

## БИОТЕХНОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 577.21

О.А. Берилло, В.А. Хайленко, А.Т. Иващенко

## САЙТЫ СВЯЗЫВАНИЯ ИНТРОННЫХ microRNA С 5'UTR, CDS И 3'UTR mRNA ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РАЗВИТИИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ ЧЕЛОВЕКА

(Казахский национальный университет имени аль-Фараби)

Установлены сайты гибридизации 686 интронных miRNA с mRNA 54 генов, которые принимают участие в развитии рака толстой кишки человека. Выявлено разное соотношение сайтов связывания изученных miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA каждого гена. Установлена значительная гетерогенность функциональных участков mRNA по числу сайтов связывания и по плотности расположения этих сайтов с miRNA. Найдены miRNA, обладающие высокой селективностью к mRNA некоторых генов.

Малые RNA (miRNA), длиной 19-22 нуклеотида, экспрессируются во многих организмах, включая человека (*Homo sapiens*). Нуклеотидные последовательности miRNA являются высоко-консервативными у близкородственных видов организмов и имеют высокую специфичность экспрессии в тканях на различных стадиях развития [1]. miRNA участвуют в регуляции многих физиологических функций в клетках и организме, например, в развитии, дифференцировке, морфогенезе, метаболизме, делении клеток, апоптозе и т.д. [2]. Большая часть miRNA человека кодируется в межгенных участках ДНК и эти miRNA называются межгенными miRNA (ig-miRNA). Около 30% miRNA кодируются в интронах белок-кодирующих генов [3]. Гены ig-miRNA имеют собственные промоторы для транскрипции, синтез предшественников интронных miRNA (pre-miRNA) зависит от экспрессии гена, из интрона которого они происходят. Синтез интронных miRNA (in-miRNA) может контролироваться и регуляторными элементами [4, 5]. Показано, что значительная часть всех генов microRNAs человека локализована рядом с участками нестабильных регионов ДНК, в которых часто наблюдаются хромосомные делеции и амплификации являющиеся причиной развития онкологических заболеваний [6]. Подавляющее число публикаций посвящено исследованию связывания miRNA с 3'UTR участками mRNA [1-6]. Однако некоторые mRNA генов-мишеней содержат сайты связывания с miRNA как в 3'UTR, так и в 5'UTR и CDS [8-14]. Показано, что miR-10a взаимодействуя с 5'UTR mRNA гена, кодирующего рибосомный белок, усиливает трансляцию его mRNA. miR-10a может повышать синтез белков в клетке, стимулируя трансляцию mRNA рибосомального белка [15]. Показано, что сверхэкспрессия некоторых miRNA снижает

трансляцию mRNA-мишеней, которые были предсказаны с помощью компьютерных программ. miRNA влияют на синтез белка путем дестабилизации mRNA, что вызывает подавление трансляции [16]. Возможность связывания miRNA с 5'UTR и CDS mRNA генов-мишеней была установлена с использованием синтетических и природных miRNA [17-20]. miR-122 специфически связывается с 5'UTR и стимулирует репликацию HCV (Hepatitis C virus) RNA в клетках гепатомы. Сверхэкспрессия miR-21 приводит к развитию злокачественной лимфомы, что было показано *in vivo* на мышах. Когда эту miRNA инактивировали, то опухоль полностью регрессировала через несколько дней, в основном за счет апоптоза [21]. miR-10a регулирует экспрессию *hoxd4* гена-мишени при развитии рака молочной железы человека [22]. Развитие лимфатической лейкемии связано со снижением уровня miR-15 и miR-16 [23]. Уровень экспрессии miRNA варьирует в зависимости от вида и стадии онкологических заболеваний [24, 25]. Экспрессия miR-21 нарушена при развитии различных видов онкологических заболеваний, таких, как рак груди [26], легкого [27, 28], пищевода [29], поджелудочной железы [30], толстой кишки [31-44] и карцинома печени [45]. Развитие рака толстой кишки связано с нарушениями в генах p53 пути и с экспрессией miRNA [46-48]. Во многих исследованиях показана важная роль miRNA в онкогенезе [1, 6, 14, 21-48], однако эти данные основываются на связывании miRNA с 3'UTR mRNA онкогенов. К сожалению, систематических исследований связывания miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA не проводилось. В связи с этим в настоящей работе изучено связывание интронных miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA онкогенов, участвующих при развитии рака толстой кишки человека, что позволит получить достоверную информацию о действии

miRNA на 5'UTR, CDS и 3'UTR в сравнительном аспекте. Знание всех сайтов взаимодействия mRNA с разными miRNA дает более объективную картину о возможной регуляции ими экспрессии гена и будет способствовать отбору маркерных miRNA для диагностики и терапии онкологических заболеваний.

