронах. Більшість відомих на даний час генів мікроРНК людини локалізується в міжгенних регіонах генома (68 %). З внутрігенних послідовностей, що кодують міР, більшість є інтронними генами, їх представництво становить близько 12 % від усієї сукупності генів міР. Понад чверть консервативних мікроРНК і більше половини малоконсервативних міР ссавців, мабуть, генеруються з інтронів білок-кодуючих генів. Послідовності, що

кодують мікроРНК та розташовані в міжгенних регіонах, транскрибуються незалежним способом, а послідовності, що кодують міР та розташовані в генах-мішенях, транскрибуються поєднано з мРНК-мішенями. Решта послідовностей, що кодують міР, розташовані в повторах, нетрансльованих ділянках генома або в регіонах білок-кодуючих генів. Послідовності, що кодують мікроРНК, часто розташовані дуже близько одна до одної, організуючи так звані міР-кластери [6, 12, 26].

МікроРНК залежно від розташування послідовності, що кодує їх в геномі, розподілені на дві великі

© 2021. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Абатуров Олександр Євгенович, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри педіатрії 1 та медичної генетики, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: alexabaturov@i.ua  
For correspondence: Olexandr 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 author information is available at the end of the article.

групи: канонічні і неканонічні miR. Послідовності, що кодують канонічні miR, розташовуються в міжгенних ділянках і транскрибуються РНК-полімеразою II (RNA polymerase II — RNAPII/РНКП II) у вигляді транскрипту пре-мікроРНК. Для генів мікроРНК, що організовані в кластерах, транскрипт пре-мікроРНК може бути поданий моноцистрономом або поліцистрономом. Пре-мікроРНК розпізнається та обробляється рибонуклеазою DROSHA (drosha ribonuclease III) з утворенням попередника мікроРНК — пре-мікроРНК (pre-miR). Послідовності, що кодують неканонічні мікроРНК, знаходяться в ділянці генів, і їх первинні РНК-транскрипти мають резистентність до дії DROSHA. Таким чином, виділяють канонічний та альтернативний шляхи матурації пре-мікроРНК [2, 14, 16].

Встановлено, що один локус послідовності, що кодує miR, може генерувати серію некодуючих зрілих транскриптів. Так, показано, що зрілі мікроРНК, що походять з одного плеча пре-мікроРНК, можуть відрізнятися як по довжині, так і по послідовності один від одного і від канонічної послідовності мікроРНК, зазначеної в miRBase. Дані мікроРНК з альтернативними послідовностями — ізоформи мікроРНК — отримали назву ізомікроРНК/ізоМіри (isomiR). У результаті альтернативного процесингу генеруються численні ізоформи мікроРНК [28]. Ідентифіковано різні типи ізомікроРНК, які відрізняються наявністю матричних доповнень або делецій на 5'- і/або 3'-кінці miR, нематричних доповнень на 3'-кінці і нуклеотидних замін у послідовності молекули. Адреси електронних баз даних ізомікроРНК наведені в табл. 1 [15, 42].

ІзомікроРНК зі зміненою послідовністю нуклеотидів, які беруть участь у взаємодії з мРНК-мішенню, відрізняються спектром цільової дії. Вони набувають здатності регулювати активність додаткових генів і/або втрачають здатність регулювати експресію генів, які мають чутливість до дії базової молекули мікроРНК.

## Матурація пре-мікроРНК

Розрізняють канонічний та альтернативний шляхи матурації пре-мікроРНК. Канонічний шлях матурації мікроРНК, який спочатку транскрибується у вигляді або у складі транскрипту пре-мікроРНК, обумовлений функціонуванням протеїнів DROSHA і DICER. Внутрішньоядерний процесинг пре-мікроРНК протеїном DROSHA призводить до утворення пре-мікроРНК, які транспортуються з ядра клітини в цитоплазму, де під впливом протеїну DICER перетворюються на дуплексні мікроРНК (рис. 1). На сьогодні залишається неясним, як протеїни DROSHA та DICER розпізнають

свій субстрат і вибирають місце розщеплення РНК [2, 8, 34].

Дуплексні мікроРНК рекрутуються протеїнами Argonaute (AGO), на яких вони розкручуються, в результаті чого одна з двох ниток РНК стає зрілою мікроРНК [19, 28].

Неканонічні первинні транскрипти мікроРНК можуть піддаватися альтернативному процесингу, в якому не беруть участь протеїни DROSHA, DGCR8 і/або DICER: розрізняють DROSHA-, DGCR8-незалежний і DICER-незалежний процесинг [8].

## Матурація канонічних мікроРНК

У тварин канонічні мікроРНК транскрибуються РНКП II як частина значно довших РНК, які називаються первинні пре-мікроРНК (pri-miR). Tsung-Cheng Chang та співавт. [5] залежно від особливостей транскрипції розрізняють три класи пре-мікроРНК. До I класу відносяться пре-мікроРНК (60–70 % усіх пре-мікроРНК), що являють собою самостійні незалежні некодуючі транскрипційні одиниці; до II класу — пре-мікроРНК, які є продовженням транскрипту білоккодуєчого гена; і до III класу — пре-мікроРНК, які є продовженням некодуючого транскрипту.

Молекула канонічної пре-мікроРНК — шпількоподібна послідовність, що містить 5-кеп і полі (A) хвіст (рис. 2). 5'-кінці синтезованих транскриптів переважно розташовані в ділянках, збагачених гістоновими маркерами триметилювання лізинового залишку 4 гістона H3 (H3K4me3) та островами CpG, які пов'язані з РНКП II. Первинний транскрипт може містити одну або кілька пре-мікроРНК. Кожна шпилька пре-мікроРНК навіть одного транскрипту вважається результатом функціонування окремого гена, тобто може бути транскрибована самостійно. Транскрипт з групою шпильок являє собою поліцистрон (наприклад, кластери miR-100/let-7/miR-125 і miR-71/miR-2) [1, 2, 29].

