

BÖLÜM 15

UZUN KODLAMAYAN RNA'LAR VE TERAPÖTİK YAKLAŞIMLAR

Fadime MUTLU İÇDUYGU¹

GİRİŞ

Tüm genom dizileme tekniklerinin gelişmesiyle birlikte genomun hem kodlayan hem de kodlamayan bölgeleriyle ilgili daha detaylı bilgiler edinilmiş, özellikle de genomun kodlamayan bölgelerinin sanılandan daha önemli fonksiyonları olduğu anlaşılmıştır. İki yüz nükleotidden uzun, protein kodlamayan fakat oldukça önemli düzenleyici rolleri olan uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA) son yıllarda yapılan genomun karanlık kısmına ait önemli keşiflerden biridir (1,2). Her ne kadar kodlamayan RNA'lar olarak adlandırılırsalar da, elde edilen son veriler bazı lncRNA'ların 300 nükleotidden kısa açık okuma bölgeleri (ORF) içerebildiğini ve translasyona uğrayarak küçük proteinler veya peptitler üretebildiklerini göstermektedir. Çok az bir kısmı ise hem peptit hem de RNA molekülü olarak dual fonksiyona sahiptir (3). lncRNA'lar mesajcı RNA'lara (mRNA) kıyasla genellikle daha düşük düzeyde eksprese edilir ve daha yüksek doku spesifik ekspresyon paternine sahiptirler (1).

mRNA moleküllerine benzer şekilde lncRNA'lar da RNA polimeraz II tarafından transkribe edilir ve sonrasında 5' cap başlığının eklenmesi, poliadenilasyon ve splayzing prosesleri gerçekleşir. (4). Genellikle nükleus veya sitoplazmada bulunan lncRNA'ların hücre içi lokalizasyonları onların fonksiyonlarını belirler. lncRNA'lar aynı zamanda komşu hücrelere veya eksozomlar aracılığıyla serum taşınabilirler. Nükleusta yer alan lncRNA'lar kromatin modifikasyonu veya enhansır RNA rolü üstlenmek gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla, direkt veya dolaylı yollarla transkripsiyonu kontrol edebilir. Ayrıca pre-mRNA molekülünün splayzing prosesini düzenleyebilir, protein komplekslerinin oluşumunda skaffold olarak iş görebilirler. Sitoplazmada bulunan lncRNA'lar ise sinyal aktarım yollarına aracılık edebilir, gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel olarak düzenlenmesinde veya translasyonun düzenlenmesinde rol alabilirler. Bazıları ise

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD., fadimemutlu@yahoo.com

translasyona uğrayarak peptit üretebilirler. LncRNA'lar tarafından kodlanan bu peptitlerin organizmalar için oldukça önemli fonksiyonları olduğu ortaya konulmuştur (4-6). Yapılan son çalışmalarda bazı LncRNA'ların hem nükleusta hem de sitoplazmada farklı fonksiyonlarının olduğu bildirilmiştir. Proapoptotik PYD ve CARD domeyni içeren protein (PYCARD) genine antisens transkript 1 (PYCARD-AS1) LncRNA bu duruma örnek gösterilebilir. PYCARD-AS1 nükleusta DNA metilasyonu ve H3K9me2 modifikasyonunu gerçekleştirmek için DNA metil transferaz 1 (DNMT1) ve bir histon metil transferaz olan G9a'yı PYCARD promotoruna yönlendirirken, sitoplazmada PYCARD mRNA ile etkileşerek ribozomun bir araya gelmesini ve PYCARD translasyonunu inhibe eder (6).

LncRNA'LARIN FARKLI ÖZELLİKLERİNE GÖRE SINIFLANDIRILMASI

LncRNA'lar farklı özelliklerine göre farklı şekillerde sınıflandırılırlar. Genomdaki lokalizasyonlarına bağlı olarak sens, antisens, çift yönlü (bidirectional), intronik, intergenik ve enhansır LncRNA'lar olarak gruplara ayrılırlar. Sens LncRNA'lar etrafındaki protein kodlayan genlerle aynı zincirden ve aynı yönde transkribe olurlar. Antisens olanlar ise etrafındaki protein kodlayan genlerin bulunduğu zincirin karşı zincirinden transkribe edilirler. İtronik LncRNA'lar protein kodlayan bir genin intronik bölgeleri içinde yer alırlar. İntergenik olanlar ise iki protein kodlayan gen arasında kalan genomik bölgede yer alır ve bu genlerle aynı yönde transkripsiyona uğrarlar. Son olarak çift yönlü olanlar, protein kodlayan bir genin promotor bölgesinin 1 kilobaz yakınında lokalizedirler fakat karşı zincirden transkribe edilirler (7).

LncRNA'lar aynı zamanda fonksiyonlarına göre de sinyal, tuzak, kılavuz, skafold ve enhansır LncRNA'lar olarak da sınıflandırılırlar (8,9). Sinyal LncRNA'lar X kromozom inaktivasyonu gibi çeşitli hücrel proselerde moleküler sinyaller olarak iş görürler. Sadece belirli bir zamanda (örneğin gelişim sürecinde) eksprese edilirler ve işlevlerini yerine getirdikleri hücrenin belirli bir bölgesinde lokalizedirler. Bunlar hücre tipine spesifiklerdir ve çok farklı uyaranlara cevap verebilirler. KCNQ1 karşı zincir/antisens transkript 1 (KCNQ1OT1) ve AIR sinyal LncRNA'lara örnek verilebilir. Gelişimin erken evrelerinde kromatin modifiye edici enzimlerle etkileşerek transkripsiyona aracılık ederler (7,9).

Tuzak LncRNA'lar, kromatin modifiye ediciler, transkripsiyon faktörleri, RNA'ya bağlanan proteinler ve mikro RNA'lar (miRNA) gibi çeşitli düzenleyici elemanlara bağlanarak onları inhibe eder, alıkoyar veya biyolojik aktivitelerini değiştirirler. Tuzak LncRNA'lara DNA hasarı ile aktive edilen p21 ilişkili kodlamayan RNA (PANDA) örnek verilebilir. DNA hasarının oluşması durumunda, PANDA

nükleer transkripsiyon faktörü alt ünite alfa (NF-YA) ile etkileşerek p-53 aracılı apoptozu önler. NF-YA apoptoz ve hücre yaşlanması ile ilişkili çeşitli genleri aktive eder. PANDA, NF-YA'ya bağlanarak onu hedef kromatin bölgesinden uzaklaştırır, böylece apoptotik ve hücre yaşlanması ile ilişkili genlerin ekspresyonu azalır. Hemen hemen tüm kanser türleri ve diğer bazı hastalıklar ile ilişkisi araştırılmış olan metastaz ilişkili akciğer adenokarsinom transkripti 1 (MALAT1) tuzak lncRNA'ların bir diğer örneğidir. Nükleer beneklerde lokalize olan MALAT1, buradaki splayzing faktörlerine bağlanarak pek çok pre-mRNA molekülünün alternatif splayzingini etkiler (7,10,11).

Spesifik olarak miRNA'lara bağlanan ve onlar için sünger görevi gören lncRNA'lar, bağlandıkları miRNA'ların hedefledikleri mRNA moleküllerinin protein translasyonunu etkiler. Bu özelliklerinden dolayı rekabetçi endojen RNA'lar (ceRNA) olarak adlandırılan lncRNA'lar da tuzak sınıfına dahil edilebilir. HOX antisens intergenik RNA (HOTAIR), taurin-upregüle gen 1 (TUG1) , maternal olarak eksprese edilen gen 3 (MEG3) gibi pek çok lncRNA'nın çeşitli miRNA'lar için sünger görevi gördüğü ve bu şekilde hedef mRNA moleküllerinin protein translasyonunu ve degradasyonunu etkilediği bilinmektedir (7,10,11).

Kılavuz lncRNA'lar, transkripsiyon faktörleri ve kromatin modifiye ediciler gibi proteinlerle ribonükleoprotein kompleksleri oluşturarak onları genomda cis ya da trans pozisyonundaki işlev göreceklere lokalizasyonlara yönlendirirler. Böylece gen ekspresyonunun baskılanmasına ya da aktive edilmesine aracılık etmiş olurlar. Kılavuz fonksiyonu olan HOTAIR, bir kromatin modifiye edici kompleks olan polycomb baskılayıcı kompleks 2'yi (PRC2) homeobox D (HOXD) lokusuna yönlendirir (7,10).

Skaffold lncRNA'lar multipl enzimatik komplekslerin veya düzenleyici kofaktörlerin geçici olarak bir araya gelmesini sağlamak amacıyla yapısal merkezi bir platform olarak iş görürler. Telomeraz RNA komponent (TERC) skaffold lncRNA sınıfının klasik örneklerinden biridir. TERC bir ribonükleoprotein kompleksi içinde, revers transkriptaz aktivitesi ile telomeri hedefleyen proteinlerin birleşmesini sağlayarak, telomerlerde heterokromatin oluşumuna imkan sağlar (10,11).

Enhansır lncRNA'lar enhansır elementlerden üretilmektedir ve hedef genlerin aktivasyonunu etkilerler. Kromatin düzenleyici proteinlerle birlikte kromatin yapısı ve topolojisini modifiye edebilirler. Östrojen bağımlı transkripsiyonel aktivasyonda enhansır lncRNA'ların rol oynadığı bilinmektedir. SWI/SNF etkileşimli GAS6 enhansır kodlamayan RNA (SWINGN) ise bir kromatin halka oluşturulması aracılığıyla SWI/SNF kromatin yeniden şekillendirme kompleksleri ile hedef geni olan büyümenin durdurulmasına spesifik protein 6 (GAS6) geninin transkripsiyon başlangıç bölgesi arasındaki etkileşime katkıda bulunmaktadır (7,11).

LncRNA'lar her ne kadar farklı özelliklerine göre sınıflandırılırsalar da her hangi bir sınıf altındaki lncRNA'lardan biri aynı zamanda başka bir sınıfta da yer alabilir. Örnek olarak bir lncRNA hem tuzak hem de skaffold olarak iş görebilir.

LncRNA'LAR TARAFINDAN GEN EKSPRESYONUNUN DÜZENLENMESİ

LncRNA'lar gen ekspresyonunu farklı aşamalarda ve farklı mekanizmalar kullanılarak düzenlerler. Bu süreçlerde DNA, RNA ve proteinlerle etkileşirler. LncRNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemek için kullandıkları mekanizmalar ve bu düzenlemenin gerçekleştiği aşamalar iki ana başlık altında incelenebilir: 1) Transkripsiyonel düzenleme (Şekil 1); 2) Post-transkripsiyonel düzenleme (Şekil 2) (8,11). Aşağıda lnc RNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemedeki rolleri bu ana başlıklar ve alt başlıklar altında özetlenmektedir.

