

«Ауылшаруашылық өсімдіктерінің транскрипциондық факторлар гендерінің mRNA- мен miRNA-ның өзара әрекеттесуінің сипаттамасы» тақырыбында «6D070100-Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін Рахметуллина Айжан Казиевнаның

диссертациясына

АҢДАТПА

Жұмыстың жалпы сипаттамасы

Бұл диссертация miRNA-ның ауылшаруашылық өсімдіктерінің транскрипция факторлары гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамаларын анықтауға арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

Транскрипция факторлары (ТФ) көптеген гендердің және жалпы эукариоттық геномның экспрессиясын реттеуде шешуші рөл атқарады. Қазіргі уақытта өсімдіктердің өсуін, дамуын өзгерту және биотикалық және абиотикалық қоршаған орта факторларына төзімділігін арттыру арқылы олардың өнімділігін арттыру үшін ТФ экспрессиясын бақылаудың маңызды проблемасы бар. Ауылшаруашылық өсімдіктерінің көптеген түрлерінде 50-ден астам ТФ тұқымдастары бар, және олардың ішінен өсімдіктердің жұмысында ең маңыздысын таңдау қажет.

Азық-түлік және ауылшаруашылық Біріккен Ұлттар ұйымының (FAO) мәліметтері бойынша әлемде ең көп қолданылатын дәнді дақылдар күріш, жүгері және бидай болып табылады, сондықтан осы өсімдік түрлері біздің зерттеу объектіміз ретінде таңдалды. Біз арабидопсисті өсімдіктердің ең жақсы зерттелген түрлері ретінде қолдандық.

Жақында miRNA-ның (mRNA-inhibitory RNA) ТФ экспрессиясына әсері ашылды, бұл олардың синтезін реттеуге жаңа мүмкіндіктер ашады. mRNA-ның экспрессияның әлсіз басылуынан ақуыз синтезінің толық блокталуына немесе жойылуына дейінгі кең ауқымды анықтай отырып, miRNA әр түрлі тиімділікпен ТФ гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесе алады. miRNA-ның нысана гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесу мәселесін шешу, miRNA-ның нысана гендерін анықтаумен және осы молекулалардың өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамаларын белгілеумен қиындай түседі. Нысана гендерді және олардың mRNA-да miRNA-ның байланысу сайттарын болжауға арналған бағдарламалар жетілмеген және көптеген жалған оң нысана гендер мен miRNA сайттарын табады. Бұл себеп өсімдіктер мен жануарларда miRNA және олардың нысана гендерінің ассоциацияларының анықталуын айтарлықтай тежейді.

Өсімдік геномында анықталған miRNA үнемі өсуіне қарамастан, олардың нақты нысана гендерін сенімді түрде анықтау әрдайым мүмкін емес. Онтогенездің әр түрлі кезеңдеріндегі және әр түрлі әсер кезінде жасушалардағы miRNA концентрациясының өзгеруі туралы мәліметтер тез өсуде, бұл олардың өсімдіктер жұмысындағы маңызды рөлін растайды. Гендердің экспрессиясының реттегіштері ретінде miRNA-ны қолдану

перспективті болып табылады, дегенмен нысана гендерді дәл анықтап, жанама әсерлерден аулақ болу керек. Жұмыста қолданылған MirTarget бағдарламасы бұл мәселені шеше алады, сондықтан диссертацияда қойылған мақсат пен зерттеу міндеттерін шешуге болады. miRNA және олардың нысана гендерінің ассоциацияларын анықтау өсімдіктердің гендік инженериясының тиімділігін арттырады.

Зерттеудің мақсаты: miRNA-ның *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* ТФ тұқымдастарының гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамаларын зерттеу және нысана гендермен miRNA-ның тиімді ассоциацияларын анықтау.

Зерттеудің міндеттері:

1. *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* TCP, HSF, MYB, GRAS, ERF, C2H2 тұқымдастарының ТФ гендері және miRNA бойынша мәліметтер базаларын құру.

2. *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* TCP тұқымдастарының ТФ гендерінің mRNA-мен miRNA-ның өзара байланысу сипаттамасын анықтау.

3. *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* HSF тұқымдастарының ТФ гендерінің mRNA-мен miRNA-ның өзара байланысу сипаттамасын анықтау.

