Archive of SID

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره اول، شماره سوم، تابستان ۱۳۹۰

NCMBJ
Review Article
مقاله مروری

فعال سازی سیستم ایمنی اولیه توسط siRNA

نسرین مهاجری[۱]، بهرام کاظمی*[۲]

[۱]کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحدعلوم وتحقیقات ، تهران، ایران
[۲] استاد، مرکزتحقیقات بیولوژی سلولی ومولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

RNA interference (RNAi) در فرآیند خاموشی ژن نقش دارد که منشاء آن Double–stranded RNA (dsRNA) می باشد. معمولاً در انواع مختلف سلول ها dsRNA از۲۴-۲۱ نوکلئوتید تشکیل شده که Small interference RNA (siRNA) نامیده می شود و با هدایت RNA-induced silencing complex (RISC)، mRNA هدف شناسایی و شکسته می شود. siRNA فعال کننده قوی سیستم ایمنی اولیه است که می تواند بیان سایتوکاین ها و اینترفرون ها را با مقدار زیاد القا نماید. Toll like receptor (TLR) اولین خط دفاعی سیستم ایمنی ذاتی است که بیان ژن های زیادی را در سلول میانجی گری می کند. برهم کنش siRNA در داخل سیتوپلاسم توسط حسگرهای RNA از قبیل: (Retinoic-acid Inducible Gene-IRIG-I) RNA-Activated protein kinase R، (PKR) Interferon Regulatory Factor، (IRF) و `2`-5 الیگو آدنیلات سنتتاز (2`-5`OAS) انجام می گیرد. با ایجاد تغییراتی در اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتیدهای انتهایی و آویزان در siRNA می توان نیمه عمر siRNA ها را افزایش داد. در این مقاله درباره خاموشی ژن توسط RNAi و پاسخ ایمنی حاصل از siRNA توضیح داده می شود.

کلمات کلیدی: dsRNA، siRNA، پاسخ ایمنی ذاتی

مقدمه

سنتز پروتئین نیازمند رونویسی DNA به mRNA و ترجمه آن به پروتئین است، مهارکننده های انتخابی می توانند بیان را در سطح همانند سازی و رونویسی بلوکه کنند که اصطلاحاً Triplex strategy گفته می شود و بلوکه شدن در سطح ترجمه را Antisense strategy می نامند (Agrawal and layer, 1997). RNA silencing عامل مهم و مکانیسم تنظیمی ژن می باشد که بیان رونویسی را یا ازطریق مهارکردن کردن رونویسی Transcription gene silencing (TGS) و یا از طریق فعال سازی فرآیند تجزیه Specific RNA-sequence که به آن Post transcriptional gene silencing (PTGA) و یا RNA interference می گویند، مهار می کند. خاموش کردن اختصاصی بیان ژن ها با فرآیند RNAi یک مکانیسم تنظیمی در سطح پس از نسخه برداری است که در سلول های یوکاریوتی اعمال می شود. این پدیده که توسط مولکول های دو رشته‌ای RNA بنام مولکول‌های RNA مداخله‌گر کوچک siRNA واسطه‌گری می‌شود و از لحاظ تکاملی در میان موجودات یوکاریوت حفظ شده است. به نظر می‌رسد که جهت حفاظت ژنوم در مقابل تهدیدات ژن‌ها با منشا خارجی (اگزوژن) نظیر ژن‌های ویروسی، ترانسژن‌ها و همچنین ژن‌ها با منشاء داخلی نظیر ترانسپوزون‌ها به کار می‌رود. علاوه بر این، فرآیند RNAi در برنامه‌های سلولی جهت تنظیم بیان ژن‌ها و کنترل رشد و نمو سلولی نقش دارد (Agrawa et al., 2003). زمانی که dsRNA به Caenorhabditis elegans تزریق شد و بیان ژن با توالی های همولوگ توسط dsRNA خاموش گردید به ویژگی RNAi پی برده شد، همین ویژگی درگیاهان، قارچ ها، دوزیستان و

