

Механізми дії цитоплазматичних мікроРНК. Частина 1. Механізми взаємодії молекул мікроРНК і мРНК. Вплив мікроРНК на трансляцію

For citation: Zdorov'e Rebenka. 2022;17(2):114-119. doi: 10.22141/2224-0551.17.2.2022.1504

Резюме. В науковому огляді наведені механізми дії цитоплазматичних мікроРНК, а саме взаємодії молекул мікроРНК і мРНК, і вплив мікроРНК на трансляцію. 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. Авторами показано, що для взаємодії мікроРНК і мРНК потрібна наявність у регіоні 3'-кінця молекули мРНК невеликих нуклеотидних послідовностей — регуляторних елементів мікроРНК (miRNA regulatory element, MRE), які комплементарні послідовностям seed-ділянки (seed — англ. «насіння, зерно») мікроРНК. Відомо, що для ініціації взаємодії мікроРНК з мРНК-мішенню необхідно лише шість нуклеотидних збігів у seed-ділянці (положення 2–8). Підкреслено, що взаємодія мікроРНК з мРНК залежить від доступності сайту зв'язування мРНК. Автори зазначають, що у процесі взаємодії мікроРНК і мРНК беруть участь аксесуарні протеїни. Відомо, що процес гібридизації мРНК і мікроРНК залежить від наявності SNP. Науковці вважають, що основною функцією цитоплазматичних мікроРНК є регуляція активності синтезу білків. Зазначено, що мікроРНК можуть репресувати й активувати процес трансляції мРНК. Крім того, деякі мікроРНК здатні як пригнічувати, так і посилювати трансляцію мРНК залежно від конкретних локальних умов і спектра факторів мікрооточення. Таким чином, механізм дії цитоплазматичних мікроРНК реалізується завдяки взаємодії мікроРНК і мРНК, яка обумовлена наявністю комплементарних одна одній нуклеотидних послідовностей особливих регіонів. Взаємодія мікроРНК з мРНК залежить від доступності сайту зв'язування мРНК, участі аксесуарних протеїнів і наявності SNP. Порушення взаємодії мікроРНК і мРНК призводять до розвитку патологічних процесів. Цитоплазматичні мікроРНК виконують свою основну функцію, а саме регуляцію активності синтезу білків, за рахунок мікроРНК-опосередкованої репресії та активації трансляції мРНК.

Ключові слова: мікроРНК; трансляція мРНК; протеїни Argonaute; огляд

Вступ

У цитоплазмі клітини мікроРНК реалізують свою дію, зв'язуючись з мРНК-мішенями.

Механізми взаємодії молекул мікроРНК і мРНК

Взаємодія мікроРНК і мРНК обумовлена наявністю комплементарних одна одній нуклеотидних послідовностей особливих регіонів. Молекули мРНК у регіоні 3'-кінця несуть невеликі нуклеотидні послі-

довності — регуляторні елементи мікроРНК (miRNA regulatory element, MRE), які комплементарні послідовностям seed-ділянки (seed — англ. «насіння, зерно») мікроРНК [25, 27].

Механізм розпізнавання мішені мікроРНК заснований на Уотсон-Криковському (Watson-Crick, WC) спарюванні 5'-проксимальної seed-ділянки мікроРНК з комплементарним сайтом MRE цільової мРНК. Спарювання WC між мікроРНК і мРНК відбувається, коли аденозин (А) з'єднується в пару з урацилом (U)

© 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: 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.

(A–U-спарювання), а гуанін (G) — з цитозином (C) (G–C-спарювання) (рис. 1). Існує і неканонічне G–U-спарювання. Деякі мікроРНК модулюють трансля-

цію, взаємодіючи з 5'UTR і/або з кодуючою ділянкою мРНК [14, 26].

Відомо, що для ініціації взаємодії мікроРНК з мРНК-мішенню необхідно лише шість нуклеотидних збігів у seed-ділянці (положення 2–8). Результати транскриптомічного методу картування сайтів зв'язування мікроРНК (Ago HITS-CLIP) показали, що значна частина мікроРНК/мРНК-мішеневих взаємодій *in vivo* опосередкована не тільки через канонічні seed-ділянки, а й через неканонічні сайти (~15–80 %) [23]. На сьогодні виділено кілька категорій сайтів зв'язування мікроРНК/мРНК (рис. 2).

