

## VELKÝ VÝZNAM MALÝCH NEKÓDUJÍCÍCH RNA PRO LIDSKÝ ORGANISMUS

JITKA VIKTOROVÁ a TOMÁŠ RUML

*Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, Praha 6  
rumlt@vscht.cz*

Došlo 19.4.18, přijato 24.9.18.

Klíčová slova: miRNA, regulace genové exprese, biomarkery, rakovina

### Obsah

1. Úvod
2. Metody identifikace nových ncRNA
3. Potenciální vliv přítomnosti miRNA v potravě na lidský organismus
4. Indukce tvorby lidských miRNA biologicky aktivními molekulami z potravy
5. ncRNA jako biomarkery a jejich potenciální aplikace v terapii
6. Závěr

### 1. Úvod

Od objevu první malé nekódující RNA (ncRNA, z angl. non-coding RNA) bylo popsáno již mnoho různých druhů těchto molekul. Mezi hlavní velké skupiny patří miRNA (z angl. microRNA, převážně 22–25 nt)<sup>1</sup> a siRNA (z angl. small interfering RNA, zpravidla 19–21 nt s výjimkou rostlinných siRNA, které jsou delší, cca 21–24 nt)<sup>2</sup>. Přehled dosud známých lidských ncRNA je uveden v tabulce I. Tyto krátké molekuly jsou produkovány z delších dvouřetězcových RNA nebo z vlásenek RNA pomocí komplexu Dicer (obr. 1), následně se za pomoci Argonaut proteinů vážou na komplementární úseky mRNA, což vede k posttranskripčnímu umlčení genů. Zmiňovaný komplex malé ncRNA a Argonaut proteinu se nazývá RISC (z angl. RNA-Induced Silencing Complex) a v případě miRNA zpravidla inhibuje translaci, zatímco v případě siRNA degraduje cílovou mRNA. Předpokládá se, že jednotlivé miRNA mohou regulovat několik mRNA a každá mRNA může být cílena více miRNA, což ukazuje na komplexnost důležité regulační role těchto molekul. Různé miRNA ovlivňují hladinu transkripčních faktorů řady genů a tím regulují metabolickou homeostázu člověka. Například miRNA-122 produkovaná zejména v játrech

reguluje expresi několika genů zodpovědných za biosyntézu cholesterolu. Navíc hraje roli i v diferenciaci hepatocytů. Další miRNA, miRNA-33a, ovlivňuje hladinu klíčových enzymů při tvorbě mastných kyselin a homeostázy lipidů. Jedním ze společných faktorů této regulace je zřejmě NAD<sup>+</sup>-dependentní-histondeacetyláza SIRT6, která je důležitým regulátorem metabolismu glukosy a odolnosti ke stresu. Dalším cílem této miRNA je kinasa regulující hladinu buněčné energie při odezvě na energetický stres (např. vysoký poměr intracelulárního AMP k ATP), kdy tlumí energeticky náročné děje jako je syntéza mastných kyselin a cholesterolu. Zároveň aktivuje  $\beta$ -oxidaci mastných kyselin a příjem glukosy pro zvýšení produkce ATP. Navíc miRNA-33a moduluje jeden ze stupňů insulinové signalizace a tak i glukosovou homeostázu. Další miRNA, miRNA-375, produkovaná v pankreatických buňkách, reguluje tvorbu Langerhansových ostrůvků. Tato miRNA má zřejmě duální funkci, neboť společně s miRNA-124a blokuje vezikulární funkci a tím sekreci insulinu.

Z výše uvedeného je patrné, že malé ncRNA mají řadu funkcí. I přes sofistikované laboratorní metody a přístroje je izolace a charakterizace nových nekódujících molekul limitujícím faktorem jejich porozumění.

### 2. Metody identifikace nových ncRNA

V současné době se předpokládá existence tisíců lidských miRNA, avšak popsáno jich bylo pouhých několik set (~1900). Izolace a charakterizace nových ncRNA tak hraje významnou roli v hledání souvislostí mezi jejich existencí a řadou funkcí. Způsob přípravy vzorku a extrakce miRNA mají veliký vliv na výsledek. Kvalitní extrakt miRNA lze získat např. z buněčné linie, čerstvé tkáně, plasmy, moči a jiných tělních tekutin<sup>4</sup>.

