

BÖLÜM 14

MİKRORNA'LAR: TESPİT YÖNTEMLERİ VE KULLANIM ALANLARI

Mehmet Sami SERİN¹

Son yıllarda yapılan tam genom/fonksiyonel analiz çalışmaları insan genomunun yaygın olarak, protein kodlamayan, binlerce düzenleyici RNA [non-coding RNA (ncRNA)] transkribe ettiğini ortaya koymuştur. Bunlar içerisinde mikroRNA'lar (miRNA), "small interfering" RNA'lar (siRNA), "P-element-induced Wimpily Testis (PIWI) interacting" RNA'lar (piRNA) ve çeşitli, uzun protein kodlamayan RNA'lar [Long non-coding RNAs (lncRNA)] vardır. Özellikle miRNA'lar son 25 yıldır çeşitli biyomedikal disiplinlerde

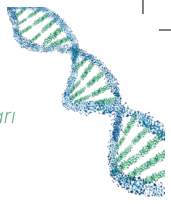
tanı ve tedavi stratejisi geliştirilmesinde oldukça geniş bir ilgi odağı haline gelmiştir. Non-coding RNA'ların sınıflandırılması Tablo-1'de verilmiştir. Ayrıca, genom üzerinde yer alan ve hastalıklarla ilişkili olan genetik varyasyonların büyük bir kısmının, protein kodlayan bölgelerin dışında kalan ve transkripsiyonu kontrol eden "promoter", "enhancer" gibi bölgelerde ve gen ifadesini düzenlemede görev yapan ncRNA'larla ilişkili olduğu da bulunmuştur^{1,2}.

Tablo 1. Non-coding RNA'ların Sınıflandırılması¹.

Tip	Kısa adı	Açık Adı	Uzunluğu (nt*)
"Housekeeping" ncRNA'lar	rRNA	ribosomal RNA	120-4,500
	tRNA	transfer RNA	76-90
	snRNA	small nuclear RNA	100-300
	snoRNA	small nucleolar RNA	60-400
	TERC	TelomeraseRNA bileşeni	-
	tRF	tRNA-Derived Fragments	16-28
	tiRNA	tRNA halves	29-50
Düzenleyici ncRNA'lar	miRNA	microRNA	21-23
	siRNA	small interfering RNA	20-25
	piRNA	piwi-interacting RNA	26-32
	eRNA	enhancer RNA	50-2,000
	lncRNA	long non-coding RNAs	>200
	circRNA	circular RNA	100-10,000
Y RNA	Y RNA	-	

*nt: nükleotit

¹ Prof. Dr., Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji AD., serinm@mersin.edu.tr



MiRNA-seq yeni nesil dizi analizi teknolojisi kullanılarak uygulanan bir çeşit RNA dizilemesidir. RNA dizilemesinin diğer şekillerinden farkı, genellikle girdi materyalinin çok fazla olmasıdır. Bu durum veri analizi ve yorumlanmasında bazı güçlükler ve yanlış ön yargılara neden olabilir.

Yüksek verimli dizilemedeki derinlik, dizileme işlemi sırasında bir nükleotitin ortalama kaç kez okunduğunu ifade eder ve miRNA dizisinde doğru dan nispi ekspresyon seviyesiyle bağlantılıdır. Örnek başına beş milyon okuma, miRNA'ların ifade analizi için yeterli istatistiksel gücü sağlamaktadır. Bu derinlikte yeni miRNA'ların keşfedilebilmesi mümkündür. Ayrıca ultra derin dizileme ile miRNA'larda, örneğin sadece küçük bir bölümündeki mutasyonların bile, tanımlanabilmeleri mümkündür.

Özetle, miRNA-seq verilerinin analizi ve yorumlanması, bağdaştırıcıları ve düşük kaliteli dizileri kaldırmak için kısa okumaların ön işleme tabi tutulmasıyla başlar. Bir sonraki adımda, elde edilen okumalar, miRDeep2 gibi bir miRNA dizileme yazılım aracı kullanılarak bir genom referans dizisiyle eşleştirilir ⁴.

