

10 Gregersen L.H., Jacobsen A.B., Frankel L.B. et al. *MicroRNA-145 Targets YES and STAT1 in Colon Cancer Cells // PLoS One.* - 2010. - V. 5 (1). - e8836

11 Moore K.J., Rayner K.J., Suárez Y., Fernández-Hernando C. *The Role of MicroRNAs in Cholesterol Efflux and Hepatic Lipid Metabolism // Annu. Rev. Nutr.* - 2010. - aug,18. - e21548778.

12 Ogier-Denis, E., Vandewalle, A., Laburthe, M. *MicroARN et physiopathologie intestinale // Medicine science.* - 2007. - V. 23. - № 1. - P. 1-6.

13 Roldo C., Missiaglia E., Hagan J. P. *MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior // J. Clin. Oncol.* - 2006. - V. 24. - № 29. - P. 4677-4684.

14 Gee H.E., Buffa F.M., Camps C., Ramachandran A. et al. *The small-nucleolar RNAs commonly used for microRNA normalisation correlate with tumour pathology and prognosis // Br. J. Cancer.* - 2011. - V. 104 (7). - P. 1168-1177.

15 Dumas C. *Cancer: découverte d'un nouveau responsable de la métastase // Bulletin du Cancer.* - 2005. - V. 92. - № 9. - P. 757-762.

16 Bandyopadhyay S., Mitra R., Maulik U., Zhang M. *Development of the human cancer microRNA network // Silenc.* - 2010. - 1. - P. 6.

### Тұжырым

Бұл жұмыста 686 интронды miRNA-дың интронды miRNA кодтайтын 51 геннің mRNA-мен байланысу сайттары анықталды. Зерттелген miRNA-дың әрбір геннің mRNA-ның 5'UTR, CDS және 3'UTR-мен байланысу ерекшеліктері зерттелді. RNA функциональді бөліктерінің miRNA-мен байланыстыру сайттарының саны бойынша және бұл сайттардың орналасу тығыздығына байланысты гетерогенділік анықталды. Кейбір miRNA гендердің mRNA-на сұрыптаушылықпен ерекшеленеді.

### Summary

Sites of interaction 686 intronic miRNAs with mRNAs of 51 genes coding intronic miRNAs are established. Peculiarities of interaction of observed miRNAs with mRNAs of each gene in 5'UTR, CDS and 3'UTR are revealed. Appreciable heterogeneity of functional sites of mRNAs on number of sites of linkage miRNAs with mRNAs and on density of locating of these sites is established. Intronic miRNAs differ by selectivity to mRNAs of certain genes are revealed.

УДК 577.21

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

## СВОЙСТВА МЕЖГЕННЫХ miRNA ЧЕЛОВЕКА И ОСОБЕННОСТИ ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С mRNA

(Казакский национальный университет им. аль-Фараби)

Установлены сайты взаимодействия 784 межгенных miRNA с mRNA 52 генов кодирующих интронные miRNA. Выявлены особенности взаимодействия изученных miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA каждого гена.

Обнаружение miRNA одно из важных открытий XXI века, которое существенно дополняет представления о регуляции процесса трансляции. miRNA – это малые некодирующие белок последовательности РНК длиной 16-27 нуклеотидов [1]. Эндогенная miRNA кодируется в геномах вирусов [2], бактерий [3], одноклеточных эукариот [4], беспозвоночных [5], высших растительных [6] и животных организмов [7]. miRNA регулируют экспрессию генов на пост-транскрипционном этапе блокируя инициацию или элонгацию трансляции. При высокой комплементарности mRNA гена с miRNA, mRNA подвергается деградации в процессирующих тельцах (п-тельцах) [8].

Большой интерес к miRNA проявляется потому, что нарушение профиля экспрессии miRNA связывают с различными системными заболеваниями, такими как рак [9,10], сердечно-сосудистые [11] и аутоиммунные заболевания [12]. Перспективы дальнейших исследований в этой области связаны с разработкой диагностических методов, развитием новых подходов лечения этих заболеваний на основе miRNA, предсказыванием и прогнозированием эффективности терапии.