Některé specifické vlastnosti miRNA molekul však ztěžují jejich detekci a kvantifikaci. Například délka 22 nt nestačí pro připojení tradičních primerů, které se navrhuje pro reverzní transkripci a PCR (cit.<sup>5</sup>). Navíc miRNA tvoří pouze velmi malou část celkové hmoty RNA, a tudíž musí být selektivně zjištěny mezi ostatními. I přes tyto problémy mohou být zpravidla miRNA detegovány tradičními metodami, jako jsou northern blot, RT-PCR (z angl. reverse transcription polymerase chain reaction), či metodami využívajícími mikročipy<sup>6</sup> a vysokokapacitní sekvenování. Výběr metody závisí na účelu analýzy, ceně, přesnosti metody a množství vzorku<sup>4</sup>.

Nejčastěji používanou metodou je RT-PCR, při které se reverzní transkripcí převede miRNA na cDNA, která je následně amplifikována pomocí qPCR (z angl. quantitative polymerase chain reaction). miRNA však postrádají poly(A) konce, které jsou u eukaryotních mRNA využívány pro

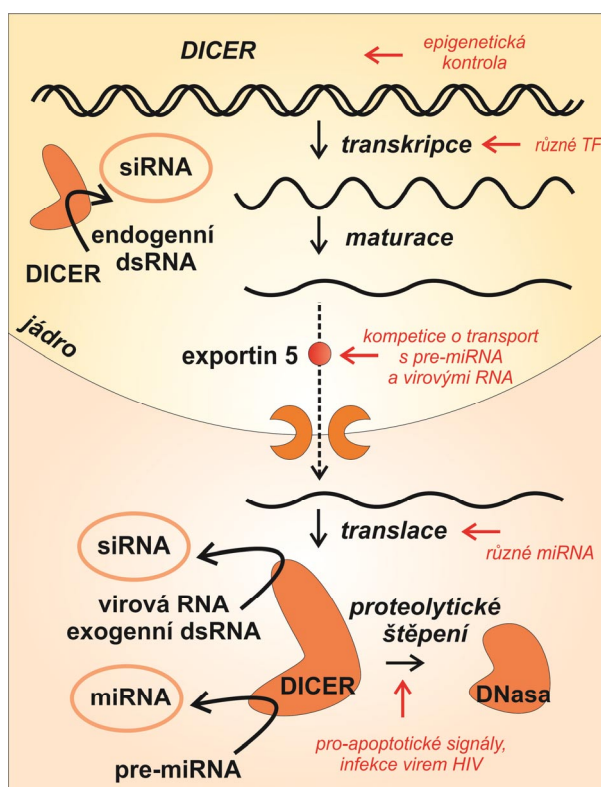
Tabulka I  
Přehled doposud popsáných lidských ncRNA a jejich funkcí

Typ	Podtyp	Funkce <sup>a</sup>
tRNA	genomová	nese doménu antikodonu a k němu příslušnou aminokyselinu
	mitochondriální	
rRNA	5S	velká podjednotka ribosomu, transkribována v jádře
	5,8S	velká podjednotka ribosomu, transkribována v jádru
	18S	malá podjednotka ribosomu, transkribována v jádru
	28S	velká podjednotka ribosomu, transkribována v jádru
snRNA	U1, 2, 4, 5, 6, 4atac, 6atac, 11, 12	tvorba spliceosomu a jeho umístění poblíž intronu
	Y	asociována s funkcí proteinu Ro (faktor regulující replikaci chromosomální DNA)
	7SK	modifikace proteinů na inhibitory kinas (zastavení elongace transkriptů)
snoRNA	U7	post-transkripční modifikace histonové mRNA
	H/ACA box	zrání a post-transkripční modifikace mRNA
	C/D box	
	scaRNA	biogeneze snRNP v Cajalových těliscích
miRNA		22-25 nt, podílí se na regulaci genové exprese, na základě své komplementarity k úsekům mRNA ovlivňuje jejich translaci
siRNA		19-21 nt, rostlinné 21-24 nt, jako součást RISC komplexu degraduje komplementární mRNA
piRNA		26-30 nt, interaguje s proteinem Piwi, epigenetická i post-transkripční kontrola exprese
lncRNA	SRP RNA (nebo též 7SL RNA či 6S RNA)	300 nt, napomáhá skládání SRP a její interakci s ribosomem
	TERC RNA	součást komponentu telomerasy, slouží jako templát pro replikaci telomer reverzní transkripce
	vaultRNA	80–150 nt, součást velkého ribonukleoproteinového komplexu VAULT, ovlivňuje procesy intracelulárního transportu
	XIST	hlavní efektor procesu inaktivace X chromosomu
gRNA		60 nt, řízená post-transkripční modifikace (záměna nukleotidů) u t-, r-, m- i miRNA
RNase RNA	P	součástí katalytického místa enzymu ribonukleasy P, která štěpí RNA na tRNA, navíc je zapotřebí pro efektní transkripci dalších malých ncRNA (např. 5S RNA, SRP RNA a U6 snRNA)
	MRP	iniciační role při mtDNA replikaci, v jádře je zapojena do maturace pre-rRNA, kde štěpí spacer 1 mezi 18S a 5,8S
tiRNA		vznikají rozštěpením tRNA při stresu

