«Кейбір әлеуметтік маңызы бар аурулармен байланысты гендердің mRNA – ның кодтаушы аймағымен miRNA-дың өзара әрекеттесуі» тақырыбында «6D070100-Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін Юрикова Оксана Юрьевнаның диссертациясына

АҢДАТПА

Жұмыстың жалпы сипаттамасы.

Жұмыс кейбір әлеуметтік маңызы бар аурулармен байланысты гендердің mRNA-ның кодтаушы аймағымен miRNA-дың өзара әрекеттесуін зерттеуге және осы ауруларды диагностикада одан әрі қолдану үшін miRNA-дың жаңа тиімді ассоциацияларын және олардың нысана гендерін табуға арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі.

Әлеуметтік маңызы бар аурулар қазіргі уақыттың медицинаның өзекті мәселелерінің бірі болып табылады. Осы ауруларды тиімді алдын алу үшін бұған билік, медициналық, білім беру саласының және т.б. қызметкерлерді жұмылдыру қажет. Әлеуметтік маңызы бар аурулар халықтың әртүрлі топтарын мүгедектікке және мерзімінен бұрын өлімге алып келеді, олардың алдын алу, емдеу және оңалту мәселелерін шешуге қаржыландырудың үлкен көлемі бөлінеді. Әлеуметтік маңызы бар аурулар қатарына қатерлі ісік, жедел миокард инфарктісі (алғашқы алты ай), жүйке жүйесінің дегенеративті аурулары, орталық жүйке жүйесінің демиелингі аурулары кірді.

Жүрек-қан тамырлары ауруы - Қазақстанда және бүкіл әлемде өлімнің басты себептерінің бірі (2016 жылы 17,9 млн өлім). 85% жағдайда оның себептері - инфаркт және инсульт болып табылады.

Қазақстан халқының өлім жағдайы бойынша онкологиялық аурулар жүрек-тамырдан кейінгі екінші орынға ие. Қатерлі ісік ауруының ең көп таралған түрі - өкпе ісігі. GLOBOCAN мәліметтер базасына сәйкес, 2018 жылы өкпе қатерлі ісігінен 1,76 миллион өлім тіркелді. Гистологиялық құрылымға сәйкес өкпенің қатерлі ісігінің екі негізгі түрі бар, олар: өкпенің ұсақ жасушалы қатерлі ісігі және өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісігі. Өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісігі барлық өкпе ісігінің 85% құрайды.

Нейродегенеративті ауруларды зерттеу шұғыл медициналық және ғылыми проблема болып табылады, өйткені олардың даму себептерін іздеуге қарамастан, олардың әліде емі жоқтың қасы. Дүние жүзінде 50 миллионға жуық адам деменциямен ауырады. Нейродегенеративті ауруларда қолданылатын дәрілер симптомдарды түзетуге бағытталған. Деменцияны емдеудің негізгі мақсаттарының бірі - ерте және оңтайлы басқаруды қамтамасыз ету үшін ерте диагностикалау. Нейродегенеративті аурулардың ішінде Альцгеймер ауруы әлемдегі ең көп таралған түрі болып табылады - бұл деменцияның барлық жағдайларының 60-70% құрайды.

Әлеуметтік маңызы бар ауруларды минималды инвазивті ерте диагностикалауға мүмкіндік беретін биомаркерлерді табу, сонымен қатар терапияның барысы мен тиімділігін болжау қазіргі заманғы медицинаның басты міндеттерінің бірі болып қала береді. Әлемдік ғылымда miRNA

молекулаларының биомаркер ретінде қолданылуын көрсететін көптеген медицина-биологиялық зерттеулер бар. miRNA – ұзындығы 17-25 нуклеотидтерден тұратын организмдердің көптеген түрлеріне тән кодталмайтын РНҚ. miRNA молекулалары әртүрлі ұлпаларда және клетка түрінде көрінетіні көрсетілді. miRNA экспрессиясын реттеудегі өзгерістер организмнің қалыпты және патологиялық процестеріне айтарлықтай әсер етеді. miRNA-ның экспрессиясының деңгейінің өзгеруі әртүрлі аурулары бар науқастардың тіндері мен сарысуларында байқалды. miRNA - қан сарысуы мен плазмада өте тұрақты, эндогендік рибонуклеазаларға және физикалық қолайсыз жағдайларға төзімді, бұл оларды биологиялық сұйықтықтардан тиімді оқшаулауға мүмкіндік береді, олардың санын нақты уақыт режимінде ПТР-ді қолдана отырып, жоғары сезімталдық пен ерекшелікпен өлшеуге болады. Бүгінгі таңда бірқатар аурулардың белгілі бір айналымдағы miRNA-ның сандық өзгерістері анықталды және miRNA маркерін одан әрі іздеу медициналық биотехнологияның маңызды бағыты болып табылады.

