



Механізми дії цитоплазматичних мікроРНК. Частина 5. МікроРНК-опосередкований сайленсинг, що викликається в періоді ініціації і постініціації трансляції

For citation: *Child`s Health*. 2022;17(6):309-313 doi: 10.22141/2224-0551.17.6.2022.1534

Резюме. У науковому огляді подано механізми дії цитоплазматичних мікроРНК, а саме мікроРНК-опосередкований сайленсинг, що викликається в періоді ініціації і постініціації трансляції. Для написання статті здійснювалася пошук інформації з використанням баз даних Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. Відомо, що мікроРНК-опосередкований сайленсинг, що викликається в періоді ініціації трансляції, відбувається за рахунок протеїнів Argonaute, які конкурують з кеп-зв'язуючими протеїнами й еукаріотичним фактором ініціації трансляції eIF4E під час взаємодії з 5'кеп-структурою мРНК. У кеп-залежній трансляції еукаріотичний фактор ініціації eIF4E розпізнає 5'кеп і сприяє рекрутингу інших факторів ініціації, зокрема eIF4G, для складання комплексу ініціації трансляції. Також фактор eIF4G взаємодіє з деякими протеїнами РАРР, що призводить до утворення замкнутої петлі мРНК, обумовлюючи рекрутинг рибосоми. Наведено, що в періоді постініціації трансляції мікроРНК можуть: 1) викликати припинення трансляції, перешкоджаючи приєднанню або сприяючи дисоціації субодиноць рибосоми; 2) індукувати деградацію мРНК у періоді елонгації або 3) активувати деградацію і секвестрацію протеїнів. Автори показують, що мікроРНК можуть прямо або опосередковано пригнічувати функціонування рибосом, порушуючи формування компетентної 80S рибосоми, або перешкоджаючи приєднанню субодиноць рибосоми до мРНК або її просуванню по мРНК, або сприяючи дисоціації субодиноць рибосоми. Провідну роль у розвитку сайленсингу, обумовленого порушенням асоціації рибосомних субодиноць, відіграє протеїн AGO2. Автори показали, що комплекс «мікроРНК — мРНК-мішень» мігрує на більш легкі полісоми, ніж мРНК, яка не пов'язана з мікроРНК. Комплекс miRISC із мРНК і рибосомами може рекрутувати протеолітичні ферменти, які деградують виникаючий поліпептидний ланцюг. Отже, мікроРНК-опосередкований сайленсинг може викликатися в періодах ініціації і постініціації трансляції.

Ключові слова: мікроРНК; мікроРНК-опосередкований сайленсинг; період ініціації трансляції; період постініціації трансляції; огляд

Вступ

МікроРНК-опосередкований сайленсинг може викликатися в періодах ініціації та постініціації трансляції. Трансляція, процес кодованого мРНК синтезу білка, вимагає складного апарату, що складається з рибосоми, тРНК і додаткових білкових факторів, включаючи аміноацил тРНК синтетази. Рибосома

забезпечує платформу для правильного складання мРНК, тРНК і білкових факторів і несе пептидил-трансферазну активність. Він складається з малої і великої субодиноць. Рибосоми є рибонуклеопротеїновими частинками з ядром рибосомної РНК, з яким пов'язано кілька рибосомних білків. Послідовність і структура рибосомних РНК, тРНК, деяких рибосом-

© 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, завідувачий кафедрою педіатрії 1 та медичної генетики, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: alexandrabaturov56@gmail.com

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: alexandrabaturov56@gmail.com

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

них білків і деяких додаткових білкових факторів зберігаються в усіх царствах, що лежить в основі спільного походження апарату трансляції. Трансляцію можна розподілити на кілька етапів. З них ініціація є найскладнішою і найбільш розбіжною серед різних царств життя. За останні роки було накопичено велику кількість нової структурної, біохімічної і генетичної інформації щодо ініціації трансляції, що призвело до усвідомлення того, що ініціація також демонструє високий ступінь збереження протягом еволюції [8, 11, 19].

