

ریز RNA: کوچک اما راهبردی و پر رمز و راز (مقاله مروری)

چکیده

ریز RNA ها دسته ای از مولکول های کوچک از جنس RNA می باشند که از روی آنها پروتئین ساخته نمی شود. طولی در حدود ۲۱-۲۳ نوکلئوتید دارند و تا کنون بیش از ۱۶۰۰ نمونه از آنها در گیاهان و جانوران و حتی چند نمونه در ویروس ها شناسایی شده اند و به عنوان بازدارنده، نقش مهمی را در تنظیم بیان ژن ها ایفا می کنند. این RNA ها با اثر بر mRNA هدف، چه با قطع آن و چه از طریق مهار ماشین ترجمه، از تولید پروتئین ممانعت به عمل می آورند. با این که این موضوع به مدت طولانی از دید پژوهشگران پنهان مانده بود، مطالعات انجام شده در پنج سال اخیر کمک شایانی به شناسایی گونه های مختلف و نیز نحوه عملکرد آنها داشته است. در این مقاله مروری، با استفاده از ده ها منبع معتبر و روزآمد، مطالعی پیرامون تاریخچه، سازوکار مولکولی تولید و ژن های بیان کننده ریز RNA و نیز چگونگی پردازش آنها در انسان، جانوران و گیاهان ارائه شده است. به علاوه، پیرامون نامگذاری، تنوع عملکردی و به ویژه رابطه آنها در بروز بیماری ها (به طور مشخص سرطان) و شباهت ها و تفاوت های آنها با siRNA ها، جدیدترین اطلاعات جاری مورد تأکید قرار گرفته است. در انتها چشم انداز این مولکول های راهبردی، فوق العاده جالب و شگفت انگیز، مورد توجه قرار گرفته است.

دکتر محمدرضا نوری دولی^{*}
احسان الوندی^۱

۱. گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی تهران

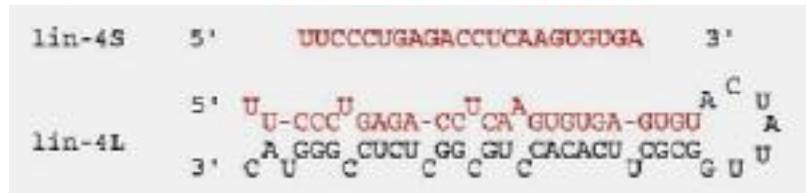
کلمات کلیدی: ریز RNA، بیان ژن، تمایز سلول بنیادی، سرطان

*نشانی: تهران، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تلفن: ۸۸۹۵۳۰۰۵ پست الکترونیک: nooridaloii@tums.ac.ir

بعدی می شود. این پژوهشگران دریافتند که از ژن lin-4 پروتئینی ستر نمی شود و به جای آن دو نوع RNA کوچک ساخته می شود: یک RNA کوتاه ۲۲ نوکلئوتیدی (lin-4s) و RNA دیگری که طول بیشتری در حدود ۶۰ نوکلئوتید دارد (lin-4l). آنها همچنین در یافتند که RNA بلندرت در هنگام تا شدن، ساختار ساقه- حلقه پیدا می کند (شکل ۱).

تاریخچه و مقدمه

نخستین بار در سال ۱۹۹۳، به هنگام مطالعه ژن های دخیل در نمو کرم نماتود *Caenorhabditis elegans*، Lee و همکاران موفق به کشف RNA ی lin-4 شدند [۱]. جهش در این ژن با برهم زدن نظم در مراحل رشد و نمو، موجب عدم تغییر سلول های جنینی از اولین مرحله لاروی (L1) به مراحل



شکل ۱- دو نوع RNA ی تولید شده از ژن lin-4

ندارد [۱]. مطالعات انجام شده بر روی کرم *C. elegans* در واقع افق جدیدی را در زمینه کنترل بیان ژن باز کرد. برای مدت هفت سال (۱۹۹۳-۲۰۰۰)، lin-4 تنها مولکول RNA ی شناخته شده ای بود که با اتصال به مولکول RNA دیگر، بیان پروتئین آن را مهار می کرد. اما در سال ۲۰۰۳ Reinhart و همکاران منجر به کشف RNA پژوهش های جدیدی به نام let-7 در نماتود *C. elegans* شد که نقشی مشابه lin-4 داشت [۲]. همانند lin-4، جهش در ژن let-7 موجب بر هم ریختن نظم ترتیبی مراحل نموی کرم، از مرحله سوم لاروی (L3) به بلوغ شد. پژوهش ها نشان دادند که ژن let-7 دقیقاً مانند ژن lin-4 دو نوع RNA با همان مشخصات تولید می کند با این تفاوت که این RNA با اتصال به mRNA ژن lin-41 و در محل ۳' UTR و موجب مهار تولید پروتئین از آن می شود. همچنین بیان ژن let-7 با کاهش میزان پروتئین LIN-41 در مرحله سوم لاروی سازگار است. به دلیل نقش موقتی این دو RNA در مهار تولید پروتئین های ذکر شده،

