



Boldogkői Zsolt

■ SZTE Orvosi Biológiai Intézet

A mikro-RNS-ek világa

A szabályozó RNS-ek felfedezése

A molekuláris genetika forradalma a 20. század közepén kezdődött a DNS kettősspirál-szerkezetének felfedezésével, amely lavinát indított el, s a tudományterület azóta is folyamatosan produkálja az új, gyakran szemléletünket gyökeresen átformáló eredményeket. A korai molekuláris biológia két makromolekulára összpontosította figyelmét: a DNS-re, mint az örökítő információ hordozójára, és a fehérjékre, melyek a sejtfunkciók végrehajtói. Az RNS-t abban az időben mellékszereplőnek gondolták, melynek feladata a genetikai üzenet közvetítése a DNS és a fehérjék között (mRNS), illetve az asszisztálás e folyamathoz (tRNS és rRNS). Az elmúlt évtizedek technológiai fejlődése azonban új lehetőségeket nyitott a nukleinsavak mélyebb szintű vizsgálatában. A kutatások eredményeként egy hatalmas, eddig ismeretlen világ, a nemkódoló RNS-ek világa került a tudomány látókörébe. Kiderült, hogy az RNS-ek jóval fontosabb szerepet játszanak a sejtműködés szabályozásában, mint azt korábban gondoltuk.

A mikro-RNS-ek (miRNS-ek) felfedezése törte be az RNS-ek birodalmába vezető kaput, megalapozva ezzel egy új tudományterület, a kis RNS-ek biológiájának létrejöttét. A miRNS-ek története Victor Ambros és Gary Ruvkun felfedezésével kezdődött 1993-ban, amikor azonosították a rövid lin-4 RNS-molekulát a fejlődésgenetika modellszervezetében, a mindössze ezer sejtből álló fonálféregben, a *C. elegans*-ban. A kutatók megállapították, hogy a lin-4 egy nemkódoló RNS, amely a lin-14 gén kifejeződését szabályozza azáltal, hogy komplementer bázispárosodással a lin-14 által kódolt mRNS-hez kapcsolódik, így akadályozva meg annak leolvasását fehérjévé. A két kutató csoportjának munkája ezzel egy eddig teljesen ismeretlen génszabályozási mechanizmust tárt fel, mely az RNS-RNS kölcsönhatáson alapul. Ennek a munkának

2024 orvosi-élettani Nobel-díjasai: Victor Ambros (balra) és Gary Ruvkun



a jelentőségét azzal ismerték el, hogy az idei orvosi-élettani Nobel-díjat Ambrosnak és Ruvkunak ítelték oda.

