



DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-4-0-2

УДК 616-006.44

# Частота, спектр и функциональное значение мутаций в гене *MIR-142* при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме

Е.Н. Воропаева<sup>1,2</sup> , О.Б. Серегина<sup>1</sup> , М.С. Войтко<sup>1</sup> , Т.Н. Бабаева<sup>1</sup> ,  
Н.В. Скворцова<sup>1</sup> , В.Н. Максимов<sup>1,2</sup> , Т.И. Поспелова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет», Красный проспект, д. 52, г. Новосибирск, 630091, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», ул. Б. Богаткова, д. 175/1, г. Новосибирск, 630089, Российская Федерация

Автор для переписки: Е.Н. Воропаева (vena.81@mail.ru)

## Резюме

**Актуальность:** *MIR-142* является единственным геном микроРНК человека, в котором при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ) с высокой частотой выявляются мутации. Ранние исследования нарушений в данном гене были основаны на анализе нескольких десятков биообразцов лимфомы и не уделяли внимания оценке функционального эффекта выявленных изменений. **Цель исследования:** Описать частоту и спектр мутаций в гене *MIR-142* на крупной выборке образцов опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ, а также провести анализ *in silico* их функционального значения. **Материалы и методы:** Проведено прямое секвенирование по Сенгеру гена *MIR-142* в 123 образцах ДНК, выделенной из срезов FFPE-блоков биоптатов опухолевых лимфоузлов пациентов с ДВККЛ. Предсказание *in silico* генов-мишеней для каждой из «ключевых» последовательностей микроРНК выполнено с помощью онлайн-инструмента miRDB. Для определения функции генов-мишеней микроРНК проведен анализ обогащения терминов генных онтологий молекулярных функций и биологических процессов с помощью PANTHER на базе биоинформационного ресурса Gene Ontology. Для предсказания вторичной структуры «шпильки» микроРНК и расчета ее минимальной свободной энергии (dG) использовался UNAFold web server. **Результаты:** Частота мутаций в группе исследования составила 16,7%, в трех случаях имели место множественные однонуклеотидные замены в последовательности *MIR-142*. Всего выявлено 24 типа однонуклеотидных замен, транзиции преобладали над трансверсиями. Анализ распределения мутаций по последовательности гена *MIR-142* показал, что лишь 15% было локализовано в «ключевых» областях, большая же часть — за ее пределами: в последовательности зрелых цепей (30%), предшественника (40%) или первичного транскрипта (10%) микроРНК. Анализ *in silico* влияния замен, расположенных в «ключевой» последовательности, на взаимодействия микроРНК-мРНК показал, что все три выявленные в группе исследования мутации приводят к существенному изменению набора регулируемых

генов. Наиболее выраженные изменения спектра регулируемых генов установлены для п.68G/A. Практически все описанные нами мутации в той или иной степени влияли на структуру и термостабильность микроРНК «шпильки». **Заключение:** Полученные данные свидетельствуют о существенном влиянии мутаций в «ключевой» последовательности на переключение генов-мишеней зрелых цепей изучаемой микроРНК. Необходимы дальнейшие функциональные исследования для подтверждения влияния предсказанных изменений термодинамической стабильности и вторичной структуры на биогенез зрелых цепей микроРНК.

**Ключевые слова:** диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; регуляция микроРНК; экспрессия генов; miR-142; мутационный профиль; высокопроизводительное секвенирование

**Для цитирования:** Воропаева ЕН, Серегина ОБ, Войтко МС, и др. Частота, спектр и функциональное значение мутаций в гене *MIR-142* при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме. Научные результаты биомедицинских исследований. 2025;11(4):607-627. DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-4-0-2

## Frequency, spectrum, and functional significance of mutations in the *MIR-142* gene in diffuse large B-cell lymphoma

Elena N. Voropaeva<sup>1,2</sup> , Olga B. Seregina<sup>1</sup> , Maria S. Voytko<sup>1</sup> ,  
Tatiana N. Babaeva<sup>1</sup> , Natalia V. Skvortsova<sup>1</sup> , Vladimir N. Maksimov<sup>1,2</sup> ,  
Tatiana I. Pospelova<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Novosibirsk State Medical University,  
52 Krasny Ave., Novosibirsk, 630091, Russia

<sup>2</sup> Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences,  
175/1 B. Bogatkova St., Novosibirsk, 630089, Russia

Corresponding author: Elena N. Voropaeva (vena.81@mail.ru)

### Abstract

**Background:** *MIR-142* is the only human microRNA gene that is highly mutated in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Early studies of abnormalities in this gene were based on the analysis of several lymphoma biospecimens and did not focus on assessing the functional effect of the detected changes. **The aim of the study:** To describe the frequency and spectrum of mutations in the *MIR-142* gene in a large sample of tumor tissue samples from patients with DLBCL, as well as to analyze their functional significance *in silico*. **Materials and methods:** Direct Sanger sequencing of the *MIR-142* gene was performed in 123 DNA samples isolated from sections of FFPE blocks from biopsies of tumor lymph nodes in patients with DLBCL. In silico prediction of target genes for each of the "seed" microRNA sequences was performed using the miRDB online tool. To determine the function of microRNA target genes, an analysis of the enrichment of terms of gene ontologies of molecular functions and biological processes using PANTHER based on the bioinformatics resource Gene Ontology was carried out. To predict the secondary structure of the microRNA hairpin and calculate its minimum free energy (dG), we used UNAFold web server. **Results:** The mutation rate in the study group was 16.7%, and in three cases there were multiple single-nucleotide substitutions in the *MIR-142* sequence. A total of 24 types of single nucleotide substitutions were identified, with transitions

prevailing over transversions. An analysis of the distribution of mutations in the sequence of the *MIR-142* gene showed that only 15% were localized in "key" regions, while the majority were located outside it: in the sequence of mature strands (30%), the precursor (40%) or the primary transcript (10%) of microRNAs. An *in silico* analysis of the effect of substitutions located in the "seed" sequence on microRNA-mRNA interactions showed that all three mutations identified in the study group lead to a significant change in the set of regulated genes. The most pronounced changes in the spectrum of regulated genes were found for n.68G/A. Almost all of the mutations we described affected the structure and thermal stability of the hairpin microRNAs to one degree or another. **Conclusion:** The data obtained indicate a significant effect of mutations in the "seed" sequence on the switching of target genes in the mature strands of the microRNA under study. Further functional studies needed to confirm the effect of the predicted changes in thermodynamic stability and secondary structure on the biogenesis of mature microRNA strands.

**Keywords:** diffuse large B-cell lymphoma; microRNA regulation; gene expression; miR-142; mutation profile; high-throughput sequencing

**For citation:** Voropaeva EN, Seregina OB, Voytko MS, et al. Frequency, spectrum, and functional significance of mutations in the *MIR-142* gene in diffuse large B-cell cell lymphoma. Research Results in Biomedicine. 2025;11(4):607-627. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-4-0-2

**Введение.** Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (ДВККЛ) относится к группе орфанных лимфопролиферативных новообразований и представляет собой агрессивную опухоль. На ее долю приходится до 60% В-клеточных и 40% всех случаев неходжкинских злокачественных лимфом. Последние десятилетия в Российской Федерации и в мире в целом наблюдается неуклонный рост заболеваемости ДВККЛ. Несмотря на внедрение в протоколы ведения пациентов с данным вариантом опухоли инновационных таргетных терапевтических опций, первичная резистентность к лечению или рецидивы заболевания констатируются у 30-40% пациентов, что связано с крайне неблагоприятным прогнозом для жизни. Все это обуславливает необходимость исследований, направленных на более глубокое понимание механизмов лимфомагенеза и молекулярной гетерогенности ДВККЛ [1].

Анализ данных полученных в рамках крупных проектов по изучению опухолевых геномов, позволил идентифицировать тысячи мутаций в генах, кодирующих белки и ассоциированных со злокачественной трансформацией [2]. В том числе, в последние годы

исследователями приложены большие усилия по характеристике генома и транскриптома ДВККЛ, включая анализ на уровне отдельных клеток [3]. Полученные данные позволили описать молекулярно-генетически различные подтипы заболевания и разработать новые прогностические модели, основанные на мутационном ландшафте [4-10], картине экспрессии генов в опухоли [11, 12, 13] или характеристике ее микроокружения [14, 15].

Вместе с тем современные знания об изменениях в нуклеотидной последовательности генома вне локусов расположения белок-кодирующих генов, составляющих около 2% от всего генома человека, в частности, в областях, которые несут информацию о некодирующих РНК, все еще ограничены. При этом некодирующие РНК, в частности, микроРНК регулируют экспрессию белок-кодирующих генов на посттранскрипционном уровне, выступают в качестве онкомиров или онкосупрессоров и считаются важными участниками онкогенеза при ДВККЛ [16, 17].

Анализ Urbanek-Trzeciak M.O. et al. (2020) крупных наборов данных секвенирования, полученных в рамках проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA),

позволил выявить и охарактеризовали более 10 000 мутаций в генах микроРНК при 33 типах новообразований [18], каждая из которых потенциально может влиять на процессинг или функционирование кодируемых ими молекул [19].

Биогенез микроРНК является сложным процессом и включает в себя два основных этапа. На первом из них длинный первичный транскрипт микроРНК (pri-miRNA), транскрибируемый из гена микроРНК, расщепляется ферментным комплексом Drosha/DGCR8 с образованием молекулы-предшественницы – пре-микроРНК (pre-miRNA). Далее пре-микроРНК подвергается вторичному расщеплению ферментом Dicer, что приводит к высвобождению дуплекса микроРНК. В последующем одна зрелая нить этого дуплекса, называемая направляющей, включается в эффекторный РНК-индуцированный сайленсинг-комплекс (RISC) вместе с белком Argonaute. RISC оказывает свое влияние на мРНК генов посредством комплементарного связывания последовательностей микроРНК и мРНК, что приводит к подавлению трансляции или деградации мРНК, и, следовательно, нарушению синтеза белка [17, 20].

