مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۶/هفته اول مهر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۸

سنتز miRNA و مکانیسم‌های تنظیمی

نعیم احتشام[۱]، مهدیه مودی[۱]، دکتر مجید خیراللهی[۲]

مقاله مروری

چکیده

miRNAها (microRNAها) به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تنظیمی بیان ژن در سال ۱۹۹۳ در کرم نماتد کشف شدند. این نقش تنظیمی بسیاری از فرایندهای مهم داخل سلولی مانند تکوین، تمایز، تکثیر و آپوپتوز را شامل می‌شود. miRNAها در زمره‌ی mRNAها هستند و مانند آن‌ها توسط RNA پلیمراز II رونویسی می‌شوند و سپس کلاهک و دم پلی A به آن‌ها متصل می‌شوند. pri-miRNA حاصل توسط دو واکنش متوالی برشی به miRNA بالغ تبدیل می‌شود. miRNAها اثر تنظیمی خود را توسط سرکوب ترجمه، فعال‌سازی ترجمه و تخریب mRNAها اعمال می‌کنند. miRNAها در تنظیم سیستم ایمنی و اعصاب، دارای نقش مهمی می‌باشند و اختلال در بیان آن‌ها، می‌تواند منجر به بیماری‌های جداگانه‌ی هر کدام از سیستم‌ها شود.

واژگان کلیدی: miRNA، سنتز، مکانیسم‌های تنظیمی

ارجاع: احتشام نعیم، مودی مهدیه، خیراللهی مجید. **سنتز miRNA و مکانیسم‌های تنظیمی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۶): ۱۲۶۸-۱۲۵۹

مقدمه

miRNA به عنوان تنظیم کننده‌ی بیان ژن در اوایل دهه‌ی ۱۳۹۰ میلادی کشف شد که در ابتدا تنها به عنوان یک مورد نادر در کرم نماتد مورد بحث و بررسی قرار گرفت (۲-۱). با مشخص شدن حضور گسترده‌ی miRNA در میان سایر موجودات یوکاریوت، علاقه به بررسی این مکانیسم تنظیمی افزایش یافت (۷-۳)؛ به طوری که منجر به شناخته شدن صدها miRNA شد که به طور گروهی هزاران ژن را تنظیم می‌کنند (۱۰-۸). این گروه از RNAهای غیر کد کننده در حدود ۲۵-۱۸ نوکلئوتید را شامل می‌شوند و اثر خود را بر بیان ژن از طریق جفت شدن با نواحی مکمل، که اغلب در ناحیه‌ی ۳' UTR مربوط به mRNA هدف است، اعمال می‌کنند (۱۱). بعضی از مطالعات، وجود نواحی مکمل در نواحی کد کننده، ۵' UTR و حتی پروموتور را نیز نشان داده‌اند (۱۳-۱۲).

البته این اثر تنظیمی می‌تواند در سطوح مختلفی از عملکرد ژنوم شامل رونویسی، پردازش RNA، پایداری RNA و ترجمه صورت گیرد (۱۴). miRNAها دارای نقش کلیدی در بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی شامل تکوین، تمایز سلولی، تکثیر و آپوپتوز هستند و شواهد حاکی از نقش آن‌ها در بیماری‌هایی همچون سرطان و اختلالات

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خیراللهی
Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

متابولیکی می‌باشد (۱۵). این مطالعه به بررسی نقش miRNA در بیماری‌های نوروایمونوژنیک می‌پردازد.

بیوژنز miRNA

ژن‌های کد کننده‌ی miRNAها به طور معمول توسط RNA پلیمراز II رونویسی می‌شوند و به رونوشت‌های حاصل،کلاهک در سمت ۵ و دم پلی A در سمت ۳ اضافه می‌شود (۱۶). اگر چه تعدادی از miRNAهای موجود در حیوانات به طور منفرد از واحدهای رونویسی مجزا حاصل می‌شوند، اما بیشتر آن‌ها از واحدهای رونویسی حاصل می‌شوند که رونویسی از آن‌ها باعث تولید چندین محصول می‌شود (۱۷). یک رونوشت ممکن است دسته‌ای ازmiRNAهای مجزا یا یک miRNA و پروتئین را کد کند که حالت دوم در صورتی ایجاد می‌شود که توالی کد کننده‌ی miRNA درون یک اینترون قرار داشته باشد. این گونه تصور می‌شود که miRNAهای جدید به جای این که حاصل از دوپلیکیشن‌های ژنی باشند، حاصل تجمع تغییرات نوکلئوتیدی می‌باشند (۱۸).

