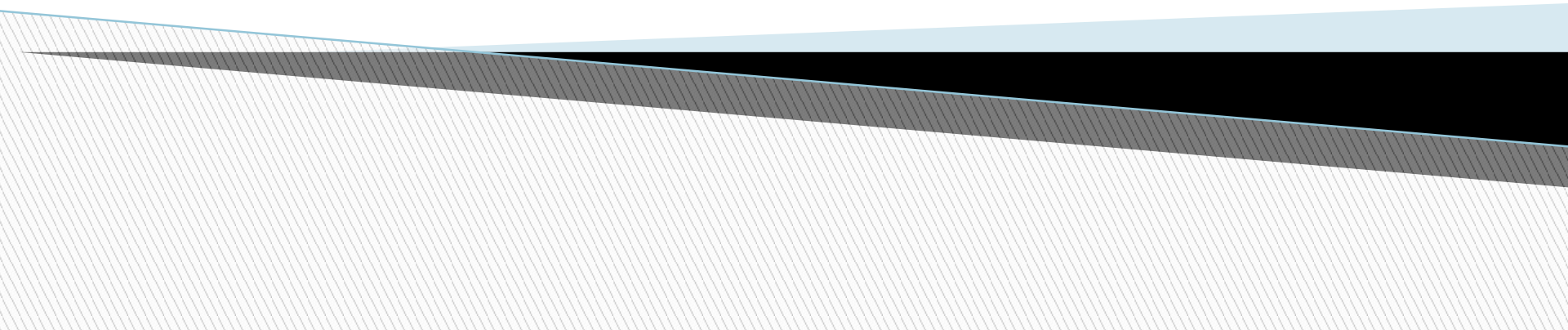


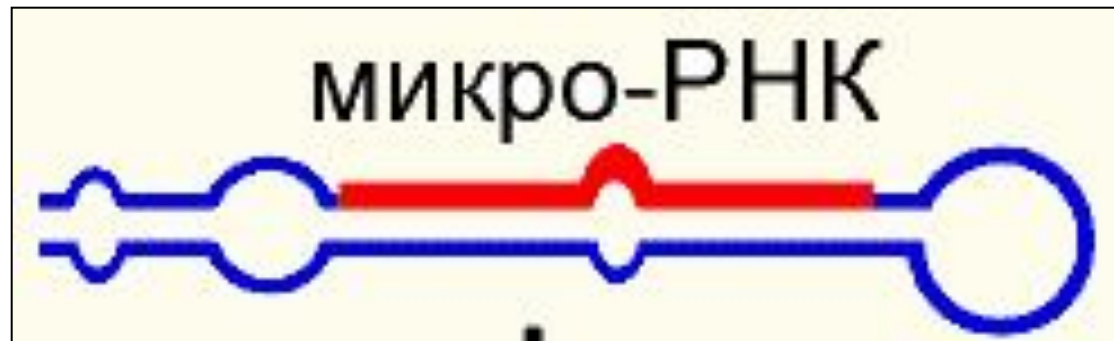
МикроРНК.
Роль в развитии
злокачественных
новообразований.

Выполнила: Сиденко Е.А.
гр.4203



Определение

- ▣ **МикроРНК** — малые **некодирующие** молекулы РНК длиной 18—25 нуклеотидов (в среднем **22**), принимающие участие в **транскрипционной** и **посттранскрипционной, трансляционной** регуляции экспрессии генов путём **РНК-интерференции**.

