

## РАЗНООБРАЗИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФУНКЦИЙ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ УБИКВИТИНЛИГАЗ ИЗ БЕЛКОВОГО СЕМЕЙСТВА MKRN

### Обзор

© 2024 Е.А. Гусева<sup>1,2,3\*#</sup>, М.А. Емельянова<sup>1,3#</sup>, В.Н. Сидорова<sup>4</sup>,  
А.Н. Тюльпаков<sup>5</sup>, О.А. Донцова<sup>1,2,3,6</sup>, П.В. Сергиев<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Центр наук о жизни Сколковского института науки и технологий,  
143025 Сколково, Россия; электронная почта: eguseva98@mail.ru; petya@genebee.msu.ru

<sup>2</sup> НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,  
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119992 Москва, Россия

<sup>3</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
химический факультет, 119991 Москва, Россия

<sup>4</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119234 Москва, Россия

<sup>5</sup> Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова,  
115522 Москва, Россия

<sup>6</sup> Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117997 Москва, Россия

Поступила в редакцию 17.06.2024

После доработки 12.08.2024

Принята к публикации 19.08.2024

Белковое семейство Makorin RING finger (MKRN) включает в себя 4 представителя: MKRN1, MKRN2, MKRN3 и MKRN4. Эти белки относятся к классу убиквитинлигаз E3 и играют ключевую роль в таких биологических процессах, как выживание и дифференцировка клеток, реализация врождённого и адаптивного иммунитета. MKRN1 задействован в подавлении роста опухолей, энергетическом обмене, защите от патогенов и апоптотических процессах. Для MKRN1 был идентифицирован широкий спектр мишеней, включая hTERT, APC, FADD, p21 и различные вирусные белки. MKRN2 регулирует пролиферацию клеток и протекание воспалительных реакций. Среди его мишеней такие белки, как p65, PKM2 и STAT1. MKRN3 выполняет роль одного из основных регуляторов времени наступления полового созревания, влияя на уровень гонадотропин-релизинг гормона в нейронах дугообразного ядра. MKRN4 является наименее изученным членом семейства белков MKRN, однако известно, что он вносит значительный вклад в активацию Т-клеток путём убиквитинилирования серин/треониновой киназы MAP4K3. Белки этого семейства связаны с развитием многочисленных заболеваний, например, системной красной волчанки, центрального преждевременного полового созревания, синдрома Прадера-Вилли, дегенеративного спинального стеноза поясничной этиологии, воспаления и рака. В этом обзоре мы детально обсуждаем функциональную роль всех членов семейства белков MKRN, а также их вклад в развитие заболеваний.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** E3-убиквитинлигазы, белки с RING-доменом, MKRN, макорины, РНК-связывающие убиквитинлигазы, преждевременное половое развитие, системная красная волчанка, супрессоры опухолей.

DOI: 10.31857/S0320972524090031 EDN: JJZXUI

Принятые сокращения: ППР – преждевременное половое развитие; MKRN – Makorin RING finger; PABP – поли(А)-связывающий белок; PABPC1 – цитоплазматический поли(А)-связывающий белок; RING – Really Interesting New Gene.

\* Адресат для корреспонденции.

# Авторы внесли равный вклад в работу.

## ВВЕДЕНИЕ

Убиквитинилирование – это посттрансляционная модификация, способствующая выживаемости клеток, принимающая участие в процессах дифференцировки, а также в реализации врождённого и адаптивного иммунитета [1]. Убиквитинлигазы E3 действуют на заключительном этапе убиквитинилирования, связывая субстрат убиквитинилирования и комплекс убиквитинлигазы E2 и убиквитина (Ub). Основная функция убиквитинлигаз E3 заключается в переносе убиквитина на субстрат, за которым часто следует образование полиубиквитиновой цепи, прикреплённой к субстрату. Белки семейства Makorin RING finger (MKRN) входят в состав убиквитинлигаз E3 суперсемейства RING, представители которых наиболее распространены среди убиквитинлигаз. Термин «Маколин» был введён в 2000 году как комбинация слова «makor», что означает «источник», и аббревиатуры RING [2]. Белки семейства MKRN входят в состав убиквитин-протеасомной системы (UPS) и выполняют широкий спектр задач в клетке [1]. Основными мишенями этих белков являются p53 [3, 4], p21 [4], FAS-ассоциированный белок с доменом смерти (FADD) [5], гомолог фосфатазы и тензина (PTEN) [6], p65 [7], секретрируемый нейрональный пентроксин 1 (NPTX1) [8], серин/треонинкиназа MAP4K3 (GLK) [9], некоторые вирусные [10–13] и бактериальные белки [14–16]. MKRN найдены не только у животных, но и у растений и грибов, у которых они играют ключевую роль в таких процессах, как рост, эмбриональный и постэмбриональный органогенез [17, 18].

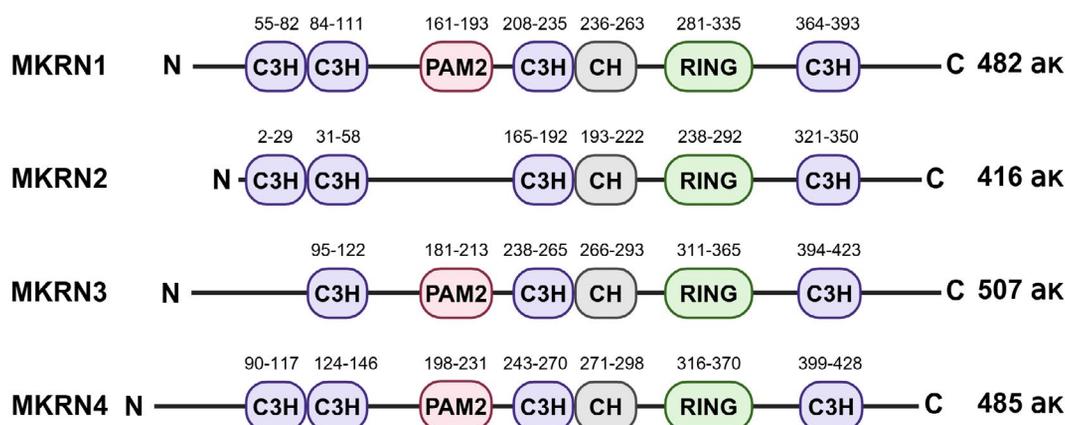
В геноме человека обнаружено девять генов, относящихся к семейству MKRN [2]. Среди них есть как функциональные копии, так и псевдо-

гены. На сегодняшний день в литературе описаны четыре функциональных гена – *Mkrn1*, *Mkrn2*, *Mkrn3* и *Mkrn4* [1]. Помимо них, также известно 5 предполагаемых псевдогенов – *Mkrnp1*, *Mkrnp2*, *Mkrnp3*, *Mkrnp4*, *Mkrnp5* [2].

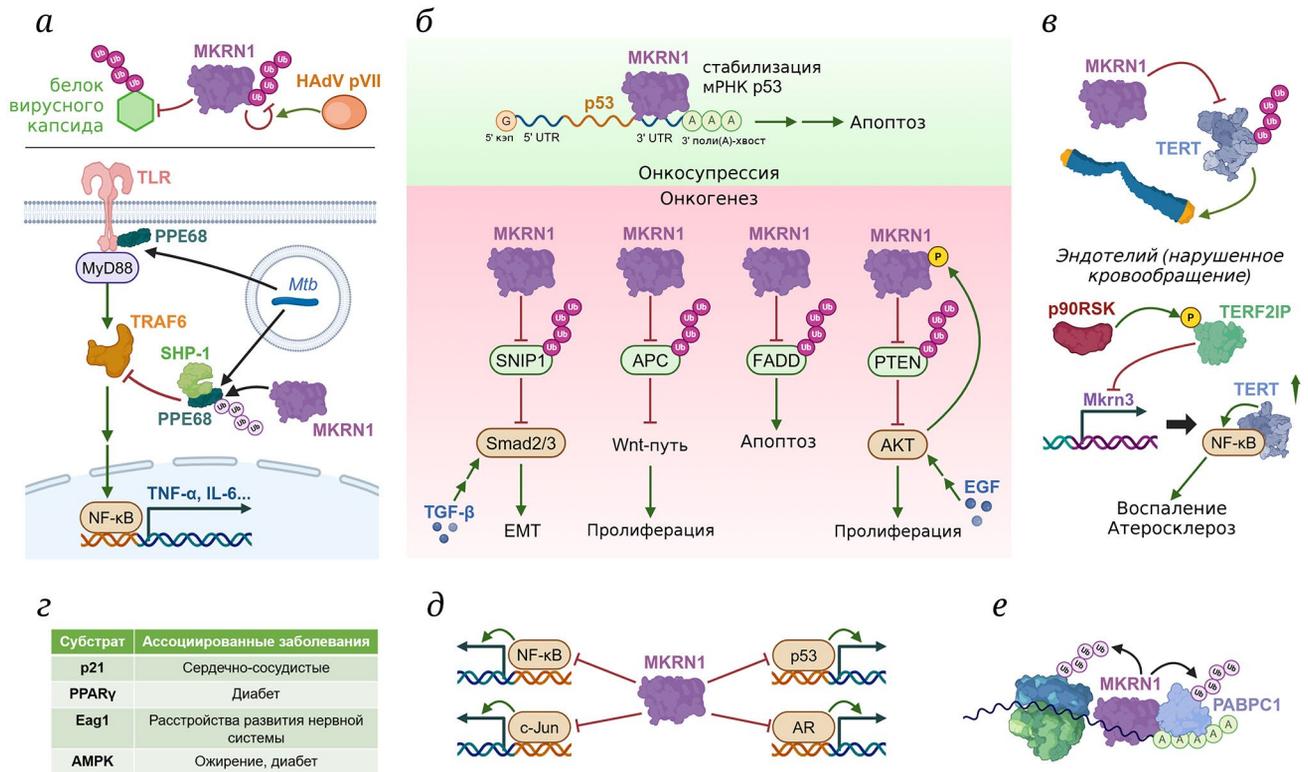
Структура MKRN включает несколько доменов цинковых пальцев типа C3H, домен, подобный PAM2, домен RING-пальца и цистидин-гистидиновый (CH) домен [2, 19, 20] (рис. 1). Цинковые пальцы типа C3H (ассоциированные с РНК-связывающей функцией) встречаются в различных рибонуклеопротеинах, участвующих в процессинге РНК, включая сплайсинг, определении локализации мРНК и трансляции [21, 22]. Домен, подобный PAM2 (PCI/PINT-ассоциированный модуль 2), служит для облегчения взаимодействия MKRN с поли(А)-связывающими белками (PABP) путём, независимым от РНК [20]. MKRN1, MKRN3 и MKRN4 обладают этим доменом [20, 23], однако для MKRN2 также наблюдается взаимодействие с PABP [24]. Цинк-связывающий домен, называемый RING (Really Interesting New Gene), отвечает за связывание убиквитинлигазы E2 с убиквитином и стимулирует его перенос [25]. Функция домена, богатого остатками цистеина и гистидина, до сих пор неизвестна [2]. Белки MKRN1, MKRN2 и MKRN4 у человека имеют 4 цинковых пальца типа C3H, в то время как у MKRN3 их 3 [1].

