

Механізми дії внутрішньоядерних мікроРНК. Частина 2. МікроРНК-опосередкована регуляція нкРНК- транскриптому й альтернативного сплайсингу

For citation: Zdorov'e Rebenka. 2022;17(1):48-53. doi: 10.22141/2224-0551.17.1.2022.1492

Резюме. У науковому огляді наведені механізми дії внутрішньоядерних мікроРНК, а саме мікроРНК-опосередкована регуляція нкРНК-транскриптому й альтернативного сплайсингу. Для написання статті виконувалася пошук інформації з використанням баз даних Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. Підкреслено, що істотний вплив на склад транскриптому забезпечує мікроРНК у комплексі RISC, що індукують посттранскрипційну деградацію довгих нкРНК, локалізованих в ядрі клітини. Науковці вважають, що довгі нкРНК беруть участь в епігенетичній регуляції сайленсингу генів за допомогою ремоделювання хроматину. Зазначено, що у розвитку деяких захворювань печінки беруть активну участь довгі нкРНК. Надана інформація про те, що найважливішим механізмом розширення спектра транскриптому у клітині є альтернативний сплайсинг пре-мРНК. Авторами наведені результати наукових досліджень, які свідчать про те, що пре-мРНК більше 90 % генів людини піддаються альтернативному сплайсингу. Зазначено, що сплайсинг виконує спеціалізоване макромолекулярне утворення — супрасплайсосома, яка являє собою мегакомплекс (21 MDA) ядерного рибонуклеопротеїну. Показано, що науковцями запропоновані дві моделі епігенетичної регуляції сплайсингу: кінетична модель і модель рекрутингу. Автори розкривають основні положення цих моделей. МікроРНК беруть активну участь у сплайсингу. В основі захворювань печінки можуть лежати дефіцит факторів сплайсингу і deregulation альтернативного сплайсингу, зумовлені дією мікроРНК. Порушення альтернативного сплайсингу, які стимулюють проліферацію, запобігають апоптозу та підтримують трансформацію клітин, є патогномонічним явищем при злоякісних пухлинних процесах. Таким чином, складовими механізмами дії внутрішньоядерних мікроРНК є змінювання транскриптому нкРНК та участь у регуляції альтернативного сплайсингу. МікроРНК-опосередкована регуляція стабільності довгих нкРНК обумовлює зміну спектра активності експресії епігенетично регульованих генів. Довгі нкРНК беруть активну участь у розвитку деяких захворювань печінки. Альтернативний сплайсинг є невід'ємною частиною диференціювання клітин і сприяє становленню специфічності тканини. Альтернативний сплайсинг і генерація різноманітних ізоформ протеїнів призводять до молекулярних наслідків, які зумовлюють розвиток різних патологічних станів.

Ключові слова: мікроРНК; транскриптом; альтернативний сплайсинг; сплайсосома; огляд

Вступ

МікроРНК, що розташовані внутрішньоядерно, здатні індукувати передтрансляційний сайленсинг білок-кодуєчих генів, активувати транскрипцію, змінювати транскриптом нкРНК, брати участь у регуляції альтернативного сплайсингу.

МікроРНК-опосередкована регуляція нкРНК-транскриптому

МікроРНК у комплексі RISC індукують посттранскрипційну деградацію довгих нкРНК, що локалізовані в ядрі клітини, і тим самим істотно впливають на склад транскриптому [5, 24, 29]. Довгі нкРНК беруть участь

© 2022. 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: alexabatur@i.ua

For correspondence: Aleksandr Abatur, 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: alexabatur@i.ua

Full list of authors information is available at the end of the article.

в епігенетичній регуляції сайленсингу генів за допомогою ремоделювання хроматину. Дані нкРНК розташовані в промоторних ділянках, збагачених маркерами H3K4me3, і в транскрибованій ділянці гена, збагаченій триметильованими лізиновими залишками 36-го гістоно H3 (H3K36me3) [36]. Довгі нкРНК беруть активну участь у розвитку деяких захворювань печінки [34]. Так, показано, що надмірна генерація довгої нкРНК 3, яка експресує на материнській алелі (maternally expressed 3, MEG3), супроводжується активацією експресії протеїну p53, що сприяє вивільненню цитохрому C, який активує механізми каспаза-3-залежного апоптозу в TGF- β 1-стимульованих клітинах LX-2. Рівень експресії MEG3 вірогідно знижений у фіброзованій тканині печінки людини та миші. Довга нкРНК MEG3 є мішенню miR-136, рівень генерації якої підвищений при неалкогольній жировій хворобі печінки (НАЖХП). Таким чином, miR-136, пригнічуючи експресію довгої нкРНК MEG3, відіграє значну роль в активації зірчастих клітин печінки і прогресуванні фіброзу печінки, в тому числі і при розвитку НАЖХП [12, 32]. Також встановлено, що прямою мішенню miR-26a, експресія якої є характерною для клітин гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК), є ген ДНК-метилтрансферази 3b (DNA methyltransferase 3b, DNMT3B). Надекспресія miR-26a супроводжується зниженням рівня експресії DNMT3B. Водночас miR-26a-інгібована експресія DNMT3B призводить до посилення експресії транскрипту MEG3. Високий рівень генерації MEG3 пригнічує проліферацію, інвазію та міграцію клітин ГЦК [16].