МікроРНК-опосередкований сайленсинг, що викликається в періоді ініціації трансляції

Ініціація трансляції являє собою послідовні молекулярні події, які сприятимуть рекрутингу рибосомних субодиниць. У процесі ініціації трансляції беруть участь десятки основних факторів і численні аксесуарні протеїни, як регулятори, так і репресори процесу [10].

МікроРНК-опосередкований сайленсинг, обумовлений конкуренцією протеїнів Argonaute з кеп-зв'язуючими протеїнами й еукаріотичним фактором ініціації трансляції eIF4E

Протеїни Argonaute конкурують з кеп-зв'язуючими протеїнами (cap binding proteins — CBP) та еукаріотичним фактором ініціації трансляції eIF4E під час взаємодії з 5'кеп-структурою мРНК. У савців фактор eIF4E (eIF4E1) є представником сімейства еукаріотних факторів ініціації трансляції, у яке також входять: 4Е-гомологічний протеїн 4ЕНР (eIF4E2) і eIF4E3. У низькій кількості, але повсюдно експресований, 4ЕНР взаємодіє з різними зв'язуючими партнерами, утворюючи численні білкові комплекси, які регулюють трансляцію в різних біологічних контекстах. Задokumentовані функції 4ЕНР у першу чергу стосуються його ролі репресора трансляції, але нещодавні висновки вказують на те, що він також може брати участь в активації трансляції в певних умовах [5]. Рівень показності протеїну 4ЕНР приблизно в 5–10 разів менше, ніж фактора eIF4E. На відміну від фактора eIF4E протеїн 4ЕНР не асоціюється з фактором eIF4G [17].

У кеп-залежній трансляції еукаріотичний фактор ініціації eIF4E розпізнає 5'кеп і сприяє рекрутингу інших факторів ініціації, зокрема eIF4G, для складання комплексу ініціації трансляції. Також фактор eIF4G взаємодіє з деякими протеїнами PABP, що призводить до утворення замкнутої петлі мРНК, обумовлюючи рекрутинг рибосом [18, 21]. Протеїн AGO2 зв'язується одночасно з 5'кеп-структурою і 3'UTR цільової мРНК, тому запобігає розпізнаванню кеп-фактором eIF4E. Запобігання взаємодії фактора eIF4E з кеп-структурою мРНК пригнічує початок трансляції, тому що перешкоджає молекулі мРНК приймати активну замкнуту форму, яка необхідна для ініціації трансляції (рис. 1) [1, 6, 16, 23].

МікроРНК-опосередкований сайленсинг, що викликається в періоді постініціації трансляції

З огляду на те, що стадія ініціації трансляції завершується переміщенням рибосом на мРНК, а більшість молекул мікроРНК асоціюються з полісомою, не дивно, що мікроРНК можуть впливати на процес трансляції не тільки за рахунок пригнічення в періоді ініціації, але й у періоді постініціації. У періоді постініціації трансляції мікроРНК можуть: 1) викликати припинення трансляції, перешкоджаючи приєднанню або сприяючи дисоціації субодиниць рибосом; 2) індукувати деградацію мРНК у періоді елонгації або 3) активувати деградацію і секвестрацію протеїнів [9, 14].

МікроРНК-опосередкований сайленсинг, що обумовлений порушенням функціонування рибосом

МікроРНК можуть прямо або опосередковано пригнічувати функціонування рибосом, порушуючи формування компетентної 80S рибосоми, або перешкоджаючи приєднанню субодиниць рибосом до мРНК