Сайты взаимодействия miRNA с mRNA гена расположены на всех участках гена: 3'-нетранслируемом участке (3'UTR), 5'-нетранслируемом участке (5'UTR), белок-кодирующей нуклеотидной последовательности (CDS). Но большинство исследований посвящено изучению взаимодействию miRNA с 3'UTR mRNA [13] и существующие базы данных составлены в основном только по сайтам в 3'UTR mRNA. Однако, опубликованы данные исследований демонстрирующие эффективное взаимодействие miRNA с mRNA в 5'UTR и CDS [14, 15].

Многие miRNA кодируются в межгенных участках ДНК, поэтому эти miRNA называют межгенные miRNA (ig-miRNA). Интронные miRNA (in-miRNA) кодируются в интронах белок-кодирующих генов и транскрибируются с DNA автономно от транскрипции pre-mRNA при наличии собственного промотора, либо вырезаются из pre-mRNA в виде pre-miRNA.

При транскрипции межгенных miRNA образуются первичные транскрипты, которые обозначаются как pri-miRNA. В последовательности pri-miRNA могут содержаться несколько pre-miRNA. В большинстве случаев десятки miRNA кодируются в одном кластере и вырезаются из одной pri-miRNA. Вырезание pre-miRNA из последовательности pri-miRNA происходит в ядре. Далее в цитоплазме осуществляется созревание miRNA путем вырезания из pre-miRNA двунитевой нуклеотидной последовательности со смещенными на 2 нуклеотида 5'- и 3'-концами. В большинстве случаев одна из этих нитей после образования комплекса с RISC (RNA-induced silencing complex) становится активной и связывается с mRNA-мишенью. Но в некоторых случаях работают обе молекулы, так как комплементарность этих зрелых miRNA не полная. В зависимости от степени комплементарности miRNA с mRNA при связывании комплекса RISC с mRNA и некоторых других свойств образовавшийся ассоциат приводит либо к блокированию синтеза белка, либо к разрезанию mRNA [16].

В настоящей работе изучены свойства miRNA человека и особенности их взаимодействия с mRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR. В качестве мишеней для ig-miRNA выбраны mRNA генов кодирующих in-miRNA. Эти гены представляют интерес, во-первых, как мишени для всех типов miRNA, и, во-вторых, как онкогены и онко-супрессорные гены рака желудочно-кишечного тракта. Подавляющее число работ по изучению miRNA проводилось с целью выявления взаимодействия отдельных miRNA с конкретными mRNA, а также их взаимосвязанной экспрессии. Представляется важным установить особенности и закономерности взаимодействия между 784 межгенными miRNA и 52 mRNA генов кодирующих miRNA.

#### Материалы и методы

В качестве материала использованы нуклеотидные последовательности mRNA генов, содержащих в интронах miRNA, заимствованы из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) build 37.2. Нуклеотидные последовательности miRNA и их pre-miRNA получены из базы данных miRBase (<http://www.mirbase.org>).

Для поиска интронных miRNA была разработана программа miRNA Finder 2.2 (<http://sites.google.com/site/malaheenee/software/mirna-finder>). Для расчета величины свободной энергии гибридизации ( $\Delta G$ ) использовали программу RNAHybrid 2.1 (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid/>). Поиск сайтов связывания miRNA проводили по всей нуклеотидной последовательности mRNA. Отбирались сайты с наибольшей величиной свободной энергии относительно значения  $\Delta G$  взаимодействия miRNA с полностью комплементарным участком mRNA. Сайты взаимодействия miRNA с mRNA определяли на основании величины  $\Delta G$  и ее стандартного отклонения для каждого сайта с уровнем достоверности  $p < 0,002$ .

