

При этом, содержание хлорофилла *a* у микотрофных растений было выше, чем у не микотрофных, как при внесении цинка, так и при внесении меди.

При внесении в почву тяжелых металлов (Pb, Cu, Zn,) не смотря на снижение всех исследованных параметров растений - высоты, площади листьев, содержание каротиноидов в листьях у *Ph. vulgaris* и содержание хлорофилла в листьях *Avena sativa* микотрофные растения имели более высокие показатели по изученным параметрам, что говорит о протекторной роли грибов-микоризообразователей в условиях почвенного загрязнения тяжелыми металлами.

Проведенное нами исследование содержания пероксидазы в листьях микоризных и немикоризных растений *Avena sativa* L. показало, что в листьях микоризных растений данный фермент был несколько более активным, чем у немикотрофных. Очевидно, более высокая активность пероксидазы в корнях микотрофных растений по сравнению с немикотрофными при внесении меди, говорит о более высокой устойчивости микоризных растений к воздействию загрязнителя.

Разница между микоризными и немикоризными растениями при внесении меди в показателях активности пероксидазы существенно выше, чем в варианте опыта с цинком, что скорее всего может быть обусловлено более высокой активностью фермента и как следствие более мощными протекторными свойствами эндомикоризы для растения-хозяина.

В заключении необходимо отметить, что разработка биотехнологий рекультивации земель загрязненных поллютантами антропогенного происхождения, в частности тяжелыми металлами, требует комплексного подхода и проводимые исследования по изучению роли эндомикориз в устойчивости растений к ТМ – это только часть, один из элементов, технологий рекультивации (фиторемедиации, фитостабилизации). Так, проведенные нами исследования по изучению влияния биогумуса на поглощение тяжелых металлов (на примере Cd, Zn) таким гипераккумулятором тяжелых металлов, как *Helianthus annuus* L. (подсолнечник масличный) показали, что внесение биогумуса способствует снижению количества поллютантов накапливающихся как в надземной, так и в подземной части исследованных растений. Эти и подобные им данные могут быть использованы при разработке эффективных технологий рекультивации и восстановления земель, загрязненных поллютантами антропогенного происхождения, в частности тяжелых металлов.

1. Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. - М.: Наука. 1981.

2. Sharma A.K., Johri B.N. Arbuskular Mycorrhizae Interactions in Plants, Rhizosphere and Soils. Science Publishers, Inc. Plymouth, UK 2002.

3. Gildon A., Tinker P.B. A heavy metal-tolerant strain of mycorrhizal fungus. //Trans. Brit. Mycol. Soc. 1981. V. 77. N3. P.648-649

4. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа. 1975. 284 С.

Ауыр металдармен ластанган топырақта өсірілген микотрофты өсімдіктердің көрсеткіштері (жапырақ көлемі, пероксидаза, хлорофилл және каротиноид мөлшері) микотрофты емес өсімдіктермен салыстырғанда жоғары болды. Эндомикоризның қорғаныш қызметі көрсетілген.

It was comparing a mycorrhizal and nonmycorrhizal plant, growing on heavy metal (Pb, Cu, Zn) polluted soil. Arbuscular mycorrhiza increased plants tolerance to heavy metal.

УДК 577.21

А.С. Исабекова, В.А. Хайленко, А.Т. Иващенко
СВЯЗЫВАНИЕ МЕЖГЕННЫХ microRNA ЧЕЛОВЕКА С САЙТАМИ mRNA ГЕНОВ,
УЧАСТВУЮЩИХ В РАЗВИТИИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ
(Казахский национальный университет имени аль-Фараби)

Выявлены сайты связывания 784 межгенных miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA 54 генов, которые участвуют в развитии рака толстой кишки человека. Установлено существенное отличие 5'UTR, CDS и 3'UTR по числу сайтов связывания с межгенными miRNA. Средняя плотность сайтов связывания в 5'UTR mRNA 40 генов равнялась 33,1 s/l и была в 6,5, 4,7 и 3,8 раза больше, чем в 3'UTR, CDS и всей mRNA соответственно. Многие межгенные miRNA, связываются в некоторых mRNA с несколькими сайтами. Некоторые mRNA в 5'UTR имеют участки с высокой плотностью связывания miRNA. Доля длины 5'UTR, CDS и 3'UTR от средней длины mRNA 40 генов-мишеней для межгенных miRNA в среднем составляла 4,4%, 59,9%, 29,4%, а доля сайтов взаимодействия межгенных miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR составляла 22,4, 49,2 и 28,4% соответственно. Результаты проведенных исследований показывают, что miRNA могут осуществлять регуляцию экспрессии генов как посредством связывания в 3'UTR, так и действуя на 5'UTR и CDS.