برای تبدیل miRNA اولیه یا pri-miRNA به miRNA بالغ دو واکنش متوالی برشی رخ می‌دهد (شکل ۱). این فرایندهای پردازشی بستگی به توالی‌هایی از miRNA دارد که به طور یک ساختار ساقه- حلقه دچار تاخوردگی می‌شوند. یک pri-miRNA به طور معمول حاوی یک ساختار ثانویه به شکل یک ساقه‌ی ناقص به همراه یک حلقه‌ی انتهایی می‌باشد (۱۷). اولین مرحله‌ی پردازش که درون هسته رخ می‌دهد، به بریده شدن ساختار ساقه- حلقه منجر می‌شود که محصول آن pri-miRNA می‌باشد. برای بیشتر miRNAها یک عضو داخل هسته‌ای خانواده‌ی RNase III (Dcl۱ در گیاهان و Drosha در حیوانات) این فرایند برش را انجام می‌دهد (۱۶). اگر چه Drosha فرایند پردازش pri-miRNA را کاتالیز می‌کند (۱۹)، کارآمدی و دقت این عمل به عامل مشارکت پروتئینی وابسته است. این عامل مشارکت شامل دو دامین dsRBD است که به طور پایداری با ریبونوکلئاز میانکنش می‌کند و کمپلکس Microprocessor را به وجود می‌آورد (۲۰).

برش به واسطه‌ی Microprocessor تنها راه تولید pri-miRNA نمی‌باشد. در یک مسیر جایگزین، رونوشت‌های pri-miRNA مورد پردازش قرار می‌گیرند تا اینترون‌هایی را آزاد کنند که به طور دقیق خصوصیات ساختاری pri-miRNA را تقلید می‌کنند (۲۲-۲۱). این Mirtronها بدون کمک Microprocessor وارد فرایند پردازش miRNA می‌شوند. Mirtronها متداول نیستند، اما در قلمرو حیوانات یافت شده‌اند. دومین فرایند پردازش، شامل برش حلقه‌ی انتهایی از pri-miRNA می‌شود که منجر به تولید miRNA بالغ با طول حدود ۲۲ جفت باز می‌شود (۱۷). در حالی که در گیاهان این فرایند توسط Dcl۱ و در هسته صورت می‌گیرد، در حیوانات ابتدا miRNApre- از هسته خارج می‌شود و سپس آنزیم دایسر عمل برش را در سیتوپلاسم انجام می‌دهد (۱۶).

پروتئین‌های مهم در عملکرد miRNA

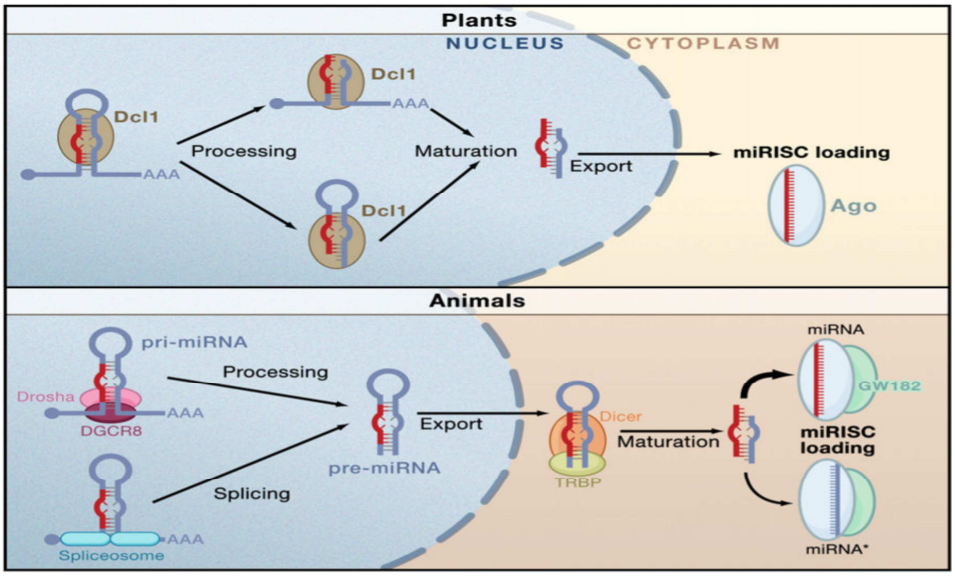
اگر چه مکانیسم دقیق نقش پروتئین‌ها در عملکرد miRNAها به خوبی مشخص نشده است، تعدادی از آن‌ها به عنوان واسطه در عملکرد miRNA بر روی هدفش ایفای نقش می‌کنند. بعضی از این پروتئین‌ها

از اجزای اصلی تشکیل دهنده‌ی کمپلکس خاموش کننده‌ی القا شده توسط RNA (RISC یا RNA-induced silencing complex) می‌باشند که وظیفه‌ی آن‌ها قرار دادن بر روی منطقه‌ی مکملش در mRNA هدف می‌باشد؛ در حالی که سایر پروتئین‌ها به طور گذرا با این کمپلکس در ارتباط می‌باشند (۲۴-۲۳).

