

Биоинформатический поиск и анализ микроРНК, регулируемых экспрессией гена *uPAR* в клетках нейробластомы

Научный руководитель – Сёмина Екатерина Владимировна

Трояновский К.Э.¹, Булякова Т.Р.², Рысенкова К.Д.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия, *E-mail: konstantin.troyanovsky@yandex.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия, *E-mail: bu.tai@mail.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: Karina_ry@mail.ru*

Одной из наиболее агрессивных детских опухолей является нейробластома: выживаемость на IV стадии составляет порядка 10-20% [1]. Гиперэкспрессия гена, кодирующего урокиназный рецептор (*uPAR*) ассоциирована с негативным прогнозом течения нейробластомы. Ранее нами было показано, что нокаут *uPAR* с помощью технологии CRISPR/Cas9 подавляет пролиферацию клеток нейробластомы Neuro2a, и ассоциировано со снижением экспрессии мРНК гена рецептора нейротрофина *TrkC* [2]. При этом ре-экспрессия кДНК *uPAR* в Neuro2a с нокаутом *uPAR* не приводит к восстановлению уровня экспрессии *TrkC*.

МикроРНК - малые некодирующие молекулы РНК (19-23 п.о.), участвующие в регуляции экспрессии генов путём специфического связывания с 3' НТО мРНК. Мы провели поиск потенциальных при-микроРНК в гене *uPAR* с помощью программы miRNAfold [3]. В результате получили 265 структур, способных формировать шпильки длиной до 150 п.о. В качестве критериев к отбору пре-микроРНК использовали стабильность шпильки ($\Delta G \leq -35$ ккал/моль) и наличие консенсусных участков в нуклеотидной последовательности (GHG мотив, UGU/GUG на 5' терминальной петле и др.) для распознавания ферментом Drosha, который принимает участие в процессинге микроРНК [4]. Далее для четырех найденных при-микроРНК мы подобрали праймеры, фланкирующие предсказанные шпильчатые структуры, т.е. к при-микроРНК с помощью сервиса NCBI Primer Blast. Мы обнаружили, что одна из предсказанных нами при-микроРНК гомологична нескольким интронам в гене *TrkC*, и, возможно, отражает потенциальный механизм регуляции его экспрессии при участии гена *uPAR*.

В качестве матрицы для амплификации при-микроРНК нами была использована суммарная РНК из Neuro2a с различным уровнем экспрессии *uPAR*, выделенная с помощью коммерческого набора RNeasy. Далее РНК обрабатывали ДНКазой I и проводили реакцию обратной транскрипции (ОТ) с использованием случайных гексамеров в качестве праймеров.

Дальнейшая работа будет посвящена определению потенциальных мишеней для выбранных при-микроРНК и валидации методом ПЦР в реальном времени. С помощью плазмидной трансфекции планируется оценить возможность процессинга выбранных структур в зрелые микроРНК, а также их гомологию с микроРНК, аннотированными в mirDatabase.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-015-00186.

Источники и литература

- 1) В. И. Чиссов, С. Л. Дарьялова. Онкология .М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 2007.

- 2) Rysenkova K.D., Semina E. V, Karagyaur M.N. et al. CRISPR/Cas9 nickase mediated targeting of urokinase receptor gene inhibits neuroblastoma cell proliferation. // Oncotarget. 2018. Vol. 9, No 50. P. 29414-29430
- 3) C. Tav, S. Tempel, L. Poligny et.al. miRNAFold: a web server for fast miRNA precursor prediction in genomes.,Nucleic Acids Research. 2016.
- 4) Dooyoung Lee, Chanseok Shin, Emerging roles of DROSHA beyond primary microRNA processing, RNA Biol. 2018;