Одним из важных результатов работы с данными проекта TCGA стал тот факт, что *MIR-142*, кодирующий зрелые функционально активные цепи miR-142-3p и miR-142-5p, является единственным геном микроРНК человека, который рекуррентно мутирует при гемобластозах: остром миелоидном лейкозе, хроническом лимфолейкозе и различных типах В-клеточных лимфом [18]. Вместе с тем, все проведенные в настоящее время исследования мутаций в данном гене основаны на анализе нескольких десятков биообразцов опухолей. При этом в работах практически не уделено внимания оценке функционального эффекта выявленных изменений.

**Цель исследования.** Цель настоящего исследования заключалась в описании частоты и спектра мутаций в гене

*MIR-142* на крупной выборке образцов опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ, а также анализе *in silico* их функционального значения.

**Материал и методы исследования.** Были проанализированы 125 образцов ДНК, выделенной из срезов FFPE-блоков (фиксированных формалином, залитых парафином) биоптатов опухолевых лимфоузлов пациентов с ДВККЛ, диагностированных в Городском гематологическом центре г. Новосибирска в период с 2007 по 2022 гг. Исследование было одобрено Комитетом по биоэтике Новосибирского государственного медицинского университета и проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией. От всех пациентов, включенных в это исследование, было получено добровольное информированное согласие.

Ген *MIR-142* амплифицировали описанным ранее методом [21] с использованием следующих праймеров: 5'-CTCACCTGTCACACGAGGTC-3' и 5'-CTCTTGAGCAGGAGGTCAGG-3'. Получали продукт длиной 231 п.н., включающий всю последовательность первичного транскрипта miR-142 вместе с фланкирующими областями длиной около 25 н.п. Продукты ПЦР очищали с использованием микроколонок с Sephadex™ G-50 medium и секвенировали по Сэнгеру с использованием BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и полимера POP-7 (Applied Biosystems, США) на генетическом анализаторе ABI 3500 (Applied Biosystems, США). Полученные хроматограммы были проанализированы с применением программного обеспечения Chromas. Все мутации были обозначены в соответствии с нумерацией нуклеотидов в первичном транскрипте микроРНК.

Предсказание *in silico* генов-мишеней для каждой из «ключевых» последовательностей микроРНК было выполнено с помощью специального онлайн-инструмента miRDB [22]. Для построения диаграмм Венна был

использован электронный ресурс <https://www.semestr.online/graph/venn.php#vennhand> [23]. Для определения функции генов-мишеней микроРНК был проведен анализ обогащения терминов генных онтологий (GOenrichmentAnalysis) молекулярных функций и биологических процессов с помощью PANTHER [24] на базе биоинформационного ресурса Gene Ontology (GO; <http://www.geneontology.org>) [25]. Результаты со значением  $p < 0,05$  после поправки на множественную проверку гипотез (FDR – False Discovery Rate)

считались статистически значимыми. Для предсказания вторичной структуры «шпильки» микроРНК и расчета ее минимальной свободной энергии (dG) использовался UNAFold web server [26].

**Результаты исследования.** В исследованной группе образцов опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ в 21/125 (16,8%) случаев были выявлены однонуклеотидные замены в *MIR-142* в гетерозиготном состоянии. Всего 26 вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) (Табл. 1).

Таблица 1

**Характеристика мутаций в *MIR-142*, выявленных в группе исследования, где dG – минимальная свободная энергия**

Table 1

**Characteristics of mutations in *MIR-142* identified in the study group, where dG is the minimum free energy**

| Образец | Мутация pri-miR-142 |            | Локализация                               | dG, ккал/моль |
|---------|---------------------|------------|-------------------------------------------|---------------|
|         | ДНК                 | РНК        |                                           |               |
| Норма   | -                   | -          | -                                         | -44,9         |
| 1       | n.33T/A             | n.33U/A    | miR-142-5p, «ключевая» последовательность | -40,3         |
| 2       | n.13C/T             | n.13C/U    | pre-miR-142                               | -35,6         |
|         | n.68G/A             | n.68G/A    | miR-142-3p, «ключевая» последовательность |               |
| 3       | n.69T/C             | n.69U/C    | miR-142-3p, «ключевая» последовательность | -47,3         |
| 4       | n.35G/A             | n.35G/A    | miR-142-5p                                | -41,7         |
|         | n.39G/A             | n.39G/A    | miR-142-5p                                |               |
|         | n.52C/T             | n.52C/U    | pre-miR-142                               |               |
| 5       | n.45C/T             | n.45C/U    | miR-142-5p                                | -43,8         |
| 6       | n.40C/G             | n.40C/G    | miR-142-5p                                | -40,7         |
| 7       | n.40C/T             | n.40C/U    | miR-142-5p                                | -40,0         |
| 8       | n.83G/T             | n.83G/U    | miR-142-3p                                | -42,1         |
| 9       | n.80A/C             | n.80A/C    | miR-142-3p                                | -40,8         |
| 10      | n.95G/A             | n.95G/A    | pre-miR-142                               | -41,6         |
| 11      | n.57G/C             | n.57G/C    | pre-miR-142                               | -44,9         |
| 12      | n.53A/G             | n.53A/G    | pre-miR-142                               | -44,9         |
| 13      | n.93C/G             | n.93C/G    | pre-miR-142                               | -41,0         |
| 14      | n.92A/T             | n.92A/U    | pre-miR-142                               | -40,7         |
| 15      | n.93C/T             | n.93C/U    | pre-miR-142                               | -42,6         |
| 16      | n.85T/C             | n.85U/C    | pre-miR-142, сайт распознавания DROSHA    | -42,8         |
| 17      | n.23A/T             | n.23A/U    | pre-miR-142, сайт распознавания DROSHA    | -41,1         |
|         | n.25C/T             | n.25C/U    | pre-miR-142, сайт распознавания DROSHA    |               |
| 18      | n.5C/T              | n.5C/U     | pri-miR-142                               | -44,9         |
| 19      | n.100C/T            | n.100C/U   | pri-miR-142                               | -47,8         |
| 20      | n.109+4G/A          | n.109+4G/A | pri-miR-142+4b.p.                         | -             |
| 21      | n.8A/C              | n.8A/C     | pri-miR-142                               | -50,2         |
|         | n.1-18C/T           | n.1-18C/U  | pri-miR-142-18b.p.                        | -             |



Отметим, что в 3-х случаях имели место одновременно две находки (n.13C/T в сочетании с n.68G/A, а также n.23A/T в сочетании с n.25C/T и n.8A/C в сочетании с n.1-18C/T, в 1-м случае – три мутации в

*MIR-142* (n.35G/A, n.39G/A и n.52C/T) в образце (Рис. 1).

Две трети (17/26, 65,4%) ВНП составили транзиции, тогда как одну треть – трансверсии (9/26, 34,6%) (Рис. 2).

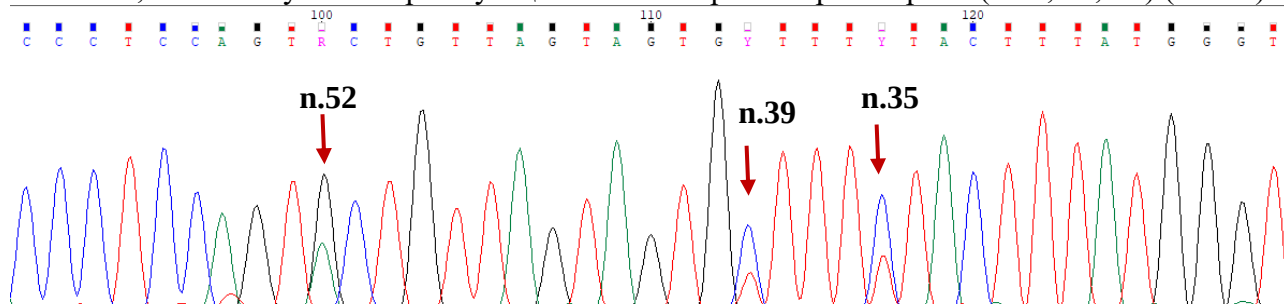


Рис. 1. Фрагмент хроматограммы сиквенса образца ДНК, содержащего три мутации в гене *MIR-142* n.35G/A, n.39G/A и n.52C/T (получен с применением обратного праймера)

Fig. 1. Fragment of the sequence chromatogram of a DNA sample containing three mutations in the *MIR-142* gene n.35G/A, n.39G/A and n.52C/T (obtained using a reverse primer)

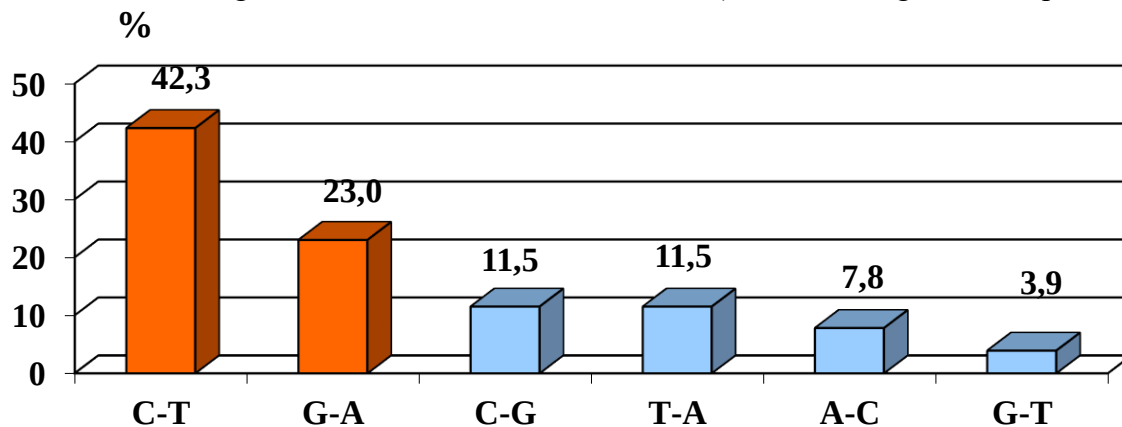


Рис. 2. Информация о частоте (%) типов ВНП в гене *MIR-142*, идентифицированных в группе исследования: оранжевым цветом обозначены транзиции, голубым – трансверсии

Fig. 2. Information on the frequency (%) of SNVs types in the *MIR-142* gene identified in the study group: orange indicates transitions, blue – transversions

Анализ типов замен показал, что наиболее распространенными были транзиции между С и Т (42,3%), а также G и А (23,0%). Среди трансверсий замены между С и G, а также Т и А составили по 11,5%, еще 7,8% составили замены между А и С и 3,9% - между G и Т.

