

1. Song Q.-X., Liu Y.-F., Hu X.-Y., Zhang W.-K., Ma B., Chen S.-Y., Zhang J.-S. Identification of miRNAs and their target genes in developing soybean seeds by deep sequencing // *BMC Plant Biology*, 2011, V.11, P.5-21.
2. Ivashuta S., Banks I., Wiggins B., Zhang Y., Ziegler T., Roberts J., Heck G. Regulation of gene expression in plants through miRNA inactivation // *PLoS ONE*, 2011, V.6, P.e21330.
3. Todesco M., Rubio-Somoza I., Paz-Ares J., Weigel D. A collection of target mimics for comprehensive analysis of microRNA function in *Arabidopsis thaliana* // *PLoS Genet.*, 2010, V. 6, P.e1001031.
4. Schwab R., Palatnik J., Riester M., Schommer C., Schmid M., Weigel D. Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome // *Develop. Cell*, 2005, V.8, P.517-527.
5. Axtell M., Bartel D. Antiquity of MicroRNAs and their targets in land plants // *Plant Cell*, 2005, V.17, P.1658-1673.
6. Jones-Rhoades M., Bartel D. MicroRNAs and their regulatory roles in plants // *Ann.Rev. Plant Biol.*, 2006, V.57, P.19-53.
7. Nair S., Wang N., Turuspekov Y., Pourkheirandish M. et al. Cleistogamous flowering in barley arises from the suppression of microRNA-guided HvAP2 mRNA cleavage // *PNAS USA*, 2010, V.107, P.490-496.
8. Bartel D. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions // *Cell* 2009, V.136, P.215-233.
9. Willmann M., Mehalick A., Packer R., Jenik P. MicroRNAs regulate the timing of embryo maturation in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*, 2011, V.155, P.1871-1884.
10. Nodine M., Bartel D. MicroRNAs prevent precocious gene expression and enable pattern formation during plant embryogenesis. // *Genes Dev.*, 2010, V.24, P.2678-2692.
11. Buhtz A., Pieritz J., Springer F., Kehr J. Phloem small RNAs, nutrient stress responses, and systemic mobility // *BMC Plant Biol.*, 2010, V.10, P.64-68.
12. Kant S., Peng M., Rothstein S. Genetic regulation by NLA and microRNA827 for maintaining nitrate-dependent phosphate homeostasis in *Arabidopsis* // *PLoS Genet.*, 2011, V.7, P.e1002021.
13. Valderrama-Lopez O., Yang S., Aparicio-Fabre R., Graham P., Reyes J., Vance C., Hernandez G. MicroRNA expression profile in common bean (*Phaseolus vulgaris*) under nutrient deficiency stresses and manganese toxicity // *New Phytol.*, 2010, V.187, P.805-818.
14. Ding Y., Chen Z., Zhu C. Microarray-based analysis of cadmium-responsive microRNAs in rice (*Oryza sativa*) // *Journal Exper. Botany*, 2011, P.1-11, doi:10.1093/jxb/err046.
15. Khraiweh B., Zhu J.-K., Zhu J. Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants // *Bioch. Biophys. Acta*, 2011, doi:10.1016/j.bbagr.2011.05.001
16. Kuo H.-F., Chiou T.-J. The role of microRNAs in phosphorus deficiency signaling // *Plant Physiology*, 2011, V.156, P.1016-1024.
17. Sunkar R. MicroRNAs with macro-effect on plant stress responses // *Seminars in Cell and Devel. Biol.*, 2010, V.21, P.805-811.
18. Sunkar R., Chinnusamy V., Zhu J., Zhu J.-K. Small RNAs as big players in plant abiotic stress responses and nutrient deprivation // *TRENDS in Plant Science*, 2007, V.12, P.301-309.
19. Devers E., Branscheid A., May P., Krajinski F. Stars and symbiosis: microRNA- and microRNA*-mediated transcript cleavage involved in arbuscular mycorrhizal symbiosis // *Plant Physiology*, 2011, V.156, P.1990-2010.
20. Бари А., Атамбаева Ш., Оразова С., Бакенова Д., Иващенко А. МикроРНК при стрессе у растений // *Вестник КазНУ им. аль-Фараби, серия биол.*, 2011, №4(50), С.34-37.

Arabidopsis thaliana 4 хромосомасының 236 ген mRNA мен miR414тің байланыс сипаттамасы анықталған. Зерттелген гендер mRNA мен miR414тің байланыс сайт саны және өзара әрекеттесу энергиясы бойынша маңызды айырмашылықтар табылған.

The characteristics of miR414 binding to 236 genes mRNA of *Arabidopsis thaliana* chromosome 4 are identified. Significant differences in studied genes mRNA binding sites number and energy of interaction with miR414 are established.

УДК 577.21

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ СВЯЗЫВАНИЯ МЕЖГЕННЫХ, ИНТРОННЫХ И ЭКЗОННЫХ miRNA С mRNA ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ИНТРОННЫЕ miRNA

(Казакский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы)

Изучены сайты связывания 784 межгенных miRNA, 686 интронных miRNA и 49 экзонных miRNA с mRNA 52 генов, кодирующих интронные miRNA. Выявлены особенности связывания miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA каждого гена. Установлено повышенное сродство miRNA к 5'UTR mRNA по сравнению с CDS и 3'UTR участками. mRNA 52 генов значительно отличаются по плотности расположения сайтов взаимодействия и числу связываемых miRNA. Выявлены различные типы взаимодействия miRNA с mRNA, отличающиеся по вкладу в энергию взаимодействия 5'- и 3'-участков miRNA. Интронные miRNA не связываются с mRNA генов, кодирующих эти интронные miRNA. Полученные данные способствуют пониманию механизма взаимодействия miRNA с mRNA.

Количество публикаций посвященных изучению свойств и биологической роли miRNA быстро увеличивается, что свидетельствует о возрастающем интересе к этим уникальным регуляторам экспрессии генов [1]. Важной проблемой взаимодействия miRNA с mRNA остается выяснение сайтов связывания этих молекул. Традиционно считается, что miRNA взаимодействует с mRNA только в 3'UTR [2], однако известны публикации описывающие связывание miRNA с mRNA в 5'UTR и CDS [3-

5]. Поэтому необходимо выяснить, сколько miRNA и в каких сайтах связываются с mRNA. Остается нерешенной проблема получения достоверных данных о том, на какие гены действует одна miRNA и сколько miRNA действуют на один ген. Существует много программ поиска взаимодействующих miRNA и mRNA, однако многие из них неадекватно решают эту проблему [6]. Точное установление взаимодействующих пар miRNA с mRNA будет значительно способствовать разработке диагностических методов различных заболеваний.

В связи с этими проблемами в настоящей работе поставлены следующие задачи: а) выявить особенности взаимодействия miRNA с различными участками mRNA; в) установить отличия miRNA по способности связываться с разными mRNA; с) выявить особенности взаимодействия нуклеотидов при образовании комплексов miRNA с mRNA.

Материалы и методы

В качестве материала использованы нуклеотидные последовательности mRNA 52 белок-кодирующих генов человека (*Homo sapiens* Genome build 37.2.), которые были заимствованы из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Все эти гены кодируют интронные miRNA. Нуклеотидные последовательности межгенных miRNA (ig-miRNA), интронных miRNA (in-miRNA), экзонных miRNA (ex-miRNA) получены из базы miRBase (<http://www.mirbase.org>). Для поиска miRNA была разработана программа miRNA Finder 2.2 (<http://sites.google.com/site/malaheenee/software/mirna-finder>).