آدرس نویسنده مسئول: گروه انگل شناسی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
Email: bahram_14@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۱/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۳/۰۸

www.SID.ir

Archive of SID

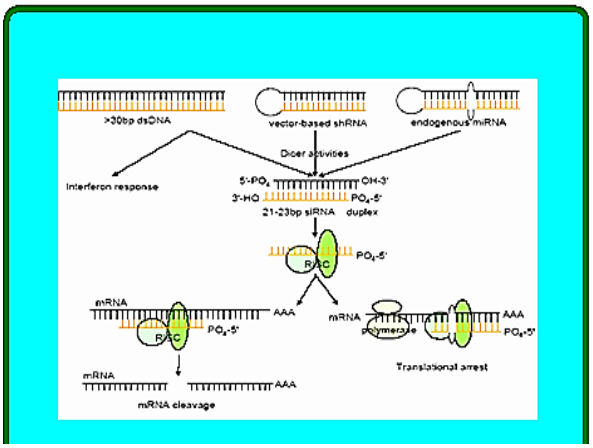
مگس سرکه هم به اثبات رسیده است (Inoue et al., 2005). وقتی dsRNA وارد سیتوپلاسم سلول می شود تحت تاثیر آنزیم RNase III بنام Dicer قرار گرفته و به dsRNA دارای ۲۱ نوکلئوتید تبدیل می شود که ۲ نوکلئوتید درناحیه '3 مولکول siRNA آویزان باقی می ماند، سپس رشته آنتی سنس به RISC متصل شده و سبب تجزیه mRNA مکمل می شود (Karpala et al., 2005; Marques and Williams, 2005) siRNA که درطی پردازش از dsRNA طویل حاصل می شود، اغلب منشاء اگزوژنی داشته و به عنوان ابزار ضد ویروسی قوی به حساب می آید (Dang et at., 2008). siRNA توانایی فعال کردن سیستم ایمنی اولیه را با سایتوکاین های التهابی از قبیل تومور نکروز دهنده فاکتور آلفا (TNF-α)، اینترلوکین ها (ILs)، اینترفرون ها (IFNs) و بویژه IFN -α را دارد. ایجاد پاسخ ایمنی اولیه توسط siRNA یا وابسته به TLR است و یا مستقل از TLR می باشد (Sioud, 2007). درسیستم مستقل از TLR، dsRNA به عنوان یک سوبسترا دو مسیری را که مربوط به آنزیم های 2-5'OAS و PKR است در سیتوپلاسم سلول هدایت می کند که به ترتیب باعث تجزیه mRNA هدف و مهار ترجمه پروتئین می شود (Hovanessian, 2007). به طوری که با القای مسیرهای ضدویروسی RNaseL/2'-5'OAS و PKR می تواند موجب سنتز اینترفرون شود (Kulka, 2009)، اخیراً دیده شده که RIG-I هم در شناسایی dsRNA سیتوپلاسمیک و هم در القای بیان Interferon type I (IFN-I) نقش دارد (Kato et al., 2005). siRNA به جهت شناسایی اسید نوکلئوئیک خودی از غیرخودی ایمن بوده، اختصاصی عمل می کند و دارای کارآیی بالایی است و می توان از آن ها در مطالعات ژنومیکس، درمان بیماری ها و رده های سلولی توموری کمک گرفت (Sioud, 2005; Yoo et al., 2006; Karpala et al., 2005). فعال سازی غیراختصاصی پاسخ های ضد ویروسی توسط dsRNA های بلندتر از ۳۰ نوکلئوتید انجام می پذیرد.

