

¹Иващенко А.Т.,
¹Алыбаева А.Ж.,
¹Ниязова Р.Е., ²Файе Б.

¹Казахский национальный
университет им. аль-Фараби,
Казахстан, г. Алматы

²Centre de Cooperation Internationale
en Recherche Agronomique pour le
Developpement (French Agricultural
Research Centre for International De-
velopment), Франция, г. Монпелье

**microRNA – эндогенные
регуляторы экспрессии генов,
участвующих в формировании
продуктивности животных**

¹Ivashchenko A.,
¹Alybaeva A.,
¹Niyazova R., ²Faye B.

¹Al-Farabi Kazakh National Univer-
sity, Kazakhstan, Almaty

²Centre de Cooperation Internationale
en Recherche Agronomique pour le
Developpement (French Agricultural
Research Centre for International
Development), France, Montpellier

**microRNAs – endogenous
regulators of expression of genes
participating in the formation of
the animals productivity**

Исследовано связывание miRNA с mRNA генов, кодирующих белки молока. Выяснялось влияние miRNA на экспрессию генов транскрипционных факторов (TF) семейства ZNF. mRNA генов, кодирующих гормон роста и бета-лактоглобулин, связывается с высоким сродством с несколькими miRNA. Мишенями miRNA были гены CEBPB, EIF5, MLXIPL, NF1, POU2F1, SP1 и STAT5, участвующие в формировании белковых, углеводных и липидных компонентов молока. miR-3960 имеет в mRNA гена CEBPB два локуса с множественными сайтами связывания с величиной $\Delta G/\Delta G_m$ от 92 до 98%. Сайты располагались в CDS и кодировали олигопептиды PPPPPPP или AAAAAAA. Сайты связывания miR-466 выявлены в mRNA гена SP1 с величиной $\Delta G/\Delta G_m$ от 89 до 91%. mRNA гена MLXIPL служила мишенью miR-466, miR-3130-3p, miR-3926, miR-4685-5p, miR-5196-5p и miR-6760-5p, что показывает зависимость синтеза белка MLXIPL от многих факторов. Экспрессия гена POU2F1 зависела от miR-566, miR-1273d, miR-1273e и miR-4295. На mRNA генов NF1 и STAT5A влияли по три miRNA, а остальные гены являлись мишенью по одной miRNA. mRNA генов многих TF семейства ZNF связывала miR-466, miR-574 и miR-3960. Множественные сайты связывания для miR-466 обнаружены в mRNA генов DCL11B, EGR3, MECOM, PRDM1, ZSCAN12, для miR-574 – в mRNA генов KLF7, SNAI2, ZEP91, ZNF6772, для miR-3960 – в mRNA генов KLF4, ZEP91 ZIC3, ZNF366, ZNF367, ZNF827. miRNA значительно влияют на экспрессию генов TF, участвующих в формировании белковых, углеводных и липидных компонентов молока.

Ключевые слова: miRNA, mRNA, гены, белки молока, транскрипционные факторы.