МікроРНК-опосередкована регуляція альтернативного сплайсингу

Під сплайсингом (splicing — зрощування канатів без вузлів) пре-мРНК розуміють видалення копій інтронів і з'єднання копій екзонів в єдину зрілу мРНК. Сплайсинг був відкритий у 1977 році Ф. Шарпом і Дж. Робертсом (MIT, Массачусетський технологічний інститут, США). Із вирізаних інтронів сплайсується більшість пре-мікроРНК. Альтернативний сплайсинг — це динамічний і гнучкий процес, під час якого з пре-мРНК повністю або частково видаляються інтрони, а також деякі екзони, у зв'язку з чим відбувається утворення різної кількості РНК-копій екзонів одного гена в різних транскриптах. Комбінації екзонів лежать в основі різноманіття зрілих мРНК, утворених в результаті альтернативного сплайсингу. Альтернативний сплайсинг пре-мРНК є найважливішим механізмом розширення спектра транскриптому у клітині. Таким чином, один ген може породжувати не одну, а кілька протеїнових ізоформ. Альтернативний сплайсинг регулюється приблизно 200 РНК-зв'язуючими протеїнами — факторами сплайсингу [1, 2, 7, 25]. Результати досліджень, проведених з використанням методів секвенування, свідчать про те, що пре-мРНК більше 90 % генів людини піддаються альтернативному сплайсингу [21]. Так, показано, що більше 22 000 тканиноспецифічних транскриптів утворюються в результаті альтернативного сплай-

сингу [18, 31]. У тканинах головного мозку, печінки та яєчок спостерігається найбільш широке розмаїття транскриптів, формування яких обумовлене альтернативним сплайсингом [35]. Дослідники медичного центру університету Канзасу (США) [11, 22] при профілюванні транскриптому печінки миші в ембріональному і постнатальному періодах продемонстрували, що серед 21 889 унікальних анотованих генів NCBI RefSeq 7289 генів по-різному експресують у різні вікові періоди, а для 859 генів характерні сплайсовані транскрипти.

Всі пре-мРНК транскрибованих РНК-полімераз (РНКП) II, перш ніж експортуватися з ядра до цитоплазми клітини, повинні пройти кілька процесингових подій: процесинг 5'-кінця і 3'-кінця, редагування і сплайсинг молекули. Сплайсинг виконує спеціалізоване макромолекулярне утворення — супрасплайсосома, в екзон-інтронних переходах якої (сайтах донорів і акцепторів) розпізнаються добре охарактеризовані сплайсинг-консенсусні послідовності. Супрасплайсосома є мегакомплексом (21 MDA) ядерного рибонуклеопротеїну. Вона складається з чотирьох сплайсинг-активних субструктур — наївних сплайсосом, пов'язаних з пре-мРНК. У свою чергу, основними компонентами сплайсосоми є низка малих ядерних рибонуклеопротеїнів (small nuclear ribonucleoprotein particles, snRNP): U1, U2, U4/U6 і U5. Сплайсосома фізично пов'язана з хвостом РНКП II і здатна виконувати сплайсинг будь-якої пре-мРНК незалежно від її довжини або числа інтронів, які вона містить [26].

З огляду на те, що сплайсинг безпосередньо пов'язаний з транскрипцією [25], було запропоновано дві моделі епігенетичної регуляції сплайсингу: кінетична модель і модель рекрутингу. Згідно з кінетичною моделлю, епігенетичні модифікації впливають на швидкість функціонування РНКП II. Уповільнення швидкості роботи РНКП II обумовлює збільшення тимчасового періоду, протягом якого можливе здійснення розпізнавання й делеціювання інтронів факторами сплайсингу. При високій швидкості функціонування РНКП II фактори сплайсингу через дефіцит часу фізично не встигають розпізнати та видалити інтрони ділянки пре-мРНК (рис. 1) [20].