Анализ распределения ВНП по последовательности гена показал, что только 3-и из них (11,5%) были локализованы в «ключевых» последовательностях miR-142-5p и miR-142-3p (1 и 2 случая, соответственно), тогда как 7 (26,9%) – в других участках последовательности зрелых микроРНК вне

сайтов связывания с мРНК-мишенями (4 и 2 случая, соответственно). Одиннадцать (42,3%) ВНП были локализованы в последовательности pre-miR-142 вне участков, кодирующих зрелые цепи, в том числе 3-и – в сайте распознавания DROSHA. Еще три (11,5%) ВНП – в последовательности pri-miR-142 за пределами участков, кодирующих микроРНК-предшественника. В двух случаях (7,8%), выявлены однонуклеотидные замены в непосредственной близости к 5'- и 3'-концам pri-miR-142 (Рис. 3).

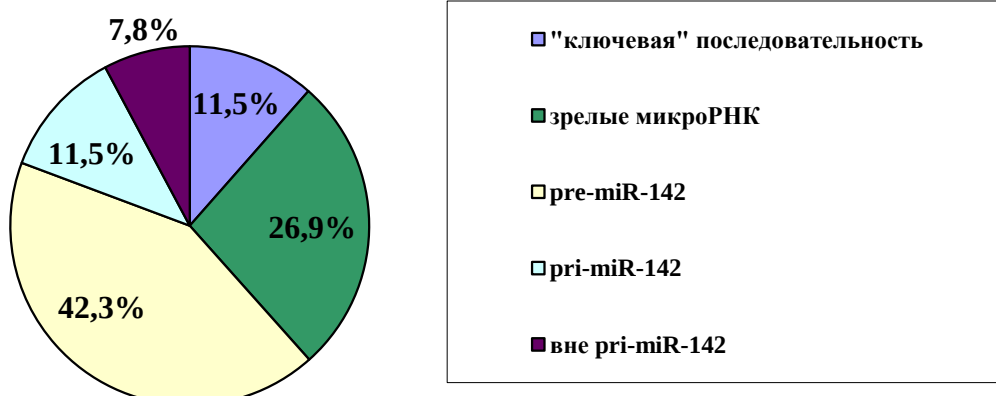


Рис. 3. Данные о количестве ВНП, идентифицированных в различных участках гена *MIR-142*  
Fig. 3. Data on the number of SNVs identified in various regions of the *MIR-142* gene

Учитывая, что три из выявленных ВНП затрагивали «ключевые» последовательности зрелых цепей микроРНК, была проведена идентификация наборов генов-мишеней с помощью сервиса miRDB [22]. Прогнозирование проводилось для «ключевых» последовательностей miR-142-5p и miR-142-3p в норме и для каждого из мутантных вариантов.

Анализ выявил значительное изменение профиля предсказанных взаимодействий микроРНК-мишень (Рис. 4). В случае п.33U/A ключевой последовательности miR-142-5p имело место увеличение (с 1133 до 1328), тогда

как в случае п.68G/A и п.69U/C ключевой последовательности miR-142-3p – уменьшение (с 418 до 312 и с 418 до 406, соответственно) числа потенциальных мишеней. При этом наблюдалось значительное изменение спектра взаимодействия, особенно выраженное для п.68G/A miR-142-3p. Согласно биоинформатическому предсказанию, при данной мутации сохраняется контроль лишь над 18/418 (4,3%) канонических мРНК мишеней, что значительно меньше, чем при п.69U/C miR-142-3p (145/418, 34,7%) и п.33U/A miR-142-5p (456/1133, 40,2%).

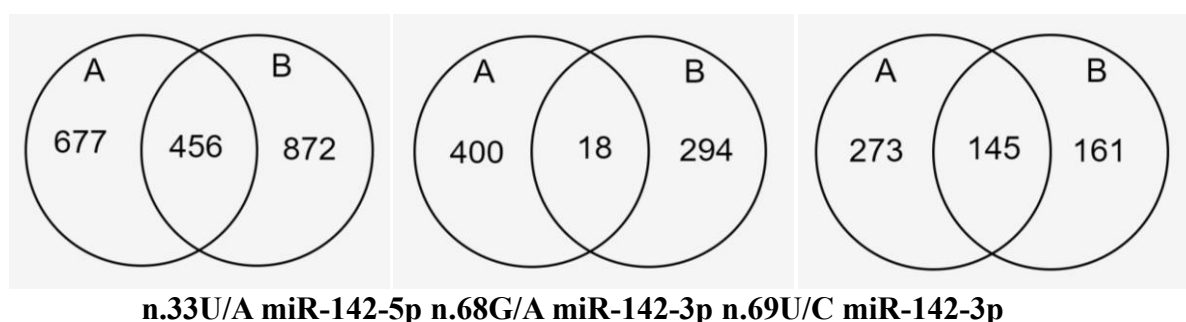
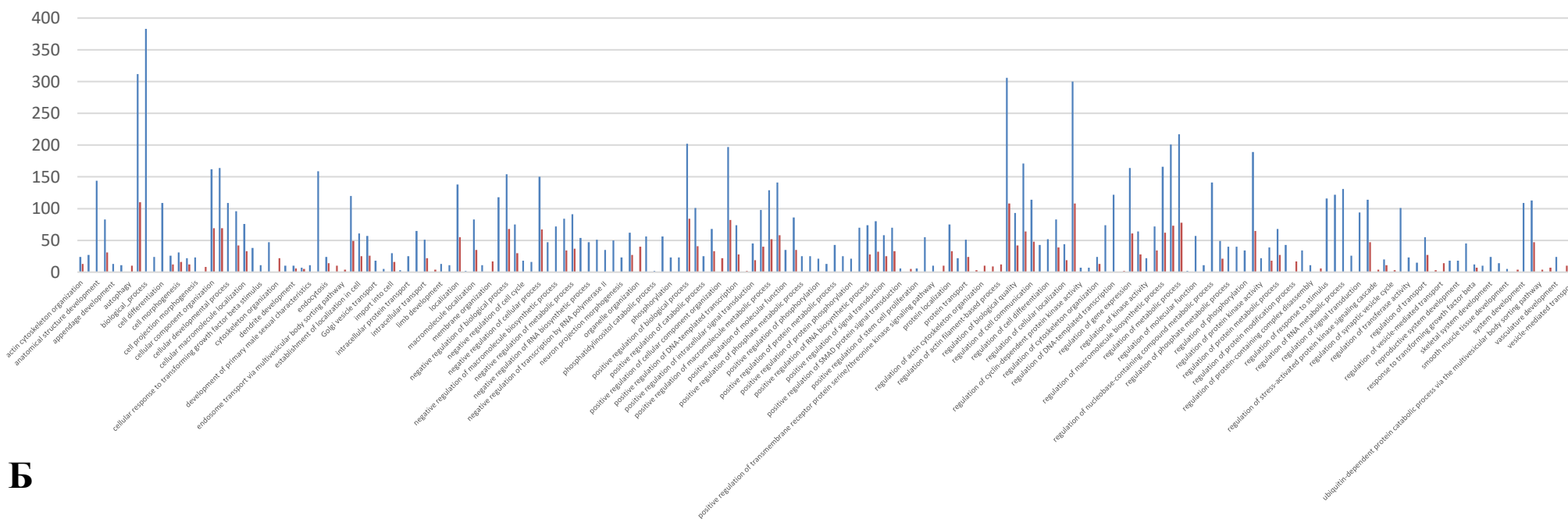
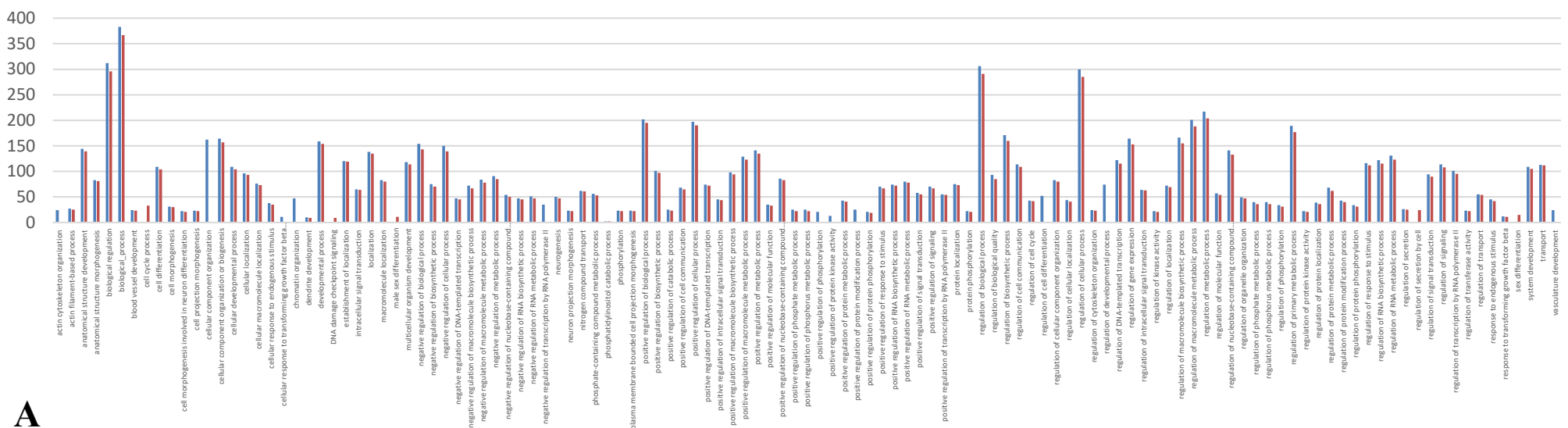


