

Covid-19 Patogenezinde ncRNA'ların Rolü

The Role of ncRNAs in Covid-19 Pathogenesis

Tuba Öz[®], Melek Pehlivan[®], Ibrahim Pirim[®]

Cite as: Öz T, Pehlivan M, Pirim I. Covid-19 patogenezinde ncRNA'ların rolü. Forbes J Med. 2021;2(1):1-12.

Öz

Genomik çalışmalar, insan genomunun yaklaşık %2'sinin protein kodladığını, geriye kalan büyük çoğunluğun kodlanmayan RNA (ncRNA)'lardan oluştuğunu göstermiştir. Kodlanmayan RNA'lar, DNA sekansında herhangi bir değişiklik yapmaksızın gen ekspresyonunu farklı seviyelerde değiştirebilen modifikasyonlardır. NcRNA'ların en önemli fonksiyonlarından biri, kromatin yapısını ve gen ekspresyonunu düzenleyerek, konakçı bağışıklığını ve enflamatuvar yanıtı modüle etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2 (SARS-CoV-2)'yi, Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olarak tanımlamıştır. COVID-19, ateş, öksürük, nefes darlığı gibi belirtiler göstermekte ve şiddetli semptomatik akut solunum yetmezliği sendromuna (ARDS) yol açarak kardiyovasküler komplikasyonlar, böbrek hasarı, felç ve ölüm gibi birçok sorunu beraberinde getirebilmektedir. SARS-CoV-2 için başarılı bir terapötik hedefin geliştirilmesinde, viral replikasyon mekanizmasının yanı sıra immün sistemi ile bağlantılı virüs konak etkileşimleri de önemlidir. Virüs konak etkileşimlerini düzenleyen epigenetik mekanizmalar, klinik sonuçlar için önemli immün ve enflamatuvar yanıtların derecesini ve yeterliliğini etkilemektedir. Bu nedenle SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında rol alan ncRNA'ların belirlenmesi, oluşan bağışıklık tepkisinin altında yatan epigenetik düzenlenmenin anlaşılmasına, enfeksiyonun önlenmesine ve tedavi edilmesi için yeni özel stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Bu derlemede, SARS-CoV-2 enfeksiyonunda ncRNA aracılı gen düzenlenmesinin önemi ve devam eden COVID-19 pandemisindeki rolü tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: COVID-19, CoV, kodlanmayan RNA

ABSTRACT

Genomic studies have shown that approximately 2% of the human genome encodes protein, and the rest consists of non-coding RNAs (ncRNA). ncRNAs are the modifications that can alter gene expression at different levels without making any changes on the DNA sequence. One of the most important function of non-coding RNAs is to modulate host immunity and inflammatory response by regulating chromatin structure and gene expression. The World Health Organization has declared Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). COVID-19 shows symptoms such as fever, cough, shortness of breath and it can lead to severe symptomatic acute respiratory distress syndrome (ARDS), bring along many problems such as cardiovascular complications, kidney damage, stroke and death. Virus host interactions associated with the immune system is also important beside the viral replication mechanism in the development of a successful therapeutic target for SARS-CoV-2. Epigenetic mechanisms that regulate virus-host interactions affect the extent and adequacy of immune and inflammatory responses that are important for clinical outcomes. Thus, identifying ncRNAs involved in SARS-CoV-2 infection will help to understand the epigenetic regulation underlying the immune response that occurs and to develop new specific strategies to prevent and treat the infection. In this review, the importance of ncRNA mediated gene regulation in SARS-CoV-2 infection and its role in the ongoing COVID-19 pandemic were discussed.

Keywords: COVID-19, CoV, ncRNA

Received/Geliş: 23.11.2020
Accepted/Kabul: 07.12.2020
Publication date: 27.04.2021

Sorumlu Yazar/
Corresponding Author:

Melek Pehlivan
Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu, İzmir Kâtip Çelebi
Üniversitesi, İzmir - Türkiye
✉ pehlivanmlk@gmail.com
ORCID: 0000-0001-8755-4812

T. Öz 0000-0003-4366-8927
I. Pirim 0000-0001-8485-3286
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye



GİRİŞ

İlk Koronavirüs (CoV) salgını, 2002-2003 yıllarında Çin'de şiddetli akut solunum sendromu Koronavirüs (SARS-CoV) olarak, ikinci salgın ise 2012'de Ortadoğu ülkelerinde Ortadoğu solunum sendromu Koronavirüs (MERS-CoV) olarak meydana gelmiştir.¹ Dünya Sağlık Örgütü (WHO), ilk olarak Wuhan şehrinde (Hubei, Çin) görülen, sonrasında dünyaya yayılan şiddetli akut solunum sendromu Koronavirüs 2'yi ise (SARS-CoV-2) Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olarak ilan etmiştir.^{2,3} COVID-19 ateş, öksürük, nefes darlığı, yorgunluk ve gastrointestinal rahatsızlıklar gibi klinik semptomlar göstermektedir. Ayrıca hastalık ağırlaşarak şiddetli semptomatik akut solunum yetmezliği sendromuna (ARDS) yol açarak kardiyovasküler komplikasyonlar, böbrek hasarı, felç ve ölüm gibi birçok sorunu beraberinde getirebilmektedir.⁴ WHO, 1 Kasım 2020 itibarıyla dünya çapında 1,2 milyon ölüm olmak üzere toplamda 46 milyon COVID-19 olgusu bildirmiştir.⁵

Bu tür pandemilerin toplum sağlığı üzerindeki olumsuz etkisine rağmen, CoV salgınlarının tedavi seçenekleri çok sınırlıdır. COVID-19 ölümlerinin arkasındaki ana neden, kontrolsüz bir şekilde aşırı inflamasyon üretimiyle sonuçlanan sitokin fırtınasıdır.⁶ SARS-CoV-2 için başarılı bir terapötik hedefin geliştirilmesinde, viral replikasyon mekanizmasının yanı sıra immün sistemi ile bağlantılı virüs konak etkileşimleri de önemlidir. Virüs konak etkileşimlerini düzenleyen epigenetik mekanizmalar, klinik sonuçlar için önemli immün ve enflamatuvar yanıtların derecesini ve yeterliliğini etkilemektedir.⁷ Ayrıca epigenetik mekanizmalar, kromatin yapısını ve gen ekspresyon modellerini düzenleyerek, konakçı bağışıklığını ve enflamatuvar yanıtını modüle etmektedirler.⁷ Histon metilasyonu ve asetilasyonu, DNA metilasyonu, kromatin yeniden modellenmesi ve kodlanmayan RNA'lar (ncRNA) gibi epigenetik mekanizmalar konakçı gen ekspresyonunu düzenleyebilmektedir.⁴ MERS-CoV ve SARS-CoV gibi enfeksiyonların, konakçı antijen sunumunu antagonize ederek veya interferon (IFN) yanıt genlerini aktive ederek epigenetik değişikliklere aracılık ettiği bilinmektedir.^{8,9} SARS-CoV-2 enfeksiyonunda da benzer mekanizmalar gen ifadesinde potansiyel değişik-

liğe yol açarak enfeksiyonu sınırlayabilmektedir.¹⁰

Koronavirüslerin Yapısı ve Replikasyonu

Adını taç benzeri yapılarından alan CoV'lar zarflı, pozitif polariteli (+ssRNA) ve en büyük genoma sahip (26-32 kb) RNA virüsleridir.¹¹ CoV'lar, insanlarda dâhil pek çok canlıyı enfekte edebilen virüs ailesidir ve α , β , γ ve δ olarak dört alt kategoriye ayrılmıştır.¹² α -CoV ve β -CoV'ların memelileri enfekte ettiği bildirilmiştir. β -CoV'ların neden olduğu son viral pnömoni salgınları, SARS-CoV ve MERS-CoV'dur.¹³ SARS-CoV-2'nin genom dizisi, SARS-CoV ile yaklaşık %79 ve MERS-CoV ile yaklaşık %50 benzerliğe sahiptir⁷, ancak genler arasında bu oran değişebilmektedir.¹⁴ CoV genomu, 9889 amino asidi kodlayan 29,891 nükleotidden oluşmaktadır. Değişken sayıda açık okuma çerçevesi (open reading frame-ORF) içermekte ve iki poliproteini (pp1a-pp1ab) oluşturmaktadır.¹⁵