Kaynaklar

1. Zhang P, Wu W, Chen Q, Chen M. Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. *J Integr Bioinform* 2019;(3): 1-12.
2. Hrdlickova B, de Almeida RC, Borek Z, Withoff S. "Genetic variation in the non-coding genome: Involvement of micro-RNAs and long non-coding RNAs in disease. *Biochim Biophys Acta* 2014;1842(10): 1910-1922.
3. Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019;20(1): 5-20.
4. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol* 2019;(234): 5451-5465.
5. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol* 2018;9: 402.
6. Serin MS. miRNA ve Diğer "Non-coding" RNA'ların Tanı ve Tedavi Stratejileri Geliştirilmesindeki Yeri. *Farmakolojide Yeni Hedefler: Tanı ve Tedavide mikroRNA'ların Potansiyel Değeri ve Araştırma Yöntemleri*. Sempozyum kitabı, s1-10. Türk Farmakoloji Derneği XXI. Eğitim Sempozyumu. Sempozyum kitapçığı. 30 Mayıs 2014. Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 20 Mayıs Amfisi, Bornova İzmir.
7. Serin MS. Geleceğin Tanı Testleri; "Biyomarkerler ve TB". *Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu. Bildiri Kitapçığı*. 28-30 Kasım, 2019 Mersin.
8. Karaarslan ZÖ, Serin MS. Hastalıkların tanı ve tedavi stratejilerinde miRNA ve diğer non-protein-coding RNA'lar. *Mersin Univ Sağlık Bilim Derg* 2016;9(3): 1159-172.
9. Yang J, Song H, Cao K, Song J, Zhou J. Comprehensive analysis of Helicobacter pylori infection-associated diseases based on miRNA-mRNA interaction network. *Brief Bioinform* 2019;20(4): 1492-1501.
10. Tribble L, Kerr E, Cowled C, Bean AGD, Stewart CR, Dearnley M, et al. MicroRNA Biomarkers for Infectious Diseases: From Basic Research to Biosensing. *Front Microbiol* 2020;11: 1197.
11. Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141: 1202-7.
12. Ülger M, Serin MS, Tezcan Ülger S, Aslan G, Emekdaş G, İlvan A, et al. Tüberküloz Hastalarında Plazma MikroRNA Seviyelerinin Belirlenmesi. 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Kitabı. PS340, s:336, 18-22 Kasım 2015, Titanic Kongre Merkezi, Antalya.
13. Cowled C, Foo CH, Defrasnes C, Rootes CL, Williams DT, Middleton D, et al. Circulating microRNA profiles of Hendra virus infection in horses. *Sci Rep* 2017;7(1): 7431.
14. Biswas S, Holeyurisetty M, Lee S, Hewlett I, Devadas, K. Development and validation of plasma miRNA biomarker signature panel for the detection of early HIV-1 infection. *EBioMedicine* 2019;42: 307-316.
15. Zhang X, Zhu M, Hu X. Integrated miRNA and mRNA expression profiling to identify mRNA targets of dysregulated miRNAs in pulmonary tuberculosis. *Epigenomics* 2018;10(8): 1051-1069.
16. Li JJ, Huang MJ, Li Z, Li W, Wang F, Wang L, et al. Identification of potential whole blood MicroRNA biomarkers for the blood stage of adult imported falciparum malaria through integrated mRNA and miRNA expression profiling. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 506: 471-477.
17. Duy J, Honko AN, Altamura LA, Bixler SL, Wollen-Roberts S, Wauquier N, et al. Virus-encoded miRNAs in Ebola virus disease. *Sci Rep* 2018;8(1): 6480.
18. Hasegawa K, Losada MP, Hoptay CE, Epstein S, Mansbach JM, Teach SJ, et al. RSV vs. rhinovirus bronchiolitis: difference in nasal airway microRNA profiles and NfκB signaling. *Pediatr Res* 2018;83: 606-614.
19. Giray BG, Emekdas G, Tezcan S, Ülger M, Serin MS, Sezgin O, et al. Profiles of serum microRNAs; miR-125b-5p and miR223-3p serve as novel biomarkers for HBV-positive hepatocellular carcinoma. *Mol Biol Rep* 2014;41(7): 4513-9.
20. Oksuz Z, Serin MS, Kaplan E, Dogen A, Tezcan S, Aslan G, et al. Serum microRNAs; miR-30c-5p, miR-223-3p, miR-302c-3p and miR-17-5p could be used as novel non-invasive biomarkers for HCV-positive cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Mol Biol Rep* 2015;42(3): 713-20.
21. Serin MS, Sezgin O, Oksuz Z, Giray B, Altintas E, Tiftik N, et al. Biomarker potential of several miRNAs for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma related with HBV and HCV infections. *Global Biotechnology Congress 2017*, s198, p130, 10-13 2017, Boston MA USA.
22. Öksüz Z, Üçbilek E, Serin MS, Yaraş S, Temel GÖ, Sezgin O. hsa-miR-17-5p: A Possible Predictor of Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir + Dasabuvir ± Ribavirin Therapy Efficacy in Hepatitis C Infection. *Curr Microbiol* 2022;167(1): 153-161.
23. Hou X, Liang Y, Chen J, Wei Y, Zeng P, Wang L, et al. Expression profiling of cellular microRNA in asymptomatic HBsAg carriers and chronic hepatitis b patients. *Biomed Res Int* 2017: 6484835.

24. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol* 2018;9: 402.
25. Iftikhar H, Carney GE. Evidence and potential in vivo functions for biofluid miRNAs: from expression profiling to functional testing: potential roles of extracellular miRNAs as indicators of physiological change and as agents of inter-cellular information exchange. *Bioessays* 2016;38: 67-78.
26. Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, et al. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2005;33(20): e179.
27. Gorur A, Balci Fidanci S, Dogruer Unal N, Ayaz L, Akbayir S, Yildirim Yaroglu H, et al. "Determination of plasma microRNA for early detection of gastric cancer". *Mol Biol Rep* 2013;40(3): 2091-6.