Рис. 4. Диаграммы Венна изменения спектра мишеней, предсказанных для микроРНК в норме (область круга А) и при изменении «ключевых» последовательностей в результате мутаций (область круга В), число общих мишеней указано в области пересечения двух кругов

Fig. 4. Venn diagrams of changes in the target spectrum predicted for microRNAs in normal conditions (area of circle A) and with changes in "key" sequences as a result of mutations (area of circle B), the number of common targets is indicated in the area of intersection of the two circles





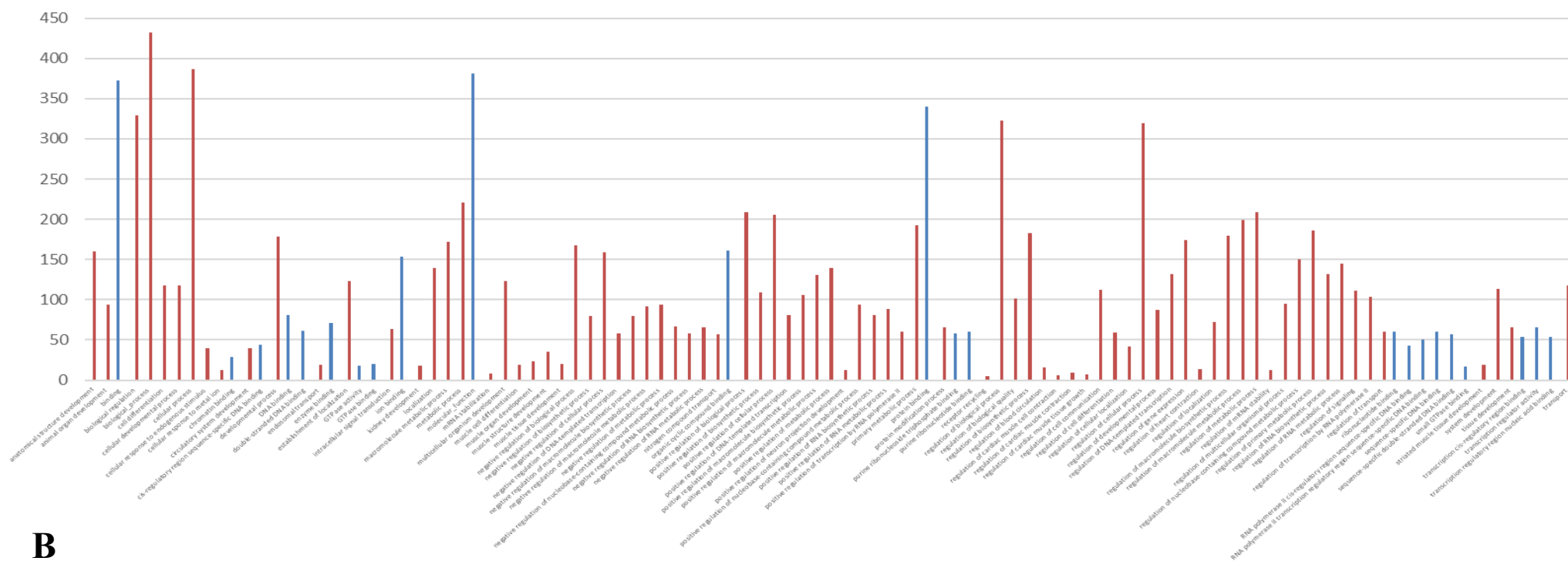


Рис. 5. Статистически значимые ( $p<0,05$ ) результаты обогащения терминов генных онтологий биологических процессов для списков генов-мишеней микроРНК (А) miR-142-3p в норме (синие столбцы) и n.68G/A miR-142-3p (оранжевые столбцы); (Б) miR-142-3p в норме (синие столбцы) и n.69U/C miR-142-3p (оранжевые столбцы); (В) miR-142-5p в норме (синие столбцы) и n.33 U/A miR-142-3p (оранжевые столбцы)

Fig. 5. Statistically significant ( $p<0.05$ ) results of enriching the terms of gene ontologies of biological processes for lists of microRNA target genes (A) miR-142-3p in normal (blue bars) and n.68G/A miR-142-3p (orange bars); (B) miR-142-3p is normal (blue bars) and n.69U/C miR-142-3p (orange bars); (C) miR-142-5p is normal (blue bars) and n.33 U/A miR-142-3p (orange bars)

# Число случаев

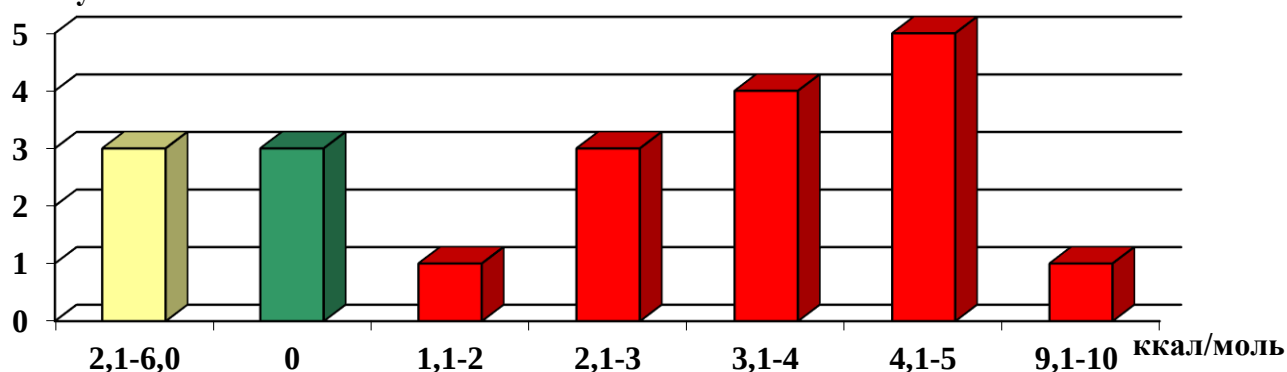


Рис. 6. Распределение изменений минимальной свободной энергии ( $|\Delta dG|$ , ккал/моль) вторичной структуры pri-miR-142, индуцированных вариантами нуклеотидной последовательности: желтые столбцы обозначают увеличение, зеленые – отсутствие изменений, в то время как красные – уменьшение минимальной свободной энергии

Fig. 6. Distribution of changes in the minimum free energy ( $|\Delta dG|$ , kcal/mol) of the secondary structure of pri-miR-142 induced by variants of the nucleotide sequence: yellow columns indicate an increase, green – no changes, while red – a decrease in the minimum free energy

На следующем этапе был проведен анализ обогащения терминов генных онтологий для каждого набора генов-мишеней (референсного и измененного в результате каждой из мутаций). Анализ выявил статистически значимое ( $p < 0,05$ ) обогащение различных наборов терминов генных онтологий для miR-142-3p в норме и при п.68G/A или п.69U/C, а также для miR-142-5p в норме и при п.33U/A (Рис. 5).

Чтобы оценить влияние выявленных замен на вторичную структуру «шпильки» и ее термодинамическую стабильность, использовался UNAFold web server [26]. Сначала была проанализирована вторичная

структура pri-miR-142 в норме, далее каждого из 19 мутантных вариантов ее последовательности. Показано, что в 17/19 (89,5%) случаев ВМП приводили к ненулевому изменению минимальной свободной энергии ( $|\Delta dG|$ ) в диапазоне от 1,1 до 9,3 ккал/моль (Рис. 6). Только три из них приводили к приросту минимальной свободной энергии, а, следовательно, повышению термодинамической стабильности «шпильки», тогда как остальные – к их снижению. Более того, практически все ВМП влияли на структуру «шпильки». Примеры представлены на рисунке 7.

