

**Биоинформатика,
геномика және
протеомика**

**Биоинформатика,
геномика и
протеомика**

**Bioinformatics,
Genomics and
Proteomics**

**Физикалық-
химиялық
биология**

**Физико-
химическая
биология**

**Physical-
chemical
Biology**

УДК 577.21

А.Ж. Алыбаева, Р.Е. Ниязова, А.Т. Иващенко*

Национальная нанотехнологическая лаборатория КазНУ имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан
*e-mail: a_ivashchenko@mail.ru

Характеристики связывания bta-miRNA с mRNA генов транскрипционных факторов семейства MYB *Bos taurus*

Изучены взаимодействия 749 miRNA генома *Bos taurus* с mRNA 20 генов транскрипционных факторов семейства MYB. Установлены сайты связывания 58 miRNA с mRNA восьми генов семейства MYB. В mRNA каждого из генов выявлено от трех сайтов связывания для гена *MYBL1* до 21 сайта связывания для гена *NCOR1*. MiR-1260b имела сайты связывания в mRNA генов *MIER1*, *NCOR1*, *RCOR1*. Девять miRNA имели сайты связывания в mRNA двух генов. Величина $\Delta G/\Delta G_m$, характеризующая степень сродства miRNA к mRNA, изменялась от 85 до 90%. Обсуждается роль bta-miRNA в регуляции экспрессии генов-мишеней транскрипционных факторов семейства MYB.

Ключевые слова: mRNA, miRNA, гены-мишени, транскрипционные факторы.

А.Ж. Алыбаева, Р.Е. Ниязова, А.Т. Иващенко

Bta-miRNA-ның MYB *Bos taurus* жиынтығы транскрипциондық факторлар гендерінің mRNA-сымен байланысуының сипаттамасы

Bos taurus геномының 749 miRNA-сының MYB *Bos taurus* жиынтығы транскрипциондық факторларының 20 генінің mRNA-сымен байланысуы зерттелді. 58 miRNA-ның сегіз геннің mRNA-мен байланысу сайттары анықталды. Әрбір геннің miRNA-сында *MYBL1* гені үшін үш байланысу сайты, *NCOR1* гені үшін 21 байланысу сайты табылды. Тоғыз miRNA екі геннің mRNA-сында байланысу сайттары анықталды. miRNA-ның mRNA-мен туыстық дәрежесін анықтайтын $\Delta G/\Delta G_m$ мәні 85%-дан 90%-ға дейін өзгерді. Bta-miRNA-ның MYB жиынтығы транскрипционды факторлар нысана-гендерінің экспрессиясын реттеудегі ролі талқылануда.
Түйін сөздер: mRNA, miRNA, нысана гендер, транскрипциондық факторлар.

A.Zh. Alybayeva, R.Y. Niyazova, A.T. Ivashchenko

Binding characteristics bta-miRNA with mRNA of MYB *Bos taurus* transcription factors family genes

The interaction 749 miRNA of *Bos taurus* genome with 20 MYB transcription factors family genes mRNA was studied. Installed 58 miRNA binding sites with eight MYB family gene mRNA. In mRNA each of the genes identified from three binding sites for gene *MYBL1* to 21 binding sites for gene *NCOR1*. MiR-1260b had binding sites in mRNA

MIER1, NCOR1, RCOR1 genes. Nine miRNA had binding sites in mRNA of two genes. The of $\Delta G / \Delta G_m$ value, characterizing the degree of affinity miRNA to mRNA, varied from 85 to 90%. The role of bta-miRNA in the regulation expression of MYB transcription factors target genes are discussed.

Keywords: mRNA, miRNA, target genes, transcription factors.