В основі моделі рекрутингу лежить уявлення про те, що регуляція сплайсингу здійснюється за рахунок залежного від епігенетичних механізмів зміни спектра та швидкості рекрутування факторів сплайсингу [13].

МікроРНК беруть активну участь у сплайсингу [15]. М. Alló та співавт. [3] продемонстрували, що близько 80 % кластерів AGO1 пов'язані з клітинно-специфічними енхансерами, причому більшість із них (73 %) є активними енхансерами. Дана асоціація опосередкована довгими енхансерними РНК і більш актуальна для внутригенних, ніж для міжгенних енхансерів. Протеїн AGO1, пов'язаний з енхансером, асоційований не з регуляцією транскрипції генів, а з контролем конститутивного й альтернативного сплайсингу. М. Alló та співавт. [4] встановили, що дуплексні мікроРНК, які спрямовані на інтронні послідовності, розташовані поблизу альтернативних екзонів, регулюють сплай-

синг. Активність RNAi-асоційованого альтернативного сплайсингу пов'язана зі збільшенням диметилювання Lys9 (H3K9me2) і триметилювання Lys27 гістону H3 (H3K27me3) [3]. Вважають, що зв'язування комплексів мікроРНК/AGO поблизу промоторів впливає на кінетику елонгації транскрипції і тим самим змінює результат альтернативного сплайсингу ізоформ. Комплекс miRISC, зв'язуючись з транскриптом, який зароджується, порушує рекрутинг сплайсосоми та пригнічує сплайсинг, не зачіпаючи транскрипцію пре-мРНК. Також мікроРНК можуть модулювати активність різних факторів сплайсингу. Зокрема, було показано, що кілька мікроРНК регулюють фактори альтернативного сплайсингу, який впливає на профілі експресії мРНК (рис. 2) [9, 17].

Альтернативний сплайсинг і генерація різноманітних ізоформ протеїнів призводять до молекулярних наслідків, які зумовлюють розвиток різних патологічних станів. Показано, що 50–60 % із 31 250 патогенних мутацій генів асоційовані зі сплайсингом; близько 16 % цих мутацій розташовані безпосередньо в сайтах сплайсингу [33].

В основі захворювань печінки можуть лежати дефіцит факторів сплайсингу і дерегуляція альтернативного сплайсингу, зумовлені дією мікроРНК [33]. Використовуючи аналіз qPCR, вестерн-блот, E. Sokół та співавт. [27] продемонстрували, що miR-10b-5p, miR-203a-3p беруть активну участь у регуляції експресії фактора SRSF1, miR-183-5p, miR-200c-3p — фактора SRSF2 і miR-135a-5p, miR-149-5p — фактора hnRNP A1. МікроРНК, які націлені на мРНК факторів SRSF1 і SRSF2, залучені в регуляторну петлю зворотного зв'язку, а мікроРНК miR-183-5p і miR-200c-3p, мішенню яких є фактор SRSF2, впливають на експресію генів, що беруть участь у регуляції апоптозу клітин.

У хворих із НАЖХП спостерігається зменшення представництва факторів сплайсингу, включаючи SRSF10, SRSF7, SF3A1, SRSF2, SFPQ і HNRNPs A1, K, D і H, в тканині печінки [33]. J. Pihlajamäki

та співавт. [23] показали, що нокдаун SRSF10 збільшує ліпогенез *in vitro* в клітинах HepG2. У гетерозиготних мишей *Srsf10* +/– з делецією гена *Srsf10* спостерігається підвищення рівня тригліцеридів у сироватці крові через неправильний сплайсинг мРНК ліпопротеїну ліпіну-1 (LPIN1). Автори підкреслюють, що LPI1β-специфічна міРНК скасовує ліпогенний ефект зниження експресії фактора сплайсингу SFRS10. Цілком імовірно, що дефіцит генерації LPI1β-специфічної міРНК призводить до зниження експресії SFRS10, що змінює сплайсинг мРНК LPIN1. Інакше сплайсингування мРНК LPIN1 індукуює ліпогенез і, отже, сприяє розвитку метаболічних порушень, що призводять до акумуляції жиру.