<sup>a</sup> Je-li to významným parametrem, je uvedena i lokalizace a velikost

navázání univerzálních oligo-T primerů. U miRNA se tedy používá buď enzymové připojení poly(A) konce nebo syntetický vlásenkový primer<sup>4,5</sup>. V prvním případě dojde k prodloužení 3' konce miRNA o několik adenosinů, na které se poté váže komplementární oligo-T sekvence slou-

žící jako univerzální reverzní primer. Ve druhém případě je syntetický vlásenkový primer navržen tak, že na 3' konci obsahuje několik specifických bází komplementárních k 3' konci miRNA a v místě smyčky potom nese sekvenci pro připojení univerzálního reverzního primeru. Pro zvýše-



Obr. 1. Mechanismy regulující produkci a funkci proteinu Dicer produkujícího miRNA a siRNA. Dicer i pre-miRNA vznikají v jádře, odkud jsou transportovány exportinem 5, jehož saturace je limitujícím krokem při vzniku miRNA. Zatímco Dicer hraje hlavní roli při štěpení molekul pre-miRNA na různé miRNA v cytoplasmě, byly popsány již i miRNA regulující funkci samotného Diceru. Během apoptózy ztrácí Dicer svou RNasovou aktivitu katalytickým štěpením kaspasou a nabývá DNasovou funkci pro štěpení chromosomální DNA (upraveno dle<sup>52</sup>)

ní specifity se využívají i TaqMan sondy či knihovna univerzálních sond (UPL, z angl. Universal Probe Library, Roche). Avšak obě tyto alternativy u rostlinných miRNA často znesnadňuje methylace terminální ribosy ve 3' pozici.

Další možností detekce miRNA jsou mikročipy, které byly použity jako jedna z prvních metod k paralelní analýze velkého počtu miRNA. Bylo vyvinuto několik variant této metody, včetně fluorescenčního značení miRNA v biologickém vzorku pro následnou hybridizaci s DNA sondami na čipu. miRNA mikročipy jsou levnější oproti ostatním metodám používaným k profilování a neomezují počet paralelních měření<sup>4</sup>.

NGS (z angl. next-generation sequencing) je nejvyžívanější metodou při profilování miRNA. Nejprve je nutná příprava cDNA knihovny ze vzorku RNA, která je následována masivním paralelním sekvenováním všech cDNA (cit.<sup>4</sup>). V současné době se velmi rozvíjejí i metody založené na použití sond značených nanočásticemi<sup>7</sup>, izotermální amplifikace<sup>8</sup>, elektrochemické metody<sup>9</sup> a další.

### 3. Potenciální vliv přítomnosti miRNA v potravě na lidský organismus

Složky obsažené v potravě jako vitaminy a sekundární metabolity rostlin jsou někdy označovány za regulátory množství miRNA (cit.<sup>10–13</sup>). Rostliny, stejně jako živočišné, mají hojně zastoupení miRNA ve všech požitelných tkáních, což naznačuje možný vliv dietárních miRNA na organismus, zejména předpokládáme-li, že rostlinné miRNA by mohly působit v cílovém organismu stejně jako živočišné endogenní miRNA, u kterých postačuje pouze částečná komplementarita k ovlivnění cílového genu. Navíc jsou některé miRNA stabilní při vaření a jsou také odolné vůči enzymovému rozkladu v gastrointestinálním traktu a v séru. Bylo prokázáno, že malé ncRNA molekuly mohou být mobilní nejen napříč organismem, ale i mezi organismy. Ve druhém případě se RNA interference šíří buď mezi stejnými druhy, jako je tomu například při kojení novorozenců, kterým je mateřským mlékem předávána miRNA-21 aktivující procesy buněčného dělení a vývoje novorozence<sup>3</sup>, nebo mezi odlišnými druhy rostlin napadených jinou, parazitující rostlinou. V nedávné době byla

