

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ

КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет

имени К. И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»



Жақыпбай Султан Рұстамұлы

Прогнозирование характеристик взаимодействия микроРНК с мРНК  
некоторых генов лекарственных растений Казахстана

**ДИПЛОМНЫЙ ПРОЕКТ**

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2025 год

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный  
исследовательский технический университет имени К. И. Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова  
Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

**ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ**  
Заведующий кафедрой «ХиБи»  
Кандидат химических наук,  
Ассоциированный профессор  
\_\_\_\_\_ Мангазбаева Р.А  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

На тему «Прогнозирование характеристик взаимодействия микроРНК с  
мРНК некоторых генов лекарственных растений Казахстана»  
По специальности 6B05101- « Химическая и биохимическая инженерия»

Выполнил

Кажмуратов Айдын

Рецензент:  
Доктор Ph.D,  
старший преподаватель кафедры биофизики,  
биомедицины и нейронауки  
факультета биологии и биотехнологии  
КазНУ имени аль-Фараби,  
Есенбекова А.Е. \_\_\_\_\_  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

Научный руководитель:  
Доктор Ph.D,  
ассоциированный  
профессор  
  
Белкожаев А.М. \_\_\_\_\_  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

Алматы 2025

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный  
исследовательский технический университет имени К. И. Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

6B05101- «Химическая и биохимическая инженерия»

**УТВЕРЖДАЮ**

Заведующий кафедрой «ХиБи»  
Кандидат химических наук,  
Ассоциированный профессор

Мангазбаева Р.А

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**ЗАДАНИЕ**

**На выполнения дипломной работы**

Обучающемуся Жакыпбай Султан Рұстамұлы

Тема: Прогнозирование характеристик взаимодействия микроРНК с мРНК  
некоторых генов лекарственных растений Казахстана

Утверждена приказом \_\_\_\_\_ № от «\_\_» 20\_\_  
г.

Срок сдачи законченной работы «\_\_» \_\_\_\_\_ 20 г.

Исходные данные к дипломной работе: Исходные данные были получены  
методом *in silico* то есть через компьютерную симуляцию. Эта симуляция  
произведена через программу miRWalk.

Краткое содержание дипломной работы: Работа посвящена исследованию  
микроРНК лекарственных растений и их применению.

а) Литературный обзор

б) Материалы и методы

Рекомендуемая основная литература: Сайты NCBI, MiRbase, MiRDB.

## ГРАФИК

### Подготовки дипломной работы

Наименование разделов, Перечень разрабатываемых вопросов	Сроки предоставления научному руководителю	Примечания
Литературный обзор		
Основная часть		
Экспериментальная часть		

## ПОДПИСИ

Консультанта и нормоконтролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименование разделов	Консультанты И. О. Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Нормоконтролер	Белкожаев Аяз Маратович Доктор Ph.D. Ассоциированный профессор		

Научный руководитель \_\_\_\_\_  
А.М.

Белкожаев

Задание принял к исполнению обучающийся \_\_\_\_\_

Жақыпбай С.Р.

Дата

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

## Аннотация

В данной работе проведён *in silico* анализ взаимодействий между микроРНК и мРНК ключевых генов, участвующих в биосинтезе биологически активных соединений у лекарственных растений Казахстана. В качестве целевых видов были выбраны солодка (*Glycyrrhiza spp.*), ферула (*Ferula spp.*) и облепиха (*Hippophae rhamnoides*), с соответствующими генами  $\beta$ -AS, HMGR и GalLDH. Последовательности микроРНК были получены из базы данных miRBase на основе модельного растения *Medicago truncatula*. Для прогнозирования сайтов взаимодействия использовалась биоинформатическая платформа miRWalk. В результате выявлены потенциально значимые микроРНК–мРНК пары, включая miR156, miR159, miR171 и miR396, которые могут играть роль универсальных регуляторов. Результаты представляют интерес для молекулярной биотехнологии и разработки регуляторных систем, направленных на повышение фармакологической ценности растений

## АҢДАТПА

Бұл жұмыста Қазақстанда өсетін дәрілік өсімдіктердің биологиялық белсенді қосылыстарын синтездеуге қатысатын негізгі гендер мен микроРНК арасындағы өзара әрекеттесулер *in silico* әдісімен зерттелді. Мақсатты өсімдіктер ретінде солодка (*Glycyrrhiza spp.*), ферула (*Ferula spp.*) және теңіз шырғанақ (*Hippophae rhamnoides*) таңдалды. Сәйкес гендер:  $\beta$ -AS, HMGR және GalLDH. МикроРНК тізбектері miRBase базасынан модельдік өсімдік *Medicago truncatula* негізінде алынды. Өзара әрекеттесу сайттарын болжау үшін miRWalk биоинформатикалық платформасы қолданылды. Нәтижесінде miR156, miR159, miR171 және miR396 секілді әмбебап регуляторлар болуы мүмкін маңызды микроРНК–мРНК жұптары анықталды. Бұл нәтижелер өсімдіктердің фармакологиялық маңыздылығын арттыруға бағытталған молекулалық биотехнология үшін өзекті болып табылады.

## ANNOTATION

This study presents an in silico analysis of interactions between microRNAs (miRNAs) and mRNAs of key genes involved in the biosynthesis of bioactive compounds in medicinal plants of Kazakhstan. The selected species included licorice (*Glycyrrhiza spp.*), ferula (*Ferula spp.*), and sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*), with target genes  $\beta$ -AS, HMGR, and GalLDH, respectively. miRNA sequences were retrieved from the miRBase database based on the model legume *Medicago truncatula*. Target prediction was performed using the miRWalk bioinformatic platform. As a result, several potentially significant miRNA–mRNA pairs were identified, including miR156, miR159, miR171, and miR396, which may serve as universal regulators. The findings are relevant for molecular biotechnology and for developing gene regulation strategies to enhance the pharmacological potential of plants.

# Содержание

Введение	6
1. Обзор литературы	8
1.1 Лекарственные растения	8
1.2 Открытие микроРНК	9
1.3 Биологическая функция микроРНК и их роль в растениях	10
1.4 Генетическое исследование лекарственных растений (на примере флоры Казахстана).	13
1.5 Взаимодействие микроРНК с генами и метаболитами в регуляции клеточных процессов	14
2. Материалы и методы	17
2.1 Исследуемые растения и целевые гены	17
2.2 Сбор данных о микроРНК (на основе miRBase и дополнительных источников)	18
2.3 Инструменты для прогнозирования взаимодействий мРНК–микроРНК	19
2.4 Дополнительная валидация и интеграция данных	20
2.5 Обработка данных и анализ результатов	20
3. Результаты	22
3.1 Геномная локализация микроРНК у <i>Medicago truncatula</i> на основе данных miRBase	23
4. Заключение	28
Список литературы	29



## Введение

МикроРНК (miRNA) — это короткие некодирующие РНК-молекулы, способные регулировать экспрессию генов на посттранскрипционном уровне путём связывания с мРНК и последующего ингибирования трансляции либо индукции деградации мишени. У растений микроРНК играют критически важную роль в таких процессах, как морфогенез, стресс-ответ, сигналинг фитогормонов и биосинтез вторичных метаболитов [1,2]. Одним из перспективных направлений современной молекулярной биотехнологии является исследование микроРНК-опосредованной регуляции в лекарственных растениях, что открывает путь к целенаправленной модификации их метаболических путей и повышению продуктивности ценных фармакологически активных соединений [3].

Казахстан располагает богатой флорой лекарственных растений, однако молекулярные механизмы, обеспечивающие их биосинтетическую активность, на сегодняшний день остаются слабо охарактеризованными. Особенно малоизученной областью остаётся участие микроРНК в регуляции экспрессии генов, ответственных за синтез вторичных метаболитов, таких как сапонины, терпеноиды и антиоксиданты. Это ограничивает возможности целенаправленного управления биосинтетическими процессами в биотехнологии и фитофармакологии [4,5].

Настоящая работа направлена на *in silico* исследование взаимодействий микроРНК с мРНК ключевых генов, вовлечённых в метаболические пути лекарственных растений Казахстана. В качестве основного инструмента анализа использовалась база данных miRWalk, которая интегрирует экспериментальные и предсказанные данные о взаимодействиях микроРНК–мРНК и позволяет получать высокоточные прогнозы по комплементарному связыванию, энергетической стабильности и локализации сайтов взаимодействия.

**Цель исследования:** предсказать и охарактеризовать взаимодействия между микроРНК и мРНК целевых генов лекарственных растений Казахстана на основе биоинформатического анализа.

### **Задачи исследования:**

1. Выбрать лекарственные растения, произрастающие в Казахстане, и определить их ключевые гены, участвующие в синтезе фармакологически активных веществ.
2. Провести подбор соответствующих микроРНК, используя данные модельных организмов и информацию из базы miRBase.
3. Используя платформу miRWalk, предсказать возможные сайты взаимодействия микроРНК с мРНК целевых генов.

