АҢДАТПА

«6D074000 – Наноматериалдар және нанотехнологиялар» мамандығы
«Асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігін дамытуға қатысатын кандидат гендердің mRNA-мен miRNA-дың өзара әсерлесуі» тақырыбына бойынша
Акимниязова Айгуль Нурланкызының
Философия докторы (PhD) дәрежесіне диссертациясы

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Жұмыс асқазан-ішек қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің miRNA-ның miRNA-мен (**m**RNA-**i**nhibitory **RNA**) өзара әрекеттесу ерекшеліктерін зерттеуге және асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігін ерте диагностикалау үшін miRNA ассоциациялары мен кандидат гендер негізінде маркерлерді іздеуге арналған. Жүргізілген зерттеулердің барлық объектілері наноөлшемді және осы наномолекулалардың өзара әрекеттесу процестері нанопроцестер (нанотехнологиялар) болып табылады.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі.

Қатерлі ісік әлемдегі өлім-жітімнің басты себептерінің бірі болып табылады. 2020 жылы дүние жүзінде онкологиялық аурулардың шамамен 19,3 миллион жағдайы тіркеліп және қатерлі ісіктен 10 миллионға жуық адам қайтыс болды. Халықаралық қатерлі ісіктерді зерттеу агенттігінің сарапшылары тоқ ішек қатерлі ісігінен (9,4%), асқазан обырынан (7,7%) және өңеш обырынан (5,5%) өлім-жітімнің көп санын тіркеді. Қатерлі ісік ауруларының патогенезін зерттеудегі жетістіктерге және диагностикалық және емдеу әдістерін құру және жетілдіру бойынша айтарлықтай күш-жігерге қарамастан, асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігінен болатын аурушаңдық пен өлім-жітім дамушы елдерде де, дамыған елдерде де салыстырмалы түрде жоғары деңгейде қалуда.

Аурудың әртүрлі аспектілерін қамтитын жаңа биомаркерлерді іздеу сәйкес емдеу әдістерін таңдауға және асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігі бар науқастарды жақсырақ бақылауға мүмкіндік береді. Бірнеше биомаркерлердің ішінде тінге тән және айналымдағы miRNA наномолекулалары асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігін диагностикалауда перспективалы үміткерлер ретінде пайда болды. miRNA ұзындығы 6–9 нм болатын наноөлшемді, кодталмаған RNA молекулалары. miRNA наномолекулалары ген экспрессиясын реттейді және қанда, плазмада/сарысуда, несепте және басқа да дене сұйықтықтарында өте тұрақты түрде кездеседі. Олар ген экспрессиясының посттранскрипциялық реттеушілері ретінде әрекет етеді. Жеке miRNA наномолекулалары бірнеше гендердің экспрессиясын реттейтіні косыған дейін зерттелген. Алайда, жеке гендердің экспрессиясы көптеген miRNA наномолекулаларымен реттелуі мүмкін. 20 жылдан астам уақыт бұрын ашылғаннан бері miRNA наномолекулалары әртүрлі қатерлі ісік патологияларымен байланысты күрделі нанобиологиялық процестердің негізгі реттеушілері ретінде анықталды. miRNA наномолекулаларының өзгерген экспрессиясы қатерлі ісік ауруының маңызды белгісі болды. miRNA-дың әртүрлі наномолекулалары

ісіктерді басады және онкогендер ретінде қызмет ете алады, ал кейбір miRNA наномолекулаларының реттелуінің бұзылуы қатерлі ісіктің дамуына ықпал етуі мүмкін. miRNA-дың әртүрлі наномолекулалары ісіктерді басатын онкогендер ретінде қызмет ете алады, ал кейбір miRNA наномолекулаларының реттелуінің бұзылуы қатерлі ісіктің дамуына ықпал етуі мүмкін. miRNA наномолекулалары жасуша өсуінің, жасуша циклінің, апоптоздың және инвазияның күрделі молекулалық процестерін потенциалды түрде өзгерте алады. Осы орайда miRNA наномолекулаларының ісікке қатысуы және олардың қызметі асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігіндегі miRNA наномолекулаларын зерттеуге түрткі болды. miRNA наномолекулалары мен олардың адамдағы мақсатты гендерін зерттеуге жаңа молекулалық-генетикалық және компьютерлік технологияларды енгізу арқылы молекулярлық медицинада елеулі жетістіктерге қол жеткізуге болады. Бұл жұмыстың қажеттілігі асқазан-ішек жолдарының ісігінің жаңа молекулалық маркерлері ретінде miRNA наномолекулалары мен mRNA кандидат гендерінің ассоциацияларын анықтауға негізделгендігімен ерекшелінеді.