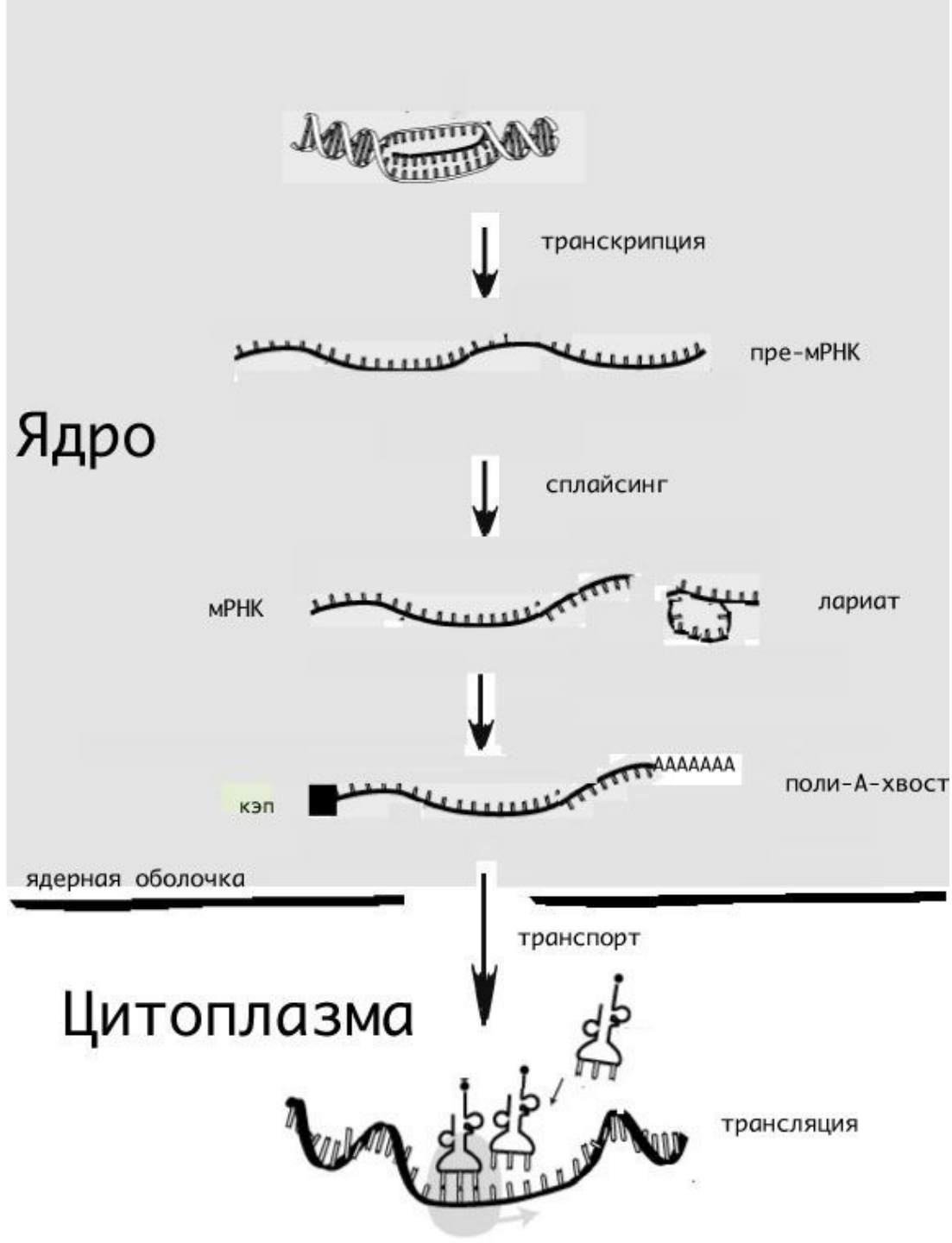


Виды микроРНК



Внутриклеточная

Внеклеточная
(циркулирующая)



Механизм РНК-интерференции

МикроРНК участвуют в подавлении активности генов: они **комплементарно** спариваются с участками мРНК и **ингибируют** их трансляцию.

Комплексы **микроРНК** с **мРНК** часто быстро расщепляются клеткой.

Также имеются данные, указывающие на возможность взаимодействия микроРНК непосредственно с ДНК в процессе РНК-зависимого метилирования ДНК.

Биогенез микроРНК

ТРАНСКРИПЦИЯ



Гены микроРНК, как правило, транскрибируются **РНК-полимеразой II**.

Полимераза часто связывается с промотором, располагающимся рядом с кодирующей последовательностью ДНК (фрагмент РНК, считываемый с этой последовательности, станет шпилькой в пре-микроРНК).

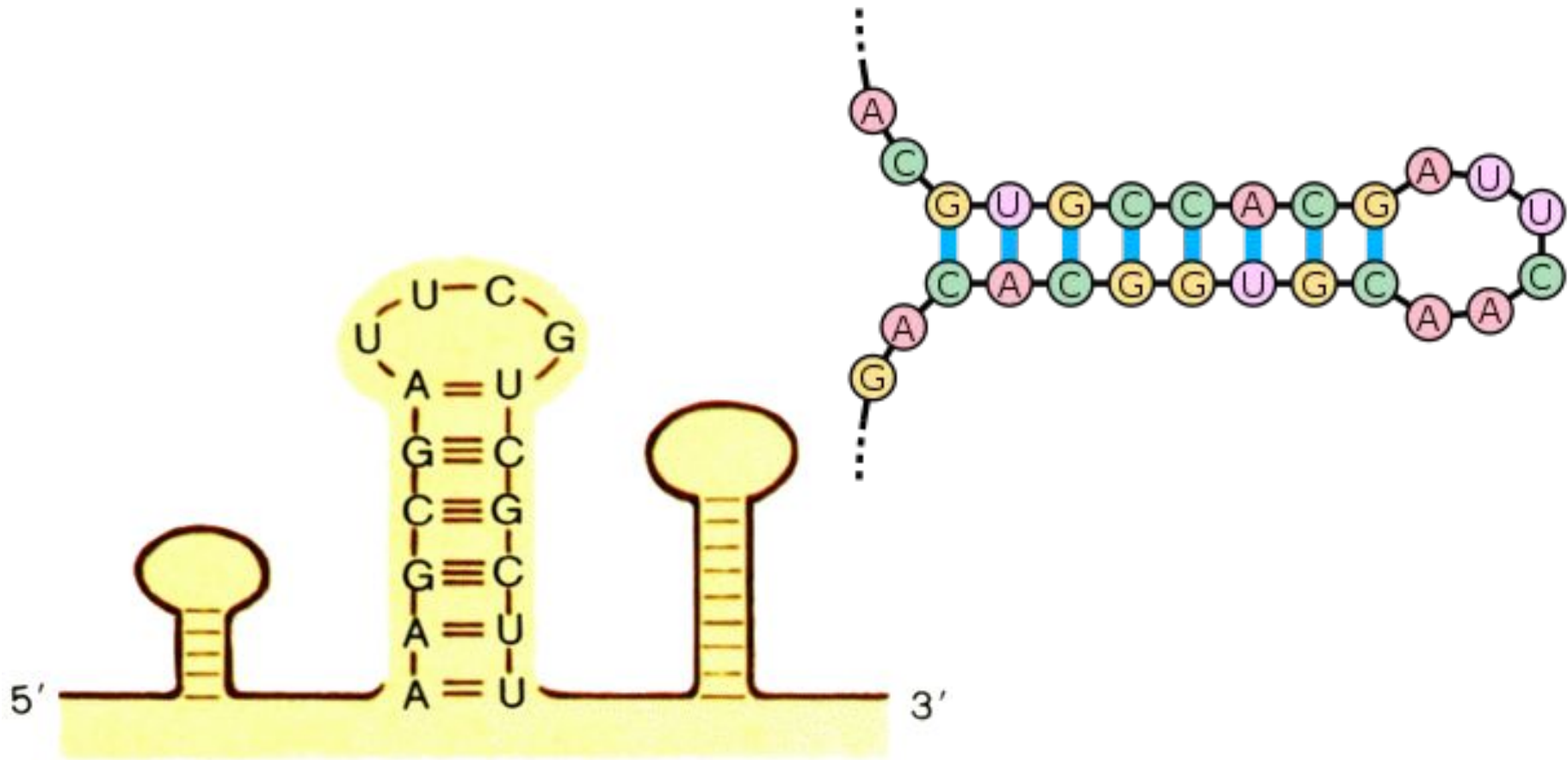


ЯДЕРНЫЙ ПРОЦЕССИНГ



Получающийся транскрипт копируется, полиаденилируется и сплайсируется.