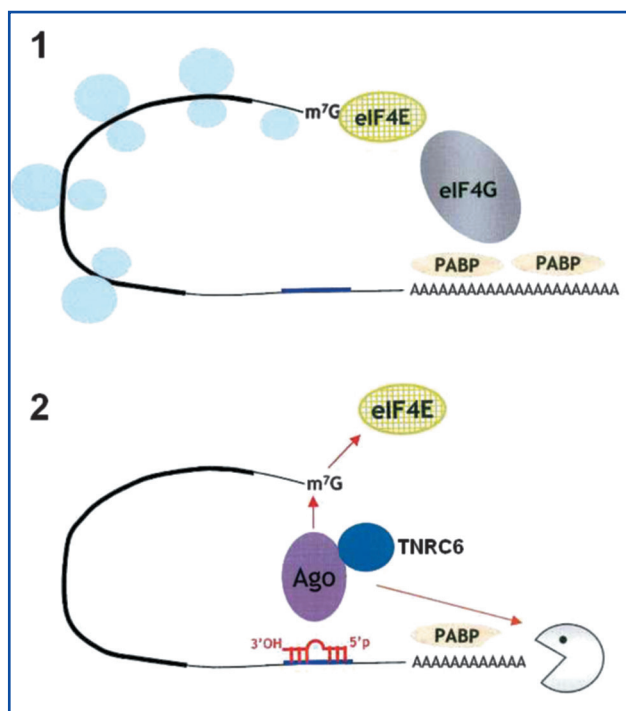


Рисунок 1. Механізм мікроРНК-асоційованого сайленсингу, обумовленого конкуренцією протеїнів Argonaute з еукаріотичним фактором ініціації трансляції eIF4E [20]

Примітка: 1) формування замкнутої петлі мРНК за рахунок взаємодії між PABP, пов'язаними з 3'полі(А)-хвостом мРНК, ініційоване фактором eIF4G, пов'язаним з фактором eIF4E; 2) комплекс протеїнів AGO і TNRC6 з мікроРНК може зв'язуватися як із 5'-кеп-структурою m7G мРНК, перешкоджаючи взаємодії фактора ініціації трансляції eIF4E з 5'-кеп, так і з цільовим сайтом 3'UTR мРНК. Обидві взаємодії перешкоджають формуванню трансляційної активної замкнутої петлі мРНК.

або її просуванню по мРНК, або сприяючи дисоціації субодиниць рибосоми.

Встановлено, що протеїни AGO рекрутують на 3'UTR цільової мРНК фактор 6 ініціації трансляції (eukaryotic translation initiation factor 6 — eIF6) [7]. Фактор eIF6 є протеїном, який запобігає складанню рибосом за рахунок зв'язування з субодиницею 60S, що порушує її взаємодію з рибосомною субодиницею 40S. У полісомі фактор eIF6 є компонентом передрибосомних частинок і бере участь у біогенезі 60S-субодиниць. Фактор eIF6 необхідний для тканинно-специфічного розвитку й трансформації, зумовленої онкогенами [12]. У клітинах як хробака, так і людини антиасоціаційний фактор eIF6 асоціюється з РНК-індукованим сайленсингом [3]. Протеїн AGO2 рекрутується на трансляційну репресовану мРНК, можливо, тому, що дані мРНК мають збільшене представництво рибосомних 40S субодиниць, які не пов'язані з субодиницями 60S. Було показано, що протеїн AGO2, рекрутуючи антиасоціаційний фактор eIF6, запобігає з'єднанню 60S субодиниць з трансляційними репресованими мРНК [4].

Комплекс miRISC може запобігати асоціації рибосомних субодиниць із цільовою мРНК або фізично перешкоджати їх просуванню уздовж молекули мРНК. Провідну роль у розвитку сайленсингу, обумовленого порушенням асоціації рибосомних субодиниць, відіграє протеїн AGO2 (рис. 2) [24].

Спочатку протеїн AGO2 визначався як протеїн, пов'язаний з рибосою, який стабілізує 40S-комплекси, асоційовані з мРНК. Протеїн AGO2 може мікроРНК-опосередкованим способом рекрутувати на мРНК і запобігти приєднанню 60S-субодиниць до мРНК [25].