Дефіцит деяких факторів сплайсингу супроводжується тяжким ураженням печінки. Так, делеція гена SR-білкового сплайсуючого фактора 2 (splicing factor 2, *Srsf2*) у клітинах печінки в мишей супроводжується розвитком тяжкої летальної печінкової недостатності. SR-протеїни являють собою родину РНК-зв'язуючих білків, що містять сигнальний домен RS, збагачений серин/аргініновими повторами. Відомо, що фактор сплайсингу SRSF2 безпосередньо контролює експресію транскрипційних факторів, які в основному відповідають за енергетичний гомеостаз і метаболізм жовчних кислот, зокрема *c/EBPα*, *SREBF1c*, *PPARα* і *NR1H3*. Фактор сплайсингу SRSF2 також прискорює експресію гена *Ebp*, який бере участь у синтезі холестерину, генів *Slc27a5* і *Baat*, асоційованих з кон'югацією жовчних кислот. Гени *Slc27a5* і *Baat* кодують ферменти, що відповідають за перетворення некон'югованих жовчних кислот в кон'юговані жовчні кислоти, а дефекти їх експресії асоційовані з холестазом [8].

Порушення альтернативного сплайсингу, що стимулюють проліферацію, запобігають апоптозу та підтримують трансформацію клітин, є патогномічним явищем при злоякісних пухлинних процесах [30]. Однак вплив окремих факторів сплайсингу залежить від клітинного контексту. Так, надекспресія

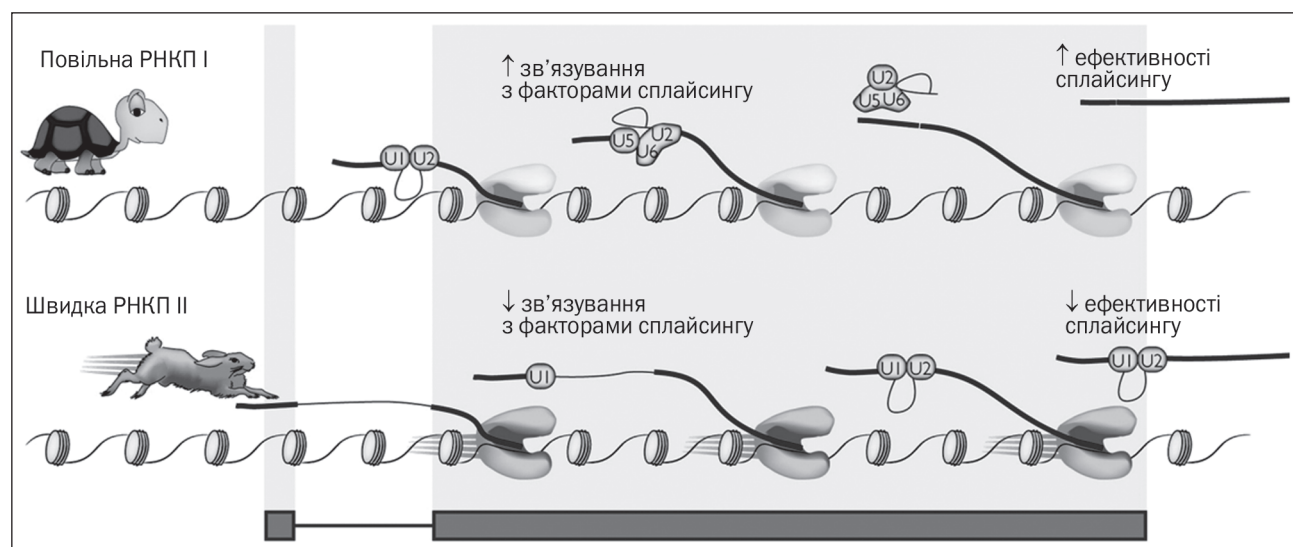


Рисунок 1. Кінетична модель регуляції сплайсингу [20]