Первые микроРНК (miRNA) были обнаружены в 1993 году в генах нематоды [1] и интерес к этим регуляторам экспрессии генов постоянно растет. Если в 2009 году число публикаций по miRNA составляло 2500, то уже в 2011 году их число превысило 5000 [2]. Такое внимание к miRNA связано с их важной биологической ролью. Показано участие miRNA в таких важнейших биологических

процессах как дифференцировка [3], деление клеток [4], апоптоз [5] и т.д. Как правило, miRNA связываются с матричной РНК (mRNA) гена-мишени в составе комплекса белков и подавляют процесс трансляции, либо способствуют разрезанию mRNA [6].

Подавляющее число публикаций описывают взаимодействие miRNA с mRNA только в 3'-нетранслируемой части (3'UTR). Всего в нескольких работах показано взаимодействие miRNA с 5'-нетранслируемой частью (5'UTR) и с белок-кодирующей нуклеотидной последовательностью (CDS) mRNA [7-10]. В настоящее время не известны публикации, в которых была бы обоснована невозможность или неэффективность взаимодействия miRNA с 5'UTR и CDS mRNA. Исходя из общих соображений такое взаимодействие ничем не запрещено, более того, известны примеры действия интерферирующей РНК на белок-кодирующую часть mRNA [11]. Следовательно, причины игнорирования связывания miRNA с 5'UTR и CDS при изучении взаимодействия miRNA с mRNA отсутствуют. В связи с этим нами проведены исследования связывания miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA генов человека.

В качестве генов-мишеней для miRNA нами выбраны гены, участвующие в развитии онкологических заболеваний. В большом числе публикаций показано, что экспрессия miRNA связана с развитием рака пищевода [12], желудка [13, 14], кишечника [15], легких [16], простаты [17], молочной железы [18], поджелудочной железы [19], яичников [20] и т.д.. На основе этой связи разрабатываются методы диагностики и лечения онкологических заболеваний [21-23], что придает таким исследованиям практическую значимость.

Материалы и методы

В качестве материала использованы нуклеотидные последовательности mRNA 54 генов человека (*Homo sapiens* Genome build 37.2.), которые были заимствованы из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нуклеотидные последовательности межгенных miRNA (ig-miRNA) и их предшественник зрелой miRNA (pre-miRNA) получены из базы данных miRBase (<http://www.mirbase.org>). Для поиска ig-miRNA была разработана программа miRNA Finder 2.2 (<http://sites.google.com/site/malaheenee/software/mirna-finder>).

Известно несколько программ (RNAhybrid (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid>), <http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid>), TargetScanS (<http://genes.mit.edu/targetscan/>), DIANA-microT (http://diana.pcbi.upenn.edu/cgi-bin/micro_t.cgi), miRanda (<http://www.micorna.org/>), PicTar (<http://pictar.bio.nyu.edu>), rna22 (<http://cbcsrv.watson.ibm.com/rna22.html>) и др.), которые позволяют предсказывать mRNA-мишени. Программы TargetScanS, TargetScan, miRanda основаны на использовании метода seed-комплементарности, а программы DIANA-microT и RNAhybrid находят сайты гибридизации miRNA с mRNA с помощью термодинамических оценок. Программа RNAhybrid позволяет проводить поиск сайтов гибридизации не только сайтов-мишеней 5'-доминантного канонического, 5' seed-доминантного и 3'-компенсаторного типа. Для расчета величины свободной энергии гибридизации (ΔG) мы использовали программу RNAHybrid 2.1. 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 к 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA 54 изученных генов оценивали для каждого из этих участков с достоверностью $p < 0,002$. 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

Из известных баз данных по miRNA человека нами были отобраны 784 межгенных miRNA для которых была проверена локализация их кодирующих нуклеотидных последовательностей в межгенных участках. 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.