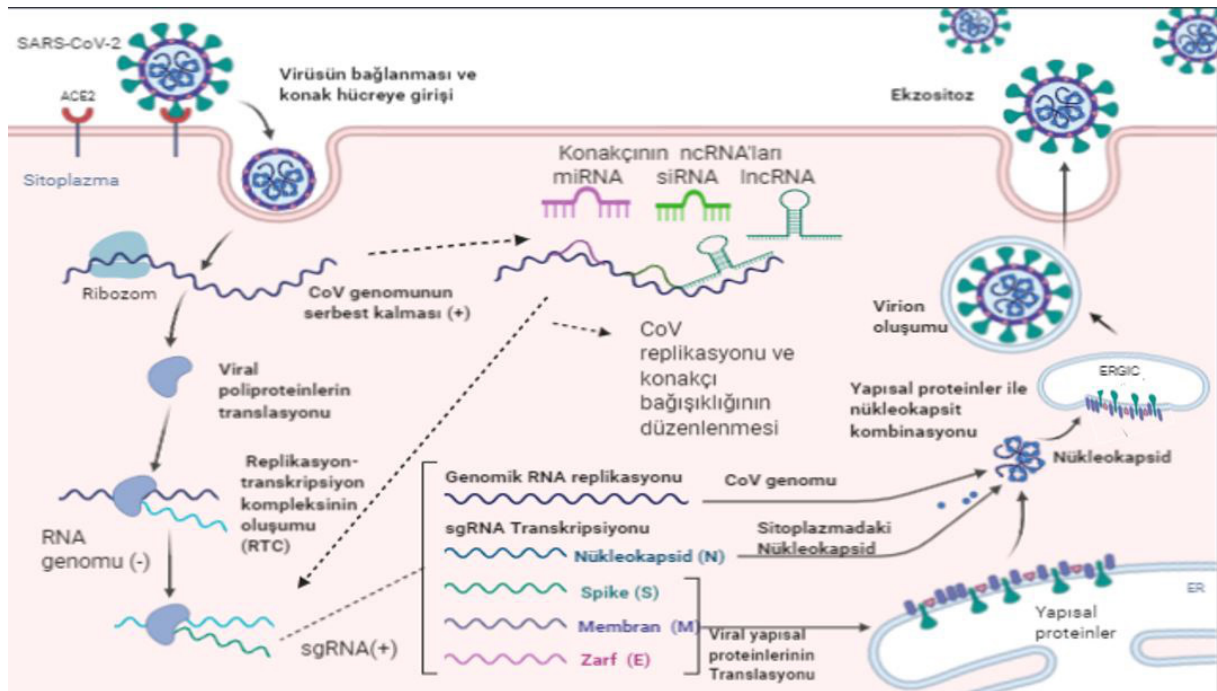
CoV patogenezinde ve tedavi yöntemlerinde önemli rol aldıkları bildirilen; viral replikaz transkriptaz kompleksini oluşturan 16 tane yapısal olmayan protein (non structural protein-nsp) ve konakçı immün yanıtı ile virion birleşiminde yer alan 4 temel yapısal protein (Spike (S), Membran (M), Zarf (E), Nükleokapsid (N)) bulunmaktadır.¹⁶ S proteini, reseptöre bağlanmayı ve virüsün konak hücreye tutunmasını sağlamaktadır.⁷ Bu protein virüsün hücreye yönelimini belirleyen S1 ve virüs-hücre membran füzyonuna aracılık eden S2 olmak üzere iki alt birimden oluşmaktadır.¹⁵ M proteinleri, üç transmembran alanına sahip olup, virüs füzyonundan sorumludur. Bununla birlikte M proteinleri, Toll benzeri reseptörü (TLR) ile ilişkili İnterferon beta (IFN- β) yolağının aktive edilmesini sağlamaktadır.¹⁷ E proteinleri ise, viral patogenezinde ve virüs salınımında rol oynamaktadır. SARS-CoV E proteini, inflamasyona katkıda bulunan bir iyon kanalı aktivitesine sahiptir. İyon kanalı aktivitesi, İnterlökin (IL)-1 β , IL-6 ve Tümör nekroz faktörü (TNF) gibi enflamatuvar tepkileri etkileyen virülans belirleyicidir.¹⁸ N proteinleri, virüsün RNA genomunu farklı mekanizmalarla bağlayabilen iki domain içermektedir ve viral paketlenme sürecinde önemlidir.^{7,15} N proteini, viral enfeksiyona karşı doğuştan gelen bağışıklığın en önemli yanıtlarından biri olan tip I IFN sinyalizasyonunu ve sentezini düzenleyerek, IFN antagonisti olarak davranmaktadır.¹⁹

SARS-CoV-2, hava yoluyla taşınan bir virüsdür²⁰ ve yaşam döngüsü Şekil 1'de özetlenmiştir. İlk olarak SARS-CoV-2, Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörünü kullanarak insanlar ile etkileşime geçmektedir. CoV'un replikasyon mekanizması diğer RNA virüslerine benzer şekilde konakçının sitoplazmasında gerçekleşmektedir.¹⁵ Replikasyon süreci, S proteininin ACE2 reseptörüne bağlanıp Transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) tarafından kesilmesiyle başlamaktadır. Virüsün genomik RNA'sı konak sitoplazmasına aktarılır.²⁰ SARS-CoV-2 genomu pozitif polariteli olduğu için direkt kalıp olarak kullanılır, yapısal ve nsp proteinlerini kodlar. Öncelikle pp1a-pp1ab translasyonu gerçekleşir ve bu iki protein protezlar sayesinde nsp'lere dönüştürülür. Daha sonrasında replikasyon ve transkripsiyon kompleksini (RTC) oluşturmaktadır. Yapısal proteinlerin kodlanacağı sub-genomik RNA (sgRNA), RTC tarafından sentezlenir.²¹ Yeni oluşan zarf glikoproteinleri, endoplazmik retikulum veya golgi membranı üzerine yerleştirilir ve yeni nükleokapsidler oluşturulur. Nük-

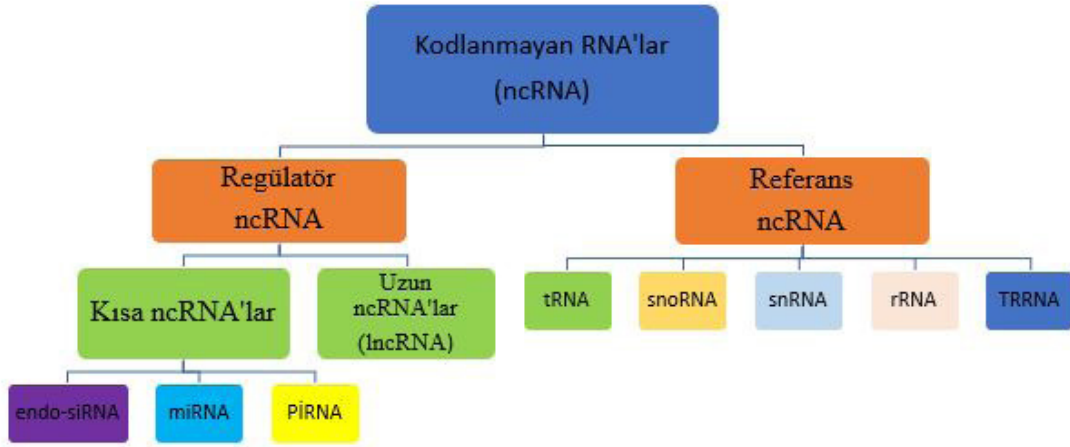
leokapsidlerin sonrasında viral partiküller, endoplazmik retikulum-golgi ara kompartmanına (ERGIC) aktarılır ve burada oluşturulan viral partiküller hücrenin dışına eksozomları kullanarak çıkarılır.^{15,21}

Kodlanmayan RNA'lar (ncRNA)

Genomik çalışmalar, insan genomunun yaklaşık %2'sinin protein kodladığını, geriye kalan büyük çoğunluğun kodlanmayan RNA'lardan oluştuğunu göstermiştir. ncRNA'lar epigenetik modifikasyonda önemli rol oynamaktadır ve hücre farklılaşmasını kontrol etmek için gen ve kromozom düzeyinde ekspresyonu düzenlemektedirler.²² ncRNA'ların bu fonksiyonları onları enfeksiyon hastalıklarında önemli bir terapötik hedef haline getirmiştir.²³ Genel olarak CoV gibi virüslerin, genetik sekansı değiştirmedikleri ancak epigenomu değiştirerek, bir konağın immün tepkisini yendikleri ve enfeksiyonu kolaylıkla yaydıkları bilinmektedir. Bu nedenle SARS-CoV-2'ye karşı aşılarda ve ilaçların geliştirilmesi halen devam ederken ilgiyi



Şekil 1. SARS-CoV-2 yaşam döngüsü ve ncRNA'ların etkisi. CoV'un replikasyonu konak sitoplazmasında gerçekleşir. Replikasyon süreci, S proteininin ACE2 reseptörüne bağlanıp TMPRSS2 tarafından kesilmesiyle başlar ve virüs genomik RNA'sı konak sitoplazmasına aktarılır. SARS-CoV-2 genomu pozitif polariteli olduğu için direkt kalıp olarak kullanılır, yapısal ve nsp proteinlerini kodlar. Yeni oluşan zarf glikoproteinleri, endoplazmik retikulum veya golgi membranı üzerine yerleştirilir ve yeni nükleokapsidler oluşturulur. Ardından, viral partiküller ERGIC'e aktarılır ve burada oluşturulan viral partiküller hücrenin dışına eksozomları kullanarak çıkarılır. CoV replikasyonu ve konakçı bağışıklığının düzenlenmesinde ncRNA'lar görev alır.²⁰ ACE2: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2, sgRNA: Rehber RNA, RTC: Replikasyon ve Transkripsiyon Kompleksi, ER: Endoplazmik Retikulum, ERGIC: Endoplazmik Retikulum-Golgi Ara Kompartmanı miRNA: MikroRNA, siRNA: Küçük İnterfering RNA, lncRNA: Uzun ncRNA.



