

Mikro-RNS-ek a genomban – a génexpressziós hálózat parányi finomhangolói

ORBÁN TAMÁS ISTVÁN

MICRO-RNAS – TINY REGULATORS TO FINE TUNE GENE EXPRESSION NETWORK

Az élőlények örökítőanyagában rengeteg, fehérjét nem kódoló, úgynevezett RNS gén található, amelyek az emberi genom esetében számságban felül is múlják a „hagyományos” fehérjekódoló géneket. Ezek között kitüntetett szereppel bírnak a kis méretű mikro-RNS-eket kódoló szekvenciák, amelyek a 2024. évi orvosi-élet-tani Nobel-díj kapcsán a szűk tudományterületen kívül is az érdeklődés középpontjába kerültek. Tágabb értelemben az RNS-interferencia-útvonalakhoz tartozó mikro-RNS-ek bizonyos fehérjékkel összekapcsolódva „csendesítési komplexeket” alkotnak, amelyek célpontjai a sejtben található, fehérjét kódoló hírvivő RNS- (mRNS-) molekulák. A szekvenciális alapon kijelölt célpontok esetében a mikro-RNS vezérelte csendesítési komplex gátolja a fehérjeszintézist, és sok esetben el is indítja a kiválasztott mRNS lebomlását. A rendszer azonban bonyolult, ugyanis egy célponthoz több mikro-RNS kötődhet, és a teljes gátláshoz szükség is van ezek összehangolt működésére. Ugyanakkor egy mikro-RNS-nek több célpontja is lehet, aminek az eredménye egy bonyolult szabályozási hálózat „finomhangolására”. Ahogy egyre részletesebben megismerjük a mikro-RNS-ek képződését és életútját a sejten belül, úgy fény derül arra is, hogy ezek szabályozási zavarai nagyon sok kórkép hátterében is megjelenhetnek. A jelen tanulmány célja, hogy röviden bemutassa a mikro-RNS-ek világát, kitérve arra, hogy az így megszerzett tudás hogyan állítható az orvosbiológiai kutatások és a gyógyászat szolgálatába.

In the genomes of living organisms, there are many non-protein-coding genes, also known as RNA genes, which in the case of the human genome outnumber the “traditional” protein-coding genes. Among these, the sequences encoding for small microRNAs are of particular importance, and the 2024 Nobel Prize in Physiology or Medicine for their discovery has attracted attention even outside the narrow scientific field. In a broad sense, microRNAs belong to the RNA interference pathways and interacting with specific proteins they form “silencing complexes” that target protein coding messenger RNA (mRNA) molecules. The targets are selected by sequence complementarity, and once the microRNA-driven silencing complex attaches to the mRNA, it inhibits protein synthesis and, in many cases, triggers the degradation of the selected mRNA. However, the system is complex, as multiple microRNAs can bind to one particular target and their coordinated action is required for complete inhibition. At the same time, a single microRNA can have multiple target mRNAs, resulting in a complex regulatory network capable of ‘fine-tuning’ the gene expression pattern. As our understanding of the formation and life cycle of microRNAs within the cell grows, it is becoming clear that their dysregulation can underlie a wide range of pathologies. The aim of this short review is to give a brief introduction to the world of microRNAs and briefly discuss how the knowledge gained can be used in biomedical research and medicine.

**emberi genom, RNS gén,
mikro-RNS-ek kódoló szekvenciák,
szabályozási zavarok**

**human genome, RNA genes,
‘fine-tuning’ the gene expression pattern,
wide range of pathologies**

dr. ORBÁN Tamás István (levelezési cím/correspondence): HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Molekuláris Élettudományi Intézet, Génreguláció Kutatócsoport/HUN-REN Research Centre for Natural Sciences, Institute of Molecular Life Sciences, Gene Regulation Research Group; H-1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2. E-mail: orban.tamas@ttk.hu

Érkezett: 2024. november 26.

Elfogadva: 2024. november 28.

<https://doi.org/10.33616/lam.34.0581>

A molekuláris genetika fejlődésének egy meghatározó elképzelése, az ezt megfogalmazó *Francis Crick* szerint „centrális dogmája” alapján a genetikai információ áramlása alapvetően a DNS → RNS → fehérje irányt követi (1). A reverz transzkripció felfedezésével ugyan a modell kicsit módosult, hiszen bizonyos esetekben RNS-molekuláról is képződhet DNS, de az elgondolás szerint ez a mechanizmus is alapvetően azt a célt szolgálja, hogy például bizonyos RNS-vírusok információja is becsatornázódjon az információ megszokott áramlási útjába, és az így képződött komplementer DNS-molekuláról is végső soron fehérjék képződjenek (2, 3). A központi dogma szerint kitüntetett szereppel alapvetően a DNS és a fehérjék bírnak: az előbbi az információ stabil, hosszú távú tárolására szolgál, míg a fehérjék a katalitikus vagy egyéb funkciókon keresztül az információ manifestációjában játszanak szerepet; a különféle RNS-molekuláknak ebben a modellben a „köztes átvívó” szerepe jutott. Az evolúciós elméletek ugyan már korábban felvetették az RNS-molekulák fontos szerepét az élet keletkezésében, azonban sokáig az volt az elképzelés, hogy az információ-tárolás és az effektor funkciók „átadásával” az RNS-molekulák szerepe a mai élőlények világában visszaszorult (4). Ennek megfelelően az örökítőanyag feltérképezésekor kezdetben a fő szempont a fehérjekódoló szekvenciák azonosítása volt, hiszen a fenti elképzelés szerint alapvetően ezek biztosítják a sejtek élettani funkcióit. A humán genom projekt eredményei alapján azonban az emberi génállomány meglehetősen