مکانیسم خاموش شدن ژن ها توسط siRNA

RNA تداخلی به عنوان جدیدترین وکارآمدترین ابزارخاموش کردن اختصاصی بیان ژن‌ها پس ازنسخه برداری شناخته شده است. برای مکانیسم عمل فرآیند تداخل RNA یک مدل دو مرحله‌ای متشکل از مرحله‌ی شروع و مرحله‌ی عمل‌کننده ارائه شده است. در مرحله‌ی شروع، مولکول‌های RNA دورشته‌ای (۵۰۰-۲۰۰ جفت نوکلئوتید) توسط آنزیمی از خانواده RNase III به نام Dicer (دارای چندین دومین است) به قطعات کوچک ۲۳-۲۱ نوکلئوتیدی (siRNA) تبدیل می شود که به عنوان RNA های راهنما (guide RNA) عمل خواهند کرد (این فعالیت توسط دومین هلیکازی و با مصرف ATP انجام می گیرد). آنزیم‌های اعضای خانواده RNase III جزء معدود نوکلئازهایی هستند که فعالیت اختصاصی برای مولکول‌های dsRNA دارند و آن ها را درانتهای '3 به گونه‌ای برش می‌دهند که ۳۲ نوکلئوتید به طورآویزان باقی بماند وانتهای '5 ,'3 هیدروکسیله ایجاد کند. سپس در مرحله‌ی عمل‌کننده هرکدام از قطعات siRNA در یک مجموعه پروتئینی RISC قرار می گیرد. RISC با فعالیت هلیکازی وابسته به ATP، دو رشته siRNA را از هم بازمی‌کند، در این مرحله RISC فعال شده و به همراه مولکول siRNA تک رشته‌ای که در این هنگام به آن Antisense RNA نیز می گویند و مکمل ناحیه‌ای برروی مولکول RNA هدف (sense RNA) می‌باشد، به سمت mRNA هدف راهنمایی می‌شود. سپس زیر واحد اندوریبونوکلئازی موجود در ساختار RISC، mRNA هدف را از وسط بریده به طور کامل تخریب می‌شود و سبب خاموش شدن بیان ژن هدف می‌شود. (McCaffrey et al., 2003; Meister and Tuschl, 2004; Leung RK, Whittaker , 2005; Agrawal et al., 2003). آنتی سنس ها RNA های کوچک و قابل انتشار هستند و در مقایسه با پروتئین های رپرسوری مهار آن ها به مقدار KD (ثابت تفکیک) بستگی ندارد، بلکه به سرعت اتصال آنها وابسته است (Brantl, 2002). گیاهان و بی مهرگان که فاقد ایمنی ثانویه می باشند می توانند با استفاده از RNAi در مقابل ژنوم انگلی (ویروس ها، ترانسپوزون ها و رتروترانسپوزون ها) دفاع کنند، زیرا نوکلئوئیک اسیدهای متحرک سبب بیماری شده و یا ژنوم را تغییر می دهند. (Bagasra and Prilliman, 2004 ; Karpala et al ., 2005).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- مکانیسم خاموشی ژن وفعال شدن پاسخ ایمنی ازسوی siRNA (اقتباس از Leung and Whittaker, 2005).

شناسایی پاتوژن توسط سیستم ایمنی

TLRها گروه بزرگی از پروتئین های ترانس ممبرن می باشند که ۱۳ نوع آن ها در انسان و موش شناسایی شده و نقش مهم در شناسایی الگوهای پاتوژنی، فعال سازی ایمنی ذاتی واکتسابی وهدایت مسیرهای سیگنال دهی دارند. TLR حاوی دومین خارج سلولی غنی از لوسین است که اجزای میکروبی را به طور اختصاصی شناسایی می کند، دومین داخل سلولی آغازسیگنال دهی را بر عهده دارد و به دومین Toll-Interleukin Receptor (TIR) معروف است که در نهایت فعال سازی مسیرهای آبشاری، فسفریلاسیون زیرواحد تیروزین، فعال سازی فاکتورهای رونویسی و رونویسی از ژن های پاسخ ایمنی را سبب می شود Sen and Sarkar, 2005; Robbins et al., 2009;) (Karpala et al., 2005 سه نوع TLR در شناسایی siRNA نقش دارند که به آن ها اشاره می شود: TLR3، رسپتور مناسب جهت شناسایی siRNA است که در لوکوسیت ها و سلول های اپیتلیال اولیه انسانی مانند ریه، آئورت، سیاهرگ، پوست، مشیمیه و در تعدادی از سلول های اندوتلیال، اپیتلیال و فیبروبلاست دیده مشاهده شده است (Sioud, 2007). این رسپتور شناسایی dsRNA رها شده درطی نکروز یا اپوپتوز سلول را برعهده دارد (Marques and Williams, 2005) TLR7 در سلول های دندریتیک پلاسماسیتوئید B، Cell و TLR8 درسلول های دندریتیک مایلوئید، مونوسیت و ماکروفاژ بیان بالا دارد، TLR7 و TLR8 توسط ssRNA ویروسی، الیگونوکلئوتیدهای RNA، siRNA (ساختارهای ثانویه ویا توالی های نوکلئوتیدی GU و موتیف '3-UGU-5' در siRNA) فعال می شوند (Sioud, 2005; Sioud 2007)، همه گونه های مهره دار یک کپی منفرد از ژن های TLR7 و TLR8 را به طور متوالی در کروموزوم خود دارند که ناشی از تکثیر ژن اجدادی است (Marques and Williams, 2005).