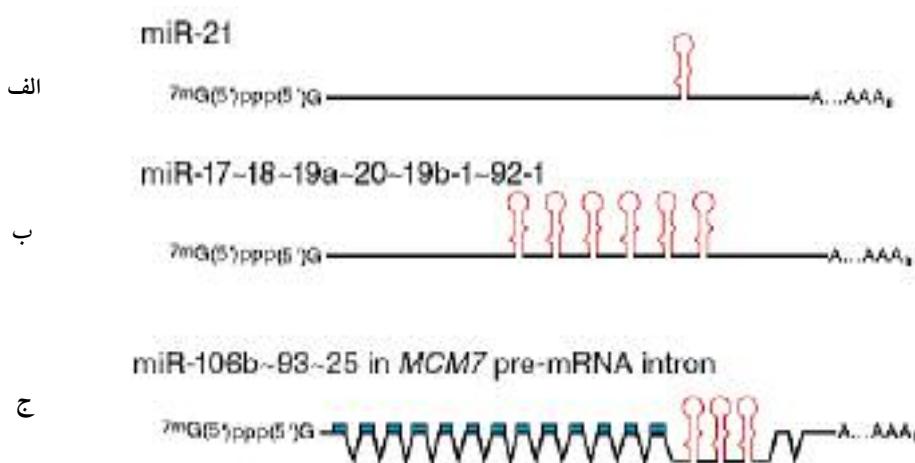
مطالعات بعدی توسط Wightman نشان دادند که ژن lin-4 تنظیم کننده منفی ژن lin-14 می باشد. ژن اخیر پروتئینی با عمر کوتاه تولید می کند و در نمو جنین کرم نقش دارد. نکته غالب، تلاقي زمانی کارکرد تنظيمي و غير مداوم lin-4 RNA و بیان پروتئین LIN-14 می باشد. در واقع با حضور lin-4 RNA، میزان پروتئین LIN-14 سلول ها تا بیست برابر کاهش می یابد [۲]. تحقیقات هر دو گروه Ambros و Ruvukun بیان کننده این واقعیت بودند که در بخش ۳' UTR (ناحیه غیر قابل ترجمه: Untranslated region) در ۳' mRNA ی ژن lin-14، قسمت های مختلفی وجود دارند که از نظر توالی مکمل توالی lin-4 RNA می باشند [۱ و ۲].

پیگیری آزمون ها توسط Ruvukun و همکاران منجر به این کشف این نکته شد که اتصال بین این دو مولکول RNA، دلیل اصلی اثر منفی lin-4 RNA بر lin-14 mRNA می باشد. به علاوه، اتصال ذکر شده تنها موجب کاهش میزان پروتئین LIN-14 mRNA می شود و بر مقدار هیچ تاثیری

ریز RNA ها، بخش عمده ای از شبکه تنظیم بیان ژن در جانوران را تشکیل می دهند. تا کنون بیش از ۱۶۰۰ نمونه از آنها در جانوران، گیاهان و حتی چند نمونه در ویروس ها شناسایی شده اند. تخمین زده می شود که ژنوم انسان، چیزی در حدود ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ ریز RNA را در خود جای داده است که بسیاری از آنها ویژه انسان هستند [۸].

ژن های بیان کننده ریز RNA ها

ژن ریز RNA ها، توسط RNA پلیمراز II بیان می شود و در موجودات مختلف ژن های بیان کننده شمار زیادی از آنها در کنار توالی های کد کننده پروتئین یافت نمی شوند. این ژن ها، به طور کلی یا به صورت مجرأ از یکدیگر و یا در شکل گروهی و پشت سرهم (دارای یک پرموتر و واحد تنظیمی) دیده می شوند [۹]. با آن که اکثریت ژن های ریز RNA ها در کرمها و انسان به طور مجرأ قرار گرفته اند، در حدود نیمی از این ژن ها در مگس سرکه در حالت گروهی دیده می شوند که اغلب دارای عملکرد مشابهی می باشند [۱۰] (شکل ۲).



شکل ۲- شکل های متفاوت جایگاه های ریز RNA، این مثال ها از ژنوم انسان انتخاب شده اند

- الف) ژن miR-21 به صورت منفرد با واحد تنظیمی مستقل
- ب) کنار هم قرار داشتن جایگاه ۶ ریز RNA با یک واحد تنظیمی مشترک
- ج) موقعیت ۳ جایگاه ریز RNA درون ایترون ژن MCM7

شایان تاکید است که در حدود نیمی از ریز RNA های شناخته شده پستانداران، در درون ایترون های ژن های کد کننده پروتئین قرار گرفته اند که نمایانگر بیان همزمان آنها و پروتئین مربوطه می باشد و حتی می تواند نشان دهنده نقش تعاملی این دو باشد [۱۱].

Drosha بر اساس وجود یک حلقه انتهایی با طولی بیش از ۱۰ نوکلئوتید، یک ساقه دو رشته ای با ساختار مارپیچی و ساختار های تک رشته ای در ابتدای این مارپیچ، pri-miRNA را شناسایی می کند [۱۲].

Drosha برای برش دقیق و کارآمد pri-miRNA به یک پروتئین dsRBD احتیاج دارد. این پروتئین با نام Pasha در مگس سرکه، Pash-1 در نماتود C. elegans و DGCR8 در پستانداران شناسایی شده است. به مجموعه تشکیل یافته از مجموع دو پروتئین Drosha و dsRBD، میکروکمپلکس یا «ریز مجموعه» گفته می شود [۱۳].

pre-miRNA حاصله در ساختار خود دارای یک انتهای ۵' فسفاته و یک انتهای ۳' هیدروکسیله می باشد. همچنین در انتهای ۳' آن ۲ یا ۳ نوکلئوتید به صورت آزاد و جفت نشده قرار دارند. ویژگی های ذکر شده، شاخص های برش و پردازش آنزیم های RNase III می باشد. در ادامه پروتئینی به نام Exportin 5/Ran GTP pre-miRNA، به نحو اختصاصی، III را بر اساس شاخص های گفته شده، شناسایی کرده و آنها را از هسته به سیتوپلاسم منتقل می کند [۱۴].