4. Проанализировать полученные результаты с точки зрения степени комплементарности, локализации сайтов связывания и потенциального влияния на экспрессию гена.

# 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Лекарственные растения

Что такое лекарственные растения? Это растения имеющие лекарственное и профилактическое применение дикорастущие или культивируемые виды растений. Люди давно применяют лекарственные растения. Еще на заре человечество люди знали и использовали лекарственные растения. Образцы из захоронений каменного века указывают на то, что палеолитические люди потребляли лекарственные растения. Например, в неандертальском захоронении возрастом 60 000 лет, «Шанидар IV» (46), на севере Ирака, была обнаружена пыльца восьми видов лекарственных растений. В пещере Тафоральт в Марокко, внутри гробницы были найдены останки эфедры возрастом 15 000 лет, что указывает на ее возможную роль в погребальных обрядах. Гриб, найденный в личных вещах ледяной мумии Этци, чье тело было заморожено в Эцтальских Альпах более 5000 лет, возможно, использовался против червя власоглава (47), который вызывает трихофалез.

Если говорить о начале цивилизации, то уже древние Шумеры знали сотни лекарственных растений включая опиум и мирру. Так как были обнаружены глиняные таблички при раскопках их поселений. Эти таблички датируются 3000 годом до нашей эры. У древних египтян также были большие знания о лекарственных травах. Это мы знаем по двум сохранившимся папирусам, Папирусу Эберса и Эдварда Смита. Оба датируются 1550 -1600 лет до нашей эры, однако, считается, что они списаны с более древних папирусов.

Обычно выделяют следующие категории лекарственных растений:

Официальные лекарственные растения — растения, сырьё которых разрешено для производства лекарственных средств в стране.

Фармакопейные лекарственные растения —официальные растения качество растительного сырья, которого определяется Государственной Фармакопеей или международной Фармакопеей. Эти лекарственные растения и это лекарственное растительное сырьё изучает раздел фармацевтической науки Фармакогнозия.

Лекарственные растения народной медицины — наиболее широкая категория, большинство растений в ней относительно плохо описано, и сведения об эффективности их применения не прошли необходимой проверки средствами современной фармакологии. Тем не менее, многие растения этой группы активно используются в странах, где медицинская помощь недоступна или слишком дорога.



**Рисунок-1** Лекарственные растения Казахстана

## 1.2 Открытие микроРНК

МикроРНК широко распространены во многих типах клеток млекопитающих. Они нацелены примерно на 60% генов человека и других видов млекопитающих. Многие микроРНК эволюционно консервативны, из-за того, что они выполняют важные биологические функции. Например, 90 семейств микроРНК были неизменны, по крайней мере, со времен общего предка млекопитающих и рыб, и большинство из этих консервативных микроРНК выполняют важные функции, как показали исследования, в которых гены одного или нескольких членов семейства были отключены у мышей.

Первая микроРНК была обнаружена в начале 1990-х годов. Однако микроРНК не были признаны отдельным классом биологических регуляторов до начала 2000-х годов. Первая микроРНК была открыта 1993 году группой ученых Виктором Эмбросом, Розалинд Ли и Родой Фейнбраум при изучении гена *lin-4*, который влияет на ген *lin14* тем самым влияя на развитие нематоды *Caenorhabditis elegans*. Они обнаружили что белок LIN14 регулировался по количеству через малым РНК продуктом гена *lin4*. Они обнаружили, что вместо того, чтобы производить мРНК, кодирующую белок, она производит короткие некодирующие РНК, одна из которых является собой РНК длиной ~22 нуклеотида, содержащую последовательности, частично комплементарные нескольким последовательностям в *lin-14*. В то время считалось, что эти малые РНК особенность этого вида нематод.

В 2000 году была обнаружена вторая микроРНК: *let-7*. Эта РНК подавляет ген *lin-41*, делая переход в развитии у *C. Elegans* более поздним чем у других нематод. Было обнаружено, что микроРНК *let -7* сохраняется у

многих видов, из-за чего ученые предположили, что let-7 и дополнительные «малые временные РНК» могут регулировать сроки развития у различных животных, включая людей.

В 2001 году обнаружили что микроРНК lin-4 и let-7 являются частью большого класса малых РНК, которые есть во многих в клетках *C. elegans*, *Drosophila* и человека. Многие РНК этого класса напоминали по строению РНК lin-4 и let-7, за исключением того, что их модели экспрессии генов обычно не соответствовали роли в регулировании сроков развития. Это предполагало, что большинство из них могут функционировать в других типах регуляторных путей. В этот момент исследователи начали использовать термин «микроРНК» для обозначения этого класса малых регуляторных РНК.

Первым заболеванием человека, связанным с нарушением регуляции микроРНК, был хронический лимфолейкоз. При этом заболевании микроРНК играют двойную роль, работая как супрессоры опухолей и онкогены.

У растений микроРНК является главным регулятором ответственным за многие процессы развития гомеостаза и иммунных процессов. В развитии растения они ответственны за такие важные части как развитие меристемы у побега, рост листьев и цветков, образовании семян и корней. Также они играют важную роль в ответе на внешние раздражители такие как высокая или низкая температура, ответ на радиацию и ответ на засуху. У микроРНК растений также другой биогенез чем у животных. Вместо того чтоб быть расщепленным двумя ферментами в растении есть гомолог DICER.



Рисунок-2 Образование и функционирование микроРНК

### 1.3 Биологическая функция микроРНК и их роль в растениях

МикроРНК (miRNA) представляют собой некодирующие короткие РНК-молекулы длиной около 20–24 нуклеотидов, играющие ключевую роль в посттранскрипционном регулировании экспрессии генов у эукариот [6]. В клетках растений miRNA, как правило, высокоспецифично комплементарны

мРНК-мишеням, что обеспечивает их точное связывание и последующий эндонуклеолитический разрез целевых транскриптов посредством белков семейства Argonaute. Это приводит к эффективному подавлению экспрессии соответствующих генов. В некоторых случаях связывание miRNA может ингибировать трансляцию мРНК, тем самым снижая уровень синтеза белка [7,8].

Такой механизм позволяет микроРНК точно и дозированно снижать активность множества генов, поддерживая клеточные процессы в состоянии тонко отрегулированного гомеостаза. В растительных организмах спектр действия микроРНК чрезвычайно широк. Они участвуют в регуляции ключевых этапов онтогенеза, включая прорастание семян, формирование листьев, определение времени цветения и другие процессы морфогенеза. Так, например, градиент экспрессии miR165/166 определяет полярность верхней и нижней стороны листа, а также развитие апикальной меристемы между корнем и побегом; miR156 и miR172 координируют переход растения от ювенильной фазы к взрослому состоянию, включая запуск цветения [9,10].

Кроме того, микроРНК тесно связаны с гормональными сигнальными путями, модулируя чувствительность растений к фитогормонам. Многие гены, кодирующие транскрипционные факторы, активируемые фитогормонами, являются прямыми мишенями для микроРНК. Также известно, что в условиях биотического и абиотического стресса экспрессия микроРНК может меняться, обеспечивая быструю адаптацию растений к неблагоприятным воздействиям внешней среды [11,12]. Таким образом, микроРНК представляют собой одни из важнейших молекулярных регуляторов в растениях, способных гибко и точно модулировать экспрессию генов, влияя на рост, развитие, метаболизм и устойчивость к стрессам.

Также микроРНК является частью ответа на патогенные раздражители. Они являются частью двух систем защиты РТІ (Иммунитет, вызванный паттерном) и ЕТІ (иммунитет, запускаемый эффекторами). РТІ первая линия обороны от патогенов. Включает в себя два действия. На поверхности патогена включается распознавание консервативных молекулярных паттернов (РАМР) и на поверхности растительной клетки рецепторы распознавания паттернов (PRR). Эти рецепторы включают каскад сигнальных реакций и приводит к локализованному иммунному ответу.