publikována zjištění, že v krevním séru člověka i zvířat lze nalézt i exogenní rostlinnou miRNA v množství úměrném dávce a času expozice<sup>14</sup>. Dietární příjem může tedy teoreticky ovlivnit buněčné pochody regulací exprese genů hostitelského organismu<sup>13,15–17</sup>. Toto mezidruhové umlčení genu bylo popsáno např. u miRNA168a z rýže, která snížila expresi LDLRAP1 (z angl. low-density lipoprotein receptor adaptor protein 1) proteinu v myších játrech a tím snížila množství LDL (z angl. low-density lipoprotein), které se z krevního řečiště přenáší do jaterních buněk. LDL je hlavním lipoproteinem krevní plasmy, který nese cholesterol a hraje tak klíčovou roli v rozvoji aterosklerózy. Snížení množství LDLRAP1 v játrech způsobilo sníženou endocytózu LDL jaterními buňkami a tím omezilo odstraňování LDL z plasmy<sup>14,17</sup>.

Kolem významu dietárních xeno-miRNA však stále zůstává řada nezodpovězených otázek. Např. zda počet kopií miRNA ve stravě může být dostatečný, aby vyvolal odezvu v organismu příjemce, uvážíme-li aspekt stability a účinnost absorpce v zažívacím traktu, specifitu účinku atd. Navíc byla výše citovaná práce týkající se miRNA168a z rýže posléze zpochybněna kvůli nepřesvědčivým datům, která se nepodařilo v jiných laboratořích reprodukovat. Z předpokládaných několika tisíc rostlinných miRNA (cit.<sup>18</sup>) jich bylo v krevní plasmě zvířat a člověka dosud detegováno pouze několik. To ovšem může být způsobeno nízkým detekčním limitem aktuálně využívaných analytických metod, například kvůli 2'-O-methylaci 3' koncové ribosy rostlinných miRNA a tím snížené účinnosti ligace adaptorových oligonukleotidů<sup>19</sup>.

Několik studií se zabývá také tím, jaký vliv mohou mít rostlinné miRNA na organismus, který je přijímá. Jedním z diskutovaných vlivů je chemopreventivní účinek, kdy miRNA spouštěním imunitní odpovědi minimalizují tvorbu tumorů. Lze tedy předpokládat, že požívání pokrmů z některých rostlin by mohlo být ekonomickou a přírodní aplikací miRNA např. s tumor supresorovou funkcí<sup>16</sup>.

Je ale nutné zvážit i možná rizika, která nové RNA technologie přináší v souvislosti s ovlivněním exprese genů příjmem cizorodé miRNA. Agrobiotechnologové modifikují plodiny k produkci vyššího množství nových malých RNA, aby dosáhli vyšších výtěžků nebo zabránili onemocnění pěstovaných plodin (tímto tématem se podrobněji zabývá např. souhrnný článek<sup>20</sup>). Lze těžko předvídat, jaký mohou mít tyto nepůvodní miRNA vliv na konzumenty. Současné dogma tvrdí, že konzumace dietárních RNA nemá žádný vliv na lidské zdraví<sup>21</sup> a práce ukazující, že dietární miRNA ovlivňují genovou expresi<sup>22,23</sup> jsou zpochybněny a dosud nebyly vědeckou komunitou obecně přijaty. To zejména kvůli příliš nízké koncentraci dietárních miRNA na to, aby měly významný regulační vliv a také vzhledem k malému množství vzorků v publikovaných studiích.

#### 4. Indukce tvorby lidských miRNA biologicky aktivními molekulami z potravy

V nedávné době se stále častěji objevují publikace ukazující, že některé látky v potravinách specificky zvyšují hladinu některých lidských miRNA. Například dlouhodobě podávaný extrakt z vinných hroznů zvýšil hladinu imunomodulačních miRNA; konkrétně snižoval expresi klíčových prozánětlivých cytokinů<sup>24</sup>. Autoři zde připisují hlavní roli resveratrolu přítomnému v extraktech. Dalším příkladem je dieta s vysokým podílem mandlí a vlašských ořechů, která vedla k navýšení hladiny řady miRNA. Toto navýšení bylo přisuzováno polynenasyceným mastným kyselinám (PUFA, z angl. polyunsaturated fatty acids) přítomným v mandlích. PUFA v rybím tuku snížily i důsledky alkoholem nevyvolané jaterní steatózy u pokusných kryš<sup>25</sup>. Toto onemocnění je spojováno s tzv. metabolickým syndromem a trpí jím zejména lidé ve vyspělých zemích. V souvislosti s hepatoprotektivním účinkem spojeným s miRNA byl také publikován pozitivní vliv methioninu a cholinu.