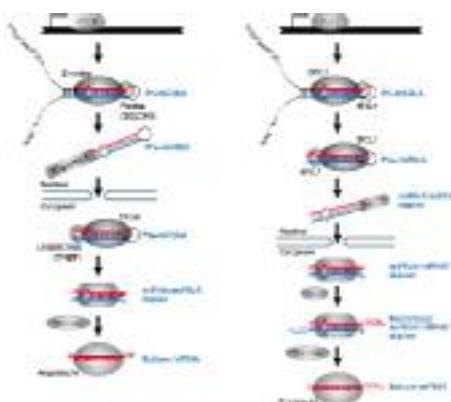
شایان تاکید است که در حدود نیمی از ریز RNA های شناخته شده پستانداران، در درون ایترون های ژن های کد کننده پروتئین قرار گرفته اند که نمایانگر بیان همزمان آنها و پروتئین مربوطه می باشد و حتی می تواند نشان دهنده نقش تعاملی این دو باشد [۱۱].

بسیاری از ریز RNA ها در میان جانوران خویشاوند مانند انسان و موش و نیز در نماتودهای C. elegans و C. briggsae مشترک هستند. علاوه بر این، ژن هم ساخت حدود یک سوم از ریز RNA های یافت شده در نماتود ها در انسان نیز مشاهده شده اند. به عنوان مثال از خانواده ژن let-7، در نماتودها ۴ عضو و در انسان ۱۵ عضو شناسایی شده است. این امر می تواند شاهدی بر مسیر های تکامل زیستی جانوران باشد [۱۰].

پردازش ریز RNA ها در جانوران

ریز RNA در ابتدا به شکل یک مولکول ریز RNA اولیه (primary miRNA: pri-miRNA) بیان می شود. طول این مولکول از حدود چند صد تا چند هزار نوکلئوتید متفاوت است و در آن ساختار های ساقه- حلقه نیز دیده می شود [۱۲].

تولید ریز RNA بالغ در دو مرحله انجام می گیرد (شکل ۳-الف). در هر یک از این مراحل یک آنزیم ریبونوکلئاز نوع III (RNase III) به همراه یک پروتئین واجد قلمرو متصل شونده به RNA دو رشته ای (double stranded RNA) دو رشته ای [Downloaded from tunj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

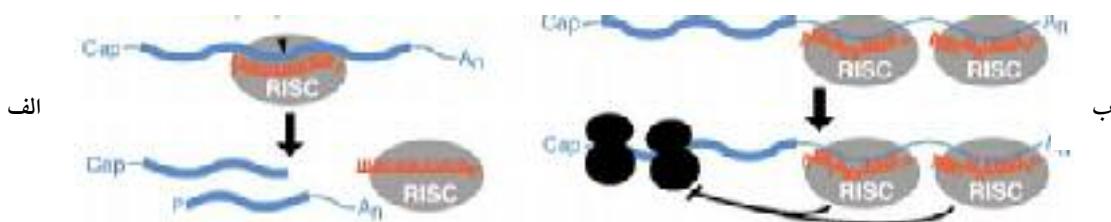


شکل ۳-پردازش microRNA. الف- در جانوران، ب- در گیاهان.

دوپلکس miRNA/miRNA* انجام می شود. در واقع رشته ای که انتهای ۵' آن با پایداری کمتری به رشته دیگر جفت شده باشد به درون مجموعه RISC منتقل می شود. این انتهای، به طور معمول حاوی بازهای یوراسیل می باشد [۱۷]. فعالیت اصلی مجموعه RISC، هدایت ریز RNA بالغ به سمت mRNA هدف و قطع تولید پروتئین از آن می باشد. پروتئین اصلی این مجموعه Argonaute نام دارد. علاوه بر اتصال مستقیم به ریز RNA بالغ، نقشی بنیادین در مجموعه RISC ایفا می کند. در صورت بروز جهش در این پروتئین، ریز RNA بالغ قادر به هیچ گونه عملکردی نیست. اتصال بین ریز RNA بالغ (microRNA) و mRNA هدف به دو شکل دیده می شود. چنانچه این اتصال به طور کامل صورت بگیرد، mRNA هدف توسط مجموعه RISC بریده می شود و اگر این دو به شکل کامل به یکدیگر متصل نشوند، بیان پروتئین هدف مهار می شود. در حالت دوم (که رایج تر است) بدون کاهش میزان mRNA در سلول، میزان پروتئین حاصله از آن کاهش می یابد [۱۰] (شکل ۴).

در سیتوپلاسم، RNase III دیگری به نام Dicer به همراه یک پروتئین dsRBD به نام Loquacious در مگس سرکه یا TRBP در انسان به pre-miRNA متصل می شود و با بریدن آن، مولکول miRNA/miRNA* را تولید می کنند. این مولکول قادر ساختار حلقه ای می باشد و در واقع یک مولکول RNA دو رشته ای می باشد که در هر دو پایانه آن یک انتهای ۵' فسفاته و یک انتهای ۳' هیدروکسیله دیده می شود. به علاوه در انتهای ۳' دو یا سه نوکلوتید به صورت آزاد دیده می شوند. از دیگر ویژگی های مهم miRNA/miRNA* آن است که در ساختار آنها لزوما تمام بازها با هم جفت نشده اند و در واقع در قسمت دو رشته ای این مولکول، اتصال های ناکاملی بین دو رشته دیده می شوند [۹].

