

MARTA GABRYELSKA, MACIEJ SZYMAŃSKI,
MIROSLAWA Z. BARCISZEWSKA, JAN BARCISZEWSKI*

Regulatorowe RNA w mózgu

Układ nerwowy charakteryzuje unikalność pod względem powstawania komórek, ich różnorodności, właściwości elektrycznych błony komórkowej, odpowiedzi na sygnały środowiska, sieci powiązań neuronalnych oraz zmiany aktywności synaps leżących u podstaw wyższych funkcji mózgowych, w tym uczenia i pamięci. Mózg stanowi nadrzędny organ ludzkiego organizmu, posiadający niezwykle sprawny system regulacji. Oprócz białek oraz niskocząsteczkowych regulatorów, istotną rolę kontrolną w mózgu odgrywają kwasy rybonukleoproteinowe (RNA), a w szczególności te niekodujące białek (ang. *non-coding* RNA, ncRNA). Występują one we wszystkich komórkach – od bakterii po ssaki naczelne – i pełnią funkcje regulatorowe, katalityczne oraz strukturalne. W mózgu człowieka zidentyfikowano wiele swoistych ncRNA, związanych z jego budową, rozwojem i funkcjonowaniem. Zaburzenia syntezy i mechanizmu ich działania są przyczyną takich chorób, jak autyzm, schizofrenia, choroba Alzheimerera, syndrom Prader-Willi i inne.

1. Niekodujące RNA

Jednym z kluczowych zagadnień biologii XX wieku, a także obecnie, jest natura oraz mechanizmy funkcjonowania genów. Wielokierunkowe badania genetyczne i biochemiczne doprowadziły do rozpoznania kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA) jako materiału genetycznego i ostatecznie zaproponowania w 1953 roku modelu jego struktury w postaci podwójnej prawoskrętnej helisy. Odkrycie to stało się nie tylko podstawą dla rozwoju współczesnej biologii molekularnej, ale przede wszystkim przełomem w poznaniu i zrozumieniu mechanizmów dziedziczenia oraz kodu genetycznego.

W 1958 roku Francis Crick, jeden z odkrywców struktury podwójnej helisy DNA, ogłosił centralny dogmat biologii molekularnej, według którego informacja genetyczna przepływa jednokierunkowo od DNA (główny nośnik odpowiedzialny za jej przekazywanie z pokolenia na pokolenie), przez RNA (przebiegacz stanowiący matrycę), do białek, będących składnikami budulcowymi komórek oraz czynnikami wykonawczymi i regulatorowymi praktycznie wszystkich procesów komórkowych (ryc. 1).

* Prof. dr hab. Jan Barciszewski i zespół, Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, Poznań

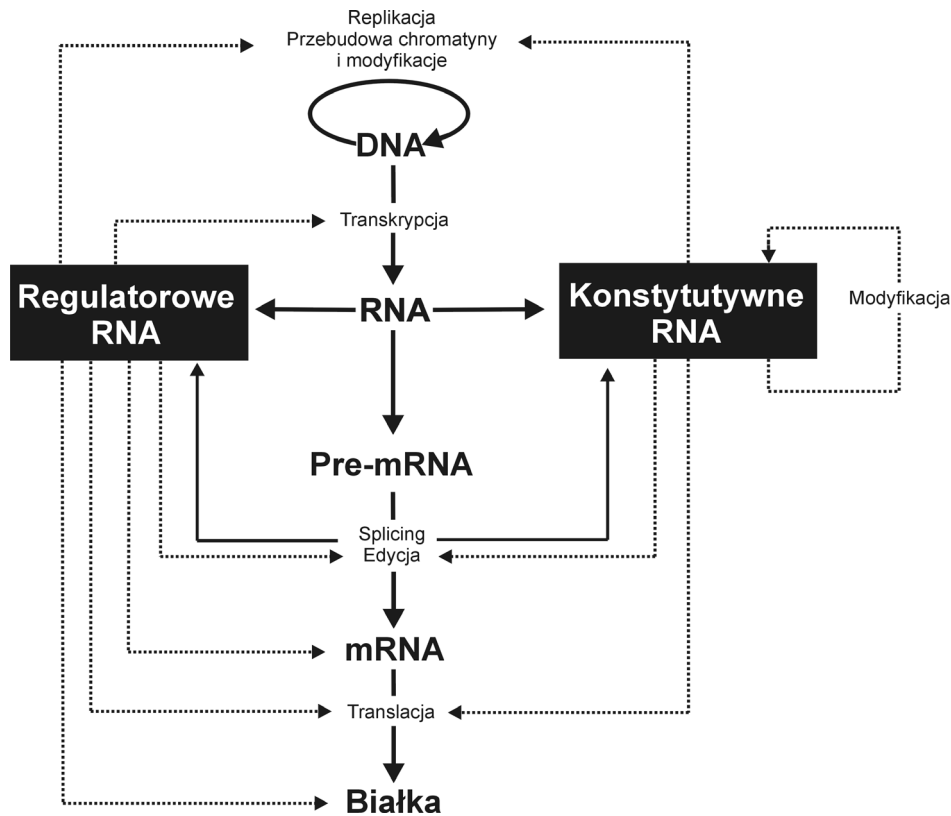
DNA → RNA → BIAŁKO

Ryc. 1. Główny dogmat biologii molekularnej oznacza liniowy przepływ informacji genetycznej od DNA, przez RNA, do białka

Pomimo późniejszych zaskakujących odkryć, które pokazały np., że w przypadku niektórych wirusów możliwe jest przepisywanie oryginalnej informacji z RNA na DNA, główna teza, którą niesie ze sobą ten dogmat, pozostaje niezmienna. Nie ma również możliwości przepływu informacji genetycznej w kierunku odwrotnym, czyli od białek do RNA czy DNA, które są jedynymi jej nośnikami. Ponadto, we wszystkich organizmach komórkowych transmisja informacji zawartej w DNA wymaga etapu pośredniego w postaci RNA, stanowiącego instrukcję (matrycę) dla syntezy białka. W latach 60. ubiegłego wieku rozszyfrowany został kod genetyczny, tłumaczący sekwencję nukleotydów w RNA (świat kwasów nukleinowych) na sekwencję aminokwasów (świat białek) w kodowanym białku. 20 lat później okazało się, że RNA w komórce spełniają nie tylko rolę pośrednika (matrycowe RNA, ang. *messenger RNA*, mRNA) w przekazywaniu informacji genetycznej pomiędzy DNA a białkami, ale również inne funkcje, w tym katalityczne, które przez wiele lat uznawane były za wyłączną domenę białek. Okazało się, że z trzech głównych komórkowych makrocząsteczek: DNA, RNA i białek, tylko RNA może być jednocześnie nośnikiem informacji genetycznej (podobnie do DNA) oraz katalizatorem (podobnie jak białka). Kluczowym rodzajem RNA w dekodowaniu informacji genetycznej są cząsteczki transferowych RNA (tRNA) odpowiedzialne za aktywację aminokwasów oraz ich specyficzne włączanie do łańcucha białkowego zachodzące na rybosomach, których głównym składnikiem są rybosomalne RNA (rRNA). Inne RNA, jak małe jądrowe (snRNA) i jąderkowe RNA (snoRNA), odgrywają kluczową rolę w dojrzewaniu pierwotnych transkryptów RNA i ich modyfikacji.

Mimo że w latach 90. poznano wiele nowych klas RNA, które nie kodują białek, lecz pełnią istotne funkcje komórkowe, nie zmieniło to przekonania, że niekodujące RNA odgrywają w komórce rolę drugoplanową wobec białek, wypełniających niemal wszystkie funkcje katalityczne i regulacyjne.

W ostatnich latach, wraz z rozwojem badań genomów, coraz częściej pojawiały się doniesienia wskazujące na udział RNA w regulacji ekspresji genów (ryc. 2). Wbrew wcześniejszym obserwacjom, według których synteza odpowiednich białek zależna jest od aktywności czynników transkrypcyjnych, które poprzez rozpoznawanie i wiązanie do DNA aktywują i wyłączają geny, okazało się, że komórkowe mechanizmy sterujące są bardziej złożone i w licznych przypadkach oparte na cząsteczkach niekodujących RNA (tab. 1).