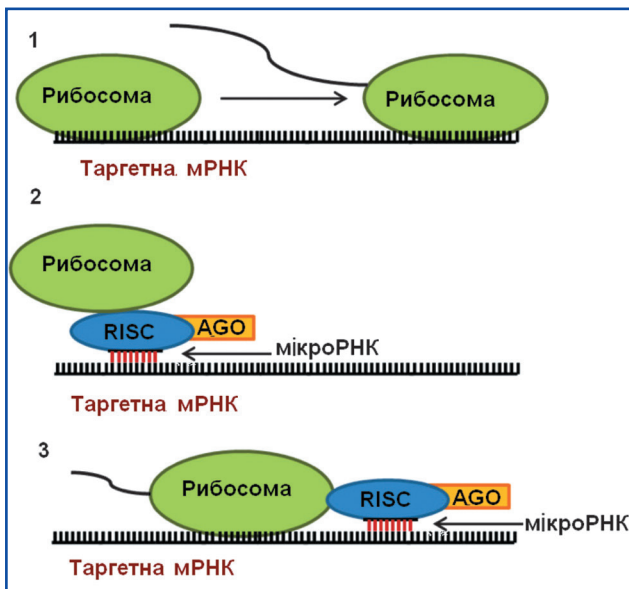


Рисунок 2. Вплив мікроРНК на функціонування рибосом [24]

Примітка: 1) елонгація трансляції; 2) комплекс miRISC запобігає асоціації рибосоми з таргетною мРНК, взаємодіючи з кеп-структурою мРНК; 3) комплекс miRISC перешкоджає просуванню рибосоми

МікроРНК-опосередкована деградація мРНК у періоді елонгації

Елонгація, або подовження, трансляції — це висококоординований процес, що включає ітераційні цикли трьох основних реакцій: декодування аміноцил-тРНК (aa-тРНК), утворення пептидного зв'язку і транслокація; ці етапи каталізуються eEF1A, великою рибосомною субодиницею (60S) і eEF2 відповідно. Рибосоми зазнають суттєвих конформаційних змін під час елонгації, чергуючи два основні стани, що відповідають пост- і претранслокаційним станам, або необоротним і оборотним (спочатку називалися класичними і гібридними станами тРНК) [2, 26].

Trinh To Tat і співавтори [22] надали докази того, що мікроРНК сприяють посиленню деградації мРНК під час активної трансляції (рис. 3).

Автори показали, що комплекс «мікроРНК — мРНК-мішень» мігрує на більш легкі полісоми, ніж мРНК, яка не пов'язана з мікроРНК. Необхідно підкреслити, що комплекси «мікроРНК — мРНК-мішень» незмінно асоційовані з полісомою. Під час трансляції виникає розпад молекули мРНК, який ініціюється декепуванням і в подальшому переходить в XRN1-