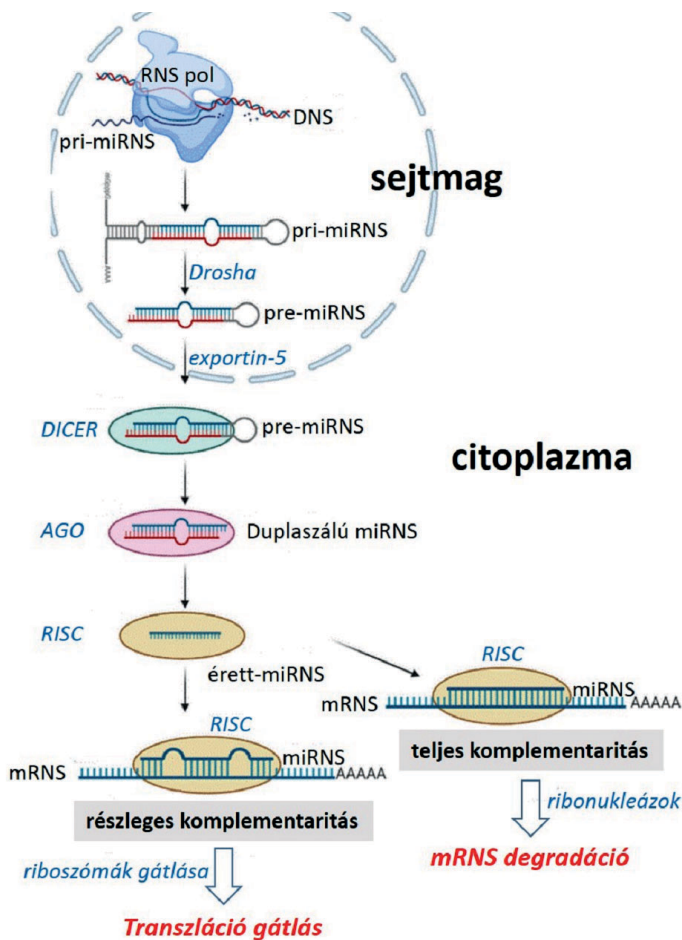
A miRNS-ek jellemzően 21–23 nukleotid-hosszúságúak, és úgy működnek, hogy egy RISC nevű fehérjekompleksszel kapcsolódva olyan mRNS-ekhez kötődnek, melyekkel részlegesen vagy teljesen komplementerek. Hamarosan felfedeztek egy másik rövid nemkódoló RNS- (sncRNS) családot is, a kis interferáló RNS-eket (siRNS-ek), melyek az ún. RNS-interferencia mechanizmusának alappilléret alkotják. Ez a molekuláris apparátus a génexpresszió szabályozása mellett a sejt és a genom védelmét is szolgálja a vírusok és transzpozázibilis elemek ellen. Később felfedezték a hosszú nemkódoló RNS- (lncRNS) féleségeket, melyek – a kis sncRNS-ekhez hasonlóan – igen változatos feladatokat látnak el a sejtben, többek között a kromatin módosításában, a transzkripció szabályozásában és a transzkripciót követő (poszttranszkripció) folyamatokban vesznek részt. A kutatások eredményeként kiderült, hogy lényegében a teljes emberi genom transzkripcionálisan aktív, azaz RNS-molekulákat állít elő, ami azért meglepő, mert a DNS-ünk alig több mint 1%-a kódol fehérjemolekulákat. Ez azt jelenti, hogy a nemkódoló RNS-molekulák óriási számban és féleségben fejeződnek ki a sejtjeinkben. Ezeknek az RNS-molekuláknak a felfedezése tehát alapjaiban változtatta meg a sejtben belüli folyamatokról való tudásunkat. Mára nyilvánvalóvá vált, hogy a nemkódoló RNS-ek kulcsszerepet játszanak számos biológiai mechanizmus koordinálásában és különféle betegségek kialakulásában.

A mikro-RNS-ek biogenezeise és hatásmechanizmusa

A mikro-RNS-ek úgynevezett primer miRNS (pri-miRNS) formában kódoltak a DNS-ben, és az RNS polimeráz II enzim segítségével íródnak le (1. ábra).

Ez a nemkódoló RNS egy vagy több hajtűszerű szerkezetet foglal magában, melyet egy Drosha nevű enzim vág ki, létrehozva a rövidebb, prekursor miRNS-t (pre-miRNS), melyt ezt követően az exportin-5 fehérje segítségével a sejtmagpórusokon keresztül a citoplazmába jut. Itt egy újabb enzim, a Dicer alakítja át kettős szálú miRNS-sé, melyek közül az egyik a RISC-hez kapcsolódik, míg a másik szál rendszerint lebomlik.

A miRNS-ek génexpresszióra gyakorolt hatása függ a miRNS és a cél-mRNS közötti komplementaritás mértékétől. Állatokban és emberben a részleges komplementaritás a gyakoribb, amit az tesz lehetővé, hogy nem a cél-gén komplementer DNS-szála kódolja, hanem attól távol helyezkedik el a genom-ban. A részleges komplementaritás módot