Ago و TNRC۶

زیر واحد اصلی کمپلکس RISC پروتئین Argonaute (Ago) می‌باشد که به miRNA متصل می‌شود (۲۵). Ago یک پروتئین همولوگ در بین گونه‌های مختلف محسوب می‌شود. به طور مثال، Ago۲ در انسان، موش و مگس سرکه به عنوان یک اندونوکلئاز قادر است mRNA را درون منطقه‌ای که به طور کامل با miRNA جفت شده است، برش دهد (۲۸-۲۶). سایر پروتئین‌های Ago مانند Ago۱، Ago۲، Ago۳ و Ago۴ در انسان و Ago۱ در مگس سرکه، هم سرکوب ترجمه و هم تسریع در دآدنیلاسیون را میانجی‌گری می‌کنند (۲۹، ۲۷-۲۶). سایر مطالعات نقش Ago۲ را در فعال‌سازی ترجمه به واسطه‌ی miRNA در سلول‌هایی که رشدشان متوقف شده است، نشان می‌دهد (۳۰).

اگر چه سرکوب ترجمه به وسیله‌ی miRNA در مگس سرکه به Ago۱ نیازمند است، در سلول‌هایی که به صورت in vitro فاقد Ago۱ است، پروتئین مرتبط با RISC به نام GW۱۸۲ (TNRC۶A) به طور مستقیم بر روی mRNA می‌نشیند و نقشی معادل Ago۱ را ایفا می‌کند (۳۱). بنابراین GW۱۸۲ (شاید همراه با پروتئین‌های دیگر) در یک مکانیسم غیر وابسته به Ago که هنوز جزییات آن مشخص نیست، قادر است ترجمه را مهار کند. این نتیجه‌گیری با مشاهده‌ی نقص در توانایی miRNA در کاهش بیان ژن زمانی که سلول‌های یک پستاندار یا مگس سرکه خالی از GW۱۸۲ یا پارالوگ آن TNRC۶B شود، مورد تأیید قرار گرفت (۳۴-۳۲).



شکل ۱. تبدیل miRNA اولیه یا pri-miRNA به miRNA بالغ با دو واکنش متوالی برشی (۱۷)

مکانیسم‌های تنظیمی miRNA

سرکوب ترجمه

شاید بحث برانگیزترین جنبه‌ی مکانیسمی miRNA، سرکوب ترجمه به وسیله آن است. در ابتدا، توانایی miRNAها در کاهش ترجمه از تفاوت اثرات آن‌ها بر سنتز پروتئین و میزان غلظت mRNA نتیجه‌گیری شد (۲). این نظریه که miRNA شروع ترجمه را مهار می‌کند، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفت. برای مثال، در تعدادی از مطالعات که در آن‌ها از روش سانتریفیوژ شیب چگالی سوکروز استفاده شده است، تغییر جهت حرکت mRNAها به سمت پلیزوم‌هایی که جرم کمتری دارند (یعنی برای هر mRNA تعداد کمتری ریبوزوم به هم متصل شده‌اند) نشان داده شد؛ که این خود، نشان دهنده‌ی شروع معیوب ترجمه است (۳۵).

پیشرفت‌هایی در ایجاد سرکوب ترجمه به واسطه‌ی miRNA در سیستم‌های فاقد سلول، تأثیر miRNA بر جلوگیری از به کارگیری ریبوزوم ۸۰S بر روی mRNA را نشان داده است (۳۸-۳۶). بر خلاف موارد ذکر شده، سایر مطالعات تغییری در پروفایل پلیزوم mRNAهای مورد هدف miRNAها را نشان ندادند که این حاکی از آن است که miRNAها می‌توانند در مراحل بعد از شروع، ترجمه را هم سرکوب کنند (۴۳-۳۹).

فعال‌سازی ترجمه

با وجود این که مدت زمان زیادی است که تصور می‌شود miRNAها تنها نقش مهاری بر فرایند ترجمه دارند، اطلاعات جدید نشان می‌دهد که آن‌ها می‌توانند تحت شرایط خاصی موجب تحریک ترجمه شوند (۳۰). بنابراین، mRNAی که در سلول‌های تکثیر شونده‌ی پستانداران موجب مهار ترجمه می‌شود، بعد از توقف چرخه‌ی سلولی توسط یک مهار کننده‌ی همانندسازی مانند Aphidicolin، اثر متضادی را اعمال می‌کند. برای مثال، فرایند سرکوب ترجمه نیز نیاز به جفت شدن mRNA هدف با ناحیه‌ی Seed موجود بر روی miRNA دارد. البته هنوز مکانیسم دقیقی که به موجب آن miRNAها موجب افزایش بازده ترجمه می‌شوند، مشخص نشده است.