Şekil 2. ncRNA'nın fonksiyonlarına ve uzunluklarına bağlı olarak kategorilenmesi. mikroRNA: miRNA, endojen küçük interfering RNA: endo-siRNA, PIWI ile ilişkili küçük RNA: piRNA, uzun ncRNA: lncRNA, transfer RNA: tRNA, küçük nükleolar RNA: snoRNA, küçük nükleer RNA: snRNA, ribozomal RNA: rRNA, telomer RNA: TRRNA.

ncRNA'lar gibi endojen düzenleyici molekül grubuna kaydırmak önemlidir.

ncRNA'ların temel işlevi, transkripsiyonel, post-transkripsiyonel ve post-translasyonel süreçleri regüle ederek gen ekspresyonunu düzenlemektir.²⁴ ncRNA'lar kromatin mimarisi, epigenetik modifikasyonların düzenlenmesi ve genom stabilitesinin korunması gibi süreçlerde yapı iskelesi görevi görür.²⁵ Birçok ncRNA türü karakterize edilip, fonksiyonel olarak referans (housekeeping) ve regülatör olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır.²⁶ Referans ncRNA'lar; amino asitleri taşımak için transfer RNA'ları (tRNA), RNA modifikasyonları için küçük nükleolar RNA'ları (snoRNA), RNA kesimlemesi için küçük nükleer RNA'ları (snRNA), protein sentezi için ribozomal RNA'ları (rRNA) ve kromozomlar için gerekli olan telomer RNA'yı (TRRNA) içerirler.^{26,27} Bu ncRNA'lar, tüm hücre türlerinde bulunmaktadır ve önemli işlevleri vardır.²⁶ Regülatör ncRNA'lar, mikroRNA'lar (miRNA), endojen siRNA'lar (endo-siRNA) ve PIWI ile ilişkili küçük RNA'lar (piRNA), uzun ncRNA'dan (lncRNA) oluşmaktadır.^{26,27} Regülatör ncRNA'lar, 200 bp'den kısa olanlar (endo-siRNA, miRNA ve piRNA) ve 200 bp'den uzun olanlar (lncRNA) şeklinde iki kategoriye ayrılmaktadır (Şekil 2).^{28,29} Regülatör ncRNA'lar, gen transkripsiyonu ve translasyonunu düzenlemek için miRNA ve endo-siRNA'ları, kromatinin epigenetik düzenlenmesi için lncRNA'ları ve transpozonları susturmak için piRNA'ları içerirler.³⁰ Referans ncRNA'lardan farklı

olarak regülatör ncRNA'ların ekspresyonu sekansa bağlı etkileşimler ile sağlandığı için genellikle spesifiktir. Viral enfeksiyonlarda, ekspresyon ve fonksiyonları açısından regülatör ncRNA'lar referans ncRNA'lardan bir adım öndedir.²⁷ Hem lncRNA'lar hem de miRNA'lar, hematopoietik kök hücrelerin korunması, miyeloid hücrenin farklılaşması ve apoptozu, monositlerin, makrofajların ve dendritik hücrelerin (DC) uyarılması gibi fonksiyonları ile immün sisteminin düzenlenmesine katılmaktadırlar. Doğuştan gelen veya adaptif immün yanıtlarında monositler, makrofajlar, DC'ler, nötrofiller, T ve B lenfositleri ncRNA ekspresyonlarını değiştirmektedirler.³¹ Ayrıca, ncRNA'ların kanser ve enfeksiyon hastalıkları dahil olmak üzere çeşitli hücrel süreçlerdeki rolü belirlenmiştir.¹ Enfeksiyon sırasında önemli rol oynayan birçok hücrel ncRNA, hem normal fizyolojik koşullarda hem de enfeksiyon sırasında konakçının gen ekspresyonu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.²⁵ Bu etkileriyle ve epigenetik düzenlemedeki rolleri ile ncRNA'ların SARS-CoV-2 enfeksiyonunda önemli görevleri olduğu düşünülmektedir. Şekil 1'de SARS-CoV-2'deki yaşam döngüsünde ncRNA'ların etkileri kısaca özetlenmeye çalışılmıştır.

Kısa ncRNA'lar ve RNAi Mekanizması

RNA interferans (RNAi), doğal ve spesifik bir post-transkripsiyonel gen susturma (PTGS) mekanizmasıdır. RNAi kısa komplementer RNA'ların spesifik mRNA moleküllerini hedeflediği ve nötralize

ettiği, gen ekspresyonunun ve translasyonun inhibisyonuyla sonuçlanan biyolojik bir süreçtir.³² RNAi, hücre gelişimini ve farklılaşmasını kontrol etmek için gen ekspresyonunun düzenlenmesinin dışında, ayrıca virüslere karşı doğuştan gelen savunma tepkisini oluşturmaktadır.³³ RNAi aktivitesi, öncelikle bitkilerde antiviral bir mekanizma olarak tanımlanmış, daha sonra insanlar da dâhil olmak üzere birçok organizmada etkisi gösterilmiştir.³⁴ RNAi, konakçı hücrelerde virüs replikasyonu ve ekspresyonunu inhibe etmek için ideal bir mekanizmadır ve viral istiladan korunmada umut verici sonuçlar göstermiştir.^{35,36} Buna karşın virüsler, mevcut RNAi yollarını baskılayan veya spesifik konakçı genlerin susturulmasını tetikleyen RNA moleküllerini kodlayabilmektedir.³³

RNAi'nin en önemli özelliği özgül olmasıdır. Çift zincirli RNA (dsRNA), RNAi'nin bir parçası olarak hareket ederken, sekans homolojisine sahip genlerin ekspresyonunu azaltmaktadır.³⁴ dsRNA'ya maruz kalan memeli hücrelerinde majör immün yanıt, IFN serum seviyelerinde bir artışa neden olmaktadır. Bu durum, viral gen ekspresyonunu inhibe etmekte ve enfekte hücrelerin apoptozunu başlatmaktadır.³⁷ RNAi'nin dsRNA molekülü ile iki farklı süreçte işlevi bulunmaktadır: İlki, hücrel gen ekspresyonunu dsRNA olan miRNA'lar aracılığıyla düzenlenmesidir.³³ miRNA'lar, transkripsiyon sonrasında gen ekspresyonunu negatif olarak düzenleyen kısa ncRNA'lardır.³⁸ RNAi'nin ikinci işlevi, küçük müdahaleci RNA'ların (siRNA) üretilmesiyle gen ifadesinin düzenlenmesidir. siRNA'lar ikincil RNA yapılarından dolayı viral mRNA'ya tamamen komplementer olabilmektedirler. miRNA aracılı gen regülasyonu ve antiviral siRNA aktivitesi Dicer ve RISC bileşenlerini paylaşmaktadır. Bu nedenle, virüslerin hücrel RNAi süreçlerini etkilemesi olasıdır.