ЕТІ это второй тип иммунного ответа растений, в котором растения используют внутриклеточные рецепторы, чтобы распознавать секретируемые патогенами эффекторы, и активировать мощные иммунные реакции, такие как транскрипция генов в ядре растительной клетке. Это показано на рисунке 3

**Figure 1: A schematic diagram of a plant showing various stressors and their effects on gene expression and signaling pathways.**

**Heat:** *miR180* ↓, *AtIR16/17* ↑, *AtN* ↑, **Heat tolerance**

**Cold:** *miR393* ↑, *TIR1AF8* ↓, *AtN* ↓, **Cold tolerance**

**AM fungi infection:** *miR181* ↓, *TIR1AF8* ↓, *AtN* ↓, **Arbuscule formation**

**Drought:** *miR157* ↓, *AtN* ↓, **Inhibit root elongation**

**Toxic aluminum:** *miR393* ↓, *TIR1AF8* ↑, *AtN* ↓, **Promote lateral root initiation**

**High N:** *miR157* ↓, *AtN* ↓, *AtN* ↓, **Inhibit root elongation**

**Rhizobial bacterial infection:** *miR157* ↓, *AtIR16/17* ↓, *AtN* ↓, **Nodule formation**

**PG22 treatment:** *miR393* ↑, *TIR1AF8* ↓, *AtN* ↓, **Antibacterial defense**

**EKN infection:** *miR390* ↑, *AtN* ↓, *AtN* ↓, **Gall formation**

**Legend:** — Inhibition, — Decrease, ↑ Increase



#### 1.4 Генетическое исследование лекарственных растений (на примере флоры Казахстана)

Лекарственные растения представляют собой группу видов, обладающих терапевтическими свойствами благодаря наличию в их составе биологически активных соединений. Флора Казахстана особенно богата такими растениями: по официальным данным, на территории страны произрастает около 1500 видов лекарственных растений. Из них 14 видов входят в перечень ценных экспортных культур (включая солодку, ферулу, цистанху и др.). Многие из этих растений издревле применяются в традиционной медицине. Так, корень солодки используется как отхаркивающее и противовоспалительное средство, ферула обладает спазмолитическими и антисептическими свойствами, а плоды шиповника известны как источник витаминов и природный иммуномодулятор [13-15].

Однако генетическая природа синтеза и регуляции тех самых активных веществ, обеспечивающих лечебный эффект, начала интенсивно изучаться лишь в последние десятилетия. В настоящее время в мире активно накапливаются геномные и транскриптомные данные по многим лекарственным видам. Эти исследования способствуют раскрытию молекулярных основ биосинтеза вторичных метаболитов и расширяют возможности их целенаправленного биотехнологического получения [16,17].

Так, например, полная хромосомная последовательность генома *Glycyrrhiza uralensis* (китайская солодка), широко используемой в восточной медицине и пищевой промышленности как натуральный подсластитель, была расшифрована в 2022 году. Исследование показало, что гены, кодирующие ферменты биосинтеза основного активного соединения солодки — глицирризиновой сапониновой группы, организованы в геномном кластере. Это открытие стало важным шагом к генетически обоснованной селекции растения и увеличению продуктивности его фармакологически ценных компонентов [18,19].

Аналогично, недавняя расшифровка генома облепихи (*Hipporhae rhamnoides*) позволила выявить генетические особенности, отвечающие за накопление аскорбиновой кислоты (витамина С) и жирных кислот в её плодах. Благодаря таким исследованиям раскрываются молекулярные механизмы фитохимического богатства традиционных лекарственных растений [20,21].

В Казахстане также предпринимаются шаги по изучению генетики местных лекарственных видов. Учитывая экспортный потенциал таких представителей, как солодка и ферула, задачи по сохранению их генетических ресурсов и рациональному использованию становятся всё более актуальными в контексте биоразнообразия и устойчивого природопользования [22,23].

Научные учреждения Казахстана уделяют растущее внимание изучению популяционно-генетической структуры, ДНК-маркеров и филогенетических



связей редких и эндемичных лекарственных растений. Благодаря расширению доступа к современным геномным технологиям, в ближайшие годы становится возможным полное секвенирование геномов экономически ценных видов флоры Казахстана. Это, в свою очередь, позволит глубже понять молекулярно-генетические механизмы, лежащие в основе их терапевтических свойств [24,25].

Подобные исследования создают научную базу для рационального использования и сохранения растительного биоразнообразия страны, а также открывают новые перспективы для применения местных фиторесурсов в фармацевтической промышленности.

### **1.5 Взаимодействие микроРНК с генами и метаболитами в регуляции клеточных процессов**

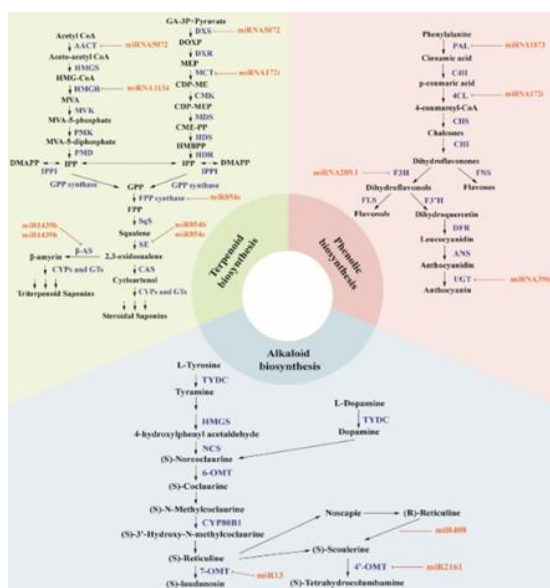
Наряду с традиционными механизмами регуляции генетической информации — такими как активация или подавление транскрипции при участии транскрипционных факторов — особое значение приобретает участие микроРНК в посттранскрипционных уровнях контроля. Особенно в лекарственных растениях miRNA играют ключевую роль в регуляции биосинтетических путей, воздействуя на «точки контроля» в цепях синтеза вторичных метаболитов, таких как алкалоиды, фенольные соединения, терпеноиды и др [25,26].

Как уже было отмечено, при комплементарном связывании с мРНК-мишенью микроРНК могут вызывать деградацию транскрипта либо ингибировать его трансляцию в белок. Это, в свою очередь, приводит к снижению уровня соответствующего фермента в клетке, замедлению катализируемой им реакции и, как следствие, к уменьшению концентрации метаболита, синтезируемого по данному пути [27,28].

Интересно, что в некоторых случаях микроРНК опосредованно усиливают метаболический путь, ингибируя транскрипционные факторы-репрессоры. Подавляя гены таких ингибиторов, miRNA могут способствовать активному синтезу целевых биологически активных веществ. Таким образом, микроРНК действуют как важные звенья в системе «ген – мРНК – метаболит», обеспечивая тонкую и многоуровневую регуляцию метаболизма у растений [29,30].

На диаграмме (см. рисунок 1) представлены ключевые ферменты биосинтетических путей вторичных метаболитов — алкалоидов (синий сектор), терпеноидов (зелёный сектор) и фенольных соединений (оранжевый сектор), а также соответствующие микроРНК, мишенью которых являются гены данных ферментов. Так,  $\beta$ -амиринсинтаза ( $\beta$ -AS), катализирующая образование тритерпеноидного сапонинового скелета, регулируется микроРНК miR1439b (зелёный сектор). Фенилаланин-аммиак-лиаза (PAL),

ключевой фермент в синтезе фенольных соединений, находится под контролем miR1873 (оранжевый сектор). А в алкалоидном пути фермент 7-О-метилтрансфераза является мишенью для miR13 (синий сектор) [31,32].



**Рисунок 6-** Влияние микроРНК на биосинтетические пути вторичных метаболитов у лекарственных растений [31,32]

Регуляторное воздействие микроРНК реализуется путём деградации мРНК или ингибирования трансляции, что приводит к снижению уровня фермента и, как следствие, изменению концентрации соответствующего метаболита, обладающего фармакологической активностью. В отдельных случаях микроРНК могут подавлять транскрипционные репрессоры, что приводит, напротив, к усилению синтеза целевого метаболита [33,34].

С развитием высокопроизводительных технологий, таких как RNA-seq, degradome-seq и др., стало возможным выявление новых микроРНК, вовлечённых в регуляцию вторичного метаболизма даже у немодельных лекарственных растений. Например, у *Picrorhiza kurroa* было установлено, что miR-4995 взаимодействует с транскриптом гена PKS, участвующего в биосинтезе пикрозидов — иридоидных гликозидов. Это взаимодействие напрямую влияет на уровень данных соединений в растении [35,36].