We investigated the binding of miRNAs to the mRNAs genes encoding certain proteins of milk with a view to establishing the degree of the corresponding gene expression regulation. Also it was found out that the influence of miRNAs gene expression of transcription factors, the most large family ZNF, including those that affect the transcription of genes involved in the formation of milk quality. It is found that the mRNA encoding the growth hormone gene (GH1) and beta-lactoglobulin (LGB) can bind with high affinity to multiple miRNAs. miRNAs binding sites were located in the 3'UTR and CDS of GH1 gene mRNA and 3'UTR of LGB gene mRNA. The targets of miRNAs genes were CEBPB, EIF5, MLXIPL, NF1, POU2F1, SP1 and STAT5, which involved in the formation of protein, carbohydrate and lipid components of milk. It is shown that miR-3960 has two region with multiple binding sites with the value of $\Delta G/\Delta G_m$ from 92 to 98% in the SEVRV gene mRNA. These sites are located in the CDS and encoded oligopeptides RRRRRRRR or AAAAAAA. Multiple binding sites (nine) for miR-466 were detected in SP1 gene mRNA with $\Delta G/\Delta G_m$ value from 89 to 91%. mRNA of MLXIPL gene served as a target of miR-466, miR-3130-3p, miR-3926, miR-4685-5p, miR-5196-5p and miR-6760-5p, which show the dependence of MLXIPL protein synthesis from many factors. The expression of the POU2F1 gene depended on miR-566, miR-1273d, miR-1273rd and miR-4295. On the mRNA of NF1 and STAT5A genes influenced by three miRNAs and the other genes are targets for one miRNA each. Multiple miR-466 binding sites were found in mRNA of DCL11B, EGR3, MECOM, PRDM1 and ZSCAN12 genes, for miR-574 – in mRNA of KLF7, SNAI2, ZEP91 and ZNF6772 genes, for miR-3960 – in mRNA of KLF4, ZEP91 ZIC3, ZNF366, ZNF367 and ZNF827 genes. The obtained data show a significant effect of miRNAs on the expression of transcription factors genes involved in the formation of protein, carbohydrate and lipid milk components.

Key words:

**MICRORNA –
ЭНДОГЕННЫЕ
РЕГУЛЯТОРЫ
ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ,
УЧАСТВУЮЩИХ
В ФОРМИРОВАНИИ
ПРОДУКТИВНОСТИ
ЖИВОТНЫХ**

Введение

В современной биотехнологии наиболее активно развиваются направления по генетической инженерии для получения растений и животных, обладающих повышенной продуктивностью [1]. Второе направление биотехнологии – использование эндогенных биорегуляторов для повышения продуктивности животных либо увеличения содержания отдельных компонентов в пищевых продуктах [2]. Это направление не меняет генетическую структуру генома организма и использует экзогенные регуляторы метаболизма, присутствующие как эндогенные компоненты в норме. В последнее время эти технологии активно используются для повышения пищевой ценности молока и улучшения компонентного состава его ингредиентов: белков, липидов, углеводов и минеральных компонентов [3].

Важнейшими эндогенными регуляторами экспрессии генов являются транскрипционные факторы (TF), которые могут регулировать экспрессию сразу нескольких генов [4-8]. В свою очередь синтез транскрипционных факторов зависит от miRNA, которые могут одновременно регулировать трансляцию от одного до десятков TF [9]. В результате связывания miRNA с mRNA синтез белков может полностью блокироваться либо увеличиваться в сотни раз при распаде комплекса miRNA с mRNA. Важно, что miRNA являются природными регуляторами экспрессии генов, и поэтому их биосовместимость при экзогенном введении в организм в физиологических концентрациях не вызывает острой реакции организма [10-12].

В настоящей работе исследовано связывание miRNA с mRNA генов, кодирующих некоторые белки молока с целью установления степени регуляции экспрессии соответствующих генов. Кроме этого, выяснялось влияние miRNA на транскрипционные факторы наиболее большого семейства ZNF, в том числе и тех, которые влияют на транскрипцию генов, участвующих в формировании качества молока.

¹Иващенко А.Т.,
¹Алыбаева А.Ж.,
¹Ниязова Р.Е., ²Файе Б.

Әл-Фараби атындағы Қазақский
университет имени аль-Фараби,
Қазақстан, Алматы қ. ЦИРАД,
Монпелье, Франция

