

**Российский национальный исследовательский медицинский  
университет имени Н.И. Пирогова**

**Щербо Сергей Николаевич**

**МикроРНК:**

**НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ ЛАБОРАТОРНОЙ  
И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ.**

# МИР РНК

Определяющая роль РНК в синтезе белков была предсказана ещё в 1939 г. в работе Т. Касперссон, Ж. Брачета и Дж Шульца.

В 1956–57 гг. в Советском Союзе А.Н. Белозерский и А.С. Спирин независимо доказали существование **мРНК**, а также выяснили, что основную массу РНК в клетке составляет **рибосомальная РНК** (рРНК), которая служит основой для рибосом (сложных нуклеопротеиновых комплексов, основная функция которых – сборка белка из отдельных аминокислот на основе мРНК).

**тРНК:** доставляют аминокислоты к месту сборки белков – в активный центр рибосомы, «ползущей» по мРНК.

## НЕ КОДИРУЮЩИЕ РНК

**В 1993 г. В. Амбромс, Р. Ли и Р. Фейнбраум** при изучении гена *lin-14*, задействованного в развитии у нематоды *Caenorhabditis elegans* обнаружили, что количество белка LIN-14 **регулировалось коротким РНК-продуктом** гена *lin-4*.

В результате последующих исследований оказалось, что существует и достаточно многочисленный класс так называемых **малых, не кодирующих РНК**.

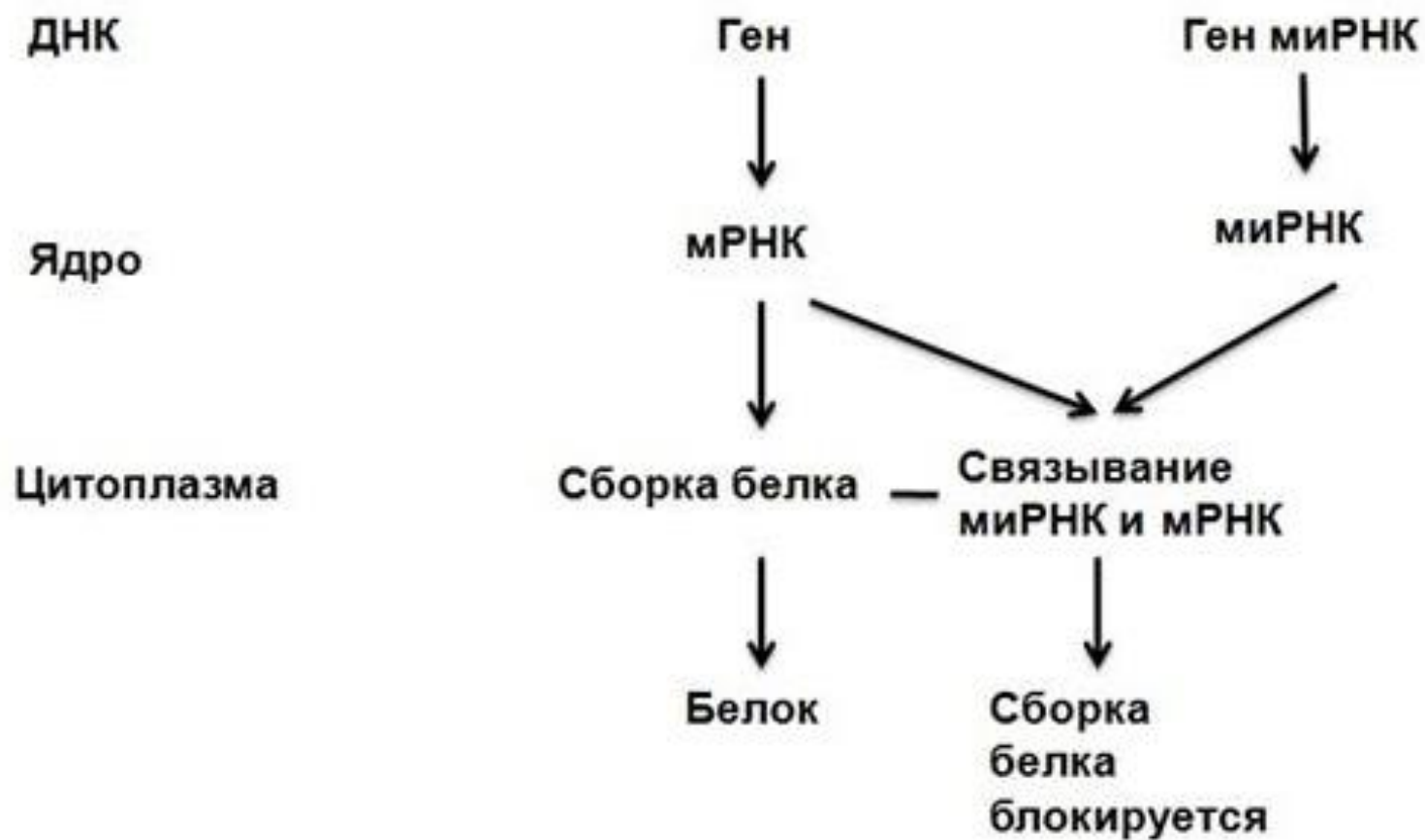
**рi-РНК**, ответственна за развитие половых клеток и ни одно млекопитающее мужского пола не может размножаться без них.

# МикроРНК

**МикроРНК (miRNA)** – это класс малых некодирующих молекул РНК, которые имеют длину около **22 нуклеотидов** (18-25), обнаруженные у животных, растений и некоторых вирусов, принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов. МикроРНК кодируются ядерной ДНК растений и животных и вирусной ДНК у некоторых ДНК-содержащих вирусов.

Известно более 2000 микроРНК человека и цифра продолжает расти. По разным оценкам, мишенями микроРНК являются от 30 до 60 % белоккодирующих генов человека. Количество различных микроРНК у человека может достигать 37 тыс.

ГЕНОМ человека содержит ~ 25 тыс генов и 1600 генов миРНК



# **микроРНК принимают участие в:**

**регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне, запуская механизмы блокировки трансляции или разрушения мРНК, содержащих комплементарные или частично комплементарные им последовательности.**

**в ряде случаев могут регулировать экспрессию генов на посттранскрипционном уровне, оказывая влияние на модификацию гистонов и метилирование промоторных участков ДНК.**

**в регуляции различных физиологических процессов: клеточной дифференцировки, деления, апоптоза, функций эндокринной системы, морфогенеза различных органов.**

**развитии патологических процессов в таких заболеваниях как рак, наследственные и вирусные заболевания.**

# **РЕГУЛЯТОРНЫЕ ФУНКЦИИ микроРНК**

**Один белок может регулироваться десятками разных микроРНК.**

**Одна микроРНК может регулировать работу более сотни разных генов.**

**При опухолевом процессе микроРНК выступают как онкогены и супрессоры опухолей.**

# **БИОГЕНЕЗ микроРНК**

1. Из гена или из интрона копируется крупная РНК, состоящая из сотен или тысяч нуклеотидов. В этой копии находится шпилька – участок двухцепочечной РНК, внутри которой и находится будущая микроРНК.

2. Для её производства в ядре есть белки с названиями *Pasha* («Паша») и *Drosha* («Дроша»). Вместе они образуют комплекс для процессинга микроРНК, задача отрезать от шпильки всё лишнее. С ней белки успешно справляются, и специальный транспортный комплекс отправляет небольшую (60-90 нуклеотидов) пре-микроРНК в цитоплазму.

3. Белок *Dicer* («Дайсер») отрезает оставшиеся лишние фрагменты: получается зрелая микроРНК