### Материалы и методы

Использованы нуклеотидные последовательности mRNA генов, содержащих в интронах miRNA, были заимствованы из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), *Homo sapiens* Genome build 37.2. Нуклеотидные последовательности miRNA и их pre-miRNA получены из базы данных miRBase (<http://www.mirbase.org>). Для поиска интронных

Программа RNAhybrid позволяет проводить поиск сайтов гибридизации сайтов-мишеней 5'-доминантного канонического, 5' seed-доминантного и 3'-компенсаторного типа. Поэтому для расчета величины свободной энергии гибридизации ( $\Delta G$ ) мы использовали программу RNAhybrid 2.1. Сайты взаимодействия miRNA с mRNA определяли на основании величины  $\Delta G$  и ее стандартного отклонения. Плотность сайтов связывания в 5'UTR, CDS, 3'UTR и всей mRNA рассчитывали как отношение числа сайтов к длине нуклеотидной последовательности этих

miRNA была использована программа miRNA Finder 2.2 ([http:// sites.google.com/ site/ malaheene/ software/ mirna-finder](http://sites.google.com/site/malaheene/software/mirna-finder)). Известны программы (RNAhybrid (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid>), PicTar (<http://pictar.bio.nyu.edu>), DIANA-microT ([http:// diana.pcbi.upenn.edu/cgi-bin/ micro\\_t.cgi](http://diana.pcbi.upenn.edu/cgi-bin/micro_t.cgi)), miRanda (<http://www.microrna.org/>), TargetScanS (<http://genes.mit.edu/targetscan/>) и др.), которые позволяют предсказывать mRNA-мишени [49]. Программы TargetScanS и miRanda основаны на использовании метода seed-комплементарности, а программы RNAhybrid [50-51] и DIANA-microT [52-53] находят сайты гибридизации miRNA с mRNA с помощью оценки термодинамических параметров [54].

участков умноженное на  $10^3$  (s/l), то есть в расчете на 1000 нуклеотидов.

### Результаты и их обсуждение

Из баз данных miRBase были отобраны 686 интронных miRNA с помощью программы Finder 2.2. Все эти miRNA проверили на способность связывания с mRNA 54 генов участвующих в развитии рака толстой кишки человека. Различные участки mRNA этих генов обладают разной способностью связывать miRNA (таблицы 1-3).

Таблица 1

Характеристики связывания in-miRNA с mRNA генов, обладающих высоким средством к 5'UTR