#### Результаты и их обсуждение

С помощью разработанной программы для каждого гена были установлены межгенные miRNA, которые взаимодействуют с mRNA соответствующего гена (таблицы 1-5). Все гены распределили по группам в зависимости от особенностей взаимодействия их mRNA с ig-miRNA. Средняя плотность сайтов связывания ig-miRNA с mRNA и их 5'UTR, CDS и 3'UTR составляла соответственно 10,6; 26,6; 11,4 и 7,8 сайтов в расчете на 1000 нуклеотидов их длины в каждой из этих нуклеотидных последовательностей.

После формирования групп генов с отчетливо выраженными особенностями взаимодействия их mRNA и ее 5'UTR, CDS и 3'UTR с ig-miRNA (таблицы 1-4) оставшиеся гены представлены в таблице 5. Было выявлено, что mRNA разных генов существенно отличаются по количеству сайтов взаимодействия с miRNA. Для ig-miRNA среднее число сайтов в mRNA гена с нормированием ее длины на тысячу нуклеотидов равнялось 2,1 (*TNFAIP6*) до и 44,3 сайтов (*BBC3*) при длине этих генов равной 1423 н. и 1827 н., соответственно. Это говорит о том, что экспрессия гена *BBC3* находится под сильным селективным контролем со стороны miRNA, а в регуляции экспрессии гена *TNFAIP6* miRNA практически не участвуют.

В таблице 1 приведены данные о mRNA генов в 5'UTR которых имеется повышенная плотность сайтов взаимодействия с ig-miRNA.

**Таблица 1** - Характеристики связывания ig-miRNA с mRNA генов обладающих высоким средством 5'UTR к miRNA.

Ген	Длина гена	Длина 5'UTR	Длина CDS	Длина 3'UTR	miRNAs на ген	Сайты/ген	Сайты/5'UTR	Сайты/CDS	Сайты/3'UTR
<i>BRE</i>	1891	177	1248	466	21	11,1	28,3	8,8	10,7
<i>DNMT3A</i>	4380	338	2739	1303	82	7,1	59,2	20,1	5,4
<i>EBF3</i>	4361	59	1656	2646	22	5,0	50,9	7,3	2,7
<i>EPCAM</i>	1718	358	945	415	17	9,9	41,9	1,1	2,4
<i>EPHB2</i>	4866	145	2961	1760	77	15,8	55,2	13,2	17,1
<i>ERBB4</i>	11923	98	3927	7898	43	3,6	61,2	4,8	2,3
<i>HDAC4</i>	8976	792	3255	4929	176	19,6	78,3	20,0	9,9
<i>HNF4A</i>	1600	89	1254	257	23	14,4	101,1	10,4	3,9
<i>MAP2K4</i>	3743	69	1200	2475	20	5,3	43,5	5,8	4,0
<i>MAP7D2</i>	4151	117	2321	1713	37	8,9	42,7	13,4	0,6
<i>NR2F2</i>	5110	1224	1244	2642	78	15,3	35,1	20,1	3,8
<i>PTPRJ</i>	7849	355	4013	3481	66	8,4	56,3	7,0	4,9
<i>SDCCAG8</i>	2604	156	2141	307	21	8,1	38,5	7,0	0,0
<i>SLIT2</i>	4950	204	4589	157	31	6,3	29,4	5,5	0,0

<i>SLIT3</i>	5380	420	4571	389	110	20,5	83,3	15,5	10,3
Ср.значение	4900	257	2538	2056	55	10,6	53,7	10,7	5,2

В mRNA этих генов имеется высокая сопряженность между числом сайтов ig-miRNA во всей mRNA, 5'UTR, CDS и 3'UTR. Коэффициент корреляции между числами сайтов связывания равен  $r = 0,9$  и величина  $p < 1,9e-10$ . Следовательно, сходство mRNA этих генов по сродству к ig-miRNA далеко не случайно. Остается загадкой причина высокого сходства mRNA этих генов по действию на них in-miRNA и ig-miRNA.

