KALAMUSH OSHQOZON TO‘QIMALARIDA APOPTOZ JARAYONINI TARTIBGA SOLUVCHI miRNKlarning MOLEKULYAR-GENETIK XUSUSIYATLARI

Gulmonova Mahbuba

Olmazor tumani 278-maktab, Toshkent, O‘zbekiston

e-mail: gulmonovamahbuba02@gmail.com

Annotatsiya. Ushbu ishda kalamush oshqozon to‘qimalarida apoptoz jarayonining posttranskripsion boshqaruvida ishtirok etishi mumkin bo‘lgan mikroRNKlar (miRNK) va ularning BAX, BCL2 hamda CASP3 genlari bilan ehtimoliy o‘zaro aloqalari adabiyot va bioinformatik ma’lumotlar asosida tahlil qilindi. Asosiy e’tibor BCL2 bilan funksional bog‘liqligi tajribada ko‘rsatilgan miR-15/16 oilasi, miR-21 va miR-34a ga qaratildi [1–3]. miRNK–mRNK munosabatlarini baholashda miRWalk, miRDB va miRTarBase kabi resurslarning imkoniyatlari hamda ularning prediktiv va eksperimental dalillarni farqlashdagi ahamiyati ko‘rib chiqildi [4–6]. Tahlil natijalari mazkur miRNKlarni kalamush oshqozon to‘qimalarida apoptotik jarayonlar bilan bog‘liq molekulyar tarmoqlarni o‘rganish uchun istiqbolli nomzodlar sifatida ko‘rsatadi, biroq ushbu modeldagi funksional aloqalarni eksperimental tasdiqlash zarur.

Kalit so‘zlar: miRNK, apoptoz, BAX, BCL2, CASP3, Rattus norvegicus, oshqozon to‘qimasi, miRNK–mRNK, posttranskripsion regulyatsiya, bioinformatika.

KIRISH

Apoptoz ko‘p hujayrali organizmlarda hujayra sonini boshqarish va to‘qima homeostazini saqlashda muhim bo‘lgan dasturlashtirilgan hujayra o‘limi mexanizmidir. Uning buzilishi hujayralarning ortiqcha nobud bo‘lishi yoki aksincha, yashab qolishining kuchayishiga olib kelishi mumkin [7]. Intrinsik apoptotik yo‘lda BCL2 oilasiga mansub oqsillar muhim nazorat nuqtasini tashkil qiladi. BAX proapoptotik, BCL2 esa antiapoptotik omil sifatida qaraladi; ularning funksional muvozanati mitoxondrial yo‘lning faollashishiga ta’sir qiladi [7,8]. CASP3 esa apoptotik signalning ijrochi bosqichida faoliyat yurituvchi asosiy kaspazalardan biridir [7].

MikroRNKlar kichik, kodlamaydigan RNK molekulalari bo‘lib, ular nishon

mRNKlarning ekspressiyasini asosan posttranskripsion darajada boshqaradi. Bitta miRNK bir nechta transkriptlarni, bitta mRNK esa bir nechta miRNKlarni nishon qilishi mumkin. Shu sababli miRNKlar hujayra jarayonlarini ko‘p komponentli gen-regulyator tarmoqlar orqali boshqaradi [9].

Apoptotik jarayonlarda miRNKlarning BCL2 bilan bog‘liq funksiyasi turli hujayra modellarida ko‘rsatilgan. miR-15a va miR-16 BCL2 ekspressiyasini posttranskripsion darajada bostirishi va apoptotik javobni kuchaytirishi tajribada ko‘rsatilgan [1]. miR-15b va miR-16 ning BCL2 ga to‘g‘ridan-to‘g‘ri ta’siri inson oshqozon saratoni hujayralarida ham aniqlangan [10]. miR-21 ning BCL2 bilan munosabati esa hujayra kontekstiga bog‘liq bo‘lib, kalamush va inson beta-hujayralarida uning BCL2 bilan funksional aloqasi eksperimental ravishda ko‘rsatilgan [2,11]. miR-34a ning BCL2 translatsiyasini susaytirishi ham alohida hujayra modelida ko‘rsatilgan [12].