mRNA гена	Длина гена, н.	Длина 5'UTR, н.	Длина CDS, н.	Длина 3'UTR, н.	mRNA, s/l	5'UTR, s/l	CDS, s/l	3'UTR, s/l
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>ABCBI</i>	4718	493	3843	382	2,5	6,1	2,3	0,0
<i>ABC2</i>	4431	493	1968	1970	2,7	10,1	3,1	0,5
<i>ALCAM</i>	4741	540	1752	2449	4,2	14,8	5,7	0,8
<i>APC1</i>	10840	193	8533	2114	1,9	10,4	1,8	1,4
<i>APC3</i>	11027	380	8533	2114	2,3	18,4	1,8	1,4
<i>AXIN1</i>	3675	389	2589	697	10,6	43,7	5,0	12,9
<i>AXIN2</i>	4234	289	2531	1414	8,0	20,8	7,5	6,4
<i>BAD</i>	970	82	507	381	20,6	85,4	21,7	5,3
<i>BAX</i>	810	69	580	161	14,8	43,5	12,1	12,4
<i>BRCA1</i>	7224	232	5592	1400	1,8	4,3	1,3	3,6
<i>BRCA2</i>	11386	227	10258	901	1,8	13,2	1,5	3,3
<i>BUB1</i>	3502	112	3259	131	3,7	8,9	3,7	0,0
<i>CCND1</i>	4289	209	889	3191	8,2	14,4	12,4	6,6
<i>CD44</i>	4589	434	1087	3068	7,2	39,2	3,7	3,9
<i>CDH1</i>	4815	125	2649	2041	5,4	32,0	4,5	4,9
<i>CTNNB1</i>	3720	268	2346	1106	3,8	22,4	2,6	1,8
<i>EP300</i>	8761	395	7246	1120	5,6	10,1	5,7	3,6
<i>FLCN</i>	3687	504	1740	1443	6,8	9,9	6,9	5,5
<i>GNAS</i>	1907	356	1185	366	13,1	64,6	1,7	0,0
<i>KLF12</i>	10909	222	1209	9478	2,6	13,5	0,8	0,0
<i>KRAS</i>	5297	181	568	4548	2,3	33,2	0,0	1,3
<i>MET</i>	6676	187	4227	2262	2,9	10,7	2,8	2,2
<i>MLH3</i>	7896	216	4363	3317	1,8	13,9	1,8	0,9
<i>MMP2</i>	3549	311	1983	1255	9,9	51,5	6,6	4,8
<i>MSH3</i>	4620	253	3414	953	3,3	19,8	1,5	5,3
<i>MTHFR</i>	7150	229	1972	4949	10,9	17,5	6,1	12,5

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>MYC</i>	2368	525	1366	477	5,5	15,2	3,7	0,0
<i>PIK3CA</i>	3712	157	3207	348	2,4	38,2	0,9	0,0
<i>PMS1-tr-1</i>	3538	529	2799	210	1,7	9,5	0,4	0,0
<i>PROM1</i>	3977	212	2598	1167	1,0	4,7	0,8	0,9
<i>PTEN</i>	5572	1031	1212	3329	6,3	30,1	0,8	0,9
<i>PTPN12</i>	3225	91	2343	791	4,3	120,9	1,3	0,0
<i>SMAD4</i>	8769	538	1660	6571	4,3	20,5	2,4	3,5
<i>SNAI1</i>	1709	84	795	830	6,4	11,9	7,6	4,8
<i>SRC</i>	4097	449	1612	2036	10,5	11,1	6,2	13,8
<i>TGFBR2</i>	4704	382	1779	2543	4,5	34,0	2,3	1,6
<i>TNFSF10-tr-1</i>	1953	123	846	984	3,6	8,1	3,6	3,1
<i>TP53</i>	2586	197	1182	1207	8,9	10,2	6,8	10,8
<i>YDR</i>	5060	401	1434	3225	9,1	17,5	8,4	8,4
<i>ZEB1</i>	6268	391	3327	2551	2,2	2,6	2,7	1,6
Ср. знач.	5074	312	2775	1987	5,7	24,2	4,3	3,8

Таблица 2

**Характеристики связывания in-miRNA с mRNA,  
имеющими низкую плотность сайтов связывания в 5'UTR**

mRNA гена	Длина гена, н.	Длина 5'UTR, н.	Длина CDS, н.	Длина 3'UTR, н.	mRNA, s/l	5'UTR, s/l	CDS, s/l	3'UTR, s/l
<i>DLCI</i>	7479	444	4587	2448	3,3	2,3	3,5	3,3
<i>ENG</i>	3060	413	1977	670	12,4	12,1	12,1	13,4
<i>MUTYH-α</i>	1945	216	1650	79	12,9	9,3	13,9	0,0

Из данных таблицы 1 видно, что 5'UTR mRNA 40 генов имеют плотность сайтов связывания интронных miRNA в среднем больше, чем вся mRNA.