Среди изученных генов есть такие, mRNA которых не содержит в 5'UTR ни одного сайта для ig-miRNA (таблица 2). Средняя длина 5'UTR (таблицы 1 и 2) в группе mRNA мишеней для ig-miRNA меньше в 3,9 раза. То есть, ожидаемая плотность равна 13,8 сайта, однако реальная плотность сайтов равна нулю (таблица 2). По-видимому, это большое отличие сродства ig-miRNA к 5'UTR связано с биологической функцией данных генов.

**Таблица 2** - Характеристики связывания ig-miRNA с mRNA генов обладающих низким сродством 5'UTR к miRNA

Ген	Длина гена	Длина 5'UTR	Длина CDS	Длина 3'UTR	miRNAs на ген	Сайты/ген	Сайты/5'UTR	Сайты/CDS	Сайты/3'UTR
<i>ABCF1</i>	3464	95	2538	831	19	5,5	0,0	6,7	2,4
<i>CDH13</i>	3828	120	2142	1566	23	6,0	0,0	7,5	4,5
<i>EIF4H</i>	2546	8	747	1791	26	10,2	0,0	5,4	12,3
<i>EVL</i>	1842	87	1257	498	22	11,9	0,0	14,3	8,0
<i>IGF1R</i>	11242	50	4104	7088	100	8,9	0,0	8,5	9,2
<i>MRE11A</i>	5141	189	2126	2826	18	3,5	0,0	6,6	1,4
<i>NOTCH1</i>	9294	0	7670	1624	133	14,3	0,0	15,5	8,6
<i>TNKS</i>	9599	5	3983	5611	54	5,6	0,0	11,3	1,6
Ср.значение	6213	66	3147	3001	49	8,6	0,0	9,9	6,5

К числу не случайных явлений следует отнести и полное сходство перечня генов, mRNA которых не имеет в 3'UTR сайтов связывания с ig-miRNA (таблица 3). Приведенные результаты исследований свидетельствуют о том, что широко распространенное мнение, что miRNA действуют в основном на 3'UTR и все регуляторные действия этих miRNA объясняются с этой позиции неверно. Гены *ABCA6* и *CCAR1* не включены в таблице 2 с отсутствием сайтов связывания ig-miRNA в 5'UTR, потому что длина 5'UTR меньше длины 3'UTR.

**Таблица 3** - Характеристики связывания ig-miRNA с mRNA генов обладающих низким сродством 3'UTR к miRNA

Ген	Длина гена	Длина 5'UTR	Длина CDS	Длина 3'UTR	miRNAs на ген	Сайты/ген	Сайты/5'UTR	Сайты/CDS	Сайты/3'UTR
<i>ABCA6</i>	5296	174	4853	267	11	2,1	0,0	2,3	0,0
<i>CCAR1</i>	3858	118	3452	286	19	4,9	8,4	5,2	0,0
<i>PRKG1</i>	3824	1614	2015	195	16	4,2	6,8	2,5	0,0
<i>TNFAIP6</i>	1423	76	833	514	3	2,1	13,2	2,4	0,0
Ср.значение	3600	146	2788	316		3,3	7,1	3,1	0,0

Среди mRNA изученных генов выявлены такие, которые имеют повышенное содержание сайтов связывания ig-miRNA (таблица 4) почти во всех участках, то есть в 5'UTR, CDS и особенно в 3'UTR.