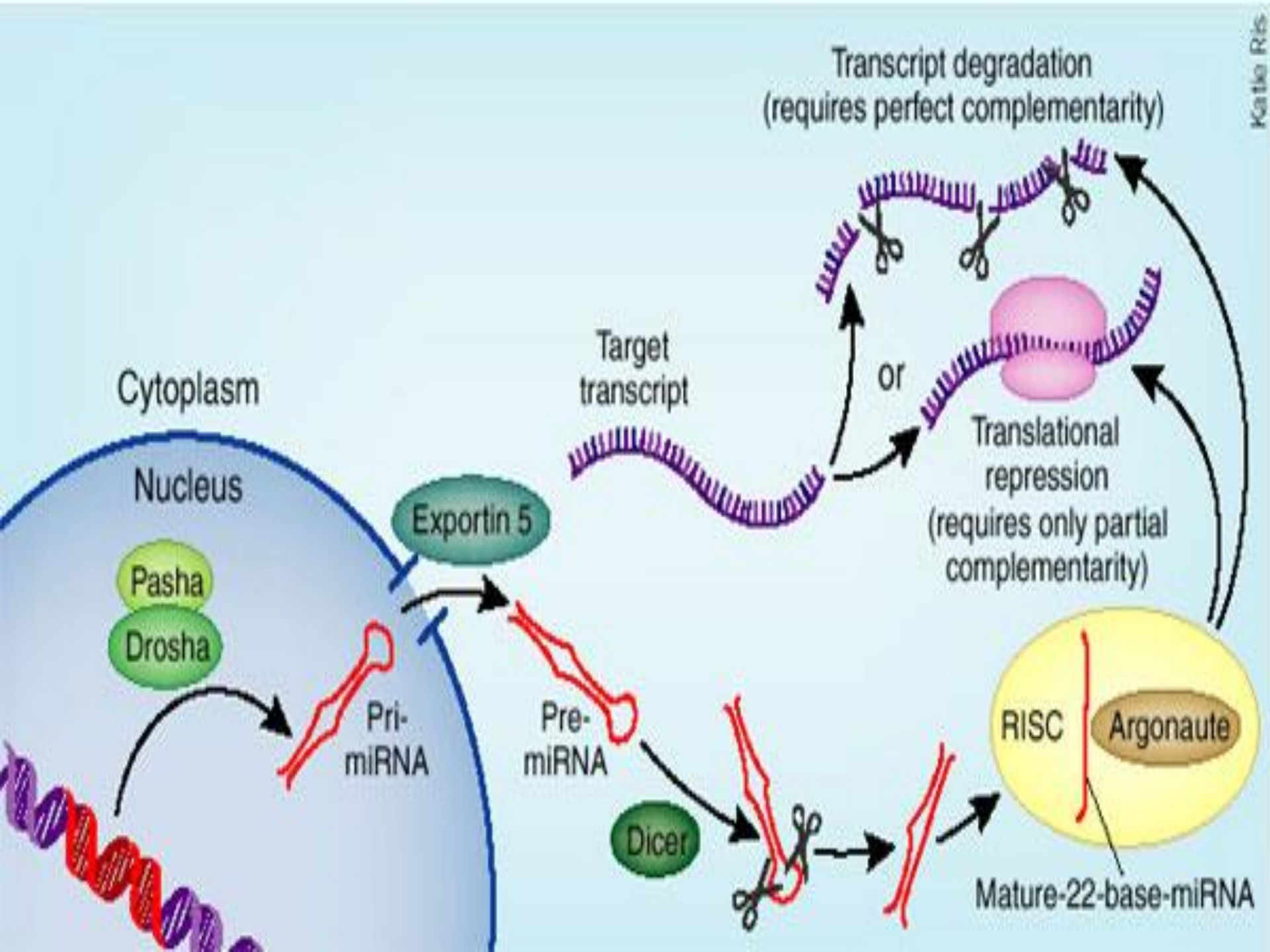


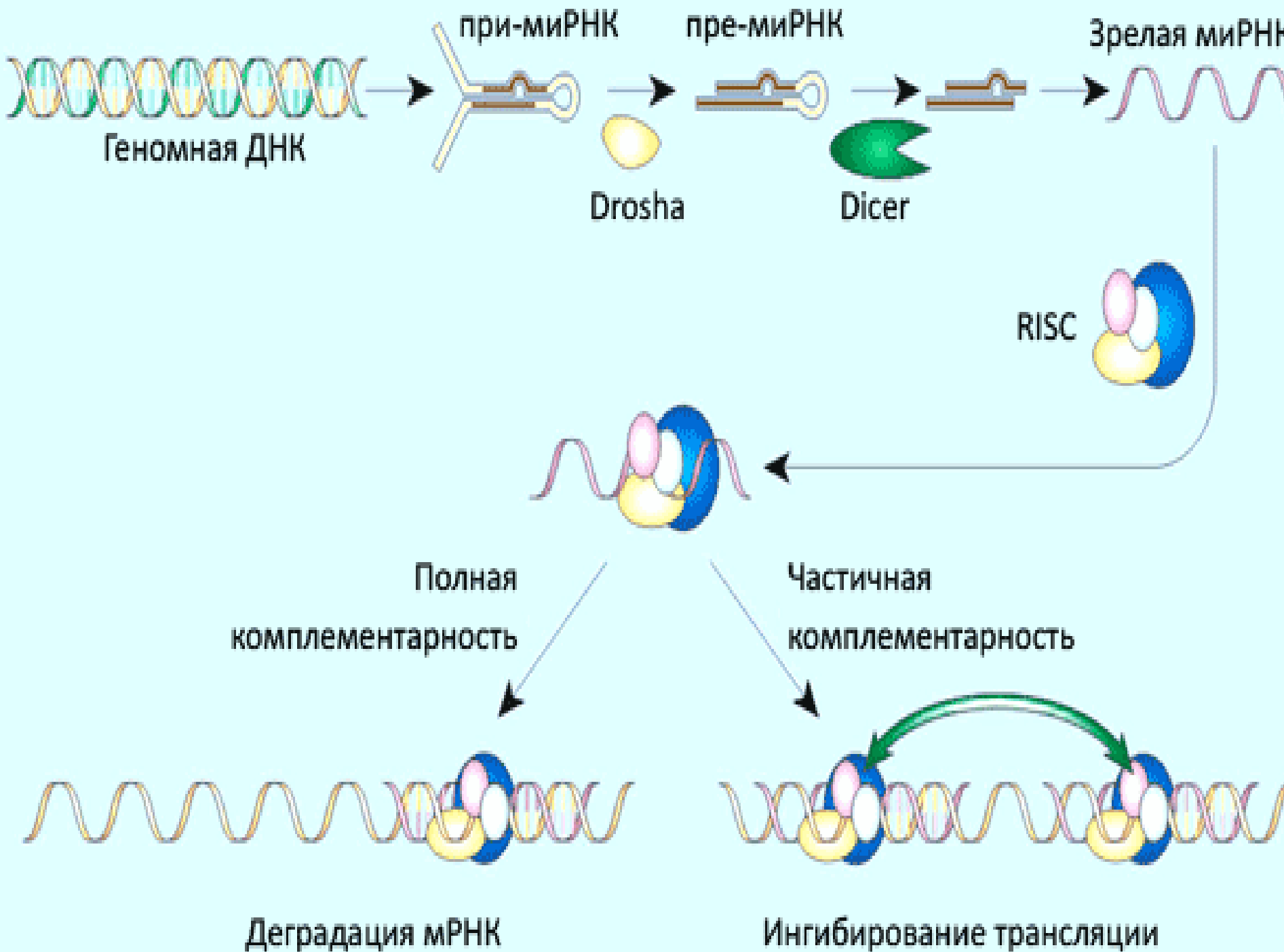
## Процессинг в цитоплазме.

4. Одна из двух цепей микроРНК загружается в комплекс ферментов: РНК-индуцируемый **микроРНК-рибонуклеопротеиновый комплекс выключения гена** (RNA-induced silencing complex (RISC)), в котором осуществляется взаимодействие микроРНК и её мРНК-мишени.

5. Центральную роль в функционировании RISC играют белки семейства **Argonaute (Ago)**, которые имеют четыре домена и связывают зрелую микроРНК и ориентируют её подходящим образом для взаимодействия с мРНК-мишенью.

Выключение гена может осуществляться путём деградации мРНК при полной комплементарности или предотвращения её трансляции, если полной комплементарности нет.





## **ДИРИЖЕРЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ОРКЕСТРА**

**Неполная специфичность действия микроРНК приводит к тому, что одна и та же микроРНК влияет на трансляцию не одной мРНК, а на множество, причем неравномерно: с одними мРНК она будет взаимодействовать лучше, с другими хуже. Поэтому синтез одних белков будет подавляться больше, а других меньше. На один и тот же белок будут влиять многие микроРНК, так как 3'-участок содержит места для присоединения десятков микроРНК.**

**МикроРНК могут тонко регулировать процессы в организме. Неполное связывание позволяет блокировать трансляцию частично – на 10, 20 или 90%: каждая из микроРНК влияет на трансляцию десятков белков.**

**МикроРНК оказались вовлечены практически во все процессы жизнедеятельности организма: от оплодотворения и развития до адаптации к новым условиям и механизмам заболеваний.**

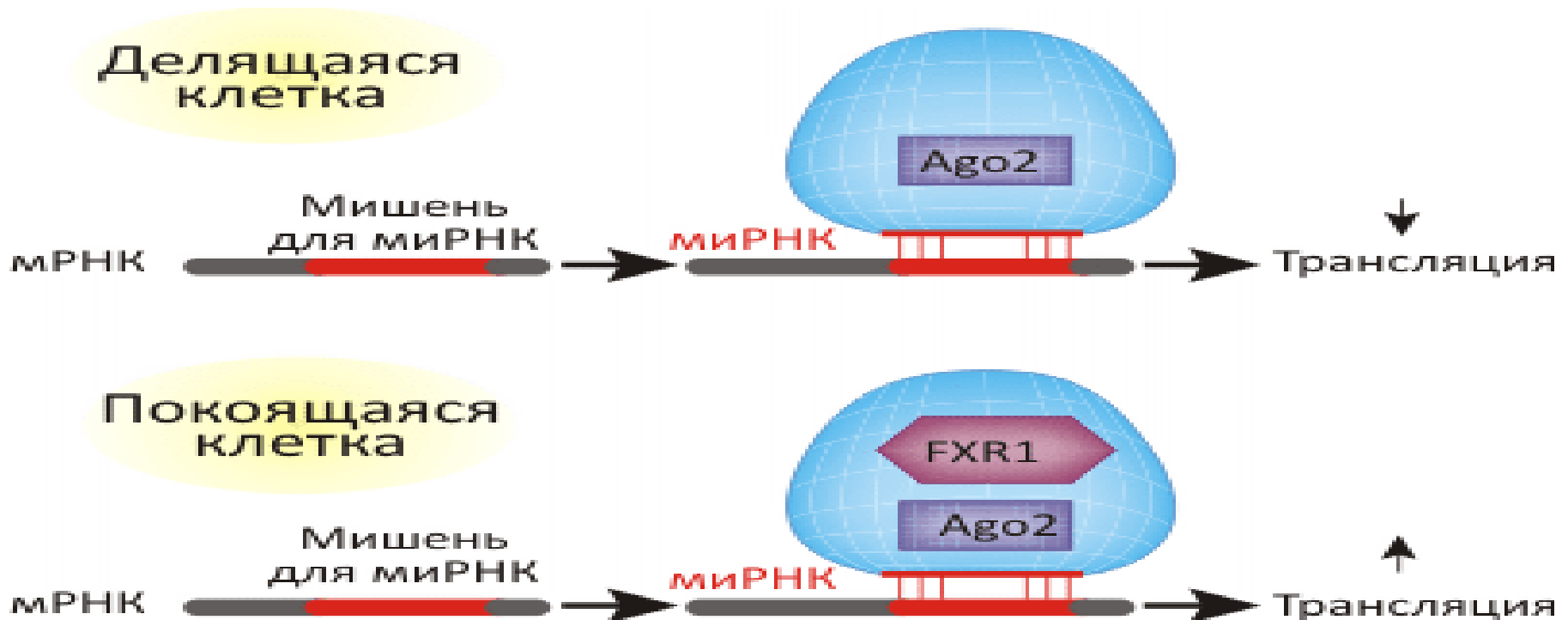
**За открытие РНК-интерференции (РНКи) в 2006 г. американцы К. Мелло и Э. Файр получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине.**