Ryc. 2. Schemat udziału regulatorowych i konstytutywnych RNA w powielaniu i ekspresji informacji genetycznej

Ekspresja informacji genetycznej zawartej w DNA, której zasada sformułowana została w formie wspomnianego wcześniej centralnego dogmatu biologii molekularnej, zachodzi wieloetapowo. Podczas transkrypcji następuje przepisanie informacji z DNA na RNA, który jest matrycą dla syntezy białka (mRNA) w procesie translacji lub finalnym produktem (niekodującym RNA), będącym elementem regulacyjnego systemu komórki. Te pierwotne transkrypty RNA, niezależnie od ostatecznego przeznaczenia, dojrzewają poprzez składanie, czyli usuwanie intronów (splicing). Wszystkie etapy szlaku przekazywania informacji mogą stanowić punkty kontrolne procesów komórkowych, wykorzystujących niekodujące regulatorowe RNA (ncRNA) – (tab. 1).

Ze względu na pełnione funkcje komórkowe ncRNA można podzielić na dwie podstawowe grupy: konstytutywne lub infrastrukturalne RNA oraz regulatorowe RNA. Do pierwszej z nich zaliczane są RNA warunkujące realizację podstawowych funkcji komórkowych, jak biosynteza białka (tRNA, rRNA) czy dojrzewanie i modyfikacja pierwotnych transkryptów (snRNA, snoRNA). Z drugiej strony regulatorowe RNA warunkują prawidł-

lową ekspresję genów i właściwe funkcjonowanie organizmu. Te dwie grupy RNA różnią się również innymi profilami ekspresji. Ze względu na udział w podstawowych procesach życiowych, konstytutywne RNA występują we wszystkich komórkach na stałym poziomie, natomiast ekspresja regulatorowych RNA zależna jest od rozwoju i różnicowania oraz stanu komórki, będącego wynikiem oddziaływania ze środowiskiem zewnętrznym.

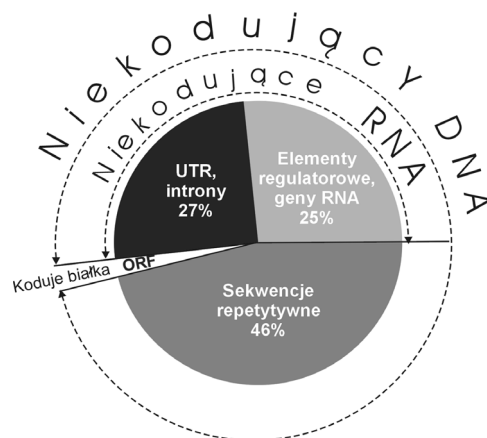
Tabela 1. Przykłady niekodujących RNA biorących udział w regulacji procesów komórkowych poprzez oddziaływania na poziomie DNA, RNA i białek (Storz 2002)

Poziom	Proces komórkowy	RNA	Organizm	Wielkość	Funkcja komórkowa
DNA	Transkrypcja	6S RNA	<i>E. coli</i>	184 nt	Regulacja aktywności polimerazy RNA
		7SK RNA	<i>H. sapiens</i>	331 nt	Inhibicja czynnika elongacyjnego transkrypcji P-TEFb
		SRA RNA	<i>H. sapiens</i>	875 nt	Koaktywator receptora steroidowego
	Wyciszanie genów	Xist RNA	<i>H. sapiens</i>	16.500 nt	Inaktywacja chromosomu X
		Air RNA	<i>H. sapiens</i>	~ 100000nt	Autosomalne piętnowanie genów
Replikacja	Telomera-zowy RNA	<i>H. sapiens</i>	451 nt	Rdzeń telomerazy i matryca telomerów	
RNA	Dojrzewanie RNA	RNAza P	<i>E. coli</i>	377 nt	Katalityczny rdzeń RNazy P
		U2 snRNA	<i>H. sapiens</i>	186 nt	Rdzeń spliceosomu
	Modyfikacja RNA	U18 C/D snoRNA	<i>S. cerevisiae</i>	102 nt	Metylacja 2'-O-rybozy rRNA
		SnR8 H/ACA snoRNA	<i>S. cerevisiae</i>	189 nt	Pseudourydylacja rRNA
		gCYb gRNA	<i>T. brucei</i>	68 nt	Edycja (redagowanie) RNA
	Stabilizacja RNA	RyhB sRNA	<i>E. coli</i>	80 nt	Znakowanie mRNA do degradacji
		mikroRNA	<i>Eukariotyczne</i>	~ 22 nt	Znakowanie mRNA do degradacji
Translacja	Oxy5 RNA	<i>E. coli</i>	109 nt	Inhibicja translacji przez ograniczenie wiązania do rybosomu	
	DsrA sRNA	<i>E. coli</i>	87 nt	Aktywacja translacji przez zapobieganie formowaniu hamującej struktury RNA	
	lin-4	<i>C. elegans</i>	22 nt	Inhibicja translacji przez parowanie z końcem 3' docelowego mRNA	
Białka	Stabilność białek	tmRNA	<i>E. coli</i>	363 nt	Znakowanie peptydów na unieruchomionych rybosomach
	Translokacja białek	4.5SRNA	<i>E. coli</i>	114 nt	Składnik drogi rozpoznawania sygnału do translokacji białek przez błony

Regulatorowe RNA cechują się niezwykłą różnorodnością struktury i właściwości. Wielkość dojrzałych cząsteczek ncRNA waha się od około 20 (np. siRNA, mikroRNA, piwiRNA) do ponad 100 tys. nukleotydów (np. Air RNA). Pod względem funkcjonalnym

wyróżnić można RNA modyfikujące strukturę chromatyny oraz modulujące aktywność czynników białkowych w transkrypcji, translacji, stabilizacji, transporcie i wewnątrzkomórkowej lokalizacji mRNA. Komórkowe ncRNA są powszechne, występują i funkcjonują we wszystkich grupach organizmów od bakterii do człowieka.

Kiedy w 2001 roku poznano sekwencję nukleotydową genomu człowieka, okazało się, że wbrew wcześniejszym obliczeniom liczba genów dla białek szacowana początkowo na ok. 100 000 jest ponadtrzykrotnie mniejsza i wynosi ok. 30 000, a same regiony kodujące białka stanowią zaledwie 1,5-2% całkowitego DNA jądrowego. Pozostała część ludzkiego genomu (ok. 98%) to sekwencje, których funkcje pozostają w znacznym stopniu niewyjaśnione. Geny kodujące białka, łącznie z intronami, usuwanymi w trakcie dojrzewania pierwotnych transkryptów oraz niepodlegającymi translacji regionami dojrzałych mRNA obejmują ok. 25% całego genomu. Blisko połowę ludzkiego DNA stanowią sekwencje powtórzone w wielu kopiach (repetytywne). Pozostałe ok. 25% to regiony odpowiedzialne za kontrolę ekspresji genów oraz potencjalne geny dla niekodujących RNA (ryc. 3).



Ryc. 3. Udział procentowy niekodującego DNA oraz jego transkryptów w genomie człowieka

Analiza struktury genomów człowieka i innych organizmów wskazuje na odwrotną proporcjonalną zależność między stopniem złożoności organizmu a ilością DNA kodującą białka (tab. 2). U organizmów prokariotycznych (bakterie, archea), w których aparat genetyczny jest stosunkowo prosty, ponad 90% genomu stanowią sekwencje genów kodujących białka. U niższych eukariotów jednokomórkowych zawartość sekwencji kodujących wynosi od 60-80%, zaś genom muszki owocowej *Drosophila melanogaster* zawiera ok. 15% sekwencji kodujących białka.

