



Мир РНК. Некодирующие регуляторные РНК

Н.Н. Колесников

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

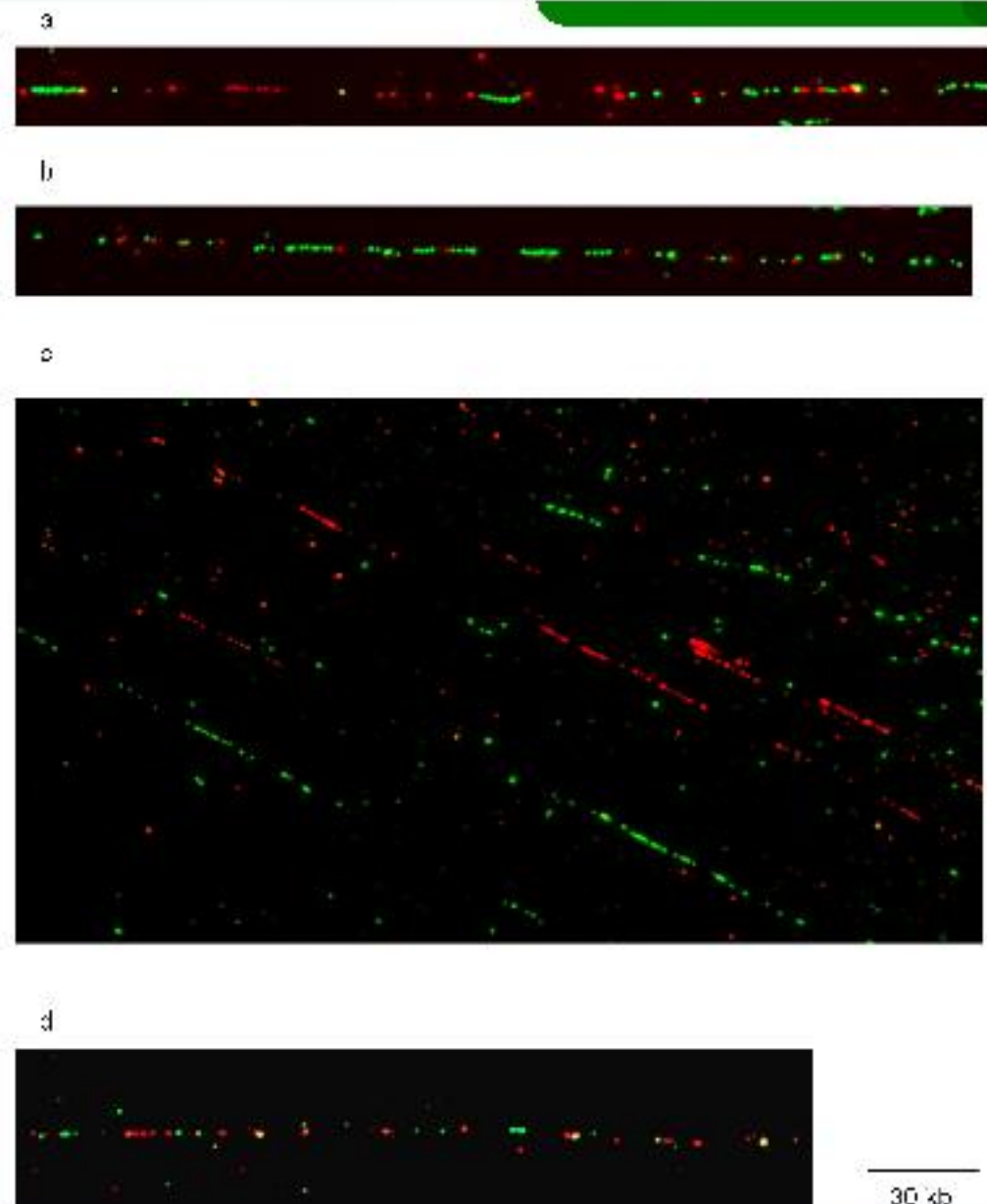


Рис.1. Флуоресцентная гибридизация *in situ* на растянутых нитях хроматина.

a, b, в локализация MS3 (зеленый) и MS4 (красный) у *M. rossiaemeridionalis*

c в локализация MS4 (красный) и LINE (зеленый) у *M. rossiaemeridionalis*

d в локализация MS3 (зеленый) и MS4 (красный) у *M. transcaspicus*

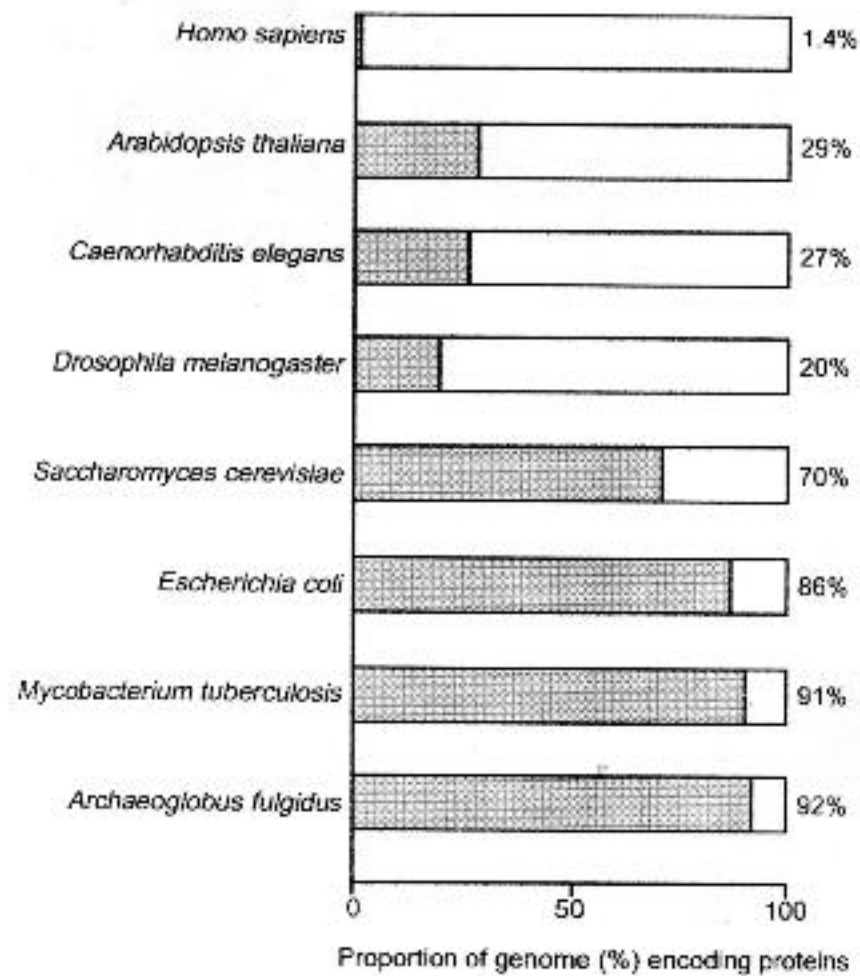


Figure 1

The percentage of protein-coding sequences (gray portions) in several eukaryotic and bacterial genomes.