dsRNA هایی که در آزمایشگاه ساخته می شوند و شامل ترکیبات هموپلیمر مکمل اینوزین و سیتیدین (پلی اینوزینیک اسید و پلی سیتیدیلیک اسید) و به شکل موتیف های dsRNA هستند، سایتوکاین هایی از قبیل اینترفرون بتا و TNF-α را القا می کنند، فعال سازی پاسخ ایمنی اولیه در In vitro با dsRNA های ساخته شده ی مصنوعی مستقل از dsRNA هایی است که به طور طبیعی ساخته می شوند، ازRNA پلیمرازهای باکتریوفاژی هم برای سنتز RNA به صورت In vitro استفاده می شود (Cekaite et al., 2007; Gantier and Williams, 2007; Loving, 2006).

اندوزومی siRNA شناسایی

وقتی siRNA از طریق اندوسیتوز وارد سلول می شود در داخل اندوزوم به TLR ها و به ویژه TLR8، TLR7 و TLR9 متصل می شود و سبب فعال سازی فاکتور رونویسی NF -κB (Nuclear Factor kappa B cell) و Cell IRF-3 می شود و این مسیرهای سیگنال دهی منجر به تولید سایتوکاین های پیش التهابی ازقبیل TNF-α و IL-6 و اینترفرون نوع I می گردد، جالب توجه این که مهار اندوزوم بالغ ازسوی Chloroquine وBafilomycine A1 (غیرفعال شدن پمپ H^+ در غشای اندوزوم) صورت می گیرد، Chloroquine فعالیت ایمونولوژیکی siRNA را بلوکه کرده و مسیر RNAi را فعال می کند(Cekaite et al., 2003; Sioud, 2005; Karpa et al., 2005).

TLR9 که موتیف CpG DNA ویروسی و باکتریایی را شناسایی می کند، توانایی تحریک سیستم ایمنی اولیه را دارد

www.SID.ir

Archive of SID

(Spies et al., 2003) و در غشای اندوزوم بیان می شود، مطالعات نشان داده که TLR9 و الیگوداکسی ریبونوکلئوتیدهای حاوی CpG در اندوزوم های ثانویه و اندوزوم های بالغ وجود دارد که طی مسیر سیگنال دهی ،IL-10، IL-6 و IgM را در سلول های دندریتیک تولید می کند (Verthelyi and Zeuner, 2003). تزریق siRNA بدون پوشش، به علت نیمه عمر کوتاه siRNA واکنش ایمنی شدیدی ایجاد نمی کند در حالی که تزریق siRNA با کمپلکس لیپیدکاتیونی پاسخ سایتوکاینی قوی از جمله تحریک بیان اینترفرون آلفا را به دنبال دارد، زمانی که siRNA پوششی از-Poly-L lysine داشته باشد می تواند بیان IL -6 و TNFرا القا کند. فعال سازی مسیرهای مختلف به نوع TLR و لیگاند آن بستگی دارد که در سلول های ایمنی مختلف متفاوت بوده ومنجربه تولید سایتوکاین های مختلف می شود (Marques and Williams, 2005).