رشته miRNA از دوپلکس miRNA/miRNA*، وارد مجموعه ای می شود که در نهایت به همراه آن، تولید پروتئین از mRNA هدف را مهار می کند. رشته دیگر (miRNA*) از بین می رود. این مجموعه RISC نام دارد (مجموعه خاموش RNA-induced Silencing Complex). شناسایی کننده : RISC بر اساس پایداری دمایی دو سر



شکل ۴- قطع تولید پروتئین توسط RISC ؛ الف. برش mRNA هدف و ب. مهار بیان پروتئین

و ژن mRNA PHABULOSA و یا در بخش غیر کدکننده مثل miR-156 و ژن mRNA SPLA4 شناخته شده است. تا کنون در جانوران نیز دست کم هشت ریز RNA شناسایی شده است که به طور کامل به mRNA هدف خود متصل می‌شوند [۹]. بر خلاف گیاهان، اتصال بین ریز RNA و mRNA هدف در جانوران در بیشتر موارد به ۳' UTR مولکول mRNA هدف محدود می‌شود. پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهند که نوکلئوتید‌های دوم تا هشتم از انتهای ۵' مولکول ریز RNA (به نام seed region) به طور کامل به mRNA هدف متصل می‌شوند. رخداد جهش در این ناحیه موجب عدم شناسایی mRNA هدف توسط ریز RNA مربوطه می‌شود [۱۰]. اما در خارج از این ناحیه، اتصال به طور کامل صورت نمی‌گیرد و همین امر موجب می‌شود که RISC، RISC هدف را برش ندهد و تنها مانع از ترجمه آن به پروتئین گردد. در این حالت بدون کاهش میزان mRNA سلولی، میزان پروتئین آن کاهش یافته و حتی قطع می‌شود [۹].

لازم به تأکید است که با وجود مطالعات وسیع انجام شده، همچنان بسیاری از موارد جزئی یا حتی کلی مسیر پردازش، تعیین هدف و نیز مهار تولید پروتئین توسط ریز RNA ها ناشناخته باقی مانده است. اما با عنایت به آن که اربابه پژوهش ها، با سرعتی شگرف در حال پیشروی است، بدون تردید در آینده ای نه چندان دور، حقایق شگفت آور دیگری نیز بر یافته های اخیر افزوده خواهند شد.

به تازگی در سیتوپلاسم سلول های انسانی ناحیه هایی به نام Processing body (P-body) شناسایی شده اند که در واقع کانون فعالیت RISC، mRNA و microRNA می‌باشند [۱۸]. در نماتود *C. elegans*، پروتئینی به نام ALG-1 در P-body شناسایی شده است که با اتصال به یکی از اعضای RISC مجموعه ALG-1، موجب انتقال RISC به P-body می‌شود [۱۹].

پردازش ریز RNA ها در گیاهان و مقایسه آن با جانوران به طور کلی پردازش ریز RNA ها در گیاهان همانند جانوران می‌باشد، گرچه تفاوت هایی نیز به چشم می‌خورد. نخست آن که در گیاهان آنزیم Drosha وجود ندارد و به جای آن DCL1 RNase III دیگری به نام Dicer نیز عمل پردازش را انجام می‌دهد. به علاوه DCL1 به جای Dicer نیز عمل dsRBD در گیاهان HYL1 نام دارد. در نتیجه پردازش pri-miRNA تا تشکیل miRNA/miRNA* در دونه هسته انجام می‌شود. سپس این دوپلکس توسط پروتئین HST از هسته خارج می‌شود. نکته دیگر این که انتهای ۳' دوپلکس miRNA/miRNA*، هیدروکسیله نیست و توسط متیل ترانسفرازی به نام HEN-7 متیله می‌شود [۲۰] (شکل ۳-۳). ب).

در گیاهان توالی بیشتر ریز RNA ها به طور کامل مکمل RISC هدف آنهاست [۲۱]. پس از این اتصال، mRNA همانند یک اندونوکلتاز mRNA را برش می‌دهد. محل اتصال miR-166 RNA می‌تواند در بخش کد کننده RNA مانند

نامگذاری

این مولکول های کوچک در مراحل مختلف نمو جنینی گیاهان و جانوران می باشد.

پی بردن به نقش ریز RNA های شناسایی شده، از طریق mRNA هدف آنها میسر می باشد. از آنجایی که در گیاهان اتصال بین ریز RNA و mRNA هدف به طور کامل صورت می پذیرد، تعیین نقش ریز RNA آسان تر است. عوامل رونویسی در حدود نیمی از هدف های ریز RNA های گیاهان را تشکیل می دهند. به طور کلی در شمار زیادی از اعضای یک خانواده، عامل های رونویسی همزمان توسط یک ریز RNA منفرد مهار می شوند. همه این عوامل در تعیین الگوهای رشد و نمو جنینی، تکثیر سلولی و واکنش های محیطی و هورمونی سلول نقش دارند [۲۷]. به عنوان مثال می توان به نقش miR-159 در نمو برگ گیاه *Arabidopsis* با اثر بر عامل رونویسی MYB33 [۲۸] و نیز اثر miR-172 بر عامل رونویسی AP2 و نقش آن در رشد و نمو گل و تنظیم زمان گل دهی اشاره کرد [۲۹].

مطالعات انجام شده در جانوران نشان داده است که ریز RNA های مختلف می توانند به یک mRNA ویژه متصل شوند و میزان بیان پروتئین آن را در درجات مختلف کاهش دهند، در نتیجه احتمال اثر تجمعی ریز RNA های مختلف در مهار بیان یک پروتئین ویژه وجود دارد [۱۰].