Table 1

Functional classification of non-protein-coding RNA transcripts**Housekeeping RNAs**

rRNA	Translation of genetic information
rRNA	Ribosome components; catalysis of peptide bond formation
snRNA	Pre-mRNA splicing; spliceosome components
snoRNA	RNA modification, including 2'-O-methylation and pseudouridylation
RNase P RNA	Maturation of 5' ends of pre-rRNA
Telomerase RNA	Telomeric DNA synthesis; component of telomerase
4.5S RNA	Protein export in bacteria
7SL RNA	Protein export in eukaryotes
tmRNA	Trans-translation
Y RNA	Ro RNP components; function unknown
RNase MRP	Mitochondrial RNA processing

Regulatory RNAs**Transcriptional regulators**

miX RNAs and Xist/Tsix	Chromatin remodeling associated with X-chromosome inactivation and dosage compensation in eukaryotes
H19, IPW and IIT1	Regulation of expression of imprinted genes

Post-transcriptional regulators

DsrA, miC, An 4, let 7, microRNAs, HFE and LPLP-IV	Repression or stimulation of translation of regulated mRNAs in eukaryotic and prokaryotic cells via antisense RNA:RNA interactions
--	--

Modulators of protein function

6S RNA, DxyS and SRA	Modulation of protein activity via RNA-protein interactions
----------------------	---

Regulators of RNA and protein distribution

Xist and hsc-m	Effects on localization of mRNA or pre-mRNA depending on specific subcellular location of non-coding RNA
----------------	--

Extensive data concerning particular classes of non-coding RNAs have been collected; details can be found in several databases [9,67-70]. Non-coding housekeeping RNAs are out of the scope of this article. Abbreviations: snRNAs, small nuclear RNAs; snoRNAs, small nucleolar RNAs; tmRNA, transfer-messenger RNA; Y RNA, Y chromosome RNA.





Table 1. Processes affected by ncRNAs.

Process	Example	Function	Reference
Transcription	184-nt <i>E. coli</i> 6S	Modulates promoter use	(9, 14)
	331-nt human 7SK	Inhibits transcription elongation factor P-TEFb	(15, 16, 46)
Gene silencing	875-nt human SRA	Steroid receptor coactivator	(12, 17)
	16,500-nt human <i>Xist</i>	Required for X-chromosome inactivation	(12, 13)
	~100,000-nt human <i>Air</i>	Required for autosomal gene imprinting	(11)
Replication	451-nt human telomerase RNA	Core of telomerase and telomere template	(18, 46)
RNA processing	377-nt <i>E. coli</i> RNase P	Catalytic core of RNase P	(9, 19)
	186-nt human U2 snRNA	Core of spliceosome	(20, 46)
RNA modification	102-nt <i>S. cerevisiae</i> U18 C/D snoRNA	Directs 2'-O-ribose methylation of target rRNA	(21, 47)
	189-nt <i>S. cerevisiae</i> snR8 H/ACA snoRNA	Directs pseudouridylation of target rRNA	(21, 47)
	68-nt <i>T. brucei</i> gCYb gRNA	Directs the insertion and excision of uridines	(23, 24, 48)
RNA stability	80-nt <i>E. coli</i> RyhB sRNA	Targets mRNAs for degradation?	(27)
	Eukaryotic miRNA?	Targets mRNAs for degradation?	(7, 8)
mRNA translation	109-nt <i>E. coli</i> OxyS	Represses translation by occluding ribosome binding	(9, 10)
	87-nt <i>E. coli</i> DsrA sRNA	Activates translation by preventing formation of an inhibitory mRNA structure	(9, 10)
	22-nt <i>C. elegans</i> <i>lin-4</i> miRNA	Represses translation by pairing with 3' end of target mRNA	(7, 8)
Protein stability	363-nt <i>E. coli</i> tmRNA	Directs addition of tag to peptides on stalled ribosomes	(9, 28)
Protein translocation	114-nt <i>E. coli</i> 4.5S RNA	Integral component of signal recognition particle central to protein translocation across membranes	(9, 29)





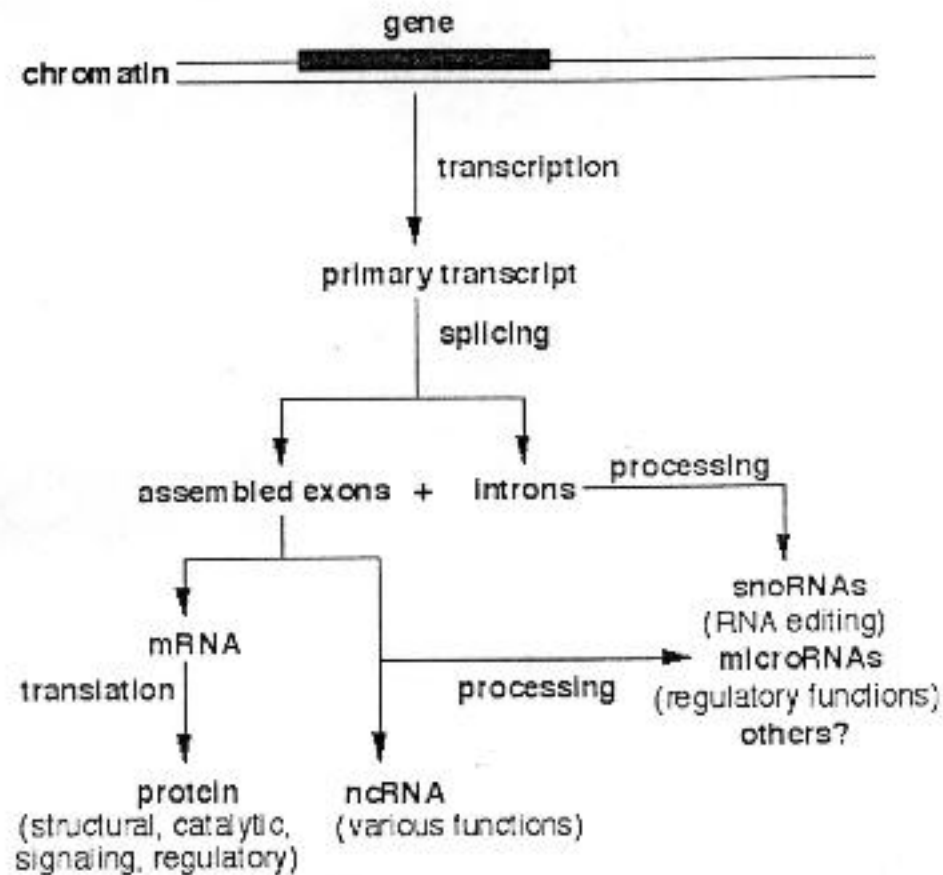


Figure 1. A revised view of the flow of genetic information in the higher eukaryotes. Primary transcripts may be (alternatively) spliced and further processed to produce a range of protein isoforms and/or ncRNAs of various types, which are involved in complex networks of structural, functional and regulatory interactions.