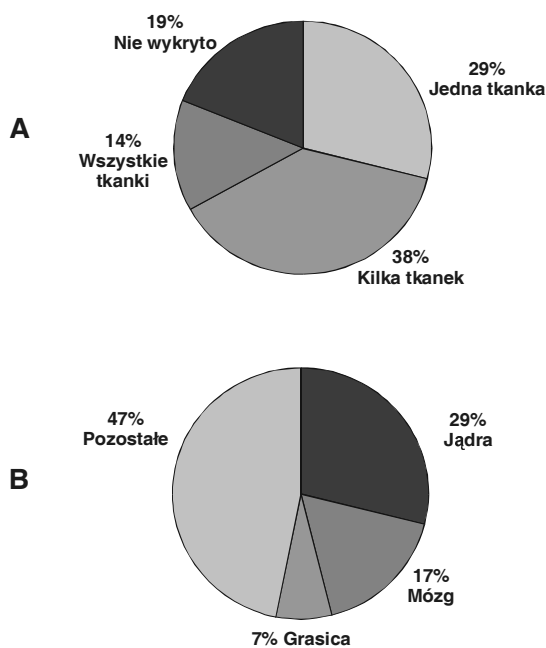
Tabela 2. Porównanie wielkości genomów oraz udziału sekwencji kodujących i niekodujących białek u różnych klas organizmów

Organizm	Wielkość genomu (kbp)	Część kodująca białka (%)	Część niekodująca białek (%)	Liczba genów
Eubacteria				
<i>U. urealyticum</i>	751	88	12	577
<i>E. coli</i>	4639	84	16	4000
<i>M. leprae</i>	3268	73	27	2584
Archea				
<i>P. horikoshii</i>	1739	87	13	1636
<i>M. jannaschii</i>	1665	83	17	1599
<i>S. solfataricus</i>	2992	77	23	2610
Eukaryota				
<i>E. cuniculi</i>	2900	90	10	2000
<i>S. cerevisiae</i>	12 000	71	29	5651
<i>S. pombe</i>	12 463	57	43	4824
<i>A. thaliana</i>	115 410	29	71	25 500
<i>C. elegans</i>	97 000	27	73	18 424
<i>D. melanogaster</i>	180 000	13	87	13 600
<i>H. sapiens</i>	3 000 000	2	98	30 000-40 000

Należy również podkreślić, że liczba samych genów nie jest wprost proporcjonalna do zawartości DNA. Genom człowieka jest 20-krotnie większy od genomu *D. melanogaster*, lecz koduje zaledwie 2 razy więcej białek. Wskazuje to, że liczba zawartych w DNA genów białkowych nie jest jedynym czynnikiem decydującym o różnorodności form życia. Systematyczna analiza produktów transkrypcji u myszy wykazała, że liczba genów niekodujących RNA może przewyższać liczbę genów kodujących białka. Kluczem do zrozumienia ewolucji oraz mechanizmów rozwojowych wydają się być obecnie słabo poznane obszary genomów, które nie ulegają ekspresji w formie białek, lecz są odpowiedzialne za kontrolę i zarządzanie informacją genetyczną.

Analiza poznanych sekwencji nukleotydowych genomów wskazuje, że złożoność mechanizmów odpowiedzialnych za regulację ekspresji genów wzrastała w trakcie ewolucji znacznie szybciej niż struktura podlegającego im systemu komórkowego. Ta nieliniowa, najczęściej wykładnicza, zależność między funkcją a elementami wykonawczymi (białkami regulatorowymi) wydaje się być wspólną cechą wszystkich zintegrowanych biologicz-

nych systemów, dla których istnieje wewnętrzny limit złożoności narzucony przez wydajność systemów kontrolnych (Mattick 2004). Zgodnie z tym założeniem liczba białek regulatorowych u bakterii rośnie wykładniczo ze wzrostem wielkości genomu. Ekstrapolacja takiej zależności pokazuje, że punkt, w którym liczba nowych czynników regulacyjnych przewyższy liczbę nowych funkcjonalnych genów, jest blisko obserwowanego górnego limitu wielkości genomu bakterii. Wydaje się zatem, że złożoność wyższych organizmów wymagała wypracowania nowych niebiałkowych systemów kontroli, w tym opartych o RNA. Przyjęcie takiego założenia pozwala wyjaśnić obserwowaną dysproporcję pomiędzy ilością kodującego (białka) i niekodującego DNA w genomie człowieka. Tym samym niekodujące regiony DNA uważane do niedawna za „genomowe śmieci” wydają się faktycznie pełnić niezwykle istotne funkcje.



Ryc. 4. Wśród 150 niekodujących RNA człowieka, zaproponowanych metodami bioinformatycznymi, przebadanych w 11 tkankach, 67% wykazuje specyficzność tkankową (ekspresja w jednej lub kilku tkankach) – (A). Ponad 50% ncRNA ulega ekspresji w trzech typach tkanek: jądrach, mózgu i grasicy – (B) (Sasaki i in. 2007)

Te obserwacje oraz wyraźny potencjał regulacyjny RNA spowodowały powstanie nowej gałęzi biologii molekularnej – RNomiki, której celem jest poznanie struktury i funkcji niekodujących RNA. Zastosowanie nowych technik eksperymentalnych dla wyodrębnienia małych cząsteczek RNA i sekwencjonowanie na wielką skalę cDNA (ang.

coding DNA) w połączeniu z metodami bioinformatycznymi doprowadziło do zidentyfikowania wielu nowych grup niekodujących RNA ze względu na ich biogenezę i funkcję.

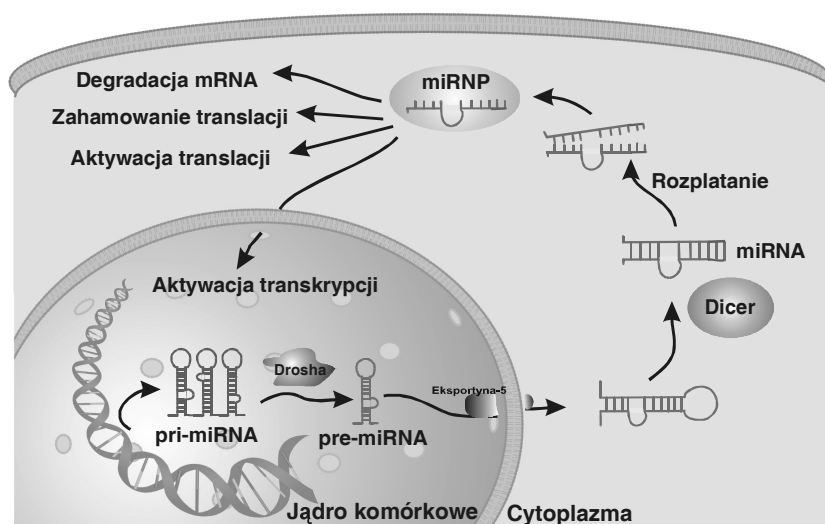
Analiza transkryptomu myszy wykazała, że znaczna część transkryptów powstałych z udziałem RNA polimerazy II (PolII), odpowiedzialnej przede wszystkim za transkrypcję genów kodujących białka, nie zawiera otwartych ramek odczytu. Takie RNA poza brakiem potencjału kodowania białka (niekodujące RNA) posiadają cechy mRNA takie jak modyfikowana struktura czapeczki (ang. *cap*) przy końcu 5' oraz ogon poli(A) przy końcu 3'. Pierwotne transkrypty niekodujących RNA, podobnie jak pre-mRNA, podlegają składaniu (ang. *splicing*) i alternatywnemu składaniu (ang. *alternative splicing*), w wyniku czego powstaje wiele nowych wariantów dojrzałego RNA. Funkcja większości z tych ncRNA nie jest znana, lecz wiele z nich wykazuje swoistość tkankową (ryc. 4) oraz specyficzną ekspresję w warunkach stresu.

W wielu przypadkach ncRNA podobne do mRNA powstają na matrycy nici DNA komplementarnej w stosunku do genów kodujących białka. Niektóre z tych anty-senso-wych transkryptów odgrywają istotną rolę w kontroli ekspresji genów podlegających tzw. znakowaniu genomowemu (ang. *genomic imprinting*), decydującemu o transkrypcji genu pochodzącego od matki lub ojca. Geny takie występują zasadniczo w grupach obejmujących przynajmniej jeden gen dla regulującego ncRNA i charakteryzujących się zróżnicowaną ekspresją. Mutacje genetyczne, w wyniku których taka kontrola zostaje zaburzona, prowadzą do poważnych defektów rozwojowych.