SARS-CoV-2 suşlarında çoklu korunmuş geni hedefleyen kombinasyonel RNAi, COVID-19'da tedavi yöntemi olarak kullanılabilir. Kombinasyonel RNAi, influenza A gibi diğer akut viral enfeksiyonlara karşı potansiyel bir yanıt göstermiştir.³⁹ Bu tür terapötik stratejiler tasarlanırken, RNAi'nin sitotoksitesini ve hedef dışı etkilerini en aza indirmek için kritik değerlendirmeler yapılmalıdır. Belirli genlerin uzun süreli susturulması

hücre için toksik olacağından, RNAi stratejisi geçici veya tersine çevrilebilir bir şekilde tasarlanabilir.²³

miRNA

miRNA'lar, ökaryotik genlerin ekspresyonunu post-transkripsiyonel olarak düzenleyen 21-23 nükleotid uzunluğundaki kısa ncRNA'lardır.⁴⁰ miRNA'lar çok çeşitli organizmalarda ifade edilmekte ve oluşumu çekirdekte başlamaktadır. Primer miRNA (pri-miRNA) transkriptleri tip III RNAaz olan Drosha ve DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DGCR8) proteinlerinden oluşan bir kompleks tarafından öncü miRNA'ya (pre-miRNA) işlenmektedir. Pre-miRNA, Exportin-5 ve RAN-GTP aracılığıyla çekirdekten sitoplazmaya taşınmakta ve RNase III enzimi olan Dicer tarafından miRNA dupleksine dönüşmektedir. Bir sonraki adımda miRNA dupleksi, hedef tanıma yeteneğine sahip olgun bir mRNA hâline gelmek için RNA ile indüklenen susturma kompleksi (RISC) ile birleşmektedir. Argonaute (AGO) protein ailesi, miRNA dupleksinin oluşum sürecine aracılık etmektedir.²⁴ miRNA dupleksi, RISC'i mRNA'ya hedeflemekte ve translasyonun inhibisyonuna neden olmaktadır.³³ miRNA'lar hedef mRNA'nın 3'-UTR'sine bağlanarak, translasyonun stabilitesini inhibe etmektedir.¹⁵

miRNA aracılı gen düzenlenmesi benzersizdir, çünkü tek bir miRNA birden fazla mRNA hedefine sahip olabilir veya tek bir mRNA birden fazla miRNA tarafından hedeflenebilmektedir. miRNA'ların bu pleotropik yapısı, onu uygun bir terapötik aday yapmaktadır.²³ Ayrıca, miRNA'lar endojen bir kökene sahip olduklarından ve hücrel mekanizma kullanılarak işlendiklerinden, miRNA'lara karşı immünojenik reaksiyon gelişme olasılığı düşüktür.²³ miRNA'lar hücre farklılaşması, proliferasyon, metabolizma, stres tepkisi ve apoptoz dâhil olmak üzere çeşitli homeostatik süreçlerdeki rollerinin yanı sıra antiviral konak savunmasına da katkıda bulunur.⁴¹ miRNA'lar viral enfeksiyonların da önemli modülatörleri olarak, enfeksiyon sırasında hücrel veya viral RNA'ları hedefleyerek gen ekspresyonunu baskılamaktadırlar.¹⁵ Ayrıca, virüsler replikasyonlarını arttırmak için spesifik miRNA'ların ekspresyonunu aşağı ve yukarı regüle etmektedirler.⁴⁰

Virüsler, konakçı hücreler ile etkileştiğinde antijenlerini sunmaktadırlar. Antijen sunumu, virüse özgü B ve T hücrelerinin aracılık ettiği konakçının hümmoral ve hüccresel bağışıklığını uyarılmaktadır.¹⁵ miRNA'ların, doğuştan gelen immün yanıtların özellikle makrofajların ve granülositlerin düzenlenmesindeki rolü iyi anlaşılmıştır. miRNA'lar ayrıca adaptif immün yanıtlara da katılmakta ve miRNA'ların anormal ekspresyonu, otoimmün bozukluklara sebep olabilmektedir.³¹ miRNA'lar T, B ve DC'ler gibi antijen sunan hüccrelerinin (APC) gelişimini, olgunlaşmasını ve işlevini düzenleyerek enfeksiyona karşı adaptif yanıtı değiştirmektedir.⁴¹ Örneğin, miRNA-155, kemik iliğindeki hematopoietik kök hüccrelerden (HSC) T ve B hüccre gelişimini düzenler.⁴² Benzer şekilde miR-125b, farelerde HSC gelişimini kontrol etmektedir.⁴³ Bunlara ek olarak, miR-181a'nın inhibisyonu, T hüccre seçimini engellemektedir.⁴⁴ miR-125b, naif CD4 T hüccrelerinde IFN- γ , IL-2 reseptör beta (IL2R β), IL-10 reseptör alfa (IL10R α) ve IFN baskılayıcı Blimp-1 gibi önemli T hüccresi sitokinlerini düzenlemektedir.⁴⁵ Bu veriler, konakçının enfeksiyona karşı adaptif yanıtında miRNA'ların etkisini ortaya koymaktadır.

RNA virüslerinde miRNA'ların varlığı bilim insanlarının uzun süredir tartıştığı bir konudur. RNA virüslerinin miRNA'ları, kanonik kök-loop yapısına sahip olmadıklarından, biyojenezleri ve işlev mekanizmaları çok açık değildir.⁴⁶ Sitoplazmik RNA virüslerinin miRNA işlenmesi için gerekli olan çekirdekdeki Drosha enzimi ile ilişki kurması zor olacağından miRNA'ları ifade etmedikleri düşünülmüştür.²³ Buna karşın, Shi ve ark.⁴⁷ sitoplazmik RNA virüsü olan Hepatit A virüsünün miRNA'lar gibi küçük regülatör RNA'ları ifade edebileceğini göstermiştir. Ayrıca, CoV'larında dâhil olduğu RNA virüsü enfeksiyonlarında miRNA'ları tanımlayan çalışmalar bulunmaktadır. CoV'lar, enfeksiyonun başlangıcında miRNA ekspresyonunda çeşitli değişiklikleri indüklemektedirler. SARS-CoV, immün eliminasyondan kaçınmak için hüccresel miRNA mekanizmasını kullanmaktadır.⁴¹ Morales ve ark.⁴⁸ SARS-CoV ile enfekte farelerin akciğerlerinden RNA'nın dizilimini gerçekleştirerek miRNA'lar gibi yaklaşık 18-22 nükleotid uzunluğunda üç tip küçük viral RNA'yı (svRNA) belirlemiştir. Ayrıca bu viral RNA'ların belirli proinflatuvar sitokinlerin üretimini

düzenleyerek viral enfeksiyona karşı konakçı tepkisini düzenlediği gösterilmiştir. Lai ve ark.⁴⁹ OC43-CoV N proteininin miR-9'a bağlanarak nükleer faktör kappa B (NF-kB) aktivasyonunu artırdığını bildirmiştir. Stewart ve ark.⁵⁰ miR-146a'nın, NF-kB aktivitesinin negatif bir düzenleyicisi olan RING parmak protein 11'i (RNF11) baskılayarak Hepatit E virüsü (HeV) enfeksiyonunu indüklediğini bildirmiştir. Janssen ve ark.⁵¹ yaptıkları çalışmada Hepatit C virüsünün (HCV) stabilitesi ve yayılmasının, karaciğerde eksprese edilen miR-122 ile arasındaki fonksiyonel bir etkileşime bağlı olduğunu göstermiştir. Bu etkileşim, faz II klinik denemelerine giren ilk miRNA inhibitörü olan Miravirsin ilacının temelini oluşturmuştur.⁵² Ma ve ark.⁵³ gastroenterit koronavirüsünün (TGEV) endoplazmik retikulumu indükleyerek IFN-I üretimine neden olmasına rağmen, miR-30a-5p'yi aşağı regüle ederek IFN-I'in antiviral etkisinden kaçabildiğini vurgulamıştır.