TRANSKRİPSİYONEL DÜZENLEME

Kromatin Yapısının Düzenlemesi

Kromatin konformasyonundaki değişiklikleri ve kromatinle etkileşen yapıları ortaya çıkaran teknikler sayesinde, lncRNA'ların kromatin yapısını ve dolayısıyla gen ekspresyonunu çeşitli şekillerde düzenleme kabiliyetleri olduğu anlaşıldı. LncRNA'ların kromatin yapısını değiştirme yöntemleri arasında kromatin modifiye ediciler / yeniden şekillendiriciler ile etkileşim (kromatin modifiye ediciler / yeniden şekillendiricilerin bir araya getirilmesi ve hedef genin promotörüne yönlendirilmesi veya alıkonulması ve inhibe edilmesi) veya doğrudan kromatin ile etkileşim (DNA'ya bağlanarak RNA-DNA dupleks oluşumu ile bir halka yapısının oluşumunu sağlamak ve bu halkanın kromatin modifiye edici/yeniden şekillendirici enzimler veya transkripsiyon faktörleri tarafından tanınması ile gen ekspresyonunun aktivasyonu veya baskılanması) sayılabilir (11).

Kromatin Modifiye Ediciler / Yeniden Şekillendiricilerle Etkileşim

X-inaktif spesifik transkript (XIST) aracılığıyla erken embriyonik gelişim aşamasında dişi memelilerde X kromozomlarından birinin inaktivasyonu akla gelen ilk örnektir. İnaktive edilecek X kromozomundan XIST geni transkribe edilir. Uyarılması ile birlikte XIST lncRNA, inaktive edilecek X kromozomu boyunca yayılarak baskılayıcı kromatin işaretlerinin oluşmasına aracılık eder ve kromozomun büyük bir kısmının transkripsiyonel olarak susturulmasına neden olur. İnaktive edilen X kromozomu nükleusun periferinde lokalize olur (12). XIST'in PRC1 ve PRC2 komplekslerini bir araya getirerek gen sessizleştirmeyi sağladığı bildirilmiş olmakla beraber, moleküler fonksiyonu hala tam olarak anlaşılamamıştır

(2,12). Kromatin modifiye edici enzimlerden olan PRC1, histon H2A lizin 119'da monoubikitinasyonu (H2AK119ub1) katalizler ve bu şekilde polycomb aracılı transkripsiyonel baskılamayı gerçekleştirir. PRC2 ise histon H3 lizin 27 mono/di/tri metilasyonunu (H3K27me1/2/3) katalizleyerek transkripsiyonel baskılamaya aracılık eder (13). HOTAIR 12. Kromozomda lokalize olan HOXC gen kümesinden transkribe olmakta ve HOXC ile birlikte eksprese edilmektedir. HOTAIR, 2. kromozomda bulunan HOXD geninin ekspresyonunu düzenler. Lizin spesifik demetilaz 1 (LSD1) ve PRC2 kompleksi için bağlanma domeni barındıran ve skaffold görevi gören HOTAIR, PRC2 ve LSD1'in sırasıyla H3K27 metilasyonu ve H3K4 demetilasyonunu gerçekleştirmesini sağlar ve böylece HOXD geninin ekspresyonunun baskılanmasına aracılık eder (Şekil 1A) (12,14,15). INK4 lokusu içindeki antisens RNA (ANRIL) benzer şekilde PRC1 ve PRC2 komplekslerini kendisinin yakınında lokalize olan siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A (CDKN2A) ve CDKN2B genlerinin promotoruna yönlendirerek bu genlerin ekspresyonunu ve nihayetinde hücre yaşlanmasını kontrol eder. ANRIL bu şekilde hem kendi komşuluğundaki genlerin (cis etki) hem de daha uzak genlerin (trans etki) ekspresyonu düzenleyebilir (16,17).

XIST, HOTAIR, ANRIL, kromatin modifiye ediciler aracılığıyla transkripsiyonun baskılanmasını sağlayan lncRNA'lar arasında yer alırken, distal uçtaki HOXA transkript (HOTTIP) lncRNA kromatin modifiye edicilerle etkileşerek gen ekspresyonunun aktive edilmesine örnek gösterilebilir. HOTTIP bir kromatin halkası oluşturarak HOXA gen kümesinin 5' ucundaki genlerle etkileşir. HOTTIP WD tekrarı içeren protein 5 (WDR5) ile etkileşerek WDR5-karışık seri lösemi (MLL) kompleksini HOXA genlerinin promotoruna yönlendirir. Bu şekilde histon H3 lizin 4 trimetilasyonunun (H3K4me3) oluşumuna aracılık ederek HOXA genlerinin transkripsiyonunun aktive edilmesini sağlar (11,18,19).

Lnc RNA'lar bazen de kromatin modifiye ediciler için tuzak olarak iş görüp onların fonksiyonlarını göstermelerine engel olabilirler. Lnc RNA yeniden programlamanın düzenleyicisi (ROR) bir onkogen olan tescalin (TESC) geninin promotoruna bağlanarak histon G9A metiltransferazın bağlanmasını ve H3K9 metilasyonununun yapılmasını engeller ve bu şekilde TESC geninin eksprese edilmesine katkıda bulunur (20).

LncRNA'lar aynı zamanda kromatin yeniden şekillendiriciler ile etkileşerek transkripsiyonu düzenleyebilirler. SWIGN lncRNA bir enhansır elemanından transkribe edilmektedir. SWIGN, GAS6 geninin transkripsiyon başlangıç bölgesi ile bir kromatin yeniden şekillendirici kompleks olan SWI/SNF kompleksi arasındaki etkileşime aracı olur. SWIGN lncRNA, SWI/SNF kompleksinin daha uzakta yer alan gen bölgeleri ile etkileşimini de, bir kromatin halkası aracılığıyla sağla-

bilmekte ve trans yolla düzenleme yapabilmektedir (11). HOTAIR lncRNA'nın da SWI/SNF kompleksinin bileşenlerinden olan SWI/SNF ilişkili, matris bağlantılı, aktin bağımlı kromatin regülatörü alt aile B üye 1 (SMARCB1) ve AT açısından zengin etkileşim domeyni 1 (ARID1) ile etkileşerek, kromatin yapısının değiştirilmesine ve nihayetinde SNAIL geninin transkripsiyonunun indüklenmesine yol açtığı bildirilmiştir. HOTAIR bu mekanizma ile böbrek kanserinin ilerlemesine neden olmaktadır (2).

Doğrudan Kromatin İle Etkileşim

Lnc RNA'lar aracılı kromatin düzenlenmesinin bir diğer örneği lncRNA'ların DNA ile etkileşerek bir RNA-DNA hibriti (R halka veya triplex gibi) oluşturmaları ve bu yapının kromatin modifiye ediciler tarafından tanınarak hedef genlerin transkripsiyonunun aktive veya inhibe edilmesidir. Sfingozin kinaz 1 (SPHK1) proto-onkogeninin antisensi olan KHPS1 lncRNA, proliferasyon sinyaline yanıt olarak SPHK1 enhansır dizisinin upstream bölgesinde bir tripleks yapısı oluşturur. Bu yapı, kromatin modifiye ediciler tarafından bir işaret olarak tanınır ve SPHK1 enhansır elementinin transkripsiyonu aktive edilir ki bunu da SPHK1 ekspresyonunun indüklenmesi takip eder (Şelik 1B) (21).

Transkripsiyonda Rol Alan Proteinler veya RNA Polimeraz II İle Etkileşim

LncRNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemelerinin bir diğer yolu da transkripsiyon faktörleri gibi proteinlerle veya RNA polimeraz II gibi transkripsiyon makinesinde iş gören elemanlarla etkileşim aracılığıyla gerçekleşir. Bu duruma, farede IGF2R antisensi protein kodlamayan RNA (AIRN) adlı lncRNA'nın embriyonik kök hücre farklılaşması sırasında, allel spesifik ekspresyonun başlatılmasındaki rolü örnek gösterilebilir. Paternal allelden AIRN'in transkribe edilmesi, RNA polimeraz II'nin AIRN ile çakışan insülin benzeri büyüme faktörü 2 reseptörü (IGF2R) promotöründen yer değiştirmesine neden olur. Bu durum ise IGF2R geninin transkripsiyonunun durmasına ve genin eksprese edilmemesine neden olur. Bu örnekte AIRN IGF2R'nin ekspresyonunu düzenlemeyi kendi dizisinden bağımsız olarak transkripsiyonel aktivitesi ile yapmaktadır (11).

AIRN örneğinden farklı olarak, bazen başka bir transkripsiyon ünitesi ile çakışmasa da, bir lncRNA'nın transkripsiyonu komşu promotörler veya gen bölgelerinde RNA polimeraz II'nin varlığını, bölgesel kromatin yapısını ve transkripsiyon faktörlerinin promotörlere veya enhansırlara bağlanmasını etkileyebilir. BLUSTR lncRNA bu duruma örnek verilebilir. BLUSTR, dört Mbt domeynli Scm benzeri protein 2'nin (SFMBT2) transkripsiyon başlama bölgesi ve kodlayan böl-

genin içinde RNA polimeraz varlığını azaltır. Aynı zamanda H3K4me3'ü azaltıp, H3K27me3'ü genişleterek SFMBT2 promotorunda kromatin yapısını değiştirir. Dolayısıyla BLUSTR lncRNA'nın transkripsiyon ve splayzinginin komşu genlerin ekspresyonu üzerinde etkili olduğu ortaya koyulmuştur (12).

LncRNA'lar transkripsiyon faktörleri ile de etkileşebilir ve bu şekilde transkripsiyonu etkileyebilirler. CDKN1A promotorundan transkribe edilen PANDA lncRNA, bir transkripsiyon faktörü olan NF-YA'yı geçici olarak alıkoyarak, DNA hasarına cevaben gelişen pro-apoptotik işlevini baskılar (Şekil 1C) (22).

LncRNA Rabdomiyosarkom 2 ilişkili transkript (RMST), SRY-box transkripsiyon faktörü 2 (SOX2) ile doğrudan etkileşir ve nörogenezde rol alan pek çok genin ekspresyonunun aktive edilmesine aracı olur. Ortamdaki RMST miktarı azaldığında SOX2'nin transkripsiyona elverişli kromatin yapısı da değişir ve SOX2 ekspresyonu azalır (23,24).

