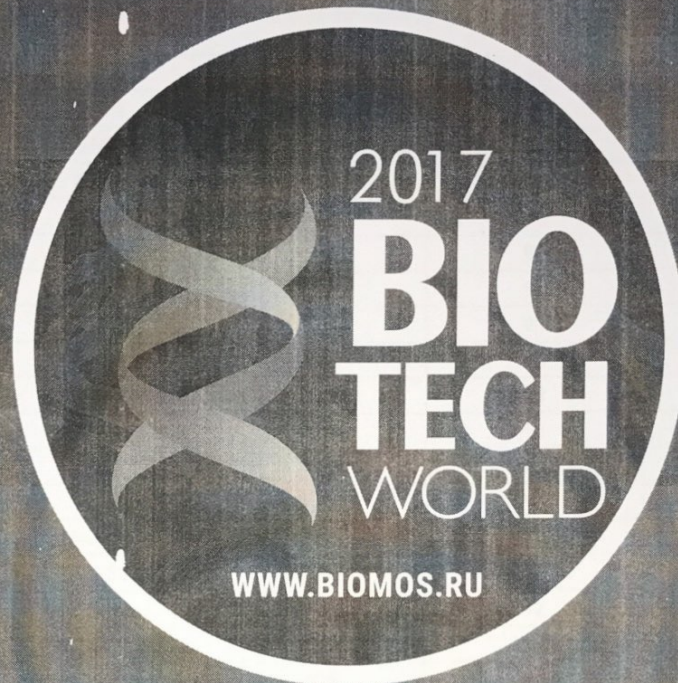


**МАТЕРИАЛЫ
КОНГРЕССА**

**CONGRESS
PROCEEDINGS**



ТОМ 1 / PART 1

IX МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

IX INTERNATIONAL CONGRESS

**БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ**

**BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART
AND PERSPECTIVES**

20-22 ФЕВРАЛЯ 2017
МОСКВА, ГОСТИНЫЙ ДВОР,
ИЛЬИНКА, 4

20-22 FEBRUARY, 2017
ILYNKA 4, GOSTINY DVOR,
MOSCOW

positions of miR-14-24215-3p and miR-6861-5p binding sites differed on 79 nucleotides. The distance between start positions of binding sites of each miRNA (miR-14-24215-3p and miR-6861-5p) was equal 753 nucleotides. It means that these sites were located in one open reading frame. On the schemes of miRNA-mRNA interaction only miR-6861-5p bound with mRNA without formation a "bubble" in double-stranded structure of complex. Since miR-14-24215-3p and miR-6861-5p have three binding sites each they can bind with mRNA of titin with higher relativity than other miRNAs.

The table - Characteristics of the miRNA binding sites in the mRNA of human titin gene

miRNA	Start of sites, nt	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Length, nt
miR-494-5p	1301	-108	90	23
miR-578	1960	-98	90	21
miR-19-36945-3p	3271	-102	92	20
miR-1-1585-3p	860	-96	92	21
miR-374b-3p	17239	-98	90	22
miR-374c-3p	17241	-98	90	22
miR-11-28905-3p	17446	-117	89	23
miR-3714	17450	-110	90	22
miR-34a-3p	22116	-104	91	22
miR-1278	24928	-98	90	22
miR-544b	26044	-104	93	22
miR-14-24215-3p	37245	-104	93	22
miR-6861-5p	37324	-115	92	22
miR-14-24215-3p	37998	-102	91	22
miR-6861-5p	38077	-115	92	22
miR-14-24215-3p	38751	-104	93	22
miR-6861-5p	38830	-115	92	22
miR-136-3p	71469	-102	91	22
miR-12-32366-3p	71984	-108	90	22
miR-4738-3p	74955	-113	93	22
miR-4693-5p	92464	-108	94	23
miR-4495	93909	-93	90	21

References:

1. Ivashchenko A. et al. MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes // Bioinformation. 2014. Vol. 10. № 7. P. 423-427.
2. Londin E. et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs // PNAS. 2015. E1106-E1115.

