

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623463>

Анализ экспрессии микроРНК в сетчатке крыс на ранних стадиях развития ретинопатии

О.С. Кожевникова*, Н.Г. Колосова

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) — нейродегенеративное заболевание глаз — является ведущей причиной слепоты во всем мире, поражающей людей пожилого возраста. МикроРНК представляют собой класс одноцепочечных некодирующих РНК длиной около 22 нуклеотидов, которые преимущественно негативно регулируют экспрессию генов. Изменения содержания микроРНК при развитии ВМД могут способствовать раннему выявлению заболевания и мониторингу её прогрессирования. Однако сведения о закономерностях экспрессии микроРНК в сетчатке на ранних стадиях развития ВМД отсутствуют. Исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе возрастной дегенерации сетчатки, на ранней стадии и до проявления первых признаков может дать подсказки относительно молекулярных событий, запускающих необратимую стадию. У крыс OXYS с ускоренным старением спонтанно к возрасту 3 месяцев воспроизводятся основные признаки сухой формы ВМД: дистрофические изменения РПЭ, истончение нейроретины, нарушение хориоидальной микроциркуляции [1]. В данной работе мы провели сравнительный анализ экспрессии микроРНК в сетчатке крыс OXYS в возрасте 20 дней (доклиническая стадия ретинопатии) и 3 месяцев (стадия манифестации ретинопатии) и контрольных крыс Вистар методом секвенирования — small RNA-seq — на платформе DNBSEQ.

Согласно анализу дифференциальной-экспрессии (DESeq2, q -value $< 0,05$) в возрасте 20 дней у крыс OXYS по сравнению с крысами Вистар была изменена экспрессия 2 микроРНК, а в 3 месяца у крыс OXYS относительно Вистар была изменена экспрессия 16 микроРНК: уровень 7 микроРНК был повышен, а 9 — снижен. Анализ возрастных изменений экспрессии микроРНК показал, что в сетчатке крыс OXYS с 20 дней до 3 месяцев изменялся уровень 134 микроРНК: повышался у 59 микроРНК и снижался у 75 микроРНК. В сетчатке крыс Вистар с 20 дней до 3 месяцев изменялся уровень 94 микроРНК: повышался у 48 микроРНК и снижался у 46 микроРНК. Для дифференциально представленных микроРНК между группами проведён поиск генов-мишеней с помощью программ RNAhybrid, miRanda и TargetScan и их анализ генных онтологий. Гены-мишени 23 микроРНК в 20 дней у крыс OXYS по сравнению с Вистар значимо представлены в категориях «адгезионные контакты» и «цикл синаптической везикулы». Гены-мишени микроРНК с пониженным уровнем в 3 месяца у крыс OXYS по сравнению с Вистар значимо обогащены в категориях: разветвление сосудов, внеклеточная организация матрикса, адгезия, деубиквитинирование белков и др. Таргетом для микроРНК с повышенным уровнем в 3 месяца у крыс OXYS по сравнению с Вистар значимо представлен в сигнальных путях mTOR, MAPK, VEGF, тиреоидного гормона и др. Для анализа таргета, регулируемого молекулами микроРНК с изменённой экспрессией, выбирали таргетные гены, являющиеся общими мишенями как минимум для 10 микроРНК. Используя эту отсечку, получены таргетомы (от 400 до 600 генов) для микроРНК повышающих и снижающих уровень у крыс OXYS и Вистар с 20 дней до 3 месяцев. Представляется интересным обогащение этих таргетомов по категориям аксоногенез, образование слоя сетчатки, визуальное обучение, фокальная адгезия и эндцитоз. Для верификации результатов small RNA-seq проведено профилирование 84 микроРНК сетчатки крыс OXYS и Вистар в возрасте 20 дней и 3 месяцев с помощью ПЦР-панелей (Qiagen). Анализ показал высокую сходимость результатов секвенирования и ПЦР-панелей. В заключение мы предполагаем, что 16 микроРНК с изменённой экспрессией в сетчатке крыс OXYS представляют собой потенциальные биомаркеры и новые мишени для изучения патогенеза ВМД.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация; сетчатка; модель; микроРНК; таргетом.

Как цитировать:

Кожевникова О.С., Колосова Н.Г. Анализ экспрессии микроРНК в сетчатке крыс на ранних стадиях развития ретинопатии // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 498–501. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623463>

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-15-00047.