Шпилька двуцепочечной РНК



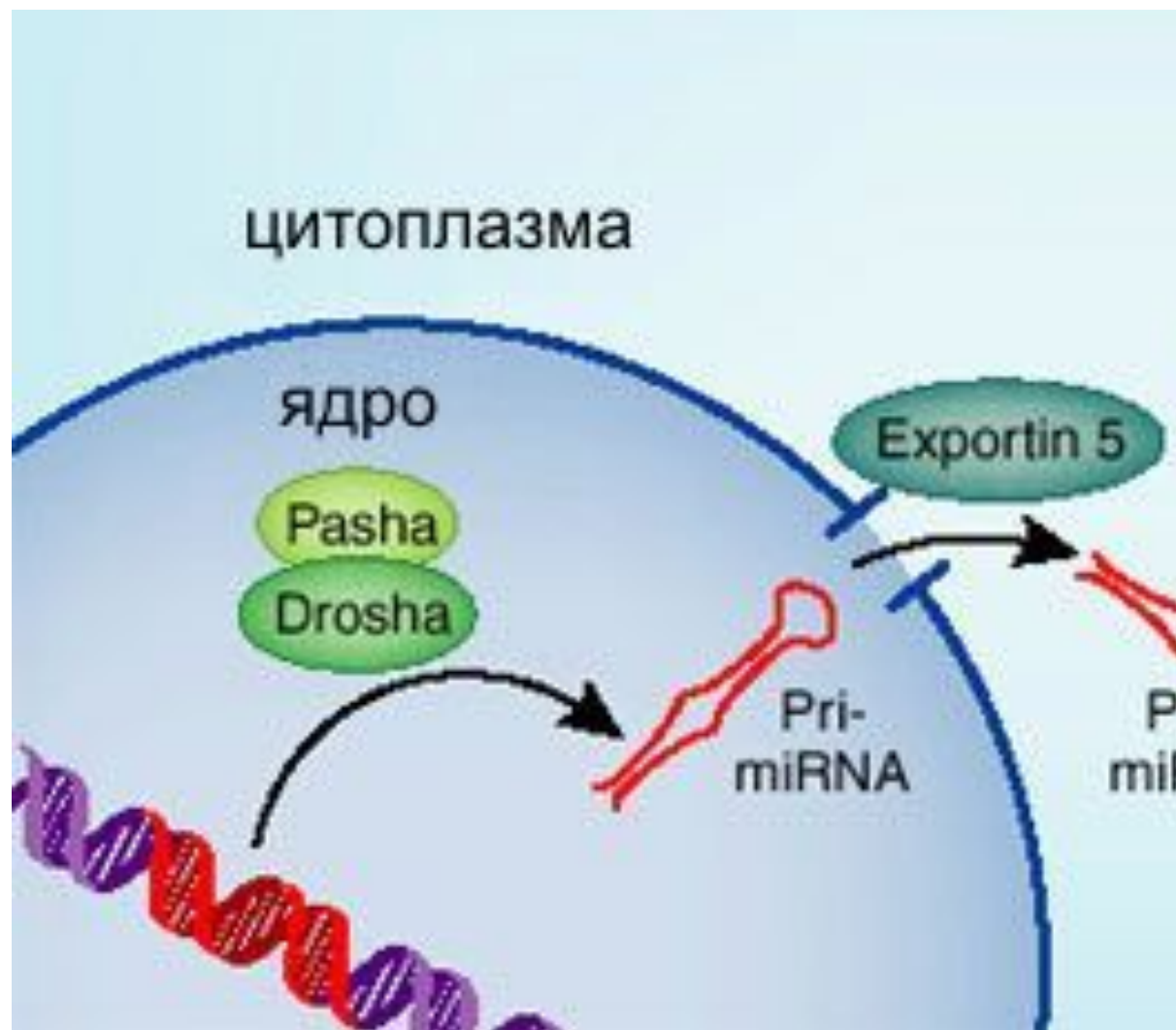
Образование пре-микроРНК (ядро)

- Двухцепочечная РНК в шпильках распознаётся ядерными белками:

DGCR8 или Pasha

- DGCR8 функционирует в комплексе с **Drosha** — белком, разрезающим РНК.

В этом комплексе DGCR8 ориентирует каталитический домен РНКазы III, входящий в состав Drosha, чтобы он «вырезал» шпильки из РНК, разрезая РНК на расстоянии 11 нуклеотидов от основания шпильки. Получившийся продукт называют – пре-микроРНК.

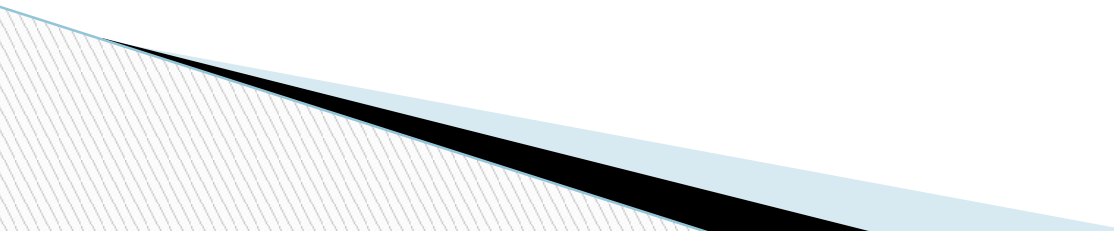


Ядерный экспорт пре-микроРНК

Пре-микроРНК экспортируются из ядра при помощи белка **Exportin-5**.

Этот белок, распознаёт два «свешивающихся» нуклеотида на **3'-конце** пре-микроРНК, которые появились при разрезании.

Транспорт в цитоплазму, происходит с затратой энергии ГТФ, при участии ГТФ-связывающего белка **Ran**.