Жұмыс мақсаты: Асқазан-ішек қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің miRNA-мен mRNA өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамаларын анықтау.

Зерттеу мақсаттары:

1. Асқазан-ішек қатерлі ісігінің дамуына қатысатын miRNA наномолекулалары мен кандидат гендер үшін деректер қорын жасау.
2. Өңеш ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен miRNAнаномолекулаларының әрекеттесу ерекшеліктерін зерттеу.
3. Асқазанның қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен miРНҚ наномолекулаларының әрекеттесу ерекшеліктерін зерттеу.
4. Асқазанның қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен миРНҚ наномолекулаларының әрекеттесу ерекшеліктерін зерттеу.
5. miRNA наномолекулаларының тік ішек ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен әрекеттесу ерекшеліктерін зерттеу.
6. Асқазан-ішек қатерлі ісігінің дамуына қатысатын miRNA наномолекулалары мен mRNA гендерінің нақты ассоциацияларын құру.

Зерттеу объектілері: 6274 miRNA наномолекулаларының нуклеотидтер тізбегі және асқазан-ішек қатерлі ісігінің дамуына қатысатын адам гендері.

Зерттеу тақырыбы: асқазан-ішек қатерлі ісігінің дамуына қатысатын кандидат гендердің miRNA наномолекулалары мен mRNA арасындағы өзара әрекеттесу сипаттамасы.

Зерттеу әдістері. MirTarget бағдарламасы арқылы сутегі байланыстарын модельдеуге негізделген miRNA гендерімен miRNA наномолекулаларының байланысу орындарын компьютерлік талдау және іздеу әдістері.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы. Алғаш рет асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігінің дамуына байланысты 6274 miRNA наномолекулаларының кандидат mRNA гендердің өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамалары белгіленді. Осы аурулардың диагностикасының негізін жасау үшін miRNA

наномолекулаларының және олардың мақсатты гендерінің спецификалық ассоциациялары ұсынылды. Бос әрекеттесу энергиясы -130 кДж/мольге тең немесе одан жоғары mRNA -дағы miRNA наномолекулалары үшін байланысу орындары және кластерлік ұйымы бар байланыстыру орындары табылды. Асқазан-ішек қатерлі ісігінің дамуына қатысатын кандидат гендердің 5'UTR, CDS және 3'UTR mRNA бөлшектерімен miRNA толық комплементарлы өзара әрекеттесулері анықталды.

Жұмыстың теориялық маңызы. Зерттеудің теориялық маңыздылығы miRNA наномолекулаларының асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігінің дамуына қатысатын mRNA гендердің өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамаларын анықтауда жатыр. Бұл деректер онкогенездің ерте диагностикасын жаңа ғылыми деңгейде жақсартуға мүмкіндік береді, асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігінің әртүрлі түрлері мен кіші түрлерімен ауыратын науқастарды анықтауға мүмкіндік береді.

Зерттеудің практикалық маңызы. miRNA наномолекулалары мен мақсатты гендердің ассоциацияларын ашу және пайдалану басқа ісік ауруларына да қолданылады. Ұсынылған әдістеме полигенді ауруларды диагностикалау үшін маңызды деп қарастырылады және бұл кезде аурудың дамуына ең жауапты гендерді анықтау және олардың экспрессиясын таңдаулы түрде өзгерту қажет. miRNA үшін мақсатты гендерді іздеуде компьютерлік әдістерді қолдану miRNA наномолекулалары мен мақсатты гендердің тиімді ассоциацияларын ашуды мыңдаған есе жылдамдатуға және құнын төмендетуге мүмкіндік береді. Сонымен бірге бұл әдістер адам геномының барлық потенциалды экспрессиялық гендеріне белгілі бір miRNA наномолекулаларының жанама әсерлерін ескеруге мүмкіндік береді. Компьютерлік бағдарламаларға екі авторлық куәлік алынды. Қолданылатын компьютерлік әдістер асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігін ерте диагностикалау үшін тест-жүйелерді жасауға мүмкіндік береді.