Shu bilan birga, boshqa hujayra va to‘qimalardagi natijalarni kalamush oshqozon to‘qimasiga bevosita ko‘chirish mumkin emas. Shuning uchun Rattus norvegicus uchun mavjud target-prediction va eksperimental tasdiqlangan ma’lumotlarni alohida ajratish mazkur yo‘nalishdagi bioinformatik tahlilning muhim shartidir [4–6].

TADQIQOT MAQSADI

Kalamush oshqozon to‘qimalarida apoptoz bilan bog‘liq BAX, BCL2 va CASP3 genlarini nishon qilishi mumkin bo‘lgan miRNKlarni adabiyot va bioinformatik resurslar asosida tavsiflash hamda istiqbolli miRNK–mRNK aloqalarini kelgusidagi eksperimental tekshiruvlar uchun saralash.

MATERIALLAR VA USULLAR

Tahlil uchun Rattus norvegicus modeliga oid gen va miRNK ma’lumotlari hamda ilmiy adabiyotlardan foydalanish tamoyili qo‘llandi. Target genlar sifatida BAX, BCL2 va CASP3 tanlandi. miRNK–mRNK aloqalarini izlash uchun miRWalk va miRDB kabi target-prediction resurslari, eksperimental tasdiqlangan munosabatlarni baholash uchun esa miRTarBase kabi ma’lumotlar bazalaridan foydalanish ko‘zda tutildi [4–6]. miRWalk rat uchun ham predicted va validated miRNK–target munosabatlarini taqdim etadi [4,5].

Predicted target va experimentally validated target tushunchalari alohida ko‘rib chiqildi.

Bioinformatik prediction biologik funksiyaning bevosita isboti emas; target ma’lumotlar bazalaridagi yozuvlarning eksperimental dalil darajasi ham bir xil bo‘lmasligi mumkin [6]. Shu sababli ushbu ishda boshqa model tizimlarida tajribada ko‘rsatilgan munosabatlar kalamush oshqozonidagi tasdiqlangan natija sifatida emas, balki kelgusidagi tekshiruv uchun biologik asos sifatida talqin qilindi.

NATIJALAR

Adabiyotlar tahlili asosida BCL2 bilan bog‘liq, apoptotik jarayonlarni o‘rganishda istiqbolli bo‘lgan miRNK–gen juftliklari quyidagi jadvalda umumlashtirildi.

№	miRNK	Nishon gen	Ilmiy dalil / ehtimoliy ta’sir
1	miR-15a	BCL2	BCL2 ekspressiyasini posttranskripsion bostirishi va apoptotik javobni kuchaytirishi tajribada ko‘rsatilgan [1].
2	miR-16	BCL2	BCL2 ni posttranskripsion boshqarishi va apoptoz bilan bog‘liqligi ko‘rsatilgan [1,13].
3	miR-15b	BCL2	Inson oshqozon saratoni hujayralarida BCL2 ning bevosita targeti sifatida ko‘rsatilgan [10].
4	miR-21	BCL2	Kalamush va inson beta-hujayralarida BCL2 bilan funksional aloqasi tajribada ko‘rsatilgan; ta’sir hujayra kontekstiga bog‘liq [2,11].
5	miR-34a	BCL2	BCL2 translatsiyasini susaytirishi va apoptotik jarayon bilan bog‘liqligi boshqa modelda ko‘rsatilgan [12].

miR-15a va miR-16 ning BCL2 bilan o‘zaro ta’siri eng yaxshi tavsiflangan misollardan biridir. Cimmino va hammualliflar miR-15a va miR-16-1 ning BCL2 ni posttranskripsion darajada bostirishini hamda ushbu mexanizm apoptotik javob bilan bog‘liqligini ko‘rsatgan [1]. Keyingi tadqiqotlarda miR-15b va miR-16 ning BCL2 ga ta’siri inson oshqozon saratoni hujayralarida ham luciferaza reporter tahlili va oqsil darajasidagi o‘zgarishlar bilan asoslangan [10]. Bu natija oshqozon to‘qimasi bilan bog‘liq tadqiqotlar uchun biologik jihatdan qiziqarli bo‘lsa-da, saraton hujayra liniyasidagi natijani normal kalamush oshqozon

to‘qimasiga to‘g‘ridan-to‘g‘ri tatbiq etish mumkin emas.