miRNA-ның белокты кодтайтын аймағында mRNA-мен байланыстыратын сайттарды табуға және зерттеуге арналған жариялымдар көп емес. CDS тізбектері mRNA-ның белокты кодтайтын аймағы) 5'UTR (5'-трансляцияланбайтын аймағы) және 3'UTR-дегі (3'-трансляцияланбайтын аймағы) mRNA-ға қарағанда неғұрлым консервативті екені белгілі. Сондықтан, miRNA арқылы ген экспрессиясын реттеу арасында эволюциялық тұрақты байланыс CDS-тегі байланысатын сайттар арқылы пайда болуы мүмкін. Осыған байланысты CDS-тегі mRNA-да miRNA -ның байланыстыратын сайттардың құрылымдық ұйымын зерттеу өзекті болып табылады.

Жұмыстың мақсаты: Кейбір әлеуметтік маңызды аурулармен байланысты гендердің mRNA-ның белокты кодтайтын аймағында miRNA–мен байланысатын сайттарының құрылымдық және функционалдық қасиеттерін анықтау.

Зерттеудің міндеттері:

1. Альцгеймер, миокард инфарктісі және өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісік ауруларының дамуына қатысатын гендер туралы мәліметтер базасын құру.
2. Альцгеймер ауруының дамуымен байланысты miRNA-ның гендердің mRNA–ның әрекеттесу сипаттамаларын анықтау.
3. Өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісігінің дамуымен байланысты miRNA-ның гендердің mRNA-ның әрекеттесу сипаттамаларын анықтау.
4. miRNA-ның миокард инфарктісінің дамуымен байланысты гендердің mRNA–ның әрекеттесу сипаттамаларын анықтау.
5. miR-1322-ның кейбір әлеуметтік маңызы бар ауруларға қатысатын гендермен өзара әрекеттесуін зерттеу.
6. miRNA-ның гендердің mRNA-ның кодталу аймағымен толық комплементарлы әсерлесуінің ерекшеліктерін зерттеу.

Зерттеу нысандары: кейбір нейродегенеративті, онкологиялық және жүрек-тамыр ауруларының дамуына байланысты гендердің және 6272 miRNA-ның нуклеотидтік тізбегі.

Зерттеу пәні: Альцгеймер ауруы, миокард инфарктісі және өкпенің ұсақ емес жасушалары қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA–ның кодтау аймағының miRNA–мен нуклеотидтер тізбегінің өзара әрекеттесу сипаттамасы.

Зерттеу әдістері. MiRTarget бағдарламасын қолдана отырып сутектік байланыстарын модельдеу негізінде гендердің mRNA–да miRNA-дың байланысатын сайттарын компьютерлік талдау және іздеу әдістері.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы. miRNA-дың миокард инфарктісінің, Альцгеймер ауруының, өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісігінің дамуымен байланысты CDS-тегі гендердің mRNA–мен өзара әрекеттесу сипаттамалары алғаш рет белгіленді. miRNA және олардың нысана гендерінің ассоциациясы кейбір онкологиялық, нейродегенеративті және жүрек-тамыр ауруларын диагностикалау негіздерін жасау үшін ұсынылады. mRNA-да бос байланысу энергиясы ΔG=-125 кДж/моль немесе одан жоғары және кластерлі ұйымдастырылған miRNA-дың байланыстыратын сайттар табылды. miRNA-дың кейбір әлеуметтік маңызды ауруларға қатысатын гендердің mRNA–ның кодталу аймағымен толықтай өзара әрекеттесуі анықталды. Бұл miRNA-дың байланыстырушы сайттары mRNA-ның ортологиялық генінде сақталған.

Жұмыстың теориялық маңызы. Миокард инфарктісі, Альцгеймер ауруы және өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісігінің дамуымен байланысты адам гендері мен ортологтарының miRNA және mRNA-ның нуклеотидтік тізбектері таңдалып алынды. Осы аурулардың дамуына қатысатын CDS-тегі гендердің mRNA-мен байланыстыруға қабілетті miRNA-лар анықталды. Көптеген гендердің (кластерлердің) mRNA-да қабаттасатын нуклеотидтік тізбектерімен орналасқан miRNA-ны байланыстыратын сайттар құрылды. miRNA-дың нысана гендердің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сипаттамаларына сүйене отырып, миокард инфарктісі, Альцгеймер ауруы, кіші жасушалық емес өкпе рагы және басқа да аурулардың патогенезге қатысатын ассоциациялар ұсынылды. miRNA-ды толық комплементарлы байланыстыратын сайттардың эволюциялық консерватизмі ашылды, бұл гендердің mRNA-мен молекулаларының экспрессиясының реттелуінің ерте пайда болғанын көрсетеді. Ортологиялық гендерінің mRNA-дың miRNA байланысатын сайттарын салыстырмалы талдау нәтижелері miRNA-дың экспериментте зерттелетін нысана гендердің реттелуін растау үшін жануарлардың эксперименттік моделін таңдауды негіздейді.

