

RNA های غیر کد کننده بلند و بیماری انسان

چکیده :

اصل اساسی بیولوژی مولکولی بیان می دارد که DNA به RNA رونویسی می شود که RNA نیز به نوبه خود به پروتین ها ترجمه می شود. با این حال، ما اکنون می دانیم که بیش از 50 درصد ترانسکریپتوم فاقد پتانسیل کد کنندگی پروتین می باشد، با این حال، یک دسته مهمی از مولکول های تنظیمی مسئول تنظیم بیان ژن را شامل می شوند. اگرچه نقش RNA های تنظیمی کوچک (microRNAs و siRNAs) RNA کوچک مداخله گر) به خوبی تعریف شده است، دیگر مقوله ناشناخته از رونوشت های غیر کد کننده یعنی lncRNAs (RNA غیر کد کننده بلند) وجود دارد. lncRNAs که غالباً توسط ژنوم های یوکاریوتی بیان می شوند، دارای چندین کیلوباز طول بوده و اهداف خود را با تاثیر گذاری بر کنترل اپی ژنتیکی، وضعیت کروماتین، فراوری m-RNA یا ظرفیت ترجمه اهداف آن ها تنظیم می کند. در این مقاله مروری، من به بررسی مکانیسم های عمل بالقوه lncRNAs، فرایند های سلولی مرتبط با آن ها پرداخته و برخی از شواهد نوظهور را در زمینه نقش و مشارکت آنها در بیماری های رایج انسان ارایه می کنم.

یکی از شگفت انگیز ترین یافته های حاصل از انقلاب صنعتی این بود که اکثریت ژنوم ما رونویسی می شود و بیشتر باز ها حداقل در یک رونوشت اولیه حضور دارند(1). در حقیقت، تنها تقریباً 1.5 درصد ژنوم، پروتین ها را کد می کند(2) و بقیه، مناطق تنظیمی ژن ها 5' و 3'، مناطق اینترونی و RNA های تنظیمی نظیر miRNAs) ریز ار. ان ای)، siRNAs (RNA مداخله گر کوچک)، RNA تعاملی پی وی، RNA های هسته ای کوچک و RNA های مولکولی کوچک که در هر دو مناطق بین ژنی و درون ژنی وجود دارند(3-5) را کد گذاری می کنند. دسته دیگری از RNA های تنظیمی ترجمه نشده وجود دارند یعنی lncRNAs (RNA های غیر کد کننده بلند)(6) که امروزه به خوبی شناسای نشده اند.

lncRNAs ها تنظیم کننده های رایج بیان ژن می باشند

lncRNAs در هر دو ژنوم های یوکاریوتی و پروکاریوتی حضور دارند و بیش از 72 درصد همه ژن های انسانی و موش، تحت تاثیر تنظیم توسط مولکول های RNA قرار دارند(7). رونوشت های تنظیمی می توانند به صورت سیس

یا ترانس باشند و در مناطق اینترونی، درون ژنی و سایر مناطق ترجمه نشده ژنوم انجام می شوند. اهداف آن ها می توانند کد کننده یا غیر کد کننده باشند (یعنی، RNA های تنظیمی دیگر) و می توانند به طور مثبت (تنظیم متوازن) یا منفی (تنظیم غیر متوازن) بیان یا فراوری ژن های هدف خود را اصلاح کنند. cis-lncRNAs با اهداف خود همولوگ بوده و از یک منطقه ژنومی، ولی از رشته مخالف نشات می گیرند (این ها اغلب موسوم به رونوشت های آنتی سنز طبیعی می باشند)، در حالی که trans-lncRNAs همولوژی ناقص را با اهداف خود به اشتراک گذاشته و از مناطق دور ژنوم نشات می گیرند (8). جهت رونوشت های تنظیمی به سمت اهداف خود می تواند به صورت 5' و 5' (سر به سر، شکل 1 الف)، 3' تا 3' (دم به دم، شکل 1 ب) بوده و یا با ژن های موجود در منطقه کد کد کننده هم پوشانی داشته باشند (شکل 1 پ). رونوشت های تنظیمی - ترانس معمولا تداخل و هم پوشانی ندارند، زیرا آن ها از مناطق ژنومی متمایز می باشند.