УДК 577.21

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ miRNA С mRNA НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ ПРИ РАЗВИТИИ РАКА ЖЕЛУДКА

Акимниязова А.Н., Ниязова Р.Е., Атамбаева Ш.А.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан
050038, Алматы, пр. аль-Фараби, 71
e-mail: atambayevashara@gmail.com

Установлены сайты связывания miRNA с mRNA генов, которые являются ключевыми участниками рака желудка. Выявлены сайты связывания с высокой энергией гибридизации, которые расположены в 5'UTR,

CDS и 3'UTR mRNA этих генов. Найдено четыре miRNA сайтов связывания с полной комплементарностью. Результаты исследования являются полезными для разработки методов ранней диагностики онкологических заболеваний.

Ключевые слова: miRNA, mRNA, рак желудка.

Важную роль в регуляции онкогенов играют miRNA. Во всем мире разрабатываются молекулярные неинвазивные методы ранней диагностики рака желудка на основе анализа в крови изменений концентрации метаболитов, белков, ДНК, miRNA и др. Предсказание сайтов связывания miRNA и поиск их в mRNA онкогенов необходимы для разработке методов ранней диагностики онкологических заболеваний.

Для данной работы были созданы базы данных по генам участвующих в развитии рака желудка и база данных по микроРНК. В качестве мишеней для miRNA были изучены гены, белки которых участвуют в онкогенезе желудка. Поиск генов-мишеней для miRNA проводили с помощью программы MirTarget, написанной в нашей лаборатории. Программа определяет начало сайтов связывания miRNA с mRNA; расположение сайтов связывания в 5'UTR, CDS, 3'UTR; свободную энергию гибридизации ($\Delta G/\Delta G_m$, где ΔG_m – свободная энергия взаимодействия miRNA с комплементарной нуклеотидной последовательностью) и схемы взаимодействия нуклеотидов miRNA с mRNA. Для анализа из Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) были отобраны 106 генов, наиболее часто участвующих в развитии рака желудка.

Сайты связывания miRNA рассматривали при отношении $\Delta G/\Delta G_m$ равном более 85%. Установлено, что 20% изученных генов не имеют сайтов связывания с 3701 miRNA [1]. С mRNA 106 генов связывались 255 miRNA в 431 сайте с отношением $\Delta G/\Delta G_m$ равным более 87%. Среди них, 103 сайта расположены в CDS, 157 сайтов – в 5'UTR и 171 сайтов – в 3'UTR. Выявлены mRNA генов *KDM1A*, *HDAC4* и *NFE2L2*, которые имеют полностью комплементарные сайты связывания с miRNA. mRNA гена *NFE2L2* имеет множественные сайты связывания в 5'UTR. miR-2-4453-3p, miR-19-21199-3p и miR-15-32047-5p, miR-1-155-3p, miR-2-3313-3p и miR-19-33623-3p имеют гомологичные сайты связывания в mRNA гена *NFE2L2*. mRNA гена *HDAC4* имеет в 5'UTR тридцать два сайта связывания с miRNA. В mRNA гена *HDAC4* сайты связывания miR-19-21199-3p, miR-1-2121-3p и miR-2-3313-3p располагались в 5'UTR; miR-16-40163-5p в 3'UTR; miR-6-17789-3p в CDS mRNA гена. Следовательно, все участки mRNA могут взаимодействовать с miRNA. mRNA гена *HDAC4* имеет гомологичные сайты связывания miR-19-44540-3p, miR-19-33623-3p и miR-1-2121-3p, расположенные в 5'UTR. Выявлено несколько miRNA которые имеют от одного до нескольких одинаковых сайтов связывания в mRNA одного гена. miR-15-36862-3p и miR-10-29282-3p имели по одиннадцать сайтов связывания в mRNA генов *ETS1* и *MGAT5*, со свободной энергией от -104 kJ/mole до -108 kJ/mole. Наличие таких множественных сайтов связывания свидетельствует о сильной зависимости экспрессии гена от каждой из этих miRNA. Начало сайтов связывания обеих miRNA совпадали, поэтому только одна из этих miRNA могла взаимодействовать с одной mRNA. Однако, при наличии в близких концентрациях обеих miRNA, они могут связываться примерно с равной вероятностью, поскольку величины ΔG близкие.

