

Bölüm 1

KLİNİK ARAŞTIRMALARDA MİRNA KEŞFİ VE GÜNCEL IN SILICO YAKLAŞIMLAR

Berkcan DOĞAN¹

Berna AYAR²

Dilek PİRİM³

GİRİŞ

MikroRNA'lar (miRNA) ~21-23 nükleotid uzunluğunda küçük kodlanmayan RNA çeşididir. Hücre proliferasyonu, hücre döngüsü, apoptoz, tümörögenез, stres yanıtı ve yağ metabolizması gibi çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. MiRNA'lar transkripsiyon aşamasında protein kodlayan genlerin translasyonunu kendi nükleotid dizilerine tamamlayıcı hedef mesajcı RNA'yı (mRNA) tanıma özelliği sayesinde baskılayarak gen anlatımını düzenlerler. İnsan genomunda protein kodlayan genlerin %60'ının translasyonel seviyede regüle edilebildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ^{1,2,3}.

MiRNA çalışmalarında geline nokta göstermektedir ki miRNA'ların anlatımındaki değişikliklerin kanser, diyabet, viral enfeksiyonlar, kardiyovasküler hastalıklar, nörodegeneratif hastalıklar gibi çeşitli insan hastalıkları ile ilişkili olduğu bulunmuştur ^{4,5,6}. MiRNA anlatım profillerindeki farklılıkların, tanı ve prognostik biyobelirteç potansiyellerini belirlemesinin yanı sıra fenotiple ilişkili miRNA anlatımının değiştirilmesi ile potansiyel terapötik stratejiler oluşturulabilir ^{6,7}. Bonneau ve ark. (2019) 2017 yılında yaptıkları çalışmada miRNA'larla ilgili 45.000'den fazla çalışma yayınlandığını göstermişler ve bu çalışmaların büyük bir kısmının sonuçlarının hastalıkların tanı ya da tedavisine katkıda bulunabilecek doğrultuda olduğunu ve bu ilerlemenin doğrudan klinik uygulamalarla sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir ⁸.

Son yıllarda miRNA araştırmalarında geleneksel miRNA tespit yöntemle-

¹ Araş. Gör. Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bölümü, Bursa, Türkiye, berkcandoğan@uludag.edu.tr, ORCID ID: 0000-0001-8061-8131.

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bursa, Türkiye, bernayar96@gmail.com, ORCID ID: 0000-0001-8787-4517.

³ Dr. Öğr. Üyesi. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bursa, Türkiye, dilekpirim@uludag.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-0522-9432.

dilmiştir.

Bu derlemede bahsedilen *in silico* araçlar ve veri tabanları yazarlar tarafından denenmiştir ve güncelliği gözden geçirilmiştir. Farklı algoritmalar kullanılarak geliştirilmiş bu veri tabanlarının, kullanımlarındaki sıkıntılar ve kolaylıklar değerlendirilmiş, zayıf ve güçlü yönleri tartışılmıştır. Ek olarak birçoğunun biyoinformatik uzmanlığı gerektirmediği ve farklı alanlardaki araştırmacılar tarafından da kullanılabilir olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, bu derlemede araştırmalarımız sonucunda klinikte miRNA araştırmalarında kullanılacak güncel web tabanlı araçlar ve veri tabanların yanı sıra lisanslı yazılımlar hakkında ayrıntılı bilgiler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik, mikroRNA, *in silico* analiz, miRNA veri tabanları, miRNA yazılımları.