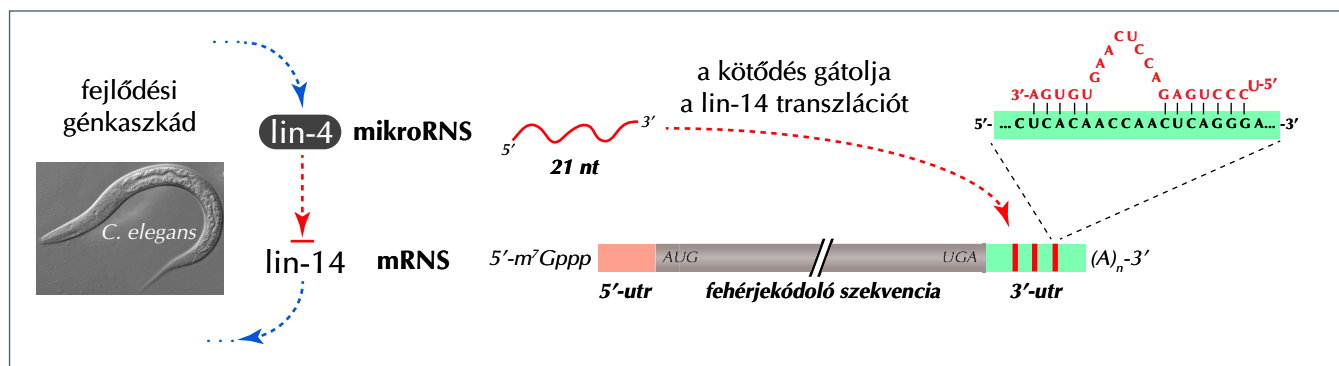
A kis méretű RNS-eket kódoló mikro-RNS gének felfedezéséért és a gén-expressziót szabályozó szerepük feltárásáért Victor Ambros és Gary Ruvkun nyerték a 2024. évi orvosi-élettani Nobel-díjat.

csekély hányadát, mindössze 5%-át teszik ki fehérjekódoló gének, és ha ténylegesen a kódoló régiókat (a mRNS-be kerülő exonokat, a kivágódó intronok nélkül) tekintjük, akkor ez a szám a 2%-ot sem éri el (5)! No de akkor mi van a „géneken” (értsd a fehérjekódoló géneken) túl, mi lehet a fennmaradó régiókban, kozmológiai hasonlaltal élve a genomiális „sötét anyagban” (6)? Az elmúlt évtizedek

kutatásai választ adtak a kérdésre: a genomban sokfelé találunk például mobilis genetikai elemeket (transzpozonokat) és ezek repetitív szekvenciáit, illetve nagyszámú RNS-kódoló gént (7). Az utóbbiakról ma már tudjuk, hogy számosságukat tekintve felülmúlják a fehérjekódoló géneket (8), és egyre több adat áll rendelkezésre arra vonatkozólag, hogy a mai sejtekben is jelen van

még az „RNS-világ”, amelynek komoly szerepe van az élőlények működésének alapjait meghatározó molekuláris szabályozási folyamatokban.

Az RNS-kódoló gének között kitüntetett szereppel bírnak a kis méretű RNS-eket kódoló úgynevezett mikro-RNS (miRNS) gének, amelyek felfedezéséért és a génexpressziót (egészen pontosan a poszttranszkripciós folyamatokat) szabályozó szerepük feltárásáért *Victor Ambros* és *Gary Ruvkun* elnyerték a 2024. évi orvosi-élettani Nobel-díjat (www.nobelprize.org). A két kutató a korábban (2002-ben) szintén Nobel-díjjal kitüntetett *Robert Horvitz* laboratóriumában kezdett dolgozni, és ott ismerkedtek meg a fejlődésgenetikai kutatások egyik híres modellorganizmusával, a *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) nevű élőlényel. Ez az egyszerű felépítésű eukarióta fonálféreg a genetikai vizsgálatok kitűnő alanya, hiszen a szöveti fejlődés és a sejt differenciáció, valamint a programozott sejthalál folyamatai nagyon jól tanulmányozhatóak rajta. Ambros és Ruvkun vizsgálatai két olyan lókuszt írányultak, amelyek mutációi jól azonosítható fejlődésbeli rendellenességet okoztak, de mutációk egymással ellentétes fenotípust eredményeztek. A kutatók az akkori módszerekkel azt is bizonyították, hogy a két lókuszon elhelyezkedő gén közül a *lin-4* negatív regulátorként a *lin-14* működését gátolja, és a korabeli felfogás alapján azt feltételezték, hogy a *lin-4* által kódolt fehérje transzkripciós faktorként szabályozza a *lin-14* gén kifejeződését, így a róla képződő fehérje mennyiségét. A legnagyobb meglepetésükre azonban a *lin-4* lókusztól nem egy fehérjekódoló hírvívő RNS (messenger RNS, mRNS), hanem egy rövid, érett formájában mindössze 21 nukleotid hosszúságú RNS-molekula képződött. Hosszas tanakodás, majd alaposabb elemzések és célzott kísérletek segítségével végül rájöttek arra, hogy a „mikro-RNS” -nek elnevezett rövid RNS a szekvenciakomplementaritás alapján képes több, a *lin-14* mRNS 3' nem kódoló szegmensében található régióhoz kötődni, és ezáltal megakadályozni a *lin-14*-ről történő fehérjeszintézist, a transzlációt (1. ábra). Ez egy teljesen új-szerű mechanizmus volt, és annak ellenére, hogy az eredményeket két közlemény formájában, egymással párhuzamosan a rangos *Cell* folyóiratban közzétették (9, 10), azokat a tudományos közvélemény eleinte kissé vonakodva fogadta, és sokáig nem is volt komolyabb visszhangja. A szkeptikus hangok azon alapultak, hogy mivel az Ambros és Ruvkun által vezetett kutatócsoportok a *lin-4* miRNS gén homológiát csak a *C. elegans* közeli rokon fajaiban tudták kimutatni, így az akkori vélekedés az volt, hogy ez az új szabályozási mechanizmus feltehetőleg nem általános



1. ábra. Amiért a 2024. évi Nobel-díjat adták. Az akkor újonnan felfedezett *lin-4* miRNA képes több (3) helyen is kötődni a *lin-14* mRNS 3' nem kódoló régiójához, és ezáltal gátolni a róla történő fehérjeszintézist
utr: nem transzlált régió, nt: nukleotid

érvényű, és valószínűleg csak ennek a szűk fonalféregcsoportnak az evolúciós vívmánya.