## MKRN1

Ген *Mkrn1*, вероятно, является предковым для всего семейства генов MKRN. Филогенетический анализ выявил ортологи MKRN1 у широкого спектра видов животных, включая позвоночных и беспозвоночных [2]. Он охарактеризован у людей, мышей, валлаби, кур, свиней, дрозофил,



**Рис. 1.** Организация доменов MKRN1, MKRN2, MKRN3 и MKRN4 человека. Члены семейства белков MKRN содержат несколько доменов цинковых пальцев типа C3H (обозначены фиолетовым цветом); мотив, подобный PAM2 (обозначены розовым цветом); CH-домен (обозначен серым цветом) и C3HC4-домен RING-пальца (обозначен зелёным цветом). Цифры указывают положение аминокислот в белке. Домен PAM2 представлен согласно работе Miróci et al., 2012 [20]



**Рис. 2.** Разнообразие биологических функций MKRN1. *а* – MKRN1 участвует в противовирусной защите, но способствует подавлению иммунного ответа при микобактериальной инфекции; TLR – toll-подобные рецепторы; TRAF6 – фактор 6, ассоциированный с рецептором TNF; SHP-1 – фосфатаза-1, содержащая домен, гомологичный Src 2; Mtb – *Mycobacterium tuberculosis*; *б* – MKRN1 оказывает различные эффекты на онкогенез; EMT – эпителиально-мезенхимальный переход; *в* – MKRN1 регулирует уровни белка TERT; *г* – мишени опосредованного MKRN1 убиквитинилирования и связанные с ним заболевания; *д* – MKRN1 действует как транскрипционный репрессор; *е* – MKRN1 участвует в контроле качества трансляции посредством останковки рибосом

нематод и даже растений [11, 26]. Ген *Mkrn1* имеет высокий уровень экспрессии в таких органах человека, как гипоталамус и миндалевидное тело [1], а также яички у мужчин [2]. MKRN1 у человека представлен четырьмя изоформами, кодируемыми одним геном *Mkrn1*, которые возникают в результате альтернативного сплайсинга и вариабельного полиаденилирования. Длинная изоформа MKRN1 (MKRN1-long) имеет четыре цинковых пальца типа С3Н, СН-домен и высококонсервативный С3НС4-домен RING-пальца. Транскрипты коротких изоформ MKRN1 (MKRN1-short1/MKRN1-short3) человека не содержат С-концевого цинкового пальца типа С3Н и последние 6 аминокислот домена RING-пальца, которые необходимы для связывания второго иона цинка и N-концевого сегмента комплекса убиквитинлигазы E2 и убиквитина [1].

Hirotsume et al. [27] предположили, что псевдоген *Mkrn1*, называемый *Mkrn1-p1*, регулирует стабильность матричной РНК *Mkrn1* в транс-положении. Также на модели трансгенных мышей ими было показано, что снижение транскрипции *Mkrn1-p1* приводит к поликистозу почек и

деформации костей [27]. Однако согласно другим исследованиям *Mkrn1-p1* полностью метилирован на обоих аллелях и не транскрибируется, и, как следствие, он не может влиять на стабильность транскриптов *Mkrn1* [28]. Более того, ни одного из фенотипов, вызванных частичным снижением экспрессии *Mkrn1* у мутантных мышей, не наблюдалось у мутантов с полным нарушением работы гена *Mkrn1* [28].

MKRN1 является убиквитинлигазой E3, и на данный момент было обнаружено несколько его мишеней. Одна из них – это обратная транскриптаза теломеразы человека (hTERT), являющаяся каталитической субъединицей рибонуклеопротеина, который препятствует деградации и укорочению концов теломер. Теломеры являются важнейшими частями эукариотических хромосом и предотвращают их прогрессирующую деградацию. Было показано, что MKRN1 убиквитинилирует hTERT и тем самым влияет на активность теломеразы и длину теломер [29]. При этом интересно, что связывание сфингозин-1-фосфата hTERT предотвращает его деградацию, опосредованную MKRN1 [30] (рис. 2, в).

Известно, что MKRN1 связывается с несколькими вирусными белками (рис. 2, а), включая белок капсида (Сар) цирковируса свиней типа 2 (PCV2). PCV2 вызывает синдром мультисистемного истощения у свиней после отъёма от груди (PWMS), симптомами которого являются истощение, лихорадка, лимфаденопатия и сокращение количества лимфоцитов лимфоидных тканей [10], что приводит к болезням свиней и, следовательно, оказывает серьёзное влияние на свиноводство во всем мире [31]. При индивидуальной экспрессии MKRN1 накапливается в спекл-подобных структурах внутри нуклеоплазмы, тогда как при совместной экспрессии с белком Сар оба белка равномерно распределены в нуклеоплазме и колокализуются. Более того, экспрессия Сар снижается в присутствии MKRN1 [10]. Было обнаружено, что MKRN1 убиквитинилирует остатки лизина в Сар PCV2 и способствует его деградации [11]. Интересно, что нокаут по гену *Mkrn1* или мутации ключевых аминокислот в кодируемом белке способствуют успешному размножению вируса в клетках хозяина; следовательно, MKRN1 функционирует как фактор защиты, который ингибирует репликацию PCV2 [11]. MKRN1 также может связываться с капсидным белком вируса Западного Нила (WNVСр). WNV – это вирус семейства *Flaviviridae*, переносимый членистоногими [32], вызывающий неврологические заболевания, такие как менингит и энцефалит [12]. MKRN1 проводит убиквитинилирование и способствует деградации WNVСр протеасомно-зависимым образом [12].

Интересно, что некоторые вирусные белки могут вызывать самоубиквитинилирование MKRN1 [13]. Так, например, предшественник белка рVII аденовирусов человека (HAdV) связывается с MKRN1 и усиливает его самоубиквитинилирование, тогда как процессированный зрелый белок VII лишён этой функции [13]. MKRN1 подвергается протеасомной деградации на поздней стадии инфекции HAdV-C5 в различных линиях клеток человека. Это может являться примером возможной вирусной стратегии противодействия защите клеток-хозяев от вирусов, опосредованной MKRN1 [13].

Было показано, что ген *Mkrn1* активируется во время микобактериальной инфекции в клетках эндометрия [14]. Кроме того, рекомбинантный MKRN1, экспрессируемый в *E. coli*, убиквитинилирует *M. tuberculosis in vitro*. Это говорит о новой роли MKRN1 в клеточной защите от микобактерий [15], однако точный молекулярный механизм наблюдаемого процесса остаётся неясным. Также было показано, что MKRN1 взаимодействует с белком *M. tuberculosis* из семейства PPE (PPE68) и способствует присоединению цепей убиквитина, связанных через лизин-63 (K63) с остатком K166

PPE68, что подавляет врождённый иммунный ответ (рис. 2, а). Нарушение взаимодействия между MKRN1-убиквитинлигазной системой хозяина и микобактериальным белком PPE может быть потенциальной терапевтической мишенью для лечения туберкулёза [16].

MKRN1 играет роль во многих клеточных процессах. Апоптоз, или запрограммированная гибель клеток, позволяет организму строго контролировать количество клеток и размер тканей, а также защищать себя от неконтролируемо делящихся клеток, угрожающих гомеостазу [33]. MKRN1 регулирует убиквитинилирование и протеасомную деградацию адаптерного белка FADD [5]. На клеточных линиях было показано, что нокаут *MKRN1* приводит к стабилизации FADD и стимуляции образования комплексов рецепторов смерти для апоптоза [5]. Также было отмечено, что уровни мРНК MKRN1 были значительно выше в тканях рака молочной железы и шейки матки, чем в соответствующих нормальных тканях [5]. Кроме того, было показано, что MKRN1 убиквитинилирует и индуцирует деградацию основного супрессора опухолей – PTEN – через АКТ-зависимый сигнальный каскад, активируемый EGF. PTEN противодействует сигналингу PI3K/АКТ, который стимулируется фактором роста, путём преобразования фосфатидилинозитол (3,4,5)-трифосфата (PIP3) в фосфатидилинозитол (4,5)-трифосфат (PIP2) [6]. Также было обнаружено, что MKRN1 приводит к увеличению скорости роста опухоли желудка посредством убиквитинилирования и последующей протеасомно-зависимой деградации супрессора опухоли p14ARF [34]. Кроме того, MKRN1 напрямую взаимодействует с белком аденоматозного полипоза толстой кишки (APC), который является онкосупрессором, отрицательно регулирующим сигнальный путь Wnt, и убиквитинилирует его. MKRN1 способствует протеасомной деградации APC и положительно регулирует биологические процессы, опосредованные каскадом реакций пути Wnt/ $\beta$ -катенина [35]. MKRN1 участвует в канцерогенезе определённого типа плоскоклеточного рака пищевода (ППП), который является одним из самых злокачественных типов опухолей [36], и был идентифицирован как новый антиген SEREX (серологическая идентификация антигенов путём клонирования экспрессии рекомбинантной кДНК) ППП [36]. В почечной светлоклеточной карциноме MKRN1 и MKRN2 служат супрессорами опухолей, регулируя экспрессию p53 [37]. MKRN1 индуцирует эпителиально-мезенхимальный переход в клетках колоректального рака посредством убиквитинилирования и деградации ядерно-взаимодействующего Smad-белка 1 (SNIP1), который активирует каскад реакций сигнального пути, опосредованного трансформирующим фактором

роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), и, таким образом, ускоряет мета-стазирование колоректального рака [38]. В совокупности эти данные показывают роль MKRN1 в качестве возможной терапевтической мишени при лечении рака (рис. 2, б).

На клеточных линиях было обнаружено, что экспрессия MKRN1 снижается в тканях миокарда крыс, как и в клетках H9C2 и AC16, во время прерывистой гипоксии (ПГ) [39]. Кроме того, MKRN1 способствовал убиквитинилированию белка p21 и его протеосомно-зависимой деградации, что приводит к снижению продукции активных форм кислорода и, таким образом, предотвращает апоптоз миокарда, вызванный ПГ (рис. 2, г) [39].

При фосфорилировании белка, взаимодействующего с фактором связывания теломерного повтора 2 (TERF2IP), по остатку S205 (событие, следующие за активацией p90RSK), экспрессия MKRN1 ингибируется, что способствует активации и старению эндотелиальных клеток и, таким образом, развитию атеросклероза (рис. 2, в) [40].

MKRN1 играет роль в развитии нескольких метаболических заболеваний. В качестве убиквитинлигазы E3 он убиквитинилирует ядерный рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), и направляет его на протеасомно-зависимую деградацию (рис. 2, з). Наиболее высокая экспрессия PPAR $\gamma$  наблюдается в жировой ткани, где он является ключевым организатором транскрипционного каскада, лежащего в основе дифференцировки адипоцитов [41]. PPAR $\gamma$  также играет ключевую роль в активации липидного метаболизма жировой ткани [41]. Таким образом, изменённая дифференциация и метаболизм адипоцитов зависят от активности PPAR $\gamma$  и могут приводить к патофизиологическим состояниям, таким как резистентность к инсулину, сердечно-сосудистые заболевания и диабет [41].

Кроме того, MKRN1 может способствовать нарушению нейроразвития, поскольку он формирует систему контроля качества эндоплазматического ретикула незрелых гликозилированных ядерных белков Eag1, которые составляют нейрон-специфический потенциал-зависимый K<sup>+</sup>-канал и играют важную роль в развитии мозга (рис. 2, з) [42]. Интересно, что MKRN1 отвечает только за раннюю стадию созревания Eag1 в эндоплазматическом ретикулуме и может обеспечить эффективное удаление неправильно свёрнутых мутантных каналов Eag1, приводящих к заболеваниям [42].