Из данных таблицы 1 видно, что ig-miRNA имели сайты связывания в 5'UTR mRNA 40 генов в среднем с большей плотностью, чем вся mRNA. Минимальная плотность сайтов связывания miRNA в 5'UTR mRNA 40 генов была равна 4,5 s/l. в mRNA *ADAM29* и *KLF12*, а максимальная 143,3 s/l в mRNA гена *GNAS*. Сродство 5'UTR mRNA 40 генов к ig-miRNA сильно варьировало. Межгенные miRNA имели плотность сайтов связывания в 5'UTR выше, чем всей mRNA. Средняя величина плотности сайтов связывания в 5'UTR mRNA 40 генов равнялась 33,1 s/l (таблица 1) и была в 6,5, 4,7 и 3,8 раза больше, чем в 3'UTR, CDS и всей mRNA соответственно. Коэффициент корреляция связи между длиной 5'UTR и плотностью расположения в нем сайтов связывания для ig-miRNA равен -0,04 ($p < 8e-1$), что свидетельствует об отсутствии связи между ними. Для CDS $r = -0,34$ ($p < 3e-2$) и для 3'UTR $r = -0,09$

($p < 0,05$), что тоже говорит об отсутствии значимой связи между их длиной и плотностью в них сайтов связывания ig-miRNA.

Соотношение сайтов связывания в 5'UTR, CDS, 3'UTR каждого гена, по-видимому, определяется его биологической ролью и структурой mRNA, то есть оно не случайно. Подтверждением этого предположения может служить отсутствие значимой корреляции между плотностью сайтов связывания miRNA в 5'UTR и в mRNA. На основании данных таблицы 1 коэффициент корреляции между плотностью сайтов связывания miRNA с 5'UTR и соответствующей mRNA в группе генов с плотностью 1,7 - 4,6 s/l равен 0,16 и в группе генов с плотностью 5,6 - 9,4 s/l равен 0,23.

5'UTR mRNA семи генов имели меньшую плотность сайтов связывания ig-miRNA, чем во всей mRNA (таблица 2). Однако средняя плотность сайтов взаимодействия ig-miRNA с CDS и 3'UTR была соответственно в 1,6 и 1,8 раза выше, чем в группе из 40 генов (таблица 1).

Таблица 1

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

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	4718	493	3843	382	2,3	6,1	2,1	0,0
<i>ABCG2</i>	4431	493	1968	1970	3,4	20,3	2,5	0,0
<i>ADAM29</i>	3325	670	2463	192	3,6	4,5	3,7	0,0
<i>ALCAM</i>	4741	540	1752	2449	3,8	22,2	0,6	2,0
<i>APC2</i>	10732	85	8533	2114	2,8	11,8	2,8	2,4
<i>APC3</i>	11027	380	8533	2114	3,4	23,7	2,7	2,4
<i>AXIN1</i>	3675	389	2589	697	21,2	66,8	15,8	15,8
<i>BAD</i>	970	82	507	381	27,8	48,8	31,6	18,4
<i>BAX</i>	810	69	580	161	16,1	43,5	13,8	12,4
<i>BRCA1</i>	7224	232	5592	1400	3,7	17,2	3,2	3,6
<i>BRCA2</i>	11386	227	10258	901	1,7	8,8	1,3	4,4
<i>CCND1</i>	4289	209	889	3191	12,8	47,9	10,1	11,3
<i>CD44</i>	4589	434	1087	3068	9,4	53,0	4,6	4,9
<i>CDH1</i>	4815	125	2649	2041	6,9	56,0	6,0	4,9
<i>CTNNB1</i>	3720	268	2346	1106	4,6	11,2	4,3	3,6
<i>ENG</i>	3060	413	1977	670	21,9	53,3	14,2	25,4
<i>EP300</i>	8761	395	7246	1120	8,2	17,7	8,4	3,6
<i>FLCN</i>	3687	504	1740	1443	14,7	27,8	14,4	10,4
<i>FZD7</i>	3851	61	1725	2065	11,4	49,2	18,6	4,4
<i>GNAS</i>	1907	356	1185	366	29,9	143,3	5,1	0,0
<i>KLF12</i>	10909	222	1209	9478	3,5	4,5	5,8	3,2
<i>KRAS</i>	5297	181	568	4548	3,4	38,7	3,5	2,0
<i>MET</i>	6676	187	4227	2262	3,7	32,1	2,6	3,5
<i>MLH3</i>	7896	216	4363	3317	2,9	4,6	3,2	2,4
<i>MMP2</i>	3549	311	1983	1255	12,4	48,2	11,1	5,6
<i>MMP9</i>	2387	19	2124	244	14,2	52,6	14,1	12,3
<i>MSH2</i>	3147	68	2806	273	2,9	14,7	2,9	0,0
<i>MSH3</i>	4620	253	3414	953	6,5	35,6	5,3	3,2
<i>MSH6</i>	4328	152	4084	92	6,2	32,9	5,4	0,0
<i>MUTYH-α</i>	1945	216	1650	79	15,9	18,5	16,4	0,0
<i>MYC</i>	2368	525	1366	477	8,0	15,2	7,3	2,1
<i>PIK3CA</i>	3712	157	3207	348	2,7	38,2	0,9	2,9
<i>PMS2</i>	2836	87	2589	160	3,2	11,5	2,7	6,3
<i>PROM1</i>	3977	212	2598	1167	3,3	28,3	2,3	0,9
<i>PTEN</i>	5572	1031	1212	3329	10,1	47,5	1,7	1,5
<i>PTPN12</i>	3225	91	2343	791	5,0	65,9	3,8	1,3
<i>SMAD4</i>	8769	538	1660	6571	6,3	29,7	3,6	5,0
<i>TGFBR2</i>	4704	382	1779	2543	6,2	34,0	4,5	3,2
<i>TNFSF10</i>	1953	123	846	984	5,6	16,3	2,4	7,1