مکانیسم های تنظیم IncRNAs

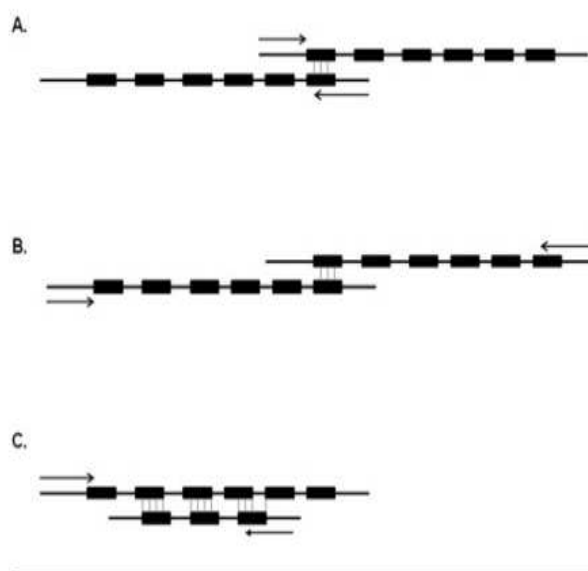
چندین مکانیسم عمل پیشنهادی برای IncRNAs (شکل 2) وجود دارند که موجب افزایش انعطاف پذیری، سازگاری و واکنش پذیری به معماری ژنومی شده و کنترل دقیقی را بر بیان ژن وارد می کند. علاوه بر مکانیسم های مطرح شده در زیر، IncRNAs تحت کنترل سایر مکانیسم ها نیز بوده اند از جمله ویرایش RNA، تداخل RNA، پوشش RNA، تداخل رونویسی و در برخی موارد فعال سازی R کیناز پروتین (9-10).

تنظیم اپی ژنتیک

IncRNAs به عنوان مولکول های داربستی برای تحویل پروتین های تنظیمی به مکان های ژنی مورد نیاز عمل می کنند. نمونه هایی از این انواع IncRNAs شامل ANRIL و HOTAIR می باشند. رونوشت آنتی سنز ANRIL بر روی رشته مخالف مکان های ژنی CDKN2A/CDKN2B کد گذاری می شود و با اتصال به زیر واحد PRC1 (کمپلکس مهار کننده پلی کامب 1) از CBX7 (کروموباکس 7) و PRC2 تاثیر خود را می گذارد. این کمپلکس ها H3K27me (متیلاسیون هیستون H3 در Lys-27) را در مکان های ژنی هدف هدایت کرده و منجر به خاموشی رونوشت های سنز بیان شده از این منطقه (11-12) می شوند. به طور مشابه HOTAIR به PRC2 و LSD1 (دی متیلاز 1 لیزین) متصل می شود که یک جزیی از CoREST (مهار کننده همراه برای کمپلکس کننده عنصر 1- از فاکتور رونویسی خاموش کننده) می باشد. مجددا، این منجر به تغییرات خاصی در وضعیت متیلاسیون و ماهیت

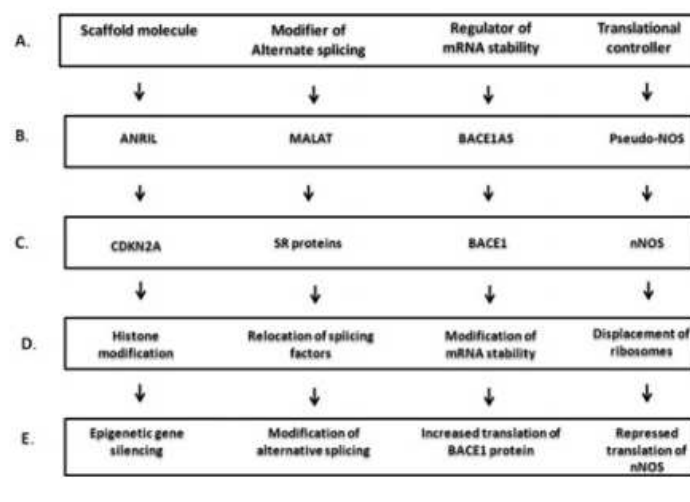
کروماتین اطراف اهداف HOTAIR در خوشه ژنی HOXD می شود (13). ژن های HOXD نظیر HOXD13، مورفوژنز را در همه موجودات چند سلولی هدایت کرده و اختلال در بیان آن ها با سرطان سینه (13) و اختلالات رشدی (14) همراه است.