## Внутрішньоядерний процесинг пре-мікроРНК — утворення пре-мікроРНК

Для ефективного процесингу пре-мікроРНК необхідні такі структурні елементи молекули, як достатня довжина стебла шпилькоподібної структури, наявність мотиву UGU в ділянці апікальної петлі, наявність мотиву UG у ділянці стебла і мотиву CNNC у базальній ділянці молекули пре-мікроРНК [1, 13]. Першим кроком внутрішньоядерного процесингу пре-мікроРНК у хребетних тварин є розпізнавання даних мотивів і вищеплення шпильок мікроРНК з первинного транскрипту, що здійснюється мікропроцесорним комп-

Таблиця 1. Бази даних ізомікроРНК [42]

База даних	Електронна адреса
miRgator v3.0	<a href="http://mirgator.kobic.re.kr/">http://mirgator.kobic.re.kr/</a>
SeqBuster	<a href="http://code.google.com/p/seqbuster/">http://code.google.com/p/seqbuster/</a>
Hood lab	<a href="http://hood.systemsbiology.net/cgi-bin/isomir/find.pl">http://hood.systemsbiology.net/cgi-bin/isomir/find.pl</a>
YM500	<a href="http://ngs.ym.edu.tw/ym500">http://ngs.ym.edu.tw/ym500</a>