MERS-CoV genomunu etkileyen toplam 13 hüccresel miRNA tanımlanmış ve antiviral tedavi olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir.¹¹ MERS-CoV'nin in silico analizinin yapıldığı bir çalışmada, miR-548a, miR-6804-3p, miR-628-5p, miR-208a-3p, miR-510-3p, miR-4289, miR-18a-3p, miR-329-3p, miR-3934-5p, miR-7974, miR-4474-5p, miR-342-3p ve miR-6865-5p miRNA'ları tanımlanmış ve MERS-CoV genomundaki saç tokası yapıları ile dizi benzerlikleri bulunmuştur. miR-6864-5p, miR-4778-3p ve miR-5197-3p, sırasıyla MERS-CoV, SARS-CoV ve SARS-CoV-2'nin rehber RNA'sı ile eşleşen miRNA'lar olarak tanımlanmıştır.⁵⁴ Khan ve ark.⁵⁵ konakçı miRNA'lar ve SARS-CoV-2 arasındaki etkileşimin, antiviral immün sinyal yollarını düzensizleştirerek viral patogenezi destekleyebileceğini ve enfekte hastalarda komplikasyonlara yol açabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalar, miRNA'ların CoV tedavisinde antiviral ve gen tedavisi olarak önemli bir rol oynayabileceğini destekler niteliktedir.¹⁵

SARS-CoV-2'ye karşı uygun bir terapötik yaklaşım tasarlanırken belirli faktörleri dikkate almak gerekmektedir. İlk olarak, SARS-CoV-2'nin mutasyon geçirerek farklı suşlara dönüştüğü bildirilmiştir.⁵⁶ İkinci olarak, SARS-CoV-2'nin genellikle 2 ila 4 hafta süren uzun süreli akut enfeksiyonlara neden

olması acil tedavi yöntemini gerektirmektedir. Bu endişeleri gidermek için, miRNA'lar hızlı bir şekilde mRNA transkriptlerini hedefleyip, fonksiyon kazandırdığından SARS-CoV-2'ye karşı miRNA temelli tedaviler öne çıkmaktadır.²³ Ayrıca, miRNA'lar kan, tükürük, idrar vb. vücut sıvılarında salgılanabildiğinden, klinikte biyobelirteç olarak kullanılabilirler. Örneğin, miR-VP-3p, Ebola virüsü ile enfekte hastaların serumlarında belirlenebilirken⁵⁷, miR-US4-1 ise IFN- α tedavisi alan Hepatit B virüsü (HBV) hastalarının serumlarında gözlenmiştir.⁵⁸

siRNA

Susturucu RNA olarak bilinen küçük interfering RNA (siRNA), 20-25 baz çifti uzunluğunda çift sarmallı kısa ncRNA'dır. siRNA'lar, RNAi mekanizması ile genlerin ifadesini düzenleyebildiğinden, siRNA temelli terapötikler antikanser, antiviral ve genetik hastalıklar için geliştirilmiş ve uygulanmıştır.⁵⁹ siRNA'nın oluşumu, sitoplazmada dsRNA molekülünün Dicer enzimi ile kısa parçalara ayrılmasıyla gerçekleşmektedir. siRNA'lar RISC'e entegre olduktan sonra mRNA'nın bölünmesini tetiklemektedir.³³ siRNA normal fizyolojik koşullarda negatif bir yük taşımakta, bu yük siRNA'nın hücre zarından geçmesini zorlaştırmaktadır. Lipozom, viral vektör ve elektroporasyon gibi taşıyıcılar siRNA'ları memeli hücrelerine verimli bir şekilde iletebilmektedir.³⁷ Bu nedenle siRNA temelli tedaviler, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını hafifletmek ve ortadan kaldırmak için kullanılabilir.

siRNA, RNA virüslerinin önemli genlerini hedefleyebilmekte ve susturabilmektedir.³⁶ Gitlin ve ark.⁶⁰ siRNA'nın, hızla replike olan ve oldukça sitolitik bir RNA virüsüne karşı insan hücrelerini koruyabileceğini göstermiştir. Hu ve ark.⁶¹ siRNA'nın civ-civ embriyolarında retroviral enfeksiyonu bloke edebileceğini ve insan immün yetmezliği virüsünün (HIV) büyümesini inhibe edebileceğini bildirmiştir. Kapadia ve ark.⁶² Huh-7 hücrelerinde siRNA'nın HCV replikasyonunu ve protein ekspresyonunu spesifik olarak inhibe edebildiğini ve bu antiviral etkinin IFN'den bağımsız olduğunu göstermişlerdir.

siRNA'nın SARS-CoV gen ekspresyonunu inhibe etme etkinliğini gösteren mevcut çalışmalar vardır. Wang ve ark.⁶³ vektör bazlı siRNA'ların SARS-

CoV replikasyonunu inhibe edebildiğini göstermişlerdir. Li ve ark.⁶⁴'nin çalışmasında ise, siRNA'nın SARS-CoV enfeksiyonunun profilaktik ve terapötik tedavisi için güçlü bir aday olduğuna ve insan dışı primat modelinde toksisite oluşturmadığına dair kanıtlar bulunmaktadır. siRNA'lar hedeflenen genleri susturmanın yanı sıra SARS-CoV replikasyonunu da inhibe edebilirler. Li ve ark.⁶⁵ SARS-CoV'nün lider sekansını hedefleyerek, siRNA'nın SARS-CoV replikasyonu üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu göstermişlerdir. Wu ve ark.⁶⁶ SARS-CoV genomundaki dört bölgeyi (lider, transkripsiyon düzenleyici (TRS), 3'-UTR ve S proteini) siRNA ile hedefleyerek S genine spesifik hedeflenmiş siRNA'ların, RNA transkriptlerinin ve viral antijenlerin miktarını büyük ölçüde azalttığını; 3'-UTR yönelimli siRNA'ların çok etkili olmadığını; lider sekansı ve TRS'yi hedefleyen diğer iki siRNA'nın ise etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. He ve ark.⁶⁷ in vitro ortamda siRNA'nın SARS-CoV replikasyonu (genomun 1a bölgesi) susturabildiğini göstermişlerdir. Zhang ve ark.³⁶ DNA vektöründen üretilen siRNA'ları kullanarak, SARS-CoV ile enfekte 293T hücrelerinde S proteinini hedeflemiş ve susturabildiğini göstermişlerdir.

siRNA'ların SARS-CoV-2'ye karşı uygulanabileceğini gösteren çalışmalarda bulunmaktadır. Nguyen ve ark.⁶⁸ SARS-CoV-2 tedavisi için düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri ile ilişkili Cas13d nükleaz (CRISPR/Cas13d) sistemini önermiştir. Bu çalışma hem RNAi hem de CRISPR/Cas teknolojisinin viral hastalıkları tedavi etmek için potansiyel terapötik etkisi olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, Chen ve ark.³² CRISPR/Cas13d sistemine ek olarak, gen ifadesine müdahale edebilecek ve SARS-CoV-2'nin kopyalanmasını engelleyebilecek siRNA tabanlı bir strateji önermiştir. Bu stratejilerin ana fikri, SARS-CoV-2 genomunda RISC tarafından tanınacak ve bölünecek olan siRNA hedeflerinin belirlenmesi yönündedir.

Uzun ncRNA (lncRNA)

lncRNA'lar belirgin bir ORF içermeyen ve RNA polimeraz II tarafından kopyalanan 200 nükleotitten uzun ncRNA'lardır.⁶⁹ Binlerce lncRNA çekirdekte lokalize olmasına rağmen, yalnızca bazıları işlevsel olarak karakterize edilmiştir.⁷⁰ Son yıllar-

daki veriler, kompleks düzenleyici ağlardaki lncRNA'ların protein ve diğer efektörler ile birlikte önemli işlevlerini açığa çıkarmıştır.²⁸ lncRNA'lar, nükleer alanların mimarisini koordine ederek metabolizmayı ve gen ekspresyonunu modüle edebilmekte, epigenetik modifikasyonlara aracılık edebilmekte, hedef mRNA'ların translasyonunu ve proteinlerin stabilitesini düzenleyebilmektedirler.²⁵ lncRNA'lar, gen ekspresyonunun neredeyse her aşamasında yer almakta, kanser ve nörodegeneratif bozukluklar gibi çeşitli hastalıklarda rol oynamaktadırlar.⁶⁹

lncRNA'ların ekspresyonu, IFN yanıtının aktivasyonu ile ilişkilidir.²⁵ IFN tepkisi, doğuştan gelen immün sisteminin merkezi bir bileşenidir ve antiviral aktiviteye sahiptir. IFN'ler özellikle viral enfeksiyonlara karşı etkilidir.⁷¹ Ayrıca, IFN yanıtı lncRNA aracılığıyla negatif olarak düzenlenmektedir. IFN'nin negatif düzenlenmesi, konak hücrede enflamatuvar hasarı önlemek açısından önemlidir. Kambara ve ark.⁷¹ lncRNA-CMPK2'nin IFN tedavisinden sonra aktif olarak yukarı regüle edildiğini ve IFN ile uyarılan genlerin (ISG) transkripsiyonunu negatif olarak düzenlediğini bildirmişlerdir. Nettoie Salmonella pas Theiler's (NeST) antiviral yanıtta lncRNA'ların fonksiyonel rolünün ilk kanıtıdır.²⁵ Tmevpg1 olarak bilinen NeST, hem farelerde (Ifng) hem de insanlarda (IFNG) IFN- γ kodlayan genin yanında bulunan bir lncRNA'dır.⁷² NeST'yi aşırı ifade eden transgenik farelerden alınan CD8⁺ T hücreleri, Theiler murin ensefalomiyelit virüsünün (TMEV) neden olduğu kalıcı enfeksiyona karşı daha hassastır. NeST ekspresyonu bakteriyel (Salmonella) enfeksiyona duyarlılığı azaltırken TMEV kalıcılığını arttırmıştır.²⁵ Bunun nedeni, olasılıkla NeST tarafından aktive CD8⁺ T hücrelerinde spesifik olarak IFN- γ transkripsiyonunun indüklenmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca NeST, H3K4 metiltransferaz kompleksinin bir bileşeni olan WDR5 ile IFNG lokusunun epigenetik olarak işaretleme düzenlenmesini düzenlemektedir.⁷³

lncRNA ekspresyonu, viral enfeksiyona karşı doğuştan gelen immün tepkisinin bir parçası olarak indüklenebilir. lncRNA'daki regülasyon bozukluğunun, anormal immün yanıtlara neden olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalar, immün ve enflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde lncRNA'ların