Минимальная плотность сайтов связывания miRNA в 5'UTR mRNA гена *ZEB1* равна 2,6 s/l, а максимальная 85,4 s/l в 5'UTR mRNA гена *BAD*. Коэффициент корреляции ( $r$ ) между длиной 5'UTR и плотностью сайтов в нем для in-miRNA равен  $-0,20$  ( $p < 2e-1$ ), что свидетельствует об отсутствии связи между этими характеристиками. Низкие коэффициенты корреляции для CDS  $r = -0,34$  ( $p < 3e-2$ ) и 3'UTR  $r = -0,02$  ( $p < 9e-1$ ) тоже говорят об отсутствии значимой связи между их длиной и плотностью сайтов связывания miRNA. Средняя величина плотности сайтов связывания в 5'UTR mRNA 40 генов равнялась 24,2 s/l и была в 6,4, 5,6 и 4,8 раза больше, чем

в 3'UTR, CDS и всей mRNA соответственно. 5'UTR mRNA генов *DLCI*, *ENG* и *MUTYH-alpha* имели меньшую плотность сайтов связывания in-miRNA, чем содержащие их mRNA (таблица 2).

В таблице 3 приведены плотности сайтов связывания in-miRNA с mRNA, которые не взаимодействовали с этими miRNA в 5'UTR. 5'UTR этих mRNA имели среднюю длину в 2,0 раза меньшую, чем 5'UTR в mRNA генов приведенных в таблице 1. Следовательно, более короткая длина 5'UTR в mRNA этих генов не является основной причиной отсутствия сайтов связывания для in-miRNA. Отсутствие средства in-miRNA к 5'UTR этих mRNA, по-видимому, связано с биологической функцией соответствующих генов. Это предположение подтверждается тем, что mRNA нескольких генов не связывают in-miRNA.

Таблица 3

**Характеристики связывания in-miRNA с mRNA, не имеющих сайтов связывания в 5'UTR**

mRNA гена	Длина гена, н.	Длина 5'UTR, н.	Длина CDS, н.	Длина 3'UTR, н.	mRNA, s/l	5'UTR, s/l	CDS, s/l	3'UTR, s/l
<i>ABCC2</i>	5051	139	4638	274	2,6	0,0	2,6	3,7
<i>ADAM29</i>	3325	670	2463	192	1,5	0,0	2,0	0,0
<i>APC2</i>	10732	85	8533	2114	1,9	0,0	2,0	1,4
<i>BRAF</i>	2944	61	2302	581	5,4	0,0	7,0	0,0
<i>FZD7</i>	3851	61	1725	2065	7,0	0,0	11,0	3,9
<i>KIT</i>	5174	87	2932	2155	2,3	0,0	2,7	1,9
<i>MLH1</i>	2662	198	2272	192	3,8	0,0	4,4	0,0
<i>MMP9</i>	2387	19	2124	244	8,4	0,0	8,5	8,2
<i>MSH2</i>	3147	68	2806	273	1,3	0,0	1,4	0,0
<i>MSH6</i>	4328	152	4084	92	2,3	0,0	2,5	0,0
<i>PMS2</i>	2836	87	2589	160	2,5	0,0	2,7	0,0
Ср. знач	4222	148	3315	758	3,5	0,0	4,3	1,7

Кроме этого, mRNA генов из таблицы 3 не имеют сайтов связывания miRNA в 3'UTR, либо плотность сайтов связывания мала. Следовательно, mRNA этих генов тоже не случайно имеют общее низкое сродство к miRNA. Из 686 in-miRNA на mRNA изученных 54 генов действовали 436 in-miRNA. В среднем эти in-miRNA связывались по 3,4 на одну mRNA и имели по 4 сайта связывания на одну mRNA. Наибольшее число генов-мишеней имела miR-408 (21 ген), а наибольшее число сайтов связывания имела miR-1268b (47 сайтов), которая взаимодействовала с mRNA 19 генов.

Некоторые in-miRNA имеют предпочтение связываться с 5'UTR, чем с CDS и 3'UTR. Например, miR-1268b связывается с 5'UTR mRNA одиннадцати генов, miR-4486 - семи, miR-1228\* - шести, а miR-1908, miR-3173, miR-3178 и miR-4258 - пяти генов. Некоторые mRNA в 5'UTR имеют участки с высокой плотностью связывания miRNA. Например, в 5'UTR mRNA гена *MCM2* с началом 245-262 н. - 7 сайтов, а в 5'UTR mRNA гена *HDAC4* имеется 4 участка для связывания по 4-7 miRNA.