Семейство транскрипционных факторов (TF) животных и человека играет важную роль в развитии организма [1]. TF регулируют экспрессию генов, участвующих в клеточном цикле, апоптозе, метаболизме, сигнальных системах и других процессах, то есть имеют важное биологическое значение [2-5]. Мутации и нарушения экспрессии генов TF приводят к патологиям [2, 6-8], поэтому требуется изучение действия различных факторов влияющих на синтез TF. Природными регуляторами экспрессии генов являются miRNA, которые могут ингибировать процесс трансляции как частично, так и полностью, подавляя синтез белка на mRNA [9]. В настоящее время действие miRNA на экспрессию генов TF человека и животных изучено недостаточно и поэтому нами начато системное изучение влияния miRNA на экспрессию транскрипционных факторов, в том числе на семейство MYB.

Материалы и методы

Нуклеотидные последовательности mRNA 20 генов (*CDC5L, DMTF1, DNAJC1, DNAJC2, MIER1, MIER3, MYB, MYBL1, MYBL2, MYSM1, NCOR1, RCOR1, RCOR2, SMARCC1, SMARCC2, SNAPC4, TADA2A, TERF2, TTF1, ZZZ3*) транскрипционных факторов семейства MYB *Bos taurus* (коровы) взяты из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нуклеотидные последовательности 749 bta-miRNA взяты из базы данных miRBase (<http://mirbase.org>). Поиск генов-мишеней для miRNA проводили с помощью программы MirTarget, написанной в нашей лаборатории.

Эта программа определяет: начало сайтов связывания miRNA с mRNA; расположение сайтов в 5'-нетранслируемом участке (5'UTR), в белоккодирующей части (CDS) и в 3'UTR mRNA; свободную энергию гибридизации (ΔG , kJ/mole) и схемы взаимодействия нуклеотидов miRNA с mRNA. Рассчитано отношение $\Delta G / \Delta G_m$ (%), где ΔG_m равно свободной энергии связывания miRNA с полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью. Сайты связывания miRNA с mRNA отобраны с отношением $\Delta G / \Delta G_m$ равным более 85%. Позиция сайтов связывания указана от первого нуклеотида mRNA.

Результаты и их обсуждение

Нами установлены сайты связывания 58 miRNA с mRNA восьми генов семейства MYB *B. taurus*. Результаты этих исследований приведены в таблице 1 и показывают, что на mRNA гена *MIER1* действуют 5 miRNA с отношением $\Delta G / \Delta G_m$ от 85 до 88%. Ген *MIER1* участвует в онкогенезе [6, 7].

На mRNA гена *MYBL1* действуют три miRNA с отношением $\Delta G / \Delta G_m$ от 85 до 87%. С mRNA гена *MYSM1* связываются шесть miRNA, и величина $\Delta G / \Delta G_m$ изменяется от 85 до 89%. Наибольшее число сайтов связывания miRNA имеет mRNA гена *NCOR1*. Величина $\Delta G / \Delta G_m$ для 21 miRNA изменяется от 85 до 90%. На mRNA генов *RCOR1, SMARCC2* и *TTF1* действуют 10, 14 и 4 микроРНК, соответственно (таблица 1). Величина $\Delta G / \Delta G_m$ для этих miRNA изменяется в интервале от 85 до 89%.

Таблица 1 – Характеристики связывания bta-miRNA с mRNA генов транскрипционных факторов семейства MYB *Bos taurus*

Ген	bta-miRNA	Начало сайта, н.	$\Delta G / \Delta G_m$, %	Ген	bta-miRNA	Начало сайта, н.	$\Delta G / \Delta G_m$, %
<i>MIER1</i>	miR-1260b	79*	87	<i>RCOR1</i>	miR-1260b	4363**	87
<i>MIER1</i>	miR-1281	875*	87	<i>RCOR1</i>	miR-1814b	386***	87
<i>MIER1</i>	miR-2285a	3144**	86	<i>RCOR1</i>	miR-2305	4889**	86
<i>MIER1</i>	miR-2305	337*	86	<i>RCOR1</i>	miR-2374	2202**	88
<i>MIER1</i>	miR-2337	1900*	87	<i>RCOR1</i>	miR-2432	4126**	85
<i>MYBL1</i>	miR-193a	853*	85	<i>RCOR1</i>	miR-2898	1383*	87
<i>MYBL1</i>	miR-2284e	440*	85	<i>RCOR1</i>	miR-3141	2198**	86
<i>MYBL1</i>	miR-2437	2009*	85	<i>RCOR1</i>	miR-6122-3p	2810**	85