شکل 1: کنفورماسیون های مختلف lncRNA: دوبلکس های هدف: الف: کنفورماسیون سر به سر، که به موجب آن انتهای 5' lncRNA با انتهای 5' ارتباط برقرار می کند. ب: کنفورماسیون دم به دم که به موجب آن انتهای 3'، lncRNA با انتهای 3' ارتباط برقرار می کند، پ: کنفورماسیون هم پوشانی که به موجب آن توالی کل lncRNA در درون توالی هدف قرار می گیرد.



شکل 2: مکانیسم های عمل lncRNA

برخی از مکانیسم های بالقوه فعالیت lncRNA الف: ماهیت lncRNA های نمونه ب: lncRNA پ: ژن هدف متناظر، ت: شیوه عمل lncRNA پ: اثرات تنظیم lncRNA ژن هدف



تنظیم پیرایش جایگزین

مکانیسم تنظیمی دیگر که به lncRNA نسبت داده می شود، شامل اصلاح پیرایش جایگزین می باشد. این در lncRNA MALAT1 به وضوح دیده می شود. MALAT1 با پروتئین های تنظیمی پیرایش غنی از SR (سرین-ارژینین) فعل و انفعال داشته و الگو های پیرایش جایگزین را تنظیم کرده و خود با تغییرات در وضعیت فسفوریلاسیون (15) تنظیم می شود. فعل و انفعال و اثر متقابل MALAT1 با این عوامل منجر به تخصیص آن ها به نقاط پیرایش در هسته (16-17) همراه با اصلاح وضعیت فسفوریلاسیون می شود. MALAT1 یک تنظیم کننده کلیدی رویداد های پیرایش جایگزین می باشد که از تنظیم کننده های مهم پلاستیسیته سلولی و سازگاری می باشند. اختلال در بیان فعالیت MALAT1 از اهمیت زیادی برای تنظیم کلی پیرایش جایگزین برخوردار هستند.

کنترل ترجمه

lncRNA نیز فعالیت ژن را با کنترل رونویسی و یا با تنظیم پایداری m-RNA به صورتی که با آنتی سنز RNA BACE1AS نشان داده شده است، تنظیم می کند BACE1AS با رونوشت (BACE1) آنزیم جدا کننده پروتئین پیش ساز امیلوئید (APP) نقطه بتا تعامل داشته و نقش مهمی در پاتولوژی AD (بیماری الزایمر) ایفا می کند. فعل و انفعال ویژه و اختصاصی بین BACE 1 و BACE 1S موجب افزایش پایداری رونوشت BACE1 می شود و به این ترتیب موجب افزایش ترجمه و فراوانی محصولات ژنی BACE1 می شود. شبه ژن NOS، pseudo-NOS بر ارتباط ریبوزوم با دوپلکس nNOS-

pseudo-NOS تاثیر گذاشته و مانع از ترجمه این هدف می شود(19).

رقابت بر سر مکان های اتصال

برخی از LncRNA ها با تنظیم آنتی سنز مستقیم ژن های هدف خود کار نمی کنند. برای مثال Gas5 lncRNA با اتصال به دامین اتصال DNA گیرنده گلوکوکورتیکوید کار کرده و موجب اصلاح بیان ژن های هدف حاوی عناصر پاسخ گلوکوکورتیوید گوانین(20) می باشد. مکانیسم های دیگر LncRNA در (21) مرور شده اند.

