

МикроРНК: от фундаментальных исследований до их приложения

Т. В. Ширина, М. Т. Бобровская, Э. А. Козлов

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03680, Украина

E.mail: kozlov@imbig.org.ua

МикроРНК – малые, некодирующие белок РНК длиной 20–30 нуклеотидов. В клетках эукариотов микроРНК выполняют роль биорегуляторов экспрессии генов через механизм ингибирования или модуляции процесса трансляции. Цель обзора – проанализировать механизмы биогенеза и функционирования микроРНК, стратегию их открытия, предоставить краткий перечень биологических процессов, в регуляции которых принимают участие микроРНК, а также ознакомить с новейшими публикациями, посвященными причастности микроРНК к различным патологиям (особенно канцерогенезу) и использованию их для маркирования, диагностики, профилактики и терапии раковых болезней человека.

Ключевые слова: микроРНК, биогенез, функция, профили экспрессии, биоинформатическое предсказание, биорегуляция, канцерогенез, терапия.

Введение. Начало века ознаменовалось крупнейшим открытием, сравнимым разве что с открытием в середине прошлого века Уотсоном и Криком двойной спирали ДНК и Балтимором и Теминым – обратной транскрипции. Это открытие можно считать революционным, поскольку оно не только значительно дополняет и изменяет наши представления о регуляции роста и дифференциации клеток, различных клеточных метаболизмов и процессов развития организма, но и основанную на этих знаниях парадигму лечения различных болезней, особенно онкологических и болезней развития. Речь пойдет о малых молекулах РНК, инициирующих РНК-интерференцию.

Две группы малых интерферирующих РНК. Эти группы отличаются по своему биогенезу и роли в организмах, хотя и имеют много общего в механизмах функционирования. Класс малых РНК

представляет собой некодирующие РНК (small noncoding RNA, snRNA) длиной 20–30 нуклеотидов (нт). Функционирование snRNA ведет к умолчанию (silencing) экспрессии генов на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях за счет их комплементарного взаимодействия в составе рибонуклеопротеиновых (РНП) эффекторных комплексов с их ДНК- (транскрипционный уровень) и РНК- (трансляционный уровень) мишенями [1]. Здесь речь пойдет только о второй (с точки зрения хронологии открытия) группе snRNA – микроРНК (microRNA, miRNA, или miR).

Однако прежде чем перейти к miRs, необходимо в нескольких словах упомянуть о первой группе snRNA – малых интерферирующих РНК (small interfering RNA) – siRNA. Они представляют собой двухцепочечные спиральные РНК длиной 22 и 28–30 нт и появляются в результате расщепления крупных двухцепочечных РНК эндонуклеазой РНКазой III, называемой Дайсер (Dicer) [2, 3]. В за-

висимости от источника появления двухцепочечных РНК в клетке siRNA можно подразделить на две подгруппы, проявляющие различное биологическое действие и выполняющие различные функции. Если двухцепочечные РНК привносятся в клетку (вирусы, трансгены) или появляются в ней в результате аберрантного синтеза РНК, то «нарезаемые» Дайсером из них siRNAs длиной 22 нт служат защитным механизмом клетки от несвойственных ей чужеродных РНК (своего рода иммунный ответ на уровне РНК) [2]. Если же двухцепочечная РНК синтезируется в клетке естественным для нее путем из областей генома, включающих центромеры, транспозоны, теломеры или повторы, то «нарезаемые» Дайсером из них siRNAs длиной 28–30 нт активно участвуют в эпигенетических процессах, приводящих к умолчанию генов на транскрипционном уровне [4].

Это все, что нам хотелось подчеркнуть относительно первой группы snRNAs (siRNAs) для того только, чтобы отметить их принципиальное отличие от второй группы малых интерферирующих РНК – miRs.

Различным аспектам геномной организации, биогенеза, регуляции транскрипции, функционирования miRNA и участия их в регуляции дифференциации и роста клеток, а также развития организма и различных клеточных процессов посвящены обзоры [5–7]. Цель настоящего обзора – привлечь внимание молекулярных биологов к этим крошечным биорегуляторам, участвующим, по-видимому, во всех клеточных процессах.

Распространение и локализация генов miRs.

Принципиальным отличием miRs является их эндогенное происхождение, т. е. геномы клеток содержат в себе гены miRs. Последние обнаружены практически у всех эукариотов, а также у крупных ДНК-содержащих вирусов (исключение составляет РНК-содержащий вирус иммунодефицита человека, HIV) [8], геном которых встраивается в геном хозяина. Как правило, гены miR локализируются в межгеномном пространстве кодирующих цепей в виде одиночных генов или их кластеров [9]. Располагаются они и в интронных участках кодирующих генов (интронные miRs) [10, 11], и в транспозонных элементах [12].

Биогенез miRs. Мало что известно об инициации и регуляции транскрипции первичного транскрипта (primary, pri-miR) для miR, а также о факторах, регулирующих экспрессию miRs. На примере клеток лимфомы Burkitt показано, что регуляция экспрессии miR-155 происходит на двух уровнях: транскрипционном, вовлекающем протеинкиназу С и ядерный фактор каппа В, и на уровне процессинга по неизвестному пока механизму [13].

Ли и соавт. [14] идентифицировали множество регуляторных элементов, расположенных в 5'-положениях по отношению к генам miRs, являющимся существенными для транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии miRs. Фукао с соавт. [15] также показали, что miRs преимущественно контролируются уникальными *cis*-действующими регуляторными элементами, которые коэволюционируют с последовательностями miRs. Эти данные указывают на возможность участия в экспрессии генов miRs хорошо охарактеризованных факторов транскрипции белок-кодирующих генов. miRs в комбинации с факторами трансляции представляют собой регуляторные сети, контролирующие тысячи генов, в том числе, возможно, и экспрессию генов miRs [16]. Показано, что гены miRs соэкспрессируются с их мРНК-мишенями и что у млекопитающих существуют два класса циклической с обратной связью положительной и отрицательной корегуляции экспрессии miRs и их мишеней [17], к которой причастны сами miRs в качестве стабилизирующих и дестабилизирующих факторов в динамике экспрессии генов [18]. Контроль транскрипционной регуляции экспрессии генов miRs, по-видимому, осуществляется также эпигенетическими механизмами [19–21]. К механизмам посттранскрипционной регуляции экспрессии генов miRs, вероятно, можно отнести механизмы, в основе которых лежит одонуклеотидный полиморфизм [22–24] и А I-редактирование предшественников и зрелых miRs [25–29].

Известно, что в случае расположения генов miRs в межгеномном пространстве pri-miR транскрибируется с помощью РНК-полимеразы II [30, 31]; если же они локализируются в интронах, то к производству pri-miR, кроме потребности в РНК-полимеразе II, подключен механизм сплайсирования РНК

[10, 11]. В некоторых случаях miRs транскрибируются РНК-полимеразой III. Так, авторы работы [32] показали, что кластер генов miRs, расположенный среди *Alu*-повторов на хромосоме 19 человека, транскрибируется РНК-полимеразой III, а не РНК-полимеразой II.

Является это уникальным случаем или же правилом для генов miRs, расположенных в участках генома, транскрибируемых РНК-полимеразой III, пока неизвестно. Авторами [33] установлено, что большинство исследованных ими генов miRs нематоды, человека и двух видов растений имеют один и тот же тип промотора, что и белок-кодирующие гены (TATA). Однако значительное число генов имеют неопределенный тип. Авторы разработали новый метод предсказания промоторов, напоминающих *cis*-действующие элементы, для инициации транскрипции. Величина и вторичная структура транскрибируемых pri-miRs могут значительно варьировать [31]. По длине они могут быть от 100 до нескольких тысяч нуклеотидов. Зафиксированы pri-miRs, обладающие поли-А-последовательностью и кэп-структурой, т. е. способные выполнять функцию мРНК [34]. Особенность вторичной структуры pri-miRs состоит в наличии независимо от их длины шпилечно-петлевых структур – шпилек [35]. Иногда они могут содержать 1–2 шпильки [36], а в случае кластерного расположения генов pri-miR – несколько [9, 37, 38].

Дальнейшим этапом биогенеза miR является расщепление pri-miR в ядре эндонуклеазой РНКазой III, называемой Дроша (Drosha) [35]. Схема биогенеза miR приведена на рис. 1. Дроша специфически выщепляет из pri-miR шпильку – предшественник miR (precursor, pre-miR). Для выщепления Дроша необходимо соблюдение некоторых правил в строении шпилеки pre-miR в составе pri-miR. Расщепление происходит в месте нескольких (1–5) непарных оснований, далее следует ствол шпилеки, содержащий не менее 10 п. н., в котором могут встречаться непарные основания. Для наиболее успешного расщепления обязательно присутствие у основания шпилеки разветвленных непарных цепей. Выщепление шпилеки происходит у ее основания с захватом 1–2 нт от ствола шпилеки. Длина pre-miR, как правило, варьирует (50–80 нт).

Шпильки могут включать неспаренные основания как в обоих (5', 3') плечах, образуя симметричную петлю, так и в одном из плеч – асимметричные петли (до 10 п. н.). Однако существуют и исключения. У растений наличие шпилек в pri-miR не является правилом. Шпильки pre-miR, если таковые процессируются, значительно различаются по длине (от 60 до 300 нт) и по форме [39, 40]. Например, pre-miR-169 длиной 196 нт имеет в каждом плече ствола по одной асимметричной петле из 44 нт [39]. В большинстве случаев зрелые miRs выщепляются из двухцепочечных пролонгированных участков pri-miR, необязательно образующих шпилечно-петлевую структуру [40]. Ниже мы обсудим некоторые возможные причины такого исключения.

Как известно, у человека фермент Дроша функционирует в паре с РНК-связывающим белком, называемым Паша (Pasha) или DGCR-8 [41] (рис. 1). В этом тандеме Паша выполняет роль белка, связывающего pri-miR и Дроша, а Дроша – обеспечивает нуклеолитическую активность комплекса. Белок Паша состоит из 773 остатков аминокислот и содержит N-концевой домен (1–275), ответственный за ядерную локализацию, два домена в С-концевом участке, отвечающих за связывание pri-miR, и один (692–750) – за связывание с Дроша [41]. Авторы [42] на основе кристаллической структуры корового участка 429–720 предложили модель распознавания pri-miR белком DGCR-8. Кристаллическую структуру С-концевого домена фермента Дайсера, ответственного за производство miRs, изучали Такешита с соавт. [43]. У мышей Дроша представляет собой комплекс из двух субъединиц, одна из которых – DEAD-содержащая хеликазная субъединица – распознает pri-miR [44].

