

Потенциальные регуляторные днРНК и мРНК-мишени опухоли-супрессорной микроРНК miR-124-3p в транскриптоме рака яичников

Зайченко Д.М.¹, Астафьева Я.Р.¹, Урошлев Л.А.², Фридман М.В.²,
Бурденный А.М.¹, Логинов В.И.¹, Московцев А.А.^{1*}, Брага Э.А.¹

¹ Институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

² Институт общей генетики им. Вавилова РАН, Москва, Россия

* bioinf@mail.ru

Ключевые слова: транскриптом; днРНК; SKOV3; экспрессия miR-124-3p; микрочипы Affymetrix HTA 2.0

Мотивация и цель: Мотивом для работы являются идентификация и характеристика регуляторных длинных некодирующих РНК (днРНК) и мРНК-мишеней микроРНК miR-124-3p при раке яичников (РЯ) с использованием транскриптомных данных. Цель – определить функциональный ответ этих РНК на сверхэкспрессию miR-124-3p и идентифицировать потенциальные маркеры РЯ.

Методы и алгоритмы: В работе использовались анализ транскриптомных данных из базы данных NCBI GEO для скрининга регуляторных днРНК и мРНК-мишеней miR-124-3p при раке яичников, корреляционный анализ между miR-124-3p и днРНК/мРНК в транскриптоме рака яичников, трансфекция и сверхэкспрессия в клетках SKOV3 миметиков miR-124-3p, анализ дифференциальной экспрессии днРНК и мРНК в этих клетках с использованием микрочипов Affymetrix HTA 2.0, выравнивание последовательностей между miR-124-3p и выбранными днРНК и мРНК с использованием алгоритма Смита–Уотермана, анализ функционального ответа выбранных днРНК и мРНК-мишеней на сверхэкспрессию miR-124-3p в клетках SKOV3, биоинформатический прогноз потенциальных мишеней мРНК и днРНК, которые взаимодействуют с miR-124-3p.

Результаты: Было показано, что miR-124-3p является критическим опухолевым супрессором при многих типах рака. Скрининг регуляторных днРНК и мРНК-мишеней этой микроРНК при РЯ проводился с использованием набора транскриптомных данных 131 пациента из NCBI GEO (GSE211669). Были идентифицированы наборы из 262 днРНК ($R_s < -0.5$, $p < 0.01$) и 333 мРНК ($R_s < 0.7$, $p < 0.0001$), отрицательно коррелирующих с miR-124-3p. Данные корреляционного анализа РНК трех типов в транскриптоме РЯ сравнивали с функциональным ответом клеток SKOV3 на сверхэкспрессию miR-124-3p. Мы трансфицировали SKOV3 с использованием имитатора miR-124-3p и проанализировали дифференциально экспрессируемые (ДЭ) днРНК и мРНК с использованием высокопроизводительных микрочипов Affymetrix HTA 2.0. Среди 333 мРНК, отрицательно коррелирующих с miR-124, в клетках SKOV3 было обнаружено 127 ДЭ мРНК, из которых 94 мРНК были подавлены в 1.1–1.7 раза ($p < 0.3$). Локальное выравнивание последовательностей между miR-124-3p и выбранными 333 мРНК и 262 днРНК проводили с использованием банка данных NCBI GEO с помощью алгоритма Смита–Уотермана. Были отобраны 8 днРНК и

15 мРНК-мишеней, характеризующихся одним или несколькими сайтами связывания размером 7-8 мер. Определен уровень функционального ответа этих РНК на трансфекцию клеток SKOV3 миметиком miR-124-3p. По данным, полученным на микрочипах Affymetrix HTA 2.0, 5 мРНК-мишеней из 15 предсказанных биоинформатически снизили уровень своей экспрессии в 1.1–1.7 раза ($p = 0.01–0.4$): EIF2B5, IL15RA, PARP14, RNF169, TRAF3, SNX16. Три днРНК из 8 предсказанных также показали функциональный ответ на сверхэкспрессию miR-124-3p: JAZF1-AS1, TMEM72-AS1, XIST (снижение в 1.02–1.1 раза; $p = 0.3–0.8$). **Выводы:** Идентифицированные днРНК и мРНК, взаимодействующие с miR-124-3p, могут представлять собой новые маркеры РЯ. В дальнейшем потребуется проверка полученных данных на репрезентативной выборке клинических образцов с последующей валидацией на культурах клеток.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (№ 20-15-00368).