Bazı çalışmalarda, lncRNA'ların transkripsiyon faktörleri ile direkt fiziksel olarak etkileşmek yerine, diğer bazı proteinlerle kompleks oluşturarak transkripsiyon faktörlerini baskıladığı ortaya koyulmuştur. NFAT transkripsiyon faktörünü baskılamak için NFAT'ın kodlamayan baskılayıcısı (NRON) lncRNA'nın diğer bazı proteinlerle kompleks oluşturması bu duruma örnek gösterilebilir.

DNA Metiltransferazlarla Etkileşim

LncRNA'lar tarafından transkripsiyonel düzeyde gen ekspresyonunu düzenlemenin bir diğer yolu, DNA metilasyonundan sorumlu olan DNA metiltransferazlarla (DNMT) etkileşimdir. Bu sayede, özellikle genlerin promotor bölgesindeki CpG adacıklarının metilasyonu veya demetilasyonunun sağlanması aracılığıyla transkripsiyon düzenlenebilmektedir. Tümör büyüme faktörü beta tarafından aktive edilen lncRNA'nın (lncRNA ATB) DNMT1'i bir tümör supressör gen olan p53 geninin promotoruna yönlendirerek, metilasyona ve dolayısıyla p53 ekspresyonunun baskılanmasına yol açtığı bildirilmiştir. (Şekil 1D). LncRNA ATB'nin renal hücreli karsinomda yüksek düzeyde eksprese edildiği ve hücrelerin proliferasyon ve migrasyon yeteneklerinin artmasına, apoptozun ise engellenmesine neden olduğu ortaya koyulmuştur (25).

KCNQ1 lokusunun antisens transkripti olan KCNQ1OT1' de benzer şekilde DNMT1 ile etkileşerek pek çok hedef genin susturulmasına aracılık eder. KCNQ1OT1 paternal olarak eksprese edilirken, KCNQ1 maternal olarak eksprese edilir. KCNQ1'in bu imprinting paterni KCNQ1OT1 aracılığıyla sağlanır. Paternal allelden eksprese edilen KCNQ1OT1, DNMT1 ile etkileşime ek olarak histon modifiye edici komplekslerle de (PRC2 kompleksi ve G9a) etkileşerek paternal

alleldeki KCNQ1' in ve diğer hedef genlerin transkripsiyonel olarak susturulmasına neden olur. Böylece KCNQ1 sadece maternal allelden eksprese edilir (24,26).

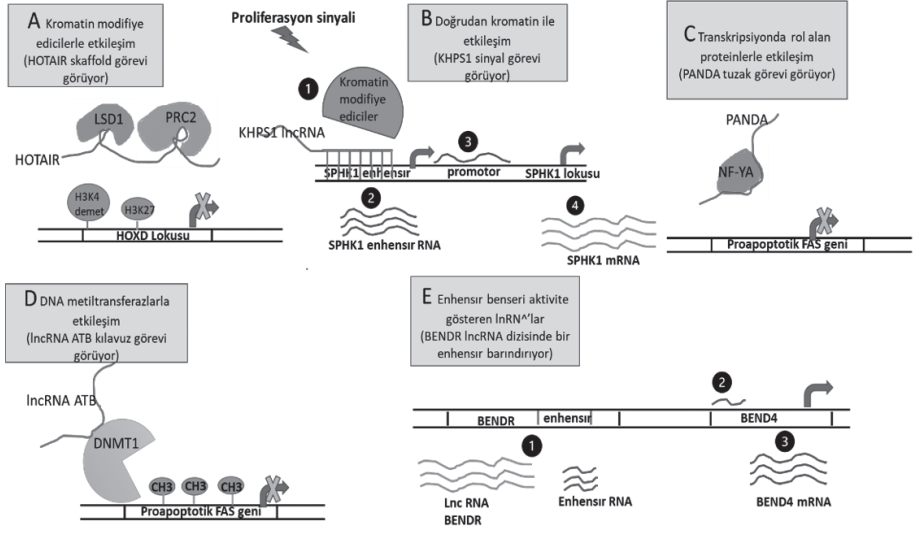
Bazı lncRNA'lar ise DNA metiltransferazların metilasyon yapmalarını engelleyerek fonksiyon gösterirler. Mesane kanserinde hem lncRNA DBCCR1-003'ün hem de bir tümör suppressör gen olan mesane kanserinde delesyona uğrayan kromozom 1 (DBCCR) geninin ekspresyonunun azaldığı ortaya koyulmuştur. LncRNA DBCCR1-003'ün DNMT1'e bağlanarak DBCCR1 geninin DNMT1 aracılı metilasyonunu engellediği gösterilmiştir. LncRNA DBCCR1-003 aracılığıyla gerçekleşen bu durum, bir tümör suppressör gen olan DBCCR1'in transkripsiyonunun aktive edilmesine neden olmaktadır (27).

XIST lncRNA'nın antisensi olan TSIX lncRNA'nın, DNMT3A ile kompleks oluşturarak onu XIST promotoruna yönlendirebileceği ve metilasyon aracılı XIST ekspresyonunun baskılanmasını sağlayabileceği bildirilmiştir (24).

Enhansır Benzeri Aktivite Göstererek Transkripsiyonu Düzenleyen lncRNA'lar

Bazı lncRNA'lar, enhansır lokusunun haricinde bağımsız bir lokustan, bazıları ise bir enhansır dizisinden transkribe edilir ve enhansırlara benzer şekilde transkripsiyonu aktive etme fonksiyonuna sahiptirler. LncRNA Evf2, sonik hedgehog (SHH) indüksiyonunu takiben, Dlx5/6 enhansırından transkribe edilir. Sonrasında Distal-Less Homeobox 6 (DLX2) transkripsiyon faktörü ile kompleks oluşturarak enhansıra bağlanır. Ortamda Evf2'nin azalmasıyla Dlx5/6 enhansır aktivitesinin azaldığı, arttığında ise enhansır aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir ki bu da enhansır aktivitesi için Evf2'ye ihtiyaç olduğunu göstermektedir (25,28). HOTTIP ise enhansır lokusundan transkribe edilmeyen fakat enhansır benzeri etki gösteren lncRNA'lara örnek gösterilebilir. HOTTIP, HOXA lokusunun 5' ucundan transkribe olur ve 5' pozisyonundaki HOXA genlerinin bir kısmının aktivasyonunu düzenler (28).

Bazı lncRNA'lar ise DNA dizilerinde enhansırlar gibi fonksiyonel elemanlar barındırırlar. RNA'ya bağlı olmayan BEND-4 düzenleme etkisi (BENDR) adlı lncRNA içine gömülü olan ve BENDR'in transkripsiyonu ile eşzamanlı transkribe edilen bir enhansır aracılığıyla, komşu BEND4 geninin aktivasyonunu düzenler (Şekil 1E) (11).



Şekil 1. LncRNA'ların transkripsiyonu düzenleme mekanizmaları

POST-TRANSKRİPSİYONEL DÜZENLEME

LncRNA'lar, alternatif splayzing, RNA stabilizasyonu, RNA editing, protein sentezi ve taşınması gibi proseslerde işe karışarak gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel olarak düzenlenmesinde rol alırlar. Ayrıca miRNA'ların prekürsörü olarak veya miRNA süngeri olarak da fonksiyon gösterebilir ve hedef gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde etkileyebilirler (2,11,12,25).

lncRNA'ların Alternatif Splayzing Üzerine Etkileri

Alternatif splayzing öncül RNA moleküllerinden farklı olgun RNA moleküllerinin üretilmesini sağlar ve gen ekspresyonunun geçici olarak düzenlenmesi ve protein çeşitliliğinin sağlanması açısından oldukça önemlidir. Splayzing prosesindeki anormallikler kanser gibi çeşitli hastalıkların oluşumu ile de sonuçlanabilir. Splayzing proseslerinde splayzing faktörleri ve RNA'ya bağlanan proteinler iş görmekte, lncRNA'lar da bu proteinler ile etkileşerek splayzingi düzenlemektedir (25,29,30).

Nükleer beneklerde lokalize olan lncRNA MALAT1, bazı splayzing faktörleri için RNA bağlanma bölgesi barındırmaktadır. Bunlardan biri olan SR (serin/arginin) protein splayzing faktör 1 (SRSF1) MALAT1'in 5' ucuna bağlanmaktadır. Yapılan çalışmalar MALAT1'in SRSF2 ve SRSF3'ü de içeren pek çok SR ailesi proteinine bağlanabildiğini ve nükleer benekler içinde SR proteinlerinin dağılımını, yerleşimini ve fosforilasyon durumlarını etkileyebildiğini göstermiştir. MALAT1

SR proteinlerini transkripsiyonun yapılacağı bölgelere yönlendirerek alternatif splayzingi düzenler (Şekil 2A) (31,32).

Küçük nükleolar RNA ilişkili lncRNA (Sno-lncRNA), 5' başlıklı küçük nükleolar RNA ve 3' poliadenile RNA lncRNA (SPA lncRNA) ve pirimidin zengin kodlamayan transkript lncRNA'lar (PNCTR) yapılarında splayzing faktörlerini alıkoyan bazı motifler içermektedir. Sno-lncRNA'lar ve SPA lncRNA'lar splayzing faktörlerinden, RNA bağlanma proteini FOX1 homoloğu 2'yi (RBFox2) bağlamak için UGCAU ve GCAUG motiflerini, TAR DNA bağlanma proteini 43'ü (TDP43) bağlamak için UG açısından zengin dizileri içeren motifleri barındırır. PNCTR ise YUCUYY ve YYUCUY motifleri sayesinde polipirimidin bölgesi bağlanma proteini 1'i (PTBP1) alıkoyar. Bu sayede Sno, SPA ve PNCTR lncRNA'lar aynı motifleri içeren öncül mRNA'ların splayzingini baskılar (11).

lncRNA'lar yukarıda sayılan mekanizmalara ilave olarak öncül mRNA molekülleri ile RNA dupleksleri oluşturarak splayzingin baskılanması, splayzing faktörlerinin post-translasyonel modifikasyonlarının etkilenmesi veya kromatin yeniden şekillendirme aracılığıyla öncül mRNA'ların splayzing prosesinin düzenlenmesi gibi roller üstlenebilirler (33).

lncRNA'ların mRNA Stabilitesi ve Yıkımı ile İlişkisi

Yapılan çalışmalar lncRNA'ların farklı yollarla mRNA stabilitesini düzenleyebildiğini göstermiştir. Bunlar arasında 1) RNA'ya bağlanan proteinlerin veya miRNA'ların mRNA üzerindeki bağlanma bölgesi ile direkt etkileşim; 2) RNA'ya bağlanan proteinleri veya miRNA'ları alıkoyma; 3) Hedef mRNA ile RNA'ya bağlanan proteinlerin etkileşimini artırmak için skaffold görevi üstlenme; 4) N6-methyladenosine (m⁶A) metilasyonunu (RNA stabilitesini sağlayan bir RNA modifikasyonu) gerçekleştiren kompleksle etkileşerek hedef mRNA'nın m⁶A seviyesini düzenleme sayılabilir (34).