تعیین نقش ریز RNA های جانوری بر این اساس انجام می شود که شدت میزان بیان یک ریز RNA ویژه در یک رده سلولی خاص، نشان دهنده عملکرد آن ریز RNA در آن رده سلولی است. به عنوان نمونه بیان تشدید یافته^۱ miR-181 در سلول های لنفوئیدی B (ونه سلول های T) مغز استخوان موس، منجر به کشف این واقعیت شد که miR-181 در تمایز سلول های خونی در مسیر تولید سلول های B نقشی اساسی In vitro دارد. حتی با بیان ترانس ژنی miR-181، در شرایط و In vivo، میزان سلول های B حاصله تا میزان بالایی

با شناسایی شمار زیادی از ریز RNA ها، پژوهشگران تصمیم گرفتند که از سامانه نامگذاری واحدی برای مشخص نمودن هر یک از آنها استفاده کنند. بر این اساس به هر یک از این مولکول ها یک شماره حداکثر سه رقمی تعلق می گیرد. چنانچه از یک ریز RNA خاص، دو نسخه یکسان در دو لوکوس مختلف ژنوم یک موجود قرار گرفته باشد، در نامگذاری آنها از پسوند عددی، به عنوان مثال miR-6-1 و miR-6-2 در مگس سرکه، استفاده می گردد. نیز اگر اختلاف توالی دو ریز RNA در حد یک یا دو نوکلوتید باشد، از پسوند الفبایی، به عنوان نمونه a miR-181a و b miR-181b در موس، استفاده می شود [۲۲]. پایگاه اطلاع رسانی ویژه ای برای کسب اطلاعات در مورد هر یک از ریز RNA ها اختصاص داده شده است، که آدرس اینترنتی آن: <http://www.sanger.ac.uk/Software/Rfam/mirna> می باشد.

تنوع کارکرد

ریز RNA ها در انجام بسیاری از فعالیت های سلول های متفاوت جانوری و گیاهی سهیم هستند. شواهد اولیه این امر از بررسی جهش در اجزای مسیر پردازش و تعیین هدف آنها بدست آمده است. جهش در ژن های Dicer، Drosha و Argonaute منجر به طیف وسیعی از اختلالات نمو جنینی مشتمل بر موارد زیر می شود: اختلالات گاسترولاسیون، شکل گیری مغز و قلب در Zebrafish، اختلالات مریستمی گیاه Arabidopsis، تاخیر و بی نظمی در تقسیم سلول های بنیادی مگس سرکه، اختلال در دستگاه تو لید مثل، عقیمی، بی نظمی در نمو و حتی مرگ لارو کرم *C. elegans* و تمایز ناقص سلول های جنینی و مرگ زودرس جنینی در موس [۲۱-۲۶]. موارد فوق الذکر همگی نشان دهنده نقش غیر قابل انکار

۱- amplification

عملکرد رشته های اکتین موجود در دندانهای تنظیم می کند. بیان بیش از حد miR-134 و ممانعت کامل از بیان Limk1، موجب ایجاد شکل غیر طبیعی دندانهای کاهش طول آنها می شود. نکته جالب آنکه خاموشی Limk1 mRNA توسط miR-134 تنها در مسیر انتقال این پروتئین به پایانهای دندانهای صورت می پذیرد. از آنجا که اندازه دندانهای سلولی های عصبی با میزان تحريك پذیری آنها ارتباط مستقیم دارد، می توان نتیجه گرفت که این ریز RNA در انتقال پیام های عصبی نورون های مغزی نقش موثری ایفا می کند [۳۳].

یکی از ریز RNA های مگس سرکه به نام bantam اثر مثبتی بر رشد سلول و اثر بازدارنده ای بر آپوپتوز سلول ها دارد. افزایش بیان bantam موجب رشد بال ها و چشم در مگس سرکه می شود و کاهش آن موجب جثه کوچک با تعداد سلول کمتر می گردد. پژوهش های بعدی نشان دادند این مولکول بیان یک پروتئین محرک آپوپتوز به نام Hid را کاهش می دهد [۳۴].

در ماهی Zebrafish، miR-430 تنها چهار ساعت پس از لقاح بیان می شود و نقش بسزایی در شکل گیری مغز جانور دارد [۳۵]. در جدول ۱ تعدادی از ریز RNA های جانوری که نقش آنها ثابت شده، معرفی شده اند.

تا کنون در حدود ۲۰۰ مولکول ریز RNA در انسان شناسایی شده است. هر چند که به جز تعدادی بسیار اندک، تا به امروز نقش آنها ناشناخته باقی مانده است. به عنوان مثال، ۳۶ مورد ریز RNA در سلول های بنیادی جنینی شناسایی شده که هنوز عملکرد آنها بر ما معلوم نیست [۳۶].

افزایش یافت و میزان سلول های T تا حدود ۸۸٪ کاهش پیدا کردند [۳۰].

مطالعات Poy و همکاران در سال ۲۰۰۴ به کشف miR-375 در سلول های جزایر لانگرهانس پانکراس منجر گردید. آنها نشان دادند که افزایش بیان این مولکول با اثر بر تولید پروتئین متیوتروفین (Mtpn)، تولید انسولین را مهار می کند و به عکس مهار عملکرد miR-375، موجب افزایش ترشح انسولین می شود. شایان ذکر است که فعالیت miR-375 با میزان متابولیسم گلوکز خون در ارتباط نیست. این امر خود می تواند زمینه ای را برای درمان های دارویی جدید دیابت فراهم کند [۳۱].

در مطالعه دیگری Zhao و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که miR-1-1 و miR-1-2 به شکل اختصاصی در سلول های پیش ساز عضلات قلبی و اسکلتی موش بیان می شوند. بیان این دو ریز RNA توسط عامل های تنظیم کننده تمایز سلول های عضلات به نام MyoD و Mef2 تحريك می شود. میزان Hand2، یک عامل رونویسی دخیل در افزایش عروق سلول های ماهیچه ای، توسط miR-1-1 و miR-1-2 کاهش می یابد. در نتیجه ژن های miR-1 در کتلرل تعادل تمایز و تکثیر سلول های عضلات قلب و در شکل گیری آن نقش دارند [۳۲].