Следующий этап биогенеза miR – экспорт из ядра в цитоплазму выщепленных из pri-miR шпилек pre-miR [45–47] (рис. 1), осуществляемый с участием белкового фактора транслокации экспортина 5. В цитоплазме pre-miR взаимодействует с эндонуклеазой Дайсер, вырезающей из шпилеки двухцепочечный промежуточный продукт miR/miR* длиной 20–25 нт. Этот продукт инициирует образование эффекторного РНК-индуцированного комплекса, вызывающего умолкание генов (RISC – RNA induced silencing complex), основными белковыми

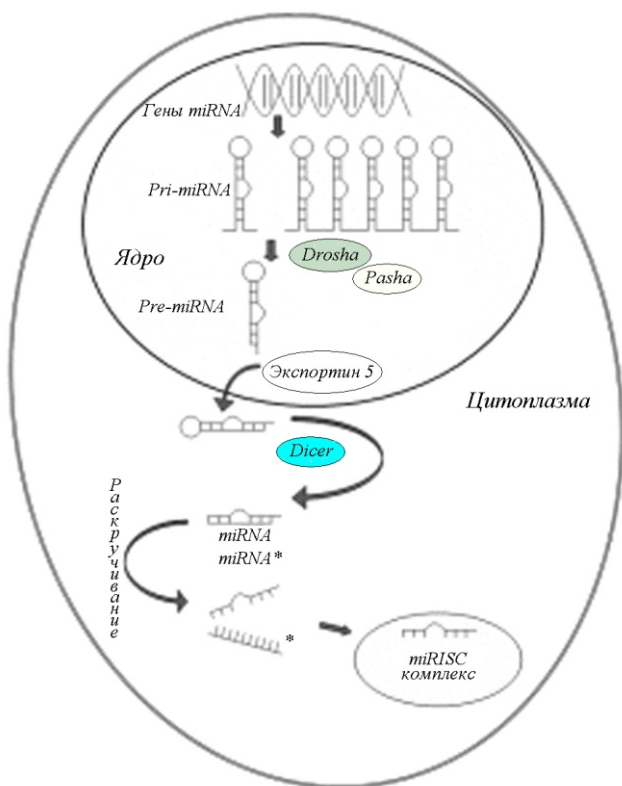


Рис. 1. Схема биогенеза miRs. Подробности см. в тексте

компонентами которого являются Дайсер, хеликаза, РНК-связывающий белок и белок-аргонавт (Ago, argonaute), ответственный за образование RISC [5–7, 48–52]. У *Drosophila* Дайсер-процессирующий фермент в RISC-комплексе функционирует в тандеме с РНК-связывающим белком Loqs, образуя внутримолекулярный димер [48]. Авторы описывают «функциональную анатомию» Dcr-1/Loqs-комплекса и детали механизма расщепления pre-miR.

Хеликаза не только раскручивает miR/miR*-дуплекс, но и является существенным компонентом метаболизма miR. В координации с другими компонентами она участвует в «загрузке» RISC-комплекса [49].

Принципиально другой механизм расщепления существует у растений. Они имеют четыре Дайсер-подобных (DCL) фермента [50]. У *Arabidopsis* белок DCL-1 и два других белка HYL-1 и SE образуют внутримолекулярный комплекс, входящий в SmD3/SmB-тело, локализующееся в ядре [51].

Авторы предположили, что DCL-1/HYL-1/SE-комплекс вовлекается в производство miR в ядерных SmD3/SmB-телах. Это подтверждается данными работы [52]. Dicing (D)-тела, по определению этих авторов, участвуют в «симфоническом» процессинге pri-miR–pre-miR–miR в ядрах клеток растений. В силу этих обстоятельств (четыре DCL-фермента, ядерная локализация D-тел) можно предположить, что у растений отсутствует промежуточный продукт miR-метаболизма – pre-miR, а аномальные «шпильки» (см. выше) представляют собой обнаруженные pri-miRs.

Хеликаза в RISC-комплексе или D-телах разворачивает miR/miR*, пассажирская (passenger) цепь miR* удаляется, а в RISC остается комплементарная ей цепь длиной 20–25 нт – зрелая miR. Зрелая miR может процессироваться как из 5'- или 3'-плеча pre-miR, так и из обоих плеч. Предполагается, что это зависит от термодинамической устойчивости 5'- или 3'-плеча pre-miR. Клетки предпочитают выбирать менее устойчивую miR и разрушает другую – miR*. Тем не менее, как показано Ро с соавт. [53], в некоторых тканях обе цепи могут накапливаться как парированные miRs до тех пор, пока не подвергнутся селекции в других тканях. В этих тканях обе miRs способны супрессировать экспрессию своих генов. У млекопитающих miRs в некоторых случаях могут импортироваться обратно в ядро.

Так, авторы [54] показали, что специфические miRs иногда содержат дополнительный гексануклеотидный элемент в 5'-концевой последовательности, определяющий их субклеточную локализацию. Этими же авторами продемонстрировано, что указанный концевой мотив, присоединяясь к miR-296 человека, управляет ее ядерным импортом. Накопление зрелых miR в ядре показано также в работе [55], где установлено, что miR-206 крыс ассоциируется с формирующимися рибосомами, а также с 28S рРНК функционирующих рибосом в цитоплазме. Таков вкратце механизм экспрессии генов miR. Можно предположить, что у растений miRs, образующиеся в ядре, экспортируются в цитоплазму.

Механизм функционирования miRs. Как же функционирует зрелая miR? Модель ее функционирования представлена на рис. 2. Оставшаяся в

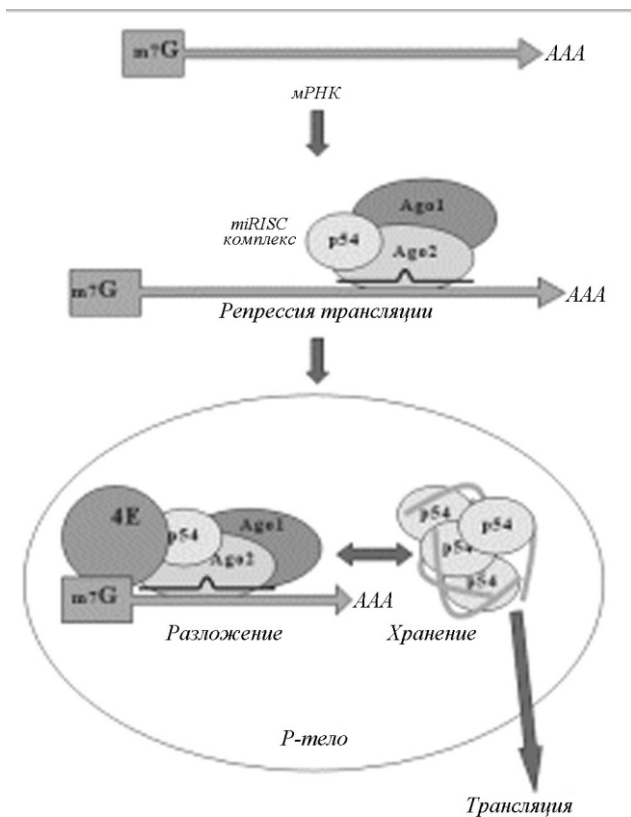


Рис. 2. Модель функционирования miRs. Подробности см. в тексте

RISC-комплексе miR является «гидом» для miRISC-комплекса. Она служит проводником этого эффекторного РНП-комплекса к мишени, в качестве которой выступает мРНК и где зрелая miR находит комплементарный ей участок. За счет комплементарности miR с РНК-мишенью комплекс удерживается на мРНК, ингибируя процесс трансляции [45, 46]. Лонг и соавт. [56] показали влияние вторичной структуры мРНК-мишени на распознавание ее miRs. Они предложили двухступенчатую реакцию гибридизации miR с мРНК. На репертуар мРНК-мишеней для miRs и перераспределение мишеней влияет A I-редактирование miRs и их мишеней [26–29]. Механизм ингибирования двоякий и зависит от степени комплементарности miR со своей мишенью. Если miR комплементарна только своими 5'- и 3'-концевыми последовательностями длиной 5–7 нт и некомплементарна в центре (5–7 нт), образуя выступ, то посадка комплекса происходит на 3'-нетранслируемую область (3' untranslated region, 3' UTR) мРНК. В этом случае происходит

ингибирование процесса трансляции. Некоторые особенности строения 3' UTR также влияют на выбор мишеней [57–59]. Показано, что для эффективного ингибирования важен 5'-конец miR, в то время как допускается вариабельность 3'-конца [60–62]. Центров связывания комплекса на 3' UTR может быть несколько. Например, мРНК *lin-14*, кодирующая ядерный белок, необходимый для перехода личинки *Caenorhabditis elegans* из первого во второй возраст, имеет семь центров связывания с miR-*lin4* [63]. Механизмы ингибирования только недавно начали изучать [64] и они еще далеки от выяснения. Существует несколько механизмов, отличающихся тонкими деталями молекулярного взаимодействия РНК и белковых компонентов – участников этого сложного процесса [47, 65]. Мы не будем останавливаться на деталях, а выделим лишь некоторые этапы процесса. Известно, что для репрессии необходимы кеп-структура и поли-А-последовательность [66–69] и что репрессия происходит после инициации трансляции [70]. Очевидно, что присоединение miRISC к мРНК-мишени происходит в составе полисом. Так, на экспоненциально растущих клетках HeLa показано, что большая часть трех miRs ассоциируется с активно транскрибируемой мРНК, а miR-*let 7a* человека блокируют синтез белка на активно транскрибирующихся *lin-41* мРНК полисомах, способствуя накоплению растущих полипептидов [71, 72]. Полисомы осаждали в градиенте концентрации сахарозы вместе с miR-*let-7a* и Ago-белком. Предполагается, что miRISC блокирует синтез белка, способствуя быстрому сжиганию в процессе элонгации трансляции рибосом с растущими полипептидными цепями [47, 65]. Судьба последних точно не определена, хотя некоторые предположения высказываются [47, 65]. Далее установлено, что ингибированная мРНК вместе с miRISC ассоциируется с Р-телами (рис. 2) [45–47]. Авторы [73] показали, что реализация мРНК из полисом недостаточна для запуска сборки Р-тел: свободная мРНК должна стать участником метаболизма ингибирования, инициированного miR. Авторы сделали вывод о том, что Р-тела не требуются для функционирования, а являются следствием метаболизма у молчания генов с участием miR. Р-тела содержат высокие концентрации ферментов и факто-

ров, необходимых для репрессии трансляции или оборота мРНК. Здесь возможны два варианта. miRISC вступает во взаимодействие с декэпирующими белками и фактором инициации трансляции 4E, тем самым способствуя ингибированию и расщеплению мРНК. Второй путь – мРНК взаимодействует с хеликазным белком p54, происходит процесс олигомеризации комплекса p54–мРНК и мРНК сохраняется до «лучших времен». Когда потребуется, эта сохраненная мРНК может повторно вступить в цикл трансляции [45, 74]. Но как клетка определяет, какой из этих путей будет реализован, неизвестно. Кстати, эта схема установлена на miR-let7, которая, как известно, обуславливает расщепление мРНК-мишени, несмотря на неполную комплементарность (отщепляется поли-А-последовательность) [47, 65, 75].

Таков первый предполагаемый механизм ингибирования процесса трансляции с помощью miR, основанный на неполной комплементарности miR и мишени мРНК в составе miRISC-эффекторного комплекса, в котором зрелая miR выполняет функцию «гида», а эффекторным белком является p54, определяющий, быть РНК расщепленной или сохранить ее для последующей повторной трансляции [45].