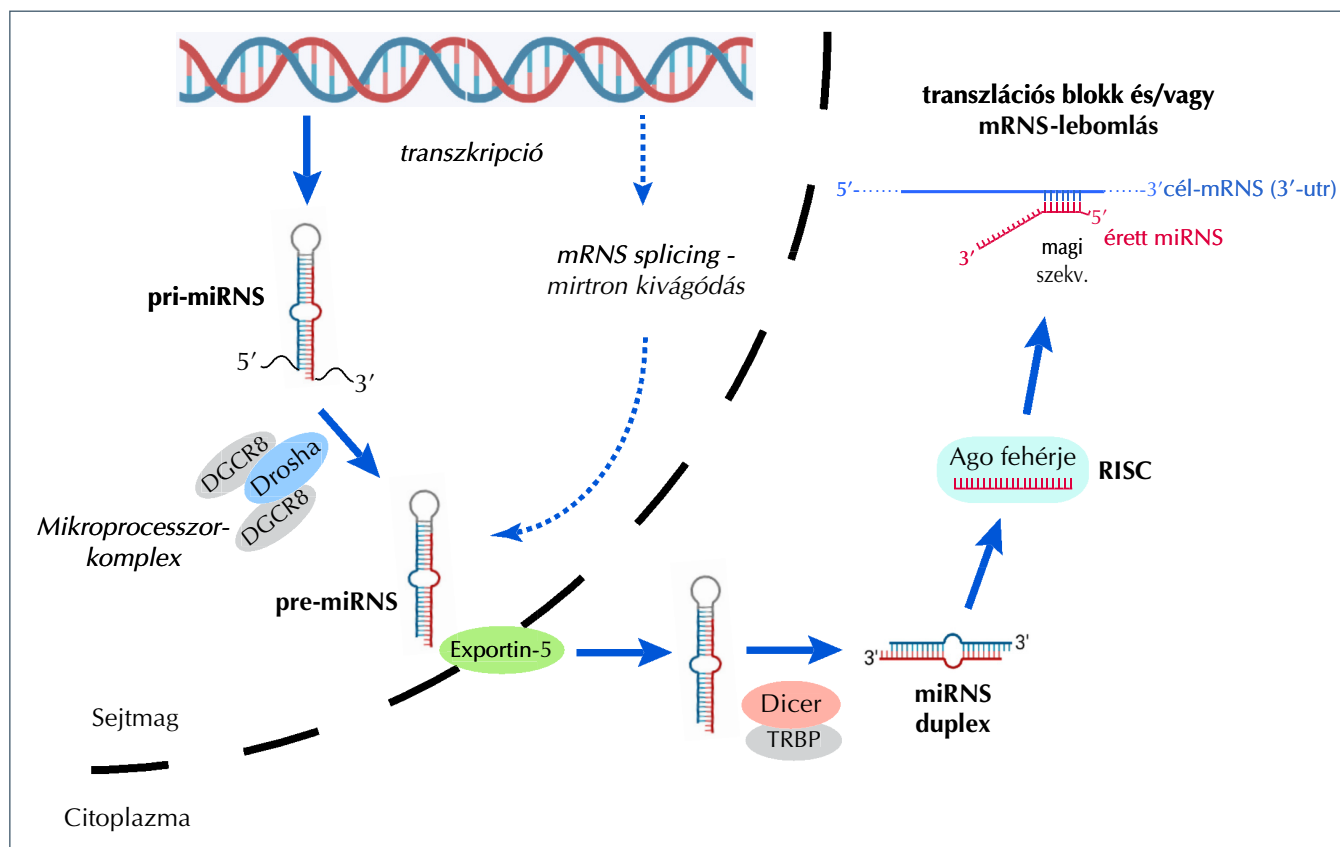
Hét évvel később azonban minden megváltozott: Ruvkun kutatócsoportja nem csak hogy azonosított egy újabb, a letális mutáns fenotípus kapcsán *let-7*-nek elnevezett miRNA gént, hanem azt is igazolta, hogy ennek a homológjai rengeteg magasabb rendű élőlény, köztük az ember genomjában is megtalálhatók, sőt ezekben az élőlényekben is fontos fejlődésbiológiai szabályozással bírnak (11). Innentől kezdve nem volt megállás: a különféle genomprojektekhez kapcsolódóan számos kutató kezdett el foglalkozni a genomok feltételezett kis-RNS géneivel, és hamarosan a legtöbb akkor ismert genetikai modellorganizmusban nagyszámú miRNA-t kódoló szekvenciát írtak le. Ma már tudjuk, hogy a miRNA-ek legtöbb eukarióta élőlényben megtalálhatók, és a génexpressziós mintázatok szabályozásában kitüntetett szereppel bírnak (12). Ennek megfelelően az emberi genomban is nagyszámú miRNA gént azonosítottak, és közülük nagyon sok miRNA mutációját vagy szabályozási zavarát összefüggésbe hozták emberi betegségek, nem utolsósorban sokféle daganatos kórkép kialakulásával. A jelen összefoglaló tanulmány célja, hogy röviden bemutassa a miRNA-ek képződését és működését, és ehhez kapcsolódóan kitérve arra is, hogy milyen jelentőséggel bírnak a miRNA-alapú vizsgálatok a modern diagnosztikai eljárásokban és célzott terápiákban.

Parányi RNS-molekulák tömege a genomban

A „miRBase” adatbázis (<https://mirbase.org/>) alapján az emberi génállományban közel 2000-féle miRNA-t kódoló szekvencia található, ezek elhelyezkedése azonban meglehetősen nagy vál-