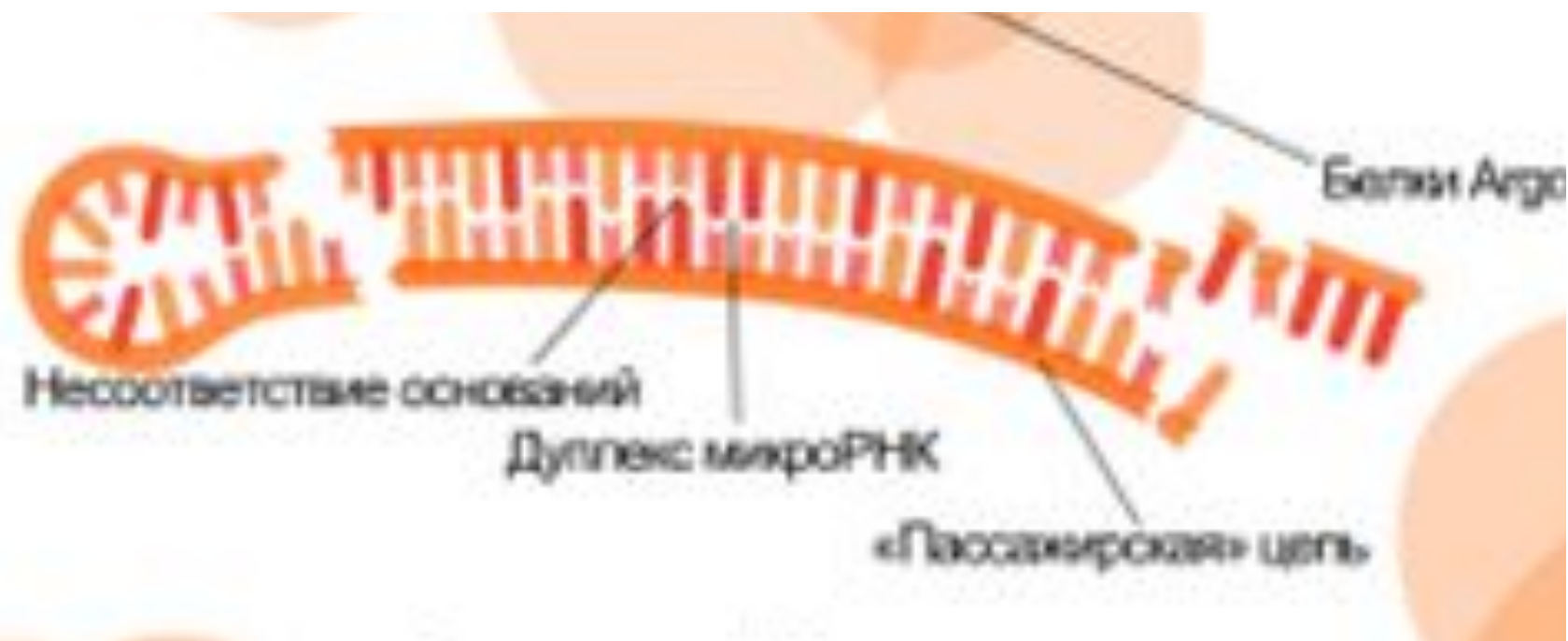
Цитоплазматический процессинг

В цитоплазме пре-микроРНК разрезается ферментом **Dicer**, содержащим каталитический центр РНКазы III.

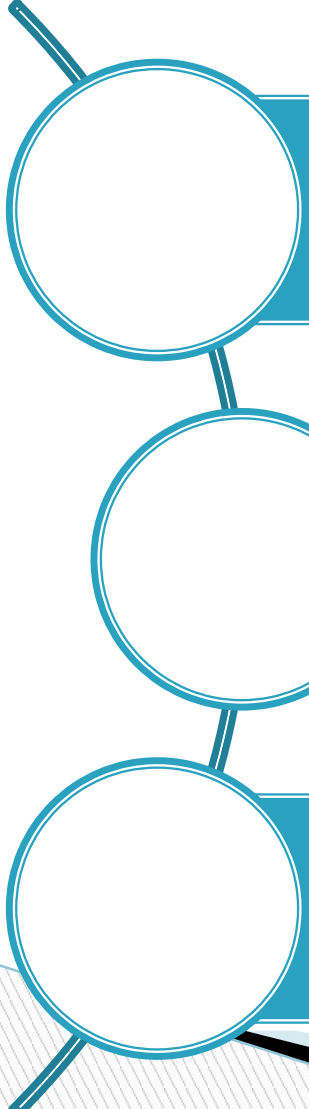
Эта эндорибонуклеаза взаимодействует с **3'-концом** шпильки и вырезает петлю, соединяющую 3'- и 5'-концы шпильки.

В результате образуется **дуплекс**, состоящий из двух цепей микроРНК по 22 нуклеотида длиной каждая.

Хотя каждая из цепей дуплекса потенциально может выступать как функциональная микроРНК, лишь одна из них впоследствии войдёт в **РНК-индуцируемый комплекс выключения гена (RISC)**



РНК-индуцируемый комплекс выключения гена (RISC)