4. *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* MYB тұқымдастарының ТФ гендерінің mRNA-мен miRNA-ның өзара байланысу сипаттамасын анықтау.

5. *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* GRAS тұқымдастарының ТФ гендерінің mRNA-мен miRNA-ның өзара байланысу сипаттамасын анықтау.

6. *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* ERF тұқымдастарының ТФ гендерінің mRNA-мен miRNA-ның өзара байланысу сипаттамасын анықтау.

7. *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* C2H2 тұқымдастарының ТФ гендерінің mRNA-мен miRNA-ның өзара байланысу сипаттамасын анықтау.

8. Күріш, жүгері және бидай miRNA-ның адам гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сипаттамаларын анықтау.

Зерттеу нысандары: *A.thaliana*, *O.sativa*, *Z.mays*, *T.aestivum*-ның толық секвенирленген геномдарының ТФ гендері және miRNA; адам гендері өсімдік miRNA-ның нысаны ретінде.

Зерттеу пәні: miRNA-ның *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* ТФ тұқымдастарының гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамалары.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Зерттеу нәтижелері келесі жаңалыққа ие: 1. miRNA үшін *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* TCP, HSF, MYB, GRAS, ERF, C2H2 тұқымдастарының ТФ нысана гендерінің топтары алғашқы рет болжалды; 2. Кейбір miRNA-лар үшін алғаш рет әртүрлі өсімдіктердің нысана гендеріне

арналған mRNA-да байланысатын сайттар құрылды, олар консервативті болып табылады және консервативті олигопептидтерді кодтайды; 3. Кейбір miRNA-лар бірнеше нысана гендермен байланысуы мүмкін, ал кейбір нысана гендердің mRNA-ларында екі немесе одан да көп әртүрлі miRNA-лардың байланысатын сайттары болатындығы алғаш рет анықталды; 4. Өсімдік ТФ гендерінің CDS mRNA-дағы кейбір miRNA-ның байланысатын сайттары есептеуіне байланысты әр түрлі олигопептидтерді кодтай алады. 5. Алғаш рет күріштің, жүгерінің және бидайдың miRNA-лары адамның әртүрлі ауруларына қатысатын mRNA-гендерімен байланысатын сайттары құрылды.

Жұмыстың теориялық маңызы. miRNA-ның көптеген өсімдік ТФ гендерінің mRNA-мен молекулаларының өзара әрекеттесуін бағалауға мүмкіндік беретін әрекеттесуінің сандық сипаттамалары анықталды. Кейбір miRNA нуклеотидтерінің ТФ өсімдіктерінің mRNA-гендерімен толық комплементарлы өзара әрекеттесуі анықталды, бұл осы miRNA-ның mRNA-мен тиімді байланысын көрсетеді. miRNA-ның ТФ mRNA-мен анықталған өзара әрекеттесуі miRNA-ның көптеген физиологиялық процестерге әсерін түсінуге көмектеседі және өсімдіктердің генетикалық модификациясында miRNA-ны мақсатты түрде қолдануға мүмкіндік береді. Өсімдік miRNA-сының адамның mRNA-гендерімен өзара әрекеттесуі кейбір miRNA-ны адам генінің экспрессиясының реттеушісі ретінде ұсынуға мүмкіндік береді.

Зерттеудің практикалық мәні. TCP, MYB, GRAS, ERF, C2H2 тұқымдастарының ТФ-лары үшін miRNA өсімдіктер ассоциацияларын және олардың нысана гендерін құру, miRNA мен ауыл шаруашылығы өсімдіктерінің нысана гендері арасындағы байланысты іздеу, эксперименттік зертханада miRNA мен mRNA ассоциациясын табумен салыстырғанда, уақыт пен материалдық шығындарды жүздеген мың есе азайтады. Зерттелген өсімдіктердегі miRNA мен ТФ нысана гендерінің анықталған ассоциациялары әр түрлі өсімдік түрлерінің көптеген пайдалы қасиеттерін жақсартуға, мақсатты түрлендіруге мүмкіндік береді. MirTarget бағдарламасы өсімдік және адам гендерінің mRNA-нда miRNA-ның байланысу сайттарын табуға, miRNA-ның нысана гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуін сандық бағалауда сәтті қолданылды. Анықталған өсімдік miRNA-сы адам геніне әсер етуі және медицинада биологиялық белсенді қосылыстар ретінде қолданылуы мүмкін, өйткені олар адам ағзасына оңай енеді. 2021 жылғы 2 наурыздағы №15600 «MirTarSeq» авторлық куәлік алынды.

Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар: *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays*, *T. aestivum* TSR, HSF, MYB, GRAS, ERF, C2H2 тұқымдастарының 2403 ТФ гендерінің жалпы санының бөліктері осы организмдердің miRNA нысандары болуы мүмкін.

Өсімдік miRNA-ның *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* TCP, HSF, MYB, GRAS, ERF тұқымдастарының ТФ гендерінің mRNA-на әсерін *in silico* зерттеу нәтижелері, зерттелген miRNA-ның көпшілігі өсуге және өсімдіктердің дамуына әсер етуі мүмкін.

TCP, HSF, MYB, GRAS, ERF, C2H2 тұқымдастарының зерттелген ТФ гендерінің mRNA-дағы miRNA-ның байланысу сайттары 5'UTR, CDS және 3'UTR-де орналасқан.

miRNA-ның TCP, HSF, MYB, GRAS, ERF, C2H2 тұқымдастарының зерттелген ТФ гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамасы miRNA-ның осы тұқымдардың көптеген ТФ гендеріне тиімді әсерін көрсетеді.

Өсімдіктердің өсуі мен дамуына белсенді қатысатын *O. sativa*, *T. aestivum*, *Z. mays* miRNA-лары адамның mRNA гендерінің трансляциясына әсер етуі мүмкін.

Негізгі зерттеулер мен қорытынды:

1. MirTarget бағдарламасының форматында: *A. thaliana* үшін 442 гендерден тұратын TCP, HSF, MYB, GRAS, ERF, C2H2 тұқымдастарының ТФ гендері, *O. sativa* үшін 474 гендері, *Z. mays* үшін 653 гендері және *T. aestivum* үшін 834 гендері туралы; 428, 738, 325 және 125 miRNA дерекқорлары сәйкесінше *A. thaliana*, *O. sativa*, *Z. mays* және *T. aestivum* үшін мәліметтер базалары құрылды.

2. *A. thaliana* TCP тұқымдасына жататын 27 ТФ генінің mRNA-мен 428 ath-miRNA-ның өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамаларына сүйене отырып, бес miRNA үшін тек 11 нысана гендер табылды. ath-miR5021-5p байланысатын сайттар үш *A. thaliana* гендерінің mRNA-сында және 17 өсімдік түрінің 27 генінің mRNA-сында табылды. ath-miR5658-5p байланысатын сайттар mRNA-да 19 өсімдік түрінің 23 генінде сақталады. *O. sativa* TCP тұқымдасына жататын 22 генінің mRNA мен 738 osa-miRNA-дан тек 14 гені 17 miRNA-ның нысанасы екендігі көрсетілген. Жеті өсімдік түрінен алынған он геннің mRNA-дағы және алты өсімдік түрінен сегіз геннің mRNA-да osa-miR2102-5p байланысатын сайттары олигопептидтерді AAAAAA және GGGGGG сәйкесінше кодтайды. *Z. mays* TCP тұқымдасының 46 генінің mRNA-ның 325 zma-miRNA-мен өзара әрекеттесуі бойынша 11 miRNA үшін жеті нысана ген анықтады. 125 miRNA-мен *T. aestivum* TCP тұқымдасының 28 mRNA гендерінің тек бес tae-miRNA үшін бес нысана генінің mRNA болатындығы анықталды. tae-miR319-3p-ның TCP тұқымдасының ТФ-дағы байланысу сайттары консервативті QRGPLQS олигопептидті 54 өсімдік түрінде кодтайды. tae-miR444a-3p-ның байланысу сайттары 28 өсімдік түрінің 29 геннің mRNA-да STSETS олигопептидін кодтайды.

3. *A. thaliana*-дан алынған 24 HSF гені мен 428 ath-miRNA-нан mRNA-ның бесеуі ғана бес miRNA- үшін нысана болды. *O. sativa* HSF тұқымдасына жататын 25 гендерінің mRNA мен 738 osa-miRNA-нан 12 гені он miRNA-ның бақылауында болды, олардың ішінде miR5075-3p-ның байланысу сайттарының саны көп болды. *Z. mays* HSF тұқымдасының 28 генінің mRNA-мен 325 zma-miRNA-нан жеті miRNA-сы үшін тек алты нысана ген анықталды. *T. aestivum* HSF тұқымдасының 51 гендерінің mRNA-мен 125 tae-miRNA ішінен HSF тұқымдастарының тек үш гені төрт miRNA-ның нысаны болып табылды.