Қорғауға ұсынылған негізгі ережелер:

1. MirTarget бағдарламасына арналған форматта жасалған, адамның miRNA наномолекулаларының дерекқоры және өңеш, асқазан, аш ішек және тоқ ішек қатерлі ісігінің дамуына байланысты 372 кандидат генінің деректер базасы тіндік жүйені әзірлеп осы ауруларды ерте диагностикалау. үшін пайдаланылуы мүмкін.
2. Адам геномында 5'UTR, CDS және 3'UTR mRNA жоғары нуклеотидті комплементарлы miRNA наномолекулалары үшін байланыстыру орындары бар асқазан-ішек қатерлі ісігінің кандидаты гендер бар болып саналады. CDS mRNA кандидат гендеріндегі наноөлшемді miRNA байланыстыру орындары филогенетикалық тұрғыдан жоғары деңгейде сақталған.
3. Асқазан-ішек қатерлі ісігіне кандидат гендердің көпшілігі бір немесе бірнеше miRNA наномолекулаларының нысанасы болып табылады, олардың байланысу орындары mRNA бір-бірінен бөлек орналасқан. Басқа кандидат mRNA гендердің miRNA наномолекулалары үшін байланыстыру орындары екі немесе одан да көп miRNA үшін байланыстыратын тораптардың кластерлерін құрайтын қабаттасатын нуклеотидтер тізбегімен орналасады.

miRNA наномолекуласын байланыстыру орындарының кластерлері олардың ықшам орналасуымен сипатталады және miRNA наномолекулалары арасында бәсекелестік тудырады, өйткені олардың байланысу орындары қабаттасатын нуклеотидтер орналасқан.

4. miRNA наномолекулаларының үміткер мақсатты mRNA гендердің өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамалары осы гендердің экспрессиясының miRNA мен mRNA концентрациясына потенциалды жоғары тәуелділігін көрсетеді. Олар асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігін диагностикалау үшін наноөлшемді miRNA және mRNA тиімді бірлестіктерін таңдау үшін негіз болады.

Негізгі зерттеу нәтижелері мен қорытындылары:

1. MirTarget бағдарламасына арналған форматта кандидаттық гендерден тұратын асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігінің дамуымен байланысты кандидат гендер базасы құрылды: өңеш аденокарциномасы - 38 ген, өңештің жалпақ жасушалы карциномасы - 66 ген, асқазан обыры - 215 ген. , аш ішек ісігі – 40 ген, тоқ ішек ісігі – 135 ген. MirTarget бағдарламасы үшін форматта miRNA наномолекулаларының 6274 нуклеотидті тізбегінің деректер базасы жасалды.

2. Өңеш қатерлі ісігінің дамуымен байланысты гендерде саны 184 miRNA үшін 279 байланыстыру орны табылды, олар 38 үміткер өңеш аденокарциномасының 32 генін реттей алатындығы дәлелденді. 246 miRNA молекулалары өңештің жалпақ жасушалы карцинома кандидаты болып табылатын болжамды mRNA 66 гендерінің 53-і 321 байланыстыру орнын құрайды. Өзара әрекеттесудің бос энергиясы -130 кДж/моль немесе одан жоғары болатын miRNA және mRNA ассоциациялары өңеш обырының ерте диагностикасы үшін маркерлер ретінде ұсынылуы үшін анықталды.

3. 6274 miRNA молекулаларының 5'UTR, CDS, 3'UTR mRNA 215 кандидат асқазан ісігі гендерімен өзара әрекеттесуінің алынған сипаттамалары негізінде өзара әрекеттесудің орташа бос энергиясы -130 кДж/моль немесе одан жоғары болатын ассоциациялар деп анықталынды. Асқазан қатерлі ісігінің дамуына жауапты 215 mRNA кандидат гендерінің 153-інің 309 miRNA молекулаларының жақындығы жоғары екені анықталды. miRNA байланыстыру орындары кластерлерді құрайтын кейбір mRNA гендерінде анықталған. *ARID1A, E2F1, TBC1D9, MAPK1, TERT* және *VEGFC* ортоологиялық mRNA гендерінің miRNA байланыстыру орындарының жоғары сақталуы анықталды.