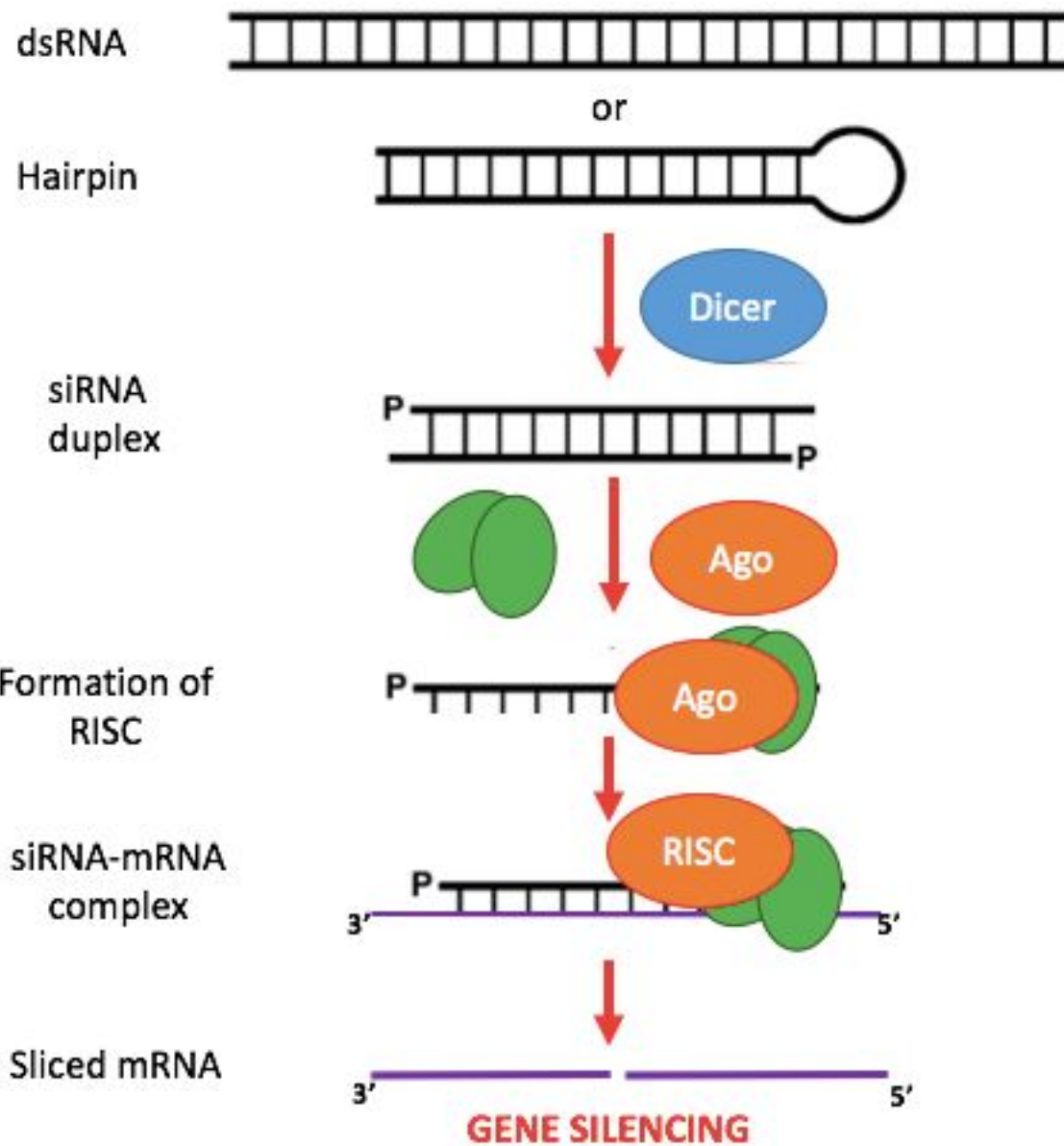
В RISC включается только одна цепь дуплекса, выбранная на основании её термодинамической нестабильности и более слабому, по сравнению с другой цепью, спариванию оснований.

Вошедшая в RISC цепь называется **«направляющей»**. Другая цепь, называемая **«пассажирской»**, обладает меньшей энергией в стабильном состоянии и в норме деградирует.

Вошедшая в состав RISC микроРНК играет роль матрицы, распознающей определённую последовательность на мРНК-мишени.

RISC: Ago - белки

- Центральную роль в функционировании RISC играют белки семейства **Argonaute (Ago)**.
- Эти белки необходимы для микроРНК-индуцированного выключения мРНК и имеют два консервативных центра, связывающих микроРНК:
 - домен **PAZ**, взаимодействующий с участком на 3'-конце микроРНК
 - домен **PIWI**, связывающий 5'-конец микроРНК
- Вместе они связывают зрелую микроРНК и ориентируют её подходящим образом для взаимодействия с мРНК-мишенью.
- Некоторые белки семейства Argonaute, например, **Ago2** человека, непосредственно разрезают транскрипт-мишень.
- Белки этого семейства также могут привлекать дополнительные белки для осуществления репрессии трансляции.



РНК-индуцируемый комплекс выключения гена (RISC)