Второй механизм ингибирования процесса трансляции miR, распространенный у растений, – это разрезание мРНК-мишени по механизму siRNA [39, 76, 77]. Аналогичный механизм показан на одной из miR BART2 вируса Епштейна-Барра (EBV) [78] и осуществляется он в тех случаях, когда miR полностью комплементарна своей мишени. Расщепление происходит по центру комплементарных участков. Совершенно очевидно, что выбор механизма ингибирования зависит от комплементарности центрального участка miR длиной ~7 нт. Интересно, что расщепление, инициируемое miR, ведет за собой в некоторых случаях образование siRNA из продуктов расщепления мРНК [40, 76, 77]. Иногда 5'-продукт расщепления мРНК не синтезирует siRNA. Некоторые исследователи полагают, что такие нерасщепленные 5'-продукты могут быть функционально необходимы у растений. Предполагается также, что расщепление мРНК, ведущее к образованию siRNA, происходит вне Р-тел.

Данные о способе и месте расщеплений miR противоречивы. Известны работы, в которых доказывается, что расщепление в нескольких точках происходит в Р-телах, содержащих эндонуклеазу [79]. Однако это несколько противоречит результатам, полученным на примере miR-166 у растений (*Arabidopsis*), мишенью для которой является мРНК гена РНВ [77]. В этой работе показано, что miR-166, полностью комплементарная своей мишени, способствует разрезанию мРНК длиной 656 нт и накоплению со временем 5'-концевого продукта расщепления длиной 500 нт. Дайсер в составе RISC, индуцируемого miR-166, работает как фермент с многократным использованием: один комплекс расщепляет ~30 молекул-мишеней. Вряд ли такой механизм был бы возможен, если бы полное расщепление происходило в Р-телах с участием эндонуклеазы. Скорее всего, разрезание в одной точке идет в Р-телах по второму пути с накоплением в них 5'-половины мРНК, как это показано для let-7 [45] (см. выше).

До сих пор мы рассматривали работы, доказывающие отрицательную (down-regulation) регуляцию процесса трансляции в случае присоединения miR к 3'-UTR мРНК (млекопитающие, беспозвоночные) или к кодирующему району мРНК (растения). Однако miRs могут и положительно (up-regulation) регулировать мРНК, модулируя процесс трансляции [80–82]. miRs способны модулировать центры связывания для взаимодействующих с мРНК белков [80, 82]. Предполагается также, что связывание с мРНК одной или более miR может приводить к конформационным изменениям мРНК и, как следствие, к открыванию или маскированию дополнительных регуляторных элементов на мРНК. Происходит это в случае расположения центров связывания miR в 5'-некодирующем районе мРНК-мишени. Положительная регуляция экспрессии генома вируса гепатита С продемонстрирована при взаимодействии специфической для печени хозяйской miR-122 с 5'-участком вирусной РНК [81]. У растений (*Arabidopsis*) обнаружены две miRs, взаимодействующие с 5'-областью их мРНК-мишени [83]. Вероятно, модулирование процесса трансляции осуществляется и тогда, когда miR присоединяется к 3'-UTR мРНК и накапливается в Р-телах

для повторной трансляции, что показано для miR let-7 человека [45].

На основании известного механизма функционирования miR можно сделать однозначный вывод о том, что биологический эффект действия miR зависит от белков, закодированных в их мРНК-мишенях, а также оттого, в каких клеточных процессах участвуют эти белки. Но прежде чем перейти к этому, нужно хотя бы кратко упомянуть о методах открытия и идентификации miR.

Стратегия открытия и исследования miRs. В настоящее время существуют и продолжают интенсивно разрабатываться стратегии открытия и идентификации индивидуальных miR, включающие два подхода – биохимический и биоинформатический [84, 85]. При биохимическом подходе для выделения и идентификации miR тотальную РНК, экстрагированную из тканей, разделяют либо гель-фильтрацией, либо электрофорезом в 15 %-м полиакриламидном геле, содержащем додецилсульфат натрия и 7 М мочевины. Зону низкомолекулярных РНК (20–30 нт) подвергают модификациям и амплификации с последующим клонированием и секвенированием. Разработаны методы, позволяющие на 25 пикомолях различать miRs, отличающиеся одним нуклеотидом [86]. Таким образом, выделяют индивидуальные miRs и обозначают их номерами. Кроме того, известна одна работа по выделению из клеток HeLa специфического 15S-комплекса miR с РНП, содержащего 40 индивидуальных miRs [87]. Создаются также методы определения профилей экспрессии miRs [88, 89], т. е. установления времени появления, синтеза и исчезновения miRs в органах и тканях в процессе онтогенеза организма. Ванг с соавт. [88] разработали точный и чувствительный метод профилирования miRs, позволяющий в клетках дискриминировать РНК по величине и последовательности и определять индивидуальные miRs в тканях, фиксированных формалином и залитых парафином. В качестве примера можно привести работу [90], где описаны профили экспрессии 23 miRs в онтогенезе *Drosophila* на стадиях эмбриона, трех возрастов личинки, состояния перед окукливанием, куколки и взрослой женской особи. Из этой работы очевидно, что некоторые miRs синтезируются конститутивно в процессе всего онтогенеза (miR-1,

miR-8), другие – только на стадии эмбриона (miR-2, miR-3), а miR-34 – на стадии личинки и интенсивно – во взрослой особи, miR-125 и let-7 – лишь на стадии куколки.

Кратко рассмотрим второй подход к исследованию miRs – биоинформатический. Компьютерные программы разрабатываются для предсказания присутствия в геноме шпичечно-петлевых структур (pre-miR) и зрелых miR в составе этих шпилек [91–94], а также мишеней (мРНК) для miR [61, 85, 95–102]. В основе предсказания шпилек pre-miR и зрелых miR лежит главное требование: кандидаты на роль pre-miR должны иметь специфическую вторичную структуру формы шпилька–петля длиной 60–100 нт с допуском в шпильке симметричных и асимметричных «пузырей» (несколько неспаренных оснований). Наиболее используемой является программа Mfold [91]. Существует программа (RNA fold-L-100) [92], отличающая среди множества кандидатов pre-miR со свободной энергией свертывания >23,00 ккал/моль реальные от псевдошпилек. Для предсказания зрелых miR среди кандидатов pre-miR (шпилек) существуют программы miRSeeker и miRScan, отбирающие шпильки длиной 100 нт с общим оценочным баллом >10. В основе программ miRSeeker [93] и miRScan [94] лежит критерий консервативности зрелых miRs, поэтому они отбирают кандидатов при обязательном сравнении двух родственных шпилек. В этом состоит недостаток указанных программ и ограниченность их применения, особенно в изучении miRs, закодированных в геномах вирусов. Биохимическими исследованиями подтверждено, что с применением только этих программ много реальных miRs не обнаруживается. С использованием перечисленных программ отбираются наиболее вероятные, а из них – «реальные» шпильки-кандидаты, содержащие зрелые miRs. Однако предсказанные таким путем pri-, pre- и зрелые miRs требуют дополнительного подтверждения, что предшественники являются субстратами для процессирующих их ферментов (Дроша, Дайсер) [103]. Авторы считают, что только miRs, прошедшие это сито, можно считать реальными, а не прошедшие – кандидатами. Биоинформатические исследования, как правило, подкрепляются биохимическими (профи-

ли экспрессии miRs, выделение индивидуальных miRs и их секвенирование) и наоборот.

Участие miRs в регуляции клеточных процессов. Какие же результаты получены за последние пять лет изучения miRs с момента их открытия в 2001 г. [104] как самостоятельного класса?

Во-первых, все до сегодняшнего дня исследованные геномы эукариотов содержат гены miRs. Число различных miRs у разных организмов насчитывает десятки и сотни в одном организме. Например, предполагается, что в геноме человека количество генов miRs превышает 1000 и может достигать 20000, что составляет более 3 % кодирующей емкости генома и они могут контролировать 30 % и более генов [5–7, 105, 106]. Даже такие небольшие по размеру геномы, как геномы вирусов, содержат до нескольких десятков miRs [8, 107, 108]: EBV – 32 miRs [8]; реус-лимфокриптовирус – 22 miRs; вирус, ассоциированный с саркомой Капоши, – 17 miRs; цитомегаловирус человека – 14 miRs; герпесвирус мышей – 10 [8]; вирус иммунодефицита человека – 10 miRs [107]; вирус болезни Марек – 8 miRs [108]; обезьяний вирус SV40 – 8 miRs; простейший вирус герпеса 1 – одну miR [8]. Причем одна miR может иметь десятки, а то и сотни различных мишеней [5–7, 109]. Среди мишеней miR наиболее распространены различные факторы транскрипции и множество других белков-факторов. При этом синтез белков контролируется опосредованно через процессы транскрипции как отрицательно (подавление синтеза), так и положительно (возобновление синтеза). Однако и сами miRs могут не только подавлять процесс трансляции (отрицательная регуляция), но и восстанавливать его (положительная регуляция) [81, 82, 110].

Благодаря влиянию на процесс транскрипции miRs выступают в роли истинных регуляторов очень многих процессов. Если учесть, что профили экспрессии miRs специфичны для различных тканей, органов, этапов онтогенеза, то становится понятным, почему miRs причастны к контролю и регуляции процессов развития, начиная с эмбриогенеза [111–115] и до взрослого организма [116–118], процессов дифференциации [119–121] и роста клеток [122–124], процессов образования тканей [111, 119, 125] и отдельных органов [115, 116, 118,

125–127]. miRs контролируют самоидентификацию и дифференциацию стволовых клеток [113–115, 128], процессы пролиферации и апоптоза [121, 129–134], участвуют в сигнальных системах клетки [135], в процессах регуляции эндокринных [119, 136] и нервных [5, 119, 137–141] систем, функционируют в гематопозе [5, 119, 120, 142–144], сперматогенезе [145], иммуногенезе [146–151]. miRs, вероятно, также участвуют в альтернативном сплайсинге [152] и вместе с siRNAs – в эпигенетических процессах [153–156]. Они причастны к метаболизму низкомолекулярных соединений [157–161] (аминокислот [158], липидов [159], глюкозы [160], фосфатов [161]) и регуляции клеточного осмотического давления [162]. Показано, что miRs участвуют в регуляции сети взаимодействий белок–белок у человека [163].

miRs играют существенную роль во взаимоотношениях вирус–клетка [8]. Как правило, ими являются miRs, закодированные крупными ДНК-содержащими вирусами, которые интегрируются в геном хозяина, а также ретровирусами (см. выше). Однако это отдельная тема и требует специального обзора.

miRs и болезни. Особое значение приобретают фундаментальные исследования биогенеза и функционирования miRs в связи с их причастностью к различным патологиям [105, 121, 131, 155, 164–170], воспалительным процессам [171] и стрессам [167, 169]. В настоящее время продолжает интенсивно развиваться методология изучения профилей экспрессии клеточных miRNAs в норме и при патологии [104, 106, 121, 131, 172–180]. Также появляются работы по исследованию роли miRNA как инструмента в управлении эмбриональным развитием и классификации опухолей человека [121, 174]. На основании этих работ предполагается, что у всех изученных организмов программы их развития представляют собой специфические образцы профилей экспрессии miRNA и нарушения в этих профилях коррелируют с различными патологиями, в частности, с вирусными инфекциями [181] и канцерогенезом [106, 132–134, 173–179, 182–192]. В настоящее время показано, что неоплазии характеризуются специфически измененным профилем экспрессии miRNA [121, 173–179, 189, 190, 193–198]. Обнаружено не только изменение профилей

экспрессии, но и появление специфических miRs при различных опухолях [190, 193, 199–203]. Интересно, что miRs могут выступать и как онкогены, и как супрессоры опухолей [131, 176, 177, 185, 199–212].