Beta sekretaz 1 (BACE1) geni, Alzheimer's hastalığının patofizyolojisinde önemli rol oynayan beta amiloid öncül proteinini kesen enzim1 proteinini kodlamaktadır. BACE1 geninin antisensi olan lncRNA (BACE1-AS) miRNA aracılı mRNA yıkımı ve translasyonel baskılamının önlenmesi aracılığıyla BACE1'in ekspresyonunu düzenler. BACE1-AS ve miR-485-5p *BACE1 mRNA transkriptinin* 6. ekzonuna denk gelen ortak bir bağlanma bölgesi içerirler. BACE1-AS'nin bu bölgeye bağlanması, miR-485-5p'nin bağlanmasını ve dolayısıyla BACE1 mRNA'nın destabilizasyonunu önleyerek, BACE1 ekspresyonunun artışına neden olur (35).

Ürotelyal kanser ilişkili lncRNA'nın (UCA1) iki farklı şekilde mRNA stabilizasyonunu sağladığı bilinmektedir. UCA1, hem mRNA'ya bağlanarak miRNA

aracılı mRNA yıkımını engeller hem de hedef genlerinin ekspresyonunu negatif şekilde düzenleyen miRNA'lar için sünger görevi görür (34,36).

Kolon kanserinde metastaz ilişkili protein 1 (MACC1) geni, ekspresyonu pek çok farklı kanser türünde artan bir onkogen olan MET geninin transkripsiyonel düzenleyicisidir. MAAC1 antisensi lncRNA1 (MACC1-AS1) ise MACC1 geninin intronik antisensidir. Metabolik stres koşulları altında gastrik kanser tümör dokularında yüksek düzeyde eksprese edildiği ve gastrik kanser hücrelerinin canlılığı ve proliferasyonunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarla MACC1-AS1'in direkt olarak MACC1 mRNA'ya bağlanarak, MACC1 mRNA'nın stabilizasyonunu ve ekspresyonunu arttırdığı ortaya koyulmuştur. MACC1-AS1'in MACC1 stabilitesi üzerindeki etkisine dair AMP ile aktive edilen protein kinaz (AMPK) ve lin28 aracılığıyla gerçekleşen farklı bir mekanizma da öne sürülmüştür. AMPK özellikle stres koşulları altında mRNA stabilizasyonunda önemli rol oynayan bir proteindir ve bunu RNA'ya bağlanan proteinler aracılığıyla yaptığı rapor edilmiştir. Lin28 ise daha çok sitoplazmada iş gören mRNA'ya bağlanan bir proteindir. MACC1-AS1'in artan ekspresyonunun AMPK fosforilasyonunu ve lin28'in sitoplazmik dağılımını indüklediği gösterilmiştir. Sonuç olarak artan MACC1-AS1 ekspresyonunun, AMPK aktivasyonu ve bunu takiben lin28'in nükleustan sitoplazmaya taşınımını indüklediği ve bu şekilde MACC1 mRNA stabilizasyonu ve ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (25,37).

Sirtüin 1 (SIRT1) antisensi olan lncRNA'nın (SIRT1-AS) SIRT1 genine bağlanıp RNA dupleksi oluşturarak SIRT1 mRNA'nın stabilitesini arttırdığı ve yarılanma ömrünü uzattığı bilinmektedir. SIRT1 mRNA, miRNA-34a'nın hedef genlerinden biridir ve miRNA-34a'nın ekspresyonu SIRT1 ve SIRT1-AS ekspresyonu ile negatif şekilde koreledir. SIRT1-AS'nin miRNA-34a ekspresyonunu inhibe ederek, SIRT1 mRNA'nın baskılanmasını azalttığı ve bunun da, proliferasyonla ilişkili genlerin eksprese edilmesi ile sonuçlandığı bildirilmiştir (25,34).

OPA etkileşimli protein 5 (OIP5) antisensi transkript1, gelişim sürecinde nörogenezin kontrolünde rol almaktadır. OIP5-AS1'in farklı kanser türlerinde farklı miRNA'lar için sünger görevi üstlenerek hedef mRNA'ların stabilizasyonunu ve ekspresyonunu arttırdığı bilinmektedir. Örnek olarak servikal kanserde OIP5-AS1'in miRNA-143-3p için bağlanma bölgesi içerdiği ve sünger görevi gördüğü, bu sayede miRNA-143-3p'nin hedef genleri olan SMAD3 ve integrin alt ünitesi alfa 6 (ITGA6) ekspresyonlarının baskılanmasını engellediği ve servikal kanser hücrelerinin invazyon, proliferasyon ve migrasyonunu teşvik ettiği ortaya çıkarılmıştır (38).

LncRNA'ların mRNA stabilizasyonuna katkıda bulunma yöntemlerinden biri de, mRNA'ya bağlanarak RNA bağlanma proteinlerini buraya çekmek ve mRNA'ya bağlanmalarına aracılık etmektir. HOXC10 mRNA stabilize edici faktör lncRNA'nın (lncRNA HMS), mRNA stabilizasyonundan sorumlu RNA'ya bağlanma proteini (RBP) HuR ile etkileşerek, kanser hücrelerinin proliferasyonunda anahtar rol oynayan HOXC10 mRNA stabilizasyonunu sağladığı bildirilmiştir. Transkriptlerin stabilizasyonuna yardım eden lncRNA (LAST lncRNA), CCHC tipi çinko parmak nükleik asit bağlanma proteini (CNBP) ile siklin D1 (CCND1) geninin 5' ucu arasındaki etkileşimi indükleyerek CCND1 mRNA'sını nükleazlara karşı korur ve stabilize eder (39).

Bazı durumlarda da lncRNA'lar, mRNA'ya bağlanarak, RNA bağlanma proteinlerinin mRNA'ya bağlanmasını bloklama yoluyla mRNA'nın stabilizasyonunu engeller. LncRNA 7SL, TP53 mRNA'nın 3' ucu ile etkileşerek mRNA stabilizasyonundan sorumlu HuR RBP'nin p53 mRNA'sına bağlanmasını engeller ve bu durum TP53 translyasyonunun baskılanması ile sonuçlanır (40).

LncRNA'lar, RBP'lere bağlanıp onları alıkoyarak ve aktivitelerini değiştirerek de mRNA stabilizasyonunu ve ekspresyonunu düzenleyebilirler. Post-transkripsiyonel baskılamadan sorumlu PUMILIO proteinlerine bağlanarak onları alıkoyan lncRNA DNA hasarı ile aktive edilen kodlamayan RNA (NORAD) bu duruma örnek gösterilebilir. NORAD bu şekilde hedef genlerin mRNA stabilitesini ve translyasyonunu düzenleyebilmekte ve genom stabilitesinin sağlanmasına katkıda bulunmaktadır (Şekil 2B) (41).

GAS5-AS1 gibi bazı lncRNA'lar, RNA modifikasyonu yapan enzimlerle etkileşerek mRNA stabilitesini düzenleyebilmektedir. GAS5-AS1'in, bir tümör suppressör olan GAS5'in mRNA stabilitesini etkileyebildiği gösterilmiştir. Bunun için ALK homolog 5 RNA demetilaz (ALKBH5) ile GAS5 mRNA arasındaki etkileşime müdahale eder ve GAS5 m6A metilasyonunu azaltarak GAS5 mRNA degradasyonunu engeller (34,42).

LncRNA'ların mRNA stabilizasyonu yanında yıkımına da aracılık edebildikleri ve bunu staufen çift zincirli RNA'ya bağlanan protein 1 (STAU1) ve PTBP1 gibi proteinlere bağlanma aracılığıyla gerçekleştirdikleri anlaşılmıştır. STAU1 aracılı mRNA yıkımı bu durumun en iyi bilinen örneklerindedir. Epidermal farklılaşmada önemli rol oynayan bir lncRNA olan terminal farklılaşmayı indükleyen kodlamayan RNA (TINCR), STAU1 proteinine bağlanabilmektedir. Gastrik kanserde TINCR'ın STAU1'e bağlanması, STAU1 aracılı kruppel benzeri faktör (KLF) mRNA'nın yıkımı ve bunu takiben kanser hücrelerinin apoptozunun önlenme-

siyle sonuçlanamamaktadır (25,34). Bir tümör supressör olan lncRNA MEG3'ün PTBP1' e (hetrojen nükleer ribonükleoprotein ailesinin bir üyesi) bağlanarak, küçük heterodimer partner (SHP) mRNA'nın yıkımına neden olduğu gösterilmiştir. MEG3 ve PTBP1'in aşırı ekspresyonu, SHP mRNA yıkımında artışa ve nihayetinde bazı hedef genlerin ekspresyonunun aktivasyonu ile birlikte, karaciğer hasarına ve karaciğer enzimlerinin yükselmesine neden olmaktadır (43).

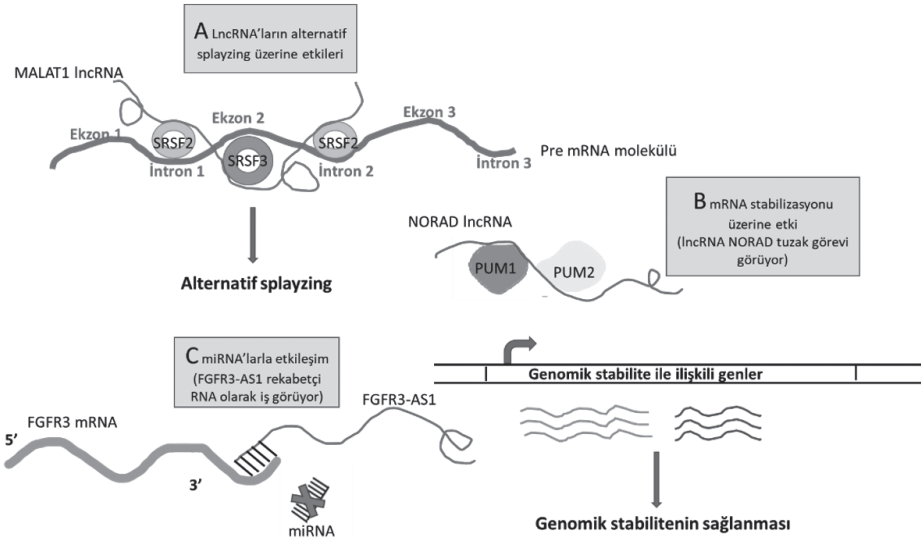
lncRNA'ların miRNA'larla Etkileşim Üzerinden Etkileri

lncRNA'ların miRNA'lar aracılığıyla gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel olarak düzenlediği bilinmektedir (18,44). MiRNA aracılı düzenleme mekanizmalarına, lncRNA'ların dizilerinde barındırdığı bağlanma bölgeleri sayesinde miRNA'ları alkoyması (miRNA süngeri olarak iş görmesi) veya hedef gendeki miRNA bağlanma bölgesine bağlanarak bu bölgeyi maskeleymesi ve miRNA bağlanmasını engellemesi örnek gösterilebilir. Bu şekilde çalışan lncRNA'lar endojen rekabetçi RNA (ceRNA) olarak adlandırılmaktadırlar (2,34). Diğer taraftan lncRNA'lar miRNA öncül molekülü olabilmekte ve lncRNA'lardan miRNA'lar üretilmektedir (18,25).