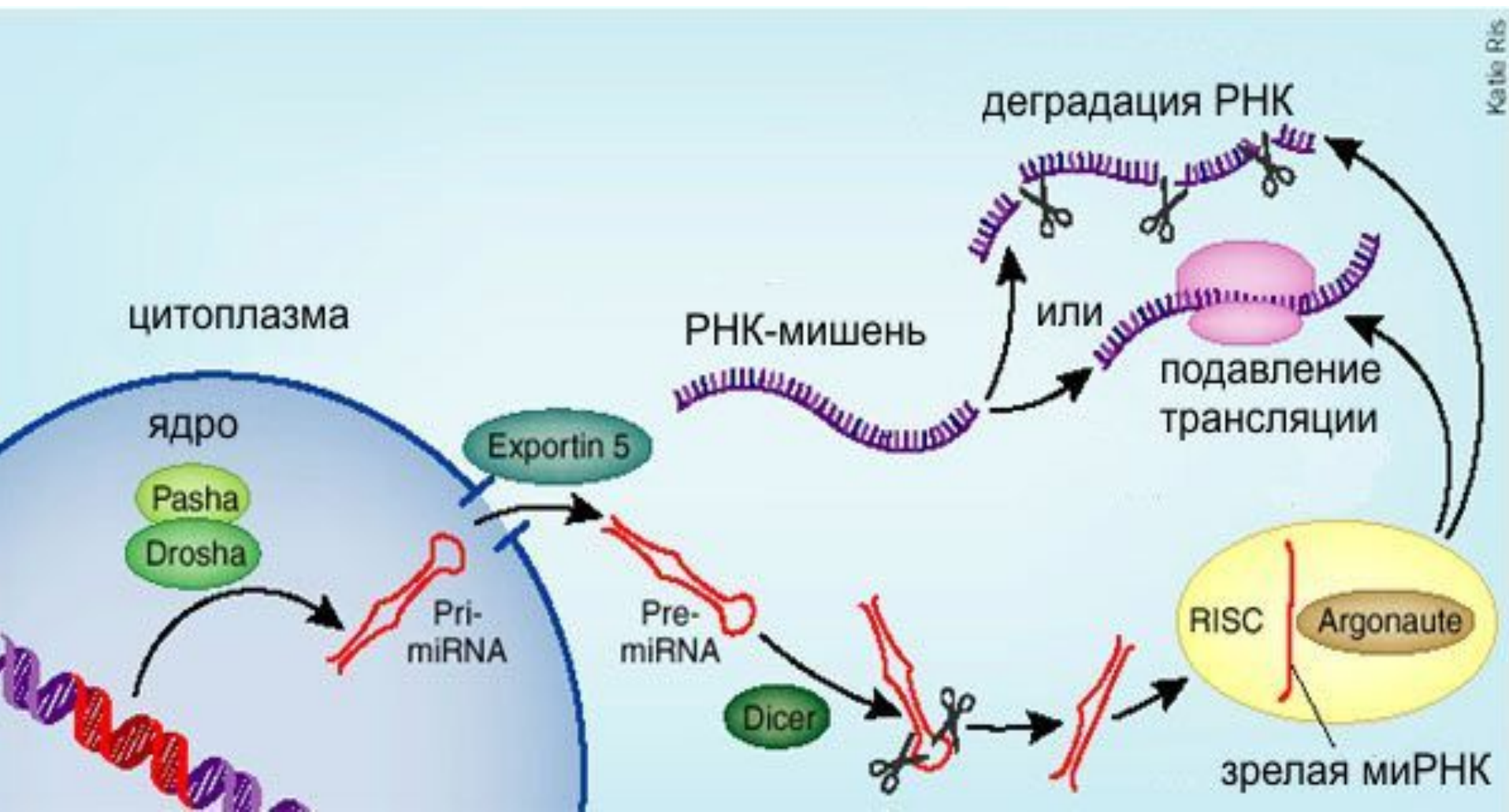
- Выключение гена может осуществляться двумя путями:

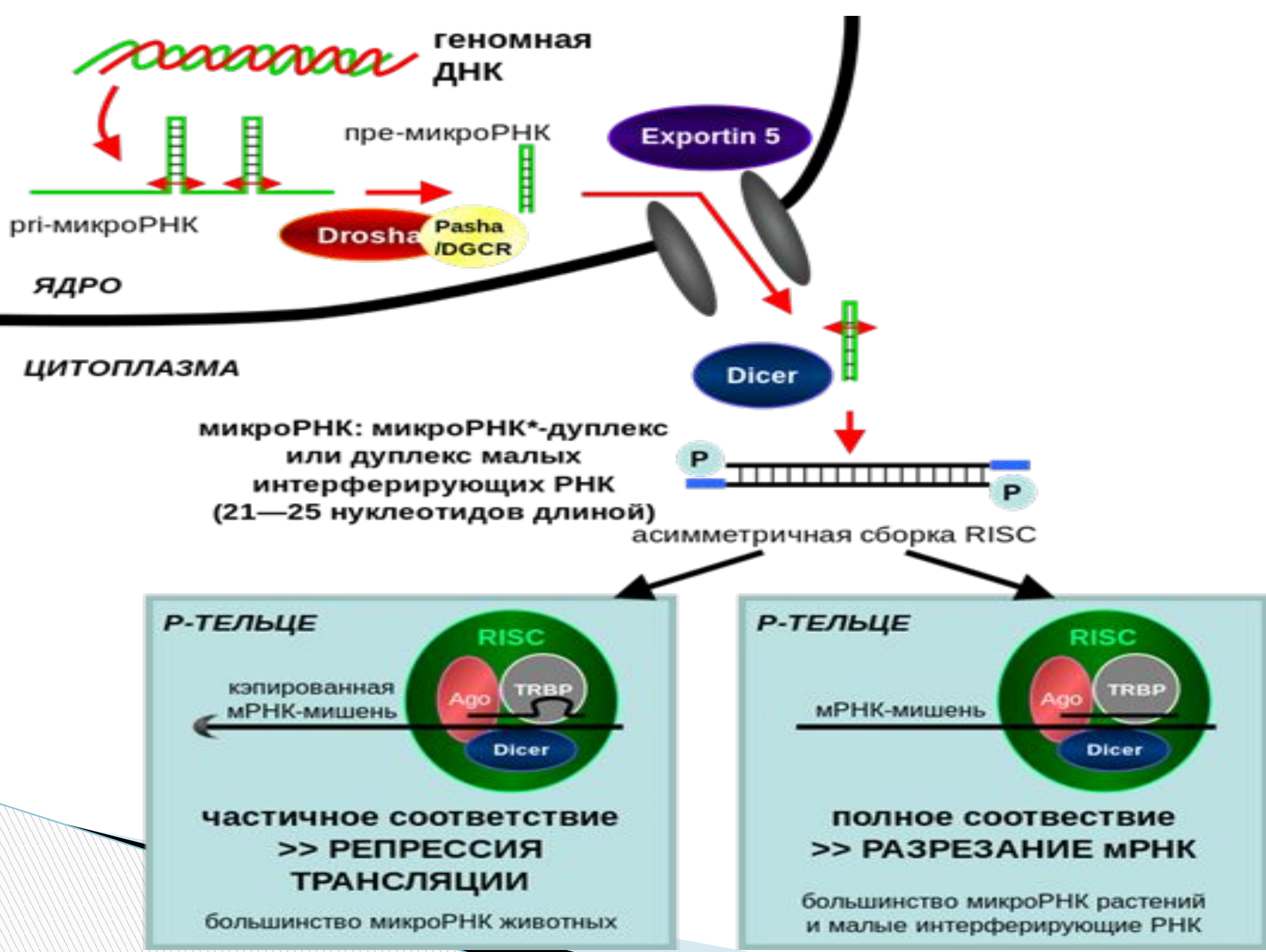
1. Путём деградации мРНК.