شناسایی siRNA سیتوپلاسمی

با شناسایی dsRNA سیتوپلاسمی زنجیره ای از وقایع اتفاق می افتد که سنتزپروتئین مهارشده و mRNA هدف تجزیه می شود و اینترفرون و سایرسایتوکاین ها بیان می شوند و در نهایت سلول دچار اپوپتوزمی گردد، این پاسخ اولین سد دفاعی در مقابل همانندسازی ویروس ها است (Gantier and Williams, 2007). PKR که توسط کروموزوم 22-2p21 انسانی کد می شود (با وزن مولکولی ۶۸ کیلودالتون)، متشکل از دو دومین متصل شونده به dsRNA یا مولکول های ssRNA (حاوی موتیف های dsRNA) و دومین کینازی می باشد و با فسفریله شدن فعال می گردد (Hovanessian, 2007). بسیاری از سلول های انسانی PKR را به مقدار کم و یکنواخت درسیتوپلاسم خود بصورت غیر فسفریله دارند و به مقدار کم درهسته سلول ها هم دیده شده است که در حضور اینترفرون بیان PKR زیاد می شود، امروزه مشاهده شده است که siRNA هایی که ۲۱ تا ۲۷ نوکلئوتید دارند PKR را فعال می کنند. زمانی که PKR به dsRNA باند شود، در ساختار فضایی PKR تغییر ایجاد شده، eIF2α را فسفریله کرده که منجر به اتصال eIF2α به eIFβ شده و ازطریق کمپلکس ریبوزومی مانع ترجمه خواهد شد و در نهایت اپوپتوز سلولی فعال می شود، درصورتی که توالی siRNA کمتر از۳۰ نوکلئوتید باشد، PKR فعال نمی شود (Karpala et al., 2005; Gantier, 2007). PK از مسیر دیگر پروتئین کیناز IKK را فسفریله کرده که بیان اینترفرون نوع I را سبب می شود. آزمایشات نشان داده ۲ آمینوپورین قدرت بلوکه کردن PKR را دارد (Loving et al., 2006; Smith, 2005). از جمله شناساگرهای سیتوپلاسمیsiRNA ، مولکول 5`-OAS` است که توسط کروموزوم 13.12q24 انسان کد شده و توانایی القای اینترفرون های آلفا، بتا و گاما را دارد و در سلول های مختلف نوع بیان آن ها متفاوت است (Hovanessian, 2007). OAS اندوژنی فرم های الیگومری 2`-5'A را با تری فسفریله کردن فعال می کند که سبب فعال شدن RNaseL می شود (Kulka et al., 2009). با دایمریزاسیون RNaseL، mRNA هدف تجزیه می شود، OAS با اتصال به dsRNA های بزرگتر از ۱۵ نوکلئوتید توانایی القای بیان اینترفرون را دارد، در پستانداران این دسته از پروئتین ها دارای ۴عضو OAS1، OAS2،OAS3 و OASL هستند و دو دومین دارند که یکی سبب اتصال به dsRNA شده و دیگری سبب هیدرولیز ATP می شود (Gantier and Williams, 2007). دو آنزیم PKR و 5`-OAS`2 وقایع داخل سلولی از قبیل: القای ژن کنترل نرمال رشد سلولی، تمایز و اپوپتوز را تنظیم می کنند (Hovanessian, 2007). یکی دیگر از شناساگرهای اصلی siRNA داخل سیتوپلاسمی RIG-I است که پروتئین اتصالی به غشای خارجی میتوکندری است که از طریق دومین C-terminal RNA helicase activity با dsRNA برهم کنش دارد، RIG-I از طریق ساختارفضایی siRNAرا شناسایی می کند، در حضور دو نوکلئوتید اضافی در انتهای 3'siRNA فعالیت ATPase در RIG-I مختل می شود و در نتیجه سیستم ایمنی فعال می گردد، پاسخ ایمنی حاصل از siRNA دو رشته ای و تک رشته ای در نهایت منجربه فعال سازی Th-1 شده که پاسخی در مقابل سلول های توموری یا عفونت های ویروسی است (Robbins et al., 2009; Cekaite et al., 2007)، RIG-I توانایی برهم کنش با دورشته ای های RNA-RNA