önemini vurgulamaktadır.⁷⁴ Peng ve ark.⁷⁵ virüs enfeksiyonlarının lncRNA'nın ifadesini değiştirdiğini ve antiviral konak yanıtının düzenlenmesinde rol oynayabileceğini öne sürmüştür. Bhattacharyya ve ark.⁷⁶ Metastaz ile ilişkili akciğer adenokarsinom transkripti 1'in (MALAT1) Japon ensefalit virüsü (JEV) ve Batı Nil virüsündeki (WNV) aşırı ekspresyonu ile enflamatuvar yanıtı indüklediğini bildirmişlerdir. Wei ve ark.⁷⁷ MALAT1'in akciğer transplantasyonunu takiben enflamatuvar hasarındaki rolünü araştırmıştır. MALAT1'in susturulmasının, nötrofil kemotaksisini inhibe ederek enflamatuvar hasarı hafiflettiği bildirilmiştir. Bunun nedeni, nötrofil kemotaksis inhibisyonunun, sitokin fırtınası yükünü hafifletmesi olabilir. Bu çalışma, özellikle MALAT1'in akciğerde hasara neden olan SARS-CoV-2 enfeksiyonunda önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Jin ve ark.⁷⁸ MALAT1 ve Nükleer zenginleştirilmiş bol transkript-1 (NEAT1) lncRNA'nın, HIV enfeksiyonunda potansiyel biyobelirteç olduğunu göstermiştir. Qu ve ark.⁷⁹ MALAT1'in HIV-1 promotörünü bağlayan Enhansır Zeste Homolog 2 (EZH2) etkileşimi ile HIV-1 transkripsiyonunu ve enfeksiyonunu indüklediğini bildirmişlerdir. Zhang ve ark.²⁸ NEAT1'in susturulmasının, HIV-1 enfeksiyonunu arttırdığını belirtmişlerdir. Carpenter ve ark.⁸⁰ Cox2 lncRNA'nın, TLR'lerin uyarılması üzerine yukarı regüle edildiğini ve enflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde rol oynadığını göstermişlerdir. İmamura ve ark.⁷⁰ NEAT1'in IL-8 gibi sitokinleri içeren antiviral genlerin ekspresyonunu kolaylaştırdığını ve paraspeckle bağlayıcı proteini olan Prolin/glutamin açısından zengin ekleme faktörünün (SFPQ) IL-8 transkripsiyonunun baskılayıcısı olduğunu bildirmişlerdir. NEAT1 ve SFPQ'nun iş birliği, antiviral genlerin doğal immün sisteminde önemli bir rol oynadığını kanıtlamıştır.

lncRNA'lar transkripsiyon faktörlerini spesifik olarak etkileyerek antiviral yanıtı düzenler. Nishitsuji ve ark.⁸¹ heterojen nükleer ribonükleoprotein U'nun (hnRNP) lncRNA#32'ye bağlandığını ve stabilize ettiğini belirtmiştir. lncRNA#32'nin susturulması, ISG ekspresyon seviyesinin önemli ölçüde düşmesine ve Ensefalomiyokardit virüsüne (EMCV) karşı duyarlılığın artmasına neden olmuştur. Ayrıca HBV ve HCV enfeksiyonunda lncRNA#32'nin baskılayıcı işlevinin olduğu da bildirilmiştir.⁸¹

SONUÇ

Virüs konak etkileşimleri ve viral patogeneze üzerine yapılan çalışmalar, ncRNA'ların viral enfeksiyonlar sırasında önemli rolü olduğunu göstermiştir. ncRNA'lar inflamasyonun düzenlenmesi, hedef genlerin epigenetik susturulması veya gen ifadesinin düzensizliği gibi spesifik mekanizmalarda görevlidir. COVID-19 pandemisinde bu mekanizmalar hakkında henüz yeterli çalışma yoktur. Mevcut veriler, SARS-CoV-2 enfeksiyonunda ncRNA'ların rolü olabileceğini göstermektedir. ncRNA'ların rollerine ilişkin daha fazla araştırma yapılması, potansiyel biyobelirteçlerin ve terapötik müdahalenin algılanmasında COVID-19 patogenezinin daha iyi anlaşılması açısından değerli olacaktır.

Çıkar Çatışması: Yoktur.

Finansal Destek: Yoktur.

Hasta Onamı: Yoktur.

Conflict of Interest: None.

Funding: None.

Informed Consent: None.

KAYNAKÇA

1. Vishnubalaji R, Shaath H, Alajez NM. Protein coding and long noncoding RNA (lncRNA) transcriptional landscape in SARS-CoV-2 infected bronchial epithelial cells highlight a role for interferon and inflammatory response. *Genes (Basel)*. 2020 07 7;11(7):E760. doi:10.3390/genes11070760
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 02 20;382(8):727-33. doi:10.1056/NEJMoa2001017
3. Benvenuto D, Giovanetti M, Ciccozzi A, Spoto S, Angeletti S, Ciccozzi M. The 2019-new coronavirus epidemic: Evidence for virus evolution. *J Med Virol*. 2020 04;92(4):455-9. doi:10.1002/jmv.25688
4. Atlante S, Mongelli A, Barbi V, Martelli F, Farsetti A, Gaetano C. The epigenetic implication in coronavirus infection and therapy. *Clin Epigenetics*. 2020 10 21;12(1):156. doi:10.1186/s13148-020-00946-x
5. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report COVID-19 Weekly Epidemiological Update. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---3-november-2020>
6. El Baba R, Herbein G. Management of epigenomic networks entailed in coronavirus infections and COVID-19. *Clin Epigenetics*. 2020 08 5;12(1):118. doi:10.1186/s13148-020-00912-7
7. Crimi E, Benincasa G, Figueroa-Marrero N, Galdiero M, Napoli C. Epigenetic susceptibility to severe respiratory viral infections and its therapeutic implications: a narrative review. *British Journal of Anaesthesia*. 2020 dec 1;125(6):1002-17. doi:10.1016/j.bja.2020.06.060
8. Menachery VD, Schäfer A, Burnum-Johnson KE, Mitchell HD, Eisfeld AJ, Walters KB, et al. MERS-CoV and H5N1 influenza virus antagonize antigen presentation by altering the epigenetic landscape. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 01 30;115(5):E1012-E1021. doi:10.1073/pnas.1706928115
9. Menachery VD, Eisfeld AJ, Schäfer A, Josset L, Sims AC, Proll S, et al. Pathogenic influenza viruses and coronaviruses utilize similar and contrasting approaches to control interferon-stimulated gene responses. *mBio*. 2014 May 20;5(3):e01174-14. doi:10.1128/mBio.01174-14
10. de Wilde AH, Snijder EJ, Kikkert M, van Hemert MJ. Host Factors in Coronavirus Replication. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2018;419:1-42. doi:10.1007/82_2017_25
11. Hasan MM, Akter R, Ullah MS, Abedin MJ, Ullah GM, Hossain MZ. A Computational Approach for Predicting Role of Human MicroRNAs in MERS-CoV Genome. *Adv Bioinformatics*. 2014;2014:967946. doi:10.1155/2014/967946
12. Cheng ZJ, Shan J. 2019 Novel coronavirus: where we are and what we know. *Infection*. 2020 Apr;48(2):155-63. doi:10.1007/s15010-020-01401-y
13. Mustafa Soyöz, Tülay Kılıçaslan Ayna, İbrahim Pirim. İmmünolojik Açından COVID-19 Enfeksiyonuna Bakış. *Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi* 2020. doi:10.5222/terh.2020.11298
14. Baldassarre A, Paolini A, Bruno SP, Felli C, Tozzi AE, Masotti A. Potential use of noncoding RNAs and innovative therapeutic strategies to target the 5'UTR of SARS-CoV-2. *Epigenomics*. 2020 08;12(15):1349-61. doi:10.2217/epi-2020-0162
15. Canatan D, De Sanctis V. The impact of MicroRNAs (miRNAs) on the genotype of coronaviruses. *Acta Bio Med [Internet]*. 2020May11 [cited 2020Nov.18];91(2):195-8. Available from: <https://www.mattioli1885journals.com/index.php/actabiomedica/article/view/9534>
16. Akbıyık A, Avşar Ö. Coronavirus enfeksiyonu hastalığının (COVID-19) epidemiyolojisi ve kontrolü. *İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*. 2020; 5(2): 109-116. dergipark.org.tr/tr/pub/ikcusbfd/issue/55773/738090
17. Wang Y, Liu L. The Membrane Protein of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Functions as a Novel Cytosolic Pathogen-Associated Molecu-