Таблица. Характеристики сайтов связывания miRNA и mRNA генов, участвующих в развитии рака желудка.

Ген	miRNA	Начало сайта, нт.	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, нт.
ETS1*	miR-15-36862-3p	3875-3908	-108	89	23
ETS1	miR-10-29282-3p	3888-3908	-104	89	23
MGAT5*	miR-15-36862-3p	4308-4332	-108	89	23
MGAT5	miR-10-29282-3p	4308-4334	-104	89-91	23
NFE2L2**	miR-1-2121-3p	447-448	-140	89	25
NFE2L2	miR-15-32047-5p	444-445	-129÷-134	88-91	24
NFE2L2	miR-19-21199-3p	444-447	-138÷-144	88-92	25
NFE2L2	miR-19-33623-3p	447-448	-136	91	24
NFE2L2	miR-22-46979-5p	439-445	-123	89	23

Ген	miRNA	Начало сайта, нт.	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, нт.
NFE2L2	miR-2-3313-3p	442-448	-138÷-144	87-91	25
NFE2L2	miR-3-8100-5p	443-446	-129÷-132	88-90	24
NFE2L2	miR-9-28523-5p	441-453	-115	92	20
NFE2L2	miR-2-4453-3p	444-447	-121÷-123	92-94	21

Примечание. * - сайты в 3'UTR, ** - сайты в CDS

Результаты этого исследования продемонстрировали, что miRNA могут осуществлять регуляцию экспрессии генов в 3'UTR, 5'UTR и CDS. Эти данные показали важность поиска сайтов в 5'UTR, так как там выявлена повышенная плотность сайтов.

Литература:

1. Londin E. et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs//PNAS. 2015. E1106-E1115.

UDC 577.21

INTERACTION OF miRNAS WITH mRNAs OF SOME GENES IN THE DEVELOPMENT OF STOMACH CANCER

Akimniyazova A.N., Niyazova R.E., Atambayeva Sh.A.

al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
050038, Almaty, al-Farabi avenue, 71
e-mail: atambayevashara@gmail.com

Identified miRNA binding sites with mRNA of genes that are key participants in stomach cancer. Established binding sites with high energy of hybridization which are arranged in the 5'UTR, CDS and 3'UTR in mRNA of these genes. Found four miRNA binding sites with full complementarity. The research results are useful for the development of methods for early diagnosis of cancer.

Key words: miRNA, mRNA, stomach cancer.

miRNA plays the important role in the regulation of oncogenes. Worldwide developed molecular non-invasive methods of early diagnosis of stomach cancer based on the analysis of blood changes in the concentration of metabolites, proteins, DNA, miRNA etc. Prediction of miRNA binding sites and searching them in mRNA oncogene essential for the development of methods for early diagnosis of cancer.

For this work it was created a database for the genes involved in the development of stomach cancer and a database of miRNAs. As the targets for miRNA was studied genes, which proteins are involved in carcinogenesis of the stomach. Search of target genes for miRNA was performed using MirTarget program, created in our laboratory. The program defines the beginning of the binding sites of miRNA with mRNA; the location of binding sites in 5'UTR, CDS, 3'UTR; the free energy of hybridization ($\Delta G/\Delta G_m$, where ΔG_m is the free energy of interaction of the miRNA with complementary nucleotide sequence), and interactions of nucleotides of miRNA with mRNA. For analysis it was selected 106 genes from Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), most frequently involved in the development of stomach cancer.