miR-21 bo‘yicha dalillar hujayra kontekstining ahamiyatini ko‘rsatadi. Sims va hammualliflar kalamush va inson beta-hujayralarida miR-21 ning BCL2 mRNKsi bilan funksional aloqasini ko‘rsatgan va miR-21 ortishi BCL2 darajasining pasayishi hamda apoptotik hujayra o‘limining kuchayishi bilan bog‘langan [2]. Shu bilan birga, miR-21 turli biologik tizimlarda boshqa targetlar orqali ham ta’sir qilishi mumkinligi qayd etilgan [11]. Demak, miR-21–BCL2 munosabatini kalamush oshqozonida alohida tekshirish talab etiladi.

miR-34a ham BCL2 bilan bog‘liq istiqbolli nomzod hisoblanadi. Wang va hammualliflar miR-34a BCL2 translatsiyasini susaytirishi mumkinligini tajribada ko‘rsatgan [12]. Biroq mazkur natija Alzheimer kasalligi modeli bilan bog‘liq sichqon tizimida olinganligi sababli, uni kalamush oshqozon to‘qimasidagi bevosita dalil sifatida talqin qilish mumkin emas.

BAX va CASP3 uchun keyingi bioinformatik bosqichda aynan Rattus norvegicus bo‘yicha predicted va experimentally validated targetlarni alohida saralash maqsadga muvofiq. miRWalk turli turdagi prediction va validated ma’lumotlarni birlashtiradi [5], miRDB esa target prediction va funksional annotatsiya imkoniyatlarini beradi [6]. miRTarBase esa eksperimental tasdiqlangan miRNK–target o‘zaro ta’sirlarini jamlaydi [14].

MUHOKAMA

Tahlil qilingan adabiyotlar miRNKlar apoptotik jarayonlarning turli bosqichlarini posttranskripsion darajada boshqarishi mumkinligini ko‘rsatadi. BCL2, BAX va CASP3 apoptotik signalning turli bosqichlarida qatnashgani sababli, ularni nishon qiluvchi miRNKlar hujayraning yashab qolishi va nobud bo‘lishi o‘rtasidagi muvozanatga ta’sir qilishi mumkin [7,8].

Mazkur ishning asosiy cheklovi shundaki, jadvaldagi barcha miRNK–BCL2 aloqalari kalamush oshqozon to‘qimasida tajribada tasdiqlangan deb qaralmaydi. Ayniqsa, miR-15/16, miR-21 va miR-34a bo‘yicha asosiy dalillar turli hujayra yoki hayvon modellaridan olingan [1,2,10,12]. Shu sababli ularni Rattus norvegicus oshqozonida tekshirish alohida ilmiy vazifa sifatida shakllantirilishi mumkin.

Kelgusida stress yoki yara modeli sharoitida miRNKlarning ekspressiyasini RT-qPCR yordamida, BAX/BCL2/CASP3 genlari ekspressiyasini esa mos molekulyar usullar orqali baholash mumkin. miRNK va target gen ekspressiyasi o‘rtasidagi bog‘liqlikni statistik tahlil qilish, shuningdek miRNK–mRNK tarmog‘ini Cytoscape orqali vizuallashtirish va funksional enrichment tahlillarini qo‘shish tadqiqotning bioinformatik qismini kengaytirishi mumkin. Bunday natijalar alohida eksperimental ma’lumotlar bilan tasdiqlangandagina funksional regulyatsiya haqidagi xulosani kuchaytiradi.

XULOSA

Adabiyot va bioinformatik resurslar tahlili kalamush oshqozon to‘qimalarida apoptoz bilan bog‘liq miRNK–mRNK tarmoqlarini o‘rganish uchun BCL2 markaziy nishonlardan biri bo‘lishi mumkinligini ko‘rsatdi. miR-15a, miR-16, miR-15b, miR-21 va miR-34a BCL2 bilan bog‘liq tajribaviy dalillarga ega istiqbolli nomzodlar sifatida ajratildi [1,2,10,12]. Biroq ushbu dalillar turli biologik modellardan olinganligi sababli, ularni kalamush oshqozon to‘qimasidagi tasdiqlangan natija sifatida qabul qilish mumkin emas.