RNAi-терапия. В связи с изучением новых miRs и профилей экспрессии разрабатывается принципиально новая стратегия маркирования, диагностики, профилактики и лечения болезней [106, 121, 169, 175–180, 184–187, 203–205, 213–218] с использованием наряду с siRNAs генетически и химически модифицированных miRs («антогомиры») [191, 219–224]. Определение оптимальных модификаций химически синтезированных смысловых и антисмысловых олигонуклеотидов является основной задачей нового поколения лекарственных препаратов для терапии различных патологий. Доставка олигонуклеотидов, выбор вектора, химические модификации для защиты от нуклеаз, устранение побочных эффектов (стимуляция интерферона) – вот основные проблемы, которые необходимо решить на пути внедрения фундаментальных знаний о miRs в медицинскую практику. Препятствием может стать токсичность *in vivo* коротких шпилечных РНК, обусловленная насыщением метаболизма эндогенных miRs [225–226]. Исследователи ставят вопрос: не ограничат ли эти данные терапевтическое применение коротких шпилечных РНК?

На этот вопрос пытаются ответить Джо и соавт. [227]. Используя синтетические siRNA, нацеленные на два гепатоцит-специфических гена (аполипопротеин В и фактор VII), эти авторы показали на печени мышей и хомяков, что умолкание мишеных генов не приводит к значительному изменению уровней miR-122, miR-16 и let-7a, экспрессируемых в клетках печени. Ученые делают вывод о том, что использование синтетических miRs не должно вызывать нарушений в организме и потому антогомиры могут служить «безопасным и эффективным оружием умолкания генных транскриптов». На этом основании можно полагать, что синтетические малые РНК пригодны для использования в качестве лечебных препаратов. В новой парадигме развития персонализированной медицины, основанной на РНК-интерференции с участием miRs и siRNAs, ключевую роль в диагностике и открытии лекарств

отводят miRs [228]. И хотя еще не создан ни один коммерческий лекарственный препарат и лишь некоторые проходят клинические испытания, будущий рынок лекарств, основанных на РНК-интерференции, оценивается в $3,5 \cdot 10^9$ \$ к 2010 году с увеличением к 2015 году до $10 \cdot 10^{10}$ \$ [228].

T. V. Shirina, M. T. Bobrovskaya, E. A. Kozlov

MicroRNA: from fundamental research to their application

Summary

MicroRNAs (miRs) are small non-protein-encoding RNAs of 20–30 nucleotides long. In eukaryotic cells miRs play the role of bioregulators of gene expression through the mechanisms of translation repression/modulation. Here we both familiarize the readers with miRs biogenesis, functioning mechanisms, and strategy of their discovery and present the list of biological processes, regulated by miRs. We also list the publications, dedicated to miRs role in human pathologies (carcinogenesis in particular) and their application for marking, prevention, diagnostics, and therapy of cancer.

Keywords: microRNA, biogenesis, expression profile, bioinformatic, microRNA-prediction, bioregulation, carcinogenesis, therapy.

T. B. Ширина, М. Т. Бобровська, Е. А. Козлов

МікроРНК: від фундаментальних досліджень до практичного застосування

МікроРНК – короткі некодуючі РНК довжиною 20–30 нуклеотидів. У клітинах еукаріотів мікроРНК відіграють роль біорегуляторів експресії генів, пригнічуючи або модулюючи процес трансляції. Мета огляду – проаналізувати механізми біогенезу та функціонування мікроРНК, стратегію їхнього відкриття, надати перелік деяких біологічних процесів, у регуляції яких беруть участь мікроРНК, а також ознайомити з новітніми публікаціями, присвяченими причетності мікроРНК до різних патологій (особливо канцерогенезу) і застосуванню їх для маркування, профілактики, діагностики та терапії різних хвороб.

Ключові слова: мікроРНК, біогенез, функція, профілі експресії, біоінформатичне передбачення, біорегуляція, канцерогенез, терапія.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pasquinelli A. E. Demystifying small RNA pathways // *Develop. Cell.*–2006.–**10**, N 4.–P. 419–424.
2. Plasterk R. H. A. RNA silencing: the genomes immune system // *Science.*–2002.–**296**.–P. 1263–1264.
3. Zamore R. D. Ancient pathways programmed by small RNAs // *Science.*–2002.–**296**.–P. 1265–1269.
4. Matzke M. A., Briclher J. A. RNA-mediated pathways in nucleuse // *Nat. Rev.*–2005.–**6**, N 1.–P. 24–35.
5. Zhao Y., Srivastava D. A developmental view of microRNA function // *Trends Biochem. Sci.*–2007.–**32**, N 4.–P. 189–197.

6. Zhang B., Wang Q., Pan X. MicroRNAs and their regulatory roles in animals and plants // *J. Cell Physiol.*—2007.—**210**, N 2.—P. 279–289.
7. Wang Y., Stricker H. M., Gou D., Liu L. MicroRNA: past and present // *Front Biosci.*—2007.—**12**.—P. 2316–2329.
8. Scaria V., Hariharan M., Maiti S., Pillai B., Brahmachari S. K. Host-virus interaction: a role for micro RNAs // *Retrovirology.*—2006.—**3**.—P. 68–76.
9. Yu J., Wang F., Yang G. H., Wang F. L., Ma Y. N., Du L. W., Zhang J. W. Human microRNA cluster: genomic organization and expression profile in leukemia cell lines // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—2006.—**349**, N 1.—P. 59–68.
10. Lis C., Tang P., Lin W. C. Intronic microRNA: discovery and biological implications // *DNA Cell Biol.*—2007.—**26**, N 2.—P. 195–207.
11. Kim Y.-K., Kim V. N. Processing of intronic microRNA // *EMBO J.*—2007.—**26**.—P. 775–783.
12. Piriyaopongsa J., Marino-Ramirez L., Jordan J. K. Origin and evolution of human microRNAs from transposable elements // *Genetics.*—2007.—**176**, N 2.—P. 1323–1327.
13. Kueiver J., Van den Berg A., de Long D., Blokzijl T., Harms G., Bauvman E., Jacobs S., Poppewa S., Kroesen B. J. Regulation of pri-microRNA BIC translation and processing in Burkitt lymphoma // *Oncogene.*—2007.—**26**, N 26.—P. 3769–3776.
14. Lee J., Li Z., Brower-Sinning R., John B. Regulatory circuit of human microRNA biogenesis // *PLoS Comput. Biol.*—2007.—**3**, N 4.—e67.
15. Fukao T., Fukada Y., Kiga K., Sharif J., Hino K., Enomoto Y., Kawamura A., Nakamura K., Takeuchi T., Tanabe M. An evolutionarily conserved mechanism for microRNA-223 expression revealed by microRNA gene profiling // *Cell.*—2007.—**129**, N 3.—P. 617–631.
16. Shalgi R., Lieber D., Oren M., Dilpel Y. Global and local architecture of the mammalian microRNA-transcription factor regulatory network // *PLoS Comput. Biol.*—2007.—**3**, N 7.—e131.
17. Tsang J., Zhu S., van Oudenaarden A. MicroRNA mediated feedback and feedforward loops are recurrent network motifs // *Mol. Cell.*—2007.—**26**, N 5.—P. 753–767.
18. Xie L. R., Yang H. T., Liu W. C., Hwang M. J. The role of microRNA in the delayed negative feedback regulation of gene expression // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—2007.—**358**, N 3. P. 722–726.
19. Chuang J. C., Jones P. A. Epigenetics and microRNAs // *Pediatr. Res.*—2007.—**61**, N 5, Pt 2.—P. 24R–29R.
20. Weber B., Stresman C., Brueckner B., Lyko F. Methylation of human microRNAs genes in normal and neoplastic cells // *Cell Cycle.*—2007.—**6**, N 9.—P. 1001–1005.
21. Han L., Witmer P. D., Casey E., Valle D., Sukumar S. DNA methylation microRNA expression // *Cancer Biol. Ther.*—2007.—**6**, N 8.—[Epub].
22. Duan R., Pak C., Jin P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA // *Hum. Mol. Genet.*—2007.—**16**, N 9.—P. 1124–1131.
23. Sethupathy P., Borel C., Gagnebin M., Grant G. R., Deutsch S., Elton T. S., Hatzigeorgiou A. G., Antonarakis S. E. Human microRNA-155 on chromosome-21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTRL 3' untranslated region: mechanism for functional single-nucleotide polymorphisms related to phenotypes // *Am. J. Hum. Genet.*—2007.—**81**, N 12.—P. 405–413.
24. Barnes M. R., Deharo S., Grocock R. Y., Brown J. R., Sanseau P. The microRNA target paradigm: a fundamental and polymorphic control layer of cellular expression // *Exp. Opin. Biol. Ther.*—2007.—**7**, N 9.—P. 1387–1399.
25. Amariglio N., Rechavi G. A- to -I RNA editing: a new regulatory mechanism of global gene expression // *Biol. Cells Mol. Dis.*—2007.—**39**, N 2.—P. 151–155.
26. Das A. K., Carmichall G. G. ADAR edition wobbles the microRNA world // *ACS Chem. Biol.*—2007.—**2**, N 4.—P. 217–230.
27. Habig J. W., Dale T., Bass B. L. MiRNA-editing – we should have inosine this coming // *Mol. Cell.*—2007.—**25**, N 6.—P. 792–793.
28. Kawahara Y., Zinshteynt B., Sethupathy P., Likasa H., Hatzigeorgiou A. G., Nishikura K. Redirection of silencing targets by adenosine-to-inosine editing of miRNAs // *Science.*—2007.—**315**, N 5815.—P. 1137–1140.
29. Liang H., Landweber L. F. Hypothesis: RNA editing of microRNA target sites in humans? // *RNA.*—2007.—**13**, N 4.—P. 463–467.
30. Lee J., Kim M., Han J., Yeom K.-H., Lee S., Back S. H., Kim V. N. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II // *EMBO J.*—2004.—**23**.—P. 4051–4060.
31. Bartel D. P. MicroRNAs: genomics biogenesis, mechanism and function // *Cell.*—2004.—**116**.—P. 281–297.
32. Borchert G. M., Lanier W., Davidson B. L. RNA polymerase III transcribes human microRNAs // *Nat. Struct. Mol. Biol.*—2006.—**13**, N 12.—P. 1097–1101.
33. Zhou X., Ruan J., Wang G., Zhang W. Characterization and identification of microRNA core promoters in four model species // *PLoS Comput. Biol.*—2007.—**3**, N 3.—e37.
34. Cai X., Hagedorn C. H., Cullen B. R. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNA // *RNA.*—2004.—**10**.—P. 1957–1966.
35. Zeng J., Cullen B. R. Efficient processing of primary microRNA hairpins by *Drosophila* flanking nonstructured RNA sequence // *J. Biol. Chem.*—2005.—**280**, N 30.—P. 27595–27603.
36. Bashirullah A., Pasquinelli A. E., Kiger A. A., Perriman N., Ruvkun G., Tummel C. S. Coordinate regulation of small temporal RNAs at the onset of *Drosophila metamorphosis* // *Develop. Biol.*—2003.—**259**.—P. 1–8.
37. Lau N. C., Lim L. P., Weinstein E. G., Bartel D. P. An abundant class of tiny RNAs with probably regulatory roles in *Caenorabditis elegans* // *Science.*—2001.—**294**, N 5543.—P. 858–862.
38. Mineno J., Okamoto S., Ando T., Sato M., Chong H., Izu H., Takayama M., Asada K. The expression profile of microRNAs in mouse embryos // *Nucl. Acids Res.*—2006.—**34**, N 6.—P. 1763–1771.
39. Reinhart B. J., Weinstein E. G., Rhoades M. W., Bartel B. MicroRNAs in plants // *Genes Develop.*—2002.—**16**, N 13.—P. 1616–1626.
40. Qui C. X., Xie F. L., Zhu Y. Y., Guo K., Huang S. O., Nie L., Yang Z. M. Computational identification of microRNAs and their targets in *Gossypium hirsutum* expressed sequence tags // *Gene.*—2007.—**395**, N 1–2.—P. 49–61.
41. Jeom K. H., Lee J., Han J., Suh M. R., Kim V. N. Characterization of DGCR8/Pasha, the essential cofactor for Drosha in primary miRNA processing // *Nucl. Acids Res.*—2006.—**34**, N 34.—P. 4622–4629.