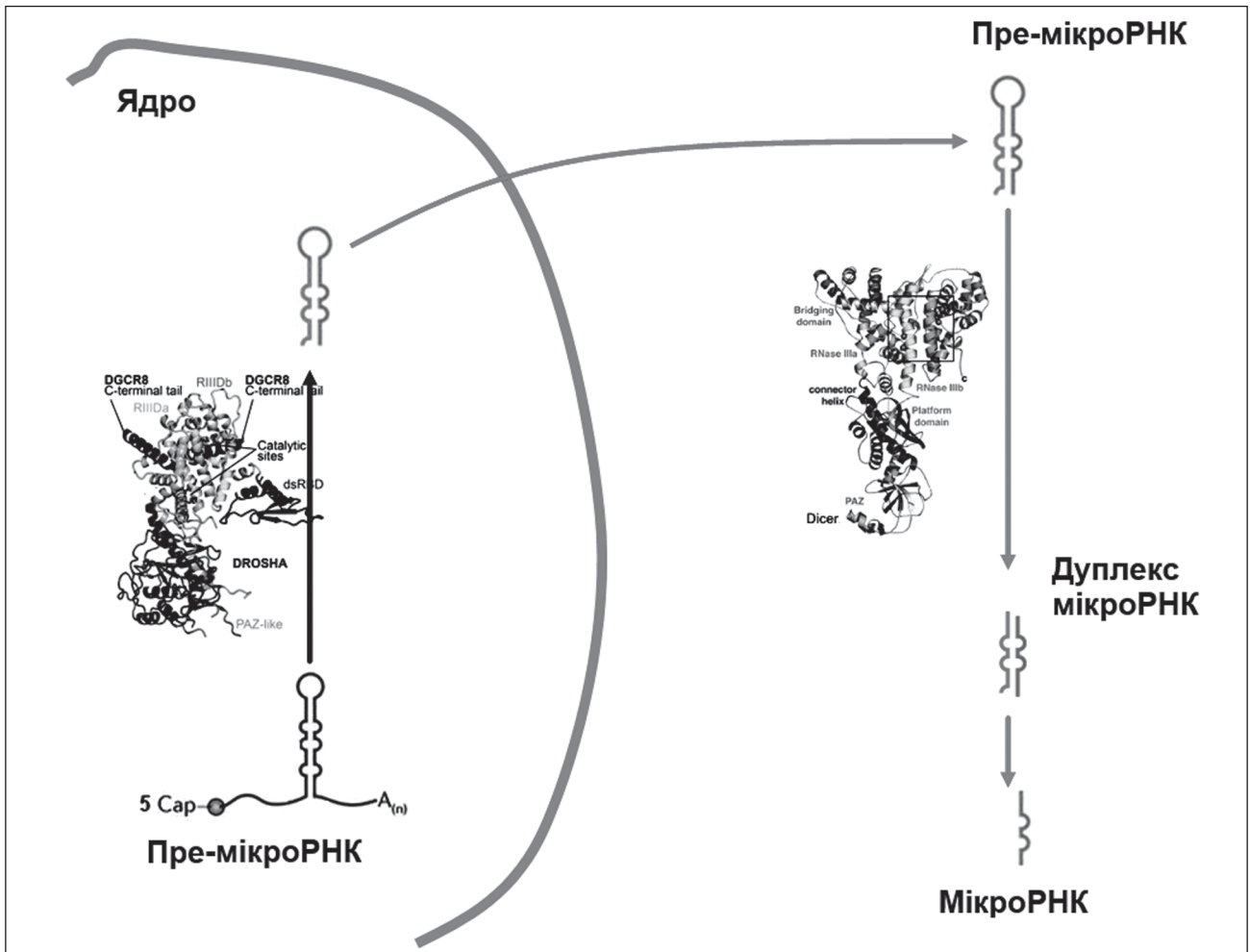


Рисунок 1. Канонічний шлях матурації пре-мікроРНК

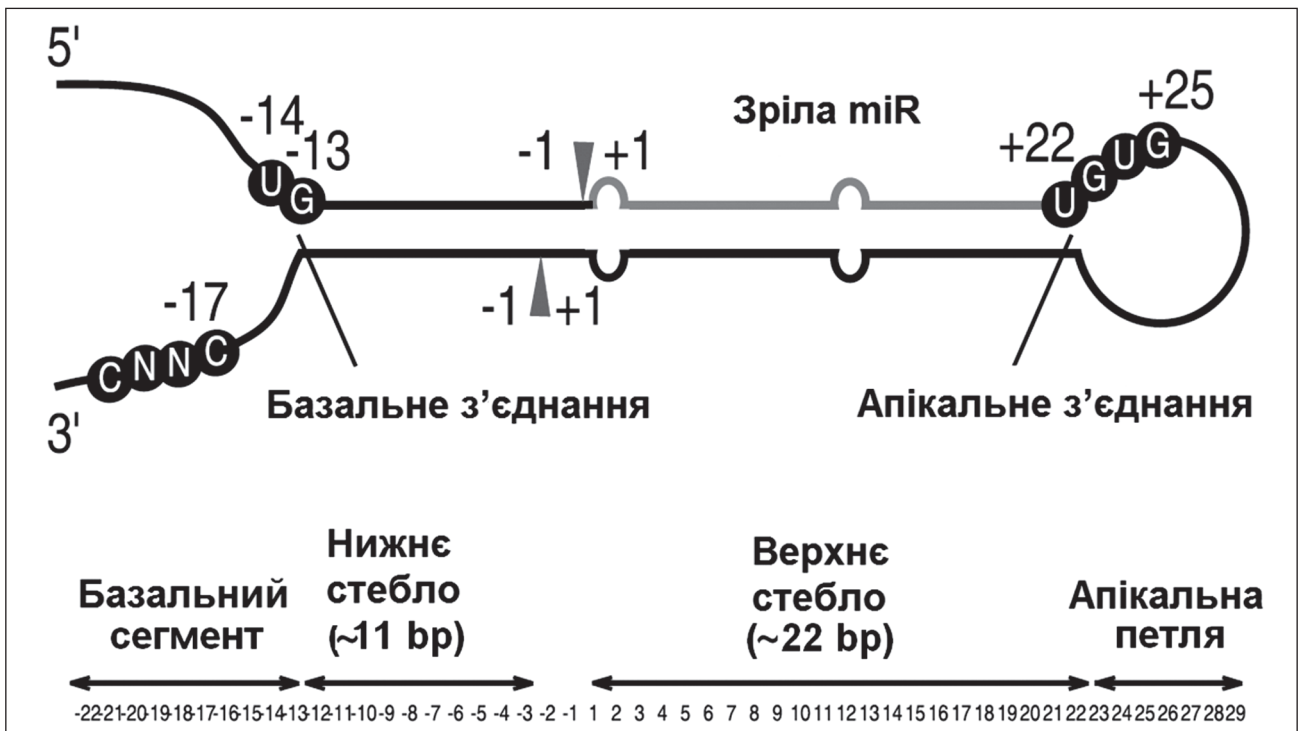


Рисунок 2. Будова канонічної пре-мікроРНК [30]

лексом (microprocessor complex). Молекулярний мікропроцесор складається з рибонуклеази III, що отримала назву DROSHA, і його протеїнового партнера DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region 8 gene). Також молекулярний мікропроцесор може являти собою більший протеїновий комплекс, який, крім основних компонентів, містить РНК-зв'язуючі білки, такі як РНК-гелікази, гетерогенні ядерні рибонуклеопротеїни та інші протеїни, що регулюють каталітичну активність комплексу [27].

Ядерний протеїн DROSHA (159 кДа) складається з декількох доменів: N-термінального багатого проліном та аргініном/серіном домену; висококонсервативного центрального домену (central domain — CED), який необхідний для розщеплення РНК; і С-термінального домену, що містить два тандемних домени РНКаз III (RNaseIII domains — RIIIDa і RIIIDb) і один дцРНК-зв'язуючий домен (dsRNA-binding domain — dsRBD). Два RIIID утворюють внутрішньомолекулярний димер, який являє собою процесинговий центр, що містить два каталітичних сайти. RIIIDa розрізає одну нитку пре-мікроРНК ближче до 3'-кінця молекули, тоді як домен RIIIDb розщеплює іншу нитку пре-мікроРНК ближче до 5'-кінця молекули, що призводить до формування пре-мікроРНК з типовою сигнатурою для РНКаз III, яка характеризується наявністю двонуклеотидного виступу з боку 3'-нетрансльованої ділянки (3'untranslated region — 3'UTR). Домен, що зв'язує дволанцюгову РНК (dsRBD) протеїну DROSHA, характеризується слабкою РНК-зв'язуючою здатністю, в зв'язку з чим для утримання РНК необхідне сприяння протеїну DGCR8 [8, 21, 24]. Ядерний протеїн DGCR8 (86 кДа) складається з N-термінальної ділянки, що включає сигнал ядерної локалізації (nuclear localization signal — NLS); центрального РНК-зв'язуючого гем домену (RNA-binding heme domain — Rhed), який забезпечує димеризацію; двох високоафіно-дцРНК-зв'язуючих доменів dsRBD; і С-термінального хвостового домену (C-terminal tail — CTT), який забезпечує зв'язування протеїну з DROSHA (рис. 3) [11, 27].

Мікропроцесор формується з однієї молекули DROSHA та димеру DGCR8 до розпізнавання РНК. Протеїн DGCR8 розпізнає апікальний мотив UGU і зв'язується доменами dsRBD з підставою молекули пре-мікроРНК. Також протеїн DGCR8 своїм доменом СТТ стабілізує рибонуклеазу DROSHA. Взаємодія DROSHA та DGCR8 підвищує ефективність (DGCR8 dsRBD) і точність (DGCR8 Rhed) процесингу РНК [8]. У компетентному мікропроцесорі протеїн DROSHA позиціонується на базальному UG-мотиві, який знаходиться на стику одноланцюгових флангових ділянок та стебла молекули пре-мікроРНК. У мікропроцесорі тільки протеїн DROSHA містить сайт розщеплення. Мікропроцесор розщеплює нитку РНК на відстані приблизно одного спірального обороту (близько 11 нуклеотидів) від базальних сегментів і двох спіральних оборотів (близько 22 нуклеотидів) від апікальної петлі пре-мікроРНК. Нитки пре-мікроРНК розрізаються зі зміщенням у 2 нуклеотида (рис. 4) [30].

Таким чином, функціонування молекулярного мікропроцесора призводить до утворення молекули пре-мікроРНК, що являє собою шпильку і складається приблизно з 60 нуклеотидів [25, 36].

На сьогодні не досліджені наслідки нокауту генів *Drosha* і *Dgcr8* у гепатоцитах в експериментальних тварин. Встановлено, що у мутантних мишей з нокаутом гена *Dgcr8* судинних гладком'язових клітин спостерігається гепатомегалія і висока частота зустрічальності крововиливів у паренхіму печінки [7].

Порушення функціонування протеїнів мікропроцесора пов'язане з розвитком різних захворювань людини (табл. 2).

В ядрі клітини дозрівання однієї мікроРНК може регулюватися іншою мікроРНК. Так, продемонстровано, що miR-709 інгібує матурацію miR-15a/16-1 [31, 43].