Для расчета величины свободной энергии гибридизации (ΔG) использовали программу RNAHybrid 2.1, которая позволяет проводить поиск сайтов гибридизации с учетом сайтов-мишеней 5'-доминантного канонического, 5'-seed-доминантного и 3'-компенсаторного типа. В качестве сравнительного количественного критерия силы связи вычисляли величину $\Delta G/\Delta G_m$ (%), в которой ΔG_m равна энергии связи конкретной miRNA с полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью. Поиск сайтов связывания miRNA проводили по всей нуклеотидной последовательности mRNA. Сайты взаимодействия miRNA с mRNA определяли на основании величины ΔG и ее стандартного отклонения. Сродство ig-miRNA, in-miRNA и ex-miRNA к 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA изученных генов оценивали для каждого из этих участков с достоверностью $p < 0,0005$.

Плотность сайтов связывания в 5'UTR, CDS, 3'UTR и всей mRNA рассчитывали как отношение числа сайтов (s) к длине нуклеотидной последовательности (l) этих участков, умноженное на 10^3 (s/l), то есть в расчете на 1000 нуклеотидов.

Результаты и их обсуждение

Взаимодействие межгенных miRNA с mRNA генов, кодирующих in-miRNA

В результате изучения связывания 784 межгенных miRNA с mRNA 52 генов человека установлено, что из mRNA этих генов мишенями являются mRNA 50 генов (таблицы 1 и 2).

Таблица 1

Характеристики 36 mRNA связывающих от одной до шести межгенных miRNA

<p>mRNA гена: ig-miRNA (mRNA участок, первая позиция сайта – н., $\Delta G/\Delta G_m$ - %)</p> <p>ABCA6: miR-23a* (CDS, 2869, 75,0). AKT2: miR-221 (3'UTR, 2112, 74,1), miR-4316 (3'UTR, 2472, 87,6), miR-4418 (3'UTR, 3951, 81,6), miR-4433 (3'UTR, 1796, 78,2). ANTXR1: miR-487a (3'UTR, 2549, 75,6), miR-4711-3p (CDS, 1772, 85,9), miR-3141 (CDS, 2010, 82,7). ATF2: miR-4277 (5'UTR, 64, 78,3). BCAS1: miR-3144-3p (3'UTR, 2444, 76,5), miR-4307 (CDS, 871, 80,3), miR-548aa (CDS, 1504, 72,1), BID - miR-548m (3'UTR, 1845, 77,2), miR-543 (3'UTR, 2428, 80,0), miR-596 (CDS, 364, 80,5). BIRC7: miR-331-3p (5'UTR, 62, 76,0), miR-4456 (CDS, 372, 85,8). BRE: miR-3201 (CDS, 878, 92,3), miR-4455 (5'UTR, 39, 83,0). CCARI: miR-382 (CDS, 142, 75,1), miR-548ak (CDS, 3272, 86,9). CDH13: miR-297 (3'UTR, 3603, 80,8), miR-4429 (CDS, 2234, 77,2), miR-4455 (CDS, 2032, 87,7). DNMT3A: miR-302f (CDS, 3075, 88,8), miR-665 (CDS, 1570, 80,0), miR-769-3p (CDS, 1024, 77,3), miR-3613-5p (CDS, 682, 75,6), miR-3676 (CDS, 1221, 85,6), miR-4713-5p (CDS, 1214, 75,3). DTL: miR-4309 (5'UTR, 44, 84,8). EBF3 - miR-378b (CDS, 958, 78,1), miR-888* (CDS, 1150, 76,4). EGFL7: miR-1204 (5'UTR, 301, 80,0), miR-3130-5p (3'UTR, 1454, 81,8), miR-4289 (5'UTR, 4, 80,2). EPCAM: miR-4456 (5'UTR, 112, 86,7). EPHB2: miR-324-5p (CDS, 2481, 77,7), miR-4253 (CDS, 1087, 102,4), miR-4316 (CDS, 1293, 84,6). ERBB4: miR-302f (3'UTR, 5163, 82,3), miR-513a-5p (3'UTR, 4123, 80,7), miR-568 (3'UTR, 11012, 85,1), miR-3123 (3'UTR, 4973, 84,9), miR-3147 (CDS, 3242, 74,2), miR-4279 (3'UTR, 10500, 89,4). EVL: miR-3180 (CDS, 816, 80,8), miR-4711-3p (CDS, 802, 80,9). FBXW7: miR-3674 (3'UTR, 3468, 79,7). FOXP1: miR-20a* (CDS, 1232, 78,1), miR-320d (CDS, 2225, 81,7), miR-466 (3'UTR, 5945, 87,6), miR-1179 (CDS, 2040, 78,5), miR-4327 (CDS, 2392, 79,9), miR-4736 (CDS, 1146, 84,3). GIPR: miR-659 (CDS, 1441, 83,8), miR-1303 (CDS, 1499, 76,5). LFNG: miR-466 (3'UTR, 1269, 83,1), miR-1274b (CDS, 175, 87,9), miR-4264 (CDS, 1154,</p>
--

95,1), miR-4318 (3'UTR, 1899, 82,2), miR-4458 (3'UTR, 1810, 78,0). **LRRC4**: miR-548ab (CDS, 3359, 81,0), miR-4472 (5'UTR, 1312, 80,3). **MAP2K4**: miR-1827 (3'UTR, 3050, 80,3), miR-4472 (CDS, 120, 85,7), miR-4776-5p (3'UTR, 2329, 75,8). **MAP7D2**: miR-129-5p (CDS, 1466, 77,8), miR-4417 (CDS, 1395, 80,2). **MCM7**: miR-21 (CDS, 1711, 76,5), miR-487b (5'UTR, 451, 77,6), miR-520d-3p (CDS, 1541, 75,9), miR-4289 (5'UTR, 453, 83,7), miR-4466 (3'UTR, 2782, 80,4), miR-4483 (CDS, 1975, 84,5). **MRE11A**: miR-520e (CDS, 693, 83,4), miR-3613-5p (CDS, 1505, 76,6), miR-4456 (3'UTR, 3832, 87,0). **MTUS1**: miR-513a-5p (3'UTR, 4652, 82,6), miR-513b (3'UTR, 4652, 79,6), miR-519a (3'UTR, 5545, 75,1), miR-3195 (5'UTR, 141, 89,6). **PRKG1**: miR-599 (CDS, 2933, 83,4), miR-1268 (5'UTR, 142, 81,3), miR-4787-5p (5'UTR, 129, 75,2). **PTK2**: miR-3676 (5'UTR, 22, 92,0). **PTPRJ**: miR-3124-3p (CDS, 1003, 78,9), miR-3195 (5'UTR, 288, 83,7), miR-4472 (CDS, 2750, 82,9). **SDCCAG8**: miR-4309 (5'UTR, 20, 80,1). **SLIT2**: miR-197 (5'UTR, 7, 77,5). **SPATA13**: miR-320b (3'UTR, 5737, 77,3), miR-431* (CDS, 2055, 75,3), miR-876-3p (3'UTR, 6126, 83,4), miR-1261 (CDS, 1854, 84,2), miR-3144-3p (CDS, 2941, 75,0), miR-4663 (3'UTR, 4161, 74,4). **TNFAIP6**: miR-4708-5p (CDS, 472, 76,1). **TNKS**: miR-30d* (CDS, 1908, 75,5), miR-130a (3'UTR, 7447, 78,3), miR-143* (CDS, 473, 77,5), miR-4455 (CDS, 3891, 84,9), miR-4465 (CDS, 1769, 80,0), miR-4704-3p (CDS, 3158, 77,5).