**РНКи – это механизм подавления экспрессии (активности) гена на стадии трансляции (синтеза белка из аминокислот), либо нарушение транскрипции (перенос информации с ДНК на РНК) определенных генов. В процессе РНКи принимают участие два типа малых молекул РНК – микроРНК и малые интерферирующие РНК (siRNA). Малые РНК связываются со специфическими последовательностями других молекул РНК и повышают или понижают их биологическую активность.**

В активно делящейся клетке микроРНК, связавшись с комплементарной последовательностью в 3'-нетранслируемом участке мРНК, **ингибирует синтез белка** (трансляцию).

В покоящейся клетке то же самое событие приводит к **прямо противоположному эффекту**.

Rusk N. (2008). When microRNAs activate translation. *Nature Meth.* 5, 122–123.



# **МикроРНК животных и растений**

**Чен Ю Янг и его коллеги из Нанкинского Университета занимаются проблемами микроРНК животных и растений.**

**Ученые протестировали образцы крови 21 добровольца на наличие микроРНК из сельскохозяйственных культур, таких как рис, пшеница, картофель и капуста. Результаты показали, что в крови испытуемых содержится около 30 различных микроРНК из клеток наиболее распространенных сельскохозяйственных культур.**

**Специфические микроРНК риса подавляют процесс образования «плохого холестерина» в крови и даже контролируют его выведение из организма.**

# МЕТОДЫ АНАЛИЗА микроРНК:

Гибридизационный анализ

Микробиочипы

Амплификационные методы

Секвенирование





# **ВЫДЕЛЕНИЕ микроРНК**

**МикроРНК обычно выделяют из клеточных линий и тканей, которые охлаждаются и фиксируются формалином в парафине.**

**МикроРНК устойчивы к деградации эндогенными рибонуклеазами и, следовательно, стабильны что выявлено при количественных измерениях в плазме и крови. Уровень микроРНК в крови или плазме можно оценить с помощью количественной ПЦР и некоторых других методов.**

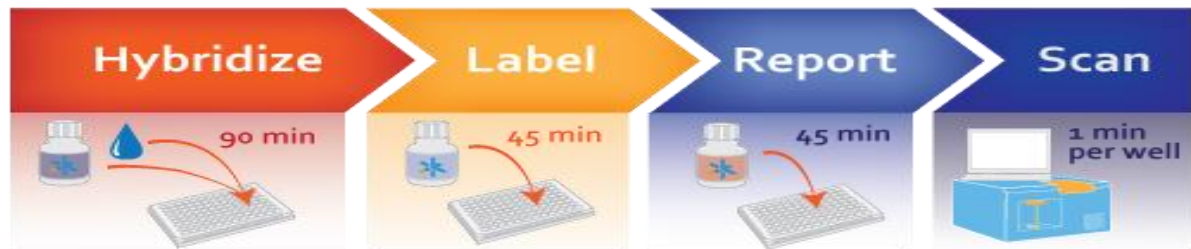
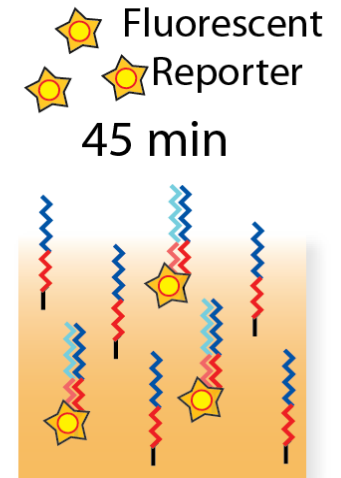
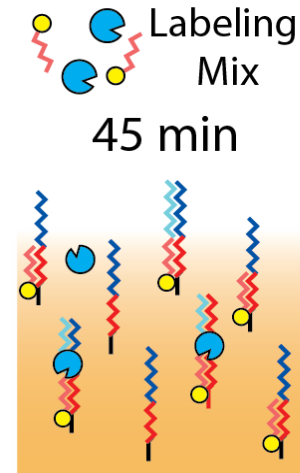
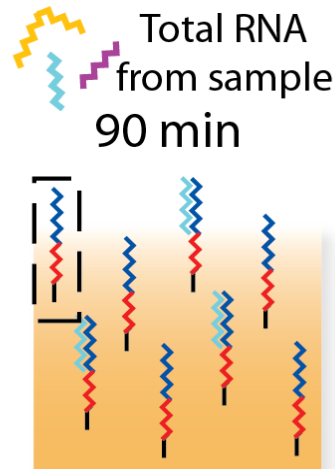
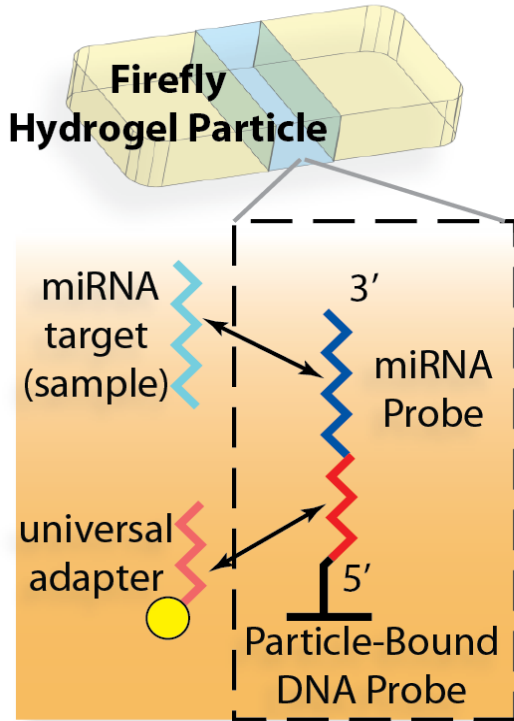
**В отличие от мРНК микроРНК обладают очень высокой стабильностью, что, скорее всего, обусловлено их инкапсулированием в эндосомоподобные частицы, где они защищены от деградации нуклеазами.**