tozatosságot mutat. Vannak különálló miRNA gének, saját transzkripció indító és stop szignállal, és vannak több miRNA-t egyszerre átíró klaszterek is. Ezenkívül találhatunk miRNA-eket más, például fehérjekódoló gének intronjaiban is, amelyek átírása kapcsolódhat a „gazda gén” transzkripciójához, de attól függetlenül is átíródhatnak az intronon belül elhelyezkedő saját promóter segítségével. Mindegyik esetben azonban közös az, hogy a lókusztól képződő elsődleges átírat (*primary*-miRNA, röviden *pri*-miRNA) tartalmaz egy jellegzetes méretű, és hajtú formájú másodlagos szerkezettel bíró régiót (2. ábra). A sejtmagban ezt egy „Mikroprocesszor” nevű fehérjekomplex felismeri, és az ebben található, Drosha elnevezésű endonukleáz a hajtúszerkezetet kivágja a *pri*-miRNA-ból. Az így keletkezett prekuzort (*pre*-miRNA-t) egy speciális transzportfehérje, az Exportin-5 kijuttatja a sejtmagból a citoplazmába, ahol egy másik RNáz enzim, a Dicer lehasítja a terminális hurkot, kialakítva ezzel egy rövid, dupla szálú miRNA-terméket (2. ábra). Az érési folyamat következő fázisában, több fehérje segítségével a miRNA duplex először összekapcsolódik egy Argonaute (Ago) fehérjével, majd az egyik szál eliminálását követően kialakul a végső „csendesítési komplex”: a most már egyszálú, érett miRNA-t tartalmazó RNS indukálta csendesítési komplex (*RNA-Induced Silencing Complex*, röviden *RISC*). A továbbiakban ennek a ribonukleoprotein komplexnek az a feladata, hogy folyamatosan monitorozza a citoplazmában elhelyezkedő mRNS-eket, és a felismert célpontokon gátolja a fehérjeszintézist, vagy sok esetben elindítsa a cél-mRNS lebomlását (13).

Az előbbiekből vázolt folyamatok az állati és az emberi sejtekben a miRNA-ek érésének úgynevezett „kanonikus” útját jelentik, az elmúlt két évtized kutatásai során azonban számos



2. ábra. A miRNS-ek érése a sejtben. A vastag nyilak a kanonikus útvonalat, a szaggatott vonalak a Drosha-független mirtron útvonal lépéseit mutatják; részletes magyarázat a szövegben

DGCR8: DiGeorge Syndrome Critical Region 8, a Drosha enzimhez kapcsolódó segédfehérje; TRBP: transactivation response element RNA-binding protein, a Dicer enzimhez kapcsolódó segédfehérje; utr: nem transzlált régió

alternatív útvonalra is fény derült. Ezek jellemzői, hogy a két kitüntetett endonukleázos hasítási lépés valamelyikét alternatív mechanizmussal áthidalják, így ennek megfelelően beszélhetünk Drosha- vagy Dicer-független miRNS-ekről (14). Ezek közül talán a legfontosabb a „mirtron” útvonal: ennek során a pre-miRNS-szekvenciák valójában kis méretű intronok, amelyek kivágását a Drosha enzim helyett a fehérjekódoló gének érésében fontos szerepet játszó splicing apparátus végzi el (2. ábra). De vajon az evolúció biztosította végtelen változottságon túl mi lehet a szerepe ezeknek az alternatív útvonalaknak? Számos olyan esetet ismerünk, amikor a sejt differenciációs folyamatok során előnyös lehet a miRNS gének nagy részét „kikapcsolni”, és csak néhány kitüntetett miRNS segítségével szűkre szabni a szabályozási folyamatok, például a differenciáció irányát. A mirtronok esetében ez például megoldható a Drosha enzim működésének szelektív gátlásával, hiszen ilyenkor a miRNS-ek többségének el

se indul az érése, a mirtronok azonban továbbra is képződhetnek (15).

A miRNS-ek érésével kapcsolatban fontos felhívni a figyelmet arra, hogy itt sem érvényes a molekuláris biológia fejlődésének kezdetén megfogalmazott úgynevezett „egy gén – egy géntermék” (eredetileg „egy gén – egy enzim”) hipotézis (16). Az elmúlt évek kutatásai rávilágítottak arra, hogy a Dicer vágását követően kialakuló miRNS-duplexnek nem csak az egyik szála épülhet be a RISC-be, sőt: a kiválasztás lehet szövet-specifikus, de az is előfordulhat, hogy bizonyos sejt típusokban eltérő arányban ugyan, de a pre-miRNS mindkét karjából képződő csendesítési komplexek is előfordulhatnak. Ami még tovább növeli a miRNS-ek szekvenciális variabilitását, az az úgynevezett izomiR-ek képződése: ezek ugyanarról a lókusztól képződnek, de szekvenciálisan az 5' és/vagy a 3' végükön, ritkább esetekben akár a belső nukleotidjaikban is különböznek egymástól. A kanonikus érési folyamat lépésein túl tehát változatos mechanizmusok

biztosítják, hogy egy miRNS-lókusztól sokszor nem pusztán egyféle, pontosan meghatározott szekvenciájú miRNS, hanem inkább egy bonyolult összetételű kis-RNS-populáció keletkezzen (17). A kutatások szerint ennek a célpontfelismerés változatosságában van jelentősége – ahogy ezt a következő fejezetben látni fogjuk.

A célpontfelismerés promiszkuitása – a hálózat finomhangolásának az alapja

Az a kezdetektől világos volt, hogy a sejtekben képződő csendesítési komplexek a bennük található miRNS szekvenciája alapján ismerik fel a célpontjaikat. A 2024. évi Nobel-díj kitüntetettjeinek, Victor Ambrosnak és Gary Ruvkunnak a munkái kapcsán azonban tudjuk, hogy a miRNS szekvenciájának csak egy kisebb része, sokszor mindössze a miRNS elején található, a 2–8 nukleotidok által meghatározott rövid „magi” szekvencia (*seed sequence*) vesz rész a cél-miRNS-sel történő bázispárosodásban (2. ábra). Sok esetben azért a miRNS többi részén is előfordul részleges komplementaritás a célponttal, de az állati szervezetekben nagyon ritka a teljes szekvenciális megegyezés. (A teljesség kedvéért meg kell említeni, hogy a növényekben kifejezetten gyakori a miRNS és a célpont közötti teljes komplementaritás, és ott a miRNS-ek érésében és működésében is vannak eltérések – ezen folyamatok tárgyalása azonban túlmutat a jelenlegi írás keretein.)