42. Sohn S. Y., Bawe W. J., Kim J. J., Yeom K. H., Kim V. N., Cho Y. Crystal structure of human DGCR8 core // *Nat. Struct. Mol. Biol.*—2007.—**14**, N 9.—P. 847–853.
43. Takeshita D., Zenno S., Lee W. C., Nagata K., Saigo K., Tanokura M. Homodimeric structure and double-stranded RNA cleavage activity of the C-terminal RNase III domain of human Dicer // *J. Mol. Biol.*—2007, Sep. 8 [Epub.].
44. Fukuda T., Yamagata K., Fujiyama S., Matsumoto T., Koshida I., Yoshimura K., Mihara M., Naitou E., Endoh H., Nacamura T., Akimoto C., Yamamoto Y., Katagiri T., Foulds C., Takezawa S., Kitagawa H., Takeyama K., O'Malley B. W., Kato S. DAED-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of microRNA // *Nat. Cell Biol.*—2007.—**9**, N 5.—P. 604–611.
45. Chu Y., Rana T. M. Translation repression in human cells by microRNA-induced gene silencing requires RCK/p54 // *PLoS Biol.*—2006.—**4**, N 7.—e210.
46. Jackson J., Standart N. How do microRNA regulate gene expression? // *Sci. STKE.*—2007.—N 367.—P. re 1.
47. Pillai R. S., Bhattacharyya S. N., Filipowicz W. Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms? // *Trend Cell Biol.*—2007.—**17**, N 3.—P. 118–126.
48. Ye X., Paroo Z., Liu O. Functional anatomy of the Drosophila microRNA-generating enzyme // *J. Biol. Chem.*—2007.—**282**, N 39.—P. 28373–28378.
49. Salzman D. W., Shubert-Coleman J., Furneaux H. P68RNA helicase unwinds the human let-7 microRNA precursor duplex and is required for let-7 directed silencing of gene expression // *J. Biol. Chem.*—2007.—**282**, N 40.—P. 32773–32779.
50. Blevins T., Rajeswaran R., Shivaprasad P. V., Beknazarians D., Si-Ammour A., Park H.-S., Vazquez F., Robertson D., Meins F. Jr., Hohn T., Pooggin M. M. Four plant Dicer mediate viral small RNA biogenesis and DNA virus induced silencing // *Nucl. Acids Res.*—2006.—**34**, N 21.—P. 6233–6246.
51. Fujioka Y., Utsumi M., Ohba Y., Watanaba Y. Location of a possible miRNA processing site in SmD3/SmB nuclear bodies in Arabidopsis // *Plant. Cell Physiol.*—2007.—**48**, N 9.—P. 1243–1253.
52. Fang Y., Spector D. L. Identification of nuclear Dicing bodies containing proteins for microRNA biogenesis in living Arabidopsis plants // *Curr. Biol.*—2007.—**17**, N 9.—P. 818–823.
53. Ro S., Park C., Young D., Sanders K. M., Yan W. Tissue-dependent paired expression of miRNAs // *Nucl. Acids Res.*—2007.—**35**, N 17.—P. 5944–5953.
54. Hwang H. W., Wentzel E. A., Mendell J. T. A hexanucleotide element directs microRNA nuclear import // *Science.*—2007.—**315**, N 5808.—P. 97–100.
55. Politz J. C., Zhang F., Pederson T. MicroRNA-206 localizes with ribosome-rich regions in both the nucleus and cytoplasm of rat myogenic cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2006.—**103**, N 50.—P. 18597–18620.
56. Long D., Lee R., Williams P., Chan C. Y., Ambros V., Ding J. Potent effect of target structure on microRNA function // *Nat. Struct. Mol. Biol.*—2007.—**14**, N 4.—P. 287–294.
57. Majoros W. H., Ohler U. Spatial preferences of microRNA targets in 3' untranslated regions // *BMC Genom.*—2007.—**8**, N 1.—P. 152–160.
58. Hon I. S., Zhang Z. The role of binding site arrangement and combinatorial targeting in microRNA expression of gene expression // *Genome Biol.*—2007.—**8**, N 8.—P. R166.
59. Grimson A., Farh K. K., Johnston W. K., Garrett-Engele P., Lim L. A., Bartel D. P. MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing // *Mol. Cell.*—2007.—**27**, N 1.—P. 91–105.
60. Wang B., Love T. M., Call M. E., Doench J. G., Novina C. D. Recapitulation of short RNA-directed translational gene silencing *in vitro* // *Mol. Cell.*—2006.—**22**, N 4.—P. 553–560.
61. Rajwsky N. MicroRNA target predictions in animals // *Nat. Genet.*—2006.—**38**—S8–S13.
62. Brennecke J., Stark A., Russell R. B., Cohen S. M. Principles of microRNA-target recognition // *PLoS Biol.*—2005.—**3**—e85.
63. Lin H. L., Hannon G. J. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation // *Nat. Genet.*—2004.—**5**—P. 522–531.
64. Maister G. miRNAs get an early start on translational silencing // *Cell.*—2007.—**131**, N 1.—P. 25–28.
65. Nilsen T. W. Mechanisms of microRNA-mediated gene regulation in animal cells // *Trends Genet.*—2007.—**23**, N 5.—P. 243–249.
66. Thermann R., Hentze M. W. Drosophila miR-2 induces pseudo-polysomes and inhibits translation initiation // *Nature.*—2007.—**447**, N 7146.—P. 875–878.
67. Kiriakidou M., Tan G. S., Lamprinakaki S., De Planell-Saquer M., Nelson P. T., Mourelatos A. Z. An mRNA m7G cap binding-like motif within human Ago2 repression translation // *Cell.*—2007.—**129**, N 6.—P. 1141–1151.
68. Mathonnet G., Fabian M. R., Svitkin Y. V., Parsyan A., Huck L., Murata T., Biffo S., Merrick W. C., Darzynkiewicz E., PiMai R. S., Filipowicz W., Duchaine T. F., Sonenberg N. MicroRNA inhibition of translation initiation *in vitro* by targeting the cap-binding complex eIF4F // *Science.*—2007.—**317**, N 5845.—P. 1764–1767.
69. Standart N., Jackson R. J. MicroRNA repress translation of m7ppp-capped target mRNAs *in vitro* by inhibition initiation and promoting deadenylation // *Genes Develop.*—2007.—**21**, N 16.—P. 1975–1982.
70. Peterson C. P., Bordeleau M. E., Pelletier S., Sharp P. A. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells // *Mol. Cell.*—2006.—**21**—P. 533–542.
71. Maroney P. A., Yu Y., Fisher J., Nilsen T. W. Evidence that microRNAs are associated with translating messenger RNAs in human cells // *Nat. Struct. Mol. Biol.*—2006.—**13**, N 12.—P. 1102–1107.
72. Nottrott S., Simard M. J., Richter J. D. Human let-7a miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes // *Nat. Struct. Mol. Biol.*—2006.—**13**, N 12.—P. 1108–1114.
73. Eulalio A., Behm-Ansmant I., Schweizer D., Izaurralde E. P-body formations a consequence, but the cause of RNA-mediated gene silencing // *Mol. Cell Biol.*—2007.—**27**, N 11.—P. 3970–3981.
74. Chan S. P., Slack F. J. MicroRNA-mediated silencing inside P-bodies // *RNA Biol.*—2006.—**3**, N 3.—P. 97–100.
75. Bagga S., Bracht J., Hunter S., Massierer K., Holtz J., Eachus R., Pasquinelli A. E. Regulation by let-7 and lin-4 miRNAs results in target mRNA degradation // *Cell.*—2005.—**122**—P. 553–563.
76. Tang G., Reinhart B. J., Bartel D. P., Zamore P. D. A biochemical framework for DNA silencing in plant // *Genes Develop.*—2003.—**17**—P. 49–63.
77. Axtell M. J., Jan C., Rajagopalan R., Bartel D. P. A two-hit trigger for siRNA biogenesis in plants // *Cell.*—2006.—**127**, N 3.—P. 565–577.
78. Cai X., Schafer A., Lu S., Bilello J. P., Desrosiers R. C., Edwards R., Raab-Traub N., Cullen B. R. Epstein-Barr virus