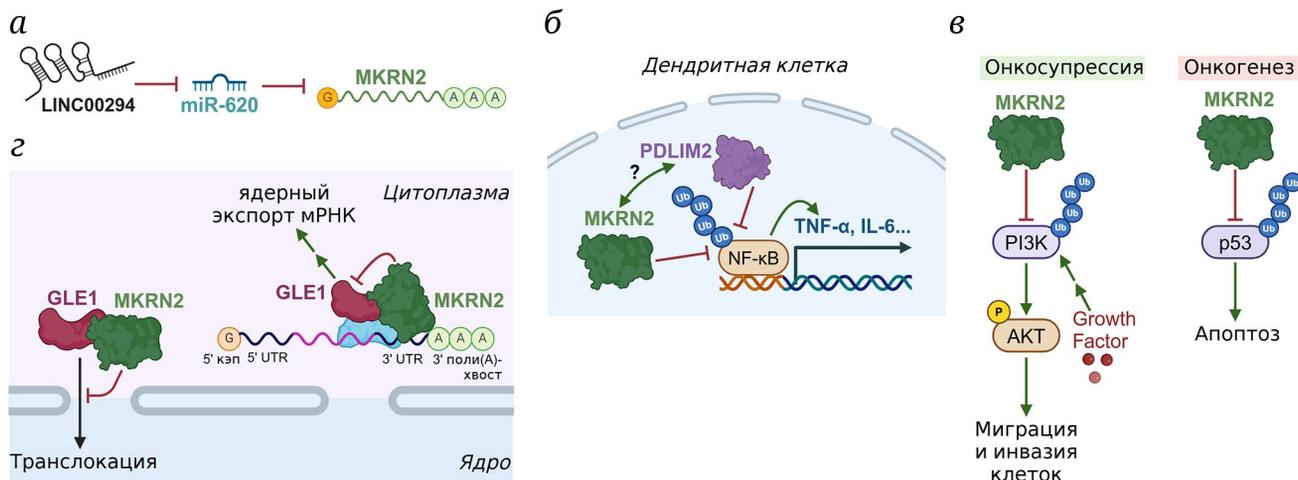
Другой мишенью MKRN1 является АМР-активируемая протеинкиназа (АМРК), которая играет ключевую роль в контроле энергетического метаболизма в ответ на физиологический и пищевой статус (рис. 2, з) [43]. Отсутствие MKRN1 приводит к активации АМРК, увеличению потребления

глюкозы и снижению накопления липидов [43]. В отличие от мышей дикого типа, нокауты по *Mkrm1* менее подвержены ожирению, диабету и неалкогольной жировой болезни печени при содержании на высокожировой диете (ВЖД) [44]. Удивительно, но у мышей с нокаутом *Mkrm1* в печени, белой и бурой жировых тканях наблюдалось увеличение уровня активированной фосфорилированной формы АМРК [44]. В совокупности MKRN1 может являться возможной терапевтической мишенью для лечения метаболических синдромов, таких как ожирение, диабет II типа и жировые заболевания печени [44].

Помимо роли убиквитинлигазы E3, MKRN1 участвует в регуляции транскрипции (рис. 2, д) [7]. В функциональном скрининге дрожжей и при трансфекции клеток млекопитающих MKRN1 был идентифицирован как транскрипционный репрессор фактора транскрипции c-Jun [7], который вместе с белком c-Fos образует комплекс активаторного белка-1 (AP-1) и участвует в ряде биологических процессов, включая пролиферацию, апоптоз, выживание клеток, образование опухолей и морфогенез тканей [45]. Репрессорная активность MKRN1 не ограничивается c-Jun и влияет на различные активаторы, зависимые от РНК-полимеразы II, такие как p53, p65 и человеческий андрогеновый рецептор (hAR) [7]. Интересно, что эта активность MKRN1 опосредована процессом транскрипции и не зависит от убиквитинилирования белка [7].

MKRN1 является новым регулятором трансляции, который работает посредством взаимодействия с PABP [20]. В нейрональных дендритах переднего мозга крысы MKRN1 локализуется с PABP, связанным с дендритными мРНК [20]. Впоследствии была выявлена более точная роль MKRN1 как нового фактора в контроле качества, связанном с рибосомой (ККР) [46]. MKRN1 напрямую связывается с цитоплазматическим поли(А)-связывающим белком PABPC1, тем самым отмечая начало поли(А)-хвостов. Если происходит преждевременное полиаденилирование или считывание стоп-кодона, MKRN1 останавливает транслирующую рибосому и инициирует ККР путём убиквитинилирования рибосомального белка S10 (RPS10), PABPC1 и других регуляторов трансляции (рис. 2, е) [46].

В заключение отметим, что MKRN1 выполняет три основные роли в клеточном метаболизме. Во-первых, как убиквитинлигаза E3 MKRN1 модулирует активность теломеразы и длину теломер путём убиквитинилирования hTERT; действует как фактор защиты хозяина путём убиквитинилирования белка Cap PCV2, WNVSp; белка PPE68 *M. tuberculosis*; регулирует канцерогенез путём убиквитинилирования FADD, PTEN, p14ARF, APC;



**Рис. 3.** Многообразие биологических функций MKRN2. *а* – Уровень экспрессии MKRN2 регулируется через отрицательную петлю с участием miR-620 и LINC00294; *б* – MKRN2 и PDLIM2 совместно ингибируют воспалительный ответ, подавляя трансактивацию ядерного фактора κB (NF-κB); *в* – различные действия MKRN2 на онкогенез; *г* – MKRN2 функционально антагонизирует GLE1 во время ядерного экспорта мРНК, возможно, за счёт предотвращения транслокации GLE1 в ядро

участвует в развитии нескольких метаболических заболеваний путём убиквитинилирования p90RSK, PPARγ, AMPK; регулирует развитие мозга, формируя систему контроля качества эндоплазматического ретикулума. Во-вторых, MKRN1 функционирует как транскрипционный регулятор c-Jun, p53, p65, hAR. Наконец, нельзя недооценивать роль MKRN1 как инициатора ККР через взаимодействие с PABPC1. Было показано, что MKRN1 проявляет как убиквитинлигазную, так и РНК-связывающую активность. Он выполняет множество функций, включая прямое убиквитинилирование определённых белков, а также регуляцию транскрипции и трансляции, подразумевающих обе активности MKRN1. Для того чтобы выполнить функцию транскрипционного репрессора, MKRN1 убиквитинилирует транскрипционные факторы и ингибирует их, действуя через процесс транскрипционной интерференции [7]. В процессе контроля качества трансляции MKRN1 связывает поли(А)-участок РНК выше по ходу транскрипции и убиквитинилирует рибосомальный белок RPS10, PABPC1 и другие трансляционные регуляторы [46]. Интересно, что РНК-связывающая активность MKRN1 сама по себе, по-видимому, не оказывает существенного влияния на клетку. Однако точная роль РНК-связывающей функции MKRN1 остаётся неясной и требует дальнейшего изучения.

### MKRN2

Ген *Mkfn2* образовался в результате дупликации гена *Mkfn1* 450 миллионов лет назад во время ранней эволюции позвоночных [47]. После-

довательность и структура MKRN2 имеют много общего с таковыми у MKRN1 и включают все характерные элементы, за некоторыми исключениями у древних млекопитающих, таких как утконос и опоссум [48]. Высокая консервативность *Mkfn2* на протяжении эволюции указывает на наличие важной клеточной функции [47].

О регуляции этого гена известно мало, однако некоторые некодирующие РНК (нкРНК) предположительно вовлечены в прямую и косвенную регуляцию *Mkfn2*. В клетках колоректальной карциномы уровень экспрессии MKRN2 регулируется посредством отрицательной обратной связи с помощью miR-620, которая ингибирует трансляцию MKRN2, и LINC00294, которая ингибирует miR-620 (рис. 3, *а*) [49]. Авторы некоторых исследований [49] предполагают, что MKRN2 опосредует регуляторную функцию LINC00294.

Было показано, что MKRN2 отрицательно регулирует воспалительный ответ через подавление p65-опосредованной трансактивации NF-κB [50]. Совместно с PDLIM2 он полиубиквитинилирует ядерный p65 и способствует его протеасомной деградации (рис. 3, *б*). Стоит отметить, что MKRN2 контролирует p65 только на белковом уровне, поскольку количество мРНК p65 в клетках с нокаутом MKRN2 было сопоставимо с таковым в контрольных клетках [50]. Однако в других молекулярных процессах MKRN2 может влиять на уровень некоторых мРНК. Например, MKRN2 ингибирует нейрогенез, повышая уровень мРНК и белка киназы 3β гликогенсинтазы (GSK-3β) [51].

Роль MKRN2 в пролиферации клеток была подробно изучена, однако эффект от уровня экспрессии MKRN2 оказался противоречивым и зависел от типа рака. Например, низкий уровень

экспрессии *MKRN2* говорит о плохом прогнозе при раке желудка [52], колоректальной карциноме [49] и немелкоклеточном раке лёгкого [53]. В то же время снижение экспрессии *MKRN2* подавляет рост атипичных клеток при меланоме [3] и лейкемии [54]. Объяснение этому феномену можно найти в деталях механизма действия *MKRN2*, поскольку в каждом типе рака были обнаружены разные мишени *MKRN2*-зависимого убиквитинирования.

При исследовании немелкоклеточного рака лёгкого было показано, что *MKRN2* осуществляет отрицательную регуляцию сигнального пути PI3K/Akt (рис. 3, в) [53]. При раке желудка *MKRN2* также играет роль опухолевого супрессора: он способствует убиквитин-зависимой деградации мышечной изоформы пируваткиназы (PKM2) и ослабляет её влияние на внеклеточную сигнально-регулируемую киназу (ERK) [52]. В то же время в клетках меланомы *MKRN2* убиквитинилирует опухолевый супрессор p53 (рис. 3, в) [3], подобно *MKRN1* [4]. Хотя уровни экспрессии белка *MKRN2* отрицательно коррелируют с экспрессией p53 и p21, *MKRN2* не оказывает прямого влияния на стабильность белка p21 [3].

У мышей, нокаутных по *Mkfn2*, наблюдается мужское бесплодие [55], которое характеризуется уменьшением размеров семенников, аномалиями головки сперматозоидов и отсутствием сперматогенеза [56]. Детальное исследование показало, что нокаут *Mkfn2* приводит к значительному снижению уровней экспрессии *STAT1*, *SIX4* и *TNC*. В то время как *MKRN2* и *STAT1* взаимодействуют напрямую, уровни экспрессии *SIX4* и *TNC* регулируются *MKRN2* через транскрипционный фактор EBF2 [55]. В другом исследовании было показано, что дефекты в *Mkfn2* приводят к снижению экспрессии *Odf2* (белок наружных плотных волокон 2) в зародышевых клетках, что вызывает нарушение сборки жгутика хвоста сперматозоида [56]. Кроме того, считается, что *MKRN2* участвует в регуляции развития половых клеток через p53-зависимый путь апоптоза [56]. Таким образом, *MKRN2* может вносить вклад в баланс между выживанием и апоптозом зародышевых клеток.