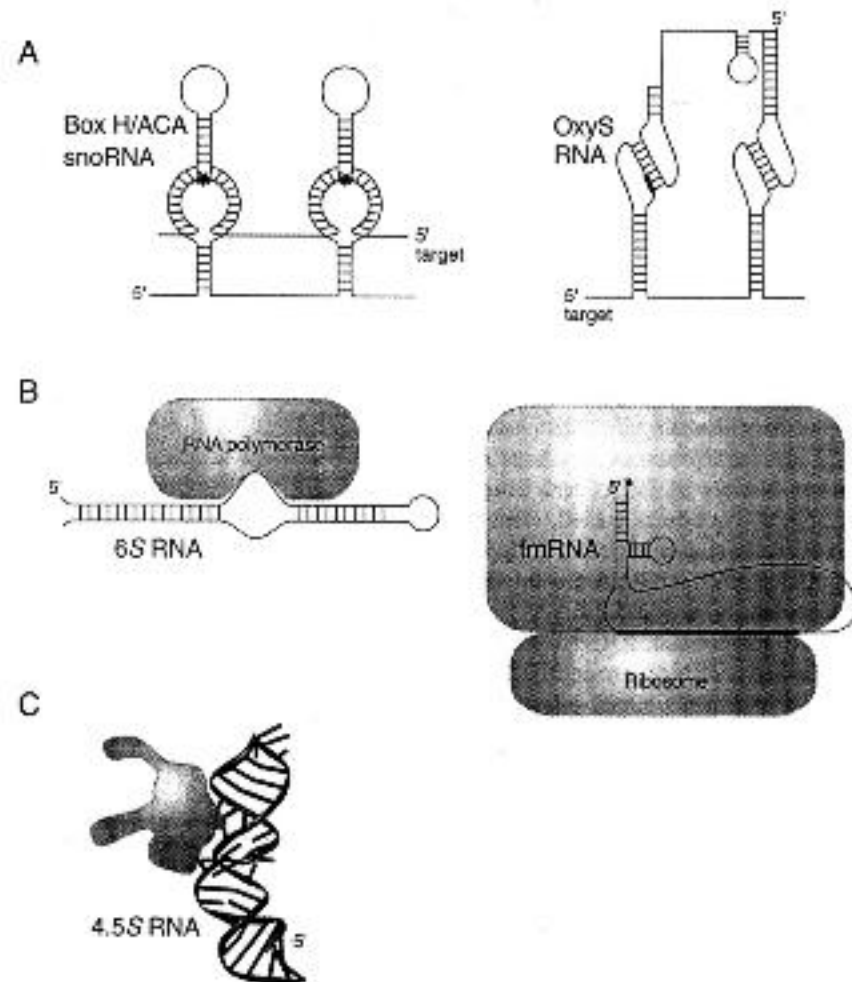


Fig. 1. Different mechanisms of ncRNA (red) action. (A) Direct base-pairing with target RNA or DNA molecules is central to the function of some ncRNAs: Eukaryotic snoRNAs direct nucleotide modifications (green star) by forming base pairs with flanking sequences, and the *E. coli* OxyS RNA represses translation by forming base pairs with the Shine-Dalgarno sequence (green box) and occluding ribosome binding. (B) Some ncRNAs mimic the structure of other nucleic acids: Bacterial RNA polymerase may recognize the 6S RNA as an open promoter, and bacterial ribosomes recognize tmRNA as both a tRNA and an mRNA. (C) ncRNAs also can function as an integral part of a larger RNA-protein complex, such as the signal recognition particle, whose structure has been partially determined (49).

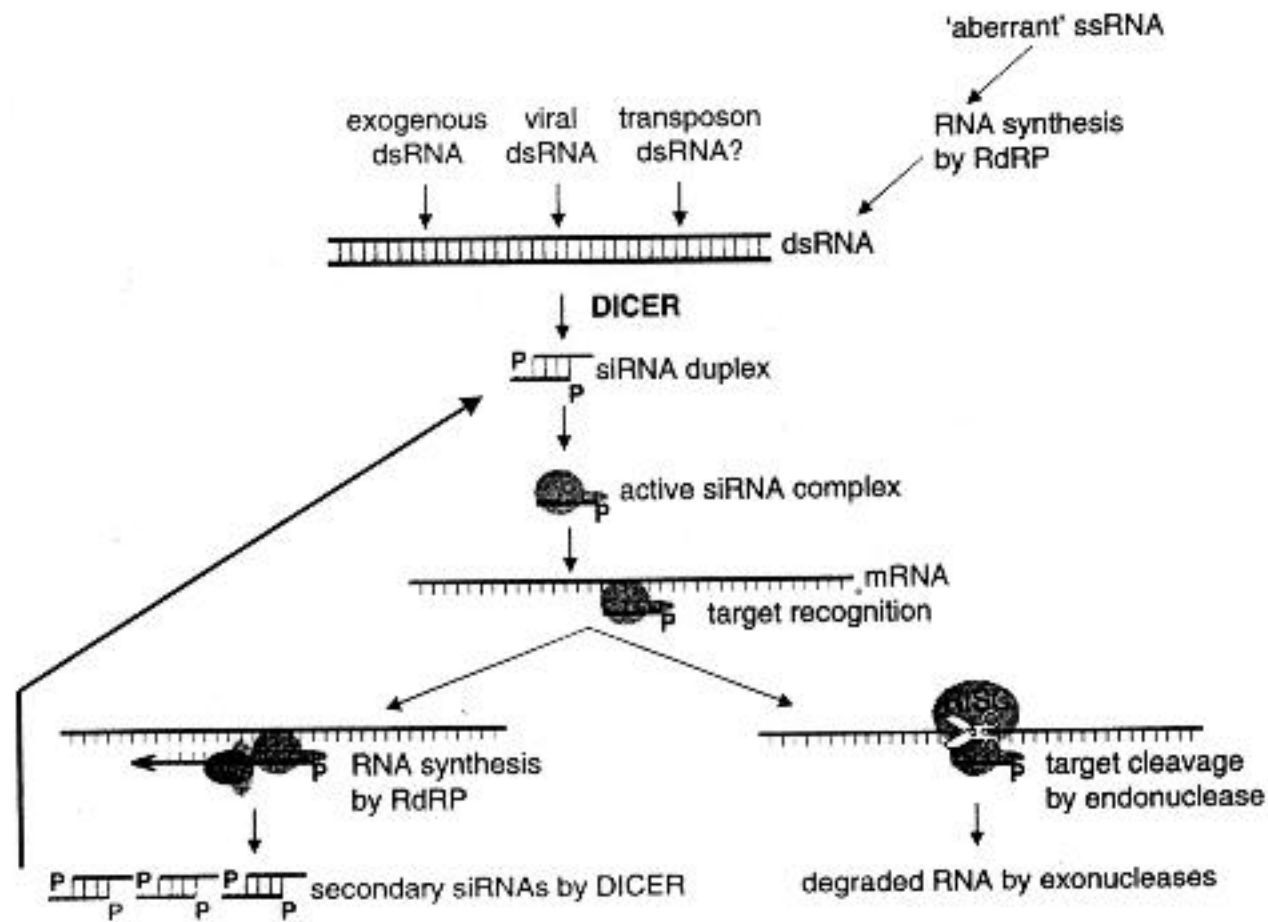


Fig. 1. A model for the molecular steps in RNA silencing.