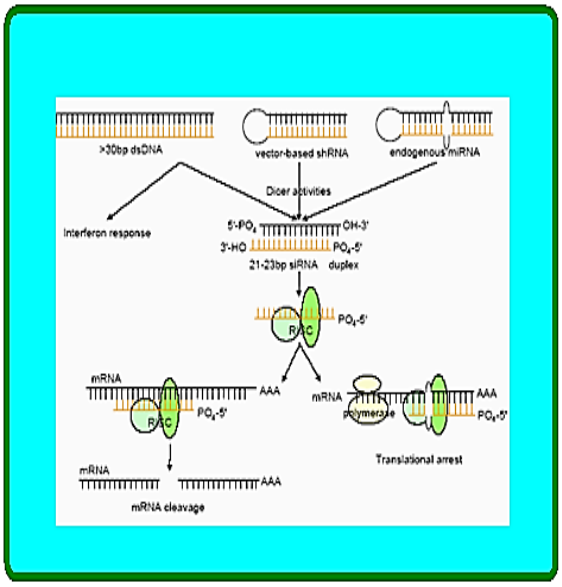
www.SID.ir

Archive of SID

و RNA-DNA را دارد و زمانی که سوبسترا نوکلئوتیدهای آویزان'3 را نداشته باشد، RIG-I ازطریق فعالیت ترانسلوکازی عمل می کند که سرعت ترانسلوکازی در حضور گروه تری فسفاته '5 افزایش می یابد (Ranjan et al., 2009)، TLRها جزو سنسورهای dsRNA سیتوپلاسمی هم هستند که اغلب آن ها در سطح سلول بیان می شوند و TLR3، TLR7، TLR8 TLR9 ارتباط بین شبکه اندوپلاسمی و اجزای داخل سلولی از قبیل اندوزوم و لیزوزوم را برقرار می کنند (Karpala et al., 2005). یکی دیگر از شناساگرهای سیتوپلاسمی dsRNA، IRF است که می تواند اینترفرون های آلفا و بتا را فعال کند، IRF3 وIRF7 در پاسخ به انواع مختلف ویروس ها، بعد از شناسایی dsRNA توسط TLR3 و یا لیپوپلی ساکارید توسط TLR4 فعال می شود (Schoenemeyer et al., 2005).

اهمیت توالی، اندازه و ساختار siRNA در تحریک سیستم ایمنی

فعال سازی سیستم ایمنی با siRNA به توالی اسید نوکلئیک siRNA و به طورجداگانه به رشته های سنس وآنتی سنس بستگی دارد که می تواند به تولید سایتوکاین منجر شود. همه ssRNA ها نمی توانند TLR8/7 را فعال کنند، بلکه به توالی غنی ازU و بویژه به توالی غنی G نیاز دارند. تفاوت در فعال سازی سیستم ایمنی نشان داده که درسلول های ایمنی انسانی و موشی siRNA توسط TLR8/7 هومو و هترو دایمر شناسایی می شوند که برای این شناسایی به Accessory protein نیاز دارند واین درحالی است که کوفاکتور این رسپتورها شناسایی نشده اند (Judge et al., 2005 dsRNA . Marques and Williams, 2005) بزرگتر از ۳۰ نوکلئوتید مسیر اینترفرون گاما که نیاز اصلی برای ایمنی اولیه است، ایجاد می کند (Bagasra and Prilliman, 2004; Leung and Whittaker, 2005). مولکول های آنتی سنس نسبت به مولکول های siRNA درمقابل نوکلئازها مقاومت کمی دارند که با فسفریله کردن می توان درIn vivo استفاده کرد، فسفریله شدن siRNA



شکل ۲- مسیرهای شناسایی siRNA توسط سنسورهای داخل سلولی (اقتباس از Marques andWilliams, 2005)

ازفعالیت خاموشی آن کاسته و سبب سمی شدن siRNA می شود، همراه کردن siRNA با پلی اتیلن ایمین، آتلوکلاژن (فرم محلول در آب کلاژن) وکلسترول باعث پایداری آن می شود (Leung and Whittaker, 2005). توالی غنی از U وG در RNA تک رشته ای به ویژه موتیف های GUCCUUCAA، UGUGU تحریک ایمنی را باعث می شود، اما اغلب siRNA این موتیف ها را ندارند و توانایی القای ایمنی را دارا می باشند، این مطلب نشان می دهد که خصوصیات دیگر از قبیل موقعیت یا نسبت دی نوکلئوتیدهایUG در مولکول و آرایش توالی های مجاور در القای سایتوکاین نقش دارد (Marques and Williams, 2005) مطالعه اهمیّت توالی siRNA بصورت دو رشته ای وتک رشته ای سنس و آنتی سنس نشان داده که وقتی توالی تک رشته سنس RNA5`GUCCGGGCAGGUCUACUUUTT3` شد می تواند TNF–α را در مونوسیت موش القا کند درحالی که توالی '3`GCUGGAGAUCCUGAAGAACTT5 توانایی القای بیان سایتوکاین را دارد (Sioud, 2005). افزایش طول مولکول از ۱۶ به ۱۹ نوکلئوتید سبب افزایش تولید