KAYNAKÇA

- 1: Pritchard, C. C., Cheng, H. H. & Tewari, M. (2012). MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nat Rev Genet*, 13(5), 358-369. Doi:10.1038/nrg3198
- 2: Filipowicz, W., Bhattacharyya, S. N. & Sonenberg, N. (2008). Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*, 9(2), 102-114. Doi:10.1038/nrg2290
- 3: Catalanotto, C., Cogoni, C. & Zardo, G. (2016). MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci*, 17(10). Doi:10.3390/ijms17101712
- 4: Wang, J., Chen, J. & Sen, S. (2016). MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics. *J Cell Physiol*, 231(1), 25-30. Doi:10.1002/jcp.25056
- 5: Lawrie, C. H. (2014). *MicroRNAs in Medicine*: John Wiley & Sons.
- 6: Walayat, A., Yang, M. & Xiao, D. (2018). Therapeutic Implication of miRNA in Human Disease. In S. Kapur (Ed.), *Antisense Therapy*: IntechOpen.
- 7: Huang, W. (2017). MicroRNAs: Biomarkers, Diagnostics, and Therapeutics. *Methods Mol Biol*, 1617, 57-67. Doi:10.1007/978-1-4939-7046-9_4
- 8: Bonneau, E., Neveu, B., Kostantin, E. et al. (2019). How close are miRNAs from clinical practice? A perspective on the diagnostic and therapeutic market. *EJIFCC*, 30(2), 114-127.
- 9: Cheng, Y., Dong, L., Zhang, J. et al. (2018). Recent advances in microRNA detection. *Analyst*, 143(8), 1758-1774. Doi:10.1039/C7AN02001E
- 10: Ye, J., Xu, M., Tian, X. et al. (2019). Research advances in the detection of miRNA. *J Pharm Anal*, 9(4), 217-226. Doi:10.1016/j.jpha.2019.05.004
- 11: Zhang, B., Cai, F. F. & Zhong, X. Y. (2011). An overview of biomarkers for the ovarian cancer diagnosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 158(2), 119-123. Doi:10.1016/j.ejogrb.2011.04.023
- 12: Dedeoglu, B. G. (2014). High-throughput approaches for microRNA expression analysis. *Methods Mol Biol*, 1107, 91-103. Doi:10.1007/978-1-62703-748-8_6
- 13: Coenen-Stass, A. M. L., Magen, I., Brooks, T. et al. (2018). Evaluation of methodologies for microRNA biomarker detection by next generation sequencing. *RNA Biol*, 15(8), 1133-1145. Doi: 10.1080/15476286.2018.1514236
- 14: Zhang, C. (2009). Novel functions for small RNA molecules. *Curr Opin Mol Ther*, 11(6), 641-651.
- 15: Chen, L., Heikkinen, L., Wang, C. et al. (2019). Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Brief Bioinform*, 20(5), 1836-1852. Doi:10.1093/bib/bby054
- 16: Riffo-Campos, A. L., Riquelme, I. & Brebi-Mieville, P. (2016). Tools for Sequence-Based miRNA

