

MALE NEKODIRAJUĆE RNK-NOVINE U DIJAGNOSTICI I TERAPIJI

SMALL NON-CODING RNAs – DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC NEWS

Gordana Kocić

Medicinski fakultet Niš, Srbija

Kratak sadržaj: Nekodirajuće RNK predstavljaju specifičnu klasu RNK koje ne služe u procesu translacije proteina. One učestvuju u nizu različitih regulatornih procesa vezanih za proces transkripcije i posttranskripcioni nivo. Pomenuta familija RNK sadrži različite tipove, ali su gotovo sve oko 20–30 nukleotida dugačke, nastale iz prekursora veće dužine. Neke od njih, kao što je siRNK (mala interferentna RNK) formiraju se nakon razgradnje dvostrukospiranih RNK (dsRNK) i udružene su sa virusnom infekcijom. Druge familije, poznate kao mikro RNK (miRNK), kodiraju se od strane specifičnih gena. Glavna funkcija je inhibicija translacije, razgradnja mRNA ili indukcija razgradnje mRNA, poznata kao utišavanje mRNA. Prepoznavanje target mRNA moguće je po principu komplementarnosti baza. Step komplementarnosti određuje uspešnost utišavanja. Korišćenje iRNK u antivirusnom odgovoru predstavlja novi terapijski izazov. Dok neke siRNK imaju zadatak da suprimiraju razvoj oboljenja (virus), druge su uključene u razvoj humanih kancera. Stoga je njihova identifikacija važna sa dijagnostičkog i terapijskog aspekta kod različitih tipova karcinoma i različitih stadijuma oboljenja. Neki tipovi miRNK su udruženi sa razvojem degenerativnih i metaboličkih oboljenja. S obzirom na to da pravilan razvoj nervnog sistema, insulinska sekrecija, kao i važni metabolički procesi zahtevaju preciznu kontrolu na nivou ekspresije gena, kontrola stabilnosti i translacije mRNA putem malih nekodirajućih RNK predstavlja dominantnu regulaciju različitih metaboličkih, endokrinih i neuroloških procesa.

Ključne reči: nekodirajuće RNK, RNAsi, mRNA

Uvod

Male nekodirajuće RNK izolovane su iz niza eukariotskih ćelija: humanog ili animalnog porekla, bil-

Summary: Non-coding RNAs represent a specific type of RNAs that are non translated into proteins. They participate in a number of different regulatory processes concerning the transcriptional and posttranscriptional level. This family contains different types, each mainly 20–30 nucleotides long, excised from longer precursors. Some of them, such as siRNAs (small interfering RNAs) are formed during longer double-stranded dsRNA cleavage associated with the viral infection. Another family, named micro RNAs (miRNA) are encoded by specific genes. The main function is to repress or degrade mRNA translation or to induce mRNA degradation, known as RNA silencing. They recognize target mRNA according to the sequence-specific base pairing. The degree of complementarity directs the outcome of the reaction. The use of RNAi as a defence against different viruses was documented as a new therapeutic tool. Some siRNAs have a potential of silencing disease (virus) specific RNAs, while miRNAs are involved in development of human cancers. Their profiling can be used as diagnostic and prognostic tool in different cancer types and different cancer stages. Some of the miRNA-associated genes are implicated in the development of degenerative and metabolic diseases. Since the proper development of the nervous system, insulin secretion and important metabolic processes requires precise control of gene expression, control of the translation and stability of many mRNAs by the small non-coding RNAs is emerging as an important regulator of various metabolic, endocrine and neurological processes.

Keywords: non-coding RNAs, RNAsi, RNAs

jaka, gljivica, algi, ali i nekih DNK virusa. Po definiciji su označene kao efektni molekuli koji učestvuju u specifičnom genetskom »utišavanju« target nukleotidne sekvence, poznatom kao RNK interferencija (RNAi) (1–3). O aktuelnosti i značaju otkrića na polju malih nekodirajućih RNK svedoči podatak da je istraživanje na ovom polju nedavno, 2006 godine, rezultovalo Nobelovom nagradom, koju su podelila dva istraživača, Anrew Fire i Craig Mello.

Address for correspondence:

Gordana Kocić
Medicinski fakultet Niš, Srbija

Tabela 1 Tipovi RNK.