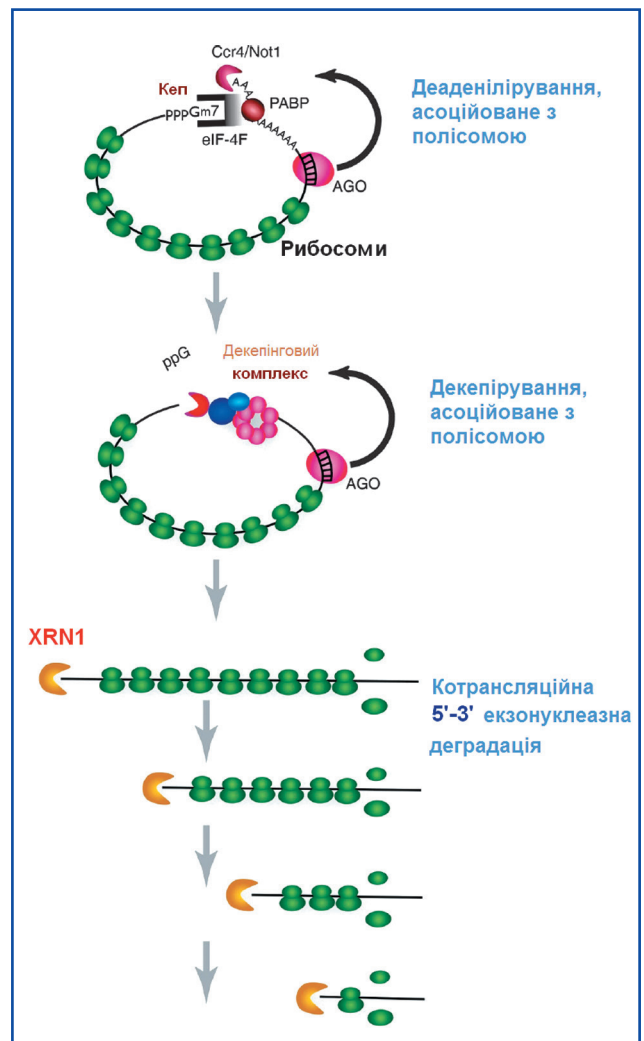


Рисунок 3. МікроРНК-опосередкована котрансляційна деградація мРНК [22]

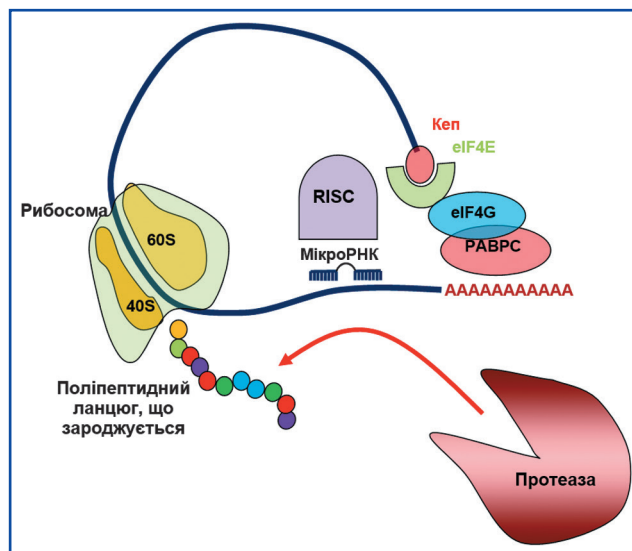


Рисунок 4. Котрансляційна деградація поліпептидної послідовності, що зароджується

опосередковану 5'-3'-деградацію мРНК до останньої трансляційної рибосоми.

Котрансляційна деградація поліпептиду, що зароджується

Комплекс miRISC із мРНК і рибосомами може рекрутувати протеолітичні ферменти, які деградує виникаючий поліпептидний ланцюг (рис. 4) [15].

Шляхи розпаду 5'-3' РНК є критичними для контролю якості й регуляції експресії генів. Структурні й біохімічні дослідження дозволили зрозуміти ключові нуклеази, які здійснюють деаденілювання, декепування й ексонуклеоліз під час 5'-3'-розпаду, але детальне розуміння того, як ці дії координуються, лише починає з'являтися [13].

Висновки

Отже, мікроРНК-опосередкований сайленсінг може викликатися в періодах ініціації та постініціації трансляції. Молекулярні події, які сприятимуть рекрутингу рибосомних субодиниць, являють собою ініціацію трансляції: мікроРНК-опосередкований сайленсінг, що обумовлений порушенням функціонування рибосом; мікроРНК-опосередкована деградація мРНК у періоді елонгації або котрансляційна деградація поліпептиду, що зароджується, викликаються в періоді постініціації трансляції мікроРНК.

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

References

1. Aguilar-Valles A, Haji N, De Gregorio D, et al. Translational control of depression-like behavior via phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 4E. *Nat Commun.* 2018 Jun 25;9(1):2459. doi: 10.1038/s41467-018-04883-5.