Из 54 генов наибольшая плотность сайтов взаимодействия in-miRNA с mRNA характерна для 5'UTR 40 генов. То есть, экспрессия значительной части изученных генов регулируется через связывание in-miRNA в этой области mRNA. Если исходить из биологической роли miRNA как регуляторов трансляции, то быстрее и энергетически выгоднее блокировать трансляцию на 5'UTR, то есть до начала процесса трансляции. Регуляция экспрессии генов посредством действия miRNA на 5'UTR более надежна еще и потому, что эта часть pre-mRNA менее подвержена потере при альтернативном сплайсинге, чем участки CDS и 3'UTR.

Результаты проведенных исследований показывают, что miRNA могут осуществлять регуляцию экспрессии генов не только посредством связывания в 3'UTR, но и действуя на 5'UTR и CDS. Доля сайтов взаимодействия in-miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR составляла 24,1, 47,2 и 28,7% соответственно. Следовательно, при рассмотрении действия miRNA на 3'UTR mRNA учитываются около 29% всех сайтов связывания miRNA с mRNA и поэтому необходимо учитывать сайты в 5'UTR и CDS. Установленные в настоящей работе сайты связывания miRNA со всеми участками mRNA позволяют разработать более точные методы диагностики заболеваний вызванных отклонениями в экспрессии генов посредством действия miRNA.

1. Iorio M. V., Croce C. M. MicroRNAs in cancer: small molecules with a huge impact // *J. Clin Oncol*, 2009, Vol. 27, P. 5848-5856.

2. Bartel D. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // *Cell*, 2004, Vol. 116 (2), P. 281-97.

3. Rodriguez A., Griffiths-Jones S., Ashurst J., Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units // *Genome Res.*, 2004, Vol. 14, P. 1902-1910.

4. Aboobaker A., Tomancak P., Patel N., Rubin G., Lai E. Drosophila microRNAs exhibit diverse spatial expression patterns during embryonic development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, Vol. 102, P. 18017-18022.

5. Isik M., Korswagen H., Berezikov E. Expression patterns of intronic microRNAs in *Caenorhabditis elegans* // *Silence*, 2010, Vol. 1, P.1758-907X

6. Calin G. A., Sevignani C., Dumitru C. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *PNAS*, 2004, vol.101(9), P. 2999-3004

7. Lee I., Ajay S., Yook J. et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites // *Genome Research*, 2009, Vol. 19 (7), P. 1175-1183.

8. Elcheva S., Goswami F., Noubissi K., Spiegelman V. CRD-BP protects the coding region of  $\beta$ TrCP1 mRNA from miR-183-mediated degradation // *Molecular Cell*, 2009, Vol. 35 (2), P. 240-246.

9. Tay Y., Zhang J., Thompson A., Lim B. et al. MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation // *Nature*, 2008, Vol. 455, P. 1124-1128

10. Tsai N.-P. et al., MicroRNA mir-346 targets the 5'UTR of RIP140 mRNA and up-regulates its protein expression // *Biochem J.*, 2009, Vol. 424 (3) P. 411-8.

11. Lytle R., Yario T., Steitz J. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5'UTR as in the 3'UTR // *PNAS*, 2007, Vol. 104 (23), P. 9667-9672.

12. Duursma A., Kedde M., Schrier M., le Sage C., Agami R. miR-148 targets human DNMT3b protein coding region // *RNA*, 2008, Vol. 14, P. 872-877.

13. Moretti F., Thermann R., Hentze M. Mechanism of translational regulation by miR-2 from sites in the 5' untranslated region or the open reading frame // *RNA*, 2010, Vol. 16, P. 2493-502.

14. Qin W., Shi Y., Zhao B. et al. miR-24 regulates apoptosis by targeting the open reading frame (ORF) region of FAF1 in cancer cells // *PLoS One*, 2010, Vol. 5, P. e9429.

15. Ørom U., Nielsen F., Lund A. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation // *Mol. Cell.*, 2008, Vol. 30 (4), P. 460-471.