Farklı kanser türlerinde onkogen rolü üstlendiği bilinen küçük nükleolar RNA konak gen 16 (SNHG16) tarafından kodlanan lncRNA'nın pek çok miRNA için sünger görevi gördüğü ve farklı kanser türünde rol alan genlerin ekspresyonunu bu şekilde düzenlediği bilinmektedir. Bunlara SNHG16'nın servikal kanser hücrelerinde miR-216-5p için, meme kanserinde miR-98 için, papiller tiroid kanserinde miR-497 için, ve pankreas kanserinde miR-218-5p için sünger görevi görmesi örnek verilebilir (45).

Osteosarkom hastalarında yapılan bir çalışmada, lncRNA fibroblast büyüme faktörü reseptörü 3 (FGFR) antisensi 1 (FGFR3-AS1) ve FGFR3 ekspresyonunun, osteosarkom tümör örneklerinde kontrol örneklerine kıyasla arttığı gözlenmiştir. Yapılan analizler neticesinde FGFR3-AS1 ve FGFR3 mRNA arasında kuyruk kuyruğa olan bir RNA dupleksi gerçekleşebileceği ve bunun da FGFR3-AS1'in FGFR3 mRNA'sının 3' ucunu miRNA bağlanmalarına karşı maskeleyip, stabilizasyonunu arttırabileceği öne sürülmüştür (Şekil 2C) (46).

MiRNA öncülü olan lncRNA'lara H19 örnek verilebilir. lncRNA H19'dan miR-675'in 23 nükleotidlik öncülü üretilir. MiR-675 stres koşullarında veya onkogenik sinyallere cevap olarak IGF1R'nin translasyonunu baskılar ve hücre proliferasyonunu inhibe eder (25).



Şekil 2. LncRNA'ların post-transkripsiyonel düzenleme mekanizmaları

lncRNA'LARIN TRANSLASYON ÜZERİNE ETKİLERİ

LncRNA'ların translasyon sürecinde rol alan proteinlerin ekspresyon ve fonksiyonlarını etkileyerek mRNA translasyonunu düzenlediği bilinmektedir. Lenfoma hücrelerinde yapılan bir çalışmada, GAS5 lncRNA'nın ökaryotik translasyon başlama faktörü 4E'ye (eIF4E) bağlanarak translasyon başlama kompleksi EIF4F ile etkileştiği ve c-myc translasyonunu azalttığı gösterilmiştir ki, bu da apoptoz ve hücre proliferasyonundaki değişikliklerle sonuçlanmaktadır (Şekil 3A) (25). Mantle hücreli lenfomada LncRNA SNHG1 ve SNHG4'ün EIF4E'ye bağlanarak fonksiyonunu etkilediği bilinmektedir. Meme kanseri hücrelerinde lncRNA RP1-5O6.5'in eIF4E ile etkileşerek eIF4E'nin eIF4G'ye bağlanmasını engellediği ve bunun da Snail ekspresyonunu negatif şekilde düzenleyen p27kip1 translasyonunun baskılanmasına neden olduğu ortaya koyulmuştur (47). Translasyonel düzenleyici lncRNA'nın (treRNA) ribonükleoproteinlerle [poli U'ya bağlanan splayzing faktör 60 (PUF60), heterojen nükleer ribonükleoprotein (hnRNP K), splayzing faktör 3 alt ünite 3 (SF3B3), FMR1 otozomal homolog 1 (FXR1) ve FXR2] etkileşerek bir kompleks oluşturduğu ve bu kompleksin eIF4G'e bağlanarak E-kaderin translasyonunu baskıladığı bildirilmiştir (34).

LncRNA'lar yukarıdaki örneklerden farklı olarak bazen de translasyonu pozitif şekilde düzenlerler. Örnek olarak lncRNA steroid reseptör RNA aktivatör (SRA), eIF4E'ye bağlanan protein 1'in (eIF4E-BP1)'in ekspresyonunu arttırarak, Wnt/ β -catenin sinyal yolunun aktivasyonunda artışa neden olur ki, bu da endometrium kanserinin daha agresif seyretmesi ile ilişkilendirilmiştir (47).

Son zamanlarda bazı lncRNA'ların peptid veya protein üretebildiği anlaşılmıştır. Bu duruma örnek verilebilecek LINC00278, ying-yang1'e bağlanan mikropeptid'i (YY1BM) kodlar. YY1BM, translasyonu negatif şekilde düzenleyen ökaryotik uzama faktörü 2 kinaz (eEF2K) ekspresyonunun azalmasına neden olur (47).

lncRNA'LARIN POST-TRANSLASYONEL MODİFİKASYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ

Post-translasyonel modifikasyonlar, proteinlerin uzaysal konformasyonları, stabiliteyi, fonksiyonları ve farklı moleküllerle etkileşimleri üzerinde etkilidir. Oldukça karmaşık bir işlem olan post-translasyonel modifikasyonların asetilasyon, fosforilasyon, glikozilasyon, sumolasyon gibi çok sayıda farklı şekli tanımlanmıştır. LncRNA'lar bazı post-translasyonel modifikasyonların gerçekleşmesinde rol alarak, proteinlerin degradasyonunu veya şekillenmesini düzenlemekte ve ekspresyon düzeylerini etkilemektedir (25).

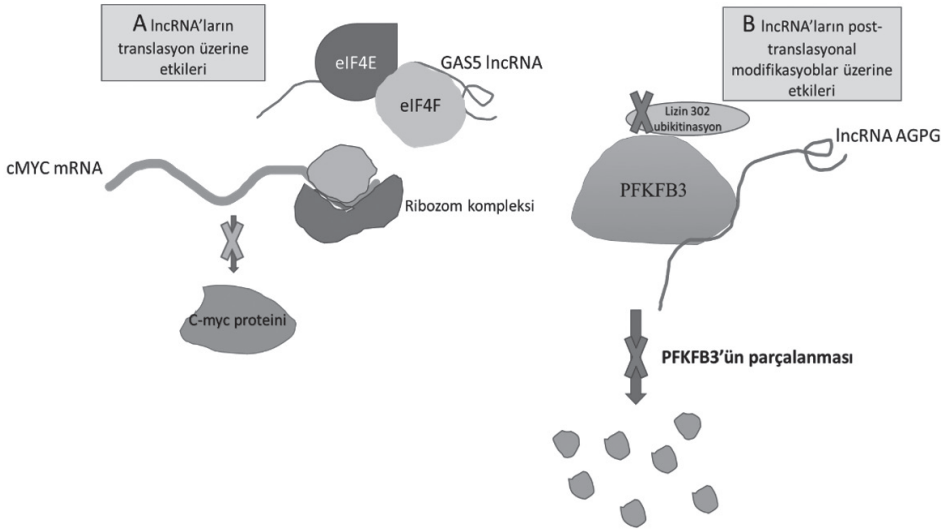
LncRNA'lar tarafından bazı proteinlerin post-translasyonel modifikasyonlarının düzenlenmesi, kanserde enerji metabolizmasının yeniden programlanmasını etkilemektedir. Bu modifikasyonlardan biri olan ubiquitinasyon, proteinleri proteozomlar tarafından yıkılmak üzere işaretler. Özefagus skuamöz hücreli karsinom hücrelerinde yapılan bir çalışmada, lncRNA aktin gama 1 psödogen'in (AGPG) glikoliz stimülasyonunda önemli rolü olan 6-fosfofrukto-2-kinaz/fruktoz-2,6-bisfosfat 3'ün (PFKFB3) C terminal domeynine bağlandığı ve PFKB3'ün lizin302 ubiquitinasyonunu ve bunu takiben proteozom aracılı yıkımını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu durumun, PFKFB3'ün eksprese edilmesine, glikolitik akışın aktive edilmesine ve hücrelerde metabolik yeniden programlamaya neden olduğu ortaya koyulmuştur (Şekil 3B) (48).

Hepatoselüler karsinom hücrelerinde yapılan bir çalışmada, p53 stabilize edici ve aktive edici lncRNA'nın (PSTAR) p53 aracılı hücre döngüsünün duraklatılmasına ve bunu takiben hücrelerin proliferasyon ve tümörjenitesinin inhibe edilmesine neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan analizler neticesinde, PSTAR'ın hnRNP K'ya bağlanıp sumolasyonunu arttırdığı ve bu şekilde p53 aktivasyonu ve

birikimi ile sonuçlanan hnRNPK ve p53 arasındaki etkileşimi kuvvetlendirdiği anlaşılmıştır (49).