LncRNA و کارکرد طبیعی

LncRNA ها در فرایند های فیزیولوژیکی نرمال مختلف در همه مراحل زندگی از ابتدای تشکیل جنین و تعیین سرانجام سلول تا هموستازی فیزیولوژیکی مکانیسم ها نقش دارند. نمونه هایی از نقش آن ها در سه فرایند سلولی کلیدی در زیر توصیف شده اند.

نمو جنین

LncRNA نقش مهمی در نمو از سطح سلول های بنیادی جنینی ایفا می کند به طوری که در کنترل پلئوتروپی نقش دارد. یک مطالعه اخیر، دو LncRNA یعنی AK028326 (فعال شده OCT4) و AK141205 (مهار شده نانوغ) را شناسایی کرده است که در حلقه خود تنظیمی با فاکتور های رونویسی سلول های بنیادی جنین OCT4 و NANAOG نقش دارند. مطالعات بر روی بیان بالای ژن و خاموش سازی ژن اثبات کرده اند که بیان این LncRNA با تغییرات در بیان ژن مرتبط با نیای سلولی و تغییرات در پتانسیل پرتوانی سلول ها(22) ارتباط دارد. به طور مشابه LncRNA MISTRAL که HOX6A و HOX7A را هدف یابی می کند، بر بیان این ژن ها با استفاده از ژن MLL که در نیای هماتوپایتیک نقش دارند، تاثیر دارند(23).

کنترل چرخه سلول

LncRNA ها در کنترل چرخه سلول نقش دارند و رونوشت آنتی سنز طبیعی ANRIL یک تنظیم کننده کلیدی سه ژن مهار کننده تومور p15INK4b، p16INK4a، p14ARF و p15INK4b می باشد که همگی از خوشه ژنی CDKN 2 A/B بیان می شوند (24). p15INK4b و p16INK4a از باز دارنده های مهم کیناز 4 وابسته به سایکلین می باشند، در حالی که p14ARF به تثبیت HDM1 P53 کمک می کند(25). نقش مهم LncRNA در ارتباط

آسیب DNA با اپوپتوزیس سلولی نیز گزارش شده است. آسیب DNA موجب القای LncRNA 5 از پروموتور تنظیم کننده چرخه سلول CDKN1A می شود که یکی از پروموتور های تنظیم کننده چرخه سلول CDKN1A موسوم به PANDA، با فاکتور رونویسی NF-YA با تنظیم کاهشی بیان ژن های دخیل در بهبود آپوپتوزیس تعامل دارد (26).

جبران دوز و نقش پذیری کروموزومی

نقش کلیدی دیگر LncRNA در فیزیولوژی طبیعی، مشارکت آن ها در جبران دوز کروموزومی است. در زنان، هر سلول دارای دو رونوشت از کروموزوم X می باشد که یکی از آن ها برای اطمینان از این که دوز صحیح یا مقدار صحیحی از ژن در این کروموزوم قرار دارند، غیر فعال می شوند. غیر فعال سازی X با LncRNA موسوم به Xist کنترل می شود. Xist یکی از نخستین ژن های بیان شده پس از لقاح بوده و PRC1 و PRC2 را هدایت کرده و منجر به تغییرات هیستونی شده و در نهایت همه ژن های موجود در کروموزوم هدف را خاموش می کنند. استفاده از Xist در یکی از کروموزوم ها با سری های دیگر LncRNA کنترل می شمند و شامل آنتی سنز LncRNA Tsix است که فعالیت Xist را بر روی X فعال مهار کرده و Jpx که Xist را بر روی X خاموش، فعال سازی می کند (28).

LncRNA هم چنین نقشی حیاتی در کنترل نقش پذیری دارد که در آن یکی از آلل های والدی، به طور اپی ژنتیکی خاموش می شود. احتمالاً، بهترین مثال از این RNA غیر کد کننده AIR می باشد که نقش پذیری ژنومی یک منطقه کروموزومی حاوی مکان های ژنی IGF2R/SLC122A2/SLC22A3 را تنظیم می کند. AIR یک خاموش کننده دو سویه بوده و دارای اثر مهار کننده بر روی بیان ژن ها در این منطقه است (29).