The binding sites of miRNA was considered in the ratio $\Delta G/\Delta G_m$ is equal to more than 85%. It is established that 20% of the studied genes do not have binding sites with 3701 miRNAs [1]. 106 mRNAs of genes associated with 255 miRNAs in 431 binding sites with $\Delta G/\Delta G_m$ ratio more than 87%. Among them, 103 binding sites located in CDS, 157 binding sites – in 5'UTR and 171 binding sites – in 3'UTR. Identified mRNA of *KDM1A*, *HDAC4* and *NFE2L2* genes, having fully complementary binding sites with miRNA. mRNA of *NFE2L2* gene has multiple binding sites in 5'UTR. miR-2-4453-3p, miR-19-21199-3p and miR-15-32047-5p, miR-1-155-3p, miR-2-3313-3p and miR-19-33623-3p have homologous binding sites in mRNA of *NFE2L2* gene. mRNA of *HDAC4* gene has in 5'UTR thirty two binding sites with miRNA. In mRNA of *HDAC4* gene miR-19-21199-3p, miR-1-2121-3p, miR-2-3313-3p binding sites located in 5'UTR; miR-16-40163-5p in 3'UTR; miR-6-17789-3p in CDS of mRNA. Consequently, all regions of mRNA could interact with miRNA. In mRNA of *HDAC4*

gene miR-19-44540-3p, miR-19-33623-3p, mir-1-2121-3p have homological binding sites, arranged in 5'UTR. It was identified miRNAs which has from one to several identical binding sites on the mRNA of a single gene. miR-15-36862-3p and miR-10-29282-3p has eleven binding sites by each in mRNA of *ETS1* and *MGAT5* genes, with free energy range from -104 kJ/mole to -108 kJ/mole. The presence of such multiple binding sites indicates strong dependence of gene expression from each of these miRNAs. The beginning of the binding sites, of both miRNA coincides, so only one of these miRNA could interact with a single mRNA. However, in the presence of similar concentrations of both miRNA they can be contacted with approximately equal probability, since the value of ΔG is close to each other.

Table. The characteristics of binding sites of miRNAs and mRNAs of genes, responsible for the development of stomach cancer.

Gene	miRNA	Start of sites, nt.	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Length, nt.
ETS1*	miR-15-36862-3p	3875-3908	-108	89	23
ETS1	miR-10-29282-3p	3888-3908	-104	89	23
MGAT5*	miR-15-36862-3p	4308-4332	-108	89	23
MGAT5	miR-10-29282-3p	4308-4334	-104	89-91	23
NFE2L2**	mir-1-2121-3p	447-448	-140	89	25
NFE2L2	miR-15-32047-5p	444-445	-129÷-134	88-91	24
NFE2L2	miR-19 21199-3p	444-447	-138÷-144	88-92	25
NFE2L2	miR-19-33623-3p	447-448	-136	91	24
NFE2L2	miR-22-46979-5p	439-445	-123	89	23
NFE2L2	miR-2-3313-3p	442-448	-138÷-144	87-91	25
NFE2L2	miR-3-8100-5p	443-446	-129÷-132	88-90	24
NFE2L2	miR-9-28523-5p	441-453	-115	92	20
NFE2L2	miR-2-4453-3p	444-447	-121÷-123	92-94	21

Notes. * - binding sites in 3'UTR, ** - binding sites in CDS

The results of this study demonstrated that miRNA can regulate gene expression in a 5'UTR, 3'UTR and CDS. These data showed the importance of search sites in the 5'UTR, as there revealed increased density of sites.

References:

1. Londin E. et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs//PNAS. 2015. E1106-E1115.

УДК 577.21

СВОЙСТВА САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ miR-4763-3P С mRNA ОРТОЛОГОВ NR2F6

Юрикова О.Ю., Иващенко А.Т., Атамбаева Ш.А.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан
 050038, Алматы, пр. аль-Фараби, 71,
 e-mail: shara.atambaeva@kaznu.kz

Установлены высоко гомологичные сайты связывания miR-4763-3p в mRNA гена NR2F6 и его ортологах у животных. mRNA генов NR2F1, NR2F2 и NR2E3, паралогичных NR2F6, не подвержены влиянию miR-4763-3p.

Ключевые слова: miR-4763-3p, mRNA, NR2F6, ортологичные гены, диагностика