Drugą grupę regulatorowych ncRNA stanowią produkty transkrypcji polimerazy RNA III (PolIII), która uczestniczy w syntezie tRNA i rybosomalnych RNA o stałej sedymentacji 5S i 5.8S. W odróżnieniu od konstytutywnych RNA, ulegających transkrypcji na stałym poziomie we wszystkich komórkach, regulatorowe ncRNA syntetyzowane są przez PolIII w zależności od aktywności niektórych czynników transkrypcyjnych, uczestniczących w regulacji genów białkowych. Wśród RNA należących do tej grupy znajdują się specyficzne dla centralnego układu nerwowego naczelnych i gryzoni RNA BC1 i BC200 oraz transkrypty z regionów powtarzających się (repetytywnych), uczestniczące w reakcji komórki na warunki stresowe.

Jak dotychczas najlepiej poznaną i najszerzej badaną klasą niekodujących regulatorowych RNA są mikroRNA (mikroRNA), najkrótsze funkcjonalne RNA o długości 19-25 nukleotydów. Ich biogeneza jest procesem wieloetapowym (ryc. 5). Większość mikroRNA powstaje w wyniku dojrzewania pierwotnych transkryptów (pri-mikroRNA) syntetyzowanych przez polimerazę RNA II, często jako fragmenty intronów eliminowanych w procesie składania pre-mRNA. W jądrze komórkowym, w wyniku hydrolizy pri-mikroRNA enzymem Drosha, wycinane są prekursorzy mikroRNA (pre-mikroRNA) o długości ~60-80 nukleotydów i strukturze podobnej do spinki do włosów. Następnie białko Ran-GTP i eksportyna-5 transportują pre-mikroRNA do cytoplazmy, gdzie endo-

nukleaza Dicer generuje dojrzałe i funkcjonalne cząsteczki mikroRNA, które z białkami tworzą kompleksy miRNP (ang. *miRNA-containing effector complex*) (Bartel 2004).



Ryc. 5. mikroRNA powstają jako produkty endogennych genów *miR*. Pierwotny transkrypt jest przetwarzany w jądrze komórkowym przez enzym Drosza i z udziałem eksportyny-5 przechodzi do cytoplazmy. W dalszych etapach następuje hydroliza przez enzym Dicer, rozplecenie dupletu i utworzenie kompleksu rybonukleoproteinowego miRNP. mikroRNA wpływają na ekspresję genów przez degradację docelowego mRNA, zahamowanie translacji lub aktywację transkrypcji

MikroRNA wpływają na stabilność i translację mRNA, głównie poprzez specyficzne wiązanie do komplementarnego regionu docelowej cząsteczki RNA. Najczęściej obserwowanym efektem działania mikroRNA u ssaków jest hamowanie syntezy białka przez oddziaływanie z częściowo komplementarnymi regionami w obrębie regionu przy końcu 3' (3'-UTR, ang. *untranslated region*) niepodlegającego translacji. Inny mechanizm działania mikroRNA to indukowanie hydrolizy docelowego mRNA po utworzeniu w pełni komplementarnego dwuniciowego kompleksu między mikroRNA i mRNA. Stanowi to sygnał dla endonukleazy Dicer, która hydrolizuje mRNA, blokując tym samym syntezę kodowanego białka. Ten sposób działania mikroRNA jest powszechny u roślin, a także u zwierząt.

Do niedawna uważano, że regulacja ekspresji przez mikroRNA prowadzi jedynie do zahamowania syntezy białka. W ostatnim czasie pojawiły się jednak doniesienia wskazujące na możliwość aktywacji translacji niektórych mRNA przez mikroRNA, co w znacznym stopniu rozszerza ich potencjał regulatorowy (Vasudevan i in. 2007).

MikroRNA ulegają ekspresji na różnych stadiach rozwoju organizmu, wykazując specyficzną tkankową. Wraz z białkowymi czynnikami transkrypcyjnymi określają one specyficzny dla danej komórki profil ekspresji genów (Presutti i in. 2006). Biorą udział w różnych procesach komórkowych, takich jak: rozwój i różnicowanie komórek, fizjologia komórkowa i ustrojowa, stabilność i komórkowa lokalizacja mRNA (Sassen i in. 2004).

MikroRNA występują powszechnie u wszystkich wyższych eukariontów. Większość wykazuje wysoką zachowawczość ewolucyjną u organizmów znacznie oddalonych filogenetycznie. Zidentyfikowano homologi ponad 250 ludzkich mikroRNA u myszy, a 55 mikroRNA jest identycznych u człowieka i ryby *Fugu rubripes*. Spośród 78 mikroRNA zidentyfikowanych u muszki owocowej *D. melanogaster*, 28 ma swoje homologi u ssaków (John i in. 2004).

U człowieka zidentyfikowano ponad 530 mikroRNA, ale ich liczba może wynosić ok. 1000 (Stahlhut Espinosa i Slack 2006). Na podstawie analizy potencjalnych miejsc wiązania mikroRNA w regionach 3'-UTR szacuje się, że regulacja z udziałem mikroRNA może dotyczyć ok. 30% ludzkich genów kodujących białka (Stahlhut Espinosa i Slack 2006, Cho 2007). Szczególną właściwością mikroRNA jest możliwość kontroli ekspresji wielu genów oraz regulacji aktywności poszczególnych mRNA przez pojedyncze mikroRNA. Zróżnicowany profil mikroRNA pozwala na bardzo precyzyjne dostrajanie poziomu ekspresji poszczególnych genów do aktualnych wymagań komórkowych.

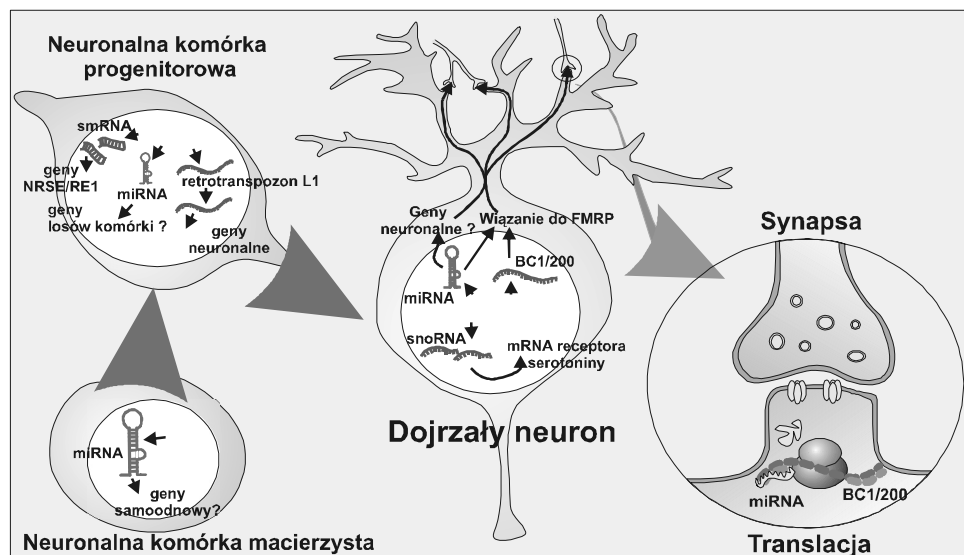
2. Niekodujące RNA w mózgu

NRSE smRNA

Neurony wyróżniają się spośród innych typów komórek unikalnym zestawem białek. Większość genów ulegających ekspresji w neuronach posiada specyficzną sekwencję NRSE/RE1 (ang. *neuron-restrictive silencer element/repressor element 1*) rozpoznawaną przez represor NRSF/REST (ang. *neuron-restrictive silencing factor/repressor element 1 transcription factor*) blokujący ich transkrypcję (Chen i in. 1998). Na wczesnym etapie różnicowania komórek neuronalnych syntetyzowany jest NRSE smRNA (ang. *small modulatory RNA*) (ryc. 6). Jest to dwuniciowy RNA o długości około 20 par zasad i sekwencji identycznej z NRSE/RE1, który wiąże się do NRSE/REST, co aktywuje transkrypcję (Kuwabara i in. 2004).