Potential regulatory lncRNAs and mRNA-targets of the critical tumor suppressor miR-124-3p in the ovarian cancer transcriptome

Zaichenko D.M.¹, Astafeva I.R.¹, Uroshlev L.A.², Fridman M.V.², Burdenny A.M.¹, Loginov V.I.¹, Moskovtsev A.A.^{1*}, Braga E.A.¹

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

² Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia

* bioinf@mail.ru

Key words: transcriptomic data; lncRNA; SKOV3; miR-124-3p overexpression; microarrays Affymetrix HTA 2.0

Motivation and Aim: The motivation for the following work is to identify and characterize the regulatory levels of noncoding RNAs (lncRNAs) and target mRNAs of miR-124-3p in ovarian cancer (OvCa) using transcriptomic data. The goal is to determine the functional response of these RNAs to miR-124-3p overexpression and to identify potential markers of OvCa.

Methods and Algorithms: The work used analysis of transcriptomic data from the NCBI GEO database to screen for lncRNA regulators and miR-124-3p mRNA targets in ovarian cancer, correlation analysis between miR-124-3p and lncRNA/mRNA in the ovarian cancer transcriptome, transfection and overexpression miR-124-3p mimics in SKOV3 cells, analysis of differential expression of lncRNAs and mRNAs in cells using Affymetrix HTA 2.0 microarrays, competitive persistence between miR-124-3p and selected lncRNAs and mRNAs using the Smith–Waterman algorithm, analysis of third-party response of selected lncRNAs and mRNA targets for overexpression of miR-124-3p in SKOV3 cells, bioinformatic prediction of mRNA targets and lncRNAs that interact with miR-124-3p.

Results: The microRNA miR-124-3p has been shown to be a critical tumor-suppressor in many types of cancer. Screening of regulatory lncRNAs and mRNA targets of this miRNA in OvCa was carried out using a transcriptomic data set of 131 patients from NCBI GEO (GSE211669). Sets of 262 lncRNAs ($R_s < -0.5$, $p < 0.01$) and 333 mRNAs

($R_s < -0.7$, $p < 0.0001$) negatively correlated with miR-124 were identified. Data on correlation analysis RNAs of three types in the OvCa transcriptome were compared with the functional response of SKOV3 cells to overexpression of miR-124-3p. We transfected SKOV3 using a miR-124-3p mimic and analyzed differentially expressed (DE) lncRNAs and mRNAs using Affymetrix HTA 2.0 high-throughput microarrays. Among 333 mRNAs negatively correlated with miR-124, 127 DE mRNAs were detected in SKOV3 cells, of which 94 mRNAs were downregulated by 1.1–1.7-fold ($p < 0.3$). Local sequence alignment between miR-124 and selected 333 mRNAs and 262 lncRNAs was performed using NCBI GEO data bank by the Smith–Waterman algorithm. 8 lncRNAs and 15 mRNA-targets, characterized by one or more binding sites of 7mer–8mer size, were selected. The level of functional response of these RNAs to transfection of SKOV3 cells with a miR-124-3p mimic was determined. According to data obtained on Affymetrix HTA 2.0 microarrays, 5 mRNA-targets out of 15 predicted bioinformatically decreased their expression level by 1.1–1.7 times ($p = 0.01–0.4$): EIF2B5, IL15RA, PARP14, RNF169, TRAF3, SNX16. Three lncRNAs out of 8 predicted also showed a functional response to overexpression of miR-124-3p: JAZF1-AS1, TMEM72-AS1, XIST (1.02–1.1-fold decrease; $p = 0.3–0.8$).

Conclusion: The identified lncRNAs and mRNAs interacting with miR-124-3p may represent new markers of OvCa. In the future, verification of the obtained data on a representative set of clinical samples, followed by validation in cell cultures, is required.

Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation grant (No. 20-15-00368).