- microRNA a reevolutionarily conserved and differentially expressed // *PLoS Pathol.*—2006.—**2**, N 3.—e23.
79. Kim H. K., Lee J. S., Sivaprasad U., Malhotra A., Dutta A. Muscle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation // *J. Cell Biol.*—2006.—**174**, N 5.—P. 677–687.
 80. George A. D., Tenenbaum S. A. MicroRNA modulation of RNA-binding protein regulatory elements // *RNA Biol.*—2006.—**3**, N 2.—P. 57–59.
 81. Jopling C. L., Yi M., Lancaster A. M., Lemon S. M., Sarnov P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA // *Science.*—2005.—**309**.—P. 1577–1581.
 82. Leung A. K., Sharp P. A. MicroRNA: a safeguard against turmoil? // *Cell.*—2007.—**130**, N 9.—P. 581–585.
 83. Sunkar R., Zhu J. K. Novel and stress-regulated microRNA and other small RNAs from Arabidopsis // *Plant Cell.*—2004.—**16**, N 8.—P. 2001–2019.
 84. Berezikov E., Cuppen E., Plasterek R. H. A. Approaches to microRNA discovery // *Nat. Genet.*—2006.—**38**.—S2–S7.
 85. Zang R., Pan X., Wang Q., Cobb G. P., Andersen T. A. Computational identification of microRNAs and their targets // *Comput. Biol. Chem.*—2006.—**30**, N 6.—P. 395–407.
 86. Chen C., Ridzon D. A., Broomer A. J., Zhou Z., Lee D. H., Nguyen J. T., Barbisin M., Xu N. Z., Mahuvakar V. R., Andersen M. R., Zao K. Q., Livak K. J., Guegler K. J. Real-time quantification of microRNAs by steam-loop RT-PCR // *Nucl. Acids Res.*—2005.—**23**, N 20.—e179.
 87. Mourelatos Z., Dostie J., Paushkin S., Sharma A., Charroux B., Abel L., Rappsilber J., Mann M., Dreyfuss G. MiRNAs: a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs // *Genes Develop.*—2002.—**16**.—P. 720–728.
 88. Wang H., Ach R. A., Curry B. Direct and sensitive miRNA profiling from low-input total RNA // *RNA.*—2007.—**13**.—P. 151–159.
 89. Einat P. Methodologies for high-through put expression profiling of microRNAs // *Meth. Mol. Biol.*—2006.—**342**.—P. 139–157.
 90. Sempere L. F., Sokol N. S., Dubrovsky E. B., Berger E. M., Ambros V. Temporal regulation of microRNA expression in *Drosophila melanogaster* mediated by normal signals and broad-complex gene activity // *Develop. Biol.*—2003.—**259**.—P. 9–18.
 91. Zuker M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction // *Nucl. Acids Res.*—2003.—**31**.—P. 3406–3415.
 92. Xue C., Li F., He T., Liu G. P., Li Y., Zhang X. Classification of real and pseudomicroRNA precursors using local structure-sequence features and support vector machine // *Bioinformatics.*—2005.—**6**.—P. 310–316.
 93. Lai E. C., Tomancak P., Williams R. W., Rubin G. M. Computational identification of *Drosophila* microRNA genes // *Genom. Biol.*—2003.—**4**, N 7.—R42.
 94. Lim L. P., Lau N. C., Weinstein E. G., Abdelhakim A., Yekta S., Rhoades M. W., Burge C. B., Bartel D. P. The microRNAs of *Caenorhabditis elegans* // *Genes Develop.*—2003.—**17**.—P. 991–1008.
 95. Ng K. L., Mishra S. K. De novo SVM classification of precursor microRNA from genomic pseudo hairpins using global and intrinsic folding measures // *Bioinformatics.*—2007.—**23**, N 11.—P. 1321–1330.
 96. Chaudhuri K., Chatterjee R. MicroRNA detection and target prediction: integration of computational and experimental approaches // *DNA Cell Biol.*—2007.—**26**, N 5.—P. 321–337.
 97. Watanabe Y., Tomita M., Kanai A. Computational methods for microRNAs target prediction // *Meth. Enzymol.*—2007.—**427**.—P. 65–86.
 98. Huang J. C., Morris O. D., Frey B. J. Bayesian inference of microRNA targets from sequence and expression data // *J. Comput. Biol.*—2007.—**14**, N 5.—P. 550–563.
 99. Doran J., Strauss W. M. Bioinformatic trends for the determination of miRNA-target interactions in mammals // *DNA Cell Biol.*—2007.—**26**, N 5.—P. 353–360.
 100. Lindow M., Gorodkin J. Principles and limitations of computational microRNA gene and target finding // *DNA Cell Biol.*—2007.—**26**, N 5.—P. 339–351.
 101. Yousef M., Jung S., Kossenkov A. V., Showe L. C., Showe M. K. Naive Bayes for microRNA target predictions machine learning for microRNA targets // *Bioinformatic.*—2007.—**23**, N 22.—P. 2987–2992.
 102. Maziere P., Enright A. J. Prediction of microRNA targets // *Drag. Discov. Today.*—2007.—**12**, N 11–12.—P. 452–458.
 103. Helvik S. A., Snove O., Saetrom P. Reliable prediction of Droscha processing sites improves microRNA gene prediction // *Bioinformatics.*—2007.—**23**, N 2.—P. 142–149.
 104. Lagos-Quintane M., Rauhut R., Zenderkel W., Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs // *Science.*—2001.—**294**, N 5543.—P. 853–858.
 105. Perera R. J., Ray A. MicroRNAs in the search for understanding human diseases // *BioDrugs.*—2007.—**21**, N 2.—P. 97–104.
 106. Ahmed F. E. Role of miRNA in carcinogenesis and biomarker selection: a methodological view // *Exp. Rev. Mol. Diagn.*—2007.—**7**, N 5.—P. 569–603.
 107. Bennasser Y., Le S. Y., Yeung M. Z., Yeung K. T. HIV-1 encoded candidate microRNAs and their cellular targets // *Retrovirology.*—2004.—**22**, N 3.—P. 192–200.
 108. Burnside J., Bernberg E., Anderson A., Lu C., Meyer S., Green P. J., Jain N., Isaacs G., Morgan R. W. Marek's Disease virus encodes microRNAs that map to nuq and the latency-associated transcript // *J. Virol.*—2006.—**80**, N 17.—P. 8778–8786.
 109. Lewis B. P., Burge C. B., Bartel D. P. Conserved seed pairing of ten flanked by adenosines indicates that thousands of human genes are microRNAs targets // *Cell.*—2005.—**120**.—P. 15–20.
 110. Bhattacharyya S. N., Habermacher R., Martine U., Closs E. J., Filipowicz W. Relief of RNA-mediated translational repression in human cells subjected to stress // *Cell.*—2006.—**125**.—P. 1111–1124.
 111. Yu Z., Jian Z., Shen S. H., Purisima E., Wang E. Global analysis of microRNA target gene expression reveals, that microRNA target are lower expressed in mature mouse and *Drosophila* tissues than in the embryos // *Nucl. Acids Res.*—2007.—**35**, N 1.—P. 152–164.
 112. Darnell D. K., Kaur S., Stanislaw S., Konieczka J. K., Yatskievych T. A., Antin P. B. MicroRNA expression during chick embryo development // *Develop. Dyn.*—2006.—**235**, N 11.—P. 3156–3165.
 113. Chen C., Ridzon D., Lee C. T., Blake J., Sun Y., Strauss W. M. Defining embryonic stem cell identity using differentiation-relation microRNAs and their potential targets // *Mamm. Genome.*—2007.—**18**, N 5.—P. 316–327.
 114. Puceat M., Ballis A. Embryonic stem cells: from bench to bedside // *Clin. Pharmacol. Ther.*—2007.—**82**, N 3.—P. 337–339.
 115. Wang Y., Medvid R., Melton C., Jeanisch R., Billeloch R. DGCR8 is essential for microRNA biogenesis and silencing

- of embryonic stem cell self-renewal // *Nat. Genet.*—2007.—**39**, N 3.—P. 380–385.
116. *Sempere L. F., Cole C. N., McPeck M. A., Peterson K. J.* The phylogenetic distribution of metazoan microRNAs: insights into evolutionary complexity and constraint // *J. Exp. Zool. B Mol. Develop. Evol.*—2006.—**306**, N 6.—P. 575–588.
 117. *Zhang B., Pan X., Anderson T. A.* Identification of 188 conserved maize microRNAs and their targets // *FEBS Lett.*—2006.—**580**, N 15.—P. 3753–3762.
 118. *Xia X. G., Zhou H., Samper E., Melov S., Xu Z.* Pol II expressed shRNA Sod 2 gene expression and causes phenotypes of the gene knockdown in mice // *PLoS Genet.*—2006.—**2**, N 1.—e10.
 119. *Song L., Tuan R. S.* MicroRNA and cell differentiation in mammalian development // *Birth Defects Res. C. Embryo Today.*—2006.—**78**, N 2.—P. 140–149.
 120. *Min H., Chen C. Z.* Methods for analyzing microRNA expression and function during hematopoietic lineage differentiation // *Meth. Mol. Biol.*—2006.—**342**.—P. 209–227.
 121. *Chen Y., Stallings R. L.* Differential patterns of microRNA expression in neuroblastoma are correlated with prognosis, differentiation, and apoptosis // *Cancer Res.*—2007.—**67**, N 3.—P. 976–983.
 122. *Raftopoulou M.* MicroRNA signals cell fate // *Nat. Cell Biol.*—2006.—**8**, N 2.—P. 112.
 123. *Yang J. H., Han S. J., Yoon E. K., Lee W. S.* Evidence of auxin signal pathway, microRNA 167- ARF8-GH3, and its response to exogenous auxin in cultural rice cells // *Nucl. Acids Res.*—2006.—**34**, N 6.—P. 1892–1899.
 124. *Carleton M., Cleary M. A., Linsley P. S.* MicroRNA and cell cycle regulation // *Cell Cycle.*—2007.—**6**, N 17.—P. 2127–2132.
 125. *Ryan D. G., Oliveira-Fernandes M., Lavker R. M.* MicroRNA of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue specificity // *Mol. Vis.* 2006.—**12**.—P. 1175–1184.
 126. *Karali M., Peluso I., Marigo V., Barifi S.* Identification and characterization of microRNAs expressed in the mouse eye // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*—2007.—**48**, N 2.—P. 509–512.
 127. *Bland C. S., Cooper T. A.* Micromanaging alternative splicing during muscle differentiation // *Genes Develop.*—2007.—**21**, N 1.—P. 71–84.
 128. *Oakley E. J., Van Zant G.* Unraveling the complex regulation of stem cells: implications for aging and cancer // *Leukemia.*—2007.—**21**, N 4.—P. 612–621.
 129. *Chang T. C., Wentzel E. A., Kent O. A., Ramachandran K., Mullendore M., Lee K. H., Feldmann G., Ymakuchi M., Ferlito M., Lowenstein C. J., Arking D. E., Beer M. A., Maitra A., Mendell J. T.* Transactivation of miR-34a by P53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis // *Mol. Cell.*—2007.—**26**, N 5.—P. 745–752.
 130. *Raver-Shapira N., Marciano E., Meih E., Sepetor Y., Rosenfeld N., Moskovits N., Bentwich Z., Oren M.* Transcriptional activation of miR-34 a contributes to p53-mediated apoptosis // *Mol. Cell.*—2007.—**26**, N 5.—P. 731–743.
 131. *Zhang B., Pan X., Cobb G. P., Anderson T. A.* MicroRNAs as oncogene and tumor suppressor // *Develop. Biol.*—2007.—**302**, N 8.—P. 1–12.
 132. *Coller H. A., Forman J. J., Legesse-Miller A.* «Myc-ed messages»: myc induces transcription of E2F1 while inhibiting its translation via a microRNA polycystron // *PLoS Genet.*—2007.—**3**, N 8.—e146.
 133. *Molt J. L., Kabayashi S., Bronk J. F., Gores G. J.* mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis // *Oncogene.*—2007.—**26**, N 42.—P. 6133–6140.
 134. *le Sage C., Nagel R., Egan D. A., Schrier M., Mesman E., Mangiola A., Anile C., Maira G., Mercatelli N., Ciafre S. A., Farace M. G., Agami R.* Regulation of the p27 (Kip 1) tumor suppressor by mir-221 and mir-222 promotes cancer cell proliferation // *EMBO J.*—2007.—**26**, N 15.—P. 3699–3708.
 135. *Cui Q., Yu L., Purisima E. O., Wang E.* Principles of microRNA regulation of a human cellular signaling network // *Mol. Syst. Biol.*—2006.—**2**.—P. 46–52.
 136. *Valdstrup S.* The adaptation of TSH secretion to autonomy in non-toxic goiter may be based on active regulation of set-point and sensitivity of central TSH-receptor, perhaps by the microRNA (MIR) gene // *Med. Hypothesis.*—2006.—**67**, N 3.—P. 588–591.
 137. *Mark F., Mehler M. F., Mattick J. S.* Non-coding RNAs in the nervous system // *J. Physiol.*—2006.—**575**, N 2.—P. 333–341.
 138. *Wu J., Xie X.* Comparative sequence analysis an intricate network among REST, CREB and miRNA in mediating neuronal gene expression // *Genome Biol.*—2006.—**7**, N 9.—R85.
 139. *Kosik K. S.* The neuronal microRNA system // *Nat. Rev. Neurosci.*—2006.—**122**.—P. 911–920.
 140. *Makeyev E. V., Zhang J., Carrasco M. A., Maniatis T.* The microRNA miR-124 promotes neuronal differentiation by triggering brain-specific alternative pre-mRNA splicing // *Mol. Cell.*—2007.—**27**, N 3.—P. 435–448.
 141. *Hengst U., Jaffrey S. R.* Function and translational regulation of mRNA in developing axons // *Semin. Cell Develop. Biol.*—2007.—**18**, N 2.—P. 209–215.
 142. *Ramkissoon S. H., Mainwaring L. A., Ogasawara Y., Keyvanfar K., McCoy I. P., Sloand E. M., Kajigaya S., Young N. S.* Hematopoietic-specific microRNA expression in human cells // *Leuk. Res.*—2006.—**30**, N 5.—P. 643–647.
 143. *Nervi C., Fazi F., Rosa A., Fatica A., Bozzoni J.* Emerging role for microRNAs in acute promyelocytic leukemia // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*—2007.—**313**.—P. 73–84.
 144. *Lawrie C. H.* MicroRNAs and haematology: small molecules, big function // *Brit. J. Haematol.*—2007.—**137**, N 6.—P. 503–512.
 145. *Grivna B. T., Pyhtila B., Lin H.* MIWI associates with translational machinery and PIWI-interacting RNAs (piRNAs) in regulating spermatogenesis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2006.—**103**, N 36.—P. 13415–13420.
 146. *Cobb B. S., Hertweck A., Smith J., O'Connor E., Graf D., Cook T., Smale S. T., Sakaguchi S., Zivescy F. G., Fisher A. G., Merckenslager M.* A role for Dicer in immune regulation // *J. Exp. Med.*—2006.—**203**, N 11.—P. 2519–2527.
 147. *Dahlberg J. E., Lund E.* Micromanagement during the innate immune response // *Sci. STKE.*—2007.—**387**.—pe25.
 148. *Thai T. H., Calado D. P., Casola S., Ansel K. M., Xiao C., Xue Y., Murphy A., Frendewey D., Valenzuela D., Kutok J. L., Schmidt-Supprian M., Rajewsky N., Yancopoulos G., Rao A., Rajewsky K.* Regulation of the germinal center response by microRNA-155 // *Science.*—2007.—**316**, N 5824.—P. 604–608.
 149. *Rodriguez A., Vigorito E., Clare S., Warren M. V., Couttet P., Soond D. R., van Dongen S., Grocock R. J., Das P. P., Miska E. A., Vetrie D., Okkenhaug K., Enright A. J., Dougan G., Turner M., Bradley A.* Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function // *Science.*—2007.—**316**, N 5824.—P. 608–614.
 150. *Hobert O.* miRNA play a tune // *Cell.*—2007.—**131**, N 1.—P. 22–24.