#### 5. ncRNA jako biomarkery a jejich potenciální aplikace v terapii

Expresí miRNA je tkáňově specifická a v mnoha případech definuje fyziologickou podstatu buňky<sup>26</sup>. Změny jejich exprese mají za následek fenotypy řady onemocnění<sup>27</sup>. Souvislost miRNA s nemocemi je zřejmá již od roku 2002, kdy bylo poprvé prokázáno, že většina pacientů trpících chronickou lymfocytární leukémií má deletovaný gen miRNA-15 či 16 nebo utlumenou jejich expresi<sup>36</sup>. Za pomoci vysokokapacitních technik, mikročipů a sekvenování nové generace bylo později dokázáno, že deregulace různých miRNA nastává u téměř všech typů lidské rakoviny<sup>28,29</sup> a specifický průkaz hladiny exprese miRNA může sloužit k diagnostickým a prognostickým účelům<sup>30–34</sup>. Některé miRNA působí jako nádorové supresory, neboť způsobují specifickou degradaci mRNA onkogenu<sup>35</sup>. Jako příklad takovýchto tumor supresorových miRNA můžeme uvést klastr miRNA-15a a miRNA-16-1, miRNA z rodiny let-7 nebo z rodiny miRNA-34 (cit.<sup>35,36</sup>). Klastr miRNA-15a/16-1 cílí na antiapoptický protein BCL2, jehož množství je často zvýšeno v řadě typů rakoviny zahrnujících i leukemii a lymfomy. Avšak některé miRNA mají místo supresorové role i roli karcinogenní. Jedna z nejlépe charakterizovaných onkogenních miRNA je miRNA-21, jejíž exprese je zvýšená téměř u všech typů rakoviny<sup>37</sup>. Bylo prokázáno, že zvýšená exprese miRNA-21 indukuje pre-B buňky myšího lymfomu<sup>38</sup> nebo zvyšuje metastázy kolorektální rakoviny cílením proteinu 4 zodpovědného za programovanou buněčnou smrt<sup>39</sup>. Podobně je také hladina transkripce klastru miRNA-17–92 ležícího na 13. chromosomu často zvýšená v případě různých druhů rakoviny zahrnujících lymfom, rakovinu plic, prsu, žaludku, střeva a pankreatu<sup>37</sup>. Dále bylo dokázáno, že některé miRNA

mohou fungovat specificky jako aktivátory nebo supresory metastáz<sup>40</sup>. Příklady miRNA, které aktivují promotory genů souvisejících s metastazováním, jsou miRNA-9, miRNA-10b, miRNA-103, miRNA-107, miRNA-373 a miRNA-520c, zatímco miRNA-31, miRNA-34a, miRNA-126, miRNA-200, miRNA-206 a miRNA-335 fungují jako supresory metastáz pomocí rozsáhlého mechanismu, který většinou funguje na principu regulace migrace a invaze rakovinných buněk<sup>41</sup>. Další informace o zapojení miRNA při vzniku rakoviny je možné najít např. v publikaci<sup>42</sup>.

Bylo zjištěno, že také viry obsahují své miRNA molekuly. Byly objeveny u polyomaviru<sup>43</sup>, adenovirů<sup>44</sup> a několika typů herpesvirů<sup>45</sup>. Kromě toho, že virus přinese do hostitelské buňky vlastní miRNA, existuje velké riziko, že dokáže přizpůsobit buněčné miRNA své vlastní potřebě pro přežití. Ačkoliv není exprese některých buněčných miRNA přímo regulována virem, udržení jejich intracelulární hladiny je stěžejní pro virovou infekci a replikaci. Například vysoká hladina miRNA-122 v játrech je nutná pro replikaci viru hepatitidy C *in vitro* i *in vivo*, ačkoliv virová infekce ani její replikace neovlivňují transkripci této miRNA (cit.<sup>26</sup>).