4. Аш ішек қатерлі ісігінің дамуына байланысты гендерде 211 miRNA-да 40 кандидат гендердің 32-нің экспрессиясын жоғары тиімділікпен реттей алатын байланыс сайттары бар. *ASXL1*, *GNAS* және *KRAS* гендерінің mRNA-да miRNA-мен толық байланыстыратын сайттар бар. Өзара әрекеттесудің бос энергиясы -130 кДж/моль немесе одан жоғары болатын miRNA және mRNA ассоциациялары аш ішек қатерлі ісігінің ерте диагностикасы үшін маркерлер ретінде ұсынылуы үшін анықталды.

5. Колоректальды қатерлі ісіктің дамуымен байланысты mRNA гендерінің 5’UTR-де 165 miRNA үшін 233 байланыстыру орны анықталды; CDS-дегі 167 miRNA үшін 193 байланыстыру орны анықталды; 3'UTR ішіндегі 151 miRNA үшін 450 байланыстыру орны анықталды. miR-619-5p, miR-6089, ID03208.5p-miR, ID00296.3p-miR, ID03332.3p-miR және miR-548 төменгі нуклеотидті тізбектерін колоректальды қатерлі ісік диагностикасы үшін пайдалануға болады.

6. Асқазан-ішек жолдарының қатерлі ісігіне кандидат гендермен miRNA-лардың ассоциациялары анықталды: өңеш аденокарциномасы – 18 ассоциация, өңештің жалпақ жасушалы карциномасы – 12 ассоциация, асқазан қатерлі ісігі – 42 ассоциация, аш ішек қатерлі ісігі – 20 ассоцияция, колоректальды қатерлі ісіктің – 35 ассоциациясы.

Негізгі ғылыми жұмыс жоспарымен байланысы.

Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасы Білім және Ғылым министрлігінің №AP05132460 «microRNAлар және олардың нысана гендерімен ассоциациялар негізінде жүрек-қан тамырлар, онкологиялық және нейродегенеративті аурулардың алдын ала диагностикасының тест-жүйелерін өндеу» жобасы аясында жүзеге асырылды.

Жұмысты апробациялау. Диссертациялық жұмыстың материалдары баяндалып, талқыланды:

- «Biological markers in fundamental and clinical medicine», халықаралық конференциясында, Прага, Чехия, 31 қазан – 2 қараша 2018 ж.;
- “Biotechnology: state of the art and perspectives”, халықаралық конгресінде, Мәскеу, Ресей, 25-27 ақпан 2019 ж.;
- "Химия, физика, биология, математика: теоретические и прикладные исследования", XX халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясында, Ресей, 4 ақпан 2019 ж.;
- әл-Фараби атындағы ҚазҰУ «Фараби әлемі» студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясында, Алматы, Қазақстан, 8-9 сәуір 2019 жыл;
- «9-шы Московская конференция по вычислительной молекулярной биологии MCCMB'19», Мәскеу, Ресей, 27-30 шілде 2019 ж.;
- 12-ші халықаралық мультиконференциясында “Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2020)”, Новосибирск, Ресей, 6-10 шілде, 2020 ж.;

Жарияланымдар мен автордың жеке үлестері. Диссертацияның негізгі мазмұны 13 жұмыста жарияланды: Web of Knowledge және Scopus деректер базасында келтірілген импакт-факторы бар халықаралық журналдардағы 2 мақала; Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары Білім министрлігі Білім және ғылым сапасын қамтамасыз ету комитетінің тізбесіндегі 5 мақала; Халықаралық конференциялар материалдарында 6 тезис. Автор зерттеу тақырыбы бойынша әдебиет деректерін талдауды, эксперименттік зерттеулерді, зерттеу нәтижелерін талдауды, диссертацияның қолжазбасын жазуды және ресімдеуді өз бетінше жүзеге асырды. MirTarSeq (miRNA target sequence – олигопептидтер және олигонуклеотидтер) бағдарламасына бір

авторлық куәлік алынды. 7М101 «Денсаулық сақтау» магистратурасының білім беру бағдарламасының «Медицина және фармациядағы "Омикс" технологиялары» курсы бойынша зерттеу нәтижелерін енгізу актісі алынды.

Диссертация құрылымы. Диссертация 149 беттен және келесідей бөлімдерден тұрады: белгілеу және қысқарту, кіріспе, әдебиеттерге шолу, материалдар мен әдістер, нәтижелер мен талқылау, қорытындылар, 296 атаудағы пайдаланылған әдебиеттер тізімінен, 19 кесте, 25 сурет және 16 қосымшадан тұрады.