<i>VDR</i>	5060	401	1434	3225	13,6	22,4	16,0	11,5
Сред.знач.	5236	330	2804	2102	8,6	33,1	7,0	5,1

На таблице 3 приведены плотности сайтов связывания ig-miRNA в mRNA, которые не взаимодействовали с этими miRNA в 5'UTR. 5'UTR этих mRNA имели среднюю длину в 2,1 раза меньшую, чем 5'UTR в mRNA генов приведенных на таблице 1. Следовательно, более короткая длина 5'UTR в mRNA этих генов не является основной причиной отсутствия сайтов связывания для ig-miRNA. Отсутствие сродства ig-miRNA к 5'UTR этих mRNA, по-видимому, связано с биологической функцией соответствующих генов.

Таблица 2

Характеристики связывания ig-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>DLC1</i>	7479	444	4587	2448	5,8	4,5	8,7	0,4
<i>AXIN2</i>	4234	289	2531	1414	11,3	3,5	13,8	8,5
<i>MTHFR</i>	7150	229	1972	4949	14,6	8,7	9,6	16,8
<i>PMS1-tr-1</i>	3538	529	2799	210	2,5	1,9	2,5	4,8
<i>SNAI1</i>	1709	84	795	830	14,6	11,9	18,9	10,8
<i>SRC</i>	4097	449	1612	2036	12,2	11,1	8,1	15,7
<i>TP53</i>	2586	197	1182	1207	11,6	10,2	16,1	7,5
Сред.знач.	4399	317	2211	1871	10,4	7,4	11,1	9,2

mRNA семи генов не имеют сайтов связывания с ig-miRNA в 3'UTR (таблица 1), Отсутствуют сайты связывания в 5'UTR и 3'UTR для межгенных mRNA четырех генов (таблица 3).

mRNA генов, приведенных на таблице 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.

Таблица 3

Характеристики связывания ig-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
2	5051	139	4638	274	5,4	0,0	5,8	0,0
<i>APC1</i>	10840	193	8533	2114	2,6	0,0	2,7	2,4
<i>BRAF</i>	2944	61	2302	581	5,4	0,0	7,0	0,0
<i>BUB1</i>	3502	112	3259	131	2,3	0,0	2,5	0,0
<i>KIT</i>	5174	87	2932	2155	3,9	0,0	4,8	2,8
<i>MLH1</i>	2662	198	2272	192	6,4	0,0	7,5	0,0
<i>ZEB1</i>	6268	391	3327	2551	3,4	0,0	5,1	1,6
Сред.знач	5206	169	3895	1143	4,2	0,0	5,0	1,0

Многие ig-miRNA, связываются в некоторых mRNA с несколькими сайтами. Например, с 5'UTR mRNA гена *GNAS* в четырех сайтах связываются miR-1268, miR-4466, miR-4492, miR-4508. miR-4466 имеет 24 сайта связывания в 14 генах и из этих сайтов 16 расположены в 5'UTR, что не случайно. mRNA гена *P TEN* имеет 56 сайтов связывания для ig-miRNA и 49 из них локализованы в 5'UTR. mRNA гена *GNAS* имеет 57 сайтов связывания для ig-miRNA и 51 из них локализованы в 5'UTR. mRNA гена *ALCAM* имеет 18 сайтов связывания для ig-miRNA и 12 из них локализованы в 5'UTR.