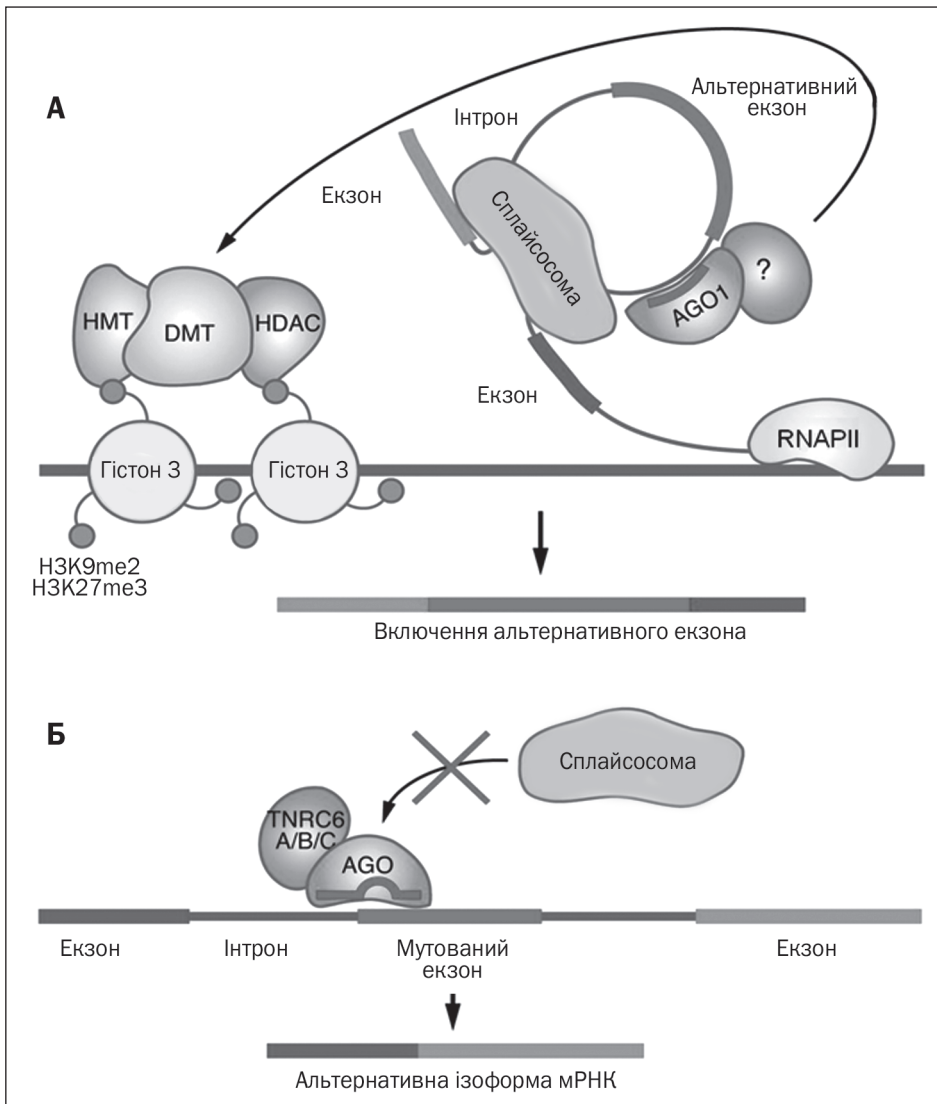


Рисунок 2. Участь мікроРНК у регуляції сплайсингу [14]

Примітки: А — мікроРНК-опосередковане зв'язування AGO сприяє модифікації гістонів, змінюючи швидкість транскрипції й альтернативний сплайсинг; Б — комплекс miRISC блокує асоціацію сплайсосоми і переспрямовує альтернативний сплайсинг.

SR-протеїнових факторів сплайсингу SRSF1, SRSF3 і SRSF10 супроводжується трансформацією фібробластів, індукує зростання пухлини у голих мишей. Вважають, що дані SR-протеїни є протоонкогенами. З іншого боку, делеція гена *Srsf3* у гепатоцитах мишей також призводить до розвитку раку печінки, а в клітинах ГЦК людини зареєстровано зниження рівня експресії фактора сплайсингу SRSF3 [33]. Дослідження глобального клітинного альтернативного сплайсингового ландшафту більше 377 зразків тканини печінки з The Cancer Genome Atlas (TCGA), проведене М.-Р. Tremblay та співавт. [28], дозволило виділити 45 000 подій альтернативного сплайсингу. Були ідентифіковані 3250 сплайсингованих транскриптів, асоційованих з розвитком ГЦК. У клітинах ГЦК спостерігається зміна рівня майже трьох десятків факторів сплайсингу (U2AF2, SF3A2, RBM8A, RBM4, PRPF4B, NOVA1, KHSRP, HNRPU, HNRPL, HNRPH1, HNRPC, HNRPA1 та

ін.), та зміни кожного з них роблять свій внесок у структуру транскриптому. Так, нокаут гена *SF3A2* справляє вірогідний вплив на структуру спектра сплайсингованих транскриптів *BCL2L1*, *C11ORF4*, *DRF1*, *FANCA*, *FN1.3*, *POLB*, *PTPN13*, *SHC1* і *TNFRSF10B* у всіх клітинних лініях, але не впливає на профіль численних сплайсингованих транскриптів, таких як *BCMP11*, *CCL4*, *CTNNA1*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FN1.2*, *GAPD*, *GATA3*, *GNB3*, *HNRPA8*, *HSC20*, *PAXIP1*, *PTK2*, *PTK2B*, *RAD52*, *RSN*, *SHMT1*, *STM1* і *TLK1*.