در مطالعه Schrott و همکاران در سال ۲۰۰۶، به وجود miR-134 در هیپوکامپ مغز موش اشاره شده است. این ریز RNA در دندانهای این سلول ها تجمع پیدا می کند. ممانعت از فعالیت miR-134، رشد ناقص دندانهای را به همراه دارد. miR-134 مانع از بیان پروتئین Limk1 می شود. این پروتئین

جدول ۱- تعدادی از ریز RNA های جانوری و نقش آنها

ریز RNA	mRNA می هدف	نقش
C. elegans lin-4	lin-14, lin-28	تمایز سلول های بنیادی
C. elegans let-7	lin-41, hbl-1, daf-12, pha-4	تمایز سلول های بنیادی
C. elegans miR-48, miR-84, miR-241	hbl-1	تمایز سلولهای بنیادی
C. elegans miR-84	let-60	تقسیم و تمایز سلولی و اندام زایی
C. elegans lsy-6	cog-1	عدم تقارن نورون های حسی چپ و راست بدن
C. elegans miR-273	die-1	عدم تقارن نورون های حسی چپ و راست بدن
D. melanogaster bantam	hid	تنظیم رشد سلولی و آپوپتوز
D. melanogaster miR-2a, -2b, -6, -7	E(spl)/bHLH, bearded family	شکل گیری الگوهای جینی
M. musculus miR-1	Hand2	شکل گیری قلب
M. musculus miR-375	Myotrophin (Mtpn)	تنظیم ترشح انسولین

افزایشی این مجموعه با سوق دادن سلول به سمت رفتارهای مشابه سلول های بنیادی، دلیل بروز این اختلالات است [۳۸]. مطالعات بعدی نشان دادند که miR-17-5p و miR-20a از این مجموعه، با اثر بازدارندگی مستقیم، بیان عامل رونویسی E2F1 را تنظیم می کنند. E2F1 در عبور سلول از مرحله G₁ به مرحله S چرخه سلولی نقش بسزایی دارد. همچنین بیان C-Myc قرار دارد و افزایش بیان C-Myc موجب افزایش بیان miR-17 مجموعه شود. با این حال سازوکار دقیق بروز سرطان در نتیجه افزایش بیان C-Myc و مجموعه miR-17 هنوز ناشناخته است [۳۹].

در ۵۰٪ موارد لوسمی لنفوцитیک مزمن (CLL)^۱ که شایع ترین لوسمی در بزرگسالان است، یک حذف کروموزومی در ناحیه 13q14 ژنوم شناسایی شده است. به علاوه در سرطان میلومای چند گانه و سرطان پروستات نیز حذف های مختلفی در این ناحیه مشاهده شده اند. با وجود تمام مطالعات وسیع انجام شده، هیچ یک از ژن های موجود در این ناحیه، دلیل بروز سرطان های ذکر شده نمی باشند. درست در همین ناحیه ژن های بیان کننده miR-15 و miR-16 قرار دارند. بررسی ها

ریز RNA ها و نقش آنها در بروز بیماری و به ویژه سرطان با توجه به نقش های متفاوتی که ریز RNA ها در تنظیم رشد و تقسیمات سلولی ایفا می کنند، می توان این فرضیه را مطرح کرد که این مولکول ها می توانند نقش مهمی در بروز سرطان در انسان داشته باشند. الگوی بیان طبیعی بسیاری از ریز RNA ها در مراحل ابتدایی تشکیل تومورهای مختلف تغییر می یابد. به علاوه، ژن های بسیاری از ریز RNA های انسانی در قسمت هایی از ژنوم یافت شده اند که با بروز سرطان های مختلف در ارتباطند [۳۷].

به عنوان مثال می توان به مجموعه ژن های miR-17 در موقعیت 13q31 اشاره کرد. هفت ریز RNA شامل آن به صورت گروهی و پشت سرهم قرار دارند و به طور همزمان بیان می شوند. دقیقا همین ناحیه در لنفوم سلول B بزرگ، لنفوم فولیکولار، لنفوم سلول Mantle و بسیاری از سرطان های دیگر دچار فزون سازی می شود. تمام این سرطان ها از سلول های B منشا می گیرند. پژوهش ها نشان داده اند که بیان این هفت ریز RNA در سلول های سرطانی ذکر شده تا حد قابل توجهی افزایش می یابند. افزایش بیان مجموعه miR-17 در سلول های بنیادی جینی موش نیز گزارش شده است. بنابراین می توان این فرضیه را مطرح کرد که بیان

1- Chronic Lymphocytic Leukemia

miR-373 با جلوگیری از تولید پروتئین LATS2 ، نقش بازدارنده آن را خشی می کند و در نتیجه سلول به سمت تومورزاوی پیشروی می کند. نکته جالب آن که حتی در حضور پروتئین p53 طبیعی نیز، به دلیل عدم اعمال نقش آن بر مجموعه Cyclin E / CDK2 ، سلول رفتار غیرطبیعی پیدا می کند. در این شرایط p53 وجود دارد اما تنظیم مولکول های می کند. در این شرایط آن خارج می شود [۴۲]. پایین دست از کنترل آن خارج می شود [۴۳].