# МИКРОБИОЧИПЫ

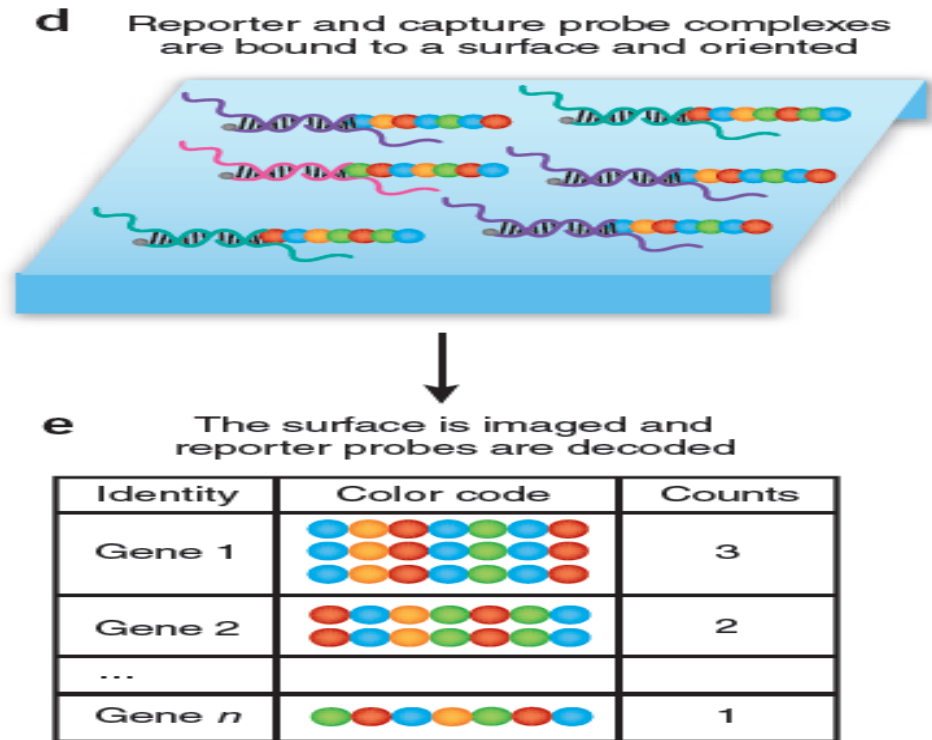
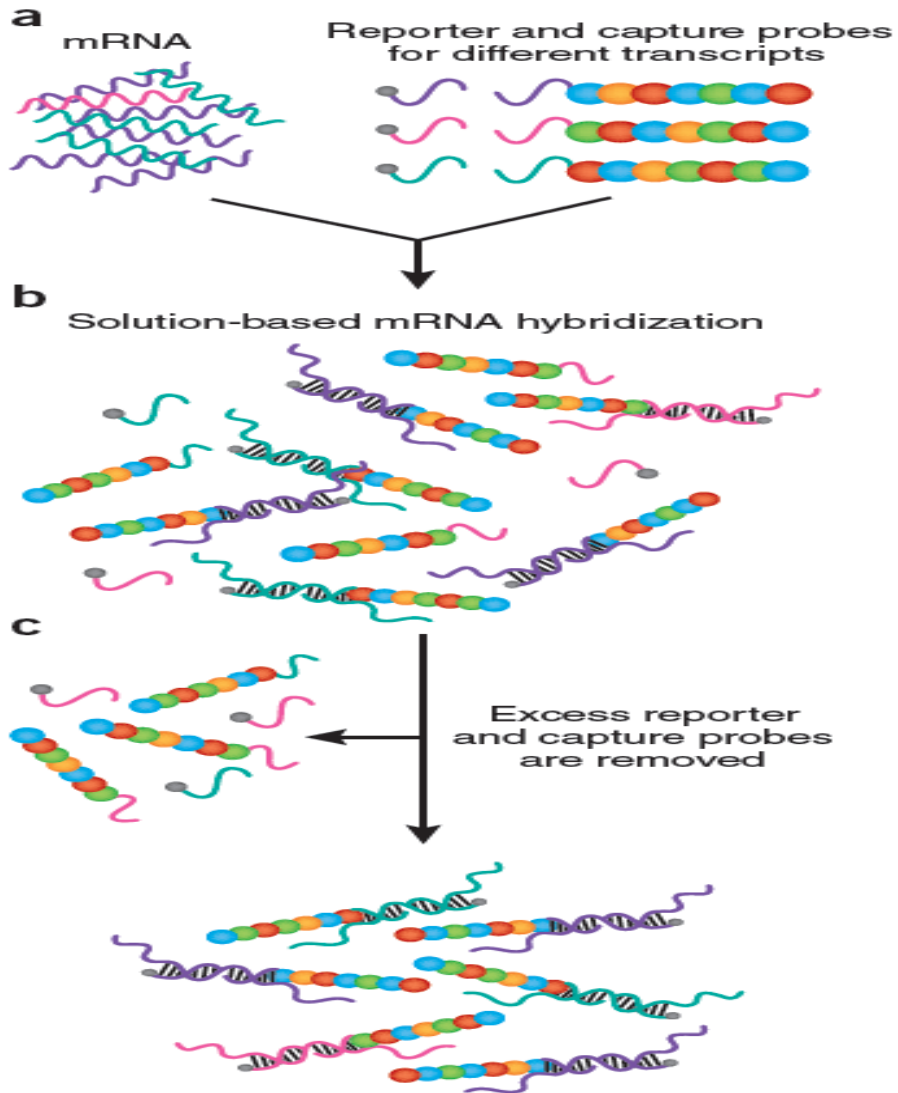
Микробиочипы обладают тем преимуществом, что можно получить профиль микроРНК в данном образце, а также определить те из них, которые представляют интерес для дальнейших исследований. Первые микробиочипы не могли дифференцировать пре-микроРНК, при-микроРНК и микроРНК, однако после усовершенствования мечения и выбора зондов значительно улучшило специфичность.

Небольшая длина микроРНК создает определенные трудности не только при подборе праймеров для ОТ-ПЦР, но и количественной оценки при применении технологии микробиочипов. Введение химически модифицированных зондов (LNA-зонды, Morpholino олигонуклеотид или 2'-O-метил РНК олигонуклеотид ) позволило ужесточить условия и привело к большей специфичности гибридизации микроРНК.

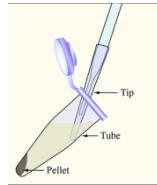
# Firefly™ микроРНК анализ



# ТЕХНОЛОГИЯ НАНОСТРИНГ



# Методический подход определения уровня экспрессии микроРНК в раковых клетках vs прилежащих нормальных клеток у одного пациента.



Условная норма

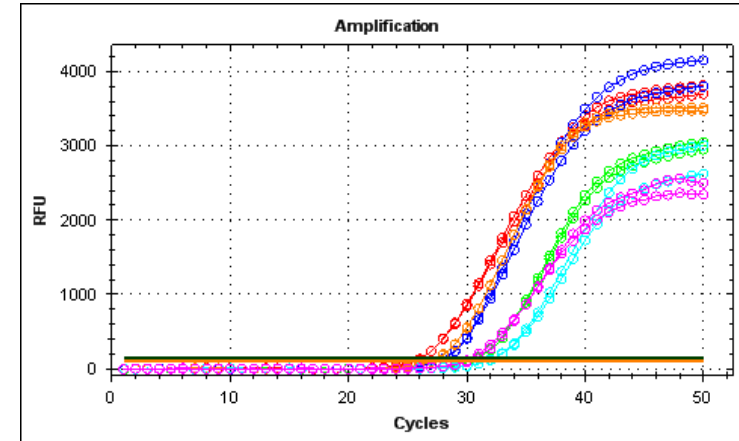
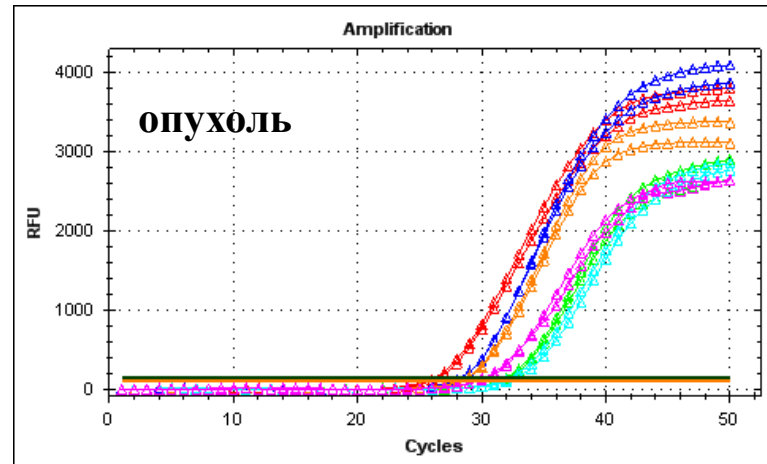
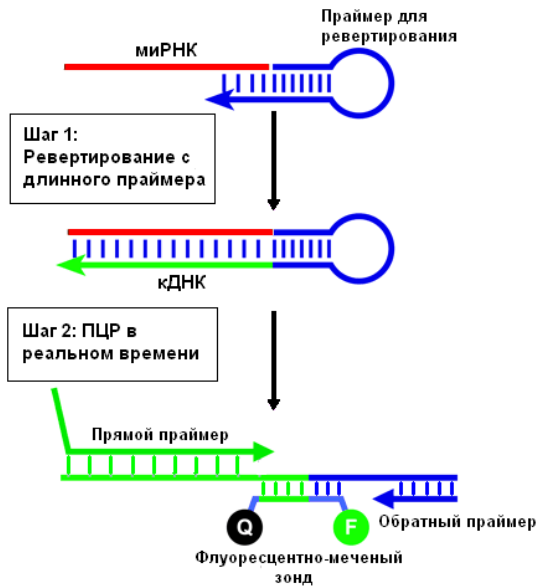


Схема детекции микроРНК с помощью обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени



- miR-155
- miR-205
- miR-21
- miR-221
- miR-222
- U6

# Глубокое секвенирование микроРНК

Метод позволяет уверенно  
идентифицировать новые неизвестные  
последовательности микроРНК и может быть  
использована и для количественной оценки РНК,  
так как многие короткие РНК могут быть  
прочитаны сотни раз.

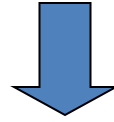
Для сопоставления данных по мРНК и микроРНК используются специальные базы данных, которые предсказывают мРНК-мишень для данной микроРНК, основываясь на данных по её последовательности. Разработан также ряд методов для определения мишени для данной микроРНК.

# МикроРНК и болезни



Genomics (DNA- 25,000 genes)

Геномика



Transcriptomics (RNA - 100,000 mRNA's)

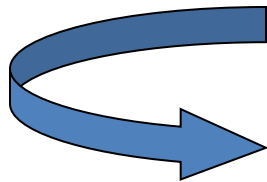
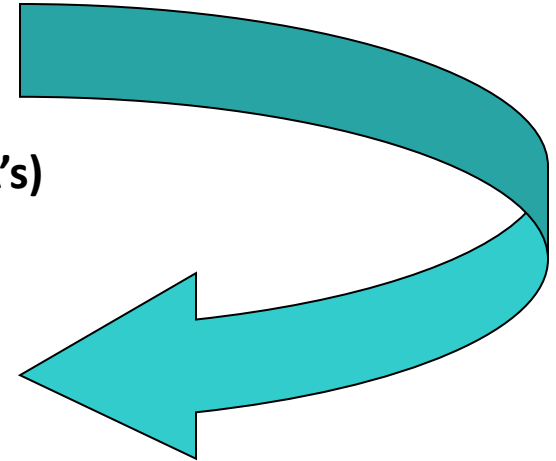
Транскриптомика

**микроРНК**



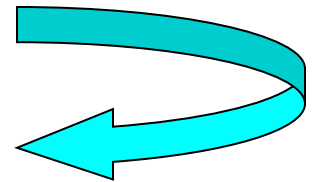
Proteomics (Proteins - 1,000,000 proteins)

Протеомика



Metabolomics (molecules)