Рукопись получена: 15.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kozhevnikova O.S., Telegina D.V., Tyumentsev M.A., Kolosova N.G. Disruptions of autophagy in the rat retina with age during the development of age-related-macular-degeneration-like retinopathy // International Journal of Molecular Sciences. 2019. Vol. 20, N 19. P. 4804. doi: 10.3390/ijms20194804

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* О.С. Кожевникова; адрес: Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, д. 10; e-mail: oidopova@bionet.nsc.ru

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623463>

Analysis of microRNA expression in rat retina at the early stages of retinopathy development

O.S. Kozhevnikova*, N.G. Kolosova

Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

ABSTRACT

Age-related macular degeneration (AMD), a neurodegenerative eye disease, is the primary cause of blindness globally, especially affecting the elderly population. MicroRNAs, a type of single-stranded, non-coding RNAs of about 22 nucleotides in length, primarily regulate gene expression negatively. Alterations in the miRNA profile during AMD's development could potentially aid in early detection and progression monitoring of the disease. However, no data are available on the microRNA expression patterns in the retina during the early stages of AMD. Investigating the molecular mechanisms that underlie age-related retinal degeneration at an early stage, prior to the manifestation of any symptoms, could provide insights into the molecular events that initiate the irreversible stage. In the case of OXYS rats with accelerated aging, dystrophic changes in the RPE, neuroretinal thinning, and impaired choroidal microcirculation — the primary indicators of the dry form of AMD — spontaneously occur by the age of 3 months [1]. A comparative analysis was conducted in this study on microRNA expression in the retinas of OXYS rats at two different stages of retinopathy — 20 days (preclinical) and 3 months (manifestation) — as well as in control Wistar rats. Small RNA-seq sequencing was performed on the DNBSEQ platform. According to differential expression analysis (DESeq2, q -value < 0.05), at 20 days of age, 2 microRNAs exhibited altered expression in OXYS rats compared to Wistar rats. Similarly, at 3 months of age, the expression of 16 microRNAs in OXYS rats was altered compared to Wistars, with 7 miRNAs showing increased levels and 9 miRNAs showing decreased levels. Analysis of age-related changes in miRNA expression demonstrated that in the OXYS rat retina between 20 days and 3 months, the levels of 134 miRNAs altered: 59 miRNAs increased, and 75 miRNAs decreased. Over the course of 20 days to 3 months, 94 miRNAs underwent alterations in the retinas of Wistar rats. Among these, the level of 48 miRNAs increased while the level of 46 miRNAs decreased. The RNAhybrid, miRanda, and TargetScan programs were used to search for target genes of differentially presented miRNAs among different groups. Following this, gene ontologies were studied. In comparison to Wistar rats, “adhesion contacts” and “synaptic vesicle cycle” categories are noticeably populated with target genes of miRNA DE at 20 days in OXYS rats. MiRNA target genes with lower levels at 3 months in OXYS rats compared to Wistar rats are significantly enriched in categories such as vascular branching, extracellular matrix organization, adhesion, and protein deubiquitination. Target genes with increased miRNA levels at 3 months in OXYS rats, compared to Wistar rats, are significantly represented in various signaling pathways, such as mTOR, MAPK, VEGF, and thyroid hormone. Target genes, which serve as common targets for at least 10 microRNAs (miRNAs), were chosen for analysis of the targetome subject to regulation by miRNA molecules exhibiting modified expression. Targetomes containing 400 to 600 genes were obtained for miRNAs that increased or decreased levels in both OXYS and Wistar rats between 20 days and 3 months. Notably, these targetomes were enriched in categories such as axonogenesis, retinal layer formation, visual learning, focal adhesion, and endocytosis. Profiling of 84 miRNAs of the retina of OXYS and Wistar rats at the age of 20 days and 3 months was carried out using PCR panels (Qiagen) to verify the results of small RNA-seq. Our analysis revealed highly convergent results between sequencing and PCR panels. Thus, 16 miRNAs showing altered expression in OXYS retina may serve as potential biomarkers and new targets for studying AMD pathogenesis.

Keywords: age-related macular degeneration; retina; model; miRNA; targetome.

To cite this article:

Kozhevnikova OS, Kolosova NG. Analysis of microRNA expression in rat retina at the early stages of retinopathy development. *Genes & Cells*. 2023;18(4):498–501. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623463>

ADDITIONAL INFORMATION

Funding sources. The study was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 21-15-00047.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, and final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Received: 15.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

REFERENCES

1. Kozhevnikova OS, Telegina DV, Tyumentsev MA, Kolosova NG. Disruptions of autophagy in the rat retina with age during the development of age-related-macular-degeneration-like retinopathy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(19):4804. doi: 10.3390/ijms20194804

AUTHORS' CONTACT INFO

* O.S. Kozhevnikova; address: 10 Lavrentiev avenue, 630090 Novosibirsk, Russian Federation; e-mail: oidopova@bionet.nsc.ru