mRNA генов *ABCF1* и *IGF1R* не имеют сайтов связывания с ig-miRNA при установленных критериях взаимодействия. Из 784 ig-miRNA на mRNA 50 генов действуют только 164 miRNA. mRNA изученных генов значительно отличаются по числу связываемых ig-miRNA. На таблице 1 приведены результаты изучения взаимодействия межгенных miRNA с 36 mRNA, каждая из которых связывает от одной до шести ig-miRNA. Все эти ig-miRNA связываются только с одним сайтом в mRNA-мишени. На таблице 2 приведены результаты изучения связывания межгенных miRNA с 14 mRNA каждая из которых связывает семь и более ig-miRNA.

Таблица 2

Характеристики 14 mRNA связывающих семь и более межгенных miRNA

mRNA гена: ig-miRNA (mRNA участок, первая позиция сайта – н., $\Delta G/\Delta G_m$ - %)

AATK: miR-18a (CDS, 958, 75,4), miR-612 (CDS, 2078, 74,4; 3825, 75,5), miR-1207-5p (CDS, 3513, 76,8), miR-1538 (CDS, 1339, 80,0), miR-3130-3p (CDS, 1353, 78,2), miR-3195 (CDS, 1352, 99,3), miR-3622b-5p (CDS, 2546, 77,4), miR-4265 (CDS, 3143, 79,5), miR-4417 (5'UTR, 45, 86,4), miR-4472 (CDS, 1684, 80,5; 3'UTR, 4514, 81,0), miR-4711-3p (CDS, 2715, 80,4). **BBC3**: miR-4497 (3'UTR, 965, 84,1), miR-4505 (3'UTR, 1000, 84,5), miR-4507 (3'UTR, 961, 78,4; 1000, 84,7), miR-1587 (3'UTR, 1000, 82,4), miR-3665 (CDS, 410, 81,0), miR-3676 (3'UTR, 1616, 83,0), miR-4466 (CDS, 319, 80,9), miR-4483 (CDS, 744, 90,5), miR-4710 (CDS, 796, 82,8). **BIRC6**: miR-328 (CDS, 263, 76,3), miR-376a* (CDS, 5828, 75,1), miR-548ai (CDS, 7266, 78,5), miR-1538 (CDS, 268, 75,7), miR-2117 (CDS, 1992, 77,4), miR-3529 (CDS, 12158, 76,7), miR-4778-3p (3'UTR, 15545, 78,7). **DCC**: miR-302f (3'UTR, 6493, 83,4; CDS, 1486, 74,0), miR-544 (3'UTR, 8751, 75,7), miR-568 (5'UTR, 524, 91,9), miR-1207-3p (CDS, 3190, 83,8), miR-4318 (CDS, 1684, 81,1), miR-4325 (CDS, 2917, 81,1), miR-4443 (3'UTR, 8983, 75,1), miR-4458 (CDS, 2225, 76,7), miR-4711-3p (CDS, 3297, 86,2). **DMD**: miR-376a* (CDS, 8046, 75,1), miR-508-3p (CDS, 11114, 74,3), miR-548m (CDS, 3075, 76,3), miR-3713 (CDS, 10398, 78,4), miR-4282 (CDS, 2958, 90,1), miR-4307 (3'UTR, 12144, 78,0), miR-4458 (CDS, 10490, 79,0), miR-4493 (CDS, 5132, 83,0), miR-4520a-5p (CDS, 1878, 82,0), miR-4520b-5p (CDS, 1878, 82,0), miR-4650-5p (CDS, 5135, 80,9). **EIF4H**: miR-18b* (3'UTR, 1070, 76,2), miR-197 (3'UTR, 1627, 79,9), miR-541* (3'UTR, 2054, 71,5), miR-645 (CDS, 705, 81,0), miR-1206 (3'UTR, 1978, 76,5), miR-3529 (3'UTR, 2021, 75,1), miR-4309 (3'UTR, 1364, 81,1). **HDAC4**: miR-345 (3'UTR, 7181, 77,9), miR-518d-3p (3'UTR, 8488, 77,5), miR-520d-3p (5'UTR, 491, 77,9), miR-1205 (CDS, 976, 80,1), miR-1268 (5'UTR, 80, 81,3), miR-1299 (CDS, 1053, 75,9), miR-1470 (5'UTR, 502, 76,4), miR-1587 (CDS, 2521, 78,0), miR-3195 (5'UTR, 266, 84,3), miR-3676 (5'UTR, 504, 77,3), miR-4311 (3'UTR, 7024, 80,0), miR-4472 (CDS, 2159, 81,3), miR-4478 (3'UTR, 8388, 86,9), miR-4481 (CDS, 1868, 84,4), miR-4482 (3'UTR, 7344, 80,9), miR-4483 (CDS, 2802, 88,6), miR-4507 (CDS, 2521, 79,0), miR-4529-5p (3'UTR, 6541, 84,7), miR-4710 (3'UTR, 8162, 80,5), miR-4746-3p (CDS, 982, 80,1), miR-4787-5p (5'UTR, 79, 75,2; 239, 78,5; CDS, 2625, 75,8). **HNF4A**: miR-302f (5'UTR, 71, 86,3), miR-323b-5p (CDS, 713, 77,3), miR-1204 (CDS, 278, 86,4), miR-1279 (5'UTR, 1, 82,6), miR-3934 (3'UTR, 1350, 79,9), miR-4307 (5'UTR, 76, 79,6), miR-4456 (CDS, 465, 83,9). **HUWE1**: miR-20a (CDS, 13427, 75,5), miR-20b (CDS, 13427, 78,3), miR-27a* (CDS, 11927, 76,5), miR-100* (CDS, 8959, 75,3), miR-320c (CDS, 3048, 84,5), miR-320d (CDS, 3050, 80,2), miR-548m (CDS, 13187, 76,3), miR-4264 (CDS, 6886, 83,5), miR-4307 (CDS, 3373, 83,9). **IGF1R**: miR-466 (3'UTR, 6676, 85,5), miR-769-3p (3'UTR, 7824, 81,7), miR-1268 (CDS, 1535, 80,6), miR-3135b (CDS, 109, 75,9), miR-4282 (CDS, 528, 80,8), miR-4455 (3'UTR, 8927, 85,8), miR-4456 (CDS, 462, 85,6; 3'UTR, 7101,