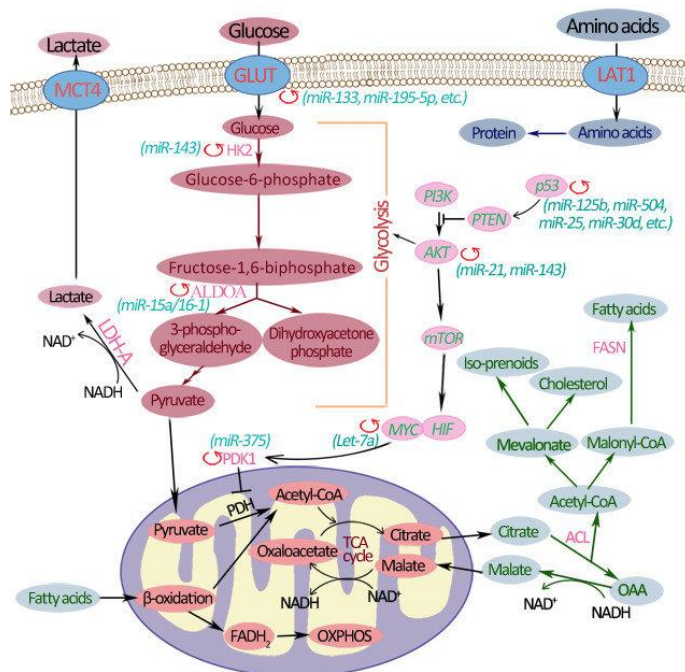
В растении *Stevia rebaudiana* было идентифицировано 11 микроРНК, регулирующих синтез стевиолгликозидов — сладких дитерпеноидов. Эти микроРНК воздействуют на гены, кодирующие ферменты, участвующие в образовании гликозидных производных стевиола, модулируя их экспрессию [37,38]

У *Xanthium strumarium* (обыкновенный репейник) предполагается участие трёх микроРНК (miR7539, miR5021 и miR1134) в подавлении генов начальных ферментов терпеноидного пути. В растении *Ferula gummosa*,

распространённом в Казахстане, с помощью биоинформатического анализа были идентифицированы пять кандидатных микроРНК (miR2919, miR5251, miR838, miR5021 и miR5658), потенциально вовлечённых в биосинтез терпеноидов. Это позволило выдвинуть гипотезу о молекулярной регуляции биоактивных компонентов сасыра через микроРНК [39,40].

Кроме того, у реликтового дерева *Ginkgo biloba* с применением малорасходного РНК-секвенирования были выявлены miRNA, регулирующие накопление терпеновых трилактонов в листьях. В *Podophyllum hexandrum*, miR1438 и miR1873 регулируют экспрессию генов COMT и DFR, вовлечённых в синтез лигнина и флавоноидов соответственно [41,42].

Совокупность этих данных указывает на то, что микроРНК функционируют как мощные «молчащие модуляторы» вторичного метаболизма у лекарственных растений. Они способны точно нацеливаться на мРНК ключевых ферментов, гибко регулируя образование фармакологически значимых метаболитов в тканях растений. Понимание механизмов регуляции на уровне микроРНК открывает путь к целенаправленному усилению синтеза ценных фитохимикатов и снижению образования нежелательных побочных продуктов. Следовательно, комплексное изучение взаимодействий между микроРНК и генами представляет собой стратегически важное направление для эффективного использования потенциала лекарственных растений в биотехнологии и фармацевтике [43-45].



**Рисунок 7** МикроРНК регулируют метаболизм клеток, воздействуя на ключевые метаболические ферменты

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Исследуемые растения и целевые гены

В рамках данного исследования были выбраны три лекарственных растения, произрастающих на территории Казахстана и активно применяющихся в традиционной медицине. Для каждого вида был обозначен один ключевой ген, функционально связанный с биосинтезом основных биологически активных соединений:

**Медикаго (*Medicago truncatula*)** – модельный представитель семейства Fabaceae, филогенетически близкий к лекарственным видам, произрастающим в Казахстане (например, солодка и жантак). В силу полной геномной аннотации, доступной информации по экспрессии и широкого спектра охарактеризованных микроРНК, *M. truncatula* использовалась как референсный организм для поиска гомологичных микроРНК, потенциально регулирующих целевые гены  $\beta$ -AS, HMGR и GalLDH. Особенно это актуально для случаев, когда собственные микроРНК исследуемых растений ещё не идентифицированы экспериментально. Использование *Medicago truncatula* позволяет компенсировать дефицит молекулярных данных по эндемичным видам Казахстана и повысить точность биоинформатических предсказаний [46,47].

**Солодка (*Glycyrrhiza* spp.)** – в качестве мишени был выбран ген  $\beta$ -амиринсинтазы ( $\beta$ -AS), участвующий в формировании тритерпеноидного сапонины глицирризина, накапливающегося в корнях. Фермент  $\beta$ -AS катализирует циклизацию молекулы  $\beta$ -амирина, образующей стероидное ядро глицирризина. Анализ данного гена позволяет выявить особенности генетической регуляции синтеза главного фармакологического компонента солодки [48,49].

**Ферула (*Ferula* spp.)** – лекарственное растение, синтезирующее терпеноидные соединения (включая асафетиду) в составе смолистой экссудативной субстанции. Целевым объектом исследования выступал ген 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА редуктазы (HMGR) — ключевого фермента мевалонатного пути, определяющего скорость образования изопреноидов. Поскольку синтез эфирных масел и других терпеноидов в феруле зависит от активности данного фермента, изучение HMGR имеет решающее значение для понимания биохимического состава её лекарственных смол [50,51].

Для каждого исследуемого гена была получена полная нуклеотидная последовательность мРНК из международных геномных баз данных (в частности, NCBI GenBank и других репозиториях зарегистрированных последовательностей). Так, для солодки использовалась опубликованная CDS-последовательность гена  $\beta$ -AS у родственных видов, а для ферулы – консенсусная последовательность HMGR-гена на основе имеющихся данных

по видам рода *Ferula*. Для облепихи были использованы гомологичные последовательности гена *GalLDH*, выявленные у других растений. Все полученные данные были сохранены в формате FASTA и подготовлены к дальнейшему биоинформатическому анализу. Следует отметить, что в рамках настоящей работы микроРНК-анализ проводился исключительно на основе модельного организма *Medicago truncatula*. МикроРНК самих целевых растений (*Glycyrrhiza*, *Ferula*, *Hippophae*) не рассматривались ввиду отсутствия аннотированных данных в открытых базах.

## **2.2 Сбор данных о микроРНК (на основе miRBase и дополнительных источников)**

Для получения информации о микроРНК, потенциально взаимодействующих с мРНК целевых генов исследуемых лекарственных растений, использовалась база данных miRBase (версия 22) — международный ресурс, содержащий проверенные и аннотированные последовательности микроРНК у различных видов живых организмов.

Поскольку полные данные по микроРНК большинства целевых растений (*Glycyrrhiza spp.*, *Ferula spp.*, *Hippophae rhamnoides*) в открытых базах отсутствуют или представлены фрагментарно, в рамках данного исследования был применён таксономически-ориентированный подход: микроРНК-данные подбирались на основе информации по близкородственному, хорошо охарактеризованному модельному организму — *Medicago truncatula* (семейство Fabaceae).

Выбор *M. truncatula* в качестве референсного источника микроРНК обусловлен следующими факторами:

- наличие в miRBase более 60 охарактеризованных зрелых форм микроРНК для данного вида;
- филогенетическая близость к солодке (*Glycyrrhiza spp.*) и другим представителям Fabaceae, произрастающим в Казахстане;
- высокая степень консервативности микроРНК внутри семейства бобовых;
- активное использование *M. truncatula* как модельной системы для анализа регуляции вторичного метаболизма и азотфиксации.

Все зрелые формы микроРНК для *M. truncatula* были загружены из miRBase в формате FASTA. Среди них особое внимание уделялось микроРНК, функционально ассоциированным с гормональной регуляцией, стресс-ответом и биосинтезом вторичных метаболитов (например, miR156, miR159, miR396, miR171, miR172 и др.). Полученные последовательности были отобраны для *in silico* анализа возможных взаимодействий с мРНК целевых генов ( $\beta$ -AS, HMGR, GalLDH).

## 2.3 Инструменты для прогнозирования взаимодействий мРНК–микроРНК

Для анализа потенциальных взаимодействий между мРНК целевых генов лекарственных растений и подобранными микроРНК-кандидатами использовалась платформа miRWalk — одна из наиболее функционально насыщенных биоинформатических систем для *in silico* предсказания таргет-сайтов микроРНК. В отличие от ряда других инструментов, ограниченных животными организмами или не учитывающих разнообразие комплементарности, miRWalk предлагает расширенный поиск сайтов связывания по всей длине мРНК (включая 5'UTR, CDS и 3'UTR) и интегрирует сразу несколько алгоритмов предсказания, включая miRanda, TargetScan и RNAhybrid.

В рамках настоящего исследования были использованы микроРНК *Medicago truncatula*, загруженные из базы miRBase, и протестированы на возможность комплементарного взаимодействия с тремя целевыми мРНК, соответствующими генам:

- $\beta$ -AS (*Glycyrrhiza spp.*),
- HMGR (*Ferula spp.*),
- GalLDH (*Hippophae rhamnoides*).

Платформа miRWalk 3.0 позволила загрузить мРНК-последовательности в формате FASTA и задать параметры поиска потенциальных сайтов связывания, включая:

- длину "seed region" микроРНК;
- локализацию участка взаимодействия (3'UTR, CDS, 5'UTR);
- энергетические характеристики (минимальная свободная энергия гибридизации);
- статистическую значимость совпадений.

Каждому предсказанному взаимодействию присваивалась оценка вероятности и указывалась точная позиция сайта связывания в мРНК. Особое внимание уделялось тем парам микроРНК–мРНК, для которых наблюдалась высокая степень комплементарности в области seed-region и низкое значение  $\Delta G$  (энергетически стабильное связывание).