Fosforilasyon post-translasyonel modifikasyonların en yaygın olanlarından biridir. Proteinlerin fosforillenmesi ve defosforilasyonu onların aktif ve inaktif formları arasında geçiş yapmasını sağlar ve özellikle sinyal iletiminde oldukça önemli rol oynar. Fosforilasyon protein kinazlar tarafından gerçekleştirilir ve proteinler genellikle serin, treonin ve tirozin rezidülerinden fosforillenirler. LncRNA'ların proteinlerin fosforilasyonunu düzenlediği bilinmektedir (25,50). LncRNA dentritik hücre (lnc-DC), dentritik hücrelerde eksprese edilmekte ve bu hücrelerin farklılaşmasına aracılık etmektedir. Lnc-DC, transkripsiyon sinyal aktarıcı ve aktivatörü 3 (STAT3) ile etkileşerek tirozin 705 rezidüsündeki fosforilasyonu arttırmakta ve STAT3'ün post-translasyonel modifikasyonuna katkıda bulunmaktadır. Lnc-DC'nin susturulması ise, tirozin rezidülerinin defosforilasyonunu indükleyen SPH1'in STAT3 ile bağlanmasına ve STAT3 defosforilasyonuna yol açmaktadır (51). Akciğer kanseri ile ilişkili transkript 1 lncRNA (LUCAT1), küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, kolorektal kanser, glioma ve hepatoselüler kanser gibi çeşitli kanserlerle ilişkilendirilmiştir. Hepatoselüler kanser hücrelerinde yapılan bir çalışmada, anneksin A2'nin (ANXA2) LUCAT1'in etkileştiği hedef proteinlerden biri olduğu belirlenmiştir. Pek çok fonksiyonu olan ANXA2'nin, aynı zamanda bir onkoprotein olan S100 kalsiyum bağlama proteini A10'un (S100A10) ubiquitinasyon aracılı yıkımının önlenmesini sağladığı da bilinmektedir. LUCAT1'in ANXA2'nin ekspresyonunu etkilemediği fakat serin 25 rezidüsündeki fosforilasyonunu azalttığı ortaya koyulmuştur. Sonuç olarak, LUCAT1'in ANXA2'nin fosforilasyonunu azaltarak S100A10 stabilitesini arttırdığı ve bunun da, hepatoselüler karsinomun ilerlemesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (50).

LncRNA'ların proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonlarından biri olan ve asetiltransferaz ve deasetilazlar tarafından gerçekleştirilen asetilasyonu da düzenlediği bilinmektedir (25). Yapılan çalışmalar MALAT1'in meme kanserinde azalan protein 1'e (DBC1) bağlanarak, DBC1'in SIRT1'e bağlanmasını ve SIRT1'in deasetilasyon aktivitesini inhibe etmesini önlediğini göstermiştir. SIRT1'in p53 deasetilasyonunu teşvik ettiği bilinmektedir. Dolayısıyla MALAT1'in DBC1'le etkileşim aracılığıyla p53'ün asetilasyonunu düzenlediği bildirilmiştir. Özetle, MALAT1'in DBC1'e bağlanması, DBC1'in SIRT1'e bağlanmasını engeller, SIRT1 p53'ün deasetillenmesini sağlayarak p53 transkripsiyonel aktivitesini düşürür, bu da hücre proliferasyonunun artması ile sonuçlanır (25,52) .



Şekil 3. lncRNA'ların translasyon ve post-translasyonel modifikasyonlar üzerine etkisi

lncRNA'LARI HEDEFLEYEN POTANSİYEL TERAPÖTİK YAKLAŞIMLAR

Gen ekspresyonunu düzenlenmesinde rol alan lncRNA'lar, bu özellikleri nedeniyle pek çok hücrel prosenin işleyişine katkıda bulunurlar ve anormal ekspresyonları kanser de dahil olmak üzere farklı hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (11). Bu nedenle lncRNA'ların umut vaat eden terapi hedefleri olduğu düşünülmektedir (9,53). Lnc RNA'lar serum, plazma, idrar, tükürük gibi vücut sıvılarında ve tümör dokularında kolayca saptanabilmektedir. Doku spesifik ekspresyonları kanser hücrelerinin seçilimli olarak öldürülmesi olasılığını mümkün kılmaktadır. LncRNA'ların ekspresyon seviyelerinin düşük olması nedeniyle, onları hedefleyen tedavi ajanlarının da daha düşük dozlarda kullanılabilceği ve bu ajanlarla ilişkili toksisitenin de minimuma indirilebileceği düşünülmektedir. Yine lncRNA'ları hedefleyen potansiyel tedavilerin, enzim replasman tedavisi gibi yan etkileri olan tedavi şekillerine alternatif olabileceği ve lokus spesifik olarak bu enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu arttırabileceği öne sürülmüştür (9). Bu nedenle lncRNA'ları hedefleyen çeşitli tedavi stratejileri geliştirilmiştir. Bunlar arasında 1) küçük müdahale edici RNA (siRNA) / kısa saç tokası RNA (shRNA) veya antisens oligonükleotidler (ASO) aracılığıyla posttranskripsiyonel olarak lncRNA'nın degradasyonu 2) lncRNA genlerinin genom düzenleme teknikleri kullanılarak modifiye edilmesi 3) Sekonder yapılarının oluşumunu veya proteinlerle etkileşimini

baskılamak aracılığıyla lncRNA'ların fonksiyon kaybetmesini sağlamak sayılabilir. Bu potansiyel terapi yaklaşımları umut verici olmasına rağmen henüz klinikte kullanımı olan lncRNA temelli bir tedavi ajanı bulunmamaktadır (9,53). Aşağıda lncRNA'ları hedefleyen farklı tedavi stratejilerinden bahsedilmektedir.

lncRNA'LARIN POST-TRANSKRİPSİYONEL OLARAK HEDEFLENMESİ

lncRNA'ların post-transkripsiyonel olarak hedeflenmesinde daha çok RNA-RNA veya RNA-DNA duplekslerinden yararlanılmakta ve bunun için de nükleik asit temelli terapötikler kullanılmaktadır. Bu terapötiklerle transkriptomun istenilen tüm eşsiz bölgeleri hedeflenebilmektedir. Nükleik asit terapötikleri olarak sayılabilecek iki temel yaklaşım, çift zincirli siRNA aracılı RNA interferans (RNAi) ve tek zincirli ASO'ların kullanılmasıdır (9,54).

siRNA aracılı RNAi

siRNA'lar kısa çift zincirli RNA'lardır. Protein kodlayan mRNA'lar gibi lncRNA'lar da siRNA'lar tarafından hedeflenebilir. Çift zincirli siRNA'lar, bir RNase III enzimi olan Dicer tarafından kesilip tek zincirli hale geldikten sonra, RNA ile indüklenmiş sessizleştirme kompleksine (RISC) dahil olurlar ve hedef lncRNA ile komplementer bazları ile eşleşme yaparlar ki, bu da hedef lncRNA'nın argonat kompleksi tarafından yıkımına neden olur (9,55). Terapotik olarak kullanılacak çift zincirli RNA'ların nükleaz degradasyonundan korunması için bir takım kimyasal modifikasyonlara tabi tutulması gerekmektedir. Bunlar arasında 2' pozisyonundaki şekerin modifiye edilmesi (2'-O metil modifikasyonu) ve 3' ucundaki fosforotioat bağı modifikasyonları sayılabilir. Bu modifikasyonlar siRNA temelli terapötiklerin farmakolojik özelliklerinin gelişmesini sağlamıştır (54).

Hücre hatlarında yapılan çalışmalarda, pek çok lncRNA'nın siRNA kullanılarak susturulması gerçekleştirilmiştir. Prostat kanseri hücre hatlarında, prostatla ilişkili ikinci kromozom lokusu 1 lncRNA'nın (SchLAP1) siRNA aracılı susturulduğu ve bunun hücre proliferasyonu ve invazyon yeteneğinin azalmasıyla sonuçlandığı bildirilmiştir. lncRNA SchLAP1'in, SWI/SNF kompleksinin tümör baskılayıcı aktivitesini engellediği ve prostat kanserinin agresif özellik göstermesine neden olduğu rapor edilmiştir (9). SW480 kolon kanseri hücre hattında siRNA kullanılarak MALAT1 ekspresyonu baskılanmış ve MALAT1'in baskılanması apoptozun indüklenmesi ve hücre proliferasyonunun baskılanması ile sonuçlanmıştır (56).

İn vitro çalışmalarda siRNA aracılı lncRNA susturulması başarılı sonuçlar verirken, in vivo çalışmalarda zorluklar yaşanmaktadır. Bunun nedeni olarak hedefe gönderim metodlarının yeterince etkin olmadığı ve biyomevcudiyetinin yeterli olmadığı öne sürülmüştür (54).

ASO kullanımı

ASO'lar RNA'ya Watson-Crick baz eşleşmesi ile bağlanan kısa tek zincirli oligonükleotitlerdir. Hedef lncRNA ile baz eşleşmesi yapan ASO'lar, RNaseH1 tarafından hedef lncRNA'nın degradasyonuna ve ekspresyonunun azalmasına yol açarlar. ASO'lar aynı zamanda splayzing değişimlerine neden olarak da gen ekspresyonunu değiştirebilirler (57). ASO'larda yapılan birtakım modifikasyonlar bu moleküllerin terapötik başarısını arttırmıştır. Örneğin fosforotioat bağları ASO'ları hücrel nükleazlara karşı dayanıklı kılmaktadır. Diğer taraftan şeker omurgasında yapılan kimyasal modifikasyonlar özellikle de 2'-O- metoksietil modifikasyonu ASO'ların bağlanma spesifitesini artırırken, spesifik olmayan etkiyi azaltmıştır (58). Omurgadaki tüm şekerlerin modifiye edilmesi durumunda ise RNase H aktivitesi çok düşmüş veya tamamen yok olmuştur. Fakat bu şekilde modifiye edilen ASO'ların ekzon atlamada etkili olduğu ve splayzing enhancer veya repressörlerin bağlanma bölgesini bloklayarak, hedef RNA'nın splayzing paternini değiştirdiği anlaşılmıştır (54). Farklı şekillerde dizayn edilmiş ASO'lar arasında, köprülü nükleik asit GapmeR'leri (LNA GapmeRs), doğal antisens transkript antagonistleri (antagoNAT) ve mixmer'ler sayılabilir (9).

LNA GapmeR'ler

LNA GapmeR'ler yapı ve fonksiyon olarak ASO'lara benzerler fakat bunlar ortada RNA'ya bağlanıp RNA-DNA dupleksi oluşturma ve RNase H1 aracılı degradasyona neden olan bir DNA dizisi, uçlarda ise köprülü nükleik asit (LNA) dizilerinden oluşur. LNA dizilerinde riboz yapısı 2' oksijen ve 4' karbon arasında bir metilen köprü oluşturularak modifiye edilmiştir. LNA'lar erişilmez RNA'lar olarak da adlandırılırlar ve hem bağlanma affinitesini, hem de nükleazlara karşı direnci artırırlar (55,59). RNase H primer olarak nükleusta lokalize olduğu için gapmeR'ler daha çok nükleusta lokalize olan lncRNA'ları susturmak için uygundur.