Метабономика





# ОПРЕДЕЛЕНИЯ

## СТАТИЧЕСКИХ И ДИНАМИЧЕСКИХ ОМИКОВ

**ГЕНОМИКА** – ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВСЕХ ГЕНОВ И МУТАЦИЙ, ПРИВОДЯЩИХ К НАСЛЕДСТВЕННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ ИЛИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ

**ТРАНСКРИПТОМИКА** – ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВСЕХ МАТРИЧНЫХ РНК, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ  
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА мРНК И ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ ВСЕХ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ У ДАННОГО ЧЕЛОВЕКА В ДАННЫХ УСЛОВИЯХ

РНОМИКА – ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВСЕХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И ИЗМЕРЕНИЕ ИХ У ДАННОГО ЧЕЛОВЕКА В КОНКРЕТНЫХ УСЛОВИЯХ

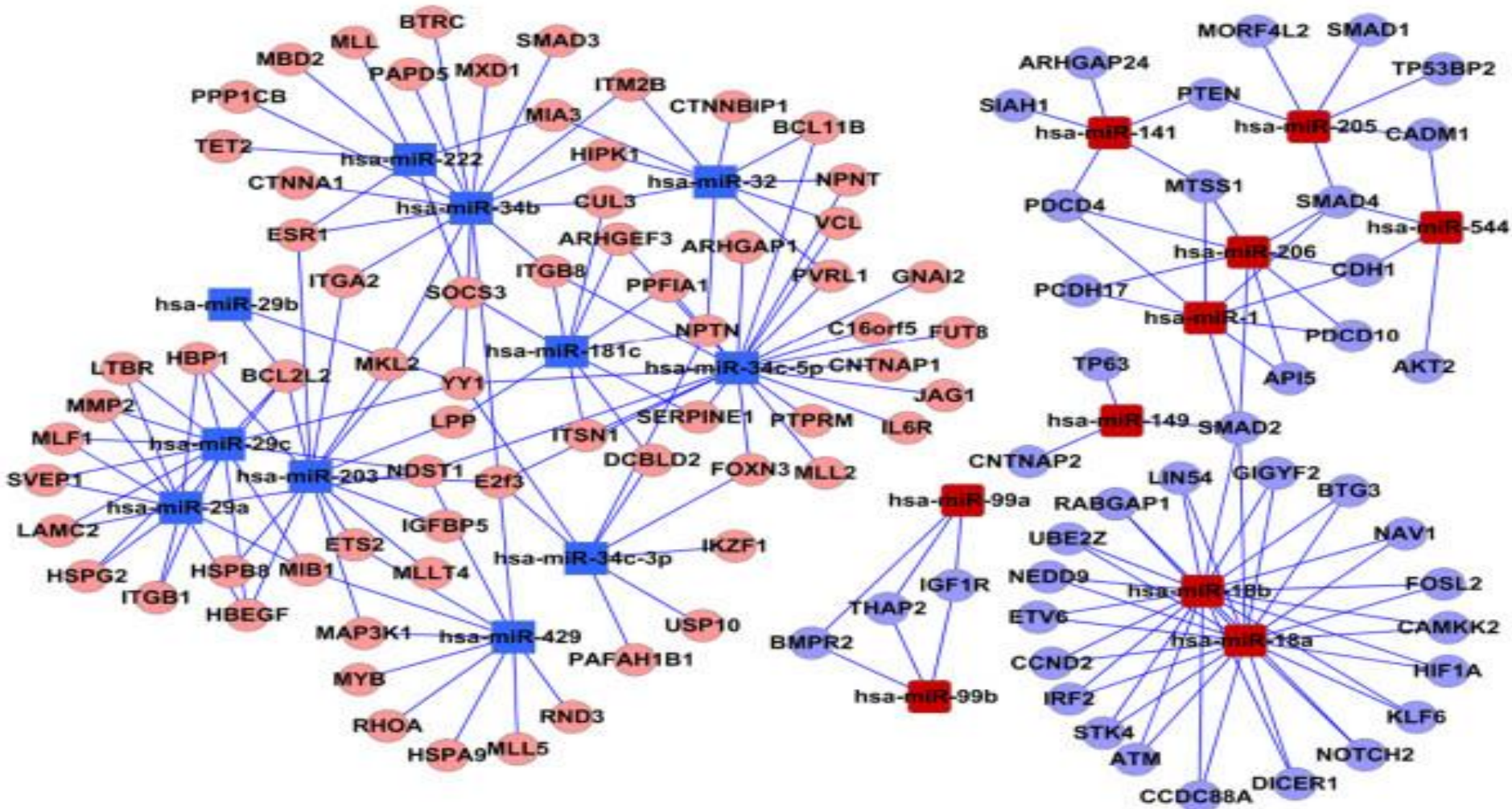
## РЕГУЛИРОВАНИЕ микроРНК каскадов генов

Каждая отдельная микроРНК регулирует отдельный каскад генов, активируя экспрессию одних генов каскада и подавляя экспрессию других.

Некоторые группы микроРНК могут участвовать в регуляции нескольких процессов на клеточном уровне.

Например, **микроРНК-21** участвует как в блокировании апоптоза, ангиогенеза, так и в развитии фиброза.

# Сети микроРНК



# **Полиморфизм микроРНК , новый класс полиморфизмов в геноме человека.**

**Проект геном человека выявил присутствие миллионов полиморфизмов в кодирующих и некодирующих частях генома. Некоторые из указанных полиморфизмов присутствуют в микроРНК генах и в фрагментах целевых генов с которыми микроРНК соединяются.**

## Cancer

Leukemia (CLL), lung cancer (NSCLC), colorectal cancer, papillary thyroid carcinoma and breast cancer

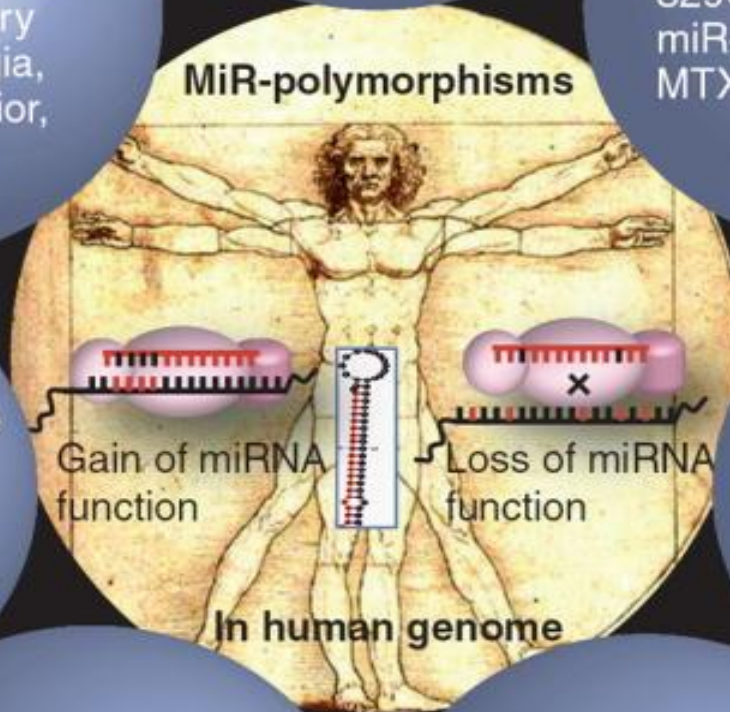
## Neurological disorders

Tourette syndrome, ADHD, hereditary spastic paraplegia, aggressive behavior, Parkinson's disease