94,3), miR-4502 (CDS, 889, 75,6). **LRPI**: miR-132 (CDS, 4503, 80,6), miR-183 (CDS, 11186, 77,3), miR-450a (CDS, 13157, 75,8), miR-1261 (CDS, 7704, 80,1), miR-3187-3p (CDS, 5566, 77,4), miR-4307 (5'UTR, 188, 81,9), miR-4328 (3'UTR, 14372, 84,4), miR-4472 (5'UTR, 99, 81,6; CDS, 2781, 86,5; 11274, 88,8; 13015, 80,5), miR-4732-5p (CDS, 11952, 75,1). **NOTCH1**: let-7i (CDS, 7450, 76,3), miR-219-1-3p (3'UTR, 8984, 76,7), miR-296-3p (CDS, 7369, 78,5), miR-509-5p (CDS, 1307, 78,5), miR-516a-3p (CDS, 6964, 81,3), miR-516b* (CDS, 6964, 81,3), miR-523 (CDS, 6964, 75,9), miR-1205 (CDS, 3931, 78,2), miR-1587 (3'UTR, 8133, 80,8), miR-2113 (3'UTR, 8716, 77,9), miR-3713 (3'UTR, 9105, 77,5), miR-4455 (CDS, 6381, 83,3), miR-4472 (CDS, 4308, 87,5; 7474, 86,8), miR-4736 (CDS, 75, 81,0). **NR2F2**: miR-27a* (CDS, 1272, 75,1), miR-1538 (5'UTR, 289, 82,2), miR-4253 (5'UTR, 537, 82,0), miR-4443 (5'UTR, 556, 82,4), miR-4666-3p (3'UTR, 4394, 76,9), miR-4734 (5'UTR, 1165, 77,4), miR-4787-3p (3'UTR, 3727, 70,0), miR-4787-5p (5'UTR, 1152, 80,8). **SLIT3**: miR-302e (CDS, 3310, 87,3), miR-302f (CDS, 3310, 84,5), miR-1205 (CDS, 1374, 77,0), miR-1587 (5'UTR, 61, 78,2), miR-4313 (5'UTR, 146, 79,1), miR-4466 (5'UTR, 253, 81,7), miR-4472 (CDS, 3745, 86,8), miR-4481 (CDS, 4872, 82,9), miR-4507 (5'UTR, 61, 85,1), miR-4508 (CDS, 1201, 83,5), miR-4513 (CDS, 499, 84,4), miR-4674 (5'UTR, 52, 77,5).

Среди этих mRNA выделяются mRNA генов *AATK*, *DMD*, *HDAC4*, *LRPI*, *NOTCH1* и *SLIT3* которые связывают соответственно 11, 11, 21, 9, 14 и 12 ig-miRNA, что значительно больше среднего числа miRNA, связывающихся в расчете на одну mRNA 50 генов и равного 3,3. Из данных таблицы 2 видно, что некоторые mRNA имеют больше одного сайта взаимодействия с одной miRNA. Например, miR-4472 имеет четыре сайта связывания с mRNA *LRPI* и по два сайта с mRNA генов *NOTCH1* и *AATK*. MiR-612, miR-4507 и miR-4787-5p соответственно имеют по два сайта связывания с mRNA генов *AATK*, *BBC3* и *HDAC4*. Остальные miRNA связываются только в одном сайте mRNA.

Плотность сайтов связывания miRNA с mRNA изученных генов существенно отличалась. Для mRNA представленных на таблицах 1 и 2 плотность сайтов изменялась от 0,20 s/l (mRNA *SLIT2*) до 5,47 s/l (mRNA *BBC3*) и в среднем составляла 1,09 s/l. mRNA гена *BBC3* имеет наибольшую плотность сайтов связывания, что предполагает большую роль интронных miRNA в регуляции экспрессии гена *BBC3*. mRNA изученных генов отличаются по связыванию ig-miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR (таблицы 1 и 2). Средняя плотность сайтов связывания miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA всех 50 генов составляла 2,54 s/l, 0,99 s/l и 0,90 s/l. То есть, средняя плотность связывания miRNA в 5'UTR выше, чем в CDS в 2,6 раза и больше, чем в 3'UTR в 2,8 раза. Полученные данные свидетельствуют, что miRNA могут связываться с 5'UTR и CDS, а не только с 3'UTR mRNA, причем в 5'UTR mRNA некоторых генов связывают ig-miRNA с гораздо большей плотностью.

mRNA гена *HDAC4* имела в 5'UTR, CDS и 3'UTR соответственно семь, девять и семь сайтов связывания с miRNA (таблица 2). Схемы взаимодействия последовательностей нуклеотидов miRNA с mRNA *HDAC4* для некоторых сайтов приведены на таблице 3.

Таблица 3

Характеристики взаимодействия ig-miRNA с mRNA гена *HDAC4*

mRNA	5' C C G 3'	mRNA	5' A C 3'
	GCCCCCGGGG GGGGGCGC		CACACUCGGCUCUU
	UGGGUGGUUUC UCUUCGUG		GUGUGAGUCGAGAG
miR-520d-3p 3'	AAA 5'	miR-4311 3'	AAAG 5'
5'UTR,491	$\Delta G = -34,2$ $\Delta G/\Delta G_m = 77,9$	3'UTR,7024	$\Delta G = -28,8$ $\Delta G/\Delta G_m = 80,0$
mRNA	5' C C C 3'	mRNA	5' G A 3'
	AGCCC GGCCCCGGCGC		CCGUGGCCCGCUGGG
	UUGGG CCGGGCCGCG		GGUAUCGGGUGACCC
miR-3195 3'	C C 5'	miR-4482 3'	GUAAA AA 5'
5'UTR,266	$\Delta G = -38,8$ $\Delta G/\Delta G_m = 84,3$	3'UTR,7344	$\Delta G = -36,8$ $\Delta G/\Delta G_m = 80,9$
mRNA	5' G C A 3'	mRNA	5' C G G 3'
	UCA UGGGCUGCUGAUGGUC		GGCAGCACC CCCACU
	AGU ACCUGACGACUACCGG		UUGUUGUGG GGGUGG
miR-4529-5p 3'	A A A 5'	miR-4472 3'	UU G 5'
3'UTR,6541	$\Delta G = -39,8$ $\Delta G/\Delta G_m = 84,7$	CDS,2159	$\Delta G = -31,3$ $\Delta G/\Delta G_m = 81,3$

mRNA 5' G A 3'
 UUCUUAGCUCGGCCUC
 AGGAGUCGAGUCGGAG
 miR-4478 3' G 5'
 3'UTR,8388 $\Delta G = -34,6$ $\Delta G/\Delta G_m = 86,9$

mRNA 5' U G 3'
 GCCACCGGCC CUCU
 UGGUGGUCGGG GAGG
 miR-4481 3' U U 5'
 CDS,1868 $\Delta G = -34,0$ $\Delta G/\Delta G_m = 84,4$

mRNA 5' C G C 3'
 GCCGCCGCCGCC CCGC
 CGGCGGCGGUGG GGCG
 miR-4787-5p 3'CCCUA G 5'
 5'UTR,79 $\Delta G = -45,4$ $\Delta G/\Delta G_m = 75,2$

mRNA 5' G G G 3'
 GCCGCCGCCGCC CCGC
 CGGCGGCGGUGGG GGCG
 miR-4787-5p 3'CCCUA 5'
 5'UTR,239 $\Delta G = -47,4$ $\Delta G/\Delta G_m = 78,5$

mRNA 5' G G G U 3'
 CCGG CCAGC CCAGCCCAG
 GGUU GGUCG GGUCGGUU
 miR-1587 3' G G 5'
 CDS,2521 $\Delta G = -38,9$ $\Delta G/\Delta G_m = 78,0$

mRNA 5' G G G U 3'
 CCGG CCAGC CCAGCCCAG
 GGUC GGUCG GGUUGGGUC
 miR-4507 3' G G 5'
 CDS,2521 $\Delta G = -40,3$ $\Delta G/\Delta G_m = 79,0$

Примечание. На таблицах 3 и 6 локализация 5'-участка сайтов связывания в mRNA указана в нуклеотидах; энергия взаимодействия (ΔG) - в kcal/mol; величина $\Delta G/\Delta G_m$ - в %.