A célponttal való komplementer nukleotidok alacsony számának egyenes következménye, hogy egy adott mRNS-hez való kapcsolódás gyakran alacsony specificitással történik, illetve, hogy egy miRNS-nek gyakran több célpontja is van. A fehérjekódoló mRNS-ek tekintetében azonban jellegzetesség, hogy a miRNS-kötőhelyek legtöbbször a nem kódoló szakaszokon, főleg a 3' régióban találhatók (a transzlációs stop kodon után). Fontos továbbá, hogy egy mRNS több miRNS-kötőhellyel is rendelkezik, amelyek azonos, vagy akár szekvenciálisan különböző miRNS-ek kötőhelyei is lehetnek. Általános megfigyelés, hogy minél több miRNS kötődik egy célponthoz, annál nagyobb a hatás (műszaki hasonlaltal élve a rendszer egyfajta „molekuláris tolóellenállásként” működik). Ennek megfelelően még ha egy miRNS kötődése ugyan gyenge is, több csendesítési komplex kapcsolódása viszont már egyre nagyobb valószínűséggel kiváltja a gátló hatást: a mRNS-en egyre jobban csökken a fehérjeszintézis, és jó eséllyel beindul a mRNS lebomlása is. Ezek a folyamatok teremtik meg a

lehetőségét a génexpressziós mintázat „finomhangolásának”, vagyis, hogy ebben a komplex, posztranzkripció hálózatban bonyolult mintázatok alakuljanak ki. A korábban bemutatott izomiR-ek is ehhez a finomhangoláshoz járulnak hozzá: a miRNS-szekvencia 5' végi növelése vagy rövidítése például változtatja a felismerő magi szekvencia pozícióját, ezáltal a célpont felismerésének a specificitását.

A rövid felismerő szekvenciából adódó alacsony specificitás természetesen megnehezíti a célpontok predikcióját is. A pusztán bioinformatikai (értsd szekvenciális) analízisek legtöbbször alacsony hatékonysággal működnek, és sok fals pozitív cél-miRNS-t hoznak ki találatként. Ma már azonban elérhetőek komoly mintaszámmal elvégzett, nagy áteresztőképességű, kísérletes validációs vizsgálatok eredményei (18), amelyek alapján a valós célpontok jobban kijelölhetők. Ezekből az eredményekből az is látszik, hogy valószínűleg még nem pontosan értjük a RISC által közvetített felismerő folyamatot, ami úgy tűnik, hogy nem kizárólag a miRNS-mRNS közötti szekvenciakomplementaritáson alapul: valószínűleg további kutatások szükségesek ezen molekuláris kölcsönhatások logikájának a felderítéséhez, a ribonukleoprotein-környezet, vagyis a jelen levő egyéb fehérjék és a RNS-szerkezet szerepének a megértéséhez. Ugyanakkor a legújabb fejlesztésű predikciós programok a szekvenciális egyezések mellett ezeket a kísérletes eredményeket is figyelembe veszik, így nagyobb biztonsággal lehet a valódi biológiai célpontokat kijelölni – amire a miRNS-ek orvosbiológiai alkalmazásának a területén nagy szükség is van.

miRNS-ek a gyógyászat szolgálatában – biomarkerek, terápiás célpontok, génterápiás eszközök

Az ezredforduló óta rengeteg kutatási eredmény látott napvilágot a miRNS-eken alapuló szabályozás témakörében. Világossá vált, hogy ezek a kis-RNS-ek nagyon fontos szerepet töltenek be az élőlények fejlődési folyamatainak szabályozásában, és nélkülük nem képzelhető el a magasabb rendű életformák fennmaradása. Ezt bizonyítják

A kis-RNS-ek nagyon fontos szerepet töltenek be az élőlények fejlődési folyamatainak szabályozásában, nélkülük nem képzelhető el a magasabb rendű életformák fennmaradása.

A jövő diagnosztikai eljárásaiban a miRNS-eknek is egyértelműen ott a helyük.

többek között az érésükben kulcsszerepet játszó egyik enzimen, a Diceren végzett vizsgálatok is: ennek a fehérjének a hiánya egérben és zebrahallban is embrionális letalitást okoz, hiszen nem képződnek érett miRNS-ek, és ezen parányi regulátorok hiánya összeegyeztethetetlen a normál sejtdifferenciációs folyamatokkal (19, 20).

Egy-egy miRNS hiánya vagy regulációs zavara ugyanakkor nem feltétlenül jelent kóros fenotípust, hiszen láttuk, hogy a robusztus szabályozási hálózatban egy miRNS önmagában sokszor csak kis mértékben járul hozzá a célpont-miRNS szabályozáshoz; illetve a rendszer itt-ott re-

dundáns, ugyanis bizonyos miRNS-ek tudják egymás hiányát kompenzálni. Ennek ellenére ismertek olyan miRNS-ek, amelyek esetében a kis-RNS-en (vagy éppen annak kötőhelyén, a mRNS adott szakaszán) bekövetkezett mutáció, vagy a megváltozott expresszió egyértelműen kóros tényezőként azonosítható, és akár klaszszikus egygénese mendeli öröklődést is mutat. Az emberi hsa-miR-96 miRNS génben bekövetkező mutáció például örökletes hallásvesztéssel jár (21, 22), a hsa-miR-184 működésének hiánya ritka szembetegséget okoz [az úgynevezett EDICT-szindrómát, amely többek között veleszületett szürkehályog kialakulásával jár, (23–25)], a hsa-miR-140 génben bekövetkezett pontmutáció pedig a miRNS megnövekedett aktivitásán keresztül veleszületett csontosodási rendellenességet okoz (26). Ismertek olyan miRNS-ek, amelyek hypoxiás folyamatok markerei (más néven „hypoxamir”-ek): ilyen a hsa-miR-210, amelynek például a placenta szövetében detektálható szintje praeclampsias betegekben megemelkedik (27, 28). Rengeteg miRNS expressziós szintje megváltozik különféle daganatokban: ismert például (az onkogének mintájára elnevezett) hsa-miR-17~92 „onkomir” klaszter, amelynek megemelkedett expresszióját B-sejtes lymphomák (29), tüdődaganatok (30), hepatocellularis carcinomák (31), de többféle emlődaganat (32) esetében is egyértelműen összefüggésbe hozták a tumorigenezissel. Léteznek természetesen ellentétes hatású tumorsuppresszor miRNS-ek is, például a hsa-let-7 miRNS-család tagjai, amelyekről kissejtes tüdőrák esetében kimutatták, hogy a csökkent expressziójuk hatása a RAS onkogén aktivációján keresztül járul hozzá a tumorigenezishez (33). A példák érzékeltetik azt a tendenciát, ahogy a miRNS-ek is fokozatosan a diagnosztikai

vizsgálatok, illetve a biomarker kutatások homlokterébe kerülnek.