BC1/BC200 RNA

W tkankach nerwowych gryzoni i naczelnych stwierdzono obecność specyficznych transkryptów nazwanych BC1 (ang. *brain cytoplasmic RNA 1*) oraz BC200 (ang. *brain cytoplasmic RNA 200-nt*) (Martignetti i Brosius 1995). Oba RNA syntetyzowane są przez PolIII przy udziale czynników transkrypcyjnych, uczestniczących także w regulacji transkrypcji genów białkowych zależnych od PolII.



Ryc. 6. Schemat udziału ncRNA w różnicowaniu komórek neuronalnych. mikroRNA regulują ekspresję genów na różnych etapach różnicowania komórek. Retrotranspozony, poprzez insercję do genów swoistych dla neuronów, blokują ich ekspresję, zapewniając różnicowanie komórek wyłącznie w kierunku neuronalnym. smRNA przekształca represor transkrypcji NRSE/RE1 w aktywator, a snoRNA uczestniczą w dojrzewaniu cząsteczek mRNA receptora serotoniny. BC1/200 kontrolują translację w dendrytach, co ma znaczenie dla funkcjonowania synaps

Synteza BC1/BC200 jest ograniczona wyłącznie do neuronów, w których transportowane są do dendrytów (Tiedge i in. 1993), przy czym poziom ekspresji zależy od aktywności komórek (Muslimov i in. 1998). Regulacja translacji z udziałem RNA BC1 i BC200 zachodzi na dwóch poziomach. Niespecyficzna inhibicja i zahamowanie biosyntezy białka zależne są od wiązania BC1/BC200 do białka wiążącego poli(A) (ang. *poly(A) binding protein, PABP*), niezbędnego dla inicjacji translacji (Wang i in. 2005). Drugi szlak związany jest z ekspresją mRNA regulowanych przez białko FMRP związane z zespołem łamliwego chromosomu X (ang. *fragile X mental retardation protein*) (ryc. 6). BC1/BC200 RNA wiążą początkowo sekwencje komplementarne w docelowych mRNA, a następnie przyłączają FMRP, co powoduje zahamowanie translacji (Zalfa i in. 2005, Wells 2006). Badania homologów FMRP u muszki owocowej (*D. melanogaster*) pokazały, że w proces ten mogą być zaangażowane białka uczestniczące w wyciszaniu genów na drodze interferencji RNA (RNAi) oraz przy udziale mikroRNA (Caudy et al. 2002), aczkolwiek dokładny mechanizm tego procesu nie jest do końca poznany. Komplementarne do BC200 regiony stwierdzono w mRNA kodujących białka zaangażowane w plastyczność synaptyczną związaną z uczeniem i pamięcią.

HAR1 RNA

Cechą różniącą człowieka od reszty świata zwierząt jest mózg umożliwiający wykształcenie wyższych funkcji umysłowych, których pozbawione są inne naczelnne. Nie można dotąd jednoznacznie odpowiedzieć na pytanie, jakie zdarzenia w trakcie ewolucji doprowadziły do ukształtowania mózgu u ludzi i jakie geny są odpowiedzialne za te różnice. Analiza genomów ssaków wskazuje na regiony o wysokiej zachowawczości. Wyodrębniono 49 odcinków, które w przypadku człowieka wykazywały przyspieszoną ewolucję. Regiony te, określone jako HAR 1-49 (ang. *human accelerated regions*), mogą wpływać na rozwój mózgu, uległy one znaczącym zmianom w trakcie ewolucji człowieka i są odpowiedzialne za „skok ewolucyjny”, jaki dokonał się około 2 mln lat temu (Pollard i in. 2006).

Zlokalizowano 47 regionów HAR (96%) w obszarach genomu, w których nie występują otwarte ramki odczytu (ORF, geny białek), natomiast w ich sąsiedztwie znajdują się geny wielu czynników transkrypcyjnych oraz białek zaangażowanych w rozwój neuronalny. Przyspieszona ewolucja regionów HAR może być w niektórych przypadkach związana z ich lokalizacją przy końcach chromosomów (Pollard i in. 2006).

Szczegółowej analizie poddano region HAR1, leżący na chromosomie 20, którego transkrypcja prowadzi do syntezy dwóch niekodujących RNA: HAR1F i HAR1R, ulegających ekspresji z komplementarnych nici DNA. Jeden z fragmentów transkryptu HAR1F o długości 118 nukleotydów ma stabilną strukturę drugorzędową. Po rozdzieleniu się w ewolucji linii rozwojowych szympansa i człowieka w rejonie tym nastąpiło 18 mutacji, z których wszystkie zostały utrwalone w populacji ludzkiej. Porównanie częstotliwości mutacji w innych regionach genomu człowieka i szympansa wskazuje na ok. 66-krotne przyspieszenie ewolucji regionu HAR. Dla porównania, w tym samym rejonie w sekwencjach szympansa i kury występują zaledwie dwie różnice. Nie zidentyfikowano takich sekwencji u niższych kręgowców, co sugeruje, że jest on „nabytkiem” ewolucyjnym, nie starszym niż ok. 400 mln lat.

Funkcje transkryptów HAR1 nie są znane, chociaż zebrane dotychczas dane eksperymentalne wskazują, że mogą one uczestniczyć w procesach związanych z kształtowaniem pewnych rejonów mózgu. HAR1F pojawia się w trakcie rozwoju kory nowej (*neocortex*), począwszy od 7-9. tygodnia rozwoju embrionalnego szczególnie w grzbietowej części kresomózgowia, stanowiącej zawiązek kory mózgowej. Na dalszych etapach rozwoju, w 17-19. tygodniu, HAR1F RNA ulegał selektywnej ekspresji w neuronach Cajal-Retziusa, odgrywających kluczową rolę w formowaniu sześciu podstawowych warstw ludzkiej kory mózgowej. Komórki te uwalniają również białko reelinę – stymulujące wzrost i tworzenie połączeń między neuronami. W 17-24. tygodniu rozwoju embrionalnego, poza neuronami Cajal-Retziusa, ekspresję HAR1F obserwowano także w innych regionach mózgu: w zawiązku hipokampu, zakręcie zębatym, korze mózdzku i niektó-

rych regionach tyłomózgowia. HAR1F RNA występuje również w różnych częściach mózgu, jajnikach i jądrach dorosłych ludzi.

MikroRNA w mózgu

Podobnie jak w innych tkankach, mikroRNA odgrywają istotną rolę w rozwoju i funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego (OUN) u ssaków (Presutti i in. 2006). W trakcie różnicowania w prekursorach komórek neuronalnych następuje ekspresja mikroRNA odpowiedzialnych za kolejne stadia różnicowania (ryc. 6). Około 70% poznanych dotychczas ludzkich mikroRNA ulega ekspresji w mózgu. Wśród mikroRNA wykazujących specyficzność tkankową, połowa jest specyficzna dla mózgu lub występuje w nim w zwiększonej ilości (Cao i in. 2006). W trakcie rozwoju mózgu następują zmiany ekspresji mikroRNA. Niektóre ulegają degradacji, a na ich miejsce pojawiają się inne.

Spośród mikroRNA wykazujących swoistą ekspresję w tkankach nerwowych na szczególną uwagę zasługuje miR-124, który stanowi od 25% do 48% wszystkich mikroRNA w mózgu (Cao i in. 2006). Analizy bioinformatyczne potencjalnych miejsc oddziaływania miR-124 z mRNA sugerują, że może on być zaangażowany w regulację translacji ponad 1100 białek. Jego ekspresja w komórkach HeLa prowadzi do obniżenia ekspresji 174 genów. Uzyskany profil ekspresji genów wykazywał znaczne podobieństwo do obserwowanego w komórkach tkanki mózgowej.