Среди сайтов связывания имеются три типа взаимодействия miRNA с mRNA отличающиеся по преимущественному вкладу в энергию взаимодействия участков miRNA: 1) доминирует вклад 5'-участка miRNA (miR-4710, miR-518d-3p, miR-345, miR-4482, miR-4529-5p, miR-3195, miR-3676, miR-4787-5p, miR-1587, miR-4507, miR-1205, miR-1299); 2) доминирует вклад 3'-участка miRNA (miR-4311, miR-520d-3p, miR-4483); 3) доминирует вклад центрального участка miRNA (miR-4472, miR-4478, miR-1268, miR-1470, miR-4787-5p, miR-4481). Следовательно, преимущественный вклад в энергию взаимодействия miRNA с mRNA могут вносить все участки miRNA.

Из данных приведенных на таблице 3 видно, что miR-520d-3p и miR-4311 связываются большей своей частью начиная сразу с 3'-участка miRNA, а на 5'-участке miRNA есть несколько нуклеотидов не комплементарных mRNA. Сайты взаимодействия miR-4482, miR-3195 и 4529-5p с mRNA являются примером связывания с большим вкладом в энергию взаимодействия 5'-участка miRNA. Наибольший вклад в энергию взаимодействия центральной части демонстрируют сайты связывания miR-4478, miR-4472, miR-4481 и miR-4787-5p.

Отметим, что два сайта для miR-4787-5p расположены в 5'UTR mRNA гена *HDAC4* и эти сайты высоко гомологичны. Пример действия двух miRNA на один сайт в CDS mRNA гена *HDAC4* демонстрируют miR-1587 и miR-4507 (таблица 3). Оба примера свидетельствуют о высокой специфичности связи между miRNA и mRNA.

Взаимодействие интронных miRNA с mRNA генов, кодирующих in-miRNA.

Было изучено связывание 686 интронных miRNA (in-miRNA) с mRNA 52 белок-кодирующих генов человека. Из mRNA 52 генов мишенями являются только mRNA 45 генов и mRNA генов *ABCF1*, *ATF2*, *EPHB2*, *HNF4A*, *MRE11A*, *SDCCAG8*, *TNFAIP6* не имеют сайтов связывания с in-miRNA при установленных критериях взаимодействия (таблицы 4 и 5). Из 686 in-miRNA на mRNA 45 генов действуют только 130 miRNA.

Из всех in-miRNA, взаимодействующих с mRNA 39 генов (таблица 4), только miR-1268b имела два сайта связывания в одной mRNA (ген *BBC3*). 12 генов связывают только по одной miRNA. На таблице 5 представлены данные о взаимодействии шести mRNA с семью и более in-miRNA. mRNA изученных генов значительно отличаются по числу связывания с in-miRNA (таблицы 4 и 5). Например, mRNA генов *AATK*, *AKT*, *HDAC4*, *IGF2* и *LRP1* связывают соответственно 10, 11, 13, 7 и 14 in-miRNA, что значительно больше среднего числа miRNA, связывающихся с одной mRNA всей выборки 45 генов, равного 2,9. Некоторые mRNA имеют больше одного сайта связывания для одной miRNA. Например, miR-1268b и miR-4296 имеют по два сайта связывания с mRNA *HDAC4*, а miR-1273f и miR-574-5p имеют соответственно два и пять сайтов связывания с mRNA *IGF2*.

Для mRNA представленных на таблицах 4 и 5 плотность сайтов изменялась от 0,17 s/l (mRNA *AHTXR1*) до 2,74 s/l (mRNA *BBC3*) и в среднем составляла 0,84 s/l. При длине 1827 н. mRNA *BBC3* имеет наибольшую плотность сайтов связывания, что свидетельствует о большой роли miRNA в регуляции экспрессии гена *BBC3*.