Deregulace miRNA je často asociována i s dalšími lidskými nemocemi, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, poruchy centrálního nervového či imunitního systému, nebo metabolické poruchy<sup>46–48</sup>, což kvalifikuje tyto molekuly jako potenciální cíle pro vývoj nových terapií. U několika autoimunitních onemocnění, zahrnujících roztroušenou sklerózu (RS), lupus erythematosus, diabetes mellitus typu I i II a další, byla prokázána souvislost s buněčnou hladinou miRNA (cit.<sup>26</sup>). Konkrétně bylo zjištěno, že exprese miRNA-145, miRNA-34a, miRNA-155 a miRNA-326 se liší u pacientů s roztroušenou sklerózou od kontrolních zdravých jedinců<sup>49</sup>, přičemž zvyšování množství miRNA-326 bylo úměrné závažnosti RS (cit.<sup>50</sup>). Byly popsány i další miRNA související s RS: miRNA-103, miRNA-107, miRNA-122, miRNA-144, miRNA-146a, miRNA-150, miRNA-182, miRNA-200a, miRNA-200b, miRNA-429 a předpokládá se existence dalších<sup>26</sup>.

Zjištění, že se miRNA podílí na diferenciaci nervových buněk a celkovém vývoji mozku, vedlo vědce k předpokladu, že by právě tyto molekuly mohly vést k získání stále chybějících léků na neurodegenerativní onemocnění<sup>51</sup> jako např. Parkinsonova, Alzheimerova nebo Huntingtonova choroba. Například systematické profilování miRNA mononukleárních buněk periferní krve pacientů s Parkinsonovou chorobou prokázalo souvislost miRNA-30b, miRNA-30c a miRNA-26a s tímto onemocněním<sup>26</sup>. Průběh neurodegenerativních chorob je komplexním procesem, který je často ovlivněn kombinací genetických, molekulárních a environmentálních vlivů. Ačkoliv jsou různé typy neurodegenerace stále málo pochopeny, současně pokroky v tomto oboru začaly odkrývat mechanismy, které mají vliv na apoptózu nervových buněk. Objevení miRNA jako klíčových regulátorů diferenciaci kmenových buněk, neurogeneze, proliferace nervových buněk, růstu neuritů, formování synapsí a synaptické plas-

ticity neodhalilo pouze jejich zapojení do vývoje nervové soustavy, diferenciaci a neurodegenerace, ale umožňuje využití miRNA také jako biomarkerů<sup>51</sup>.

Některé pre-/klinické studie zaměřené na terapii pomocí miRNA již byly zahájeny. V současné době je zhruba 20 léčiv na bázi nekódujících RNA ve fázi klinických studií. Většinou se jedná o siRNA, jedinou miRNA, která je již v této fázi testování, je inhibitor miRNA-122 známý pod komerčním názvem Miravirsen<sup>15</sup>. Léčiva na bázi miRNA jsou navrhována tak, že snižují expresi nebo blokuji funkci onkogenních miRNA nebo naopak zvyšují expresi těch miRNA, které mají tumor-supresorovou funkci<sup>27</sup>. Vzhledem k tomu, že rakovina je způsobena poškozením několika genů, je výhodou terapeutik na bázi miRNA jejich cílení na několik genů zahrnutých ve vývoji rakoviny<sup>27</sup>.

Stále více se hovoří o možném efektu miRNA obsažených v léčivých bylinách. Právě miRNA by totiž mohly být důvodem, proč nemají některá syntetická léčiva na bázi rostlinných sekundárních metabolitů jako saponinů, alkaloidů či taninů stejnou účinnost jako komplexní bylinné extrakty. Terapeutické možnosti ncRNA mají bezpochyby velký potenciál<sup>27</sup>. Nicméně, ačkoliv byl účinek některých miRNA již prokázán, do jejich použití v klinické praxi zbývají ještě dlouhá léta výzkumu a klinických testů<sup>26</sup>.

## 6. Závěr

Je jisté, že význam malých ncRNA v plně šíři pochopíme teprve v budoucnosti. Ale už současné data ukazující změny jejich expresního profilu při různých onemocněních opravňují k tvrzení, že malé ncRNA, zejména miRNA jsou atraktivním diagnostickým markerem a terapeutickým cílem. Zjištění, že různé složky potravy mohou ovlivnit hladinu některých endogenních miRNA, ukazuje donedávna netušené možnosti, jak ovlivnit výživou profil miRNA. Pochopení role různých látek v kontrole miRNA a regulační funkce těchto RNA otevírá další možnosti, jak složením stravy ovlivnit zdraví a celkový stav člověka.