1. ábra. A miRNS-ekről, vázlatosan

ad arra, hogy egyetlen miRNS több, hasonló bázis-összetételű mRNS-t is megcélozzon, így komplex génhálózatokat képes szabályozni. Ha a kötődés részleges komplementaritáson alapul, akkor a miRNS-ek általában anélkül represszálják a transzlációt, hogy lebontanák az mRNS-t. A RISC ilyenkor jellemzően a riboszómák működésének gátlásával akadályozza az mRNS-ek leolvasását fehérjékké. Egy másik mechanizmus azon alapul, hogy a miRNS-RISC komplex szintén a cél-mRNS-ekhez kapcsolódva degradálja azokat azáltal, hogy a RISC egyik komponense kettévágja az mRNS-molekulát (1. ábra). Az mRNS-ek normális esetben védve vannak a sejtben jelen lévő ribonukleáz enzimektől: az egyik végükön a Cap-szerkezet, a másikon pedig a poli(A)-farok révén. A RISC általi vágás viszont sebezhetővé teszi őket, és a ribonukleázok le is bontják ezeket a molekulákat. Ez utóbbi mechanizmus rendszerint akkor lép működésbe, ha a komplementaritás a miRNS és az mRNS között teljes vagy közel teljes. Az siRNS-ek is ez utóbbi módon degradálják a cél-mRNS-eket. Ráadásul, az siRNS-ek a transzkripció szintjén is képesek szabályozni a génexpressziót azáltal, hogy az éppen leíródó pre-mRNS-hez kötődnek egy RITS fehérjekomplexszel kapcsolatban, majd ún. epigenetikai enzimeket vonzanak oda, amelyek a DNS és/vagy a hisztonfehérjék metilációja révén gátolják a transzkripciót.

A mikro-RNS-ek szerepe

A legújabb kutatások szerint a fehérjekódoló gének akár 90%-ának kifejeződése is miRNS-ek kontrollja alatt állhat, ami a genetikai szabályozásában való létfontosságú szerepükre utal. Egyrészt egyetlen miRNS többféle mRNS-t képes szabályozni, másrészt egyetlen

mRNS is általában több miRNS kontrollja alatt áll. A miRNS-ek szabályozási mechanizmusai különösen konzerváltak a fajok között, ami azt jelenti, hogy még nagy evolúciós távolságokban is nagyon hasonló a bázissorrendjük. Az evolúciós konzerváltság annak eredménye, hogy igen erős negatív szelekció védi ezeket a változással szemben, ami szintén a miRNS-ek fontosságára utal a sejtműködés szabályozásában. A miRNS-ek kulcsszerepet játszanak a sejt differenciálódásában és az egyedfejlődésben azáltal, hogy szabályozzák a génexpresszió szintjét és időzítését. A *C. elegans*-ban például a lin-4 és let-7 miRNS-ek az egyedfejlődés eseményeinek megfelelő időzítését irányítják. A let-7, amely az egyik legstabilabb bázis-összetételű miRNS, nem csupán a férgekben, hanem a gerincesekben is fontos szerepet játszik az egyedfejlődés egymást követő molekuláris mechanizmusainak összehangolásában. A miRNS-ek fontos szerepet játszanak a sejt típus meghatározásában is. Például a miR-1 elsősorban az izomszövetekben fejeződik ki, és igazolt szerepe van az izom differenciálódásban. Hasonlóképpen, a miR-124 az idegszövetekben specifikus, és létfontosságú a neurogenesis során. Ezek a miRNS-ek a sejt differenciálódási útjait meghatározó gének gátlásával segítenek stabilizálni és fenntartani a differenciált sejt típusazonosságát.

A mikro-RNS-ek és a betegségek

Rák. A miRNS-ek szabályozó szerepüknel fogva számos betegség kialakulásában is részt vesznek. A rákképződésben különösen fontos a részvételük, ahol a rákképződést elősegítő onkogénekként vagy – ellenkezőleg – tumorszuppresszoroként működhetnek. Az onkogén miRNS-ek (onkomiR-ek) a tumorképződést rendszerint a tumorszuppresszor gének gátlásával érik el, míg a tumorszuppresszor miRNS-ek (tsmiR) éppen fordítva, az onkogének gátlásával akadályozzák meg a rákos sejtek kialakulását. A miR-21 az egyik legtanulmányozottabb onkomiR, amely számos ráktípusban, köztük a máj-, mell-, tüdő- és vastagbélrákban is túltermelődik, és ezáltal gátló hatást vált ki több tumorszuppresszor gén (pl. PDCD4, PTEN és TPM1) működésére is. A let-7 miRNS szintén fontos tsmiR, amely normális esetben gátolja számos onkogén gén expresszióját. A let-7 szintjének csökkenése több ráktípusban is megfigyelhető. A tumorszuppresszor hatás másik példája a miR-34 család, amely különösen fontos szerepet játszik a p53 gén szabályozási hálózatában. A p53 gén központi rákképződést gátló szerepet tölt be a sejt ciklus kontrolljában, az apoptózis indukciójában, valamint a DNS-károsodásra adott válaszreakciókban. A miR-34 szerepe számos ráktípusban, például a prosztata-, a hasnyálmirigy- és a májrákban figyelhető meg, ahol elégtelen kifejeződése lehetővé teszi a tumorsejtek túlélését és szaporodását azáltal, hogy elkerülik az apoptózist. Ezenkívül a miR-34 célpontjai közé tartoznak az olyan gének, amelyek onko-génekké alakulhatnak, például a BCL2, a cyclin D1 és a MET, melyek a sejtek túlélésének és terjedési képességének (metasztázis) szabályozásában játszanak szerepet.