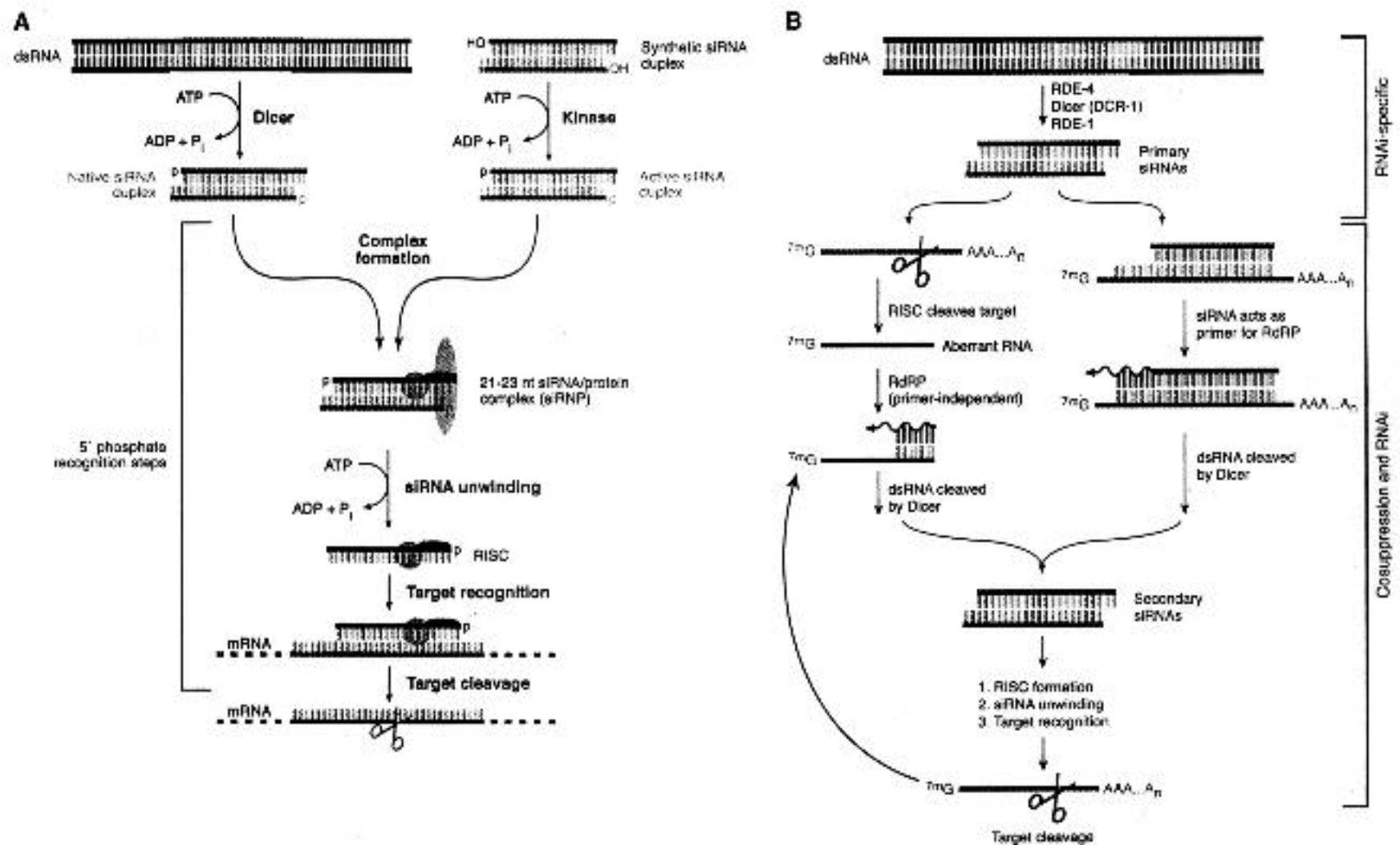
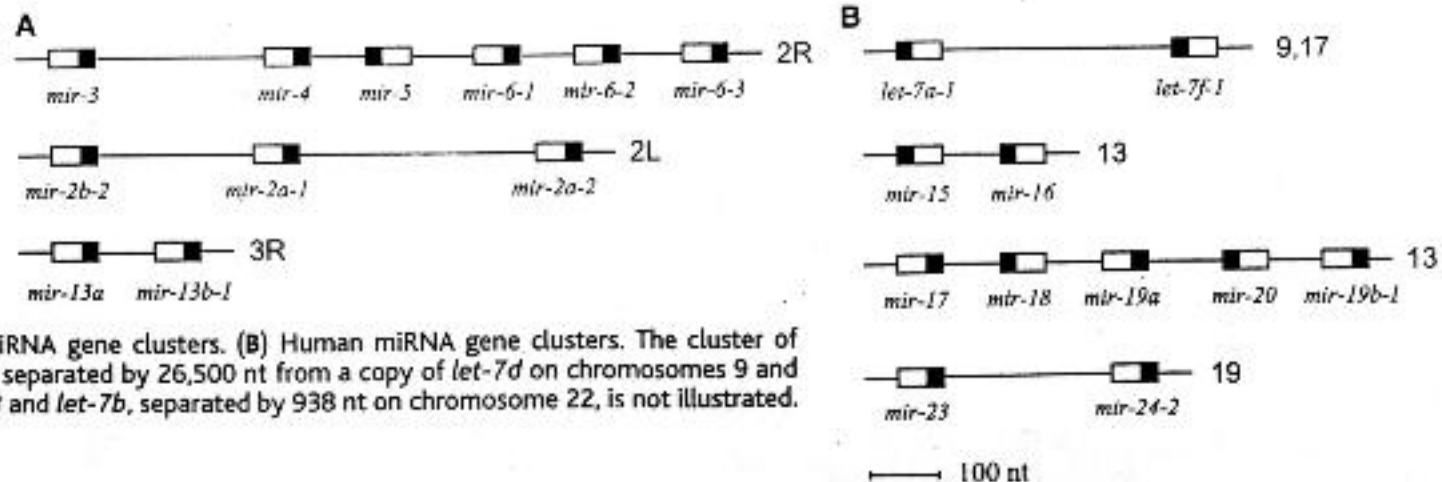


Fig. 2. Mechanisms for RNA silencing. **(A)** The "standard" model for RNAi in *Drosophila*. **(B)** A proposed but untested mechanism for RNAi and cosuppression in *C. elegans*.



Fig. 2. Genomic organization of miRNA gene clusters. The precursor structure is indicated as a box, and the location of the miRNA within the precursor is shown in black; the chromosomal location is also indicated to the right.



(A) *D. melanogaster* miRNA gene clusters. (B) Human miRNA gene clusters. The cluster of *let-7a-1* and *let-7f-1* is separated by 26,500 nt from a copy of *let-7d* on chromosomes 9 and 17. A cluster of *let-7a-3* and *let-7b*, separated by 938 nt on chromosome 22, is not illustrated.



mir-1

```

      A      C      A      AUA
5' UUC GCC GUUCCAUUCUC UGCACUC AUA GUU \
GAG CGG CGAGGATGGAAG AAGGTAAG UAU CGA U
      UCUAAG      A      U      A      ACU

```

mir-7

```

      U      U      U      U      --      UGUC
5' GAGUGCAU CGUA GGAAGAC AG GAUUG UGUUGU \
UUUACGUG GGCAG UGUUCUG UC CUAAA ACAAGAA U
      C      U      C      UA      UGGUU

```

mir-2a-1

```

      A      AUUUC UU
5' GCUUGGUC UCAAG GGUUUUA AUC GGC \
CGAUUCGAG AGUUC ACCGACACU UAGG GCG U
      U      U      A      ----      CU