Podrobnější informace o ncRNA čtenář nalezne v článku<sup>53</sup>.

*Práce vznikla za podpory projektu OPPK CZ.2.16/3.1.00/24503 a NPU I LO1601.*

### Seznam použitých zkratk

cDNA	complementary DNA
gRNA	guide RNA
LDL	low-density lipoprotein
LDLRAP1	low-density lipoprotein receptor adaptor protein 1
lncRNA	long non-coding RNA
miRNA	microRNA
ncRNA	non-coding RNA
NGS	next-generation sequencing
Piwi	P-element Induced Wimpy testis
piRNA	Piwi interacting RNA

PUFA	polyunsaturated fatty acids
qPCR	quantitative polymerase chain reaction
RISC	RNA-induced silencing complex
RNP	ribonucleoprotein
RS	roztroušená skleróza
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
scaRNA	small Cajal body-specific RNA
siRNA	small interfering RNA
snoRNA	small nucleolar RNA
snRNA	small nuclear RNA
SRP	signal recognition particle
tiRNA	tRNA-derived stress-induced small RNA
UPL	Universal Probe Library

## LITERATURA

- Munshi A., Mohan V., Ahuja Y. R.: *J. Pharmacogenomics Pharmacoproteomics* 7, 3 (2016).
- Axtell M. J.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 137 (2013).
- Melnik B. C., John S. M., Schmitz G.: *Nutr. J.* 12, 103 (2013).
- Pritchard C. C., Cheng H. H., Tewari M.: *Nat. Rev. Genet.* 13, 358 (2012).
- Kang K., Peng X., Luo J., Gou D.: *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 3, 4 (2012).
- Tian T., Wang J., Zhou X.: *Org. Biomol. Chem.* 13, 2226 (2015).
- Zhang X., Zeng Y.: *J. Visualized Exp.* 56, 3250 (2011).
- Li C., Li Z., Jia H., Yan J.: *Chem. Commun.* 47, 2595 (2011).
- Li F., Peng J., Wang J., Tang H., Tan L., Xie Q.: *Biosens. Bioelectron.* 54, 158 (2014).
- Ross S. A., Davis C. D.: *Adv. Nutr.* 2, 472 (2011).
- Döring F., Rimbach G.: *Genes Nutr.* 9, 394 (2014).
- Wagner A. E., Boesch-Saadatmandi C., Dose J., Schultheiss G., Rimbach G.: *J. Cell. Mol. Med.* 16, 836 (2012).
- García-Segura L., Pérez-Andrade M., Miranda-Ríos J.: *J. Nutrigenet. Nutrigenomics* 6, 16 (2013).
- Zhang L., Hou D., Chen X., Li D., Zhu L., Zhang Y.: *Cell Res.* 22, 107 (2012).
- Chakraborty C., Sharma A. R., Sharma G., Doss C. G. P., Lee S. S.: *Mol. Ther. Nucleic Acids* 8, 132 (2017).
- Yang J., Hirschi K. D., Farmer L. M.: *Nutrients* 7, 3184 (2015).
- Wagner A. E., Piegholdt S., Ferraro M., Pallauf K., Rimbach G.: *Food Funct.* 6, 714 (2015).
- Liang H. W., Zhang S. Y., Fu Z., Wang Y. B., Wang N., Liu Y. Q.: *J. Nutr. Biochem.* 26, 505 (2015).
- Munafò D. B., Robb G. B.: *RNA* 16, 2537 (2010).
- Zhang B., Wang Q.: *Bioengineered* 7, 1 (2016).
- Petrick J. S., Brower-Toland B., Jackson A. L., Kier L. D.: *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 66, 167 (2013).
- Castellano L., Stebbing J.: *Nucleic Acids Res.* 41, 3339 (2013).
- Helwak A., Kudla G., Dudnakova T., Tollervey D.: *Cell* 153, 654 (2013).
- Tome-Carneiro J., Larrosa M., Yanez-Gascon M. J., Davalos A., Gil-Zamorano J., Gonzalez M.: *Pharmacol. Res.* 72, 69 (2013).
- Wang H., Shao Y., Yuan F., Feng H., Li N., Zhang H.: *BioMed Res. Int.* 2017, ID2503847 (2017).
- Li Y., Kowdley K. V.: *Genomics, Proteomics Bioinf.* 10, 246 (2012).
- Ling H., Fabbri M., Calin G. A.: *Nat. Rev. Drug Disc.* 12, 847 (2013).
- Lu J., Getz G., Miska E. A., Alvarez-Saavedra E., Lamb J., Peck D.: *Nature* 435, 834 (2005).
- Volinia S., Calin G. A., Liu C. G., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 2257 (2006).
- Esteller M.: *Nat. Rev. Genetics* 12, 861 (2011).
- Calin G. A., Croce C. M.: *Nat. Rev. Cancer* 6, 857 (2006).
- Ambros V.: *Cell* 113, 673 (2003).
- Croce C. M.: *Nat. Rev. Genetics* 10, 704 (2009).
- Spizzo R., Almeida M. I., Colombatti A., Calin G. A.: *Oncogene* 31, 4577 (2012).
- Kasinski A. L., Slack F. J.: *Nat. Rev. Cancer* 11, 849 (2011).
- Esquela-Kerscher A., Slack F. J.: *Nat. Rev. Cancer* 6, 259 (2006).
- Volinia S., Galasso M., Costinean S., Tagliavini L., Gamberoni G., Drusco A.: *Genome Res.* 20, 589 (2010).
- Medina P. P., Nolde M., Slack F. J.: *Nature* 467, 86 (2010).
- Frankel L. B., Christoffersen N. R., Jacobsen A., Lindow M., Krogh A., Lund A. H.: *J. Biol. Chem.* 283, 1026 (2008).
- Nicoloso M. S., Spizzo R., Shimizu M., Rossi S., Calin G. A.: *Nat. Rev. Cancer* 9, 293 (2009).
- Pencheva N., Tavazoie S. F.: *Nat. Cell Biol.* 15, 546 (2013).
- Votavová H., Brdička R.: *Čas. Lék. Čes.* 155, 370 (2016).
- Pfeffer S., Zavolan M., Grasser F. A., Chien M. C., Russo J. J., Ju J. Y.: *Science* 304, 734 (2004).
- Andersson M. G., Haasnoot P. J., Xu N., Berenjian S., Berkhout B., Akusjärvi G.: *J. Virol.* 79, 9556 (2005).
- Cai X., Lu S., Zhang Z., Gonzalez C. M., Damania B., Cullen B. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 5570 (2005).
- van Rooij E.: *Circ. Res.* 110, 481 (2012).
- Rottiers V., Näär A. M.: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 13, 239 (2012).
- Salta E., De Strooper B.: *Lancet Neurol.* 11, 189 (2012).
- Keller A., Leidinger P., Lange J., Borries A., Schroers H., Scheffler M.: *PloS One* 4, e7440 (2009).
- Junker A., Krumbholz M., Eisele S., Mohan H., Augstein F., Bittner R.: *Brain* 132, 3342 (2009).
- Basak I., Patil K. S., Alves G., Larsen J. P., Möller S. G.: *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 811 (2016).

52. Miele E., Spinelli G. P., Miele E., Di Fabrizio E., Ferretti E., Tomao S.: *Int. J. Nanomed.* 7, 3637 (2012).
53. Spurná K., Viktorová J., Ruml T.: *Chem. Listy* 112, 811 (2018).

**J. Viktorová and T. Ruml** (*Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Great Significance of Small non-coding RNAs for Human Organism**

The first described small non-coding RNA was microRNA lin-4 from *Caenorhabditis elegans* in 1993. This miRNA has begun a new age of research leading to the discovery of previously unknown, endogenous, single stranded, 22–25 nucleotides long molecules regulating

nearly 30 % of genes. Recently, it was demonstrated that a number of organic substances presented in the diet induces the formation of various miRNAs. Besides this, plant and animal miRNA may enter the host organisms as food. In host organism, they can resist degradation and can enter the bloodstream. Although lacking sufficient experimental support, the discussion whether such dietary miRNAs can participate in post-transcriptional regulation of host genes is an actual topic. Either of these mechanisms could also explain some of the biological activities of medicinal plants. Non-coding RNAs have also significance as diagnostic biomarkers of some diseases or as targets for complex disease therapies.

Keywords: miRNA, regulation of gene expression, biomarkers, cancer