С помощью животных моделей было показано, что *MKRN2* может играть важную роль в развитии сетчатки и является функциональным антагонистом GLE1 во время ядерного экспорта мРНК (рис. 3, д). *MKRN2* регулирует экспорт мРНК на уровне РНК, связываясь с CU-богатыми областями в 3'UTR, и на уровне белка, взаимодействуя с факторами экспорта (GLE/NUPL2, ZC3H11A, RAE1 и другими) [24]. Интересно, что не было выявлено ни одного субстрата убиквитинирования *MKRN2*, связанного с ядерным экспортом.

*MKRN2* также ассоциирован с рядом заболеваний. Мутации в *MKRN2* и некоторых других генах могут способствовать развитию дегенеративного стеноза поясничного отдела позвоночника [57]. Авторы некоторых исследований предполагают, что *MKRN2* участвует в регуляции коклюш-зависимой гистаминовой сенсibilизации [58]. Однако не только сам белок может способствовать развитию заболеваний: есть данные о том, что экзосомальная РНК Inc-*MKRN2*-42:1 может быть вовлечена в инициацию и развитие болезни Паркинсона [59].

Таким образом, РНК-связывающая убиквитинлигаза *MKRN2* вовлечена в ряд важнейших биологических процессов, включая регуляцию воспалительного ответа и пролиферации клеток. Кроме того, дисфункция *MKRN2* связана с патогенезом таких заболеваний, как мужское бесплодие и болезнь Паркинсона. Разнообразие мишеней убиквитинирования на молекулярном уровне приводит к различным эффектам *MKRN2* даже в рамках одного биологического процесса. Например, его роль в пролиферации зависит от конкретного типа рака. Помимо функций убиквитинлигазы, *MKRN2* также осуществляет связывание с РНК, благодаря чему он участвует в регуляции ядерного экспорта мРНК. Интересно, что до сих пор для этого фермента не было выявлено взаимосвязи между РНК-связывающей и убиквитинлигазной активностью. В связи с этим целесообразно изучение потенциального взаимодействия между *MKRN2* и PABPC1, которое может иметь значительное сходство с таковым для *MKRN3*, поскольку *MKRN2* не вызывает генерализованных эффектов на клетки, как, например, *MKRN1*.

### MKRN3

*MKRN3* – это безинтронный ретроген, встречающийся исключительно у плацентарных млекопитающих и экспрессирующийся с отцовской хромосомы [48]. Он появился в результате обратной транскрипции мРНК *MKRN1*, катализируемой обратной транскриптазой ретротранспозонов [48]. В геноме человека *MKRN3* расположен на хромосоме 15q11-13 в области, ассоциированной с синдромом Прадера–Вилли (СПВ) [19, 60], хотя до сих пор неясно, участвует ли *MKRN3* в развитии этого заболевания [61].

У млекопитающих экспрессия данного гена зависит от ткани и периода онтогенеза. Наиболее высокий уровень мРНК *Mkfn3* наблюдается в гипоталамусе в раннем постнатальном периоде жизни и постепенно снижается после полового созревания [62, 63]. У грызунов экспрессия *Mkfn3*

локализована в дугообразном ядре, которое контролирует наступление половой зрелости [64]. В гонадах экспрессия *Mkrn3* зависит от пола. У самцов мышей мРНК *Mkrn3* появляется в семенниках до начала полового созревания и сохраняется на относительно высоком уровне в зрелом возрасте преимущественно в интерстициальном отделе и в семявыносящих канальцах [65]. В яичниках самок мышей мРНК *Mkrn3* также появляется до начала полового созревания, однако в период созревания её уровень значительно снижается и затем остаётся низким [65].

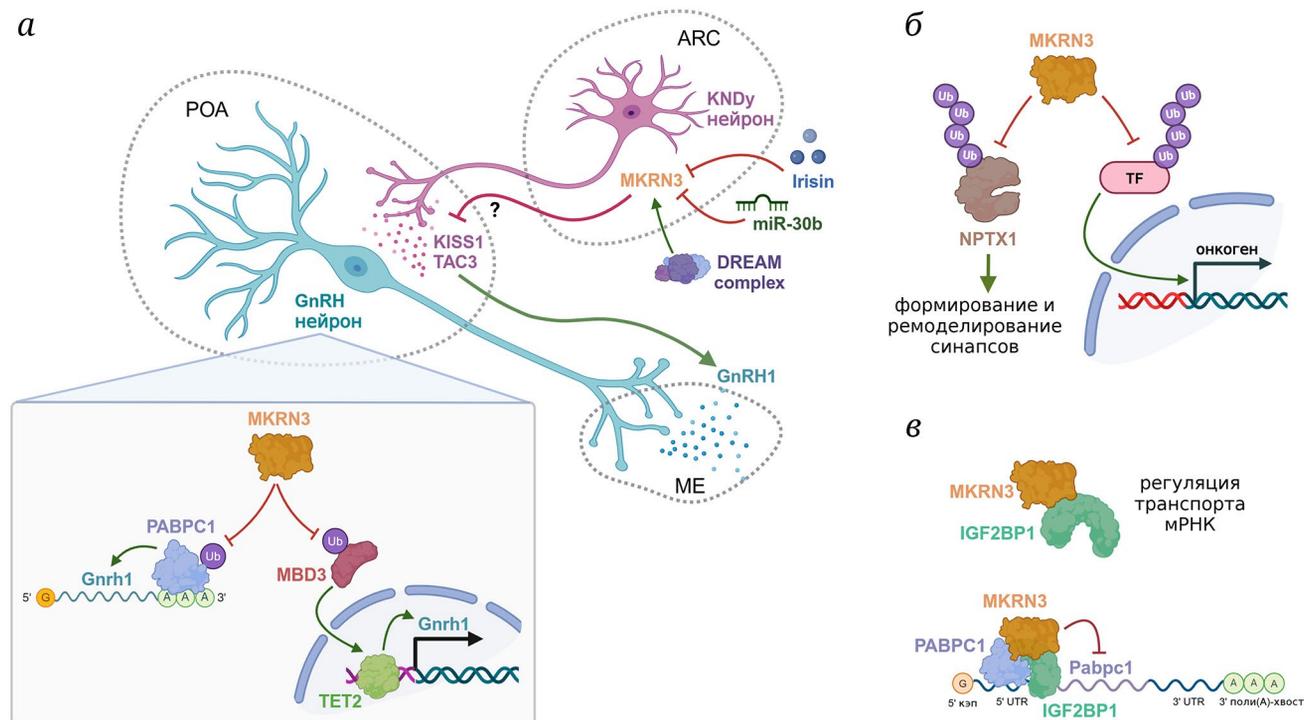
Интересно, что MKRN3 также связан с некоторыми аномалиями, влияющими на пол. Например, крупномасштабные делеции в импринтированном локусе 15q11-13, затрагивающие некодирующие и 5 белок-кодирующих генов (включая *MKRN3*), вызывают СПВ у человека [66]. Это заболевание характеризуется слабостью скелетной мускулатуры, умственной отсталостью и гормональными аномалиями [66]. Однако считается, что из всех симптомов СПВ MKRN3 вызывает только гипогонадизм [67, 68] и центральное преждевременное половое развитие (ППР) [69]. ППР характеризуется развитием вторичных половых признаков в возрасте до 9 лет у мужчин и 8 лет у женщин. ППР обусловлено более ранней активацией гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси и повышением уровня гонадотропин-рилизинг-гормона (GnRH) [70], который является основным регулятором репродуктивной оси [71].

Делеция всего гена или мутации, приводящие к потере функций белка, в *MKRN3* вызывают ППР, без других симптомов СПВ [69]. В целом, на сегодняшний день у пациентов с ППР выявлено 59 мутаций в гене *MKRN3*, приводящих к потере функций белка, среди которых 6 нонсенс-мутаций, 16 сдвигов рамки считывания и 37 миссенс-мутаций. Было показано, что различия в фенотипе пациентов зависят от типа мутации. У пациентов, имеющих сдвиг рамки считывания, преждевременный стоп-кодон и мутации в промоторной области *MKRN3*, наблюдаются более высокий базальный уровень лютеинизирующего гормона и более значительное увеличение костного возраста по сравнению с пациентами с миссенс-мутациями [72]. Большинство описанных мутаций затрагивают домен RING finger СЗНС4 (убиквитинлигазная активность), мотивы цинковых пальцев СЗН (РНК-связывающая активность) и специфичный для семейства домен СН, однако тридцать из них находятся вне указанных структурных элементов [73]. Напротив, сверхэкспрессия *Mkrn3* вызывала задержку начала полового созревания у самок мышей, в то время как у самцов мышей изменений в сроках полового созревания не наблюдалось [74].

Время начала полового созревания определяется тремя основными факторами: метаболическими, экологическими и нейроэндокринными. Одним из сигналов к началу полового созревания является достижение критического соотношения жировой и мышечной массы. Адипомиокины, такие как иризин, участвующие в модуляции метаболических процессов, могут опосредовать передачу сигналов в нейронную сеть гипоталамуса [75]. Экспрессия гена *FNDC5*, кодирующего предшественник иризина, была обнаружена в гипоталамусе и гонадах [76], что указывает на его роль в регуляции репродуктивной системы на разных уровнях. На нейронном уровне было показано, что введение иризина вызывает начало полового созревания, сопровождающееся снижением уровня MKRN3 и повышением уровня нейрокина В (NKВ, Tac2/3) и кисспептина (*Kiss*, *Kiss1*) [75], которые являются двумя ключевыми положительными регуляторами синтеза и секреции GnRH (рис. 4, а) [77, 78].

Считается, что MKRN3 участвует в регуляции уровней GnRH, NKВ и *Kiss*. Сверхэкспрессия *Mkrn3* приводит к снижению уровней белка кисспептина и нейрокина В в гипоталамусах мышей [74], а нокаут *Mkrn3* вызывает повышение уровней NKВ [79] и GnRH1 [80]. Интересно, что миссенс-мутации, нарушающие функционирование домена RING finger, также приводят к повышению уровня GnRH1 [81]. Наблюдаемые различия являются результатом замедленной дегградации мутантного варианта по сравнению с белком дикого типа, что связано с нарушением аутоубиквитинилирования MKRN3 [81, 82].

Кроме того, было показано, что MKRN3 регулирует уровни РНК 404 генов нейронов дугообразного ядра, которые играют важную роль в развитии нейронов и синаптической пластичности, контролируя организацию внеклеточного матрикса, направление аксонов и формирование синапсов [79]. Более того, 13 из этих генов ассоциированы с возрастом менархе [79], что подтверждает гипотезу о том, что MKRN3 может быть одним из центральных регуляторов сроков полового созревания. Между тем, влияние MKRN3 на уровень мРНК *GnRH1*, *Kiss1* и *Tac3* представляется противоречивым. Сверхэкспрессия *MKRN3* приводит к повышению концентрации соответствующих мРНК [74], что, однако, может быть компенсаторным эффектом повышенной убиквитинлигазной активности. В то же время было показано, что нокаут *Mkrn3* не влияет на уровни экспрессии *Kiss1*, *Tac3* и *Gnrh1* у самок мышей различных возрастов на протяжении постнатального развития [79]. Однако у гетерозиготных мышей с нокаутом *Mkrn3* в отцовском аллеле наблюдалось значительное повышение уровня мРНК *GnRH1* для обоих полов [80].