www.SID.ir

Archive of SID

سایتوکاین می شود، هم چنین آزمایشات نشان داده که RNA تک رشته ای نسبت به RNA دو رشته ای قدرت تحریک بیشتری دارد، در سلول خونی انسان جانشینی نوکلئوتید U با A در siRNA تحریک بیان TNF و IL-6 را از بین می برد. با تغییر در انتهای `3`5 رشته سنس siRNA فعالیت تحریکی از بین می رود، در حالی که تغییرات در ساختار siRNA قدرت Silencing را کاهش نمی دهد (Marques and Williams, 2005) به طوری که با تغییردر ساختار siRNA مانند تبدیل گروه `2`-OH در قند به `2methyl-O و یا `2 fluoro می توان تحریک سیستم ایمنی را مهار کرد که این عمل باعث برگشت siRNA به مسیر RNAi می شود (Sioud, 2007). جهت افزایش نیمه عمر siRNA و جلوگیری از تجزیه آن ها توسط اندونوکلئاز و اگزونوکلئازها می توان در ساختار آن تغییراتی ایجاد کرد، از قبیل تغییر در پیوند فسفو دی استر و تبدیل آن به فسفوروتیوآت، بورا نوفسفات، تغییر در ساختار باز و تبدیل آن به ۵ برومو یوراسیل، دی هیدرویوراسیل، تغییر در نوکلئوتیدهای انتهایی و آویزان مثل فسفوریلاسیون در ناحیه `5 رشته آنتی سنس (فسفوریلاسیون `5 در رشته سنس سبب بلوکه شدن عملکرد siRNA می شود)، افزایش طول siRNA از ۱۹-۲۱ به ۳ نوکلئوتید می تواند قدرت ایمنی زایی را افزایش دهد، به طوری که هر چه siRNA دو رشته ای بین ۲۰ تا ۲۳ نوکلئوتید باشد پاسخ اینترفرونی ایجاد خواهد شد (Watts et al., 2008) مطالعات بر روی بیماران مبتلا به عروق خونی جدید در لایه کوروئیدال چشم نشان داده که حداقل طول نوکلئوتیدی siRNA برای فعال کردن TLR3، نوکلئوتید است تا اینترفرون گاما واینترلوکین ۱۲ بیان شود درحالی که siRNA و poly(C:I) با طول های ۷،۱۳،۱۶،۱۹ نوکلئوتیدی نتوانست بیماری CNV را سرکوب کند (Kleinman et al., 2008).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی قدردانی می شود.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1-Agrawal N, Dasaradhi PV, Mohmmed A, Malhotra P, Bhatnagar RK, Mukherjee SK. RNA interference: biology, mechanism, and applications. Microbiol Mol Biol Rev, 2003; 67(4) : 657-685.

2- Agrawal S, layer RP .Perspectives in antisense therapeutics. Pharmacol Ther, 1997; 76: 151-160.

3- Bagasra O, Prilliman KR. RNA interference: The molecular immune system. J.Molecular Histology, 2004; 35 :545-553.

4- Brantl S. Antisense- RNA regulation and RNA interference .Biochimica et Biophysica Acta, 2002; 1575: 15-25.

5- Cekaite L, Furset G, Hovig E, Sioud M. Gene Expression Analysis in Blood Cells in Response to Unmodified and 2'-Modified siRNAs Reveals TLR-dependent and Independent Effects . J Mol Biol, 2007; 365: 90-108.

6- Dang LT, Kondo H, Aoki T, Hirono I. Engineered virus-encoded pre-microRNA)pre-miRNA (induced sequence-specific antiviral response in addition to nonspecific immunity in a fish cell line: Convergence of RNAi-related pathways and IFN-related pathways in antiviral response. Antiviral Res, 2008; 80: 316-323

7- Gantier MP, Williams BR. The response of mammalian cells to double-stranded RNA. Cytokine Growth Factor Rev, 2007; 18: 363-371.

8- Hovanessian AG. On the discovery of interferon-inducible, double-straded RNA actiated enzymes: The 2'-5' oligoadenylate synthetases and the protein kinase PKR. Cytokine and Growth Factor Rev,2007; 18: 351-361.

9- Inoue A, TakahashiAk, Mazda O, Terauchi R, Arai Y, Kishida T, Shin-Ya M, Asada H, Morihara T, Tonomura H, Ohashi S, Kajikawa Y, Kawahito Y, Imanishi J, Kawata M, Kubo T. Electro-transfer of small interfering RNA ameliorated arthritis in rats. Biochem Biophys Res Comm, 2005; 336: 903-908.

10- Judge AD, Sood V, Shaw JR, Fang D, McClintock K, MacLachlan I. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate response by synthetic siRNA. Nature Biotechnol, 2005; 23: 4457-462.

11- Karpala AJ, Doran TJ, Bean AG. Immune responses to dsRNA: Implications for gene silencing technologies. Immunol Cell Biol, 2005; 83(3): 211-216.

12- Kato H, Sato Sh, Yoneyama M, Yamamoto M, Uematsu S, Matsui K, Tsujimura T, Takeda K, Fujita T, Takeuchi O, Akira S. Cell Type-Specific Involvement of RIG-I in antiviral response. J Immunol, 2005; 23(1) :19-28.