Взаємодія мікроРНК з мРНК залежить від доступності

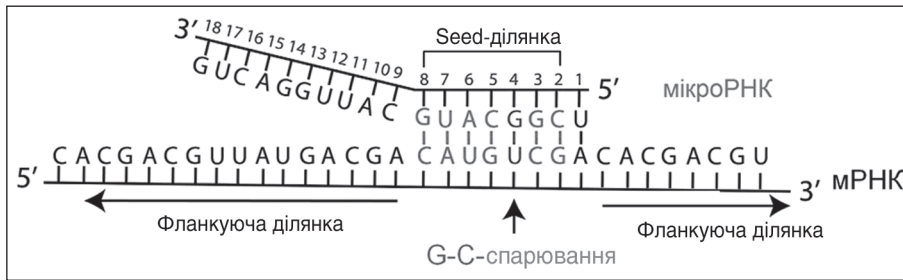


Рисунок 1. Взаємодія мікроРНК з мРНК-мішенню [21]

Примітка: номер позиції нуклеотидів у молекулі мікроРНК позначений цифрами чорного кольору. Послідовність seed-ділянки представлена нуклеотидами, які знаходяться в положенні 2–8 послідовності молекули мікроРНК. Фланкуючі ділянки послідовності молекули мРНК розташовані по обидва боки seed-ділянки мРНК. Канонічні WC-спарювання регіону послідовності seed-ділянки представлені темно-сірим кольором, неканонічні (G–C-спарювання) — світло-сірим кольором.