#### Експорт пре-мікроРНК з ядра в цитоплазму клітини

За допомогою експорину-5 (exportin 5 — XPO5) та ГТФ-зв'язуючого ядерного протеїну RAN • GTP

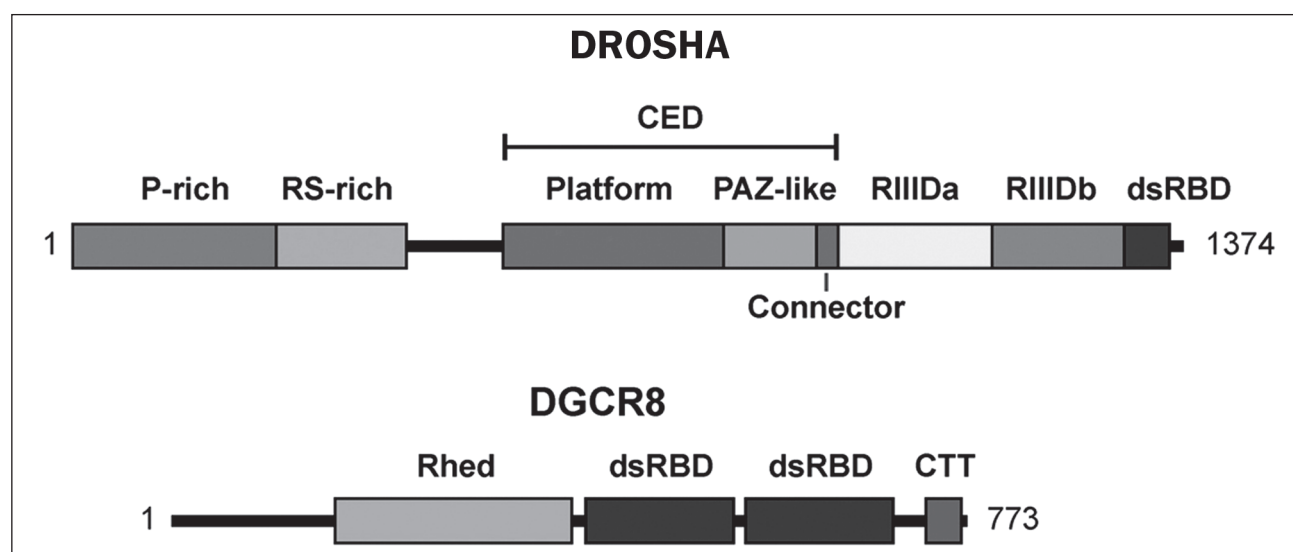


Рисунок 3. Доменна будова протеїнів людини DROSHA і DGCR8 [8]

шпилькоподібна пре-мікроРНК з ядра транслокується через ядерну пору в цитоплазму клітини. Протеїн ХРО5 розпізнає стебло дцРНК разом з двонуклеотидним (2нт) виступом 3'-кінця. Одним із найважливіших моментів експорту пре-мікроРНК є зв'язування протеїну ХРО5 з нуклеопориновим протеїном NUP153. Нокаут гена *ХРО5* призводить до зниження рівня мікроРНК у цитоплазмі клітини. Однак це зниження концентрації мікроРНК у цитоплазмі клітини не супроводжується накопиченням пре-мікроРНК в ядрі. Цілком ймовірно, що протеїн ХРО5 в ядрі клітини за-

хищає пре-мікроРНК від нуклеолітичних атак ядерних ферментів [16, 22].

Порушення ядерного експорту пре-мікроРНК супроводжується розвитком деяких захворювань (табл. 3).

**Цитоплазматичний процесинг пре-мікроРНК — утворення зрілих мікроРНК**

Пре-мікроРНК після експорту в цитоплазму клітини піддаються процесингу іншої РНКазої III — протеїну DICER [40]. Протеїн DICER відокремлює від молекули пре-мікроРНК апікальну петлю, що призводить до утворення дуплексної мікроРНК, один ланцюжок якої є зрілою мікроРНК (направляючу нитку), інший ланцюжок — пасажирську нитку РНК. Делеція гена *Dicer1* у мишей супроводжується ранньою ембріональною летальністю (в середньому на 7,5 ембріональну добу) [3, 40].

Протеїн DICER являє собою РНКазу III типу (200 кДа), домени якої розташовані від N- до С-термінального регіону в такій послідовності: геліказний DEAD-подібний (DExD) домен, TRBP-BD та HELIC домени, домен з невідомою функцією DUF283, домен Piwi/Argonaute/Zwille (PAZ), тандемні домени RNaseIIIa і RNaseIIIb та С-термінальний дцРНК-зв'язуючий домен [40]. Кріоелектронна мікроскопія і кристалографія показали, що просторово протеїн DICER нагадує букву L — з головою (PAZ), тілом (DUF283, RNaseIIIa, RNaseIIIb, dsRBD) й основою (DExD, TRBP-BD і HELIC) [40]. РНК-геліказа