Klasične RNK koje učestvuju u sintezi proteina	Nekodirajuće regulatorne RNK
m(i) RNK služi kao matrica za sintezu proteina	siRNK (male interferentne RNK) male, 20–25 nukleotida, nastaju iz dvostrukospiranih RNK, regulišu sintezu proteina. Nastaju iz dvostrukospiranih RNK, najčešće pod dejstvom virusa
rRNK sastojak ribonukleoproteinskih partikula ribozoma	miRNK (mikro RNK) male, 20–25 nukleotida, vrše represiju sinteze proteina na nivou mRNK i utiču na degradaciju mRNK. Nastaju iz jednolančanih RNK
tRNK vezuju specifične aminokiseline i prenose ih do ribozoma	piRNK (Piwi-associated) Male, 25–30 nukleotida, nastaju iz jednolančanih prekursora, važne za razvoj germinativnih ćelija
	Duže nekodirajuće RNK imaju od 70 do hiljade nukleotida, učestvuju u RNA splajsinu

»Klasične« ribonukleinske kiseline se dele na tri glavna tipa: informacione RNK, transportne RNK i ribozomalne RNK. Mada transportne i ribozomalne RNK pripadaju tipu nekodirajućih RNK, jer ne služe direktno za sintezu proteina, poslednjih godina identifikovan je veliki broj novih nekodirajućih RNK. One su male molekulske mase i imaju mali broj nukleotida, svega 20–30. Uprkos male molekulske mase, ove nukleinske kiseline imaju značajnu regulatornu ulogu, najčešće u interferenciji, najčešće inhibiciji sinteze proteina. *Tabela 1* prikazuje najčešću podelu ribonukleinskih kiselina. Veliki broj malih nekodirajućih RNK je u kompleksu sa proteinima i poznati su kao ribonukleoproteinski kompleksi (RNP). Iako nisu direktno uključene u proces transkripcije ili translacije, one u velikoj meri uplivaju na brzinu, tok i pravac ovih procesa pri čemu najveći broj ima upliva na transkripciju, a zatim na translaciju, strukturu hromozoma, procesuiranje RNK i usmeravanje ka mestu translacije (4–6).

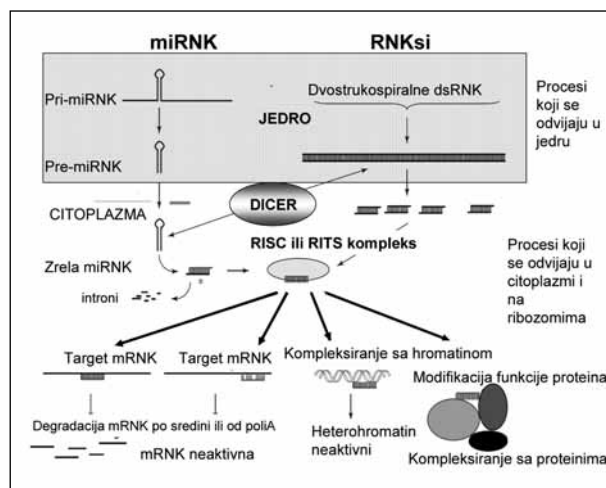
Identifikacija malih nekodirajućih RNK

Prva saznanja o utišavanju genoma malim komplementarnim RNK sekvencama došla su sasvim slučajno, kada su istraživači pokušali da umnože genom za boju biljke petunije u želji da sintetišu tamniju boju. I dobili su obrnutu sliku. Pojedini delovi cveta

uopšte nisu pokazivali boju. Ta pojava je nazvana interferencija, a po njoj je i čitava familija RNK nazvana male interferentne RNK. Nakon toga su usledila temeljna istraživanja (7).

Sinteza različitih malih nekodirajućih RNK u ćeliji

Sofisticiranim tehnikama izolacije ribonukleinskih kiselina, a zatim metodama hibridizacije malih RNK, ustanovljeno je da humani genom kodira preko hiljadu malih RNK. Ustanovljeno je da male nekodirajuće RNK nastaju procesom degradacije dugolančanih RNK, koje mogu biti dvostruko spiralne, kada nastaje siRNK tako što se komplementarni DNK lanac transkribuje u RNK sekvencu. Pomenuto stanje se najčešće događa u toku replikacije virusa, koji stvaraju »sense« i »antisense« polinukleotidni lanac, ali u isto vreme iniciraju sintezu siRNK. Sinteza ovih RNK u enzimskom smislu veoma podseća na sintezu mRNK, što znači da je RNK polimeraza II odgovorna za proces transkripcije. Male interferentne RNK nastaju iz dvostrukospiranih RNK, koje su postale kao sense i antisense deo virusne RNK. Enzimski kompleks koji razdvaja taj kratkolančani deo je poznat kao RNaza Dicer. Novonastali kompleks je poznat pod imenom RISC (RNA-induced silencing kompleks), odnosno kompleks prigušivača (8–10). U njemu je RNKi vodič ka pravom mestu na mRNK, kako bi došlo do digestije target mRNK. Nasuprot tome, miRNK nastaju sa ciljnih, transkripciono aktivnih mesta na genomu, pa u početku podsećaju na ukosnicu, odnosno na dvostrukospiralnu RNK. Enzim ima naziv Drosha u jedru, a Dicer u citoplazmi (*Slika 1*). U obavljaju funkcije pomažu mali proteini sa endonukleaznom aktivnošću, poznati kao Argonaut proteini. Funkcija Piwi RNK je slična, a razlika je u tome što u endonukleaznoj aktivnosti učestvuju Piwi proteini, esencijalni u razvoju germinativnih ćelija (11–12).