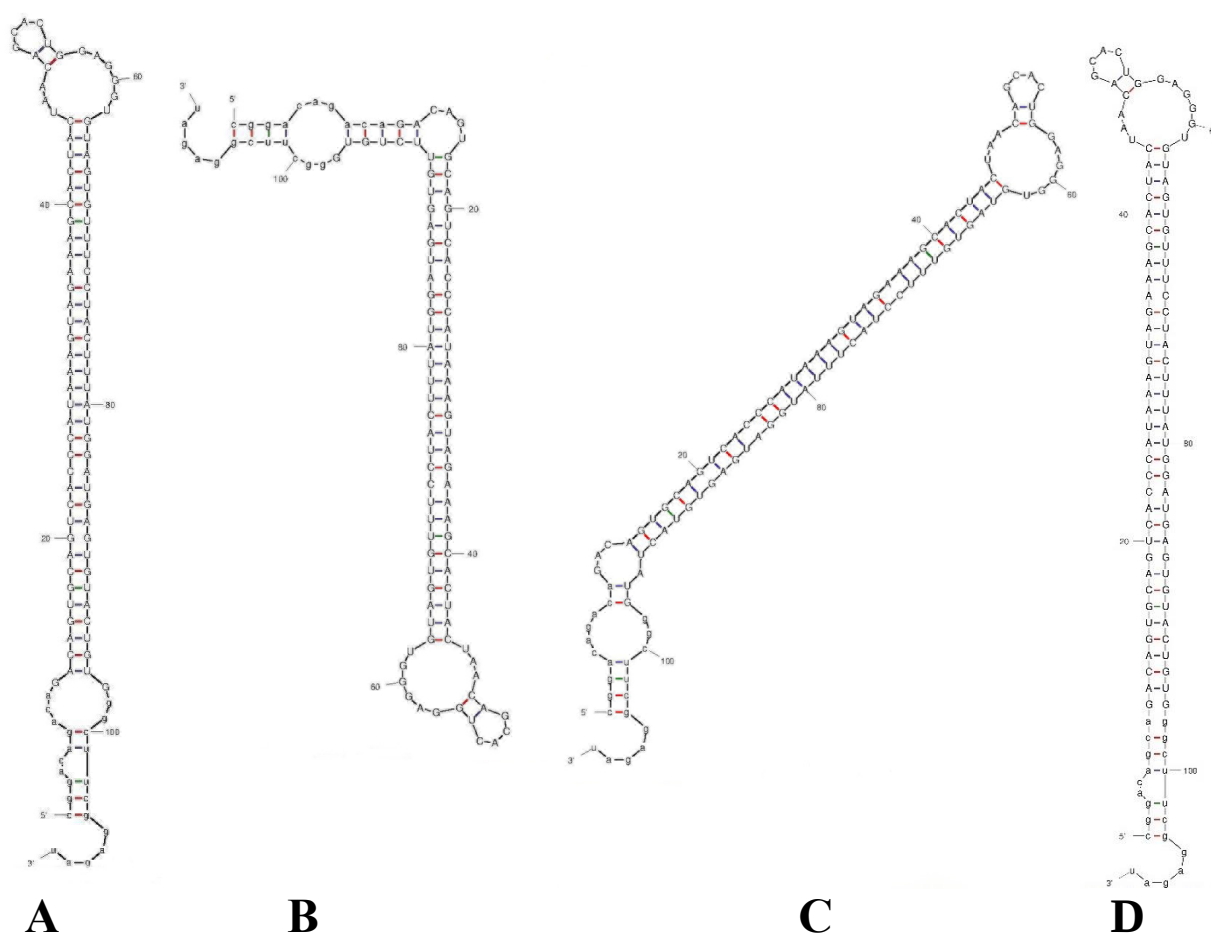


Рис. 7. Графическая визуализация влияния ВНП на вторичную структуру «шпильки» микроРНК: норма (А), в случае n.92A/U pre-miR-142 (В), n.95G/A pre-miR-142 (С) и n.8A/C pri-miR-142 (D)

Fig. 7. Graphical visualization of the effect of SNPs on the secondary structure of the microRNA hairpin: norm (A), in the case of n.92A/U pre-miR-142 (B), n.95G/A pre-miR-142 (C) and n.8A/C pri-miR-142 (D)

**Обсуждение.** Мутации в гене *MIR-142* описаны в единичных случаях фолликулярной лимфомы [27, 28, 29], хронического лимфоидного лейкоза [30], а также острого миелоидного лейкоза и миелодиспластического синдрома [31, 32], но наиболее часто выявляются при ДВККЛ [33]. В данном исследовании подробно охарактеризована частота и спектр ВНП в гене *MIR-142* в опухолевой лимфоидной ткани крупной выборки пациентов с ДВККЛ (123 человека) и провели анализ *in silico* их функционального эффекта.

Частота мутаций в группе исследования составила 16,8%, что укладывается в описанный в литературе диапазон – от 12 до 20% [27, 34, 35, 36], при

этом в четырех случаях имели место множественные однонуклеотидные замены в последовательности *MIR-142*, что косвенно свидетельствует о возможности феномена катаэггиса при ДВККЛ в области расположения данного гена [37]. Под катаэггисом понимают явление гипермутаций, наблюдающееся при ряде злокачественных новообразований и характеризующееся локализованными кластерами однонуклеотидных замен – шесть или более в пределах тысячи п.н. [38].

Всего было выявлено 26 типов однонуклеотидных замен, широко разбросанных по последовательности гена, что отличает ДВККЛ от других типов

гемобластозов. Так, согласно данным литературы, все известные в настоящее время ВНП в данном гене при остром миелоидном лейкозе и миелодиспластическом синдроме описаны только в «ключевой» области зрелой цепи miR-142-3p, ответственной за связывание генов-мишеней [31, 32, 39-41], как и единственная описанная в настоящее время мутация в *MIR-142* при лимфоме Беркитта [18]. При фолликулярной лимфоме верифицированные ВНП затрагивают последовательность miR-142-3p [27, 28], а при хроническом лимфолейкозе – в большинстве случаев локализованы в miR-142-5p [21, 29, 30, 39].

Полученные данные позволяют утверждать, что в опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ в гене *MIR-142* транзиции преобладают над трансверсиями. Среди ВНП транзиции пиримидиновых оснований С-Т составили 42,3%, далее по частоте следовали транзиции пуриновых оснований А-Г (23,0%). Трансверсии (замена пиримидинового основания на пуриновое, либо наоборот) суммарно составили лишь треть (34,7%) находок, что согласуется с данными по спектру однонуклеотидных замен в других генах при новообразованиях человека [42, 43]. Причинами данного явления считают, как более частое возникновение транзиций при работе ДНК-полимераз в клетках, так и их селекцию в ходе опухолевой прогрессии [44].

Анализ распределения ВНП в гене *MIR-142* показал, что лишь небольшое их количество (11,5%) было локализовано в «ключевых» областях, большая же часть – за ее пределами: в последовательности зрелых цепей (26,9%), предшественника (42,3%) или первичного транскрипта (11,5%) микроРНК, что аналогично данным исследований других генов микроРНК. В двух случаях (7,8%), выявлены однонуклеотидные замены в непосредственной близости к 5'- и 3'-концам pri-miR-142. Наблюдающееся увеличение частоты ВНП в генах, кодирующих микроРНК, в направлении от

«ключевой» области и зрелых последовательностей к последовательности микроРНК-предшественника, как полагают, связано с явлениями отбора в опухоли функционально-значимых замен [20]. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что предшественник микроРНК-шпильки имеет довольно «хрупкую» структуру, и самые различные ВНП способны нарушать реализацию функции кодируемой микроРНК за счет изменения трехмерной организации предшественника.

В этой связи нами выполнялся биоинформатический анализ эффекта идентифицированных однонуклеотидных замен на переключение генов-мишеней, а также стабильность и вторичную структуру «шпильки» микроРНК. По данным базы miRDB канонический вариант miR-142-3p потенциально нацелен на 418, тогда как miR-142-5p – на 1133 мРНК-мишеней [22]. Анализ *in silico* влияния ВНП, расположенных в «ключевой» последовательности, на взаимодействия микроРНК-мРНК показал, что все три выявленные в группе исследования замены приводят к существенному изменению набора регулируемых генов. В случае p.33U/A 456 (40,2%) генов-мишеней оставались общими с канонической зрелой miR-142-5p, в то время как 677 (59,8%) были утрачены, а еще 872 приобретены. Аналогичная тенденции наблюдалась для p.69U/C: 145 (34,7%) общих с miR-142-3p в норме, утрата 273 (65,3%) и приобретение 161 новых генов-мишеней. Наиболее же выраженные изменения спектра регулируемых генов установлены для p.68G/A, при которой, согласно предсказанию сервиса miRDB, сохраняется контроль лишь над 18 (4,3%) каноническими мРНК мишенями miR-142-3p, тогда как 273 (65,7%) и 161 мишень утрачиваются и приобретаются, соответственно.

Чтобы выяснить, могут ли такие изменения в спектре генов-мишеней иметь дальнейшие последствия, влиять на биологические пути и, как следствие, на

функционирование клеток, был проведен анализ обогащения терминов генных онтологий для полученных списков генов. Показано, что изменения в наборах генов-мишеней микроРНК в результате выявленных в группе исследования однонуклеотидных замен в областях «ключевых» последовательностей зрелых цепей miR-142 нашли свое отражение в генных онтологиях биологических процессов. Для всех трех мутаций идентифицированы отличные число и наборы терминов генных онтологий по сравнению с референсными микроРНК. Общая тенденция заключается в следующем. Несмотря на то, что для ВНП «ключевой» области miR-142-3p многие термины генных онтологий были общими с референсной последовательностью, в случае мутации количество задействованных генов-мишеней в одном и том же процессе для п.68G/A было несколько ниже, а для п.69U/C существенно ниже по сравнению с соответствующей нормальной зрелой цепью микроРНК. Важно отметить, что недавнее функциональное исследование п.69U/C и п.68G/A показало, что, несмотря на локализацию в miR-142-3p, обе они приводят к снижению уровня как miR-142-3p, так и miR-142-5p [18].