2. Предотвращение трансляции.

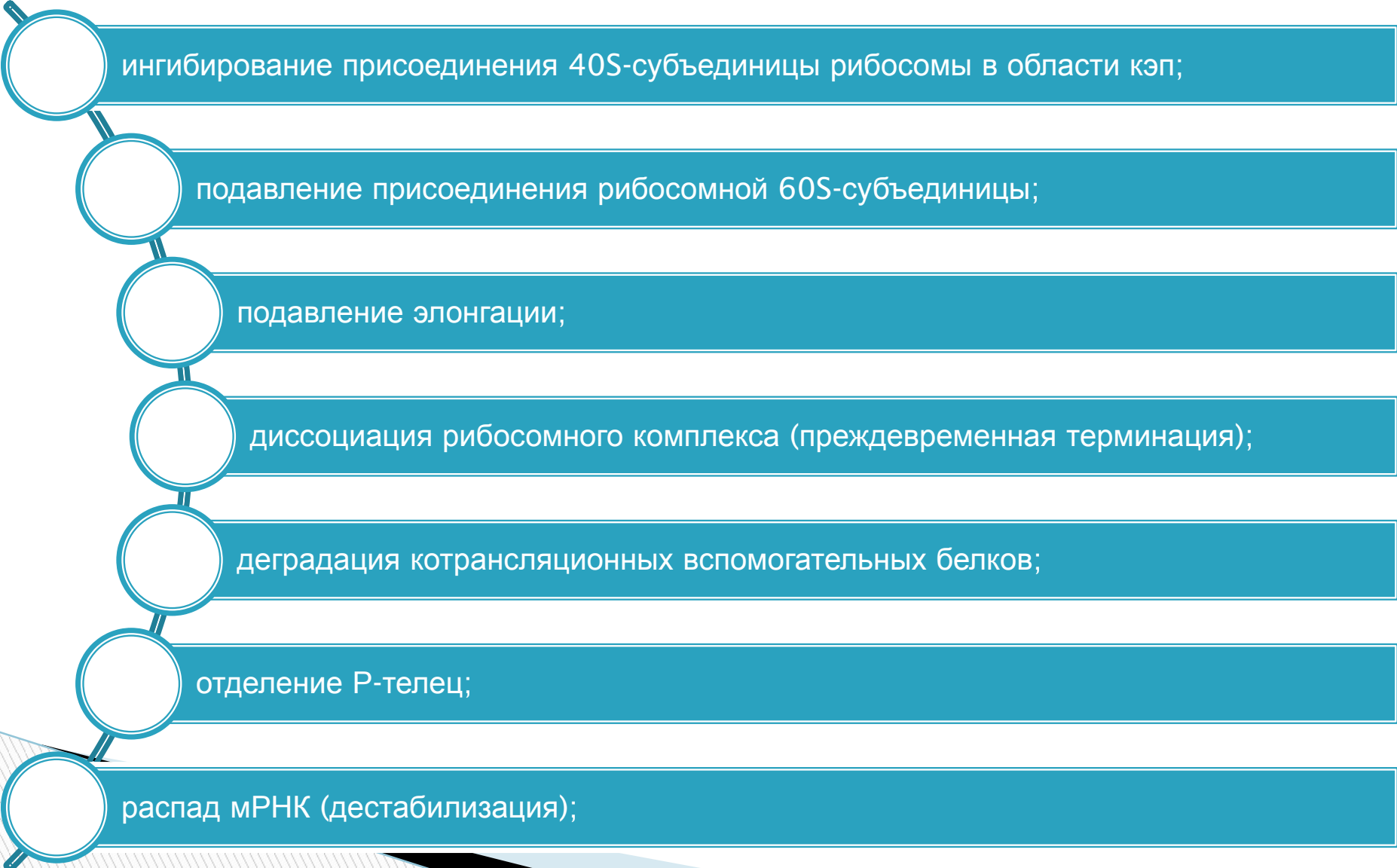
- Если микроРНК полностью комплементарна мРНК-мишени, то Ago2 может разрезать мРНК и привести к её непосредственной деградации.
- Если же полной комплементарности нет, то выключение достигается через предотвращение трансляции

РНК - интерференция





С помощью обобщённой математической модели описано и охарактеризовано 9 механизмов действия микроРНК:



ингибирование присоединения 40S-субъединицы рибосомы в области кэп;

подавление присоединения рибосомной 60S-субъединицы;

подавление элонгации;

диссоциация рибосомного комплекса (преждевременная терминация);

деградация котрансляционных вспомогательных белков;

отделение Р-телец;

распад мРНК (дестабилизация);

Методы определения микроРНК

- Экспрессия микроРНК может быть количественно определена в двухшаговой полимеразной цепной реакции (**ПЦР**):
 - первый этап: ПЦР с обратной транскрипцией
 - второй этап: ПЦР в реальном времени
- МикроРНК также можно гибридизовать с **микрочипами** с пробами сотен или тысяч мишеней микроРНК и таким образом определить относительное содержание микроРНК в различных образцах.
- Новые микроРНК можно открыть и описать их последовательность с помощью методов **секвенирования**.

Роль в развитии злокачественных новообразований

- Роль микроРНК в развитии рака:
 - А — микроРНК подавляет онкоген;
 - В — микроРНК подавляет ген-супрессор;
- Первым заболеванием человека, для которого была установлена связь с нарушениями функционирования микроРНК стал хронический лимфолейкоз.
- Изучение мышей, вырабатывающих избыток с-Мус — белка, мутантные формы которого задействованы в развитии нескольких видов рака — показали, что микроРНК действительно оказывают влияние на развитие рака.
- У мутантных мышей, вырабатывающих избыток микроРНК, найденных в клетках лимфомы, болезнь развивалась через 50 дней, а смерть наступала ещё через 2 недели. Для сравнения, мыши без избытка микроРНК жили более 100 дней.