**Рис. 4.** Многообразие биологических функций MKRN3. *а* – MKRN3 участвует в гипоталамической регуляции полового созревания, POA – преоптическая область, ARC – аркуатное ядро, ME – срединное возвышение; *б* – MKRN3 убиквитинилирует белки для протеасомной деградации; *в* – возможные функции комплекса MKRN3–IGF2BP1

Было выдвинуто предположение о том, что MKRN3 регулирует уровни мРНК *KISS1* и *TAC3*, ингибируя активность промоторов соответствующих генов путём прямого связывания с ними [64]. Этот эффект был продемонстрирован на клеточной линии НЕК293Т [64], однако доказательства способности MKRN3 проникать в ядра отсутствуют. Более вероятным представляется, что MKRN3 регулирует промоторы с помощью промежуточных белков, таких как белок, содержащий метил-СpG-связывающий домен (MBD3), который является мишенью убиквитинилирования MKRN3. MBD3 в комплексе с тетра-метилцитозин диоксигеназой 2 (TET2) активирует промотор *GnRH1* [80]. Было показано, что осуществляемое MKRN3 убиквитинилирование MBD3 нарушает его связывание с TET2 [80]. Это приводит к общему снижению содержания 5hmC в геномах млекопитающих и, в частности, к снижению активности промотора *GnRH1* (рис. 4, *а*).

Кроме того, известно, что MKRN3 может влиять на уровень трансляции мРНК *GnRH1* путём ингибирования формирования комплекса инициации трансляции [83]. MKRN3 непосредственно связывает и убиквитинилирует поли(А)-связывающие белки (PABPC1 и PABPC4) [83, 84], которые регулируют полиаденилирование и нонсенс-опосредованный распад (NMD), контролируют инициацию трансляции мРНК и осуществляют

контроль качества мРНК [85–87]. Убиквитинилирование, осуществляемое MKRN3, препятствует связыванию PABPC1/4 с поли(А)-хвостом мРНК и, таким образом, приводит к укорочению поли(А)-хвоста мРНК *GnRH1* и снижению её стабильности (рис. 4, *а*) [83]. Кроме того, было показано, что PABP образуют авторепрессивный гетеромерный рибонуклеопротеиновый комплекс с другим белком-партнёром MKRN3 – белком 1, связывающим мРНК IGF2 (IGF2BP1) [79, 88]. Таким образом, MKRN3 может способствовать ингибированию трансляции мРНК *PABP*, образуя комплекс с IGF2BP1 и PABP. IGF2BP1 также участвует в аксональном транспорте мРНК [89], следовательно, взаимодействие MKRN3 с IGF2BP1 может регулировать данный процесс (рис. 4, *в*).

Также было выдвинуто предположение о том, что MKRN3 может быть вовлечён в развитие ПИП на уровне специализации нейронов. Хотя MKRN3 не требуется для дифференцировки GnRH1-экспрессирующих нейронов [84], его функционирование может быть необходимо для формирования нейронной ниши. Действительно, секретлируемый пептид NPTX1, который играет роль в формировании и ремоделировании синапсов [90], оказался мишенью полиубиквитинилирования MKRN3 (рис. 4, *б*) [8]. Хотя уровень NPTX1 в сыворотке крови у больных ПИП с дефицитом MKRN3 не изменён [91], эти белки демонстрируют обратную

концентрационную зависимость в гипоталамусах самок мышей в препубертатный период [8]. Таким образом, гипоталамическое нарушение деградации NPTX1 может быть вовлечено в прогрессирование ППП.

Однако биологическая функция MKRN3 не ограничивается регуляцией полового созревания. Достоверно определённые белки-партнёры MKRN3 вовлечены в такие процессы, как регуляция секреции инсулина, межклеточная адгезия, р53-регулируемый клеточный метаболизм, транскрипционная репрессия, а также транспорт и локализация РНК [79, 84]. Кроме того, считается, что MKRN3 может играть роль опухолевого супрессора, поскольку потеря его убиквитинлигазной активности способствует развитию глиобластомы [92] и немелкоклеточной карциномы лёгких [23]. Предполагаемый механизм онкосупрессии подразумевает участие в деградации различных онкогенов и предотвращение определённых взаимодействий посредством непротеолитического убиквитинилирования (рис. 4, б).

Экспериментальные данные указывают на важную роль MKRN3 в контроле сроков полового созревания и поддержке правильной дифференцировки нейронов. Следовательно, экспрессия этого гена должна строго регулироваться в организме.

Было показано, что статус метилирования CpG-области в промоторе *Mkfn3* меняется в процессе полового созревания у мышей, и она значительно меньше метилирована до начала полового созревания [93], что соответствует наблюдаемым различиям в уровнях экспрессии. Кроме того, предполагается, что транскрипционный фактор DREAM является положительным регулятором экспрессии MKRN3 (рис. 4, а), поскольку делеция 4 нуклеотидов в его сайте связывания перед последовательностью MKRN3 приводит к снижению активности промотора и развитию ППП [94].

Также было обнаружено, что микроРНК miR-30b является отрицательным регулятором MKRN3 (рис. 4, а). miR-30b связывается с консервативной областью 3'UTR и способствует снижению содержания MKRN3 в гипоталамусе [95]. По-видимому, фермент Dicer, синтезирующий микроРНК, играет существенную роль в функционировании miR-30b. Врождённая абляция Dicer в Kiss1-экспрессирующих нейронах мышей способствует значительному увеличению экспрессии *Mkfn3* [96]. В то же время на фенотипическом уровне у этих мутантных мышей наблюдается гипогонадотропный гипогонадизм у обоих полов и неполное половое созревание у самок.

Таким образом, MKRN3 является важнейшим молекулярным регулятором, который влияет на экспрессию генов на уровне РНК и белка, но при этом обладает высокой избирательностью

действия. С одной стороны, MKRN3 влияет на транскрипцию своих мишеней через модуляцию метилирования CpG комплексом MBD3-TET2. С другой стороны, он регулирует стабильность мРНК и трансляцию за счёт нарушения связывания PABPC1/4 с поли(А)-содержащей мРНК. Однако, несмотря на участие в столь глобальных процессах и широкое разнообразие мишеней убиквитинилирования, MKRN3 проявляет высокую степень специфичности в своём молекулярном действии. В частности, он в основном вовлечён в регуляцию направления аксонов, организации синапсов, развития и дифференцировки нейронов. Современное понимание этого феномена основано на следующем наблюдении: экспрессия MKRN3 строго регулируется микроРНК и метилированием его промотора. Однако это не объясняет, как обеспечивается внутриклеточная специфичность активности фермента. Наиболее вероятное объяснение механизма регуляции заключается в том, что она опосредована специфическим распознаванием последовательности мРНК, трансляция которой регулируется. При таком сценарии MKRN3 должен обладать способностью взаимодействовать с РНК напрямую, хотя это ещё предстоит подтвердить.

#### MKRN4

*Mkfn4*, как и *Mkfn2*, появился в ходе масштабной дупликации генома, специфичной для позвоночных. Оба этих гена расположены в древних дублированных областях в геномах тетрапод и рыб. Интересно, что *Mkfn4* отсутствует у мышей и крыс, что позволяет предположить его потерю в линии, ведущей к мышинным грызунам [48].

Было показано, что у высших позвоночных, таких как птицы и млекопитающие, *Mkfn4* экспрессируется на высоком уровне в нескольких органах, таких как семенники, мышцы и лёгкие. В то же время представители лучепёрых рыб демонстрируют гонадоспецифичные паттерны экспрессии *Mkfn4* [48]. Что ещё более интересно, у лучепёрых рыб материнская копия *Mkfn4* экспрессируется до активации зиготического генома [48].

Структура MKRN4 включает RING-домен и три цинковых пальца C3H, характерные для семейства. В отличие от MKRN1–3, природа и количество цинковых пальцев в MKRN4 гораздо более вариабельны, причём различия зависят от конкретной линии [48]. Ещё одной особенностью последовательности MKRN4 является отсутствие мотива, богатого цистеином и гистидином (CH) [48].

Единственной известной мишенью убиквитинилирования MKRN4, которая необходима для активации Т-клеток, является С-концевой CNH-домен GLK. Было показано, что индуцированная

MKRN4 деградация GLK предохраняет Т-клетки от гиперактивации, которая приводит к развитию системной красной волчанки [9].

**РНК-Связывающая активность MKRN.** В настоящее время всё чаще обнаруживают ферменты, которые связывают РНК-ассоциированные механизмы с убиквитин-опосредованной деградацией белков. Эти ферменты играют ключевую роль в различных биологических процессах, включая активацию сплайсосомы [97], ответ на повреждение ДНК, инициацию трансляции и регуляцию транскрипции [98]. В частности, было показано, что MKRN влияют на два последних процесса. Однако данных об их РНК-связывающей функции недостаточно.

На сегодняшний день доказано, что три из четырёх ферментов этого семейства являются компонентами рибонуклеопротеиновых комплексов. Было показано, что MKRN1 и MKRN3 связываются с PABPC1, задействуя PAM2-подобный мотив [20, 21, 83]. Наличие PAM2-подобного мотива у MKRN4 указывает на то, что он также может быть частью аналогичного рибонуклеопротеинового комплекса, хотя это ещё предстоит изучить. Примечательно, что несмотря на очевидное сходство последовательностей и организации доменов белков, в составе этих комплексов они проявляют различные свойства. MKRN1 функционирует как глобальный сенсор трансляционных ошибок и запускает ККР [46], а MKRN3 убиквитинилирует PABPC1, тем самым дестабилизируя мРНК [83]. В отличие от остальных членов семейства, MKRN2 не имеет PAM2-подобного мотива и в основном связан с GLE1-содержащим комплексом ядерного экспорта мРНК [24].

Только для двух ферментов (MKRN1 и MKRN2) было продемонстрировано прямое взаимодействие с РНК. Примечательно, что оба фермента предпочитают связываться в области 3'UTR [24, 46]. Кроме того, были охарактеризованы мотивы связывания обоих ферментов, и выяснилось, что для связывания MKRN1 требуется участок поли(А) длиной не менее восьми нуклеотидов [46], тогда как MKRN2 проявляет сродство к регионам, богатым CU [24]. Однако функции других компонентов рибонуклеопротеинового комплекса в определении специфичности узнавания РНК MKRN остаются неясными. Например, РНК-связывающая активность MKRN1 значительно усиливается PABPC1. Более того, мотив узнавания, определённый для MKRN1, в точности соответствует таковому у RRM (РНК-распознающий мотив) домена PABP [99]. Это указывает на то, что несмотря на способность MKRN связывать РНК, специфичность их узнавания может определяться преимущественно другими белками, входящими в состав рибонуклеопротеиновых комплексов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение следует отметить, что все члены семейства белков MKRN обладают доменом RING finger и катализируют реакцию E3-убиквитинлигазы. MKRN2–4 появились в результате дупликаций генома и активности ретротранспозонов, поэтому MKRN демонстрируют высокую эволюционную консервативность. MKRN являются примером высокоорганизованных молекулярных машин, выполняющих множество функций в клетке. Более того, мишенями MKRN являются не только эукариотические, но и прокариотические и вирусные белки, и эти убиквитинлигазы широко распространены в различных царствах живых организмов, что делает их важными участниками клеточного метаболизма. Наиболее широкая биологическая функция описана для MKRN1: он модулирует длину теломера, опосредует деградацию ряда вирусных белков, участвует в апоптозе и клеточном метаболизме. MKRN2 известен тем, что отрицательно регулирует воспалительный ответ и контролирует пролиферацию клеток, однако его эффекты могут быть противоречивыми. MKRN3 известен своей тканеспецифичной экспрессией, зависящей от периода онтогенеза, и отрицательной регуляцией полового созревания. MKRN4 способствует нормальному функционированию и активации Т-клеток. Кроме того, собранные данные выявили существенную роль всех MKRN в развитии различных заболеваний, что делает их потенциальными мишенями для создания новых терапевтических подходов.

