

Поиск генов-мишеней микроРНК во взаимодействии человека и кишечного микробиома

Трошина Д.А.^{2*}, Шошин Ф.В.³, Степанова А.А.¹, Орлов Ю.Л.^{1, 4}

¹ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, Ярославль, Россия

⁴ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

* darya.troshina02@mail.ru, orlov@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: медицинская информатика; гены-мишени микроРНК; кишечный микробиом; микроРНК; IntaRNA; TargetRNA3

Мотивация и цель: Современная медицина сталкивается с необходимостью разработки новых подходов к профилактике и лечению широкого спектра заболеваний, связанных с дисбалансом кишечного микробиома. МикроРНК, как ключевые регуляторы генной экспрессии [1], представляют собой перспективные молекулярные инструменты для модулирования микробиоты [2]. Однако, несмотря на значительный прогресс в исследовании микроРНК, до сих пор остается множество неизведанных аспектов их взаимодействия с микробиомом, что требует дальнейшего изучения. Целью данного исследования является углубленное изучение роли микроРНК в регуляции кишечного микробиома человека и идентификация бактериальных генов-мишеней, которые могут быть задействованы в этом процессе, с использованием биоинформационных баз данных и онлайн-ресурсов. Это позволит не только расширить понимание молекулярных механизмов взаимодействия микроРНК и микробиома, но и способствовать разработке новых стратегий для коррекции микробиоты и улучшения здоровья.

Методы и алгоритмы: Для поиска интересующих нас микроРНК были использованы базы данных: miRbase (<https://www.mirbase.org/>), miRDB (<https://mirdb.org/>), TargetScanHuman (https://www.targetscan.org/vert_80/). Для предсказания генов-мишеней были использованы: IntaRNA (<http://rna.informatik.uni-freiburg.de/IntaRNA/Input.jsp>) и TargetRNA3 (<https://cs.wellesley.edu/~btjaden/TargetRNA3/>).

Результаты: Из литературных источников были отобраны 10 предполагаемых микроРНК с последовательностями, которые влияют на кишечный микробиом человека (miR-515-5p, miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-876-5p, miR-148-3p, miR-21, miR-101, miR-325, miR-623, miR-1253) [3]. С помощью базы данных miRbase.org были получены последовательности интересующих нас 10 пре-микроРНК, после чего была сделана визуализация шпилек пре-микроРНК с использованием веб-сервиса ViennaRNA (<http://www.viennarna.at/>). Для всех микроРНК прокариот были предсказаны гены-мишени с помощью инструмента IntaRNA. В итоге были получены большое количество предполагаемых генов мишеней (приблизительно по 100 генов для каждой микроРНК). Вследствие обилия генов мы решили выделить общие мишени среди исследуемых микроРНК для рассмотрения механизмов воздействия на представителей кишечного сообщества человека.

Несмотря на различную природу исследуемых микроРНК, можно предположить схожесть их генов-мишеней, что указывает на схожий спектр влияния. При использовании TargetRNA3 были предсказаны гены-мишени только для 5 микроРНК (miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-148-3p, miR-101, miR-1253). Всего отобрано 4 гена – *mukB*, *cysI*, *fadK* и C7Y58_RS04465. Больше всех был предсказан ген *mukB*, для miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-148-3p и имел большую энергию связи с данными микроРНК: miR-1226-5p – -8.34 kcal/mol, miR-194-5p – -5.33 kcal/mol, miR-148-3p – -8.15 kcal/mol. Продукт данного гена играет центральную роль в конденсации хромосом, сегрегации и развитии клеточного цикла. Функционирует как гомодимер, который необходим для разделения хромосом. Участвует в отрицательной суперспирализации ДНК *in vivo* и тем самым организует и уплотняет хромосомы. Может достигать или облегчать сегрегацию хромосом за счет конденсации ДНК с обеих сторон центрально расположенной реплисомы во время клеточного деления. Стимулирует как релаксацию ДНК, так и, в меньшей степени, активность декатенации топоизомеразы IV [4].

Выводы: В рамках настоящего исследования был проведен анализ потенциальных генов-мишеней микроРНК в контексте взаимодействия человека и кишечного микробиома с использованием биоинформатических инструментов IntaRNA и TargetRNA3. Полученные данные указывают на значительные различия в предсказаниях генов-мишеней, что подчеркивает сложность молекулярных взаимодействий микроРНК с ними, а также необходимость дальнейшего углубленного анализа и экспериментальной валидации. Стоит упомянуть роль гена *mukB*, имевшего большую энергию связи с микроРНК (miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-148-3p): ген *mukB*, предсказанный как мишень для нескольких микроРНК, играет центральную роль в жизненно важных процессах бактериальной клетки, что подчеркивает потенциальное значение микроРНК в регуляции клеточного цикла и поддержании структуры генома микроорганизмов. Дальнейшие исследования данного гена могут позволить лучше понять процесс взаимодействия микробиоты и хозяина, а также разработать новые методы микроРНК-терапии заболеваний ЖКТ (желудочно-кишечного тракта), на данный момент очень перспективным является использование антисмысловых олигонуклеотидов в лечении различных патологий [5]. Результаты подчеркивают необходимость комплексного подхода к анализу взаимодействий микроРНК и микробиоты ЖКТ, включая использование различных биоинформатических инструментов, экспериментальную валидацию и обновление геномных баз данных. Дальнейшие исследования должны сосредоточиться на углубленном понимании этих взаимодействий для разработки новых стратегий профилактики и лечения заболеваний, связанных с микробиотой ЖКТ.

Финансирование: Исследование поддержано РНФ (грант 24-24-00563, «Разработка цифровых образовательных программ в биомедицине»).