تخریب mRNA

miRNAها به وسیله‌ی دو مکانیسم متفاوت موجب تجزیه‌ی mRNA می‌شوند. آن دسته از miRNAهایی که به طور کامل با mRNA هدف جفت می‌شوند، موجب برش اندونوکلئوتیدی می‌گردند (۴۶-۴۴). در این رویداد، mRNA به طور کامل تخریب می‌شود و قطعات حاصل از آن به دلیل عدم حفاظت در سر ۵ و ۳، به حمله توسط اگزونوکلئازها مستعد می‌شوند (۴۷).

اگر چه miRNA پتانسیل برش mRNA هدف را دارد، اما در سلول‌های جانوری به دلیل عدم جفت شدن کامل miRNA با هدفش، این اتفاق به ندرت روی می‌دهد (۴۶). بنابراین وقتی miRNAها با هدفشان به طور ناقص جفت می‌شوند، miRNA Turnover ها را با تسریع در برداشت دم پلی A افزایش می‌دهند (۴۹-۴۸). به دنبال دآدنیلاسیون، پروتئین متصل شونده به دم پلی A، عملکرد خود را از دست می‌دهد که این خود برداشت کلاهک از سر ۵ را تسریع می‌کند و mRNA را در معرض هضم اگزونوکلئوتیدی از انتهای ۵ قرار می‌دهد (۵۰، ۳۱).

توانایی miRNA در تخریب، دو نتیجه‌ی مهم در پی دارد: اول این که با کاهش غلظت رونوشت‌های

هدف، بازده تبدیل mRNA به پروتئین به شدت کاهش می‌یابد. دوم این که اثر مهاری miRNA در هنگام تخریب هدفش، در مقایسه با سرکوب ترجمه غیر قابل برگشت است و این خود بازده اثر مهاری miRNA را افزایش می‌دهد. در میان تأثیر کلی miRNAها بر بیان ژن، میزان تأثیر تخریب mRNA از یک mRNA به mRNA دیگر به طور فاحشی متفاوت است (۳۱). در بعضی موارد، تخریب mRNA نقش اصلی در تنظیم کاهشی بیان ژن دارد؛ در حالی که در سایر موارد اثر این تنظیم به مراتب کمتر از تأثیر سرکوب ترجمه می‌باشد.

نقش miRNA در عملکرد طبیعی سیستم ایمنی

تنظیم سیستم ایمنی نقش حیاتی در جلوگیری از تعدادی از اختلالات شامل بیماری‌های خودایمنی و سرطان دارد و به همین خاطر، پستانداران سیستم پیچیده‌ای را طراحی کرده‌اند که به موجب آن بازرسی‌های متعددی به منظور حفظ توازن بین خود تحملی (Self-tolerance) و پاسخ به پاتوژن‌های خارجی صورت می‌گیرد. در مطالعات اخیر شواهدی مبنی بر نقش مهم miRNAها در تکوین سلول‌های ایمنی و همچنین تنظیم سیستم ایمنی به دست آمده است. تا به امروز، تعداد به نسبت کمی از miRNAهای درگیر در سیستم ایمنی شناسایی شده‌اند که تعدادی از مهم‌ترین آن‌ها در جدول ۱ آمده است.

نقش miRNA در بیماری‌های خود ایمنی

با مشخص شدن نقش اساسی miRNAها در تنظیم سیستم ایمنی و تکوین سلول‌های دستگاه عصبی، جای تعجب نخواهد بود که مطالعات اخیر ارتباط بین عملکرد معیوب miRNAها و خود ایمنی را مشخص کرده‌اند. در جدول ۲، به چند miRNA دخیل در تعدادی از بیماری‌های خود ایمنی اشاره شده است.

نقش miRNA در سیستم اعصاب

تعدادی miRNA در طی مراحل مختلف تکوین سیستم اعصاب مرکزی، به طور موقتی و برنامه‌ریزی شده بیان می‌شوند (۷۶-۷۵). تا کنون بیش از ۴۰۰ miRNA در مغز انسان و شامپانزه شناسایی شده‌اند (۷۷-۷۶) و بیان بیش از ۱۰۰ miRNA در مغز انسان تخمین زده می‌شود (۷۷). نکته‌ی جالب توجه این است که بسیاری از miRNAهایی که در مغز انسان بیان می‌شوند، در بین پریمات‌ها محافظت شده نیستند که نشان دهنده‌ی این است که بسیاری از آن‌ها تازه ایجاد شده‌اند (۷۷).