**microRNA – малдың
өнімділігінің түзілуіне
қатысатын гендер
экспрессиясының эндогендік
реттеушілері**

Сүт белоктарын кодтайтын гендер mRNA-мен miRNA-дың байланысуы зерттелген. Сонымен бірге ZNF отбасының транскрипциялық факторлар (TF) гендердің экспрессиясына miRNA-дың әсері зерттелген. Өсу гормоны мен бета-лактоглобулинді кодтайтын гендердің mRNA-лары бірнеше miRNA-мен жоғары ұқсастықпен байланысады. miRNA нысаналары CEBPB, EIF5, MLXIPL, NF1, POU2F1, SP1 және STAT5 гендер болып келеді, олар сүттің белоктық, көмірсу және липидтік компоненттерін түзуге қатысады. miR-3960 үшін CEBPB геннің mRNA-да көптік сайттарымен екі локус бар, олардың $\Delta G/\Delta G_m$ шамасы 92 – 98% аралығында. Сайттар CDS орналасады және PPPPPPP немесе AAAAAAA олигопептидтерді кодтайды. miR-466 байланысу сайттар SP1 геннің mRNA-да анықталған, $\Delta G/\Delta G_m$ шамасы 89 – 91% аралығында. MLXIPL геннің mRNA-лы miR-466, miR-3130-3p, miR-3926, miR-4685-5p, miR-5196-5p және miR-6760-5p үшін нысана болып келеді, бұл MLXIPL белок синтезінің көп факторларға тәуелділігін көрсетеді. POU2F1 геннің экспрессиясы miR-566, miR-1273d, miR-1273e және miR-4295 тәуелді. NF1 және STAT5A гендердің mRNA-на үш miRNA және қалған гендер бір ғана miRNA-ға нысана болып келеді. ZNF отбасының көп TF гендердің mRNA-ры miR-466, miR-574 және miR-3960 байланыстырады. MiR-466 үшін көптік байланысу сайттар DCL11B, EGR3, MECOM, PRDM1, ZSCAN12 гендер mRNA-да, miR-574 үшін – KLF7, SNAI2, ZEP91, ZNF6772 гендер mRNA-да, miR-3960 үшін – KLF4, ZEP91, ZIC3, ZNF366, ZNF367, ZNF827 гендер mRNA-да орналасқан. miRNA-лар сүттің белоктық, көмірсу және липидтік компоненттерінің түзілуіне қатысатын TF гендердің экспрессиясына күшті әсер етеді.

Түйін сөздер:

Методы исследования

Нуклеотидные последовательности mRNA взяты из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нуклеотидные последовательности 2563 hsa-miRNA взяты из базы данных miRBase (<http://mirbase.org>). Мы использовали последовательности miRNA человека, так как последовательности miRNA верблюда еще не выявлены. Поиск сайтов связывания miRNA в mRNA генов-мишеней проводили с помощью программы MirTarget [13]. Эта программа определяет: начало сайтов связывания miRNA с mRNA; расположение сайтов в 5'-нетранслируемом участке (5'UTR), в белок-кодирующей части (CDS) и в 3'-нетранслируемом участке (3'UTR) mRNA; свободную энергию гибридизации (ΔG , кДж/моль) и схемы взаимодей-

ствия нуклеотидов miRNA с mRNA. Рассчитывали величину $\Delta G/\Delta G_m$ (%), где ΔG_m равна свободной энергии связывания miRNA с полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью. Сайты связывания miRNA с mRNA отобраны с отношением $\Delta G/\Delta G_m$, равным более 90%. Позиция сайтов связывания указана от первого нуклеотида mRNA.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что mRNA генов, кодирующих гормон роста (GH1) и бета-лактоглобулин (LGB), может связываться с высоким сродством с несколькими miRNA (таблица 1). Сайты связывания этих miRNA располагались 3'UTR и CDS mRNA гена *GH1 Bos taurus* и в CDS mRNA гена *LGB Equus caballus*.

Таблица 1 – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов, кодирующих гормон роста и бета-лактоглобулин

Ген, вид	miRNA	Начало сайта, н.	Участок mRNA	ΔG , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, н.
<i>GH1, Bta</i>	bta-miR-2441	814	3'UTR	-99,8	90	20
<i>GH1, Bta</i>	hsa-miR-6878	121	CDS	-106,1	88	23
<i>GH1, Eca</i>	hsa-miR-6878	21	CDS	-108,3	89	23
<i>GH1, Eca</i>	hsa-miR-6878	173	CDS	-106,1	88	23
<i>LGB, Bta</i>	bta-miR-2376	623	3'UTR	-110,4	88	23
<i>LGB, Bta</i>	hsa-miR-1321	832	3'UTR	-91,3	96	18

