

### Тұжырым

Жасанды қабық жасау өсімдік гермоплазмаларын сақтауда ең бір болашағы бар әдіс. Біздің зерттеулеріміз *Scutellaria* өсімдігінің жасанды тұқымын алып оны жартылай залалсыздандырылған ортада қайталан өсіріп шығаруға бағытталған

### Summary

Encapsulation is one of the promising methods of plant germplasm conservation. Our study is directed at producing of artificial seeds of *Scutellaria* genus plant species and artificial seed regeneration by planting in semi-sterile conditions.

УДК 577.21

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

## ОСОБЕННОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ МЕЖГЕННЫХ И ИНТРОННЫХ miRNA С mRNA ГЕНА Е-КАДЕРИНА ЧЕЛОВЕКА

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Установлено, что на mRNA гена Е-кадгерина (*CDH1*) человека действуют 29 межгенных miRNA и 15 интронных miRNA. Вычислены значения скоры и величины свободной энергии связывания miRNA с участками 3'-нетранслируемой области mRNA гена *CDH1*. Выявлены особенности связывания изученных miRNA с этой областью mRNA гена *CDH1*.

Эпителиальный кадгерин (Е-кадгерин) – основной трансмембранный белок, обеспечивающий клеточную адгезию. Е-кадгерин является кальций зависимым гликопротеином с трансмембранным участком и высоко консервативным цитоплазматическим фрагментом. Мутации в гене Е-кадгерина (*CDH1*) коррелируют с развитием рака пищевода, желудка, толстой кишки, легких, щитовидной железы, молочной железы, яичника, печени [1-6]. Нарушение экспрессии гена *CDH1* в опухоли сопровождается увеличением пролиферации, повышением инвазивной и метастазирующей активности [7, 8]. Выявлены мутации вызывающие альтернативный сплайсинг pre-mRNA гена *CDH1* [1].

В последние годы установлена важная регуляторная роль микроРНК (miRNA) в посттранскрипционной регуляции экспрессии большого числа белок-кодирующих генов. Многие miRNA участвуют в возникновении онкологических заболеваний и могут использоваться в качестве диагностических маркеров [7-9]. В связи с этим представляется важным выявить miRNA которые могут взаимодействовать с mRNA гена *CDH1* и регулировать его экспрессию. Цель настоящей работы заключалась в выявлении межгенных и интронных miRNA взаимодействующих с mRNA гена *CDH1*, а также изучения характеристик их связывания с mRNA.

### Материалы и методы

В качестве материала использованы нуклеотидные последовательности mRNA гена *CDH1* человека (*Homo sapiens*), взятые из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) build 37.2. Нуклеотидные последовательности miRNA и их pre-miRNA получены из базы данных miRBase (<http://mirbase.org>). Информация о роли и функции генов взята из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). miRNA, которые связываются с mRNA гена *CDH1*, взяты из базы данных microRNA.org. (<http://www.microRNA.org/microRNA/home/do>). Межгенными считали miRNA, гены которых локализованы между белок-кодирующими или другими генами (не генами miRNA) расположенными на одной или на комплементарных нитях ДНК, а также на нити комплементарной белок-кодирующему или другому гену. Интронными считали miRNA, которые кодируются в интронах белок-кодирующих генов. Для поиска интронных miRNA была разработана программа miRNA Finder 0.9.4 (<http://sites.google.com/site/malaheenee/software>). С помощью этой программы находили miRNA, которые имеют свое происхождение из интронов и действуют на ген *CDH1*. Для расчета скоры и энергии гибридизации использовали программу Miranda 3.3a (<http://mirbase.org>).

### Результаты и их обсуждение

Созданная база данных по 29 межгенным miRNA и 15 интронным miRNA взаимодействующих с mRNA гена *CDH1* приведена на таблицах 1 и 2. Из представленных данных видно, что гены miRNA, входящие в одно семейство, могут локализоваться не только в разных участках хромосомы, но и в разных хромосомах. Например, гены miRNA семейства let-7 локализованы в хромосомах 9 (let-7a-1, let-7d и let-7f), 11 (let-7a-2), 12 (let-7i) и 19 (let-7e). Гены miR-10a и miR-10b кодируются в хромосомах 17 и 2, гены miR-18a и miR-18b локализованы в хромосомах 13 и X, гены miR-199a-1 и miR-199b-5p кодируются в хромосомах 19 и 9, а гены miR-219-1 и miR-219-2 локализованы в хромосомах 6 и 9, соответственно (таблица 1). Такое расположение генов miRNA создает возможность сохранения регуляции экспрессии гена *CDH1* гомологичными miRNA в случае мутации miRNA в одном из сайтов.

Другим примером «помехоустойчивости регуляции» к мутациям служит следующий факт. На хромосоме 14 в участке с 101489662 по 101521828 нуклеотид локализованы гены нескольких межгенных miRNA: miR-329-1, miR-329-2, miR-382, miR-411, miR-485, miR-495 и miR-544 (Таблица 1).