Среди факторов, на которые влияла п.68G/A, были жизненно важные клеточные процессы, связанные с клеточным ответом на стимул трансформирующего фактора роста  $\beta$ , организацией хроматина, регуляцией транскрипции РНК-полимеразой II, активности протеинкиназ, дифференцировки клеток, клеточного цикла, контрольной точки повреждения ДНК, а также развитие сосудистой сети.

В случае п.69U/C наиболее значимыми были генные онтологии, связанные с дифференцировкой клеток, клеточным ответом на стимул трансформирующего фактора роста-бета, организацией хроматина, внутриклеточной сигнальной трансдукцией, регуляцией метаболизма, клеточного цикла, транскрипции, процесса биосинтеза ДНК,

макромолекул и соединений, аутофагии, трансмембранной передачи сигнала, убиквитин-зависимого катаболизма белков, системным развитием сосудистой сети, распространением клеток, зависящим от адгезии.

Тогда как для п.33U/A «ключевой» области miR-142-5p в сравнении с референсной последовательностью наблюдалось кардинальное изменение картины обогащения терминов генных онтологий биологических процессов регуляции дифференцировки клеток, клеточного ответа на эндогенный стимул, внутриклеточной передачи сигналов, транскрипции, стабильности мРНК, биосинтеза и метаболизма макромолекул и клеточного роста.

Вместе с тем конкретный перечень генов, регулируемых каждым из мутантных вариантов, являются предсказанными и, безусловно, нуждаются в дальнейшей экспериментальной проверке. Так, например, описаны случаи, когда изменения в «ключевой» последовательности микроРНК не приводили к полной утрате контроля над мишенью: даже в случае неточных взаимодействий сохранялась та или иная степень репрессивной активности [45]. С другой стороны, установлена возможность связывания микроРНК с 5'-НТП мРНК или взаимодействия между 3'-НТП мРНК и микроРНК вне «ключевой» последовательности, что не учитывается в ходе анализа *in silico* [46].

Следует отметить также, что мутации во всех трех положениях гена *MIR-142* были описаны ранее при гемобластозах [39]. ВНП в положении п.69 по данным работ других авторов являются наиболее частыми, в основном представлены заменой U/C и зарегистрированы при ДВККЛ, фолликулярной лимфоме и хроническом лимфоидном лейкозе. Замена п.68G/A также уже регистрировалась при ДВККЛ, тогда как при ОМЛ ВНП в данном положении были представлены другой заменой – G/C. В позиции п.33 ранее при фолликулярной лимфоме была описана



отличная от выявленной нами замены U/A замена U/C.

Большинство ВВП, идентифицированных в данном исследовании, расположены за пределами «ключевой» области, следовательно, они не оказывают прямого влияния на выбор гена-мишени микроРНК. В литературе имеются данные о том, что ВВП, расположенные в последовательности предшественника микроРНК, оказывают существенное влияние функционирование микроРНК, начиная с ядерного и цитоплазматического этапов созревания и заканчивая термодинамической стабильностью, формированием вторичной структуры, отбором цепей, включаемых в RISC, что в конечном итоге отражается на уровне их экспрессии [47].

Три из ВВП, выявленных нами, затрагивали сайт распознавания DROSHA. Их прямым функциональным эффектом может быть нарушение созревания pri-miR-142 до pre-miR-142. Однако, все без исключения выявленные замены потенциально могут влиять на вторичную структуру предшественников микроРНК и оказывать существенное влияние на биогенез зрелых цепей [45].

С применением UNAFold web server нами были определены наиболее стабильная (в термодинамическом равновесии) вторичная конформация «шпильки» микроРНК и ее минимальная свободная энергия (dG), которые зависят от таких факторов как длина молекулы, состав нуклеотидов, а также последовательность их расположения в цепочке. Минимальная свободная энергия может быть рассчитана путем сложения свободных энергий компонентов: взаимодействующих комплементарно пар оснований, выпуклостей и петель. При этом в ряду микроРНК одинакового размера наиболее структурированной и стабильной считается та, которая имеет наибольшее отрицательное значение минимальной свободной энергии [48].

Анализ показал, что в 89,5% случаев, выявленные в группе исследования ВВП приводили к изменению минимальной

свободной энергии в диапазоне от 1,1 до 9,3 ккал/моль. Практически все они приводили к снижению минимальной свободной энергии, а, следовательно, уменьшению стабильности «шпильки». Еще три не сопровождались какими-либо сдвигами и, возможно, не влияют на стабильность микроРНК. Тогда как еще три замены (упомянутая ранее п.69T/C, а также п.8A/C и п.100C/T), согласно предсказанию UNAFold web server, могут стабилизировать вторичную структуру молекулы. Стоит отметить, что Gong J. et al. обобщили имеющиеся исследования в этой области и установили, что изменения минимальной свободной энергии более, чем на 2,0 ккал/моль существенно влияют на выработку зрелой микроРНК [49], но даже изменения ниже этого порога могут изменять их биогенез [50]. Также практически все описанные нами ВВП, за исключением трех, в той или иной степени, иногда существенно влияли на структуру микроРНК «шпильки».

**Заключение.** Частота мутаций в гене *MIR-142* в группе исследования составила 16,8%. При этом в каждом пятом случае имели место множественные однонуклеотидные замены, что косвенно свидетельствует о возможности феномена катаэггиса при ДВККЛ в области расположения данного гена. В целом полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии ВВП в «ключевых» последовательностях на переключение генов-мишеней зрелых цепей изучаемой микроРНК, тогда как самые различные ВВП способны нарушать трехмерную организацию «шпильки» микроРНК предшественника. Необходимы дальнейшие функциональные исследования для подтверждения влияния предсказанных изменений термодинамической стабильности и вторичной структуры на биогенез зрелых цепей микроРНК.

#### Информация о финансировании

Работа выполнена за счет средств гранта Российского Научного Фонда № 25-25-00068.

## Financial support

*The work was funded by the Russian Science Foundation Grant No. 25-25-00068.*

## Конфликт интересов

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

## Conflict of interests

*The authors have no conflict of interest to declare.*

## Список литературы

1. Поддубная ИВ, Бабичева ЛГ, Барях ЕА. Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома: штрихи к эпидемиологическому портрету. Современная Онкология. 2023;25(3):342-345. DOI: <https://doi.org/10.26442/18151434.2024.2.202798>
2. Heath AP, Ferretti V, Agrawal S, et al. The NCI Genomic Data Commons. Nature Genetics. 2021;53(3):257-262. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00791-5>
3. Ye X, Wang L, Nie M, et al. A single-cell atlas of diffuse large B cell lymphoma. Cell Reports. 2022;39(3):110713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110713>
4. Lacy SE, Barrans SL, Beer PA, et al. Targeted sequencing in DLBCL, molecular subtypes, and outcomes: a Haematological Malignancy Research Network report. Blood. 2020;135(20):1759-1771. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.2019003535>
5. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. Nature Medicine. 2018;24(5):679-690. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0016-8>
6. Wright GW, Huang DW, Phelan JD, et al. A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications. Cancer Cell. 2020;37(4):551-568.e14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.03.015>
7. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. New England journal of medicine. 2018;378(15):1396-1407. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801445>
8. Воропаева ЕН, Поспелова ТИ, Воевода МИ. Ассоциация полиморфизма Arg399Gln гена репарации ДНК хрсс1 с риском развития неходжкинских лимфом высокой степени злокачественности. Гематология и трансфузиология. 2013;58(1):10-14.
9. Воропаева ЕН, Поспелова ТИ, Воевода МИ. Ген TP53 при Диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Новосибирск: Наука; 2018.
10. Березина ОВ, Вайнер АС, Воропаева ЕН, и др. Влияние однонуклеотидных замен в генах фолатного цикла на риск развития агрессивных неходжкинских лимфом. Сибирское медицинское обозрение. 2011;69(3):22-26.
11. Yan J, Yuan W, Zhang J, et al. Identification and Validation of a Prognostic Prediction Model in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Frontiers in Endocrinology. 2022;13:846357. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.846357>
12. Pan M, Yang P, Wang F, et al. Transcriptome Data Analysis Reveals Prognostic Signature Genes for Overall Survival Prediction in Diffuse Large B Cell Lymphoma. Frontiers in Genetics. 2021;12:648800. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.648800>
13. Orgueira AM, Arias JAD, López MC, et al. Prognostic Stratification of Diffuse Large B-cell Lymphoma Using Clinico-genomic Models: Validation and Improvement of the LymForest-25 Model. HemaSphere. 2022;6(4):e706. DOI: <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000706>
14. Merdan S, Subramanian K, Ayer T, et al. Gene expression profiling-based risk prediction and profiles of immune infiltration in diffuse large B-cell lymphoma. Blood Cancer Journal. 2021;11(1):2. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41408-020-00404-0>
15. Steen CB, Luca BA, Esfahani MS, et al. The landscape of tumor cell states and ecosystems in diffuse large B cell lymphoma. Cancer Cell. 2021;39(10):1422-1437.e10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.08.011>
16. Machowska M, Galka-Marciniak P, Kozłowski P. Consequences of genetic variants in miRNA genes. Computational and Structural Biotechnology Journal. 2022;20:6443-6457. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.036>
17. Voropaeva EN, Pospelova TI, Orlov YL, et al. The Methylation of the p53 Targets the Genes MIR-203, MIR-129-2, MIR-34A and MIR-34B/C in the Tumor Tissue of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Genes. 2022;13(8):1401. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes13081401>
18. Urbanek-Trzeciak MO, Galka-Marciniak P, Nawrocka PM, et al. Pan-cancer analysis of

somatic mutations in miRNA genes. *EBioMedicine*. 2020;61:103051. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103051>