A szív- és érrendszeri betegségekben szintén jelentős szerepet játszanak a miRNS-ek. Például a miR-1 és miR-133 RNS-molekulák a szívizomsejtek szerkezetének és funkciójának szabályozásában vesznek részt. A miR-1 diszregulációja szívritmuszavarokhoz vezethet, mivel hatást gyakorol az ioncsatornák működésére. A miR-133 szerepet játszik a szívizom tömegének meghatározásában: a szívizom-hipertrofiával és a szívélgtelenséggel hozható összefüggésbe. Ezeknek és más kardiovaszkuláris miRNS-eknek a szabályozási zavara olyan állapotokhoz vezethet, mint a szívroham, érlemezésedés és különféle szívizombetegségek.



A **neurodegeneratív betegségek** szintén kapcsolatba hozhatók a miRNS-ek diszregulációjával. Például az Alzheimer-kór esetében a miR-29 játszik fontos szerepet a béta-amiloid prekursor fehérje termelésének szabályozásában. A miR-29 szintjének csökkenése fokozhatja a béta-amiloid felhalmozódását, ami az agyban neurotoxikus amiloid plakkokat képez, és hozzájárul az idegsejtek pusztulásához. A miRNS-ek expressziójának kóros változásai, amint a miR-29 esetében láttuk, súlyosbítják a neurodegenerációs folyamatokat és az ezzel párosuló kognitív hanyatlást. A miRNS-ek szerepére jó példa a miR-132 is, amely kiemelt jelentőségű az idegsejtek fejlődésében és plaszticitásában, továbbá szerepe van az agyi gyulladásos folyamatok szabályozásában. Mind az Alzheimer-kórban, mind a Parkinson-kórban kimutatták, hogy a miR-132 szintje jelentősen csökken, ami az idegsejtek túlélésének és működésének károsodásához vezethet. Alzheimer-kór esetén a miR-132 szintjének csökkenése hozzájárulhat a tau-fehérje kóros foszforilációjához is, ami az idegsejtekben neurofibrilláris kötegek kialakulásához vezet. Ezek a kötegek a neuronok pusztulását idézik elő. Parkinson-kórban a miR-132 csökkent szintje szintén összefüggésben áll az idegsejtek pusztulásával, különösen a dopaminerg neuronokban, melyek a mozgás kontrolljában játszanak szerepet.

Egyes **anyagcsere-betegségek** esetében, legalábbis részben, miRNS-ek diszfunkciója állhat a háttérben, hiszen ezek a kis RNS-molekulák nélkülözhetetlenek a cukorháztartás és az inzulintermelés precíz szabályozásához. A miR-375 például kulcsszerepet játszik az inzulin szekréciójának szabályozásában a hasnyálmirigy béta-sejtjeiben. E miRNS-ek rendellenes működése csökkentheti az inzulinszintet, ami magas vércukorszinthez és végső soron cukorbetegséghez vezethet.

Gyulladásos és autoimmun betegségekben a miRNS-ek jelentős hatást gyakorolnak az immunválasz szabályozására. Például a miR-146 kulcsszerepet játszik a gyulladásos válasz és az autoimmun folyamatok kontrollálásában azáltal, hogy regulálja a gyulladásos folyamatokat beindító géneket. A miR-146 expressziós szintjének megváltozása hozzájárulhat a krónikus gyulladás fenntartásához, ami számos autoimmun betegség, például a reumatoid artritisz progressziójához vezethet.