**Таблица 4** - Характеристики связывания ig-miRNA с mRNA генов обладающих повышенным сродством большинства участков к miRNA

Ген	Длина гена	Длина 5'UTR	Длина CDS	Длина 3'UTR	miRNAs на ген	Сайты/ген	Сайты/5'UTR	Сайты/CDS	Сайты/3'UTR
<i>AATK</i>	5312	80	4125	1107	155	29,2	125,0	30,6	17,2
<i>AKT2</i>	5263	262	1446	3555	100	19,0	11,5	16,6	20,5
<i>BBC3</i>	1827	164	786	877	81	44,3	6,1	53,4	43,3
<i>BIRC7</i>	1322	173	897	252	26	19,7	23,1	21,2	11,9
<i>EGFL7</i>	1529	315	822	392	40	26,2	31,8	25,6	23,0
<i>LFNG</i>	2374	17	1140	1217	47	19,8	58,8	26,3	13,2
<i>LRP1</i>	14905	466	13635	804	194	13,0	32,2	11,8	22,4
<i>LRRC4</i>	3707	1608	1962	137	29	7,8	6,2	7,7	29,0
<i>MCM7</i>	2900	1117	1632	151	16	12,1	15,2	11,7	26,3
Ср.значение	4349	169	2938	944	76	21,2	34,4	22,8	23,0

Для оставшихся генов характеристики связывания их mRNA с ig-miRNA (таблица 5) близки приведенным выше средним характеристикам связывания всех интронных и межгенных miRNA с mRNA 52 генов.

**Таблица 5 - Характеристики связывания ig-miRNA с mRNA генов обладающих средним средством к miRNA.**

Ген	Длина гена	Длина 5'UTR	Длина CDS	Длина 3'UTR	miRNAs на ген	Сайты/ ген	Сайты/ 5'UTR	Сайты/ CDS	Сайты/ 3'UTR
<i>ANTXR1</i>	5893	356	1695	3842	13	2,2	2,8	3,0	1,8
<i>ATF2</i>	2111	262	1518	331	15	7,1	19,1	6,6	0,0
<i>BCAS1</i>	3475	338	1755	1382	24	6,9	8,9	8,6	4,3
<i>BID</i>	2490	324	726	1440	23	9,2	15,4	15,2	4,9
<i>BIRC6</i>	15703	134	14574	995	57	3,6	7,5	4,4	1,0
<i>DMD</i>	13993	244	11058	2691	59	4,2	8,2	4,9	1,1
<i>DTL</i>	4412	314	2193	1905	21	4,8	12,7	3,7	4,7
<i>FBXW7</i>	3896	149	2124	1623	8	2,1	6,7	1,9	1,9
<i>FOXP1</i>	6222	526	2034	3662	41	6,6	22,8	9,3	2,7
<i>GIPR</i>	2024	99	1401	524	39	19,3	0,0	26,4	3,8
<i>HUWE1</i>	14735	403	13125	1207	145	9,8	22,3	9,5	9,1
<i>IGF2</i>	5165	752	543	3870	84	16,3	22,6	12,9	15,5
<i>MTUS1</i>	6419	473	3812	2134	38	5,9	21,1	4,5	5,2
<i>PTK2</i>	4453	230	3158	1065	17	3,8	17,4	3,8	0,9
<i>SPATA13</i>	8457	322	3833	4302	85	10,1	27,9	13,6	5,6
<i>DCC</i>	10210	616	4344	5250	49	4,9	14,6	6,7	2,3
Ср.значение	6630	336	4237	2065	45	7,5	14,4	8,5	4,2

Наибольшая плотность сайтов взаимодействия miRNA с mRNA характерна для 5'UTR. Если исходить из биологической роли miRNA как регуляторов трансляции, то быстрее и энергетически выгоднее блокировать трансляцию на 5'UTR. Связывание miRNA с CDS предполагает прекращение элонгации белка при достижении соответствующего сайта их взаимодействия. При связывании miRNA с 3'UTR белок может синтезироваться полностью, либо блокироваться на последних этапах элонгации если комплекс RISC будет этому препятствовать. Рассмотренные выше отличия взаимодействия miRNA с mRNA различных генов свидетельствует о неслучайном выборе определенных участков mRNA для взаимодействия с miRNA. Можно предположить, что mRNA этих генов в процессе эволюции обрели такую 3D конформацию, которая позволяет 5'UTR, CDS и 3'UTR в взаимодействовать с соответствующими miRNA. Кроме этого, в mRNA генов, не взаимодействующих с miRNA в 5'UTR, средняя длина этого участка короткая и составляет 66 н. (таблица 2).