Мишенями miRNA были гены *CEBPB*, *EIF5*, *MLXIP1*, *NF1*, *POU2F1*, *SP1* и *STAT5*, участвующие в формировании белковых, углеводных и липидных компонентов молока (таблица 2). mRNA гена *CEBPB* связывала miR-1237-5p, miR-3648 и miR-3960, из которых наибольшее влияние на трансляцию mRNA может оказывать miR-3960, которая имеет множественные сайты связывания

в двух локусах: 231÷232н. и 678÷685н. с величиной $\Delta G/\Delta G_m$ от 92 до 98%. Наличие в mRNA гена *CEBPB* двух локусов множественных сайтов взаимодействия с miR-3960 увеличивает в несколько раз вероятность связывания этой miRNA с mRNA. Эти сайты располагались в кодирующей области mRNA и кодировали олигопептиды PPPPPP и AAAAAAAAAA.

Таблица 2 – Характеристики связывания hsa-miRNA с mRNA генов *Bos taurus*, кодирующих компоненты молока

Ген	miRNA	Начало сайта, н.	Участок mRNA	ΔG , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, н.
<i>CEBPB</i>	miR-3960	231	CDS	-121,0	97	20
<i>CEBPB</i>	miR-3960	232	CDS	-116,8	93	20
<i>CEBPB</i>	miR-3648	330	CDS	-114,6	92	21
<i>CEBPB</i>	miR-3960	678	CDS	-123,1	98	20
<i>CEBPB</i>	miR-3960	679	CDS	-116,8	93	20
<i>CEBPB</i>	miR-3960	684	CDS	-116,8	92	20

Ген	miRNA	Начало сайта, н.	Участок mRNA	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, н.
<i>CEBPB</i>	miR-3960	685	CDS	-121,0	97	20
<i>CEBPB</i>	miR-1237-5p	1295	3'UTR	-121,0	93	21
<i>EIF5</i>	miR-483-3p	8	5'UTR	-104,0	91	21
<i>MLXIPL</i>	miR-3130-3p	138	CDS	-106,1	91	21
<i>MLXIPL</i>	miR-5196-5p	1440	CDS	-112,5	90	22
<i>MLXIPL</i>	miR-4685-5p	1894	CDS	-127,4	87	26
<i>MLXIPL</i>	miR-3926	2467	CDS	-104,0	92	21
<i>MLXIPL</i>	miR-6760-5p	2997	3'UTR	-112,5	90	23
<i>MLXIPL</i>	miR-466	3200	3'UTR	-104,0	89	23
<i>NF1</i>	miR-1207-5p	168	5'UTR	-112,5	91	21
<i>NF1</i>	miR-1207-5p	169	5'UTR	-112,5	91	21
<i>NF1</i>	miR-8067	10908	3'UTR	-101,9	92	22
<i>POU2F1</i>	miR-1273d	6931	3'UTR	-118,9	87	25
<i>POU2F1</i>	miR-1273e	6940	3'UTR	-106,1	91	22
<i>POU2F1</i>	miR-566	6987	3'UTR	-104,9	94	19
<i>POU2F1</i>	miR-4295	8640	3'UTR	-87,0	95	18
<i>SP1</i>	miR-466	4145	3'UTR	-104,0	89	23
<i>SP1</i>	miR-466	4147	3'UTR	-106,2	91	23
<i>SP1</i>	miR-466	4149	3'UTR	-106,2	91	23
<i>SP1</i>	miR-466	4151	3'UTR	-106,2	91	23
<i>SP1</i>	miR-466	4153	3'UTR	-106,2	91	23
<i>SP1</i>	miR-466	4155	3'UTR	-106,2	91	23
<i>SP1</i>	miR-466	4157	3'UTR	-106,2	91	23
<i>SP1</i>	miR-466	4159	3'UTR	-106,2	91	23
<i>SP1</i>	miR-466	4161	3'UTR	-104,0	89	23
<i>STAT5A</i>	miR-6820-5p	1943	CDS	-110,4	91	22
<i>STAT5A</i>	miR-466	3136	3'UTR	-104,0	89	23
<i>STAT5A</i>	miR-6870-5p	4200	3'UTR	-108,3	91	22