Характеристики 39 mRNA связывающих от одной до шести in-miRNA

<p>mRNA гена: in-miRNA (mRNA участок, первая позиция сайта - н., $\Delta G/\Delta G_m$ - %)</p> <p>ABCA6: miR-224* (CDS, 482, 76,8), miR-3941 (CDS, 3053, 81,6). ANTXR1: miR-32* (3'UTR, 5217, 86,8). BBC3: miR-149 (3'UTR, 1623, 75,9), miR-1268b (CDS, 413, 77,6; 446, 78,6), miR-3156-3p (3'UTR, 1667, 83,8), miR-4655-3p (CDS, 598, 82,8). BCAS1: miR-548aa (CDS, 1504, 72,1), miR-5095 (3'UTR, 2411, 78,4). BID: miR-4285 (CDS, 432, 81,0). BIRC6: miR-548an (CDS, 3618, 77,7), miR-1225-3p (CDS, 274, 75,8), miR-1913 (CDS, 262, 77,9). BIRC7: miR-4257 (CDS, 745, 85,0), miR-4292 (5'UTR, 60, 81,3). BRE: miR-4259 (CDS, 315, 81,4), miR-4794 (3'UTR, 1509, 75,9). CCARI: miR-30c-1* (CDS, 1870, 75,9). CDH13: miR-574-5p (3'UTR, 3603, 80,9). DCC: miR-4270 (5'UTR, 303, 79,2). DMD: miR-574-5p (3'UTR, 11762, 77,4), miR-2116 (CDS, 6301, 77,7), miR-4753-3p (CDS, 11190, 82,9). DNMT3A: miR-103a-2* (CDS, 481, 74,5), miR-511 (5'UTR, 26, 77,0), miR-593 (CDS, 674, 85,5), miR-764 (CDS, 756, 75,7). DTL: miR-4729 (3'UTR, 2698, 75,5). EBF3: miR-500b (3'UTR, 2252, 80,6), miR-1236 (3'UTR, 2253, 75,3), miR-1976 (3'UTR, 2260, 81,3). EGFL7: miR-593 (5'UTR, 92, 78,3), miR-3130-5p (3'UTR, 1454, 81,8). EIF4H: miR-26b* (3'UTR, 2092, 76,5), miR-576-5p (3'UTR, 775, 76,8), miR-4263 (3'UTR, 1611, 84,3). EPCAM: miR-4317 (5'UTR, 45, 82,6), miR-4753-3p (5'UTR, 7, 81,4). ERBB4: miR-483-3p (3'UTR, 10500, 80,0), miR-877* (3'UTR, 10504, 89,2), miR-3182 (CDS, 3863, 84,0), miR-4797-3p (CDS, 3376, 84,0). EVL: miR-1322 (CDS, 522, 80,6), miR-1913 (CDS, 863, 79,1), miR-4281 (CDS, 1001, 86,7), miR-4753-3p (CDS, 1277, 76,6). FBXW7: miR-3162-3p (CDS, 2134, 77,6). FOXP1: miR-4651 (CDS, 671, 77,1), miR-4706 (5'UTR, 194, 72,9). GIPR: let-7g (CDS, 140, 80,8), miR-26a-1* (5'UTR, 25, 79,9), miR-26a-2* (5'UTR, 22, 76,4), miR-1238 (CDS, 182, 86,0), miR-4774-5p (3'UTR, 1544, 77,9). HUWE1: miR-105* (3'UTR, 14085, 76,5), miR-548an (CDS, 3878, 86,4), miR-598 (CDS, 7763, 87,2), miR-1268b (CDS, 10880, 78,4), miR-2355-3p (CDS, 5098, 75,3), miR-4735-3p (CDS, 7832, 76,4). LFNG: miR-877* (3'UTR, 2009, 77,5), miR-1224-3p (3'UTR, 2007, 79,7), miR-3194-3p (3'UTR, 1388, 77,6), miR-4440 (CDS, 146, 75,4), miR-4526 (CDS, 30, 79,0). LRRC4: miR-548n (CDS, 3361, 76,4), miR-1976 (CDS, 2956, 78,3), miR-4668-3p (CDS, 11674, 79,4). MAP2K4: miR-3611 (3'UTR, 1753, 79,4). MAP7D2: let-7g* (5'UTR, 86, 76,2), miR-129-5p (CDS, 1466, 77,8), miR-4753-3p (CDS, 1526, 76,9), miR-4789-3p (CDS, 1948, 78,0). MCM7: miR-554 (CDS, 2140, 76,4). MTUS1: miR-4503 (CDS, 2666, 76,0). NOTCH1: miR-623 (3'UTR, 8774, 75,5), miR-1237 (CDS, 4969, 76,6), miR-1271 (CDS, 1240, 88,3), miR-1913 (3'UTR, 8805, 76,8), miR-3196 (CDS, 688, 83,4), miR-4506 (3'UTR, 9013, 77,3). NR2F2: miR-211 (3'UTR, 3725, 78,7), miR-3162-3p (3'UTR, 3729, 79,3). PRKGI: miR-1268b (5'UTR, 140, 82,2). PTK2: miR-578 (CDS, 2259, 78,1). PTPRJ: miR-342-5p (CDS, 459, 81,4), miR-1180 (5'UTR, 38, 75,7), miR-1238 (5'UTR, 208, 81,3). SLIT2: miR-455-3p (CDS, 4217, 78,7), miR-1229 (5'UTR, 9, 74,0), miR-4446-3p (CDS, 4223, 79,7). SLIT3: miR-448 (CDS, 4570, 75,6), miR-500b (CDS, 426, 80,3), miR-1228* (CDS, 3836, 77,5), miR-1268b (5'UTR, 228, 78,0), miR-3664-5p (CDS, 3026, 75,4), miR-4745-5p (5'UTR, 239, 75,0). SPATA13: miR-320b (3'UTR, 5737, 77,3), miR-652 (CDS, 482, 80,3), miR-4506 (CDS, 2342, 77,1). TNKS: miR-3128 (3'UTR, 8343, 75,2), miR-3189-3p (3'UTR, 4920, 76,1).</p>

mRNA разных генов отличаются по связыванию miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR. Средняя плотность сайтов связывания miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA всех генов составляла 1,82 s/l, 0,63 s/l и 0,72 s/l. То есть, средняя плотность связывания miRNA в 5'UTR в 2,9 раза выше таковой в CDS и в 2,6 раза в 3'UTR. Приведенные данные свидетельствуют, что miRNA могут связываться с 5'UTR и CDS, а не только с 3'UTR mRNA.

mRNA гена *HDAC4* имела в 5'UTR, CDS и 3'UTR соответственно восемь, два и пять сайтов связывания с miRNA (таблица 5). Схемы взаимодействия последовательностей нуклеотидов некоторых miRNA с mRNA *HDAC4* приведены на таблице 6.

Имеются три типа взаимодействия miRNA с mRNA в сайтах связывания отличающиеся по преимущественному вкладу в энергию взаимодействия участков miRNA: 1) доминирует вклад 5'-участка miRNA (miR-1268b, miR-1469, miR-3657, miR-4287, miR-4296), 2) доминирует вклад 3'-участка miRNA (miR-676, miR-1296, miR-1914*, miR-3621), 3) доминирует вклад центрального участка miRNA (miR-185, miR-1268b, miR-1289, miR-1910, miR-4326). Следовательно, преимущественный вклад в энергию взаимодействия miRNA с mRNA могут вносить все участки miRNA.

mRNA гена *HDAC4* обладает следующей особенностью к двум интронным miRNA: miR-1268b связывается в двух гомологичных сайтах в 5'UTR и miR-4296 тоже взаимодействует с mRNA в двух сайтах и тоже в 5'UTR (таблица 6). Эти факты говорят о неслучайной связи данных miRNA с экспрессией гена *HDAC4*.

Характеристики шести mRNA связывающих семь и более in-miRNA

mRNA гена: in-miRNA (mRNA участок, первая позиция сайта – н., $\Delta G/\Delta G_m$ - %)
AATK: miR-558 (CDS, 1134, 79,0), miR-648 (3'UTR, 4498, 80,6), miR-1914 (3'UTR, 5074, 77,7), miR-1915 (CDS, 1825, 78,4), miR-3130-3p (CDS, 1353, 78,2), miR-3191 (CDS, 1712, 77,2), miR-3192 (CDS, 3600, 79,0), miR-4651 (CDS, 4029, 86,4), miR-4677-5p (CDS, 3669, 76,8), miR-4691-5p (CDS, 767, 74,3). AKT2: miR-33b* (3'UTR, 3876, 76,9), miR-623 (3'UTR, 1859, 74,4), miR-766 (3'UTR, 3425, 77,6), miR-1200 (3'UTR, 2156, 76,2), miR-1910 (3'UTR, 3530, 76,5), miR-3153 (3'UTR, 3175, 74,3), miR-3196 (3'UTR, 1865, 80,0), miR-3646 (3'UTR, 2529, 77,1), miR-4281 (3'UTR, 2711, 80,8), miR-4312 (3'UTR, 3528, 78,3), miR-4436b-5p (3'UTR, 3091, 79,1). HDAC4: miR-185 (3'UTR, 8065, 76,4), miR-676 (3'UTR, 7762, 76,6), miR-1268b (5'UTR, 78, 82,0; 297, 79,2), miR-1289 (3'UTR, 6515, 80,5), miR-1296 (CDS, 2511, 77,0), miR-1469 (5'UTR, 159, 76,1), miR-1910 (5'UTR, 499, 77,2), miR-1914* (5'UTR, 540, 81,3), miR-3621 (5'UTR, 323, 77,2), miR-3657 (3'UTR, 6123, 78,0), miR-4287 (CDS, 3699, 82,6), miR-4296 (5'UTR, 53, 84,8; 159, 84,8), miR-4326 (3'UTR, 4606, 81,0). IGF1R: miR-361-3p (3'UTR, 7089, 82,9), miR-644 (3'UTR, 5707, 79,5), miR-1268b (CDS, 1533, 81,5), miR-1273f (3'UTR, 7624, 83,2), miR-3173-5p (3'UTR, 5679, 82,5), miR-4292 (3'UTR, 6166, 80,7), miR-4742-5p (3'UTR, 10808, 75,7). IGF2: miR-574-5p (3'UTR, 2292, 76,3; 2336, 76,5; 2452, 75,1; 2728, 76,1; 2834, 75,7), miR-1273f (5'UTR, 81, 80,0; 3'UTR, 1902, 79,6), miR-1302 (3'UTR, 3088, 77,2), miR-3972 (3'UTR, 4533, 84,3), miR-4263 (3'UTR, 3055, 81,0), miR-4296 (3'UTR, 4307, 90,6), miR-4804-3p (3'UTR, 4008, 76,9). LRPI: miR-27b (CDS, 13370, 76,2), miR-500a (CDS, 3301, 79,1), miR-500b (CDS, 1824, 86,9), miR-5481 (CDS, 898, 75,9), miR-1273f (CDS, 3301, 80,5), miR-1296 (CDS, 4091, 75,1), miR-1911* (CDS, 4320, 77,4), miR-3173-5p (3'UTR, 14310, 77,5), miR-3183 (5'UTR, 149, 76,0), miR-3194-5p (CDS, 3632, 79,0), miR-4274 (5'UTR, 428, 83,3), miR-4295 (CDS, 6360, 83,6), miR-4506 (CDS, 3892, 77,3), miR-4668-3p (CDS, 11674, 75,7).