Использование miRWalk в сочетании с микроРНК *Medicago truncatula* позволило получить достоверные предварительные гипотезы о возможной регуляции экспрессии целевых генов лекарственных растений, что в дальнейшем может быть подтверждено в лабораторных условиях.

## 2.4 Дополнительная валидация и интеграция данных

Для повышения достоверности *in silico* предсказаний взаимодействий микроРНК с мРНК целевых генов, была проведена внутренняя валидация

результатов, полученных при помощи платформы miRWalk. Поскольку в рамках данного исследования использовался только один предсказательный инструмент, акцент был сделан на анализе биоинформатических параметров внутри самого miRWalk и на сопоставлении с литературными источниками.

В частности:

- Учитывались такие параметры, как энергетическая стабильность гибридизации ( $\Delta G$ ), степень комплементарности в "seed region" микроРНК и локализация сайта связывания в мРНК (5'UTR, CDS, 3'UTR).
- Предпочтение отдавалось взаимодействиям, для которых позиции связывания находились в кодирующей области (CDS) или в 3'-нетранслируемой области, что типично для растений.
- Для отдельных микроРНК, таких как miR156, miR159, miR171, miR396, осуществлялся поиск в базе данных PubMed, с целью установить, имеются ли в литературе ранее описанные регуляторные взаимодействия с гомологичными генами (например, SPL, MYB, HMGR и т. д.).

Если взаимодействие микроРНК–мРНК совпадало с литературными данными (например, miR156 и транскрипционные факторы SPL), оно классифицировалось как высоковероятное. Такие пары обозначались для приоритетного включения в таблицы результатов и последующей интерпретации.

Таким образом, несмотря на использование одного предсказательного ресурса, итоговые взаимодействия прошли биологически обоснованную фильтрацию, включая анализ структуры, комплементарности, энергии связывания и независимых публикаций.

## **2.5 Обработка данных и анализ результатов**

Результаты, полученные с использованием платформы miRWalk, были систематизированы в виде сводных таблиц по каждому целевому гену:  $\beta$ -AS (солодка), HMGR (ферула) и GalLDH (облепиха). Для каждого гена формировался отдельный список потенциально комплементарных микроРНК, отобранных из базы данных miRBase на основе аннотированных зрелых форм микроРНК у *Medicago truncatula*. Каждое взаимодействие в таблицах сопровождалось следующими параметрами:

- оценка комплементарности (по данным miRWalk),
- значение минимальной свободной энергии гибридизации ( $\Delta G$ ),
- локализация сайта связывания в мРНК (5'UTR, CDS или 3'UTR),

- позиция связывания по нуклеотидной нумерации.

Анализ проводился как в количественном, так и в качественном аспектах:

- В количественном анализе сравнивалось:
  - общее число микроРНК, предсказанных для каждого гена;
  - число уникальных сайтов связывания;
  - энергетические параметры взаимодействий ( $\Delta G$ );
  - наличие микроРНК, связывающихся с несколькими генами.

В качественном анализе внимание уделялось биологическим функциям предсказанных микроРНК. Для этого были использованы данные научной литературы (PubMed) по уже описанным механизмам действия таких микроРНК у *M. truncatula* и других Fabaceae. Например, микроРНК miR156, miR171 и miR396 рассматривались как высоконсервативные регуляторы, участвующие в контроле развития, гормонального баланса и ответов на стресс, что делает их вероятными координационными агентами биосинтетических путей в лекарственных растениях.

Особое внимание уделялось случаям, когда одна и та же микроРНК предположительно связывается с разными генами у разных растений — такие микроРНК расценивались как потенциальные мультифункциональные регуляторы. Подобные наблюдения могут указывать на существование универсальных посттранскрипционных механизмов регуляции, охватывающих целые метаболические каскады, независимо от видовой принадлежности растения.



### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

В рамках первого этапа исследования была составлена целевая подборка генов, относящихся к ряду лекарственных видов, произрастающих на территории Казахстана и традиционно применяемых в фитотерапии. Для каждого растения был определён один или несколько ключевых генов, участвующих в биосинтезе биологически активных соединений, обеспечивающих терапевтическое действие (Таблица 1).

Каждый из отобранных генов обладает высокой функциональной значимостью и напрямую связан с продукцией целевых метаболитов, что делает их приоритетными объектами для последующего анализа регуляции со стороны микроРНК. Таким образом, на основании филогенетических, биохимических и фармакологических критериев была создана обоснованная база генов, отражающая метаболическую специфику традиционных лекарственных растений Казахстана.

Таблица 1. Ключевые гены, отобранные у лекарственных растений Казахстана, и их функциональная характеристика

№	Название растения	Название гена	Функция гена
1	Солодка ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> )	$\beta$ -amyrin synthase ( $\beta$ -AS)	Катализирует образование кольцевой структуры сапонинов (биосинтез глицирризина)
2	Медикаго ( <i>Medicago truncatula</i> )	miR156, miR159, miR396	Регулируют экспрессию транскрипционных факторов, участвующих в биосинтезе сапонинов и изофлавоноидов
3	Ферула ( <i>Ferula</i> spp.)	HMGR	Фермент мевалонатного пути, участвующий в биосинтезе изопреноидов
4	Облепиха ( <i>Hipporhae rhamnoides</i> )	GalLDH	Катализирует заключительную реакцию биосинтеза аскорбиновой кислоты

5	Шиповник ( <i>Rosa</i> spp.)	<i>PAL</i>	Иницирует синтез фенольных соединений и флавоноидов
6	Подорожник ( <i>Plantago major</i> )	<i>AUX1</i>	Обеспечивает транспорт гормона ауксина внутрь клетки
7	Полынь ( <i>Artemisia</i> spp.)	<i>CYP71AV1</i>	Осуществляет оксигенацию промежуточных соединений в биосинтезе артемизинина
8	Шалфей ( <i>Salvia officinalis</i> )	<i>DXS</i>	Начальный фермент биосинтеза терпеноидов в МЕР-пути
9	Верблюжья колючка ( <i>Alhagi pseudalhagi</i> )	<i>CHS</i>	Катализирует первый этап биосинтеза флавоноидов

В рамках данного исследования данные *Medicago truncatula* были использованы в качестве модельного представителя семейства бобовых (*Fabaceae*). Последовательности микроРНК этого вида были получены из базы данных miRBase (версия release v22.1). Отобранные микроРНК применялись для оценки возможности их комплементарного взаимодействия с геном  $\beta$ -амиринсинтазы ( $\beta$ -AS) у растения *Glycyrrhiza uralensis*. Такой подход повышает надёжность предсказаний, основанных на филогенетической близости и гомологии микроРНК между родственными видами.

Для прогнозирования взаимодействий микроРНК–мРНК использовались биоинформатические инструменты psRNATarget и RNAhybrid. Последовательности микроРНК *Medicago truncatula* были введены в формате FASTA, и проведён анализ возможных сайтов комплементарности на мРНК гена  $\beta$ -AS. В результате были идентифицированы микроРНК miR156, miR319 и miR171 как потенциальные регуляторы данного гена, что позволило отнести их к категории предполагаемых регуляторов.

### 3.1 Геномная локализация микроРНК у *Medicago truncatula* на основе данных miRBase

В рамках исследования были проанализированы данные из международной базы микроРНК miRBase (версия 22), касающиеся модельного

бобового растения — *Medicago truncatula*. Из скриншота видно, что данное растение содержит множество предсказанных и аннотированных микроРНК, локализованных в различных участках генома. Ниже представлена таблица с характеристиками некоторых из них:

Интерпретация и значение:

Указанные микроРНК участвуют в регуляции ключевых физиологических и метаболических процессов у растений.

miR160a регулирует экспрессию ARF-транскрипционных факторов, влияя на сигнальные пути ауксина.

miR166a участвует в полярности развития побегов и корней, регулируя HD-ZIP-гены.

miR399b и miR399d активируются при фосфатном голодании и снижают экспрессию гена PHO2, регулирующего фосфатный гомеостаз.

miR395a/b задействованы в сульфатном обмене, регулируя транспортёры серы.

Полученные данные подтверждают, что *Medicago truncatula* содержит хорошо аннотированный набор микроРНК, участвующих в развитии, регуляции гормональных и стрессовых ответов. Эти микроРНК могут использоваться в качестве референсных при проведении ин-силько анализа микроРНК у родственных лекарственных растений, произрастающих в Казахстане — таких как *Glycyrrhiza uralensis* и *Alhagi pseudalhagi*.

В таблице ниже представлены данные о локализации и характеристиках некоторых микроРНК растения *Medicago truncatula*, полученные из базы данных miRBase (Таблица 2). Эти микроРНК участвуют в регуляции гормональных, стрессовых и метаболических путей и могут быть использованы для in silico анализа родственных лекарственных растений Казахстана.