Jedną z funkcji, jakie mikroRNA mogą pełnić w komórkach nerwowych, jest regulacja syntezy białek w synapsach, która jest niezbędna dla ich plastyczności, stanowiącej molekularną podstawę procesów uczenia i pamięci (Presutti i in. 2006) (ryc. 5). Zmiany w aktywności synaps związane są z lokalnymi zmianami w biosyntezie białka. Przy współdziałaniu białek wiążących RNA, mikroRNA mogą hamować translację określonych mRNA przed otrzymaniem sygnału przewodnictwa nerwowego. Aktywność synaptyczna mogłaby prowadzić do zniesienia inhibicji, a przez to do syntezy odpowiednich białek. Synteza specyficznych białek synaptycznych, wymaganych na danym etapie aktywności neuronów, może być efektywniej kontrolowana na poziomie translacji. Zainicjowanie syntezy białka z istniejącego już (okresowo zablokowanego przez mikroRNA) mRNA wymaga znacznie mniej czasu niż uruchomienie całego procesu od poziomu transkrypcji.

Małe jąderkowe RNA (snoRNA) w mózgu

Jedną z najliczniejszych, obok mikroRNA, klas niekodujących RNA stanowią małe jąderkowe RNA (snoRNA), które w specyficzny sposób kierują potranskrypcyjną modyfikacją cząsteczek rybosomalnych i małych jądrowych RNA. Wydaje się jednak, że te rodzaje RNA nie są jedynymi substratami dla kierowanej przez snoRNA modyfikacji. Specyficzna tkankowo ekspresja niektórych snoRNA sugeruje, że niekiedy mogą one pełnić funkcje regulacyjne. W mózgu myszy zidentyfikowanych zostało siedem specy-

ficznych snoRNA (MBII-13, MBI-36, MBII-48, MBII-49, MBII52, MBII-78, MBII85), dla których nie są znane geny docelowe (Presutti i in. 2006). Specyficzną dla mózgu ekspresję homologów tych snoRNA stwierdzono u człowieka. Poziom poszczególnych snoRNA nie jest równomierny w całym mózgu. MBI-36, MBII-48, MBII52 oraz MBII85 występują głównie w hipokampie i ciele migdałowatym, które to regiony są zaangażowane w proces uczenia przestrzennego oraz warunkowanie strachem. Interesujące są obserwacje, wskazujące na obniżenie poziomu MBII-48 oraz wzrost MBII-52 w trakcie wczesnych faz utrwalania pamięci lub po zadziałaniu bodźca lękowego, co sugeruje ich udział w wyższych funkcjach mózgowych (Cao i in. 2006). W przypadku MBII-52 snoRNA funkcje te mogą być związane z jego udziałem w redagowaniu transkryptu kodującego receptor serotoniny 5-HT_{2C} (ryc. 5) (Vitali i in. 2005), którego synteza jest często zaburzona w przypadkach schizofrenii.

Ludzkie homologi HBII-13, HBII-52, HBII-85 znajdują się na chromosomie 15 w obrębie zgrupowania genów, podlegających znakowaniu genomowemu. Defekty genetyczne dotyczące tego regionu są przyczyną syndromu Prader-Willi (PWS) (Presutti i in. 2006).

3. Niekodujące RNA w stanach patologicznych

Zmiany ekspresji niekodujących RNA często są związane ze stanami patologicznymi. W niektórych przypadkach wynikają one z pierwotnych defektów genetycznych, które w konsekwencji prowadzą do zaburzeń rozwojowych i neurobehawioralnych. Jest to szczególnie widoczne w przypadku nieprawidłowej ekspresji genów podlegających znakowaniu genomowemu (ang. *genomic imprinting*). Niektóre z nich są związane z systemami sygnalizacji mózgu oraz zachowaniami, a ich zaburzona ekspresja jest przyczyną takich chorób jak autyzm, schizofrenia, zespół zaburzeń zachowania ADHD (ang. *attention deficit hyperactivity disorder*), zaburzenia dwubiegunowe (ang. *bipolar disorder*) oraz syndrom Tourette'a, zespół Prader-Willi, syndrom Angelmana, stwardnienie rozsiane i choroba Alzheimera (Mehler i Mattick 2006, Davies i in. 2007).

W ostatnich kilku latach szczególnie intensywnie prowadzone są badania zależności rozwoju nowotworów od ekspresji mikroRNA. Założenie, że proces nowotworzenia związany może być ze zmianami w profilu ekspresji mikroRNA, znajduje swoje uzasadnienie w obserwacjach, które wskazują na ich udział w rozwoju i różnicowaniu komórek oraz utrzymywaniu swoistego dla tkanek profilu ekspresji genów. Transformacja nowotworowa charakteryzuje się drastycznymi zmianami w realizacji programu genetycznego, małym zróżnicowaniem komórek, zwiększoną zdolnością do wzrostu i proliferacji oraz zaburzeniami systemów kontrolujących programowaną śmierć komórki (apoptozę). Należy podkreślić, że ogólny poziom mikroRNA w komórkach zdrowych tkanek jest znacznie wyższy niż w komórkach nowotworowych (tab. 3) (Lu i in. 2005).

Na udział mikroRNA w procesach nowotworowych wskazują również wyniki analizy lokalizacji ich genów u człowieka i myszy. Związane są one często z regionami charakterystycznymi dla różnych form raka. Kolokalizacja genów mikroRNA z minimalnymi regionami utraty homozygotyczności i amplifikacji oraz z łamliwymi fragmentami chromosomów wskazywała, że mikroRNA mogą pełnić zarówno rolę onkogenów (ang. *oncogene*), jak i supresorów nowotworzenia (ang. *tumor suppressor*) (Calin i in. 2004, Sevignani i in. 2007).

Określenie profilu ekspresji mikroRNA w nowotworach może stanowić wartościowe narzędzie w diagnostyce medycznej, co pokazano przy klasyfikacji 17 słabo zróżnicowanych guzów z wykorzystaniem standardowych metod w oparciu o profile ekspresji mRNA (15 tys. transkryptów, 1 prawidłowa diagnoza) oraz mikroRNA (200 transkryptów, 12 diagnoz prawidłowych). Profilowanie ekspresji mikroRNA może być przydatne dla oceny złośliwości nowotworu, dając jednocześnie informację o rokowaniach pacjenta oraz prawdopodobnej odpowiedzi na istniejące leki (Stahlhut Espinosa i Slack 2006).

Określenie ogólnego poziomu mikroRNA oraz ich profili ekspresji w nowotworach, jakkolwiek użyteczne z punktu widzenia diagnostyki medycznej, nie wyjaśnia mechanizmów kancerogenezy. Prowadzone są intensywne badania nad rolą indywidualnych mikroRNA w powstawaniu i rozwoju raka (tab. 3). W glejaku zarodkowym (GBM), oraz w liniach komórkowych pochodzenia glejakaowego, stwierdzono 5-100-krotnie podwyższoną ekspresję miR-21, który prawdopodobnie uczestniczy w inhibicji apoptozy (Ciafre i in. 2005, Chan i in. 2006). Wyłączenie ekspresji tego genu w liniach komórkowych za pomocą modyfikowanych oligonukleotydów powodowało aktywację kaskady kaspaz i odpowiedzi apoptotycznej, a w rezultacie śmierć komórek nowotworowych (Chan i in. 2006). Wśród potencjalnych genów docelowych dla miR-21 są występujący w neuronach proteoglikan SPOCK1 oraz potencjalny supresor nowotworów TRP1 (ang. *tropomyosin 1*) (Gartel i Kandel 2008).

Ekspresja kilku mikroRNA jest powiązana z proliferacją komórek. Jednym z nich jest let-7, wykazujący cechy supresora nowotworzenia. Jego ekspresja jest znacznie obniżona w raku płuc (Takamizawa i in. 2004). Let-7 może hamować syntezę białka RAS oraz innych protoonkogenów związanych z regulacją cyklu komórkowego (Johnson i in. 2005, Johnson i in. 2007). Uczestniczy on również w regulacji ekspresji genu HMGA2 (ang. *High Mobility Group A2*), którego produkt białkowy uczestniczy w modelowaniu chromatyny. Zaburzenia ekspresji HMGA2 obserwowano w wielu ludzkich nowotworach (Mayr i in. 2007, Lee i Dutta 2007). Obniżenie ekspresji let-7 może prowadzić do niekontrolowanego wzrostu i rozwoju komórki.

