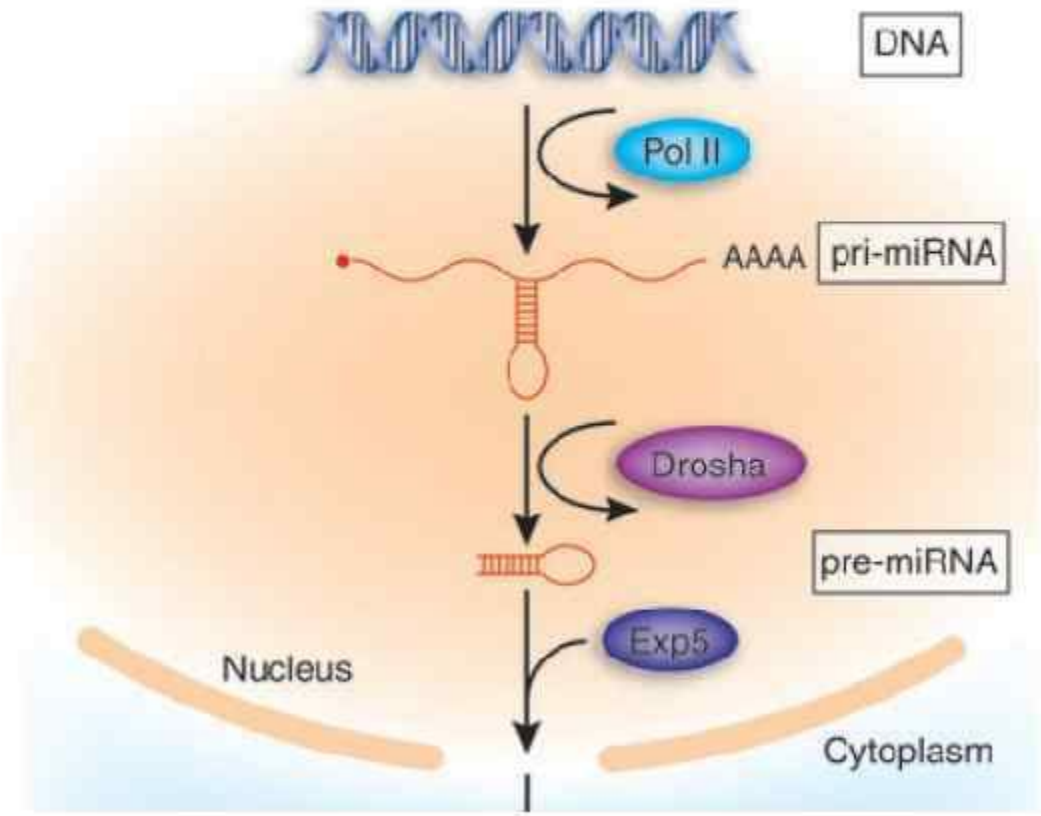
Биогенез микроРНК (miRNA) в клетках животных - ядро



Более 450 генов miRNA у человека

Pol II – RNA polymerase II

pri-miRNA – primary miRNA (200-2000 nt)