شاهد دیگری از ارتباط بین ریز RNA ها و بیماری، وجود پروتئین DGCR8 به عنوان کوفاکتور آنزیم Drosha در سلول های انسانی می باشد. ژن DGCR8 در موقعیت 22q11.2 قرار دارد و در حدود ۹۰٪ موارد سندرم دی جورج نیز همین ناحیه خذف می شود. افراد مبتلا به سندرم دی جورج دارای اختلالات مادرزادی گوناگونی مانند اختلالات قلبی، چهره ای، دستگاه ایمنی و بی نظمی مراحل نموی می باشند. بر اساس نقش غیر قابل انکار ریز RNA های متعدد در مراحل رشد و نمو جنین، این فرضیه محتمل است که به هنگام فقدان پروتئین RNA DGCR8 و به دلیل بر هم خوردن مسیر پردازش ریز RNA های مختلف سلول، طیف وسیع اختلالات بالینی در مبتلایان به سندرم دی جورج دیده می شود [۴۳].

مقایسه siRNA و microRNA

مطالعات انجام شده در مورد ریز RNA ها، به موازات مطالعاتی در زمینه تداخل RNA^۱، پیشرفت کرده است. RNAi به مسیری گفته می شود که در آن مولکول های siRNA^۲ در خاموشی بیان یک ژن نقش دارند.

ریز RNA و siRNA دو رده از مولکول های RNA کوچک هستند که از نظر ساختار شیمیایی شباهت هایی با یکدیگر دارند. هر دوی این RNA ها در حدود ۲۲ نوکلئوتید طول دارند و دارای پایانه های ۵' فسفاته و انتهای ۳' هیدروکسیله

1-RNAi: RNA interference
2-Small interfering RNA

نشان می دهد در ۶۸٪ موارد CLL و درصد بالایی از سایر سرطان های ذکر شده، ژن های این دو ریز RNA حذف شده اند یا میزان بیان آنها کاهش یافته است. جالب تر آن که در بسیاری از موارد CLL، تجمع pre-miR-15 دیده می شود [۴۰]. کارسینوم پاپیلاری تیروئید شایع ترین سرطان غدد درون ریز است. با این که پژوهش های زیادی در زمینه پیدایش تومور در این سرطان به انجام رسیده اند، ژن های کشف شده عامل درصد کمی از موارد این سرطان می باشند. به تازگی مطالعه ای در زمینه نقش ریز RNA ها در این سرطان انجام شده و miR-146 miR-222 و miR-221 مشخص شده است که در تومورهای تیروئید نسبت به بافت تیروئیدی سالم، بیان تشديد یافته ای دارند. به علاوه miR-221 در بافت های سالم تیروئید افراد مبتلا به کارسینوم پاپیلاری تیروئید مشاهده شده است. از این مطلب می توان استنباط کرد که بیان افزایش یافته miR-221 از رخدادهای اولیه ایجاد این تومور است. این سه ریز RNA بیان پروتئین KIT را مهار می کنند. KIT یک گیرنده تیروزین کینازی است که در تمایز و رشد سلول های مختلف نقش دارد و در سرطان های مختلف نیز به عنوان یک انکوژن مطرح می باشد [۴۱].

ریز RNA ها می توانند نقش انکوژنی داشته باشند. به عنوان نمونه وجود miR-372 و miR-373 در بروز تومورهای سلول های زاینده بیضه ثابت شده است. مطالعات نشان داده اند که بیان این دو ریز RNA و فعالیت بیش از حد CDK ها^۳ ارتباط مستقیمی وجود دارد. این دو ریز RNA بیان پروتئین LATS2 را مهار می کنند. این پروتئین دارای فعالیت سرین-ترؤینین کینازی است و در گروه عامل های سرکوبگر تومور قرار می گیرد. LATS2 مانع از عملکرد مجموعه Cyclin E / CDK2 می شود و در نبود آن تکثیر بی رویه سلول و در نتیجه تومورزاوی صورت می پذیرد. ریز RNA های 372 و miR-373

1- Cyclin-dependent Kinase

مشابه توالی منشا آنهاست و حتی در برخی موارد توالی منشا و هدف یکسان است [۴۴].

چشم انداز

بیش از یک دهه از کشف ریز RNA ها می گذرد. امروزه این مولکول های کوچک نوع متمایزی از کترل بیان ژن را چه در دوران جنینی و چه پس از آن به خود اختصاص داده اند. در حال حاضر یافتن کارکردهای مختلف هر یک از ریز RNA ها چالش اصلی مطالعات را تشکیل می دهند. کشفیات در پیش رو می تواند متوجه این نکته باشد که بسیاری از این مولکول ها به صورت شبکه ای عمل می کنند و با یکدیگر در موارد خاصی همکاری دارند. با این همه هنوز در ابتدای راه شناخت سازوکار و عملکرد آنها قرار داریم، امید می رود با تلاش پژوهشگران و تداوم مطالعات در این زمینه، افق های جدیدتری در زمینه کشف، پیشگیری و حتی درمان بیماری ها به ویژه سرطان گشوده شود.

می باشند و بر اساس میزان جفت شدن نوکلئوتید های آنها با mRNA هدف، می توانند از طریق برش mRNA یا مهار ماشین ترجمه، مانع تولید پروتئین شوند.