Transkrypty różnych retrotranspozonów wykryto w mózgu ssaków, w tym u ludzi (ryc. 5). U pacjentów cierpiących na schizofrenię lub inne choroby neurologiczne wykazano ekspresję endogennych retrowirusów (Cao i in. 2006). Ich wysoka aktywność

transkrypcyjna jest związana z dużym ryzykiem insercji do ważnych dla komórki genów (m.in. supresorów nowotworów) oraz zaburzeniem normalnego stanu komórki.

Tabela 3. Geny *miR* ulegające ekspresji w mózgu zdrowym oraz jego nowotworach i neuronalnych liniach komórkowych

Źródło mikroRNA	mikroRNA	Właściwości
Glejak zarodkowy	<i>miR-10b, miR-130a, miR-221, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-9-2, miR-21, miR-25, miR-123</i>	Wzrost ekspresji
	<i>miR-128a, miR-181a, miR-181b, miR-181c</i>	Obniżenie ekspresji
Glejakowe linie komórkowe	<i>miR-221, miR-23a, miR-24-2, miR-24-1, miR-23b, miR-21, miR-222m, miR-191, miR-220</i>	Wzrost ekspresji
	<i>miR-128b, miR-181a, miR-181b, miR-181c, miR-197, miR-125b-1, miR-125b-2</i>	Obniżenie ekspresji
Nerwiak niedojrzały	<i>miR-9, miR-125a, miR-125b, miR-184</i>	
Zdrowy mózg	<i>miR-9, miR-9*, miR-124, miR-128</i>	Specyficzne dla mózgu
	<i>miR-125</i>	Zwiększona ilość w mózgu
	<i>miR-7, miR-34, miR-127, miR-129*, miR-132, miR-135, miR-136, miR-138, miR-139, miR-149, miR-153, miR-154, miR-218, miR-219, miR-222, miR-323, miR-326, miR-329, miR-344</i>	Możliwe, że specyficzne/o zwiększonej ilości w mózgu
Zdrowy mózg	<i>miR-9, miR-9*, miR-125b, miR-181a, miR-124a, miR-130b, miR-103, miR-128, miR-17, miR-18, miR-19, miR-20, miR-92, miR-199a, miR-29</i>	Ekspresja na różnych etapach rozwoju mózgu u gryzoni
Pierwotna linia kom. neuronalna	<i>miR-128, miR-191, miR-323, miR-324-5p, miR-326, miR-329, miR-344, miR-103, miR-124a, miR-335, miR-129*, miR-151</i>	
Linia kom. P19	<i>miR-9, miR-9*, miR-124, miR-125, miR-135, miR-218, miR-219, let-7, miR-23, miR-26, miR-30, miR-91, miR-98, miR-100, miR-103, miR-156</i>	Indukcja kwasem retinowym
Pierwotne linie kom.	<i>miR-124, miR-128</i>	Tylko neurony
	<i>miR-125</i>	Preferencyjnie w neuronach, także w astrocytach
	<i>miR-23</i>	W astrocytach

* - mikroRNA powstające z nici sensownej (Chan i in. 2005, Ciafre i in. 2005, Cao i in. 2006)

Neurodegeneracja związana z procesem starzenia lub jako wynik choroby Alzheimera, jest związana z ilościowymi zmianami BC200 RNA, które odpowiadają za długoterminową plastyczność synaptyczną. W trakcie procesu starzenia, u ludzi między 50. a 90. rokiem życia, dochodzi do ponad 60% redukcji poziomu BC200 w korze mózgowej, natomiast u pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera obserwowany jest znaczący, związany z postępem choroby, wzrost poziomu BC200 RNA przy jednoczesnej utracie jego lokalizacji w dendrytach (Mus i in. 2007).

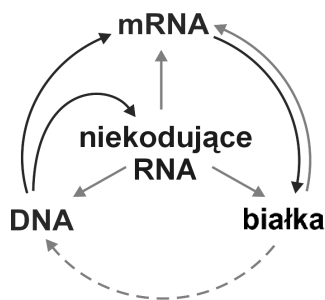
U podstaw dystrofii miotonicznej typu 1 i 2 (*myotonic dystrophy type 1, 2*, DM1,2), bezwładu rdzeniowo-mózdkowego typu 8 (ang. *spinocerebellar ataxia 8*, SCA8), SCA10, SCA12 i zespołu bezwładu związanego z łamliwym chromosomem X (ang. *fragile X tremor ataxia syndrome FXTAS*) leżą zaburzenia ekspresji ncRNA. W wyniku mutacji pojawiają się patogenne RNA (ang. *pathogenic RNA*). Takie RNA zawierające powielone powtórzenia trójnukleotydowe akumulują się w komórce, wysycają białka jądrowe, co prowadzi np. do zaburzeń splicingu mRNA (Cao i in. 2006).

Konstrytuwne transferowe oraz rybosomalne RNA (tRNA, rRNA), a także ich mitochondrialne analogi, kojarzone są z szerokim spektrum funkcji związanych z rozwojem neuronalnym oraz funkcjonowaniem ośrodkowego układu nerwowego. Mutacje w genach kodujących te klasy cząsteczek wiążą się z wieloma chorobami neurodegeneracyjnymi oraz neuropsychiatrycznymi, takimi jak CPEO (ang. *chronic progressive external ophthalmoplegia*), syndrom Kearns-Sayre (KSS: CPEO z degeneracją siatkówki), syndrom MELAS (mitochondrialna encefalopatia z syndromem udarowym i migrenami), syndrom MERRF (epilepsja z drgawkami mięśni, mitochondrialna miopatia, bezwład mózdkowy i rzadziej demencja, utrata słuchu, peryferyjna neuropatia) oraz choroba neuronów motorycznych. Syndrom MELAS oraz inne choroby związane z wadliwymi mitochondrialnymi tRNA kojarzone są z chorobami neuropsychiatrycznymi, takimi jak: schizofrenia, psychoza, majaczenie, zaburzenia osobowości, zespół depresyjny oraz zaburzenia lękowe (Mehler i Mattick 2006).

4. Olbrzymi potencjał RNA

Niekodujące RNA stanowią grupę nowo poznawanych cząsteczek, które odgrywają zasadniczą rolę w rozwoju, funkcjonowaniu oraz stanach patologicznych związanych z centralnym układem nerwowym. O ogromnym potencjale regulacji opartej o RNA świadczyć może spektrum procesów, w które są one zaangażowane, a obejmujące zjawiska plastyczności synaptycznej, uczenia, pamięci i odpowiedzi na stres. Zaburzenia biosyntezy tych cząsteczek prowadzą do wielu schorzeń neurodegeneracyjnych, neurodegeneracyjnych, neuropsychiatrycznych oraz nowotworowych, co czyni z nich doskonały obiekt poszukiwań nowych metod terapeutycznych.

Odkrycie regulatorowych RNA stanowi niewątpliwie jedno z najbardziej przełomowych wydarzeń w historii biologii molekularnej. Wszechstronność działania RNA oraz wpływ na wszystkie etapy procesu przekazywania informacji genetycznej pozwala uzupełnić model zaproponowany przez Francisca Cricka o oddziaływania regulacyjne, w którego centrum znalazły się niekodujące RNA (ryc. 7).



Ryc. 7. Kierownica życia (ang. *steering wheel of life*) (Szymanski i in. 2005). Schemat obrazujący przepływ informacji genetycznej od DNA do białka (ok. 2% genów w genomie człowieka) oraz udział niekodujących RNA w regulacji ekspresji genów poprzez oddziaływanie z DNA, RNA i białkiem

W związku z tym pojawiła się konieczność ponownego postawienia pytania, czym jest gen. Przez wiele lat gen określano jako odcinek DNA, kodujący konkretne białko. W świetle nowych odkryć biologii molekularnej okazało się to mało precyzyjne. Obecnie gen można opisać jako kombinację sekwencji genomowych kodujących spójny zestaw potencjalnie nachodzących na siebie funkcjonalnych produktów (RNA lub białka) (Gerstein i in. 2007).