Таблица 6

Характеристики взаимодействия in-miRNA с mRNA гена HDAC4

mRNA 5' A A A 3' AACUCGGCAGCUUUGGGG AG UUGAGUUGUUGGAAUCCU UC miR-676 3' G 5'	mRNA 5' G G G C 3' UCUCCCCGGUGCGGGGCC C CC GGAGGGUCACGCCUGGG G GG miR-1914* 3' A 5'
3'UTR,7762 $\Delta G = -30,5$ $\Delta G/\Delta G_m = 76,6$	5'UTR,540 $\Delta G = -46,8$ $\Delta G/\Delta G_m = 81,3$
mRNA 5' U A 3' GAGUGCAGAUUCUUGGAUUC UUUACGUCUAAGGACCUGAG miR-1289 3' U GU 5'	mRNA 5' G A 3' GGAGGUGGAGCC GGGCC CCUCUACCUCGG CCCGG miR-1296 3' U GAUU 5'
3'UTR,6515 $\Delta G = -36,7$ $\Delta G/\Delta G_m = 80,5$	CDS,2511 $\Delta G = -40,9$ $\Delta G/\Delta G_m = 77,0$
mRNA 5' G C 3' GCCUCGAGGGAGG CGGGAGUCCCUCU miR-4287 3' UUUCA 5'	mRNA 5' G C 3' UGGGGGACAGAGGGAC ACCCUCUGUCUCCUUG miR-4326 3' CAG U
CDS,3699 $\Delta G = -34,1$ $\Delta G/\Delta G_m = 82,6$	3'UTR,4606 $\Delta G = -35,7$ $\Delta G/\Delta G_m = 81,0$
mRNA 5' G G C A 3' CGCC CCGCCGCG CGCCCG GUGG GGUGGUGGU GCGGGC miR-1268b 3' G 5'	mRNA 5' C G C 3' CGCC CCCGCC CCGCGCCC GUGG GGGUGG GGUGCGGG miR-1268b 3' U C 5'
5'UTR,78 $\Delta G = -42,5$ $\Delta G/\Delta G_m = 82,0$	5'UTR,297 $\Delta G = -41,0$ $\Delta G/\Delta G_m = 79,2$
mRNA 5' C C C 3' GAGCC GAGCCCGCG CUCGG CUCGGGUGU miR-4296 3' A A A 5'	mRNA 5' C C C 3' GAGCC GAGCCCGCG CUCGG CUCGGGUGU miR-4296 3' A A A 5'
5'UTR,53 $\Delta G = -33,5$ $\Delta G/\Delta G_m = 84,8$	5'UTR,159 $\Delta G = -33,5$ $\Delta G/\Delta G_m = 84,8$

Взаимодействие экзонных miRNA с mRNA генов, кодирующих in-miRNA

В результате изучения связывания 49 экзонных miRNA (ex-miRNA) с mRNA 52 белок-кодирующих генов человека установлено, что из mRNA этих генов мишенями для ex-miRNA являются mRNA 17 генов (таблица 7). Из 49 ex-miRNA на mRNA 17 генов действуют только 15 miRNA.

Таблица 7

Характеристики связывания 17 mRNA с экзонными miRNA

mRNA гена: ex-miRNA (участок mRNA, первая позиция сайта – н., $\Delta G/\Delta G_m$ - %)
AKT2: miR-3198 (3'UTR, 2710, 75.9). ANTXR1: miR-4709-3p (CDS, 2002, 76.2). BBC3: miR-484 (3'UTR, 1119, 77.4). BIRC6: miR-4315 (CDS, 11064, 84.0). BIRC7: miR-1825 (CDS, 373, 82.9). DMD: miR-1306 (CDS, 2819, 82.4), miR-4315 (CDS, 6086, 81.6). DNMT3A: miR-4775 (3'UTR, 3420, 81.9). EPHB2: miR-1181 (5'UTR, 9, 76.2), miR-4724-3p (CDS, 239, 76.3), miR-4775 (CDS, 2018, 76.3). FOXPI: miR-1181 (3'UTR, 3846, 76.7), miR-4775 (CDS, 543, 77.9). GIPR: miR-671-5p (CDS, 1236, 83.6). HUWE1: miR-3652 (CDS, 6967, 80.9). IGFIR: miR-1182 (3'UTR, 7814, 75.9). LFNG: miR-1181 (CDS, 183, 77.9). MCM7: miR-935 (5'UTR, 267, 79.1). MTUS1: miR-1306(3'UTR, 5360, 80.3). SLIT3: miR-4657 (CDS, 4306, 77.1). SPATA13: miR-4683 (5'UTR, 76, 76.8).

mRNA изученных генов-мишеней отличаются по числу связывания с ex-miRNA. Например, mRNA гена *EPHB2* связывается с тремя ex-miRNA, а mRNA генов *DMD* и *FOXPI* связывают по две miRNA. Ни одна из ex-miRNA не имеет двух сайтов связывания с одной mRNA (таблица 7).

Для mRNA, представленных на таблице 7, плотность сайтов изменялась от 0,06 s/l (mRNA гена *BIRC6*) до 0,76 s/l (mRNA гена *BIRC7*) и в среднем составляла 0,29 s/l. mRNA *BBC3* имеет плотность сайтов связывания равную 0,55 s/l, что свидетельствует о важной роли miRNA в регуляции экспрессии гена *BBC3*.

mRNA разных генов отличаются по связыванию miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR. Средняя плотность сайтов связывания miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA всех генов составляла 0,64 s/l, 0,29 s/l и 0,18 s/l соответственно. То есть, средняя плотность связывания miRNA в 5'UTR выше, чем в CDS в 2,2 раза и в 3,6 раза выше, чем в 3'UTR. mRNA гена *EPHB2* имела наибольшее число сайтов связывания ex-miRNA, которые были в 5'UTR (один сайт) и CDS (два сайта). Несмотря на небольшое число генов-мишеней для ex-miRNA, полученные данные показывают, что ex-miRNA могут связываться с 5'UTR и CDS, а не только с 3'UTR mRNA.