LncRNA و بیماری انسان

با توجه به ماهیت فراگیر بیان LncRNA و نقش های کلیدی آن ها در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی از جمله تنظیم عمومی ژن، بدیهی است که آن ها در علت شناسی بیماری های انسانی نقش دارد.

سرطان

LncRNA ها یک نقشی حیاتی در کنترل چرخه سلولی، اپوپتوزیس و مهار رشد تومور ایفا می کنند. LncRNA ANIRIL سه ژن مهار کننده تومور p16INK4a و p14ARF و p15INK4b را تنظیم می کند که تنظیم کننده

های منفی مهم چرخه سلولی می باشد(30). اختلال در بیان ANRIL با توسعه انواع سرطان ها از جمله نوروبلاستوم [24]، لوسمی لنفوسیتی حاد [31]، ملانوم [30] و پروستات ارتباط داشته است. بیان بالای رونوشت HOTAIR، که یک lncRNA سیس مرتبط با خوشه ژن HOXD می باشد، با کارسینومای هیپاتوسلولی(32)، سرطان روده بزرگ [33] و سرطان پستان [13] تنظیم زدایی ژن خوشه HOXD مرتبط بوده است. تومور های سینه و تخمدان با بیان LSINCT5 lncRNA مرتبط بوده اند. این رونوشت سایر رونوشت ها را مکان یابی می کند از جمله انتی سنز RNA NEAT-1 و PSC1 که فاکتور تنظیمی پیرایشگر را کد می کند. اختلال ناشی از lncRNA در پیرایش جایگزین در سرطان ریه سلول های غیر کوچک با بیان بالای MALAT 1(35) گزارش شده است.

بیماری متابولیکی

اگرچه اطلاعات اندکی در خصوص نقش lncRNA در بیماری های درون ریز(اندوکراین) وجود دارد، چندین ژن که از واسطه های مهم متابولیسم و کارکرد اندوکراین هستند، دارای lncRNA های مذکر بوده اند. رونوشت انتی سنز PINK1 موسوم به naPINK1 اخیرا توصیف شده است. همان طور که از نامش پیداست PINK1 با PTEN القا می شود که یک باز دارنده مهم سیگنالینگ سلولی محسوب می شود. تخلیه PINK1 با وضعیت دیابت، اختلال در جذب گلوکز در لاین های سلول نرونی و بیان ژن میتوکندری در ادیپوسیت ها(37) همراه می باشد که موجب می شود تا در naPINK1 اختلال ایجاد شده و بر متابولیسم گلوکز اثر بگذارد. به طور مشابه H19/IGF2 و گیرنده رشد تیروئید مکان ژنی الفا 2 (ERBa2) دارای رونوشت های انتی سنز(38-39) می باشد که پتانسیل تنظیم عملکرد متابولیک و اندوکراین را دارد. lncRNA در تنظیم ژن های متابولیسم لیپید نقش دارد. 5- desaturase (FADS1) و ژن های پروتین تنظیم کننده حاد استروئیدی دارای lncRNA می باشند(40-41). بیان FADS و lncRNA مربوط به آن، D5- دساتوراز معکوس، به ططور متقابل و دو سویه توسط مقدار چربی غذا در مدل های حیوانی تنظیم می شود(40). LncRNA نیز در کنترل اشتها نقش دارد: یک lncRNA در ژن گرلین انسان (GRHL) که موجب بهبود رفتار غذا یابی می شود نیز اخیرا شناسایی شده است. این یافته ها موجب مطرح شدن این احتمال می شود که تنظیم زدایی بیان LncRNA می تواند در چاقی نقش داشته باشد.