Цікавим є те, що miR-193a-3p репресує трансляцію мРНК фактора сплайсингу SRSF2 [19]. Експресія miR-193a (без відмінностей між miR-193a-3p і miR-193a-5p) ідентифікована в усіх тканинах, в тому числі в тканині печінки, за винятком тканин сечового міхура, деяких структур головного мозку (гіпокампа, прилеглого ядра (nucleus accumbens), спинного мозку) і шийки матки [6, 10]. Фактор SRSF2 бере участь переважно у сплайсингу транскриптів мРНК каспаз, сприяючи формуванню її антиапоптоїчної сплайсованої форми. Таким чином, miR-193a, регулюючи експресію SRSF2, бере участь у регуляції проліферативної відповіді гепатоцитів і перешкоджає розвитку ГЦК [17, 19].

Висновки

Таким чином, складовими механізмами дії внутрішньоядерних мікроРНК є змінювання транскриптому нкРНК та участь у регуляції альтернативного сплайсингу. МікроРНК-опосередкована регуляція стабільності довгих нкРНК обумовлює зміну спектра активності експресії епігенетично регульованих генів. Довгі нкРНК беруть активну участь у розвитку деяких захворювань печінки. Альтернативний сплайсинг є невід'ємною частиною диференціювання клітин і сприяє становленню специфічності тканини. Альтернативний сплайсинг і генерація різноманітних ізоформ протеїнів призводять до молекулярних наслідків, які зумовлюють розвиток різних патологічних станів.