جدول ۱. miRNAهای شناسایی شده درگیر در سیستم ایمنی

منبع	مسیر درگیر شونده	mRNA هدف	miRNA
(۵۱-۵۲)	پیام‌رسانی TLR، پاسخ ایمنی ذاتی	TRAF۶، IRAK-۱	miR-۱۴۶a
(۵۳)	پیام‌رسانی TLR، پاسخ ایمنی ذاتی	TNF-α	miR-۱۲۵b
(۵۳-۵۹)	پاسخ ایمنی ذاتی/ سازشی، تغییر رده‌ی IgG	Pu.۱	miR-۱۵۵
(۶۰-۶۱)	تکوین سلول B، پیام‌رسانی گیرنده‌ی سلول T	نامشخص	miR-۱۸۱a
(۶۲)	نوترکیبی تغییر رده در سلول‌های فعال شده B	AID	miR-۱۸۱b
(۶۳-۶۴)	Granulopoiesis	نامشخص	miR-۲۲۳
(۶۵-۶۶)	تمایز سلول B	نامشخص	miR-۱۵۰

جدول ۲. چند **miRNA** دخیل در تعدادی از بیماری‌های خود ایمنی

منابع	بیماری	عملکرد	miRNA
(۶۷)	Lupus-like autoimmune disease	برای تجزیه‌ی ICOS mRNA میانجی‌گری شده توسط Roquin	miR-۱۰۱
(۶۸-۶۹)	Fatal systemic	دوام و عملکرد سلول‌های T reg	miRNA ویژه‌ی آن: ناشناخته
(۷۰-۷۱)	Rheumatoid arthritis	اهداف: IRAK-۱/ TRAF۶، تنظیم پاسخ التهابی	miR-۱۴۶a
(۷۱-۷۲)	Rheumatoid arthritis	هدف: MMP-۳، تنظیم پاسخ التهابی	miR-۱۵۵
(۷۱)	Rheumatoid arthritis	نامشخص	miR-۱۳۲
(۷۱)	Rheumatoid arthritis	نامشخص	miR-۱۶
(۷۳-۷۴)	Systemic lupus erythematosus	نامشخص	miRNAهای بی‌شمار

اگر چه عملکرد تعداد بسیار کمی از miRNAهای مخصوص مغز شناسایی شده است، اما شواهد روزافزونی حاکی از نقش آن‌ها در تکوین، تمایز، عملکرد و البته بیماری‌زایی سیستم اعصاب می‌باشد. ضرورت عملکرد miRNAها در تکوین سیستم اعصاب و شکل‌گیری ساختار مغز در Zebrafish به اثبات رسیده است (۷۸).

در آزمایشی آنزیم دایسر موش را موتانت کردند و به دنبال آن با اختلال در بیوژنز miRNA و عدم تشکیل miRNA بالغ و دارای عملکرد، مشاهده شد که موش قبل از نورولاسیون می‌میرد (۷۹). برداشت دایسر از انواع سلول‌های نورونی موش نشان داد که miRNAها در بقای نورونی در طی تکوین و همچنین در نورون‌های بالغ ایفای نقش می‌کنند (۸۳-۸۰). در آزمایشی که بر روی نورون‌های کشت داده شده‌ی هیپوکمپ صورت گرفت، مشخص شد mir-۱۳۴ در شکل‌گیری ساختار دندریتی نخاع، به وسیله‌ی تنظیم بیان Limk۱ نقش دارد (۸۴).

در مطالعه‌ای بر روی جنین جوجه نقش mir-۱۲۴ که به شدت در سیستم اعصاب مرکزی محافظت شده است، در تمایز نورون و حفظ هویت نورون نشان داده شد (۸۶-۸۵). تعدد مطالعات صورت گرفته، نشان دهنده‌ی تنوع عملکردی miRNAها در سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد.

References

1. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell 1993; 75(5): 843-54.
2. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in C. elegans. Cell 1993; 75(5): 855-62.
3. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. Nature 2000; 408(6808): 86-9.
4. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. Science 2001; 294(5543): 853-8.
5. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in Caenorhabditis elegans. Science 2001; 294(5543): 858-62.
6. Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in Caenorhabditis elegans. Science 2001; 294(5543): 862-4.
7. Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP. MicroRNAs in plants. Genes Dev 2002; 16(13): 1616-26.

8. Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. Nat Genet 2005; 37(7): 766-70.
9. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. Cell 2005; 120(1): 15-20.
10. Lim LP, Glasner ME, Yekta S, Burge CB, Bartel DP. Vertebrate microRNA genes. Science 2003; 299(5612): 1540.
11. Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kim YY. MicroRNAs: synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. Biochim Biophys Acta 2010; 1803(11): 1231-43.
12. Le QJ, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. Mol Oncol 2010; 4(3): 230-41.
13. Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. Mutat Res 2011; 717(1-2): 1-8.
14. Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. Cell 2009; 136(4): 642-55.
15. Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. Annu Rev Cell Dev Biol 2007; 23: 175-205.
16. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. Nat Rev Mol Cell Biol 2005; 6(5): 376-85.
17. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell 2004; 116(2): 281-97.
18. Lu J, Shen Y, Wu Q, Kumar S, He B, Shi S, et al. The birth and death of microRNA genes in Drosophila. Nat Genet 2008; 40(3): 351-5.
19. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. Nature 2003; 425(6956): 415-9.
20. Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. Nature 2004; 432(7014): 231-5.
21. Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in Drosophila. Cell 2007; 130(1): 89-100.
22. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. Nature 2007; 448(7149): 83-6.
23. Hock J, Weinmann L, Ender C, Rudel S, Kremmer E, Raabe M, et al. Proteomic and functional analysis of Argonaute-containing mRNA-protein complexes in human cells. EMBO Rep 2007; 8(11): 1052-60.
24. Zhang L, Ding L, Cheung TH, Dong MQ, Chen J, Sewell AK, et al. Systematic identification of C. elegans miRISC proteins, miRNAs, and mRNA targets by their interactions with GW182 proteins AIN-1 and AIN-2. Mol Cell 2007; 28(4): 598-613.
25. Peters L, Meister G. Argonaute proteins: mediators of RNA silencing. Mol Cell 2007; 26(5): 611-23.
26. Liu J, Carmell MA, Rivas FV, Marsden CG, Thomson JM, Song JJ, et al. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. Science 2004; 305(5689): 1437-41.
27. Meister G, Landthaler M, Patkaniowska A, Dorsett Y, Teng G, Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs. Mol Cell 2004; 15(2): 185-97.
28. Okamura K, Ishizuka A, Siomi H, Siomi MC. Distinct roles for Argonaute proteins in small RNA-directed RNA cleavage pathways. Genes Dev 2004; 18(14): 1655-66.
29. Pillai RS, Artus CG, Filipowicz W. Tethering of human Ago proteins to mRNA mimics the miRNA-mediated repression of protein synthesis. RNA 2004; 10(10): 1518-25.
30. Vasudevan S, Steitz JA. AU-rich-element-mediated upregulation of translation by FXR1 and Argonaute 2. Cell 2007; 128(6): 1105-18.
31. Behm-Ansmant I, Rehwinkel J, Doerks T, Stark A, Bork P, Izaurralde E. mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes. Genes Dev 2006; 20(14): 1885-98.
32. Jakymiw A, Lian S, Eystathioy T, Li S, Satoh M, Hamel JC, et al. Disruption of GW bodies impairs mammalian RNA interference. Nat Cell Biol 2005; 7(12): 1267-74.
33. Liu J, Rivas FV, Wohlschlegel J, Yates JR, III, Parker R, Hannon GJ. A role for the P-body component GW182 in microRNA function. Nat Cell Biol 2005; 7(12): 1261-6.
34. Rehwinkel J, Behm-Ansmant I, Gatfield D, Izaurralde E. A crucial role for GW182 and the DCP1:DCP2 decapping complex in miRNA-mediated gene silencing. RNA 2005; 11(11): 1640-7.
35. Pillai RS, Bhattacharyya SN, Artus CG, Zoller T, Cougot N, Basyuk E, et al. Inhibition of translational initiation by Let-7 MicroRNA in human cells. Science 2005; 309(5740): 1573-6.
36. Mathonnet G, Fabian MR, Svitkin YV, Parsyan A, Huck L, Murata T, et al. MicroRNA inhibition of translation initiation in vitro by targeting the cap-binding complex eIF4F. Science 2007; 317(5845): 1764-7.
37. Thermann R, Hentze MW. Drosophila miR2 induces pseudo-polysomes and inhibits translation initiation. Nature 2007; 447(7146): 875-8.