Зерттеудің практикалық мәні. miRNA-дың байланысатын сайттары mRNA CDS-де ассоциацияларын және миокард инфарктісі, Альцгеймер ауруы және өкпенің ұсақ емес жасушалары үшін нысана гендерді әрі қарай эксперименталды түрде тексеру үшін ұсынылады. Нәтижелер қазақ тіліне аударылып, 5В060700 «Биология» мамандығының 3 курс, бакалавриат студенттері арасында «Геномика және протеомика негіздері» элективті курсын оқу кезінде оқу процесіне енгізілді (қосымша А).

Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар:

Біз зерттеген гендердің mRNA-ның 122 ақуыз кодтайтын тізбектері миокард инфарктісі, Альцгеймер ауруы және кіші жасушалық емес өкпе қатерлі ісігі miRNA-мен нысаны болып табылады.

Әлеуметтік маңызы бар аурулардың дамуына CDS-те қатысатын гендердің mRNA-да miRNA-дың бір, бірнеше байланысатын сайттары және полисайттары болады.

mRNA-да miRNA-ді байланыстыратын сайттардың кластерлік ұйымдастырылуы бірнеше miRNA-ның нысаны болып табылатын және нуклеотидтік реттілігінің қысылуына нысана генмен байланысу үшін miRNA молекулалары арасында бәсекелестіктің пайда болуына әкеледі.

Зерттелген 17508 адамның гендерінің 32-і CDS mRNA-да miRNA-мен толықтай комплементарлы сайттарға ие. Осы гендердің mRNA-лары мен miRNA-ның ассоциациялары филогенетикалық тұрғыдан консервативті.

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен қорытындылары:

1. MirTarget бағдарламасы форматында 6272 адам miRNA нуклеотидтерінің тізбегінің базасы құрылды, олар miRBase мәліметтер базасынан 2565 рет және Londin et al, 2015. ашқан 3707 тізбектен тұрады. Альцгеймер ауруына қатысатын 75 гендердің, миокард инфарктімен байланысты 237 геннің және өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісігінің патогенезіне қатысатын 115 геннің нуклеотидтік тізбегінің базасы құрылды.

2. Өкпенің ұсақ емес жасушалық қатерлі ісігін дамытуға қатысатын 6272 miRNA мен 115 гендердің өзара әрекеттесу сипаттамалары анықталды, олардың 64-і mRNA CDS-те miRNA-мен байланысатын сайттар бар. Олардың ішінде 40 miRNA мен 15 нысана геннің ассоциациялары құрылды, олардың бос байланысу энергиясы 125 кДж/моль және одан жоғары.

3. Миокард инфарктісінің дамуына қатысатын және CDS mRNA-да miRNA-мен байланысатын сайттары бар 23 ген табылды. Олардың ішінде тек бір miRNA мен бір mRNA өзара әрекеттеседі, бос байланысу энергияның жоғары мәні 134 кДж / моль.

4. Альцгеймер ауруының дамуына қатысқан 75 гендердің ішінен CDS mRNA-да miRNA-ді байланыстыратын 35 ген анықталды. Олардың ішінде 11 miRNA-мен 8 mRNA - ассоциациялары 125 кДж/моль және одан жоғары бос байланысу энергиясына ие.

5. Ортологиялық жануарлар гендерінің CDS mRNA-де miR-1322-мен байланысатын сайттарында сандық өзгерістер анықталды. miR-1322 белгілі бір нейродегенеративті, жүрек-тамыр және онкологиялық аурулардың кандидаттық гендерінің экспрессиясын реттеуге қатысуы мүмкін.

6. Зерттелген адамның 17508 геннің mRNA-ның және 2565 miRNA-ның ішінен 41 miRNA-ның толығымен комплементарлы сайттары бар 32 гендер табылды, олар үшін филогенетикалық консерватизмі анықталды

Диссертацияда көрсетілген барлық тапсырмалар орындалды.