Az ezredforduló után, vagyis amikortól a miRNS-alapú reguláció igazoltan a genetikai szabályozás elfogadott részévé vált, egy új izgalmas kutatási irány kezdett körvonalazódni: kiderült, hogy a miRNS-ek elhagyhatják a „gazdasejt-jüket”, és extracelluláris vesiculák formájában, vagy lipoproteinekhez kapcsolódva távoli sejtekbe is eljuthatnak, és ott is szabályozhatják a gén-expressziós mintázatokat (34, 35). A miRNS-ek exportjának és importjának molekuláris mechanizmusai ugyan még nem teljesen tisztázottak, jelenlétük a különböző testfolyadékokban azonban egyértelműen kimutatható. Számos tanulmány jelent meg a vérben keringő miRNS-ekről, és minden kétséget kizáróan detektálhatók például vizeletben is (35). Ennek azért is van jelentősége, hiszen ez alapot szolgáltathat olyan, nem invazív diagnosztikai eljárások kidolgozására, amelyek a betegek számára a legkisebb beavatkozással és legkisebb kockázattal járnak. Az ebben az irányban folytatott kiterjedt vizsgálatok kapcsán az is egyértelművé vált, hogy nagyon sok szövetből, például a májból, a veséből, de akár a központi idegrendszer sejtjeiből is juthatnak miRNS-tartalmú vesiculák a keringésbe, így egy egyszerű vérvételt követően az ilyen távoli szövetek elváltozásainak kimutatására is lehetőség nyílik (36). Ezekben a vizsgálatokban sokszor nem csak egy miRNS szintjét, hanem több miRNS mintázatát vizsgálják, mert ezek nyújthatnak információt például neurodegeneratív betegségek, vagy különböző tumorok progressziójáról, vagy akár az ezek kezelésében alkalmazott terápiák hatásosságáról is (37). Az itt bemutatott példák is igazolják, hogy a jövő diagnosztikai eljárásaiban a miRNS-eknek is egyértelműen ott a helyük.

Miután egyre több betegség vizsgálatánál kiderült, hogy a normális állapotra jellemző miRNS-repertoár megváltozik, ezért joggal vetődött fel annak a lehetősége, hogy adott miRNS-ek maguk is terápiás célpontként szolgáljanak. A daganatos megbetegedések hátterében álló onkomir-ek esetében a legkézenfekvőbb terápiás cél az adott miRNS célzott gátlása, amelyet leggyakrabban specifikus, kémiaiilag módosított antiszensz oligonukleotidok (antagomiR-ek vagy másnéven antimiR-ek) alkalmazásával lehet elérni (38). Glioblastomákban például, ha gátlással csökkentették a megemelkedett hsa-miR-21 szintjét, azzal a sejtekben elősegítették az apoptózist, illetve az így kezelt sejtek a sugárterápiára is érzékenyebbek lettek (39, 40). A hsa-miR-16, a hsa-miR-21, a hsa-miR-181a és a hsa-miR-214 onkomir-ek megemelkedett szintjét anti-miR-

kezeléssel sikeresen csökkentve gátolni tudták az A459 tüdőcarcinoma-sejtek szaporodását, és a kutatók az *in vitro* eredményeket klinikai kipróbálásba is tervezik tovább vinni (41). A hsa-miR-21 túlzott expressziója kapcsán más kórképekben, így különféle cardiovascularis betegségekben is kitüntetett célpont lehet: myocardialis fibrosisban például a hsa-miR-208 és a hsa-miR-29 miRNS-ekkel együtt terápiás célpontnak jelölték ki (42). A több betegségmódelben hírbe hozott hsa-miR-21 működését ennek okán más módszerekkel, így szintetikus kismolekulákkal is sikerült gátolni, ahogy ezt a fluoroquinolon-származékokkal történő kezelést követően tumormodelleken igazolták (43).

Egy másik megközelítést igényel, ha a kérdéses miRNS csökkent szintjét kell egy adott betegségben növelni. Ilyenkor a szensz miRNS-t kell valamilyen formában a célsejtekbe juttatni, amely azon túl, hogy itt is érdemes az RNS stabilitását kémiai módosításokkal növelni (például a ribózmolekula 2'-OH csoportjának metilálásával), felveti a génbevitel, és így a génterápiák sarkalatos kérdését, a célzott bejuttatás problémáját. Örvendetes eredmény, hogy a korábbi, vírusalapú eljárások mellett ma már egyre hatékonyabb nem virális módszerek is rendelkezésre állnak, köztük például új, lipid nanopartikulumok segítségével történő célba juttatási módszerek is (44). Ilyen stratégiákkal próbálják például daganatokban a tumorszuppresszor miRNS-ek szintjét növelni, ahogy tüdőcarcinoma-modellekben a hsa-let-7 fokozott expresszióján keresztül erre vannak is biztató eredmények (45). De erre a megközelítésre épülő módszereket neurodegeneratív kórképek kapcsán is alkalmaznak: *in vitro* ígéretes módszernek bizonyult a Parkinson-kór kialakulásában fontos szerepet játszó, fehérjeaggregációra hajlamos α -szinuklein szintjének csökkentése több miRNS, így a hsa-miR-7, a hsa-miR-34b/c, a hsa-miR-153 és a hsa-miR-214 fokozott expressziójával [mindegyik célzottan az α -szinuklein mRNS 3' nem kódoló régióját támadja (46)]. Ugyan az említett példák sokszor egyelőre még *in vitro* eredményeket mutatnak be, egyre több esetben jutnak el a módszerek a klinikai kipróbálás fázisáig. Az eddigi legeredményesebb miRNS-terápia kétség kívül a hsa-miR-122 ellen irányuló „antagomiR-122” („Miravirsén”) terápia, amely a hepatitis C-vírus-fertőzés, és az annak kapcsán fellépő szövődmények kialakulása ellen nagyon hatásos, és amely már jelenleg is a klinikai kipróbálás 2. fázisában van, egyelőre nagyon biztató eredményekkel (47). A technológiák fejlődésével pedig valószínűleg csak idő kérdése, hogy a miRNS-működések befolyásoló készítmények hama-

rosan a mindennapi klinikumban is elérhetőek legyenek.