Показано, что miR-3960 имеет множественные сайты связывания и в mRNA генов транскрипционных факторов (таблица 3). В mRNA гена *KLF4* этот сайт был расположен в 5'UTR. В mRNA гена *ZEP91* есть в CDS locus 212÷216 н. с множественными сайтами

связывания miRNA-3960 с величиной $\Delta G/\Delta G_m$, равной 92%. В mRNA гена *ZIC3* locus 1387÷1394 н. содержал семь сайтов связывания miR-3960. mRNA генов *ZNF366*, *ZNF367* и *ZNF827* содержал по одному сайту связывания miRNA-3960.

Таблица 3 – Сайты связывания hsa-miR-3960 с mRNA генов транскрипционных факторов *Bos taurus*

Ген	Начало сайта, н.	Участок mRNA	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %
<i>KLF4</i>	43	5'UTR	114,6	92
<i>ZEP91</i>	212	CDS	114,6	92
<i>ZEP91</i>	213	CDS	-114,6	92

Продолжение таблицы 2

Ген	Начало сайта, н.	Участок mRNA	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %
<i>ZEP91</i>	215	CDS	-114,6	92
<i>ZEP91</i>	216	CDS	-114,6	92
<i>ZIC3</i>	1387	CDS	-121,0	97
<i>ZIC3</i>	1388	CDS	-114,6	92
<i>ZIC3</i>	1389	CDS	-114,6	92
<i>ZIC3</i>	1391	CDS	-114,6	92
<i>ZIC3</i>	1392	CDS	-114,6	92
<i>ZIC3</i>	1393	CDS	-114,6	92
<i>ZIC3</i>	1394	CDS	-114,6	92
<i>ZNF366</i>	4509	CDS	-114,6	92
<i>ZNF367</i>	643	CDS	-114,6	92
<i>ZNF827</i>	1733	CDS	-118,9	95

mRNA гена *MLXIPL* служила мишенью miR-466, miR-3130-3p, miR-3926, miR-4685-5p, miR-5196-5p, miR-6760-5p (таблица 2), что свидетельствует о зависимости синтеза белка *MLXIPL* от многих факторов. Экспрессия гена *POU2F1* зависела от miR-566, miR-1273d, miR-1273e и miR-4295. С mRNA генов *NF1* и *STAT5A* связывались по три miRNA, а остальные гены являлись мишенью одной miRNA.

Множественные сайты связывания (девять) miR-466 были выявлены в локусе 4145÷4161 н. mRNA гена *SPI* с величиной $\Delta G/\Delta G_m$ от 89 до 91% (таблица 2). Это свидетельствует о сильной зависимости от miR-466 экспрессии гена *SPI*, участвующего в регуляции синтеза молочного жира.

В 3'UTR mRNA генов транскрипционных факторов *BCL11B*, *EGR3*, *MECOM*, *ZSCAN12* и в 5'UTR mRNA гена *PRDM1* выявлены множественные сайты связывания miR-466 (таблица 4).

Множественные сайты связывания miR-574 выявлены в mRNA генов *KLF7*, *SNAI2*, *ZEP91* и *ZNF6772* (таблица 5). В mRNA гена *KLF7* множественные сайты (восемь сайтов) связывания miR-574 расположены в 3'UTR в локусе 1523÷1541 н., среди которых имеется сайт с большой свободной энергией взаимодействия, равной -121,0 kJ/mole, и сильным сродством – величина $\Delta G/\Delta G_m$ равна 95%.