Также интересно рассмотреть РНК-связывающую функцию, описанную для MKRN. Имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют о том, что MKRN1, MKRN2 и MKRN3 являются компонентами рибонуклеопротеиновых комплексов. Однако механизм, с помощью которого они распознают РНК, остаётся малоизученным. Кроме того, предстоит выяснить, обладают ли MKRN мотивами узнавания в принципе, или же специфичность их связывания определяется другими белками рибонуклеопротеиновых комплексов. Таким образом, имеющиеся данные и накопившиеся вопросы делают семейство белков MKRN интересным объектом для дальнейших исследований.

**Вклад авторов.** Е.Г. и М.Е. – написание и редактирование текста; В.С. – подготовка рисунков; О.Д. и А.Т. – обсуждение материала; П.С. – руководство работой, финансирование. Все авторы ознакомились с текстом работы и согласились опубликовать текущую версию манускрипта.

**Финансирование.** Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 24-14-00048).

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания проведённых авторами исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang, T., Liu, W., Wang, C., Ma, X., Akhtar, M. F., Li, Y., et al. (2022) MRKNs: gene, functions, and role in disease and infection, *Front. Oncol.*, **12**, 862206, <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.862206>.
2. Gray, T. A., Hernandez, L., Carey, A. H., Schaldach, M. A., Smithwick, M. J., Rus, K., et al. (2000) The ancient source of a distinct gene family encoding proteins featuring RING and C3H zinc-finger motifs with abundant expression in developing brain and nervous system, *Genomics* **66**, 76-86, <https://doi.org/10.1006/geno.2000.6199>.
3. Zhang, Y., Cui, N., and Zheng, G. (2020) Ubiquitination of P53 by E3 ligase MKRN2 promotes melanoma cell proliferation, *Oncol. Lett.*, <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11261>.
4. Lee, E.-W., Lee, M.-S., Camus, S., Ghim, J., Yang, M.-R., Oh, W., et al. (2009) Differential regulation of p53 and p21 by MKRN1 E3 ligase controls cell cycle arrest and apoptosis, *EMBO J.*, **28**, 2100-2113, <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.164>.
5. Lee, E.-W., Kim, J.-H., Ahn, Y.-H., Seo, J., Ko, A., Jeong, M., et al. (2012) Ubiquitination and degradation of the FADD adaptor protein regulate death receptor-mediated apoptosis and necroptosis, *Nat. Commun.* **3**, 978, <https://doi.org/10.1038/ncomms1981>.
6. Lee, M.-S., Jeong, M.-H., Lee, H.-W., Han, H.-J., Ko, A., Hewitt, S. M., et al. (2015) PI3K/AKT activation induces PTEN ubiquitination and destabilization accelerating tumourigenesis, *Nat. Commun.* **6**, 7769, <https://doi.org/10.1038/ncomms8769>.
7. Omwancha, J., Zhou, X.-F., Chen, S.-Y., Baslan, T., Fisher, C. J., Zheng, Z., et al. (2006) Makorin RING finger protein 1 (MKRN1) has negative and positive effects on RNA polymerase II-dependent transcription, *Endocrine*, **29**, 363-374, <https://doi.org/10.1385/ENDO:29:2:363>.
8. Liu, H., Kong, X., and Chen, F. (2017) Mkrn3 functions as a novel ubiquitin E3 ligase to inhibit Nptx1 during puberty initiation, *Oncotarget*, **8**, 85102-85109, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19347>.
9. Chuang, H.-C., Hung, W.-T., Chen, Y.-M., Hsu, P.-M., Yen, J.-H., Lan, J.-L., et al. (2022) Genomic sequencing and functional analyses identify MAP4K3/GLK germline and somatic variants associated with systemic lupus erythematosus, *Ann. Rheum. Dis.*, **81**, 243-254, <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2021-221010>.
10. Finsterbusch, T., Steinfeldt, T., Doberstein, K., Rödner, C., and Mankertz, A. (2009) Interaction of the replication proteins and the capsid protein of porcine circovirus type 1 and 2 with host proteins, *Virology*, **386**, 122-131, <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.12.039>.
11. Wang, T., Du, Q., Wu, X., Niu, Y., Guan, L., Wang, Z., et al. (2018) Porcine MKRN1 modulates the replication and pathogenesis of porcine circovirus type 2 by inducing capsid protein ubiquitination and degradation, *J. Virol.*, **92**, e00100-18, <https://doi.org/10.1128/JVI.00100-18>.
12. Ko, A., Lee, E.-W., Yeh, J.-Y., Yang, M.-R., Oh, W., Moon, J.-S., et al. (2010) MKRN1 induces degradation of West Nile virus capsid protein by functioning as an E3 ligase, *J. Virol.*, **84**, 426-436, <https://doi.org/10.1128/JVI.00725-09>.
13. Inturi, R., Mun, K., Singethan, K., Schreiner, S., and Punga, T. (2018) Human adenovirus infection causes cellular E3 ubiquitin ligase MKRN1 degradation involving the viral core protein pVII, *J. Virol.*, **92**, e01154-17, <https://doi.org/10.1128/JVI.01154-17>.
14. Meenu, S., Thiagarajan, S., Ramalingam, S., Michael, A., and Ramalingam, S. (2016) Modulation of host ubiquitin system genes in human endometrial cell line infected with *Mycobacterium tuberculosis*, *Med. Microbiol. Immunol. (Berl.)*, **205**, 163-171, <https://doi.org/doi.org/10.1007/s00430-015-0432-z>.
15. Subrahmanian, M., Marimuthu, J., Sairam, T., and Sankaran, R. (2020) *In vitro* ubiquitination of *Mycobacterium tuberculosis* by E3 ubiquitin ligase, MKRN1, *Biotechnol. Lett.*, **42**, 1527-1534, <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02873-6>.
16. Dou, Y., Xie, Y., Zhang, L., Liu, S., Xu, D., Wei, Y., et al. (2022) Host MKRN1-mediated mycobacterial PPE protein ubiquitination suppresses innate immune response, *Front. Immunol.*, **13**, 880315, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.880315>.
17. Arumugam, T. U., Davies, E., Morita, E. H., and Abe, S. (2007) Sequence, expression and tissue localization of a gene encoding a makorin RING zinc-finger protein in germinating rice (*Oryza sativa* L. ssp. *Japonica*) seeds, *Plant Physiol. Biochem.*, **45**, 767-780, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.07.006>.
18. Wadekar, H. B., Sahi, V. P., Morita, E. H., and Abe, S. (2013) MKRN expression pattern during embryonic and post-embryonic organogenesis in rice (*Oryza sativa* L. var. Nipponbare), *Planta*, **237**, 1083-1095, <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1828-2>.

19. Jong, M. T. C., Gray, T. A., Ji, Y., Glenn, C. C., Saitoh, S., Driscoll, D. J., et al. (1999) A novel imprinted gene, encoding a RING zinc-finger protein, and overlapping antisense transcript in the Prader-Willi syndrome critical region, *Hum. Mol. Genet.*, **8**, 783-793, <https://doi.org/10.1093/hmg/8.5.783>.
20. Miroci, H., Schob, C., Kindler, S., Ölschläger-Schütt, J., Fehr, S., Jungenitz, T., et al. (2012) Makorin ring zinc finger protein 1 (MKRN1), a novel poly(A)-binding protein-interacting protein, stimulates translation in nerve cells, *J. Biol. Chem.*, **287**, 1322-1334, <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.315291>.
21. Cassar, P. A., Carpenedo, R. L., Samavarchi-Tehrani, P., Olsen, J. B., Park, C. J., Chang, W. Y., et al. (2015) Integrative genomics positions MKRN1 as a novel ribonucleoprotein within the embryonic stem cell gene regulatory network, *EMBO Rep.*, **16**, 1334-1357, <https://doi.org/10.15252/embr.201540974>.
22. Hall, T. M. T. (2005) Multiple modes of RNA recognition by zinc finger proteins, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **15**, 367-373, <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2005.04.004>.
23. Li, K., Zheng, X., Tang, H., Zang, Y.-S., Zeng, C., Liu, X., et al. (2021) E3 ligase MKRN3 is a tumor suppressor regulating PABPC1 ubiquitination in non-small cell lung cancer, *J. Exp. Med.*, **218**, e20210151, <https://doi.org/10.1084/jem.20210151>.
24. Wolf, E. J., Miles, A., Lee, E. S., Nabeel-Shah, S., Greenblatt, J. F., Palazzo, A. F., et al. (2020) MKRN2 physically interacts with GLE1 to regulate mRNA export and zebrafish retinal development, *Cell Rep.*, **31**, 107693, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107693>.
25. Morreale, F. E., and Walden, H. (2016) Types of ubiquitin ligases, *Cell*, **165**, 248-248.e1, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.03.003>.
26. Sahi, V. P., Wadekar, H. B., Ravi, N. S., Arumugam, T. U., Morita, E. H., and Abe, S. (2012) A molecular insight into Darwin's "plant brain hypothesis" through expression pattern study of the MKRN gene in plant embryo compared with mouse embryo, *Plant Signal. Behav.*, **7**, 375-381, <https://doi.org/10.4161/psb.19094>.
27. Hirotsune, S., Yoshida, N., Chen, A., Garrett, L., Sugiyama, F., Takahashi, S., et al. (2003) An expressed pseudogene regulates the messenger-RNA stability of its homologous coding gene, *Nature*, **423**, 91-96, <https://doi.org/10.1038/nature01535>.
28. Gray, T. A., Wilson, A., Fortin, P. J., and Nicholls, R. D. (2006) The putatively functional *Mkrm1-p1* pseudogene is neither expressed nor imprinted, nor does it regulate its source gene in trans, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12039-12044, <https://doi.org/10.1073/pnas.0602216103>.
29. Kim, J. H., Park, S.-M., Kang, M. R., Oh, S.-Y., Lee, T. H., Muller, M. T., et al. (2005) Ubiquitin ligase MKRN1 modulates telomere length homeostasis through a proteolysis of hTERT, *Genes Dev.*, **19**, 776-781, <https://doi.org/10.1101/gad.1289405>.
30. Panneer Selvam, S., De Palma, R. M., Oaks, J. J., Oleinik, N., Peterson, Y. K., Stahelin, R. V., et al. (2015) Binding of the sphingolipid S1P to hTERT stabilizes telomerase at the nuclear periphery by allosterically mimicking protein phosphorylation, *Sci. Signal.*, **8**, ra58, <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaa4998>.
31. Segalés, J., Allan, G. M., and Domingo, M. (2005) Porcine circovirus diseases, *Anim. Health Res. Rev.*, **6**, 119-142, <https://doi.org/10.1079/AHR2005106>.
32. Brinton, M. A. (2002) The molecular biology of West Nile virus: a new invader of the western hemisphere, *Annu. Rev. Microbiol.*, **56**, 371-402, <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160654>.
33. Hengartner, M. O. (2000) The biochemistry of apoptosis, *Nature*, **407**, 770-776, <https://doi.org/10.1038/35037710>.
34. Ko, A., Shin, J.-Y., Seo, J., Lee, K.-D., Lee, E.-W., Lee, M.-S., et al. (2012) Acceleration of gastric tumorigenesis through MKRN1-mediated posttranslational regulation of p14ARF, *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, **104**, 1660-1672, <https://doi.org/10.1093/jnci/djs424>.
35. Lee, H.-K., Lee, E.-W., Seo, J., Jeong, M., Lee, S.-H., Kim, S.-Y., et al. (2018) Ubiquitylation and degradation of adenomatous polyposis coli by MKRN1 enhances Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, *Oncogene*, **37**, 4273-4286, <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0267-3>.
36. Shimada, H., Shiratori, T., Yasuraoka, M., Kagaya, A., Kuboshima, M., Nomura, F., et al. (2009) Identification of Makorin 1 as a novel SEREX antigen of esophageal squamous cell carcinoma, *BMC Cancer*, **9**, 232, <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-232>.
37. Yang, Y., Luo, Y., Huang, S., Tao, Y., Li, C., and Wang, C. (2023) MKRN1/2 serve as tumor suppressors in renal clear cell carcinoma by regulating the expression of p53, *Cancer Biomark.*, **36**, 267-278, <https://doi.org/10.3233/CBM-210559>.
38. Zhang, Y., Li, Q., Liu, H., Tang, H., Yang, H., Wu, D., et al. (2023) MKRN1 promotes colorectal cancer metastasis by activating the TGF- $\beta$  signalling pathway through SNIP1 protein degradation, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **42**, 219, <https://doi.org/10.1186/s13046-023-02788-w>.
39. Bai, X., Yang, H., Pu, J., Zhao, Y., Jin, Y., and Yu, Q. (2021) MKRN1 ubiquitylates p21 to protect against intermittent hypoxia-induced myocardial apoptosis, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2021**, 1-13, <https://doi.org/10.1155/2021/9360339>.