2. Allen G, Weiss B, Panasenکو OO, et al. Not1 and Not4 inversely determine mRNA solubility that sets the dynamics of co-translational events. *bioRxiv.* 2022. doi: 10.1101/2022.03.14.484207.

3. Brina D, Grosso S, Miluzio A, Biffo S. Translational control by 80S formation and 60S availability: the central role of eIF6, a rate limiting factor in cell cycle progression and tumorigenesis. *Cell Cycle.* 2011 Oct 15;10(20):3441-6. doi: 10.4161/cc.10.20.17796.

4. Chendrimada TP, Finn KJ, Ji X, et al. MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature.* 2007 Jun 14;447(7146):823-8. doi: 10.1038/nature05841.

5. Christie M, Igreja C. eIF4E-homologous protein (4EHP): a multifarious cap-binding protein. *FEBS J.* 2021 Nov 10. doi: 10.1111/febs.16275.

6. Da Sacco L, Masotti A. Recent insights and novel bioinformatics tools to understand the role of microRNAs binding to 5' untranslated region. *Int J Mol Sci.* 2012 Dec 27;14(1):480-95. doi: 10.3390/ijms14010480.

7. Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. GW182 interaction with Argonaute is essential for miRNA-mediated translational repression and mRNA decay. *Nat Struct Mol Biol.* 2008 Apr;15(4):346-53. doi: 10.1038/nsmb.1405.

8. Fraser CS. Quantitative studies of mRNA recruitment to the eukaryotic ribosome. *Biochimie.* 2015 Jul;114:58-71. doi: 10.1016/j.biochi.2015.02.017.

9. Hendrickson DG, Hogan DJ, McCullough HL, et al. Concordant regulation of translation and mRNA abundance for hundreds of targets of a human microRNA. *PLoS Biol.* 2009 Nov;7(11):e1000238. doi: 10.1371/journal.pbio.1000238.

10. Hinnebusch AG. Molecular mechanism of scanning and start codon selection in eukaryotes. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2011 Sep;75(3):434-67, first page of table of contents. doi: 10.1128/MMBR.00008-11.

11. Hinnebusch AG. The scanning mechanism of eukaryotic translation initiation. *Annu Rev Biochem.* 2014;83:779-812. doi: 10.1146/annurev-biochem-060713-035802.

12. Miluzio A, Beugnet A, Volta V, Biffo S. Eukaryotic initiation factor 6 mediates a continuum between 60S ribosome biogenesis and translation. *EMBO Rep.* 2009 May;10(5):459-65. doi: 10.1038/embor.2009.70.

13. Mugridge JS, Collier J, Gross JD. Structural and molecular mechanisms for the control of eukaryotic 5'-3' mRNA decay. *Nat Struct Mol Biol.* 2018 Dec;25(12):1077-1085. doi: 10.1038/s41594-018-0164-z.

14. Petersen CP, Bordeleau ME, Pelletier J, Sharp PA. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Mol Cell.* 2006 Feb 17;21(4):533-42. doi: 10.1016/j.molcel.2006.01.031.

15. Pillai RS, Bhattacharyya SN, Filipowicz W. Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms? *Trends Cell Biol.* 2007 Mar;17(3):118-26. doi: 10.1016/j.tcb.2006.12.007.

16. Piserà A, Campo A, Campo S. Structure and functions of the translation initiation factor eIF4E and its role in cancer development and treatment. *J Genet Genomics.* 2018 Jan 20;45(1):13-24. doi: 10.1016/j.jgg.2018.01.003.

17. Rhoads RE. eIF4E: new family members, new binding partners, new roles. *J Biol Chem.* 2009 Jun 19;284(25):16711-16715. doi: 10.1074/jbc.R90002200.

18. Romagnoli A, D'Agostino M, Ardiccioni C, et al. Control of the eIF4E activity: structural insights and pharmacological implications. *Cell Mol Life Sci.* 2021 Nov;78(21-22):6869-6885. doi: 10.1007/s00018-021-03938-z.