Количество выявленных в организме человека miRNA постоянно растет и к настоящему времени их насчитывается более 1500 miRNA. Наряду с увеличением числа этих молекул происходит рост выявленных генов-мишеней для них. Установление генов-мишеней зависит от эффективности их предсказания с помощью вычислительных методов и по предварительным данным экспрессия более половины генов человека может регулироваться с помощью miRNA. Экспериментальная проверка предполагаемых генов-мишеней, в основном, зависит от точности предсказания сайтов взаимодействия miRNA с mRNA и характеристик этого взаимодействия, учитываемых в соответствующих программах. Кроме этого существенную роль в предсказании сайтов связывания и их проверке играют не достаточно обоснованные ограничения на расположение этих сайтов в mRNA [2].

Результаты проведенных исследований показывают, что mRNA 52 генов являются мишенями для трех типов miRNA: ig-miRNA, in-miRNA и ex-miRNA (таблицы 1, 2, 4, 5, 7). В среднем на каждый ген приходится по шесть miRNA которые могут иметь более чем по одному сайту связывания. На основании этих данных можно предположить, что экспрессия значительной части генов человека подвержена регуляции посредством miRNA [7]. Показано, что синтез многих miRNA типа ткани и их концентрация в клетках может быть ниже необходимой для подавления экспрессии mRNA генов-мишеней [8]. В таком случае miRNA, даже полностью комплементарная к mRNA, не будет оказывать существенного эффекта на синтез белка. Интронные miRNA составляют около 45% от общего числа miRNA и их синтез прямо зависит от транскрипции соответствующего хозяйского гена. Однако, в определенных условиях синтез miRNA может увеличиваться в сотни раз и тогда эти miRNA могут значительно модифицировать экспрессию гена-мишени [9]. Нами показано, что интронные miRNA не связываются с mRNA изученных 52 генов, кодирующих эти интронные miRNA.

Из полученных результатов следует, что mRNA некоторых генов является мишенью как для многих ig-miRNA и in-miRNA (таблицы 2 и 5). Такими генами являются *HDAC4*, *LRP1*, *AATK* и *NOTCH1* miRNA которых имеют соответственно 38, 26, 23 и 21 сайтов связывания с miRNA. Средняя длина mRNA этих генов равна 9622 н. и средняя плотность сайтов связывания miRNA с ними равна 2,8

s/l. То есть экспрессия этих генов сильно зависит от miRNA. Наибольшую плотность сайтов связывания имеет mRNA гена *BBC3*, которая связывает miRNA в 16 сайтах (таблицы 1, 5, 7). Средняя плотность сайтов связывания miRNA с mRNA гена *BBC3* равна 8,8 s/l, которая значительно больше, чем в mRNA приведенных выше генов. В последние годы интерес к этому гену вырос в связи с участием его в регуляции апоптоза [10]. Некоторые из изученных miRNA действуют на mRNA только одного гена, что можно использовать для селективной модификации экспрессии соответствующих генов-мишеней.

1. Liu J., Jennings S.F., Tong W., Hong H. Next generation sequencing for profiling expression of miRNAs: technical progress and applications in drug development // J. Biomedical Science and Engineering. – 2011. – Vol. 4. – P. 666-676.
2. Grimson A., Fahr K.K., Johnston W.K., Garrett-Engele P., Lim L.P., Bartel D.P. MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing. // Mol. Cell. – 2007. – Vol. 27. – P. 91-105.
3. 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. – P. 1175-1183.
4. 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.
5. 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. – P. 411-418.
6. Shirdel E.A., Xie W., Mak T.W., Jurisica I. NAViGaTing the micronome-using multiple microRNA prediction databases to identify signaling pathway-associated microRNAs. // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6 (2). – e17429. doi:10.1371/journal.pone.0017429.
7. Lewis B.P., Burge C.B., Bartel D.P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets // Cell. – 2005. – Vol. 120. – P. 15-20.
8. Kowarsch A., Marr C., Schmid D., Ruepp A., Theis F.J. Tissue-specific target analysis of disease-associated microRNAs in human signaling pathways. // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5 (6). – e11154. doi:10.1371/journal.pone.0011154.
9. Patel N., Sauter E.R. Body fluid micro(mi)RNAs as biomarkers for human cancer. // J. Nucl. Acids Investigation. – 2011. – Vol. 2. – e1.
10. Qiu W., Wu B., Wang X., Buchanan M.E., Regueiro M.D. et al., PUMA-mediated intestinal epithelial apoptosis contributes to ulcerative colitis in humans and mice. // J. Clin. Invest. – 2011. – Vol. 121. – P. 1722-1732.

784 генералық miRNA, 686 интронды miRNA мен 49 экзонды miRNA байланысу сайттары 52 интронды miRNA кодтайтын гендерде зерттелді. miRNA-ның әрбір геннің mRNA-ның 5'UTR, CDS мен 3'UTR-мен байланысу ерекшеліктері анықталды. miRNA-лар mRNA-ның 5'UTR-не CDS пен 3'UTR салыстырғанда туыстығы жоғары. 52 геннің mRNA байланысу сайттарының орналасу тығыздығы және байланысатын miRNA саны бойынша ерекшеленеді. miRNA-ның 5'- пен 3'- соңының байланысу энергиясына қосқан үлесі бойынша miRNA мен mRNA бірнеше байланысу түрлері анықталған. Интронды miRNA өздерін кодтайтын гендердің mRNA реттемейді. Алынған нәтижелер miRNA мен mRNA байланысу механизмін түсінуге көмектеседі.

Interaction sites of 784 intergenic miRNAs, 686 intronic miRNAs and 49 exonic miRNAs with mRNAs of 52 genes which are coded intronic miRNAs were studied. Feature interactions of miRNA with mRNA 5'UTR, CDS and 3'UTR of each gene are revealed. The raised affinity of miRNA sites to mRNA 5'UTRs in comparison with CDSs and 3'UTRs is established. mRNAs of 52 genes considerably differ on density of interaction sites and number of binding miRNAs. Various types of miRNAs interaction with mRNAs were revealed. They variously bring the contribution to interaction energy 5'- and 3'-parts miRNA were determined. Intronic miRNAs do not interact with mRNA of genes, which are coded by them. These data promotes understanding of the interaction mechanism miRNA and mRNA.

УДК 581.55:582.24-155.724

К.К. Богуснаев, Д.Г. Фалеев, И.А. Перова, Д.А. Ережепов
ВЛИЯНИЕ БИОГУМУСА НА ПОГЛОЩЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ (Cd, Zn)
ГИПЕРАКУМУЛЯТОРОМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ *Helianthus annuus L.*

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Проведенные нами исследования по изучению влияния биогумуса на поглощение тяжелых металлов (Cd, Zn) на примере Helianthus annuus L. показали, что внесение биогумуса способствует снижению количества поллютантов накапливающихся как в надземной, так и в подземной части исследованных растений.

Загрязнение биосферы, вследствие усиливающегося антропогенного воздействия, тяжелыми металлами является одной из основных экологических проблем современности. Техногенное загрязнение окружающей среды оказывает неблагоприятное действие на многие физиологические процессы растений. Активная роль в поглощении растением элементов питания принадлежит корневой системе, а значит, влияние почвенных загрязнений играет одну из главных ролей в комплексном