4. *A. thaliana*-дан алынған 144 MYB генінің mRNA-сындағы 428 ath-miRNA-дан байланысу сайттарын іздестіру барысында 32 геннің 15 miRNA-ның нысаны екендігі анықталды. *O. sativa* MYB тұқымдасына жататын 124 геннің mRNA-мен 738 osa-miRNA-нан 34 генінің 32 miRNA-ның нысаны екендігі анықталды. *Z. mays* MYB тұқымдасының 169 генінің mRNA-мен 325 zma-miRNA-нан 25 ген 26 miRNA-ның нысаны болды. *T. aestivum* MYB тұқымдасының 258 геннің mRNA-мен 125 tae-miRNA-нан тек сегіз ген сегіз miRNA-ның нысаны болды. tae-miR159a,b-3p-ның байланысу сайттары WSSIRSK олигопептидті кодтайды, ол 22 өсімдік түрінің MYB тұқымдасының 27 ТФ ақуызында бар. 22 өсімдік түрінен тұратын MYB тұқымдастарының ақуыздарында 20 өсімдік түрінің 23 генінің mRNA-да miR159e-3p байланыстыру орындарымен кодталған ELPSNQ олигопептиді болды.

5. *A. thaliana* GRAS тұқымдасына жататын 37 гендерінің mRNA-мен 428 ath-miRNA-ның ішінен тек 11 ген сегіз miRNA-ның нысаны болып табылды. 738 osa-miRNA-дан тек 16 miRNA ғана *O. sativa* GRAS тұқымдасының 60 генінен 18 геннің mRNA-мен байланысуға қабілетті. *Z. mays* GRAS тұқымдасының 86 гендерінің mRNA-мен 325 zma-miRNA-нан тек 14 гені сегіз miRNA үшін нысана болды. *T. aestivum* GRAS тұқымдасының 117 ТФ генінің mRNA-мен 125 tae-miRNA ішінен үш miRNA үшін тек бес нысана ген анықталды. ath-miR171a-3p, osa-miR171a-3p, zma-miR171n-3p нуклеотидтер тізбегі бірдей болды және GRAS тұқымдасының 13 ТФ гендерінің mRNA-да байланысу сайттары болды және олигопептид ILARN кодтады.

6. *A. thaliana* ERF ТФ тұқымдасына жататын 123 гендерінің mRNA-мен 428 ath-miRNA-нан 25 гендері сегіз miRNA-ның нысаны болып табылды. *O. sativa* 738 miRNA-дан тек 13 miRNA ғана 138 геннің ішінен 16 генінің mRNA-мен тиімді байланысады. *Z. mays* ERF тұқымдасының 186 ТФ гендерінің mRNA-мен 325 miRNA-нан тек екі ген екі miRNA-ның нысаны болды. *T. aestivum* 169 гендерінің mRNA-мен 125 miRNA ішінен тек бес ген төрт miRNA-ның нысаны болып табылды.

7. *A. thaliana* C2H2 тұқымдасына жататын 87 ТФ генінің mRNA-мен 428 ath-miRNA-нан 17 ген ғана тоғыз miRNA-ның нысаны болды. *O. sativa* C2H2 тұқымдасына жататын 738 osa-miRNA және 105 ТФ гендерінің mRNA ішінен 14 miRNA үшін тек 17 нысана ген анықталды. 322 zma-miRNA-нан және *Z. mays* тұқымдасының C2H2 ТФ 138 гендерінің mRNA-нан, zma-miRNA-мен байланысатын нысана гендердің саны алты болды. *T. aestivum* C2H2 тұқымдасының 211 ТФ генінің mRNA-мен 125 miRNA-нан үш miRNA үшін тек алты нысана ген анықталды.

8. TF C2H2, ERF, GRAS тұқымдастарында бірнеше нысана гендері бар ath-miR5021-5p, ath-miR5658-5p, osa-miR2102-5p, osa-miR5075-3p үшін байланысу сайттарының нуклеотидтік тізбектері консервативті және кодталған олигопептидтер консервативті екені анықталды: ath-miR5021-5p - SSSSSS, ath-miR5658-5p - НННННН, osa-miR2102-5p - ААААА және GGGGGG, osa-miR5075-3p - ААААА және GGGGG.