13- Kleinman ME, Yamada K, Takeda A, Chandrasekaran V, Nozaki M, Baffi JZ, Albuqerque RJ, Yamasaki S, Itaya M, Pan Y, Appukuttan B, Gibbs D, Yang Z, Karikó K, Ambati BK, Wilgus TA, DiPietro LA, Sakurai E, Zhang K, Smith JR, Taylor EW, Ambati J. Sequence- and target-independent angiogenesis suppression by siRNA via TLR3. Nature, 2008; 452: 591-598.

www.SID.ir

Archive of SID

14- Kulka M, CalvoM S, Ngo DT, Wales SQ, Goswami B. Activation of the 2-5OAS/RNase L pathway in CVB1 or HAV/18f infected FRhK-4 cells does not require induction of OAS1 or OAS2 expression, J Virology, 2009; 388: 169-184.

15- Leung RK, Whittaker PA. RNA interference: from gene silencing to gene- specific therapeutics. Pharmaco Therap, 2005; 107: 222-239.

16- Loving CL, Brockmeier SL, Ma w, Richt JA, Sacco RE. Innate Cytokine Responses in Porcine Macrophage Populations: Evidence for Differentioal Recognition of Double-stranded RNA. J Immunol, 2006; 177: 8432-8439.

17- Marques JT, Williams BR. Activation of the mammalian immune system by siRNAs. Nat Biotechnol, 2005; 23(11): 1399-1405.

18- McCaffrey AP, Nakai H, Pandey K, Huang Z, Salazar FH, Xu H, Wieland SF, Marion PL, Kay MA. Inhibition of hepatitis B virus in mice RNA interference. Nat Biotechnol, 2003; 21(6): 639-644.

19- Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. Nature, 2004; 431:

20- Nakamura K, Deyama Y, Yoshimura Y, Suzuki K, Morita M. Toll-like receptor 3 ligand-induced antiviral response in mouse osteoblastic cells. Inte J Mol Med, 2007; 19: 771-775.

21- Ranjan P, Bowzard JB, schwerzmann JW, Jeisy-scott V, Fujita T, Sambhara S. Cytoplasmic nucleic acid sensors in antiviral immunity. Trends in Molecular Medicine, 2009; 15(8): 359-368.

22- Robbins M, Judge A, Maclachlan I. siRNA and innate immunity. Oligonucleotides, 2009; 19(2): 89-102.

23- Schoenemeyer A, Barnes BJ, Mancl ME, Latz E, Goutagny N, Pitha PM, Fitzgerald KA, Golenbock DT. The Interferon Regulatory factor, IRF5, Is a Central Mediator of Toll-like Recepor 7 signaling J Biol Chemis, 2005; 280(17): 17005-17012.

24- Sen GC, Sarkar SN. Transcriptional signaling by double-stranded RNA: role of TLR3. Cytokine Growth Factor Rev, 2005; 16: 1-14.

25- Sioud M. Induction of Inflammetory Cytokines and Interferon Response by Double-stranded and single-stranded siRNA is Sequence-dependent and Requires Endosomal Localization. J Mol Biol, 2005; 348: 1079-1090.

26- Sioud M. RNA interference and innate immunity. Advanced Drug Delivery Rev, 2007; 59: 153-163.

27- Smith PL, Lombardi G, Foster GR. Type I interferon and the innate immune response -more than just antiviral cytokines. Mol Immunol, 2005; 42: 869-877.

28- Spies B, Hochrein H, Vabulas M, Huster K, Busch DH, Schmitz F, Heit A, Wagner H. Vaccination with plasmid DNA activates Dendritic cells via Toll Like Receptor 9) TLR9 (but function in TLR9-Deficient Mice. J Immunol, 2003; 171: 5908-5912.

www.SID.ir

Archive of SID

29- Verthelyi D, Zeuner RA. Differential signaling by CpG DNAin DCs and B cells: not just TLR9 .Trends in Immunol, 2003; 24(10): 519-522.

30- Watts JK, Deleavey GF, Damha MJ. Chemically modification siRNA: Tools and Applications. Drug Discov Today, 2008; 13(19): 842-855.

31- Yoo JW, Hong SW, Kim S, Lee D. Inflammatory cytokine induction by siRNAs is cell type- and transfection reagent-specific. Biochem Biophys Res Comm, 2006; 347: 1053-1058.

www.SID.ir