19. Voropaeva EN, Orlov YL, Loginova AB, et al. Deregulation mechanisms and therapeutic opportunities of p53-responsive microRNAs in diffuse large B-cell lymphoma. *PeerJ*. 2025;13:e18661. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.18661>

20. Pawlina-Tyszkowski K, Semik-Gurgul E, Gurgul A, et al. Application of the targeted sequencing approach reveals the single nucleotide polymorphism (SNP) repertoire in microRNA genes in the pig genome. *Scientific Reports*. 2021;11(1):9848. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89363-5>

21. Galka-Marciniak P, Kanduła Z, Türe A, et al. Mutations in the miR-142 Gene Are Not Common in Myeloproliferative Neoplasms. *Scientific Reports*. 2022;12:10924. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15162-1>

22. Chen Y, Wang X. miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets. *Nucleic Acids Research*. 2020;48(D1):D127-D131. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz757>

23. Диаграммы Эйлера-Венна [Электронный ресурс] [дата обращения: 20.03.2025]. URL: <https://www.semantr.online/graph/venn.php#venn-hand>

24. Thomas PD, Ebert D, Muruganujan A, et al. PANTHER: Making genome-scale phylogenetics accessible to all. *Protein Science*. 2022;31(1):8-22. DOI: <https://doi.org/10.1002/pro.4218>

25. Aleksander SA, Balhoff J, Carbon S, et al. The Gene Ontology knowledgebase in 2023. *Genetics*. 2023;224(1):iyad031. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad031>

26. The UNAFold Web Server [Internet] [cited 2025 March 20]. Available from: <https://www.unafold.org/>

27. Hezaveh K, Kloetgen A, Bernhart SH, et al. Alterations of microRNA and microRNA-regulated messenger RNA expression in germinal center B-cell lymphomas determined by integrative sequencing analysis. *Haematologica*. 2016;101(11):1380-1389. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.143891>

28. Bouska A, Zhang W, Gong Q, et al. Combined copy number and mutation analysis identifies oncogenic pathways associated with transformation of follicular lymphoma. *Leukemia*.

2017;31(1):83-91. DOI: <https://doi.org/10.1038/leu.2016.175>

29. Rheinbay E, Nielsen MM, Abascal F, et al. Analyses of non-coding somatic drivers in 2,658 cancer whole genomes. *Nature*. 2020;578(7793):102-111. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-1965-x>

30. Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2015;526(7574):519-24. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14666>

31. Ley TJ, Miller C, Ding L, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2013;368(22):2059-2074. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1301689>

32. Thol F, Scherr M, Kirchner A, et al. Clinical and functional implications of microRNA mutations in a cohort of 935 patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2015;100(4):e122-e124. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.120345>

33. Menegatti J, Nakel J, Stepanov YK, et al. Changes of Protein Expression after CRISPR/Cas9 Knockout of miRNA-142 in Cell Lines Derived from Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Cancers*. 2022;14(20):5031. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14205031>

34. Morin RD, Assouline S, Alcaide M, et al. Genetic Landscapes of Relapsed and Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(9):2290-2300. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2123>

35. Kwanhian W, Lenze D, Alles J, et al. MicroRNA-142 is mutated in about 20% of diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Medicine*. 2012;1(2):141-155. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.29>

36. Hornshøj H, Nielsen MM, Sinnott-Armstrong NA, et al. Pan-cancer screen for mutations in non-coding elements with conservation and cancer specificity reveals correlations with expression and survival. *npj Genomic Medicine*. 2018;3:1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41525-017-0040-5>

37. Radke J, Ishaque N, Koll R, et al. The genomic and transcriptional landscape of primary central nervous system lymphoma. *Nature Communications*. 2022;13(1):2558. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30050-y>

38. Veerla S, Staaf J. Kataegis in clinical and molecular subgroups of primary breast cancer. *npj*

Breast Cancer. 2024;10(1):32. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41523-024-00640-8>

39.Huang W, Paul D, Calin GA, et al. miR-142: A Master Regulator in Hematological Malignancies and Therapeutic Opportunities. Cells. 2023;13(1):84. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13010084>

40.Liang J, Oyang L, Rao S, et al. Potential Target for Tumor Therapy. Frontiers in Oncology. 2021;11:674426. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.674426>

41.Marshall A, Kasturiarachchi J, Datta P, et al. Mir142 loss unlocks IDH2R140-dependent leukemogenesis through antagonistic regulation of HOX genes. Scientific Reports. 2020;10(1):19390. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76218-8>

42.Soltis AR, Bateman NW, Liu J, et al. Proteogenomic analysis of lung adenocarcinoma reveals tumor heterogeneity, survival determinants, and therapeutically relevant pathways. Cell Reports Medicine. 2022;3(11):100819. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100819>

43.Sato K, Akamatsu H, Koh Y, et al. Differential properties of KRAS transversion and transition mutations in non-small cell lung cancer: associations with environmental factors and clinical outcomes. BMC Cancer. 2022;22(1):1148. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-022-10246-7>

44.Lyons DM, Lauring AS. Evidence for the Selective Basis of Transition-to-Transversion Substitution Bias in Two RNA Viruses. Molecular Biology and Evolution. 2017;34(12):3205-3215. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msx251>

45.Mildner A, Chapnik E, Varol D, et al. MicroRNA-142 controls thymocyte proliferation. European Journal of Immunology. 2017;47(7):1142-1152. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.201746987>

46.Quémener AM, Bachelot L, Aubry M, et al. Non-canonical miRNA-RNA base-pairing impedes tumor suppressor activity of miR-16. Life Science Alliance. 2022;5(12):e202201643. DOI: <https://doi.org/10.26508/lsa.202201643>

47.Busseau I, Mockly S, Houbroun É, et al. Evaluation of microRNA variant maturation prior to genome edition. Biochimie. 2024;217:86-94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.06.007>

48.Jouravleva K, Vega-Badillo J, Zamore PD. Principles and pitfalls of high-throughput analysis of microRNA-binding thermodynamics and kinetics by RNA Bind-n-Seq. Cell Reports Methods. 2022;2(3):100185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2022.100185>

49.Gong J, Tong Y, Zhang HM, et al. Genome-wide identification of SNPs in microRNA genes and the SNP effects on microRNA target binding and biogenesis. Human Mutation. 2012;33(1):254-263. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.21641>

50.Sheng P, Flood KA, Xie M. Short Hairpin RNAs for Strand-Specific Small Interfering RNA Production. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2020;8:940. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00940>

## References

1. Poddubnaya IV, Babicheva LG, Bariakh EA. Diffuse large B-cell lymphoma: strokes to the epidemiological portrait. A review. Journal of Modern Oncology. 2023;25(3):342-345. Russian. DOI: <https://doi.org/10.26442/18151434.2024.2.202798>

2. Heath AP, Ferretti V, Agrawal S, et al. The NCI Genomic Data Commons. Nature Genetics. 2021;53(3):257-262. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00791-5>

3. Ye X, Wang L, Nie M, et al. A single-cell atlas of diffuse large B cell lymphoma. Cell Reports. 2022;39(3):110713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110713>

4. Lacy SE, Barrans SL, Beer PA, et al. Targeted sequencing in DLBCL, molecular subtypes, and outcomes: a Haematological Malignancy Research Network report. Blood. 2020;135(20):1759-1771. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.2019003535>

5. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. Nature Medicine. 2018;24(5):679-690. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0016-8>

6. Wright GW, Huang DW, Phelan JD, et al. A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications. Cancer Cell. 2020;37(4):551-568.e14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.03.015>

7. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. New England journal of medicine. 2018;378(15):1396-1407. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801445>

8. Voropaeva EN, Pospelova TI, Voevoda MI. Association of DNA repair gene xrccl polymorphism ARG399GLN with high-grade nonhodgkin's lymphoma risk. Russian journal of



hematology and transfusiology. 2013;58(1):10-14. Russian.

9. Voropaeva EN, Pospelova TI, Voevoda MI. The TP53 gene in diffuse B-large cell lymphoma. Novosibirsk: Nauka; 2018. Russian.

10. Berezina OV, Weiner AS, Voropaeva EN, et al. Influence of single-nucleotide replacements in genes of folate cycle on risk of aggressive Non-hodgkin's lymphoma development. Siberian Medical Review. 2011;69(3):22-26. Russian.