151. Wu H., Neilson J. K., Kumar P., Manocha M., Shankar P., Sharp P. A., Manjunath N. miRNA profiling of naive, effector and memory CD8 cells // *PLoS ONE*.—2007.—**2**, N 10.—e1020.
152. Boutz P. L., Chawla G., Stoilov P., Bloch D. L. MicroRNAs regulate the expression of the alternative splicing factor nPTB during muscle development // *Genes Develop.*—2007.—**21**, N 1.—P. 71–84.
153. Brueckner B., Stresemann C., Kuner R., Musch T., Meister M., Sultmann H., Lyko F. The human let-7a-3 locus contains epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function // *Cancer Res.*—2007.—**67**, N 4.—P. 1419–1423.
154. Lujambio A., Roperos S., Ballestar E., Fraga M. F., Cerrato C., Seteín F., Gasado S., Suarez-Gauthier A., Sanchez-Cespedes M., Gitt A., Spiteri I., Dass P. P., Caldas C., Miska E., Esteller M. Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells // *Cancer Res.*—2007.—**67**, N 4.—P. 1424–1429.
155. Huppi K., Volfovsky N., Mackiewicz M., Runfola T., Jones T. L., Martin S. E., Stephens R., Caplen N. J. MicroRNA and genomic instability // *Semin. Cancer Biol.*—2007.—**17**, N 1.—P. 65–73.
156. Saetrom P., Snove O. Jr., Rossi J. J. Epigenetics and microRNAs // *Pediatrics Res.*—2007.—**61**, N 5, pt 2.—17R–23R.
157. Krutzfeldt J., Stoffel M. MicroRNAs: a new class of regulatory genes affecting metabolism // *Cell Metab.*—2006.—**4**, N 1.—P. 9–12.
158. Mercey B. D., Jin P., Danner D. J. Human microRNA (miR 296) expression controls amount of branched chain alfa-ketoacid dehydrogenase complex in a cell // *Hum. Mol. Genet.*—2005.—**14**, N 22.—P. 3371–3377.
159. Esau C., Davi S., Murray S. F., Xu X. X., Pandey S. K., Pear M., Watts Z., Booten S. L., Graham M., McKay R., Subramaniam A., Propp S., Lollo B. A., Prier S., Bennett C. F., Bhanot S., Monia B. P. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by *in vivo* antisense targeting // *Cell Metabol.*—2006.—**3**, N 2.—P. 87–98.
160. Gauthier B. R., Wollheim C. B. MicroRNA: «ribo-regulators» of glucose homeostasis // *Nat. Med.*—2006.—**12**.—P. 36–38.
161. Chiou T. J., Aung K., Lin S. J., Wu C. C., Chiang S. F., Su C. L. Regulation of phosphate homeostasis by microRNA in *Arabidopsis* // *Plant Cell*.—2006.—**18**, N 2.—P. 412–421.
162. Uney J. B., Lighthman S. L. MicroRNAs and osmotic regulation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—2006.—**103**, N 42.—P. 15278–15279.
163. Liang H., Li W. H. MicroRNA regulation of human protein-protein interaction network // *RNA*.—2007.—**13**, N 9.—P. 1402–1408.
164. Duan R., Jin P. Identification of messenger RNAs and microRNAs associated with fragile X mental retardation protein // *Meth. Mol. Biol.*—2006.—**342**.—P. 267–276.
165. Care A., Catalucci D., Felicetti F., Bonci D., Addario A., Gallo P., Bang M. J., Segnalini P., Gu Y., Dalton N. D., Elia J., Latronico M. V., Neydal M., Autore C., Russo M. A., Dorn J. W., Ellingsen O., Ruiz-Lozano P., Peterson K. J., Croce C. M., Peschle C., Condorelli G. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy // *Nat. Med.*—2007.—**13**, N 5.—P. 613–618.
166. Thum T., Galuppo P., Wolf C., Fiedler J., Kneitz S., van Zaake L. W., Doevendans P. A., Mummery C. L., Borlak J., Haverich A., Gross C., Engelhardt S., Erti G., Bauersachs J. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure // *Circulation*.—2007.—**116**, N 3.—P. 258–267.
167. Xu C., Lu Y., Pan Z., Chu W., Luo X., Lin H., Xiao J., Shan H., Wang Z., Yang B. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP 60, HSP 70 and caspase-9 in cardiomyocytes // *J. Cell Sci.*—2007.—**120**, Pt 17.—P. 3045–3052.
168. Jeyaseelan K., Herath W. B., Armugan A. MicroRNAs as therapeutic targets in human diseases // *Exp. Opin Ther. Targets*.—2007.—**11**, N 8.—P. 1119–1129.
169. Van Rooij E., Olson E. N. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic // *J. Clin. Invest.*—2007.—**117**, N 9.—P. 2369–2376.
170. Sayed D., Hong C., Chen I. Y., Lypowy J., Abdellatif M. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy // *Circ. Res.*—2007.—**100**, N 3.—P. 416–424.
171. O'Connell R. M., Taganov K. D., Boldin N. P., Cheng G., Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—2007.—**104**, N 5.—P. 1604–1609.
172. Rane S., Sayed D., Abdellatif M. microRNA with a macrofunction // *Cell Cycle*.—2007.—**6**, N 15.—P. 1850–1855.
173. Wu W., Sun M., Zou G. M., Chen J. MicroRNA and cancer: current status and prospective // *Int. J. Cancer*.—2007.—**120**, N 5.—P. 953–960.
174. Lee E. J., Gusev Y., Jiang J., Nuovo G. J., Lerner M. R., Frankel W. L., Morgan D. L., Postier R. G., Brackett D. J., Schmittgen T. D. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer // *Int. J. Cancer*.—2007.—**120**, N 5.—P. 1046–1054.
175. Xu W., Zi Y. Y. MicroRNA gene expression in malignant lymphoproliferative disorders // *Clin. Med. J.*—2007.—**120**, N 11.—P. 996–999.
176. Lawrie C. H. MicroRNA expression in lymphoma // *Exp. Opin. Biol. Ther.*—2007.—**7**, N 9.—P. 1363–1374.
177. Giannakakis A., Coukas G., Hatzigeorgion A., Sandaltzopoulos R., Zhang L. miRNA genetic alterations in human cancers // *Exp. Opin. Biol. Ther.*—2007.—**7**, N 9.—P. 1375–1386.
178. Sabramanian S., Lui W. O., Lee C. H., Espinosa I., Nielsen T. O., Heinrich M. C., Corless C. I., Fire A. Z., Van de Rijn M. MicroRNA expression signature of human sarcomas // *Oncogene*.—2007.—Oct. 8 [Epub].
179. Blenkiron C., Goldstein L. D., Thorne N. P., Spiteri I., Chin S. F., Dunning M. J., Barbosa-Morais N. L., Teschendorff A. E., Green A. R., Ellis I. O., Tavare S., Caldas C., Miska E. A. MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumour subtype // *Genome Biol.*—2007.—**8**, N 10.—R214.
180. Wurdinger T., Costa F. F. Molecular therapy in the microRNA era // *Pharmacogenomics J.*—2007.—**7**, N 5.—P. 297–304.
181. Yeung M. L., Bannasser Y., Jeang K. T. MiRNAs in the biology of cancers and viral infection // *Curr. Med. Chem.*—2007.—**14**, N 2.—P. 191–197.
182. Osada H., Takahashi T. MicroRNAs in biological processes and carcinogenesis // *Carcinogenesis*.—2007.—**28**, N 1.—P. 2–12.
183. Wijnhoven B. P., Michael M. L., Watson D. I. MicroRNA and cancer // *Brit. J. Surg.*—2007.—**94**, N 1.—P. 23–30.
184. Porkka K. P., Pfeiffer M. J., Waltering K. K., Vessella R. L., Tammela T. L., Visacopi T. MicroRNA expression profiling