Pomimo coraz bogatszej wiedzy na temat struktury ncRNA, ich genów i profilów ekspresji w mózgu, wydaje się, że dalecy jesteśmy od pełnego zrozumienia złożoności ludzkiego genomu, mechanizmów zarządzających realizacją zawartej w nim informacji, a szczególnie molekularnych podstaw funkcjonowania centralnego układu nerwowego.

Literatura

- Bartel D.P. *MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function*. „Cell” 2004, 116, s. 281-297.
- Calin G.A., Sevignani C., Dumitru C.D. et al. *Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers*. „Proc. Natl. Acad. Sci. USA” 2004, 101 s. 2999-3004.
- Cao X., Yeo G., Muotri A. R. et al. *Noncoding RNAs in the mammalian central nervous system*. „Annu. Rev. Neurosci.” 2006, 29 s. 77-103.
- Caudy A.A., Myers M., Hannon G.J., Hammond S.M. *Fragile X-related protein and VIG associate with the RNA interference machinery*. „Genes Dev.” 2002, 16 s. 2491-2496.

- Chan J.A., Krichevsky A. M., Kosik K. S. *MicroRNA-21 an apoptotic factor in human glioblastoma cells.* „Cancer Res.” 2005, 65 s. 6029-6033.
- Chen Z.F., Paquette A.J., Anderson D.J. *NRSF/REST is required in vivo for repression of multiple neuronal target genes during embryogenesis.* „Nat. Genet.” 1998, 20 s. 109-110.
- Cho W.C.S. *OncomiRs: the discovery and progress of microRNAs in cancers.* „Mol. Cancer” 2007, 6 s. 60.
- Ciafre S.A., Galardi S., Mangiola A. et al. *Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma.* „Biochem. Biophys. Res. Commun.” 2005, 334 s. 1351-1358.
- Davies W., Isles A. R., Humby T., Wilkinson L. S. *What are imprinted genes doing in the brain?* „Epigenetics” 2007, 2 s. 1-4.
- Gartel A.L., Kandel E.S. *miRNAs: little known mediators of oncogenesis.* „Semin. Cancer Biol.” 2008, 18 s. 103-110.
- Gerstein M.B., Bruce C., Rozowsky J.S. et al. *What is a gene, post-ENCODE? History and updated definition.* „Genome Res.” 2007, 17 s. 669-681.
- John B., Enright A.J., Aravin A. et al. *Human microRNA targets.* „PLoS Biol.” 2004, 20042 s. e363.
- Johnson C.D., Esquela-Kerscher A., Stefani G. et al. *The let-7 MicroRNA represses cell proliferation pathways in human cells.* „Cancer Res.” 2007, 67 s. 7713-7722.
- Johnson S.M., Grosshans H., Shingara J. et al. *RAS is regulated by the let-7 microRNA family.* „Cell” 2005, 120 s. 635-647.
- Kuwabara T., Hsieh J., Nakashima K. et al. *A small modulatory dsRNA specifies the fate of adult neural stem cells.* „Cell” 2004, 116 s. 779-793.
- Lee, Y.S., Dutta, A. *The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene.* „Genes Dev.” 2007, 21 s. 1021030.
- Lu J., Getz G., Miska E.A. et al. *MicroRNA expression profiles classify human cancers.* „Nature” 2005, 435 s. 834-838.
- Martignetti J.A., Brosius J. *BC1 RNA: transcriptional analysis of a neural cell-specific RNA polymerase III transcript.* „Mol. Cell Biol.” 1995, 15 s. 1642-50.
- Mattick J.S. *The hidden genetic program of complex organisms.* „Sci. Am.” 2004, 291 s. 60-67.
- Mayr C., Hemann M.T., Bartel D.P. *Disrupting the pairing between let-7 and Hmga2 enhances oncogenic transformation.* „Science” 2007, 315 s. 1576-1579.
- Mehler M. F., Mattick J. S. *Non-coding RNAs in the nervous system.* „J. Physiol.” 2006, 575.2 s. 333-341.
- Millar J.K., Wilson-Annan J.C., Anderson S. et al. *Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia.* „Hum. Mol. Genet.” 2000, 9 s. 1415-1423.
- Mus E., Hof P.R., Tiedge H. *Dendritic BC200 RNA in aging and in Alzheimer's disease.* „Proc. Natl. Acad. Sci. USA.” 2007, 104 s. 10679-84.
- Muslimov I.A., Banker G., Brosius J., Tiedge H. *Activity-dependent regulation of dendritic BC1 RNA in hippocampal neurons in culture.* „J. Cell Biol.” 1998, 141 s. 1601-1611.
- Pollard K.S., Salama S.R., Lambert N. et al. *An RNA gene expressed during cortical development evolved rapidly in humans.* „Nature” 2006, 443 s. 167-72.
- Presutti C., Rosati J., Vincenti S., Nasi S. *Non coding RNA and brain.* „BMC Neuroscience” 2006, 7.
- Sasaki Y.T.F., Sano M., Ideue T. et al. *Identification and characterization of human non-coding RNAs with tissue-specific expression.* „Biochem. Biophys. Res. Commun.” 2007, 357 s. 991-996.

- Sassen S., Miska E.A., Caldas C. *MicroRNA – implications for cancer.* „Virchows Arch.” 2008, 452 s. 1-10.
- Sevignani C., Calin G.A., Nnadi S.C. et al. *MicroRNA genes are frequently located near mouse cancer susceptibility loci.* „Proc. Natl. Acad. Sci. USA” 2007, 104 s. 8017-8022.
- Stahlhut Espinosa C. E., Slack F. J. *The role of microRNAs in cancer.* „Yale J. Biol. Med.” 2006, 79 s. 131-140.
- Storz G. *An expanding universe of noncoding RNAs.* „Science” 2002, 296 s. 1260-1263.
- Szymanski M., Barciszewska M.Z., Erdmann V.A., Barciszewski J. *A new frontier for molecular medicine: noncoding RNAs.* „Biochem. Biophys. Acta.” 2005, 1756 s. 65-75.
- Takamizawa J., Konishi H., Yanagisawa K. et al. *Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival.* „Cancer Res.” 2004, 64 s. 3753-3756.
- Tiedge H., Chen W., Brosius J. *Primary structure, neural-specific expression, and dendritic location of human BC200 RNA.* „J. Neurosci.” 1993, 13 s. 2382-2390.
- Vasudevan S., Tong Y., Steitz J.A. *Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation.* „Science” 2007, 318 s. 1931-1934.
- Vitali P., Basyuk E., Le Meur E. et al. *ADAR2-mediated editing of RNA substrates in the nucleolus is inhibited by C/D small nucleolar RNAs.* „J. Cell Biol.” 2005, 169 s. 745-753.
- Wang H., Iacoangeli A., Lin D. et al. *Dendritic BC1 RNA in translational control mechanisms.* „J. Cell Biol.” 2005, 171 s. 811-821.
- Wells D.G. *RNA-Binding Proteins: A Lesson in Repression.* „J. Neurosci.” 2006, 26 s. 7135-7138.
- Zalfa F., Adinolfi S., Napoli I. et al. *Fragile X mental retardation protein (FMRP) binds specifically to the brain cytoplasmic RNAs BC1/BC200 via a novel RNA-binding motif.* „J. Biol. Chem.” 2005, 280 s. 33403-33410.

Regulatory RNAs in the brain

Nervous system is characterized by its uniqueness in cells origin, their variability, electrical properties of the nervous cell membrane, response to external signals, neuronal network and changes in synapses activity that are the basis of higher brain functions, such as learning and memory. Brain is a superior organ of human body with an extremely efficient regulation system. Apart from protein and small-molecule regulators, ribonucleic acids (RNAs), especially non-coding proteins (ncRNAs), play a crucial controlling role in the brain. They are present in every cell, from bacteria to primates and have regulatory, catalytic as well as structural function. Many specific ncRNAs have been identified in human brain, responsible for development and functioning. Disturbances in ncRNA synthesis and mechanism of action are connected to diseases such as autism, schizophrenia, Alzheimer disease, Prader-Willi syndrome and others.

Key words: brain, non-coding RNAs, gene expression, diseases