Многие ig-miRNA связываются в некоторых mRNA с несколькими сайтами. Например, с CDS mRNA гена *NOTCH1* связываются в пяти сайтах miR-1268, miR-3665, miR-4266, miR-4455 и miR-4472. С 5'UTR mRNA гена *HDAC4* связываются в пяти сайтах miR-1268, miR-4443, miR-4466, miR-4483 и в шести сайтах miR-4674. miR-4508 имеет 32 сайта связывания в 18 генах и из этих сайтов 15 расположены в 5'UTR, что явно не случайно. mRNA гена *AAKT* имеет по 5 сайтов связывания для ig-miRNA: miR-1268, miR-4266, miR-4455, miR-4466, miR-4472 и miR-4492.

Количество сайтов связывания miRNA с mRNA говорит о силе контроля экспрессии гена со стороны соответствующей miRNA, а количество генов контролируемых конкретной miRNA свидетельствует о функциональной важности этой miRNA.

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о важной регуляторной роли межгенных miRNA в большом спектре биологических процессов, хотя исследование проведено только с 52 геном. Увеличение числа генов являющихся мишенями для miRNA позволит получить новые свойства и закономерности регуляции экспрессии генов человека с помощью miRNA.

#### Литература

- 1 Olena A.F., Patton J.G. Genomic organization of microRNAs // *J Cell Physiol.* 2010. Vol. 222 (3). P. 540-5
- 2 Parameswaran P., Sklan E., Wilkins C., Burgon T., Samuel M.A. et al. Six RNA viruses and forty-one hosts: viral small RNAs and modulation of small RNA repertoires in vertebrate and invertebrate systems // *PLoS Pathog.*, 2010. Vol. 6. e1000764.
- 3 Chabelskaya S., Gaillot O., Felden B. A *Staphylococcus aureus* small RNA is required for bacterial virulence and regulates the expression of an immune-evasion molecule // *PLoS Pathog.*, 2010. Vol. 6. e1000927.
- 4 Braun L., Cannella D., Ortet P., Barakat M., Sautel C.F. et al. A complex small RNA repertoire is generated by a plant/fungal-like machinery and effected by a metazoan-like argonaute in the single-cell human parasite *Toxoplasma gondii* // *PLoS Pathog.*, 2010. Vol. 6. e1000920.
- 5 Parameswaran P., Sklan E., Wilkins C. et al. Six RNA Viruses and Forty-One Hosts: Viral Small RNAs and Modulation of Small RNA Repertoires in Vertebrate and Invertebrate Systems // *PLoS Pathog.* 2010. Vol. 6 (2):e1000764