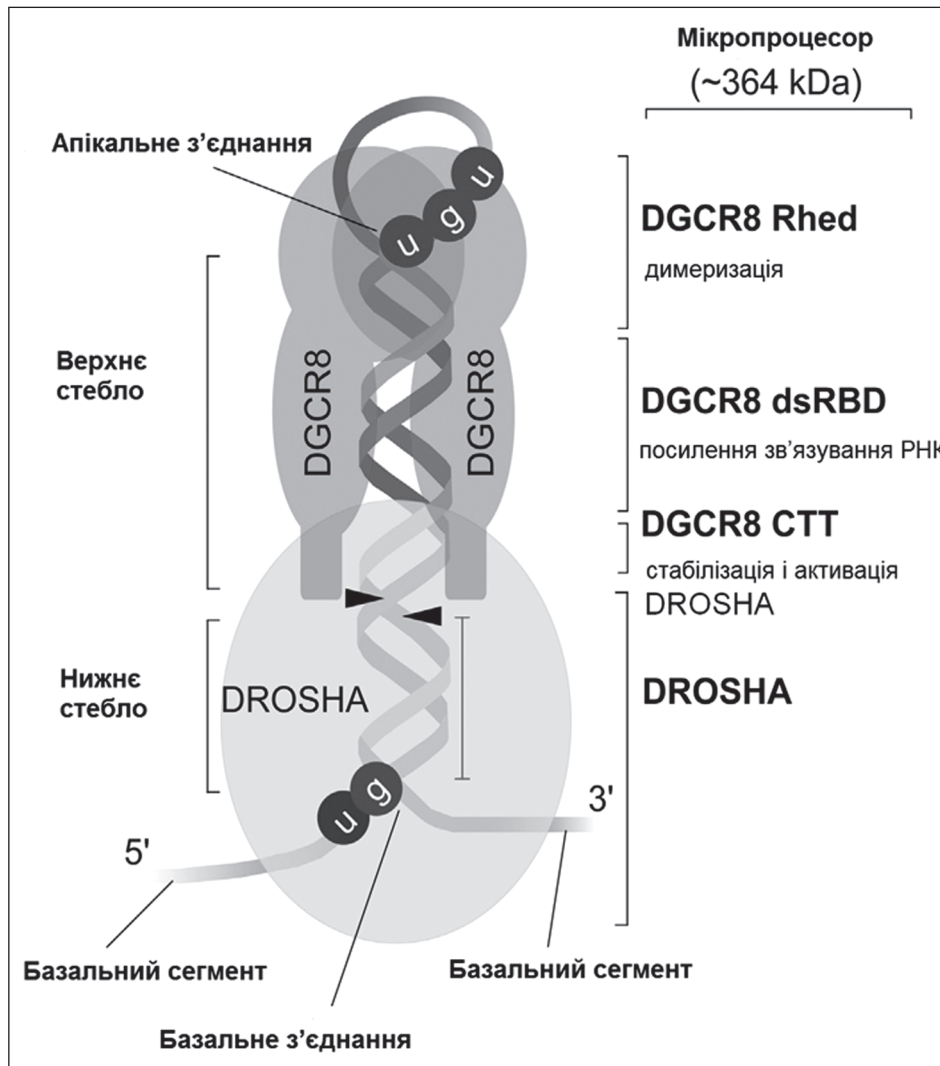


Рисунок 4. Будова мікропроцесора [30]

Таблиця 2. Захворювання, що пов'язані з порушенням функціонування протеїнів мікропроцесора

Гени протеїнів мікропроцесора	Клінічні асоціації	Джерело
DROSHA	Поліморфізми rs10719, rs6877842 гена <i>DROSHA</i> , що асоційовані з канцерогенезом	[46]
	Поліморфізм гена <i>DROSHA</i> rs10719T > C, що асоційований з несприятливими судинними подіями	[20]
DGCR8	Делеція гена <i>DGCR8</i> , що асоційована з синдромом DiGeorge (синдром делеції 22q.2)	[39]
	Поліморфізми rs417309 гена <i>DGCR8</i> , що асоційовані з канцерогенезом	[46]

DICER розпізнає структури петлі шпильки пре-мікроРНК і здатна диференціювати пре-мікроРНК від інших дволанцюжкових РНК (дцРНК) [44]. У рекогніції пре-мікроРНК бере участь N-термінальний геліказний DExD домен протеїну DICER [40, 44]. Домен PAZ містить зв'язуючу кишеню для 3'-кінця дцРНК і фосфатзв'язуючу кишеню, що розпізнає фосфорильований 5'-кінець невеликих РНК. Ці кишені просторово розташовані так, що можуть одночасно взаємодіяти з 5'- і 3'-кінцями пре-мікроРНК в тих випадках, коли їх 3'-кінець несе двонуклеотидний виступ [16].

Два домени РНКазі III типу утворюють внутрішньомолекулярний димер, який являє собою каталітичне ядро протеїну DICER. Вважається, що кожен домен RNaseIII відповідає за розщеплення однієї нитки субстрату дцРНК. Дискретність розмірів мікроРНК обумовлена тим, що ділянка між доменами PAZ і RNase III протеїну DICER функціонує як «молекулярна лінійка» (рис. 5) [40].

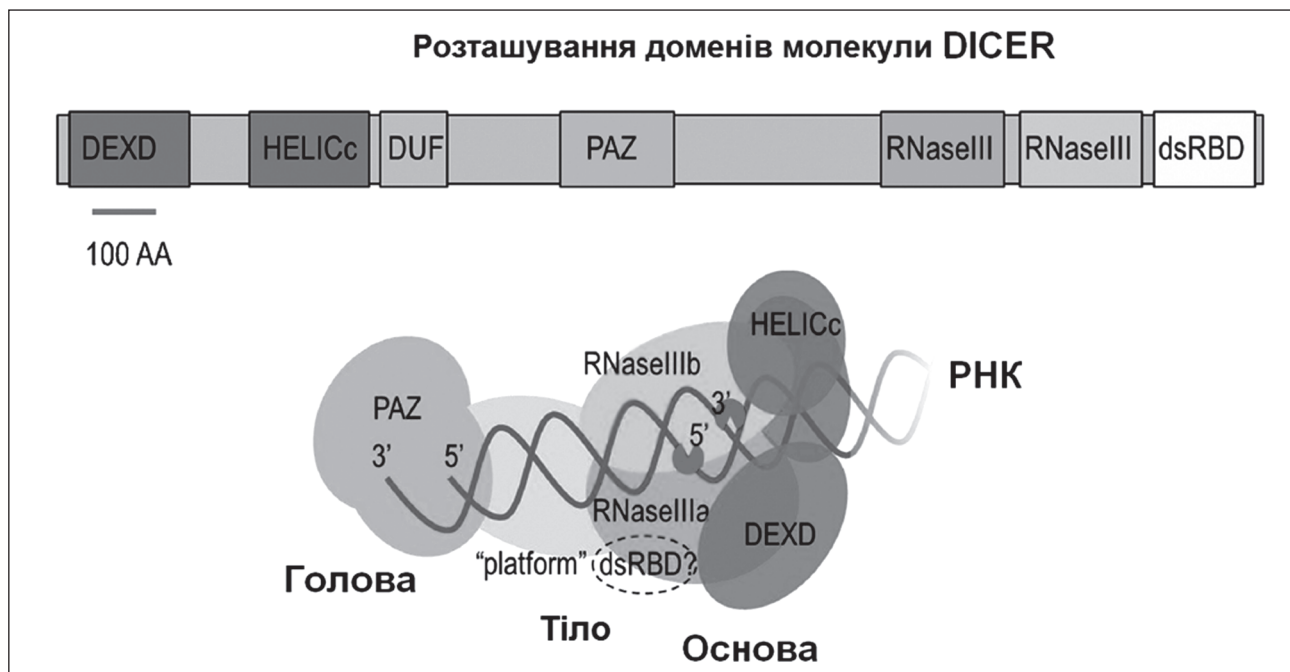
Протеїн DICER переважно зв'язується з двонуклеотидним виступом 3'-кінця пре-мікроРНК. З огляду на те, що каталітичні сайти DICER розташовані на фіксованій відстані, яка зазвичай становить 21–25 нуклеотидів, розмір дуплексних мікроРНК досить строго визначений. При зв'язуванні з 5'-фосфорильованим кінцем пре-мікроРНК розщеплення відбувається на відстані 22 нуклеотидів від 5'-кінця [16, 32, 35]. Протеїн DICER здатний розщеплювати пре-miRNA та тільки дцРНК.