40. Kotla, S., Le, N.-T., Vu, H. T., Ko, K. A., Gi, Y. J., Thomas, T. N., et al. (2019) Endothelial senescence-associated secretory phenotype (SASP) is regulated by Makorin-1 ubiquitin E3 ligase, *Metabolism*, **100**, 153962, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.153962>.
41. Semple, R. K. (2006) PPAR and human metabolic disease, *J. Clin. Invest.*, **116**, 581-589, <https://doi.org/10.1172/JCI28003>.
42. Fang, Y.-C., Fu, S.-J., Hsu, P.-H., Chang, P.-T., Huang, J.-J., Chiu, Y.-C., et al. (2021) Identification of MKRN1 as a second E3 ligase for Eag1 potassium channels reveals regulation via differential degradation, *J. Biol. Chem.*, **296**, 100484, <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100484>.
43. Lee, M.-S., Han, H.-J., Han, S. Y., Kim, I. Y., Chae, S., Lee, C.-S., et al. (2018) Loss of the E3 ubiquitin ligase MKRN1 represses diet-induced metabolic syndrome through AMPK activation, *Nat. Commun.*, **9**, 3404, <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05721-4>.
44. Han, H., Chae, S., Hwang, D., and Song, J. (2018) Attenuating MKRN1 E3 ligase-mediated AMPK $\alpha$  suppression increases tolerance against metabolic stresses in mice, *Cell Stress*, **2**, 325-328, <https://doi.org/10.15698/cst2018.11.164>.
45. Meng, Q., and Xia, Y. (2011) c-Jun, at the crossroad of the signaling network, *Protein Cell*, **2**, 889-898, <https://doi.org/10.1007/s13238-011-1113-3>.
46. Hildebrandt, A., Brüggemann, M., Rücklé, C., Boerner, S., Heidelberger, J. B., Busch, A., et al. (2019) The RNA-binding ubiquitin ligase MKRN1 functions in ribosome-associated quality control of poly(A) translation, *Genome Biol.*, **20**, 216, <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1814-0>.
47. Gray, T. A., Azama, K., Whitmore, K., Min, A., Abe, S., and Nicholls, R. D. (2001) Phylogenetic conservation of the Makorin-2 gene, encoding a multiple zinc-finger protein, antisense to the RAF1 proto-oncogene, *Genomics*, **77**, 119-126, <https://doi.org/10.1006/geno.2001.6627>.
48. Böhne, A., Darras, A., D'Cotta, H., Baroiller, J.-F., Galiana-Arnoux, D., and Volff, J.-N. (2010) The vertebrate makorin ubiquitin ligase gene family has been shaped by large-scale duplication and retroposition from an ancestral gonad-specific, maternal-effect gene, *BMC Genomics*, **11**, 721, <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-721>.
49. Qi, P., Yexie, Z., Xue, C., Huang, G., Zhao, Z., and Zhang, X. (2023) LINC00294/miR-620/MKRN2 axis provides biomarkers and negatively regulates malignant progression in colorectal carcinoma, *Hum. Exp. Toxicol.*, **42**, 096032712311675, <https://doi.org/10.1177/09603271231167577>.
50. Shin, C., Ito, Y., Ichikawa, S., Tokunaga, M., Sakata-Sogawa, K., and Tanaka, T. (2017) MKRN2 is a novel ubiquitin E3 ligase for the p65 subunit of NF- $\kappa$ B and negatively regulates inflammatory responses, *Sci. Rep.*, **7**, 46097, <https://doi.org/10.1038/srep46097>.
51. Yang, P.-H., Cheung, W. K. C., Peng, Y., He, M.-L., Wu, G.-Q., Xie, D., et al. (2008) Makorin-2 is a neurogenesis inhibitor downstream of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt (PI3K/Akt) signal, *J. Biol. Chem.*, **283**, 8486-8495, <https://doi.org/10.1074/jbc.M704768200>.
52. Liu, Z., Xiang, S., Guo, X., Zhou, J., Liao, L., Kou, J., et al. (2022) MKRN2 inhibits the proliferation of gastric cancer by downregulating PKM2, *Aging*, **14**, 2004-2013, <https://doi.org/10.18632/aging.203643>.
53. Jiang, J., Xu, Y., Ren, H., Wudu, M., Wang, Q., Song, X., et al. (2018) MKRN2 inhibits migration and invasion of non-small-cell lung cancer by negatively regulating the PI3K/Akt pathway, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **37**, 189, <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0855-7>.
54. Lee, K. Y., Chan, K. Y. Y., Tsang, K. S., Chen, Y. C., Kung, H., Ng, P. C., et al. (2014) Ubiquitous expression of MAKORIN-2 in normal and malignant hematopoietic cells and its growth promoting activity, *PLoS One*, **9**, e92706, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092706>.
55. Wang, L., Yong, Y.-L., Wang, K.-K., Xie, Y.-X., Qian, Y.-C., Zhou, F.-M., et al. (2023) MKRN2 knockout causes male infertility through decreasing STAT1, SIX4, and TNC expression, *Front. Endocrinol.*, **14**, 1138096, <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1138096>.
56. Qian, Y.-C., Xie, Y.-X., Wang, C.-S., Shi, Z.-M., Jiang, C.-F., Tang, Y.-Y., et al. (2020) Mkrn2 deficiency induces teratozoospermia and male infertility through p53/PERP-mediated apoptosis in testis, *Asian J. Androl.*, **22**, 414, [https://doi.org/10.4103/aja.aja\\_76\\_19](https://doi.org/10.4103/aja.aja_76_19).
57. Jiang, X., and Chen, D. (2021) The identification of novel gene mutations for degenerative lumbar spinal stenosis using whole-exome sequencing in a Chinese cohort, *BMC Med. Genomics*, **14**, 134, <https://doi.org/10.1186/s12920-021-00981-4>.
58. Raza, A., Diehl, S. A., Kremmentsov, D. N., Case, L. K., Li, D., Kost, J., et al. (2023) A genetic locus complements resistance to *Bordetella pertussis*-induced histamine sensitization, *Commun. Biol.*, **6**, 244, <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04603-w>.
59. Wang, Q., Han, C., Wang, K., Sui, Y., Li, Z., Chen, N., et al. (2020) Integrated analysis of exosomal lncRNA and mRNA expression profiles reveals the involvement of lnc-MKRN2-42:1 in the pathogenesis of Parkinson's disease, *CNS Neurosci. Ther.*, **26**, 527-537, <https://doi.org/10.1111/cns.13277>.

60. Jong, M. T. C., Carey, A. H., Caldwell, K. A., Lau, M. H., Handel, M. A., Driscoll, D. J., et al. (1999) Imprinting of a RING zinc-finger encoding gene in the mouse chromosome region homologous to the Prader-Willi syndrome genetic region, *Hum. Mol. Genet.*, **8**, 795-803, <https://doi.org/10.1093/hmg/8.5.795>.
61. Kanber, D., Giltay, J., Wiczorek, D., Zogel, C., Hochstenbach, R., Caliebe, A., et al. (2009) A paternal deletion of MKRN3, MAGEL2 and NDN does not result in Prader-Willi syndrome, *Eur. J. Hum. Genet.*, **17**, 582-590, <https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.232>.
62. Heras, V., Sangiao-Alvarellos, S., Manfredi-Lozano, M., Sanchez-Tapia, M. J., Ruiz-Pino, F., Roa, J., et al. (2019) Hypothalamic miR-30 regulates puberty onset via repression of the puberty-suppressing factor, Mkrn3, *PLoS Biol.*, **17**, e3000532, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000532>.
63. Abreu, A. P., Dauber, A., Macedo, D. B., Noel, S. D., Brito, V. N., Gill, J. C., et al. (2013) Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene *MKRN3*, *N. Engl. J. Med.*, **368**, 2467-2475, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1302160>.
64. Abreu, A. P., Toro, C. A., Song, Y. B., Navarro, V. M., Bosch, M. A., Eren, A., et al. (2020) MKRN3 inhibits the reproductive axis through actions in kisspeptin-expressing neurons, *J. Clin. Invest.*, **130**, 4486-4500, <https://doi.org/10.1172/JCI136564>.
65. Pereira, S. A., Oliveira, F. C. B., Naulé, L., Royer, C., Neves, F. A. R., Abreu, A. P., et al. (2023) Mouse testicular Mkrn3 expression is primarily interstitial, increases peripubertally, and is responsive to LH/hCG, *Endocrinology*, **164**, bqad123, <https://doi.org/10.1210/endocr/bqad123>.
66. Hoyos Sanchez, M. C., Bayat, T., Gee, R. R. F., and Fon Tacer, K. (2023) Hormonal imbalances in Prader-Willi and Schaaf-Yang syndromes imply the evolution of specific regulation of hypothalamic neuroendocrine function in mammals, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 13109, <https://doi.org/10.3390/ijms241713109>.
67. Ludwig, N. G., Radaeli, R. F., Silva, M. M. X., Romero, C. M., Carrilho, A. J. F., Bessa, D., et al. (2016) A boy with Prader-Willi syndrome: unmasking precocious puberty during growth hormone replacement therapy, *Arch. Endocrinol. Metab.*, **60**, 596-600, <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000196>.
68. Lee, H. S., and Hwang, J. S. (2013) Central precocious puberty in a girl with Prader-Willi syndrome, *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, **26**, <https://doi.org/10.1515/jpem-2013-0040>.
69. Meader, B. N., Albano, A., Sekizkardes, H., and Delaney, A. (2020) Heterozygous deletions in *MKRN3* cause central precocious puberty without Prader-Willi syndrome, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **105**, 2732-2739, <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa331>.
70. Carel, J.-C., and Léger, J. (2008) Precocious puberty, *N. Engl. J. Med.*, **358**, 2366-2377, <https://doi.org/10.1056/NEJMcp0800459>.
71. Schally, A. V., Arimura, A., Kastin, A. J., Matsuo, H., Baba, Y., Redding, T. W., et al. (1971) Gonadotropin-releasing hormone: one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones, *Science*, **173**, 1036-1038, <https://doi.org/10.1126/science.173.4001.1036>.
72. Seraphim, C. E., Canton, A. P. M., Montenegro, L., Piovesan, M. R., Macedo, D. B., Cunha, M., et al. (2021) Genotype-phenotype correlations in central precocious puberty caused by *MKRN3* mutations, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **106**, e1041-e1050, <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa955>.
73. Brito, V. N., Canton, A. P. M., Seraphim, C. E., Abreu, A. P., Macedo, D. B., Mendonca, B. B., et al. (2023) The congenital and acquired mechanisms implicated in the etiology of central precocious puberty, *Endocr. Rev.*, **44**, 193-221, <https://doi.org/10.1210/endrev/bnac020>.
74. Roberts, S. A., Naulé, L., Chouman, S., Johnson, T., Johnson, M., Carroll, R. S., et al. (2022) Hypothalamic overexpression of makorin ring finger protein 3 results in delayed puberty in female mice, *Endocrinology*, **163**, bqac132, <https://doi.org/10.1210/endocr/bqac132>.
75. Kutlu, E., Ozgen, L. T., Bulut, H., Kocyigit, A., Ustunova, S., Hüseyinbas, O., et al. (2023) Investigation of irisin's role in pubertal onset physiology in female rats, *Peptides*, **163**, 170976, <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170976>.
76. Wahab, F., Khan, I. U., Polo, I. R., Zubair, H., Drummer, C., Shahab, M., et al. (2019) Irisin in the primate hypothalamus and its effect on GnRH *in vitro*, *J. Endocrinol.*, **241**, 175-187, <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0574>.
77. Ezzat, A., Pereira, A., and Clarke, I. J. (2015) Kisspeptin is a component of the pulse generator for GnRH secretion in female sheep but not the pulse generator, *Endocrinology*, **156**, 1828-1837, <https://doi.org/10.1210/en.2014-1756>.
78. Topaloglu, A. K., Reimann, F., Guclu, M., Yalin, A. S., Kotan, L. D., Porter, K. M., et al. (2009) TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction, *Nat. Genet.*, **41**, 354-358, <https://doi.org/10.1038/ng.306>.
79. Naulé, L., Mancini, A., Pereira, S. A., Gassaway, B. M., Lydeard, J. R., Magnotto, J. C., et al. (2023) MKRN3 inhibits puberty onset via interaction with IGF2BP1 and regulation of hypothalamic plasticity, *JCI Insight*, **8**, e164178, <https://doi.org/10.1172/jci.insight.164178>.