Fertőző betegségek esetén bizonyos vírusok képesek manipulálni a gazdasejt miRNS-eit saját szaporodásuk elősegítése érdekében. A HIV például megváltoztatja a sejt miRNS-einek kifejeződését, ami gyengíti az immunválaszt, lehetővé téve a vírus hatékonyabb replikációját és a fertőzés terjedését. A hepatitis B vírus is képes a sejtek védelmi mechanizmusainak befolyásolására: megváltoztatja a gazdasejt miRNS-einek expresszióját, így gátolja a védelmi funkciókért felelős gének kifejeződését.

Fibrotikus betegségek: A tüdőfibrozis és májfibrozis esetében a miRNS-ek, mint például a miR-21, részt vesznek a kóros hegesedés folyamatában az extracelluláris mátrix termelését fokozó gének aktiválásával. Ez a szövetek hegesedését eredményezi, és súlyosbíthatja a szervi funkciók károsodását, például a tüdő légzésfunkcióját vagy a máj méregtelenítő képességét.

A mikro-RNS-ek mint biomarkerek

A miRNS-ek ígéretes biomarkerekké váltak különböző betegségek diagnosztikájában és prognosztikájában, mivel stabilan jelen

vannak biológiai folyadékokban, például a vérben és a vizeletben. Mint az előzőekben bemutattam, a specifikus miRNS-ek kifejeződési szintjének változásai gyakran összefüggésbe hozhatók különféle rendellenességekkel. Az egyes miRNS-ek jelenléte vagy hiánya korai jelzője lehet bizonyos patológiás folyamatoknak, ezáltal lehetővé téve a korai felismerést és a személyre szabott kezelési stratégiák kidolgozását.

A mikro-RNS-ek terápiás alkalmazása

A miRNS-ek felfedezése új terápiás lehetőségeket nyitott meg, különösen a rákkezelés és a regeneratív orvoslás terén. A miRNS-eket alkalmazó terápiák általában a működésük gátlására vagy éppen ellenkezőleg, a pótlásukra törekednek. Például az antagomiR-ek, amelyek kémiaiilag módosított, egyszálú RNS-ek, arra lettek tervezve, hogy specifikus miRNS-ekhez kötődve gátolják azok működését. Ezek az inhibitorok képesek csendesíteni az onkomiR-eket, csökkentve a tumor növekedését és áttétképző képességét. Ezzel szemben a miRNS-mimetikumok (miRNS-mimik), amelyek az eredeti miRNS-ek működését utánzó mesterséges molekulák,



A Nobel-díj bejelentésekor kivetített dia (nobelprize.org).

Az egyik újságírói kérdés kapcsán az is kiderült, hogy csak Gary Ruvkunt „sikerült felébreszteni” a jó hírrel, Victor Ambrosszal nem tudtak beszélni a bejelentés előtt

segíthetnek helyreállítani azoknak a tsmiR-molekuláknak a megfelelő szintjét, amelyek a rákos sejtekben lecsökkentek. A kardiovaszkuláris betegségek terén a miRNS-alapú terápiák célja a kóros állapotok során megváltozott miRNS-szintek normalizálása. Például a miR-21 inhibitorai ígéretesek lehetnek olyan hegesedés kezelésére, amelynek során túlzott kötőszövet-felhalmozódás alakul ki például a szívben, a májban és a vesékben.

Összegzés

Az utóbbi évtizedek során gyökeresen megváltozott az RNS szerepéről alkotott képünk, a korábban lényegtelennek vélt molekulák a sejtfunkciók szabályozásának kulcsszereplőivé váltak. A miRNS-ek, mint a nemkódoló RNS-ek egyik legjelentősebb típusai, poszttranszkripció szinten szabályozzák a génexpressziót, az egyedfejlődéstől a betegségekig számos biológiai folyamatra hatnak. A technológiák robbanásszerű fejlődése egyre nagyobb ütemben tárja fel a miRNS-ek szerepét és kínál új terápiás és diagnosztikai lehetőségeket.

A közlemény elkészítését az NKFIH Mecénatúra-pályázat (MEC_N149002) támogatta, amelynek címe: „A holnap útjain: a tudomány és orvoslás új dimenziói.”