Fare luminal B meme kanseri modelinde, MALAT1 ASO'nun subkutan olarak verilmesi primer tümörün farklılaşmasına neden olmuştur. Bununla birlikte spesifik olmayan ASO uygulanan kontrol farelerine kıyasla, MALAT1 ASO uygulanan farelerde metastazda yaklaşık % 80 oranında azalma izlenmiştir. Ayrıca akciğer kanseri zenograft modelinde de MALAT 1 ASO'nun antimetastatik etkisi gözlenmiştir (54)

Mixmer'ler

Mixmer'ler, LNA'lar ve farklı tiplerdeki monomerler gibi (genelde DNA, RNA, 2'-Ome-RNA) kimyasal olarak modifiye edilmiş nükleotitlerden oluşurlar. Mixmer'lerin klasik DNA segmentleri bulunmaz ve RNase H aracılı degradasyonu sağlayamazlar, bunun yerine hedef transkriptlerin diğer nükleik asitler veya ri-

bonükleoproteinlerle ilişkisini bloklayarak etki gösterirler. Örnek olarak bir psö-dogen transkripti ile parental mRNA arasındaki ilişkiyi veya epigenetik düzenleme yapan protein kompleksleri gibi komplekslerin bağlanmasını engelleyerek iş görürler.

Aptamerler

LncRNA'lar genellikle kompleks bir ikincil yapıya sahiptirler ki, bu özellikleri onların oligonükleotitler tarafından hedeflenmesini zorlaştırır. Aptamerlerin kullanımını bu soruna çözüm sağlayabilir (60). Aptamerler belirlenen şekilde katlanarak üç boyutlu bir yapıya dönüşebilme özelliğine sahip, hedefe bağlanma affiniteleri ve spesifiteleri yüksek, tek zincirli RNA veya DNA nükleik asitleridir (61). Aptamerler antikorların nükleik asit analogları olarak düşünülebilir fakat hem doku penetransları hem transportları antikorlardan daha iyidir hem de daha düşük düzeyde immün yanıtı neden olurlar. Üç boyutlu özellikleri sayesinde LncRNA'ların kompleks ikincil yapılarını tanırlar ve RNA-protein etkileşimlerine müdahale ederler (9). Üssel zenginleştirme aracılığıyla ligandların sistematik evrimi (SELEX) adlı bir yöntemle yeni hedeflere spesifik, farmakolojik özellikleri iyileştirilmiş, nükleazlara dirençli aptamerler dizayn edilebilmektedir (60,61). Son zamanlarda üçlü negatif meme kanserinde yapılan bir çalışmada, siRNA ile birleştirilmiş bir aptamer dizaynı kullanılarak HOTAIR lncRNA hedeflenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda HOTAIR ekspresyonunun epitelyal büyüme faktör reseptörü (EGFR) tarafından pozitif şekilde düzenlendiği ve bu iki genin ekspresyonunun korele olduğu ortaya koyulmuştur. Bu nedenle bu çalışmada EGFR'yi tanıyan bir aptamer, HOTAIR'i hedefleyen bir siRNA molekülü ile birleştirilmiştir. Bu kimerik aptamerin EGFR eksprese eden kanser hücrelerini seçici olarak tanıyıp, etkili şekilde HOTAIR ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Sonuç olarak kimerik bir aptamerin kullanımıyla EGFR eksprese eden üçlü negatif meme kanseri hücrelerinin büyümesi, migrasyonu ve invazyonunun baskılandığı ortaya koyulmuştur (62).

Ribozim ve Deoksiribozimler

Ribozim ve deoksiribozimler katalitik özellikleri sayesinde dizi spesifik olarak RNA'yı kesebilirler. "Hammerhead" ribozimler merkezde yer alan bir ilmeğe bağlı 20 nükleotid uzunluğunda yan diziler içeren ribozimlerdir ve hedef RNA'ya bu yan dizilerle bağlanırlar. Kolon kanseri modelinde yapılan bir prelinik çalışmada vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü 1/2 (VEGFR1/2) ribozimlerinin karaciğer metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir. Her ne kadar ribozim ve deoksiribozimler proteinden bağımsız katalitik aktiviteleri ile RNA'yı dizi spesifik olarak kesebilseler de, LncRNA'ların kompleks ikincil yapıları ribozim ve deoksiribozimlerin bağlanmalarını sıklıkla engellemektedir (9,55).

lncRNA GENLERİNİN GENOM DÜZENLEME TEKNİKLERİ KULLANILARAK MODİFİYE EDİLMESİ

CRISPR/Cas9 Aracılı Düzenleme

lncRNA'ların ekspresyonlarını düzenlemenin bir diğer yolu da onları kodlayan genlerin CRISPR/Cas9 aracılı transkripsiyonel sessizleştirilmesidir. Bu amaçla endonükleaz aktivitesi olmayan bir Cas9 enzimi, transkripsiyonel baskılayıcılar ile birleştirilir ve rehber RNA aracılığıyla hedef genin promotörüne yönlendirilerek, transkripsiyonel sessizleştirme sağlanır. Bununla birlikte CRISPR/Cas9 aracılığıyla lncRNA'ları kodlayan genlerin tamamının, promotör bölgesinin, transkripsiyon başlangıç bölgesinin çıkarılması veya transkripsiyon sonlanma bölgesinin eklenmesi ve ekzon ekzon bağlantılarının düzenlenmesi diğer stratejiler arasında yer almaktadır (54,63). Ayrıca son zamanlarda geliştirilen ve RNA'yı hedefleyen CRISPR/Cas13 sisteminin, lncRNA'ların susturulması için kullanılabilecek umut vaat eden bir terapi yaklaşımı olduğu öne sürüldü (54). Farklı kolorektal adenokarsinom hücre hatlarında yapılan bir çalışmada, üç farklı CRISPR/Cas9 stratejisi kullanılarak, lncRNA kolon kanser ilişkili transkript 1'in (CCAT1) transkripsiyonu baskılanmıştır. Bu stratejilerden birinin CCAT1'in 1.ekzonunda bir delesyon oluşturmak, diğerinin CCAT1 genomik lokusuna bir reporter gen ve transkripsiyon sonlanma sinyali eklemek, sonuncusu ise ilk iki stratejiyi birlikte uygulamak olduğu bildirilmiştir. CCAT1'in susturulduğu hücrelerde çeşitli biyolojik proseslerde rol alan genlerin ekspresyonlarında değişiklik gözlenmiştir (64).

SEKONDER YAPILARININ OLUŞUMUNU VEYA PROTEİNLERLE ETKİLEŞİMİNİ BASKILAMAK ARACILIĞIYLA lncRNA'LARIN HEDEFLENMESİ

Küçük Moleküller

Küçük moleküller lncRNA'lara veya RNA'ya bağlanan proteinlere bağlanarak onların ikincil ya da üç boyutlu yapılarını değiştirip fonksiyon göstermelerine engel olurlar. Buna ek olarak, RNA'ya bağlanan proteinlerin lncRNA'lara bağlanan domeynlerine veya lncRNA'ların RNA'ya bağlanan proteinlere özgü dizilerine bağlanarak maskelerler ve lncRNA'lar ile proteinler arasındaki etkileşimi bozarlar. Dolayısıyla lncRNA'ların ikincil ve üçüncül yapılarını anlamak onları hedef alan terapötikler geliştirmek açısından oldukça önemlidir. Örnek olarak, nükleer zenginleştirilmiş bol bulunan transkript 1 (NEAT1) ve MALAT1 transkriptlerinin 3' uçları eşsiz bir üçlü heliks yapıya katlanır. Bu yapıları hedefleyebilen küçük molekül inhibitörlerin transkripti destabilize edebileceği veya proteinlerle etkileşimini bozabileceği ve terapötik etki oluşturabileceği düşünülmektedir (9,54).

SONUÇ

Bu kitap bölümünde lncRNA'ların etki mekanizmaları ve bu molekülleri hedefleyen potansiyel terapötik yaklaşımlardan bahsedilmiştir. lncRNA'lar kodlamayan RNA sınıfının en önemli üyelerinden biridir ve ekspresyonlarındaki anormallikler kanser, otoimmün hastalıklar gibi pek çok hastalık grubu ile ilişkilendirilmiştir. Fonksiyonları ile ilgili hala yeni bilgiler ortaya çıkmakla birlikte, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde oldukça önemli rolleri olduğu bilinmektedir. lncRNA'lar gen ekspresyonunu transkripsiyonel, post-transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel düzeyde, çok çeşitli mekanizmalar kullanarak düzenleyebilirler. Dolayısıyla, bu mekanizmaları hedefleyen, nükleik asit temelli, gen düzenleme metodlarının kullanıldığı veya lncRNA'ların ikincil ve üçüncül yapılarını değiştirmeyi hedefleyen yaklaşımlar ışığında terapötikler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Henüz kliniğe girmiş bir lncRNA terapötüğü olmamakla birlikte, prelinik çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmaların sonuçlanması ve lncRNA'ları hedefleyen başarılı terapötiklerin geliştirilmesi, gelecekte pek çok hastalığın tedavisine katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Zhang L, Peng D, Sood AK, Dang C V. and Zhong X: Shedding Light on the Dark Cancer Genomes: Long Noncoding RNAs as Novel Biomarkers and Potential Therapeutic Targets for Cancer. *Mol Cancer Ther* 17: 1816–1823, 2018.
2. Gao N, Li Y, Li J, *et al.*: Long Non-Coding RNAs: The Regulatory Mechanisms, Research Strategies, and Future Directions in Cancers. *Front Oncol* 10: 2903, 2020.
3. Choi SW, Kim HW and Nam JW: The small peptide world in long noncoding RNAs. *Brief Bioinform* 20: 1853–1864, 2019.
4. Hartford CCR and Lal A: When Long Noncoding Becomes Protein Coding. *Mol Cell Biol* 40, 2020.
5. Chi Y, Wang D, Wang J, Yu W and Yang J: Long Non-Coding RNA in the Pathogenesis of Cancers. *Cells* 8, 2019.
6. Miao H, Wang L, Zhan H, *et al.*: A long noncoding RNA distributed in both nucleus and cytoplasm operates in the PYCARD-regulated apoptosis by coordinating the epigenetic and translational regulation. *PLoS Genet* 15, 2019.
7. Hermans-Beijnsberger S, van Bilsen M and Schroen B: Long non-coding RNAs in the failing heart and vasculature. *Non-coding RNA Res* 3: 118–130, 2018.
8. Chen Y, Li Z, Chen X and Zhang S: Long non-coding RNAs: From disease code to drug role. *Acta Pharm Sin B* 11: 340–354, 2021.
9. Fathi Dizaji B: Strategies to target long non-coding RNAs in cancer treatment: progress and challenges. *Egypt J Med Hum Genet* 21, 2020.
10. Balas MM and Johnson AM: Exploring the mechanisms behind long noncoding RNAs and cancer. *Non-coding RNA Res* 3: 108–117, 2018.
11. Statello L, Guo CJ, Chen LL and Huarte M: Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22: 1, 2021.
12. Kopp F and Mendell JT: Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs. *Cell* 172: 393, 2018.