```

mir-8

```

      CUUUC      U      C      UCCUU
5' AAGGACAU ACAUCUU ACC GGCAG AUAGA \
UUUUUGG UGUAGAA UGG CUUUC UAUCU U
      CCUG-      A      A      A      CAAGAC

```

mir-2a-2

```

      A      C      --      GAGAC
5' ACCU AGC UCAACAG GGUUUUUUAUAU \
UAGG UUG AGUAGUUU ACCGACACUAUAU C
      A      --      CG      GCAAC

```

mir-9

```

      --      U      U      U      --      GAU
5' GCUA UGUUG CUUUGGU A CUAGCU UAUGA GU A
CGAU AUUAU GAAGCCA U GAUUA AUACU CA A
      U      U      U      C      A      G      AUA

```

mir-2b-1

chr. 2L

```

      U      UG      --      A      C----      U
5' CU CAC UCUCAAAG UGGG GUA AUUUU C
GG GUG AGAGUUUC ACCE CACU UATAAC A
      C      CG      U      A      AGACU      A

```

mir-10

```

      CU      U      U      AGACU
5' CCACUU ACC CU UAGA CGAAUUUUUUU A
GGUGU UGG GA AUU GCUUAAACAGGA U
      UU      A      G      U      AUUUC

```

mir-2b-2

chr. 2L cluster

```

      A      --      A      UUU--      CUU
5' UUGGUC UCUCAAAG UGUUUUA AUU GC U
AGGCGAG GAGAGUUUC ACCGACACU UAC CG U
      U      U      A      UUUUC      UAU

```

mir-11

```

      U      UCU      UCC      U      ACU
5' GCACUU CAAGACUU CUUUA GCG GU U
CUUAGG GUUCUUGAG GACACU CGC CG A
      U      UCU      A--      AAA

```

mir-3

```

      C      C      G      U      UUCA
5' GAGC UGGGAUUCAU UUUU CAGU AGGC \
CUAG ACUCUUUUU AACU UUCA UACA A
      A      A      G      C      CUCU

```

mir-12

```

      UG      U      C      --      GCUU
5' UACUU AGUAA ACU AGGACUUUU GU A
GUUGCG UCADA UUAU UUCAGUACCA CA A
      CA      C      --      A      ACUA

```

mir-4

```

      U      UU      C      C      C      G2      UU
5' UUGCAU AGUUC UGGG GGC AGC UUA UGAU \
GUUUUU UUGAA ACCA CAG UCU AAU-ACUUG U
      C      UU      A      A      A      CC

```

mir-13a

chr. 3R

```

      U      C      --      A      UC--      CU
5' UACG AACUC UCAAG GGUUUUA AUU GA A
GGGC UUGAG AGUUCU ACCGACACU UAC CU U
      U      U      A      A      UCAU      AU

```

mir-5

```

      UA---      C      AGUUGG
5' GC AAAGGA GAGGUGUGGUAU \
CG UUUUUU UAGUGACACUAUAC U
      CAUA      --      AAGCCU

```

mir-13b-1

chr. 3R

```

      U      U      ACT      UACU
5' CCA G UGUUAAAAGG UUGUA UAGC C
GGU U ACCAGUUUAC GACACU AUAC A
      U      U      C      ---      UAAC

```

mir-6-1

```

      A      C      AG      UAUA
5' UUAU GUGAGAGGAUAUUGUGUGUGU \
AAAU AUGUUUUUUGUGUGUGUAC AUAU A U
      CG      U      CU      UAACA

```

mir-13b-2

chr. X

```

      UACU      G      A      GCUA      UU
5' AAC GUGAAAAGG CUGUA UUGUA U
UUU GAGUUUAC GACACU AUACU G
      GU--      A      C      ----      CA

```

mir-6-2

```

      C      UU      C      U      G
5' UAAC AAGGAAC CUGCG UGAUA CA UU A
GUUG UUUUUUUU GGGAC ACUAUAU AU AA A
      U      UC      --      C      C      A

```

mir-14

```

      C      C      C      GCUU
5' UUGGAG GAG GGGACU ACUU \
AUAUUUUU CUU UUUUGA UGAUA A
      U      U      C      AAUU

```

mir-6-3

```

      A      A      U      AAAC
5' CAA AGAAGGAACGUGUGUGU \
GUUU UUUUUUUUUGGAGAC ACUAUAU AAC U
      G      U      U      ACUC

```

Fig. 3. Predicted precursor structures of *D. melanogaster* miRNAs. RNA secondary structure prediction was performed using mfold version 3.1 (32) and manually refined to accommodate G/U wobble base pairs in the helical segments. The miRNA sequence is underlined. The actual size of the stem-loop structure is not known experimentally and may be slightly shorter or longer than represented. Multicopy miRNAs and their corresponding precursor structures are also shown.