Search for microRNA target genes in human-gut microbiome interactions

Troshina D.A.^{2*}, Shoshin F.V.³, Stepanova A.A.¹, Orlov Y.L.^{1, 4}

¹ First Moscow State Medical University of the Russian Ministry of Health (Sechenov University),
Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ YSMU of the Ministry of Health of Russia, Yaroslavl, Russia

⁴ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

* darya.troshina02@mail.ru, orlov@bionet.nsc.ru

Key words: medical informatics; microRNA target genes; intestinal microbiome; microRNA; IntaRNA; TargetRNA3

Motivation and Aim: Modern medicine faces the need to develop new approaches to the prevention and treatment of a wide range of diseases associated with an imbalance of the intestinal microbiome. MicroRNAs, as key regulators of gene expression [1], represent promising molecular tools to modulate the microbiota [2]. However, despite the significant progress in the study of microRNAs, there are still many unexplored aspects of their interaction with the microbiome that require further investigation. The aim of this study is to investigate the role of microRNAs in the regulation of the human intestinal microbiome and to identify bacterial target genes that may be involved in this process using bioinformatics databases and online resources. This will not only increase the understanding of the molecular mechanisms of microRNA-microbiome interactions, but also contribute to the development of new strategies to correct the microbiota and improve health.

Methods and Algorithms: The following databases were used to search for microRNAs of interest: miRbase (<https://www.mirbase.org/>), miRDB (<https://mirdb.org/>), and TargetScanHuman (https://www.targetscan.org/vert_80/). IntaRNA (<http://rna.informatik.uni-freiburg.de/IntaRNA/Input.jsp>) and TargetRNA3 (<https://cs.wellesley.edu/~btjaden/TargetRNA3/>) were used to predict target genes.

Results: We selected 10 putative microRNAs with sequences that affect the human intestinal microbiome (miR-515-5p, miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-876-5p, miR-148-3p, miR-21, miR-101, miR-325, miR-623, miR-1253) from the literature [3]. The sequences of the 10 pre-miRNAs of interest were obtained using the miRbase.org database, followed by visualisation of the pre-miRNA hairpins using the ViennaRNA web service (<http://www.viennarna.at/>). For all prokaryotic microRNAs, target genes were predicted using the IntaRNA tool. As a result, a large number of putative target genes were obtained (approximately 100 genes for each microRNA). Due to the abundance of genes, we decided to identify common targets among the studied microRNAs in order to consider the mechanisms of impact on the human gut community. Despite the different nature of the studied microRNAs, we can assume the similarity of their target genes, indicating a similar spectrum of influence. Using TargetRNA3, target genes were predicted for only 5 microRNAs (miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-148-3p, miR-101, miR-1253). A total of 4 genes, mukB, cysI, fadK and C7Y58_RS04465, were selected. The mukB gene was most predicted for miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-148-3p and had a high binding energy to these miRNAs: miR-1226-

5p – –8.34 kcal/mol, miR-194-5p – –5.33 kcal/mol, miR-148-3p – –8.15 kcal/mol. The product of this gene plays a central role in chromosome condensation, segregation and cell cycle progression. Functions as a homodimer that is required for chromosome segregation. Participates in the negative superhelicisation of DNA *in vivo* and thereby organises and compacts chromosomes. May achieve or facilitate chromosome segregation by condensing DNA on both sides of a centrally located replisome during cell division. Stimulates both DNA relaxation and, to a lesser extent, topoisomerase IV decatenation activity [4].

Conclusion: This study analysed potential microRNA target genes in the context of human-gut microbiome interactions using the bioinformatic tools IntaRNA and TargetRNA3. The data obtained indicate significant differences in the prediction of target genes, which emphasises the complexity of molecular interactions of microRNAs with them, as well as the need for further in-depth analysis and experimental validation. It is worth mentioning the role of the mukB gene, which had a high binding energy with microRNAs (miR-1226-5p, miR-194-5p, miR-148-3p): the mukB gene, predicted as a target for several miRNAs, plays a central role in vital processes of the bacterial cell, highlighting the potential importance of microRNAs in cell cycle regulation and maintenance of microbial genome structure. Further studies of this gene may allow us to better understand the process of interaction between microbiota and host, as well as to develop new methods of microRNA therapy of GI (gastrointestinal tract) diseases. At the moment, the use of antisense oligonucleotides in the treatment of various pathologies is very promising [5]. The results emphasise the need for a comprehensive approach to the analysis of interactions between miRNAs and the GI microbiota, including the use of various bioinformatic tools, experimental validation and updating of genomic databases. Further research should focus on a deeper understanding of these interactions to develop new strategies for the prevention and treatment of diseases related to the GI microbiota.

Funding: This work was supported by Russian Science Foundation (grant project 24-24-00563, «Development of digital education programs in biomedicine»).

Список литературы/References

1. Saini H.K., Enright A.J., Griffiths-Jones S. Annotation of mammalian primary microRNAs. *BMC Genomics*. 2008;9:564
2. Yu Y. et al. MicroRNAs: The novel mediators for nutrient-modulating biological functions. *Trends Food Sci Technol*. 2021;114:167-175
3. Bi K., Zhang X., Chen W., Diao H. MicroRNAs Regulate Intestinal Immunity and Gut Microbiota for Gastrointestinal Health: A Comprehensive Review. *Genes*. 2020;9:1075
4. Sawitzke J., Austin S. An analysis of the factory model for chromosome replication and segregation in bacteria. *Mol Microbiol*. 2001;40:786-794
5. Gebert L.F. et al. Miravirsin (SPC3649) can inhibit the biogenesis of miR-122. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(1):609-621