- Target Prediction: What to Choose? *Int J Mol Sci*, 17(12). Doi:10.3390/ijms17121987
- 17: Griffiths-Jones, S., Grocock, R. J., van Dongen, S. et al. (2006). miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res*, 34(Database issue), D140-144. Doi:10.1093/nar/gkj112
 - 18: Kozomara, A. & Griffiths-Jones, S. (2011). miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 39(Database issue), D152-157. Doi:10.1093/nar/gkq1027
 - 19: Lewis, B. P., Shih, I. H., Jones-Rhoades, M. W. et al. (2003). Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell*, 115(7), 787-798. Doi:10.1016/s0092-8674(03)01018-3
 - 20: Yue, D., Liu, H. & Huang, Y. (2009). Survey of Computational Algorithms for MicroRNA Target Prediction. *Curr Genomics*, 10(7), 478-492. Doi:10.2174/138920209789208219
 - 21: Lim, L. P., Lau, N. C., Garrett-Engele, P. et al. (2005). Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*, 433(7027), 769-773. Doi:10.1038/nature03315
 - 22: Xun, Y., Tang, Y., Hu, L. et al. (2019). Purification and Identification of miRNA Target Sites in Genome Using DNA Affinity Precipitation. *Front Genet*, 10, 778. Doi:10.3389/fgene.2019.00778
 - 23: Long, J. M., Maloney, B., Rogers, J. T. et al. (2019). Novel upregulation of amyloid-beta precursor protein (APP) by microRNA-346 via targeting of APP mRNA 5'-untranslated region: Implications in Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*, 24(3), 345-363. Doi:10.1038/s41380-018-0266-3
 - 24: Liu, W. & Wang, X. (2019). Prediction of functional microRNA targets by integrative modeling of microRNA binding and target expression data. *Genome Biol*, 20(1), 18. Doi:10.1186/s13059-019-1629-z
 - 25: Karagkouni, D., Paraskevopoulou, M. D., Chatzopoulos, S. et al. (2018). DIANA-TarBase v8: a decade-long collection of experimentally supported miRNA-gene interactions. *Nucleic Acids Res*, 46(D1), D239-D245. Doi:10.1093/nar/gkx1141
 - 26: Lewis, B. P., Burge, C. B. & Bartel, D. P. (2005). Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 120(1), 15-20. Doi:10.1016/j.cell.2004.12.035
 - 27: Agarwal, V., Bell, G. W., Nam, J. W. et al. (2015). Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *Elife*, 4. Doi:10.7554/eLife.05005
 - 28: Friedman, R. C., Farh, K. K., Burge, C. B. et al. (2009). Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 19(1), 92-105. Doi:10.1101/gr.082701.108
 - 29: Sticht, C., De La Torre, C., Parveen, A. et al. (2018). miRWalk: An online resource for prediction of microRNA binding sites. *PLoS One*, 13(10), e0206239. Doi:10.1371/journal.pone.0206239
 - 30: Tokar, T., Pastrello, C., Rossos, A. E. M. et al. (2018). mirDIP 4.1-integrative database of human microRNA target predictions. *Nucleic Acids Res*, 46(D1), D360-D370. Doi:10.1093/nar/gkx1144
 - 31: Wu, W. S., Tu, B. W., Chen, T. T. et al. (2017). CSmiRTar: Condition-Specific microRNA targets database. *PLoS One*, 12(7), e0181231. Doi:10.1371/journal.pone.0181231
 - 32: Hafner, M., Landthaler, M., Burger, L. et al. (2010). Transcriptome-wide identification of RNA-binding protein and microRNA target sites by PAR-CLIP. *Cell*, 141(1), 129-141. Doi:10.1016/j.cell.2010.03.009
 - 33: Chi, S. W., Zang, J. B., Mele, A. et al. (2009). Argonaute HITS-CLIP decodes microRNA-mRNA interaction maps. *Nature*, 460(7254), 479-486. Doi:10.1038/nature08170
 - 34: Ahadi, A., Sablok, G. & Hutvagner, G. (2017). miRTar2GO: a novel rule-based model learning method for cell line specific microRNA target prediction that integrates Ago2 CLIP-Seq and validated microRNA-target interaction data. *Nucleic Acids Res*, 45(6), e42. Doi:10.1093/nar/gkw1185
 - 35: Ulitsky, I., Laurent, L. C. & Shamir, R. (2010). Towards computational prediction of microRNA function and activity. *Nucleic Acids Res*, 38(15), e160. Doi:10.1093/nar/gkq570
 - 36: Backes, C., Khaleeq, Q. T., Meese, E. et al. (2016). miEAA: microRNA enrichment analysis and annotation. *Nucleic Acids Res*, 44(W1), W110-116. Doi:10.1093/nar/gkw345