## Drug resistance

829C>T in DHFR genes  
miR-24  
MTX resistance

## MiR-polymorphisms



## Hypertension and cardiovascular disease

An 1166A>C *AGTR1* gene miR-155

## Muscular hypertrophy & gastric mucosal atrophy

## Diarrhea, irritable bowel syndrome (IBS-D)

## Type 2 diabetes

ACAA- insertion/deletion

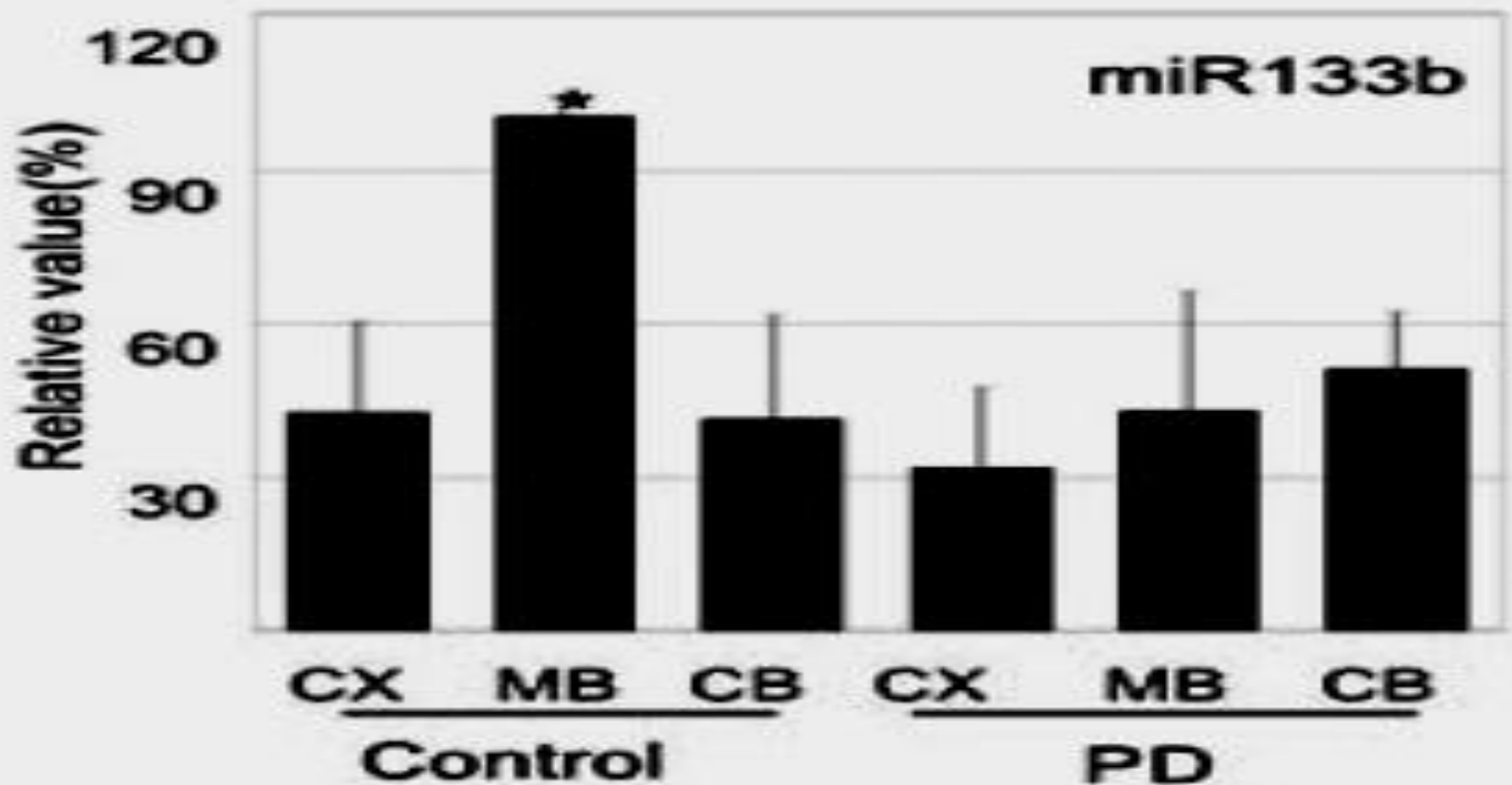
# ДИАБЕТ, ОЖИРЕНИЕ

**Группой микроРНК, регулирующих инсулинорезистентность и вовлечённых в развитие ожирения и диабета, является семейство let-7, которое накапливается в тканях по мере старения.**

**Подавление let-7 может не только предотвращать развитие диабета и ожирения, но и использоваться для лечения этих заболеваний. Поэтому подавление let-7 может стать новым средством лечения ожирения и диабета 2 типа.**

**Концентрация miR-133b в различных отделах мозга у больных паркинсонизмом и у здоровых людей (control): СХ — кора больших полушарий, МВ — средний мозг, СВ — мозжечок,. Хорошо видно, насколько содержание этой специфической микроРНК в среднем мозге у больных людей.**

**Рис. из Kim J., Inoue K., Ishii J. et al.// Science. – 2007. – 317. – P. 1220-1224.**



## **СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

**Две микроРНК-1 и 21 могут рассматривать как причинные при нескольких патологических состояниях сердечно-сосудистой системы, в том числе при сердечной недостаточности и гипертрофии сердца (наряду с микроРНК 23а, 133а, 195, 208, 208а).**

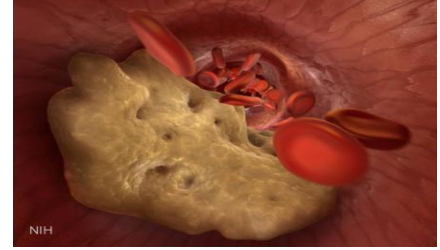
### **Показана ассоциация**

**микроРНК-155 при гипертонии, микроРНК-145 и 21 при заболевании сосудов, микроРНК-17-5р, 20а при легочной гипертензии.**

**Пять микроРНК-18b, 221, 222, 424 и let-7f-2 локализованы на X-хромосоме, поэтому число копий таких микроРНК различается у мужчин и женщин, что определяет гендерные различия в возникновении и развитии ССЗ.**



# АТЕРОСКЛЕРОЗ



**Атеросклероз является системной, хронической патологией, сопровождающейся развитием эндотелиальной дисфункции при активном вовлечении в процесс воспалительного и иммунного компонентов.**

**Среди большого числа микроРНК, участвующих в регуляции воспалительных процессов, особое внимание заслуживают микроРНК–21 и 146. Одним из основных блокаторов воспалительной активности генов является микроРНК - 21, активация которой угнетает выработку фактора некроза опухоли, а также активируются интерлейкины 6 и 13.**

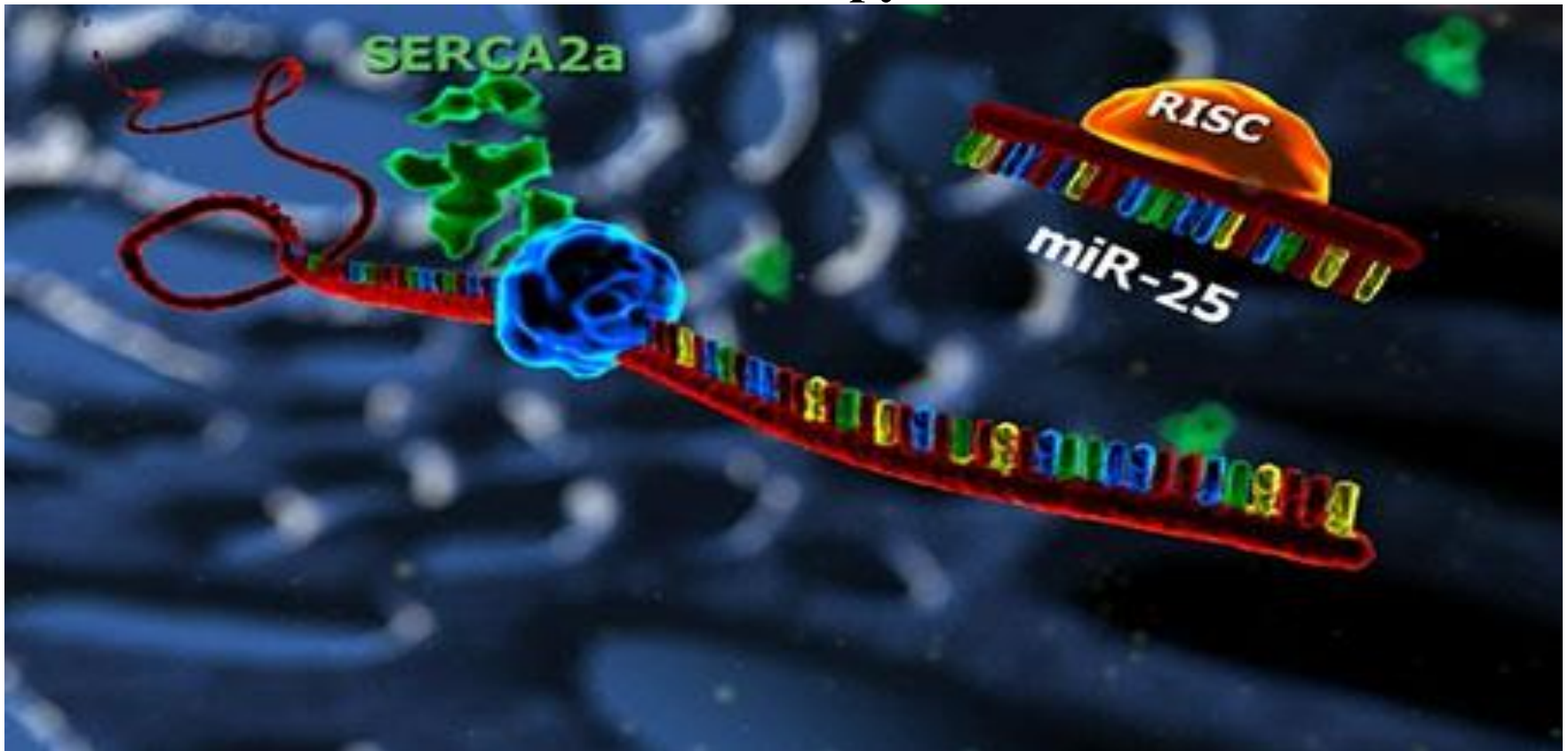
# Сердечная недостаточность

При сердечной недостаточности происходит подавление гена SERCA2a, который регулирует поступление кальция в клетки сердечной мышцы и важен для сократительной функции сердца.