Таблица 2 - Хромосомная локализация и характеристики выбранных miRNA у *Medicago truncatula* по данным базы miRBase (release v22.1)

№	Название miRNA	Присоединение (Accession)	Хромосома	Начало (nt)	Конец (nt)	Цепь (Strand)	Уверенность (Confidence)
1	mtr-MIR162	MI0001738	chr4	38145140	38145263	+	-
2	mtr-MIR160a	MI0001739	contig_112492	316	434	+	-
3	mtr-MIR166a	MI0001740	chr1	19059643	19059763	-	-

4	mtr-MIR169a	MI000174 1	contig 7984 2	860	980	+	-
5	mtr-MIR399b	MI000174 3	chr6	215171 00	215172 11	-	-
6	mtr-MIR399d	MI000174 4	chr6	215042 77	215044 05	-	-
7	mtr-MIR393a	MI000174 5	chr3	219522 59	219523 93	+	-
8	mtr-MIR395a	MI000174 6	chr5	166105 55	166106 89	-	-
9	mtr-MIR395b	MI000174 7	chr5	166534 54	166535 77	-	-

Для дополнительного анализа была выбрана прекурсорная микроРНК mtr-MIR2592br из модельного растения *Medicago truncatula*. Согласно данным базы miRBase (release v22.1), данная микроРНК зарегистрирована под номером доступа MI0025236 и представлена ствол-петлевой (stem-loop) структурой, характерной для прекурсоров зрелых miRNA. Зрелая форма микроРНК, вероятно функционально активная, соответствует последовательности GACUAGGACUCAAGUAUUUCG.

Нуклеотидная последовательность полнопрофильного прекурсора включает 102 нуклеотида, и её вторичная структура предсказана с использованием скобочной нотации (dot-bracket format), где большая часть последовательности формирует стабильную шпильку с хорошо выраженным дуплексным участком. Это указывает на способность mtr-MIR2592br к формированию зрелой микроРНК через путь Dicer-зависимого процессинга.

Согласно информации из miRBase, упоминание данной микроРНК встречается в одной научной публикации, что свидетельствует о её предварительной биологической релевантности, однако требует дальнейшего функционального подтверждения. Полученные данные могут использоваться для предсказания потенциальных мишеней в генах интересующих лекарственных растений, включая те, что участвуют в биосинтезе вторичных метаболитов.

Stem-loop **mtr-MIR2592br**

**Accession** MI0025236

**Description** *Medicago truncatula* mtr-MIR2592br precursor miRNA

**Literature search** 1 open access papers mention mtr-MIR2592br (2 sentences)

### Sequence

[illegible]

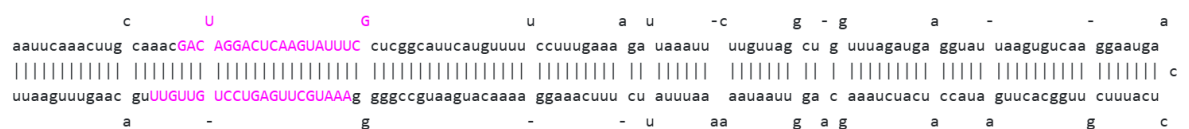
**Рисунок 8** - Структура и последовательность прекурсорной микроРНК mtr-MIR2592br (*Medicago truncatula*)

На рисунке представлена вторичная структура гибридизации между последовательностью микроРНК и её предполагаемой мишенью — мРНК, построенная при помощи программы RNAhybrid. Верхняя строка — последовательность мРНК, нижняя строка — комплементарная цепочка микроРНК (рисунок 3).

- Вертикальные линии (|) обозначают комплементарные (спаренные) нуклеотиды между микроРНК и мРНК.
- Цветом (фиолетовым) выделен "seed region" микроРНК — наиболее критическая зона для связывания, обычно охватывающая позиции 2–8 на 5'-конце микроРНК.
- Непарные участки (пробелы, несовпадения) указывают на несовершенное спаривание, что характерно для эукариотических микроРНК, особенно у животных. В случае растений чаще наблюдается почти полное спаривание.

Гибридная структура предполагает потенциальное связывание микроРНК с мРНК-мишенью, что может привести к ингибированию трансляции или деградации мРНК. Такая визуализация является важным шагом для оценки эффективности регуляции экспрессии гена на посттранскрипционном уровне.

## Structure



**Рисунок 9** - Структура гибридизации микроРНК с мРНК-мишенью, предсказанная с помощью RNAhybrid

В процессе анализа микроРНК растения *Medicago truncatula* на основе базы данных miRBase были идентифицированы зрелые формы микроРНК mtr-miR2592br-5p и mtr-miR2592br-3p, представленные на Рисунке 2. Эти молекулы представляют собой продукты процессинга одного прекурсорного ствол-петлевого предшественника, локализованные соответственно на 5'- и 3'-цепях. Их последовательности и характеристики приведены ниже:

mtr-miR2592br-5p (Accession: MIMAT0030013)

Последовательность: 5'-GACUAGGACUCAAGUAUUUCG-3'

mtr-miR2592br-3p (Accession: MIMAT0030014)

Последовательность: 5'-AAAUGCUUGAGUCCUGUUGUU-3'

Обе последовательности были определены экспериментально с использованием высокопроизводительной технологии секвенирования Illumina, что подтверждает их реальное существование и функциональность в клетке.

Функционально зрелые микроРНК способны избирательно взаимодействовать с мРНК мишенями, направляя деградацию транскриптов или ингибируя трансляцию. Наличие двух форм (5p и 3p) может указывать на множественность потенциальных мишеней, что расширяет спектр регуляторной активности этого микроРНК-кластера. В частности, последовательность miR2592br-3p содержит участок UUGAGUCCU, который потенциально комплементарен участкам транскриптов, участвующих в метаболических и стресс-ассоциированных путях.

Таким образом, mtr-miR2592br-5p/3p представляют интерес как объекты для *in silico* прогнозирования взаимодействий с мРНК генов лекарственных растений Казахстана, особенно из семейства Fabaceae (например, *Glycyrrhiza uralensis*).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования была предпринята попытка *in silico* прогнозирования взаимодействий между микроРНК и мРНК ключевых генов лекарственных растений, произрастающих на территории Казахстана. Работа была основана на положении о том, что микроРНК являются универсальными и тонко регулируемыми элементами посттранскрипционного контроля, способными существенно влиять на биосинтетические пути формирования фармакологически значимых метаболитов у растений.

В качестве модельного организма был использован хорошо аннотированный вид *Medicago truncatula*, представитель семейства Fabaceae, близкий по филогенетическим признакам к ряду казахстанских лекарственных растений, в частности, к *Glycyrrhiza uralensis* (солодке). Последовательности микроРНК были получены из международной базы данных miRBase, а прогнозирование взаимодействий с мРНК-мишенями проводилось с использованием платформы miRWalk, учитывающей как комплементарность в области "seed region", так и термодинамические параметры гибридизации ( $\Delta G$ ). В результате анализа были выявлены микроРНК-кандидаты, потенциально взаимодействующие со следующими целевыми мРНК:  $\beta$ -амиринсинтаза ( $\beta$ -AS) — ключевой фермент биосинтеза глицирризина у солодки; HMGR — фермент мевалонатного пути у ферулы; GalLDH — фермент, участвующий в биосинтезе аскорбиновой кислоты у облепихи.

Особое внимание в анализе было уделено таким микроРНК, как miR156, miR159, miR396, miR171, известным своей высокой эволюционной консервативностью и участием в регуляции роста, гормонального гомеостаза, стресс-ответа и вторичного метаболизма у бобовых и других растений. Для повышения надёжности результатов была проведена валидация через литературу в базе PubMed, что позволило выделить ряд микроРНК–мРНК пар как биологически обоснованные и перспективные для дальнейшего лабораторного подтверждения. Таким образом, данное исследование подтвердило применимость *in silico* подходов для первичного скрининга регуляторных РНК у малоструктурированных или эндемичных видов лекарственной флоры. Полученные данные могут служить отправной точкой для будущих молекулярно-генетических и функциональных исследований, направленных на подтверждение экспрессии и роли микроРНК, а также на возможное использование этих данных в биотехнологии и селекции.