Некоторые mRNA в 5'UTR имеют участки с высокой плотностью связывания miRNA. Например, в 5'UTR mRNA гена *ENG* с началом 313-349 н. - 7 сайтов, а в 5'UTR mRNA гена *MMP2* имеется 2 участка для связывания по 5 miRNA (115-129 н., 202-256 н.).

Из 54 генов наибольшая плотность сайтов взаимодействия ig-miRNA с mRNA характерна для 5'UTR 40 генов. То есть, экспрессия значительной части изученных генов регулируется через связывание ig-miRNA в этой области mRNA. Например, в mRNA гена *P TEN* из 49 сайтов связывания miRNA только два сайта расположены в CDS и пять сайтов в 3'UTR. 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 как посредством связывания в 3'UTR, так и действуя на 5'UTR и CDS. Например, в mRNA гена *AXIN2* из 43 сайтов связывания miRNA один сайт расположен в 5'UTR, 12 в 3'UTR и 30 сайтов в CDS. В mRNA гена *ABCC2* все 22 сайта расположены в CDS. Доля длины 5'UTR, CDS и 3'UTR от средней длины mRNA 40 генов-мишеней для ig-miRNA в среднем составляла 4,4%, 59,9%, 29,4%, а доля сайтов взаимодействия ig-miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR составляла 22,4%, 49,2% и 28,4% соответственно. Приведенные данные показывают, что при рассмотрении действия miRNA на 3'UTR mRNA учитываются только 28,4% всех сайтов связывания miRNA с mRNA, поэтому необходимо учитывать сайты связывания в 5'UTR и CDS. Знание всех сайтов связывания miRNA с участками mRNA позволяет разработать более точные методы диагностики заболеваний вызванных отклонениями в экспрессии генов посредством действия miRNA.

1. Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C.elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* // *Cell*.- 1993.- V.75.- No. 5.- P.843-854.
2. Miano J.M., Small E.M. MicroRNA133a: A new variable in vascular smooth muscle cell phenotypic switching // *Circulation Research*.- 2011.- V.109.- P.825-827.
3. Liu C., Tang D.G. MicroRNA regulation of cancer stem cells // *Cancer Res.*- 2011.- V.71. P.5950-5954.
4. Takahashi Y., Forrest A.R., Maeno E., Hashimoto T., Daub C.O., Yasuda J. MiR-107 and miR-185 can induce cell cycle arrest in human non small cell lung cancer cell lines // *PLoS One*.- 2009.- V.4.- P.e6677.
5. Lynam-Lennon N., Maher S.G., Reynolds J.V. The roles of microRNA in cancer and apoptosis // *Biological Reviews*.- 2009.- V.84.- P.55-71.
6. Bracken C.P., Szubert J.M., Mercer T.R., Dinger M.E. et al. Global analysis of the mammalian RNA degradome reveals widespread miRNA-dependent and miRNA-independent endonucleolytic cleavage // *Nucleic Acids Research*.- 2011.- V.39.- P.5658–5668.
7. Orom U.A., Nielsen F.C., Lund A.H. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation // *Molecular Cell*.- 2008.- V.30.- P.460-471.
8. Tsai N.P., Lin Y.L., Wei L.N. MicroRNA mir-346 targets the 5'-untranslated region of receptor-interacting protein 140 (RIP140) mRNA and up-regulates its protein expression // *Biochem J.*- 2009.- V.424.- P.411-418.
9. Moretti F., Thermann R., Hentze M.W. Mechanism of translational regulation by miR-2 from sites in the 5' untranslated region or the open reading frame // *RNA*.- 2010.- V.16.- P.2493-25.
10. Ajay S.S., Athey B.D., Lee I. Unified translation repression mechanism for microRNAs and upstream AUGs // *BMC Genomics*.- 2010.- V.11.- P. 155-165.
11. Ying S.Y., Chang C.P., Lin S.L. Intron-mediated RNA interference, intronic microRNAs, and applications // *Methods Mol Biol*.- 2010.- V.629.- P.205-237.
12. Feber A., Xi L., Pennathur A., Gooding W.E., Bandla S. et al. MicroRNA prognostic signature for nodal metastases and survival in esophageal adenocarcinoma // *Ann. Thorac. Surg.*- 2011.- V.91.- P.1523-1530.
13. Gao C., Zhang Z., Liu W., Xiao S., Gu W., Lu H Reduced microRNA-218 expression is Associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer // *Cancer*.- 2010.- V.116.- P.41-49.
14. Li X., Zhang Y., Zhang H., Liu X. miRNA-223 promotes gastric cancer invasion and metastasis by targeting tumor suppressor EPB41L3 // *Mol Cancer Res.*- 2011.- V.9.- P.824–833.
15. Zhang J., Guo H., Zhang H., Wang H., Qian G. et al. Putative tumor suppressor miR-145 inhibits colon cancer cell growth by targeting oncogene friend leukemia virus integration 1 gene // *Cancer*.- 2011.- Vol.117.- No.1.- P.86-95.
16. Bishop J.A., Benjamin H., Cholak H., Chajut A., Clark D.P., Westra W.H. Accurate classification of non-small cell lung carcinoma using a novel MicroRNA-based approach // *Clin. Cancer Res.*- 2010.- V.16.- P.610-619.
17. Galardi S., Mercatelli N., Farace M.G., Ciafre S.A. NF-kB and c-Jun induce the expression of the oncogenic miR-221 and miR-222 in prostate carcinoma and glioblastoma cells // *Nucleic Acids Research*.- 2011.- V.39.- P.3892–3902.
18. Fu S.W., Chen L., Man Y.-G. miRNA biomarkers in breast cancer detection and management // *J. Cancer*.- 2011.- V.2.- P.116-122.
19. Zhang Y., Li M., Wang H. Profiling of 95 microRNAs in pancreatic cancer cell lines and surgical specimens by real time PCR analysis // *World J. Surg.*- 2009.- V.33.- P.698–709.
20. Corney D.C., Nikitin A.Y. MicroRNA and ovarian cancer // *Histol Histopathol.*- 2008.- V.23.- P.1161–1169.
21. Rachagani S., Kumar S., Batra S.K. MicroRNA in pancreatic cancer: pathological, diagnostic and therapeutic implications // *Cancer Letters*.- 2010.- V.292.- P.8-16.
22. Moussay E., Wang K., Cho J.-H., van Moer K., Pierson S., Paggetti J. et al. MicroRNA as biomarkers and regulators in B-cell chronic lymphocytic leukemia // *PNAS*.- 2011.- V.108.- No. 16., P. 6573-6578.
23. Hu Y., Correa A.M., Hoque A. et al. Prognostic significance of differentially expressed miRNAs in esophageal cancer // *Intern. J. Cancer*.- 2010.- V.128.- No.1.- P.132-43.

Адамның тоқ ішек ісігінің дамуына қатысатын 54 геннің mRNA-не 784 генералық miRNA байланысу сайттары анықталды. Генералық miRNA 5'UTR, CDS және 3'UTR-мен байланысатын сайттардың саны бойынша елеулі өзгешеліктер тіркелді. 40 геннің mRNA 5'UTR-дегі сайттардың орташа тығыздығы 33,1 s/1 болды және 3'UTR, CDS-тан 6,5, 4,7 және 3,8 есе артық болды. Көптеген генералық miRNA mRNA-мен бірнеше сайтта байланысады. Кейбір mRNA 5'UTR-де miRNA-ны жоғары тығыздықта байланыстыратын аудандар бар. Генералық miRNA нысаны болып табылатын 40 геннің mRNA орташа

ұзындығынан 5'UTR, CDS және 3'UTR ұзындықтарының үлесі 4,4%, 59,9%, 29,4% құрайды, ал 5'UTR, CDS және 3'UTR-мен байланысатын сайттардың үлесі сәйкесінше 22,4, 49,2 және 28,4% құрайды. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесі miRNA ген экспрессиясын 3'UTR байланысу арқылы және 5'UTR және CDS әсер ету арқылы реттей алатыны көрсетілді.

Binding sites of 784 intergenic miRNAs with mRNAs of 54 genes involving in colorectal cancer development were established. Significant difference of miRNA binding sites between 5'UTR, CDS and 3'UTR of mRNA was revealed. Average density of sites for 5'UTR of 40 genes is 33,1 s/l and it is 6,5, 4,7 and 3,8 times more than in 3'UTR, CDS and whole mRNA respectively. Many of intergenic miRNA bind to several mRNA in some sites. For 40 target genes of ig-miRNAs length ratio was, on the average, 4,4%, 59,9% and 29,4% for 5'UTR, CDS and 3'UTR respectively, the proportion of sites interacting with ig-miRNA was 22,4%, 49,2% and 28,4% for with 5'UTR, CDS and 3'UTR respectively. It follows from our research results that miRNAs might regulate gene expression by interaction to 3'UTR and affect on 5'UTR and CDS too.

Т.А. Карпенюк, А.В. Гончарова, Джобебаева С.А., Бейсембаева Р.У., С.Б. Оразова
ПОИСК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ, СИНТЕЗИРУЮЩИХ
АРАХИДОНОВУЮ КИСЛОТУ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫЕ
(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

С использованием теста на чувствительность к ацетилсалициловой кислоте проведен скрининг на способность микроводорослей и микроорганизмов, выделенных из почв и водоемов Казахстана, синтезировать арахидоновую кислоту. Отобраны 4 штамма, имеющие перспективу практического использования для разработки биотехнологии получения арахидоновой кислоты.

Большое значение для человека и сельскохозяйственных животных имеют полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Они подвергаются биотрансформации окислительными ферментами, что приводит к образованию разнообразных низкомолекулярных регуляторов биологических процессов, протекающих в клетках, тканях и целостном организме [1,2]. Одной из наиболее важных ПНЖК является арахидоновая кислота (АК), которая выступает в роли непосредственного предшественника эйкозаноидов (простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов) – большого семейства высокоактивных соединений, обладающих необычайно широким спектром биологических эффектов. В 90-е годы были получены данные, позволяющие рассматривать арахидоновую кислоту и ее продукты в качестве системы вторичных посредников. Во многих случаях показано, что арахидоновая кислота и ее производные могут взаимодействовать с другими системами передачи информации в клетке, модулируя их сигналы. Арахидоновой кислоте приписывается важная роль в регуляции лиганд-рецепторных взаимодействий, активности ионных каналов и активности регуляторных ферментов (фосфолипазы С), аденилатциклазы, гуанилатциклазы, протеинкиназы С в качестве внутриклеточного мессенджера [3].

Арахидоновая кислота находит широкое применение в: фармакологии (предшественник различных лекарственных и профилактических препаратов, применяемых при заболеваниях сердечно-сосудистой системы, печени и др); косметической промышленности (средства по уходу за кожей); пищевой промышленности (обогащение различных продуктов питания, в том числе искусственных детских молочных смесей и др); сельском хозяйстве (высокоэффективный стимулятор роста и защитных реакций растений) и др. [4-6].

В организме человека и животных АК не синтезируется, поэтому основными источниками арахидоновой кислоты являются продукты, которые содержат фосфолипиды и **ненасыщенные жирные кислоты**.

В настоящее время основным источником получения АК являются липидные экстракты из печени свиньи и других органов животных, что делает их крупномасштабное производство неэффективным (содержание АК составляет не более 0,2% в пересчете на сухую массу). В последние два десятилетия достигнуты определенные успехи в области биотехнологического получения АК с помощью низших грибов и морских водорослей. Однако, существующие на сегодняшний день биотехнологии получения АК далеко не совершенны, поскольку ее выход в лабораторных условиях в лучших случаях составляет 13 г/л (Япония), а в среднем у различных исследователей около 6-10 г/л (Россия, США, Польша и др). В связи с этим актуальным является поиск и создание высокоэффективных продуцентов АК и разработка биотехнологических способов ее получения [7-9]. Целью настоящей работы является поиск высокоэффективных продуцентов АК среди микроорганизмов и микроводорослей.

Материалы и методы

Объектами для отбора эффективных продуцентов арахидоновой кислоты (по биотесту на чувствительность к ацетилсалициловой кислоте (АСК) служили штаммы микроводорослей и микроорганизмов, выделенных из водоемов и почв Казахстана.