16. Guo H., Ingolia N., Weissman J., Bartel D. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels // *Nature*, 2010, Vol. 466, P. 835-840.

17. Easow G., Teaman A., Cohen S. Isolation of microRNA targets by miRNP immunoprecipitation // *RNA*, 2007, Vol. 13, P. 1198-204.

18. Gu S., Jin L., Zhang F., Sarnow P., Kay M. Biological basis for restriction of microRNA targets to the 3 untranslated region in mammalian mRNAs // *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2009, Vol. 16, P. 144-150.

19. Rigoutsos I. New tricks for animal microRNAs: targeting of amino acid coding regions at conserved and nonconserved sites // *Cancer Res.*, 2009, Vol. 69, P. 3245-3248.

20. Kloosterman W., Wienholds E., Ketting R., Plasterk R. Substrate requirements for let-7 function in the developing zebrafish embryo // *Nucleic Acids Res.*, 2004, Vol. 32, P. 6284-6291.

21. Medina P.P., Nolde M., Slack F.J. OncomiR addiction in an vivo model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma // *Nature*, 2010, Vol. 467, P. 86-91.
22. Tan Y., Zhang B., Wu T., Skogerboe G., Zhu X., Guo X. et al. Transcriptional inhibition of Hoxd4 expression by miRNA-10a in human breast cancer cells // *BMC Molecular Biology*, 2009, Vol. 10, P. 12.
23. Calin G., Dumitru C., Shimizu M. et al. Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, Vol. 99, P.15524-15529.
24. Hamano R., Ishii H., Miyata H., Doki Y., Mori M. Role of microRNAs in solid tumors // *Journal of Nucleic Acids Investigation*, 2011, Vol. 2 (e2), P. 5-16.
25. Lu J., Getz G., Miska E. et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers // *Nature*, 2005, Vol. 435, P. 834-838.
26. Si M., Zhu S., Wu H. et al. miR-21-mediated tumor growth // *Oncogene*, 2007, Vol. 26, P. 2799-2803.
27. Markou A., Tsaroucha E., Kaklamanis L. et al. Prognostic value of mature microRNA-21 and microRNA-205 overexpression in non-small cell lung cancer by quantitative real-time RT-PCR // *Clin. Chem.*, 2008, Vol. 54, P. 1696-1704.
28. Takamizawa J., Konishi H., Yanagisawa K. et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival // *Cancer Res.*, 2004, Vol. 64, P. 3753-3756.
29. Hiyoshi Y., Kamohara H., Karashima R. et al. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma // *Clin. Cancer. Res.* 2009, Vol. 15, P. 1915-1922.
30. Lee E., Gusev Y., Jiang J. et al. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer // *Int. J. Cancer*, 2007, Vol. 120, P. 1046-1054.
31. Slaby O., Svoboda M., Fabian P. et al. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinico-pathologic features of colorectal cancer // *Oncology*, 2007, Vol. 72, P. 397-402.
32. Schepeler T., Reinert J., Ostensfeld M. et al. Diagnostic and prognostic microRNAs in stage II colon cancer // *Cancer Res.*, 2008, Vol. 68, P. 6416-6424.
33. Tsang W., Kwok T. The miR-18a\* microRNA functions as a potential tumor suppressor by targeting on K-Ras // *Carcinogenesis*, 2009, Vol. 30, P. 953-959.
34. Wang P., Zou F., Zhang X. et al. MicroRNA-21 negatively regulates Cdc25A and cellcycle progression in colon cancer cells // *Cancer Res.*, 2009, Vol. 69, P. 8157-8165.
35. Tazawa H., Tsuchiya N., Izumiya M., Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, Vol. 104, P. 15472-15477.
36. Diaz R., Silva J., Garcia J. et al. Deregulated expression of miR-106a predicts survival in human colon cancer patients // *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, Vol. 47, P. 794-802.
37. Ng E., Tsang W., Ng S. et al. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer // *Br. J. Cancer*, 2009, Vol. 101, P. 699-706.