**Таблица 1** - Локализация и нуклеотидная последовательность межгенных miRNA, действующих на mRNA гена *CDHI*

hsa-pre-miRNA	Хромосома и локализация pre-miRNA	miRNA	Нуклеотидная последовательность miRNA
1	2	3	4
let-7a-1	9: 96938239-96938318 [+]	let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU
let-7a-2	11: 122017230-122017301 [-]	let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU
let-7d	9: 96941116-96941202 [+]	let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU
let-7e	19: 522196039-52196117 [+]	let-7e	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU
let-7f-1	9: 96938629-96938715 [+]	let-7f	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU
let-7i	12: 62997466-62997549 [+]	let-7i	UGAGGUAGUAGUUUGUCUGUU
mir-10a	17: 46657200-46657309 [-]	miR-10a	UACCCUGUAGAUCGAAUUUGUG
mir-10b	2: 177015031-177015140 [+]	miR-10b	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG
mir-18a	13: 92003005-92003075 [+]	miR-18a	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG
mir-18b	X: 133304071-133304141 [-]	miR-18b	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGUUAG
mir-23a	19: 13947401-13947473 [-]	miR-23a	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC
mir-143	5: 148808481-148808586 [+]	miR-143	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC
mir-146a	5: 159912359-159912457 [+]	miR-146a	UGAGAACUGAAUCCAUGGGUU
mir-146b	10: 104196269-104196341 [+]	miR-146b-5p	UGAGAACUGAAUCCAUGGGCU
mir-197	1: 110141515-110141589 [+]	miR-197	UUCACCACCUUCUCCACCCAGC
mir-199a-1	19: 10928102-10928172 [-]	miR-199a-5p	CCCAGUGUUCAGACUACCUGUUC
mir-199b	9: 131007000-131007109 [-]	miR-199b-5p	CCCAGUGUUUAGACUACCUGUUC
mir-219-1	6: 33175612-33175721 [+]	miR-219-5p	UGAUUGUCCAAACGCAAUUCU
mir-219-2	9: 131154897-131154993 [-]	miR-219-5p	UGAUUGUCCAAACGCAAUUCU
mir-296	20: 57392670-57392749 [-]	miR-296-3p	GAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCC
mir-329-1	14: 101493122-101493201 [+]	miR-329	AACACACCCUGGUUAACCCUCUUU
mir-329-2	14: 101493437-101493520 [+]	miR-329	AACACACCCUGGUUAACCCUCUUU
mir-371	19: 54290929-54290995 [+]	miR-371-5p	ACUCAAAACUGUGGGGGCACU
mir-382	14: 101520643-101520718 [+]	miR-382	GAAGUUGUUCGUGGUGGAUUCG
mir-411	14: 101489662-101489757 [+]	miR-411	UAGUAGACCGUAUAGCGUACG
mir-485	14: 101521756-101521828 [+]	miR-485-5p	AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC
mir-495	14: 101500092-101500173 [+]	miR-495	AAACAAACAUGGUGCACUUCUU
mir-544	14: 101514995-101515085 [+]	miR-544	AUUCUGCAUUUUUAGCAAGUUC
mir-599	8: 100548864-100548958 [-]	miR-599	GUUGUGUCAGUUUAUCAAC

С одной стороны это может свидетельствовать о повышенной вероятности нарушения регуляции экспрессии гена *CDHI* сразу несколькими miRNA в случае возникновения мутаций изменяющих экспрессию генов всех miRNA на отрезке длиной 32167 нуклеотидов, а с другой стороны уменьшается вероятность нарушения этой регуляции точечными мутациями, поскольку в участке кодируется несколько miRNA.

Из данных таблицы 2 следует, что интронные miRNA, действующие на mRNA гена *CDHI*, происходят из pre-mRNA 15 белок-кодирующих генов. Следовательно, трансляция белка E-кадгерина зависит от экспрессии этих генов.

**Таблица 2** - Локализация и нуклеотидная последовательность интронных miRNA, связывающихся с mRNA гена *CDHI*

hsa-pre-miRNA	Хромосома и локализация pre-miRNA	Ген с miRNA	miRNA	Последовательность нуклеотидов miRNA
let-7f-2	X: 53584153-53584235 [-]	HUWE1	let-7f	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU
let-7g	3: 52302294-52302377 [-]	WDR82	let-7g	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU
mir-98	X: 53583184-53583302 [-]	HUWE1	miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU
mir-139	11: 72326107-72326174 [-]	PDE2A	miR-139-5p	UCUACAGUGCACGUGUCUCCAG
mir-185	22: 20020662-20020743 [+]	C22ORF25	miR-185	UGGAGAGAAAGGCAGUCCUGA
mir-224	X: 151127050-151127130 [-]	GABRE	miR-224	CAAGUCACUAGUGGUUCCGUU
mir-23b	9: 97847490-97847586 [+]	C9ORF3	miR-23b	AUCACAUUGCCAGGGAUUUACC
mir-326	11: 75046136-75046230 [-]	ARRB1	miR-326	CCUCUGGGCCUUCUCCAG
mir-330	19: 46142252-46142345 [-]	EML2	miR-330-5p	UCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGC
mir-338	17: 79099683-79099749 [-]	AATK	miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUAUUUUGUUG
mir-339	7: 1062569-1062662 [-]	C7ORF50	miR-339-5p	UCCUGUCCUCCAGGAGCUCACG
mir-340	5: 179442303-179442397 [-]	RNF130	miR-340	UUUAUAAGCAAUGAGACUGAUU
mir-362	X: 49773572-49773636 [+]	CLCN5	miR-362-3p	AACACACCUAUUCAAGGAUUC
mir-504	X: 137749872-137749954 [-]	FGF13	miR-504	AGACCCUGGUCUGCACUCUAUC
mir-590	7: 73605528-73605624 [+]	EIF4H	miR-590-3p	UAAUUUAUGUAUAAGCUAGU