Бір ген көптеген miRNA-ның нысаны бола алады, ал бір miRNA бірнеше балама гендермен байланыса алады. Сондықтан диагноз қою үшін бір miRNA немесе бір ген экспрессия деңгейінің индикаторын қолдану маркер ретінде өте

қиын. Аурулардың молекулалық диагнозының неғұрлым жетімділігіне қол жеткізу үшін miRNA-дің альтернативті нысана гендердің экспрессиясына әсерін қарастырған жөн. Талдау негізінде нысана генмен және өзара әрекеттесу энергиясының жоғары мәнімен бір miRNA-дің ассоциацияларын зерттеу ұсынылады; бір нысана генді бірнеше miRNA-дің кластерлік ұйымы бар байланысу сайттармен байланыстыруын; бір miRNA-нің және оның бірнеше нысана гендерінің ассоциацияларын.

Арнайы miRNA комбинацияларын стандартты зертханалық зерттеулермен бірге қолдану идеясы ерте диагностика әдістерін жасауға, диагноздың дәлдігін арттыруға, сонымен қатар терапияның тиімділігін таңдауға және бақылауға бағытталған. Анықталған miRNA және mRNA бірлестіктерін пайдалану транскрипциядан кейінгі деңгейде Альцгеймер ауруы, ұсақ емес жасушалы өкпе ісігі және миокард инфарктінің дамуына қатысатын жеке гендердің экспрессиясын реттеу тетіктері туралы түсініктерін кеңейтеді.

Негізгі ғылыми жұмыс жоспарымен байланысы. Диссертация «microRNA және олардың нысана гендері негізінде жүрек-қан тамырлары ауруларын ерте диагностикалау әдісін жасау», №0115РК00286, «miRNA және олардың гендері негізінде жүрек-қан тамырлары, онкологиялық және нейродегенеративті ауруларды ерте диагностикалау үшін тестілік жүйелерді жасау» №0118РК00034, Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі жобалары аясында орындалды.

Жұмыстың апробациясы. Диссертацияның материалдары баяндалды және талқыланды:

– «Биотехнология: жағдайы және даму болашағы» IX Халықаралық конгресі, Мәскеу, Ресей, 2017 жыл;

– «Фараби Әлемі» студенттер мен жас ғалымдардың IV Халықаралық ғылыми конференциясы, ҚазҰУ Әл-Фараби, Алматы, Қазақстан, 2017;

– «Клиникалық протеомика. постгеномдық медицина», Ресей, Мәскеу, 2017;

– «Биотехнология: жағдайы және даму болашағы» халықаралық форумы, Мәскеу, Ресей, 2018 ж .;

– «Фараби Әлемі» студенттер мен жас ғалымдардың V Халықаралық ғылыми конференциясы, ҚазҰУ Әл-Фараби, Алматы, Қазақстан, 2018;

– V Халықаралық конференция «Молекулалық филогенетика және биоәртүрліліктің бибанкингі», Мәскеу, Ресей, 2018;

– Клиникалық және эксперименттік медицинадағы заманауи молекулалық-биохимиялық маркерлер» халықаралық конференциясы, Прага, Чехия, 2018;

– Биотехнология: өнер жағдайы және перспективалары «Халықаралық конгресі», Мәскеу, Ресей, 2019 жыл;

– «Реттеуші РНҚ-да жасушалық симпозиум» халықаралық симпозиумы - Берлин, Германия, 2019;

– VII Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Биотехнология: ғылым және практика», Севастополь, Ресей, 2019;

– «Жаңа зерттеулер: проблемалар мен перспективалар» халықаралық конференциясы, Прага, Чехия, 2019;

– «Қазіргі заманғы ғылым: проблемалар, идеялар, тенденциялар» халықаралық конференциясы, София, Болгария, 2019;

– «EMBO|Халықаралық симпозиумы EMBL симпозиумы: кодталмайтын геном», Гейдельберг, Германия, 2019 ж

Жариялымдар және автордың жеке үлесі. Диссертацияның негізгі мазмұны 19 жариялымда көрсетілген, оның ішінде Scopus және Web of Knowledge сілтемелерінде импакт-факторы бар халықаралық журналдағы 1 мақала; Білім және ғылым саласындағы бақылау комитетінің тізімінен 5 мақала; Халықаралық конференциялар материалдарының 14 тезисі, оның 9-ы шетелдік.

Автор зерттеу, эксперименттік зерттеулер, статистикалық өңдеу, зерттеу нәтижелеріне талдау жасау, диссертация қолжазбасын жазу және жобалау бойынша әдебиеттерге тәуелсіз талдау жүргізді.

Диссертацияның құрылымы. Диссертация 123 беттен және белгілер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, материалдар мен әдістер, нәтижелер мен талқылаулар, қорытынды және 178 атаулардан құралған әдебиеттер көздерінен тұрады; 44 кесте, үш сурет және төрт қосымша бар.