Нуклеолітична активність протеїну DICER модулюється дцРНК-зв'язуючими протеїнами, що володіють dsRBD доменами, і білками AGO. У ссавців ідентифіковані такі DICER-взаємодіючі dsRBP: транскрипційно-реагуючий РНК-зв'язуючий білок 2 (transactivation-responsive RNA-binding protein 2 — TARBP2) [9] та протеїнкіназа EIF2AK2, що індукована протеїновим активатором інтерферону (protein activator of interferon induced protein kinase EIF2AK2 — PRKRA) [48]. Молекули цих протеїнів містять по три домени dsRBD. Перші два домени dsRBD мають здатність зв'язуватися з дцРНК. Третій домен dsRBD взаємодіє з протеїнами DICER, MERLIN та PRKRA [10].

Протеїн TARBP2 стимулює DICER-опосередковане розщеплення молекул як пре-мікроРНК, так і пре-miРНК. Навпаки, PRKRA пригнічує функціональну

**Таблиця 3. Захворювання, що асоційовані з порушенням ядерного експорту пре-мікроРНК**

Ген	Клінічні асоціації	Джерело
<i>XPO5</i>	Протеїн <i>XPO5</i> сприяє експресії miR, що мають супресорну дію на клітини пухлин	[38]
<i>XPO5</i>	Підвищення експресії <i>XPO5</i> характерно для хвороби Альцгеймера	[33]
<i>XPO5</i>	Поліморфізм rs11077 гена <i>XPO5</i> асоційований з ризиком розвитку раку щитоподібної залози	[47]
<i>XPO5, NUP93, NUP205</i>	Мутації генів <i>XPO5, NUP93, NUP205</i> можуть обумовлювати розвиток стероїд-резистентного нефротичного синдрому	[4]
<i>RMND5A</i>	Протеїн <i>RMND5A</i> разом з miR-138 стабілізує <i>XPO5</i> , а мутації гена <i>RMND5A</i> асоційовані з неврологічними розладами	[23; 45]



**Рисунок 5. Будова молекули DICER та локалізація сайтів розщеплення дцРНК [41]**

активність протеїну DICER [18]. Таким чином, протеїни TARBP2 і PRKRA регулюють активність процесингу мікроРНК.

Особливий вплив протеїн DICER, беручи участь у матурації гепатоспецифічних мікроРНК, має на функціонування печінки. Продемонстровано, що мутантні миші з нокаутним геном *Dicer1* у гепатоцитах при народженні фенотипово не відрізняються від мишей дикого типу. Характерною їх особливістю є низький рівень експресії miR-122, miR-192 і miR-194 в тканині печінки при збереженні фізіологічного рівня активності трансаміназ і білірубину в сироватці крові. Однак по досягненню 2–4-місячного віку у них розвивається печінкова недостатність зі збільшенням рівня проліферації гепатоцитів, розвитком стеатозу печінки, виснаженням запасу глікогену і підвищенням концентрації аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази в сироватці крові [17].

Мутації гена *DICER1*, розташованого на хромосомі 14 (q32.13), супроводжуються розвитком синдрому DICER1 (ORPHA: 284343; OMIM: 601200), який характеризується макроцефалією і схильністю до розвитку різних як доброякісних, так і злоякісних пухлин [37].

## Висновки

Таким чином, у біогенезі мікроРНК виділяють канонічний та неканонічний (альтернативний) шляхи матурації пре-мікроРНК. Канонічний шлях матурації первинних транскриптів мікроРНК обумовлений функціонуванням протеїнів DROSHA і DICER. Неканонічний шлях матурації пре-мікроРНК виконується за рахунок DROSHA, DGCR8-незалежного і DICER-незалежного процесингу. Канонічний шлях матурації мікроРНК проходить етапи: внутрішньоядерного процесингу пре-мікроРНК — утворення пре-мікроРНК; експорту пре-мікроРНК з ядра в цитоплазму клітини; цитоплазматичного процесингу пре-мікроРНК — утворення зрілих мікроРНК. Порушення функціонування різних механізмів канонічного шляху матурації пре-мікроРНК пов'язане з розвитком деяких захворювань людини.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та особистої фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

## References

1. Auyeung VC, Ulitsky I, McGeary SE, Bartel DP. Beyond secondary structure: primary-sequence determinants license pri-miRNA hairpins for processing. *Cell*. 2013 Feb 14;152(4):844–58. doi:10.1016/j.cell.2013.01.031.
2. Bartel DP. Metazoan MicroRNAs. *Cell*. 2018 Mar 22;173(1):20–51. doi:10.1016/j.cell.2018.03.006.
3. Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, et al. Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet*. 2003 Nov;35(3):215–7. doi:10.1038/ng1253.
4. Braun DA, Sadowski CE, Kohl S, et al. Mutations in nuclear pore genes *NUP93*, *NUP205* and *XPO5* cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet*. 2016 Apr;48(4):457–65. doi:10.1038/ng.3512.
5. Chang TC, Perteu M, Lee S, Salzberg SL, Mendell JT. Genome-wide annotation of microRNA primary transcript structures reveals novel regulatory mechanisms. *Genome Res*. 2015 Sep;25(9):1401–9. doi:10.1101/gr.193607.115.