38. Wakiyama M, Takimoto K, Ohara O, Yokoyama S. Let-7 microRNA-mediated mRNA deadenylation and translational repression in a mammalian cell-free system. Genes Dev 2007; 21(15): 1857-62.
39. Olsen PH, Ambros V. The lin-4 regulatory RNA controls developmental timing in Caenorhabditis elegans by blocking LIN-14 protein synthesis after the initiation of translation. Dev Biol 1999; 216(2): 671-80.
40. Seggerson K, Tang L, Moss EG. Two genetic circuits repress the Caenorhabditis elegans heterochronic gene lin-28 after translation initiation. Dev Biol 2002; 243(2): 215-25.
41. Maroney PA, Yu Y, Fisher J, Nilsen TW. Evidence that microRNAs are associated with translating messenger RNAs in human cells. Nat Struct Mol Biol 2006; 13(12): 1102-7.
42. Nottrott S, Simard MJ, Richter JD. Human let-7a miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes. Nat Struct Mol Biol 2006; 13(12): 1108-14.
43. Petersen CP, Bordeleau ME, Pelletier J, Sharp PA. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. Mol Cell 2006; 21(4): 533-42.
44. Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA, Bartel DP. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. Cell 2000; 101(1): 25-33.
45. Llave C, Xie Z, Kasschau KD, Carrington JC. Cleavage of Scarecrow-like mRNA targets directed by a class of Arabidopsis miRNA. Science 2002; 297(5589): 2053-6.
46. Yekta S, Shih IH, Bartel DP. MicroRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA. Science 2004; 304(5670): 594-6.
47. Orban TI, Izaurralde E. Decay of mRNAs targeted by RISC requires XRN1, the Ski complex, and the exosome. RNA 2005; 11(4): 459-69.
48. Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(11): 4034-9.
49. Giraldez AJ, Mishima Y, Rihel J, Grocock RJ, van Dongen S, Inoue K, et al. Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs. Science 2006; 312(5770): 75-9.
50. Eulalio A, Rehwinkel J, Stricker M, Huntzinger E, Yang SF, Doerks T, et al. Target-specific requirements for enhancers of decapping in miRNA-mediated gene silencing. Genes Dev 2007; 21(20): 2558-70.
51. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(33): 12481-6.
52. Perry MM, Moschos SA, Williams AE, Shepherd NJ, Larner-Svensson HM, Lindsay MA. Rapid changes in microRNA-146a expression negatively regulate the IL-1beta-induced inflammatory response in human lung alveolar epithelial cells. J Immunol 2008; 180(8): 5689-98.
53. Tili E, Michaille JJ, Cimino A, Costinean S, Dumitru CD, Adair B, et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF-alpha stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. J Immunol 2007; 179(8): 5082-9.
54. O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, Cheng G, Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(5): 1604-9.
55. Haasch D, Chen YW, Reilly RM, Chiou XG, Koterski S, Smith ML, et al. T cell activation induces a noncoding RNA transcript sensitive to inhibition by immunosuppressant drugs and encoded by the proto-oncogene, BIC. Cell Immunol 2002; 217(1-2): 78-86.
56. van den Berg A, Kroesen BJ, Kooistra K, de JD, Briggs J, Blokzijl T, et al. High expression of B-cell receptor inducible gene BIC in all subtypes of Hodgkin lymphoma. Genes Chromosomes Cancer 2003; 37(1): 20-8.
57. Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. Science 2007; 316(5824): 608-11.
58. Thai TH, Calado DP, Casola S, Ansel KM, Xiao C, Xue Y, et al. Regulation of the germinal center response by microRNA-155. Science 2007; 316(5824): 604-8.
59. Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C, Bunting S, Xiang Z, Kohlhaas S, et al. microRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells. Immunity 2007; 27(6): 847-59.
60. Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. Science 2004; 303(5654): 83-6.
61. Li QJ, Chau J, Ebert PJ, Sylvester G, Min H, Liu G, et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. Cell 2007; 129(1): 147-61.
62. de Yebenes VG, Belver L, Pisano DG, Gonzalez S, Villasante A, Croce C, et al. miR-181b negatively regulates activation-induced cytidine deaminase in B cells. J Exp Med 2008; 205(10): 2199-206.