Проведен скрининг 875 микроРНК и нашли одну, **микроРНК-25**, которая мощно подавляла поглощение кальция клетками сердца. У пациентов с сердечной недостаточностью активируется микроРНК-25 и введение агента, **блокирующего микроРНК-25,** **улучшает функцию и повышает выживаемость.**

**Активность гена SERCA2a была повышена с помощью технологии, позволяющей инактивировать микроРНК-25 антисмысловой РНК.**

**Молекула антисмысловой РНК – последовательность, комплементарная конкретной молекуле РНК, называемой в этом случае «смысловой», которую она инактивирует.**



## Типы микроРНК, регулирующих развитие ИБС

микроРНК	Ген-мишень	Биологическое действие	Ссылки
миРНК 1	Bcl2,HSP60,HSP70	Индукция апоптоза	[15]
миРНК 133	caspase-9,TGF- $\beta$	Блокирование апоптоза	[16]
миРНК 21	PDCD4,AP1 PTEN,Akt,MMP2 Spry1	Снижение апоптоза в краевых областях инфаркта, деградация молекул межклеточного матрикса, инфильтрация фибробластов, контроль за распространением фиброза	[18] [24] [23]
миРНК 320	HSP20	Активация апоптоза, увеличение размера инфаркта	[11, 19]
микроРНК 29	Коллаген	Регулирование фиброза, уменьшение повреждения миокарда	[25]
микроРНК 126	Spred-1,VCAM-1, integrin alfa-6, VEGF, FGF	Регулирование развития коллатеральных сосудов	[29] [30]
миРНК17-92:	TSP-1	Индукция ангиогенеза,	[31] [32]
миРНК 17-5p	CTGF	участие в регуляции гипоксии	
миРНК17-3p	HIF-1 $\alpha$		
миРНК18a			
миРНК19a			
миРНК20a			
миРНК19-b-1			
миРНК92-1			
миРНК17-92:	VEGF	Блокирование ангиогенеза, уход от гипоксии	[37, 38]
миРНК15-b	HIF-1 $\alpha$		
миРНК16			
миРНК20a			
миРНК20b			
миРНК130a	GAX HOXA5	Регуляция сигналинга в эндотелиоцитах	[33]
миРНК210	HIF-1 $\alpha$ Eph-3	Регулирование развития гипоксии, контроль ангиогенеза	[35]
миРНК221	c-Kit	Блокирование пролиферации эндотелиоцитов, блокирование ангиогенеза	[36]
миРНК328	CD44	Блокирование образования капиллярных структур	[37]

# микрорНК в диагностике онкологических заболеваний

- Дифференцировать доброкачественные опухоли от злокачественных новообразований
- Контролировать эффект терапевтического воздействия (лучевая и химиотерапия)
- Выявлять различные патоморфологические типы опухолей
- Ранняя диагностика
- Определение гистотипа опухоли, стадии развития, потенциала к метастазированию
- Прогностическое значение выживаемости
- Потенциальная терапия

# **СЛОЖНЫЙ ГЕНОМНЫЙ ЛАНДШАФТ ОПУХОЛИ**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ NGS ПОКАЗАЛО ЧТО ОПУХОЛЬ ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ СОВОКУПНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ПРОФИЛЯМИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ.**

**МОДЕЛЬ «ВЕТВЯЩЕЙСЯ ЭВОЛЮЦИИ»: ОПУХОЛЬ ИНИЦИИРОВАНА КЛЕТКАМИ, НЕСУЩИМИ ПЕРВИЧНУЮ МУТАЦИЮ, ЧЕРЕЗ НЕКОТОРОЕ ВРЕМЯ ДАЕТ НАЧАЛО ЦЕЛОМУ РЯДУ КЛОНАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ (ЛОМАЕТСЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ ДНК)**

**ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК ПОЗВОЛЯЮТ ВЫЯВЛЯТЬ РАЗНООБРАЗИЕ ИХ ГЕНОМНЫХ НАРУШЕНИЙ И ИЗМЕНЕНИЙ ТРАНСКРИПТОМОВ.**

# **микроРНК и ОНКОЛОГИЯ**

**МикроРНК-21–хронологически первая идентифицированная микроРНК. Является сильным онкогеном, экспрессия которой увеличивается в большинстве солидных опухолей. Увеличивает пролиферативную и инвазивную активность опухолевых клеток.**

**МикроРНК-221, 222 – онкогенные микроРНК, индуцирующие ангиогенез и пролиферацию раковых клеток.**

**МикроРНК-155 – продемонстрировано участие этой микроРНК в инициации как врожденного, так и адаптивного иммунных ответов, а также в развитии иммунной системы в целом. Некоторые работы свидетельствуют об участии микроРНК155 в онкогенезе различной этиологии.**

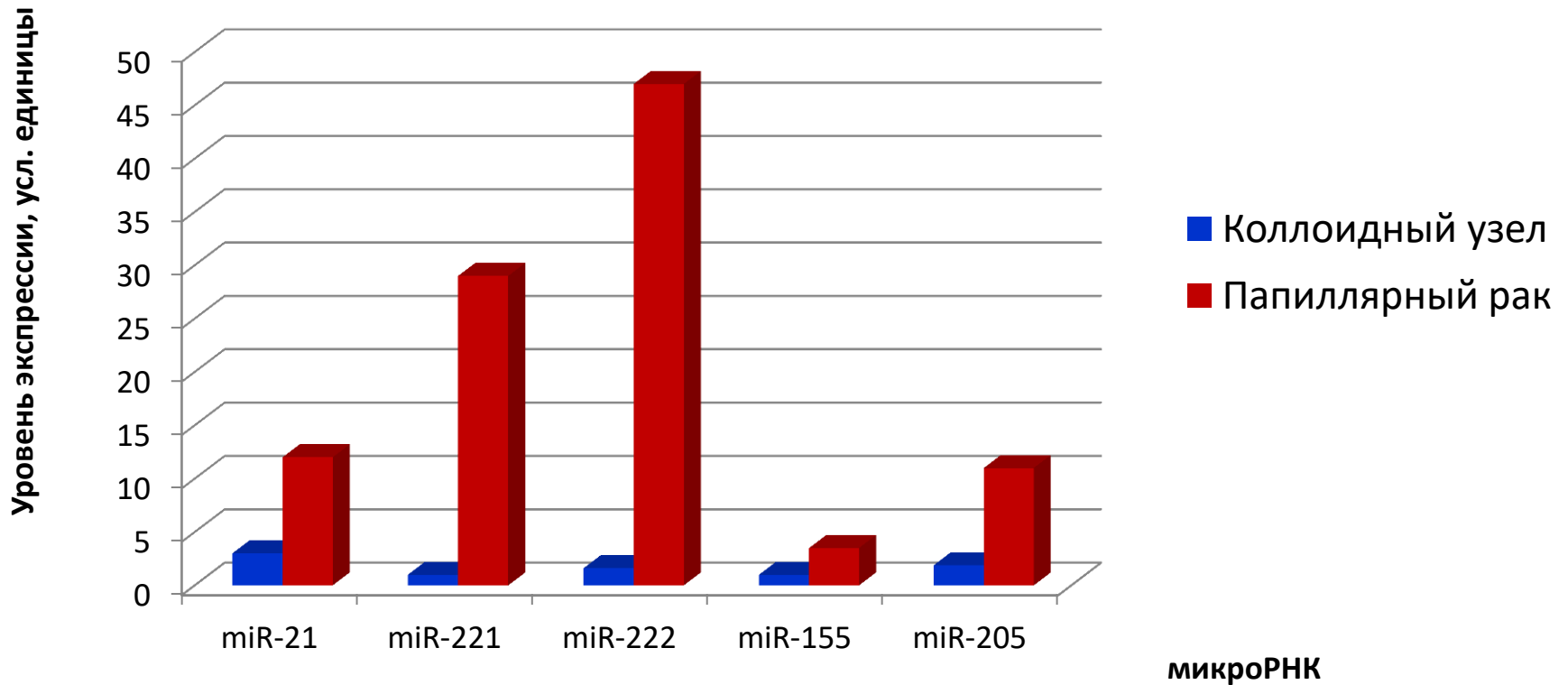
# Метилирование

**Одним из механизмов регуляции генов микроРНК является метилирование CpG-островков их промоторных участков. Показано отсутствие метилирования промоторных CpG-островков генов микроРНК -107 и 130b при немелкоклеточном раке легкого и выявлены корреляции частоты метилирования генов микроРНК-125 b-1 и 137 с показателями прогрессии заболевания. Анализ метилирования может проводиться с применением метилспецифичной ПЦР.**



# МикроРНК при папиллярном раке и коллоидном узле щитовидной железы

Сравнение уровней экспрессии микроРНК при папиллярном раке и коллоидном узле



## **МикроРНК и рак молочной железы (РМЖ)**

**Для РМЖ значительно изменятся паттерн микроРНК. Для 13 микроРНК наблюдается повышение экспрессии, а для 49 уровень экспрессии снижен. Специфичность в этом случае составляет **78,8%**, а чувствительность **92,5%**. Выявление и оценка уровня экспрессии определенных микроРНК становится важным направлением в диагностике ранних стадий РМЖ.**

**Экспрессия микроРНК-195 повышена в опухолях, а в крови ее уровень превышает нормальный в десятки раз. Экспрессия этой микроРНК коррелирует с уровнем экстрагеновых рецепторов. Содержание микроРНК-195 снижается после оперативного вмешательства.**

**Оценка уровня циркулирующих в крови микроРНК-10b, 34a и 155 позволяет дискриминировать больных с метастазирующими опухолями от здоровых людей.**

# МикроРНК и рак молочной железы (РМЖ)

Ранние РМЖ связаны и с **увеличением** концентрации **микроРНК-21** и **155** и уменьшением микроРНК-125b и 145. Причем уровень микроРНК-21 коррелирует со стадией заболевания, метастазами и плохим прогнозом по времени жизни пациентов с РМЖ на поздних стадиях опухолевого процесса.

**МикроРНК-155**, которая обнаружена в крови больных, чувствительных к гормонотерапии, и отсутствует в крови больных, не чувствительных к этому виду терапии, и **может служить маркером-предиктором при выборе терапии.**



# Рак легкого

На ранних стадиях развития немелкоклеточного рака легкого (НРЛ) в крови больных существенно повышено содержание микроРНК-21, 125 и 574-5p по сравнению с уровнем в норме. При этом специфичность их определения, т.е. выявления именно при этой форме рака легкого, в крови у больных с диагностированным НРЛ составляет 82%, а чувствительность 77%.