80. Li, C., Lu, W., Yang, L., Li, Z., Zhou, X., Guo, R., et al. (2020) MKRN3 regulates the epigenetic switch of mammalian puberty via ubiquitination of MBD3, *Natl. Sci. Rev.*, **7**, 671-685, <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa023>.
81. Chen, Z., You, Q., Wang, J., Dong, Z., Wang, W., Yang, Y., et al. (2024) The functional study of a novel MKRN3 missense mutation associated with familial central precocious puberty, *Am. J. Med. Genet. A*, **194**, e63460, <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63460>.
82. Magnotto, J. C., Mancini, A., Bird, K., Montenegro, L., Tütüncüler, F., Pereira, S. A., et al. (2023) Novel MKRN3 missense mutations associated with central precocious puberty reveal distinct effects on ubiquitination, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **108**, 1646-1656, <https://doi.org/10.1210/clinem/dgad151>.
83. Li, C., Han, T., Li, Q., Zhang, M., Guo, R., Yang, Y., et al. (2021) MKRN3-mediated ubiquitination of Poly(A)-binding proteins modulates the stability and translation of *GNRH1* mRNA in mammalian puberty, *Nucleic Acids Res.*, **49**, 3796-3813, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab155>.
84. Yellapragada, V., Liu, X., Lund, C., Käsäkoski, J., Pulli, K., Vuoristo, S., et al. (2019) MKRN3 interacts with several proteins implicated in puberty timing but does not influence GNRH1 expression, *Front. Endocrinol.*, **10**, 48, <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00048>.
85. Smith, R. W. P., Blee, T. K. P., and Gray, N. K. (2014) Poly(A)-binding proteins are required for diverse biological processes in metazoans, *Biochem. Soc. Trans.*, **42**, 1229-1237, <https://doi.org/10.1042/BST20140111>.
86. Burgess, H. M., and Gray, N. K. (2010) mRNA-specific regulation of translation by poly(A)-binding proteins, *Biochem. Soc. Trans.*, **38**, 1517-1522, <https://doi.org/10.1042/BST0381517>.
87. Brook, M., and Gray, N. K. (2012) The role of mammalian poly(A)-binding proteins in co-ordinating mRNA turnover, *Biochem. Soc. Trans.*, **40**, 856-864, <https://doi.org/10.1042/BST20120100>.
88. Patel, G. P. (2005) The autoregulatory translational control element of poly(A)-binding protein mRNA forms a heteromeric ribonucleoprotein complex, *Nucleic Acids Res.*, **33**, 7074-7089, <https://doi.org/10.1093/nar/gki1014>.
89. Donnelly, C. J., Willis, D. E., Xu, M., Tep, C., Jiang, C., Yoo, S., et al. (2011) Limited availability of ZBP1 restricts axonal mRNA localization and nerve regeneration capacity: Axonal mRNAs compete for a limited supply of ZBP1, *EMBO J.*, **30**, 4665-4677, <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.347>.
90. Schaukowitz, K., Reese, A. L., Kim, S.-K., Kilaru, G., Joo, J.-Y., Kavalali, E. T., et al. (2017) An intrinsic transcriptional program underlying synaptic scaling during activity suppression, *Cell Rep.*, **18**, 1512-1526, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.01.033>.
91. Jeong, H. R., Yoon, J. S., Lee, H. J., Shim, Y. S., Kang, M. J., and Hwang, I. T. (2021) Serum level of NPTX1 is independent of serum MKRN3 in central precocious puberty, *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, **34**, 59-63, <https://doi.org/10.1515/jpem-2020-0402>.
92. Wang, C., Zhang, M., Liu, Y., Cui, D., Gao, L., and Jiang, Y. (2023) CircRNF10 triggers a positive feedback loop to facilitate progression of glioblastoma via redeploying the ferroptosis defense in GSCs, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **42**, 242, <https://doi.org/10.1186/s13046-023-02816-9>.
93. Fanis, P., Morrou, M., Tomazou, M., Michailidou, K., Spyrou, G. M., Toumba, M., et al. (2023) Methylation status of hypothalamic *Mkrn3* promoter across puberty, *Front. Endocrinol.*, **13**, 1075341, <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1075341>.
94. Macedo, D. B., França, M. M., Montenegro, L. R., Cunha-Silva, M., Bessa, D. S., Abreu, A. P., et al. (2018) Central precocious puberty caused by a heterozygous deletion in the MKRN3 promoter region, *Neuroendocrinology*, **107**, 127-132, <https://doi.org/10.1159/000490059>.
95. Mørup, N., Stakaitis, R., Main, A. M., Golubickaite, I., Hagen, C. P., Juul, A., et al. (2023) Circulating levels and the bioactivity of miR-30b increase during pubertal progression in boys, *Front. Endocrinol.*, **14**, 1120115, <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1120115>.
96. Roa, J., Ruiz-Cruz, M., Ruiz-Pino, F., Onieva, R., Vazquez, M. J., Sanchez-Tapia, M. J., et al. (2022) Dicer ablation in Kiss1 neurons impairs puberty and fertility preferentially in female mice, *Nat. Commun.*, **13**, 4663, <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32347-4>.
97. Makarova, O. V., Makarov, E. M., Urlaub, H., Will, C. L., Gentzel, M., Wilm, M., et al. (2004) A subset of human 35S U5 proteins, including Prp19, function prior to catalytic step 1 of splicing, *EMBO J.*, **23**, 2381-2391, <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600241>.
98. Hildebrandt, A., Alanis-Lobato, G., Voigt, A., Zarnack, K., Andrade-Navarro, M. A., Beli, P., et al. (2017) Interaction profiling of RNA-binding ubiquitin ligases reveals a link between posttranscriptional regulation and the ubiquitin system, *Sci. Rep.*, **7**, 16582, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16695-6>.
99. Webster, M. W., Chen, Y.-H., Stowell, J. A. W., Alhusaini, N., Sweet, T., Graveley, B. R., et al. (2018) mRNA deadenylation is coupled to translation rates by the differential activities of Ccr4-not nucleases, *Mol. Cell*, **70**, 1089-1100.e8, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.05.033>.

# DIVERSITY OF MOLECULAR FUNCTIONS OF RNA-BINDING UBIQUITIN LIGASES FROM THE MKRN PROTEIN FAMILY

## Review

**E. A. Guseva<sup>1,2,3\*#</sup>, M. A. Emelianova<sup>1,3#</sup>, V. N. Sidorova<sup>4</sup>, A. N. Tyulpakov<sup>5</sup>,  
O. A. Dontsova<sup>1,2,3,6</sup>, and P. V. Sergiev<sup>1,2,3\*</sup>**

<sup>1</sup> Center of Life Sciences, Skolkovo Institute of Science and Technology,  
143025 Skolkovo, Russia; e-mail: eguseva98@mail.ru; petya@genebee.msu.ru

<sup>2</sup> Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University,  
119992 Moscow, Russia

<sup>3</sup> Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

<sup>4</sup> Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University,  
119234 Moscow, Russia

<sup>5</sup> Bochkov Research Centre of Medical Genetics, 115522 Moscow, Russia

<sup>6</sup> Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, 117997 Moscow, Russia

Makorin RING finger protein family includes four members (MKRN1, MKRN2, MKRN3, and MKRN4) that belong to E3 ubiquitin ligases and play a key role in various biological processes, such as cell survival, cell differentiation, and innate and adaptive immunity. MKRN1 contributes to the tumor growth suppression, energy metabolism, anti-pathogen defense, and apoptosis and has a broad variety of targets, including hTERT, APC, FADD, p21, and various viral proteins. MKRN2 regulates cell proliferation, inflammatory response; its targets are p65, PKM2, STAT1, and other proteins. MKRN3 is a master regulator of puberty timing; it controls the levels of gonadotropin-releasing hormone in the arcuate nucleus neurons. MKRN4 is the least studied member of the MKRN protein family, however, it is known to contribute to the T cell activation by ubiquitination of serine/threonine kinase MAP4K3. Proteins of the MKRN family are associated with the development of numerous diseases, for example, systemic lupus erythematosus, central precocious puberty, Prader–Willi syndrome, degenerative lumbar spinal stenosis, inflammation, and cancer. In this review, we discuss the functional roles of all members of the MKRN protein family and their involvement in the development of diseases.

**Keywords:** E3 ubiquitin ligase, RING finger proteins, MKRN, makorins, RNA-binding ubiquitin ligase, central precocious puberty, systemic lupus erythematosus, tumor suppressors