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

References

- Dymshiits GM, Sablina OV. Gaped genes and splicing. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2014;18(1):71-80. (in Russian).
- Sicherbich VV, Buchatsky LP. Group of alternatives and splicing phenomenon. Problems of ecological and medical genetics and clinical immunology. 2013;(115):30-38. (in Russian).
- Alló M, Agirre E, Bessonov S, et al. Argonaute-1 binds transcriptional enhancers and controls constitutive and alternative splicing in human cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Nov 4;111(44):15622-15629. doi:10.1073/pnas.1416858111.
- Alló M, Buggiano V, Fededa JP, et al. Control of alternative splicing through siRNA-mediated transcriptional gene silencing. Nat Struct Mol Biol. 2009 Jul;16(7):717-724. doi:10.1038/nsmb.1620.
- Broughton JP, Pasquinelli AE. A tale of two sequences: microRNA-target chimeric reads. Genet Sel Evol. 2016 Apr 4;48:31. doi:10.1186/s12711-016-0209-x.
- Carithers LJ, Ardlie K, Barcus M, et al. A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. Biopreserv Biobank. 2015 Oct;13(5):311-319. doi:10.1089/bio.2015.0032.
- Chen K, Dai X, Wu J. Alternative splicing: an important mechanism in stem cell biology. World J Stem Cells. 2015 Jan 26;7(1):1-10. doi:10.4252/wjsc.v7.i1.1.
- Cheng Y, Luo C, Wu W, Xie Z, Fu X, Feng Y. Liver-Specific Deletion of SRSF2 Caused Acute Liver Failure and Early Death in Mice. Mol Cell Biol. 2016 May 16;36(11):1628-1638. doi:10.1128/MCB.01071-15.
- Fu XD, Ares M Jr. Context-dependent control of alternative splicing by RNA-binding proteins. Nat Rev Genet. 2014 Oct;15(10):689-701. doi:10.1038/nrg3778.
- Grossi I, Salvi A, Abeni E, Marchina E, De Petro G. Biological Function of MicroRNA193a-3p in Health and Disease. Int J Genomics. 2017;2017:5913195. doi:10.1155/2017/5913195.
- Gunewardena SS, Yoo B, Peng L, et al. Deciphering the Developmental Dynamics of the Mouse Liver Transcriptome. PLoS One. 2015 Oct 23;10(10):e0141220. doi:10.1371/journal.pone.0141220.
- He Y, Wu YT, Huang C, et al. Inhibitory effects of long non-coding RNA MEG3 on hepatic stellate cells activation and liver fibrogenesis. Biochim Biophys Acta. 2014 Nov;1842(11):2204-2215. doi:10.1016/j.bbdis.2014.08.015.
- Iannone C, Valc rcel J. Chromatin's thread to alternative splicing regulation. Chromosoma. 2013 Dec;122(6):465-474. doi:10.1007/s00412-013-0425-x.
- Kalantari R, Chiang CM, Corey DR. Regulation of mammalian transcription and splicing by Nuclear RNAi. Nucleic Acids Res. 2016 Jan 29;44(2):524-537. doi:10.1093/nar/gkv1305.
- Kucherenko MM, Shcherbata HR. miRNA targeting and alternative splicing in the stress response - events hosted by membrane-less compartments. J Cell Sci. 2018 Feb 14;131(4):jcs202002. doi:10.1242/jcs.202002.
- Li Y, Ren M, Zhao Y, et al. MicroRNA-26a inhibits proliferation and metastasis of human hepatocellular carcinoma by regulating DN-MT3B-MEG3 axis. Oncol Rep. 2017 Jun;37(6):3527-3535. doi:10.3892/or.2017.5579.
- Liu Y, Ren F, Luo Y, Rong M, Chen G, Dang Y. Down-Regulation of MiR-193a-3p Dictates Deterioration of HCC: A Clinical Real-Time qRT-PCR Study. Med Sci Monit. 2015 Aug 11;21:2352-2360. doi:10.12659/MSM.894077.
- Liu Y, Liu X, Lin C, et al. Noncoding RNAs regulate alternative splicing in Cancer. J Exp Clin Cancer Res. 2021 Jan 6;40(1):11. doi:10.1186/s13046-020-01798-2.
- Ma K, He Y, Zhang H, et al. DNA methylation-regulated miR-193a-3p dictates resistance of hepatocellular carcinoma to 5-fluorouracil via repression of SRSF2 expression. J Biol Chem. 2012 Feb 17;287(8):5639-5649. doi:10.1074/jbc.M111.291229.
- Moehle EA, Braberg H, Krogan NJ, Guthrie C. Adventures in time and space: splicing efficiency and RNA polymerase II elongation rate. RNA Biol. 2014;11(4):313-319. doi:10.4161/rna.28646.
- Pan Q, Shai O, Lee LJ, Frey BJ, Blencowe BJ. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing. Nat Genet. 2008 Dec;40(12):1413-1415. doi:10.1038/ng.259.
- Peng L, Yoo B, Gunewardena SS, Lu H, Klaassen CD, Zhong XB. RNA sequencing reveals dynamic changes of mRNA abundance of cytochromes P450 and their alternative transcripts during mouse liver development. Drug Metab Dispos. 2012 Jun;40(6):1198-209. doi:10.1124/dmd.112.045088.
- Pihlajamäki J, Lerin C, Itkonen P, et al. Expression of the splicing factor gene SFRS10 is reduced in human obesity and contributes to enhanced lipogenesis. Cell Metab. 2011 Aug 3;14(2):208-218. doi:10.1016/j.cmet.2011.06.007.
- Pu M, Chen J, Tao Z, et al. Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression. Cell Mol Life Sci. 2019 Feb;76(3):441-451. doi:10.1007/s00018-018-2940-7.
- Saldi T, Cortazar MA, Sheridan RM, Bentley DL. Coupling of RNA Polymerase II Transcription Elongation with Pre-mRNA Splicing. J Mol Biol. 2016 Jun 19;428(12):2623-2635. doi:10.1016/j.jmb.2016.04.017.
- Shefer K, Sperling J, Sperling R. The Supraspliceosome - A Multi-Task Machine for Regulated Pre-mRNA Processing in the Cell Nucleus. Comput Struct Biotechnol J. 2014 Sep 28;11(19):113-122. doi:10.1016/j.csbj.2014.09.008.
- Sokół E, Kędzierska H, Czuby A, et al. microRNA-mediated regulation of splicing factors SRSF1, SRSF2 and hnRNP A1 in context of their alternatively spliced 3'UTRs. Exp Cell Res. 2018 Feb 15;363(2):208-217. doi:10.1016/j.yexcr.2018.01.009.
- Tremblay MP, Armero VE, Allaire A, et al. Global profiling of alternative RNA splicing events provides insights into molecular differences between various types of hepatocellular carcinoma. BMC Genomics. 2016 Aug 26;17(1):683. doi:10.1186/s12864-016-3029-z.
- Ulitisky I. Interactions between short and long noncoding RNAs. FEBS Lett. 2018 Sep;592(17):2874-2883. doi:10.1002/1873-3468.13085.
- Urbanski LM, Leclair N, Anczuków O. Alternative-splicing defects in cancer: Splicing regulators and their downstream targets, guiding the way to novel cancer therapeutics. Wiley Interdiscip Rev RNA. 2018 Jul;9(4):e1476. doi:10.1002/wrna.1476.
- Wang ET, Sandberg R, Luo S, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes. Nature. 2008 Nov 27;456(7221):470-476. doi:10.1038/nature07509.
- Wang X, Wang J. High-content hydrogen water-induced down-regulation of miR-136 alleviates non-alcoholic fatty liver disease by regulating Nrf2 via targeting MEG3. Biol Chem. 2018 Mar 28;399(4):397-406. doi:10.1515/hsz-2017-0303.
- Webster MW, Stowell JAW, Tang TTL, Passmore LA. Analysis of mRNA deadenylation by multi-protein complexes. Methods. 2017 Aug 15;126:95-104. doi:10.1016/j.ymeth.2017.06.009.