Következtetések

A mikro-RNS-ek ~30 évvel ezelőtti felfedezése óta nagyon sok új információ látott napvilágot a genomok információtartalmáról, illetve a működésük részleteiről egyaránt.

Nem kis részben a technológiai forradalomnak köszönhetően páratlan mélységű és részletességű bepillantást nyerhettünk a génműködés szabályozásának részleteibe, és sok újdonságot ismerhettünk meg az örökítőanyagunkban rejlő titkokból. A miRNS-alapú szabályozás felfedezésére visszatekintve ugyanakkor a mai napig ál-

líthatjuk, hogy az egy hatalmas mérföldkő volt – még ha annak a jelentőségét egy jó ideig nem is ismertük fel. A kis méretű RNS-regulátorok kapcsán a szabályozás új rétegei tárultak fel, és ennek segítségével egyre jobban kezdjük megérteni a sejteinkben a mai napig jelen lévő „RNS-világot”. A miRNS-eket tekintve ez a világ pedig eljutott „a laborasztaltól a betegágyig” (*from the bench to the bedside*), és ez minden bizonnyal nagy szerepet játszott a Nobel-díj Bizottság 2024. évi döntésben, amellyel Victor Ambrosnak és Gary Ruvkunak a miRNS-ek felfedezéséért ítélte oda az orvosi-életteni Nobel-díjat. Ugyanakkor, ha visszatekintünk a Nobel-díjak történetére, a 2006-ban *Andrew Fire*-nek és *Craig Mellónak* az RNS-interferencia (tulajdonképpen a rövid interferáló RNS-, az siRNS-útvonal) felfedezéséért, és nem utolsósorban a 2023-ban *Karikó Katalinnak* és *Drew Weissmannak* a mRNS-alapú vakcinák felfedezéséért odaítélt legrangosabb tudományos elismerés azt tükrözi, hogy a tudományos világ is egyre inkább elismeri az RNS-alapú biológiai folyamatok kiemelkedő szerepét.

És ha az újabban feltárt RNS-típusokat, például a hosszú nem kódoló RNS-eket (*long non-coding RNAs*, lncRNAs) is számba vesszük, akkor az lehet az érzésünk, hogy ennek az izgalmas RNS-történetnek még koránt sincs vége...

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS – A szerző kutatásait jelenleg az MTA Poszt-Covid (PC-II-12/2022) és az ELKH-PoC-2022-014 pályázatok támogatják.

A Nobel-díjak elmúlt két évtizedes története mutatja, hogy a tudományos világ is egyre inkább elismeri az RNS-alapú biológiai folyamatok kiemelkedő szerepét.

Irodalom

1. Crick F. Central dogma of molecular biology. *Nature* 1970;227:561-3. <https://doi.org/10.1038/227561a0>
2. Baltimore D. RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. *Nature* 1970;226:1209-11. <https://doi.org/10.1038/2261209a0>
3. Temin HM, Mizutani S. RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. *Nature* 1970;226:1211-3. <https://doi.org/10.1038/2261211a0>
4. Neveu M, Kim HJ, Benner SA. The "strong" RNA world hypothesis: fifty years old. *Astrobiology* 2013;13:391-403. <https://doi.org/10.1089/ast.2012.0868>
5. Pennisi E. Why do humans have so few genes? *Science* 2005; 309:80. <https://doi.org/10.1126/science.309.5731.80>
6. Johnson JM, Edwards S, Shoemaker D, Schadt EE. Dark matter in the genome: evidence of widespread transcription detected by microarray tiling experiments. *Trends Genet* 2005;21:93-102. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.12.009>
7. Zerbino DR, Frankish A, Flieck P. Progress, Challenges, and Surprises in Annotating the Human Genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2020;21:55-79. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-121119-083418>
8. Gates AJ, Gysi DM, Kellis M, Barabasi AL. A wealth of discovery built on the Human Genome Project - by the numbers. *Nature* 2021;590:212-5. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-00314-6>
9. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75:843-54. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-Y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-Y)
10. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993;75:855-62. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90530-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90530-4)
11. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000;408:86-9. <https://doi.org/10.1038/35040556>
12. Gebert LFR, MacRae IJ. Regulation of microRNA function in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019;20:21-37. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0045-7>
13. Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat Rev Genet* 2011;12:99-110. <https://doi.org/10.1038/nrg2936>
14. Miyoshi K, Miyoshi T, Siomi H. Many ways to generate microRNA-like small RNAs: non-canonical pathways for microRNA production. *Mol Genet Genomics* 2010;284:95-103. <https://doi.org/10.1007/s00438-010-0556-1>
15. Berezikov E, Chung WJ, Willis J, Cuppen E, Lai EC. Mammalian mirtron genes. *Mol Cell* 2007;28:328-36. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.09.028>
16. Beadle GW, Tatum EL. Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1941;27:499-506. <https://doi.org/10.1073/pnas.27.11.499>
17. Orban TL. One locus, several functional RNAs-emerging roles of the mechanisms responsible for the sequence variability of microRNAs. *Biol Futur* 2023;74:17-28. <https://doi.org/10.1007/s42977-023-00154-7>
18. Jaskiewicz L, Bilen B, Hausser J, Zavolan M. Argonaute CLIP – a method to identify in vivo targets of miRNAs. *Methods* 2012;58:106-12. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2012.09.006>
19. Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, Murchison EP, Alcorn H, Li MZ, et al. Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet* 2003;35:215-7.
20. Wienholds E, Koudijs MJ, van Eeden FJ, Cuppen E, Plasterk RH. The microRNA-producing enzyme Dicer1 is essential for zebrafish development. *Nat Genet* 2003;35:217-8. <https://doi.org/10.1038/ng1251>
21. Mencia A, Modamio-Hoybjør S, Redshaw N, Morin M, Mayo-Merino F, Olavarrieta L, et al. Mutations in the seed region of human miR-96 are responsible for nonsyndromic progressive hearing loss. *Nat Genet* 2009;41:609-13. <https://doi.org/10.1038/ng.355>
22. Solda G, Robusto M, Primignani P, Castorina P, Benzoni E, Cesarani A, et al. A novel mutation within the MIR96 gene causes non-syndromic inherited hearing loss in an Italian family by altering pre-miRNA processing. *Hum Mol Genet* 2012;21:577-85. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr493>
23. Hughes AE, Bradley DT, Campbell M, Lechner J, Dash DP, Simpson DA, et al. Mutation altering the miR-184 seed region causes familial keratoconus with cataract. *Am J Hum Genet* 2011;89:628-33. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.09.014>
24. Illiff BW, Riazuddin SA, Gottsch JD. A single-base substitution in the seed region of miR-184 causes EDICT syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:348-53. <https://doi.org/10.1167/iov.11-8783>
25. Lechner J, Bae HA, Guduric-Fuchs J, Rice A, Govindarajan G, Siddiqui S, et al. Mutational analysis of MIR184 in sporadic keratoconus and myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:5266-72. <https://doi.org/10.1167/iov.13-12035>
26. Grigelioniene G, Suzuki HI, Taylan F, Mirzamohammadi F, Borochowitz ZU, Ayturk UM, et al. Gain-of-function mutation of microRNA-140 in human skeletal dysplasia. *Nat Med* 2019;25:583-90. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0353-2>
27. Chan SY, Loscalzo J. MicroRNA-210: a unique and pleiotropic hypoxamir. *Cell Cycle* 2010;9:1072-83. <https://doi.org/10.4161/cc.9.6.11006>
28. Biro O, Fothi A, Alasztics B, Nagy B, Orban TI, Rigo J, Jr. Circulating exosomal and Argonaute-bound microRNAs in preeclampsia. *Gene* 2019;692:138-44. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.01.012>
29. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005;435:828-33. <https://doi.org/10.1038/nature03552>
30. Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res* 2005;65:9628-32. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2352>
31. Zhu H, Han C, Wu T. MiR-17-92 cluster promotes hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2015;36:1213-22. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv112>
32. Calvano Filho CM, Calvano-Mendes DC, Carvalho KC, Maciel GA, Ricci MD, Torres AP, et al. Triple-negative and luminal A breast tumors: differential expression of miR-18a-5p, miR-17-5p, and miR-20a-5p. *Tumour Biol* 2014;35:7733-41. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2025-7>
33. Kumar MS, Erkeland SJ, Pester RE, Chen CY, Ebert MS, Sharp PA, et al. Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:3903-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712321105>
34. Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007;9:654-9. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
35. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9:402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
36. Veziroglu EM, Mias GI. Characterizing extracellular vesicles and their diverse rna contents. *Front Genet* 2020;11:700. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00700>
37. Avgeris M, Panoutsopoulou K, Papadimitriou MA,