REPORTS

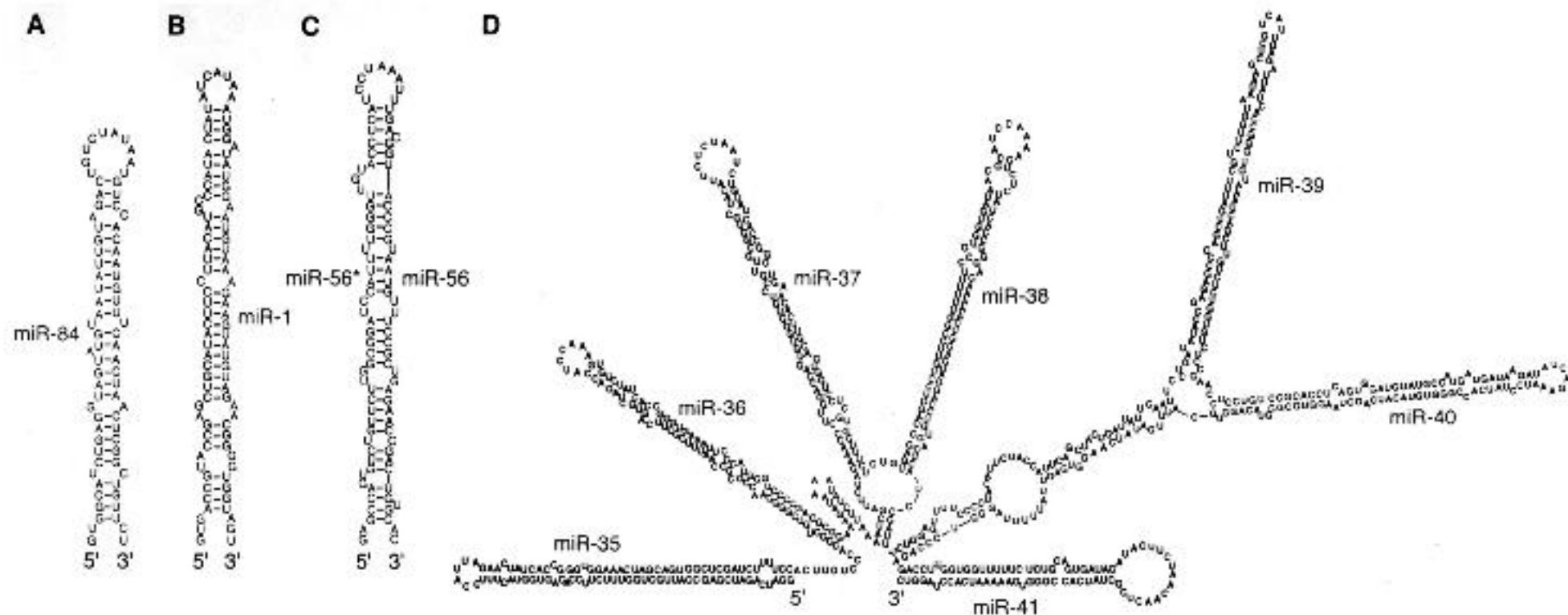
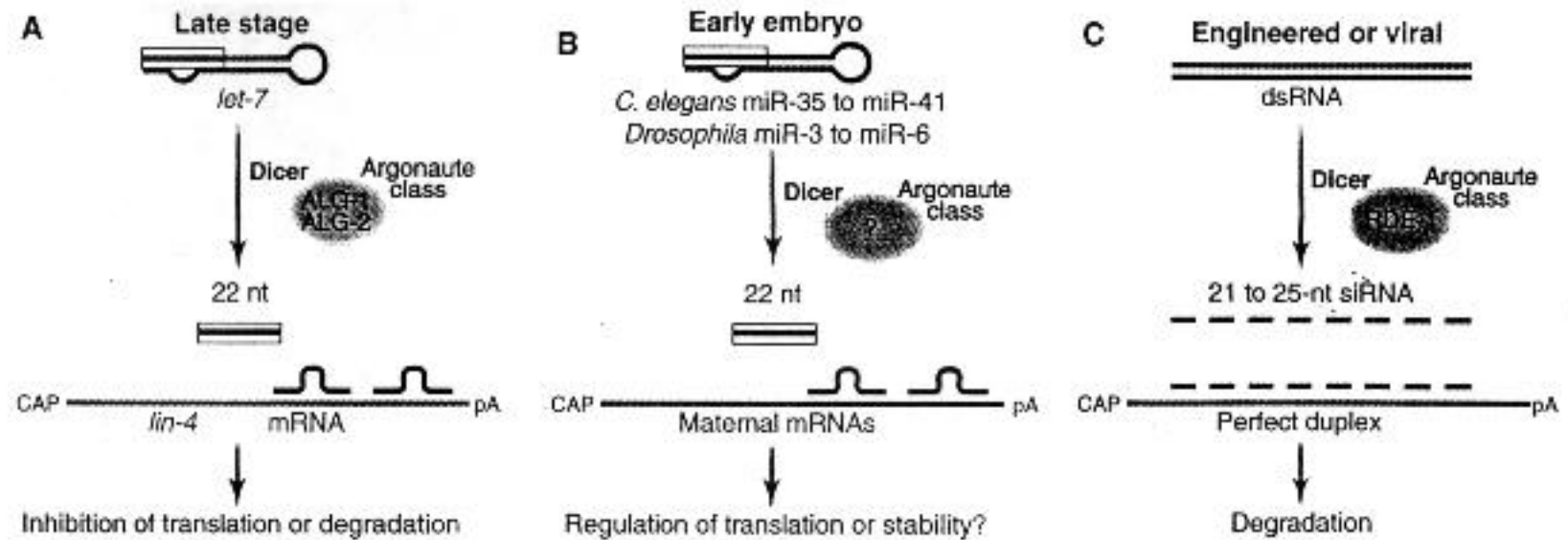


Fig. 1. Fold-back secondary structures involving miRNAs (red) and their flanking sequences (black), as predicted computationally using RNAfold (35). (A) miR-84, an miRNA with similarity to *let-7* RNA. (B) miR-1, an

miRNA highly conserved in evolution. (C) miR-56 and miR-56*, the only two miRNAs cloned from both sides of the same fold-back. (D) The *mir-35–mir-41* cluster.



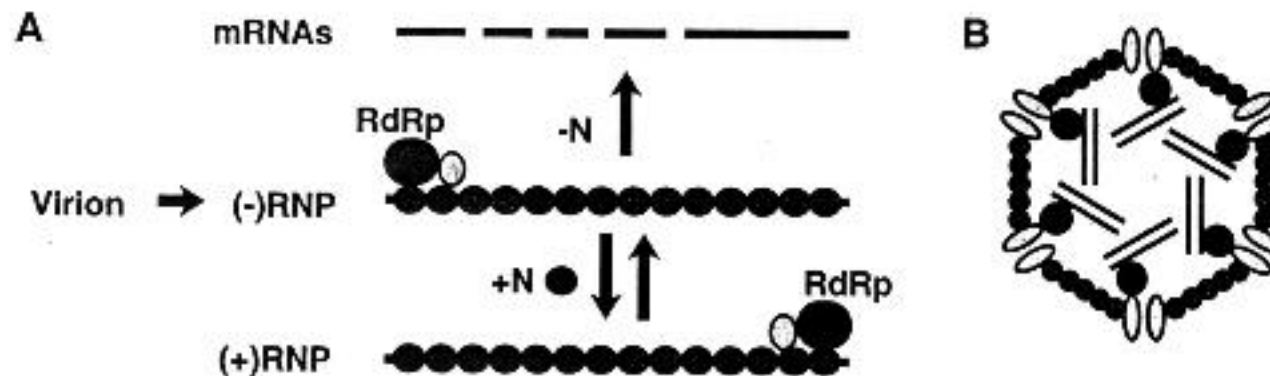


Fig. 1. Viral RNA replication complexes. **(A)** Negative-strand virus RNA synthesis. The negative-strand ribonucleoprotein (RNP) complex delivered by the virion includes RdRp (red), phosphoprotein cofactor (yellow), and the viral RNA genome (black line) covered with nucleocapsid protein N (blue). At the start of infection, in the absence of free N, partial mRNA transcripts are made. After translation, N availability directs production of full-length, N-coated positive-sense RNA, which is copied to make more genomic negative-strand RNPs. **(B)** Highly simplified cross section of a transcriptionally active dsRNA virus (reovirus) core, showing core shell proteins (blue). RNA synthesis complexes at each of 12 fivefold axes include RdRp (red), dsRNA template, and capping factors (yellow) that serve as an exit pore for nascent RNAs.