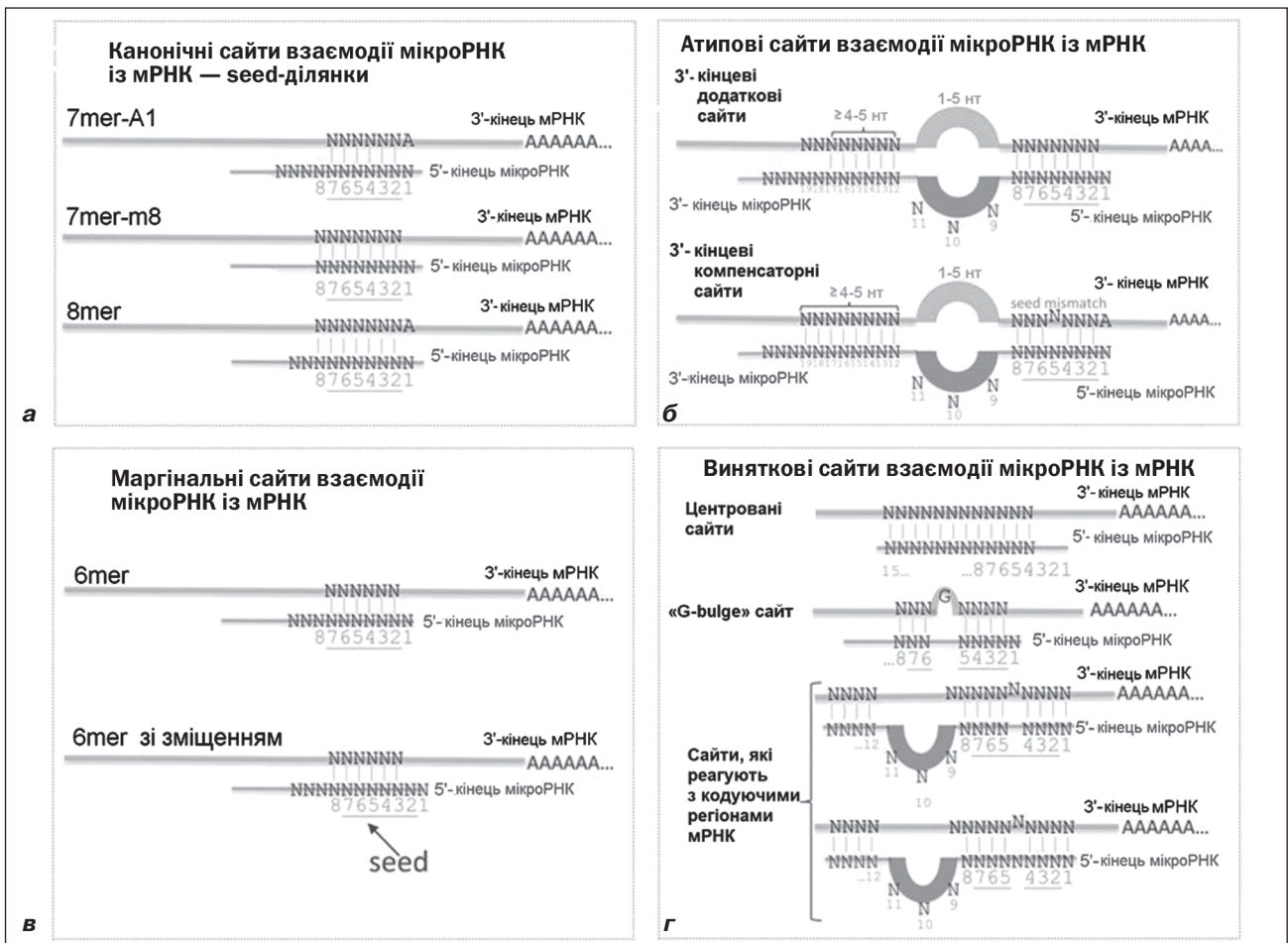


Рисунок 2. Взаємодії мікроРНК/мРНК [20]

Примітки: а) канонічні сайти взаємодії мікроРНК з мРНК — seed-ділянки — є послідовностями з 7–8 нуклеотидів, комплементарними одна одній і розташованими на 5'-кінці молекули мікроРНК і 3'-кінці мРНК; канонічні seed-ділянки поділяються на 3 групи: 7mer-A1, 7mer-m8 і 8mer; б) атипovими сайтами взаємодії мікроРНК з мРНК є 3'-кінцеві ділянки мікроРНК, що мають здатність до продуктивного спарювання з мРНК; вони представлені двома групами: 3'-кінцеві додаткові сайти і 3'-кінцеві компенсаторні сайти; в) маргінальні сайти взаємодії — це послідовності з 6 нуклеотидів, що розташовані в seed-ділянці; г) винятковими сайтами взаємодії мікроРНК з мРНК вважають центровані, G-bulge сайти і сайти мікроРНК, які взаємодіють з кодуючою ділянкою мРНК.

сайту зв'язування мРНК, оскільки після транскрипції молекула мРНК приймає вторинну структуру, яка просторово перешкоджає молекулі мікроРНК зв'язуватися з цільовим сайтом. Під доступністю сайту зв'язування мРНК розуміють міру легкості, з якою мікроРНК виявляє мРНК-мішень і гібридизує з нею. Гібридизація мікроРНК/мРНК є двохстадійним процесом: перша стадія характеризується зв'язуванням мікроРНК з ко-

роткою доступною, але не таргетною ділянкою мРНК, що призводить до розгортання вторинної структури молекули мРНК і відкриття сайту зв'язування; друга стадія являє собою зв'язування seed-ділянки мікроРНК з таргетною MRE мРНК, що знаменує завершення зв'язування мікроРНК з мРНК-мішенню [21].

У процесі взаємодії мікроРНК і мРНК беруть участь аксесуарні протеїни. Так, як платформа, на якій

реалізується мікроРНК-опосередкований сайленсинг генів, використовуються протеїни Argonaute (AGO), але, перш ніж протеїни AGO починають виконувати свою сайленсингову дію, вони забезпечують рекогніцію цільової мРНК [2]. AGO-пов'язана мікроРНК демонструє високу швидкість пошуку мішені, яка в 250 разів вища, ніж у вільної мікроРНК [22]. Показано, що один тип мікроРНК може взаємодіяти з широким спектром цільових мРНК, а в регуляції трансляції однієї мРНК беруть участь кілька різних мікроРНК. Можливо, трансляція управляється роєм мікроРНК, рівень специфічності якого залежить від умов мікросередовища [23].

Процес гібридизації мРНК і мікроРНК залежить від наявності SNP. Наявність SNP характеризується зміною послідовності нуклеотидів ниті мікроРНК, що призводить до іншого просторового формування молекули, яке позначається на процесі матурації мікроРНК та активності експресії зрілої мікроРНК. Навіть поодинокі нуклеотидні зміни в послідовності молекули мікроРНК призводять до скасування або зниження стабільності взаємодії мікроРНК і мРНК-мішеней (рис. 3). Порушення взаємодій мікроРНК/мРНК призводять до зміни фізіологічної активності експресії білок-кодуєчих генів-мішеней і, як наслідок, сприяють розвитку тих чи інших патологічних процесів. Зміна послідовності нуклеотидів мікроРНК може призвести до зміни спектра її мРНК-мішеней, порушуючи узгодженість продукції конкордантності протеїнів [1, 5, 11, 15].