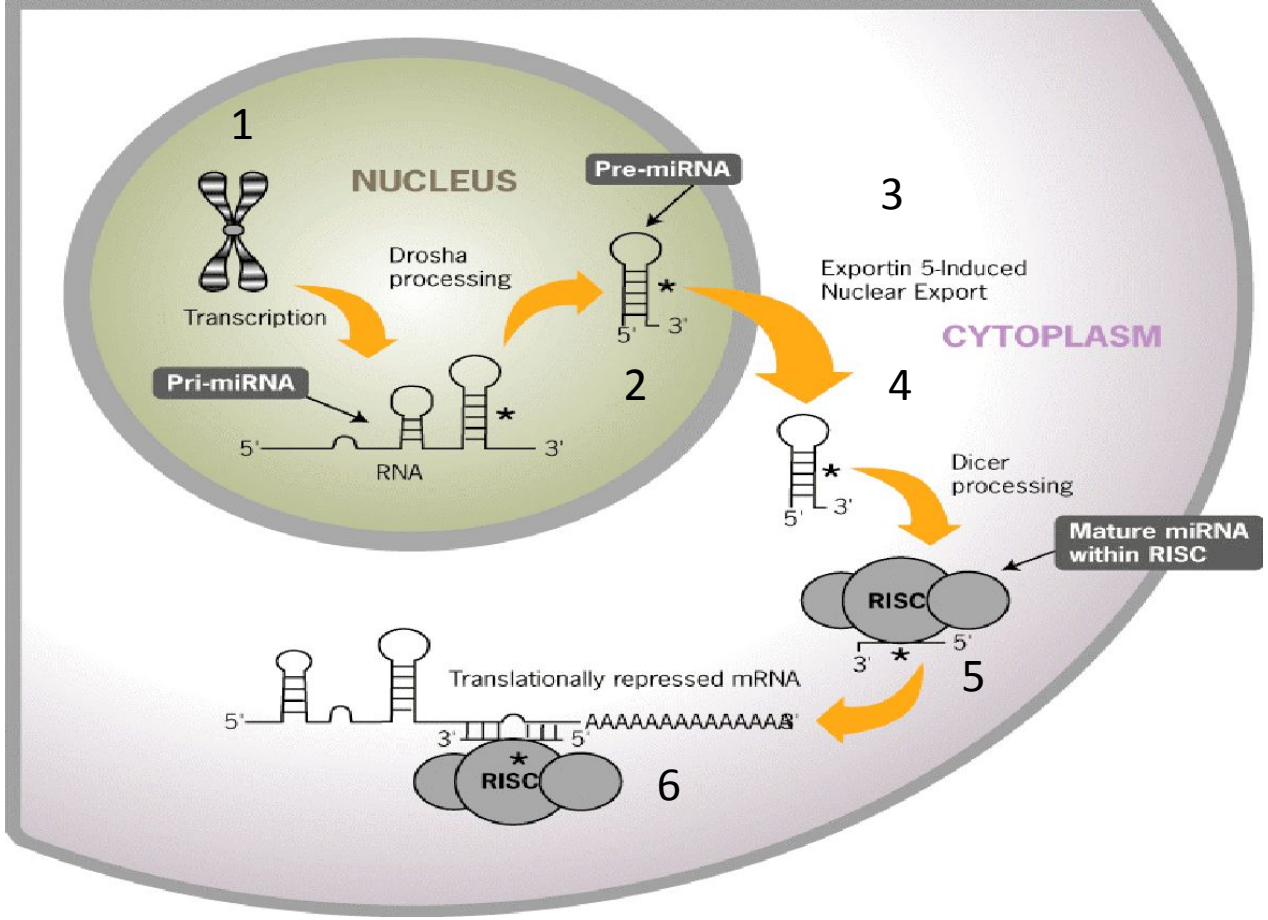
Drosha – RNAse III

pre-miRNA (60 nt)

Exp5 – Exportin 5

miRNA синтезируются из более длинных предшественников и не кодируют белки. В большинстве случаев действуют как репрессоры трансляции за счет связывания с мРНК.

Ми́кроРНК (англ. microRNA, miRNA) — малые некодирующие молекулы РНК длиной 18—25 нуклеотидов (в среднем 22), обнаруженные у растений, животных и некоторых вирусов, принимающие участие в транскрипционной и посттранскипционной регуляции экспрессии генов путём РНК-интерференции.

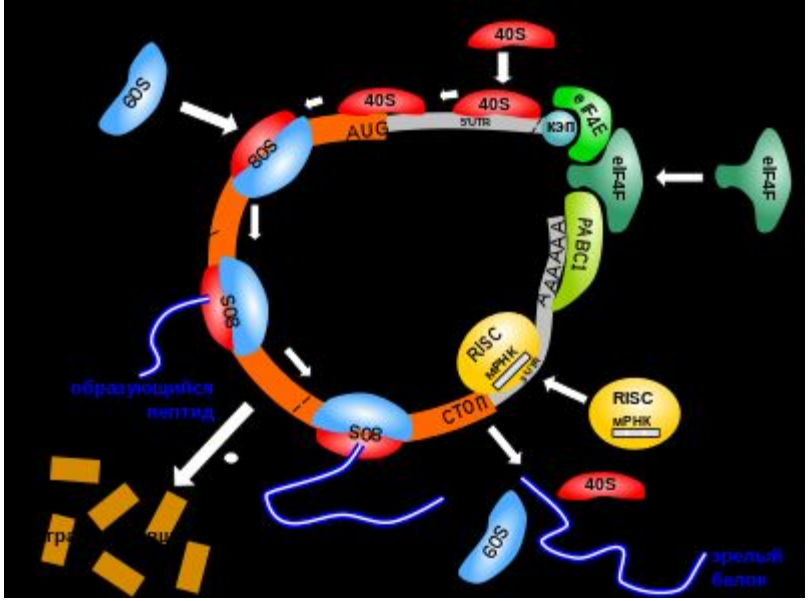


1. Транскрипция (при-миРНК)
2. Образование шпильки в ядре (пре-миРНК)
3. Выход в цитоплазму
4. Процессирование Dicer'ом
5. Включение зрелой миРНК в RISC комплекс
6. Подавление трансляции