**Slika 1.** Sinteza malih nekodirajućih RNK i funkcija u ćeliji.

Mehanizam ostvarivanja efekata malih nekodirajućih RNK u ćeliji

Male nekodirajuće RNK mogu obavljati svoju funkciju kada prepoznaju komplementarni region na informacionoj RNK ili nekoj drugoj (virusnoj) target RNK. Efektivnost odgovora upravo je proporcionalna stepenu komplementarnosti sekvenci. Komplementarnost je »perfektna«, odnosno potpuna, kada se male RNK sintetišu kao odgovor na stranu RNK, kakav je slučaj sa odgovorom na virus i stvaranjem malih interferentnih, siRNK. Tada nastali dupleks mRNK-malaRNK »puca po sredini«, što znači da se razlaže u centralnom delu. Ali kada su u pitanju mikro, odnosno miRNK, za očekivati je da se homologija sekvenci ne može uvek postići sa velikom matematičkom verovatnoćom. Stoga se priroda »pobrinula« da male nekodirajuće RNK mogu vezati za sebe i usmeriti specifične proteine sa endonukleaznom aktivnošću prema ciljnoj mRNK. Ti proteini su dobili naziv prema organizmu u kome su prvi put pronađeni, *Arabidopsis mutants*, koji pripada argonaut fenotipu (AGO), a nazivaju se Argonaut proteini. Metoda kristalografije X zracima ustanovljeno je da se male RNK vezuju za Argonaut proteine svojim 5' krajem i da ulaze u mali »džep« koji je baznog karaktera, tako da elektrostatski privlači kiseli fosfatni ostatak male RNK. Zatim se veza ostvaruje preko tirozina i jona Mg^{++} . U uslovima fiziološke homeostaze ćelije, pomenuti proteini su uključeni u normalni proces degradacije mRNK, nakon završetka translacije. Za razliku od RNKi, miRNK počinju degradaciju mRNK od poliadenilnog repa (1–5, 13). Imajući u vidu činjenicu da je verovatnoća pronalazjenja komplementarnih sekvenci malo verovatna u mnoštvu nukleotidnih kombinacija, čini se jednostavnijim da se sinteza proteina blokira na samom početku, na nivou DNK genoma, odnosno samog procesa transkripcije. To je pitanje koje je komplementarno pitanju koliko ima smisla izučavati, pratiti i/ili sintetisati male nekodirajuće RNK u nekom terapijskom smislu? Ali podatak da one deluju na već stvorene mRNK ukazuje na veliku efikasnost delovanja, jer ne dozvoljavaju sintezu proteina na osnovu već stvorenih mRNK. Uz to, eksperimenti na nekim vrstama ribljih embriona su pokazali da specifične miRNK, poznate kao *miR-430* mogu da deluju munjevito na preko stotinu RNK i tako omogućavaju razvoj i diferencijaciju embriona u predviđenom roku. Pored toga, male RNK mogu delovati direktno na genom, tj. na DNK molekul. To je pokazano na nekim vrstama biljaka i gljivica. One ne deluju tada direktno na genom, već se kompleksiraju sa histonima, čime transkripciono-aktivni deo, poznat kao euhromatin prevode u transkripciono neaktivni-heterohromatin. U nekim nižim eukariotskim ćelijama je pokazano da mogu uticati i na rearanžiranje genoma, mada je kod sisara uloga mimo transkripcije još uvek enigma za istraživače. Pokazano je da male nekodirajuće RNK ne moraju da vrše samo prigušivanje, već da u nekim slučajevima mogu vršiti i aktivaciju genske transkripcije. Takav je slučaj sa *miR-122*, koja je neophodna za replikaciju hepatitis C virusa (2, 4, 14).