Использование *Medicago truncatula* как модельной системы показало свою эффективность при ограниченности экспериментальных данных по эндемичным видам, что делает данный подход особенно актуальным для исследований казахстанской флоры.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Aug 3;9:402. doi: 10.3389/fendo.2018.00402. PMID: 30123182; PMCID: PMC6085463.
2. de Mello AS, Ferguson BS, Shebs-Maurine EL, Giotto FM. MicroRNA Biogenesis, Gene Regulation Mechanisms, and Availability in Foods. *Noncoding RNA*. 2024 Oct 11;10(5):52. doi: 10.3390/ncrna10050052. PMID: 39452838; PMCID: PMC11510440.
3. Sun M, Xu S, Mei Y, Li J, Gu Y, Zhang W, Wang J. MicroRNAs in Medicinal Plants. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 9;23(18):10477. doi: 10.3390/ijms231810477. PMID: 36142389; PMCID: PMC9500639.
4. Owusu Adjei M, Zhou X, Mao M, Rafique F, Ma J. MicroRNAs Roles in Plants Secondary Metabolism. *Plant Signal Behav*. 2021 Jul 3;16(7):1915590. doi: 10.1080/15592324.2021.1915590. Epub 2021 May 3. PMID: 33938393; PMCID: PMC8205019.
5. Ražná K, Harenčár Ľ, Kučka M. The Involvement of microRNAs in Plant Lignan Biosynthesis—Current View. *Cells*. 2022; 11(14):2151. <https://doi.org/10.3390/cells11142151>
6. Ratti M, Lampis A, Ghidini M, Salati M, Mirchev MB, Valeri N, Hahne JC. MicroRNAs (miRNAs) and Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as New Tools for Cancer Therapy: First Steps from Bench to Bedside. *Target Oncol*. 2020 Jun;15(3):261-278. doi: 10.1007/s11523-020-00717-x. PMID: 32451752; PMCID: PMC7283209.
7. Ying SY, Chang DC, Lin SL. The microRNA (miRNA): overview of the RNA genes that modulate gene function. *Mol Biotechnol*. 2008 Mar;38(3):257-68. doi: 10.1007/s12033-007-9013-8. Epub 2007 Nov 13. PMID: 17999201; PMCID: PMC7091389.
8. Rac, M. Synthesis and Regulation of miRNA, Its Role in Oncogenesis, and Its Association with Colorectal Cancer Progression, Diagnosis, and Prognosis. *Diagnostics* 2024, 14, 1450. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14131450>
9. Scintu D, Scacchi E, Cazzaniga F, Vinciarelli F, De Vivo M, Shtin M, Svolacchia N, Bertolotti G, Unterholzner SJ, Del Bianco M, Timmermans M, Di Mambro R, Vittorioso P, Sabatini S, Costantino P, Dello Ioio R. microRNA165 and 166 modulate response of the Arabidopsis root apical meristem to salt stress. *Commun Biol*. 2023 Aug 11;6(1):834. doi: 10.1038/s42003-023-05201-6. Erratum in: *Commun Biol*. 2023 Aug 29;6(1):883. doi: 10.1038/s42003-023-05245-8. PMID: 37567954; PMCID: PMC10421904.
10. Mirlohi S, Schott G, Imboden A, Voinnet O. An AGO10:miR165/6 module regulates meristem activity and xylem development in the Arabidopsis root. *EMBO*



- J. 2024 May;43(9):1843-1869. doi: 10.1038/s44318-024-00071-y. Epub 2024 Apr 2. PMID: 38565948; PMCID: PMC11066010.
11. Fahad M, Tariq L, Li W, Wu L. MicroRNA gatekeepers: Orchestrating rhizospheric dynamics. *J Integr Plant Biol.* 2025 Mar;67(3):845-876. doi: 10.1111/jipb.13860. Epub 2025 Feb 21. PMID: 39981727; PMCID: PMC11951408.
12. Ahmad, H.M.; Wang, X.; Ijaz, M.; Mahmood-Ur-Rahman; Oranab, S.; Ali, M.A.; Fiaz, S. Molecular Aspects of MicroRNAs and Phytohormonal Signaling in Response to Drought Stress: A Review. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2022, 44, 3695-3710. <https://doi.org/10.3390/cimb44080253>
13. Berganayeva G, Kudaibergenova B, Litvinenko Y, Nazarova I, Sydykbayeva S, Vassilina G, Izdik N, Dyusebaeva M. Medicinal Plants of the Flora of Kazakhstan Used in the Treatment of Skin Diseases. *Molecules.* 2023 May 19;28(10):4192. doi: 10.3390/molecules28104192. PMID: 37241933; PMCID: PMC10221907.
14. Nurlybekova A, Kudaibergen A, Kazymbetova A, Amangeldi M, Baiseitova A, Ospanov M, Aisa HA, Ye Y, Ibrahim MA, Jenis J. Traditional Use, Phytochemical Profiles and Pharmacological Properties of *Artemisia* Genus from Central Asia. *Molecules.* 2022 Aug 11;27(16):5128. doi: 10.3390/molecules27165128. PMID: 36014364; PMCID: PMC9415318.
15. Sokoloff, D.D.; Degtjareva, G.V.; Valiejo-Roman, C.M.; Severova, E.E.; Barinova, S.; Chepinoga, V.V.; Kuzmin, I.V.; Sennikov, A.N.; Shmakov, A.I.; Skaptsov, M.V.; et al. Kazakhstan Has an Unexpected Diversity of Medicinal Plants of the Genus *Acorus* (Acoraceae) and Could Be a Cradle of the Triploid Species *A. calamus*. *Plants* 2024, 13, 1978. <https://doi.org/10.3390/plants13141978>
16. Alami MM, Ouyang Z, Zhang Y, Shu S, Yang G, Mei Z, Wang X. The Current Developments in Medicinal Plant Genomics Enabled the Diversification of Secondary Metabolites' Biosynthesis. *Int J Mol Sci.* 2022 Dec 14;23(24):15932. doi: 10.3390/ijms232415932. PMID: 36555572; PMCID: PMC9781956.
17. Wu Z, Hu Y, Hao R, Li R, Lu X, Itale MW, Yuan Y, Zhu X, Zhang J, Wang L, Sun M, Hou X. Research Progress of Genomics Applications in Secondary Metabolites of Medicinal Plants: A Case Study in Safflower. *Int J Mol Sci.* 2025 Apr 19;26(8):3867. doi: 10.3390/ijms26083867. PMID: 40332590; PMCID: PMC12027854.
18. Seki H, Sawai S, Ohyama K, Mizutani M, Ohnishi T, Sudo H, Fukushima EO, Akashi T, Aoki T, Saito K, Muranaka T. Triterpene functional genomics in licorice for identification of CYP72A154 involved in the biosynthesis of glycyrrhizin. *Plant Cell.* 2011 Nov;23(11):4112-23. doi: 10.1105/tpc.110.082685. Epub 2011 Nov 29. PMID: 22128119; PMCID: PMC3246328.
19. Mugford ST, Osbourn A. Saponin Synthesis and Function. *Isoprenoid Synthesis in Plants and Microorganisms.* 2012 Aug 22:405–24. doi: 10.1007/978-1-4614-4063-5\_28. PMCID: PMC7121976.
20. Yu L, Diao S, Zhang G, Yu J, Zhang T, Luo H, Duan A, Wang J, He C, Zhang J. Genome sequence and population genomics provide insights into chromosomal

evolution and phytochemical innovation of *Hippophae rhamnoides*. *Plant Biotechnol J*. 2022 Jul;20(7):1257-1273. doi: 10.1111/pbi.13802. Epub 2022 Apr 28. PMID: 35244328; PMCID: PMC9241383.

21. Doseděl M, Jirkovský E, Macáková K, Krčmová LK, Javorská L, Pourová J, Mercolini L, Remião F, Nováková L, Mladěnka P, On Behalf Of The Oeonom. Vitamin C-Sources, Physiological Role, Kinetics, Deficiency, Use, Toxicity, and Determination. *Nutrients*. 2021 Feb 13;13(2):615. doi: 10.3390/nu13020615. PMID: 33668681; PMCID: PMC7918462.

22. Dudley N, Baldock D, Nasi R, Stolton S. Measuring biodiversity and sustainable management in forests and agricultural landscapes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2005 Feb 28;360(1454):457-70. doi: 10.1098/rstb.2004.1593. PMID: 15814357; PMCID: PMC1569449.

23. Senanayake, M.; Harymawan, I.; Dorfleitner, G.; Lee, S.; Rhee, J.H.; Ok, Y.S. Toward More Nature-Positive Outcomes: A Review of Corporate Disclosure and Decision Making on Biodiversity. *Sustainability* 2024, 16, 8110. <https://doi.org/10.3390/su16188110>

24. Wang, Q.; Zhang, H.-X. Population Genetic Structure and Biodiversity Conservation of a Relict and Medicinal Subshrub *Capparis spinosa* in Arid Central Asia. *Diversity* 2022, 14, 146. <https://doi.org/10.3390/d14020146>

25. Khapilina O, Turzhanova A, Danilova A, Tumenbayeva A, Shevtsov V, Kotukhov Y, Kalendar R. Primer Binding Site (PBS) Profiling of Genetic Diversity of Natural Populations of Endemic Species *Allium ledebourianum* Schult. *BioTech (Basel)*. 2021 Oct 13;10(4):23. doi: 10.3390/biotech10040023. PMID: 35822797; PMCID: PMC9245474.

26. Sun M, Xu S, Mei Y, Li J, Gu Y, Zhang W, Wang J. MicroRNAs in Medicinal Plants. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 9;23(18):10477. doi: 10.3390/ijms231810477. PMID: 36142389; PMCID: PMC9500639.