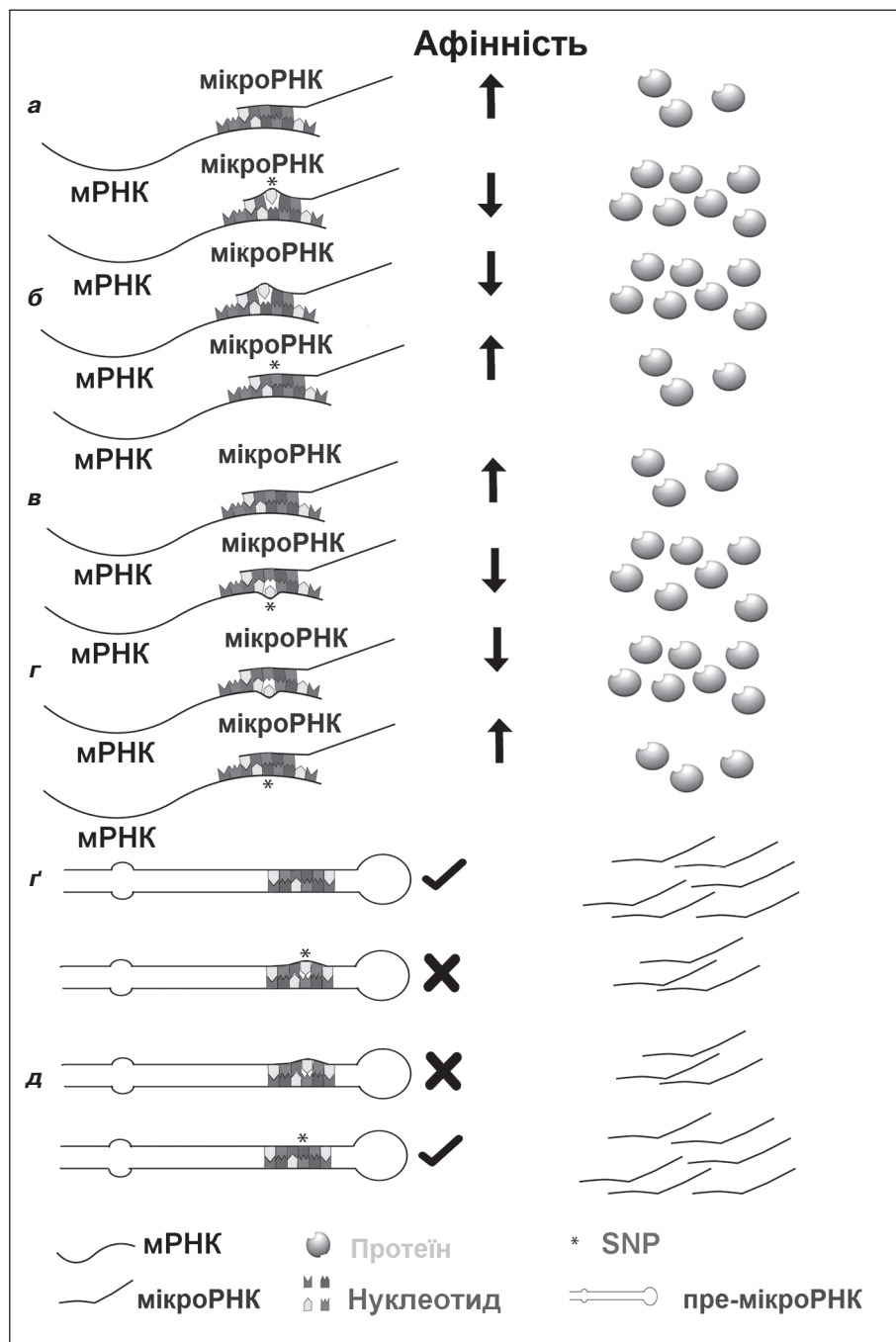


Рисунок 3. Вплив SNP на функціональну активність мікроРНК [5]

Примітки: SNP за рахунок зміни афінітету мікроРНК до таргетної мРНК можуть призводити до (а) пригнічення або (б) посилення функціональної активності мікроРНК. Однонуклеотидні поліморфізми, що наявні в сайті зв'язування мРНК-мішені, також можуть призводити до (в) зниження або (г) збільшення зв'язування мікроРНК. Також SNP супроводжується зміною вторинної структури пре-мікроРНК, (г) гальмуючи або (д) прискорюючи матурацію мікроРНК.