6. Chen Y, Wang X. miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets. *Nucleic Acids Res*. 2020 Jan 8;48(D1):D127–D131. doi:10.1093/nar/gkz757.
7. Chen Z, Wu J, Yang C, et al. DiGeorge syndrome critical region 8 (DGCR8) protein-mediated microRNA biogenesis is essential for vascular smooth muscle cell development in mice. *J Biol Chem*. 2012 Jun 1;287(23):19018–28. doi:10.1074/jbc.M112.351791.
8. Creugny A, Fender A, Pfeffer S. Regulation of primary microRNA processing. *FEBS Lett*. 2018 Jun;592(12):1980–1996. doi:10.1002/1873-3468.13067.
9. Daniels SM, Gattagnol A. The multiple functions of TRBP, at the hub of cell responses to viruses, stress, and cancer. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2012 Sep;76(3):652–66. doi:10.1128/MMBR.00012-12.
10. Daniels SM, Melendez-Peña CE, Scarborough RJ, et al. Characterization of the TRBP domain required for dicer interaction and function in RNA interference. *BMC Mol Biol*. 2009 May 7;10:38. doi:10.1186/1471-2199-10-38.
11. Daugaard I, Hansen TB. Biogenesis and Function of Ago-Associated RNAs. *Trends Genet*. 2017 Mar;33(3):208–219. doi:10.1016/j.tig.2017.01.003.
12. Desvignes T, Batzel P, Berezikov E, et al. miRNA Nomenclature: A View Incorporating Genetic Origins, Biosynthetic Pathways, and Sequence Variants. *Trends Genet*. 2015 Nov;31(11):613–626. doi:10.1016/j.tig.2015.09.002.
13. Fang W, Bartel DP. The Menu of Features that Define Primary MicroRNAs and Enable De Novo Design of MicroRNA Genes. *Mol Cell*. 2015 Oct 1;60(1):131–45. doi:10.1016/j.molcel.2015.08.015.
14. Graves P, Zeng Y. Biogenesis of mammalian microRNAs: a global view. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2012 Oct;10(5):239–45. doi:10.1016/j.gpb.2012.06.004.
15. Guo L, Chen F. A challenge for miRNA: multiple isomiRs in miRNAomics. *Gene*. 2014 Jul 1;544(1):1–7. doi:10.1016/j.gene.2014.04.039.
16. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014 Aug;15(8):509–24. doi:10.1038/nrm3838.
17. Hand NJ, Master ZR, Le Lay J, Friedman JR. Hepatic function is preserved in the absence of mature microRNAs. *Hepatology*. 2009 Feb;49(2):618–26. doi:10.1002/hep.22656.
18. Heyam A, Lagos D, Plevin M. Dissecting the roles of TRBP and PACT in double-stranded RNA recognition and processing of noncoding RNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2015 May-Jun;6(3):271–89. doi:10.1002/wrna.1272.
19. Joshua-Tor L. The Argonautes. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2006;71:67–72. doi:10.1101/sqb.2006.71.048.
20. Kim JO, Bae J, Kim J, et al. Association of MicroRNA Biogenesis Genes Polymorphisms with Ischemic Stroke Susceptibility and Post-Stroke Mortality. *J Stroke*. 2018 Jan;20(1):110–121. doi:10.5853/jos.2017.02586.
21. King VM, Borchert GM. MicroRNA Expression: Protein Participants in MicroRNA Regulation. *Methods Mol Biol*. 2017;1617:27–37. doi:10.1007/978-1-4939-7046-9\_2.
22. Leisegang MS, Martin R, Ramirez AS, Bohnsack MT. Exportin t and Exportin 5: tRNA and miRNA biogenesis - and beyond. *Biol Chem*. 2012 Jul;393(7):599–604. doi:10.1515/hsz-2012-0146.
23. Li J, Chen Y, Qin X, et al. MiR-138 downregulates miRNA processing in HeLa cells by targeting *RMND5A* and decreasing Exportin-5 stability. *Nucleic Acids Res*. 2014 Jan;42(1):458–74. doi:10.1093/nar/gkt839.
24. Li S, Patel DJ. Drosha and Dicer: Slicers cut from the same cloth. *Cell Res*. 2016 May;26(5):511–2. doi:10.1038/cr.2016.19.
25. Liu H, Liang C, Kollipara RK, et al. HP1BP3, a Chromatin Retention Factor for Co-transcriptional MicroRNA Processing. *Mol Cell*. 2016 Aug 4;63(3):420–32. doi:10.1016/j.molcel.2016.06.014.
26. Londin E, Loher P, Telonis AG, et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Mar 10;112(10):E1106–15. doi:10.1073/pnas.1420955112.
27. Macias S, Cordiner RA, Cáceres JF. Cellular functions of the microprocessor. *Biochem Soc Trans*. 2013 Aug;41(4):838–43. doi:10.1042/BST20130011.