بیماری های روانی و نورودژنرتیو

رونوشت آنتی سنز BACE1، BACE1AS در بروز AD (6) نقش دارد. برخی از ویژگی های AD ناشی از انباشت پلاک های آمیلوئید بتا در مغز می باشند. ژن BACE 1، که یک گلیکوپروتین A1 پپتیداز غشا، نقش مهمی در تجمع پلاک های بتا آمیلوئید ایفا می کند. BACE1 یکی از دو پپتیداز می باشد که کلیواژ پرتولیتیک اولیه APP را انجام داده و موجب می شود تا در مغز تجمع یابد. سطوح BACE1AS در نمونه های انسانی مبتلا به AD و در مدل های موش تراریخته BACE1 AD نقش دارند(6).

LncRNA در اختلالات روانی نقش دارد. اختلال در مکان ژنی DISC1 شیزوفرنی با توسعه اسکیزوفرنی، اختلال اسکیزوافکتیو، اختلال دوقطبی، افسردگی اساسی و اختلالات طیف اوتیسم ارتباط دارد(43). DISC1 با LncRNA خود موسوم به DISC2 تنظیم می شود که یک کاندید عالی برای حساسیت به این اختلالات می باشد. اختلالات طیف شیزوفرنی و AD با ژن رلین (RELN) و رونوشت آنتی سنز HAR1(44) ارتباط دارد.

بیماری قلبی عروقی، فشار خون و سکته

LncRNA پتانسیل تاثیر گذاری بر بیماری قلبی عروقی و فشار خون را دارد. انواع ژنتیکی موثر بر بیان رونوشت ANRIL با خطر سکته و عود آن همبستگی دارد(45). نقش LncRNA در فشار خون نشان می دهد که هفت ژن کاندید فشار خون SLC14A2 و ADD3, NPPA, ATP1A1, NPR2, CYP17A1, ACSM3 با رونوشت های سیس-IncRNA ارتباط داشته اند. محصول ژن NPPA معمولا در میوکاردیوم بطنی و سرخرگی جنین بیان می شود با این حال در میوکاردیوم شکمی بیمارانی که سکته قلبی و هایپرتروفی را نشان می دهند مجددا فعال سازی می شوند و نشانگری برای بیماری قلبی می شود. NPPA-AS IncRNA. یک تنظیم کننده پیرایش ژن NPPA محسوب می شود. این IncRNA در بیماری های قلبی عروقی نقش دارد(46).

اختلال ایمنی و خود ایمنی

IncRNA در کنترل سیگنالینگ ایمنی ذاتی را می توان با این اظهار بیان کرد که تقریبا 500 IncRNA به طور متمایز در طی پاسخ ایمنی به عفونت ویروسی در مطالعه با چهار سویه موش مجزا، بیان می شوند(48). رونوشت 'Gas5' RNA که با تنش های سلولی فعال سازی می شود، یک گروه متنوعی از ژن ها را از طریق گیرنده گلوکوکورتیوئید هدف یابی کرده و یک تنظیم کننده مهم اپوپتوز سلولی است(20). رونوشت Gas5 با حساسیت بالا به اریتماتوی لپوس سیستمی در مدل های موش ارتباط دراد که نتیجه تاثیر آن بر روی نقش سرکوب کننده

ایمنی گلوکوکورتوئید(20) می باشد. مطالعات دیگر ارتباط با آنتی سنز RNA Heg با سطوح CD14 و اتوانتی بادی های تیروئید در بیماران با بیماری درمان نشده کریوز(49) را گزارش کرده اند.

نتیجه گیری

LncRNA بخش مهمی از رونوشت یا ترانسکریپتوم یوکاریتی را تشکیل می دهند که بیان بیش از 70 درصد ژن ها را تنظیم می کنند. آن ها نقش مهمی در فرایندهای عمومی نظیر تنظیم اپی ژنتیک، مدل سازی کروماتین و پردازش m-RNA جایگزین ایفا می کنند و در کنترل فرایندهای فیزیولوژیکی کلیدی نقش دارند. نقش آن ها در بسیاری از ابعاد عملکردی نشان می دهد که آن ها بیانگر یک زمینه جدید و موجود برای استفاده برای درمان بیماری های آینده می باشد.