Вплив мікроРНК на трансляцію

Основною функцією цитоплазматично розташованих мікроРНК є регуляція активності синтезу білків. МікроРНК можуть репресувати й активувати процес трансляції мРНК [7, 24, 29]. Крім того, деякі мікроРНК здатні як пригнічувати, так і посилювати трансляцію мРНК залежно від конкретних локальних умов і спектра факторів мікрооточення [8, 10, 26].

Пригнічення активності синтезу білків здійснюється за рахунок мікроРНК-опосередкованого порушення функціонування трансляційної машинерії та посилення активності деградації молекул мРНК (рис. 4) [3, 6, 9].

Припускають, що мікроРНК-опосередковане інгібування активності синтезу білків є послідовним процесом, при якому пригнічення трансляції мРНК завершується деградацією мРНК. Цілком ймовірно, що дана послідовність подій більшою мірою відображає кінетичні особливості процесу, а не причинно-наслідковий зв'язок між трансляційною репресією та деградацією мРНК. З мікроРНК-опосередкованою трансляційною репресією асоційовано близько 6–25 % від обсягу зниження кількості протеїнів, обумовленого глобальною репресією експресії білок-кодуючих генів [4, 16–18].

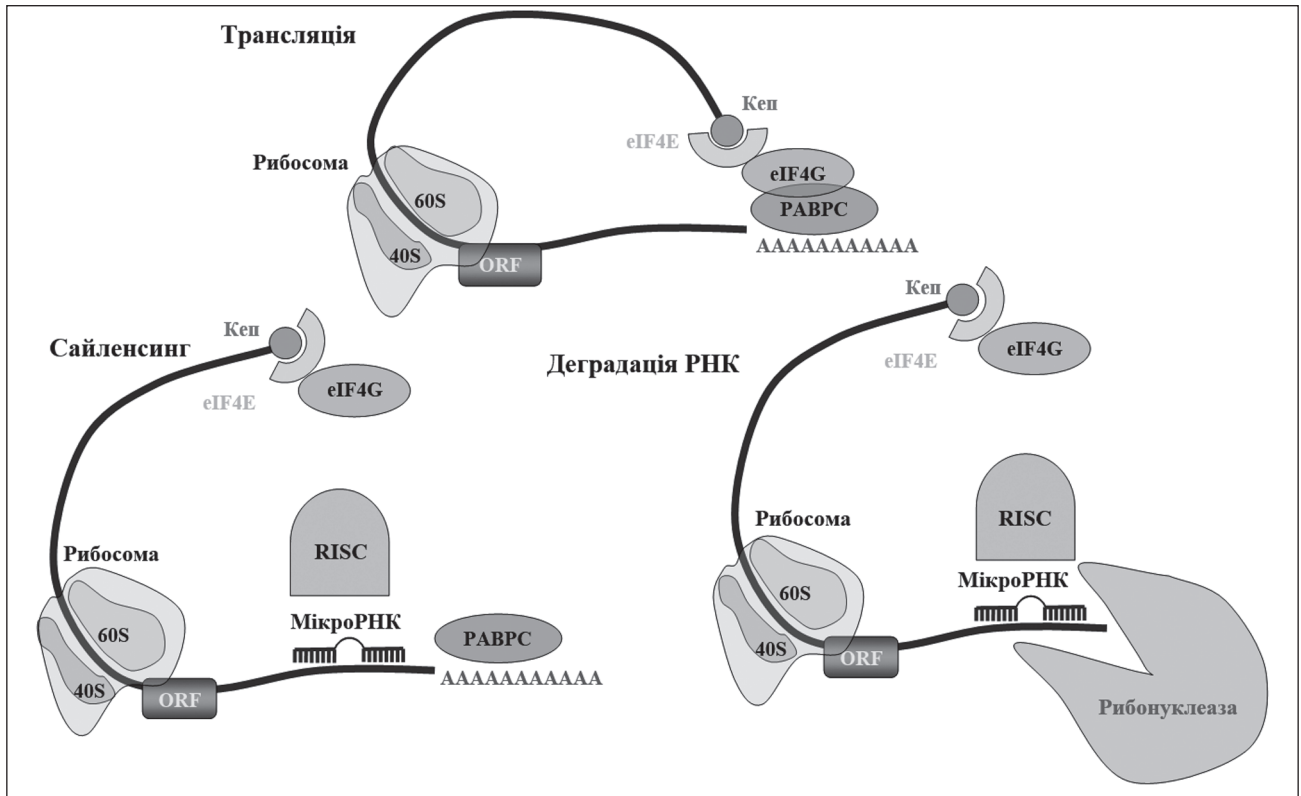


Рисунок 4. Основні механізми мікроРНК-опосередкованої репресії трансляції

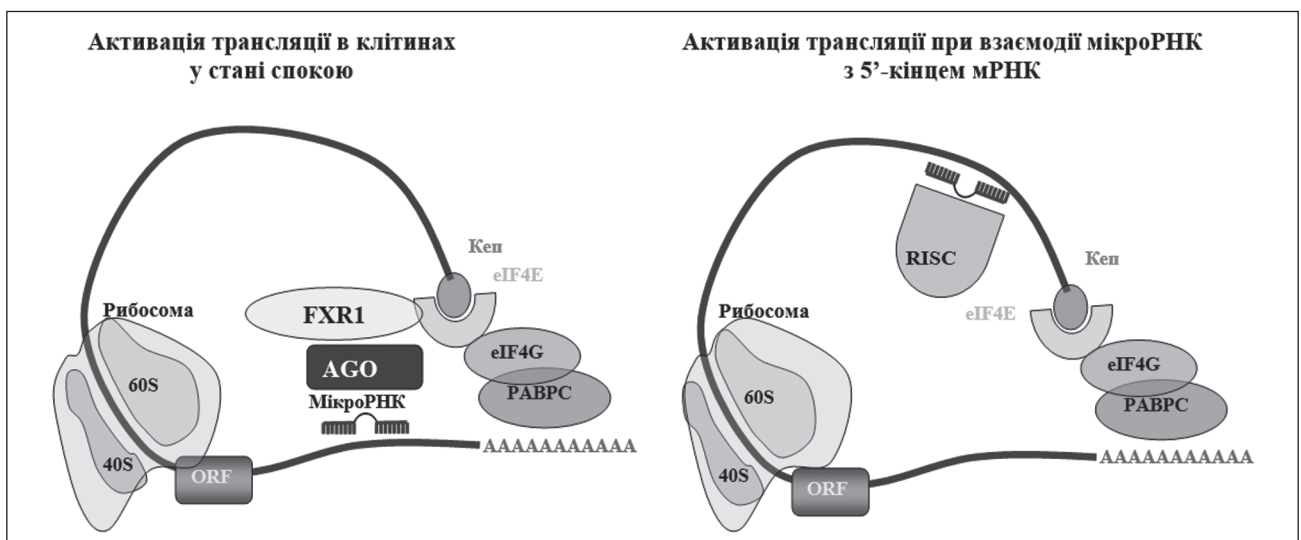


Рисунок 5. Основні механізми мікроРНК-опосередкованої активації трансляції

МікроРНК-опосередкована активація трансляції мРНК переважно проявляється при певних умовах, зокрема, під час спокою клітини та при зв'язуванні мікроРНК із неканонічними сайтами, розташованими в 5'UTR ділянці мРНК-мішені (рис. 5) [12, 13, 19, 28].

Висновки

Таким чином, механізм дії цитоплазматичних мікроРНК реалізується завдяки взаємодії мікроРНК і мРНК, що обумовлена наявністю комплементарних одна одній нуклеотидних послідовностей особливих регіонів. Взаємодія мікроРНК з мРНК залежить від доступності сайту зв'язування мРНК, участі аксесуарних протеїнів і наявності SNP. Порушення взаємодій мікроРНК/мРНК призводять до розвитку патологічних процесів. Цитоплазматичні мікроРНК виконують свою основну функцію, а саме регуляцію активності синтезу білків, за рахунок мікроРНК-опосередкованої репресії та активації трансляції мРНК.