13. Yang Y and Li G: Post-translational modifications of PRC2: signals directing its activity. *Epigenetics Chromatin* 2020 131 13: 1–16, 2020.
14. Jarroux J, Foretek D, Bertrand C, *et al.*: HOTAIR lncRNA promotes epithelial-mesenchymal transition by redistributing LSD1 at regulatory chromatin regions. *EMBO Rep* 22, 2021.
15. Kondo Y, Shinjo K and Katsushima K: Long non-coding RNAs as an epigenetic regulator in human cancers. *Cancer Sci* 108: 1927–1933, 2017.
16. Holdt LM, Hoffmann S, Sass K, *et al.*: Alu elements in ANRIL non-coding RNA at chromosome 9p21 modulate atherogenic cell functions through trans-regulation of gene networks. *PLoS Genet* 9, 2013.
17. Yap KL, Li S, Muñoz-Cabello AM, *et al.*: Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell* 38: 662–674, 2010.
18. Dykes IM and Emanuelli C: Transcriptional and Post-transcriptional Gene Regulation by Long Non-coding RNA. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 15: 177, 2017.
19. Ghafouri-Fard S, Dashti S and Taheri M: The HOTTIP (HOXA transcript at the distal tip) lncRNA: Review of oncogenic roles in human. *Biomed Pharmacother* 127, 2020.
20. Fan J, Xing Y, Wen X, *et al.*: Long non-coding RNA ROR decoys gene-specific histone methylation to promote tumorigenesis. *Genome Biol* 16: 1–17, 2015.
21. Blank-Giwojna A, Postepska-Igielska A and Grummt I: lncRNA KHPS1 Activates a Poised Enhancer by Triplex-Dependent Recruitment of Epigenomic Regulators. *Cell Rep* 26: 2904–2915. e4, 2019.
22. Puvvula PK, Desetty RD, Pineau P, Marchio A, Moon A, Dejean A and Bischof O: Long non-coding RNA PANDA and scaffold-attachment-factor SAFA control senescence entry and exit. *Nat Commun* 5, 2014.
23. Ng SY, Bogu GK, Soh BS and Stanton LW: The long noncoding RNA RMST interacts with SOX2 to regulate neurogenesis. *Mol Cell* 51: 349–359, 2013.
24. Long Y, Wang X, Youmans DT and Cech TR: How do lncRNAs regulate transcription? *Sci Adv* 3, 2017.
25. Zhang X, Wang W, Zhu W, Dong J, Cheng Y, Yin Z and Shen F: Mechanisms and Functions of Long Non-Coding RNAs at Multiple Regulatory Levels. *Int J Mol Sci* 20, 2019.
26. Giles KE, Woolnough JL and Atwood B: ncRNA function in chromatin organization. *Epigenetic Gene Expr Regul*: 117–148, 2015.
27. Qi D, Li J, Que B, *et al.*: Long non-coding RNA DBCCR1-003 regulate the expression of DBCCR1 via DNMT1 in bladder cancer. *Cancer Cell Int* 16: 81, 2016.
28. Chen H, Du G, Song X and Li L: Non-coding Transcripts from Enhancers: New Insights into Enhancer Activity and Gene Expression Regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 15: 201–207, 2017.
29. Keren H, Lev-Maor G and Ast G: Alternative splicing and evolution: diversification, exon definition and function. *Nat Rev Genet* 2010 115 11: 345–355, 2010.
30. Ouyang J, Zhong Y, Zhang Y, *et al.*: Long non-coding RNAs are involved in alternative splicing and promote cancer progression. *Br J Cancer*, 2021.
31. Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, *et al.*: The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell* 39: 925–938, 2010.
32. Zhang X, Hamblin MH and Yin KJ: The long noncoding RNA Malat1: Its physiological and pathophysiological functions. *RNA Biol* 14: 1705, 2017.
33. Romero-Barrios N, Legascue MF, Benhamed M, Ariel F and Crespi M: Splicing regulation by long noncoding RNAs. *Nucleic Acids Res* 46: 2169, 2018.
34. Sebastian-delaCruz M, Gonzalez-Moro I, Olazagoitia-Garmendia A, Castellanos-Rubio A and Santin I: The Role of lncRNAs in Gene Expression Regulation through mRNA Stabilization. *Non-Coding RNA* 7, 2021.

35. Faghihi MA, Zhang M, Huang J, *et al.*: Evidence for natural antisense transcript-mediated inhibition of microRNA function. *Genome Biol* 11, 2010.
36. Neve B, Jonckheere N, Vincent A and Van Seuning I: Epigenetic Regulation by lncRNAs: An Overview Focused on UCA1 in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)* 10, 2018.
37. Zhao Y, Liu Y, Lin L, *et al.*: The lncRNA MACC1-AS1 promotes gastric cancer cell metabolic plasticity via AMPK/Lin28 mediated mRNA stability of MACC1. *Mol Cancer* 17, 2018.
38. Li Y, Han X, Feng H and Han J: Long noncoding RNA OIP5-AS1 in cancer. *Clin Chim Acta* 499: 75–80, 2019.
39. Priyanka P, Sharma M, Das S and Saxena S: The lncRNA HMS recruits RNA-binding protein HuR to stabilize the 3'-UTR of HOXC10 mRNA. *J Biol Chem* 297, 2021.
40. Abdelmohsen K, Panda AC, Kang MJ, *et al.*: 7SL RNA represses p53 translation by competing with HuR. *Nucleic Acids Res* 42: 10099–10111, 2014.
41. Elguindy MM and Mendell JT: NORAD-induced PUMILIO phase separation is required for genome stability. *Nature* 595: 303, 2021.
42. Wang X, Zhang J and Wang Y: Long noncoding RNA GAS5-AS1 suppresses growth and metastasis of cervical cancer by increasing GAS5 stability. *Am J Transl Res* 11: 4909, 2019.
43. Zhang L, Yang Z, Trotter J, Barbier O and Wang L: Long noncoding RNA MEG3 induces cholestatic liver injury by interaction with PTBP1 to facilitate shp mRNA decay. *Hepatology* 65: 604–615, 2017.
44. Marchese FP, Raimondi I and Huarte M: The multidimensional mechanisms of long noncoding RNA function. *Genome Biol* 18, 2017.
45. Ghafouri-Fard S, Khoshbakht T, Taheri M and Shojaei S: A Review on the Role of Small Nuclear RNA Host Gene 6 Long Non-coding RNAs in the Carcinogenic Processes. *Front cell Dev Biol* 9, 2021.
46. Sun J, Wang X, Fu C, Wang X, Zou J, Hua H and Bi Z: Long noncoding RNA FGFR3-AS1 promotes osteosarcoma growth through regulating its natural antisense transcript FGFR3. *Mol Biol Rep* 43: 427–436, 2016.
47. Tan YT, Lin JF, Li T, Li JJ, Xu RH and Ju HQ: LncRNA-mediated posttranslational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer. *Cancer Commun (London, England)* 41: 109–120, 2021.
48. Qin G, Tu X, Li H, *et al.*: Long Noncoding RNA p53-Stabilizing and Activating RNA Promotes p53 Signaling by Inhibiting Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein K deSUMOylation and Suppresses Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 71: 112–129, 2020.
49. Su T, Wang T, Zhang N, Shen Y, Li W, Xing H and Yang M: Long non-coding RNAs in gastrointestinal cancers: Implications for protein phosphorylation. *Biochem Pharmacol* 197, 2022.
50. Wang P, Xue Y, Han Y, *et al.*: The STAT3-binding long noncoding RNA lnc-DC controls human dendritic cell differentiation. *Science* 344: 310–313, 2014.
51. Chen R, Liu Y, Zhuang H, *et al.*: Quantitative proteomics reveals that long non-coding RNA MALAT1 interacts with DBC1 to regulate p53 acetylation. *Nucleic Acids Res* 45: 9947–9959, 2017.
52. Winkle M, El-Daly SM, Fabbri M and Calin GA: Noncoding RNA therapeutics - challenges and potential solutions. *Nat Rev Drug Discov* 20: 629–651, 2021.
53. Arun G, Diermeier SD and Spector DL: Therapeutic Targeting of Long Non-Coding RNAs in Cancer. *Trends Mol Med* 24: 257–277, 2018.
54. Parasramka MA, Maji S, Matsuda A, Yan IK and Patel T: Long non-coding RNAs as novel targets for therapy in hepatocellular carcinoma. *Pharmacol Ther* 161: 67–78, 2016.
55. Zhang J, Li Q, Xue B and He R: MALAT1 inhibits the Wnt/ β -catenin signaling pathway in colon cancer cells and affects cell proliferation and apoptosis. *Bosn J Basic Med Sci* 20: 357, 2020.
56. Montes M and Arnes L: Expert Opinion on Therapeutic Targets ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/iett20> lncRNAs: potential therapeutic targets and biomarkers for pancreatic cancer? lncRNAs: potential therapeutic targets and biomarkers for pa., 2021.

57. Yoo BH, Bochkareva E, Bochkarev A, Mou TC and Gray DM: 2'-O-methyl-modified phosphorothioate antisense oligonucleotides have reduced non-specific effects in vitro. *Nucleic Acids Res* 32: 2008–2016, 2004.
58. Ishige T, Itoga S and Matsushita K: Locked Nucleic Acid Technology for Highly Sensitive Detection of Somatic Mutations in Cancer. *Adv Clin Chem* 83: 53–72, 2018.
59. Renganathan A and Felley-Bosco E: Long Noncoding RNAs in Cancer and Therapeutic Potential. *Adv Exp Med Biol* 1008: 199–222, 2017.
60. Xiao X, Li H, Zhao L, Zhang Y and Liu Z: Oligonucleotide aptamers: Recent advances in their screening, molecular conformation and therapeutic applications. *Biomed Pharmacother* 143, 2021.
61. Wang Y-L, Chang L-C, Chen K-B and Wang S-C: Aptamer-guided targeting of the intracellular long-noncoding RNA HOTAIR. *Am J Cancer Res* 11: 945, 2021.
62. Rosenlund IA, Calin GA, Dragomir MP and Knutsen E: CRISPR/Cas9 to Silence Long Non-Coding RNAs. *Methods Mol Biol* 2348: 175–187, 2021.
63. Zare K, Shademan M, Ghahramani Seno MM and Dehghani H: CRISPR/Cas9 Knockout Strategies to Ablate CCAT1 lncRNA Gene in Cancer Cells. *Biol Proced Online* 20, 2018.