<i>MYSM1</i>	miR-2325c	1185*	87	<i>RCOR1</i>	miR-6527	2076**	85
<i>MYSM1</i>	miR-2386	533*	85	<i>RCOR1</i>	miR-7865	2197**	89
<i>MYSM1</i>	miR-2421	541*	89	<i>RCOR2</i>	miR-1306	1982**	86
<i>MYSM1</i>	miR-296-5p	2766**	86	<i>RCOR2</i>	miR-2313-5p	1504*	86
<i>MYSM1</i>	miR-6523b	2364*	85	<i>RCOR2</i>	miR-2441	1463*	87
<i>MYSM1</i>	miR-7864	1099*	87	<i>RCOR2</i>	miR-2464-3p	918*	87
<i>NCOR1</i>	miR-1260b	7296*	85	<i>RCOR2</i>	miR-2888	1395*	89
<i>NCOR1</i>	miR-1603	1241*	87	<i>RCOR2</i>	miR-3141	1459*	86
<i>NCOR1</i>	miR-211	2734*	88	<i>RCOR2</i>	miR-877	1301*	89
<i>NCOR1</i>	miR-2289	45***	87	<i>SMARCC2</i>	miR-1777a	3412**	86
<i>NCOR1</i>	miR-2300a-5p	2720*	85	<i>SMARCC2</i>	miR-211	2512*	87
<i>NCOR1</i>	miR-2333	5136*	86	<i>SMARCC2</i>	miR-2297	2407*	87
<i>NCOR1</i>	miR-2361	1017*	87	<i>SMARCC2</i>	miR-2328-3p	4062**	86
<i>NCOR1</i>	miR-2373-5p	4230*	86	<i>SMARCC2</i>	miR-2461-3p	4728**	87
<i>NCOR1</i>	miR-2381	5613*	89	<i>SMARCC2</i>	miR-2885	2576*	89
<i>NCOR1</i>	miR-2383	7107*	90	<i>SMARCC2</i>	miR-2917	3246*	87
<i>NCOR1</i>	miR-2393	1315*	88	<i>SMARCC2</i>	miR-296-5p	4765**	86
<i>NCOR1</i>	miR-2451	4550*	85	<i>SMARCC2</i>	miR-345-3p	3233*	88
<i>NCOR1</i>	miR-2469	3705*	85	<i>SMARCC2</i>	miR-3600	4736**	85
<i>NCOR1</i>	miR-27a-5p	3631*	87	<i>SMARCC2</i>	miR-545-5p	4983**	85
<i>NCOR1</i>	miR-2881	6473*	88	<i>SMARCC2</i>	miR-6529	3788**	85
<i>NCOR1</i>	miR-2885	6462*	87	<i>SMARCC2</i>	miR-6530	4456**	87
<i>NCOR1</i>	miR-2898	492*	87	<i>SMARCC2</i>	miR-758	2236*	85
<i>NCOR1</i>	miR-31	4868*	91	<i>TTF1</i>	miR-1343-3p	770***	85
<i>NCOR1</i>	miR-3154	2837*	89	<i>TTF1</i>	miR-186	2159*	87
<i>NCOR1</i>	miR-545-5p	1775*	87	<i>TTF1</i>	miR-2325c	1875*	87
<i>NCOR1</i>	miR-6535	3424*	86	<i>TTF1</i>	miR-2881	414***	87

Примечание. *, ** и *** – локализация сайта в CDS, 3'UTR и 5'UTR, соответственно.