Еще три микроРНК: микроРНК-155, 197 и 182 в комбинации дают сходные уровни чувствительности и специфичности при использовании метода количественной ПЦР.

## Прогноз и метастазирование.

Другое применение микроРНК в диагностике и лечении раковых заболеваний может заключаться в их использовании для составления прогноза.

При немелкоклеточном раке легкого низкая концентрация микроРНК-324а может служить индикатором плохой выживаемости.

Высокая концентрация микроРНК-185 или низкая микроРНК-133b свидетельствуют о наличии метастазов и, следовательно, плохой выживаемости при раке толстой и прямой кишки.

# Метастазирование и прогресс опухолей

Особый интерес вызывает использование микроРНК в прогнозе метастазирования, в частности, микроРНК-10b и 373.

МикроРНК-7 обладает свойствами антиметастатической микроРНК в опухолях желудка в результате взаимодействия с мРНК, кодируемой геном рецептора инсулиноподобного ростового фактора (IGF-R).

Известны 18 микроРНК, которые считаются индикаторами прогрессии опухолей печени.

Профиль трех микроРНК (9, 182 и 200b) может определять агрессивность опухолей мочевого пузыря.

# **ЭКЗОСОМЫ**

**Термин «экзосомы» используется для обозначения специфических везикулярных структур эндосомального происхождения, которые продуцируются большинством типов эукариотических клеток.**

**В 2007 г. показано присутствие в составе экзосом мРНК и микроРНК, а также некодирующую РНК, что показало их участие в регуляторно-коммуникативных процессах внутри организма и возможность их использования в качестве потенциальных биомаркеров.**

**Перенос интактных мРНК в составе экзосом может служить для обмена фенотипическими признаками между клетками.**

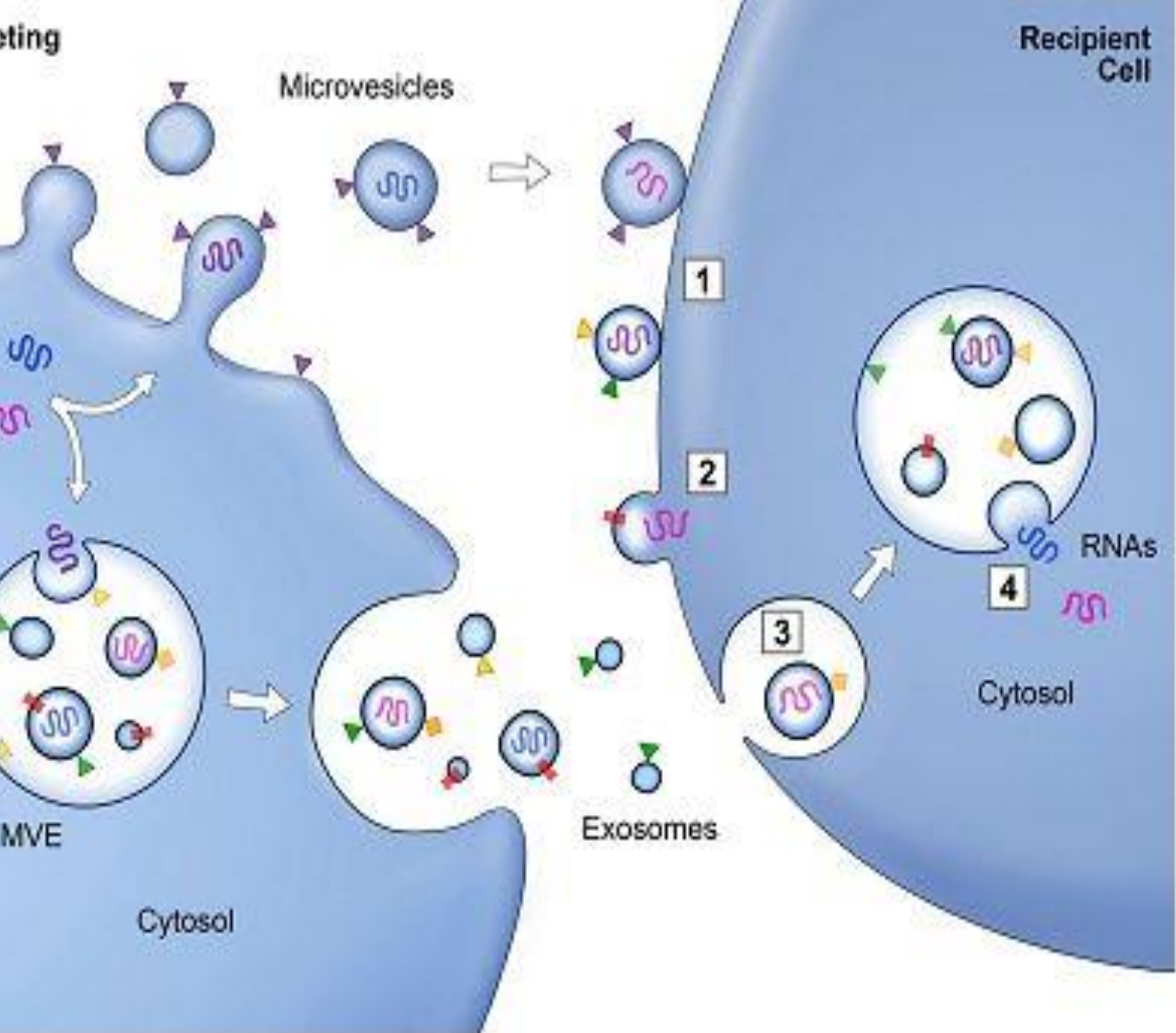


# СВОЙСТВА ЭКЗОСОМ

Экзосомы представляют собой небольшие везикулярные тела размером 50-90 нм (по другим данным от 30-100 нм), которые формируются из поздних эндосом.

Полость экзосом имеет цитоплазматическое происхождение, а мембрана образуется в результате впячивания внутрь эндосомальной мембраны. Экзосомы могут продуцироваться *in vitro* большинством типов клеток: В- и Т-клетками, гранулоцитами, тромбоцитами, нейронами, эпителиальными клетками и др.

Первое научное описание экзосом представлено в 1983 г.



# **МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ЭКЗОСОМ**

**Классический протокол выделения экзосом включает несколько последовательных стадий центрифугирования, позволяющих избавиться от клеток и более крупных частиц и процесс осаждения экзосом путем центрифугирования при 100000g. Использование фильтрования через мелкопористые фильтры (0,1-0,2 мкм), может исключить попадание в итоговый крупный микровезикул.**

# БД РНК В СОСТАВЕ ЭКЗОСОМ

Была создана электронная база данных **ExoCarta (<http://exocarta.org>)**, содержащая информацию о белках, липидах, мРНК, микроРНК экзосом различного происхождения.

**Предпринята попытка провести компьютерный анализ последовательностей экзосомальных РНК**

( Batagov A.O., Kuznetsov V.A., Kurochkin I.V.//BioMed Central Ltd. – 2011. – 12. – 18.).

# **НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ ЭКЗОСОМ – БИОМАРКЕРЫ**

**Экзосомы несут в своем составе белки, липиды, нуклеиновые кислоты, которые могут быть использованы как биомаркеры продуцирующих их нормальных или патологических клеток. Присутствие экзосом в клинических жидкостях (плазма крови, моча, слюна, грудное молоко и др.) позволяет использовать неинвазивные или малоинвазивные методы взятия пробы.**

**Показана высокая стабильность нуклеиновых кислот в клинических жидкостях, причем уровни присутствующих РНК можно оценить с применением метода ПЦР. Считается также, что большая часть межклеточных РНК могут переноситься вне везикулярных образований.**

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РНК ЭКЗОСОМ В ДИАГНОСТИКЕ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.**

- диагностика травм головного мозга по наличию специфических везикулярных микроРНК в спинномозговой жидкости.
- ранняя диагностика сосудистых заболеваний.
- диагностика асимптоматического течения сахарного диабета по специфическим профилям микроРНК крови.
- диагностика на основе выделения экзосомальных микроРНК из слюны пациентов с аутоиммунным системным заболеванием (Синдрома Шегрена). Данный неинвазивный метод может стать альтернативой биопсии). (Michael A., Vajracharya S.D., Yuen P.S. et al.// Oral Dis. – 2010. – 16. – P. 34-38.)

# **ПРОФИЛИ микроРНК в диагностике раков**

**Сходные результаты получены при исследовании профиля микроРНК экзосом здоровых доноров и пациентов с раком легких.**

**(Rabinowits G., Gercel-Taylor C., Day J.M. et al.// Clin. Lung Cancer. – 2009. – 10. – P. 42-46.)**

**Разрабатываются наборы с использованием экзосом мочи при диагностике рака простаты: две специфические мРНК (PSA и продукт специфической хромосомной перестановкиTMPRSS2:ERG ), которые известны своей гиперэкспрессией при указанном раке, были выявлены в образцах экзосом мочи пациентов.**

## **ЭКЗОСОМЫ И ВИРУСЫ**

**Экзосомы участвуют в распространении и поддержании популяции некоторых патогенов, к которым относятся вирусы и прионные белки.**

**Согласно данным анализа РНК-профиля экзосом инфицированных клеток показано, что в везикулах содержатся микроРНК, кодируемые вирусом Эпштейна-Барра и которые могут передаваться в неинфицированные клетки.**

**В то время как ДНК ВЭБ были обнаружены только в популяции В-лимфоцитов, микроРНК ВЭБ – не только в указанных клетка, но и в других (неинфицированных) клетках пациентов с повышенным уровнем вируса в организме.**



**СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!**