28. Medley JC, Panzade G, Zinovyeva AY. *microRNA strand selection: Unwinding the rules*. Wiley Interdiscip Rev RNA. 2020 Sep 20:e1627. doi:10.1002/wrna.1627.
29. Mikkelsen TS, Ku M, Jaffe DB, et al. *Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells*. Nature. 2007 Aug 2;448(7153):553-60. doi:10.1038/nature06008.
30. Nguyen TA, Jo MH, Choi YG, et al. *Functional Anatomy of the Human Microprocessor*. Cell. 2015 Jun 4;161(6):1374-87. doi:10.1016/j.cell.2015.05.010.
31. Ni WJ, Leng XM. *Dynamic miRNA-mRNA paradigms: New faces of miRNAs*. Biochem Biophys Rep. 2015 Oct 28;4:337-341. doi:10.1016/j.bbrep.2015.10.011.
32. Nicholson AW. *Ribonuclease III mechanisms of double-stranded RNA cleavage*. Wiley Interdiscip Rev RNA. 2014 Jan-Feb;5(1):31-48. doi:10.1002/wrna.1195.
33. Nuovo G, Amann V, Williams J, et al. *Increased expression of importin- $\beta$ , exportin-5 and nuclear transportable proteins in Alzheimer's disease aids anatomic pathologists in its diagnosis*. Ann Diagn Pathol. 2018 Feb;32:10-16. doi:10.1016/j.anndiagpath.2017.08.003.
34. Obsteter J, Dovic P, Kunej T. *Genetic variability of microRNA regulome in human*. Mol Genet Genomic Med. 2015 Jan;3(1):30-9. doi:10.1002/mgg3.110.
35. Park JE, Heo I, Tian Y, et al. *Dicer recognizes the 5' end of RNA for efficient and accurate processing*. Nature. 2011 Jul 13;475(7355):201-5. doi:10.1038/nature10198.
36. Ratnadiwakara M, Mohenska M, Ānkö ML. *Splicing factors as regulators of miRNA biogenesis - links to human disease*. Semin Cell Dev Biol. 2018 Jul;79:113-122. doi:10.1016/j.semcdb.2017.10.008.
37. Robertson JC, Jorczyk CL, Oxford JT. *DICER1 Syndrome: DICER1 Mutations in Rare Cancers*. Cancers (Basel). 2018 May 15;10(5):143. doi:10.3390/cancers10050143.
38. Romero-Cordoba SL, Salido-Guadarrama I, Rodriguez-Dorantes M, Hidalgo-Miranda A. *miRNA biogenesis: biological impact in the development of cancer*. Cancer Biol Ther. 2014;15(11):1444-55. doi:10.4161/15384047.2014.955442.
39. Rostami Mogaddam M, Safavi Ardabili N, Shafaei Y, Maleki N, Jafari N, Jafari A. *Overexpression of Drosha, DiGeorge syndrome critical region gene 8 (DGCR8), and Dicer mRNAs in the pathogenesis of psoriasis*. J Cosmet Dermatol. 2017 Dec;16(4):e48-e53. doi:10.1111/jocd.12336.
40. Song MS, Rossi JJ. *Molecular mechanisms of Dicer: endonuclease and enzymatic activity*. Biochem J. 2017 May 4;474(10):1603-1618. doi:10.1042/BCJ20160759.
41. Svobodova E, Kubikova J, Svoboda P. *Production of small RNAs by mammalian Dicer*. Pflugers Arch. 2016 Jun;468(6):1089-102. doi:10.1007/s00424-016-1817-6.
42. Tan GC, Dibb N. *IsomiRs have functional importance*. Malays J Pathol. 2015 Aug;37(2):73-81.
43. Tang R, Li L, Zhu D, et al. *Mouse miRNA-709 directly regulates miRNA-15a/16-1 biogenesis at the posttranscriptional level in the nucleus: evidence for a microRNA hierarchy system*. Cell Res. 2012 Mar;22(3):504-15. doi:10.1038/cr.2011.137.
44. Tsutsumi A, Kawamata T, Izumi N, Seitz H, Tomari Y. *Recognition of the pre-miRNA structure by Drosophila Dicer-1*. Nat Struct Mol Biol. 2011 Sep 18;18(10):1153-8. doi:10.1038/nsmb.2125.
45. Vogel TW, Manjila S, Cohen AR. *Novel neurodevelopmental disorder in the case of a giant occipitoparietal meningoencephalocele*. J Neurosurg Pediatr. 2012 Jul;10(1):25-9. doi:10.3171/2012.3.PEDS11559.
46. Wen J, Gao Q, Wang N, et al. *Association of microRNA-related gene XPO5 rs11077 polymorphism with susceptibility to thyroid cancer*. Medicine (Baltimore). 2017 Apr;96(14):e6351. doi:10.1097/MD.0000000000006351.
47. Wen J, Lv Z, Ding H, Fang X, Sun M. *Association of miRNA biosynthesis genes DROSHA and DGCR8 polymorphisms with cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis*. Biosci Rep. 2018 Jun 27;38(3):BSR20180072. doi:10.1042/BSR20180072.
48. Wilson RC, Tambe A, Kidwell MA, Noland CL, Schneider CP, Doudna JA. *Dicer-TRBP complex formation ensures accurate mammalian microRNA biogenesis*. Mol Cell. 2015 Feb 5;57(3):397-407. doi:10.1016/j.molcel.2014.11.030.

Отримано/Received 11.01.2021

Рецензовано/Revised 25.01.2021

Прийнято до друку/Accepted 01.02.2021

## Information about authors

A.E. Abaturov, MD, PhD, Professor, Head of the Department of pediatrics 1 and medical genetics, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine; <http://orcid.org/0000-0001-6291-5386>  
V.L. 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>

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

## MiRNA biogenesis.

### Part 1. Maturation of pre-miRNA. Maturation of canonical miRNAs

**Abstract.** The scientific review presents the biogenesis of miRNAs. To write the article, information was searched using databases *Scopus*, *Web of Science*, *MedLine*, *PubMed*, *Google Scholar*, *EMBASE*, *Global Health*, *The Cochrane Library*, *CyberLeninka*. The article presents a brief description of the RNA sequence encoding miRNAs. It is emphasized that microRNAs, depending on the location of the sequence encoding them in the genome, are divided into two major groups: canonical and non-canonical miRNAs. It has been found that a single locus of a sequence encoding a miRNA can generate a series of non-coding mature transcripts. It is noted that there are canonical and non-canonical (alternative) ways of maturation of pri-miRNAs. The canonical path of maturation of miRNAs results from the functioning of DROSHA and DICER proteins. Intracellular processing of pri-miRNA by the DROSHA protein is revealed, which leads to the formation of pre-miRNAs transported from the cell nucleus to the cytoplasm, where under the influence of the DICER protein they are converted into duplex microRNAs. Duplex

miRNAs are recruited by Argonaute (AGO) proteins, on which they are spun, and as a result one of the two strands of RNA becomes mature miRNA. Non-canonical primary miRNA transcripts can be subjected to DROSHA-, DGCR8-independent, and DICER-independent processing. The dysfunction of microprocessor proteins and nuclear export of pre-miRNAs is accompanied by the development of some human diseases. Thus, in the biogenesis of miRNAs, there are canonical and non-canonical (alternative) ways of maturation of pri-miRNAs. The canonical path of maturation of primary microRNA transcripts is due to the functioning of DROSHA and DICER proteins. The non-canonical path of maturation of pre-miRNAs is performed by DROSHA-, DGCR8-independent, and DICER-independent processing. The dysfunction of various mechanisms of the canonical path of maturation of pre-miRNA is associated with the development of some human diseases.

**Keywords:** microRNA; miRNA; maturation of pri-miRNA; Argonaute (AGO) proteins; review