В mRNA гена *SNAI2* множественные сайты (пять сайтов) связывания miR-574 тоже расположены в 3'UTR и среди них имеется два сайта

со свободной энергией взаимодействия, равной -118,9 kJ/mole, и сильным сродством – величина $\Delta G/\Delta G_m$ равна 93%. Наибольшее число сайтов связывания miR-574 имеет mRNA гена *ZEP91* в локусе от 1871 н. до 1893 н., в котором последовательно расположены 18 сайтов через один нуклеотид. Такое количество сайтов связывания miR-574 обуславливает сильную зависимость экспрессии гена *ZEP91* от miR-574. Три сайта связывания miR-574 выявлено в mRNA гена *ZNF6772*.

Особенностью всех множественных сайтов связывания miR-574 является наличие в них сайта с повышенным сродством к miR-574, то есть с большой величиной $\Delta G/\Delta G_m$. Вероятно, сайты связывания miR-574, окружающие этот сайт, служат для улавливания miRNA, и затем miR-574 более прочно связывается в сайте с наибольшей величиной $\Delta G/\Delta G_m$.

В геномах многих видов животных еще не выявлены все miRNA, и поэтому для выявления генов, способных регулироваться miRNA, можно использовать miRNA человека. В качестве примера мы оценили взаимодействие hsa-miR-574 с mRNA генов *Bos taurus*. Полученные результаты приведены в таблице 6. Гены мишени для hsa-miR-574 остались те же, однако число множественных сайтов было меньше, но в тех же локусах. То есть для предварительного выявления генов мишеней miRNA можно использовать miRNA других видов, поскольку большинство miRNA являются консервативными в процессе эволюции.

Таблица 4 – Сайты связывания hsa-miRNA-466 с mRNA генов транскрипционных факторов *Bos taurus*.

Ген	Начало сайта, н.	Участок mRNA	$\Delta G, \text{kJ/mole}$	$\Delta G/\Delta G_m, \%$
<i>BCL11B</i>	2866	3'UTR	-104,0	89
<i>BCL11B</i>	2869	3'UTR	-104,0	89
<i>EGR3</i>	2455	3'UTR	-104,0	89
<i>MECOM</i>	4526	3'UTR	-106,2	89
<i>MECOM</i>	4574	3'UTR	-106,2	91
<i>PRDM1</i>	662	5'UTR	-104,0	91
<i>PRDM1</i>	664	5'UTR	-106,2	91
<i>ZSCAN12</i>	3161	3'UTR	-104,0	89
<i>ZSCAN12</i>	3163	3'UTR	-106,2	89
<i>ZSCAN12</i>	3165	3'UTR	-106,2	91
<i>ZSCAN12</i>	3167	3'UTR	-106,2	91
<i>ZSCAN12</i>	3169	3'UTR	-106,2	91
<i>ZSCAN12</i>	3171	3'UTR	-106,2	91
<i>ZSCAN12</i>	3173	3'UTR	-106,2	91

Таблица 5 – Сайты связывания bta-miRNA-574 с 3'UTR mRNA генов транскрипционных факторов *Bos taurus*.

Ген	Начало сайта, н.	$\Delta G, \text{kJ/mole}$	$\Delta G/\Delta G_m, \%$	Ген	Начало сайта, н.	$\Delta G, \text{kJ/mole}$	$\Delta G/\Delta G_m, \%$
<i>KLF7</i>	1523	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1879	-112,5	88
<i>KLF7</i>	1525	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1880	-114,6	90
<i>KLF7</i>	1527	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1881	-114,6	90
<i>KLF7</i>	1529	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1882	-114,6	90
<i>KLF7</i>	1533	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1883	-114,6	90
<i>KLF7</i>	1537	-121,0	95	<i>ZEP91</i>	1884	-114,6	90
<i>KLF7</i>	1539	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1885	-114,6	90
<i>KLF7</i>	1541	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1886	-114,6	90
<i>SNAI2</i>	1059	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1887	-114,6	90
<i>SNAI2</i>	1061	-118,9	93	<i>ZEP91</i>	1888	-112,5	88
<i>SNAI2</i>	1063	-118,9	93	<i>ZEP91</i>	1889	-114,6	90
<i>SNAI2</i>	1065	-114,6	90	<i>ZEP91</i>	1890	-112,5	88
<i>SNAI2</i>	1067	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1891	-112,5	88
<i>WIZ</i>	6331	-112,5	88	<i>ZEP91</i>	1893	-112,5	88
<i>ZEP1</i>	2141	-112,5	88	<i>ZNF6772</i>	2674	-112,5	88
<i>ZEP91</i>	1871	-116,8	92	<i>ZNF6772</i>	2676	-114,6	90
<i>ZEP91</i>	1874	-116,8	92	<i>ZNF6772</i>	2678	-114,6	90
<i>ZEP91</i>	1876	-112,5	88	<i>ZSCAN29</i>	3735	-112,5	88
<i>ZEP91</i>	1878	-114,6	90				