- in prostate cancer // *Cancer Res.*—2007.—**67**, N 13.—P. 6130–6135.
185. Jay C., Nemunaitis J., Chen P., Fulgham P., Tong A. W. MiRNA profiling for diagnosis and prognosis of human cancer // *DNA Cell Biol.*—2007.—**26**, N 5.—P. 293–300.
 186. Hernando E. MicroRNAs and cancer: role in tumorigenesis, patient classification and therapy // *Clin. Trans. Oncol.*—2007.—**9**, N 3.—P. 155–160.
 187. Zhang W., Dalberg J. E., Tam W. MicroRNAs in tumorigenesis: a primer // *Am. J. Pathol.*—2007.—**171**, N 3.—P. 728–738.
 188. Voorhoeve P. M., Agami R. Classifying microRNAs in cancer: the good, the bad and the ugly // *Biochim. et Biophys. Acta.*—2007.—**1775**, N 2.—P. 274–282.
 189. Calin G. A., Pekarsky Y., Croce C. M. The role of microRNA and other non-coding RNA in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*—2007.—**20**, N 3.—P. 425–437.
 190. Ma L., Teruya-Feldstein J., Wienberg R. A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer // *Nature.*—2007.—**449**, N 7163.—P. 682–688.
 191. Matsutara H., Takeuchi T., Nishikawa E., Yanagisawa K., Hayashita Y., Ebi H., Yamada H., Suzuki M., Nagino M., Nemura Y., Osada H., Takahashi T. Apoptosis induction by antisense oligonucleotides against miR-17-5p and miR-20a in lung cancer overexpressing miR-17-92 // *Oncogene.*—2007.—**26**, N 41.—P. 6099–6105.
 192. Corsten M. F., Miranda R., Kasmieh R., Krichevsky A. M., Weissleder R., Shah K. MicroRNA-21 knockdown disrupt glioma *in vivo* and displays synergistic cytotoxicity with neural precursor cell delivered S-TRAIL in human gliomas // *Cancer Res.*—2007.—**67**, N 19.—P. 8994–9000.
 193. Bottoni A., Zatelli M. C., Ferracin M., Tagliati F., Piccin D., Vignali C., Calin G. A., Negrini M., Croce C. M., Degli U. E. C. Identification of differentially expressed microRNA by microarray: a possible role for microRNA genes in pituitary adenomas // *J. Cell Physiol.*—2007.—**210**, N 2.—P. 370–377.
 194. Pallante P., Visone R., Ferracin M., Ferraro A., Berlingieri M. T., Troneone G., Chippetta G., Lin C. G., Santoro M., Negrini M., Croce C. M., Fusko A. MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas // *Endocrinol. Relat. Cancer.*—2006.—**13**, N 2.—P. 497–508.
 195. Volinia S., Calin G. A., Liu C. G., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F., Visone R., Jorio M., Roldo C., Ferracin M., Prueitt R. L., Yanaihara N., Lanza G., Searpa A., Vecchione A., Negrini M., Harris C. C., Croce C. M. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2006.—**103**, N 7.—P. 2257–2261.
 196. Liu W., Mao S. Y., Zhu W. Y. Impact of tiny miRNAs on cancer // *World J. Gastroenterol.*—2007.—**13**, N 4.—P. 497–502.
 197. Nairz K., Roffig C., Rintelen F., Zdobnov E., Moser M., Hafen E. Overgrowth caused by misexpression of a microRNA with dispensable wild-type function // *Develop. Biol.*—2006.—**291**, N 2.—P. 314–324.
 198. Weber F., Teresi R. F., Broelsch C. E., Frilling A., Eng C. A limited set of human microRNA is deregulated in follicular thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*—2006.—**91**, N 9.—P. 3584–3591.
 199. Lee Y. S., Dutta A. MicroRNA: small but potent oncogenes or tumor suppressors // *Invest. Drugs.*—2006.—**7**, N 6.—P. 560–564.
 200. Tam W., Dahlberg J. I. MiR 155/BIC as an oncogenic microRNA // *Genes Chromosom. Cancer.*—2006.—**45**, N 2.—P. 211–212.
 201. Hayashita Y., Osada H., Tatematsu Y., Yamada P., Yanagisawa K., Tomida S., Yatabe Y., Kawahara K., Sekido Y., Takahashi T. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancer and enhances cell proliferation // *Cancer Res.*—2005.—**65**, N 21.—P. 9628–9632.
 202. Voorhoeve P. M., Le Sage C., Schrier M., Gillis A. J., Stoop H., Nagel R., Liu J. P., Van Duijse J., Drost J., Griekspoor A., Zlotzynski E., Yabuta N., De Vita G., Nojima H., Looijenga L. H., Agami R. A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumor // *Cell.*—2006.—**124**, N 6.—P. 1169–1181.
 203. Akao Y., Nakagawa Y., Naoe T. MicroRNAs 143 and 145 are possible common onco-microRNAs in human cancer // *Oncol. Rep.*—2006.—**16**, N 4.—P. 845–850.
 204. Yu S. L., Chen H. Y., Yang P. S., Chen J. J. Unique microRNA signature and clinical outcome of cancers // *DNA Cell Biol.*—2007.—**26**, N 5.—P. 283–292.
 205. Esquela-Kerscher A., Slack F. J. Oncomirs – microRNAs with a role in cancer // *Nat. Rev. Cancer.*—2006.—**6**—P. 259–269.
 206. Kent O. A., Mendell J. T. A small piece in the cancer puzzle: microRNAs as tumor suppressors and oncogenes // *Oncogene.*—2006.—**25**, N 46.—P. 6188–6196.
 207. Hammond S. M. MicroRNAs as oncogene // *Curr. Opin. Genet. Develop.*—2006.—**16**, N 1.—P. 4–9.
 208. Hwang H. W., Mendell J. T. MicroRNA in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis // *Brit. J. Cancer.*—2006.—**94**, N 6.—P. 776–780.
 209. Janott G., Simard M. J. Tumour-related microRNAs functions in *Caenorhabditis elegans* // *Oncogene.*—2006.—**25**, N 46.—P. 6197–6201.
 210. Calin G. A., Croce C. M. Genomics of chronic lymphocytic leukemia microRNAs as ew players with clinical significance // *Semin. Oncol.*—2006.—**33**, N 2.—P. 167–173.
 211. Hossain A., Kuo M. T., Saunders G. F. Mir 17-5p regulates breast cancer cell proliferation by inhibiting translation of ALB1mRNA // *Mol. Cell Biol.*—2006.—**26**, N 21.—P. 8191–8201.
 212. Hwang H. W., Mendell J. T. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis // *Brit. J. Cancer.*—2007.—**96**, suppl.—R40–44.
 213. Tricoli J. V., Jacobson J. W. MicroRNA: potential for cancer detection, diagnosis, and prognosis // *Cancer Res.*—2007.—**67**, N 10.—P. 4553–4555.
 214. Perron M. P., Boissonneault V., Gobeil L. A., Ouellet D. L., Provost P. Regulatory RNAs: future perspectives in diagnosis, prognosis, and individualized therapy // *Meth. Med. Biol.*—2007.—**163**—P. 311–326.
 215. Negrini M., Ferracin M., Sabbioni S., Croce C. M. MicroRNAs in human cancer: from research to therapy // *J. Cell Sci.*—2007.—**120**, pt 11.—P. 1833–1840.
 216. Esau C. C., Monia B. P. Therapeutic potential for microRNAs // *Adv. Drug Deliv. Rev.*—2007.—**59**, N 2–3.—P. 101–114.
 217. Jeyaseelan K., Herath W. B., Armugam A. MicroRNAs as therapeutic targets in human disease // *Exp. Opin. Ther. Targets.*—2007.—**11**, N 8.—P. 1119–1129.
 218. Bandres E., Agirre X., Ramirez N., Zarate R., Garcia-Fonsillas J. MicroRNAs as cancer players: potential

- clinical and biological effects // *DNA Cell Biol.*—2007.—**26**, N 5.—P. 273–282.
219. *Krutzfeldt J., Rayewsky N., Braich R., Rajeev K. G., Tusch T., Manoharan M., Stoffel M.* Silencing of microRNAs *in vivo* with «antagomirs» // *Nature.*—2005.—**438**, N 7068.—P. 685–689.
220. *Orom U. A., Kauppinen J., Lund A. H.* LNA-modified oligonucleotides mediate specific inhibition of microRNA function // *Gene.*—2006.—**10**, N 372.—P. 137–141.
221. *Naguibneva J., Ameyar-Zazona M., Nonne N., Polesskaya A., Ait-Si-Ali S., Groisman R., Sonidi M., Pritchard L. L., Harol-Bellan A.* An LNA-based loss-of-function assay for microRNAs // *Biomed. Pharmacother.*—2006.—**60**, N 9.—P. 633–638.
222. *Tsuda N., Ishiyama S., Li Y., Ioannides C. G., Abbruzzese J. L., Chang D. L.* Synthetic microRNA designed to target glioma-associated transcription factor inhibits division and induces late apoptosis in pancreatic tumor cells // *Clin. Cancer Res.*—2006.—**21**, N 21.—P. 6557–6564.
223. *Davis S., Lollo B., Fraier S., Esau C.* Improved targeting of miRNA with antisense oligonucleotides // *Nucl. Acids Res.*—2006.—**34**, N 8.—P. 2294–2304.
224. *Mattes J., Yang M., Foster P. S.* Regulation of microRNA by antagomirs: a new class of pharmacological antagomirs for the specific regulation of gene function? // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*—2007.—**36**, N 1.—P. 8–12.
225. *Snowe O. N., Rossi J. J.* Toxicity in mice expressing short hairpin RNAs gives new insight into RNAi // *Genome Biol.*—2006.—**7**, N 8.—P. 231.
226. *Grimm D., Streetz K. L., Jopling C. L., Storm T. A., Pandey K., Davis C. R., Marion P., Salazar F., Kay M. A.* Fatality in mice due to oversaturation of cellular microRNA/short hairpin RNA pathways // *Nature.*—2006.—**441**, N 7092.—P. 537–541.
227. *John M., Constien R., Akinc A., Goldberg M., Moon Y.-A., Spranger M., Hadwiger P., Soutschek J., Vornlocher H.-P., Manoharan M., Stoffel M., Langer R., Anderson D. G., Horton G. D., Kotliansky V., Bumcrot D.* Effective RNAi-mediated gene silencing without interruption of the endogenous microRNA pathway // *Nature.*—2007.—**449**—P. 745–747.
228. *Jain K. K.* Commercial potential of RNAi // *Mol. Biosyst.*—2006.—**2**—P. 523–526.

УДК 577.21:615.01:616-092
Надійшла до редакції 14.02.07