* - активная цепь

МикроРНК –класс коротких (20-25 н.) регуляторных РНК, контролирующих экспрессию белок-кодирующих генов

- У человека известно около 2000 генов, кодирующих микроРНК
- Один ген может регулироваться десятками разных микроРНК и одна микроРНК может регулировать работу более сотни генов
- Участвуют во всех ключевых процессах клетки, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз
- Участвуют в развитии различных патологий человека, в том числе онкологии, при этом могут выступать в роли онкогенов и опухолевых супрессоров

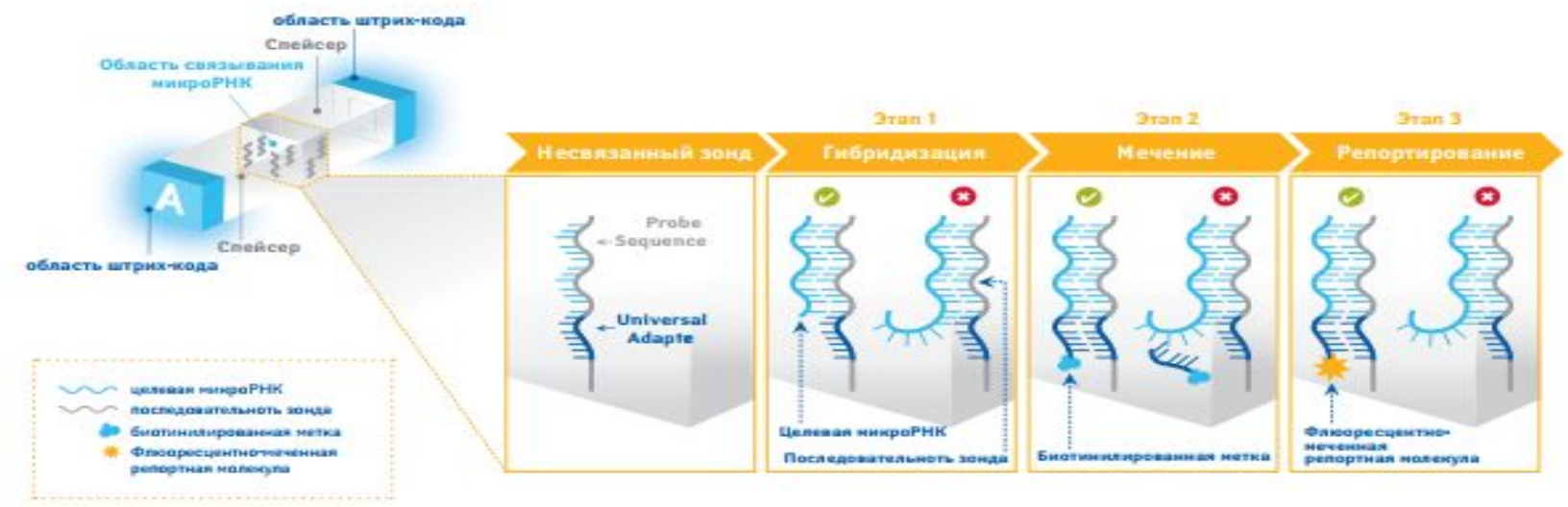
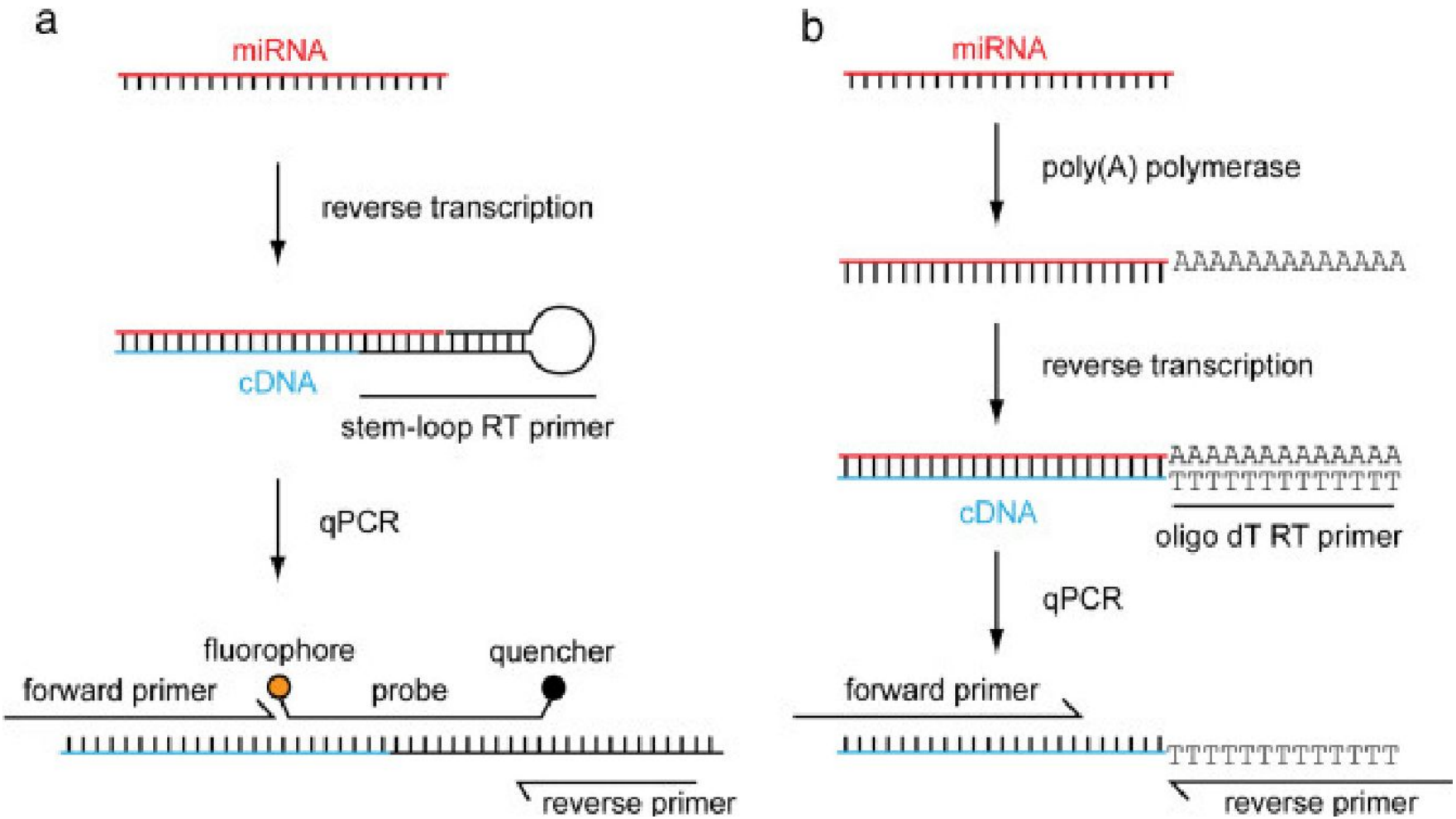