- Scorilas A. Circulating exosomal miRNAs: clinical significance in human cancers. *Expert Rev Mol Diagn* 2019;19:979-95.
<https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1673732>
38. Pagoni M, Cava C, Sideris DC, Avgeris M, Zoumpoulis V, Michalopoulos I, et al. miRNA-Based technologies in cancer therapy. *J Pers Med* 2023;13:1586.
<https://doi.org/10.3390/jpm13111586>
39. Corsten MF, Miranda R, Kasmieh R, Krichevsky AM, Weissleder R, Shah K. MicroRNA-21 knockdown disrupts glioma growth in vivo and displays synergistic cytotoxicity with neural precursor cell delivered S-TRAIL in human gliomas. *Cancer Res* 2007;67:8994-9000.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1045>
40. Griveau A, Bejaud J, Anthiya S, Avril S, Autret D, Garcion E. Silencing of miR-21 by locked nucleic acid-lipid nanocapsule complexes sensitize human glioblastoma cells to radiation-induced cell death. *Int J Pharm* 2013;454:765-74.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.05.049>
41. Fei J, Lan F, Guo M, Li Y, Liu Y. Inhibitory effects of anti-miRNA oligonucleotides (AMOs) on A549 cell growth. *J Drug Target* 2008;16:688-93.
<https://doi.org/10.1080/10611860802295946>
42. Thum T. Noncoding RNAs and myocardial fibrosis. *Nat Rev Cardiol* 2014;11:655-63.
<https://doi.org/10.1038/nrcardio.2014.125>
43. Hei YY, Wang S, Xi XX, Wang HP, Guo Y, Xin M, et al. Design, synthesis, and evaluation of fluoroquinolone derivatives as microRNA-21 small-molecule inhibitors. *J Pharm Anal* 2022;12:653-63.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.12.008>
44. Menon A, Abd-Aziz N, Khalid K, Poh CL, Naidu R. miRNA: A Promising Therapeutic Target in Cancer. *Int J Mol Sci* 2022;23:11502.
<https://doi.org/10.3390/ijms231911502>
45. Esquela-Kerscher A, Trang P, Wiggins JF, Patrawala L, Cheng A, Ford L, et al. The let-7 microRNA reduces tumor growth in mouse models of lung cancer. *Cell Cycle* 2008;7:759-64. <https://doi.org/10.4161/cc.7.6.5834>
46. Titze-de-Almeida SS, Soto-Sanchez C, Fernandez E, Koprach JB, Brothie JM, Titze-de-Almeida R. The promise and challenges of developing mirna-based therapeutics for Parkinson's disease. *Cells* 2020;9:841.
<https://doi.org/10.3390/cells9040841>
47. Lindow M, Kauppinen S. Discovering the first microRNA-targeted drug. *J Cell Biol* 2012;199:407-12.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201208082>

eLitMed.hu orvostudományi szakportál



eLitMed.hu
A GYÓGYÍTÁS MŰVÉSZETE

Új megjelenéssel és folyamatosan bővülő szolgáltatásokkal várjuk Önt!

- Közel 20 000 teljes cikket tartalmazó adatbázis.
- Hiteles, megalapozott, hasznos és naprakész szakmai információkat publikál a gyógyító-megelőző munkáról, a magas színvonalú gyógyításról, a társtudományokról, a kultúráról és a művészetről.
- Mobilon és tableten is könnyen elérhető.
- Cikkeinket terápiás területenkénti válogatásban is olvashatja.
- A böngészési eredményeit tárolhatja.
- Cikkek, közlemények idézését segítő funkció támogatja tudományos, kutatói munkáját.
- Regisztrációt követően a portál tartalma minden orvostudomány iránt érdeklődő számára ingyenesen érhető el.

30
több mint
éve
az orvostudomány
szolgálatában