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

References

- Auton A, Brooks LD, Durbin RM et al. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015 Oct 1;526(7571):68-74. doi:10.1038/nature15393.
- Azlan A, Dzaki N, Azzam G. Argonaute: The executor of small RNA function. *J Genet Genomics*. 2016 Aug 20;43(8):481-494. doi:10.1016/j.jgg.2016.06.002.
- Béthune J, Artus-Revel CG, Filipowicz W. Kinetic analysis reveals successive steps leading to miRNA-mediated silencing in mammalian cells. *EMBO Rep*. 2012 Aug;13(8):716-723. doi:10.1038/embor.2012.82.
- Catalanotto C, Cogoni C, Zardo G. MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci*. 2016 Oct 13;17(10):1712. doi:10.3390/ijms17101712.
- Detassis S, Grasso M, Del Vescovo V, Denti MA. MicroRNAs Make the Call in Cancer Personalized Medicine. *Front Cell Dev Biol*. 2017 Sep 22;5:86. doi:10.3389/fcell.2017.00086.
- Djuranovic S, Nahvi A, Green R. MiRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay. *Science*. 2012 Apr 13;336(6078):237-240. doi:10.1126/science.1215691.
- Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem*. 2010;79:351-379. doi:10.1146/annurev-biochem-060308-103103.
- Gebremedhn S, Ali A, Hossain M, et al. MicroRNA-Mediated Gene Regulatory Mechanisms in Mammalian Female Reproductive Health. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 19;22(2):938. doi:10.3390/ijms22020938.
- Iwakawa HO, Tomari Y. The Functions of MicroRNAs: mRNA Decay and Translational Repression. *Trends Cell Biol*. 2015 Nov;25(11):651-665. doi:10.1016/j.tcb.2015.07.011.
- Kang H. MicroRNA-Mediated Health-Promoting Effects of Phytochemicals. *Int J Mol Sci*. 2019 May 23;20(10):2535. doi:10.3390/ijms20102535.
- Karlsen TH, Lammert F, Thompson RJ. Genetics of liver disease: From pathophysiology to clinical practice. *J Hepatol*. 2015 Apr;62(1 Suppl):S6-S14. doi:10.1016/j.jhep.2015.02.025.
- 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.
- Li LJ, Leng RX, Fan YG, Pan HF, Ye DQ. Translation of non-coding RNAs: Focus on lncRNAs, pri-miRNAs, and circRNAs. *Exp Cell Res*. 2017 Dec 1;361(1):1-8. doi:10.1016/j.yexcr.2017.10.010.
- Ma X, Tao R, Li L, et al. Identification of a 5-microRNA signature and hub miRNA-mRNA interactions associated with pancreatic cancer. *Oncol Rep*. 2019 Jan;41(1):292-300. doi:10.3892/or.2018.6820.
- Manivannan A, Kim JH, Yang EY, et al. Next-Generation Sequencing Approaches in Genome-Wide Discovery of Single Nucleotide Polymorphism Markers Associated with Pungency and Disease Resistance in Pepper. *Biomed Res Int*. 2018 Jan 9;2018:5646213. doi:10.1155/2018/5646213.
- Meijer HA, Kong YW, Lu WT, et al. Translational repression and eIF4A2 activity are critical for microRNA-mediated gene regulation. *Science*. 2013 Apr 5;340(6128):82-85. doi:10.1126/science.1231197.
- Morozova N, Zinovyev A, Nonne N, Pritchard LL, Gorban AN, Harel-Bellan A. Kinetic signatures of microRNA modes of action. *RNA*. 2012 Sep;18(9):1635-55. doi:10.1261/rna.032284.112.
- Nakano M, Nakajima M. Current knowledge of microRNA-mediated regulation of drug metabolism in humans. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2018 May;14(5):493-504. doi:10.1080/17425255.2018.1472237.
- Oliveto S, Mancino M, Manfrini N, Biffo S. Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World J Biol Chem*. 2017 Feb 26;8(1):45-56. doi:10.4331/wjbc.v8.i1.45.
- Oulas A, Karathanasis N, Louloupis A, et al. Prediction of miRNA targets. *Methods Mol Biol*. 2015;1269:207-229. doi:10.1007/978-1-4939-2291-8_13.
- Peterson SM, Thompson JA, Ufkin ML, Sathyanarayana P, Liaw L, Congdon CB. Common features of microRNA target prediction tools. *Front Genet*. 2014 Feb 18;5:23. doi:10.3389/fgene.2014.00023.
- Salomon WE, Jolly SM, Moore MJ, Zamore PD, Serebrov V. Single-Molecule Imaging Reveals that Argonaute Reshapes the Binding Properties of Its Nucleic Acid Guides. *Cell*. 2016 Jul 14;166(2):517-520. doi:10.1016/j.cell.2016.06.048.
- Seok H, Ham J, Jang ES, Chi SW. MicroRNA Target Recognition: Insights from Transcriptome-Wide Non-Canonical Interactions. *Mol Cells*. 2016 May 31;39(5):375-81. doi:10.14348/molcells.2016.0013.
- Shyu AB, Wilkinson MF, van Hoof A. Messenger RNA regulation: to translate or to degrade. *EMBO J*. 2008 Feb 6;27(3):471-481. doi:10.1038/sj.emboj.7601977.
- Thomson DW, Bracken CP, Goodall GJ. Experimental strategies for microRNA target identification. *Nucleic Acids Res*. 2011 Sep 1;39(16):6845-6853. doi:10.1093/nar/gkr330.
- Valinezhad Orang A, Safaralizadeh R, Kazemzadeh-Bavili M. Mechanisms of miRNA-Mediated Gene Regulation from Common Downregulation to mRNA-Specific Upregulation. *Int J Genomics*. 2014;2014:970607. doi:10.1155/2014/970607.
- Yu D, Chen S, Li D, Knox B, Guo L, Ning B. FREMSA: A Method That Provides Direct Evidence of the Interaction between microRNA and mRNA. *Methods Mol Biol*. 2020;2102:557-566. doi:10.1007/978-1-0716-0223-2_30.
- Zhang T, Wu YC, Mullane P, et al. FUS Regulates Activity of MicroRNA-Mediated Gene Silencing. *Mol Cell*. 2018 Mar 1;69(5):787-801.e8. doi:10.1016/j.molcel.2018.02.001.
- Zhao S, Liu MF. Mechanisms of microRNA-mediated gene regulation. *Sci China C Life Sci*. 2009 Dec;52(12):1111-1116. doi:10.1007/s11427-009-0152-y.