- lar Pattern To Promote Beta Interferon Induction via a Toll-Like-Receptor-Related TRAF3-Independent Mechanism. *mBio*. 2016 Feb 9;7(1):e01872-15. doi:10.1128/mBio.01872-15
18. Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Verdiá-Báguena C, Jimenez-Guardeño JM, Regla-Nava JA, Fernandez-Delgado R, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathog*. 2014 May;10(5):e1004077. doi:10.1371/journal.ppat.1004077
 19. Tufan A, Avanoğlu Güler A, Maticci-Cerinic M. COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drug. *Turk J Med Sci*. 2020 04 21;50(SI-1):620-32. doi:10.3906/sag-2004-168
 20. Lebeau G, Vagner D, Frumence É, Ah-Pine F, Guillot X, Nobécourt E, et al. Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 18;21(16):E5932. doi:10.3390/ijms21165932
 21. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). *Statpearls [internet]: StatPearls Publishing*; 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
 22. Frías-Lasserre D, Villagra CA. The Importance of ncRNAs as Epigenetic Mechanisms in Phenotypic Variation and Organic Evolution. *Front Microbiol*. 2017;8:2483. doi:10.3389/fmicb.2017.02483
 23. Bhattacharyya P, Biswas SC. Small Non-coding RNAs: Do They Encode Answers for Controlling SARS-CoV-2 in the Future. *Front Microbiol*. 2020;11:571553. doi:10.3389/fmicb.2020.571553
 24. Guo Y, Wang L, Gou R, Tang L, Liu P. Noncoding RNAs in peritoneal fibrosis: Background, Mechanism, and Therapeutic Approach. *Biomed Pharmacother*. 2020 Sep;129:110385. doi:10.1016/j.biopha.2020.110385
 25. Damas ND, Fossat N, Scheel TKH. Functional Interplay between RNA Viruses and Non-Coding RNA in Mammals. *Noncoding RNA*. 2019 Jan 14;5(1):E7. doi:10.3390/ncrna5010007
 26. Fu X. D. *National Science Review*, Volume 1, Issue 2, June 2014, Pages 190–204, doi:10.1093/nsr/nwu008
 27. Zhang X, Ma X, Jing S, Zhang H, Zhang Y. Non-coding RNAs and retroviruses. *Retrovirology*. 2018 02 9;15(1):20. doi:10.1186/s12977-018-0403-8
 28. Zhang Q, Chen CY, Yedavalli VS, Jeang KT. NEAT1 long noncoding RNA and paraspeckle bodies modulate HIV-1 posttranscriptional expression. *mBio*. 2013 Jan 29;4(1):e00596-12. doi:10.1128/mBio.00596-12
 29. Wei JW, Huang K, Yang C, Kang CS. Non-coding RNAs as regulators in epigenetics (Review). *Oncol Rep*. 2017 Jan;37(1):3-9. doi:10.3892/or.2016.5236
 30. Eddy SR. Non-coding RNA genes and the modern RNA world. *Nat Rev Genet*. 2001 Dec;2(12):919-29. doi:10.1038/35103511
 31. Ghafouri-Fard S, Shoorei H, Taheri M, Sanak M. Emerging role of non-coding RNAs in allergic disorders. *Biomed Pharmacother*. 2020 Oct;130:110615. doi:10.1016/j.biopha.2020.110615
 32. Chen W, Feng P, Liu K, Wu M, Lin H. Computational Identification of Small Interfering RNA Targets in SARS-CoV-2. *Virolog Sin*. 2020 06;35(3):359-61. doi:10.1007/s12250-020-00221-6
 33. Berkhout B, Haasnoot J. The interplay between virus infection and the cellular RNA interference machinery. *FEBS Lett*. 2006 May 22;580(12):2896-902. doi:10.1016/j.febslet.2006.02.070
 34. Capodici J, Karikó K, Weissman D. Inhibition of HIV-1 infection by small interfering RNA-mediated RNA interference. *J Immunol*. 2002 Nov 1;169(9):5196-201. doi:10.4049/jimmunol.169.9.5196
 35. Shi Y, Yang DH, Xiong J, Jia J, Huang B, Jin YX. Inhibition of genes expression of SARS coronavirus by synthetic small interfering RNAs. *Cell Res*. 2005 Mar;15(3):193-200. doi:10.1038/sj.cr.7290286
 36. Zhang Y, Li T, Fu L, Yu C, Li Y, Xu X, et al. Silencing SARS-CoV Spike protein expression in cultured cells by RNA interference. *FEBS Lett*. 2004 Feb 27;560(1-3):141-6. doi:10.1016/S0014-5793(04)00087-0
 37. Wu CJ, Chan YL. Antiviral applications of RNAi for coronavirus. *Expert Opin Investig Drugs*. 2006 Feb;15(2):89-97. doi:10.1517/13543784.15.2.89
 38. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004 Jan 23;116(2):281-97. doi:10.1016/S0092-8674(04)00045-5
 39. Estrin MA, Hussein ITM, Puryear WB, Kuan AC, Artim SC, Runstadler JA. Host-directed combinatorial RNAi improves inhibition of diverse strains of influenza A virus in human respiratory epithelial cells. *PLoS One*. 2018;13(5):e0197246. doi:10.1371/journal.pone.0197246
 40. Leitão, A. L. M. D., & Enguita, F. (2016). Non-coding RNAs and inter-kingdom communication. Edition: 1st Publisher: SpringerEditor: doi:10.1007/978-3-319-39496-1
 41. Tahamtan A, Inchley CS, Marzban M, Tavakoli-Yaraki M, Teymoori-Rad M, Nakstad B, et al. The role of microRNAs in respiratory viral infection: friend or foe. *Rev Med Virol*. 2016 11;26(6):389-407. doi:10.1002/rmv.1894
 42. Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science*. 2007 Apr 27;316(5824):608-11. doi.org/10.1126/science.1139253
 43. Surdzziel E, Cabanski M, Dallmann I, et al. Enforced expression of miR-125b affects myelopoiesis by