63. Fazi F, Rosa A, Fatica A, Gelmetti V, De Marchis ML, Nervi C, et al. A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. Cell 2005; 123(5): 819-31.
64. Fukao T, Fukuda Y, Kiga K, Sharif J, Hino K, Enomoto Y, et al. An evolutionarily conserved mechanism for microRNA-223 expression revealed by microRNA gene profiling. Cell 2007; 129(3): 617-31.
65. Zhou B, Wang S, Mayr C, Bartel DP, Lodish HF. miR-150, a microRNA expressed in mature B and T cells, blocks early B cell development when expressed prematurely. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(17): 7080-5.
66. Xiao C, Calado DP, Galler G, Thai TH, Patterson HC, Wang J, et al. MiR-150 controls B cell differentiation by targeting the transcription factor c-Myb. Cell 2007; 131(1): 146-59.
67. Yu D, Tan AH, Hu X, Athanasopoulos V, Simpson N, Silva DG, et al. Roquin represses autoimmunity by limiting inducible T-cell co-stimulator messenger RNA. Nature 2007; 450(7167): 299-303.
68. Liston A, Lu LF, O'Carroll D, Tarakhovsky A, Rudensky AY. Dicer-dependent microRNA pathway safeguards regulatory T cell function. J Exp Med 2008; 205(9): 1993-2004.
69. Zhou X, Jeker LT, Fife BT, Zhu S, Anderson MS, McManus MT, et al. Selective miRNA disruption in T reg cells leads to uncontrolled autoimmunity. J Exp Med 2008; 205(9): 1983-91.
70. Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, Hashimoto M, Nishida K, Ochi M, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. Arthritis Rheum 2008; 58(5): 1284-92.
71. Pauley KM, Satoh M, Chan AL, Bubb MR, Reeves WH, Chan EK. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. Arthritis Res Ther 2008; 10(4): R101.
72. Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2008; 58(4): 1001-9.
73. Dai Y, Huang YS, Tang M, Lv TY, Hu CX, Tan YH, et al. Microarray analysis of microRNA expression in peripheral blood cells of systemic lupus erythematosus patients. Lupus 2007; 16(12): 939-46.
74. Dai Y, Sui W, Lan H, Yan Q, Huang H, Huang Y. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in renal biopsies of lupus nephritis patients. Rheumatol Int 2009; 29(7): 749-54.
75. Kosik KS. The neuronal microRNA system. Nat Rev Neurosci 2006; 7(12): 911-20.
76. Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, Sewer A, Iovino N, Aravin A, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. Cell 2007; 129(7): 1401-14.
77. Berezikov E, Thuemmler F, van Laake LW, Kondova I, Bontrop R, Cuppen E, et al. Diversity of microRNAs in human and chimpanzee brain. Nat Genet 2006; 38(12): 1375-7.
78. Giraldez AJ, Cinalli RM, Glasner ME, Enright AJ, Thomson JM, Baskerville S, et al. MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. Science 2005; 308(5723): 833-8.
79. Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, Murchison EP, Alcorn H, Li MZ, et al. Dicer is essential for mouse development. Nat Genet 2003; 35(3): 215-7.
80. Kim J, Inoue K, Ishii J, Vanti WB, Voronov SV, Murchison E, et al. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. Science 2007; 317(5842): 1220-4.
81. Schaefer A, O'Carroll D, Tan CL, Hillman D, Sugimori M, Llinas R, et al. Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs. J Exp Med 2007; 204(7): 1553-8.
82. Davis TH, Cuellar TL, Koch SM, Barker AJ, Harfe BD, McManus MT, et al. Conditional loss of Dicer disrupts cellular and tissue morphogenesis in the cortex and hippocampus. J Neurosci 2008; 28(17): 4322-30.
83. Damiani D, Alexander JJ, O'Rourke JR, McManus M, Jadhav AP, Cepko CL, et al. Dicer inactivation leads to progressive functional and structural degeneration of the mouse retina. J Neurosci 2008; 28(19): 4878-87.
84. Schratt GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. Nature 2006; 439(7074): 283-9.
85. Visvanathan J, Lee S, Lee B, Lee JW, Lee SK. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development. Genes Dev 2007; 21(7): 744-9.
86. Makeyev EV, Zhang J, Carrasco MA, Maniatis T. The MicroRNA miR-124 promotes neuronal differentiation by triggering brain-specific alternative pre-mRNA splicing. Mol Cell 2007; 27(3): 435-48.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 22.04.2014
Vol. 32, No. 296, 1st Week, October 2014
Accepted: 19.08.2014

miRNA, Biogenesis and Mechanisms of Regulations

Naeim Ehtesham[1], Mahdiyeh Modi[1], Majid Kheirollahi PhD[2]

ReviewArticle

Abstract

miRNAs (microRNAs) were discovered in 1993 in Caenorhabditis elegans as one of the most important gene expression regulatory factors. This regulatory role includes many of the important intracellular processes like genesis, differentiation, proliferation and apoptosis. miRNAs are among mRNAs and like them are transcribed by RNA polymerase II and then cap and polyA tail are added to them. The resulted pri-miRNA converts to mature miRNA by two sequential trimming reactions. miRNAs exerts their regulatory effects by translation repression, translation activation and mRNA degradation. miRNAs have an important role in regulation of immune and nervous systems and disorder in their expression can lead to separate disease in both systems.

Keywords: miRNA, Biogenesis, Regulations mechanism

Citation: Ehtesham N, Modi M, Kheirollahi M. **miRNA, Biogenesis and Mechanisms of Regulations.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): 1259-68

1- MSc Student, Pediatric Inherited Diseases Research Center, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Pediatric Inherited Diseases Research Center, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Majid Kheirollahi PhD, Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir