Казахский Национальный университет им. аль-Фараби

УДК 606:61

На правах рукописи

ЮРИКОВА ОКСАНА ЮРЬЕВНА

Взаимодействие miRNA с кодирующей областью mRNA генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями

6D070100-Биотехнология

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:
кандидат биологических наук,
профессор
Атамбаева Ш.А.
PhD, ассоциированный
профессор Большой А.А.

Республика Казахстан
Алматы, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАШЕНИЯ		3
ВВЕДЕНИЕ		4
1	**ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**	8
1.1	Общая характеристика miRNA	8
1.1.1	Биогенез и биологические функции miRNA	8
1.1.2	Классификация и номенклатура miRNA	9
1.1.3	Участие miRNA в диагностике заболеваний	10
1.2	Социально значимые заболевания	11
1.3	Нейродегенеративные заболевания. Болезнь Альцгеймера	12
1.4	Рак легкого. Немелкоклеточный рак легкого	15
1.5	Сердечно сосудистые заболевания. Инфаркт миокарда	20
2	**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**	23
2.1	Материалы	23
2.2	Методы	28
2.2.1	Программы для анализа и форматирования нуклеотидных и аминокислотных последовательностей	28
2.2.2	Программа MirTarget для предсказания сайтов связывания miRNA	28
2.2.3	Построение диаграмм Logo	29
3	**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ**	30
3.1	Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием БА	30
3.2	Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием НМРЛ	42
3.3	Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием ИМ	56
3.4	Взаимодействие miR-1322 с генами, участвующими в развитии некоторых социально значимых заболеваниях	58
3.5	Особенности полностью комплементарного взаимодействия miRNA с кодирующей областью mRNA генов	74
3.6	Характеристики взаимодействий miR-5p/miR-3p с mRNA гена *RTL1* человека	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		90
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ		94
ПРИЛОЖЕНИЯ		106

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

5'UTR – the 5′ untranslated region – 5'-нетранслируемая область mRNA
3'UTR – the 3′ untranslated region – 3'-нетранслируемая область mRNA
GenBank – база данных аннотированных нуклеотидных последовательностей ДНК, РНК и белков
CDS – the coding sequence – белок-кодирующая область mRNA
CSF – cerebrospinal fluid – спинномозговая жидкость
lncRNA – long non-coding RNA – длинные некодирующие RNA
miRNA– миРНК (микроРНК)
miRBase – база данных последовательностей предшественников и зрелых miRNA с аннотациями
mRNA – матричная РНК (мРНК)
NCBI – National Center for Biotechnology Information – национальный центр биотехнологической информации
PMID – уникальный идентификационный номер, присваиваемый каждой публикации, описание, аннотация или полный текст которой хранятся в базе данных PubMed
pre-miRNA – precursor miRNA – предшественник miRNA
pri-miRNA – primary microRNA – первичная miRNA
PUBMED – Biochemical Literature Citation and Abstracts – база данных по абстрактам и цитированию биохимической литературы
RISC – RNA-induced silencing complex – мультибелковый РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга генов
RPKM – reads per kilobase per million of mapped reads – число прочтений на тысячу нуклеотидов на миллион картированных прочтений
БА – Болезнь Альцгеймера
ГМ – головной мозг
НДЗ – нейродегенеративные заболевания
НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого
нт – нуклеотид
СС – сайты связывания
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
СЗЗ – социально значимые заболевания
РЛ – рак легкого

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы. Работа посвящена изучению взаимодействия miRNA с кодирующей областью mRNA генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями и поиску новых эффективных ассоциаций miRNA и их генов-мишеней для дальнейшего использования в диагностике этих заболеваний.

Актуальность темы исследования.

Социально значимые заболевания относятся к наиболее актуальным проблемам медицины. Для проведения эффективной профилактики этих заболеваний необходимо привлечение органов власти, сотрудников медицинской, образовательной сфер и др. Социально значимые заболевания приводят к утрате трудоспособности различных групп населения и преждевременной смертности. На решение проблем их профилактики, лечения и реабилитации выделяется большой объем финансирования. В число социально значимых заболеваний включены злокачественные новообразования, острый инфаркт миокарда (первые шесть месяцев), дегенеративные болезни нервной системы, демиелинизирующие болезни центральной нервной системы [1]. Поиск биомаркеров, позволяющих проводить раннюю минимально инвазивную диагностику социально значимых заболеваний, а также прогнозировать течение и эффективность терапии остается одной из приоритетных задач современной медицины и науки [2, 3]. Проводится множество медико-биологических исследований, указывающих на потенциальную возможность использования в качестве биомаркеров молекул miRNA. miRNA – некодирующие RNA длиной 17-25 нуклеотидов, выявлены у многих видов организмов [4]. В результате многочисленных исследований показано, что молекулы miRNA экспрессируются в различных тканях и типах клеток. Изменения в регуляции экспрессии miRNA оказывает значительное влияние на естественные нормальные и патологические процессы организмов. Аберрантная экспрессия miRNA влияет на регуляцию многих клеточных функций и генных сетей. Она была обнаружена в тканях и сыворотке крови пациентов с различными формами заболеваний [5]. miRNA высокостабильны в сыворотке и плазме, устойчивы к эндогенным рибонуклеазам и неблагоприятным физическим условиям, что позволяет эффективно выделять циркулирующие miRNA из биологических жидкостей, их количество может быть измерено с помощью ПЦР в реальном времени с высокой специфичностью и чувствительностью. К настоящему времени выявлены количественные изменения определенных циркулирующих miRNA для ряда заболеваний и дальнейший поиск маркерных miRNA является актуальным направлением медицинской биотехнологии. С каждым годом базы данных по miRNA, обнаруженных в геноме человека, пополняются новыми данными. Определение локализации сайтов связывания miRNA и свободной энергии взаимодействия их с mRNA генов мишеней важно для установления механизмов регуляции экспрессии генов с помощью miRNA. Публикаций, посвященных обнаружению и изучению сайтов связывания miRNA в белок

кодирующей области mRNA немного [6]. Хотя хорошо известно, что последовательность CDS (белок-кодирующая область mRNA) более консервативна, чем 3'UTR (3'-нетранслируемая область) и 5'UTR (5'-нетранслируемая область) mRNA [7]. Поэтому, вероятно, что через сайты связывания в CDS установлена эволюционно стойкая связь регуляции экспрессии генов посредством miRNA. В связи с этим изучение структурной организации сайтов связывания miRNA в CDS mRNA является актуальным.

Объекты исследования: нуклеотидные последовательности 6272 miRNA и генов, связанных с развитием некоторых нейродегенеративных, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний.

Предмет исследования: характеристики взаимодействий miRNA и нуклеотидной последовательности кодирующей области mRNA генов, участвующих в развитии болезни Альцгеймера, инфаркта миокарда и немелкоклеточного рака легкого.

Цель работы: выявить структурно-функциональные свойства сайтов связывания miRNA в белок кодирующей области mRNA генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями.

Задачи исследования:

1. Создать базы данных генов, участвующих в развитии болезни Альцгеймера, инфаркта миокарда и немелкоклеточного рака легкого.
2. Установить характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием болезни Альцгеймера.
3. Установить характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием немелкоклеточного рака легкого.
4. Установить характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием инфаркта миокарда.
5. Изучить взаимодействие miR-1322 с генами, участвующими в некоторых социально значимых заболеваниях
6. Изучить особенности полностью комплементарного взаимодействия miRNA с кодирующей областью mRNA генов.

Научная новизна исследования. Впервые установлены характеристики взаимодействия miRNA с CDS mRNA генов, связанных с развитием инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера, немелкоклеточного рака легкого. Предложены ассоциации miRNA и их генов-мишеней для разработки основ диагностики некоторых онкологических, нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваний. Найдены сайты связывания miRNA в mRNA с величиной свободной энергии взаимодействия равной или более -125 кДж/моль и сайты связывания с кластерной организацией. Выявлены полностью комплементарные взаимодействия miRNA с кодирующей областью mRNA генов, участвующих в развитии этих социально значимых заболеваний. Сайты связывания этих miRNA консервативны в mRNA ортологичных генов.

Теоретическая значимость работы. Выбраны нуклеотидные последовательности miRNA и mRNA генов человека и ортологов, связанных с развитием инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера и немелкоклеточного рака

легкого. Установлены miRNA, способные связываться с CDS mRNA генов, вовлеченных в развитие этих заболеваний. Установлены сайты связывания miRNA, расположенные с наложением нуклеотидных последовательностей в mRNA многих генов (кластеры). На основании характеристик взаимодействия miRNA с mRNA генов-мишеней предложены ассоциации, участвующие в патогенезе инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера, немелкоклеточного рака легкого. Выявлена эволюционная консервативность полностью комплементарных сайтов связывания miRNA, что свидетельствует о раннем возникновении регуляции экспрессии генов молекулами miRNA. Полученные результаты сравнительного анализа сайтов связывания miRNA в mRNA ортологичных генов дают обоснование для подбора экспериментальной модели животного для подтверждения регуляции исследуемых генов-мишеней посредством miRNA в эксперименте.

Практическая ценность исследования Выявленные сайты связывания miRNA в CDS mRNA предлагаются для дальнейшей экспериментальной валидации ассоциаций miRNA и генов-мишеней инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера и немелкоклеточного рака легкого. Полученные результаты были переведены на казахский язык и внедрены в учебный процесс и используются при преподавании элективного курса «Геномика және протеомика негіздері» у групп бакалавриата 3 курса специальности 5В060700 «Биология» (Приложение А).

Основные положения, выносимые на защиту:

Белок-кодирующие последовательности mRNA 122 изученных нами генов, участвующих в развитии инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера и немелкоклеточного рака легкого являются мишенями miRNA.

В CDS mRNA генов, участвующих в развитии социально значимых заболеваний имеются одиночные, множественные и полисайты связывания miRNA.

Кластерная организация сайтов связывания miRNA в mRNA кандидатных генов изученных заболеваний приводит к компактизации нуклеотидной последовательности mRNA, являющейся мишенью нескольких miRNA и возникновению конкуренции молекул miRNA за связывание с геном-мишенью.

Из 17508 изученных генов человека 32 имеют полностью комплементарные сайты связывания miRNA в CDS mRNA. Ассоциации miRNA и mRNA этих генов филогенетически консервативны.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа выполнена в рамках проектов «Разработка метода ранней диагностики сердечно-сосудистых заболеваний на основе microRNA и их генов-мишеней» № 0115РК00286, «Разработка тест-систем ранней диагностики сердечно-сосудистых, онкологических и нейродегенеративных заболеваний на основе ассоциаций miRNA и их генов-мишеней» № 0118РК00034 Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены:

– на IX Международном конгрессе «Biotechnology: state of the art and perspectives», Москва, Россия, 2017 г.;

– на IV Международной научной конференции студентов и молодых учёных «Фараби әлемі», КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан, 2017 г.;

– на Международородной конференции «Clinical proteomics. postgenome medicine», Россия, Москва, 2017 г.;

– на Международном форуме «Biotechnology: state of the art and perspectives», Москва, Россия, 2018 г.;

– на V Международной научной конференции студентов и молодых учёных «Фараби әлемі», КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан, 2018 г.;

– на V Международной конференции «Molecular phylogenetics and biodiversity biobanking», Москва, Россия, 2018 г.;

– на Международной конференции «Modern molecular-biochemical markers in clinical and experimental medicine», Прага, Чехия, 2018;

– на Международном конгрессе «Biotechnology: state of the art and perspectives», Москва, Россия, 2019 г.;

– на Международном симпозиуме «Cell Symposium оп Regulatory RNAs» - Берлин, Германия, 2019 г.;

– на VII Международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика», Севастополь, Россия, 2019 г.;

– на Международной конференции «New research: problems and prospects", Прага, Чехия, 2019 г.;

– на Международной конференции «Modern science: problems, ideas, trends», г. София, Болгария, 2019 г.;

– на Международном симпозиуме «EMBO|EMBL Symposium: The Non-Coding Genome», Гейдельберг, Германия, 2019 г.

Публикации. Основное содержание диссертации отражено в 19 печатных работах, в том числе 1 статья в международном журнале с импакт-фактором, цитируемом в Scopus и Web of Knowledge; 5 статей из перечня Комитета по контролю в сфере образования и науки; 14 тезисов в материалах международных конференций, из которых 9 зарубежные.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 123 страницах и состоит из обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения и списка использованных источников из 178 наименований; содержит 44 таблицы, три рисунка и четыре приложения.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика miRNA

1.1.1 Биогенез и биологические функции miRNA

miRNA, эндогенные малые некодирующие RNA (~ 22 нуклеотида) [8], действуют как модуляторы экспрессии генов в клетках и тканях. Их потенциальное использование в качестве биомаркеров патологий человека возможно благодаря обнаружению в 12 биологических жидкостях [9]. Кроме того, экспрессия miRNA была обнаружена в образцах 61 типа тканей [10]. Гены miRNA могут быть расположены как в кодирующих, так и в некодирующих последовательностях генов человека, их биогенез включает в себя несколько стадий (рисунок 1) [11]. В ядре с помощью RNA-полимеразы II образуется pri-miRNA длиной в несколько килобаз. С помощью комплекса, включающего РНКазу III DROSHA и ее белковый кофактор DGCR8 (DROSHA-DGCR8), происходит образование предшественника miRNA (pre-miRNA) шпилечной стрктуры. pre-miRNA затем переносится в цитоплазму, с дальнейшим расщеплением с помощью DICER до двухцепочечной miRNA. Обе или только одна цепь могут быть включены в RNA-индуцированный комплекс сайленсинга (RISC), в составе которого miRNA взаимодействует с mRNA-мишенью [12]. miRNA в RISC комплексе может связываться с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA [4, p. 289, 13, 14].

miRNA вовлечены в широкий спектр регуляторных функций как биологических, так и патологических процессов: развитие клеток/тканей, дифференцировка, метаболизм, гомеостаз, пролиферация и апоптоз, иммунные реакции и развитие рака [15]. На биогенез и функции miRNA могут влиять: эпигенетические модификации [16], изменение активности белков [17], однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в генах miRNA [18], наследственные мутации в нуклеотидных последовательностях miRNA [19]; соматические мутации в генах, кодирующих miRNA [20] и изменение копийности генов miRNA [21]. Циркулирующие miRNA, находящиеся в микровезикулах и экзосомах защищены от действия РНКаз (рисунок 1). miRNA высокостабильны в биологических жидкостях, обладают высокой диагностической чувствительностью и специфичностью и после клинических испытаний могут быть предложены в качестве минимально инвазивных биомаркеров различных заболеваний.

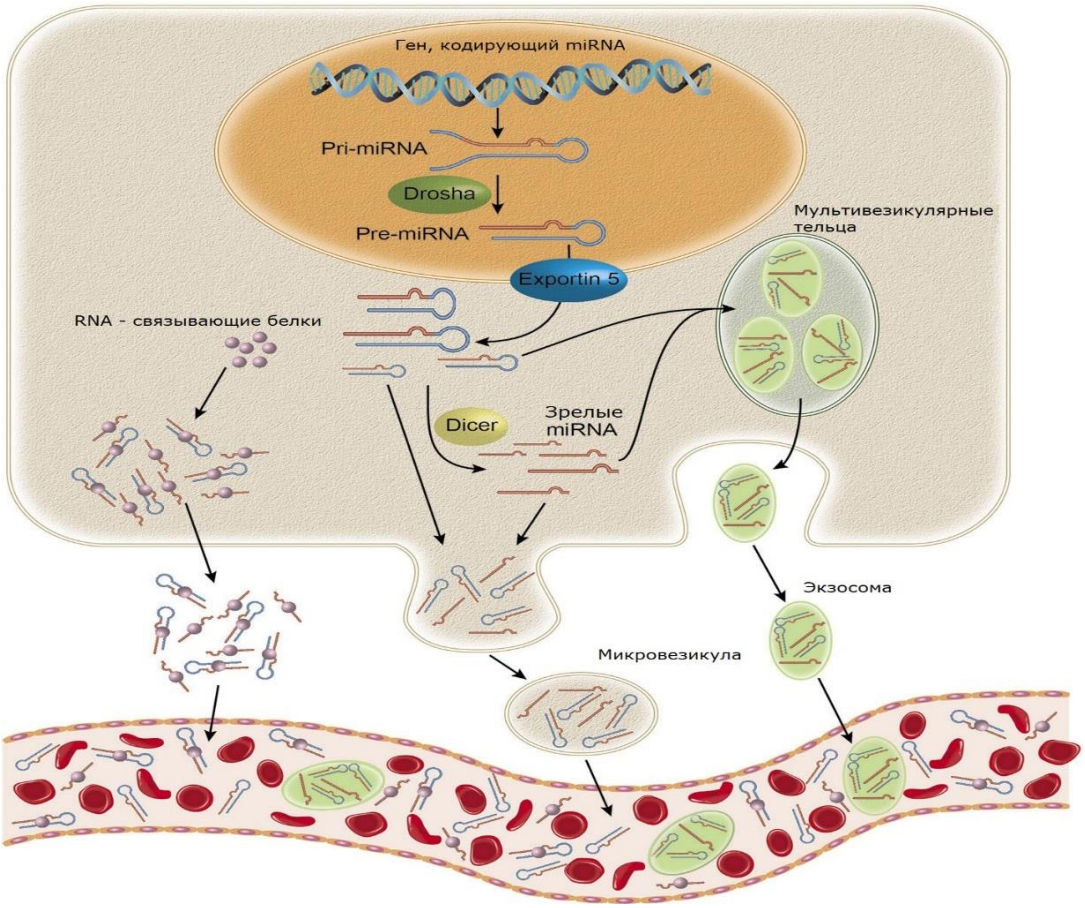


Рисунок 1 – Биогенез циркулирующих miRNA [22]

Примечания – miRNA транскрибируются в ядре как pri-miRNA с 5'-кэп и 3'-полиА последовательностями. Drosha удаляет 5'-кэп и 3'-полиА с образованием pre-miRNA, которые экспортируются из ядра с Exportin 5. В цитоплазме Dicer участвует в процессинге pre-miRNA до зрелых miRNA. pre-miRNA и зрелые miRNA могут (а) связываться с RNA-связывающими белками, которые непосредственно выводятся из клетки, (б) упаковываться в микровезикулы или (с) упаковаваться в экзосомы. pre -miRNA и зрелые miRNA путем эндоцитоза поступают в кровоток, связываясь с рецепторами или посредством слияния мембран.

1.1.2 Классификация и номенклатура miRNA

За исключением нескольких miRNA, которые были обнаружены на ранних этапах изучения miRNA (например, семейство *let*), номенклатура зрелых miRNA состоит из префикса «miR» и идентификационного номера. pre-miRNA выделены курсивом с приставкой mir. Трех- или четырехбуквенные приставки используют для указания видовой принадлежности, например, hsa-miRNA-1322 (*Homo sapienss*). Дополнительная строчная буква добавляется к miRNA со сходными последовательностями, отличающимися только на один или два нуклеотида, например, miR-1273f или miR-1273d. При образовании идентичных miRNA из pre-miRNA, расположеных в разных сайтах генома miRNA аннотируется дополнительным номером с дефисом, например, miR-194-1 или

miR-194-2. Две разные молекулы miRNA, происходящие от одного предшественника, названы по соответствию их расположения на шпильке: miR-155-5p (5’ конец) или miR-155-3p (3’ конец) либо с добавлением звездочки (*) для обозначения минорной цепи [22-24].

1.1.3 Участие miRNA в диагностике заболеваний

Циркулирующие miRNA в качестве биомаркеров имеют свои недостатки и преимущества на каждой стадии процесса лабораторного исследования (преаналитическая, аналитическая и постаналитическая) [25]. На преаналитической фазе, miRNA обнаруживаются в биологических жидкостях человека, собираемых с помощью минимально инвазивной процедуры. miRNA во внеклеточных везикулах или связаные с белками, стабильны при различных условиях (экстремальные значения pH, повторное замораживание и разморозка, хранение до 24 ч при комнатной температуре, или в течение десятилетий при температуре ниже −70°C) [26]. С другой стороны, на этом этапе на исследование могут повлиять даже ежедневные привычки пациентов (курение, физическая активность, патология почек, диета и циркадные ритмы) [27], сбор образцов (тип пробирок и антикоагулянты) и пробоподготовка (сила и время центрифугирования образца) [28]. На аналитическом этапе доступны надежные методы измерения miRNA в количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-qPCR), рассматриваемой в качестве стандартного метода. Однако были отмечены существенные различия в результатах при использовании ПЦР, микрочипов или секвенирования нового поколения (NGS) [29]. На этом этапе на валидацию циркулирующих miRNA могут влиять загрязнение образца miRNA клетками кожи, крови и др. [30]. Наконец, проблемы, связанные с постаналитической фазой, в основном касаются отсутствия общих стандартов [31]. Следовательно, использование циркулирующих miRNA в качестве биомаркеров при ведении пациентов требует разработки и наличия стандартизированных протоколов для каждой фазы их валидации [32]. Показано участие miRNA в контроле клеточных сигнальных путей, ответственных за различные процессы от деления клеток до онкогенеза. Очевидно, что современные исследования miRNA не ограничены изучением биогенеза и функций miRNA. В настоящее время актуальной темой многих исследований является клиническое применение miRNA в качестве диагностических, прогностических биомаркеров и терапевтических мишеней при различных заболеваниях [33, 34]. С каждым годом базы данных по miRNA и сведения об их участии в регуляции генов пополняются новыми данными. Количество статей и экспериментов в области исследования miRNA растет, приводя к появлению большого массива данных, разбросанных по тысячам статей. В таких условиях необходимы инструменты, позволяющие хранить, систематизировать и обрабатывать эту информацию. Очевидно, что применение методов биоинформатики при поиске генов-мишеней для miRNA позволяет в тысячи раз ускорить и снизить стоимость поиска, предлагая наиболее эффективные ассоциаций miRNA и их генов-мишеней для дальнейшей экспериментальной проверки [35].

1.2 Социально значимые заболевания

К социально значимым заболеваниям (СЗЗ) относят те болезни, для которых характерны наивысшие уровни заболеваемости и смертности в стране. В 2017 году были внесены изменения в № 367 Приказ Министра здравоохранения и социального развития Республики Казахстан о перечене социально значимых заболеваний от 21 мая 2015г. Социально значимыми признаны 13 заболеваний. В частности, ВИЧ, туберкулез, хронические вирусные гепатиты острый инфаркт миокарда (первые шесть месяцев), сахарный диабет, злокачественные новообразования, психические расстройства и расстройства поведения, детский церебральный паралич, ревматизм, дегенеративные болезни нервной системы, системные поражения соединительной ткани, демиелинизирующие болезни центральной нервной системы, некоторые орфанные заболевания [1]. Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из наиболее ведущих причин смертности в Казахстане и всем мире (17,9 миллионов смертей в 2016 году) [36]. В 85% случаев причинами являются возникновение инфаркта и инсульта. Онкологические заболевания в структуре смертности населения Казахстана продолжают занимать второе место после сердечно-сосудистых. Наиболее распространенной формой злокачественных новообразований по частоте заболеваемости и смертности является рак легкого (РЛ) [37]. Изучение нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), таких как болезнь Альцгеймера (БА), боковой амиотрофический склероз, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона и спиноцеребеллярные атаксии является актуальной медицинской и научной проблемой, так как, они до сих пор остаются неизлечимыми, несмотря на большое число иследований, направленных на поиск причин развития НДЗ. Используемые при НДЗ лекарственные препараты направлены на коррекцию основных симптомов. Среди нейродегенеративных заболеваний болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенной формой деменции в мире [38]. Для проведения эффективной профилактики социально значимых заболеваний необходимым является дорогостоящее лечение; обеспечение социальной, психологической и экономической помощи пациентам, а также борьба с развитием осложнений и инвалидности. Поскольку, социально значимые заболевания приводят к утрате трудоспособности различных групп населения и преждевременной смертности, на решение проблем их профилактики, лечения и реабилитации выделяется большой объем медицинских услуг и финансирования. Высокие социальные стандарты жизни всех слоев населения являются приоритетом в развитии Казахстана. Учитывая высокую смертность населения от СЗЗ исследования, посвященные решению проблем диагностики и терапии этих заболеваний актуальны. Для изучения взаимодействия miRNA с mRNA в качестве кандидатных в диссертации были выбраны и рассмотрены гены, вовлеченные в развитие наиболее распространенных СЗЗ как ИМ, БА и РЛ.

1.3 Нейродегенеративные заболевания, болезнь Альцгеймера

Нейродегенеративные заболевания приводят к гибели нейронов и дегенерации нервной ткани. Среди нейродегенеративных заболеваний болезнь Альцгеймера является наиболее распространенной формой деменции в мире. Согласно Всемирному отчету о проблеме болезни Альцгеймера 2015 года, в мире насчитывается около 47 миллионов человек, страдающих БА. Ожидается, что к 2050 году число больных деменцией достигнет более 131 миллиона [38, p 4]. Гистопатологическими признаками БА является наличие внутриклеточных нейрофибриллярных клубков, образованных агрегированным тау-белком и внеклеточных бета-амилоидных (Aβ) бляшек, что приводит к прогрессирующему повреждению ЦНС. Бета-амилоиды (Aβ) - пептиды, состоящие из 36-43 аминокислотных остатков, образующиеся из трансмембранного белка-предшественника (APP). APP расположен в хромосоме 21q21 и кодирует повсеместно экспрессируемый трансмембранный белок. Большая часть APP расщепляется в домене Aβ с помощью α- и γ-секретаз с образованием sAPPα и C-терминального фрагмента (CTF), оба из которых нетоксичны. Образование Aβ происходит путем расщепления APP вблизи N-конца β-секретазой (BACE); затем связанный с мембраной C-концевой фрагмент APP расщепляется γ-секретазой. Дальнейшее накопление и агрегация Aβ приводят к образованию бляшек. Такой патогенный механизм развития БА назван гипотезой амилоидного каскада [39]. Строгого сайта расщепления APP γ-секретазой в трансмембранном домене нет, что приводит к образованию пептидов Aβ переменной длины - Aβ40, Aβ42 [40]. Нейротоксичной является форма Aβ42. Aβ действует как триггер, инициируя сложный патогенный каскад процессов (в частности агрегации тау-белка), которые опосредуют нейродегенерацию и развитие БА. Таким образом, накопление Aβ является необходимым, но недостаточным условием развития БА [41]. Изучение нарушений структуры тау-белка легло в основу тау-гипотезы развития БА. Тау-белок принадлежит к группе ассоциированных с микротрубочками белков (MAP). Существует шесть изоформ тау-белка, преимущественно находящихся в аксонах нейронов [42]. При БА тау-белок претерпевает гиперфосфорилирование, теряет способность стабилизировать микротрубочки и агрегирует в клетке с образованием парных спиральных филаментов (PHF) и нейрофибриллярных клубков (NFT). Последующие дезинтеграция микротрубочек и коллапс транспортной системы внутри нейрона, приводят к гибели клеток. Патологические включения тау-белка обнаружены при нескольких нейродегенеративных заболеваниях (таупатиях), включая БА [43]. Нейрофибриллярные клубки характерны для БА и состоят из гиперфосфорилированного тау-белка [44]. Возникновение БА определяется генетическими мутациями и внешними факторами. Основным фактором риска для спорадической формы БА, наблюдаемой у пожилых людей, является возраст, тогда как, «фамильная» форма БА выявляется у людей более молодого возраста и обусловлена преимущественно мутациями ряда генов.

Наследственно обусловленные формы БА сопровождаются мутациями в *APP, APOE, PSEN1* и *PSEN2* [45]. В настоящее время считается, что усиленная экспрессия гена аполипопротеина Е (*APOE*) в тканях мозга связана с повышенным риском возникновения спорадической формы БА. Установлено, что *APOE* связывается с Аβ, приводя к образованию сенильных бляшек. При БА выявлена повышенная экспрессия *APOE*. Дальнейшие исследования подтвердили, что у носителей аллеля *APOE ε4* (одна из трех аллелей *APOE*) существенно увеличен риск развития БА. У пациентов гетерозиготных по *APOE ε4* риск увеличен втрое, у гомозиготных – в 15 раз. Тогда как, наличие аллели *APOE ε2* имеет протективное значение [46].

PSEN1 и *PSEN2* относятся к семейству трансмембранных белков, составляющих вместе с никастрином, энхансером пресенилина 2 (*PEN2*) и *APH-1* протеазный комплекс γ-секретазы [39, p. 341; 47]. В *PSEN1*, расположенном в 14 хромосоме, было идентифицировано 185 патогенных мутаций, что составляет примерно 80% случаев семейной формы БА [46, p. 15133; 48]. В его гомологе *PSEN2*, расположенном в 1 хромосоме, выявлено 13 патогенных мутаций, составляющих примерно 5% БА с ранним началом [49].

Аβ42 обнаруживается в спинномозговой жидкости и плазме, тогда как в головном мозге у людей с БА Аβ42 является основным пептидом [50]. На сегодняшний день многочисленные исследования выделяют три основных биомаркера в спинномозговой жидкости (CSF) для диагностики БА – Аβ42, T-tau (общий уровень тау белка) и P-tau (уровень фосфорилированного тау-белка) [51]. Обнаружение Аβ42 в спинномозговой жидкости позволяет отличить БА от других лобно-височных деменций. Аβ42 в CSF является основным биомаркером БА. Аβ40 является преобладающей формой пептида Аβ в мозге, спинномозговой жидкости и плазме. Аβ40 может оказывать защитное действие против образования Аβ бляшкек. Отношение Аβ40 к Аβ42 может быть более важным, чем абсолютные количества одного из этих пептидов по отдельности. Оценка Аβ42/Аβ40 вместе с уровнем тау-белка в CSF может снизить вероятность постановки ошибочного диагноза у здоровых людей с низким или высоким уровнем Аβ [52]. Было показано, что помимо в процессинга *APP*, протеаза BACE1 участвует в шеддинге приблизительно 19% белков, включая нейрегулин, который выполняет важные функции в миелинизации [53]. Активность и уровень BACE1 в CSF выше у людей с БА по сравнению со здоровыми.

В дополнение к бляшкам и клубочкам, у более половины пациентов с БА также обнаружены кортикальные тельца Леви, образованные неправильно свернутым α-синуклеином, подобные тем, которые найдены у пациентов с деменцией при болезни Паркинсона или деменцией с тельцами Леви. И наоборот, примерно 40% пациентов с деменцией тельцами Леви имеют патологию БА, определяемую их профилем CSF-биомаркеров [54]. Кроме того, до половины пациентов с БА несут трансактивный ответ включений ДНК-связывающего белка 43 (TDP-43), которые характерны для лобно-височной долевой дегенерации и спорадического бокового амиотрофического склероза

[55]. Отложения амилина, которые обнаруживаются в поджелудочной железе у большинства пациентов с сахарным диабетом 2 типа, также были обнаружены в мозге БА [56, 57]. Таким образом, хотя БА обычно характеризуется бляшками Aβ и NFT, большинство пациентов с БА имеют множественные патологии и различные типы протеинопатий головного мозга [58, 59]. Хотя в последние годы достигнуты некоторые успехи в использовании Aβ в плазме, Aβ и тау-белка в CSF в качестве биомаркеров, в совершенствовании методов визуализации амилоидов и в области прогнозирования снижения когнитивных функций. Однако, исследования Aβ в образцах плазмы показали противоречивые результаты и в настоящее время не существует точных диагностических тестов или биомаркеров БА. Постановка и уточнение диагноза основывается на пожизненном клиническом обследовании.

Биологические жидкости могут легко применяться в клинических испытаниях, позволяя проанализировать несколько биомаркеров, отражающих различные патофизиологические механизмы в одном и том же образце. CSF или кровь могут быть перспективными для обнаружения маркеров БА, которые не могут быть идентифицированы с помощью методов визуализации мозга [60]. Выделение биомаркеров из спиномозговой жидкости для мониторинга патофизиологические изменений при БА логически обосновано из-за прямого взаимодействия с внеклеточным пространством головного мозга [61]. Однако биомаркеры из биологических жидкостей отражают патологические изменения регионов мозга, что может быть особенно важно при начале развития БА. Другие ограничения при использовании ликвора включают относительную инвазивность проведения люмбальной пункции, ограниченный доступ в некоторых странах, невозможность сбора образцов у больших групп населения, особенно при необходимости серии измерений. Данные ограничения побудили к поиску диагностических или прогностических биомаркеров БА в крови. Так как в этом случае биомаркер был бы надежным, воспроизводимым, неинвазивным, простым и недорогим при измерении, примениным для больших групп населения. Кроме того, биомаркеры крови, могут быть использованы при раннем скрининге, улучшая раннюю диагностику и обеспечивая отслеживание различных показателей заболевания в течение длительных периодов времени.

Показано, что некоторые miRNA в крови дифференциально экспрессируются при БА [62]. Тем не менее, до сих пор не установлена засисимость их экспрессии с общим старением и изменениями целостности коры головного мозга и когнитивных функций. Обнаружение биомаркеров в спинномозговой жидкости или крови приведет к разработке эффективных методов диагностики и лечения БА, а также созданию более персонализированного подхода.

Постановка точного диагноза при БА возможна только при посмертном исследовании головного мозга – аутопсии [63]. Прижизненная постановка диагноза базируется на оценке потери памяти, когнитивных нарушений и является неточной за счет сходства симптомов с другими заболеваниями. Поэтому вопросы прижизненной диагностики данного заболевания остаются

актуальными. Поиск неинвазивных биомаркеров БА является перспективным направлением. Участие miRNA в развитии БА является предметом многих исследований. Целью ряда работ была идентификация ключевых дифференциально экспрессируемых генов и miRNA которые могли бы служить как потенциальные биомаркеры для диагностики и терапии БА [64]. Изучалось участие циркулирующих в крови miRNA на структурные и метаболические изменения в головном мозге при болезни Альцгеймера [65]. Установлено влияние некоторых miRNA на экспрессию генов в головном мозге, участвующих в развитии БА. Выяснялась роль miRNA в развитии БА с помощью биоинфрматических подходов [66]. Исследовалась роль экзосомальной miRNA в патогенезе БА [67]. Недавно был предложен набор WO2002/088706, состоящий из флуоресцентных наночастиц для раннего выявления БА. Набор состоит из молекулы-зонда, содержащей олигонуклеотид, способный обнаруживать одну или несколько БА-специфических miRNA, и биомаркеров, связанных с БА. Предлагается проведение скрининга miR-34a, miR-106b, miR-124b, miR-146b, miR-153, miR-155, miR-181a, miR-200a, мономеров Aβ1-42 (mAβ), олигомеров Aβ1-42 (oAβ), UCHL1, NLRP3, Tau, STAT3, SORL1, кластерин, APOE3, APOE4, Nogo-A, IL-13 и Visfatin в качестве маркеров, связанных с БА и воспалением. При разработке набора проводили сравнительный анализ уровней экспресии miRNA в клеточной линии гиппокампа мыши HT22. Для определения свойств связывания набора проверены уровни экспрессии Aβ, тау-белка и медиаторов воспаления у мышей с нокдауном APP/PS/ApoE. Данный набор тестировали с использованием плазмы пациентов с БА однако с ограниченым количесвом образцов плазмы пациентов. Поэтому для подтверждения возможности использования набора для ранней диагностики БА, необходимы дополнительные исследования [68]. Таким образом, на сегодняшний день не разработаны методы с использованием miRNA для диагностики БА. Поэтому изучение сайтов связывания miRNA в mRNA генов, участвующих в БА, необходимо для понимания молекулярных механизмов возникновения БА и дальнейшего применения miRNA в диагностике БА. Хотя особенности протекания БА хорошо описаны, к сожалению, методы лечения, направленные на снижение или удаление неправильно свернутых или агрегированных форм белков, не являются успешной стратегией [69]. В настоящее время доступно симптоматическое лечение, которое направлено на замедление прогрессии заболевания [70].

1.4 Рак легкого. Немелкоклеточный рак легкого

Рак легкого (РЛ) – наиболее распространенная форма злокачественных новообразований, по частоте заболеваемости и смертности от злокачественных опухолей она стоит на первом месте. 1,76 миллионов смертей от рака легкого зарегистрировано в 2018 году согласно информации из базы данных GLOBOCAN [37, p.1946]. Пятилетняя выживаемость при постановке дигноза рака легкого составляет 57–67% на первой-второй стадии, 5–25% – на третьей и менее 1% – на четвертой. По гистологическому строению различают два

основных типа рака легкого: мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). На НМРЛ приходится 85% всех случаев рака легкого [71]. НМРЛ характеризуется двумя преобладающими субтипами: аденокарцинома и плоскоклеточный рак. В 2015 г ВОЗ была опубликована классификация рака легкого, в которую были внесены изменения, связанные с молекулярной патологией рака легкого [72]. Аденокарцинома развивается из клеток железистого эпителия. Это самый распространенный подтип НМЛР, насчитывает 40-50% случаев НМРЛ. При аденокарциноме у 40% пациентов выявлены мутации в *EGFR*. В данном случае для таргетной терапии используют ингибиторы тирозинкиназы (ИТК) для ингибирования EGFR. 25–40% всех случаев НМЛР приходится на плоскоклеточный рак легкого, который развивается из клеток плоского эпителия. Одной из предрасполагающих причин развития данного типа рака легкого является курение. Плоскоклеточный рак легкого тяжело поддаётся лечению. Менее 5% случаев НМРЛ составлены крупноклеточным раком. Этот подтип обладает высоким потенциалом к метастазированию. Актуальным является установление молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов при патологии для ранней диагностики и эффективного лечения заболеваний. Постановка диагноза РЛ на поздних стадиях снижает вероятность успешного лечения, тогда как при раннем выявлении показатели выживаемости возрастают в несколько раз. В клиническую практику внедрены новейшие методы компьютерной, позитронно-эмиссионной томографии, аутофлюоресцентной бронхоскопии, однако это не привело к снижению смертности. Роль miRNA в патогенезе НМРЛ активно изучается [73, 74]. Анализ экспрессии miRNA возможно использовать для ранней диагностики немелкоклеточного рака легкого, прогнозирования эффективности предлагаемых стратегий лечения и в персонализированной терапии. НМРЛ имеет один из самых разнообразных профилей генетических изменений. Поэтому диагностика НМРЛ и выбор стратегии его лечения затруднительны. Несмотря на то, что четкой классификации, учитывающей генетические мутации РЛ на сегоднящний день, нет, однако эффективность молекулярно-генетических исследований РЛ доказана в ряде работ. Примерами являются идентификация мутаций рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и перестроек гена *ALK* как прогностических биомаркеров ответа на лечение ИТК EGFR или ALK.

Для диагностики РЛ используют радиологические, лабораторные методы исследования, а также исследования мокроты, биопсию и биомаркеры [75]. К группе радиологических исследований относят рентгенологическое и ультразвуковое исследование, компьютерную томографию, магнитно-резонансную томографию, позитронную эмиссионную томографию и сцинтиграфию костей скелета. Образцы мокроты также исследуют на наличие опухолевых клеток. Лабораторные исследования, включающие стандартные исследования крови, анализ функции печени и почек, уровня кальция и лактатдегидрогеназы используют для отслеживания наличия и тяжести острого или хронического поражения. Для определения типа опухоли проводят

микроскопическое исследование биоптата – биопсию. При подтверждении злокачественного характера опухоли, с помощью дополнительных исследований пытаются определить скорость роста и распространения опухоли. В качестве биомаркеров могут использовать специфические белковые или нуклеотидные молекулы, уровень которых в крови изменяется при заболевании. Биомеркеры используют как для диагностики, так и для обнаружения генетических мутаций с целью выбора эффективной стратегии лечения. Выявлено несколько потенциальных циркулирующих биомаркеров: раково-эмбриональный антиген (РЭА), фрагмент цитокератина-19 (CYFRA21-1), нейрон-специфическая энолаза (NSE), опухолевые антигены CA125 и CA19-9 и хромогранин А, вместе с обнаружением мутаций в генах *KRAS* и *TP53* [76]. Однако эти методы не показали достаточной чувствительности, воспроизводимости и специфичности для их применения в диагностике РЛ. Хотя основные исследования молекулярных маркеров сосредоточены на одном или небольшом количестве генетических мутаций, существует растущая потребность в разработке клинически применимых методов, которые смогут одновременно определять мутационный или экспрессионный статус многих генов, представляющих интерес, и делать это с использованием небольшого образца опухоли и биологических жидкостей. Мультиплексная полимеразная цепная реакция (ПЦР) определяет одновременно экспрессию по крайней мере двух генов в одном образце 51. Существующие платформы Sequenom (Sequenom) и SNaPShot (Applied Biosystems) используют мультиплексную ПЦР для идентикации потенциальных молекулярных мишеней геномной ДНК при РЛ, полученных из образцов опухоли [77]. Следует отметить, что мультиплексные геномные тесты обнаруживают экспрессию только известных мутаций и онкогенов, но не способны обнаруживать новые мишени [78]. Клиническое применение биомаркеров на основе одного гена уже доказало свою эффективность в выборе молекулярно-целевых агентов при НМРЛ [79]. В 2004 первыми молекулярно-направленными агентами, одобренными для лечения, прогрессирующего НМРЛ были эрлотиниб и гефитиниб [80].

В 2011 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов одобрело использование кризотиниба, ингибитора ALK при лечении НМРЛ [78, p.1040]. Впоследствии Национальной комплексной онкологической сетью и Американским обществом клинической онкологии было рекомендовано выявление мутаций *EGFR* и перестрек генов *ALK* во всех случаях НМРЛ с признаками аденокарциномы [81]. Современные молекулярно-генетические исследования НМРЛ направлены на выявление отчетливых генетических аномалий, позволяющих дифференцировать НМРЛ на специфические молекулярные субтипы – аденокарциномы и плоскоклеточный рак легкого. Такое разделение даст в будущем возможности для разработки новых молекулярных биомаркеров и терапевтических стратегий для конкретных групп пациентов (рисунок 2).

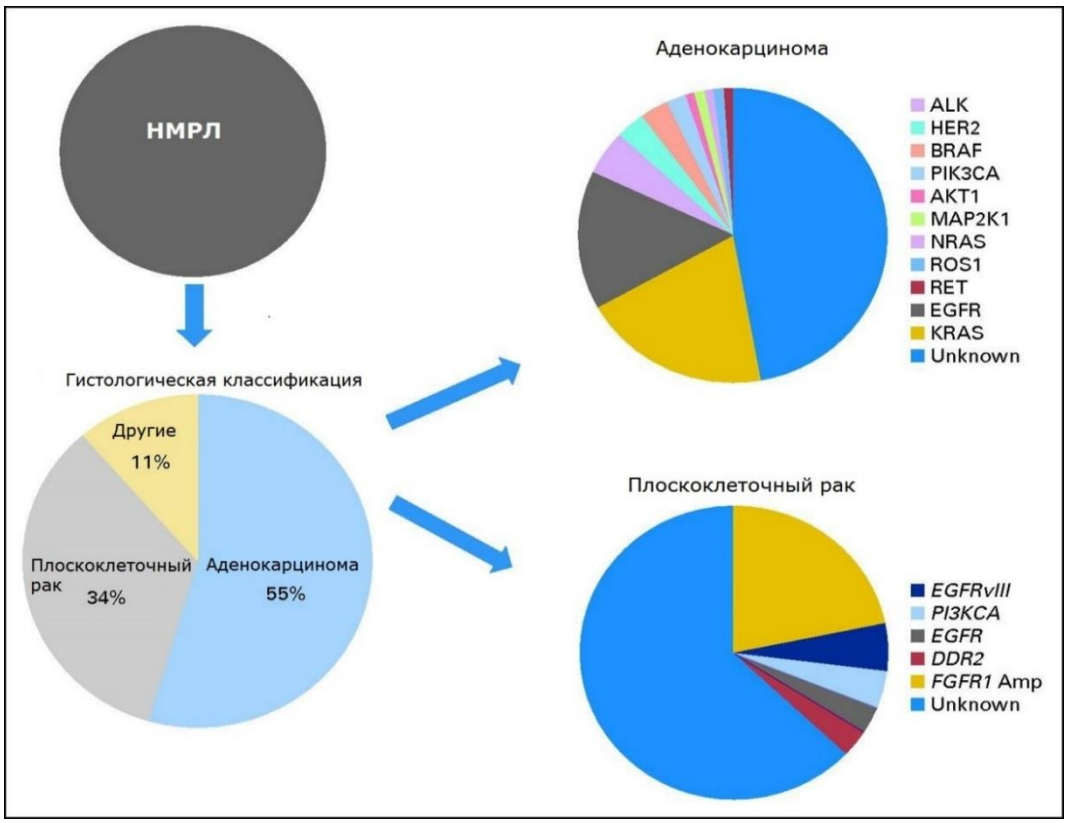


Рисунок 2 – Перспективы развития молекулярного субтипирования НМРЛ [78]

miRNA могут действовать как онкогены или супрессоры, изменяя экспрессию генов в тканях. Показана корреляция изменения уровней miRNA в крови с возникновением различных видов рака. Однако на уровень циркулирующих miRNA влияют возраст, пол, этническая принадлежность, сопутствующие заболевания, курение, диета, образ жизни и уровень физической активности [27, p. 735]. Например, повышение miR-122 отмечено в 70% случаев гепатоцеллюлярной карциномы, так и в случае гепатита В или при повреждениях печени [82]. Точно так же тромбоциты вносят значительный вклад в циркулирующий профиль miRNA [83]. Другой ключевой проблемой является отсутствие специфичности miRNA в соответствие с типом рака, то есть одна и та же miRNA может изменяться при различных видах рака. Так, экспрессия циркулирующей miR-21 изменяется при нескольких видах рака: молочной, поджелудочной желез, колоректальном и др. Уровни miR-21 также связаны с воспалительными и ранозаживляющими реакциями. Только детальное установление биологической роли конкретной miRNA в процессе онкогенеза позволит окончательно предложить ее в качестве биомаркера [84]. Эти опасения не должны препятствовать поиску ассоциированных с опухолью циркулирующих miRNA. Перспективные miRNA в качестве маркеров уже предсказаны для рака молочной, предстательной железы, легких и остеосаркомы. Их ценность заключается в возможности проведения анализа неинвазивно, что особо важно для тканей, в которых биопсия затруднена, например, кость, гипофиз и др. [85]. Активно изучается роль miRNA в составе

внеклеточных везикул (экзосомы и микровезикулы). miRNA, заключенные в везикулы действуют как гормоноподобные медиаторы, так как они специфически взаимодействуют с клетками-мишенями, связываясь с ее поверхностными белками. После слияния (эндоцитоза) с мишенью содержимое экзосомы высвобождается в клетку. Внеклеточные miRNA достаточно точно отражают содержание miRNA клеток, поскольку их высвобождение проходит пассивно, например, при аутофагии, гибели клеток. В отдельных исследованиях обсуждается, что экзосомальные miRNA более специфичны и, следовательно, их концентрация внутри везикулы может отличаться от внутриклеточной [82, p. 1]. В настоящее время активно исследуется роль экзосом в патогенезе. Продемонстрирована роль экзосом в развитии патологий сердца, остеопороза, диабета и рака [86]. Экзосомы, секретируемые агрессивными раковыми клетками стимулируют рост, выживаемость и способность к миграции менее злокачественных клеток. Экзосомы являются ключевыми детерминантами микроокружения опухоли и повышают инвазивность. Экзосомальные miRNA вовлечены в регуляцию различных процессов. Показано, что экзосомальная miR-1273f -активатор Wnt/β-catenin сигнального пути [86, p.9].

В ряде исследований показаны перспективы использования сывороточных miRNA в качестве прогностических и диагностических биомаркеров РЛ [87]. Показано, что уровень miR-19b-3p повышается в плазме крови у пациентов с РЛ [88]. Методом NGS идентифицировали изменения экспрессии 32 известных и 7 новых miRNA в цельной крови пациентов с РЛ по сравнению со здоровыми [89]. Анализ 24 miRNA плазмы крови позволяет отделить пациентов с ранней стадией НМРЛ от контрольной группы. Были предложены комбинации пяти, 10 и 50 miRNA крови, позволяющие выявить пациентов с НМРЛ с высокой точностью, специфичностью и чувствительностью [90]. Анализ miRNAома пациентов с НМРЛ после удаления опухоли, может быть полезен для выявления случаев метастазирования [91].

Соотношение экспрессии десяти miRNA [92], miR-183 и miR-19b позволили идентифицировать пациентов с РЛ с высокой точностью [93], тогда как панель miR-152, miR-148a, miR-148b, miR-21 [94] наиболее эффективна для выявления пациентов с НМРЛ от здоровой группы. Сообщается, что miR-125b позволяет установить различные стадии НМРЛ [95], тогда как панели miR-301, miR-200b, miR-193b, miR-141 и miR-125a-5p, let-7e, CEA [96, 97] применимы для выявления пациентов НМРЛ на ранних стадиях. Комбинация miR-199a-5p, miR-152-3p, miR-145-5p, miR-25-3p, miR-24-3p и miR-20a-5p эффективна для различия пациентов с НМРЛ от больных хронической обструктивной болезнью легких [98]. Комбинация miR-486, miR-221, miR-30d и miR-1 позволяет идентифицировать пациентов в группе риска НМРЛ [99]. Панель miR-548j-5p, miR-495-3p, miR-494-3p, miR-493-5p, miR-411-3p, miR-215-5p и miR-93-3p позволила предсказать общую выживаемость пациентов с РЛ после лечения ниволумабом, и miR-422a – для обнаружения метастазирования [100]. Уровни экспрессии комбинации miR-613, miR-495-5p, miR-302e, miR-98-5p коррелировали с чувствительностью к лучевой терапии [101].

С помощью измерения уровня панели miR-3135b, miR-550a-3p, miR-151a-3p, miR-151a-5p, miR-151b, miR-139-5p удалось выявить плоскоклеточный рак легкого [102], сочетание miR-155 с CEA и CA-125 – случаи аденокарциномы [103]. Комбинации miR-155, miR-145, miR-21 и miR-486-5p, miR-210, miR-21 используются для отличия опухолей от доброкачественных легочных узелков [104]. Несмотря на различие преаналитических протоколов (плазма, сыворотка, режимы центрифугирования) и аналитических методов (RT-qPCR, NGS, микрочип с последующим RT-qPCR), наиболее изученным в качестве диагностического и прогностического биомаркера для РЛ является циркулирующая miR-21.

Изменение уровней экспрессии miRNA коррелирует с развитием и прогрессированием рака (стадии развития опухолей и наличие метастазирования), что подчеркивает их потенциал в качестве диагностических и прогностических биомаркеров. miRNA – полезные инструменты для мониторинга состояния пациентов во время химиотерапии, после операции, и в качестве прогностических маркеров выживаемости пациентов. Предлагается использование комбинаций miRNA с учетом соотношения их концентраций для повышения диагностической и прогностической эффективности по сравнению с использованием отдельных miRNA или стандартных маркеров.

Очевидно, что наличие противоречивых данных о регуляции miRNA подчеркивают необходимости отбора высокоспецифичных биомаркеров для диагностики заболеваний. Также необходима стандартизация всех преаналитических, аналитических и постаналитических этапов исследования с целью повышения достоверности результатов.

1.5 Сердечно-сосудистые заболевания. Инфаркт миокарда

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смертности в мире. К сердечно-сосудистым относят болезни сердца и кровеносных сосудов. По оценке ВОЗ уровень смертности от ССЗ составил 17,9 миллионов смертей в 2016 году, что составляет 31% от уровня общей смертности. Из этих случаев 85% произошли по причине инфаркта и инсульта. Ожидается, что к 2030 году количество смертей от ССЗ достигнет 23 миллиона человек [36, p.230]. Среди ССЗ выделяют сердечную недостаточность, ишемическую болезнь сердца (инфаркт), гипертонию, инсульт, заболевания периферических сосудов, ревматические заболевания сердца; врожденные пороки сердца и кардиомиопатии [105]. Инфаркт миокарда является наиболее распространенной нозологической формой группы ишемической болезни сердца (ИБС). Инфаркт миокарда возникает вследсвие некроза участка сердечной мышцы, в результате окклюзии коронарной артерии [106]. Ремоделирование миокарда после ИМ, расширение камеры сердца и истончение желудочковой стенки, являются результатом апоптоза и фиброза в клетках и ткани [107]. Кардиомиоциты в зоне ишемии претерпевают фазу обратимых или необратимых изменений [108]. Среди основных причин возникновения ИМ выделяют гипертонию, сахарный диабет, курение и др.

Однако, рядом исследований показана важность генетических факторов и факторов окружающей среды [109]. Таким образом, ИБС и ИМ являются многофакторными заболеваниями.

Диагноз ИМ ставится при наличии болей, длящихся в течение 30 и более минут, с помощью электрокардиограммы (ЭКГ) и анализа кардиоспецифических маркеров. Ведущим является клинический метод. Однако, он затруднителен в случаях атипичного ИМ или при повторных случаях. Поэтому основным методом оценки больных ССЗ остается ЭКГ [110]. ЭКГ также невсегда является абсолютным методом оценки ИМ. Поэтому использование лабораторных тестов повышают эффективность диагностики ИМ. К биохимическим маркерам повреждения миокарда относят определение тропонинов, креатинфосфокиназы и её изофермента КК-МВ, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и её изоферментов, аспартаттрансаминазы и др. [111]. Выход освободившихся клеточных ферментов в кровь происходит в результате разрушения кардиомиоцитов. Повышенный уровень тропонинов отражает некроз кардиомиоцитов. Уровни циркулирующего тропонина повышаются примерно через 3 часа после появления боли в груди. Быстрота и правильность постановки диагноза при ИМ имеет важное значение для лечения пациентов. Поэтому необходимым является поиск более ранних биомаркеров, чем тропонин, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью. Существует острая необходимость определения новых прогностических и диагностических биомаркеров для профилактики и лечения ССЗ.

Изменения уровня циркулирующих miRNA были обнаружены у пациентов после ИМ со связанной с ишемией сердечной недостаточностью, включая повышение уровня miR-1, miR-21, miR-29b, miR-34a, miR-126, miR-133, miR-134, miR-192, miR-194, miR-208, miR-328, miR-423, miR-486, miR-499 и снижение уровней miR-106, miR-197 и miR-223 (рисунок 3) [112-116]. Показано, что циркулирующие miRNA могут быть использованы в качестве биомаркеров при ИМ. На животных моделях ИМ, сывороточные уровни miR-1, регулятора развития и дифференцировки сердечной мышцы, достигли пика спустя 6 ч после ИМ и вернулись к начальному уровню через 3 дня [117]. Сывороточные концентрации miR-1 связаны с инфарктом миокарда [118]. Подобно miR-1, miR-133 является важным регулятором развития сердечной и скелетной мышц вовлечена в биологию сосудистых гладких мышечных клеток [112, p.4]. Однако взаимосвязь между miR-133 и ИМ не установлена. Уровень экспрессии miR-133 коррелирует с общей смертностью [119]. В другом исследовании изменений уровней miR-133 в сыворотках пациентов с ИМ и здоровых людей не выявлено. У пациентов с ИМ в плазме выявлены высокие уровни miR-21. Уровни miR-21 коррелируют с несколькими традиционными биомаркерами ИМ: МВ-креатинкиназой, креатинкиназой и сердечным тропонином I [120]. Уровень miR-499 плазмы крови повышен при ИМ и коррелирует с уровнем тропонина у пациентов с ИМ. Сообщается, что значительное повышение уровня miR-423 происходит спустя один, три и 12 месяцев после ИМ. Хотя изменения концентрации нескольких miRNA могут

быть ассоциированы с ИМ, проблемным остается вопрос специфичности их изменений при других сопутствующих патологиях. Многие miRNA, уровень которых меняется при ИМ, регулируют экспрессию различных белков. К примеру, концентрация miR-1 изменяется в зависимости от патологий, ведущих к общему повреждению мышц. Поэтому, miR-1 может быть общим маркером повреждения мышц, не характерными для ИМ. Во многих работах предлагается использование miR-208a как ИМ-специфичного диагностического биомаркера [121]. Так как miR-208a экспрессируется в кардиомиоцитах, уровень ее экспрессии значительно изменен у большинства пациентов с ИМ. miR-208 обнаруживается у пациентов с ИМ менее чем через 4 часа [122]. В экспериментах на животных моделях, в которых также индуцировали инфаркт миокарда miR-208 обнаруживается в течение часа.

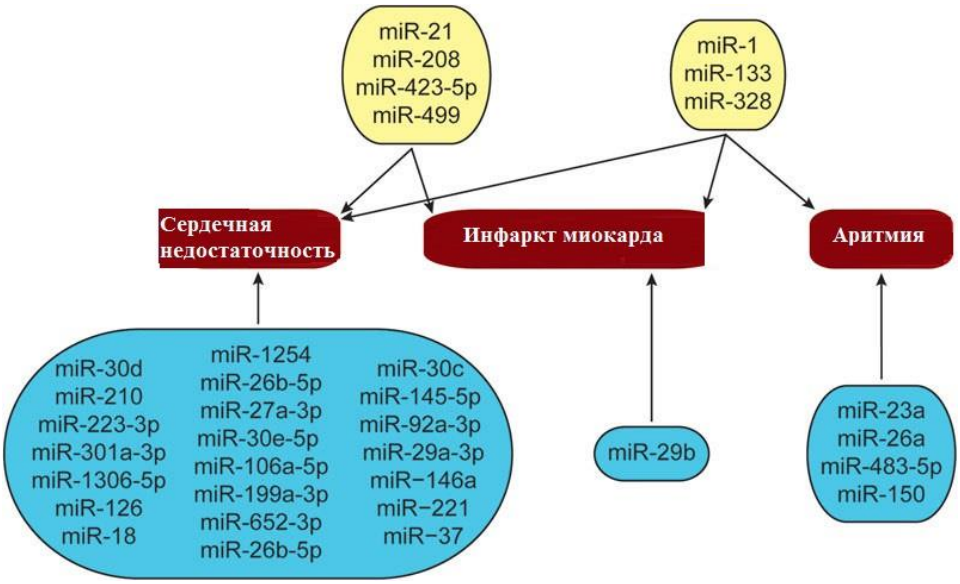


Рисунок 3 – miRNA, связанные с прогнозом сердечной недостаточности, острого инфаркта миокарда и аритмии. miRNA в синих фигурах связаны с одной патологией, в желтых– с несколькими патологиями [116]

Несмотря на достижения современной медицины, смертность от ССЗ возрастает. Высокая смертность от ИМ в значительной степени является следствием поздней диагностики и отсутствия высокочувствительных и специфических маркеров заболевания [123]. Поэтому прогностическая оценка – важный аспект в лечении ИМ. У пациентов с ССЗ выявлено изменение уровней экспрессии miRNA [124]. Большинство исследований направлено на обнаружение miRNA и соответствующего гена-мишени. Однако такой подход не раскрывает биологическую роль miRNA в полной мере, так как одна miRNA может иметь несколько альтернативных генов-мишеней. На этапе поиска кандидатного гена miRNA основным является биоинформатический подход. На сегодняшний день не предложено miRNA для повсеместного использования в клинической практике для диагностики и прогностики ИМ.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

Материалом для исследований послужили нуклеотидные последовательности генов, участвующих в развитии некоторых социально значимых заболеваний и miRNA. Списки генов составлены на основе анализа материалов публикаций из базы данных PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed). Нуклеотидные последовательности mRNA ортологичных генов и генов человека *(Homo sapiens)* получены из базы данных Genbank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) Национального центра биотехнологической информации США, NCBI. Для каждого гена отбирали самый длиный транскрипт. 2565 нуклеотидные последовательности miRNA человека получены из базы данных miRBase (http://mirbase.org), и 3707 miRNA из Londin и др., 2015 [125]. miRNA у некоторых видов животных еще не выявлены. В таких случаях мы использовали miRNA человека. При изучении miRNA и генов-мишеней брали во внимание уровень экспрессии mRNA в тканях, подверженных патологическим изменениям при конкретном заболевании – RPKM (reads per kilobase per million of mapped reads – число прочтений на тысячу нуклеотидов на миллион картированных прочтений). Значения RPKM для mRNA генов взяты из Human Protein Atlas (https://www.proteinatlas.org). При анализе аминокислотных последовательностей семейств ортологичных белков использовали базу данных Киотской энциклопедии генов и геномов KEGG orthology (https://www.genome.jp/kegg). Список видов организмов, рассмотренных при изучении консервативности CC miRNA у ортологов приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Список видовых названий организмов с сокращениями, используемых в исследованиях

Название видов	Сокращенные названия	Название видов	Сокращенные названия
1	2	3	4
Acinonyx jubatus	*Aju*	*Macaca fascicularis*	*Mfa*
Ailuropoda melanoleuca	*Ame*	*Macaca mulatta*	*Mml*
Alteromonas naphthalenivorans	*Ana*	*Macaca nemestrina*	*Mne*
Alligator mississippiensis	*Ami*	*Maylandia zebra*	*Mze*
Alligator sinensis	*Asi*	*Monodelphis domestica*	*Mdo*
Anolis carolinensis	*Aca*	*Mus musculus*	*Mmu*
Balaenoptera acutorostrata scammoni	*Bac*	*Myotis brandtii*	*Mbr*

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Bos mutus	*Bmu*	*Myotis davidii*	*Mda*
Bos taurus	*Bta*	*Nannospalax galili*	*Nga*
Callithrix jacchus	*Cja*	*Nomascus leucogenys*	*Nle*
Camelus ferus	*Cfe*	*Oryctolagus cuniculus*	*Ocu*
Canis familiaris	*Cfa*	*Ovis aries*	*Oar*
Capra hircus	*Chi*	*Pan paniscus*	*Ppa*
Chlorocebus sabaeus	*Csa*	*Pan troglodytes*	*Ptr*
Cricetulus griseus	*Cgr*	*Panthera tigris altaica*	*Pti*
Cynoglossus semilaevis	*Cse*	*Papio Anubis*	*Pan*
Danio rerio	*Dre*	*Pantholops hodgsonii*	*Pho*
Equus asinus	*Eas*	*Pongo abelii*	*Pab*
Equus caballus	*Eca*	*Pteropus alecto*	*Pal*
Equus przewalskii	*Epr*	*Rattus norvegicus*	*Rno*
Felis catus	*Fca*	*Rhinopithecus bieti*	*Rbi*
Gallus gallus	*Gga*	*Rhinopithecus roxellana*	*Rro*
Gorilla gorilla	*Ggo*	*Saimiri boliviensis*	*Sbo*
Heterocephalus glaber	*Hgl*	*Sus scrofa*	*Ssc*
Hipposideros armiger	*Har*	*Tupaia chinensis*	*Tch*
Homo sapiens	*Hsa*	*Ursus maritimus*	*Uma*
Loxodonta Africana	*Laf*	*Xenopus laevis*	*Xla*
Lipotes vexillifer	*Lve*	*Xenopus tropicalis*	*Xtr*

При изучении социально значимых заболеваний составлены базы данных генов, участвующих в развитии болезни Альцгеймера, немелкоклеточного рака легкого и инфаркта миокарда. Так, было изучено 75 генов, ассоциированных с болезнью Альцгеймера (таблица 2). С помощью программы MirTarget предсказаны СС 6272 miRNA в mRNA отобранных генов. На основании различий уровня экспрессии в коре головного мозга, изучаемые гены-мишени были разделены на две группы с уровнем экспрессии mRNA до 10 RPKM и свыше 10 RPKM. На основе анализа выявленных СС, предложено несколько эффективных ассоциаций miRNA и генов-мишеней.

Таблица 2 – Гены, участвующие в развитии болезни Альцгеймера с указанием PMID публикаций из базы данных PubMed

Ген	PMID	Ген	PMID	Ген	PMID	Ген	PMID
1	2	3	4	5	6	7	8
A2M	9697696	*CHRNB2*	15026168	*HMGB1*	27557632	*PICALM*	24618820
ABCA1	26079414	*CLU*	29324756	*HMOX1*	25761244	*PIN1*	19519301
ABCA7	28655137	*CR1*	26742530	*IDE*	15181249	*PLAU*	12898287
ACE	27273771	*CST3*	11074789	*IGF1*	22817723	*PPARG*	18072811

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8
ACHE	15190239	*CD33*	28747436	*HLA-DRB5*	25365775	*NOS3*	26337484
AGER	22571615	*CELF1*	24788522	*IL1A*	22234841	*PPARGC1A*	24304563
APBB2	15714520	*CFH*	26217305	*IL1B*	18717723	*PRNP*	21799773
APOC1	24498013	*CYP2D6*	19738170	*IL6*	22026253	*PSEN1*	25812849
APOE	29190651	*CYP46A1*	19286353	*INPP5D*	27750211	*PSEN2*	18369390
APP	21456963	*DHCR24*	22910610	*IRS1*	25107476	*PTK2B*	27113998
BACE1	19968762	*EDN1*	19541930	*LRP1*	24904407	*RELN*	18599960
BCHE	18290843	*EPHA1*	24951455	*MAPT*	22595282	*SORL1*	28537274
BDNF	10867782	*ESR1*	19586561	*MEF2C*	26232392	*TFAM*	20977898
BIN1	28302384	*FERMT2*	27933404	*MME*	22493749	*TNF*	14745077
CASP3	21151119	*GRIN2B*	11844890	*MPO*	24217274	*TOMM40*	2657215
CCR2	17351623	*GSK3B*	18852354	*MS4A6A*	24064185	*TREM2*	26911435
CD2AP	25092125	*HFE*	17119292	*MTHFR*	26401555	*VEGF*	17105389
CHAT	27597977	*HLA-DRB1*	29190991	*NCAM1*	20164549		
CHRNA7	18057084			*NCSTN*	23826707		

База данных генов, участвующих в НМРЛ для изучения включала 115 нуклеотидных последовательностей (таблица 3). С помощью MirTarget в mRNA исследуемых генов предсказывались СС для 6272 miRNA. Из предсказанных СС miRNA, были отобраны СС с величиной ΔG/ΔGm равной 86% и более. На основании различий уровня экспрессии в легких, изучаемые гены-мишени разделены на две группы с уровнем экспрессии mRNA до 10 и свыше 10 RPKM.

Таблица 3 – Гены, участвующие в развитии НМРЛ с указанием PMID публикаций из базы данных PubMed

Ген	PMID	Ген	PMID	Ген	PMID	Ген	PMID
1	2	3	4	5	6	7	8
ABCC1	24634705	*CEACAM5*	18664559	*KLK13*	18627302	*POLE*	29650000
ABCC5	16891466	*CHD4*	28095912	*KRT5*	29069744	*PPIA*	15541816
ACLY	25837797	*COL1A1*	28258342	*KRT18*	24990820	*PRAME*	19473719
ADAM10	22940701	*COPA*	29416720	*KRT20*	30380731	*PRKCA*	15555220
ADAM23	21429053	*COPB2*	19223491	*LBP*	29573061	*PRKDC*	26846099
AKT2	29789623	*CRYAB*	25048725	*LHX2*	28927097	*PSCA*	28405515
ALDH3B2	26445849	*CSNK2A1*	20671611	*LIMK1*	24063279	*PTEN*	31599421
AMACR	17922592	*CSTA*	21325429	*LRP5*	27698794	*PTPRN*	8665506
ARVCF	25683624	*CX3CR1*	25536148	*MAD2L1*	27835911	*PTPRZ1*	26045797
ASNS	29316436	*DAP*	10995806	*MAP2K1*	25351745	*RAF1*	29484414
ATF2	30229828	*DDR1*	20596615	*MAPK8*	27164297	*RALBP1*	22498113
B3GNT3	29483137	*DHFR*	21036757	*MCM4*	20884074	*RRM1*	29472587
BAK1	26668309	*DLC1*	17932950	*MDFI*	29805634	*RXRB*	20113835
BCL3	26122346	*DSC3*	22941060	*MET*	27794501	*SHOX2*	22555092
BMI1	30592135	*E2F3*	27655285	*MICA*	25363527	*SIAH2*	28210267
BRD4	31213835	*EGR1*	24990820	*MLH1*	18594535	*SLC2A1*	29084003

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7	8
BSG	29282042	*EHD1*	27531895	*MLL2*	25112956	*SQSTM1*	27250032
CASP3	15788654	*EIF4A2*	23867391	*MPG*	29515002	*TAGLN*	12011119
CASP9	31092436	*EPRS*	27799870	*MTA1*	28418915	*TARBP1*	29731880
CAV2	28127114	*ESR1*	25310221	*NET1*	26459749	*TFDP1*	27871936
CBLB	29364514	*FDFT1*	29765975	*P4HB*	28052026	*TRIM22*	28977927
CCND1	30275712	*FEN1*	28371273	*PAK1*	27713506	*TRIM31*	24566900
CCR2	28424406	*FUT8*	23267084	*PBX1*	25400423	*TYMS*	26842788
CD59	26111694	*GJA1*	23621211	*PCNA*	10974930	*UBE2L3*	29137415
CD163	19118225	*GLDC*	22225612	*PDPK1*	24925061	*USP4*	29667299
CDH5	23369236	*GPC3*	26345955	*PGF*	15192305	*USP14*	24556800
CDK1	25301183	*HTATIP2*	22733137	*PHGDH*	27916294	*VSNL1*	18301774
CDK6	26658964	*IGF1R*	28946136	*PIK3CB*	24284056	*ZEB2*	31452774
CDKN2A	26658964	*JAG1*	28123589	*PLD1*	23675264		

Была составлена база данных 237 нуклеотидных последовательностей кандидатных генов инфаркта миокарда (таблица 4). На основании различий уровня экспрессии в сердечной мышце, изучаемые гены-мишени были разделены на две группы с уровнем экспрессии mRNA ниже и выше 30 RPKM. В данной работе представлены результаты анализа СС в mRNA генов с RPKM выше 30.

Таблица 4 – Гены, участвующие в развитии ИМ с указанием PMID публикаций из базы данных PubMed

Ген	PMID	Ген	PMID	Ген	PMID	Ген	PMID
1	2	3	4	5	6	7	8
ABCA1	24796288	*CPB2*	18683146	*HNRPUL1*	16690874	*PLAUR*	20518747
ABCC6	16854481	*CRP*	25682033	*HSPA12B*	23729663	*PLCL2*	24916648
ABCC9	16563363	*CRY2*	29767668	*ICAM1*	23493781	*PON1*	25155309
ABCG1	22155456	*CST3*	19597298	*IGF1*	18703768	*PPARG*	22653647
ABO	23149138	*CX3CR1*	24307998	*IGFBP1*	21375933	*PPIA*	18321308
ACE	27347229	*CXCL1*	29430728	*IL12B*	17901940	*PRF1*	21661365
ACE2	20797602	*CXCL12*	27251706	*IL18*	24804827	*PROCR*	18757851
ADAM8	21640993	*CXCR1*	19929462	*IL19*	29514802	*PSMA6*	22882272
ADAMTS1	15625312	*CXCR2*	14568904	*IL1RN*	15869054	*PTGS2*	24796340
ADAMTS7	21239051	*CXCR4*	29670878	*IL23R*	17901940	*PTX3*	23285251
ADIPOQ	24242286	*CYP1A2*	18850169	*IL4*	29862462	*S100A1*	16168714
ADRA2B	12535806	*CYP2C19*	24762860	*IL6*	24056475	*S100A6*	23844739
ADRB1	19623647	*CYP2C8*	25560582	*IL6R*	23582716	*S100B*	23000886
ADRB2	20230274	*CYP2C9*	25560582	*ILF3*	21468600	*SCAP*	17383658
AGER	16728681	*CYP2J2*	25560582	*INSIG2*	19197259	*SCN5A*	25051102
AGT	23283824	*CYP2R1*	29804528	*ITGB3*	15575508	*SELE*	24639176
AGTR1	15454732	*CYP4A11*	16957555	*ITIH3*	17211523	*SELP*	24639176
AHSG	27825726	*CYP4F2*	21127708	*ITIH4*	28117839	*SEMA4*	20036365
ALMS1	24122612	*CYP4F3*	29658970	*KCNJ11*	14871556	*SERPINE1*	24566095
ALOX5	18318662	*DDAH2*	25236572	*KCNMA1*	18854754	*SF3A2*	24916648

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8
ALOX5AP	18318662	*DIO2*	29641285	*KDR*	24408994	*SGPP1*	19798445
ALPK1	24649083	*DKK1*	19720407	*KIAA0391*	19624571	*SH2B1*	21907990
ANGPT2	24886544	*DNASE1*	16877481	*KLF4*	29848383	*SHBG*	24327369
ALDH2	28500264	*DOT1L*	24916648	*LAMA3*	20036365	*SHH*	23915524
ALMS1	24347618	*DPP4*	23122333	*LDLR*	25533799	*SIRT1*	25706717
ALOX12	29196930	*DRD1*	22277051	*LIPC*	21252145	*SIRT6*	26886147
AP3D1	24916648	*EDN1*	19672034	*LIPG*	17526978	*SLC5A3*	25697262
APOA1	21152377	*ENPP1*	24242286	*LPL*	24407533	*SLC6A18*	21420947
APOA5	25533799	*ESR1*	22061094	*LRP1*	21671167	*SMTN*	22963604
APOB	25083581	*F2R*	19404549	*LRP8*	24867879	*SOCS3*	29049183
APOC3	18541587	*FADS3*	19798445	*LTA*	24642747	*SOD1*	22006090
APOE	23934537	*FAIM2*	24393375	*MBL2*	22848725	*SOD3*	19526392
ARG1	17369504	*FDFT1*	29658970	*MED23*	27914500	*SORBS2*	24342996
ATP10D	19798445	*FGA*	19143925	*MEF2A*	20031581	*SP1*	23633075
BDNF	25129264	*FGB*	18982866	*MIF*	19167373	*SPTLC3*	19798445
BRAP	19198608	*FGF2*	14656920	*MMP1*	20654099	*STAT3*	24779911
BTN2A1	21468600	*FLT1*	26791355	*MMP10*	28379489	*TFAM*	20863902
C3	24806427	*FN1*	29399340	*MMP-2*	30657570	*TGFB1*	22872813
C4B	18032375	*FOXO3*	29049183	*MMP3*	21900582	*TBRI*	22136666
CASR	22527939	*FTO*	20031593	*MMP9*	29782266	*THBS1*	25393858
CCL2	24078580	*GAA*	26580301	*MPO*	20846733	*TIMP1*	22449760
CCL5	21547257	*GATA2*	21788589	*MRPS6*	25697262	*TLR4*	25316132
CCR2	24078580	*GBGT1*	29658970	*MTAP*	19272367	*TM6SF2*	24633158
CCR5	24078580	*GCLC*	12598062	*MTHFR*	24418373	*TNF*	25116971
CD14	23135962	*GDF15*	24903195	*MYBL2*	29049183	*TNFSF4*	21445270
CD163	23873589	*GHRL*	24433403	*NAMPT*	22251423	*TNNC1*	18805052
CD38	29074586	*GJA4*	14652665	*NCF1*	24126171	*TNNI3*	18805052
CD40	21488132	*GNB3*	22408428	*NEIL3*	25703835	*TRAF3IP2*	29430728
CD40LG	16627810	*GOSR2*	23675987	*NFKBIL1*	17517687	*UCP2*	19527523
CDKN1C	17351341	*GP6*	20227257	*NOS3*	24498040	*UCP3*	29858912
CDKN2A	19272367	*GSN*	19246681	*NOX5*	22503554	*UGT1A*	22935421
CDKN2B	19293724	*GSTCD*	24915237	*OLR1*	17321727	*USP25*	29658970
CETP	25474428	*GSTM1*	23275234	*OMA1*	29748581	*VAMP8*	16690874
CFH	17697822	*GSTP1*	24915237	*OPA1*	29748581	*VAPA*	29049183
CHGA	12543286	*HAND1*	27601324	*P2RY2*	19797825	*VEGFA*	21362767
CHN2	24725463	*HFE*	12850485	*PCSK2*	20036365	*XBP1*	26572862
CLEC16A	20036365	*HGF*	24502539	*PCSK9*	25180781	*ZNF202*	16289551
CNR2	18636169	*HHIPL1*	29655894	*PDE4D*	16635437		
COL4A2	27389912	*HMGA1*	27839822	*PER2*	29767668		
COL5A2	29049183	*HMOX1*	25571633	*PLA2G4A*	22378731		

Отдельно рассмотрены полностью комплементарные CC miRNA в CDS mRNA генов, выявленные при анализе 17508 белоккодирующих генов и 2565 miRNA человека. Наряду с ними рассмотрены CC miRNA в последовательностях некодирующих генов *DMN3OS, HOXA10-AS, SPACA6P-AS.* В некоторых случаях изучено сохранение CC miRNA в mRNA

ортологичных генов для определения эволюционной значимости таких СС и подбора адекватной экспериментальной модели животных для дальнейшего изучения регуляции гена-мишени молекулой miRNA. Было предположено, что ортологичные miRNA гомологичны miRNA человека, и поэтому для обнаружения СС в mRNA ортологичных генов, у которых не найдены соответствующие miRNA, использовали hsa-miR (Приложение Б, таблица Б).

2.2 Методы

2.2.1 Программы для анализа и форматирования нуклеотидных и аминокислотных последовательностей

Для предсказания сайтов связывания программой MirTarget для каждого гена созданы отдельные текстовые файлы с расширением gene. При создании базы данных генов и интерпретации полученных в работе результатов, был использован ресурс Sequence Manipulation Suite (https://www.bioinformatics.org/sms2/). Sequence Manipulation Suite – это коллекция более 30 JavaScript программ для анализа и форматирования нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Из перечня программ нами были использованы: Filter DNA/Protein – для удаления пробелов и цифр из нуклеотидной или аминокислотной последовательностей; GenBank to FASTA – для преобразования последовательности ДНК из формата GenBank в формат FASTA; ORF Finder – для поиска открытой рамки считывания в заданной последовательности ДНК; Translate – для получения белковой последовательности на матрице ДНК в одной из трех рамок считывания.

2.2.2 Программа MirTarget для предсказания сайтов связывания miRNA

Для предсказания СС 6272 miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA генов были предсказаны с помощью программы MirTarget (Свидетельство РК о несении сведений в Государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом №6598 от 22.11.2019). MirTarget является кросс-платформной программой, разработанной с использованием языка программирования Java [126] и определяет характеристики связывания: а) начало связывания mRNA с miRNA; б) область локализации СС miRNA - в 3'UTR, CDS или 5'UTR mRNA) свободная энергия взаимодействия mRNA с miRNA (ΔG, кДж/моль), рассчитываемая для всей нуклеотидной последовательности miRNA; г) схемы взаимодействия нуклеотидов miRNA и mRNA. Отношение ΔG/ΔGm (%) определялось для каждого СС, где ΔGm – свободная энергия взаимодействия miRNA с полностью комплементарной ей нуклеотидной последовательностью. Начало сайта связывания miRNA в mRNA определяется с первого нуклеотида 5'UTR mRNA. При рассчетах учитываются водородные связи между аденином (A) и урацилом (U), гуанином (G) и цитозином (C), G и U, A и C. Расстояние между C и A равно 1,04 нм, между C и G, U и A равно 1,03 нм, а между G и U – 1,02 нм [127, 128]. Следовательно, пары G-C, A-U, G-U и A-C способствуют образованию двухцепочечной структуры RNA без нарушения стэкинг-взаимодействий [129]. Число водородных связей при взаимодействии G-C, A-U,

G-U и A-C равно 3, 2, 1 и 1 соответственно. Величина свободной энергии водородной связи изменяется в диапазоне от -0,7 до -1,6 ккал/моль. В программе MirTarget свободную энергию взаимодействия нуклеотидов за счет водородных связей считали равной 6,368 кДж/моль и 4,246 кДж/моль для пар G-C, A-U, и 2,123 кДж/моль для пар G-U и A-C. При выравнивании нуклеотидов допускалось отсутствие одной комплементарной пары водородной связи. В таком случае нарушается регулярная структура спирали и возникает ее изгиб (bulge) [130]. Во избежание учета ложноположительных СС и низкоспецифических взаимодействий нуклеотидов miRNA и mRNA, отбирали СС с ΔG/ΔGm выше 85%. В случае одиночных СС для miRNA длиной 17 нуклеотидов (нт) минимально допустимое значение ΔG/ΔGm составило 98%, 18 нт – 96%, 19 нт – 94%, 20 нт – 92%, 21 нт – 91%, 22 нт – 90%, 23 нт – 89%, 24 нт – 88%, 25 нт – 87%, 26 нт – 86%. СС с меньшим значением ΔG/ΔGm были рассмотрены в случаях большого числа СС либо в случае полисайтов. Отдельно рассматривали СС miRNA с высоким значением величины ΔG от -125 кДж/моль и выше. При изучении взаимодействия miRNA с mRNA генов были выявлены разные виды СС. Одиночные СС выявлены при взаимодействии последовательности mRNA одного гена с одной miRNA. Множественные СС – расположение СС одной или нескольких miRNA в нескольких участках mRNA одного гена. Полисайты – взаимодействие одной miRNA с miRNA, при котором нуклеотидные последовательности СС miRNA накладываются друг на друга, что приводит к увеличению вероятности взаимодействия такой miRNA с геном-мишенью. СС двух и более разных miRNA в mRNA генов могут располагаться с наложением нуклеотидных последовательностей, образуя кластеры. Была рассчитана степень компактизации для кластеров, которая равна отношению суммы длин всех СС miRNA в кластере к длине кластера в mRNA. На основе анализа выявленных СС, предложено несколько эффективных ассоциаций miRNA и генов-мишеней. При выявлении особенностей взаимодействия miRNA с CDS mRNA генов, для полноты объема исследования в сравнительном аспекте рассмотрены СС в 5'UTR и 3'UTR mRNA

2.2.3 Построение диаграмм Logo

При исследовании эволюционной филогении полностью комплементарных сайтов связывания miRNA в CDS mRNA были использованы выровненные аминокислотные последовательности ортологичных белков, кодируемые СС. Для графического представления результатов были построены диаграммы Logo (https://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi). Диаграммы Logo используются для обнаружения и анализа консервативности аминокислот в белках разных видов животных. По закономерностям сохранения или вариабельности аминокислот в течение эволюции судят об их структурной или функциональной значимости. На диаграммах Logo отражены символы аминокислот в каждой позиции (на оси абцисс), а относительные размеры символов (аминокислот) указывают на частоту их встречаемости в исследуемых последовательностях и измеряются в битах (отображено по оси ординат).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием БА

Была составлена база данных нуклеотидных последовательностей 75 генов, участвующих в болезни Альцгеймера (БА) и 6272 miRNA [131]. С помощью программы MirTarget предсказаны СС miRNA в mRNA отобранных генов (таблица 2). Выявлены одиночные СС, полисайты и кластеры СС. На основании различий уровня экспрессии в коре головного мозга, изучаемые гены-мишени были разделены на две группы с уровнем экспрессии miRNA до 10 RPKM и свыше 10 RPKM. При изучении СС и генов-мишеней брали во внимание уровень экспрессии miRNA в коре головного мозга. На основе анализа выявленных СС, предложено несколько эффективных ассоциаций miRNA и генов-мишеней.

Среди генов, вовлеченных в развитие БА с уровнем экспрессии mRNA в коре головного мозга до 10 RPKM в 5'UTR mRNA генов *ABCA1, CD2AP, CHRNB2, FERMT2, HMOX1, NOS3, PSEN1, PSEN2* и *TREM2* выявлено по одному СС (таблица 5). Остальные гены имеют по два и более сайтов связывания miRNA расположенных в 5'UTR mRNA. Некоторые СС огранизованы в кластеры. Так, кластеры с большим числом СС обнаружены в mRNA генов: *ACHE* (два кластера СС с 17 по 43 нт и с 117 по 163 нт); *GSK3B* (два кластера СС miRNA с 3 по 40 нт и с 352 нт по 384 нт); *PPARGC1A* (три кластера с 16 нт по 65 нт, с 70 по 95 нт и с 135 нт по 173 нт); *RELN (*кластер с 128 нт по 164 нт). Кластеры из двух СС выявлены в mRNA генов *CHAT, PPARG* и *TFAM. ACHE* – ген-мишень семи miRNA, которые связываются с 5'UTR mRNA с наложением СС, образуя два кластера СС с 17 по 43 нт и с 117 по 163 нт. В 5'UTR mRNA гена *GSK3B* находятся два кластера СС miRNA. СС 25 miRNA, общая длина которых 1212 нт, образуют кластер, расположенный с 3 по 40 нт в mRNA *GSK3B*. Степень компактизации СС в кластере равна 32,8. Общая длина 5'UTR области mRNA гена *GSK3B* 983 нт. СС для ID01041.5p-miR, ID02064.5p-miR, ID02770.5p-miR, ID02187.5p-miR, ID03367.5p-miR, ID00457.3p-miR обнаружены в обоих кластерах в miRNA *GSK3B*. Нуклеотидная последовательность кластера включает десять тринуклеотидных GCC повторов. Второй кластер в 5'UTR mRNA гена *GSK3B* с 352 нт по 384 нт представлен в основном одиночными СС семи miRNA. Общая длина СС равна 198 нт. Степень компактизации СС равна 6,2. В 5'UTR miRNA гена *PPARGC1A* локализованы три кластера. Первый кластер из 15 СС четырех miRNA в позиции с 16 нт по 65 нт со степенью компактизации 6,5. Второй кластер из двух одиночных СС miR-1181 и ID03332.3p-miR с 70 по 95 нт. Третий кластер с 135 нт по 173 нт составлен полисайтами трех miRNA. Общая длина СС равна 256 нт. Степень компактизации СС равна 6,7. Длина 5'UTR области mRNA гена *PPARGC1A* составляет 619 нт. В 5'UTR miRNA *RELN* локализован кластер длиной 37 нт, состоящий преимущественно из одиночных СС с 128 нт по 164 нт. Степень компактизации СС равна 4,4. Среди генов, участвующих в развитии

БА с уровнем экспрессии mRNA в головном мозге до 10 RPKM кластеры из двух СС выявлены в mRNA генов *CHAT*, *PPARG* и *TFAM*.

Таблица 5 – Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA генов, участвующих в развитии болезни Альцгеймера

Ген; RPKM	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6
ABCA1; 1,1	miR-4435	332	-110	91	22
ACHE; 8,4	ID02624.3p-miR	17	-121	93	21
	ID01253.3p-miR	20	-123	89	23
	ID03231.5p-miR	117	-127	90	24
	ID00894.5p-miR	131 ÷ 141 (3)	-121 ÷ 125	88 ÷ 91	23
	miR-3620-5p	135, 140	-117 ÷-119	89 ÷ 90	22
	ID01637.3p-miR	137	-123	92	22
	miR-4539	141	-113	90	22
CD2AP; 1,4	ID00149.3p-miR	401	-113	90	22
CHAT; 0	ID00523.3p-miR	10	-117	93	22
	ID03036.3p-miR	10	-115	89	23
	ID02569.3p-miR	129	-110	91	21
CHRNB2; 8,5	ID00092.3p-miR	139	-110	90	22
FERMT2; 6,2	ID03083.5p-miR	5	-125	89	23
GSK3B; 0,3	ID00061.3p-miR	5 ÷ 17 (4)	-119 ÷ -136	86 ÷ 98	22
	ID01702.3p-miR	5 ÷ 15 (5)	-129 ÷ -140	86 ÷ 93	24
	ID02187.5p-miR	3 ÷ 10 (3)	-119 ÷ -123	86 ÷ 89	23
	ID01041.5p-miR	8	-132	90	24
	ID00457.3p-miR	8 ÷ 14 (3)	-121 ÷ -129	89 ÷ 95	22
	ID03367.5p-miR	8, 11	-117 ÷ -119	93 ÷ 95	20
	ID02770.5p-miR	14	-117	93	20
	ID02064.5p-miR	10 ÷ 16 (3)	-127 ÷ -136	88 ÷ 94	23
	ID03229.5p-miR	4 ÷ 13 (3)	-119 ÷ -123	89 ÷ 92	22
	ID00756.3p-miR	8	-123	89	23
	ID00296.3p-miR	5, 9	-136 ÷ -138	86 ÷ 88	25
	ID02294.5p-miR	4 ÷ 10 (3)	-127	87	24
	ID01879.5p-miR	10, 13	-123	91	22
	ID02522.3p-miR	12	-127	91	23
	ID02429.3p-miR	14	-125	92	23
	ID01804.3p-miR	6 ÷ 12 (3)	-129 ÷ -134	88 ÷ 91	23
	ID02538.3p-miR	15	-121	90	22
	ID01873.3p-miR	8, 11	-117 ÷ -123	89 ÷ 94	21
	ID02084.3p-miR	13, 16	-129 ÷ -132	86 ÷ 87	24
	ID03151.3p-miR	9 ÷15 (3)	-113 ÷ -115	91 ÷ 93	20
	ID01652.3p-miR	9, 15	-121 ÷ -125	86 ÷ 89	23
	ID02499.3p-miR	11, 14	-117 ÷ -119	90 ÷ 92	21
	miR-3960	11, 14	-115	92	20
	ID02280.5p-miR	158	-121	89	23
	ID02187.5p-miR	352, 355	-119 ÷-121	86 ÷ 88	23
	ID01041.5p-miR	354	-129	88	24
	ID00457.3p-miR	356	-125	92	22

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5	6
GSK3B; 0,3	ID03367.5p-miR	356	-115	92	20
	ID02770.5p-miR	359	-115	92	20
	ID02064.5p-miR	358, 361	-125 ÷ -127	87 ÷ 88	23
	ID02036.3p-miR	361	-115	92	20
HMOX1; 4,4	ID01152.3p-miR	75	-113	95	20
NOS3; 2,1	ID02363.5p-miR	200	-123	88	24
PPARGC1A;2,5	miR-574-5p	16 ÷ 33 (7)	-106 ÷ -113	88 ÷ 93	23
	ID00470.5p-miR	18 ÷ 47 (5)	-108 ÷ -110	89 ÷ 91	23
	ID02299.5p-miR	30	-98	92	21
	ID02732.3p-miR	36, 42	-121	89	23
	miR-1181	70	-115	90	21
	ID03332.3p-miR	71	-134	90	24
	ID03332.3p-miR	134 ÷ 146 (5)	-129 ÷ -140	87 ÷ 94	24
	ID01310.3p-miR	135 ÷ 144 (4)	-121 ÷ -123	92 ÷ 94	22
	ID02761.3p-miR	146, 149	-127 ÷ -132	86 ÷ 89	24
PPARG; 0,9	ID00894.5p-miR	22, 27	-121 ÷ -129	88 ÷ 94	23
	ID01024.5p-miR	50	-127	90	23
PSEN1; 4,7	ID00895.3p-miR	119	-117	89	23
PSEN2; 4,6	ID02019.3p-miR	10	-125	89	23
RELN; 2,4	ID03047.3p-miR	128	-132	89	24
	ID03332.3p-miR	130 ÷ 137 (3)	-127 ÷ -134	86 ÷ 90	24
	ID01310.3p-miR	135, 138	-121	92	22
	ID02761.3p-miR	140	-134	90	24
TFAM; 2,7	ID01734.5p-miR	25	-113	90	22
	miR-6089	220	-132	89	24
	ID00611.5p-miR	221	-117	90	23
TREM2; 2,5	ID00211.3p-miR	89	-113	90	22

Среди генов, вовлеченных в развитие БА с уровнем экспрессии mRNA в головном мозге до 10 RPKM в CDS mRNA генов *ABCA1*, *ACHE*, *APBB2*, *CHAT*, *CHRNA7*, *CYP2D6*, *IL1A* и *TNF* выявлено по одному СС (таблица 6). Остальные гены имеют по два и более сайтов связывания miRNA. Четыре СС в mRNA *ACE* организованы в кластер с 60 по 116 нт. Кластеры из двух СС обнаружены в mRNA генов *EPHA1* и *IRS1*.

Таблица 6 – Характеристики взаимодействия miRNA с CDS mRNA генов с RPKM ниже 10, участвующих в развитии болезни Альцгеймера

Ген, RPKM	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6
ABCA1; 1,1	ID00653.3p-miR	6416	-110	90	23
ABCA7; 3,7	ID01617.3p-miR	2348	-113	90	22
	ID02506.3p-miR	3456	-106	91	21
	ID00122.5p-miR	3479	-110	90	22
	ID02728.5p-miR	5882	-125	91	24

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5	6
ABCA7; 3,7	ID00642.3p-miR	6313	-125	89	23
ACE; 1,2	ID00403.3p-miR	60, 66	-113 ÷ -117	90 ÷ 93	21
	ID00522.5p-miR	62	-125	89	23
	ID02294.5p-miR	64 ÷ 82 (3)	-127 ÷ -132	87 ÷ 90	24
	ID01879.5p-miR	94	-123	91	22
ACHE; 8,4	ID02643.3p-miR	1846	-121	90	23
APBB2; 4,3	ID03197.5p-miR	957	-117	92	22
CD2AP; 2,3	ID01826.5p-miR	1583	-102	91	22
CD33; 0,2	miR-6895-5p	525	-106	91	21
CHAT; 0	ID01380.3p-miR	1414	-104	91	22
CHRNA7; 1	ID01016.5p-miR	930	-125	89	23
CHRNB2; 8,5	ID03113.3p-miR	1477	-113	90	22
	ID00065.3p-miR	1730	-102	96	20
CYP2D6; 1,4	ID00153.3p-miR	341	-117	89	23
EPHA1; 0,2	miR-3973	112	-104	89	23
	ID02650.3p-miR	129	-125	88	24
	ID01860.3p-miR	2626	-115	89	23
ESR1; 0,1	ID02606.5p-miR	409	-106	91	22
	ID02556.3p-miR	1852	-115	90	23
GRIN2B; 3,4	miR-2392	799	-102	92	20
	ID00061.3p-miR	3771	-125	91	22
IL1A; 0,1	miR-627-5p	1626	-102	91	22
INPP5D; 2,3	miR-6757-5p	1183	-110	91	22
	ID00531.5p-miR	1719	-100	90	22
	miR-6810-3p	2064	-123	95	23
	miR-5572	3904	-108	91	21
IRS1; 1,3	ID02344.3p-miR	412	-127	88	24
	ID03141.5p-miR	1416	-110	91	21
	ID02266.5p-miR	2084	-102	92	20
	ID00372.5p-miR	2085	-121	89	24
	miR-4655-3p	2380	-113	91	21
	ID01753.3p-miR	3446	-106	93	21
NOS3; 2,1	miR-6501-3p	983	-115	90	23
	ID01035.3p-miR	2946	-123	89	24
	ID03410.5p-miR	3073	-117	89	24
	ID01598.3p-miR	3599	-117	90	22
TNF; 0	ID02050.3p-miR	236	-121	92	23

Среди генов, вовлеченных в развитие БА с уровнем экспрессии mRNA в головном мозге до 10 RPKM в 3'UTR mRNA генов *ABCA7*, *APBB2*, *EDN1*, *EPHA1*, *HFE*, *HMOX1*, *NCSTN* выявлено по одному СС (таблица 7). Остальные гены имеют по два и более СС miRNA, некоторые организованы в кластеры. Кластер в 3'UTR mRNA гена *CD2AP* из СС пяти miRNA, организованы в кластер с 2828 по 2890 нт с величиной компактизации 16,8. Такая высокая степень компактизации объясняется обилием полисайтов для ID01727.5p-miR, ID01030.3p-miR, ID00436.3p-miR и miR-466, расположенных в участке через 2

нуклеотида. В mRNA *CHRNB2* обнаружены четыре одиночных СС, два из которых организованы в кластер с 2214 по 2239 нт. Кластер из 13 СС четырех miRNA в mRNA гена *GSK3B* с 4705 по 4746 нт имеет степень компактизации 7,1. Длина 3'UTR области mRNA гена *GSK3B* составляет 4848 нт. В mRNA *IGF1* обнаружено два кластера СС. Первый кластер из полисайтов трех miRNA с 4130 по 4179 нт со степенью компактизации 14,4. Второй кластер СС miRNA семейства miR-1273 с 6136 по 6168 нт со степенью компактизации равной 2,0. 15 СС пяти miRNA в mRNA *IRS1* расположены в кластере с 7317 по 7388 нт, степень компактизации равна 4,8. В mRNA гена *MTHFR* выявлены 11 одиночных СС miRNA. Начала СС ID00345.3p-miR и miR-5585-3p расположены в mRNA *MTHFR* с 6338 и 6357 нт с наложением четырех нуклеотидов. Второй кластер СС трех одиночных miRNA с 6901 по 6940 нт. В mRNA гена *PPARGC1A* обнаружены семь СС четырех miRNA с 3321 по 3362 нт со степенью компактизации 3,8. В mRNA *TFAM* выявлены два кластера СС. Первый кластер с 3821 по 3860 нт со степенью компактизации 5,2. Начала СС miR-1273d и miR-1273h-5p находятся в положении 3910 нт, формируя кластер.

Таблица 7 – Характеристики взаимодействия miRNA с 3'UTR mRNA генов с RPKM ниже 10, участвующих в развитии болезни Альцгеймера

Ген, RPKM	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6
ABCA7; 3,7	miR-6836-3p	6684	-119	95	21
ACE; 1,2	ID00850.3p-miR	4068	-117	90	22
	ID00092.3p-miR	4657	-110	90	22
	ID03405.3p-miR	4792	-106	91	21
APBB2; 4,3	miR-1273g-3p	8447	-110	95	21
CD2AP; 1,4	miR-466	2828 ÷ 2852 (13)	-104 ÷ -108	89 ÷ 93	23
	ID00436.3p-miR	2830 ÷ 2850 (11)	-104 ÷ -106	89 ÷ 91	23
	ID01030.3p-miR	2830 ÷ 2848 (10)	-108	89	23
	ID01727.5p-miR	2829 ÷ 2849 (11)	-102	87	23
	miR-1277-5p	2866	-96	88	24
CHRNA7; 1	miR-6893-3p	2803	-115	92	22
	miR-1273g-3p	3038	-113	96	21
	miR-1273e	3081	-106	91	22
	miR-6734-5p	3104	-110	90	23
CHRNB2; 8,5	ID01136.3p-miR	2214	-106	89	23
	ID01422.3p-miR	2217	-113	90	22
	miR-493-3p	3423	-108	91	22
	miR-520d-5p	4005	-98	92	20
CR1; 0	miR-1273g-3p	7010	-113	96	21
	ID02017.3p-miR	7263	-117	92	22
	miR-1273g-3p	8233	-115	98	21
EDN1; 5	miR-548az-5p	1223	-100	90	22
EPHA1; 0,2	miR-1277-5p	3255, 3259	-98 ÷ 100	90 ÷ 92	24
ESR1; 0,1	ID03196.3p-miR	3339	-121	88	24
	miR-6879-5p	3593	-113	90	22

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
GRIN2B; 3,4	ID01089.3p-miR	5167	-117	89	23
	ID02777.3p-miR	6357	-113	88	24
	miR-3145-5p	23029	-100	90	22
GRIN2B; 3,4	miR-6878-3p	23328	-102	91	21
	ID03488.3p-miR	27015	-119	89	23
	ID00367.5p-miR	28886	-113	91	22
	miR-1273h-5p	28927	-117	100	21
GSK3B; 8,9	miR-466	4713	-106	91	23
	ID00436.3p-miR	4705 ÷ 4723 (7)	-102 ÷-104	87 ÷ 89	23
	ID01030.3p-miR	4705 ÷ 4719 (4)	-108 ÷ -113	89 ÷ 93	23
	ID01727.5p-miR	4722	-106	91	23
HFE; 0,3	miR-5095	2196	-110	95	21
HMOX1; 4,4	miR-3155a	1228	-106	91	21
IGF1; 0,4	miR-574-5p	4130 ÷ 4156 (14)	-106 ÷ -113	88 ÷ 93	23
	ID00470.5p-miR	4136 ÷ 4152 (9)	-108	89	23
	ID02299.5p-miR	4137 ÷ 4153 (9)	-96	90	21
	miR-1273g-3p	6103	-113	96	21
	miR-1273f	6136	-102	98	19
	miR-1273d	6137	-119	87	25
	miR-1273e	6146	-108	93	22
IRS1; 1,3	miR-466	7317 ÷ 7337 (6)	-104 ÷ -108	89 ÷ 93	23
	ID00436.3p-miR	7321 ÷ 7365 (5)	-104 ÷ -106	89 ÷ 91	23
	ID01030.3p-miR	7321, 7333	-108	89	23
	ID01727.5p-miR	7334	-106	91	23
	ID03181.3p-miR	7351	-98	90	22
MPO; 0,8	ID00408.5p-miR	2743	-100	92	21
	ID02224.3p-miR	3001	-104	91	22
MTHFR; 3,1	ID03245.5p-miR	3407	-117	89	24
	miR-8089	3517	-121	88	24
	ID00345.3p-miR	6338	-119	89	23
	miR-5585-3p	6357	-108	93	22
	ID03407.3p-miR	6399	-108	91	22
	miR-1285-5p	6456	-104	92	21
	ID01811.5p-miR	6901	-117	93	22
	miR-5095	6912	-110	95	21
	miR-619-5p	6918	-115	95	22
	miR-5585-3p	7060	-110	95	22
	ID02175.3p-miR	7108	-113	93	22
NCSTN; 9,8	miR-7110-5p	2599	-110	93	21
PPARGC1A; 2,5	miR-466	3321, 3337	-106	91	23
	ID00436.3p-miR	3323 ÷ 3339 (3)	-104 ÷ -108	89 ÷ 93	23
	ID01030.3p-miR	3325	-115	95	23
	ID01727.5p-miR	3338	-104	89	23
TFAM; 2,7	miR-466	3821 ÷ 3835 (5)	-104	89	23
	ID00436.3p-miR	3823 ÷ 3837 (3)	-104	89	23
	ID01727.5p-miR	3824	-106	91	23
	miR-1273d	3910	-123	91	25

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
TFAM; 2,7	miR-1273h-5p	3910	-110	95	21
	miR-1273h-5p	4207	-110	95	21

В mRNA генов с уровнем экспресии в головном мозге выше 10 RPKM выявлены преимущественно одиночные CC miRNA (таблицы 8-10).

Таблица 8 – Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA генов с RPKM выше 10, участвующих в развитии болезни Альцгеймера

Ген, RPKM	miRNA	Начало CC, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
BACE1; 14,8	ID01662.3p-miR	104	-127	90	23
	ID02084.3p-miR	104	-136	90	24
	ID03151.3p-miR	107	-115	93	20
	ID01078.3p-miR	110	-121	92	21
	ID03418.3p-miR	196	-129	91	23
BIN1; 67,5	ID02501.3p-miR	4	-106	94	20
	ID02630.3p-miR	120	-125	89	23
CELF1; 10	ID02161.3p-miR	58	-115	93	20
	ID03483.3p-miR	216	-115	90	22
	ID00939.5p-miR	259	-104	91	22
MAPT; 38,4	ID02608.5p-miR	107	-113	90	22
	ID01315.3p-miR	120	-115	92	20
MEF2C; 30,7	ID00564.5p-miR	149	-110	90	22
	miR-149-3p	192	-113	91	21
	ID02388.3p-miR	202	-119	92	21
	ID02631.5p-miR	217	-117	90	22
NCAM1; 28,4	ID01787.3p-miR	70	-115	89	23
	ID00107.3p-miR	82	-110	93	20
PIN1; 56	ID01667.3p-miR	64	-127	97	22
	ID02594.3p-miR	67	-115	90	22
	ID02121.3p-miR	69	-129	92	23
PRNP; 159	ID02256.3p-miR	282	-125	91	22
PTK2B; 39,4	ID01097.3p-miR	23	-113	93	21
SORL1; 16	ID02166.3p-miR	22	-121	90	22
TOMM40; 10,5	ID01233.3p-miR	50	-119	89	23

По одному CC miRNA найдено в 5'UTR mRNA генов *PTK2B* (ID01097.3p-miR), *SORL1* (ID02166.3p-miR), *TOMM40* (ID01233.3p-miR) и *PRNP* (ID02256.3p-miR). По одному CC miRNA в CDS mRNA генов *APP* (ID01171.3p-miR), *CELF1* (ID03109.5p-miR), *CLU* (miR-4487), *CST3* (miR-3196), *PIN1* (ID01171.3p-miR); в 3'UTR генов *BIN1* (ID02512.3p-miR), *LRP1* (miR-3926), *MEF2C* (miR-574-5p), *PTK2B* (miR-3916). Кластеры CC miRNA, выявлены в 5'UTR mRNA *BACE1*, *MAPT*, *MEF2C*, *NCAM1* и *PIN1;* в CDS кластеры CC выявлены в mRNA генов *APOE*, *CYP46A1*, *HMGB1*, *LRP1*, *TOMM40;* в 3'UTR

кластеры СС найдены в mRNA генов *HMGB1* и *NCAM1*. В mRNA *HMGB1* кластер составлен из трех одиночных СС с 4318 по 4353 нт, в *NCAM1* кластер из полисайтов трех miRNA с 3098 по 3149 нт со степенью компактизации 3,0.

СС miRNA в 5'UTR mRNA с ΔG равной -125 кДж/моль и выше выявлены в ассоциациях: *ACHE* и ID03231.5p-miR, ID00894.5p-miR; *FERMT2* и ID03083.5p-miR; *BACE1* и ID01662.3p-miR, ID02084.3p-miR, ID03418.3p-miR; *BIN1* и ID02630.3p-miR; *GSK3B* и ID00061.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID01041.5p-miR, ID00457.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID00296.3p-miR, ID02294.5p-miR, ID02522.3p-miR, ID02429.3p-miR, ID01804.3p-miR, ID02084.3p-miR, ID01652.3p-miR; *PIN1* и ID01667.3p-miR, ID02121.3p-miR; *PPARGC1A* и ID03332.3p-miR, ID02761.3p-miR; *PPARG* и ID00894.5p-miR, ID01024.5p-miR; *PRNP* и ID02256.3p-miR; *PSEN2* и ID02019.3p-miR; *RELN* и ID03047.3p-miR, ID03332.3p-miR, ID02761.3p-miR; *TFAM* и miR-6089.

СС miRNA в CDS mRNA с ΔG равной -125 кДж/моль и выше выявлены в ассоциациях: *ABCA7* и ID02728.5p-miR, ID00642.3p-miR; *ACE* и ID00522.5p-miR, ID02294.5p-miR; *CHRNA7* и ID01016.5p-miR; *EPHA1* и ID02650.3p-miR; *GRIN2B* и ID00061.3p-miR; *IRS1* и ID02344.3p-miR; *CYP46A1* и ID00202.5p-miR; *TOMM40* и ID01879.5p-miR, ID02229.3p-miR (таблица 9). СС miRNA в 3'UTR mRNA изученных генов со значением ΔG равному -125 кДж/моль и выше не обнаружено (таблица 10).

Таблица 9 – Характеристики взаимодействия miRNA с CDS mRNA генов с RPKM выше 10, участвующих в развитии болезни Альцгеймера

Ген, RPKM	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6
APOE; 269	ID03402.5p-miR	758	-121	95	22
	ID03398.5p-miR	881	-115	93	20
	ID03261.5p-miR	883	-115	93	20
APP; 187	ID01171.3p-miR	2404	-104	92	20
BACE1; 14,8	ID02815.3p-miR	662	-113	93	21
	miR-513a-5p	1945	-91	96	18
CELF1; 10	ID03109.5p-miR	831	-104	92	21
CLU; 628,4	miR-4487	805	-98	92	19
CST3; 386,9	miR-3196	192	-102	92	18
CYP46A1; 13,5	ID00202.5p-miR	1455	-132	90	24
	ID00201.3p-miR	1469	-106	93	20
HMGB1; 27,4	miR-3653	1042	-89	98	18
	ID03324.3p-miR	1524	-115	90	22
	ID00777.3p-miR	1526	-113	90	23
LRP1; 21,2	ID01709.3p-miR	486	-117	93	22
	ID00159.5p-miR	2848	-110	91	22
	miR-1911-3p	4325	-102	92	20
	miR-6879-5p	8791	-113	90	22
	ID02754.5p-miR	12102	-108	91	21
	ID02173.3p-miR	13294	-106	91	21

Продолжение таблицы 9

1	2	3	4	5	6
LRP1; 21,2	miR-301a-3p	13437	-104	89	23
	miR-301b	13437	-104	89	23
MAPT; 38,4	ID01128.5p-miR	744	-110	90	23
	ID01128.5p-miR	1008	-106	94	20
NCAM1; 28,4	ID03044.3p-miR	2776	-96	92	20
PIN1; 56	ID02643.3p-miR	627	-119	89	23
PTK2B; 39,4	ID02566.3p-miR	1341	-110	90	22
	ID01354.3p-miR	3828	-115	92	22
SORL1; 16	ID00430.3p-miR	1536	-110	90	23
	miR-609	3448	-98	94	20
	miR-3675-5p	4207	-106	89	23
TOMM40; 10,5	ID01048.5p-miR	232	-119	90	23
	ID01879.5p-miR	238	-127	94	22
	ID02229.3p-miR	239	-125	95	21
	ID02747.5p-miR	276	-110	91	21
VEGFA; 11,7	ID00678.3p-miR	627	-113	91	21
	ID03097.3p-miR	888	-121	89	23

Таблица 10 – Характеристики взаимодействия miRNA с 3'UTR mRNA генов с RPKM выше 10, участвующих в развитии болезни Альцгеймера

Ген, RPKM	miRNA	Начало CC, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
BACE1; 14,8	ID00183.3p-miR	1970	-102	91	21
	ID02172.5p-miR	3749	-106	91	21
	miR-6124	4415	-102	92	20
BIN1; 67,5	ID02512.3p-miR	2168	-123	88	24
HMGB1; 27,4	ID03149.5p-miR	4318	-113	90	22
	miR-5095	4325	-110	95	21
	miR-619-5p	4331	-119	98	22
	ID03437.5p-miR	4433	-96	92	22
	ID02175.3p-miR	4520	-110	91	22
	ID01237.3p-miR	4571	-117	92	24
LRP1; 21,2	miR-3926	14289	-102	91	21
MAPT; 38,4	ID03372.3p-miR	3298	-106	93	21
	miR-650	3495	-110	93	21
	miR-4298	4066	-113	90	22
MEF2C; 30,7	miR-574-5p	4445	-113	93	23
NCAM1; 28,4	miR-574-5p	3098 ÷ 3126 (3)	-108 ÷ -113	89 ÷ 93	23
	ID00470.5p-miR	3100, 3104	-108 ÷-110	89-91	23
	ID02299.5p-miR	3099, 3119	-98 ÷ -100	92 ÷ 94	21
	ID00914.3p-miR	3118	-100	90	22
PTK2B; 39,4	miR-3916	4197	-117	86	26
VEGFA; 11,7	miR-1277-5p	2085	-96	88	24
	miR-1277-5p	3275	-96	88	24
	miR-1277-5p	3314	-96	88	24

Таким образом среди генов, вовлеченных в БА с уровнем экспрессии mRNA в коре головного мозга до 10 RPKM выявлено большое число СС, в том числе полисайтов и множественных СС, формирующих кластеры. Гены, экспрессия mRNA которых выше 10 RPKM в основном содержат одиночные СС miRNA, не формирующие кластеры.

miRNA, которые имеют СС в mRNA различных генов-мишеней связываются с последовательностями, представленными нуклеотидными повторами (таблицы 11-14). Так, miR-466, ID00436.3p-miR, ID01727.5p-miR, ID01030.3p-miR могут взаимодействовать с 3'UTR участками mRNA генов *CD2AP, GSK3B, IRS1, PPARGC1A*, *TFAM*, представленными динуклеотидными повторами GU или UG (таблица 11).

Таблица 11 – Схемы взаимодействий miR-466, ID00436.3p-miR, ID01727.5p-miR, ID01030.3p-miR с mRNA генов-мишеней *CD2AP*, *GSK3B* и *IRS1*

CD2AP; miR-466; 2850; -108; 93; 23*
5' – GUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGUAU – 3'
  |||||||| |||||||||||||||
3' – UACACACA-ACGCACAUACACAUA – 5'
	CD2AP; ID01727.5p-miR; 2829; -102; 87; 23
	5' – UGUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGU – 3'
	  ||||||| ||| |||||||||||
	3' – ACACACAAACAAACAUACACACG – 5'

CD2AP; ID01030.3p-miR; 2830; -108; 89; 23
5' – GUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGU – 3'
  |||||||||||| ||||||||||
3' – CGUACACGUACA-ACACACACACA – 5'
	CD2AP; ID00436.3p-miR; 2850; -106; 91; 23
	5' – GUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGUA – 3'
	  |||||||||||||||||||||||
	3' – CACACACGCAUAUAUACACACAU – 5'

GSK3B; miR-466; 4713; -106; 91; 23
5' – AUGUGUGCGUGUGUGUGUGUGUGU – 3'
  |||||||| ||||||||||||
3' – UACACACA-ACGCACAUACACAUA – 5'
	GSK3B; ID01727.5p-miR; 4722; -106; 91; 23
	5' – UGUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGC – 3'
	  ||||||| ||| |||||||||||
	3' – ACACACAAACAAACAUACACACG – 5'

GSK3B; ID01030.3p-miR; 4705; -113; 93; 23
5' – GUGUGUGCAUGUGUGCGUGUGUGU – 3'
  |||||||||||| ||||||||||
3' – CGUACACGUACA-ACACACACACA – 5'
	GSK3B; ID00436.3p-miR; 4713; -104; 89; 23
	5' – AUGUGUGCGUGUGUGUGUGUGUG – 3'
	  ||||||||||||||||||||||
	3' – CACACACGCAUAUAUACACACAU – 5'

IRS1; miR-466; 7319; -108; 93; 23
5' – AUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGU – 3'
  |||||||| ||||||||||||
3' – UACACACA-ACGCACAUACACAUA – 5'
	IRS1; ID00436.3p; 7347; -106; 91; 23
	5' – GUGUGUGUGUAUAUAUAUGUGUG – 3'
	  ||||||||||||||||||||||
	3' – CACACACGCAUAUAUACACACAU – 5'

IRS1; ID01030.3p; 7321; -108; 89; 23
5' – GUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGUGU – 3'
  |||||||||||| ||||||||||
3' – CGUACACGUACA-ACACACACACA – 5'
	IRS1; ID01727.5p-miR; 7334; -106; 91; 23
	5' – UGUGUGUGUGUUUGUGUGUGUGU – 3'
	  ||||||| ||||||||||||
	3' – ACACACAAACAAACAUACACACG – 5'

*Примечание - Ген; miRNA; начало сайта связывания (нт); свободная энергия взаимодействия, ΔG (кДж/моль); длина miRNA (нт). Верхняя и нижняя нуклеотидные последовательности mRNA и miRNA соответственно.	

ID01310.3p-miR, ID03332.3p-miR, ID02761.3p-miR связываются с тринуклеотидными повторами GCG в 5'UTR mRNA генов *PPARGC1A* и *RELN* (таблица 12). Сайты связывания miR-574-5p, ID00470.5p-miR, ID02299.5p-miR представлены динуклеотидными повторами AC в 5'UTR mRNA *PPARGC1A*, и 3'UTR *NCAM1, IGF1* (таблица 13). ID02084.3p-miR и ID03151.3p-miR связываются с последовательностью из тринуклеотидных повторов GCC в 5'UTR области mRNA генов *GSK3B* и *BACE1* (таблица 14). ID02294.5p-miR и

ID01879.5p-miR связываются преимущественно с GCC в mRNA *GSK3B* и GCU или GCC в mRNA *ACE*. В данном случае учитывается взаимодействие с повторами GCC и GCU за счет водородных связей между каноническими и неканоническими парами нуклеотидов.

Таблица 12 – Схемы взаимодействий ID01310.3p-miR, ID03332.3p-miR, ID02761.3p-miR с mRNA генов-мишеней *PPARGC1A* и *RELN*

PPARGC1A; ID01310.3p-miR; 141; -121; 92; 22*
5' – GCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGC – 3'
  ||||||| ||||||||||| |||
3' – CGUCGUCUCCGCCGCCGCU–CCG – 5'
	RELN; ID01310.3p-miR; 135; -121; 92; 22
	5' – GCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGC – 3'
	  ||||||| ||||||||||| |||
	3' – CGUCGUCUCCGCCGCCGCU–CCG – 5'

PPARGC1A; ID03332.3p-miR; 143; -133; 90; 24
5' – GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGC – 3'
  ||||| ||||| |||||||||| |
3' – CCGCCUCCGCCUCCGCCGCCGCGG – 5'
	RELN; ID03332.3p-miR; 137; -134; 90; 24
	5' – GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGC – 3'
	  ||||| ||||| |||||||||| |
	3' – CCGCCUCCGCCUCCGCCGCCGCGG – 5'

PPARGC1A; ID02761.3p-miR; 146; -127; 86; 23
5' – GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCAGC – 3'
  |||||||||||||| ||| |||
3' – CCGCCGCCGCCGCCGGCGCGGUUC – 5'
	RELN; ID02761.3p-miR; 140; -134; 90; 24
	5' – GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCAUGG – 3'
	  |||||||||||||| ||| || ||
	3' – CCGCCGCCGCCGCCGGCGCGGU–UC – 5'

*Примечание - Ген; miRNA; начало сайта связывания (нт); свободная энергия взаимодействия, ΔG (кДж/моль); длина miRNA (нт). Верхняя и нижняя нуклеотидные последовательности mRNA и miRNA соответственно.	

Таблица 13 – Схемы взаимодействий miR-574-5p, ID00470.5p-miR, ID02299.5p-miR с mRNA генов-мишеней *PPARGC1A*, *NCAM1* и *IGF1*

PPARGC1A; miR-574-5p; 31; -108; 90; 23*
5' – ACACACGCACACGCACACACACG – 3'
  |||||| ||||||||||||| ||
3' – UGUGUGAGUGUGUGUGUGUGAGU – 5'
	PPARGC1A; ID00470.5p-miR; 35; -110; 91; 23
	5' – ACGCACACGCACACACACGCGCG – 3'
	  |||||||||||||||||||||||
	3' – UGUGUGUGCGUAUGUGUGCAUGU – 5'

PPARGC1A; ID02299.5p-miR; 30; -98; 92; 21
5' – CACACACGCACACGCACACACA – 3'
  ||||||||||||||| |||||
3' – GUAUAUGUGUGUACGU–UGUGU – 5'
	NCAM1; ID02299.5p-miR; 3119; -100; 94; 21
	5' – CACAAACACACAUGCACACACA – 3'
	  |||| ||||||||||| |||||
	3' – GUAUAUGUGUGUACGU–UGUGU – 5'

NCAM1; miR-574-5p; 3100; -108; 89; 23
5' – ACACACACGCACGCACACACACA – 3'
  |||||| ||||||||||||| ||
3' – UGUGUGAGUGUGUGUGUGUGAGU – 5'
	NCAM1; ID00470.5p-miR; 3100; -110; 91; 23
	5' – ACACACACGCACGCACACACACA – 3'
	  |||||||||||||||||||||||
	3' – UGUGUGUGCGUAUGUGUGCAUGU – 5'

IGF1; miR-574-5p; 4156; -113; 93; 23
5' – ACACACACACACACACACAUUCA – 3'
  |||||| |||||||||||||
3' – UGUGUGAGUGUGUGUGUGUGAGU – 5'
	IGF1; ID00470.5p-miR; 4136; -108; 89; 23
	5' – ACACACACACACACACACACACA – 3'
	  |||||||||||||||||||||||
	3' – UGUGUGUGCGUAUGUGUGCAUGU – 5'

IGF1; ID02299.5p-miR; 4137; -96; 90; 21 5' – CACACACACACACACACACACA – 3' ||||||||||||||| ||||| 3' – GUAUAUGUGUGUACGU–UGUGU – 5'	
*Примечание - Ген; miRNA; начало сайта связывания (нт); свободная энергия взаимодействия, ΔG (кДж/моль); длина miRNA (нт). Верхняя и нижняя нуклеотидные последовательности mRNA и miRNA соответственно.	

Таблица 14 – Схемы взаимодействий ID03151.3p-miR, ID02084.3p-miR с mRNA генов-мишеней *GSK3B* и *BACE1*

GSK3B; ID03151.3p-miR; 9; -115; 93; 20*
5' – UGCCGCCGCCGCCGCCGCCG – 3'
  |||| ||||||||||||
3' – AUGGGGGCGGCGGCGGCGGC – 5'
	GSK3B; ID02084.3p-miR; 94; -129; 86; 24
	5' – GCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCCGG – 3'
	  |||||||||||||||| ||||
	3' – GGGCGGCGGCGGCGGCGGGCGGCU – 5'

BACE1; ID03151.3p-miR; 107; -115; 93; 20
5' – UGCCCGCGCCGCCGCCCGCCG – 3'
  ||||| ||||||||| ||||
3' – AUGGGGGCGGCGGCGG-CGGC – 5'
	BACE1; ID02084.3p-miR; 104; -136; 90; 24
	5' – CCCUGCCCGCGCCGCCGCCCGCCGG – 3'
	  ||| ||| ||||||||||||||
	3' – GGG-CGGCGGCGGCGGCGGGCGGCU – 5'

*Примечание - Ген; miRNA; начало сайта связывания (нт); свободная энергия взаимодействия, ΔG (кДж/моль); длина miRNA (нт). Верхняя и нижняя нуклеотидные последовательности mRNA и miRNA соответственно	

Перечисленные выше miRNA объединяются в ассоциации, взаимодействующие с mRNA различных генов. Большинство СС таких ассоциаций miRNA обнаружены в 5'UTR и 3'UTR mRNA. Вероятно, такие последовательности повторяющихся нуклеотидов вовлечены в регуляцию экспрессии генов, так как являются СС miRNA.

Результатом расположения СС miRNA в miRNA с наложением нуклеотидных последовательностей в кластере приводит к компактизации последовательности mRNA, являющейся мишенью нескольких miRNA. При близком значении величин ΔG и ΔG/ΔGm СС miRNA можно предположить, что при равной концентрации miRNA с большей вероятностью с mRNA генов-мишеней свяжутся miRNA, имеющие большее число СС на участке. При схожих характеристиках силы взаимодействия miRNA – mRNA и степени их комплементарности, преимущество при связывании у miRNA с наивысшей концентрацией. Кластеры и множественные СС располагаются, преимущественно, в 3'UTR и 5'UTR. Отсутствие или небольшое число кластеров в CDS области можно объяснить тем, что CDS несет информацию о структуре белка, а наличие кластеров СС miRNA придает регуляторную роль (дополнительный регуляторный элемент, что присуще 3'UTR и 5'UTR) последовательности mRNA.

В качестве эффективных ассоциаций miRNA и генов-мишеней при болезне Альцгеймера могут быть отобраны СС с высоким значением энергии взаимодействия равной -125 кДж/моль и выше. А именно: *ABCA7* и ID02728.5p-miR, ID00642.3p-miR; *ACE* и ID00522.5p-miR, ID02294.5p-miR; *ACHE* и ID03231.5p-miR, ID00894.5p-miR; *BACE1* и ID01662.3p-miR, ID02084.3p-miR, ID03418.3p-miR; *BIN1* и ID02630.3p-miR; *CHRNA7* и ID01016.5p-miR; *CYP46A1* и ID00202.5p-miR; *EPHA1* и ID02650.3p-miR; *FERMT2* и ID03083.5p-miR; *GRIN2B* и ID00061.3p-miR; *GSK3B* и ID00061.3p-miR, ID00457.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID01041.5p-miR, ID00296.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID02522.3p-miR, ID02294.5p-miR, ID01804.3p-miR, ID02429.3p-miR, ID01652.3p-miR, ID02084.3p-miR; *IRS1* и ID02344.3p-miR; *PIN1* и ID01667.3p-miR, ID02121.3p-miR; *PPARGC1A* и ID03332.3p-miR, ID02761.3p-miR; *PPARG* и ID00894.5p-miR, ID01024.5p-miR; *PRNP* и ID02256.3p-miR; *PSEN2* и

ID02019.3p-miR; *RELN* и ID03047.3p-miR, ID03332.3p-miR, ID02761.3p-miR; *TFAM* и miR-6089; *TOMM40* и ID01879.5p-miR, ID02229.3p-miR. Также могут быть предложены ассоциации miRNA с кластерной организацией СС, встречающиеся в mRNA нескольких генов. А именно: miR-466, ID00436.3p-miR, ID01727.5p-miR, ID01030.3p-miR и *CD2AP, GSK3B, IRS1, PPARGC1A, TFAM.* miR-574-5p, ID00470.5p-miR, ID02299.5p-miR и *PPARGC1A, NCAM1, IGF1;* ID01310.3p-miR, ID03332.3p-miR, ID02761.3p-miR и *PPARGC1A, RELN;* ID02084.3p-miR, ID03151.3p-miR и *GSK3B, BACE1;* ID02294.5p-miR ID01879.5p-miR и *GSK3B, ACE.*

Из расмотренных ассоциаций в CDS локализованы: *ABCA7* и ID02728.5p-miR, ID00642.3p-miR; *ACE* и ID00522.5p-miR, ID02294.5p-miR, ID01879.5p-miR; *CHRNA7* и ID01016.5p-miR; *EPHA1* и ID02650.3p-miR; *GRIN2B* и ID00061.3p-miR; *IRS1* и ID02344.3p-miR; *CYP46A1* и ID00202.5p-miR; *TOMM40* и ID01879.5p-miR, ID02229.3p-miR.

В качестве специфичных ассоциаций miRNA – mRNA кандидатных генов болезни Альцгеймера предложены miRNA и mRNA с высокими значениями свободной энергии взаимодействия. Предлагаемые гены-мишени участвуют преимущественно в развитии БА. Также учитывался уровень экспрессии mRNA генов в ГМ по сравнению с другими тканями. Такими ассоциациями являются *ABCA7* и ID02728.5p-miR, ID00642.3p-miR; *ACE* и ID00522.5p-miR, ID02294.5p-miR, ID01879.5p-miR; *APP* и ID01171.3p-miR; *CHRNA7* и ID01016.5p-miR; *CHRNB2* и ID03113.3p-miR, ID00065.3p-miR; *CST3* и miR-3196, *CYP46A1* и ID00202.5p-miR, *EPHA1* и ID02650.3p-miR, *IRS1* и ID02344.3p-miR, *GRIN2B* и ID00061.3p-miR, miR-2392; *LRP1* и ID01709.3p-miR, miR-6879-5p; *MAPT* и ID01128.5p-miR, ID01128.5p-miR; *NCAM1* и ID03044.3p-miR, *PIN1* и ID02643.3p-miR, *SORL1* и ID00430.3p-miR, miR-609, miR-3675-5p; *TOMM40* и ID01879.5p-miR, ID02229.3p-miR. Среди предлагаемых ассоциаций имеются одиночные пары mRNA-miRNA (например, *APP* и ID01171.3p-miR); гены, являющиеся мишенями нескольких miRNA с неперекрывающимися последовательностями СС (например, *SORL1* и ID00430.3p-miR, miR-609, miR-3675-5p). Выявлено снижение уровня экспрессии miR-3196 и повышение экспресии mRNA *CST3*B в образцах слизистой оболочки полости рта при поиске биомаркеров плоского лишая слизистой рта [132].

3.2 Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием немелкоклеточного рака легкого

Из 115 генов, участвующих в немелкоклеточном раке легкого были отобраны только СС с величиной ΔG/ΔGm равной 85% и более (таблица 3). По одному СС было выявлено при взаимодействии miRNA с 5’UTR mRNA следующих генов: *BAK1* и ID01357.5p-miR; *CASP3* и ID01321.5p-miR; *CAV2* и ID00173.3p-miR; *CDK6* и ID01415.5p-miR; *CX3CR1* и ID01330.3p-miR; *ESR1* и ID02157.5p-miR; *EPRS* и miR-6882-3p; *FEN1* и ID01732.3p-miR; *FUT8* и ID02615.5p-miR; *HTATIP2* и ID02972.5p-miR; *PRAME* и ID02196.5p-miR; *PRKDC* и ID02477.3p-miR (Приложение В, Таблица В.1).

Сайты связывания miRNA, формирующие кластеры выявлены в 5'UTR mRNA генов *ABCC1, AKT2, EGR1, IGF1R, LHX2, LIMK1, MTA1, P4HB, PAK1, PDPK1, PTEN, SIAH2, TFDP* и *USP14* [133]. Три кластера выявлены в 5'UTR mRNA гена *ABCC1*. Первый кластер с 10 по 64 нуклеотид составлен из сайтов связывания 28 miRNA со степенью компактизации 26,6. Из них 11 miRNA имеют одиночные СС. В 5'UTR *ABCC1* выявлены СС 17 miRNA. Так, для ID01403.5p-miR, miR-762, ID02064.5p-miR, ID01804.3p-miR обнаружено два СС; для ID02294.5p-miR, ID03151.3p-miR, ID00722.5p-miR, ID02499.3p-miR, ID01879.5p-miR, ID00457.3p-miR - по три СС, для ID00061.3p-miR, ID01641.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID00296.3p-miR, ID03367.5p-miR, miR-3960 – по четыре сайта связывания, ID01873.3p-miR – пять СС. Семь СС четырех miRNA (ID00121.5p-miR имеет четыре СС) с 20 по 115 нт составляют второй кластер в 5'UTR *ABCC1*. С 142 по 167 нт выявлен третий кластер трех miRNA из одиночных сайтов связывания. Два кластера СС miRNA выявлены в 5'UTR mRNA гена *AKT2*, первый кластер в положении с 18 по 46 нт состоит из одиночных СС трех miRNA, второй кластер с 77 по 115 нт состоит из полисайтов шести miRNA и степенью компактизации 9,3. В 5'UTR mRNA гена *BMI1* выявлены СС пяти miRNA – СС четырех из них в отдельных кластерах с 160 по 196 нт (ID03028.3p-miR и ID03488.3p-miR) и с 223 по 253 нт (ID03332.3p-miR и ID01282.3p-miR). Кластеры, представленные сайтами связывания двух miRNA обнаружены в mRNA генов – *CDKN2A* (ID01342.5p-miR и ID01688.3p-miR); *EHD1* (ID00037.3p-miR и ID00211.3p-miR)*; GLDC* (ID01150.3p-miR и ID00168.3p-miR)*; JAG1* (D01310.3p-miR и ID03037.3p-miR)*; RAF1* (ID00567.3p-miR и ID02281.5p-miR)*; SIAH2* (ID02899.3p-miR и ID00202.5p-miR); *TYMS* (ID02106.3p-miR и ID01029.5p-miR); *USP4* (miR-6749-3p и ID01883.5p-miR); *VSNL1* (miR-877-3p и miR-7111-3p). Кластер в mRNA гена *CSNK2A1* с 120 по 163 нт из одиночных СС четырех miRNA. Одиночные СС трех miRNA в mRNA *DAP* с 173 по 205 нт образуют кластер. В mRNA гена *EGR1* расположены 10 одиночных СС, 8 из которых образуют два кластера с 12 по 37 и с 50 по 83 нт. Четыре кластера выявлены в mRNA гена *IGF1R*. Первый кластер с 6 по 31 нт составлен из трех одиночных СС. Второй кластер из 18 СС 13 miRNA локализован с 296 по 363 нт со степенью компактизации - 6,1. Третий кластер с 454 по 513 нт составлен одиночными СС четырех miRNA со степенью компактизации 1,6. Четвертый кластер с 828 по 865 нт составлен одиночными СС пяти miRNA со степенью компактизации 2,9. В mRNA гена *KLK13* найден кластер из четырех одиночных сайтов связывания с 4 по 39 нт. Наивысшая величина свободной энергии взаимодействия между ID00049.5p-miR и mRNA в данном кластере равна -132 кДж/моль. Два кластера из одиночных СС найдены с 607 по 614 нт в mRNA гена *LHX2* (ID03362.5p-miR и ID03394.3p-miR) и с 709 по 739 нт (ID00094.3p-miR, ID00877.5p-miR, ID00329.3p-miR, ID01778.3p-miR). Два кластера сайтов связывания miRNA обнаружены в mRNA *LIMK1*. Кластер из семи СС шести miRNA расположен с 86 по 133 нт со степенью компактизации 3,3. Второй кластер с 134 по 206 нт состоит из пяти одиночных сайтов связывания miRNA. Ген *MET* в 5'UTR

mRNA с 115 по 141 нт содержит кластер из трех одиночных СС, степень компактизации которого равна 2,6. Пять miRNA связываются в 5'UTR mRNA гена *MICA,* СС трех из них с 576 по 625 нт образуют кластер. 23 СС 11 miRNA образуют два кластера СС в 5'UTR mRNA гена *MTA1*. Первый кластер составлен из СС D01810.3p-miR и полисайтов трех miRNA, степень компактизации 8. Второй кластер представлен семью одиночными СС с 133 по 184 нт и имеет степень компактизации 3,1. Степень компактизации кластеров, состоящих из полисайтов связывания miRNA выше, чем кластеров с одиночными сайтами связывания. В позиции с 58 по 94 нт в mRNA гена *P4HB* найдены четыре одиночных СС miRNA, образующие кластер со степенью компактизации 2,5. В 5'UTR mRNA гена *PAK1* найдены шесть СС miRNA, четыре из которых образуют кластер с 365 по 404 нт. Десять одиночных СС, организованы в кластер с 3 по 41 нт 5'UTR mRNA гена *PDPK1* со степенью компактизации 5,9. Величина свободной энергии взаимодействия девяти СС в данном кластере выше -120 кДж/моль. В 5'UTR mRNA гена *PTEN* установлены 15 СС miRNA. Десять из них организованы в кластеры с 522 по 558 нт и с 699 по 725 нт. ID02761.3p-miR и ID01702.3p-miR взаимодействуют в кластерах с наибольшим значением свободной энергии взаимодействия (-132 кДж/моль). Полисайты трех miRNA образуют кластер с 218 по 267 нт в 5'UTR mRNA гена *PTPRZ1*. В mRNA *RRM1* сайты связывания четырех miRNA семейства miR-378 расположены через один нуклеотид и образуют кластер. Шесть miRNA связываются в mRNA гена *TFDP1* с 5 по 29 нт и с 50 по 105 нт, образуя два кластера. ID03001.3p-miR и ID01653.5p-miR взаимодействуют с mRNA *TFDP1* с наивысшим значением ΔG (-129 кДж/моль). Два кластера СС семи и пяти miRNA выявлено в 5'UTR mRNA *USP14* с 88 по 146 нт и с 191 по 215 нт, соответственно. Наивысшее значение свободной энергии взаимодействия mRNA *USP14* в первом кластере с ID02064.5p-miR (-136 кДж/моль) и ID01895.5p-miR (-134 кДж/моль), во втором кластере – с ID00327.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID00252.5p-miR (-129 кДж/моль). Значение ΔG ниже для полисайтов по сравнению с одиночными СС.

В CDS кластеры сайтов связывания выявлены в mRNA генов *ADAM23, B3GNT3, BRD4, E2F3, EGR1, GPC3, RXRB, SHOX2* и *SIAH2* (таблица 15) [134]. Для гена *ADAM23* выявлен кластер из СС четырех miRNA с 334 по 363 нуклеотид со степенью компактизации 2,9. Наивысшая величина энергии взаимодействия в данном кластере у СС mRNA *ADAM23* и ID03064.3p-miR (-136 кДж/моль) и ID02769.5p-miR (-129 кДж/моль). 14 СС miRNA обнаружены в mRNA *BRD4,* из которых СС ID00296.3p-miR и ID01641.3p-miR; miR-3615 и miR-6872-3p образуют кластеры с 3082 по 3108 нт и с 3983 по 4015 нт, соответственно. Свободная энергия взаимодействия ID01641.3p-miR и ID00296.3p-miR первого кластера с mRNA *BRD4* равна -132 кДж/моль и -136 кДж/моль. С mRNA *CCND1* связываются пять miRNA, СС четырех из них образуют кластер с 1018 по 1048 нт со степенью компактизации 3,0. Свободная энергия взаимодействия miRNA в кластере менее -120 кДж/моль. В mRNA *CHD4* найдены пять СС двух miRNA – четыре СС для ID00529.5p-miR и один

СС для ID00777.3p-miR организованные в кластер с 648 по 677 нт. Наибольшее число СС miRNA в CDS mRNA генов, участвующих в развитии НМРЛ предсказано для генов *E2F3* и *MLL2*. Организация СС в mRNA этих генов различная – в *E2F3* СС расположены в кластерах, тогда как в *MLL2* выявлены СС без наложения нуклеотидных последовательностей. В CDS *E2F3* выявлены СС 42 miRNA, образующих четыре кластера. Взаимодействие одной miRNA из кластера с mRNA *E2F3* ограничивает доступность этого участка для связывания других miRNA этого кластера. Первый кластер из четырех одиночных СС с 371 по 416 нт имеет степень компактизации 2,0. С наибольшей свободной энергией в кластере взаимодействует ID02294.5p-miR. Второй кластер составлен из 75 СС 32 miRNA с 448 по 492 нт со степенью компактизации 37,7. Свободная энергия взаимодействия 13 miRNA с mRNA *E2F3* в этом кластере равна -125 кДж/моль и более. Некоторые miRNA этого кластера имеют больше одного сайта связывания. Так, для ID02294.5p-miR установлено два СС; для ID02229.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID01804.3p-miR и D01879.5p-miR – по три СС; для ID00296.3p-miR, ID03151.3p-miR, ID03367.5p-miR и ID01377.3p-miR – четыре СС; для ID00457.3p-miR, ID01702.3p-miR и ID01873.3p-miR – пять, для ID00061.3p-miR – семь СС. Третий и четвертый кластеры содержат по три СС miRNA в положении с 530 по 583 и с 691 по 718 нт, соответственно. В CDS *MLL2* обнаружено 40 СС для 22 miRNA. СС 21 miRNA одиночные, miR-1322 содержит отдельно расположенные полисайты в mRNA *MLL2*. Значение свободной энергии взаимодействия одиночных СС выше, чем у полисайтов. Нуклеотидные последовательности одиночных СС в mRNA *MLL2* не наложены друг на друга, за исключением miR-4675 и ID01562.3p-miR, которые образуют кластер с 12225 по 12259 нт. В mRNA *EGR1* обнаружен кластер из 14 СС семи miRNA с 455 по 529 нт и степенью компактизации 4,1. С наибольшей энергией с mRNA *EGR1* взаимодействуют ID02585.5p-miR (-125 кДж/моль) и ID03387.3p-miR (-127 кДж/моль). Значение ΔG ниже для полисайтов по сравнению с одиночными СС. Так, в кластере выявлены пять и четыре полисайта для ID01310.3p-miR и miR-1322 с ΔG -113 ÷ -117 кДж/моль и -89 ÷ -91 кДж/моль соответственно. Тогда как значение ΔG для одиночных сайтов в mRNA *EGR1* выше -121 кДж/моль. С CDS mRNA *GPC3* связываются 14 miRNA, 13 из них взаимодействуют с образованием кластера СС с 258 по 299 нт. Кластер составлен преимущественно из одиночных СС со степенью компактизации 7,5. Шесть из 13 miRNA в кластере связываются с mRNA с выскоким значением ΔG: ID01804.3p-miR (-129 кДж/моль), ID01323.3p-miR (-127 кДж/моль), ID01041.5p-miR (-127 кДж/моль), ID00296.3p-miR (-138 кДж/моль), ID01702.3p-miR (-136 кДж/моль), ID01641.3p-miR (-134 кДж/моль). СС ID00564.5p-miR, ID01739.3p-miR и miR-4459 расположены в кластере в mRNA гена *KRT5* с 1896 по 1919 нт. В mRNA *MTA1* находятся два кластера из одиночных СС трех miRNA (D01524.3p-miR, ID03238.3p-miR, miR-6716-3p) с 406 по 459 нт и двух miRNA (ID01702.3p-miR, ID01652.3p-miR) с 2271 по 2300 нт. Наивысшее значение ΔG среди всех miRNA, взаимодействующих с mRNA *MTA1* установлено для ID01702.3p-miR (-134

кДж/моль). В CDS mRNA гена *RXRB* выявлены 11 СС, восемь из которых - одиночные и три полисайта ID01310.3p-miR. Шесть из девяти miRNA связываются с mRNA *RXRB* с наложением нуклеотидов, образуя кластер с 353 по 389 нт и степенью компактизации 5,1. Найдено десять miRNA, связывающихся с CDS mRNA гена *SHOX2*. СС восьми из десяти miRNA образуют кластер с 304 по 368 нуклеотид. За исключением одиночного СС ID03387.3p-miR, кластер составлен из полисатов семи miRNA - ID01282.3p-miR (три полисайта), ID03332.3p-miR (два СС), ID03445.3p-miR (пять СС), ID01859.5p-miR (шесть СС), ID01310.3p-miR (четыр СС), ID00811.3p-miR (пять СС), ID03345.5p-miR (два СС). Наивысшее значение ΔG установлено для СС ID03332.3p-miR и равно -129 ÷ -132 кДж/моль. Следовательно, при равных концентрациях восьми miRNA кластера, наиболее вероятно взаимодействие между mRNA *SHOX2* и ID03332.3p-miR. В CDS mRNA гена *SIAH2* найдено шесть одиночных сайтов связывания, составляющих два кластера. Первый кластер состоит из СС двух miRNA с 383 по 422 нт, второй кластер из четырех СС miRNA с 466 по 495 нт. Из шести сайтов связывания, три с высокой энергией взаимодействия: ID01106.5p-miR (-129 кДж/моль), ID02251.5p-miR (-125 кДж/моль) и ID02611.3p-miR (-129 кДж/моль). Кластеры, составленные из СС двух miRNA найдены в mRNA генов *B3GNT3* (ID01774.5p-miR и miR-4763-3p – 303 и 308 нт); *BCL3* (ID00107.3p-miR и ID02112.3p-miR); *BRD4* (два кластера: ID01641.3p-miR и ID00296.3p-miR; miR-6872-3p и miR-3615)*; CBLB* (ID01787.3p-miR и miR-4459); *CHD4* (ID00529.5p-miR и ID00777.3p-miR); *RP5* (ID01547.3p-miR и miR-4651); *MCM4* (ID00622.3p-miR и ID00491.5p-miR); *MLL2* (miR-4675 и ID01562.3p-miR); *PTPRN* (miR-6825-5p и miR-920; ID03231.5p-miR и ID00645.5p-miR); *RAF1* (miR-6808-5p и ID03405.3p-miR).

Таблица 15 – Характеристики взаимодействия miRNA с CDS mRNA генов, участвующих в развитии с НМРЛ

Ген, RPKM	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6
ABCC1; 12,6	ID00862.3p-miR	550	-110	88	23
	ID01164.3p-miR	2484	-115	89	22
	miR-4786-3p	4019	-106	86	22
ACLY; 24,2	ID00494.5p-miR	1084	-108	91	21
ADAM23; 0,6	ID03064.3p-miR	334	-136	89	24
	ID02769.5p-miR	337	-129	94	22
	ID02503.3p-miR	340	-113	91	21
	miR-3665	345	-102	94	18
	ID02260.5p-miR	383	-125	89	22
	miR-939-3p	2065	-110	90	21
AKT2; 12,6	miR-3614-3p	348	-104	89	23
	miR-1321	1641	-89	93	18
	miR-658	1693	-123	88	25

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6
ALDH3B2; 0,2	ID01862.5p-miR	925	-100	94	20
AMACR; 2,1	ID00642.3p-miR	273	-123	88	23
	ID00584.5p-miR	1067	-119	92	22
ARVCF; 6,5	miR-6890-3p	420	-106	94	20
	ID00628.5p-miR	1319	-113	91	20
	ID01059.3p-miR	1616	-115	90	22
	ID02381.3p-miR	2051	-125	88	24
	ID01261.5p-miR	2988	-115	96	20
ASNS; 16,5	miR-4279	1792	-87	95	16
B3GNT3; 0,3	ID01774.5p-miR	303	-132	91	23
	miR-4763-3p	308	-132	93	24
BAK1; 8,6	miR-324-3p	500	-106	93	20
BCL3; 52,8	ID02106.3p-miR	133	-123	89	23
	ID00107.3p-miR	175	-108	91	20
	ID02112.3p-miR	187	-121	90	22
	ID02323.3p-miR	1017	-115	90	22
BRD4; 12,8	ID03305.5p-miR	2484	-115	95	20
	ID01845.5p-miR	2508	-119	90	22
	ID02352.5p-miR	2548	-119	87	24
	ID02781.3p-miR	2863	-115	92	20
	ID03170.3p-miR	2947	-104	91	22
	ID01641.3p-miR	3082	-132	89	24
	ID00296.3p-miR	3083	-136	86	25
	miR-6772-5p	3160	-115	93	22
	miR-6872-3p	3983	-113	91	21
	miR-3615	3994	-110	91	21
	ID00372.5p-miR	4065, 4089	-121 ÷ -123	89 ÷ 91	24
CASP9; 3,7	miR-4747-3p	1068	-115	92	22
CAV2; 29,7	ID01062.3p-miR	280	-119	92	21
CBLB; 7,6	ID01787.3p-miR	2926	-115	89	23
	miR-4459	2927	-115	90	22
CCND1; 23,6	miR-4731-3p	508	-110	91	22
	miR-877-3p	1018, 1021	-102 ÷ -108	87 ÷ 93	21
	ID03238.3p-miR	1022	-119	92	23
	ID01352.3p-miR	1024	-115	90	23
	ID00777.3p-miR	1025	-113	90	23
CD163; 100,1	miR-4742-3p	2549	-108	89	23
CDH5; 51	ID01810.3p-miR	231	-117	90	23
	ID01428.3p-miR	2034	-127	88	24
CHD4; 30,3	ID00529.5p-miR (4)	648 – 654	-104	87	21
	ID00777.3p-miR	654	-113	90	23
CDK6; 3	miR-1238-3p	654	-104	92	20
CEACAM5; 3,4	ID00557.3p-miR	613	-115	87	24
	ID00557.3p-miR	1681	-115	87	24
COL1A1; 115,8	ID01731.5p-miR	1458	-115	89	23
	ID02001.5p-miR	1715	-110	90	22
	ID01473.3p-miR	2709	-123	88	23

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6
COL1A1; 115,8	ID00707.5p-miR	3860	-110	91	22
DDR1; 12,6	ID02970.5p-miR	543	-100	92	20
	ID03106.3p-miR	724	-110	90	22
	ID02355.5p-miR	2452	-110	91	22
	ID03060.3p-miR	2914	-123	91	23
DLC1; 21,2	miR-34c-3p	4116	-106	89	22
DSC3; 0,1	ID00642.3p-miR	162	-123	88	23
	ID01089.3p-miR	2563	-119	90	23
E2F3; 3,9	ID01531.3p-miR	371	-115	89	23
	ID03229.5p-miR	390	-121	90	22
	ID02294.5p-miR	391	-129	88	24
	ID00756.3p-miR	393	-121	88	23
	ID01895.5p-miR	448	-132	89	24
	ID02950.3p-miR	448	-123	88	23
	ID00756.3p-miR	449	-121	88	23
	ID01445.3p-miR	449	-115	92	20
	miR-3960 (5)	449 ÷ 466	-108 ÷ -110	86 ÷ 88	20
	ID01641.3p-miR	450	-129	87	24
	ID00296.3p-miR (4)	450 – 462	-136 ÷ -140	86 ÷ 89	25
	ID01702.3p-miR (5)	450 – 465	-132 ÷ -138	87 ÷ 92	24
	ID00522.5p-miR	452	-123	88	23
	ID01041.5p-miR	452	-127	87	24
	ID00061.3p-miR (7)	452 – 470	-119 ÷ -140	86 ÷ 95	22
	ID02294.5p-miR	452, 461	-127 ÷ -132	87 ÷ 90	24
	ID01873.3p-miR (5)	453 – 467	-113 ÷ -121	85 ÷ 92	21
	ID01403.5p-miR	454	-123	91	23
	ID01804.3p-miR (3)	453 – 462	-129	88	23
	ID02187.5p-miR	454	-121	88	23
	ID03367.5p-miR (4)	455 – 464	-113 ÷ -117	90 ÷ 93	20
	ID03151.3p-miR (4)	456 – 465	-106 ÷ -108	86 ÷ 88	20
	ID00457.3p-miR (5)	455 – 466	-119 ÷ -121	87 ÷ 89	22
	ID01778.3p-miR	460	-129	87	24
	ID01879.5p-miR (3)	460 – 466	-119 ÷ -125	87 ÷ 92	22
	ID02064.5p-miR (3)	460 – 466	-125 ÷ -138	87 ÷ 96	23
	ID01377.3p-miR (4)	460 – 469	-110	87	20
	ID02429.3p-miR	461	-121	89	23
	ID02368.3p-miR	464	-123	88	23
	ID02229.3p-miR (3)	464 – 473	-117 ÷ -119	89 ÷ 90	21
	ID01106.5p-miR	465	-132	89	24
	ID02522.3p-miR	465	-123	88	23
	ID02084.3p-miR	466	-132	87	24
	ID02499.3p-miR	467	-119	92	21
	ID02538.3p-miR	468	-129	97	22
	ID01986.5p-miR	468	-125	87	24
	ID00564.5p-miR	530	-110	90	22
	ID01574.5p-miR	553	-127	90	23
	ID01206.3p-miR	560	-125	88	23

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6
E2F3; 3,9	ID03332.3p-miR	691	-136	91	24
	ID01310.3p-miR	692	-123	94	22
	ID02611.3p-miR	696	-134	97	22
EGR1; 148,2	ID02344.3p-miR	414	-125	87	24
	ID01310.3p-miR (5)	455 – 485	-113 ÷ -117	85 ÷ 89	22
	ID02585.5p-miR	470	-125	87	24
	ID02200.3p-miR	470	-121	92	22
	ID03387.3p-miR	467	-127	90	24
	ID03445.3p-miR	470	-121	89	23
	ID01859.5p-miR	475	-117	90	22
	miR-1322 (4)	498 – 510	-89 ÷ -91	87 ÷ 90	19
	ID00564.5p-miR	806	-110	90	22
	ID01787.3p-miR	1682	-115	89	23
EHD1; 24,6	ID02783.5p-miR	1758	-98	92	20
EIF4A2; 165	miR-5195-3p	360	-106	93	21
EN1; 4,3	ID00857.5p-miR	760	-117	89	23
ESR1; 0,7	ID02606.5p-miR	409	-106	91	22
	ID02556.3p-miR	1852	-115	90	23
GJA1; 43,4	ID02369.5p-miR	1314	-108	88	23
GLDC; 0,3	ID00579.3p-miR	196	-119	92	22
	ID00345.3p-miR	206	-119	89	23
	ID03023.3p-miR	314	-113	90	22
	miR-33b-3p	792	-115	90	22
	ID01435.3p-miR	2581	-113	90	22
GPC3; 79,3	ID00522.5p-miR	258	-123	88	23
	ID01804.3p-miR	264, 268	-129	88	23
	ID02187.5p-miR	266	-123	89	23
	ID02057.3p-miR	266	-115	93	20
	ID01323.3p-miR	267	-127	94	22
	ID02971.3p-miR	267	-98	96	17
	ID03367.5p-miR	267	-117	93	20
	ID01041.5p-miR	271	-127	87	24
	ID03151.3p-miR	271	-117	95	20
	miR-3960	273	-115	92	20
	ID00296.3p-miR	274	-138	88	25
	ID01702.3p-miR	274	-136	90	24
	ID01641.3p-miR	274	-134	90	24
	miR-4791	721	-85	95	18
IGF1R; 7	miR-1273a	3126	-117	89	25
KRT5; 3,9	ID00564.5p-miR	1896	-110	90	22
	ID01739.3p-miR	1897	-110	91	21
	miR-4459	1897	-115	90	22
KRT18; 86,3	ID03032.3p-miR	335	-117	87	24
	miR-7156-5p	1060	-106	89	23
LIMK; 8,8	ID01216.3p-miR	1864	-119	89	24
LRP5; 13,2	ID01874.3p-miR	2143	-106	91	21
	ID01625.3p-miR	2522	-121	89	24

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6
LRP5; 13,2	ID00264.5p-miR	4841	-121	88	24
	ID01547.3p-miR	4877	-123	89	24
	miR-4651	4897	-110	93	20
MCM4; 3,3	ID00622.3p-miR	208	-119	92	23
	ID00491.5p-miR	224	-121	90	21
	ID00696.5p-miR	2225	-117	89	23
MLH1; 9,2	miR-6813-5p	1859	-113	88	23
MLL2; 8,6	ID02169.3p-miR	2690	-119	89	23
	ID01491.3p-miR	3300	-125	91	23
	ID00230.5p-miR	5214	-115	89	22
	ID01753.3p-miR	5258	-104	91	21
	miR-4446-3p	5831	-110	90	22
	ID02409.3p-miR	5878	-102	91	21
	ID02328.5p-miR	5945	-119	89	23
	ID02562.3p-miR	5967	-115	90	22
	miR-6765-3p	6653	-113	91	21
	ID02664.5p-miR	7226	-104	92	20
	ID01013.3p-miR	7483	-123	88	24
	miR-1296-5p	9261	-110	90	22
	ID01192.5p-miR	9357	-108	88	23
	miR-1322 (4)	9820 – 9835	-87 ÷ -89	85 ÷ 87	19
	miR-1976	10077	-106	94	20
	miR-1322 (4)	10800 – 10810	-89	87	19
	miR-1322 (5)	11203 – 11221	-87 ÷ -89	85 ÷ 87	19
	ID03483.3p-miR	11514	-115	90	22
	miR-1322 (3)	11566 – 11578	-87 ÷ -89	85 ÷ 87	19
	miR-1322 (2)	11737, 11740	-89	87	19
	miR-4675	12225	-110	90	22
	ID01562.3p-miR	12237	-117	90	22
	ID02288.5p-miR	12756	-115	89	23
	miR-298	13065	-117	89	24
	ID02045.3p-miR	13623	-123	89	23
	miR-6812-5p	13872	-121	86	25
	miR-1260b	14398	-98	94	19
MTA1; 18,1	D01524.3p-miR	406	-113	91	22
	ID03238.3p-miR	421	-117	90	23
	miR-6716-3p	437	-106	89	22
	ID01593.5p-miR	1003	-119	89	23
	ID01702.3p-miR	2271	-134	89	24
	ID01652.3p-miR	2277	-123	88	23
P4HB; 155,5	miR-3677-5p	360	-117	93	22
PBX1; 6,4	ID01138.3p-miR	815	-117	92	21
	ID01310.3p-miR	842, 845	-119	90	22
	ID01415.5p-miR	850	-106	91	21
PHGDH; 5,5	miR-2116-3p	671	-108	93	21
	miR-6816-5p	1606	-117	93	21
PIK3CB; 5,1	miR-4684-5p	754	-106	94	22

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6
PLD1; 1,9	ID01759.3p-miR	979	-110	90	22
POLE; 3,6	ID01291.3p-miR	1483	-125	87	24
	ID02748.3p-miR	6281	-119	89	23
	miR-3192-3p	6315	-108	93	21
PRKCA; 3,1	ID01588.3p-miR	1789	-115	89	23
PRKDC; 8,1	miR-6809-5p	2246	-104	91	22
	ID02412.3p-miR	2485	-100	94	21
	ID01963.5p-miR	4299	-104	92	22
	miR-5187-3p	6389	-100	92	21
	miR-6792-3	10220	-110	90	22
PSCA; 2,6	ID01047.3p-miR	342	-119	89	22
PTPRN; 0	ID03384.3p-miR	310	-115	89	23
	miR-6825-5p	806	-110	91	22
	miR-920	807	-104	94	20
	miR-3934-3p	1218	-110	91	22
	ID03231.5p-miR	2238	-129	91	24
	ID00645.5p-miR	2240	-108	91	20
PTPRZ1; 0,9	miR-6514-3p	6199	-108	94	21
RAF1; 38,5	miR-6808-5p	1207	-115	92	22
	ID03405.3p-miR	1208	-106	91	21
	miR-6860	1338	-110	90	22
RALBP1; 11,4	miR-6791-3p	1386	-108	91	21
	ID01004.3p-miR	1999	-110	90	22
RXRB; 24,5	ID00803.5p-miR	326	-108	91	20
	ID01310.3p-miR (3)	353 – 359	-115 ÷ -121	87 ÷ 92	22
	ID03332.3p-miR	361	-129	87	24
	ID02761.3p-miR	361	-129	87	24
	ID02692.3p-miR	363	-129	92	23
	ID03387.3p-miR	365	-123	87	24
	ID02922.3p-miR	1185	-115	90	23
	ID00501.5p-miR	1693	-117	92	23
SHOX2; 0,1	ID01282.3p-miR (3)	304 - 337	-113 ÷ -119	85 ÷ 90	23
	ID03332.3p-miR	310, 332	-129 ÷ -132	87 ÷ 89	24
	ID03445.3p-miR (5)	311 – 345	-119 ÷ -123	87 ÷ 91	23
	ID03387.3p-miR	314	-123	87	24
	ID01859.5p-miR (6)	314 – 347	-110 ÷ -115	85 ÷ 90	22
	ID01310.3p-miR (4)	315 – 336	-113 ÷ -115	85 ÷ 87	22
	ID00811.3p-miR (5)	318 – 348	-121	85	24
	ID03345.5p-miR	323, 344	-123 ÷ -127	87 ÷ 90	24
	ID02436.3p-miR	460	-121	90	22
	miR-6746-5p	514	-117	92	22
SIAH2; 10	ID03129.3p-miR	383	-115	93	20
	ID01106.5p-miR	398	-129	87	24
	miR-1181	466	-115	90	21
	ID01972.5p-miR	467	-110	93	20
	ID02251.5p-miR	471	-125	92	22
	ID02611.3p-miR	473	-129	94	22

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6
TAGLN; 220	ID02593.5p-miR	1088	-119	92	23
TARBP1; 6	ID00098.5p-miR	225	-127	90	23
	ID02908.3p-miR	393	-125	92	22
	ID03163.3p-miR	521	-127	88	24
	ID01989.5p-miR	649	-121	88	23
	ID03387.3p-miR	861	-125	88	24
TFDP1; 12,1	miR-6842-3p	937	-110	90	22
	ID00195.3p-miR	1389	-117	89	23
TRIM22; 37,8	ID01052.3p-miR	468	-106	93	21
USP4; 13,8	ID02666.5p-miR	996	-98	92	21
ZEB2; 12	miR-4493	1375	-100	90	21
	ID02585.5p-miR	3768	-127	88	24
	ID00357.3p-miR	3884	-113	91	23

По одному СС было выявлено в CDS mRNA следующих генов и miRNA: *ACLY* и ID00494.5p-miR; *ALDH3B2* и ID01862.5p-miR; *ASNS* и miR-4279; *BAK1* и miR-324-3p; *CASP9* и miR- и 4747-3p; *CAV2* и ID01062.3p-miR; *CD163* и miR-4742-3p; *CDK6* и miR-1238-3p; *DLC1* и miR-34c-3p; *EHD1* и ID02783.5p-miR; *EIF4A2* и miR-5195-3p; *EN1* и ID00857.5p-miR; *GJA1* и ID02369.5p-miR; *IGF1R* и miR-1273a; *LIMK* и ID01216.3p-miR; *MLH1* и miR-6813-5p; *P4HB* и miR-3677-5p; *PIK3CB* и miR-4684-5p; *PLD1* и ID01759.3p-miR; *PRKCA* и ID01588.3p-miR; *PSCA* и ID01047.3p-miR; *PTPRZ1* и miR-6514-3p; *TAGLN* и ID02593.5p-miR; *TRIM22* и ID01052.3p-miR; *USP4* и ID02666.5p-miR. ΔG/ΔGm 16 из 25 выявленных одиночных СС равна 90% и выше (таблица 15).

В 3'UTR mRNA генов выявлено по одному СС miRNA: *B3GNT3* и miR-5585-3p; *CEACAM5* и ID03006.5p-miR; *DAP* и miR-6762-5p; *DDR1* и miR-4669; *GLDC* и ID01940.3p-miR; *GPC3* и miR-655-3p; *LIMK* и ID00846.3p-miR; *MAP2K1* и ID02497.3p-miR; *PTPRN* и ID00202.5p-miR; *RALBP1* и ID02243.5p-miR; *RXRB* и miR-6751-3p; *SQSTM1* и miR-4746-5p; *TRIM31* и miR-6734-3p; *USP4* и miR-6724-5p (Приложение В, Таблица В.2).

Кластеры найдены в 3'UTR mRNA генов *AKT2, ATF2, CCND, CCR2, CDK6, COL1A1, CSNK2A1, DHFR, EHD1, MAPK, MCM4, MLL2, NET1, PBX1, PPIA PRKCA, PTEN, SLC2A1, VSNL1* и *ZEB2*. В 3'UTR mRNA гена *AKT2* обнаружены 11 СС десяти miRNA (два СС miR-619-5p) [135]. В mRNA *AKT2* располагаются кластеры СС двух miRNA: ID03196.3p-miR и ID01035.3p-miR образуют кластер с 2285 по 2316 нт; miR-6124 и miR-3198 связываются с 2741 по 2771 нт. mRNA *ATF2* содержит кластер из полисайтов трех miRNA с 2961 по 3004 нт и степенью компактизации 6,9. В mRNA гена *CCND1* обнаружены 14 СС восьми miRNA. СС трех miRNA образуют кластер СС с 2590 по 2624 нт; степень компактизации 5,9. Кластер СС ID01543.3p-miR и ID00529.5p-miR в mRNA *CCND1* находится с 2963 по 2993 нт. Два кластера СС трех miRNA обнаружены в 3'UTR mRNA *CDK6*. Первый кластер с 1677 по 1700 нт состоит из пяти одиночных СС семейства miR-548 и СС ID03264.3p-miR. Второй кластер с 1894

по 1951 нт с высокой степенью компактизации, равной 22,7, состоит из СС ID02513.5p-miR и полисайтов пяти miRNA: ID00436.3p-miR (14 СС), miR-466 (16 СС), ID01030.3p-miR (11 СС), ID01727.5p-miR (8 СС), ID02882.3p-miR (7 СС). Нуклеотидные последовательности СС семейства miR-1273 в mRNA *DHFR*, образуют кластер с 1986 по 2021 нт. Кластер из трех СС miRNA и степенью компактизации 2,4 был обнаружен в mRNA *EHD1* с 2209 по 2237 нт. Кластеры СС семейства miR-1273 (miR-1273g-5p, miR-1273f, miR-1273d, miR-1273h-5p, miR-1273e) были обнаружены в mRNA *PPIA* с 1541 по 1576 нт и в mRNA *PRKCA* с 6807 до 6844 нт. В 3'UTR mRNA *PRKCA* были обнаружены два кластера СС с 6764 по 6798 и с 6867 по 6895 нт. Все СС miRNA в mRNA *PRKCA* являются одиночными, самое высокое значение ΔG среди этих СС при взаимодействии с ID03224.5p-miR (-119 кДж/моль). Девять СС четырех miRNA обнаружены в 3'UTR mRNA *PTEN*. Полисайты трех miRNA (miR-574-5p, ID00470.5p-miR и ID02299.5p-miR) в mRNA *VSNL1* образуют кластер с 1019 по 1070 нт и степенью компактизации 18,0. Кластеры из СС двух miRNA, найдены в mRNA следующих генов: *CCR2* (ID03207.3p-miR и ID01768.3p-miR); *CDH5* (miR-6769a-5p и miR-6127); *COL1A1* (miR-328-5p и ID02647.3p-miR); *MAPK8* (miR-3162-3p и ID01545.3p-miR); *MLL2* (ID01254.5p-miR и ID02690.5p-miR); *NET1* (miR-466 и ID01030.3p-miR); *PBX1* (ID01282.3p-miR и ID00513.3p-miR); *SLC2A1* (ID01718.3p-miR и miR-6845-3p); *USP14* (miR-5095 и miR-619-5p); *ZEB2* (miR-466 и ID02513-5p-miR).

Наибольшее число одиночных СС выявлено в CDS mRNA генов, участвующих в развитии НМРЛ. Большинство СС miRNA в 5'UTR и CDS mRNA изучаемых генов взаимодействуют с ΔG равной -125 кДж/моль и выше.

СС miRNA в 3'UTR mRNA с ΔG равной -125 кДж/моль и выше выявлены в ассоциациях: *ARVCF* и ID01123.3p-miR; *CCND1* и ID00108.3p-miR; *CDK6* и ID03163.3p-miR; *COL1A1* и miR-328-5p; *MLL2* и ID02690.5p-miR; *MTA1* и ID00791.5p-miR; *MTA1* и ID01774.5p-miR; *PBX1* и ID00513.3p-miR; *PPIA* и miR-1273d; *PTPRN* и ID00202.5p-miR; *SHOX2* и ID02935.3p-miR; *USP4* и miR-6724-5p (Приложение В, Таблица В.2).

Были выявлены ассоциации miRNA, которые связываются с CDS mRNA сразу нескольких генов. Так, СС ассоциаций miR-3960, ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID01041.5p-miR, ID03367.5p-miR, ID00522.5p-miR, ID01804.3p-miR, ID02187.5p-miR, ID03151.3p-miR выявлены в mRNA генов *E2F3* и *GPC3*. СС пары ID01641.3p-miR, ID00296.3p-miR также обнаружены в mRNA гена *BRD4*. Пара ID03332.3p-miR и ID01310.3p-miR имеет СС в mRNA генов *E2F3*, *RXRB* и *SHOX2*. В mRNA *EGR1*, *SHOX2* найдены СС для ID03445.3p-miR, ID01859.5p-miR, ID03387.3p-miR. ID01106.5p-miR, ID02611.3p-miR связываются с CDS mRNA генов *E2F3* и *SIAH2*.

С 5'UTR miRNA генов, участвующих в развитии НМРЛ, связываются ассоциации miRNA: ID00061.3p-miR, ID01804.3p-miR, ID03367.5p-miR, ID00457.3p-miR, ID02294.5p-miR имеют СС в mRNA генов *ABCC1* и *AKT2*. СС ассоциации ID01702.3p-miR, miR-3960, ID00457.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID01895.5p-miR обнаружены в mRNA генов *ABCC1* и *USP14*. ID02235.5p-miR и

ID00278.3p-miR имеют СС в mRNA генов *IGF1R* и *PDPK1*. В mRNA *IGF1R* и *MTA1* найдены СС для ID01810.3p-miR, ID01310.3p-miR, ID03332.3p-miR. ID02229.3p-miR, ID00457.3p-miR, ID01804.3p-miR связываются с 5'UTR mRNA генов *ABCC1* и *EGR1*.

Были идентифицированы ассоциации miRNA, которые связываются с 3'UTR mRNA нескольких генов. СС ассоциации miR-574-5p, ID00470.5p-miR и ID02299.5p-miR были идентифицированы в mRNA генов *CCND1* и *VSNL1*. СС ассоциации miR-466, ID00436.3p-miR, ID01030.3p-miR обнаружены в mRNA генов *ATF2*, *CDK6* и *PTEN*. Пара miR-466 и ID01030.3p-miR связывается с 3'UTR mRNA гена *NET1*. СС miR-5095 и miR-619-5p обнаружены в mRNA *MCM4* и *USP14*. СС miR-619-5p выявлены в mRNA генов *USP14*, *AKT2*, *COPA*, *DHFR*, *MCM4*.

На основании проведенного анализа, в качестве биомаркеров для диагностики НМРЛ предлагается использовать ассоциации как одной miRNA с одним геном-мишенью и высоким значением энергии взаимодействия равной -125 кДж/моль и выше, так и ассоциации miRNA с кластерной организацией СС.

СС с высоким ΔG/ΔGm и ΔG выше -125 кДж/моль в 5'UTR mRNA генов, ассоциированных с НМРЛ: *ABCC1* и miR-762, ID00296.3p-miR, ID01641.3p-miR, ID02294.5p-miR, ID01702.3p-miR, ID03064.3p-miR, ID00061.3p-miR, ID01804.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID01652.3p-miR; *ADAM10* и ID02761.3p-miR; *ADAM2* и ID00663.5p-miR; *AKT* и ID01911.5p-miR, ID03367.5p-miR, ID00457.3p-miR, ID02294.5p-miR, ID00061.3p-miR; *BSG* и ID03418.3p-miR; *CASP9* и ID01345.3p-miR; *CAV2* и ID00173.3p-miR; *CHD4* и ID00981.3p-miR; *CSNK2A1* и ID00457.3p-miR; *DHFR* и ID02294.5p-miR; *E2F3* и ID02950.3p-miR; *EGR1* и ID01041.5p-miR, ID01804.3p-miR, ID02187.5p-miR, miR-4763-3p, ID00966.5p-miR; *GLDC* и ID01150.3p-miR; *IGF1R* и ID00278.3p-miR, ID02800.3p-miR, ID00513.3p-miR, ID01560.3p-miR, ID01440.3p-miR, ID03332.3p-miR, ID01774.5p-miR; *LHX2* и ID01702.3p-miR, ID03394.3p-miR, ID03362.5p-miR, ID01778.3p-miR, ID00329.3p-miR; *LIMK1* и ID02600.3p-miR, ID01206.3p-miR. ID01311.3p-miR, ID01103.3p-miR, ID00978.5p-miR и ID00081.3p-miR; *MAP2K1* и miR-6089; *MET* и ID00602.3p-miR; *MTA1* и ID03332.3p-miR, ID01003.3p-miR, ID01458.5p-miR, ID00020.5p-miR, ID02260.5p-miR; *PDPK1* и ID00798.3p-miR, ID00420.3p-miR, ID02235.5p-miR; *POLE* и ID02911.5p-miR; *PRKDC* и ID02477.3p-miR; *PTEN* и ID02611.3p-miR, ID02761.3p-miR; *SIAH2* и ID00202.5p-miR, D02899.3p-miR; *TFDP1* и miR-4763-3p, ID03001.3p-miR; *TYMS* и ID02106.3p-miR; *USP14* и ID02950.3p-miR, ID01895.5p-miR, ID00457.3p-miR, ID02064.5p-miR; *USP4* и ID01883.5p-miR.

С 5'UTR miRNA генов, участвующих в развитии НМРЛ, связываются ассоциации miRNA: ID00061.3p-miR, ID01804.3p-miR, ID03367.5p-miR, ID00457.3p-miR, ID02294.5p-miR имеют СС в mRNA генов *ABCC1* и *AKT2*. СС ассоциации ID01702.3p-miR, miR-3960, ID00457.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID01895.5p-miR обнаружены в mRNA генов *ABCC1* и *USP14*. ID02235.5p-miR и ID00278.3p-miR имеют СС в mRNA генов *IGF1R* и *PDPK1*. В mRNA *IGF1R* и *MTA1* найдены СС для ID01810.3p-miR, ID01310.3p-miR, ID03332.3p-miR.

ID02229.3p-miR, ID00457.3p-miR, ID01804.3p-miR связываются с 5'UTR mRNA генов *ABCC1* и *EGR1*.

СС с высоким ΔG/ΔGm и ΔG выше -125 кДж/моль CDS mRNA генов, ассоциированных с НМРЛ: *ADAM23* и ID03064.3p-miR, ID02769.5p-miR; *ARVCF* и ID02381.3p-miR; *B3GNT3* и ID01774.5p-miR, miR-4763-3p; *BRD4* и ID01641.3p-miR; *CDH5* и ID01428.3p-miR; *E2F3* и ID02294.5p-miR, ID01895.5p-miR, ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID00061.3p-miR, ID02294.5p-miR, ID01879.5p-miR, ID02064.5p-miR, ID01106.5p-miR, ID02084.3p-miR, ID02538.3p-miR, ID01574.5p-miR, ID03332.3p-miR, ID01310.3p-miR; *EGR1* и ID03387.3p-miR, ID03445.3p-miR, ID01859.5p-miR; *GPC3* и ID01323.3p-miR, ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID01641.3p-miR; *MTA1* и ID01702.3p-miR; *PTPRN* и ID03231.5p-miR; *RXRB* и ID02692.3p-miR; *SHOX2* и ID03332.3p-miR, ID03445.3p-miR, ID01859.5p-miR, *SIAH2* и ID02611.3p-miR; *TARBP1* и ID00098.5p-miR, ID02908.3p-miR, ID03163.3p-miR, ID03387.3p-miR; *ZEB2* и ID02585.5p-miR. Выявлены ассоциации miRNA, которые связываются с CDS mRNA нескольких генов. Так, СС ассоциаций miR-3960, ID01702.3p-miR, ID00296.3p-miR, ID03367.5p-miR, ID01041.5p-miR, ID01804.3p-miR, ID00522.5p-miR, ID03151.3p-miR, ID02187.5p-miR выявлены в mRNA генов *E2F3* и *GPC3*. Сайты связывания ID00296.3p-miR и ID01641.3p-miR также обнаружены в mRNA гена *BRD4*. Пара ID01310.3p-miR и ID03332.3p-miR имеет СС в mRNA генов *E2F3*, *RXRB* и *SHOX2*. В mRNA *EGR1*, *SHOX2*. СС ID01106.5p-miR, ID01859.5p-miR, ID02611.3p-miR, ID03445.3p-miR, ID03387.3p-miR связываются с CDS mRNA генов *E2F3* и *SIAH2*.

СС miRNA с высоким ΔG/ΔGm в 3'UTR mRNA с ΔG равной -125 кДж/моль и выше выявлены в ассоциациях: *CDK6* и ID03163.3p-miR; *COL1A1* и miR-328-5p; *MLL2* и ID02690.5p-miR; *MTA1* и ID00791.5p-miR; *PPIA* и miR-1273d; *PTPRN* и ID00202.5p-miR. Установлены ассоциации miRNA, которые связываются с 3'UTR mRNA нескольких генов. СС ассоциации miR-574-5p, ID00470.5p-miR и ID02299.5p-miR были идентифицированы в mRNA генов *CCND1* и *VSNL1*. СС ассоциации miR-466, ID00436.3p-miR, ID01030.3p-miR обнаружены в mRNA генов *ATF2*, *CDK6* и *PTEN*. Пара miR-466 и ID01030.3p-miR связывается с 3'UTR mRNA гена *NET1*. СС miR-5095 и miR-619-5p обнаружены в mRNA *MCM4* и *USP14*. СС miR-619-5p выявлены в mRNA генов *USP14*, *AKT2*, *COPA*, *DHFR*, *MCM4*.

В качестве специфичных ассоциаций miRNA – mRNA генов, вовлеченных в развитие немелкоклеточного рака легкого предложены miRNA и mRNA с высокими значениями свободной энергии взаимодействия: *ADAM23* и ID03064.3p-miR, ID02769.5p-miR; *AKT2* и miR-658; *B3GNT3* и ID01774.5p-miR, miR-4763-3p; *BRD4* и ID01641.3p-miR, miR-6772-5p; *CAV2* и ID01062.3p-miR; *CCND1* и miR-877-3p, ID03238.3p-miR, ID01352.3p-miR, ID00777.3p-miR; *CDH5* и ID01428.3p-miR; *E2F3* и ID01895.5p-miR, ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID01106.5p-miR, ID02084.3p-miR; *E2F3* и ID03332.3p-miR ID01310.3p-miR, ID02611.3p-miR; *GPC3* и ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID01641.3p-miR; *MTA1* и ID01702.3p-miR; *RAF1* и miR-6808-5p; *RXRB* и

ID02692.3p-miR; также ассоциацию ID01310.3p-miR и ID03332.3p-miR с генами *RXRB, SHOX*. Среди предлагаемых ассоциаций: одиночные пары mRNA-miRNA (например, *CAV2* и ID01062.3p-miR); ассоциации mRNA и нескольких miRNA, СС которых образуют кластеры (например, *E2F3* и ID01895.5p-miR, ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID01106.5p-miR, ID02084.3p-miR); ассоциации miRNA с несколькими генами-мишениями (например, ID01310.3p-miR и *E2F3, RXRB, SHOX2*).

3.3 Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов, связанных с развитием инфаркта миокарда

Было выявлено 237 кандидатных генов инфаркта миокарда, из которых 23 показали высокую экспрессию (RPKM>30) в сердечной мышце (таблица 16).

Таблица 16 – Характеристики сайтов связывания miRNA в mRNA генов с RPKM выше 30, ассоциированных с ИМ

Ген мишень, RPKM	miRNA	Начало СС, нт	Участок в mRNA	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6	7
ADAMTS1; 36,3	ID02561.5p-miR	1935	CDS	-100	90	21
AGT; 60,3	ID02896.5p-miR	1020	CDS	-106	91	20
ALDH2; 106,1	ID02142.3p-miR	8	5'UTR	-123	92	21
	ID03270.3p-miR	153	CDS	-108	91	21
	miR-4687-3p	170	CDS	-110	91	21
APOE; 31,2	ID03261.5p-miR	768	CDS	-115	93	20
C3; 69	ID02632.5p-miR	102	CDS	-106	91	21
	ID03402.5p-miR	643	CDS	-121	95	22
	ID03398.5p-miR	766	CDS	-115	93	20
COL4A2; 36,2	ID00327.5p-miR	172	5'UTR	-121	90	21
	miR-6885-3p	1399	CDS	-104	91	21
	miR-1204	2006	CDS	-102	91	21
	miR-6851-5p	3205	CDS	-117	90	23
	ID03433.3p-miR	5872	3'UTR	-113	91	20
FN1; 104,6	miR-6892-3p	16	5'UTR	-110	93	21
	miR-6124	106	5'UTR	-100	90	20
	miR-1914-3p	229	5'UTR	-117	90	22
	miR-6756-5p	1155	CDS	-123	92	23
	miR-3926	2595	CDS	-104	92	21
GSN; 183,9	miR-4651	4	5'UTR	-108	91	20
	miR-4453	1058	CDS	-98	90	20
GSTP1; 113,7	ID00267.3p-miR	77	5'UTR	-115	93	21
LPL; 112,3	miR-6086	287	5'UTR	-102	91	20
MMP2; 46,4	miR-1285-5p	1375	CDS	-104	92	21
PPIA; 47,5	miR-1285-5p	1036	3'UTR	-104	92	21
	miR-1273d	1381	3'UTR	-125	92	25
	miR-1273e	1390	3'UTR	-106	91	22
PSMA6; 36,6	ID02529.5p-miR	954	3'UTR	-106	93	20
SERPINE1; 50,6	miR-4758-3p	276	CDS	-119	90	23

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5	6	7
SMTN; 33,4	miR-3940-5p	945	CDS	-108	93	20
	ID03108.5p-miR	1485	CDS	-110	91	20
	miR-4687-3p	1836	CDS	-110	91	21
	ID03415.5p-miR	1920	CDS	-104	92	21
	ID00564.5p-miR	2371	CDS	-113	91	22
	ID00956.5p-miR	2990	CDS	-121	90	23
	ID01293.5p-miR	3166	3'UTR	-125	92	22
SOD1; 83,9	miR-634	47	5'UTR	-108	91	22
	ID03076.5p-miR	695	CDS	-113	91	20
	ID01314.5p-miR	929	3'UTR	-115	92	20
SOD3; 43	miR-3127-5p	1234	3'UTR	-110	90	23
SORBS2; 33,1	miR-761	1477	CDS	-108	91	22
STAT3; 31,8	ID00570.3p-miR	28	5'UTR	-115	92	22
	ID00857.5p-miR	1116	CDS	-119	90	23
	miR-5095	3124	3'UTR	-106	91	21
	miR-619-5p	3130	3'UTR	-119	98	22
	miR-5585-3p	3267	3'UTR	-110	95	22
	ID01836.5p-miR	3359	3'UTR	-117	93	23
	ID02125.5p-miR	3781	5'UTR	-113	91	20
THBS1; 36,2	miR-6786-5p	87	5'UTR	-119	93	21
	ID01652.3p-miR	113	5'UTR	-129	92	23
	ID02647.3p-miR	119	5'UTR	-117	90	21
	miR-320c	336	CDS	-96	90	20
	miR-3121-5p	4305	3'UTR	-98	90	22
	miR-1183	4360	3'UTR	-132	90	27
TNNI3; 2151,5	ID01282.3p-miR	322	CDS	-119	90	23
VEGFA; 70,3	ID00678.3p-miR	627	CDS	-113	91	21
	miR-6086	3212	3'UTR	-102	91	20
XBP1; 29,4	ID02986.5p-miR	9	5'UTR	-110	91	20
	ID01804.3p-miR	110	CDS	-134	91	23
	ID00643.3p-miR	120	CDS	-117	90	21
	miR-6068	124	CDS	-110	90	21

В таблице 16 приведены характеристики взаимодействия в участках 5'UTR, CDS и 3'UTR. Определен ген *TNNI3,* который имеет самый высокий показатель RPKM (2151,5) относительно остальных кандидатных генов инфаркта миокарда. Он также, как и ген *TNNT2,* ассоциированный с атеросклерозом, синтезирует белковый продукт Тропонин I, который вовлечен в образование тропонинового комплекса [136, 137].

Большинство генов-кандидатов имеют от одного до трех сайтов связывания, и только у генов *FN1*, *COL4A2*, *STAT3, SMTN*, *THBS1* и *XBP1* отмечается наличие большего количества сайтов связывания miRNA с mRNA. У генов, вовлеченных в развитие ИМ с уровнем экспрессии в сердечной мышце выше 30 RPKM, характерно отсутствие полисайтов связывания.

В результате анализа сайтов связывания miRNA с mRNA гена *PPIA* выявлен кластер miRNA, miR-1273d и miR-1273e, расположенный в участке 3'UTR в позиции с 1381 нт по 1390 нт. Семь miRNA могут связываться с mRNA гена *STAT3* с 28 нт по 3781 нт. В этом регионе определяется один кластер. miR-5095 и miR-619-5p образуют кластер с 3124 нт по 3152 нт. miR-619-5p имеет максимальное значение ΔG/ΔGm, равное 98%, среди выявленных кандидатных генов инфаркта миокарда. Следующий кластер сайтов связывания определяется у гена *THBS1*, состоящий из ID01652.3p-miR и ID02647.3p-miR и расположенный в участке 5'UTR с 113 по 140 нт. ID01804.3p-miR, ID00643.3p-miR и miR-6068 образуют кластер сайтов связывания для гена *XBP1* в позиции с 110 нт по 145 нт, со средним значением ΔG/ΔGm от 92% до 96%.

Из выявленных 60 CC miRNA в mRNA генов, вовлеченных в развитие инфаркта миокарда, 31 CC находятся в CDS, 15 в 5'UTR и 15 в 3'UTR. Гены *ADAMTS1*, *AGT*, *APOE*, *C3*, *MMP2*, *SERPINE1*, *TNNI3*, *XBP1* содержат CC только в CDS mRNA. Наибольший показатель величины свободной энергии связывания ΔG (-134 кДж/моль) у пары ID01804.3p-miR – *XBP1* среди исследуемых генов. Таким образом, половина CC из предложенных эффективных ассоциаций miRNA и их генов-мишеней, локализованы в CDS mRNA. ΔG CC в CDS mRNA варьирует от -98 (между miR-4453 и *GSN*) до -134 кДж/моль (ID01804.3p-miR и *XBP1*).

В качестве специфичных ассоциаций miRNA – mRNA кандидатных генов инфаркта миокарда предложены miRNA и mRNA с высокими значениями свободной энергии взаимодействия: *ALDH2* и ID03270.3p-miR, miR-4687-3p; *APOE* и ID03261.5p-miR; *C3* и ID02632.5p-miR, ID03402.5p-miR, ID03398.5p-miR; *COL4A2* и miR-6851-5p; *FN1* и miR-6756-5p, miR-3926; *MMP-2* и miR-1285-5p; *SERPINE1* и miR-4758-3p; *SMTN* и miR-3940-5p, miR-4687-3p, ID00564.5p-miR, ID00956.5p-miR; *SOD1* и ID03076.5p-miR; *SORBS2* и miR-761; *STAT3* и ID00857.5p-miR; *TNNI3* и ID01282.3p-miR; *VEGFA* и ID00678.3p-miR; *XBP1* и ID01804.3p-miR, ID00643.3p-miR, miR-6068. Среди них имеются одиночные пары mRNA-miRNA (например, *APOE* и ID03261.5p-miR); ассоциации mRNA и нескольких miRNA, CC которых образуют кластеры (например, *XBP1* и ID01804.3p-miR, ID00643.3p-miR, miR-6068).

3.4 Взаимодействие miR-1322 с генами, участвующими в некоторых социально значимых заболеваниях

При исследовании CC miRNA в CDS области mRNA были установлены гены, вовлеченные в развитие сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и онкологических заболеваний, которые содержат полисайты для связывания miR-1322. Изучение полисайтов представляет особый интерес, поскольку в таком случае вероятность связывания miRNA с геном-мишенью возрастает. Обнаружено, что miR-1322 связывается с mRNA восьми генов, вовлеченных в развитие различных НДЗ [138, 139]. Области генов, содержащих в CDS mRNA сайты связывания miR-1322, кодируют полиглутамин. Значения ΔG/ΔGm при

взаимодействии miR-1322 с mRNA генов *ASCL1*, *ATN1*, *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN7*, *HTT*, *POLG*, *TBP* варьирует от 83 до 92% (таблица 17).

Таблица 17 – Характеристики полисайтов miR-1322 в mRNA генов *ASCL1*, *ATN1*, *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN7*, *HTT*, *POLG*, *TBP*

Ген	Начало связывания, нт (число CC)	ΔG/ΔGm, %	Олигопептид
ASCL1	722÷743 (8)	87.5	QQQQQQQQQQA
ATN1	1687 ÷ 1732 (15)	83 ÷ 92	QQQQQQQQQQQQQQQQH
ATXN1	1559 ÷ 1592 (12) 1604 ÷ 1631 (10)	85÷ 92 87,5 ÷ 90	QQQQQQQQQQQHQHQQ QQQQQQQQQQQQQH
ATXN2	657 ÷ 714 (16)	87,5 ÷ 90	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP
ATXN7	637 ÷ 658 (8)	85 ÷ 90	QQQQQQQQQPP
HTT	197 ÷ 248(18)	88 ÷ 90	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ
POLG	405 ÷ 428 (9)	85 ÷ 87,5	RQQQQQQQQQQQQPQ
TBP	451 ÷ 547 (29)	83 ÷ 87	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ
Примечание - В скобках указано количество сайтов связывания miR-1322			

CC miR-1322 высокогомологичны в ортологичных mRNA *ASCL1* приматов. ΔG/ΔGm при взаимодействии miR-1322 с mRNA *ASCL1* составляет 87,5%. Полиглутамин в белке ASCL1 фланкирован консервативными аминокислотами у некоторых видов млекопитающих (таблица 18).

Таблица 18 – Олигопептиды ортологичных белков ASCL1, кодируемые сайтами связывания miR-1322

Область белков ASCL1 с олигопептидами, кодируемыми CC miR-1322	Объект
FAAAAAAAAA....QSV**QQQQQQQQ**L**QQQQQ**L**QQQQQQQ**PPSPAGGQPS	*Ona*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**APQLSPAADGQPS	*Fca*
AACFFVSAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.**A**PQLSPPADGQPS	*Nga*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Hsa*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Pab*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRQAADGQPS	*Nle*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Csa*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLSPAADGQPS	*Pal*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Mml*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Ggo*
TAAAAAAXAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Mfa*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Rro*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQ**.....**A**PQLRPVADGQPS	*Cja*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Ptr*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQ**.....**A**PQLRPAADGQPS	*Ppa*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQQ**.....**A**PQLSPAADGQPS	*Ocu*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQQ**.....**A**P↓LSPVADGQPS	*Rno*
TAAAAAAAAAAAAAQSA**QQQQQQ**.....**A**PQLSPAADGQPS	*Eca*
TAAAAAAAAAAAA-QSA**QQQQ**P**Q**.....**A**P•LSPVADSQPS	*Mmu*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые полисайтами miR-1322, ↓ QQQAPQ, •PQQQAPQ	

У большинства ортологов гена *ASCL1* в mRNA наблюдается уменьшение количества сайтов связывания miR-1322. Так, семь сайтов связывания miR-1322 выявлено у *P. abelii, N. leucogenys, C. sabaeus, P. alecto*, шесть CC у *M. mulatta, G. gorilla, M. fascicularis, R. roxellana* и четыре сайта связывания у *C. jacchus, P. troglodytes, O. cuniculus*. Однако ортологи *F. catus, N. galili* и *O. anatinus* имеют 15, 14 и 13 сайтов связывания miRNA, соответственно. Полисайты связывания miR-1322 в CDS ортологов mRNA гена *ASCL1* расположены между консервативными нуклеотидными последовательностями гена *ASCL1*. Различие в количестве сайтов связывания miR-1322 в mRNA гена *ASCL1* у ортологов необходимо учитывать при изучении возможности регуляции гена *ASCL1* с помощью miR-1322 при болезни Паркинсона у млекопитающих.

В норме в гене *ATN1* число повторов CAG не превышает 35, тогда как мутантный ген *ATN1* содержит от 48 до 93 CAG-повторов [140]. Функция белка Atrophin-1, кодируемого геном *ATN1*, еще хорошо не изучена. Ген *ATN1* содержит CAG-повторы, которые кодируют полиглутамин в белке. У здорового человека число повторов CAG варьирует от 6 до 35. Наличие большего количества тринуклеотидных повторов CAG является причиной редкого нейродегенеративного расстройства – Дентато-рубро-паллидо-льюисовой атрофии (DRPLA). DRPLA характеризуется церебральной атаксией, миоклонической эпилепсией, хореоатетозом и деменцией. Ингибирование экспрессии мутантного белка ATN1 рассматривается как перспективная стратегия лечения DRPLA. 15 сайтов для связывания miR-1322 обнаружено в CDS mRNA гена *ATN1* в положении с 1687 по 1751 нт. Область *ATN1*, содержащая CC miR-1322 в CDS mRNA фланкирована консервативными олигопептидами в ряде ортологов (таблица 19).

Таблица 19 – Олигопептиды ортологичных белков ATN1, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка ATN1 с олигопептидом, кодируемым CC miR-1322	Объект
STGHPPAPT.HHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**GSSGPPPPGA	*Uma*
STAHPPAPTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPPPPGA	*Eca*
STGHPPAPTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPPPPGA	*Fca*
STAHPPVSTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GNSGPPPPGA	*Hsa*
STGHPPAPTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQH**.....GSSGPPPPGA	*Ame*
STAHPPAPAHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPPPPGA	*Cfe, Pal*
STAHPPVSTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GNSGPPPPGA	*Ptr*
STAHPSAPTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPPAPGA	*Laf*
STAHPPVSTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GNSGPPPPGA	*Ppa*
SAAHPPASTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPPPPGA	*Pab*
STAHPPAPAHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPPPPGA	*Ssc*
STAHPPAPAHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHHH**.....GSSGPPPPGA	*Ocu*
STAHPPASTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPP.PGA	*Csa,Rro*
STAHPPASTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GSSGPPP.GA	*Mml, Mfa*
STAHPPASTHHHHH**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH**.....GNSAPPPPGA	*Sbo*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые полисайтами miR-1322	

Значение ΔG/ΔGm при взаимодействии miR-1322 с сайтами связывания mRNA гена *ATN1* находится в диапазоне от 83 до 92%. У большинства ортологов в mRNA гена *ATN1* наблюдается уменьшение количества сайтов связывания miR-1322. Однако увеличение количества сайтов связывания обнаружено у *U. maritimus*, *E. caballus* и *F. catus* и составляет 28, 23 и 17 соответственно.

В N-концевой области белка HTT находится полиглутаминовый тракт. У людей *HTT* содержит разное количество CAG-повторов (9-35). Синдром Хантингтона развивается, при увеличении числа тринуклеотидных повторов до 36-40 и более. HTT экспрессируется во всех клетках млекопитающих (самая высокая концентрация в мозге и яичках). HTT взаимодействует с белками, участвующими в эндоцитозе, апоптозе, морфогенезе и транскрипции и может регулировать эти процессы [141]. Область mRNA гена *HTT* с повторами CAG (с 197 по 248 нт) содержит 18 CC miR-1322 с соотношением ΔG/ΔGm от 85 до 90%. CC miR-1322 обнаружены в mRNA ортологичных генов *HTT* 15 видов млекопитающих (таблица 20).

Таблица 20 – Олигопептиды ортологичных белков HTT, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка HTT с олигопептидом, кодируемым CC miR-1322	Объект
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**PPPPPPPPPP	*Hsa*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....LPPPPPQPPQ	*Ssc*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQQQQQQQ**.....PPPPPQPPQP	*Bta*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQQQQQ**.....SPPPPSPPPC	*Cgr*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQQQ**.....PPPPQPPQLP	*Laf*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQQ**.....PPPPPPPLPP	*Ptr, Ppa*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQ**.....PPPPPPPPPP	*Csa*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQ**.....PPPPPPPPPP	*Mml*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQ**.....PPPPPPPPPX	*Nle*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQ**.....PPPPPPPQPP	*Cfa*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQQQ**.....PPPPPPQPPQ	*Oar*
MKAFESLKSF**QQQQQQQQ**.....PPPQAPPPPP	*Rno*
MKAFESLKSF**QQQQQQQ**.....PPPQAPPPPP	*Mmu*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR-1322	

mRNA гена *HTT* человека содержит наибольшее количество сайтов связывания miR-1322. В mRNA ряда ортологов *HTT* наблюдается уменьшение числа сайтов связывания miR-1322. Так, в mRNA *S. scrofa* – 13 сайтов связывания miR-1322, *B. taurus* – 10 сайтов связывания, *C. griseus* – 8 сайтов связывания, *P. troglodytes* и *P. paniscus* – 6 сайтов связывания, *Ch. sabaeus*, *M. mulatta*, *N. leucogenys*, *C. familiaris* и *O. aries* – 5 сайтов связывания. Декапептид, фланкирующий полиглутамин с N-конца белка HTT, высоко консервативен. Аминокислотная последовательность полипролина, фланкирующая сайты связывания с С-конца HTT, является вариабельной в ортологичных белках. При изучении регуляции экспрессии гена *HTT* молекулой miR-1322 у млекопитающих следует учитывать разницу в

количестве полисайтов, связывающих miR-1322, в mRNA ортологичных генов *HTT*.

TBP – эволюционно консервативный TATA-связывающий белок. TBP-ассоциированные факторы или TAF являются частью фактора транскрипции TFIID. Следовательно, TBP необходим для транскрипции РНК-полимеразы II. *TBP* содержит последовательность из 25-42 остатков глутамина. Увеличение количества повторов глутамина до 45-66 связано с развитием нейродегенеративного заболевания – спиноцеребеллярной атаксии 17. В CDS mRNA гена *TBP* обнаружено 29 сайтов связывания miR-1322 в области с 451 по 547 нт, которые кодируют полиглутамин (таблица 21). Величина ΔG/ΔGm miR-1322 и mRNA гена *TBP* равна 83 – 87%. Декапептиды, фланкирующие полиглутамин в белке TBP с N-концевой стороны, высоко консервативны. В mRNA ортологов *TBP* наблюдается уменьшение количества сайтов связывания miR-1322. Так, 26 сайтов связывания miR-1322 идентифицированы в mRNA *P. troglodytes* и 23 – в mRNA *Rh. roxellana*.

Таблица 21 - Олигопептиды ортологичных белков TBP, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка TBP с олигопептидом, кодируемым CC miR-1322	Объект
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**AVAAAAVQQS	*Hsa*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**...AVAAAAVQQS	*Ptr*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAATAVQQS	*Rro*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAAAAVQQS	*Ppa*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAAAAVQQS	*Ggo*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AAAAVQQS	*Eca*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AAVAAA.QQS	*Lve*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAAAAVQQS	*Nle, Cja*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AAVAA.VQQS	*Chi*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAAAAVQQS	*Pab*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAAAAVQQS	*Mml,Mfa*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAA*AVQQS	*Ocu*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAT*SVQQS	*Rno*
SLSILEEQQR**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....AVAT*SVQQS	*Mmu*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые полисайтами miR-1322, *-AAA	

Экспансия CAG-триплетных повторов, кодирующих полиглутамин в *ATXN1* вызывает летальное нейродегенеративное расстройство – спиноцеребеллярную атаксию 1 типа [142]. Установление функций *ATXN1* необходимо для понимания механизмов патогенеза спиноцеребеллярной атаксии 1 типа. В норме *ATXN1* кодирует 19–36 CAG-повторов, их увеличение до 39–82 приводит к патологии. Две последовательности полисайтов miR-1322 были предсказаны в CDS mRNA *ATXN1*: 12 CC miR-1322 в положении с 1559 по 1611 нт и 10 CC с 1604 по 1650 нт, соответственно [143]. Область mRNA *ATXN1*, связывающая miR-1322, фланкирована консервативными олигопептидами в ряде ортологов (таблица 22). Значение ΔG/ΔGm при

взаимодействии miR-1322 в mRNA *ATXN1* варьирует в диапазоне от 85 до 92%. В ряду ортологов *ATXN1* выявлено уменьшение количества CC miR-1322.

Таблица 22 – Олигопептиды ортологичных белков ATXN1, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка ATXN1 с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQHQHQQQQQQQQQQQQQQH**LSRAPGLITP	*Hsa*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQHQHQQQQQQQQQQQQH**...LSRAPGLITP	*Ppa*
LSQTPGHKAE**QQQQQHQQQQQQQHQQQQQQQQQQH**.....LLSRAPGLITP	*Pab*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQHQHQQQQQQQQQQH**......LSRAPGLITP	*Ptr*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQQQQHH**.............LSRAPGLITP	*Mfa*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQQQQHH**.............LSRAPGLITP	*Mml*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQQQQH**..............LSRAPGLITP	*Nle*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQQH**HH..............LSRAPGLITP	*Rro*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQQ**H..............LSRAPGLITP	*Ggo*
LSQTPGHKAE**QQQQQQQQQQQQQHH**..............LSRAPGLITP	*Csa*
Примечание: жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR-1322	

В CDS mRNA гена *ATXN2* обнаружено 16 полисайтов связывания miR-1322 с 657 до 733 нт со значением ΔG/ΔGm, равным 87,5-90%. Область mRNA *ATXN2*, которая содержит CC miR-1322 в CDS, кодирует polyGlu. Для группы ортологов polygGlu фланкирован консервативными декапептидами (таблица 23).

Таблица 23 - Олигопептиды ортологичных белков ATXN2, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка ATXN2 с олигопептидом, кодируемым CC miR-1322	Объект
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**PAAANVRKPG	*Ptr*
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**...PAAANVRKPG	*Hsa*
.....MSLKP**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**......PPAAANVRKPG	*Nle*
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**........PPAAANVRKPG	*Csa*
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**..........AAANVRKPG	*Mml,Mfa*
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPQPP**..........AAANVRKPG	*Cja*
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQPQPQP**..............AAANARKPG	*Bta*
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQQQPQP**..............AAANARKPG	*Chi*
.....MSLKP**QQQQQQQQQQPP**..............AAANARKPG	*Fca*
YGPLTMSLKP**QQQQQQQQQQQPP**..............AAANARKPG	*Aju*
Примечание: жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR-1322	

Белок, кодируемый геном *ATXN2*, содержит полиглутаминовый тракт, экспансия которого (более 33 повторов) приводит к развитию спиноцеребеллярной атаксии 2 типа. При увеличении числа CAG повторов до 27-33 возрастает вероятность развития бокового амиотрофического склероза [144]. У большинства видов ортологов в mRNA генов *ATXN2* отмечено уменьшение количества CC miR-1322, за исключением mRNA *P. troglodytes*, имеющей 19 CC miR-1322. С N-конца ATXN2 у *F. catus, N. leucogenys* перед последовательностью полиглутамина имеются только пять аминокислот.

ATXN7 является транскрипционным фактором, который принимает участие в ремоделировании хроматина на уровне ацетилирования и деубиквитинирования гистонов [145]. Было установлено, что аллель, связанный со спиноцеребеллярной атаксией 7 типа (SCA7), содержит 37-306 CAG по сравнению с 4-35 в нормальном аллеле [146]. mRNA *ATXN7* содержит восемь полисайтов связывания miR-1322 с отношением ΔG/ΔGm от 85 до 90%. СС miR-1322 обнаружены в mRNA ортологов *ATXN7* у 12 видов млекопитающих (таблица 24). В mRNA гена *ATXN7* человека обнаружено наибольшее число СС miR-1322. В mRNA *ATXN7* в ряду ортологов выявлено уменьшение количества СС miR-1322. Так, семь СС miR-1322 содержится в mRNA *O. cuniculus*, шесть сайтов связывания miR-1322 – в mRNA *P. abelii* и *Ch. sabaeus*, пять СС miR-1322 предсказаны в mRNA *M. musculus*, вариабельная по длине аминокислотная последовательность полиаланина фланкирует полиглутамин с N-конца белка ATXN7. Аминокислотная последовательность, фланкирующая сайты связывания miR-1322 с С-конца ATXN7, также является вариабельной в ортологичных белках.

Таблица 24 - Олигопептиды ортологичных белков ATXN7, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка ATXN7 с олигопептидом, кодируемым СС miR-1322	Объект
RAAAA.GGAAAAAA**RQQQQQQQQQQPP**PPQPQRQQHPPPPPRR	*Hsa*
RAAAAAGGAAAA..**RQPQQQQQQQPP**...QPQRQQ...PPPRR	*Ocu*
RAAAAAGGAAAAAA**RQQQQQQQQPP**...SQPQRQPPPPPPPPP	*Cfa*
RAAAAAGGAAAAAAR**RQQQQQQQP**....SQPQRQHSPPPPPRR	*Cja*
RAAAAAGGAAAAAA**RQQQQQQQPP**.....QPQRQQQPPPPPRR	*Pab*
RAAAAGGAAAAAA.**RQQQQQQQPP**.....QPQRQQQPPPPPPR	*Csa*
RRAA..GGAAAA..**RQQQQQPQP**.....LQPQRQHPPL...RR	*Mmu*
RAAAAAGGAAAAAG**RQQQQQPP**.......QSQRQQQPPPPPRR	*Nle*
RAAAAGGAAAAAAR**RQQQQQPP**.......QPQRQQQPPPPPPR	*Mml*
RAAAAAGGAAAAAA**RQQQQQPP**.......QPQRQ..PPPP.RR	*Chi*
RAAAAGGAAAAAA.**RQQQQQPP**.......QPPQPQRQPPP.RR	*Ssc*
RRAA..GGAAAA..**RQQQQP**QP......LQLQRQ..HPPP.RR	*Rno*
Примечание - жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые СС miR-1322	

Белок, кодируемый *POLG* – каталитическая субъединица митохондриальной ДНК-полимеразы. POLG содержит полиглутаминовый тракт. Мутации в *POLG* обнаружены при паркинсонизме, эпилепсии, мозжечковой атаксии, невропатии [147]. Девять СС miR-1322 были обнаружены в mRNA *POLG* (таблица 17). Эта область кодирует последовательность полиглутамина в белке. СС miR-1322 расположены в mRNA гена *POLG* с 205 до 227 нуклеотид, соотношение ΔG/ΔGm равно 85 - 87,5%. У ортологов в нуклеотидных последовательностях mRNA гена *POLG* наблюдается уменьшение количества полисайтов связывания miR-1322 (таблица 25). Полисайты связывания miR-1322 выявлены в нуклеотидных последовательностях mRNA генов *POLG* у *G. gorilla*, *P. troglodytes*, *N. leucogenys*, *P. paniscus*, *P. abelii*, *R. bieti* и *R. roxellana*.

Таблица 25 – Олигопептиды ортологичных белков POLG, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка POLG с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
SSSVPASDPSDGQRR**RQQQQQQQQQQQQQPQ**QPQVLSSEGGQL	*Hsa*
SSSVPASDPSDGQRRR**RQQQQQQQQQ**P**QQPQ**QPQVLSSEGGQL	*Ggo*
SSSVPASDPSDGQRRR**RQQQQQQQ**P**QQPQ..**QPQVLSSEGGQP	*Ptr*
SSSVPASDPSDG..RR**RQQQQQQQQQPQ...**QPQVPSSEGGQL	*Nle*
SSSVPASDPSDGQRR.**RQQQQQQQQPQ....**QPQVLSSEGGQL	*Ppa*
SSSVPASDPSDEQRRR**RQQQQQQQQPQ....**QPQVPSSEGGQL	*Pab*
SSSVPASDPSDG.RRRR**QQQQQQQPQ....**QQPQVPSSEDGQL	*Rbi*
Примечание -Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые СС miR-1322	

Ген андрогенового рецептора кодирует белок, который является транскрипционным фактором, активирующимся стероидными гормонами. AR вовлечен в развитие спинобульбарной мышечной атрофии, ряда сердечно-сосудистых (гипертензия, атеросклероз, гипертрофия миокарда) и онкологических (рак предстательной железы, молочной железы) заболеваний. В CDS *AR* обнаружены 23 последовательно расположенных СС miR-1322 на участке с 693 по 780 нуклеотид. 17 и 19 сайтов связывания miR-1260a и miR-1260b расположены с 1874 по 1928 и с 1869 по 1927 нуклеотид, соотвестственно (таблица 26) [148].

Таблица 26 – Олигопептиды ортологичных белков AR, кодируемые сайтами связывания miR-1322

Область белка TBP с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
GPRHPEAASAAPPGASLLL**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQETSPRQQQQQQ**.....GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Hsa*
GPRHPEAASAAPPGASLL.**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ.ETSPRQQQQQ**......GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Ptr*
SPRHPEAASAAPPGAR...**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....**ETSPRQQQQQQQ**....TEDGSPQAQIRGPTGYL	*Ocu*
GPRHPEAASAAPPGAR...L**QQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....GDNGSPQAQSRGPTGYL	*Ame*
GPRHPEAASAAPPGASLL.**LQQQQQQQQQQQQQEXQQ**.....**ETSPRQQQQQ**......GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Ppa*
GPRHPEAASAAPPGAS...**LQQQQQQQQQQQQQQQ**.....**ETSPRQQQKQ**......GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Csa*
GPRHPEAASAAPPGAS...**LQQQQQQQQQHQQQ**.....**ETSPRQQQQQ**......GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Ggo*
GPRHPEAASAAPPGASL..**LQQQQQQQQQQQQQ**.....**ETSPRQRQQQQQQQ**..GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Rro*
GPRHPEAVSAAPPGAH...**LQQQQQQQQQQQ**.....**ETSPRQQQQQQQ**....GDDGSPQAQSRGPTGYL	*Cfa*
GPRQPEATSAAPPGAR...**LKQQQQQQQQ**.....**EEISPRQQQQQQ**....GEDGSPQAQSRGPTGYL	*Laf*
GPRHPEATSAAPPGAR...**LQQQQQQQQQ**.....**EQTSPQQQQQQQQQQQQ**SEDGSPQAQSRGPTGYL	*Fca*
GPRHPEAASAAPPGAS...**LQQQQQQQQ**.....**ETSPRQQQQQQQ**....GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Mfa*
GPRHPEAASAAPPGAS...**LQQQQQQQQ**.....**ETSPRQQQQQQQ**....GEDGSPQAHRRGPTGYL	*Mml*
GPRHPEAASAAPPGAR...**LQQQQLQQQ**.....**ETSPRRQQQQQQQ**..PSEDGSPQVQSRGPTGYL	*Ssc*
GPRHPEAASAAPPGAR...**LQQQQQQ**.....**ETSPQQQQQQQQQQQQ**.SEDGSPQVQSRGPTGYL	*Bac*
GPRHPEAASAAPPGAR...**LQQQQ**.....**ETSPQQQQQQQQQQQQ**.SEDGSPQVQSRGPTDYL	*Lve*
LPRHPEASSAAPPGAR...**LQQQQ**.....**ETSPRRQQQQQQQ**...REDGSPQVQSRGPTGYL	*Oar Pho, Chi*
LPRHPEASSAAPSGAR...**LQQQQ**.....**ETSPRQQQQQQQQ**...REDGSPQVQSRGPTGYL	*Bin, Bmu, Bta*
GPRHPEAANIAPPGAC...**LQQRQ**.....**ETSPRRRRRQQH**....TEDGSPQAHIRGPTGYL	*Mmu*
Примечание: жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые полисайтами miR-1322	

Участки связывания miR-1322 кодируют полиглутамин, а miR-1260a и miR-1260b кодируют полиглицин в белке AR. Наличие полисайтов в mRNA увеличивает вероятность связывания с ними соответсвующих miRNA. Свободная энергия взаимодействия miR-1322 с mRNA гена *AR* варьирует от

82,8 до 89,2 кДж/моль. Величина свободной энергии взаимодействия miR-1260a и miR-1260b с mRNA гена *AR* варьирует от 82,8 до 87,3 кДж/моль и от 81,6 до 91,3 кДж/моль, соотвественно (таблица 27). Для группы 24 видов млекопитающих полиглутамин в белке AR фланкирован консервативными аминокислотами AASAAPPGAS и GEDGSPQAHR. Для группы 22 видов млекопитающих полиглицин в белке AR фланкирован консервативными аминокислотами TAEEGQLYGP и EAGAVAPYGY. В белках ортологов AR изменяется количество полиглутамина и полиглицина кодируемых полисайтами связывания miR-1322, miR-1260a и miR-1260b. Так, CC miR-1322 кодируют 42 глутамина у *F. catus*, 25 - у *O. cuniculus*, 22 - у *P. troglodytes*, и 17 - у *A. melanoleuca*. У модельных животных *R. norvegicus, M. musculus* значительно сокращено число CC miR-1322. Наибольшая последовательность полиглицина, кодируемого CC miR-1260a и miR-1260b выявлена у таких ортологов, как *G. gorilla* - 19 CC, *P. paniscus* - 18 CC и *P. troglodytes* - 17 CC. Поэтому при исследовании регуляции экспрессии гена *AR* молекулами miR-1322, miR-1260a и miR-1260b при различных патологиях у млекопитающих следует учитывать отличие числа и расположения CC в mRNA ортологов гена *AR*.

Таблица 27 - Олигопептиды ортологичных белков AR, кодируемые сайтами связывания miR -1260a и miR-1260b

Область белка AR с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR -1260a и miR-1260b	Объект
WHTL.TAEEGQLYGPC..**GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Hsa*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGGGGGGGGGGGGGGG**....EAGAVAPYGYTRPPQ	*Ggo*
WHTLFTAEEGQLYGPVX.**GGGGGGGGGGGGGGGGGG**.....EAGAVAPYGYTRPPQ	*Ppa*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGGGGGGGGGGGGGG**......EAGAVAPYGYTRPPQ	*Ptr*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGGGGGGGGGGGGAG**......EAGAVAPYGYTRPPQ	*Rro*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGGGGGGGGGGG**.......A**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Csa*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGGGGGGGGGG**........A**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Mfa*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGGGGGGGGGG**........A**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Mml*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGSGGGGG**.........AAA**G**EAGAVVPYGYNRPPQ	*Cja*
WHTLFTSEEGQLYGPC..**GGGGG**S**G**S**G**.............VEAGTVAPYGYSRPSQ	*Laf*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GG**S**GGGS**.............T**G**ESGSVTPYGYTRPPQ	*Fca*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GG**S**GGG**.............SA**G**DGGSVAPYGYTRPPQ	*Cfa*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGSGGG**.............SA**G**EAGSVAPYGYTRPPQ	*Ame*
WHTLFTAEEGQLYGPC..**GGGGGG**.............SA**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Bac*
WHTLFTAEEGQLYGPCS..**GGGGG**.............SA**G**EAGTVAPYGYTRPPQ	*Eca*
WHTLFTAEEGQLYGHC..**GGGGGG**.............SA**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Lve*
WHTLFTAEESQLYGPC..**GGGGGG**.............SA**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Ssc*
WHTLFTAEEGQLYGPAVC**GGGGGG**.............SA**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Bin*
WHTLFTAEEGQLYGPAVC**GGGGGG**.............SA**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Bmu*
WHTLFTAEEGQLYGPAVC**GGGGGG**.............SA**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Bta*
WHTLFTAEEGQLYGPAVC**GGGGGG**.............SA**G**EAGAAAPYGYTRPPQ	*Chi*
WHTLFTAEEGQLYGPAVC**GGGGGG**.............SA**G**EAGAAAPYGYTRPPQ	*Oar*
WHTLFTAEEGQLYGPAVC**GGGGGG**.............SAGEAXXXXXXXXXXGRA	*Pho*
WHTLFTAEEGQLYGP...**GGGGG**..... .....SSSPSDAGPVAPYGYTRPPQ	*Rno*
WHTLFTAEEGQLYGP...**GGGGG**.............SSSPSDAGPVAPYGYTRPPQ	*Mmu*
WHTLFTTEEGQLYGPC..**GGGGG**.............S**G**P**G**EAGAVAPYGYTRPPQ	*Ocu*
Примечание: жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR -1260a и miR-1260b	

В mRNA ортологичных генов изученных видов животных идентифицированы СС miR-1322, которые кодируют полиглутамин. Количество полиаминокислот изменяется в процессе эволюции видов, и существует тенденция к увеличению длины полиаминокислот в белках в ходе эволюции. Выявленные изменения количества полисайтов miR-1322 могут влиять на восприимчивость различных видов к болезням, ассоциированным с описанными генами. Проведенный анализ позволяет расширить имеющиеся представления о роли miR-1322 в ключевых биологических процессах и внести общий вклад в изучение заболеваний, связанных с генами *AR, ASCL1, ATN1, ATXN1, ATXN2, ATXN7, HTT, POLG, TBP*. Можно предположить, что тринуклеотидные повторы в mRNA могут участвовать в развитии заболеваний в качестве мишеней miR-1322. Ассоциации miR-1322 с генами-мишенями вероятно могут служить маркерами общей дисрегуляции экспрессии генов, так как СС miR-1322 найдены в mRNA десятков генов, участвующих в развитии СЗЗ. Можно предложить адекватную модель животного для дальнейшего экспериментального изучения влияния miR-1322 на регуляцию экспрессии изученных генов. Выявление сайтов связывания для miRNA в mRNA ортологичных генов необходимо для лучшего понимания закономерностей регуляции их экспрессии в процессе эволюции.

В CDS области генов *BCL6B, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11,* участвующих в развитии некоторых онкологических заболеваний также выявлены полисайты miR-1322. Их характеристики приведены в таблице 28.

Таблица 28 – Характеристики полисайтов miR-1322 в mRNA генов *BCL6B, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11*

Ген	Начало связывания, нт (число СС)	Свободная энергия взаимодействия, ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %
BCL6B	764 ÷ 779 (6)	-87 ÷ -89	85 ÷ 88
MAGI1	1730 ÷ 1772 (15)	-85 ÷ -89	83 ÷ 88
MLLT3	731 ÷ 836 (34)	-83 ÷ -89	81 ÷ 88
MN1	2519 ÷ 2591 (23)	-85 ÷ -89	83 ÷ 88
THAP11	548 ÷ 630 (27)	-85 ÷ -93	83 ÷ 92
Примечание - В скобках указано количество сайтов связывания miR-1322			

Ген *BCL6B* является гомологом протоонкогена *BCL6*. Показано, что BCL6B ингибирует метастазирование гепатоцеллюлярной карциномы *in vitro* и у мышей и подавляет рост клеток рака толстой кишки, активируя сигнальную систему с участием P53 [149, 150]. В CDS mRNA гена *BCL6B* идентифицированы шесть СС miR-1322 в области с 764 по 779 нт и значением ΔG/ΔGm 85-88%. Область mRNA гена *BCL6B,* содержащая СС miR-1322 в CDS, кодирует полисерин. Для группы из 23 видов млекопитающих полисерин в белке BCL6B фланкирован консервативными октапептидами (таблица 29). У большинства ортологов *BCL6B* в mRNA наблюдается уменьшение количества

CC miR-1322. Однако в mRNA *BCL6B* у *P. troglodytes*, *P. paniscus* и *S. scrofa* обнаружено 17, 16 и 9 CC miR-1322, соответственно. В mRNA *R. norvegicus* имеется четыре CC для miR-1322 с ΔG равной -85 кДж/моль и -89 кДж/моль. В mRNA гена *BCL6B* у *M. musculus* содержится только один CC miR-1322 со значением взаимодействия 81% от максимального значения ΔG/ΔGm.

Таблица 29 - Олигопептиды ортологичных белков BCL6B, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка BCL6B с олигопептидом, кодируемым CC miR-1322	Объект
RLPSGDEA**SSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**EEGPIPGP	*Ptr*
RLPSGDEA**SSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**.EEGPIPGP	*Ppa*
QLPSADEA**SSSSSSSSSSSSSGS**.....EEGPIPGP	*Ssc*
RLPSGDEA**SSSSSSSSSSS**.....EEGPIPGP	*Hsa, Ggo*
GLPSGDEA**SSSSSSSSGS**.....EEGPIPGP	*Pal*
RLPSGDEA**SSSSSSSSS**.....EEGPIPGP	*Nle*
RLPSGDEA**SSSSSSSS**.....EEGPIPGP	*Pab*
QLPSGDEA**SSSSSSSS**.....EEGPISSP	*Chi*
RLPSGDEAC**SSSSSSS**.....EEGATPGL	*Rno*
RLPSGDEA**SSSSSSS**.....EEGPILGP	*Cja*
RLPSGDEA**SSSSSSS**.....EEGPISGP	*Bac*
QLPSGDEA**SSSSSSS**.....EEGPISSP	*Oar, Pho*
RLPSGDEA**SSSSSS**.....EEGPIPGP	*Csa, Laf*
RLPSGDEA**SSSSSS**.....EEGPISGP	*Lve*
GLPSGDEA**SSSSSS**.....EEGPIPGP	*Eca*
RLPSGDEAC**SSSSS**.....EEGTTPGL	*Mmu*
RLPSGDEA**SSSSS**.....EEGPIPGP	*Rro, Mml, Mfa, Tch*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR-1322	

MAGI1 – член семейства MAGUK (мембраносвязанные гуанилаткиназы), который участвует в образовании многокомпонентных белковых комплексов на внутренней поверхности плазматической мембраны, необходимых для межклеточных контактов. Показано, что MAGI1 ингибирует процессы клеточной миграции и инвазивности раковых клеток, снижение экспрессии *MAGI1* коррелирует с неблагоприятным прогнозом и может служить прогностическим маркером при гепатоклеточной карциноме [151, 152]. В CDS mRNA гена *MAGI1* было обнаружено 15 сайтов связывания miR-1322 в области с 1730 по 1772 нт. Значение взаимодействия ΔG/ΔGm mRNA *MAGI1* и miR-1322 составляет 83–88% от максимального значения ΔG/ΔGm. Область CC miR-1322 в CDS mRNA *MAGI1* кодирует последовательность полиглутамина. Октапептиды, фланкирующие полиглутамин в белке MAGI1, высоко консервативны у многих видов млекопитающих (таблица 30). В последовательности полиглутамина, кодируемой сайтами связывания, обнаружены вставки пролина. Наибольшее количество сайтов связывания miR-1322 было обнаружено в mRNA гена *MAGI1* у *P. alecto*, *P. paniscus* и *M. flavicularis* – 22 сайта (ΔG/ΔGm составляет 83 – 88%).

Таблица 30 - Олигопептиды ортологичных белков MAGI1, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка MAGI1 с олигопептидом, кодируемым CC miR-1322	Объект
AKRKKQIE**QQQQQQQQQPQQQPQQQQQQQQQQQQQQQQQPQQQ**.EEWTEDH	*Pal*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....TEEWTEDH	*Ppa, Mfa*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....TEEWTEDH	*Csa*
AKRKKQLE**QQQQQQPQQPQQLQQQQQQQQPPP**.....PEEWTEDH	*Nga*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQQQQQPQQ**.....TEEWTEDH	*Sbo, Cja*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....TEEWTEDH	*Hsa*
AKRKKQLE**QQQQQQQPQPQPQQQQQPQ**.....EEWTEDH	*Tch*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....TEEWTEDH	*Ggo*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQPPPQQQQ**.....SEEWAEDH	*Mdo*
AKRKKQLE**QQQQPQQQQQQQQQQQQP**.....PEEWTEDH	*Cfa*
AKRKKQLE**QQQQPQQPQQQQQQQQQ**.....PEEWTEDH	*Uma*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQQQPPP**.....AEEWTEDH	*Ocu*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....TEEWTEDH	*Ptr*
AKRKKQLE**QPQQPQQQQPQQQQQ**.....PEEWTEDH	*Ame*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQQQ**.....PEEWTEDH	*Bmu, Pho, Chi, Oar*
AKRKKQIE**QQQQQQQQQQQQQ**.....PEEWTEDH	*Eca*
AKRKKQLE**QQQQQQQPQPPQ**.....PEEWTEDH	*Mmu*
AKRKKQLE**QQQQQQQQQQQ**.....PEEWTEDH	*Bta*
AKRKKQLE**QQQPQQQQ**.....PEEWTEDH	*Bac*
AKRKKQLE**QQQQQQQQ**.....PEEWTEDH	*Cfe*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR-1322	

MLLT3 участвует в реципрокных транслокациях, которые встречаются при острых лейкозах. Транслокация t (9; 11) *MLL* приводит к острому миелоидному лейкозу [153]. В CDS *MLLT3* были идентифицированы 34 CC miR-1322 с 731 по 836 нт со значением взаимодействия 83,3 – 88% от максимального значения ΔG/ΔGm. Область, которая содержит сайты связывания miR-1322 в CDS mRNA *MLLT3* кодирует последовательность полисерина. Полисерин в ортологичных белках MLLT3 фланкирован консервативными аминокислотами (таблица 31). Количество CC miR-1322 фланкирующие их области в белке MLLT3 гомологичны у *M. musculus* и *H. sapiens*. Это обуславливает возможность использования *M. musculus* в качестве модельного объекта при изучении регуляции экспрессии *MLLT3* miR-1322. Увеличение количества сайтов связывания miR-1322 было обнаружено у *M. mulatta, M. flavicularis, Ch. sabaeus, P. troglodytes* – 36 CC; *P. paniscus, G. gorilla* - 35 CC. Максимальное количество CC было найдено у *N. galili* - 46.

MN1 – транскрипционный коактиватор, участвующий в развитии менингиом. Повышенная экспрессия *MN1* обнаружена при некоторых типах острого миелоидного лейкоза [154]. Повышенная экспрессия *MN1* способствует развитию лейкемии за счет подавления p53, приводя к снижению апоптоза и устойчивости к химиотерапии [155]. В CDS mRNA гена *MN1* обнаружено 23 CC miR-1322 с ΔG/ΔGm 83-87,5%, расположенных с 2519 по 2610 нт. Область с полисайтами кодирует последовательность полиглутамина (таблица 32).

Таблица 31 – Олигопептиды ортологичных белков MLLT3, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка MLLT3 с олигопептидом, кодируемым СС miR-1322	Объект
DPNRSIHT**ZZSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**TSFSKPHK	*Nga*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**....TSFSKPHK	*Mml, Mfa, Ptr*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**.....TSFSKPHK	*Ppa, Ggo*
DPNRSIHT**ZSSCSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**.....TSFSKPHK	*Chi*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**......TSFSKPHK	*Nle, Cja*
DPNRSVHT**ZSCSSSSSSSSSSSCSSSSSSSSSSSSSSSSSS**......TSFSKPHK	*Mda, Bta*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**......TSFSKPHK	*Hsa, Mmu*
DPNRSVHT**ZSCSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**......TSFSKPHK	*Eca*
DPNRSIHT**ZCSSSSSSSSSSSSSCSSSSSSSSSSSSSSSSS**.......TSFSKPHK	*Cfa, Fca*
DPNRSVHT**ZCSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**.......TSFSKPHK	*Laf*
DPNRSIHT**ZSCSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**.......TSFSKPHK	*Ssc*
DPNRSVHT**ZSSSSSSSSSSSSSSSSSSS**.................TSFSKPHK	*Pal*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSSSSSSSSSSSS**.................TSFSKPHK	*Rro*
DPNRSIHT**ZSCSSSSSSSSSSSSSSS**.................TSFSKPHK	*Pho*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSSSS**.........................TSFSKPHK	*Cfe*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSSS**.........................TSFSKPHK	*Oar*
DPNRSIHT**ZSSSSSSSS**.........................TSFSKPHK	*Sbo*
Примечание - Жирным шрифтом выделены олигопептиды, кодируемые СС miR-1322; Z = 7S	

Таблица 32 – Олигопептиды ортологичных белков MN1, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка MN1 с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**QNAALMIKQM	*Hgl*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Pab*
HPGPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Rno*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Ptr*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Hsa, Ggo*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Nle*
HPGPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Mmu*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Csa*
HPGPDHQS**LQQHQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Nga*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Mml, Rro*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Bac*
HPAPDHQS**LQQQQHQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Ssc*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Fca*
HPAPDHQSM**QQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Ocu*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Lve, Eca*
HPAPDHPS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Chi, Bta*
HPAPDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Pal*
HPAQDHQS**LQQQQQQQQQQQQQQQQR**.....QNAALMIKQM	*Laf*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые СС miR-1322	

Октапептиды, фланкирующие полиглутамин в белке MN1, высоко консервативны. Количество сайтов связывания miR-1322 варьирует у видов млекопитающих. Выявлено увеличение числа СС у *P. troglodytes* – 24 СС, у *R. norvegicus* и *P. abelii* – 25 СС и *H. glaber* – 37 СС. У *G. gorilla и H. sapiens* число СС и последовательности аминокислот, фланкирующих полиглутамин,

идентичны. В качестве модельного объекта при изучении регуляции экспрессии гена *MN1* с помощью miR-1322 могут быть выбраны *G. gorilla* (23 CC) и *R. norvegicus* (25 CC). Разница числа CC может влиять на степень подавления посттранскрипционной регуляции *MN1*, что необходимо учитывать при интерпретации экспериментально полученных результатов.

THAP11 – ген, содержащий THAP домен. Белки семейства THAP действуют как факторы транскрипции, которые контролируют пролиферацию клеток, апоптоз, клеточный цикл, модификацию хроматина и транскрипционную регуляцию. При повышенной экспрессия *THAP11* изменялись уровни экспрессии mRNA транскрипционных факторов c-Myc, c-Myb, GATA-2 и Fli1 [156]. В CDS mRNA гена *THAP11* обнаружено 27 CC miR-1322 с 548 по 630 нт. Область mRNA *THAP11*, которая содержит CC miR-1322, кодирует полиглутамин (таблица 33) [139, p. 75].

Таблица 33 – Олигопептиды ортологичных белков THAP11, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка THAP11 с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQAS**PSASTAQT	*Ocu*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS**.....PSASTAQT	*Hsa*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQT	*Csa*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPPPQQQQQQQPS**.....PSASTAQA	*Ame*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQT	*Lve*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQA	*Cfa*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQT	*Mml, Mfa*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQS**.....PSSSTAQT	*Rro, Rno*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS**.....PSASTAQT	*Ptr*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQPQPQQQQQSS**.....PSASTAQT	*Eca*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSSS**.....PSSSTAQT	*Cja*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQPPPQQQSS**.....PSASTAQA	*Fca, Pti*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQT	*Bac*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQLQQQQPS**.....PSSSTAQT	*Mmu*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQAS**.....QSSSTAQT	*Cgr*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS**.....PSASTAQT	*Ggo*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQT	*Chi, Bta*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQPQQPS**.....PSASTAQT	*Pal*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQT	*Bmu*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS**.....PSASTAQT	*Pab*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS**.....PSTSTAQT	*Nga*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSVSATQT	*Hgl*
PAGAAAAR**RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS**.....PSASTAQL	*Laf*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR-1322	

Значение взаимодействия miR-1322 - mRNA *THAP11* составляет 83 - 92% от максимального значения ΔG/ΔGm. Октапептиды, фланкирующие полиглутамин в THAP11 ортологов высоко консервативны (таблица 33). У большинства видов ортологов в mRNA гена *THAP11* установлено уменьшение числа CC miR-1322. Так, 26 CC miR-1322 выявлено в mRNA *Ch. sabaeus*, 24 - в mRNA *L. vexillifer*, 23 – в mRNA *C. acquisis*, 22 – в mRNA M. *mulatta* и

M. flavicularis, 21 – в mRNA *P. troglodytes* и *P. paniscus*, 18 – в mRNA *M. musculus*. Максимальное количество CC (33) было обнаружено у *O. cuniculus*, что следует учитывать при выборе животной модели для изучения патологий, вызванных ассоциацией гена *THAP11* и miR-1322.

В mRNA ортологичных генов изученных видов животных идентифицированы сайты связывания miR-1322, которые кодируют полиаминокислоты глутамина и серина. Количество полиаминокислот изменяется в процессе эволюции видов. В большинстве случаев выявлено увеличение длины полиаминокислотных последовательностей в белках в ходе эволюции. Выявленные изменения количества полисайтов miR-1322 могут влиять на восприимчивость различных видов к болезням, вызванным вовлечением описанных генов. Проведенный анализ позволяет внести вклад в понимание и изучение роли miR-1322 в патогенезе онкологических заболеваний, ассоциированных с генами *BCL6B, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11*. Кроме того, можно предложить адекватную экспериментальную модель для дальнейшего изучения экспрессии описанных генов с помощью miR-1322. На основании анализа сайтов связывания miR-1322-3p и их физико-химических свойств для изучения регуляции экспрессии описанных генов в качестве модельного животного можно предложить: для *BCL6B – G. gorilla* (6 CC); для *MAGI1 – S. boliviensis* и *C. jacchus* (15 CC); для *MLLT3 – M. musculus* (34 CC), *MN1 – G. gorilla* (23 CC) и *R. norvegicus* (25 CC), для *THAP11 – Ch. sabaeus* (26 CC) и *O. cuniculus* (33 CC).

Полисайты связывания miR-1322 выявлены в CDS области генов *KCNN3* и *MEF2A*, вовлеченных в развитие ССЗ (таблица 34).

Таблица 34 – Характеристики полисайтов miR-1322 в mRNA генов *KCNN3, MEF2A*

Ген	Начало связывания, нт, (число CC)	ΔG/ΔGm, %	Олигопепетид
KCNN3	401- 425 (7) 512 - 539 (10)	87.5 ÷ 91.7 87.5 ÷ 91.7	QQQQQQQQQQQPP QQQQQQQQQQQQQP
MEF2A	1836 - 1860 (9)	85.4 ÷ 89.6	GFQQQQQQQQQQP

Белок, кодируемый геном *MEF2A*, является ДНК-связывающим фактором транскрипции семейства MEF2. MEF2A связан с инфарктом миокарда [157, 143, p. 31]. В CDS mRNA *MEF2A* находится девять сайтов связывания miR-1322 с ΔG/ΔGm от 85 до 89%. Полиглутамин, кодируемый CC miR-1322, фланкирован консервативными олигопептидами PRDRMTPS с N-конца и RQEMGRSPVDS с C-конца MEF2A (таблица 35). Однако последовательности аминокислот, составленные из остатков пролина и глутамина между полиглутамином и олигопептидом RQEMGRSPVDSL вариабельны. Максимальное число сайтов связывания miR-1322 среди ортологов MEF2A было обнаружено у *S. harrisii* (22), *O. anatinus* (22), *M. domestica* (21). В mRNA

MEF2A M. musculus имеется 8 CC miR-1322, что следует учитывать при изучении регуляции экспрессии *MEF2A* с помощью miR-1322.

Таблица 35 – Олигопептиды ортологичных белков MEF2A, кодируемых сайтами связывания miR-1322

Область белка MEF2A с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
SPPRDRMTPS**GFSQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....ARQEMGRSPVDSL	*Sha*
SPPRDRMTPS**GFPQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**P**QQQQ**.....SSRQEIGRSPVDSL	*Oan*
SPPRDRMTPS**GFPQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**.....ARQEMGRSPVDSL	*Mdo*
SPPRDRVTPSGFP**QQQQPQQQQQQQQQQQQQQ**S.....RQEMGRSPVDSL	*Apl*
SPPRDRMTPS**GFQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**PPQPPPPPPQPPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Nga*
SPPRDRMTPS**GFQQQQQQQQQQQQQQ**....PPPQPPPQPQPQPPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Rro*
SPPRDRMTPS**GFQQQQ**P**QQQQQQQQ**.....PPPPPQPQPQPPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Nle*
SPPRDRMTPS**GFQQQQQQQQQQQQ**.....PPPPPQPQPQPPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Hsa*
SPPRDRMTPS**GFQQQQQQQQQQQQ**.....PPPPPPQPPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Cgr*
SPPRDRMTPSGF**QQQQQQQPQQQ**.....PPPQPPQPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Rno*
SPPRDRMTPS**GFQQQQQQQQQQ**.....PPQPQPQAQQPQPRQEMGRSPVDSL	*Sbo*
SPPRDRMTPS**GFQQQQQQPQQQ**.....PPPQPPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Mmu*
SPPRDRMTPS**GFQQQQQQQQQ**.....PPPPPPQPQPPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Ggo*
SPPRDRMTPSGF**QQQQQQQQQ**.....PPLPQPPQPQPQPQPQPRQEMGRSPVDSL	*Hgl*
Примечание: жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miR-1322	

KCNN3 принадлежит к семейству калиевых каналов KCNN, в CDS содержит две последовательности CAG повторов. Было показано, что полиморфизмы в *KCNN3* также, как и уровень их экспрессии значительно влияют на фибрилляцию предсердий [158]. Установлено, что оба региона полиглутамина кодируются сайтами связывания miR-1322. Последовательности полисайтов miR-1322 составлены из семи и десяти сайтов связывания (ΔG/ΔGm равна 87,5 - 92%), расположенных в mRNA *KCNN3* с 401 по 444 нт и с 512 по 558 нт, соответственно (таблицы 36, 37). miR-1322 связывается в mRNA *KCNN3* с GAU-богатыми повторами регионами. Выявлено изменение числа CC miR-1322 в этих последовательностях. Увеличение числа полиглутамина выявлено в mRNA *KCNN3* у ортологов *L. africana, G. gorilla. P. troglodytes*. Одинаковое число CC miR-1322 было обнаружено в mRNA *P. abelii* и *H. sapiens*. Наибольшее число CC miR-1322, кодирующих вторую последовательность полиглутамина в KCNN3, у ортологов обнаружены в mRNA *N. galili* и *P. troglodytes*. Олигопептиды, фланкирующие последовательность polyGlu, кодируемую сайтами связывания miRNA, довольно консервативны у многих видов млекопитающих; однако имеются изменения в длине последовательностей полипролина, фланкирующих первый набор polyGlu с C-конца KCNN3.

Таким образом, miR-1322 может участвовать в регуляции экспрессии кандидатных генов некоторых нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний.

Таблица 36 – Олигопептиды ортологичных белков KCNN3, кодируемых сайтами связывания miR-1322 с 401 по 444 нт

Область белка KCNN3 с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**PPPAPPATPQQPPGPPL	*Laf*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**..PPAPPAAPQQPLGPSL	*Ggo*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQQQQQQPP**....PPAPPAAPQQPLGPSL	*Ptr*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQQPP**.......**PPAPPAAP**QQPLGPSL	*Hsa*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQQPP**.......**PPAPPAAP**QQPLGPSL	*Pab*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQPP**........**PPAPPAAP**QQPLGPSL	*Mml*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQPP**........**PPAPPAAP**QQPLGPSL	*Mfa*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQPP**........**PPAPPAAP**QQPLGPSL	*Csa*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQQPP**........**PPAPPAAP**QQPLGPSL	*Nle*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQQPP**......**PPPPPAPPAAP**QQPPGPPL	*Eca*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQPP**.......**PPPPAPPAAP**QQPPGPSL	*Sbo*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQQQQPP**........**PPPPAPPAAP**QQPPGPSL	*Cja*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQQPP**.........**PPPPAPPAAP**QQPPGPPL	*Bta*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQPP**...........**PPPAPPAAP**QQPPGPLL	*Nga*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQPP**...........**PPS APPA**VPQQPPGPLL	*Rno*
PKCPCPSSGDE**QQQQQQPP**...........**PPPAPPA**V**P**QQPPGPLL	*Mmu*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые СС miR-1322	

Таблица 37 – Олигопептиды ортологичных белков KCNN3, кодируемых сайтами связывания miR-1322 с 512 по 558 нт

Область белка KCNN3 с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания miR-1322	Объект
GPLLQP**QPPQLQQ**L**QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPP**HPLSQLAQL	*Nga*
GPSLQP**QPPQLQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQP..P**HPLSQLAQL	*Ptr*
GPSLQP**QPPQLQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQP....P**HPLSQLAQL	*Mfa, Mml*
GPLLQP**QPPQLQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ**...APLHPLPQLAQL	*Rno*
GPLLQP**QPPQ**P**QQQQ**S**QQQQQQQ**S**QQQQQQ**...APLHPLPQLAQL	*Mmu*
GPSLQP**QPPQLQQQQQQQQQQQQQQQP**.........**P**HPLSQLAQL	*Hsa*
GPSLQP**QPPQLQQQQQQQQQQQQQQQP**.........**P**HPLSQLAQL	*Pab, Ggo*
GPPLQP**QPPQLQQQQQQQQQQQQQP**.............HPLSQLAQL	*Lve*
GPSLQP**QPPQLQQQQQQQQQQQQP**.............**P**HPLSQLAQL	*Csa*
GPPLQP**QP**L**QLQQQQQQQQQQP**.............**P**HPLSQLAQL	*Ssc*
GPPLQP**QPPQLQQQQQQQQQP**.............**P**HPLSQLAQL	*Bac*
GPPLQP**QPPQLQQQQQQQPQ**.................HPLSQLTQL	*Bmu*
GPSLQP**QPPQLQQQQQQQ**X**P**.............**P**HPLSQLAQL	*Sbo*
GPPLQP**QPPQLQQQQQQQP**.................**P**HPLSQLTQL	*Oar, Chi*
GPSLQP**QPPQLQQQQQQQP**.................**P**HPLSQLAQL	*Cja, Nle*
Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые СС miR-1322	

Для адекватного выбора экспериментальных животных для изучения регуляции mRNA генов-мишеней посредством miRNA необходимо учитывать количество СС и характеристики их взаимодействия.

3.5 Особенности полностью комплементарного взаимодействия miRNA с кодирующей областью mRNA

Нуклеотидные последовательности некоторых miRNA полностью комплементарны своим mRNA-мишеням [159, 160]. Предполагается, что такие

miRNA могут использовать сходные механизмы для подавления экспрессии mRNA что и siRNA (малая интерферирующая RNA). Поэтому среди всех изученные miRNA, могут оказаться более эффективными при подавлении экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Нами был осуществлен поиск таких взаимодействий между 17508 генов и 2565 miRNA (таблица 38).

Таблица 38 – Характеристика полностью комплементарных CC miRNA в CDS mRNA генов

Ген	miRNA	Начало CC, нт	ΔG, кДж/ моль	Длина нт	Олигопептид	Заболевание/ функция гена	PMID/ DOI
1	2	3	4	5	6	7	8
ADAMTS8	miR-4488	822	-110	18	AGARPL	онкосупрессор	30464505
ALG1	miR-4526	864	-127	22	RPALLVS	нарушения гликозилирования	26931382
ALG1L2	miR-4526	400	-127	22	RPALLVS	не изучено	
CLEC19A	miR-4297	408	-87	16	HRQEG	не изучено	
EPHB2	miR-4253	1089	-102	18	PLDMP	онкосупрессор	20046096
ERCC6L	miR-4288	2967	-89	17	EDSAD	ДНК-транслоказа/ онкогенез	28178669
ERP29	miR-1260a	377	-100	18	LVAEVG	процессинг секреторных белков ЭПР, онкогенез	20920593
F8A1	miR-1184	1016	-127	23	EAIKSLQ	не изучено	
F8A2	miR-1184	1001	-127	23	EAIKSLQ	не изучено	
F8A3	miR-1184	1001	-127	23	EAIKSLQ	не изучено	
GINS3	miR-1273h-5p	442	-117	21	TAALTSQ	ДНК репликация	12730134
GPR179	miR-4478	2280	-96	17	LLSSSL	врожденная стационарная ночная слепота 1E	22325362
ISY1	miR-619-5p	685	-121	22	WLMPVIP	сплайсинг pre-mRNA	16103217
KANK3	miR-4508	510	-106	17	RAPSPG	онкосупрессор	10.1002/cbin.10895 30501625
KRBA1	miR-4456	1868	-91	17	KGSPPG	не изучено	
MAML2	miR-1260b	1715	-104	19	GGSGGI	онкогенез	21119597
NEUROD1	miR-1281	414	-98	17	GEEEDE	сахарнй диабет II типа	10545951
PNRC2	miR-4261	751	-87	16	WVPVS	нонсенс-опосредованный распад mRNA	29348139
PPP2CA	miR-3661	461	-123	22	QLSESQV	онкоген	30296597
PRR12	miR-4478	4396	-96	17	TPQPQP	развитие нервной системы	29556724
PRR35	miR-4294	475	-96	17	LLLDS	не изучено	

Продолжение таблицы 38

1	2	3	4	5	6	7	8
PXDNL	miR-4508	2686	-106	17	ARSSPA	пероксидазин/ биогенез тканей	10.1261/rna.031369.111
RNF111	miR-4478	2436	-96	17	PPQTQP	участник TGF-β/NODAL сигнального пути	27449815
SERF2	miR-1282	1071	-102	20	KQKKANE	агрегация белков при НДЗ	30291272
SETX	miR-1207-3p	3724	-98	18	NEGQS	атаксия с окуломоторной апраксией 2 типа	25054092 15106121
SKIV2L	miR-4291	3102	-85	16	LFLPE	РНК-хеликаза	27281821
SLAIN1	miR-3665	221	-108	18	AAPHL	регуляция динамики микротрубочек	23077057
TAF4	miR-3195	982	-104	17	PGPGA	коактиватор транскрипции	23873942
TBC1D10B	miR-762	228	-136	22	APAPAPA	активирующий ГТФ-азу белок	23671284
ZNF429	miR-619-5p	2080	-121	22	AHACNPS	регуляция транскрипци	www.uniprot.org
ZNF717	miR-4273	1638	-96	18	VHQRT	транскрипционный фактор	20007773

Из 31 гена, чьи CDS mRNA содержат полностью комплементраные miRNA последовательности нуклеотидов, функции семи из сих пор не выяснены. Установлено участие 23 генов в различных клеточных процессах (репликация, сплайсинг, транскрипция, процессинг белков) и патологиях (онкологические, нейродегенеративные заболевания, диабет и др.). Эти miRNA и их мишени представляют особую важность для изучения эволюции взаимодействия miRNA с mRNA. Олигопептиды, кодируемые полностью комплементарными CC miRNA высококонсервативны у ряда видов животных (некоторые приведены в Приложении Г, таблице Г), фланкирующие их аминокислоты консервативны или вариабельны. Для графического представления построены диаграммы Logo. Олигопептиды PLDMP, GEEEDE, WVPVS, QLSESQV и KQKKANE, кодируемые CC miR-4253, miR-1281, miR-4261, miR-3661 и miR-1282 в белках EPHB2, NEUROD1, PNRC2, PPP2CA и SERF2 фланкированы консервативными аминокислотными последовательностями (таблица 39).

Нуклеотидная последовательность miR-4488 комплементарна mRNA гена *ADAMTS8* и кодирует олигопептид AGARPL. Диаграмма Logo показывает консервативность AGARPL у ряда видов животных и вариабельность, фланкирующего его с С-конца олигопептида. miR-4526 комплементарно связывается с mRNA генов *ALG1* и *ALG1L2* с ΔG -127 кДж/моль в положении с 864 и 400 нт, соответственно. Гептапептид RPALLVS, кодируемый CC miR-4526 в паралогичных белках ALG1 и ALG1L2 консервативен у ряда видов

животных. Олигопептиды, фланкирующие RPALLVS вариабельны у ортологов *ALG1L2*, тогда как в *ALG1*, STSWTEDEDF с С-конца белка консервативен.

Таблица 39 – Диаграммы Logo, демонстрирующие консервативность аминокислот в областях ортологичных белков, содержащих олигопептиды, кодируемые комплементарными CC miRNA в CDS mRNA генов-мишеней

Ген-мишень, miRNA	Области ортологичных белков, содержащих олигопептиды, кодируемые полностью комплементарными CC miRNA в CDS mRNA генов-мишеней
1	2
AMTS8 miR-4488	
	Hsa, Cja, Csa, Mml, Pab, Ptr, Rbi, Rro, Sbo
ALG1 miR-4526	
	Hsa, Cfa, Csa, Eca, Fca, Mmu, Ocu, Pab, Ptr, Rno
ALG1L2 miR-4526	
	Hsa, Cfe, Csa, Fca, Mmu, Ocu, Ptr, Rno
CLEC19A miR-4297	
	Hsa, Cfa, Csa, Fca, Mmu, Ocu, Ptr, Rno
EPHB2 miR-4253	
	Hsa, Cfa, Cfe, Csa, Fca, Mmu, Ocu, Ptr, Rno
ERCC6L miR-4288	
	Hsa, Cfa, Cja, Csa, Ggo, Mfa, Mml, Mmu, Nle, Ocu, Pab, Ppa, Ptr,Rno, Rro, Sbo, Ssc, Uma
ERP29 miR-1260a	
	Hsa, Cfa, Cfe, Csa, Fca, Mml, Mmu, Oar, Ptr, Rno, Rro
F8A1 miR-1184	
	Hsa, Cja, Csa, Ggo.Laf, Mml, Pab, Ptr
F8A2 miR-1184	
	Hsa, Cja, Csa, Ggo.Laf, Mml, Pab, Ptr

Продолжение таблицы 39

1	2
F8A3 miR-1184	
	Hsa, Cja, Csa, Ggo.Laf, Mml, Pab, Ptr
GPR179 miR-4478	
	Hsa, Cja, Csa, Fca, Ggo, Nle,Mfa, Mml,Mmu, Ocu,Pab, Ppa, Ptr, Rne, Rno, Rro, Sbo
KANK3 miR-4508	
	Hsa, Cfa, Csa, Ggo, Mfa, Mml, Pab, Ptr, Rro
KRBA1 miR-4456	
	Hsa, Cja, Ggo, Mfa, Mml, Pab, Ppa, Ptr, Rro
MAML2 miR-1260b	
	Hsa, Cja, Ggo, Mfa, Mml, Oar, Pab, Ptr, Rro
NEUROD1 miR-1281	
	Hsa, Bac, Cfa, Cja, Csa, Fca,Ggo, Mfa, Mml, Mmu, Ocu,Pab, Ptr, Rno, Rro, Ssc,Uma
PNRC2 miR-4261	
	Hsa, Bta, Cfa, Chi, Cja, Csa, Fca,Ggo, Lve, Mfa, Mml, Nle, Oar, Ocu,Pab, Ppa, Ptr, Rro, Ssc,Tch, Uma
PPP2CA miR-3661	
	Hsa, Cfa, Csa, Fca, Mml,Mmu, Ocu, Ptr, Rro
PRR12 miR-4478	
	Hsa, Cfa, Csa, Mfa, Mml, Ocu, Ptr,
PRR35 miR-4294	
	Hsa, Cfa, Csa, Eca, Fca, Mmu, Oar, Ptr, Rno

Продолжение таблицы 39

1	2
PXDNL miR-4508	
	Hsa, Cja, Csa, Ggo, Mml, Nle, Pab, Ppa, Ptr, Rro
RNF111 miR-4478	
	Hsa, Cfa, Csa, Fca,Ggo, Mfa, Mml, Mmu, Nle, Oar, Pab, Ptr, Rno, Rro, Ssc, Uma
SERF2 miR-1282	
	Hsa, Bac, Bta, Chi, Eca, Fca, Hgl, Laf, Lve, Mmu, Ocu, Pab, Rno, Ssc
SETX miR-1207-3p	
	Hsa, Cja, Csa, Ggo, Mfa, Mml, Nle, Pab, Ppa, Ptr, Rro, Sbo
SKIV2L miR-4291	
	Hsa, Cfa, Csa, Fca, Mml, Mmu, Ocu, Ptr, Rno
TBC1D10B miR-762	
	Hsa, Cfa, Csa, Mfa, Mml, Nle, Pab
ZNF717 miR-4273	
	Hsa, Csa, Fca, Mml, Oar, Ocu, Ptr
Примечание – Синим цветом выделены олигопептиды, кодируемые CC miRNA	

В большинстве белков, консервативные олигопептиды, кодируемые полностью комплементарными CC miRNA, фланкированы эволюционно вариабельными аминокислотами. Так, фланкирующие HRQEG декапептиды, кодируемые CC miR-4297 высоковариабельны в ортологичных белках CLEC19A. Фланкирующие олигопептид LVAEVG аминокислоты в белке ERP29 консервативны в ряду ортологов, кроме замены двух амикокислотных остатков в олигопептиде ENSASSDDL на ENSASSEEL у *M. musculus*. С mRNA паралогичных генов *F8A1*, *F8A2* и *F8A3* полностью комплементарно связывается miR-1184. CC miR-1184 кодируют EAIKSLQ в соответствующих белках. Аминокислотны, фланкирующие этот гептапептид достаточно консервативны, за исключением замены одной аминокислоты с обеих сторон.

Так EAIKSLQ, с N-конца фланкирован LVMA**T**HEKDT или LVMA**A**HEKDT, а с С-конца VEMWPLL**T**AE или VEMWPLL**S**AE. Следовательно, miR-1184 связывается с консервативным мотивом белков F8A1, F8A2 и F8A3. Высоковариабельными в ряду ортологов аминокислотными последовательностями с обеих сторон фланкированы олигопептиды, кодируемые СС miR-762, miR-1207-3p, miR-1260b, miR-4273, miR-4291, miR-4478, miR-4508 в соответствующих белках GPR179, KANK3, MAML2, PXDNL, SETX, SKIV2L, TBC1D10B и ZNF717. СС miR-4456, miR-4478 кодируют олигопептиды KGSPPG и PQTQP в белках KRBA1 и RNF111. Фланкирующие их аминокислотные последовательности консервативны с С-конца и вариабельны с N-конца в ряду ортологов. miR-4478 связывается с mRNA *PRR12* с ΔG -96 кДж/моль. СС miR-4478 кодируют гексапептид TPQPQP. Фланкирующие олигопептиды с N-конца консервативны. с С-конца TPQPQP фланкирован полипролином с двумя заменами у некоторых видов животных. miR-4294 взаимодействует с mRNA *PRR35* с энергией равной -96 кДж/моль. СС miR-4294 кодируют гексапептид SLLLDS, который фланкирован консервативным с N-конца декапептидом KYSLCKDSL. Фланкирующие с С-конца аминокислотные последовательности вариабельны у ортологов. Поскольку программа MirTarget учитывает взаимодействие неканонических пар нуклеотидов, то описанные пары mRNA-miRNA при ΔG/ΔGm, равной 100% могут иметь не максимальное значение ΔG. Полностью комплементарное взаимодействие канонических пар нуклеотидов без петель и разрывов выявлено для следующих mRNA–miRNA: *ADAMTS8* и miR-4488, *C8orf44* и miR-619-5p, *EPHB2* и miR-4253, *F8A1* и miR-1184, *F8A2* и miR-1184, *F8A3* и miR-1184, *GINS3* и miR-1273h-5p, *ISY1* и miR-619-5p, *MAML2* и miR-1260b, *PNRC2* и miR-4261, *PPP2CA* и miR-3661, *SERF2* и miR-1282, *SLAIN1* и miR-3665, *TAF4* и miR-3195, *ZNF429* и miR-619-5p, *ZNF717* и miR-4273 (таблица 40).

Таблица 40 – Схемы канонического спаривания нуклеотидных последовательностей miRNA и mRNA генов с ΔG/ΔGm 100%

1	2

ADAMTS8; miR-4488; 822; -110; 100; 18*
5' – CGCCGGAGCCCGCCCCCU – 3'
  |||||||||||||||||
3' – GCGGCCUCGGGCGGGGGA – 5'
	C8orf44; miR-619-5p; 335; -121; 100; 22
	5' – GGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGC – 3'
	  ||||||||||||||||||||||
	3' – CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG – 5'

EPHB2; miR-4253; 1089; -102; 100; 18
5' – ACCCCCUGGACAUGCCCU – 3'
  |||||||||||||||||
3' – UGGGGGACCUGUACGGGA – 5'
	F8A1; miR-1184; 1017; -127; 100; 23
	5' – GGAAGCCAUCAAGUCGCUGCAGG – 3'
	  ||||||||||||||||||||||
	3' – CCUUCGGUAGUUCAGCGACGUCC – 5'

F8A2; miR-1184; 1002; -127;100; 23
5' – GGAAGCCAUCAAGUCGCUGCAGG – 3'
  ||||||||||||||||||||||
3' – CCUUCGGUAGUUCAGCGACGUCC – 5'
	F8A3; miR-1184; 1002; -127;100; 23
	5' – GGAAGCCAUCAAGUCGCUGCAGG – 3'
	  ||||||||||||||||||||||
	3' – CCUUCGGUAGUUCAGCGACGUCC – 5'

GINS3; miR-1273h-5p; 443; -117; 100; 21
5' – ACUGCAGCCUUGACCUCCCAG – 3'
  |||||||||||||||||||||
3' – UGACGUCGGAACUGGAGGGUC – 5'
	ISY1; miR-619-5p; 686; 121;100; 22
	5' – GGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGC – 3'
	  ||||||||||||||||||||||
	3' – CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG – 5'

Продолжение таблицы 40

1	2

MAML2; miR-1260b; 1716; -104; 100; 19
5' – AUGGUGGCAGUGGUGGGAU – 3'
  ||||||||||||||||||
3' – UACCACCGUCACCACCCUA – 5
	PNRC2; miR-4261; 752; 87;100; 16
	5' – UGGGUCCCUGUUUCCU – 3'
	  ||||||||||||||||
	3' – ACCCAGGGACAAAGGA – 5'

PPP2CA; miR-3661; 462; -123; 100; 22
5' – CAGCUGUCCGAGUCCCAGGUCA – 3'
  ||||||||||||||||||||||
3' – GUCGACAGGCUCAGGGUCCAGU – 5'
	SERF2; miR-1282; 1072; -102; 100; 20
	5' – AAGCAGAAAAAGGCAAACGA – 3'
	  ||||||||||||||||||||
	3' – UUCGUCUUUUUCCGUUUGCU – 5'

SLAIN1; miR-3665; 222; -108; 100; 18
5' – CGCCGCCCCGCACCUGCU – 3'
  |||||||||||||||||
3' – GCGGCGGGGCGUGGACGA – 5'
	TAF4; miR-3195; 983; -104;100;17
	5' – AACCCGGGCCCGGCGCG – 3'
	  |||||||||||||||||
	3' – UUGGGCCCGGGCCGCGC – 5'

ZNF717; miR-4273; 1639; -95;100; 18
5' – CUGUCCAUCAGAGAACAC – 3'
  |||||||||||||||||
3' – GACAGGUAGUCUCUUGUG – 5'
	ZNF429; miR-619-5p; 2081; -121;100; 22
	5' – GGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGC – 3'
	  ||||||||||||||||||||||
	3' – CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG – 5

*Примечание – Ген; miRNA; начало сайта связывания (нт); свободная энергия, ΔG (кДж / моль); длина miRNA (нт). Верхняя и нижняя нуклеотидные последовательности mRNA и miRNA, соответственно.	

Консервативность полностью комплементарных сайтов связывания miRNA в mRNA генов показана для ортологов. Следовательно, регуляция расмотренных генов-мишеней miRNA возникла и сохранялась в течение эволюции у разных видов животных. СС некоторых miRNA консервативны у приматов, тогда как другие выявлены и у более ранних предков. При полной комплементарности и высокой энергии взаимодействия (ΔG) увеличивается вероятность взаимодействия miRNA с молекулами mRNA. В дальнейшем необходимо изучить уровни экспрессии хозяйских генов, miRNA и генов-мишеней для выяснения механизмов регуляции экспрессии генов молекулами miRNA.

3.6 Характеристики взаимодействий miR-5p/miR-3p с mRNA гена *RTL1* человека

При изучении полностью комплементарных СС miRNA в mRNA генов человека были обнаружены гены, являющиеся мишенями пар miR-5p и miR-3p. Только шесть из 17508 белоккодирующих генов служили мишенями для miR-5p/miR-3p [161]. Также три некодирующих гена являлись мишенями этих miRNA. В кодирующих последовательностях mRNA гена *RTL1* человека и животных выявлены пять пар полностью комплементарных СС miR-127-5p и miR-127-3p, miR-136-5p и miR-136-3p, miR-431-5p и miR-431-3p, miR-432-5p и miR-432-3p, miR-433-5p и miR-433-3p (таблица 41). Ассоциированные с геном *RTL1* СС miR-5p и miR-3p найдены в mRNA 32 генов-мишеней человека. СС пар let-7e-3p и let-7e-5p, miR-125a-3p и miR-125a-3p, miR-196b-3p и miR-196b-5p, miR-3120-3p и miR-3120-5p, miR-99b-3p выявлены в mRNA некодирующих генов *DMN3OS*, *HOXA10-AS*, *SPACA6P-AS*.

Ген *RTL1* участвует в ряде важных биологических процессов. Показано, что делеция *Rtl1* у мыши приводит к таким нарушениям, как ожирение, блефарофимоз, дисплазия скелета, изменение липидного обмена и гипоплазия плаценты. Ген *Rtl1* участвует в регуляции развития плаценты [162 -163]. *Rtl1* кодирует по меньшей мере семь miRNA, а уровень его экспрессии контролируется механизмом RNA-интерференции [164]. Гены *RTL1* и miR-127-5p, miR-127-3p, miR-135a-5p, miR-135a-3p, miR-136-5p, miR-136-3p, miR-431-5p, miR-431-3p, miR-432-5p, miR-432-3p, miR-433-5p и miR-433-3p кодируются в одном локусе антипараллельных цепей ДНК, и поэтому мы называем их miRNA, ассоциированными с геном *RTL1* [165]. mRNA *RTL1* человека и ассоциированные с ним miRNA транскрибируются с противоположных комплементарных цепей ДНК. Их транскрипция и дальнейший процессинг pre-miRNA и pri-miRNA происходят независимо друг от друга. Следовательно, концентрации mRNA и miR-5p/miR-3p могут значительно различаться, что отразится на вероятности их взаимодействия.

Ген *RTL1* – единственный из 17508 генов человека, в CDS mRNA которого содержится пять пар полностью комплементарных СС miR-5p/miR-3p.

Таблица 41 – Характеристики взаимодействий miR-5p/miR-3p с mRNA гена *RTL1* человека

Ген	miR	Начало сайта, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина, нт
RTL1	miR-127-3p	1791	-121	100	22
RTL1	miR-127-5p	1825	-119	100	22
RTL1	miR-136-3p	76	-113	100	22
RTL1	miR-136-5p	109	-115	100	23
RTL1	miR-431-3p	3757	-121	100	22
RTL1	miR-431-5p	3801	-115	100	21
RTL1	miR-432-3p	283	-115	100	21
RTL1	miR-432-5p	329	-123	100	23
RTL1	miR-433-3p	2877	-119	100	22
RTL1	miR-433-5p	2929	-115	100	22
RTL1	miR-1296-5p	3992	-113	91	22
RTL1	miR-762	3405	-127	94	22

Одним из способов определения значимости сайтов связывания miRNA в mRNA является подтверждение их присутствия в mRNA ортологичных генов. Многие miRNA высококонсервативны в ходе эволюции. Поэтому, на основе предположения, что ортологичные miRNA гомологичны miRNA человека, для обнаружения СС в mRNA ортологичных генов, у которых не найдены соответствующие miRNA были использованы hsa-miRNA. СС miR-127-3p и miR-127-5p найдены в mRNA ортологичных генов 42 видов животных. Во всех белках RTL1 этих видов СС miR-127-3p и miR-127-5p кодируют олигопептиды QPSSDGSD и SEPSELQ (таблица 42). Нуклеотидные последовательности СС miR-127-3p и miR-127-5p комплементарны этим miRNA, значение ΔG/ΔGm равно 100%, а значения ΔG равны -121 и -119 кДж/моль (таблица 41). Аминокислотные остатки между олигопептидами QPSSDGSD и SEPSELQ,

кодируемыми CC miR-127-3p и miR-127-5p идентичны в белках всех видов. Вариабельность аминокислотных остатков вне олигопептидов указывает на то, что за время дивергенции видов *A. melanoleuca* и *H. sapiens* консервативные олигопептиды QPSSDGSD и SEPSELQ функционально более важны, чем фланкирующие их аминокислотные последовательности.

Таблица 42 – Диаграммы Logo, демонстрирующие вариабельность аминокислот в областях ортологичных белков RTL1, содержащих олигопептиды, кодируемые сайтами связывания miRNA-3p (синий цвет) и miRNA-5p (красный цвет)

miR-127-3p and miR-127-5p	
	Hsa, Aju, Ame, Bac, Bmu, Bta, Cfa, Cfe, Cgr, Chi, Cja, Csa, Eas, Eca, Epr, Fca, Ggo, Har, Hgl, Laf, Lve, Mbr, Mda, Mfa, Mml, Mmu, Nga, Nle, Oar, Ocu, Pab, Pal, Pho, Ppa, Pti, Ptr, Rno, Rro, Sbo, Ssc, Tch, Uma
miR-136-3p and miR-136-5p	
	Hsa, Aju, Ame, Bac, Bmu, Bta, Cfa, Cfe, Cgr, Chi, Csa, Eas, Eca, Epr, Fca, Ggo, Har, Hgl, Lve, Mbr, Mda, Mfa, Mml, Mmu, Nga, Nle, Oar, Pab, Pal, Pho, Ppa, Pti, Ptr, Rno, Rro, Sbo, Ssc, Tch, Uma
miR-431-3p and miR-431-5p	
	Hsa, Ame, Bac, Bmu, Bta, Cfa, Cfe, Cgr, Cja, Csa, Eas, Eca, Epr, Ggo, Har, Hgl, Lve, Mbr, Mfa, Mml, Mmu, Myb, Nga, Nle, Oar, Pab, Pho, Ppa, Ptr, Rno, Rro, Sbo, Ssc, Tch
miR-432-3p and miR-432-5p	
	Hsa, Aju, Ame, Bac, Bmu, Bta, Cfa, Cfe, Cgr, Chi, Cja, Csa, Eas, Eca, Epr, Fca, Ggo, Har, Hgl, Lve, Mbr, Mda, Mfa, Mml, Nga, Nle, Oar, Pab, Pal, Pho, Ppa, Pti, Ptr, Rro, Sbo, Ssc, Tch, Uma
miR-433-3p and miR-433-5p	
	Hsa, Aju, Ame, Bac, Bmu, Bta, Cfa, Cgr, Chi, Cja, Eas,Eca, Epr, Ggo, Har, Hgl, Fca, Laf, Lve, Mbr, Mda, Mfa, Mml, Mmu, Nga, Nle, Oar, Ocu, Pab, Pal, Pho, Ppa, Pti, Ptr, Rno, Rro, Sbo, Ssc, Tch, Uma

Нуклеотидные последовательности miR-136-3p и miR-136-5p комплементарны mRNA гена *RTL1* 39 видов, ΔG/ΔGm равна 100%, а значения ΔG составляют -113 и -115 кДж/моль соответственно. Олигопептиды DSFETMM и PSSKQME кодируются CC miR-136-3p и miR-136-5p и идентичны в белках RTL1 всех изученных видов (таблица 42). Диаграмма Logo

демонстрирует вариабельность аминокислотных остатков белка RTL1 между DSFETMM и PSSKQME и в областях, фланкирующих эти олигопептиды.

Комплементарные СС miR-431-3p и miR-431-5p связываются с mRNA *RTL1* со значениями ΔG -121 и -115 кДж/моль соответственно (таблица 41). СС miR-431-3p и miR-431-5p кодируют консервативные олигопептиды EALQDDL и HDGLQD в белках RTL1 34 видов животных (таблица 42).

Нуклеотидные последовательности сайтов связывания miR-432-3p и miR-432-5p комплементарны mRNA 38 видов животных (таблица 42). ΔG/ΔGm этих СС равна 100%, а значения ΔG равны -115 и -123 кДж/моль соответственно (таблица 41). Олигопептиды DMEEPSS и PPNDLLQ кодируемые соответствующими СС консервативны в белках RTL1 этих видов (таблица 42). Между олигопептидами DMEEPSS и PPNDLLQ белка RTL1 и во фланкирующих последовательностях, находятся вариабельные аминокислоты.

Нуклеотидные последовательности СС miR-433-3p и miR-433-5p кодируют олигопептиды HTEEPIMI и NNDRLTV и комплементарны mRNA 40 видов животных. Значения ΔG этих СС составляют -119 и -115 кДж/моль. Нуклеотидные последовательности между СС пяти пар miR-5p/miR-3p кодируют олигопептиды различных ортологичных белков RTL1. СС всех пяти пар miRNA в гене *RTL1* расположены приблизительно равномерно по длине mRNA. Диаграмма Logo демонстрирует консервативность олигопептидов, кодируемых СС miR-3p и miR-5p. Аминокислоты вне этих олигопептидов и между ними вариабельны (таблица 42). Следовательно, СС в mRNA *RTL1* пар miR-5p/miR-3p эволюционно древние и сохраняются в течение десятков миллионов лет. Сохранение СС miR-3p и miR-5p указывает на функциональную важность их нуклеотидных последовательностей и кодируемых олигопептидов.

Помимо 10 miRNA, ассоциированных с геном *RTL1*, miR-1296-5p и miR-762 также имеют СС в mRNA *RTL1*. В CDS расположены СС miR-1296-5p и miR-762, которые кодируют EQAARAL и ARPQPQR в белке RTL1. СС этих miRNA в mRNA генов-ортологов *RTL1* обнаружены только у гоминидов и обезьян. Свободная энергия взаимодействия miR-762 с mRNA гена *RTL1* равна -127 кДж/моль и превышает свободную энергию взаимодействия каждой из 10 miRNA, ассоциированных с геном *RTL1* (таблица 41). Поскольку СС 12 miRNA распределены по всей длине mRNA и не перекрываются, то при сопоставимых концентрациях каждая из них может подавлять синтез RTL1. Учитывая что десять miRNA могут экспрессироваться с антисмысловой цепи ДНК гена *RTL1* независимо от транскрипции и процессинга mRNA, то вероятным представляется предположение о равной возможности взаимодействия 12 miRNA с mRNA. Установлено, что метилирование ДНК отрицательно коррелирует с экспрессией *RTL1,* но положительно с экспрессией miR-136 в плаценте человека [166]. Т.е. изменения в экспрессии гена и miR-136 соответствуют предполагаемой взаимосвязи miRNA с геном-мишенью. Необходимым являлось установить, существуют ли другие гены-мишени miRNA, ассоциированные с геном *RTL1*. Полученные результаты показывают, что miRNA, ассоциированные с *RTL1*, имеют более 30 генов-мишеней (таблица

43), которые участвуют в развитии онкологических, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и других заболеваний [167-172]. Следовательно, miR-5p/miR-3p подавляют экспрессию ассоциированного гена *RTL1* и могут участвовать в регуляции трансляции mRNA генов, вовлеченных в развитие различных заболеваний, что свидетельствует о высокой биологической значимости miRNA, ассоциированных с *RTL1*.

Таблица 43 – Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA их генов-мишеней

miRNA	Ген-мишень	Начало сайта, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm %	Заболевание или функция гена	PMID
1	2	3	4	5	6	7
miR-127-3p	*BDP1*	673	-113	93	Транскрипция	11040218
miR-127-3p	*EIF3B*	438	-110	91	Трансляция	8995410
miR-127-5p	*CPNE2*	1915	-108	91	Кальций-опосредованные процессы	9430674
miR-127-5p	*RNF181*	144**	-110	93	Опухолевый супрессор	21391225
miR-127-5p	*URM1*	3950*	-108	91	Цитокинез	19017811
miR-136-3p	*TAF4*	2475	-102	91	Нейродегенеративные заболевания	10973244
miR-136-3p	*TTN*	71469	-102	91	Кардиомиопатия	11846417
miR-136-5p	*CAP1*	1454	-102	89	Клеточная пролиферация	27432289
miR-136-5p	*CLDN15*	37**	-104	91	Опухолевая инвазия	19420749
miR-136-5p	*ENAH*	6968*	-102	89	Опухолевая инвазия	26112005
miR-431-3p	*AKAP17A*	696	-110	91	Протеинкиназа	16982639
miR-431-3p	*BCL11A*	1433	-110	91	Лейкоз	26707798
miR-431-3p	*COG6*	856	-117	96	Нарушения гликозилирования	20605848
miR-431-5p	*SPTB*	1546	-104	91	Анемия	9005995
miR-432-3p	*CCDC135*	2050	-104	91	Пептидаза	22983010
miR-432-3p	*CDK5RAP2*	5810	-106	93	Болезнь Альцгеймера	21297427
miR-432-3p	*CPNE2*	943	-108	94	Кальций-опосредованные реакции	9430674
miR-432-3p	*CYP2A6*	450	-106	93	Онкогенез	16176798
miR-432-3p	*FHDC1*	2139	-104	91	Формирование комплекса Гольджи	26564798
miR-432-3p	*FOXB1*	108**	-106	93	Транскрипционный фактор	28725186
miR-432-3p	*IL2RB*	1013	-106	93	Рак молочной железы	14680494
miR-432-3p	*KCTD19*	1849	-104	91	Калиевый канал	26350515
miR-432-3p	*PPP1R26*	942	-106	93	Онкогенез	26442585
miR-432-3p	*PRKCSH*	1491	-104	91	Поликистоз печени	11047756
miR-432-3p	*RBP3*	252	-104	91	Ретинол-связывающий белок	2542268
miR-432-3p	*SH2D5*	2222*	-104	91	Синаптическая пластичность	28103696

Продолжение таблицы 43

1	2	3	4	5	6	7
miR-432-3p	*SLC22A12*	2172	-104	91	Регуляция уровня солей мочевой кислоты в крови	12024214
miR-432-5p	*CD177*	1058	-110	90	Активация нейтрофилов	17580308
miR-432-5p	*EPB41L1*	339	-110	90	Опухолевый супрессор	26575790
miR-432-5p	*HTN1*	4801	-110	90	Кардиопротектор	20036673
miR-432-5p	*PRSS57*	373	-113	91	Нейтрофильный ответ	26172376
miR-433-5p	*RBP7*	329	-110	96	Метаболизм витамина А	12177003

Примечание: * -- 3'-UTR, ** -- 5'-UTR, без * – CDS

Свободная энергия взаимодействия miR-127-5p и miR-127-3p варьирует в диапазоне от -108 до -113 кДж/моль (таблица 41), ΔG/ΔGm СС этих miRNA с mRNA гена *RTL* составляет 91–93%. Эти результаты позволяют предположить, что 10 ассоциированных с геном *RTL1* miRNA участвуют в важных процессах в норме и при патологии. miR-3p и miR-5p могут иметь различное количество генов-мишеней. Например, miR-432-3p и miR-432-5p имеют 13 и четыре гена-мишени соответственно. Обе miRNA обладают одинаковой консервативностью нуклеотидных последовательностей. miRNA, ассоциированные с геном *RTL1* связываются с CDS mRNA, а их СС кодируют олигопептиды, приведенные в таблице 42. Для пяти пар miR-5p/miR-3p с mRNA гена *RTL1* значения свободной энергии взаимодействия примерно равны (таблица 41). Изученные пары miR-5p/miR-3p связываются с mRNA других генов (таблица 43) со свободной энергией взаимодействия от -102 до -117 кДж/моль.

Сайты связывания mRNA ортологичных генов определяли с использованием hsa-miR, предполагая, что ортологичные miRNA гомологичны miRNA человека (таблица 42). Многие miRNA, как правило, эволюционно высококонсервативны (Приложение Б, таблица Б) [173]. Следовательно, все млекопитающие, включая таких лабораторных животных, как крысы, мыши и собаки, могут служить модельными объектами для изучения взаимодействия miR с mRNA *RTL1* человека.

При изучении СС пар miR-5p/miR было выявлено их взаимодействие с некодирующими генами. Некодирующие белок гены *DMN3OS, HOXA10-AS* и *SPACA6P-AS,* служат мишенями для miR-5p/miR-3p, кодируемых антипараллельной (антисмысловой) ДНК [161, p.620]. В таблице 44 представлены характеристики взаимодействия нуклеотидных последовательностей miR-5p/miR-3p с соответствующими mRNA *DMN3OS, HOXA10-AS* и *SPACA6P-AS* (длинные некодирующие RNA, lncRNA). Выявлено, что miR-4506 и miR-6764-3p, предсказанные с помощью программы MirTarget на основе анализа 2565 miRNA заимствованных из miRBase, в дополнение к miR-3120-3p и miR-3120-5p могут связываться с lncRNA гена *DMN3OS*. СС miR-3120-3p и miR-3120-5p в lncRNA гена *DMN3OS* разделены участком из 18

нт, который соответствует длине участков между СС в гене, кодирующем белок RTL1. miR-196b-3p и miR-196b-5p взаимодуйствуют с lncRNA гена *HOXA10-AS* со значениями свободной энергией взаимодействия равными -121 и -115 кДж/моль соответственно. Свободная энергия взаимодействия miR-3620-5p и miR-3960 с lncRNA *HOXA10-AS* одинакова. Т.е., miR-3620-5p и miR-3960 могут связываться с lncRNA гена *HOXA10-AS* одновременно с miR-196b-3p и miR-196b-5p. Расстояние между СС miR-196b-3p и miR-196b-5p в lncRNA гена *HOXA10-AS* составляет 14 нт. lncRNA гена *SPACA6P-AS* связывает три пары miR-5p/miR-3p [161, p. 620]. Характеристики такого взаимодействия представлены в таблице 44.

Таблица 44 – Характеристики взаимодействий miR-5p/miR-3p с lncRNA некодирующих генов *DMN3OS*, *HOXA10-AS*, *SPACA6P-AS*

Ген	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина, нт
DMN3OS	miR-3120-3p	5958	-113	100	21
DNM3OS	miR-3120-5p	5996	-115	100	21
DMN3OS	miR-4506	3149	-100	94	20
DNM3OS	miR-6764-3p	450	-100	90	21
HOXA10-AS	miR-196b-3p	282	-121	100	22
HOXA10-AS	miR-196b-5p	317	-115	100	22
HOXA10-AS	miR-3960-3p	380	-115	92	20
HOXA10-AS	miR-3620-5p	447	-121	92	22
SPACA6P-AS	miR-99b-3p	780	-123	100	22
SPACA6P-AS	miR-125a-3p	130	-121	100	22
SPACA6P-AS	miR-125a-5p	166	-127	100	24
SPACA6P-AS	let-7e-3p	598	-119	100	22
SPACA6P-AS	let-7e-5p	643	-113	100	22
SPACA6P-AS	miR-1273g-3p	2086	-113	96	21
SPACA6P-AS	miR-1285-5p	3597	-106	94	21
SPACA6P-AS	miR-6741-3p	724	-115	93	22
SPACA6P-AS	miR-1224-3p	1365	-108	91	21

Свободная энергия взаимодействия парных miR-125a-3p и miR-125a-5p с lncRNA гена *SPACA6P-AS* выше, чем пар let-7e-5p и let-7e-3p, следовательно эти miRNA с lncRNA *SPACA6P-AS* могут связываться более эффективно. С использованием программы MirTarget из 2565 miRNA из базы данных miRBase, предсказаны эффективные СС miR-1273g-3p и miR-1285-5p, miR-6741-3p и miR-1224-3p в lncRNA *SPACA6P-AS*. Расстояние между СС miR-125a-3p и miR-125a-5p в lncRNA гена *SPACA6P-AS* равно 15 нт, и 24 нт между СС let-7e-5p и let-7e-3p. Расстояния между СС miRNA в случае четырех пар miR-5p/miR-3p указывают на то, что они сравнимы с расстояниями между miR-5p и miR-3p в большинстве pre-miR. Следовательно, некодирующие и кодирующие гены обладают сходными свойствами взаимодействия с miRNA.

Таким образом, биоинформатические методы впервые были использованы для идентификации СС пар miR-5p/miR-3p в mRNA генов-мишеней. Ген *RTL1* уникален тем, что его mRNA содержит 10 полностью комплементарных СС для

пяти пар miR-5p/miR-3p. Наряду с изученными белоккодирующим геном *RTL1*, некодирующие белок гены *DMN3OS, HOXA10-AS* и *SPACA6P-AS,* служат мишенями miR-5p/miR-3p, кодируемых антипараллельной ДНК.

Установлено, что miR-127 подавляет экспрессию ассоциированного гена *RTL1*, возможно, действуя как малая интерферирующая RNA [174]. В большинстве исследований изучены только некоторые из 10 miRNA, ассоциированные с *RTL1*, часто без указания, являются ли они miR-5p/miR-3p [166-170]. Маловероятным является то, что их биологическая роль заключается исключительно в деградации mRNA многих генов-мишеней. Мы предположили, что CC пар miR-5p/miR-3p возникли в предшественнике (pre-miRNA), чтобы усилить зависимость экспрессии mRNA-мишени от miRNA. Статистическая значимость этой зависимости увеличивается при возникновении мутаций в CC miR-5p/miR-3p. Биологическая роль *RTL1* активно изучается [163-164, 175]. Роль *RTL1* значительна, поскольку *RTL1* является единственным известным геном человека, который взаимодействует с пятью парами miR-5p/miR-3p. Полностью комплементарное взаимодействие miRNA с mRNA соответствует связыванию mRNA с малой интерферирующей RNA, однако не все комплементарные взаимодействия mRNA с miRNA приводят к деградации mRNA. Косвенно это подтверждается существованием свыше 200 генов, mRNA которых содержат комплементарные CC miR-619-5p [173, p. 1]. В таком случае miR-619-5p должна подавлять экспрессию этих генов путем деградации mRNA; однако биологическое значения этого феномена трудно объяснить. Таким образом, *RTL1* это ассоциированный ген для пар miR-127-3p и miR-127-5p, miR-136-3p и miR-136-5p, miR-431-3p и miR-431-5p, miR-432-3p и miR-432-5p, miR-433-3p и miR-433-5p. Пары miR-5p/miR-3p и ген *RTL1* транскрибируются независимо друг от друга, так как расположены на антипараллельных цепях ДНК. Повышенный уровень консервативности сайтов связывания miR-5p/miR-3p по сравнению с окружающими районами объясняется особенностями профиля консервативности pre-miRNA.

Эволюция нуклеотидных последовательностей в mRNA и miRNA протекает совместно. Таким образом, если имеется miRNA, то существуют и соответствующие сайты связывания в mRNA. Высококонсервативные CC miRNA в *RTL1* сохраняются в течение десятков миллионов лет эволюции изучаемых видов и свидетельствует о том, что регуляция экспрессии этих генов, опосредованная miRNA появилась на ранних этапах эволюции животных.

Изучение гена *RTL1* представляет большой интерес, поскольку ассоциированные с ним пять пар miR-5p/miR-3p регулируют экспрессию 32 генов (таблица 45), участвующих в развитии нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, онкологических и других заболеваний человека. Следовательно, необходимым являлось установление у каких экспериментальных животных экспрессия *RTL1* регулируется с помощью miRNA, т.е. эти животные могут служить модельными объектами. Полученные результаты подтверждают

возможность использования животных для анализа влияния изученных miRNA на экспрессию *RTL1*.

Полученные результаты показывают, что регуляция экспрессии многих генов осуществляется парами miR-5p/miR-3p, которые таким образом могут быть вовлечены в развитие ряда заболеваний. При разработке методов диагностики заболеваний с использованием miRNA, ассоциированных с геном *RTL1* необходимо учитывать экспрессию всех ассоциированных с ним miRNA. Такой контроль даст представление о роли этих участников в развитии патологий.

Поиск miRNA, которые могут быть предложены в качестве биомаркеров патологий является актуальной задачей. Участие некоторых из предлагаемых miRNA в развитии НМРЛ было установлено экспериментально. Так, выявлен пониженный уровень экспрессиии miR-328-3p при НМРЛ по сравнению с неопухолевыми тканями [176]. Повышение уровня экспрессии hsa-mir-4763 обнаружено при онкогенезе [177]. Некоторые предлагаемые ассоциации miRNA и генов-мишеней подтверждены экспериментально в ряде работ. Установлено, что miR-127 подавляет экспрессию ассоциированного гена *RTL1*, возможно, действуя как малая интерферирующая RNA [174, p. 1342]. При изучении регуляции развития плаценты у мышей установлено влияние miR-127 на уровень экспресии *RTL1* [171, p. 2425]. Показано, что miR-432-3p и miR-127-3p приводят к расщеплению *RTL1* [165, p. 747]. В лаборатории молекулярных механизмов заболеваний крови Института Патологической физиологии Первого медицинского факультета Карлова университета была начата совместная работа по установлению генов-мишеней miR-155-5p, участвующей в онкогенезе и изучению роли этой miRNA при хронической лейкемии [178].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе данных научной литературы был осуществлён отбор генов, вовлеченных в развитие инфаркта миокарда, немелкоклеточного рака легкого и болезни Альцгеймера. Нуклеотидные последовательности mRNA этих генов были получены из базы Genbank и использованы для создания баз данных. Базы данных генов, ассоциированных с инфарктом миокарда, болезнью Альцгеймера и немелкоклеточным раком легкого включали нуклеотидные последовательности mRNA 237, 115 и 75 генов, соответственно. Были созданы базы нуклеотидных последовательностей 6272 miRNA человека, содержащие 2565 последовательности из базы miRBase (http://www.mirbase.org) и 3707 miRNA, открытых Londin и др, 2015. Поиск сайтов связывания 6272 miRNA с mRNA кандидатных генов, участвующих в некоторых социально значимых заболеваниях произведен с использованием программы MirTarget. В результате были установлены характеристики сайтов связывания miRNA в mRNA генов, участвующих в развитии инфаркта миокарда; немелкоклеточного рака легкого и болезни Альцгеймера.

Был проведен сравнительный анализ особенностей взаимодействия miRNA в 5’UTR, CDS и 3’UTR mRNA генов-мишеней. Установлено, что взаимодействие miRNA с mRNA кандидатных генов болезни Альцгеймера различно в зависимости от уровня экспрессии их mRNA в коре головного мозга. Так, в mRNA генов с уровнем RPKM до 10 выявлено большое число сайтов связывания miRNA, в том числе полисайтов и множественных СС, формирующих кластеры. mRNA генов, уровень экспрессии которых выше 10 RPKM содержат большое число одиночных сайтов связывания, редко организованных в кластеры. Гены, вовлеченные в развитие немелкоклеточного рака легкого, в CDS mRNA содержат одиночные и множественные сайты связывания miRNA вне зависимости от уровня экспрессия их mRNA в легких. Особенностью структурной организации сайтов связывания в CDS mRNA генов, ассоциированных с НМРЛ и БА, является меньшее содержание кластеров по сравнению с 5'UTR и 3'UTR. При поиске сайтов связывания miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии инфаркта миокарда с RPKM выше 30, половина сайтов связывания (31 СС из 60 выявленных), локализованы в CDS mRNA. У генов, вовлеченных в развитие ИМ с уровнем экспрессии в сердечной мышце выше 30 RPKM, характерно отсутствие полисайтов связывания.

В mRNA ортологичных генов изученных видов животных идентифицированы сайты связывания miR-1322, которые кодируют полиглутамин и полисерин. Количество полиаминокислот изменяется в процессе эволюции видов, и существует тенденция к увеличению длины полиаминокислот в белках в ходе эволюции. Выявленные изменения количества полисайтов miR-1322 могут влиять на восприимчивость различных видов к болезням, ассоциированных с описанными генами. Проведенный анализ позволяет расширить имеющиеся представления о роли miR-1322 в

ключевых биологических процессах и внести общий вклад в изучение заболеваний, связанных с генами *AR, ASCL1, ATN1, ATXN1, ATXN2, ATXN7, BCL6B, HTT, KCNN3, MAGI1, MEF2A, MLLT3, MN1, POLG, THAP11, TBP*. miR-1322 может участвовать в регуляции экспрессии генов-мишеней, связанных с развитием некоторых нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. При подборе экспериментальной модели животных для дальнейшего изучения регуляции экспрессии изученных генов посредством miR-1322 рекомендуется учитывать изменение количества СС miR-1322. Выявление сайтов связывания miRNA в mRNA ортологичных генов необходимо для лучшего понимания закономерностей регуляции их экспрессии в процессе эволюции.

Нуклеотидные последовательности некоторых miRNA взаимодействуют с полной комплементарностью с CDS mRNA-мишеней. Предполагается, что такие miRNA могут использовать сходные механизмы для подавления экспрессии mRNA что и малая интерферирующия RNA. Консервативность полностью комплементарных сайтов связывания miRNA в mRNA генов показана для ортологов. Следовательно, регуляция расмотренных генов-мишеней miRNA возникла и сохранялась в течение эволюции у разных видов животных. СС некоторых miRNA консервативны у приматов, тогда как другие выявлены и у более ранних предков.

Выявлены несколько miRNA, связывающихся ассоциациями с mRNA генов, участвующих в развитии социально значимых заболеваний. Необходимо изучение таких ассоциаций для лучшего понимания механизмов патогенеза заболеваний.

СС некоторых miRNA организованы в кластеры в mRNA генов, располагаясь с наложением нуклеотидных последовательностей. Биологическим смыслом расположения СС miRNA в кластерах, вероятно, является компактизация последовательности mRNA, являющейся мишенью нескольких miRNA а также возникновение конкуренции молекул miRNA за их связывание с геном-мишенью. При близких значениях величин ΔG и ΔG/ΔGm СС miRNA можно предположить, что при равной концентрации miRNA с большей вероятностью с mRNA генов- мишеней свяжутся те miRNA, которые имеют большее число СС на участке. При схожих характеристиках взаимодействия miRNA с mRNA и степени их комплементарности, преимущество при связывании у miRNA с наивысшей концентрацией. Кластеры и множественные СС располагаются, преимущественно, в 3'UTR и 5'UTR. Отсутствие или небольшое число кластеров в CDS области можно объяснить тем, что CDS несет информацию о структуре белка, а наличие кластеров СС miRNA придает регуляторную роль (дополнительный регуляторный элемент, что характерно для 3'UTR и 5'UTR) последовательности mRNA.

Один ген может быть мишенью нескольких miRNA, и одна miRNA может взаимодействовать с несколькими альтернативными генами. Поэтому измерение в качестве маркеров для диагностики уровня экспрессии одного гена или одной miRNA крайне затруднительно. Для того чтобы добиться большей

адекватности проведения молекулярной диагностики заболеваний, стоит учитывать влияние miRNA на экспрессию альтернативных генов-мишеней. На основании проведенного анализа, в качестве биомаркеров для диагностики НМРЛ, БА и ИМ предлагается использовать: ассоциации одной miRNA с одним геном-мишенью и высоким значением энергии взаимодействия равной -115 кДж/моль и выше; ассоциации одного гена-мишени с несколькими miRNA с сайтами связывания с кластерной организацией; ассоциации одной miRNA и нескольких ее генов-мишеней. Идея использования специфичных комбинаций miRNA наряду со стандартными лабораторными исследованиями направлена на разработку наиболее ранних методов диагностики, повышение точности постановки диагноза, а также подбор и мониторинг эффективности проводимой терапии. Использование выявленных ассоциаций miRNA–mRNA, вероятно, расширит понимание механизмов регуляции экспрессии отдельных генов, вовлеченных в развитие БА, НМРЛ и ИМ на посттранскипционном уровне.

В результате проведённых исследований можно сделать следующие выводы:

1. В формате для программы MirTarget создана база нуклеотидных последовательностей 6272 miRNA человека, содержащая 2565 последовательности из базы данных miRBase и 3707 последовательностей, открытых Londin и др, 2015. Создана база нуклеотидных последовательностей 75 генов, участвующих в болезни Альцгеймера, 237 генов, ассоциированных с инфарктом миокарда и 115 генов, вовлеченные в патогенез немелкоклеточного рака легкого.

2. Определены характеристики взаимодействия 6272 miRNA и 115 генов, участвуюших в развитии немелкоклеточного рака легкого, из которых 64 в CDS mRNA имеют сайты связывания miRNA. Из них установлены ассоциации 40 miRNA и 15 генов-мишеней, свободная энергия взаимодействия которых составляет - 125 кДж/моль и выше.

3. Установлены 23 гена, участвующие в развитии инфаркта миокарда и имеющие сайты связывания miRNA в CDS mRNA. Из них только одна miRNA и одна mRNA взаимодействует с высоким значением свободной энергии равной - 134 кДж/моль.

4. Из изученных 75 генов, участвующих в развитии болезни Альцгеймера выявлены 35 генов, которые имеют сайты связывания miRNA в CDS mRNA. Из них ассоциации 11 miRNA и 8 mRNA имеют свободную энергию взаимодействия равную - 125 кДж/моль и выше.

5. Выявлено изменение числа сайтов связывания miR-1322 в CDS mRNA ортологичных генов животных. miR-1322 может участвовать в регуляции экспрессии кандидатных генов некоторых нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний.

6. Из изученных 17508 mRNA генов человека найдены 32 гена с полностью комплементарными сайтами связывания 41 miRNA из изученных 2565 miRNA в CDS, для которых выявлена филогенетическая консервативность.

Все поставленные в диссертации задачи выполнены.

Рекомендации по использованию полученных результатов

Выявленные ассоциации miRNA в CDS mRNA предлагаются для дальнейшей экспериментальной валидации этих miRNA и генов-мишеней, вовлеченных в развитие инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера и немелкоклеточного рака легкого.

Поскольку БА, НМРЛ и ИМ являются полигенными заболеваниями, то выделить отдельный ген или одну miRNA, специфические к этим заболеваниям не представляется возможным. Поэтому на основании проведенного анализа были рекомендованы несколько ассоциаций miRNA и mRNA кандидатных генов болезни Альцгеймера, немелкоклеточного рака легкого и инфаркта миокарда. Ассоциации предложены на основе проведенного сравнительного анализа СС miRNA в CDS mRNA генов с учетом величины свободной энергии связывания и высокой величины $\Delta G/\Delta G_m$ (более 85%).

В качестве специфичных ассоциаций mRNA – miRNA генов, вовлеченных в развитие болезни Альцгеймера предложены miRNA с сайтами связывания в CDS mRNA генов: *ABCA7* и ID02728.5p-miR, ID00642.3p-miR; *ACE* и ID00522.5p-miR, ID02294.5p-miR, ID01879.5p-miR; *APP* и ID01171.3p-miR, *CHRNA7* и ID01016.5p-miR; *CHRNB2* и ID03113.3p-miR, ID00065.3p-miR, *CST3* и miR-3196, *CYP46A1* и ID00202.5p-miR, *EPHA1* и ID02650.3p-miR; *IRS1* и ID02344.3p-miR; *GRIN2B* и ID00061.3p-miR, miR-2392; *LRP1* и ID01709.3p-miR, miR-6879-5p; *MAPT* и ID01128.5p-miR, ID01128.5p-miR; *NCAM1* и ID03044.3p-miR, *PIN1* и ID02643.3p-miR, *SORL1* и ID00430.3p-miR, miR-609; *TOMM40* и ID01879.5p-miR, ID02229.3p-miR.

В качестве специфичных ассоциаций mRNA – miRNA генов, вовлеченных в развитие немелкоклеточного рака легкого предложены miRNA с сайтами связывания в CDS mRNA генов: *ADAM23* и ID03064.3p-miR, ID02769.5p-miR; *AKT2* и miR-658; *B3GNT3* и ID01774.5p-miR, miR-4763-3p; *BRD4* и ID01641.3p-miR, miR-6772-5p; *CAV2* и ID01062.3p-miR; *CCND1* и miR-877-3p, ID01352.3p-miR, ID03238.3p-miR, ID00777.3p-miR; *CDH5* и ID01428.3p-miR; *E2F3* и ID00296.3p-miR, ID01106.5p-miR, ID01702.3p-miR, ID01895.5p-miR, ID02064.5p-miR, ID02084.3p-miR; *E2F3* и ID02611.3p-miR, ID03332.3p-miR, ID01310.3p-miR; *GPC3* и ID00296.3p-miR, ID01641.3p-miR, ID01702.3p-miR; *MTA1* и ID01702.3p-miR; *RAF1* и miR-6808-5p; *RXRB* и ID02692.3p-miR. А также ассоциацию ID01310.3p-miR и ID03332.3p-miR с генами *RXRB, SHOX2;*

В качестве специфичных ассоциаций mRNA – miRNA генов, участвующих в инфаркте миокарда предложены miRNA с сайтами связывания в CDS mRNA генов: *ALDH2* и ID03270.3p-miR, miR-4687-3p; *APOE* и ID03261.5p-miR; *C3* и ID02632.5p-miR, ID03398.5p-miR, ID03402.5p-miR; *COL4A2* и miR-6851-5p; *FN1* и miR-6756-5p, miR-3926; *MMP-2* и miR-1285-5p; *SERPINE1* и miR-4758-3p; *SMTN* и miR-3940-5p, miR-4687-3p, ID00564.5p-miR ID00956.5p-miR; *SOD1* и ID03076.5p-miR; *SORBS2* и miR-761; *STAT3* и ID00857.5p-miR; *TNNI3* и ID01282.3p-miR; *VEGFA* и ID00678.3p-miR; *XBP1* и ID01804.3p-miR, ID00643.3p-miR, miR-6068.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Изменения в Приказ Министра здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от 21 мая 2015 № 367 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и заболеваний, представляющих опасность для окружающих» - 2017, август -2.

2 Киселева Я.Ю., Радько С.П., Бодоев Н.В. Циркулирующие микроРНК как диагностические маркеры онкологических заболеваний // Вестник российской академии естественных наук - 2015. - С.79-85.

3 Иващенко А.Т., Ниязова Р.Е. МикроРНК. Функция, Свойства, Применение // Қазақ Университеті - 2016. - 270 с.

4 Bartel P. MicroRNAs: Genomics, Review Biogenesis, Mechanism, and Function// Cell. - 2004. - Vol. 116. - P. 281-297.

5 Wang J., Chen J., Sen S. MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics// Cell. Physiol. - 2016. - Vol. 231. - P. 25-30.

6 Hausser J., Syed A.P., Bilen B., Zavolan M. Analysis of CDS-located miRNA target sites suggests that they can effectively inhibit translation // Genome Res. - 2013. - Vol. 23. - P. 604-615.

7 Makalowski W., Zhang J., Boguski M. Comparative analysis of 1196 orthologous mouse and human full-length mRNA and protein sequences // Genome Res. - 1996. - Vol. 6. - P. 846-857.

8 Bartel D.P. Metazoan microRNAs // Cell. – 2018 – Vol.173, № 1. - P. 20-51.

9 Weber J.A., Zhang S., Baxter D.H., et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids // Clin Chem. - 2010. - Vol. 56, № 11. - P. 1733-1741.

10 Ludwig N., Leidinger P., Becker K., et al. Distribution of miRNA expression across human tissues // Nucleic Acids Res. - 2016. - Vol. 44, № 8. - P. 3865-3877.

11 Rodriguez A., Griffiths-Jones S., Ashurst J.L., Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units // Genome Res. - 2004. - Vol. 14, № 10A. - P. 1902-1910.

12 Han J., Yeom K.H., Lee Y., et al. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing // Genes Dev. - 2004. - Vol. 18, № 24. - P. 3016-3027.

13 Lytle J.R., Yario T.A., Steitz J.A. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5′ UTR as in the 3′ UTR // Proc. Natl Acad. Sci. - 2007. - Vol. 104. - P. 9667-9672.

14 Tay Y., Zhang J., Thomson A.M., Lim B., Rigoutsos I. MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation // Nature. - 2008. - P. 1124-1129.

15 Ardekani A.M., Naeini M.M. The Role of microRNAs in human diseases // Avicenna J Med Biotechnol. - 2010. - Vol. 2, № 4. - P. 161-179.

16 Felden B, Gilot D. Modulation of bacterial sRNAs activity by epigenetic modifications: inputs from the eukaryotic miRNAs // Genes (Basel). - 2018. - Vol. 10, № 1. - P. 1-16.

17 Torrezan G.T., Ferreira E.N., Nakahata A.M., et al. Recurrent somatic mutation in DROSHA induces microRNA profile changes in Wilms tumour // Nat Commun. - 2014. - Vol. 2014, № 5. - P. 1-10.

18 Sun G., Yan J., Noltner K., et al. SNPs in human miRNA genes affect biogenesis and function // RNA. - 2009. - Vol. 15, № 9. - P.1640-1651.

19 Cammaerts S., Strazisar M., De Rijk P., Del Favero J. Genetic variants in microRNA genes: impact on microRNA expression, function, and disease // Front Genet. - 2015. - Vol. 6, № 186. - P. 1-12.

20 Galka-Marciniak P, Urbanek-Trzeciak M.O., Nawrocka P.M., et al. Somatic Mutations in miRNA genes in lung cancer-potential functional consequences of non-coding sequence variants // Cancers (Basel). - 2019. - Vol. 11, № 793. - P. 1-26.

21 Marcinkowska M., Krzyzosiak W.J., Szymanski M., Kozlowski P. Copy number variation of microRNA genes in the human genome // BMC Genomics. - 2011. - Vol. 12, № 183. - P. 1-9.

22 Wojciechowska A., Braniewska A., Kozar-Kamińska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease // Adv Clin Exp Med. - 2017. - Vol. 26, № 5. - P. 865-874.

23 Budak H., Kantar M., Bulut R., Alptekin B. MicroRNA nomenclature and the need for a revised naming prescription // Brief Funct Genomics - 2016. - Vol. 15, № 1. - P. 65-71.

24 Desvignes T., Berezikov E., Batzel P., et al. miRNA Nomenclature: a view incorporating genetic origins, biosynthetic pathways, and sequence variants // Trends Genet. - 2015. - Vol. 31, № 11. - P. 613-626.

25 Fendler A., Stephan C., Yousef G.M., Kristiansen G., Jung K. The translational potential of microRNAs as biofluid markers of urological tumors // Nat Rev Urol. - 2016. - Vol. 13. - P. 734-752.

26 Ge Q., Zhou Y., Lu J., et al. miRNA in plasma exosome is stable under different storage conditions // Molecules. - 2014. - Vol. 19, № 2. - P. 1568-1575.

27 Simkin M., Abdalla M., El-Mogy M., et al. Differences in the quantity of DNA found in the urine and saliva of smokers versus nonsmokers: implications for the timing of epigenetic events // Epigenomics. - 2012. - Vol. 4. - P. 343-352.

28 Glinge C., Clauss S., Boddum K., et al. Stability of circulating blood-based microRNAs - Pre-Analytic Methodological Considerations // PLoS One. - 2017. - Vol. 12, № 2. - P. 1-16.

29 Leshkowitz D., Horn-Saban S., Parmet Y., Feldmesser E. Differences in microRNA detection levels are technology and sequence dependent // RNA. - 2013. - Vol. 19, № 4, P. 527-538.

30 Sourvinou I. S., Markou A., Lianidou E.S. Quantification of circulating miRNAs in plasma: effect of preanalytical and analytical parameters on their isolation and stability // J. Mol. Diagn. - 2013 - Vol. 15. - P. 827-834.

31 Lee I., Baxter D., Lee M. Y., et al. The Importance of standardization on analyzing circulating RNA // Mol Diagn Ther. - 2017. - Vol. 21, № 3. - P. 259-268.

32 Witwer K.W., Buzás E.I., Bemis L.T., et al. Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research // J Extracell Vesicles. - 2013. - P. 1-25.

33 Shalaby T., Fiaschetti G., Baumgartner M., Grotzer M.A. MicroRNA signatures as biomarkers and therapeutic target for CNS embryonal tumors: the pros and the cons // Int J Mol Sci. - 2014. - Vol. 15, № 11. - P. 21554-21586.

34 Safieh E., Faezeh G. et al. Circulating microRNAs as novel potential diagnostic and prognosis biomarkers in pancreatic cancer // Current pharmaceutical design. - 2016. - Vol. 22, № 42. - P. 6444-6450.

35 Akhtar M.M., Micolucci L., Islam M.S., et al. Bioinformatic tools for microRNA dissection // Nucleic Acids Res. - 2016. - Vol. 44. - P. 24-44.

36 Benjamin E.J., Blaha M.J., Chiuve S.E., et al. Heart disease and stroke statistics-2017 update: A report from the american heart association // Circulation. - 2017. - Vol. 135, № 10. - P. 1-775.

37 Ferlay J., Colombet M., et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods // International Journal of Cancer. - 2019. - Vol. 144, № 8. - P. 1941 -1953.

38 Prince M., Wimo A., Guerchet M., et al. Alzheimer's Disease International; World Report 2015. The Global Impact of Dementia. An analysis of prevalence, incidence, costs and trends. World Alzheimer's Report London: 2015. - 24 p.

39 Reitz C. Genetic diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease: challenges and opportunities // Expert Rev Mol Diagn. - 2015. - Vol. 15, № 3. - P. 339-348.

40 Fernandez M.A., Klutkowski J.A., Freret T., Wolfe M.S. Alzheimer presenilin-1 mutations dramatically reduce trimming of long amyloid β-peptides (Aβ) by γ-secretase to increase 42-to-40-residue Aβ // J Biol Chem. - 2014. - Vol. 289, № 45. - P. 31043-31052.

41 Musiek E.S., Holtzman D.M. Three dimensions of the amyloid hypothesis: time, space and 'wingmen'// Nat Neurosci. - 2015. - Vol. 18, № 6. - P. 800-806.

42 Kametani F., Hasegawa M. Reconsideration of amyloid hypothesis and Tau hypothesis in Alzheimer's disease // Front Neurosci. - 2018. - Vol. 12, № 25. - P. 1-12.

43 Iqbal K., Alonso Adel C., Chen S., et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies // Biochim Biophys Acta - 2005. - Vol. 1739. - P. 198-210.

44 Serrano-Pozo A., Frosch M.P., Masliah E., Hyman B.T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease // Cold Spring Harb Perspect Med. - 2011. - Vol. 1, № 1. - P. 1-23.

45 Giri M, Zhang M, Lü Y. Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status // Clin Interv Aging. - 2016. - Vol. 11. - P. 665-681.

46 Dai M.H., Zeng L.D., Zheng H., Zhang Y. The genes associated with early-onset Alzheimer's disease // Oncotarget. - 2017 - Vol. 9, № 19. - P. 15132-15143.

47 Cai Y., An S.S., Kim S. Mutations in presenilin 2 and its implications in Alzheimer's disease and other dementia-associated disorders // Clin Interv Aging. - 2015. - Vol. 10. - P. 1163-1172.

48 Cruts M., Theuns J., Van Broeckhoven C. Locus-specific mutation databases for neurodegenerative brain diseases // Hum Mutat. - 2012. - Vol. 33, № 9. - P. 1340-1344.

49 Sun Q., Xie N. et al. Alzheimer's disease: From genetic variants to the distinct pathological mechanisms // Frontiers in Molecular Neuroscience. - 2017. - Vol. 10, № 10. - P. 1-14.

50 Lee J.C., Kim S.J., Hong S., Kim Y. Diagnosis of Alzheimer's disease utilizing amyloid and tau as fluid biomarkers // Exp Mol Med. - 2019. - Vol. 51, № 53. - P. 1-10.

51 Molinuevo J.L., Ayton S., Batrla R., et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers // Acta Neuropathol. - 2018. - Vol. 136, № 6. - P.821-853.

52 Hansson O., Lehmann S., Otto M., Zetterberg H., Lewczuk P. Advantages and disadvantages of the use of the CSF Amyloid β (Aβ) 42/40 ratio in the diagnosis of Alzheimer's Disease // Alzheimers Res Ther. - 2019. - Vol. 11, № 1. - P. 1-15.

53 Cole S.L., Vassar R. The Alzheimer's disease β-secretase enzyme, BACE1 // Mol Neurodegeneration. 2017 - Vol. 22, № 2. - P. 1-25.

54 Outeiro T.F., Koss D.J., Erskine D., et al. Dementia with Lewy bodies: an update and outlook // Mol Neurodegener. - 2019. - Vol. 14, № 5. - P. 1-18.

55 Arai T., Hasegawa M. et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis // Biochemical and Biophysical Research Communications. - 2006. - Vol. 351, № 3. - P. 602-611.

56 Jackson K., Barisone G.A., Diaz E., et al. Amylin deposition in the brain: a second amyloid in Alzheimer disease? // Ann Neurol. - 2013. - Vol. 74. - P. 517-526.

57 Schultz N., Janelidze S., Byman E., et al. Levels of islet amyloid polypeptide in cerebrospinal fluid and plasma from patients with Alzheimer's disease // PLoS ONE. - 2019. - Vol. 14, № 6. - P. 1-13.

58 Perl D. Neuropathology of Alzheimer's disease // Mt Sinai J Med. - 2010. - Vol. 77, № 1. - P. 32-42.

59 Baldacci F., Garaci F., Lista S., et al. Biomarker-guided classification scheme of neurodegenerative diseases // J Sport Health. - 2016. - Vol. 5. - P. 383-387.

60 Hampel H., Lista S. et al. Perspective on future role of biological markers in clinical therapy trials of Alzheimer's disease: A long-range point of view beyond 2020 // Biochemical Pharmacology. - 2014. - Vol. 88, № 4. - P. 426-449.

61 Blennow K., Dubois B., Lewczuk P., de Leon M.J., Fagan A.M., Hampel H. Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease // Alzheimers Dement. - 2015. - Vol. 11, № 1. - P. 58-69.

62 Silvestro S., Bramanti P., Mazzon E. Role of miRNAs in Alzheimer's Disease and Possible Fields of Application // Int. J. Mol. Sci. - 2019. - Vol. 20, № 16. - P. 1-26.

63 Hyman B.T., Phelps C.H., Beach T.G., et al. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease // Alzheimers Dement. - 2012. - Vol. 8, № 1. - P. 1-13.

64 Chang W.S., Wang Y.H., Zhu X.T., Wu C.J. Genome-Wide Profiling of miRNA and mRNA Expression in Alzheimer's Disease // Med Sci Monit. - 2017. - Vol. 23. - P. 2721-2731.

65 Bekris L.M., Leverenz J.B. The biomarker and therapeutic potential of miRNA in Alzheimer's disease // Neurodegener Dis Manag. - 2015. - Vol. 5, № 1. - P. 61-74.

66 Pang X., Zhao Y., Wang J., et al. The Bioinformatic Analysis of the Dysregulated Genes and MicroRNAs in Entorhinal Cortex, Hippocampus, and Blood for Alzheimer's Disease // Biomed Res Int. - 2017. - Vol. 2017. - P. 1-16.

67 Izadpanah M., Seddigh A., Ebrahimi Barough S., et al. Potential of extracellular vesicles in neurodegenerative diseases: diagnostic and therapeutic indications // J Mol Neurosci. - 2018. - Vol. 66, № 2. - P. 172-179.

68 Park J.S., Kim S. Y., Kim S.T., et al. A novel kit for early diagnosis of Alzheimer's disease using a fluorescent nanoparticle imaging // Sci Rep. - 2019. - Vol. 9, № 1. - P. 1-12.

69 Jeong S. Molecular and cellular basis of neurodegeneration in Alzheimer's disease // Molecules and Cells. -2017. - Vol. 40, № 9. - P. 613-620.

70 Adlimoghaddam A., Neuendorff M., Roy B., Albensi B. C. A review of clinical treatment considerations of donepezil in severe Alzheimer’s disease // CNS Neurosci. Ther. - 2018. - Vol. 24. - P. 876-888.

71 Zappa C., Mousa S.A. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances // Transl Lung Cancer Res. - 2016. - Vol. 5. - P. 288-300.

72 Inamura K. Lung cancer: understanding its molecular pathology and the 2015 WHO classification // Front Oncol. - 2017. - Vol. 7, № 193. - P. 1-7.

73 Guz M., Rivero-Müller A., Okoń E., et al. MicroRNAs-role in lung cancer // Dis Markers. - 2014. - Vol. 2014. - P. 1-13.

74 Florczuk M., Szpechcinski A., Chorostowska-Wynimko J. miRNAs as biomarkers and therapeutic targets in non-small cell lung cancer: Current Perspectives // Target Oncol. - 2017. - Vol. 12, № 2. - P. 179-200.

75 Lindeman N.I., Aisner D.L., Cagle T.C. et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors guideline from the college of American pathologists, the international association for the study of lung cancer, and the association for molecular pathology // Archives of Pathology and Laboratory Medicine. - 2018. - Vol. 13, № 3. - P. 323-358.

76 Molina R., Filella X., Augé J.M., et al. Tumor Markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis // Tumor Biol. - 2003. - Vol. 24. - P. 209-218.

77 Su Z., Dias-Santagata D., Duke M. et al. A platform for rapid detection of multiple oncogenic mutations with relevance to targeted therapy in non-small-cell lung cancer // J Mol Diagn. - 2011. - Vol. 13, № 1. - P. 74-84.

78 Li T., Kung H.J., Mack P.C., Gandara D.R. Genotyping and genomic profiling of non-small-cell lung cancer: implications for current and future therapies // J Clin Oncol. - 2013. - Vol. 31, № 8. - P. 1039-1049.

79 Gandara D.R., Li T., Mack P.C., et al. Evolving treatment algorithms for advanced non-small-cell lung cancer: 2009 looking toward 2012 // Clin Lung Cancer. - 2009. - Vol. 10. - P. 392-394.

80 Shepherd F.A., Rodrigues P. J, Ciuleanu T., et. al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer // N Engl J Med. - 2005. - Vol. 353. - P. 123-132.

81 Keedy V.L., Somerfield M.R., Temin S., et. al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation testing for patients with advanced non-small-cell lung cancer considering first-line EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy // J Clin Oncol. - 2011. - Vol. 29. - P. 2121-2127.

82 Latifkar A., Hur Y.H., Sanchez J.C., et. al. New insights into extracellular vesicle biogenesis and function // J. Cell Sci. - 2019. - Vol. 132, № 13. - P. 1-9.

83 Willeit P., Zampetaki A., Dudek K., et al. Circulating MicroRNAs as novel biomarkers for platelet activation // Circ. Res. - 2013. - Vol. 112. - P. 595-600.

84 Singh R., Ramasubramanian B., Kanji S., et al. Circulating microRNAs in cancer: Hope or hype? // Cancer Lett. - 2016. - Vol. 381. - P. 113-121.

85 Bottani M., Banfi G., Lombardi G. Perspectives on miRNAs as epigenetic markers in osteoporosis and bone fracture risk: A step forward in personalized diagnosis // Front. Genet. - 2019. - Vol. 10. - P. 1-25.

86 Yu Y., Min Z., Linhong, M., Zhou Z., et. al. Hypoxia-induced exosomes promote hepatocellular carcinoma proliferation and metastasis via miR-1273f transfer // Exp. Cell Res. - 2019. - Vol. 385. - P. 1-10.

87 Foss K.M., Sima C., Ugolini D., et. al. miR-1254 and miR-574-5p: Serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer // J. Thorac. Oncol. - 2011. - Vol. 6. - P. 482-488.

88 Bulgakova O., Zhabayeva D., Kussainova A., et al. miR-19 in blood plasma reflects lung cancer occurrence but is not specifically associated with radon exposure // Oncol Lett. - 2018. - Vol. 15, № 6. - P. 8816-8824.

89 Keller A., Backes C., Leidinger P., et al. Next-generation sequencing identifies novel microRNAs in peripheral blood of lung cancer patients //Mol. BioSyst. - 2011. - Vol. 7. - P. 3187-3199.

90 Leidinger P., Brefort T., Backes C., et al. High-throughput qRT-PCR validation of blood microRNAs in non-small cell lung cancer // Oncotarget. - 2016. - Vol. 7, P. 4611-4623.

91 Leidinger P., Galata V., Backes C., et al. Longitudinal study on circulating miRNAs in patients after lung cancer resection // Oncotarget. - 2015. - Vol. 6. - P. 16674-16685.

92 Zaporozhchenko I.A., Morozkin E.S., Ponomaryova A.A., et al. Profiling of 179 miRNA expression in blood plasma of lung cancer patients and Cancer-free individuals // Sci. Rep. - 2018. - Vol. 8. - P. 1-13.

93 Zaporozhchenko I.A., Morozkin E.S., Skvortsova T.E., et al. Plasma miR-19b and miR-183 as Potential Biomarkers of Lung Cancer // PLoS ONE. - 2016. - Vol. 11. - P. 1-13.

94 Yang J.S., Li B.J., Lu H.W., Chen, Y., et al. Serum miR-152, miR-148a, miR-148b, and miR-21 as novel biomarkers in non-small cell lung cancer screening // Tumour Biol. - 2015. - Vol. 36. - P. 3035-3042.

95 Yuxia M., Zhennan T., Wei Z. Circulating miR-125b is a novel biomarker for screening non-small-cell lung cancer and predicts poor prognosis // J. Cancer Res. Clin. Oncol. - 2012. - Vol. 138. - P. 2045-2050.

96 Zhu W.- Y., Luo B., An J.- Y., et al. Differential expression of miR-125a-5p and let-7e predicts the progression and prognosis of non-small cell lung cancer // Cancer Investig. - 2014. - Vol. 32. - P. 394-401.

97 Nadal E., Truini A., Nakata A., et al. Novel Serum 4-microRNA signature for lung cancer detection // Sci. Rep. - 2015. - Vol. 5. - P. 1-9.

98 Sanfiorenzo C., Ilie M.I., Belaid A., et al. Two panels of plasma microRNAs as non-invasive biomarkers for prediction of recurrence in resectable NSCLC // PLoS ONE. - 2013. - Vol. 8, № 1. - P. 1-8.

99 Guo J., Meng R., Yin Z., Li P., et al. A serum microRNA signature as a prognostic factor for patients with advanced NSCLC and its association with tissue microRNA expression profiles // Mol. Med. Rep. - 2016. - Vol. 13. P. 4643-4653.

100 Li W.Q., Wang Y. Y., Zhang J.P., Li X.Z., Sun L. MicroRNA-422a functions as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer through SULF2-mediated TGF-beta/SMAD signaling pathway // Cell Cycle. - 2019. - Vol. 18. - P. 1727-1744.

101 Chen X., Xu Y., Liao X., Liao R., et al. Plasma miRNAs in predicting radiosensitivity in non-small cell lung cancer // Tumor Biol. - 2016. - Vol. 37. - P. 11927-11936.

102 Boeri M., Verri C., Conte D., Roz L., et al. MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2011. - Vol. 108. - P. 3713-3718.

103 Gao F., Chang J., Wang H., et al. Potential diagnostic value of miR-155 in serum from lung adenocarcinoma patients // Oncol. Rep. - 2014. - Vol. 31. - P. 351-357.

104 Tang D., Shen Y., Wang M., Yang R., et al. Identification of plasma microRNAs as novel noninvasive biomarkers for early detection of lung cancer // Eur. J. Cancer Prev. - 2013. - Vol. 22. - P. 540-548.

105 Benjamin E.J., Muntner P., Alonso A., et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the american heart association // Circulation. - 2019. - Vol. 139, № 10. - P.e56-e528.

106 Fox C.S., Coady S., Sorlie P.D., et al. Increasing cardiovascular disease burden due to diabetes mellitus - the framingham heart study // Circulation. - 2007. - Vol. 115. - P. 1544-1550.

107 Sun Y. Myocardial repair/remodelling following infarction: Roles of local factors // Cardiovasc Res. - 2009. - Vol. 81. - P. 482-490.

108 Buja L.M. The pathobiology of acute coronary syndromes: clinical implications and central role of the mitochondria // Tex Heart Inst J. - 2013. - Vol. 40, № 3. - P.221-228.

109 Lin M.J., Chen C. Y., Lin H.D., Wu H.P. Impact of diabetes and hypertension on cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease receiving percutaneous coronary intervention // BMC Cardiovasc Disord. - 2017. - Vol. 17, № 12. - P.1-9.

110 Morris F., Brady W.J. ABC of clinical electrocardiography: Acute myocardial infarction-Part I // BMJ. - 2002. - Vol. 324, № 7341. - P.831-834.

111 Bodor G.S. Biochemical Markers of Myocardial Damage // EJIFCC. - 2016. - Vol. 27, № 2, P. 95-111.

112 Marfella R., Di Filippo C., Potenza N., et al. Circulating microRNA changes in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy: responders vs nonresponders // Eur J Heart Fail. - 2013. - Vol. 15. - P. 1277-1288.

113 Wang R., Li N., Zhang Y., et al. Circulating microRNAs are promising novel biomarkers of acute myocardial infarction // Intern Med. - 2011. - Vol. 50, № 17. - P. 1789-1795.

114 Bauters C., Kumarswamy R., Holzmann A., et al. Circulating mir-133a and mir-423-5p fail as biomarkers for left ventricular remodeling after myocardial infarction // Int J Cardiol. - 2013. - Vol. 168 - P. 837-840.

115 Liu X., Fan Z., Zhao T., et al. Plasma mir-1, mir- 208, mir-499 as potential predictive biomarkers for acute myocardial infarction: an independent study of Han population // Exp Gerontol. - 2015. - Vol. 72. - P. 230-238.

116 Zhou S.S., Jin J.P., Wang J.Q., et al. miRNAs in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets and challenges // Acta Pharmacol Sin. - 2018. - Vol. 39, № 7. - P. 1073-1084.

117 Townley-Tilson W.H., Callis T.E., Wang D. MicroRNAs 1, 133, and 206: Critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease // Int J Biochem Cell Biol. - 2010. - Vol. 42. - P. 1252-1255.

118 Cheng Y., Tan N., Yang J., et al. A translational study of circulating cell-free microRNA-1 in acute myocardial infarction // Clin Sci (Lond). - 2010. - Vol. 119. - P. 87-95.

119 Widera C., Gupta S.K., Lorenzen J.M., Bang C. et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome // J Mol Cell Cardiol. - 2011. - Vol. 51. - P. 872-875.

120 Zhang Y., Liu T., Liu Y.J., Zhang H., Yang S.J. Plasma microRNA-21 is a potential diagnostic biomarker of acute myocardial infarction // Eur Rev Med Pharmacol Sci. - 2016. - Vol. 20. - P. 323-329.

121 Coenen-Stass A.M.L., Wood M.J.A., Roberts T.C. Biomarker potential of extracellular miRNAs in duchenne muscular dystrophy // Trends Mol Med. - 2017. - Vol. 23. - P. 989-1001.

122 Creemers E.E., Tijsen A.J., Pinto Y.M. Circulating microRNAs: Novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease? // Circ Res. - 2012. - Vol. 110. - P. 483-495.

123 Chen Z., Chen L., Lin K., Zhang Q., Chen Yu., Rao L. MicroRNAs in acute myocardial infarction: Evident value as novel biomarkers? // Anatol J Cardiol. - 2018. - Vol. 19, № 2. - P. 140-147.

124 Boon R.A., Dimmeler S. MicroRNAs in myocardial infarction // Nat. Rev. Cardiol. - 2015. - Vol. 12. - P. 135-142.

125 Londin E., Loher P., Telonis A.G., et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs // Proc Natl Acad Sci USA. - 2015. - Vol. 112, № 10. - P. E1106-1115.

126 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes // Bioinformation. - 2014. - Vol. 10, №7. - P. 423-427.

127 Пыркова А.Ю., Иващенко А.Т., Берилло О.А. Паралеллизация сканирования генов на кластерной платформе: программа MirTarget // Вестник КазНУ. Серия математика, механика, информатика. - 2014. - Т. 4, № 83. - С. 68-75.

128 Kool E.T. Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication // Annual Rev of Biophysics and Biomolecular Structure. - 2001. - Vol. 30. - P. 1-22.

129 Leontis N.B., Stombaugh J., Westhof E. The non-Watson- Crick base pairs and their associated isostericity matrices // Nucleic Acids Research. - 2002. - Vol. 30, № 16. - P. 3497-3531.

130 Brennecke J., Stark A., Russell R.B., Cohen S.M. Principles of microRNA-target recognition // PLoS Biol. - 2005. - Vol. 3, № 3. - P. 0404-0418.

131 Yurikova O.Yu., Bolshoy A. Prediction of miRNA binding sites in genes involved in Alzheimer's disease // International Conference "Modern Molecular-Biochemical Markers in Clinical and Experimental Medicine - Prague, Czech Republic. - 2018. - P. 38-39.

132 Chen J., Du G., Wang Y., Shi L., Mi J., Tang G. Integrative analysis of mRNA and miRNA expression profiles in oral lichen planus: preliminary results // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. - 2017. - Vol. 124. - P. 390-402.

133 Юрикова О.Ю. Взаимодействие miRNA с 5'UTR mRNA генов, участвующих в развитии немелкоклеточного рака легкого // Современная наука: проблемы, идеи, тенденции. - г.София, Болгария. - 2019. - 12 с.

134 Юрикова О.Ю., Атамбаева Ш.А., Иващенко А.Т. Взаимодействие miRNA с CDS mRNA генов, участвующих в развитии немелкоклеточного рака легкого // VII Международная научно-практическая конференция «Биотехнология: наука и практика. - Севастополь. - 2019. - Т. 30, № 3. - С. 570-573.

134 Yurikova O.Yu. Interaction of miRNA with 3'UTR mRNA of genes involved in non-small cell lung cancer development // New research: problems and prospects. - Prague, Czech Republic. - 2019. - P. 25-33.

136 Атамбаева Ш.А., Ниязова Р.Е., Иващенко А.Т., Юрикова О.Ю., Мукушкина Д.Д. Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA кандидатных генов метаболического синдрома // Вестник КазНУ - 2019. - № 1. - С. 101-113.

137 Иващенко А.Т., Ниязова Р. Е., Атамбаева Ш. А., и др. Выявление ассоциаций miRNA с генами-мишенями участвующими в развитии сердечно-

сосудистых заболеваний // Известия НАН РК Серия биологическая и медицинская. - 2017. - Т. 323, № 5. - С. 39-48.

138 Yurikova O. Yu. The features of miR-1322 binding sites with mRNA orthologs of *ASCL1* gene // IV Международные Фарабиевские чтения. – Казахстан. - 2017. - С. 115-116.

139 Yurikova O., Atambaeva Sh., Bolshoy A., Ivashchenko A. miR-1322 binding sites in mRNAs of genes involved in the development of neurodegenerative and oncological diseases // Вестник КазНУ. - 2017. - Vol. 73, № 4. - P. 67-80.

140 Bobori C. Molecular Genetics of Huntington's Disease // Adv Exp Med Biol. - 2014. - Vol. 822. - P. 59-65.

141 Harjes P. Wanker E.E. The hunt for huntingtin function: interaction partners tell many different stories // Trends Biochem. Sci. - 2003. - Vol. 28. - P. 425-433.

142 Orr H.T., Chung M.Y., Banfi S., et.al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1 // Nat. Genet. - 1993. - Vol. 4. - P. 221-226

143 Yurikova O. Yu., Atambaeva Sh. A., Bolshoy A. A., Ivashchenko A. T. Features of the binding of miR-1322 with mRNAs of genes encoding polyglutamine-containing proteins // News of the national academy of sciences of the republic of Kazakhstan (Series of biological and medical) - 2019. - Vol. 334, № 4. - P. 27-34.

144 Fournier C., Anquetil V., Camuzat A., et al. Interrupted CAG expansions in ATXN2 gene expand the genetic spectrum of frontotemporal dementias // Acta Neuropathol Commun. - 2018. - Vol. 6, № 41.

145 Sopher B.L., Ladd P.D., Pineda V.V., et al. CTCF regulates ataxin-7 expression through promotion of a convergently transcribed, antisense noncoding RNA // Neuron. - 2011. - Vol. 70, № 6. - P. 1071-1084.

146 La Spada A.R., Taylor J.P. Re peat expansion disease: progress and puzzles in disease pathogenesis // Nat Rev Genet. - 2010. - Vol. 11, № 4. - P. 247-258.

147 Hsieh P.C., Wang C.C., Tsai C.L., Yeh Y.M., Lee Y.S., Wu Y.R. POLG R964C and GBA L444P mutations in familial Parkinson's disease: Case report and literature review // Brain Behav. - 2019. - Vol. 9, № 5. - P. 1-7.

148 Yurikova O., Ivashchenko A., Niyazova R., Atambayeva Sh. The features of miRNA binding sites in CDS of AR mRNA and its orthologs // International conference «Clinical proteomics. Postgenome medicine». - Москва, Россия. - 2017. - P. 190-191.

149 Wang J., Dong L., Xu L., Chu E.S., Chen Y., Shen J., et al. B cell CLL/lymphoma 6 member B inhibits hepatocellular carcinoma metastases in vitro and in mice // Cancer Lett. - 2014. - Vol. 355, № 2. - P. 192-200.

150 Hu S., Cao B., Zhang M., et al. Epigenetic silencing BCL6B induced colorectal cancer proliferation and metastasis by inhibiting P53 signaling // Am J Cancer Res. - 2015. - Vol. 5, № 2. - P. 651-662.

151 Zhang G., Wang Z. MAGI1 inhibits cancer cell migration and invasion of hepatocellular carcinoma via regulating PTEN // Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. - 2011. - Vol. 36, № 5. - P. 381-385.

152 Zhang G., Liu T., Wang Z. Downregulation of MAGI1 associates with poor prognosis of hepatocellular carcinoma // J Invest Surg. - 2012. - Vol. 25, № 2. - P. 93-99.

153 Bergerson R.J., Collier L.S., Sarver A.L., et al. An insertional mutagenesis screen identifies genes that cooperate with Mll-AF9 in a murine leukemogenesis model // Blood. - 2012. - Vol. 119, № 19, P. 4512-4523.

154 Grosveld G.C. MN1, a novel player in human AML // Blood Cells Mol Dis. - 2007. - Vol. 39, № 3. - P. 336-339.

155 Pardee T.S. Overexpression of MN1 confers resistance to chemotherapy, accelerates leukemia onset, and suppresses p53 and Bim induction // PLoS One. – 2012. - Vol. 7, № 8. - P. 1-13.

156 Kong X.Z., Yin R.H., Ning H.M., et al. Effects of THAP11 on erythroid differentiation and megakaryocytic differentiation of K562 cells // PLoS One. - 2014. - Vol. 9, № 3. - P. 1-9.