- targeting multiple signaling pathways. *Blood*. 2011 Apr;117(16):4338-4348. doi:10.1182/blood-2010-06-289058
44. Li QJ, Chau J, Ebert PJ, Sylvester G, Min H, Liu G, et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. *Cell*. 2007 Apr 6;129(1):147-61. doi:10.1016/j.cell.2007.03.008
 45. Rossi RL, Rossetti G, Wenandy L, Curti S, Ripamonti A, Bonnal RJ, et al. Distinct microRNA signatures in human lymphocyte subsets and enforcement of the naive state in CD4+ T cells by the microRNA miR-125b. *Nat Immunol*. 2011 Jun 26;12(8):796-803. doi:10.1038/ni.2057
 46. Varble A, ten Oever BR. Implications of RNA virus-produced miRNAs. *RNA Biology*. 2011 Mar-Apr;8(2):190-194. doi:10.4161/rna.8.2.13983
 47. Shi J, Sun J, Wang B, Wu M, Zhang J, Duan Z, et al. Novel microRNA-like viral small regulatory RNAs arising during human hepatitis A virus infection. *FASEB J*. 2014 Oct;28(10):4381-93. doi:10.1096/fj.14-253534
 48. Morales L, Oliveros JC, Fernandez-Delgado R, tenOever BR, Enjuanes L, Sola I. SARS-CoV-Encoded Small RNAs Contribute to Infection-Associated Lung Pathology. *Cell Host Microbe*. 2017 Mar 8;21(3):344-55. doi:10.1016/j.chom.2017.01.015
 49. Lai FW, Stephenson KB, Mahony J, Lichty BD. Human coronavirus OC43 nucleocapsid protein binds microRNA 9 and potentiates NF- κ B activation. *J Virol*. 2014 Jan;88(1):54-65. doi:10.1128/JVI.02678-13
 50. Stewart CR, Marsh GA, Jenkins KA, Gantier MP, Tizard ML, Middleton D, et al. Promotion of Hendra virus replication by microRNA 146a. *J Virol*. 2013 Apr;87(7):3782-91. doi:10.1128/JVI.01342-12
 51. Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med*. 2013 May 2;368(18):1685-94. doi:10.1056/NEJMoa1209026
 52. Wilson JA, Sagan SM. Hepatitis C virus and human miR-122: insights from the bench to the clinic. *Curr Opin Virol*. 2014 Aug;7:11-8. doi:10.1016/j.coviro.2014.03.005
 53. Ma Y, Wang C, Xue M, Fu F, Zhang X, Li L, et al. The Coronavirus Transmissible Gastroenteritis Virus Evades the Type I Interferon Response through IRE1 α -Mediated Manipulation of the MicroRNA miR-30a-5p/SOCS1/3 Axis. *J Virol*. 2018 11 15;92(22):e00728-18. doi:10.1128/JVI.00728-18
 54. Ivashchenko A, Rakhmetullina A, Aisina D. How miRNAs can protect humans from coronaviruses COVID-19, SARS-CoV, and MERS-CoV. 2020 Research Square preprint. doi: 10.21203/rs.3.rs-16264/v1
 55. Khan MA, Sany MRU, Islam MS, Islam ABMMK. Epigenetic Regulator miRNA Pattern Differences Among SARS-CoV, SARS-CoV-2, and SARS-CoV-2 World-Wide Isolates Delineated the Mystery Behind the Epic Pathogenicity and Distinct Clinical Characteristics of Pandemic COVID-19. *Front Genet*. 2020;11:765. doi: 10.3389/fgene.2020.00765
 56. Tang, X., Wu, C., Li, X. et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl Sci Rev*. 2020 Mar 3: nwaa036. doi: 10.1093/nsr/nwaa036
 57. Chen Z, Liang H, Chen X, Ke Y, Zhou Z, Yang M, et al. An Ebola virus-encoded microRNA-like fragment serves as a biomarker for early diagnosis of Ebola virus disease. *Cell Res*. 2016 Mar;26(3):380-3. doi: 10.1038/cr.2016.21
 58. Pan Y, Wang N, Zhou Z, Liang H, Pan C, Zhu D, et al. Circulating human cytomegalovirus-encoded HCMV-miR-US4-1 as an indicator for predicting the efficacy of IFN α treatment in chronic hepatitis B patients. *Sci Rep*. 2016 Mar 10;6:23007. doi: 10.1038/srep23007
 59. Liu C, Zhou Q, Li Y, Garner LV, Watkins SP, Carter LJ, et al. Research and Development on Therapeutic Agents and Vaccines for COVID-19 and Related Human Coronavirus Diseases. *ACS Cent Sci*. 2020 Mar 25;6(3):315-31. doi:10.1021/acscentsci.0c00272
 60. Gitlin L, Karelsky S, Andino R. Short interfering RNA confers intracellular antiviral immunity in human cells. *Nature*. 2002 Jul 25;418(6896):430-4. doi:10.1038/nature00873
 61. Hu WY, Myers CP, Kilzer JM, Pfaff SL, Bushman FD. Inhibition of retroviral pathogenesis by RNA interference. *Curr Biol*. 2002 Aug 6;12(15):1301-11. doi:10.1016/s0960-9822(02)00975-2
 62. Kapadia SB, Brideau-Andersen A, Chisari FV. Interference of hepatitis C virus RNA replication by short interfering RNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Feb 18;100(4):2014-8. doi:10.1073/pnas.252783999
 63. Wang Z, Ren L, Zhao X, Hung T, Meng A, Wang J, et al. Inhibition of severe acute respiratory syndrome virus replication by small interfering RNAs in mammalian cells. *J Virol*. 2004 Jul;78(14):7523-7. doi:10.1128/JVI.78.14.7523-7527.2004
 64. Li BJ, Tang Q, Cheng D, Qin C, Xie FY, Wei Q, et al. Using siRNA in prophylactic and therapeutic regimens against SARS coronavirus in Rhesus macaque. *Nat Med*. 2005 Sep;11(9):944-51. doi:10.1038/nm1280
 65. Li T, Zhang Y, Fu L, Yu C, Li X, Li Y, et al. siRNA targeting the leader sequence of SARS-CoV inhibits virus replication. *Gene Ther*. 2005 May;12(9):751-61. doi:10.1038/sj.gt.3302479
 66. Wu CJ, Huang HW, Liu CY, Hong CF, Chan YL. Inhibition of SARS-CoV replication by siRNA. *Antiviral Res*. 2005 Jan;65(1):45-8. doi:10.1016/j.antiviral.2004.09.005
 67. He ML, Zheng B, Peng Y, Peiris JS, Poon LL, Yuen

- KY, et al. Inhibition of SARS-associated coronavirus infection and replication by RNA interference. *JAMA*. 2003 Nov 26;290(20):2665-6. doi:10.1001/jama.290.20.2665
68. Nguyen TM, Zhang Y, Pandolfi PP. Virus against virus: a potential treatment for 2019-nCov (SARS-CoV-2) and other RNA viruses. *Cell Res*. 2020 03;30(3):189-90. doi:10.1038/s41422-020-0290-0
69. Spokoini-Stern R, Stamov D, Jessel H, Aharoni L, Haschke H, Giron J, et al. Visualizing the structure and motion of the long noncoding RNA HOTAIR. *RNA*. 2020 05;26(5):629-36. doi:10.1261/rna.074633.120
70. Imamura K, Imamachi N, Akizuki G, Kumakura M, Kawaguchi A, Nagata K, et al. Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspeckle mediates IL8 expression upon immune stimuli. *Mol Cell*. 2014 Feb 6;53(3):393-406. doi:10.1016/j.molcel.2014.01.009
71. Kambara H, Niazi F, Kostadinova L, Moonka DK, Siegel CT, Post AB, et al. Negative regulation of the interferon response by an interferon-induced long non-coding RNA. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(16):10668-80. doi:10.1093/nar/gku713
72. Gomez JA, Wapinski OL, Yang YW, Bureau JF, Gopinath S, Monack DM, et al. The NeST long ncRNA controls microbial susceptibility and epigenetic activation of the interferon- γ locus. *Cell*. 2013 Feb 14;152(4):743-54. doi:10.1016/j.cell.2013.01.015
73. Liu W, Ding C. Roles of LncRNAs in Viral Infections. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:205. doi:10.3389/fcimb.2017.00205
74. Wang Z, Zheng Y. lncRNAs Regulate Innate Immune Responses and Their Roles in Macrophage Polarization. *Mediators Inflamm*. 2018;2018:8050956. doi:10.1155/2018/8050956
75. Peng X, Gralinski L, Armour CD, Ferris MT, Thomas MJ, Proll S, et al. Unique signatures of long noncoding RNA expression in response to virus infection and altered innate immune signaling. *mBio*. 2010 Oct 26;1(5):e00206-10. doi:10.1128/mBio.00206-10
76. Bhattacharyya S, Vratil S. The Malat1 long noncoding RNA is upregulated by signalling through the PERK axis of unfolded protein response during flavivirus infection. *Sci Rep*. 2015 Dec 4;5:17794. doi:10.1038/srep17794
77. Wei L, Li J, Han Z, Chen Z, Zhang Q. Silencing of lncRNA MALAT1 Prevents Inflammatory Injury after Lung Transplant Ischemia-Reperfusion by Downregulation of IL-8 via p300. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2019 Dec 6;18:285-97. doi:10.1016/j.omtn.2019.05.009
78. Jin C, Peng X, Xie T, Lu X, Liu F, Wu H, et al. Detection of the long noncoding RNAs nuclear-enriched autosomal transcript 1 (NEAT1) and metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 in the peripheral blood of HIV-1-infected patients. *HIV Med*. 2016 Jan;17(1):68-72. doi:10.1111/hiv.12276
79. UniProt Consortium T. UniProt: the universal protein knowledgebase. *Nucleic Acids Res*. 2018 03 16;46(5):2699. doi:10.1093/nar/gky092
80. Carpenter S, Aiello D, Atianand MK, Ricci EP, Gandhi P, Hall LL, et al. A long noncoding RNA mediates both activation and repression of immune response genes. *Science*. 2013 Aug 16;341(6147):789-92. doi:10.1126/science.1240925
81. Nishitsuji H, Ujino S, Yoshio S, Sugiyama M, Mizokami M, Kanto T, et al. Long noncoding RNA #32 contributes to antiviral responses by controlling interferon-stimulated gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 09 13;113(37):10388-93. doi:10.1073/pnas.1525022113