34. Yang JJ, Tao H, Deng ZY, Lu C, Li J. Non-coding RNA-mediated epigenetic regulation of liver fibrosis. *Metabolism*. 2015 Nov;64(11):1386-1394. doi:10.1016/j.metabol.2015.08.004.

35. Yeo G, Holste D, Kreiman G, Burge CB. Variation in alternative splicing across human tissues. *Genome Biol*. 2004;5(10):R74. doi:10.1186/gb-2004-5-10-r74.

36. Zhao T, Xu J, Liu L, et al. Computational identification of epigenetically regulated lncRNAs and their associated genes based on

integrating genomic data. *FEBS Lett*. 2015 Feb 13;589(4):521-531. doi:10.1016/j.febslet.2015.01.013.

Отримано/Received 07.12.2021

Рецензовано/Revised 22.12.2021

Прийнято до друку/Accepted 05.01.2022 ■

Information about authors

Aleksandr Abaturon, 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. Abaturon, V.L. Babych

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine

Mechanisms of action of intranuclear microRNAs.

Part 2. MicroRNA-mediated regulation of ncRNA transcriptome and alternative splicing

Abstract. The scientific review presents the mechanisms of action of intranuclear miRNAs, namely microRNA-mediated regulation of the non-coding RNA (ncRNA) transcriptome and alternative splicing. To write the article, information was searched using Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka databases. It is emphasized that a significant effect on the composition of the transcriptome is provided by microRNAs in the RNA-induced silencing complex that induce posttranscriptional degradation of long ncRNAs localized in the cell nucleus. Scientists believe that long ncRNAs are involved in the epigenetic regulation of gene silencing through chromatin remodeling. It is shown that long ncRNAs are actively involved in the development of some liver diseases. It is reported that the most important mechanism for expanding the spectrum of the transcriptome in the cell is the alternative splicing of pre-mRNA. The authors present the results of scientific studies that show that pre-mRNA of more than 90 % of human genes are subjected to alternative splicing. It is presented that splicing is performed by a specialized macromolecular formation — suprasplicesome, which is a megacomplex (21 MDA) of nuclear ribonucleoprotein. It is shown

that scientists have proposed two models of epigenetic regulation of splicing: kinetic and recruitment one. The authors reveal the main provisions of these models. MicroRNAs are actively involved in splicing. Liver disease may be based on a deficiency of splicing factors and deregulation of alternative splicing caused by the action of miRNAs. Disorders of alternative splicing, which stimulate proliferation, prevent apoptosis and support cell transformation, are a pathognomonic phenomenon in malignant tumors. Thus, the constituent mechanisms of action of intranuclear miRNAs are alteration of the ncRNAs transcriptome and participation in the regulation of alternative splicing. MicroRNA-mediated regulation of the stability of long ncRNAs causes a change in the spectrum of activity of expression of epigenetically regulated genes. Long ncRNAs are actively involved in the development of some liver diseases. Alternative splicing is an integral part of cell differentiation and contributes to the formation of tissue specificity. Alternative splicing and generation of various isoforms of proteins determine molecular consequences that cause the development of various pathological conditions.

Keywords: microRNA; miRNA; miR; transcriptome; alternative splicing; spliceosome; review