Обычно одна miRNA связывается с несколькими генами транскрипционных факторов [10, 11]. Для mRNA генов транскрипционных факторов семейства MYB наблюдается противоположная картина. Так, с одной mRNA связываются от трех до 21 miRNA. Из 58 miRNA восемь связываются с двумя mRNA и только miR-1260b имеет три гена-мишени: *MIER1*, *NCOR1* и *RCOR1*. По-видимому, это обусловлено большой гетерогенностью членов семейства MYB у животных и растений [12, 13]. Величина $\Delta G/$

ΔG_m для miRNA связывающихся с mRNA генов семейства MYB не превышает 90%, что свидетельствует об отсутствии сильного влияния отдельных miRNA на экспрессию генов MYB *B. taurus*. Следует отметить, что выявленные гены транскрипционных факторов участвуют в развитии многих онкологических заболеваний, в том числе рака легкого и молочной железы [12-28]. Поэтому представляется важным установить какие miRNA действуют на ортологичные гены семейства MYB в геноме человека.

Литература

- 1 Zimin A.V., Delcher A.L., Florea L. et al. A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos Taurus* // *Genome Biol.* – 2009. – Vol. 10. – P. 42.
- 2 Matsuda A., Suzuki Y., Honda G. et al. Large-scale identification and characterization of human genes that activate NF-kappaB and MAPK signaling pathways // *Oncogene.* 2003. – Vol. 22. – P. 3307-3318.
- 3 Marhamati D.J., Bellas R.E., Arsura M. et al. A-myb is expressed in bovine vascular smooth muscle cells during the late G1-to-S phase transition and cooperates with c-myc to mediate progression to S phase // *Mol Cell Biol.* – 1997. – Vol. 17. – P. 2448-2457.
- 4 Sitzmann J., Noben-Trauth K., Klempnauer K.H. Expression of mouse c-myc during embryonic development // *Oncogene.* – 1995. – Vol. 11. – P. 2273-2279.
- 5 Oh I.H., Reddy E.P. The myb gene family in cell growth, differentiation and apoptosis // *Oncogene.* – 1999. – Vol. 18. – P. 3017-3033.
- 6 Clements J.A., Mercer F.C., Paterno G.D., Gillespie L.L. Differential splicing alters subcellular localization of the alpha but not beta isoform of the MIER1 transcriptional regulator in breast cancer cells // *PLoS One.* – 2012. - Vol. 7. – P. 1371.
- 7 McCarthy PL, Mercer FC, Savicky MW. et al. Changes in subcellular localisation of MIER1 alpha, a novel oestrogen receptor-alpha interacting protein, is associated with breast cancer progression // *Br J Cancer.* – 2008. – Vol. 99. – P. 639-646.
- 8 Andrejka L., Wen H., Ashton J. et al. Animal-specific C-terminal domain links myeloblastosis oncoprotein (Myb) to an ancient repressor complex // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2011. - Vol.108. – P. 17438-17443.