19. Shirokikh NE, Preiss T. Translation initiation by cap-dependent ribosome recruitment: Recent insights and open questions. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2018 Jul;9(4):e1473. doi: 10.1002/wrna.1473.

20. Standart N, Jackson RJ. MicroRNAs repress translation of m7Gppp-capped target mRNAs in vitro by inhibiting initiation and promoting deadenylation. *Genes Dev.* 2007 Aug 15;21(16):1975-82. doi: 10.1101/gad.1591507.
21. Takegaki J, Ogasawara R, Kouzaki K, Fujita S, Nakazato K, Ishii N. The distribution of eukaryotic initiation factor 4E after bouts of resistance exercise is altered by shortening of recovery periods. *J Physiol Sci.* 2020 Nov 4;70(1):54. doi: 10.1186/s12576-020-00781-y.
22. Tat TT, Maroney PA, Chamnongpol S, Collier J, Nilsen TW. Cotranslational microRNA mediated messenger RNA destabilization. *Elife.* 2016 Apr 8;5:e12880. doi: 10.7554/eLife.12880.
23. 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.
24. Virtue A, Wang H, Yang XF. MicroRNAs and toll-like receptor/interleukin-1 receptor signaling. *J Hematol Oncol.* 2012 Oct 18;5:66. doi: 10.1186/1756-8722-5-66.
25. Wang B, Yanez A, Novina CD. MicroRNA-repressed mRNAs contain 40S but not 60S components. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Apr 8;105(14):5343-8. doi: 10.1073/pnas.0801102105.
26. Wu CCh-Ch, Zinshteyn B, Wehner KA, Green R. High-Resolution Ribosome Profiling Defines Discrete Ribosome Elongation States and Translational Regulation during Cellular Stress. *Molecular Cell.* 2019;73(5):959-970.e5. doi: 10.1016/j.molcel.2018.12.009.

Отримано/Received 19.09.2022

Рецензовано/Revised 03.10.2022

Прийнято до друку/Accepted 10.10.2022 ■

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 5. MicroRNA-mediated silencing caused during translation initiation and post-initiation**

Abstract. The scientific review considers the mechanisms of action of cytoplasmic microRNAs, namely miRNA-mediated silencing, which is caused during the initiation and post-initiation period of 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. It is known that miRNA-mediated silencing caused during translation initiation occurs due to Argonaute proteins, which compete with cap-binding proteins and the eukaryotic translation initiation factor eIF4E during interaction with the 5'cap structure of mRNA. In cap-dependent translation, the eukaryotic initiation factor eIF4E recognizes the 5'cap and promotes the recruitment of other initiation factors, in particular eIF4G, to assemble the translation initiation complex. Also, the eIF4G factor interacts with some PABP proteins, which leads to the formation of a closed loop of mRNA, determining the recruitment of the ribosome. It is stated that in the post-initiation period of translation, microRNAs can: 1) terminate translation, preventing the attachment or promoting

the dissociation of ribosome subunits; 2) induce mRNA degradation during the elongation period or 3) activate protein degradation and sequestration. The authors state that microRNAs can directly or indirectly inhibit the functioning of ribosomes, disrupting the formation of a competent 80S ribosome, or preventing the attachment of ribosome subunits to mRNA, or its promotion along the mRNA, or promoting the dissociation of ribosome subunits. AGO2 protein plays a leading role in the development of silencing caused by disruption of the association of ribosomal subunits. The authors showed that the miRNA-mRNA-target complex migrates to lighter polysomes than mRNA that is not associated with miRNA. The miRISC complex with mRNA and ribosomes can recruit proteolytic enzymes that degrade the nascent polypeptide chain. Thus, miRNA-mediated silencing can be induced during the initiation and post-initiation periods of translation.

Keywords: microRNA; miRNA; miR; miRNA-mediated silencing; initiation period of translation; post-initiation period of translation; review