11. Yan J, Yuan W, Zhang J, et al. Identification and Validation of a Prognostic Prediction Model in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Frontiers in Endocrinology. 2022;13:846357. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.846357>

12. Pan M, Yang P, Wang F, et al. Transcriptome Data Analysis Reveals Prognostic Signature Genes for Overall Survival Prediction in Diffuse Large B Cell Lymphoma. Frontiers in Genetics. 2021;12:648800. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.648800>

13. Orgueira AM, Arias JÁD, López MC, et al. Prognostic Stratification of Diffuse Large B-cell Lymphoma Using Clinico-genomic Models: Validation and Improvement of the LymForest-25 Model. HemaSphere. 2022;6(4):e706. DOI: <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000706>

14. Merdan S, Subramanian K, Ayer T, et al. Gene expression profiling-based risk prediction and profiles of immune infiltration in diffuse large B-cell lymphoma. Blood Cancer Journal. 2021;11(1):2. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41408-020-00404-0>

15. Steen CB, Luca BA, Esfahani MS, et al. The landscape of tumor cell states and ecosystems in diffuse large B cell lymphoma. Cancer Cell. 2021;39(10):1422-1437.e10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.08.011>

16. Machowska M, Galka-Marciniak P, Kozłowski P. Consequences of genetic variants in miRNA genes. Computational and Structural Biotechnology Journal. 2022;20:6443-6457. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.036>

17. Voropaeva EN, Pospelova TI, Orlov YL, et al. The Methylation of the p53 Targets the Genes MIR-203, MIR-129-2, MIR-34A and MIR-34B/C in the Tumor Tissue of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Genes. 2022;13(8):1401. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes13081401>

18. Urbanek-Trzeciak MO, Galka-Marciniak P, Nawrocka PM, et al. Pan-cancer analysis of somatic mutations in miRNA genes.

EBioMedicine. 2020;61:103051. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103051>

19. Voropaeva EN, Orlov YL, Loginova AB, et al. Deregulation mechanisms and therapeutic opportunities of p53-responsive microRNAs in diffuse large B-cell lymphoma. PeerJ. 2025;13:e18661. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.18661>

20. Pawlina-Tyszkó K, Semik-Gurgul E, Gurgul A, et al. Application of the targeted sequencing approach reveals the single nucleotide polymorphism (SNP) repertoire in microRNA genes in the pig genome. Scientific Reports. 2021;11(1):9848. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89363-5>

21. Galka-Marciniak P, Kanduła Z, Tire A, et al. Mutations in the miR-142 Gene Are Not Common in Myeloproliferative Neoplasms. Scientific Reports. 2022;12:10924. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15162-1>

22. Chen Y, Wang X. miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets. Nucleic Acids Research. 2020;48(D1):D127-D131. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz757>

23. Euler-Venn diagrams [Internet] [cited 2025 March 20]. Russian. Available from: <https://www.semestr.online/graph/venn.php#venn-hand>

24. Thomas PD, Ebert D, Muruganujan A, et al. PANTHER: Making genome-scale phylogenetics accessible to all. Protein Science. 2022;31(1):8-22. DOI: <https://doi.org/10.1002/pro.4218>

25. Aleksander SA, Balhoff J, Carbon S, et al. The Gene Ontology knowledgebase in 2023. Genetics. 2023;224(1):iyad031. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad031>

26. The UNAFold Web Server [Internet] [cited 2025 March 20]. Available from: <https://www.unafold.org/>

27. Hezaveh K, Kloetgen A, Bernhart SH, et al. Alterations of microRNA and microRNA-regulated messenger RNA expression in germinal center B-cell lymphomas determined by integrative sequencing analysis. Haematologica. 2016;101(11):1380-1389. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.143891>

28. Bouska A, Zhang W, Gong Q, et al. Combined copy number and mutation analysis identifies oncogenic pathways associated with transformation of follicular lymphoma. Leukemia. 2017;31(1):83-91. DOI: <https://doi.org/10.1038/leu.2016.175>



29. Rheinbay E, Nielsen MM, Abascal F, et al. Analyses of non-coding somatic drivers in 2,658 cancer whole genomes. *Nature*. 2020;578(7793):102-111. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-1965-x>
30. Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2015;526(7574):519-24. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14666>
31. Ley TJ, Miller C, Ding L, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2013;368(22):2059-2074. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1301689>
32. Thol F, Scherr M, Kirchner A, et al. Clinical and functional implications of microRNA mutations in a cohort of 935 patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2015;100(4):e122-e124. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.120345>
33. Menegatti J, Nakel J, Stepanov YK, et al. Changes of Protein Expression after CRISPR/Cas9 Knockout of miRNA-142 in Cell Lines Derived from Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Cancers*. 2022;14(20):5031. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14205031>
34. Morin RD, Assouline S, Alcaide M, et al. Genetic Landscapes of Relapsed and Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(9):2290-2300. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2123>
35. Kwanhian W, Lenze D, Alles J, et al. MicroRNA-142 is mutated in about 20% of diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Medicine*. 2012;1(2):141-155. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.29>
36. Hornshøj H, Nielsen MM, Sinnott-Armstrong NA, et al. Pan-cancer screen for mutations in non-coding elements with conservation and cancer specificity reveals correlations with expression and survival. *npj Genomic Medicine*. 2018;3:1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41525-017-0040-5>
37. Radke J, Ishaque N, Koll R, et al. The genomic and transcriptional landscape of primary central nervous system lymphoma. *Nature Communications*. 2022;13(1):2558. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30050-y>
38. Veerla S, Staaf J. Kataegis in clinical and molecular subgroups of primary breast cancer. *npj Breast Cancer*. 2024;10(1):32. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41523-024-00640-8>
39. Huang W, Paul D, Calin GA, et al. miR-142: A Master Regulator in Hematological Malignancies and Therapeutic Opportunities. *Cells*. 2023;13(1):84. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13010084>
40. Liang J, Oyang L, Rao S, et al. Potential Target for Tumor Therapy. *Frontiers in Oncology*. 2021;11:674426. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.674426>
41. Marshall A, Kasturiarachchi J, Datta P, et al. Mir142 loss unlocks IDH2R140-dependent leukemogenesis through antagonistic regulation of HOX genes. *Scientific Reports*. 2020;10(1):19390. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76218-8>
42. Soltis AR, Bateman NW, Liu J, et al. Proteogenomic analysis of lung adenocarcinoma reveals tumor heterogeneity, survival determinants, and therapeutically relevant pathways. *Cell Reports Medicine*. 2022;3(11):100819. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100819>
43. Sato K, Akamatsu H, Koh Y, et al. Differential properties of KRAS transversion and transition mutations in non-small cell lung cancer: associations with environmental factors and clinical outcomes. *BMC Cancer*. 2022;22(1):1148. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-022-10246-7>
44. Lyons DM, Lauring AS. Evidence for the Selective Basis of Transition-to-Transversion Substitution Bias in Two RNA Viruses. *Molecular Biology and Evolution*. 2017;34(12):3205-3215. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msx251>
45. Mildner A, Chapnik E, Varol D, et al. MicroRNA-142 controls thymocyte proliferation. *European Journal of Immunology*. 2017;47(7):1142-1152. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.201746987>
46. Quémener AM, Bachelot L, Aubry M, et al. Non-canonical miRNA-RNA base-pairing impedes tumor suppressor activity of miR-16. *Life Science Alliance*. 2022;5(12):e202201643. DOI: <https://doi.org/10.26508/lsa.202201643>
47. Busseau I, Mockly S, Houbbron É, et al. Evaluation of microRNA variant maturation prior to genome edition. *Biochimie*. 2024;217:86-94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.06.007>
48. Jouravleva K, Vega-Badillo J, Zamore PD. Principles and pitfalls of high-throughput analysis of microRNA-binding thermodynamics and kinetics by RNA Bind-n-Seq. *Cell Reports Methods*. 2022;2(3):100185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2022.100185>
49. Gong J, Tong Y, Zhang HM, et al. Genome-wide identification of SNPs in microRNA genes and the SNP effects on microRNA target

binding and biogenesis. Human Mutation. 2012;33(1):254-263. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.21641>

50. Sheng P, Flood KA, Xie M. Short Hairpin RNAs for Strand-Specific Small Interfering RNA Production. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2020;8:940. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00940>

Статья поступила в редакцию 20 марта 2025 г.  
Поступила после доработки 2 мая 2025 г.  
Принята к печати 27 мая 2025 г.

Received 20 March 2025

Revised 2 May 2025

Accepted 27 May 2025

### Информация об авторах

**Елена Николаевна Воропаева**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»; доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Российская Федерация, E-mail: [vena.81@mail.ru](mailto:vena.81@mail.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7542-7285>.

**Ольга Борисовна Серегина**, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Российская Федерация, E-mail: [alepu@yandex.ru](mailto:alepu@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6110-4351>.

**Мария Сергеевна Войтко**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Российская Федерация, E-mail: [voytko.marie@yandex.ru](mailto:voytko.marie@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5429-4011>.

**Татьяна Николаевна Бабаева**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск,

Российская Федерация, E-mail: [babaeva\\_tatyana@inbox.ru](mailto:babaeva_tatyana@inbox.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2708-1133>.

**Наталья Валерьевна Скворцова**, доктор медицинских наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Российская Федерация, E-mail: [nata\\_sk78@mail.ru](mailto:nata_sk78@mail.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6938-3802>.

**Владимир Николаевич Максимов**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»; профессор кафедры медицинской генетики и биологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Российская Федерация, E-mail: [medik11@mail.ru](mailto:medik11@mail.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7165-4496>.

**Татьяна Ивановна Поспелова**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Российская Федерация, E-mail: [postatgem@mail.ru](mailto:postatgem@mail.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1261-5470>.

### Information about the authors

**Elena N. Voropaeva**, Doct. Sci. (Biology), Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Genetic Research of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Associate Professor at the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, E-mail: [vena.81@mail.ru](mailto:vena.81@mail.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7542-7285>.

**Olga B. Seregina**, Assistant at the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, E-mail: [alepu@yandex.ru](mailto:alepu@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6110-4351>.

**Maria S. Voytko**, Cand. Sci. (Medicine), Assistant at the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, E-mail: voytko.marie@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5429-4011>.

**Tatiana N. Babaeva**, Cand. Sci. (Medicine), Assistant at the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, E-mail: babaeva\_tatyana@inbox.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2708-1133>.

**Natalia V. Skvortsova**, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, E-mail: nata\_sk78@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6938-3802>.

**Vladimir N. Maksimov**, Doct. Sci. (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Professor at the Department of Medical Genetics and Biology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, E-mail: medik11@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7165-4496>.

**Tatiana I. Pospelova**, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, E-mail: postatgem@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1261-5470>.