Отримано/Received 31.01.2022

Рецензовано/Revised 14.02.2022

Прийнято до друку/Accepted 17.02.2022 ■

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 1. Mechanisms of interaction of microRNA and mRNA molecules.

Influence of microRNAs on translation

Abstract. The scientific review presents the mechanisms of action of cytoplasmic miRNAs, namely the relationship between miRNA and mRNA molecules and the influence of miRNAs on translation. To write the article, information was searched using Scopus, Web of Science, MEDLINE, PubMed, Google Scholar, Embase, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka databases. The authors state that the interaction of microRNA and mRNA requires the presence in the region of the 3'-end of the mRNA molecule of small nucleotide sequences — miRNA regulatory elements, which are complementary to the sequences of the “seed” region of microRNA. It is known that only six nucleotide matches in the “seed” region (position 2–8) are required to initiate the interaction of microRNA with the mRNA target. It is emphasized that the interaction of miRNA with mRNA depends on the availability of the mRNA binding site. The authors suggest that accessory proteins are involved in the interaction of microRNA and mRNA. It is known that the process of mRNA and miRNA hybridization depends on the presence of SNP. Scientists believe

that the main function of cytoplasmic miRNAs is to regulate the activity of protein synthesis. It is presented that microRNAs can repress and activate the mRNA translation process. In addition, some miRNAs are able to both inhibit and enhance the translation of mRNA depending on specific local conditions and the spectrum of microenvironmental factors. Thus, the mechanism of action of cytoplasmic miRNAs is realized due to the interaction of miRNAs and mRNAs, which is due to the presence of complementary nucleotide sequences of special regions. The interaction of miRNAs with mRNAs depends on the availability of the mRNA binding site, the involvement of accessory proteins, and the presence of SNP. Violations of microRNA-mRNA interactions lead to the development of pathological processes. Cytoplasmic miRNAs perform their main function, namely the regulation of protein synthesis activity, due to miRNA-mediated repression and activation of mRNA translation.

Keywords: microRNA; miRNA; miR; mRNA translation; Argonaute proteins; review