با وجود شباهت های ذکر شده بین دو مولکول ریز RNA و siRNA ، این مولکول ها از نظر مسیر پردازش و اساس تنظیم پروتئین های هدف خود از یکدیگر متفاوت هستند. ریز RNA ها از مولکول های pri-miRNA که دارای ساختار ساقه و حلقه می باشند، منشا می گیرند و بخشی از مسیر پردازش آنها در سلول انجام می گیرد. همچنین بر اساس نوکلئوتید های دوم تا هشتم انتهای ' 5 خود، mRNA های هدف را تشخیص می دهند و هر ریز RNA می تواند به تنها یک روی ده ها و یا حتی صدها mRNA هدف اثر بگذارد. بر عکس siRNA ها از RNA های دو رشته ای حاوی صد ها یا هزاران نوکلئوتید، فاقد ساختار ساقه و حلقه منشا می گیرند و به طور معمول به حالت اگزوژن (خارج از ژنوم میزبان و به طور مصنوعی) بیان می شوند. توالی mRNA هدف siRNA ها تا حد زیادی

References

- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854.
- Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993; 75: 855-862.
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, et al. The 21 nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2003; 403: 901-906.
- Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408: 86-89.
- Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2000; 294: 862-864.
- Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294: 858-862.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-858.
- Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet* 2005; 37: 766-770.
- Du T, Zamore PD. MicroPrimer: an introduction to microRNA. *Development* 2005; 132: 4645-4652.
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297.
- Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res* 2004; 14: 1902-1910.
- Cullen BR. Transcription and processing of human microRNA precursors. *Mol Cell* 2004; 16: 861-865.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419.
- Zeng Y, Yi R, Cullen BR. Recognition and cleavage of primary microRNA precursors by the nuclear processing enzyme Drosha. *EMBO J* 2004; 24: 138-148.
- Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, et al. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature* 2004; 432: 231-235.
- Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev* 2003; 17: 3011-3016.
- Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; 115: 209-216.
- Liu J, Valencia-Sanchez MA, Hannon GJ, Parker R. MicroRNA-dependent localization of targeted mRNAs to mammalian P bodies. *Nat Cell Biol* 2005; 7: 719-723.
- Ding L, Spencer A, Morita K, Han M. The developmental timing regulator AIN-1 interacts with miRISCs and may target the Argonaute protein ALG-1 to cytoplasmic P Bodies in *C. elegans*. *Mol Cell* 2005; 19: 437-447.
- Yu B, Yang Z, Li J, Minakhina S, et al. Methylation as a crucial step in plant microRNA biogenesis. *Science* 2005; 307: 932-935.
- Baulcombe D. RNA silencing in plants. *Nature* 2004; 431: 356-363.
- Griffiths-Jones S. The microRNA Registry. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: D109-D111.
- Giraldez AJ, Cinalli RM, Glasner ME, Enright AJ, et al. MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. *Science* 2005; 308: 833-838.
- Hatfield SD, Shcherbata HR, Fischer KA, Nakahara K, et al. Stem cell division is regulated by the microRNA pathway. *Nature* 2005; 435: 974-978.
- Grishok A, Pasquinelli AE, Conte D, Li N, et al. Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control *C. elegans* developmental timing. *Cell* 2001; 106: 23-34.
- Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, Murchison EP, et al. Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet* 2003; 35: 215-217.
- Kidner CA, Martienssen RA. The developmental role of microRNA in plants. *Curr Opin Plant Biol* 2005; 8: 38-44.
- Palatnik JF, Allen E, Wu X, Schommer C, et al. Control of leaf morphogenesis by micro-RNAs. *Nature* 2003; 425: 257-263.
- Aukerman MJ, Sakai H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a MicroRNA

- and its APETALA2-like target genes. *Plant Cell* 2003; 15: 2730-2741.
30. Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004; 303: 83-86.
 31. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature* 2004; 432: 226-230.
 32. Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature* 2005; 436: 214-220.
 33. Schratt GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, Greenberg ME. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature* 2006; 439: 283-289.
 34. Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, et al. Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in *Drosophila*. *Cell* 2003; 113: 25-36.
 35. Chen PY, Manninga H, Slanchev K, Chien M, Russo JJ, et al. The developmental miRNA profiles of zebrafish as determined by small RNA cloning. *Genes Dev* 2005; 19: 1288-1293.
 36. Suh MR, Lee Y, Kim JY, Kim SK, et al. Human embryonic stem cells express a unique set of microRNAs. *Dev Biol* 2004; 270: 488-498.
 37. Alvarez-Garcia I, Miska EA. MicroRNA function: animal development and human disease. *Development* 2005; 132: 4653-4662.
 38. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, et al. MicroRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435: 828-833.
 39. O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, et al. C-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005; 435: 839-843.
 40. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 15524-15529.
 41. He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 52: 19075-19080.
 42. Voorhoeve PM, Sage C, Schrier M, Gillis JM, et al. A Genetic Screen Implicates miRNA-372 and miRNA-373 As Oncogenes in Testicular Germ Cell Tumors. *Cell* 2006; 124: 1169-1181.
 43. Gregory RI, Shiekhattar R. MicroRNA Biogenesis and Cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 3509-3512.
 44. Tomari Y, Zamore PD. Perspective: machines for RNAi. *Genes Dev* 2005; 19: 517-529.

microRNA: small but full of mystery and use

M.R. Noori Daloii^{1*}
E. Alvandi¹

1- Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

MicroRNAs form a class of small non-coding RNA molecules. With only 21-23 nucleotide in length, they have an important role in gene expression. These molecules bind to their target mRNA molecules and repress the protein expression via mRNA degradation or blocking the translation machine of the cell. From the advent of molecular biology microRNA molecules were out of focus, however huge amount of studies in the past few years revealed a lot of facts about their nature. Nowadays around 1600 different microRNA are discovered in human, animals, plant and even viruses. In this review article the most recent data in the history, genes, expression and process of these molecules are introduced. Furthermore, the findings about diverse roles of these molecules in normal and abnormal conditions, cancer in particular, are shown. Finally, the differences to siRNA molecules and the prospect of microRNA have been explained .

Keywords: micro RNA, gene expression, stem cell differentiation, cancer

* School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tel: +98 (21) 88953005,
E-mail: nooridaloii@tums.ac.ir