27. Gupta OP, Karkute SG, Banerjee S, Meena NL and Dahuja A (2017) Contemporary Understanding of miRNA-Based Regulation of Secondary Metabolites Biosynthesis in Plants. *Front. Plant Sci*. 8:374. doi: 10.3389/fpls.2017.00374

28. Cantó C, Menzies KJ, Auwerx J. NAD(+) Metabolism and the Control of Energy Homeostasis: A Balancing Act between Mitochondria and the Nucleus. *Cell Metab*. 2015 Jul 7;22(1):31-53. doi: 10.1016/j.cmet.2015.05.023. Epub 2015 Jun 25. PMID: 26118927; PMCID: PMC4487780.

29. Jayaraman V, Toledo-Patiño S, Noda-García L, Laurino P. Mechanisms of protein evolution. *Protein Sci*. 2022 Jul;31(7):e4362. doi: 10.1002/pro.4362. PMID: 35762715; PMCID: PMC9214755.

30. Romão L. mRNA Metabolism in Health and Disease. *Biomedicines*. 2022 Sep 13;10(9):2262. doi: 10.3390/biomedicines10092262. PMID: 36140363; PMCID: PMC9496247.

31. Urban K, Hura T. Zastosowanie inhibitorów amoniakolizacji L-fenylalaniny w badaniach ekofizjologii roślin [The use of L-phenylalanine ammonia lyase inhibitors in plant ecophysiological studies]. *Postepy Biochem.* 2023 Mar 3;69(1):11-17. Polish. doi: 10.18388/pb.2021\_471. PMID: 37493563.
32. Zhao, Y., Liu, G., Yang, F. *et al.* Multilayered regulation of secondary metabolism in medicinal plants. *Mol Horticulture* 3, 11 (2023). <https://doi.org/10.1186/s43897-023-00059-y>
33. Dexheimer PJ and Cochella L (2020) MicroRNAs: From Mechanism to Organism. *Front. Cell Dev. Biol.* 8:409. doi: 10.3389/fcell.2020.00409
34. Seo, Y., Rhim, J. & Kim, J.H. RNA-binding proteins and exoribonucleases modulating miRNA in cancer: the enemy within. *Exp Mol Med* 56, 1080–1106 (2024). <https://doi.org/10.1038/s12276-024-01224-z>
35. Gutiérrez-García C, Ahmed SSSJ, Ramalingam S, Selvaraj D, Srivastava A, Paul S, Sharma A. Identification of microRNAs from Medicinal Plant *Murraya koenigii* by High-Throughput Sequencing and Their Functional Implications in Secondary Metabolite Biosynthesis. *Plants* (Basel). 2021 Dec 24;11(1):46. doi: 10.3390/plants11010046. PMID: 35009050; PMCID: PMC8747174.
36. Samad AFA, Sajad M, Nazaruddin N, Fauzi IA, Murad AMA, Zainal Z and Ismail I (2017) MicroRNA and Transcription Factor: Key Players in Plant Regulatory Network. *Front. Plant Sci.* 8:565. doi: 10.3389/fpls.2017.00565
37. Guleria P, Yadav SK. Identification of miR414 and expression analysis of conserved miRNAs from *Stevia rebaudiana*. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2011 Dec;9(6):211-7. doi: 10.1016/S1672-0229(11)60024-7. PMID: 22289477; PMCID: PMC5054151.
38. Mandhan V, Kaur J, Singh K. smRNAome profiling to identify conserved and novel microRNAs in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *BMC Plant Biol.* 2012 Nov 1;12:197. doi: 10.1186/1471-2229-12-197. PMID: 23116282; PMCID: PMC3502355.
39. Hossain R, Quispe C, Saikat ASM, Jain D, Habib A, Janmeda P, Islam MT, Radha, Daştan SD, Kumar M, Butnariu M, Cho WC, Sharifi-Rad J, Kipchakbayeva A, Calina D. Biosynthesis of Secondary Metabolites Based on the Regulation of MicroRNAs. *Biomed Res Int.* 2022 Mar 4;2022:9349897. doi: 10.1155/2022/9349897. PMID: 35281611; PMCID: PMC8916866.
40. Kumar D, Ramkumar MK, Dutta B, Kumar A, Pandey R, Jain PK, Gaikwad K, Mishra DC, Chaturvedi KK, Rai A, Solanke AU, Sevanthi AM. Integration of miRNA dynamics and drought tolerant QTLs in rice reveals the role of miR2919 in drought stress response. *BMC Genomics.* 2023 Sep 6;24(1):526. doi: 10.1186/s12864-023-09609-6. PMID: 37674140; PMCID: PMC10481553.
41. Hazra S, Bhattacharyya D, Chattopadhyay S. Methyl Jasmonate Regulates Podophyllotoxin Accumulation in *Podophyllum hexandrum* by Altering the ROS-Responsive Podophyllotoxin Pathway Gene Expression Additionally through the

- Down Regulation of Few Interfering miRNAs. *Front Plant Sci.* 2017 Feb 14;8:164. doi: 10.3389/fpls.2017.00164. PMID: 28261233; PMCID: PMC5306198.
42. Sofi MA, Sofi MA, Nanda A, Nayak BK, Othman Z, Sadikan MZ. Exploring the Therapeutic Potential of *Podophyllum hexandrum* Root Extract: Chemical Composition, Antimicrobial Efficacy, and Antioxidant and Anticancer Activities. *Scientifica* (Cairo). 2025 Mar 18;2025:5100547. doi: 10.1155/sci5/5100547. PMID: 40134767; PMCID: PMC11936539.
43. Alnuqaydan AM. Targeting micro-RNAs by natural products: a novel future therapeutic strategy to combat cancer. *Am J Transl Res.* 2020 Jul 15;12(7):3531-3556. PMID: 32774718; PMCID: PMC7407688.
44. Liu Z, Sall A, Yang D. MicroRNA: An emerging therapeutic target and intervention tool. *Int J Mol Sci.* 2008 Jun;9(6):978-999. doi: 10.3390/ijms9060978. Epub 2008 Jun 13. PMID: 19325841; PMCID: PMC2658779.
45. Seyhan, A.A. Trials and Tribulations of MicroRNA Therapeutics. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 1469. <https://doi.org/10.3390/ijms25031469>
46. <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/1975Sci...190..880S/abstract>
47. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(05\)79939-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(05)79939-6/fulltext)





## Отчет подобия

## Метаданные

Название организации

Satbayev University

Название

Прогнозирование характеристик взаимодействия микроРНК с мРНК некоторых генов лекарственных растений Казахстана

Автор

Научный руководитель / Эксперт

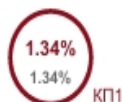
Жақыпбай Султан РұстамұлыАяз Белкожаев

Подразделение

ИГИНГД

## Объем найденных подоби

КП-ия определяют, какой процент текста по отношению к общему объему текста был найден в различных источниках.. Обратите внимание!Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



КП1

25

Длина фразы для коэффициента подоби 2



КП2

5507

Количество слов



КЦ

46123

Количество символов

## Тревога

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		6
Интервалы		0
Микропробелы		0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		3

## Подобия по списку источников

Ниже представлен список источников. В этом списке представлены источники из различных баз данных. Цвет текста означает в каком источнике он был найден. Эти источники и значения Коэффициента Подобия не отражают прямого плагиата. Необходимо открыть каждый источник и проанализировать содержание и правильность оформления источника.

## 10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	<a href="https://gb2bel.belzdrav.ru/services/our_destinations/traditional_medicine/medicinal_plants.php">https://gb2bel.belzdrav.ru/services/our_destinations/traditional_medicine/medicinal_plants.php</a>	55 1.00 %
2	<a href="https://gb2bel.belzdrav.ru/services/our_destinations/traditional_medicine/medicinal_plants.php">https://gb2bel.belzdrav.ru/services/our_destinations/traditional_medicine/medicinal_plants.php</a>	12 0.22 %
3	<a href="https://smekni.com/a/153110/lekarstvennye-rasteniya-i-ikh-svoystva/">https://smekni.com/a/153110/lekarstvennye-rasteniya-i-ikh-svoystva/</a>	7 0.13 %

из базы данных RefBooks (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
из домашней базы данных (0.00 %)		
ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
из программы обмена базами данных (0.00 %)		
ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
из интернета (1.34 %)		
ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	<a href="https://gb2bel.belzdrav.ru/services/our_destinations/traditional_medicine/medicinal_plants.php">https://gb2bel.belzdrav.ru/services/our_destinations/traditional_medicine/medicinal_plants.php</a>	67 (2) 1.22 %
2	<a href="https://smekni.com/a/153110/lekarstvennye-rasteniya-i-ikh-svoystva/">https://smekni.com/a/153110/lekarstvennye-rasteniya-i-ikh-svoystva/</a>	7 (1) 0.13 %

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---