38. Shi B., Sepp-Lorenzino L., Prisco M. et al. Micro RNA 145 targets the insulin receptor substrate-1 and inhibits the growth of colon cancer cells // *Biol. Chem.*, 2007, Vol. 282, P. 32582-32590.
39. Valeri N., Gasparini P., Fabbri M. et al. Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, Vol. 107, P. 6982-6987.
40. Schimanski C., Frerichs K., Rahman F. et al. High miR-196a levels promote the oncogenic phenotype of colorectal cancer cells // *World J. Gastroenterol*, 2009, Vol. 15, P. 2089-2096.
41. Tsang W., Ng E., Ng S. et al. Oncofetal H19-derived miR-675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer // *Carcinogenesis*, 2010, Vol. 31, P. 350-358.
42. Link A., Balaguer F., Shen Y. et al. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Mol.*, 2010, Vol. 19, P. 1766-7445.
43. Song B., Wang Y., Xi Y. et al. Mechanism of chemoresistance mediated by miR-140 in human osteosarcoma and colon cancer cells // *Oncogene*, 2009, Vol. 28, P. 4065-4074.
44. Song B., Wang Y., Titmus M. et al. Molecular mechanism of chemoresistance by miR-215 in osteosarcoma and colon cancer cells // *Mol. Cancer*, 2010, Vol. 9, P. 96.
45. Meng F., Henson R., Wehbe-Janek H. et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer // *Gastroenterology*, 2007, Vol. 133, P. 647-658.
46. Yamakuchi M., Lotterman C., Bao C. et al. P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, Vol. 107, P. 6334-6339.
47. Braun C., Zhang X., Savelyeva I. et al. P53-Responsive microRNAs 192 and 215 are capable of inducing cell cycle arrest // *Cancer Res.*, 2008, Vol. 68, P. 10094-10104.
48. Song B., Wang Y., Kudo K. et al. MiR-192 Regulates dihydrofolate reductase and cellular proliferation through the p53-microRNA circuit // *Clin. Cancer Res.*, 2008, Vol. 14, P. 8080-8086.
49. Bartel D. miRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions // *Cell*, 2009, Vol.136, P. 215-233.
50. Kruger J., Rehmsmeier M. RNAhybrid: miRNA target prediction easy, fast and flexible // *Nucleic Acids Res.*, 2006, Vol. 34, P. W451-454.
51. Rehmsmeier M., Steffen P., Hochsmann M., Giegerich R. Fast and effective prediction of miRNA/target duplexes // *RNA*, Vol. 10, P. 1507-1517.
52. Maragkakis M., Reczko M., Simossis V., Alexiou P., Papadopoulos G. et al, DIANA-microT web server: elucidating miRNA functions through target prediction // *Nucleic Acids Res.*, 2009, Vol. 37, P. W273-276.
53. Maragkakis M., Vergoulis T., Alexiou P., Reczko M., Plomaritou K., Gousis M. et al DIANA-microT web server upgrade supports fly and worm miRNA target prediction and bibliographic miRNA to disease association // *Nucleic Acids Res.*, 2011, Vol. 39, P. W145-148.
54. Maziere P., Enright A. Prediction of miRNA targets drug // *Discovery Today*, 2007, Vol. 12 (11/12), P. 452-458.
- \*\*\*
- Бұл жұмыста 686 интронды miRNA-дың адамның ток ішек ісік ауруының дамуына қатысты 54 геннің mRNA-мен гибридизация сайттары анықталды. Зерттелген miRNA-дың әрбір ген mRNA-ның 5'UTR, CDS және 3'UTR-мен байланыс сайттарының әртүрлі арақатынасы айқындалған. RNA функциональды бөліктерінің miRNA-мен байланыстыру сайттарының орналасу тығыздығына байланысты және бұл сайттардың саны бойынша гетерогенділік анықталды. Кейбір miRNA гендердің mRNA-на сұрыптаушылықпен ерекшеленеді.
- \*\*\*
- 686 hybridization sites of intronic miRNA with 54 mRNA of genes which take part in development of human colon cancer are established. The different parity of sites of linkage studied miRNA with 5'UTR, CDS and 3'UTR mRNA each gene is taped. Appreciable heterogeneity of functional sites mRNA on number of sites of linkage and on density of a locating of these sites with miRNA is established. Are found miRNA, possessing high selectivity to mRNA some genes.