«Шум» генов

Живые организмы — это очень неаккуратные структуры. Если взять клетки одного организма и даже одной ткани, всё равно у них можно обнаружить большой разброс характеристик. Например, они могут отличаться количеством РНК, которая образуется в результате работы одного и того же гена. Такой «шум» — вариабельность характеристик, которые, казалось бы, не должны различаться, — может возникать по разным причинам. Причина шума может быть внешней — например, из-за разной удаленности клеток от сосуда в определенный момент времени могут отличаться количества доступных для них питательных веществ. Тогда у клетки может быть недостаточно ресурсов, чтобы синтезировать такое же количество белка, как другая клетка, хотя они и посылали своему белок-синтезирующему аппарату одинаковые сигналы. Шум может быть и внутренним — возникать независимо от внешних условий: например, белки, передающие в клетках один и тот же сигнал, могут по случайным причинам добраться до цели за различные промежутки времени, и одна клетка справится с каким-то действием

Для анализа профиля экспрессии микроРНК с помощью SmartRNAplex™ используется уникальный механизм постгибридизационного лигандного связывания флуоресцентной метки с целевой молекулой микроРНК. Протокол прост в исполнении и исключает проблему возникновения ошибок при амплификации последовательностей нуклеиновых кислот, наблюдаемую в ПЦР исследованиях. Весь цикл детекции микроРНК осуществляется в три основных этапа:

1. Гибридизация: целевая молекула связывается с комплементарным зондом на гидрогелевых частицах
2. Мечение: универсальная, биотинилированная метка связывается только с нужными целевыми мишенями
3. Репортирование: флуоресцентно меченная репортная молекула связывается с биотинилированной меткой с последующей детекцией с помощью проточного цитофлуориметра



Схемы детекции миРНК