- 9 Shibata M., Nakao H., Kiyonari H. et al. MicroRNA-9 regulates neurogenesis in mouse telencephalon by targeting multiple transcription factors // *J Neurosci.* – 2011. – Vol.31. – P. 3407-3422.
- 10 Bari A.A., Orazova S.B., Ivashchenko A.T. miR156- and miR171-Binding Sites in the Protein-Coding Sequence of Some Plant Genes // *BioMed Res. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-7.
- 11 Сагайдак А.И., Пинский И.В., Иващенко А.Т., Ренья М., Бари А.А. Связывание miRNA с mRNA генов рост-регулирующих транскрипционных факторов арабидопсиса, риса и кукурузы // *Вестник. Серия биологическая.* – 2013. – Т. 3, № 59. – С. 289-292.
- 12 Choi H.K., Yoo J.Y., Jeong M.H. et al. Protein kinase A phosphorylates NCoR to enhance its nuclear translocation and repressive function in human prostate cancer cells // *J Cell Physiol.* – 2013. – Vol. 228. – P. 1159-1165.
- 13 Ali A.B., Nin D.S., Tam J., Khan M. Role of chaperone mediated autophagy (CMA) in the degradation of misfolded N-CoR protein in non-small cell lung cancer (NSCLC) cells // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6. – P. 268.
- 14 Zhang Z.H., Yamashita H., Toyama T. et al. Nuclear corepressor 1 expression predicts response to first-line endocrine therapy for breast cancer patients on relapse // *Chin Med J (Engl).* – 2009. – Vol. 122. – P. 1764-1768.
- 15 Abedin S.A., Thorne J.L., Battaglia S. et al. Elevated NCOR1 disrupts a network of dietary-sensing nuclear receptors in bladder cancer cells // *Carcinogenesis.* – 2009. – Vol. 30. – P. 449-456.
- 16 Cowger J.J., Zhao Q., Isovich M., Torchia J. Biochemical characterization of the zinc-finger protein 217 transcriptional repressor complex: identification of a ZNF217 consensus recognition sequence // *Oncogene.* – 2007. – Vol. 26. – P. 3378-3386.
- 17 Banck M.S., Li S., Nishio H. et al. The ZNF217 oncogene is a candidate organizer of repressive histone modifiers // *Epigenetics.* – 2009. – Vol. 4. – P.100-106.
- 18 Wang Y., Zhang H., Chen Y. et al. LSD1 is a subunit of the NuRD complex and targets the metastasis programs in breast cancer // *Cell.* – 2009. – Vol. 138. – P.660-672.
- 19 Kim S.S., Kim M.S., Yoo N.J., Lee S.H. Frameshift mutations of a chromatin-remodeling gene SMARCC2 in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability // *APMIS.* – 2013. – Vol. 121. –P.168-169.
- 20 Moshkin Y.M., Mohrmann L., van Ijcken W.F., Verrijzer C.P. Functional differentiation of SWI/SNF remodelers in transcription and cell cycle control // *Mol Cell Biol.* – 2007. – Vol. 27. – P. 651-661.
- 21 Inoue H., Giannakopoulos S., Parkhurst C.N., Matsumura T. et al. Target genes of the largest human SWI/SNF complex subunit control cell growth // *Biochem J.* – 2011. – Vol. 434. – P. 83-92.
- 22 Bochar D.A., Wang L., Beniya H. et al. BRCA1 is associated with a human SWI/SNF-related complex: linking chromatin remodeling to breast cancer // *Cell.* – 2000. – Vol. 102. – P. 257-265.
- 23 Nagl N.G., Patsialou A., Haines D.S. et al. The p270 (ARID1A/SMARCF1) subunit of mammalian SWI/SNF-related complexes is essential for normal cell cycle arrest // *Cancer Res.* – 2005. – Vol. 65. – P. 9236-9244.
- 24 Zu Y.F., Wang X.C., Chen Y., Wang JY. et al. Thyroid transcription factor 1 represses the expression of Ki-67 and induces apoptosis in non-small cell lung cancer // *Oncol Rep.* – 2012. – Vol. 28. – P. 1544-1550.
- 25 Galliani C.A., Bisceglia M., Lastilla G. et al. TTF-1 in embryonal tumors: an immunohistochemical study of 117 cases // *Am J Surg Pathol.* – 2011. – Vol. 35. – P. 1422-1425.
- 26 Fernández-Aceñero M.J., Córdova S., Manzarbeitia F., Medina C. Immunohistochemical profile of urothelial and small cell carcinomas of the bladder // *Pathol Oncol Res.* – 2011. – Vol. 17. – P. 519-523.
- 27 Yoon S.O., Kim Y.T., Jung K.C. et al. TTF-1 mRNA-positive circulating tumor cells in the peripheral blood predict poor prognosis in surgically resected non-small cell lung cancer patients // *Lung Cancer.* – 2011. – Vol. 71. – P. 209-216.
- 28 Ye J., Hameed O., Findeis-Hosey J.J. et al. Diagnostic utility of PAX8, TTF-1 and napsin A for discriminating metastatic carcinoma from primary adenocarcinoma of the lung // *Biotech Histochem.* – 2012. – Vol. 87. – P. 30-34.