Rattus norvegicus uchun BAX, BCL2 va CASP3 bilan bog‘liq predicted va experimentally validated miRNKlarni miRWalk, miRDB va miRTarBase orqali tizimli ravishda saralash hamda keyinchalik RT-qPCR va boshqa molekulyar-genetik usullar yordamida tekshirish mazkur yo‘nalishning keyingi bosqichini tashkil qilishi mumkin.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Cimmino A., Calin G.A., Fabbri M., Iorio M.V., Ferracin M., Shimizu M., Wojcik S.E., Aqeilan R.I., Zupo S., Dono M., Rassenti L., Alder H., Volinia S., Liu C.-G., Kipps T.J., Negrini M., Croce C.M. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005;102(39):13944–13949. doi:10.1073/pnas.0506654102.

2. Sims E.K., Lakhter A.J., Anderson-Baucum E., Kono T., Tong X., Evans-Molina C. MicroRNA 21 targets BCL2 mRNA to increase apoptosis in rat and human beta cells. Diabetologia. 2017;60(6):1057–1065. doi:10.1007/s00125-017-4237-z.

3. Chen H., Wang J., Hu B., et al. MiR-34a promotes Fas-mediated cartilage endplate chondrocyte apoptosis by targeting Bcl-2. Molecular and Cellular Biochemistry. 2015;406(1–2):21–30. doi:10.1007/s11010-015-2420-4.

4. Dweep H., Gretz N., Sticht C. miRWalk database for miRNA-target interactions. Methods in Molecular Biology. 2014;1182:289–305. doi:10.1007/978-1-4939-1062-5_25.

5. Sticht C., De La Torre C., Parveen A., Gretz N. miRWalk: An online resource for prediction of microRNA binding sites. PLoS ONE. 2018;13(10):e0206239. doi:10.1371/journal.pone.0206239.

6. Lee Y.J.D., Kim V., Muth D.C., Witwer K.W. Validated MicroRNA Target Databases: An Evaluation. Drug Development Research. 2015;76(7):389–396. doi:10.1002/ddr.21278.

7. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. Toxicologic Pathology. 2007;35(4):495–516. doi:10.1080/01926230701320337.

8. Fulda S., Debatin K.-M. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. Oncogene. 2006;25(34):4798–4811. doi:10.1038/sj.onc.1209608.

9. Bartel D.P. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. Cell. 2009;136(2):215–233. doi:10.1016/j.cell.2009.01.002.

10. Xia L., Zhang D., Du R., Pan Y., Zhao L., Sun S., Hong L., Liu J., Fan D. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells. International Journal of Cancer. 2008;123(2):372–379. doi:10.1002/ijc.23501.

11. Becker Buscaglia L.E., Li Y. Apoptosis and the target genes of microRNA-21. Chinese Journal of Cancer. 2011;30(6):371–380. doi:10.5732/cjc.011.10132.

12. Wang X., Liu P., Zhu H., Xu Y., Ma C., Dai X., Huang L., Liu Y., Zhang L., Qin C. miR-34a, a microRNA up-regulated in a double transgenic mouse model of Alzheimer's disease, inhibits bcl2 translation. Brain Research Bulletin. 2009;80(4–5):268–273. doi:10.1016/j.brainresbull.2009.08.006.

13. Aqeilan R.I., Calin G.A., Croce C.M. miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives. Cell Death & Differentiation. 2010;17(2):215–220. doi:10.1038/cdd.2009.69.

14. Cui S., Yu S., Huang H.-Y., Lin Y.-C.-D., Huang Y., Zhang B., Xiao J., Zuo H., Wang J., Li Z., Li G., Ma J., Chen B., Zhang H., Fu J., Wang L., Huang H.-D. miRTarBase 2025: updates to the collection of experimentally validated microRNA-target interactions. Nucleic Acids Research. 2025;53(D1):D147–D156. doi:10.1093/nar/gkae1072.

15. Dweep H., Sticht C., Pandey P., Gretz N. miRWalk–database: prediction of possible miRNA binding sites by “walking” the genes of three genomes. Journal of Biomedical Informatics. 2011;44(5):839–847. doi:10.1016/j.jbi.2011.05.002.