- 37: Russo, F., Di Bella, S., Vannini, F. et al. (2018). miRandola 2017: a curated knowledge base of non-invasive biomarkers. *Nucleic Acids Res*, 46(D1), D354-D359. Doi:10.1093/nar/gkx854
- 38: Nalluri, J. J., Barh, D., Azevedo, V. et al. (2017). miRsig: a consensus-based network inference methodology to identify pan-cancer miRNA-miRNA interaction signatures. *Sci Rep*, 7, 39684. Doi:10.1038/srep39684
- 39: Liu, H. C., Peng, Y. S. & Lee, H. C. (2019). miRDRN-miRNA disease regulatory network: a tool for exploring disease and tissue-specific microRNA regulatory networks. *PeerJ*, 7, e7309. Doi:10.7717/peerj.7309
- 40: Svoronos, A. A., Engelman, D. M. & Slack, F. J. (2016). OncomiR or Tumor Suppressor? The Duplicity of MicroRNAs in Cancer. *Cancer Res*, 76(13), 3666-3670. Doi:10.1158/0008-5472.CAN-16-0359
- 41: Lu, J., Getz, G., Miska, E. A. et al. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 435(7043), 834-838. Doi:10.1038/nature03702
- 42: Yang, Z., Wu, L., Wang, A. et al. (2017). dbDEMC 2.0: updated database of differentially expressed miRNAs in human cancers. *Nucleic Acids Res*, 45(D1), D812-D818. Doi:10.1093/nar/gkw1079
- 43: Wong, N. W., Chen, Y., Chen, S. et al. (2018). OncomiR: an online resource for exploring pan-cancer microRNA dysregulation. *Bioinformatics*, 34(4), 713-715. Doi:10.1093/bioinformatics/btx627
- 44: Xie, B., Ding, Q., Han, H. et al. (2013). miRCancer: a microRNA-cancer association database constructed by text mining on literature. *Bioinformatics*, 29(5), 638-644. Doi:10.1093/bioinformatics/btt014
- 45: Huang, Z., Shi, J., Gao, Y. et al. (2019). HMDD v3.0: a database for experimentally supported human microRNA-disease associations. *Nucleic Acids Res*, 47(D1), D1013-D1017. Doi:10.1093/nar/gky1010
- 46: Ludwig, N., Leidinger, P., Becker, K. et al. (2016). Distribution of miRNA expression across human tissues. *Nucleic Acids Res*, 44(8), 3865-3877. Doi:10.1093/nar/gkw116
- 47: Fan, Y., Siklenka, K., Arora, S. K. et al. (2016). miRNet - dissecting miRNA-target interactions and functional associations through network-based visual analysis. *Nucleic Acids Res*, 44(W1), W135-141. Doi:10.1093/nar/gkw288
- 48: Gunel, T., Gumusoglu, E., Dogan, B. et al. (2018). Potential biomarker of circulating hsa-miR-1273g-3p level for detection of recurrent epithelial ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet*, 298(6), 1173-1180. Doi:10.1007/s00404-018-4913-3
- 49: Pirim, D. & Dogan, B. (2019). In silico identification of putative roles of food-derived xeno-miRNAs on diet-associated cancer. *Nutr Cancer*, 1-8. Doi:10.1080/01635581.2019.1670854
- 50: Fromm, B., Domanska, D., Hoyer, E. et al. (2019). MirGeneDB 2.0: the metazoan microRNA complement. *Nucleic Acids Res*. Doi:10.1093/nar/gkz885
- 51: Naeem, H., Kuffner, R., Csaba, G. et al. (2010). miRSel: automated extraction of associations between microRNAs and genes from the biomedical literature. *BMC Bioinformatics*, 11, 135. Doi:10.1186/1471-2105-11-135
- 52: Lu, T. P., Lee, C. Y., Tsai, M. H. et al. (2012). miRSystem: an integrated system for characterizing enriched functions and pathways of microRNA targets. *PLoS One*, 7(8), e42390. Doi:10.1371/journal.pone.0042390
- 53: Kehl, T., Kern, F., Backes, C. et al. (2020). miRPathDB 2.0: a novel release of the miRNA Pathway Dictionary Database. *Nucleic Acids Res*, 48(D1), D142-D147. Doi:10.1093/nar/gkz1022
- 54: Nguyen, L., Cardenas-Goicoechea, S. J., Gordon, P. et al. (2013). Biomarkers for early detection of ovarian cancer. *Womens Health (Lond)*, 9(2), 171-185; quiz 186-177. Doi:10.2217/whe.13.2
- 55: Nakamura, K., Sawada, K., Yoshimura, A. et al. (2016). Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in ovarian cancer. *Mol Cancer*, 15(1), 48. Doi:10.1186/s12943-016-0536-0
- 56: Prahm, K. P., Novotny, G. W., Hogdall, C. et al. (2016). Current status on microRNAs as biomarkers for ovarian cancer. *APMIS*, 124(5), 337-355. Doi:10.1111/apm.12514
- 57: Krepelkova, I., Mrackova, T., Izakova, J. et al. (2019). Evaluation of miRNA detection methods

- for the analytical characteristic necessary for clinical utilization. *Biotechniques*, 66(6), 277-284. Doi:10.2144/btn-2019-0021
- 58: Moore, A. C., Winkler, J. S. & Tseng, T. T. (2015). Bioinformatics Resources for MicroRNA Discovery. *Biomark Insights*, 10(Suppl 4), 53-58. Doi:10.4137/BMI.S29513
- 59: Krämer, A., Green, J., Pollard, J. Jr. et al. (2014). Causal analysis approaches in Ingenuity Pathway Analysis. *Bioinformatics*, 30(4), 523-530. Doi:10.1093/bioinformatics/btt703
- 60: Nikitin, A., Egorov, S., Daraselia, N. et al. (2002). Pathway studio-the analysis and navigation of molecular networks. *Bioinformatics*, 19(16), 2155-2157. Doi:10.1093/bioinformatics/btg290