- 6 Zhang B., Pan X., Cobb G.P., Anderson T.A. *Plant microRNA: A small regulatory molecule with big impact* // *Developmental Biology*, 2006. Vol. 289. P. 3-16.
- 7 Fabian M.R., Sonenberg N., Filipowicz W. *Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs* // *Annu Rev Biochem*. 2010. Vol. 79. P. 351-79.
- 8 Kozlov G., Safaee N., Rosenauer A. et al. *Structural basis of binding of P-body associated proteins GW182 and Ataxin-2 by the Mle domain of poly(A)-binding protein* // *J Biol Chem*. 2010. 20181956
- 9 Wang Y.X., Zhang X.Y., Zhang B.F. *Initial study of microRNA expression profiles of colonic cancer without lymph node metastasis* // *J Dig Dis*. 2010. Vol. 11 (1). P. 50-4.
- 10 Galardi S., Mercatelli N., Farace M.G., Ciafre S.A. *NF- $\kappa$ B and c-Jun induce the expression of the oncogenic miR-221 and miR-222 in prostate carcinoma and glioblastoma cells* // *Nucleic Acids Research*, 2011. Vol. 39. P. 3892-3902.
- 11 Latronico M.V.G., Catalucci D., Condorelli G. *Emerging role of microRNAs in cardiovascular biology* // *Circul. Res.*, 2007. Vol. 101. P. 1225-1236.
- 12 Alevizos I., Illei G.G. *MicroRNAs as biomarkers in rheumatic diseases* // *Nat Rev Rheumatol*. 2010. Vol. 6 (7). P.391-8
- 13 Cui W., Zhang Y., Hu N. et al. *miRNA-520b and miR-520e sensitize breast cancer cells to complement attack via directly targeting 3'UTR of CD46* // *Cancer Biol Ther*. 2010. Vol. 10 (3). P. 232-41
- 14 Fang Z., Rajewsky N. *The Impact of miRNA Target Sites in Coding Sequences and in 3'UTRs*. *PLoS One*. 2011. Vol. 6 (3). e18067
- 15 Ajay S.S., Athey B.D., Lee I. *Unified translation repression mechanism for microRNAs and upstream AUGs* // *BMC Genomics*. 2010. Vol. 5;11. (1). P. 155
- 16 Saini H., Enright A., Griffiths-Jones S. *Annotation of Mammalian Primary microRNAs* // *BMC Genomics*. 2008. Vol. 27;9. No. (1):564.

#### Тұжырым

Бұл жұмыста 784 генаралық miRNA-дың интронды miRNA кодтайтын 52 геннің mRNA-мен байланысу сайттары анықталды. Зерттелген miRNA-дың әрбір геннің mRNA-ның 5'UTR, CDS және 3'UTR-мен байланысу ерекшеліктері зерттелді.

#### Summary

Sites of interaction of 784 intergenic miRNAs with mRNAs of 52 genes coding intronic miRNAs are established. Features of interaction of observed miRNAs with mRNAs of each gene in 5'UTR, CDS and 3'UTR are revealed.

#### УДК 581.1.035

Мухамбетжанов С.К., Мурсалиева В.К., Вечерко Н.А., Нам С.В.

### ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛОВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ РОЗ

(Институт биологии и биотехнологии растений)

*Оптимизированы протоколы использования питательных для микроклонального размножения роз относящихся к разным садовым группам.*

В последние годы в литературе появились обзоры, посвященные размножению роз путем клонирования *in vitro*, анализ которых показывает, что различные сорта роз имеют различную требовательность к составу питательных сред [1-3]. Проведенные собственные исследования выявили зависимость процессов получения миничеренков, их укоренения *in vitro* от правильного подбора питательных сред, протоколов их использования с учетом сортовых особенностей роз [4,5].

В настоящее время большинство исследований по клональному размножению коммерческих сортов роз направлено на оптимизацию состава питательных сред, особенно подбор оптимальных концентраций и комбинаций различных регуляторов роста [6-9].

Так, при введении в культуру нового сорта или даже эксплантов разного происхождения одного и того же сорта возникают различные требования к подбору культуральной среды определенного состава. Часто для введения в культуру, выведения из состояния покоя экспланта и поддержания жизнеспособности может быть оптимальной среда одного состава, а для активизации роста и развития дополнительных побегов, индукции корнеобразования более эффективными будут другие.

Одной из сложностей на этапе введения в культуру роз является ингибирование ростовых процессов токсическими веществами (продуктами окисления фенолов) выделяемыми эксплантом в питательную среду в результате травмы, полученной им при изолировании [1-3]. Одним из способов снижения влияния продуктов фенольного окисления является включение в питательную среду антиоксидантов и пассирование на свежую питательную среду исходного состава.

Введение в питательную среду ауксинов (НУК, ИМК) и цитокининов (БАП, кинетин, зеатин) в различных соотношениях оказывало положительное влияние на жизнеспособность эксплантов, стимулировало