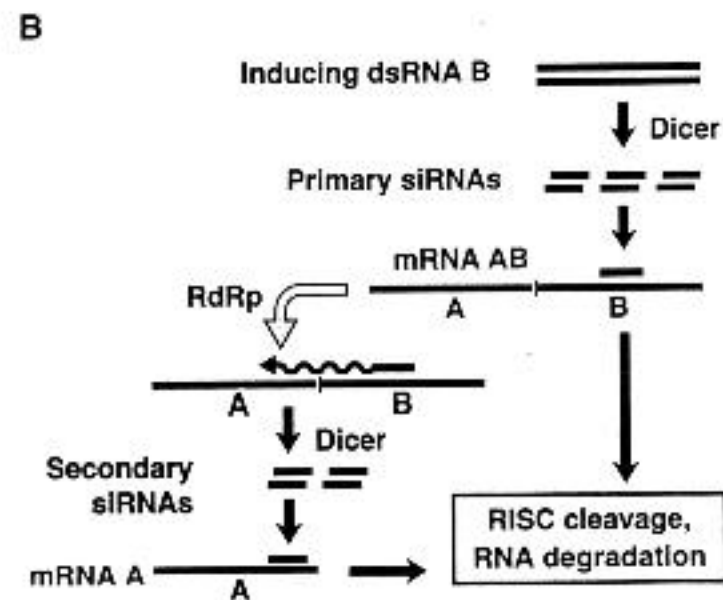
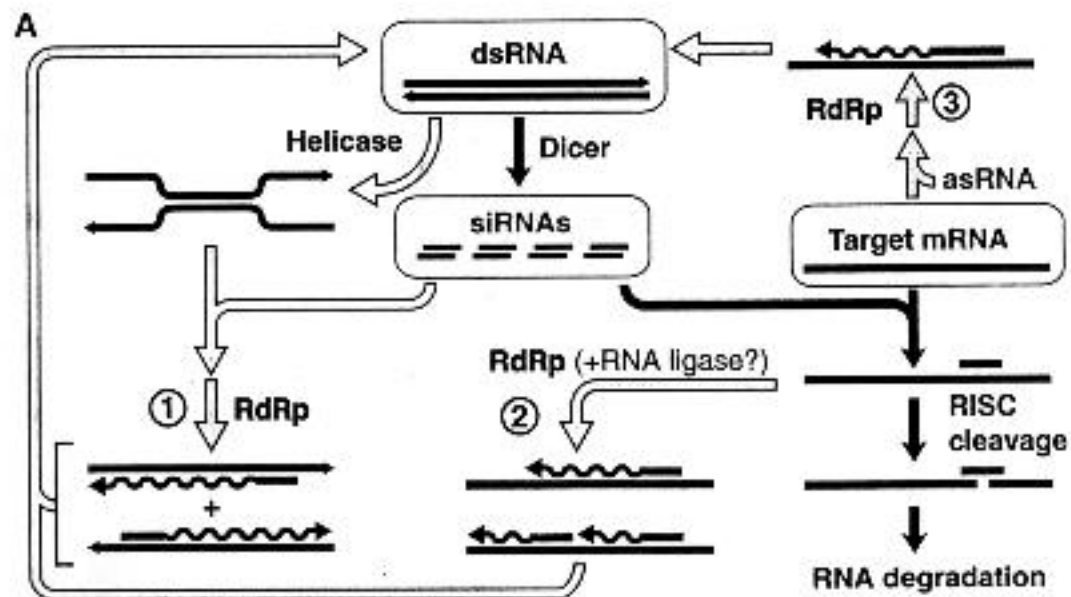
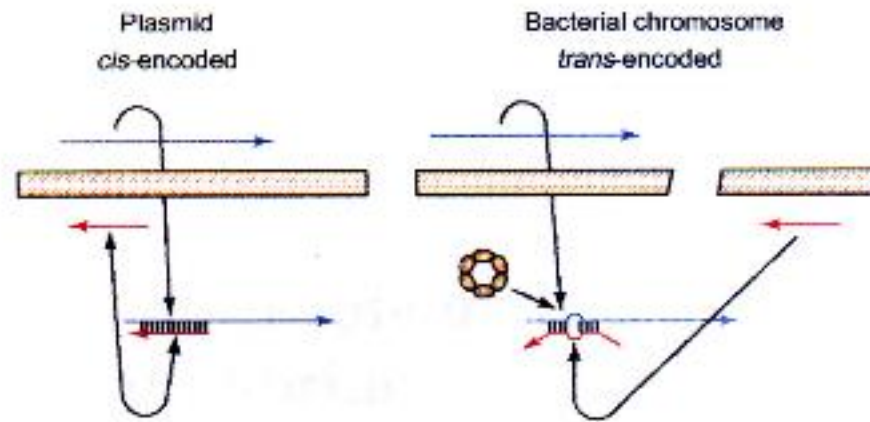


Fig. 2. (A) Degradative and synthetic pathways linking dsRNA, siRNAs, and target mRNA in RNA silencing. Black arrows denote classical RNA silencing degradative pathways. Yellow arrows denote RdRp-dependent synthetic pathways leading to generation or amplification of dsRNA. RdRp may act on siRNA-primed dsRNA (1), siRNA-primed mRNA (2), or

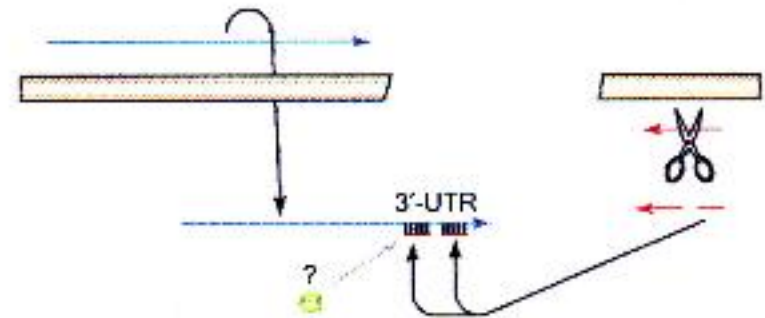
asRNA-primed mRNA (3) to generate or amplify some or all of the inducing dsRNA sequences. (B) Transitive RNA silencing. Through the combined action of siRNA primers and RdRp on intermediary mRNA AB, inducing dsRNA B mediates degradation not only of mRNA AB, but also of mRNA A, which lacks inducing sequence B.



(a) *Escherichia coli*



(b) *Caenorhabditis elegans*



TRENDS in Genetics

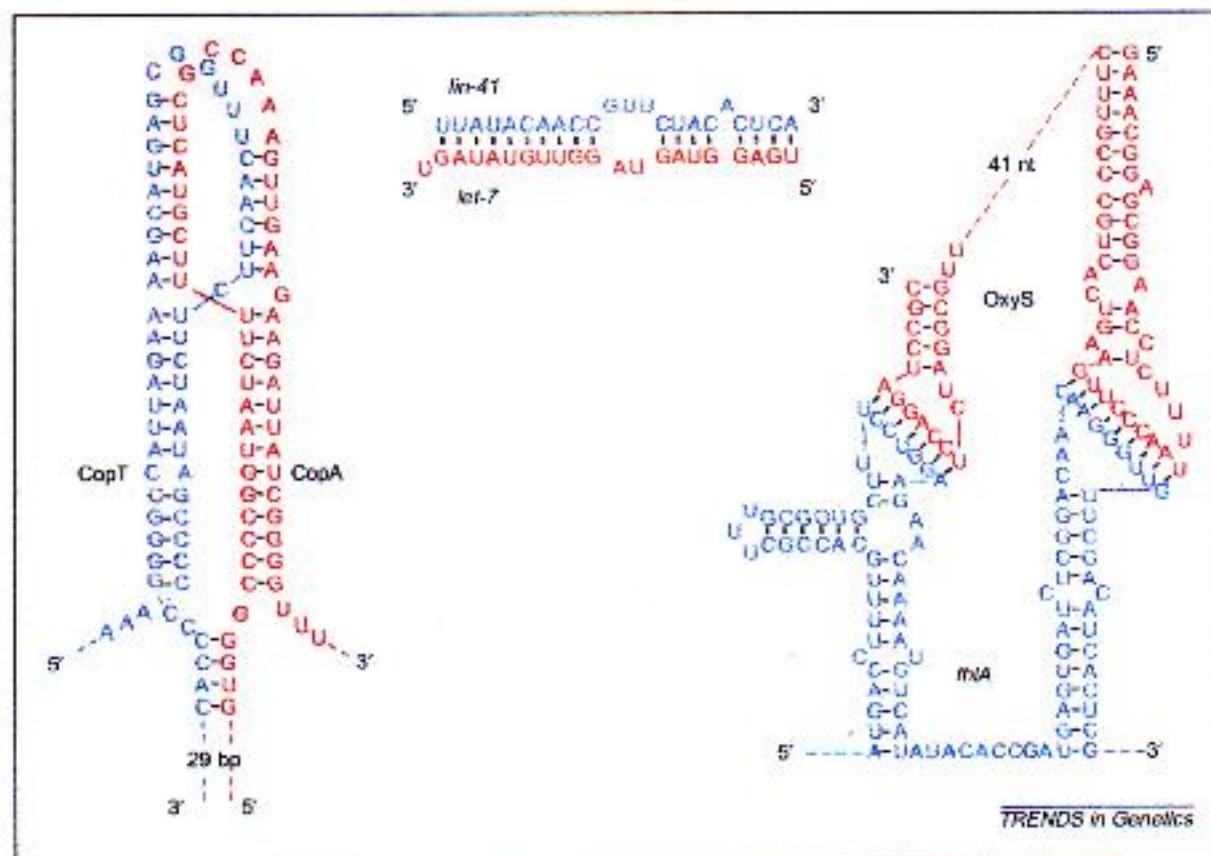
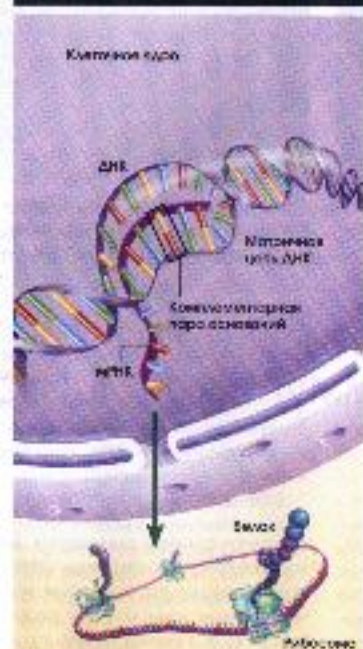