157 Wang Q. Molecular genetics of coronary artery disease // Curr Opin Cardiol. - 2005. - Vol. 20, № 3. - P. 182-188.

158 Gui L., Bao Z., Jia Y., Qin X., Cheng Z.J., Zhu J., Chen Q.H.Ventricular tachyarrhythmias in rats with acute myocardial infarction involves activation of small-conductance Ca2+-activated K+ channels // Am J Physiol Heart Circ Physiol. - 2013. - Vol. 304. - P. 403-412.

159 Niyazova R., Berillo O., Atambayeva Sh., Pyrkova A., Alybayeva A., Ivashchenko A. miR-1322 Binding sites in paralogous and orthologous genes // Biomed Res Int. - 2015. - Vol. 2015. - P. 1-8.

160 Leoni G., Tramontano A. A structural view of microRNA-target recognition. // Nucleic Acids Res // - 2016 - Vol. 44, № 9. - P. 1-8.

161 Yurikova O. Yu., Aisina D.E., Niyazova R.E., Atambayeva Sh.A., Labeit S., and Ivashchenko A.T. The interaction of miR-5p and miR-3p with the mRNAs of orthologous genes // Molecular biology. - 2019. - Vol. 53, № 4. - P. 612-623.

162 Kumamoto S., Takahashi N., Nomura K., Fujiwara M., et al. Overexpression of microRNAs from the Gtl2-Rian locus contributes to postnatal death in mice // Human Molecular Genetics. - 2017. - Vol. 26, № 19. - P. 3653-3662.

163 Ito M., Sferruzzi-Perri A.N., Edwards C.A., Adalsteinsson B.T., et al. A trans-homologue interaction between reciprocally imprinted miR-127 and Rtl1 regulates placenta development // Development. - 2015. - Vol. 142. - P. 2425-2430.

164 Sekita Y., Wagatsuma H., Nakamura K., Ono R., Kagami M., Wakisaka N. et al. Role of retrotransposon-derived imprinted gene, Rtl1, in the feto-maternal interface of mouse placenta // Nat. Genet. - 2008. - Vol. 40. - P. 243-248.

165 Davis E., Caiment F., Tordoir X., Cavaillé J., Ferguson-Smith A., Cockett N. et al. RNAi-mediated allelic trans-interaction at the imprinted Rtl1/Peg11 locus // CurrBiol. - 2005 - Vol. 15, № 8. P. 743-749.

166 Belot M.P., Nadéri K., Mille C., Boëlle P.Y., et al. Role of DNA methylation at the placental RTL1 gene locus in type 1 diabetes // Pediatr Diabetes. - 2017. - Vol. 18, № 3, P. 178 -187.

167 Shi N., Deng L., Chen W., et al. Is MicroRNA-127 a Novel Biomarker for Acute Pancreatitis with Lung Injury? // Dis Markers. - 2017. - P. 1-10.

168 Shi L., Wang Y., Zhang H., Wang B. et al. MiR-127 promotes EMT and stem-like traits in lung cancer through a feed-forward regulatory loop // Oncogene. - 2017. - Vol. 36, № 12. - P. 1631-1643.

169 Ying H., Kang Y., Zhang H., Zhao D., et al. MiR-127 modulates macrophage polarization and promotes lung inflammation and injury by activating the JNK pathway // J Immunol. - 2015. - Vol. 194, №3. - P. 1239-51.

170 Huang C., Xiao X., Chintagari N.R., Breshears M., Wang Y., Liu L. MicroRNA and mRNA expression profiling in rat acute respiratory distress syndrome // BMC Medical Genomics - 2014. - Vol. 7, №1. - P. 1-15.

171 Ito M., Sferruzzi-Perri A.N., Edwards C.A., et al. A trans-homologue interaction between reciprocally imprinted miR-127 and Rtl1 regulates placenta development // Development. - 2015. - Vol. 142, № 14. P. 2425-2430.

172 Bhaskaran M., Wang Y., Zhang H., et al. MicroRNA-127 modulates fetal lung development // Physiol Genomics. - 2009. - Vol. 37, № 3. - P. 268-278.

173 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva Sh. The properties of binding sites of miR-619-5p, miR-5095, miR-5096, and miR-5585-3p in the mRNAs of human genes // BioMed Research Int. - 2014. - Vol. 2014. - P. 1-8.

174 Girardot M., Cavaillé J., Feil R. Small regulatory RNAs controlled by genomic imprinting and their contribution to human disease // Epigenetics. - 2012. - Vol. 7, № 12. - P. 1341-1348.

175 Fan G., Ye D., Zhu S., et al. RTL1 promotes melanoma proliferation by regulating Wnt/β-catenin signaling // Oncotarget. - 2017. - Vol. 8, № 62. - P. 106026-106037.

176 Ma W., Ma C., Zhou N., ет al. Up-regulation of miR-328-3p sensitizes non-small cell lung cancer to radiotherapy // Sci Rep. - 2016. - P. 1-9.

177 Hu Y., Dingerdissen H., Gupta S., et al. Identification of key differentially expressed microRNAs in cancer patients through pan-cancer analysis // Comput Biol Med. - 2018. - Vol. 103. - P. 183-197.

178 Golovina E., Sypecka M., Yurikova O., Kokavec J., Herynek V., Savvulidi F., Sefc L., Klener P., Zemanova Z., Stopka T., Savvulidi Vargova K. Deciphering the role of miR-155 targets in chronic lymphocytic leukemia by direct editing of miR-155 in the primary leukemic B-cells using CRISPR/Cas9 // EMBO|EMBL Symposium: The Non-Coding Genome. - 2019. - P. 232.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

СОГЛАСОВАНО
Проректор по научно-
инновационной деятельности
_____ Рамазанов Т.С.
«____»_____2019 г.

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе,
председатель комиссии
_____ Хикметов А.К.
«____»_____ 2019 г.

АКТ
о внедрении завершенной научно-исследовательской работы (этапа) в учебный процесс

Комиссия Казахского национального университета имени аль-Фараби в составе: председатель: Хикметов Аскар Кусупбекович - проректор по учебной работе, члены: директор департамента по академическим вопросам Мухитдинова Тансулу Мирасбековна, директор департамента по науке и инновационной деятельности Мухамбетжанов Серик Копжасарович, начальник управления методической работы и образовательных технологий Саксенбаева Жанна Сергеевна, декан факультета биологии и биотехнологии Заядан Болатхан Казыханович, председатель методбюро факультета биологии и биотехнологии Кулбаева Маржан Сусаровна, и.о. заведующего кафедрой биотехнологии Нармуратова Мейрамкуль Худретовна составили настоящий акт о том, что в 2018/2019 учебном году на кафедре биотехнологии внедрены результаты научно-исследовательской работы к.б.н., профессора Атамбаевой Ш.А., PhD-докторанта 3-го курса Юриковой О.Ю. на тему: «Взаимодействие miRNA с кодирующей областью mRNA генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями» (по госбюджету, № AP05132460-OT-18).

№ п/п	Форма внедрения (наименование нового курса, спецкурса, раздела лекций, лаб. работы, установки, учебные пособия и т. п.); курс, специальность	Объем внедрения (количество работ, лекционных часов)	Краткое содержание внедренной работы
	в курс «Геномика және протеомика негіздері» (2 кредита), бакалавриат 3-й курс, специальность 5В060700 «Биология»	**Лекции –** 7 часов. 1. МикроРНҚ-лар. МикроРНҚ-лардың құрылымы, ерекшеліктері. (1 час) 2. МикроРНҚ-лардың әсер ету механизмі (1 час) 3. Биоинформатика. Биоинформатиканың әдістері. (1 час) 4. Гендік терапия (1 час) 5. Медициналық	Используются результаты, полученные при изучении характеристик взаимодействия miRNA с кодирующей областью mRNA генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями (сердечно-сосудистыми, нейродегенеративными и онкологическими). Используются методы анализа нуклеотидных

		геномика (1 час) 6. МикроРНҚ-лардың биотехнологиядағы қолдануы (1 час) **Семинары** – 4 часа 1. NCBI, BLAST, KEGG базаларды қолдану. (1 час) 2.SMS-бағдарлама қолдану. (1 час) 3. ДНҚ-ның функциональдық учаскілерді талдау (1 час) 4. Биоинформатика, жалпы түсінік, міндеттері, болашағы. Биоинформатиканың әдістері. (1 час)	последовательностей генов и аминокислотных последовательностей белков, изученных при выполнении темы «Взаимодействие miRNA с кодирующей областью mRNA генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями».

Материалы к настоящему акту рассмотрены на заседании методического бюро факультета биологии и биотехнологии (протокол № 11 от 22.06 2018 г.)

Члены комиссии:

Директор департамента
по академическим вопросам _____ Мухитдинова Т.М.

Директор департамента по науке
и инновационной деятельности _____ Мухамбетжанов С.К.

Начальник управления методической работы и
образовательных технологий _____ Саксенбаева Ж.С.

Декан факультета биологии и биотехнологии _____ Заядан Б.К.

Председатель методбюро факультета
биологии и биотехнологии _____ Кулбаева М.С.

И.о. заведующего
кафедрой биотехнологии _____ Нармуратова М.Х.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б – Нуклеотидные последовательности ортологичных miRNA-5p и miRNA-3p пар гена *RTL1* (из miRBase)

miRNA	Доступ/ номер	Нуклеотидная последовательность miRNA
1	2	3
miR-127-3p		
hsa-miR-127-3p	MI0000472	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
age-mir-127-3p	MI0002588	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
cgr-mir-127-3p	MI0033078	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
bta-mir-127-3p	MI0005008	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
chi-miR-127-3p	MI0030608	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGG
cja-mir-127-3p	MI0031993	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGC
cfa-mir-127-3p	MI0008132	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
cpo-mir-127-3p	MI0038628	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
dma-mir-127-3p	MI0039976	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
dno-mir-127-3p	MI0038969	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
eca-mir-127-3p	MI0012876	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
efu-mir-127-3p	MI0028619	AUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUG
ggo-mir-127-3p	MI0020641	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGC
lla-mir-127-3p	MI0002586	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
mml-miR-127-3p	MI0002582	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
mmu-miR-127-3p	MI0000154	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
mne-mir-127-3p	MI0002587	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
nle-mir-127-3p	MI0040110	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
oar-miR-127-3p	MI0001521	AUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
ocu-mir-127-3p	MI0039280	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
oga-mir-127-3p	MI0040461	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
pal-mir-127-3p	MI0032517	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
pha-mir-127-3p	MI0040355	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
ppa-mir-127-3p	MI0039758	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
ppy-mir-127-3P	MI0002584	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
ptr-mir-127-3P	MI0002583	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
rno-miR-127-3p	MI0000899	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
sbo-mir-127-3p	MI0040236	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
sla-mir-127-3p	MI0002585	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
ssc-mir-127-3p	MI0013144	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
tch-mir-127-3p	MI0031219	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU
miR-127-5p		
hsa-miR-127-5p	MI0000472	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
age-mir-127-5p	MI0002588	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
bta-mir-127-5p	MI0005008	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
cgr-mir-127-5p	MI0033078	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
chi-miR-127-5p	MI0030608	GAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUC
cja-mir-127-5p	MI0031993	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
cfa-mir-127-5p	MI0008132	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
cpo-mir-127-5p	MI0038628	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUU
dma-mir-127-5p	MI0039976	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
dno-mir-127-5p	MI0038969	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUU
eca-mir-127-5p	MI0012876	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
efu-mir-127-5p	MI0028619	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU

Продолжение таблицы Б

1	2	3
ggo-mir-127-5p	MI0020641	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
lla-mir-127-5p	MI0002586	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
mml-miR-127-5p	MI0002582	UGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUU
mmu-miR-127-5p	MI0000154	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
mne-mir-127-5p	MI0002587	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
nle-mir-127-5p	MI0040110	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
oar-miR-127-5p	MI0001521	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
ocu-miR-127-5p	MI0039280	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
oga-mir-127-5p	MI0040461	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
pal-mir-127-5p	MI0032517	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGA
pha-mir-127-5p	MI0040355	UGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
ppa-mir-127-5p	MI0039758	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUU
ppy-mir-127-5p	MI0002584	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
ptr-mir-127-5P	MI0002583	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
rno-miR-127-5p	MI0000899	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUU
sbo-mir-127-5p	MI0040236	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
sla-mir-127-5p	MI0002585	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
ssc-mir-127-5p	MI0013144	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
tch-mir-127-5p	MI0031219	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU
miR-136-3p		
hsa-miR-136-3p	MI0000475	CAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCU
chi-miR-136-3p	MI0030624	AUCAUCGUCUCAAAUGAGUCU
dno-miR-136-3p	MI0038984	CAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCU
mmu-miR-136-3p	MI0000162	AUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUU
rno-miR-136-3p	MI0000909	CAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCU
miR-136-5p		
hsa-miR-136-5p	MI0000475	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA
chi-miR-136-5p	MI0030624	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGG
dno-miR-136-5p	MI0038984	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA
mmu-miR-136-5p	MI0000162	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGG
rno-miR-136-5p	MI0000909	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA
miR-431-3p		
hsa-miR-431-3p	MI0001721	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU
chi-miR-431-3p	(RTL1-ex-cod)	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU
cpo-miR-431-3p	MI0038773	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUC
mml-miR-431-3p	(RTL1-ex-cod)	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU
mmu-miR-431-3p	MI0001524	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU
miR-431-5p		
hsa-miR-431-5p	MI0001721	UGUCUUGCAGGCCGUCAUGCA
chi-miR-431-5p	(RTL1-ex-cod)	UGUCUUGCAGGCCGUCAUGCA
mml-miR-431-5p	(RTL1-ex-cod)	UGUCUUGCAGGCCGUCAUGCA
mmu-miR-431-5p	MI0001524	UGUCUUGCAGGCCGUCAUGCA
rno-miR-431-5p	(RTL1-ex-cod)	UGUCUUGCAGGCCGUCAUGCA
miR-432-3p		
hsa-miR-432-3p	MI0003133	CUGGAUGGCUCCUCCAUGUCU
chi-miR-432-3p	MI0030792	ACUGGAUGGCUCCUCCAUGUCU
mml-miR-432-3p	MI0007744	UGGAUGGCUCCUCCAUGUCU
mmu-miR-432-3p	(RTL1-ex-cod)	CUGGAUGGCUCCUCCAUGUCU
ssc-miR-432-3p	MI0013155	UGGAUGGCUCCUCCAUGGCU
miR-432-5p		
hsa-miR-432-5p	MI0003133	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG
chi-miR-432-5p	MI0030792	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG

Продолжение таблицы Б

1	2	3
mml-miR-432-5p	MI0007744	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG
mmu-miR-432-5p	(RTL1-ex-cod)	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG
rno-miR-432-5p	(RTL1-ex-cod)	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG
miR-433-3p		
hsa-miR-433-3p	MI0001723	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU
mml-miR-433-3p	MI0007745	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU
mmu-miR-433-3p	MI0001525	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU
oar-miR-433-3p	MI0016914	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU
rno-miR-433-3p	MI0001724	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU
miR-433-5p		
hsa-miR-433-5p	MI0001723	UACGGUGAGCCUGUCAUUAUUC
mml-miR-433-5p	MI0007745	UACGGUGAGCCUGUCAUUAUUC
mmu-miR-433-5p	MI0001525	UACGGUGAGCCUGUCAUUAUUC
oar-miR-433-5p	MI0016914	UACGGUGAGCCUGUCAUUAUUCA
rno-miR-433-5p	MI0001724	UACGGUGAGCCUGUCAUUAUUC

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 – Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA генов, участвующих в развитии с НМРЛ

Ген, RPKM	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6
ABCC1; 12,6	miR-762 (2)	10 - 17	-117 ÷ -125	86÷92	22
	ID02682.5p-miR	12	-113	93	20
	ID00296.3p-miR (4)	23 - 32	-136 ÷ -144	86 ÷ 92	25
	ID01641.3p-miR (4)	23 - 36	-127 ÷ -134	86 ÷ 90	24
	ID02294.5p-miR (3)	25 - 35	-125 ÷ -127	86 ÷ 87	24
	ID00756.3p-miR	29	-121	88	23
	ID01895.5p-miR	29	-129	87	24
	ID01702.3p-miR (4)	30 - 39	-132 ÷ -138	87 ÷ 92	24
	miR-3960 (4)	31 - 41	-108 ÷ -117	86 ÷ 93	20
	ID03064.3p-miR	32	-136	89	24
	ID01873.3p-miR (5)	29 - 41	-113 ÷-117	85 ÷ 89	21
	ID03151.3p-miR (3)	30 - 39	-108 ÷ -113	88 ÷ 91	20
	ID01403.5p-miR	31, 34	-121	89	23
	ID00073.3p-miR	31	-117	92	20
	ID00071.3p-miR	32	-119	95	20
	ID00722.5p-miR (3)	32 - 41	-104 ÷ -110	86 ÷ 91	20
	ID00061.3p-miR (4)	32 - 41	-125 ÷ -129	91 ÷ 94	22
	ID03367.5p-miR (4)	33 - 41	-113 ÷ -123	90 ÷ 98	20
	ID01804.3p-miR	33, 36	-129 ÷ -134	88 ÷ 91	23
	ID00457.3p-miR (3)	35 - 41	-117 ÷-129	86 ÷ 95	22
	ID03229.5p-miR	34	-115	86	22
	ID02499.3p-miR (3)	35 - 41	-110 ÷ -115	85 ÷ 89	21
	ID02064.5p-miR	37, 40	-127 ÷ -129	88 ÷ 90	23
	ID01879.5p-miR (3)	37 - 46	-117 ÷ -121	86 ÷ 89	22
	ID00030.3p-miR	38	-123	92	22
	ID01652.3p-miR	39	-125	89	23
	ID02084.3p-miR	40	-132	87	24
	ID02229.3p-miR	41	-119	90	21
	ID00121.5p-miR (4)	80 - 102	-98 ÷ -106	85 ÷ 93	18
	ID01099.5p-miR	92	-129	88	23
	ID01895.5p-miR	93	-129	87	24
	ID02240.3p-miR	95	-117	92	20
	ID01099.5p-miR	142	-129	88	23
	ID01895.5p-miR	143	-129	87	24
	ID02240.3p-miR	145	-117	92	20
ABCC5; 6,2	miR-512-5p	422	-110	88	23
	miR-797	1120	-91	91	20
ADAM10; 12,2	miR-1229-3p	64	-113	87	23
	ID01772.3p-miR	134	-108	93	22
	ID03238.3p-miR	164	-117	90	23
	ID02761.3p-miR	416	-132	89	24
	ID00032.5p-miR	420	-113	90	22

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5	6
ADAM23; 0,6	ID02692.3p-miR	18	-123	88	23
	ID00663.5p-miR (3)	67 - 81	-125 ÷ -132	89 ÷ 94	23
	ID00213.3p-miR	73	-121	89	23
	ID03129.3p-miR	143	-115	93	20
AKT2; 12,6	ID01911.5p-miR	18	-125	91	23
	ID03324.3p-miR	19	-117	92	22
	ID01592.3p-miR	23	-117	89	23
	ID02187.5p-miR (3)	77 - 83	-119 ÷ -123	86 ÷ 89	23
	ID03367.5p-miR (4)	81 - 90	-108 ÷ -119	86 ÷ 95	20
	ID01804.3p-miR (3)	82 - 88	-125	86	23
	ID00457.3p-miR	84	-123	91	22
	ID02294.5p-miR	84, 89	-129 ÷ -132	88 ÷ 90	24
	ID00061.3p-miR (3)	87 - 93	-121 ÷ -123	88 ÷ 89	22
ASNS; 16,5	ID01721.3p-miR	66	-119	87	24
	ID02988.5p-miR	181	-115	98	20
	miR-4665-3p	413	-138	87	26
BAK1; 8,6	ID01357.5p-miR	198	-121	88	23
BMI1; 13,4	ID03488.3p-miR	160	-119	89	23
	ID03028.3p-miR	173	-123	91	23
	ID01282.3p-miR	223, 228	-117 ÷ -121	89 ÷ 92	23
	ID03332.3p-miR	229	-129	87	24
	ID02333.3p-miR	251	-117	90	22
BSG; 138,9	ID03418.3p-miR	89	-129	91	23
	ID01342.5p-miR	118	-117	93	21
	miR-1181	123	-117	92	21
CASP3; 8	ID01321.5p-miR	221	-110	90	21
CASP9; 3,7	ID00167.5p-miR	100	-106	91	21
	ID01345.3p-miR	180	-132	93	23
CAV2; 29,7	ID00173.3p-miR	149	-125	91	23
CBLB; 7,6	ID02264.3p-miR	7	-113	90	22
	miR-6865-3p	96	-106	91	21
CDK6; 3	ID01415.5p-miR	261	-106	91	21
CDKN2A; 0,4	ID01688.3p-miR	263	-121	92	23
	ID01342.5p-miR	277	-115	92	21
CHD4; 30.3	ID01965.5p-miR	4	-117	89	23
	ID00981.3p-miR	11	-127	91	23
CSNK2A1; 11,3	miR-6743-3p	120	-115	89	23
	ID02187.5p-miR	134	-123	89	23
	ID00457.3p-miR	135	-125	92	22
	ID00061.3p-miR	141	-123	89	22
CX3CR1; 1,2	ID01330.3p-miR	164	-119	89	23
DAP; 44,5	ID02611.3p-miR	17	-123	89	22
	ID00242.3p-miR	73	-115	89	22
	ID01472.3p-miR	173	-119	92	22
	ID02985.3p-miR	175	-104	94	18
	miR-3180-3p	183	-117	90	22

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5	6
DHFR; 1,3	ID02294.5p-miR	73	-129	88	24
	ID02752.3p-miR	281	-121	89	23
	miR-6775-3p	363	-110	91	21
DSC3; 0,1	ID02923.5p-miR	121	-106	93	20
	ID00087.3p-miR	134	-113	90	22
E2F3; 3,9	ID02950.3p-miR	24	-125	89	23
	ID00597.3p-miR	190	-108	88	23
	ID03238.3p-miR	216	-115	89	23
EGR1; 148,2	miR-4787-5p	12	-121	90	22
	ID01041.5p-miR	13	-132	90	24
	ID01804.3p-miR	13	-132	90	23
	ID02187.5p-miR	14	-125	91	23
	ID00457.3p-miR	15	-123	91	22
	ID02229.3p-miR	50	-119	90	21
	miR-4763-3p	52	-125	88	24
	miR-4463	66	-96	96	17
	ID00966.5p-miR	90	-138	92	24
	ID00051.3p-miR	216	-123	89	24
EHD1; 24,6	ID00211.3p-miR	54	-113	90	22
	ID00037.3p-miR	55	-119	89	23
	ID02610.3p-miR	156	-117	93	21
	ID03037.3p-miR	323	-123	92	22
ESR1; 0,7	ID02157.5p-miR	320	-121	89	23
EPRS; 17,4	miR-6882-3p	32	-119	89	24
FEN1; 4,3	ID01732.3p-miR	347	-121	88	23
FUT8; 2,4	ID02615.5p-miR	1270	-104	92	21
GLDC; 0,3	ID00168.3p-miR	92	-119	89	23
	ID01150.3p-miR	97	-127	88	24
	miR-6775-3p	167	-110	91	21
HTATIP2; 16	ID02972.5p-miR	25	-115	89	22
IGF1R; 7	ID00278.3p-miR	6	-125	91	23
	ID01810.3p-miR	8	-115	89	23
	ID01310.3p-miR	9	-121	92	22
	ID03476.3p-miR	195	-123	89	22
	ID00327.3p-miR	213	-129	87	24
	D01663.3p-miR	296	-113	90	22
	ID00278.3p-miR	300	-121	88	23
	ID00496.5p-miR (4)	309 - 348	-108 ÷ -121	85 ÷ 95	20
	ID02235.5p-miR	311	-123	89	22
	ID02808.3p-miR	317, 328	-121	88	23
	ID00409.5p-miR (3)	317 - 338	-110 ÷ -113	90 ÷ 91	20
	ID02800.3p-miR	322	-125	94	22
	ID00513.3p-miR	330	-127	88	24
	ID01560.3p-miR	330	-127	92	23
	ID00695.3p-miR	334	-125	87	24
	ID01278.3p-miR	335	-119	92	21
	ID01440.3p-miR	337	-134	91	23

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5	6
IGF1R; 7	ID03033.3p-miR	341	-117	90	22
	ID00811.3p-miR	454	-123	87	24
	D01663.3p-miR	463	-113	90	22
	ID03332.3p-miR	468	-132	89	24
	ID00149.3p-miR	491	-115	92	22
	ID00603.5p-miR	595	-125	88	23
	ID01285.3p-miR	785	-110	90	21
	ID01766.5p-miR	828	-121	92	22
	miR-5787	835	-110	91	20
	ID01774.5p-miR	839	-129	90	23
	ID01705.3p-miR	841	-121	95	21
	ID00863.5p-miR	843	-123	91	22
JAG1; 19,5	miR-6124	99	-100	90	20
	ID03037.3p-miR	367	-123	92	22
	ID01310.3p-miR	377	-121	92	22
KLK13; 0,2	ID00049.5p-miR	4	-132	87	24
	ID00850.3p-miR	5	-117	90	22
	ID01321.5p-miR	11	-113	91	21
	miR-4298	17	-113	90	22
LHX2; 0	ID02592.5p-miR	106	-121	88	23
	ID01702.3p-miR	323	-134	89	24
	ID02012.5p-miR	414	-123	91	22
	ID02202.5p-miR	452	-113	93	21
	ID03394.3p-miR	607	-125	94	21
	ID03362.5p-miR	614	-125	92	22
	ID00094.3p-miR	709	-123	88	23
	ID01778.3p-miR	713	-132	89	24
	ID00329.3p-miR	715	-125	91	22
	ID00877.5p-miR	715	-127	87	24
LIMK1; 8,8	ID00504.3p-miR	37	-117	89	23
	ID02600.3p-miR	86	-136	96	23
	ID00877.5p-miR	88	-127	87	24
	ID00894.5p-miR	88	-123	89	23
	ID02781.3p-miR	91	-117	93	20
	miR-3620-5p (2)	92, 97	-121 ÷ -123	92 ÷ 94	22
	ID01206.3p-miR	110	-129	91	23
	ID01311.3p-miR	134	-132	89	24
	ID01103.3p-miR	156	-127	88	24
	ID01264.3p-miR	170	-113	95	20
	ID00978.5p-miR	181	-125	95	22
	ID00081.3p-miR	184	-125	92	22
LRP5; 13,2	ID00519.3p-miR	7	-108	91	21
	ID02986.5p-miR (4)	139 - 154	-104 ÷ -106	86 ÷ 88	20
	ID01241.3p-miR	179	-115	90	22
	miR-412-3p	235	-115	92	23
	miR-6515-3p	906	-100	92	20

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5	6
MAP2K1; 17,4	miR-6089	15	-134	90	24
	miR-671-5p	36	-117	89	23
	ID00700.5p-miR	271	-117	92	20
MDFI; 8,2	ID00402.5p-miR	25	-121	88	23
	ID01386.5p-miR	183	-119	92	22
MET; 4,9	ID00602.3p-miR	115	-134	89	24
	ID00387.3p-miR	118	-123	88	23
	ID01756.5p-miR	119	-110	91	20
MICA; 30,8	miR-1237-3p	182	-115	96	21
	miR-5095	576	-113	96	21
	miR-619-5p	582	-115	95	22
	ID00913.5p-miR	602	-115	90	23
	ID00540.3p-miR	789	-110	88	23
MPG; 16	ID03114.3p-miR	84	-115	93	21
	ID01047.3p-miR	156	-123	92	22
MTA1; 18,1	ID01310.3p-miR (7)	29 - 47	-113 ÷ -121	85 ÷ 92	22
	ID03332.3p-miR (4)	37 - 46	-129 ÷ -134	87 ÷ 90	24
	ID02761.3p-miR (4)	37 - 49	-127 ÷-129	86 ÷ 87	24
	D01810.3p-miR	52	-115	89	23
	ID00102.3p-miR	133	-117	95	20
	ID01003.3p-miR	150	-132	89	24
	ID01458.5p-miR	156	-136	93	23
	ID00296.3p-miR	157	-136	86	25
	ID00020.5p-miR	159	-138	93	24
	ID00140.3p-miR	161	-125	88	23
	ID02260.5p-miR	162	-127	91	22
P4HB; 155,5	ID00185.5p-miR	58	-125	87	24
	ID03091.5p-miR	62	-121	92	22
	ID02998.3p-miR	64	-115	92	21
	ID00602.3p-miR	70	-132	87	24
PAK1; 8,1	ID02647.3p-miR	75	-119	92	21
	ID02592.5p-miR	280	-121	88	23
	ID03403.5p-miR	365	-125	89	23
	ID02930.3p-miR	371	-127	86	24
	ID02076.5p-miR	375	-113	91	21
	ID00278.3p-miR	381	-121	88	23
PDPK1; 7,9	ID03331.3p-miR	3	-127	88	23
	ID00136.5p-miR	4	-115	95	20
	ID02430.3p-miR	6	-123	91	23
	ID01932.5p-miR	7	-121	90	23
	ID01996.3p-miR	9	-123	97	21
	ID02564.3p-miR	10	-121	90	22
	ID00278.3p-miR	15	-121	88	23
	ID00798.3p-miR	16	-138	93	24
	ID00420.3p-miR	17	-127	88	24
	ID02235.5p-miR	19	-125	91	22

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5	6
PGF; 4,6	miR-1254	11	-119	89	24
	ID00163.5p-miR	32	-121	89	23
	ID01816.3p-miR	278	-132	87	24
POLE; 3,6	ID02911.5p-miR	47	-125	91	22
	ID00739.3p-miR	92	-121	89	23
PRAME; 0	ID02196.5p-miR	355	-106	91	20
PRKDC; 8,1	ID02477.3p-miR	23	-125	89	23
PTEN; 13,4	ID02079.5p-miR	75	-115	92	20
	ID00620.3p-miR	93	-123	88	23
	ID00929.5p-miR	455	-123	89	22
	ID02611.3p-miR	486	-125	91	22
	ID01868.3p-miR	522	-127	87	24
	ID03332.3p-miR (3)	524 - 536	-127 ÷ -129	86 ÷ 87	24
	ID03465.3p-miR	525	-119	92	22
	ID01310.3p-miR (3)	525 - 534	-113 ÷ -119	85 ÷ 90	22
	ID02761.3p-miR	533	-132	89	24
	ID03037.3p-miR	536	-121	90	22
	ID00061.3p-miR (3)	699 - 706	-119 ÷ -123	86 ÷ 89	22
	ID01702.3p-miR	700	-132	87	24
	ID02499.3p-miR	702	-119	92	21
	ID01377.3p-miR	705	-117	92	20
	ID02429.3p-miR	789	-121	89	23
PTPRZ1; 0,9	miR-574-5p (7)	218 - 232	-104 ÷ -108	86 ÷ 89	23
	ID02299.5p-miR (4)	223 - 243	-91 ÷ -96	86 ÷ 90	21
	ID00470.5p-miR (4)	224 - 244	-104 ÷ -106	86 ÷ 88	23
RAF1; 38,5	ID02281.5p-miR	303	-115	90	22
	ID00567.3p-miR	312	-121	88	23
RALBP1; 11,4	ID00811.3p-miR	94	-123	87	24
	D02813.3p-miR	102	-110	91	20
	ID02121.3p-miR	128	-127	91	23
RRM1; 7,7	ID00414.3p-miR	132	-108	93	20
	miR-378a-3p	186	-98	87	21
	miR-378f	187	-98	90	20
	miR-378d	188	-91	88	20
	miR-378j	189	-91	91	19
SIAH2; 10	ID00202.5p-miR	244	-129	88	24
	D02899.3p-miR	244	-132	89	24
TFDP1; 12,1	ID03001.3p-miR	5	-129	91	24
	ID02743.5p-miR	6	-115	92	20
	miR-3620-5p	50	-119	90	22
	miR-4763-3p	52	-127	90	24
	ID01653.5p-miR	67	-129	87	24
	ID00943.3p-miR	84	-117	92	21
TYMS; 4	ID01839.3p-miR	11	-121	88	23
	ID00252.5p-miR	107	-132	89	24
	ID01029.5p-miR	133	-115	90	22
	ID02106.3p-miR	134	-125	91	23

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5	6
UBE2L3; 26,9	ID00107.3p-miR	100	-108	91	20
	ID03210.5p-miR	1731	-123	87	24
USP14; 10,3	ID02950.3p-miR	88	-127	91	23
	ID01895.5p-miR	88	-134	90	24
	ID00457.3p-miR	95	-123	91	22
	ID01106.5p-miR	96	-129	87	24
	ID02064.5p-miR	97	-136	94	23
	miR-3960	115	-115	92	20
	ID01702.3p-miR	122	-129	86	24
	ID02064.5p-miR	191	-129	90	23
	ID02770.5p-miR	192	-115	92	20
	ID00252.5p-miR	194	-129	87	24
	ID00327.3p-miR	195	-129	87	24
	ID01184.3p-miR	195	-115	92	20
USP4; 13,8	ID01883.5p-miR	56	-129	87	24
	miR-6749-3p	58	-110	90	21
VSNL1; 0,8	miR-7111-3p	52	-115	95	22
	miR-877-3p	52	-108	93	21

Таблица В.2 – Характеристики взаимодействия miRNA с 3'UTR mRNA генов, участвующих в развитии с НМРЛ

Ген, RPKM	miRNA	Начало СС, нт	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина miRNA
1	2	3	4	5	6
ABCC1; 12.6	ID00076.5p-miR	5547	-106	91	21
	miR-605-5p	5669	-106	88	23
	ID00617.3p-miR	6318	-117	89	24
ABCC5; 6.2	ID00962.3p-miR	5176	-117	89	23
	miR-4711-5p	5267	-108	88	23
AKT2; 12.6	miR-4688	1898	-113	90	22
	ID01388.5p-miR	1972	-119	89	23
	ID03196.3p-miR	2285	-123	89	24
	ID01035.3p-miR	2292	-121	88	24
	ID00705.3p-miR	2588	-110	93	20
	miR-6124	2741	-102	92	20
	miR-3198	2749	-110	91	22
	ID00042.3p-miR	3963	-117	90	22
	miR-619-5p	4608	-121	100	22
	miR-619-5p	4744	-110	91	22
	miR-191-5p	5176	-110	90	23
ALDH3B2; 0.2	ID02890.5p-miR	1901	-113	90	22
	miR-3911	2172	-110	91	22
AMACR; 2,1	miR-4452	3077	-108	94	23
	ID01584.3p-miR	3207	-108	91	22

Продолжение таблицы В.2

1	2	3	4	5	6
ARVCF; 6,5	ID02202.5p-miR	3316	-110	91	21
	ID01089.3p-miR	3433	-119	90	23
	ID01123.3p-miR	3436	-127	88	24
	miR-7114-5	3724	-106	91	21
ATF2; 8,4	ID00436.3p-miR (5)	2961 – 2981	-100 ÷ -104	85 ÷ 89	23
	ID01030.3p-miR (4)	2963 – 2981	-104	86	23
	miR-466 (4)	2975 – 2981	-100 ÷ -108	85 ÷ 93	23
BAK1; 8,6	miR-6813-3p	1482	-110	93	21
	ID02212.5p-miR	1644	-106	91	21
B3GNT3; 0,3	miR-5585-3p	2467	-106	91	22
CASP9; 3,7	miR-1285-3p	2265	-106	91	22
	ID03100.3p-miR	2740	-113	93	22
	miR-1285-3p	2687	-110	95	22
CCND1; 23,6	ID01220.5p-miR	1159	-117	90	24
	miR-6865-3p	1350	-106	91	21
	ID02299.5p-miR (3)	2590 – 2598	-96	90	21
	miR-574-5p (5)	2593 – 2601	-104 ÷ -113	86 ÷ 93	23
	ID00470.5p-miR	2595, 2597	-108	89	23
	ID01543.3p-miR	2963	-117	92	22
	ID00529.5p-miR	2972	-113	95	21
	ID00108.3p-miR	3401	-125	89	24
CCR2; 2,6	ID03207.3p-miR	1958	-113	91	21
	ID01768.3p-miR	1969	-115	92	22
CD59; 231,6	ID00101.3p-miR	6740	-117	93	22
	ID02412.3p-miR	2035	-98	92	21
CDH5; 51	miR-6769a-5p	3297	-110	95	21
	miR-6127	3304	-102	94	19
CDK6; 3	miR-548h-3p	1677	-104	91	23
	miR-548z	1677	-104	91	23
	miR-548ah-3p	1678	-100	90	22
	miR-548aq-3p	1678	-102	94	22
	miR-548az-3p	1678	-98	94	21
	ID03264.3p-miR	1678	-98	90	22
	ID00436.3p-miR (14)	1894 – 1928	-100 ÷ -104	85 ÷ 91	23
	miR-466 (16)	1896 – 1926	-100 ÷ -108	85 ÷ 93	23
	ID01030.3p-miR (11)	1896 – 1922	-104 ÷ -115	86 ÷ 95	23
	ID01727.5p-miR (8)	1897 – 1919	-100 ÷ -102	85 ÷ 87	23
	ID02882.3p-miR (7)	1898 – 1920	-102	86	21
	ID02513.5p-miR	1901	-102	91	22
	ID03284.3p-miR	3040	-108	94	21
	ID03163.3p-miR	7773	-127	88	24
	miR-1468-3p	10597	-96	90	22
CEACAM5; 3,4	ID03006.5p-miR	3246	-119	87	24
COL1A1; 115,8	ID00076.5p-miR	4903	-106	91	21
	miR-328-5p	5014	-125	91	23
	ID02647.3p-miR	5023	-121	93	21

Продолжение таблицы В.2

1	2	3	4	5	6
COPA; 42,1	miR-619-5p	4376	-117	96	22
	miR-5585-3p	4518	-106	91	22
	miR-5585-3p	5139	-106	91	22
	ID02175.3p-miR	5186	-110	91	22
	miR-1285-5p	5237	-108	96	21
CSNK2A1; 11,3	ID00182.5p-miR	2147	-115	89	23
	miR-1285-3p	2552	-106	91	22
	miR-1273g-3p	2568	-110	95	21
	miR-1304-5p	2594	-106	93	22
	miR-1273d	2602	-123	91	25
DAP; 44,5	miR-6762-5p	526	-119	90	23
DDR1; 12,6	miR-4669	3213	-110	90	22
DHFR; 1,3	miR-1273c	1935	-104	86	22
	ID03224.5p-miR	1943	-117	89	23
	miR-1273g-5p	1986	-102	86	22
	miR-1273f	1989	-96	92	19
	miR-1273h-5p	1990	-102	87	21
	miR-1273e	1999	-102	87	22
	miR-619-5p	2525	-115	95	22
	miR-619-5p	3098	-117	96	22
	miR-5585-3p	3105	-113	96	22
DSC3; 0,1	miR-1273g-3p	4921	-110	95	21
	ID01787.3p-miR	7592	-117	90	23
E2F3; 3,9	ID00529.3p-miR	3635	-108	93	22
	ID00101.3p-miR	3712	-113	90	22
	ID02667.5p-miR	4430	-93	92	22
EHD1; 24,6	miR-6749-3p	2209	-117	95	21
	ID00008.3p-miR	2214	-113	90	22
	ID00203.3p-miR	2214	-119	93	23
	miR-185-3p	3113	-117	95	22
ESR1; 0,7	ID03196.3p-miR	3339	-121	88	24
	miR-6879-5p	3593	-113	90	22
GLDC; 0,3	ID01940.3p-miR	3617	-98	92	20
GPC3; 79,3	miR-655-3p	2137	-96	90	22
IGF1R; 7	ID01901.5p-miR	6106	-121	92	21
	ID00928.3p-miR	7023	-113	91	23
	ID00436.3p-miR (3)	7676 – 7680	-102	87	23
LIMK; 8,8	ID00846.3p-miR	2873	-117	90	22
MAP2K1; 17,4	ID02497.3p-miR	1882	-98	90	22
	miR-3162-3p	1798	-108	91	21
MAPK8; 4,2	ID01545.3p-miR	1799	-110	91	21
MCM4; 3,3	miR-5095	3009	-110	95	21
	miR-619-5p	3015	-115	95	22
	miR-5585-3p	3157	-106	91	22
MDFI; 8,2	ID02050.3p-miR	1393	-117	89	23
	ID01590.3p-miR	1639	-117	92	22

Продолжение таблицы В.2

1	2	3	4	5	6
	miR-1273f	5014	-102	98	19
MET; 4,9	ID02017.3p-miR	5201	-115	90	22
MLL2; 8,6	ID02459.5p-miR	16748	-110	91	21
	ID03342.3p-miR	16931	-119	92	23
	ID02547.5p-miR	17065	-113	91	21
	miR-5196-5p	17100	-113	90	22
	ID02262.3p-miR	17703	-119	89	23
	ID01254.5p-miR	17780	-110	91	21
	ID02690.5p-miR	17796	-125	89	24
	ID00564.5p-miR	17894	-113	91	22
	ID02328.5p-miR	19010	-119	89	23
MTA1; 18,1	ID00791.5p-miR	2360	-127	88	24
	ID01774.5p-miR	2391	-127	88	23
	ID00899.5p-miR	2736	-115	92	21
NET1; 10,5	miR-466 (7)	2641 – 2653	-100 ÷ -106	87 ÷ 91	23
	ID01030.3p-miR	2643	-110	91	23
PBX1; 6,4	ID01282.3p-miR	1794	-117	89	23
	ID00513.3p-miR	1795	-125	87	24
	miR-4514	3498	-93	96	18
PDPK1; 7,9	miR-4430	4690	-96	94	18
PPIA; 128,2	miR-1285-5p	1200	-104	92	21
	miR-1273g-5p	1541	-104	87	22
	miR-1273f	1544	-98	94	19
	miR-1273d	1545	-125	92	25
	miR-1273h-5p	1545	-100	85	21
	miR-1273e	1554	-106	91	22
PRKCA; 3,1	miR-548ae	4169	-93	92	21
	ID03224.5p-miR	6764	-119	90	23
	miR-1273g-3p	6777	-113	96	21
	miR-1273g-5p	6807	-102	86	22
	miR-1273f	6810	-102	98	19
	miR-1273h-5p	6811	-104	89	21
	miR-1273d	6811	-117	86	25
	miR-1273e	6820	-106	91	22
	miR-5689	6867	-104	91	22
	ID02059.5p-miR	6874	-106	91	21
PTEN; 13,4	ID01727.5p-miR (3)	8430 – 8449	-100 ÷ -104	85 ÷ 89	23
	miR-466 (2)	8444, 8452	-104	89	23
	ID00436.3p-miR (3)	8446 – 8450	-102	87	23
	ID01030.3p-miR	8448	-108	89	23
PTPRN; 0	ID00202.5p-miR	3185	-134	91	24
RALBP1;11,4	ID02243.5p-miR	2725	-117	89	24
RXRB; 24,5	miR-6751-3p	2318	-104	91	21
SHOX2; 0,1	ID02935.3p-miR	1252	-127	87	24
	miR-1277-5p	2275	-96	88	24
	miR-1277-5p (2)	2321, 2323	-96	88	24
SLC2A1; 5,5	ID01718.3p-miR	2278	-115	90	23
	miR-6845-3p	2279	-110	91	21

Продолжение таблицы В.2

1	2	3	4	5	6
SQSTM1;37,2	miR-4746-5p	2656	-113	87	23
TAGLN; 220	ID02837.5p-miR	1363	-113	91	21
	miR-6749-3p	1410	-110	90	21
TRIM31; 0,1	miR-6734-3p	1548	-110	88	23
UBE2L3; 26,9	ID03210.5p-miR	1731	-123	87	24
	miR-3944-3p	1757	-119	89	23
USP14; 10,3	miR-5095	2749	-110	95	21
	miR-619-5p	2755	-119	98	22
USP4; 13,8	miR-6724-5p	3907	-125	88	23
VSNL1; 0,8	miR-574-5p (15)	1019 – 1047	-104 ÷ -113	86 ÷ 93	23
	ID00470.5p-miR (13)	1021 – 1045	-104 ÷ -108	86 ÷ 89	23
	ID02299.5p-miR (13)	1022 – 1046	-96	90	21
ZEB2; 12	miR-466 (3)	6534 – 6542	-100 ÷ -106	85 ÷ 91	23
	ID02513.5p-miR	6535	-102	91	22
	ID00921.3p-miR	6687	-113	93	22

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица Г – Аминокислотные последовательности ортологичных белков, содержащие олигопептиды, кодируемые полностью комплементарными сайтами связывания miRNA

mRNA и miRNA	Олигопептид	Объект
1	2	3
ERCC6L miR-4288	QYACDFNLFL**EDSAD**NEQNFSSQSL	*Cfa*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNLSSQSS	*Cja*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSGQSL	*Csa*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSSQSL	*Ggo*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSSQSL	*Hsa*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSDQSL	*Mfa*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NSQNFSDQSL	*Mml*
	QYACDFNLFL**EDSAD**TRQNLSSKFL	*Mmu*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSSQSL	*Nle*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRESPSGQSL	*Ocu*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSSQSL	*Pab*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSSQSL	*Ppa*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSSQSL	*Ptr*
	QYECDFNLFL**EDSAD**TRQNLSSKFL	*Rno*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNFSGQSL	*Rro*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NRQNLSSQSL	*Sbo*
	QYTCDFNLFL**EDSAD**NGPNLSSQSV	*Ssc*
	QYACDFNLFL**EDSAD**NGQSLSRQSV	*Uma*
GPR179 miR-4478	GSLPGSSRHR**LLSSSL**HEPEGTRARK	*Cja*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Csa*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QDPEGPPALR	*Fca*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Ggo*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALH	*Hsa*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Mfa*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Mml*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QETEKPPALR	*Mmu*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Nle*
	SSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGPPALR	*Ocu*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Pab*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Ppa*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Ptr*
	SSLPGSSRRR**LLSSSL**QGTEKAPALR	*Rne*
	SSLPGSSRRR**LLSSSL**QGTEKAPALR	*Rno*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPALR	*Rro*
	GSLPGSSRRR**LLSSSL**QEPEGTPARK	*Sbo*
PNRC2 miR-4261	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Hsa*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Mml*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Csa*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Ptr*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Oar*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Ocu*

Продолжение таблицы Г

1	2	3
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Cfa*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Fca*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Ggo*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Ppa*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Nle*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Cja*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Mfa*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Rro*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Pab*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Ssc*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Lve*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Bta*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Chi*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Tch*
	PSVLPKPPSH**WVPVS**FNPSDKEIMT	*Ocu*
*Примечание - Жирным шрифтом обозначены олигопептиды, кодируемые CC miRNA		