Таблица 6 – Сайты связывания hsa-miRNA-574 с 3'UTRmRNA генов транскрипционных факторов *Bos taurus*

Ген	Начало сайта, н.	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$ %	Ген	Начало сайта, н.	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %
<i>KLF7</i>	1538	-114,6	95	<i>ZEP91</i>	1883	-108,3	90
<i>SNAI2</i>	1060	-112,5	93	<i>ZEP91</i>	1884	-108,3	90
<i>SNAI2</i>	1062	-112,5	93	<i>ZEP91</i>	1885	-108,3	90
<i>SNAI2</i>	1064	-112,5	93	<i>ZEP91</i>	1886	-108,3	90
<i>SNAI2</i>	1066	-108,3	90	<i>ZEP91</i>	1887	-108,3	90
<i>ZEP91</i>	1870	-103,3	90	<i>ZEP91</i>	1888	-108,3	90
<i>ZEP91</i>	1872	-110,4	91	<i>ZEP91</i>	1890	-108,3	90
<i>ZEP91</i>	1873	-108,3	90	<i>ZNF175</i>	3026	-108,3	90
<i>ZEP91</i>	1875	-110,4	91	<i>ZNF6772</i>	2677	-108,3	90
<i>ZEP91</i>	1879	-108,3	90	<i>ZNF6772</i>	2679	-108,3	90
<i>ZEP91</i>	1881	-108,3	90	<i>ZSCAN29</i>	3725	-108,3	90
<i>ZEP91</i>	1882	-108,3	90				

Выявленные нами в настоящей работе и ранее [13-16] множественные сайты связывания miR-3960, miR-466, miR-1322 и miR-574 существенно расширяют представления о регуляции экспрессии генов посредством связывания miRNA в кодирующей части mRNA. Некоторые miRNA обладают специфичностью расположения сайтов связывания в 5'UTR, CDS или 3'UTR. Например, miR-3960 имеет в качестве мишеней 375 генов и 435 сайтов связывания, из которых 202 сайта связывания расположены в 5'UTR, 221 сайта – в CDS и только 12 сайтов – в 3'UTR [13]. miR-1322 предпочтительно связывается тоже в белок кодирующей области mRNA [14]. miR-619-5p имеет 1215 генов мишеней и 1811 сайтов связывания, из которых 26 сайтов связывания расположены в 5'UTR, 13 сайтов – в CDS и 1772

сайта – в 3'UTR [16]. miR-466 (таблица 4) и miR-574 (таблицы 5 и 6) имеют сайты связывания тоже предпочтительно в 3'UTR.

Полученные в работе данные свидетельствуют о значительном влиянии miRNA на экспрессию генов транскрипционных факторов, участвующих в определении продуктивности животных. Выявлено влияние на экспрессию генов, участвующих в формировании белковых, углеводных и липидных компонентов молока.

Изменение концентрации miRNA в клетках можно достичь путем введения вектора, содержащего гены соответствующей miRNA. Долговременное повышение концентрации miRNA достигается встраиванием гена miRNA в геномную ДНК [17].