Fig. 2. Experimentally determined and inferred antisense-target RNA complexes. The base-pairing interactions for the examples shown in Fig. 1. For details, see Refs [13,14,24,30]. Dashed lines represent omitted sequences. For *lin-41*-*let-7*, only one of the two sites of complementarity is shown. Blue, target RNA; red, antisense RNA.

TRENDS in Genetics

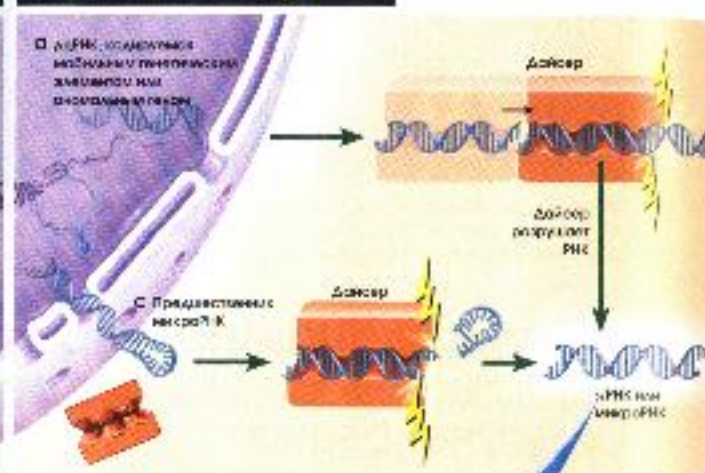


НОРМАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА

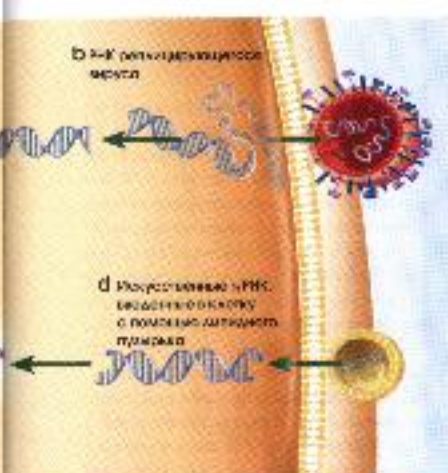


Средство ингибирования активности генов, которое используется для исследования функции генов.

ВКЛЮЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ЦЕНЗУРИРОВАНИЯ



КАК РНК ПОДАВЛЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА



Механизм регуляции экспрессии генов, который называется «механизмом регуляции экспрессии генов» (или «механизмом регуляции экспрессии генов») — это процесс, в котором экспрессия генов регулируется с помощью молекул РНК. Этот процесс называется «регуляцией экспрессии генов» (или «регуляцией экспрессии генов») и является одним из основных механизмов регуляции экспрессии генов. В этом процессе участвуют молекулы РНК, которые называются «мРНК» (или «мРНК»). Эти молекулы РНК взаимодействуют с белками, которые называются «белками» (или «белками»), и регулируют экспрессию генов. Этот процесс называется «регуляцией экспрессии генов» (или «регуляцией экспрессии генов») и является одним из основных механизмов регуляции экспрессии генов.

Белки, которые взаимодействуют с мРНК, называются «белками» (или «белками»). Эти белки взаимодействуют с мРНК и регулируют экспрессию генов. Этот процесс называется «регуляцией экспрессии генов» (или «регуляцией экспрессии генов») и является одним из основных механизмов регуляции экспрессии генов. В этом процессе участвуют молекулы РНК, которые называются «мРНК» (или «мРНК»). Эти молекулы РНК взаимодействуют с белками, которые называются «белками» (или «белками»), и регулируют экспрессию генов. Этот процесс называется «регуляцией экспрессии генов» (или «регуляцией экспрессии генов») и является одним из основных механизмов регуляции экспрессии генов.



Средство ингибирования активности генов, которое используется для исследования функции генов.



ПРИМЕНЕНИЕ РНКⁱ В МЕДИЦИНЕ

В клетках млекопитающих механизм геномного цензурирования был обнаружен два года назад, но уже сейчас несколько компаний пытаются использовать его для лечения или предотвращения заболеваний у человека.		
КОМПАНИЯ	ПЛАНЫ	ПОЛОЖЕНИЕ
<i>Amylum Pharmaceuticals</i> Кембридж шт. Массачусетс, США	Исследование возможности применения РНК ⁱ в медицине; конкретные заболевания пока не названы	Основана в 2002 г. Получила начальное финансирование и несколько патентов
<i>Cenix Biosciences</i> Дрезден, Германия	Исследование возможности применения РНК ⁱ для лечения рака и вирусных инфекций	Создает библиотеку siРНК, охватывающую весь геном человека
<i>Ribopharma</i> Кюльмбах, Германия	Химическая модификация siРНК с целью создания препаратов для лечения глиобластомы, рака поджелудочной железы и гепатита С	Предполагается начать клинические испытания на больных, страдающих раком головного мозга
<i>Sirna Therapeutics</i> Боулдер, шт. Колорадо, США	Тестирование препаратов на основе РНК, обладающей ферментативной активностью, которые предназначены для лечения рака прямой кишки; разработка методов лечения с использованием РНК ⁱ	Под таким названием компания появилась в апреле 2003 г. (прежнее название <i>Ribazyme Pharmaceuticals</i>)