Роль в развитии злокачественных новообразований

В другом исследовании было установлено, что два типа микроРНК подавляют белок E2F1, регулирующий пролиферацию клеток.

МикроРНК может связаться с мРНК до того, как она будет транслирована в белки, включающие или выключающие определённые гены.

Путём измерения активности 217 генов, кодирующих микроРНК, были установлены определённые специфические комбинации генной активности, характерные для той или иной формы рака.

На основании микроРНК можно классифицировать виды рака. Благодаря этому врачи смогут определять, из какой ткани развилась опухоль, и подобрать подходящий курс лечения на основании информации о типе ткани.

Установлено, что микроРНК определяют, будет ли хронический лимфолейкоз развиваться медленно или же приобретёт агрессивную форму.

Роль в развитии злокачественных новообразований

В настоящее время разработан и проходит клинические испытания тест на определение рака толстой и прямой кишки на ранних стадиях, основанный на микроРНК.

В ходе недавних исследований было установлено, что образцы плазмы крови пациентов с ранней, операбельной стадией рака толстой и прямой кишки (II стадия) отличаются от таковых у здоровых людей различного пола и возраста. Достаточную специфичность и селективность можно получить с малыми (менее 1 мл) объёмами крови. Этот тест сможет стать эффективным и удобным методом для выявления пациентов из группы риска, которым необходимо пройти колоноскопию.

Диагностика и лечение с помощью микроРНК

- Применение микроРНК в диагностике и лечении раковых заболеваний может заключаться в их использовании для составления прогноза. Так, при раке лёгких (форма NSCLC) низкая концентрация **miR-324a** может служить индикатором плохой выживаемости, а высокая концентрация **miR-185** или низкая — **miR-133b** свидетельствуют о наличии метастазов и, следовательно, плохой выживаемости при раке толстой и прямой кишки.
- Для оптимального лечения рака необходимо точное разделение пациентов по степени риска. Пациенты с быстрым ответом на первоначальное лечение выздоравливают при неполном варианте лечения, поэтому необходимо правильно оценивать степень заболевания. Внеклеточные микроРНК сохраняют большую стабильность в плазме крови и при раке экспрессируются в избыточном количестве, и их количество можно измерить в лаборатории.
- При классической лимфоме Ходжкина содержащиеся в плазме крови **miR-21**, **miR-494** и **miR-1973** служат надёжными маркерами, свидетельствующими о наличии болезни. Дополнительным достоинством метода является возможность постоянно оценивать степень развития болезни и на ранних этапах отслеживать появление рецидива.
- Недавние исследования показали, что **miR-205** подавляют развитие метастазов при раке молочной железы.

Доп.информация

- Онлайн-база данных последовательностей микроРНК:

<http://mirbase.org/>

The screenshot displays the miRBase website. At the top, there is a navigation bar with links: Home, Search, Browse, Help, Download, Blog, and Submit. The main content area is divided into two columns. The left column features a section titled "Latest miRBase blog posts" with two entries: "High confidence miRNA set available for miRBase 21" (dated July 3, 2014) and "miRBase 21 finally arrives" (dated June 26, 2014). The right column contains a "miRNA count: 28645 entries" section, a "Search by miRNA name or keyword" box with a search bar and buttons for "Go" and "Example", and a "Download published miRNA data" section with links to "Download page" and "FTP site". Below the blog posts, there is a section titled "miRBase: the microRNA database" which states that miRBase provides the following services:

- The [miRBase database](#) is a searchable database of published miRNA sequences and annotation. Each entry in the miRBase Sequence database represents a predicted hairpin portion of a miRNA transcript (termed mir in the database), with information on the location and sequence of the mature miRNA sequence (termed miR). Both hairpin and mature sequences are available for [searching](#) and [browsing](#), and entries can also be retrieved by name, keyword, references and annotation. All sequence and annotation data are also [available for download](#).
- The [miRBase Registry](#) provides miRNA gene hunters with unique names for novel miRNA genes prior to publication of results. Visit the [help pages](#) for more information about the naming service.

At the bottom right, there is a "Tweets by @mirbase" section showing a tweet from miRBase (@mirbase) dated 24 Oct, stating: "The website is back and should be fully functional. Please let us know if you spot problems. Apologies again for the inconvenience."

Доп. информация

- В публично доступной базе данных **miR2Disease** собрана информация о связи между нарушениями в работе микроРНК и различными заболеваниями.

<http://www.mir2disease.org/>



哈爾濱工業大學
HARBIN INSTITUTE OF TECHNOLOGY

miR2Disease
Base



INDIANA UNIVERSITY
SCHOOL OF MEDICINE

Thursday, Mar.2, 2017

miR-Disease

Detail

+ HOME
+ SEARCH
+ DOWNLOAD
+ SUBMIT
+ ANALYSIS

miRNA: hsa-miR-141

Disease: prostate cancer

Relationship type: unspecified

Detection method for miRNA expression: northern blot, qRT-PCR etc

Expression pattern of miRNA: up-regulated

Validated targets of miRNA from the reference: unknown

Validated targets of miRNA from TarBase: Clock : More...

Predicted targets: MIRANDA, TARGETSCAN, PICTAR-VERT

Description:

The expression levels of miRNA-375 and miRNA-141 were monitored in 72 prostate tissue samples (36 tumor vs. 36 benign). Both miRNAs were highly expressed in all samples and significantly up-regulated in the tumors compared to normal tissues. Overall, our observations suggest that miRNA-375 and miRNA-141 expression is enhanced in prostate cancer specimens and their release into the blood is further associated with advanced cancer disease.

Link



MicroRNA.org

miRRim

Благодарю за внимание!