Литература

- 1 Murphy A.M., Meade K.G., Hayes P.A., Park S.D., Evans A.C., Lonergan P., MacHugh D.E. (2008) Transmission ratio distortion at the growth hormone gene (GH1) in bovine preimplantation embryos: An in vitro culture-induced phenomenon?, *Mol Reprod Dev*, 75(5):715-22. DOI:10.1002/mrd.20813
- 2 Menzies K.K., Lee H.J., Lefèvre C., Ormandy C.J., Macmillan K.L., Nicholas K.R. (2010) Insulin, a key regulator of hormone responsive milk protein synthesis during lactogenesis in murine mammary explants, *Functional & integrative genomics*, 10(1):87-95. DOI: 0.1007/s10142-009-0140-0
- 3 Johan S.O., Jayant L., Massimo B. (2015) Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: roles of transcriptional and post-transcriptional regulation, *Physiological Genomics, Physiolgenomics*, 00016.2015. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00016
- 4 Liu H., Zhao K., Liu J. (2013) Effects of glucose availability on expression of the key genes involved in synthesis of milk fat, lactose and glucose metabolism in bovine mammary epithelial cells, *PLoS One*, 8(6):e66092. DOI: 10.1371/journal.pone.0066092
- 5 Lemay D.G., Neville M.C., Rudolph M.C., Pollard K.S., German J.B. (2007) Gene regulatory networks in lactation: identification of global principles using bioinformatics, *BMC Systems Biology*, 1:56, DOI: 10.1186/1752-0509-1-56
- 6 Bergen W.G., Derris D. (2013) Burnett Topics in Transcriptional Control of Lipid Metabolism: from Transcription Factors to Gene-Promoter Polymorphisms, *J Genomics*, 1:13-21. DOI:10.7150/jgen.3741

- 7 Iizuka K., Horikawa Y. (2008) ChREBP: a glucose-activated transcription factor involved in the development of metabolic syndrome, *Endocr J*, 55:617-624. DOI: 10.1507/endocrj.K07E-110
- 8 Gupta R.K., Arany Z., Seale P., Mepani R.J., Ye L., Conroe H.M., Roby Y.A., Kulaga H., Reed R.R., Spiegelman B.M. (2010) Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423, *Nature*, 464:619-623. DOI: 10.1038/nature08816
- 9 Алыбаева А.Ж., Ниязова Р.Е., Файе Б., Иващенко А.Т. (2015) Сайты связывания miRNA с генами транскрипционных факторов camelus ferus // Вестник КазНУ, серия биологическая. – 3 (65): 94-98.
- 10 McGregor R.A., Choi M.S. (2011) microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity, *Curr Mol Med*, 11:304-316. DOI: 10.2174/156652411795677990
- 11 Romao J.M., Jin W., Dodson M.V., Hausman G.J., Moore S.S., Guan L.L. (2011) MicroRNA regulation in mammalian adipogenesis, *Exp Biol Med*, 236:997-1004. DOI: 10.1258/ebm.2011.011101.
- 12 Najafi-Shoushtari S.H., Kristo F., Li Y., Shioda T., Cohen D.E., Gerszten R.E., Näär A.M. (2010) MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis, *Science*, 328:1566-1569. DOI: 10.1126/science.1189123
- 13 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. (2014) MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes, *Bioinformatics*, 10(7):P. 423-427. DOI: 10.6026/97320630010423
- 14 Niyazova R., Berillo O., Atambayeva S., Pyrkova A., Alybaeva A., Ivashchenko A. (2015) miR-1322 Binding Sites in Paralogueous and Orthologueous Genes, *Biomed Research International*, 2015: 1-7. DOI: 10.1155/2015/962637
- 15 Атамбаева Ш.А., Ниязова Р.Е., Берилло О.А., Иващенко А.Т. (2015) Особенности сайтов связывания miR-574-5p и miR-574-3p с mRNA генов-мишеней // Вестник КазНУ, серия биологическая. – 1 (63):349-354.
- 16 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. (2014) 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 International*, 2014:1-8. DOI: 10.1155/2014/720715
- 17 Rasmus O.B., Anne K.H., Jacob G.M. (2013) Managing MicroRNAs with Vector-Encoded Decoy-Type Inhibitors, *Mol Ther*, 21(8):1478-1485. DOI: 10.1038/mt.2013.113