9. 325 zma-miRNA және 17508 адамның гендерінен тек тоғыз жалғыз zma-miRNA үшін 38 нысана ген және 94 zma-miRNA тұқымдастарына 211 нысана гендер анықталды. 125 tae-miRNA және 17508 гендерінің mRNA-нан 44 жалғыз tae-miRNA үшін 116 нысана ген және 23 tae-miRNA тұқымдасына 57 нысана ген анықталды. Адамның 17 508 геннің 738 osa-miRNA ішінде 277 osa-miRNA-ға арналған 942 нысана ген анықталды. 131 жалғыз miRNA үшін 641 нысана ген анықталды. osa-miRNA тұқымдастарының жалпы саны - 146, ал олардың нысана гендерінің саны - 301.

Зерттелген zma-miRNA, tae-miRNA, osa-miRNA-ның көпшілігі онкологиялық, нейродегенеративті және жүрек-қан тамырлары ауруларының дамуына қатысатын адам гендеріне әсер етуі мүмкін.

Негізгі ғылыми жұмыстардың жоспарымен байланыс. Диссертациялық жұмыс «miRNA мен олардың нысана гендері ассоциациялары негізінде жүрек-қан тамырлары, онкологиялық және нейродегенеративті ауруларды ерте диагностикалаудың тестілік жүйелерін құру» Қазақстан Республикасының Білім және ғылым министрлігінің № АР05132460 жобасы аясында жүргізілді (2018-2020).

Жұмыстың апробациясы. Негізгі нәтижелер ұсынылды және талқыланды:

- VII Халықаралық ғылыми конференцияда "Prospects for the development of biology, medicine and pharmacy" (Шымкент, Қазақстан, 2018);

- "Biotechnology: state of the art and perspectives" Халықаралық конгрессте (Москва, Россия, 2019);

- V Халықаралық ғылыми конференцияда "Plant genetics, genomics, bioinformatics and biotechnology" (Новосибирск, Россия, 2019);

- Студенттер мен жас ғалымдардың VI Халықаралық ғылыми конференциясында "Farabi alemi" (Алматы, Қазақстан, 2019);

- IX Мәскеу конференциясында МССМВ'19 (Москва, Россия, 2019).

- V Халықаралық ғылыми конференцияда "Current challenges in plant genetics, genomics, bioinformatics, and biotechnology" (Новосибирск, Россия, 2019);

- академик Мұрат Әбенұлы Айтхожиннің 80 жылдығына арналған халықаралық жас ғалымдардың ғылыми конференциясында «Fundamental research and innovations in molecular biology, biotechnology, biochemistry» (Алматы, Қазақстан, 2019);

- Халықаралық ғылыми-практикалық конференцияда "The synergy of science and practice in the context of innovative breakthroughs in the development of economy and society: national and international aspects" (Санкт-Петербург, Россия, 2019);

- VII Халықаралық ғылыми-практикалық конференцияда "Biotechnology: science and practice" (Севастополь, Россия, 2019);

- XII Халықаралық мультikonференцияда "Bioinformatics of genome regulation and structure/systems biology" (Новосибирск, Россия, 2020).

Жарияланымдар және автордың жеке үлестері. Диссертацияның негізгі мазмұны 16 баспа жұмыстарында, соның ішінде импакт-факторы бар

Scopus және Web of Knowledge-де келтірілген халықаралық журналдағы 2 мақала; Білім және ғылымдағы сапаны қамтамасыз ету комитетінің тізімінен 3 мақала; Халықаралық конференциялардың материалдарындағы 11 тезис.

Автор өз бетімен зерттеу тақырыбы бойынша әдебиеттерге талдау, эксперименттік зерттеу, зерттеу нәтижелерін талдау, диссертацияның қолжазбасын жазу және рәсімдеу жұмыстарын жүргізді.

Дипломдық жұмыстың құрылымы. Дипломдық жұмыс 164 беттен және белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттерге шолу, материалдар мен әдістерден, нәтижелер мен талқылаудан, қорытынды мен 422 пайдаланылған дерек көздерінің тізімінен тұрады; 32 кестелерді, 17 суреттерді қамтиды.