Biološka uloga i značaj malih nekodirajućih RNK u ćeliji

S obzirom da su miRNK prvi put otkrivene u jednostavnijim organizmima koji se brzo diferencijuju, kao što je *C. elegans*, zatim nekim embrionima riba (*Zebrafish*), za očekivati je i činjenica da je uloga miRNK dominantna u procesu razvoja i diferencijacije. Njihova ekspresija je zavisna od stadijuma razvoja, ali pokazuju i značajnu tkivnu specifičnost. Stoga je poremećaj ekspresije markantan naročito u karcinomu, ali i u nekim degenerativnim oboljenjima. U biljaka, sinteza miRNK, odnosno RNAi je esencijalna u antivirusnom odgovoru. Kod beskičmenjaka i biljaka, one mogu utišavati genetske sekvence koje se aktiviraju putem transpozona-mobilnog genetskog materijala, koji može da »skače« po genomu. Tako je postavljena hipoteza da utišavanje genoma putem malih nekodirajućih RNK predstavlja svojevrsni mehanizam »imunske zaštite genoma« (14). Ukoliko bi se postavilo pitanje zbog čega postoje, odgovor bi bio da je to najverovatnije evolutivna konsekvencija nastala kao posledica zaštite od stranih nukleinskih kiselina koje su mehanizmom retrovirusnih insertovanja u genom »obogaćivale« humani genom nepoželjnim konsekvencama tokom evolucije. Mašinerija utišavanja je najverovatnije razvijena evolucijom kao svojevrsni prekidač koji će zaustaviti sve one informacione RNK koje ne bi odgovarale humanoj ćeliji (1–4).

Male nekodirajuće siRNK nemaju uvek restrikciju za ćeliju u kojoj su nastali. Zahvaljujući maloj molekularnoj masi, mogu preći u ekstracelularni prostor i vaskulaturu i tako imati ulogu u sistemskom imunitetu. Za razliku od njih, miRNK familija je stacionarnog tipa (6, 7).

Revolucionarno u otkriću malih nekodirajućih RNK je činjenica da u ovom trenutku one predstavljaju jedino genetsko oružje protiv virusa i protiv kancerskih ćelija. Ali od ovih saznanja do efektivne terapije predstoji dug put (15, 16).

Dijagnostički značaj malih nekodirajućih RNK

Zahvaljujući munjevito napretku tehnologija koje na brz i precizan način vrše identifikaciju miRNK i RNKsi, male nekodirajuće RNK neopisivom brzinom ulaze u svet dijagnostike i polako uzimaju primat najnovijih i najpouzdanijih markera malignih, degenerativnih, naslednih oboljenja druge patogeneze, kao i virusnih oboljenja (16, 17).

O značaju miRNK u malignom procesu svedoči podatak da se na osnovu njihove kvantitativne i kvalitativne zastupljenosti može vršiti procena stadijuma oboljenja, pa imaju prediktivni i terapijski značaj. Pokazano je da su target delovanja tumor supresorni geni ili onkogeni, kao i fragilna mesta na hromozomima. Neke od njih, kao naprimer, miR-17-92, miR-155, miR-21, pokazuju povećanu ekspresiju u tumorskom procesu, imaju onkogeni potencijal, a target delovanja

su tumor supresorni geni, koje utišavaju. Svaki tip tumora ima svoju »paletu« miRNK koje se pojačano ili smanjeno kodiraju, što svakom malignom procesu, sa ovog aspekta, daje originalnost. Dva specifična tipa miRNK i to miR-221 i miR-21 se povećano ekspimiraju u glioblastomu. O tome koliki je njihov značaj svedoči eksperiment: ukoliko se blokira produkcija miR-21, ćelije glioblastoma simulatno ulaze u apoptozu, kao posledicu aktivacije kaspaza. Nasuprot tome, pokazano je da miR-128, miR-181a, miR-181b i miR-181c, pokazuju slabu ili gotovo nikakvu ekspresiju u glioblastomima. U karcinomu pluća ustanovljen je direktni loš prognostički značaj nekih miRNK, izražen odsustvom nekih miRNK. I Dicer protein je pokazano da odsustvuje u nekim tipovima karcinoma pluća sa lošim ishodom. Kod tumora dojke povećana količina miRNK usmerena je na tumor supersorne gene. Tako je miR-125b i miR-21 gotovo odsutna. Ekspresija miR-145 pokazuje tendenciju metastaziranja tumora i angiogenetski potencijal, dok je miR-9-3 suprimirana. U karcinomu kolona smanjena je ekspresija miR-143 i miR-145. One su smanjene i u karcinomu cerviksa, prostate, dojke, limfnog tkiva, a ne samo kolorektalnog tumora. U leukemijama B ćelija pokazana je povećana ekspresija miR-155 i miR-17-92. U hroničnim leukemijama je ustanovljeno da se ovo tkivo razlikuje od normalnih ćelija u ekspresiji čak 25 tipova miRNK (15, 18–20).

U dijagnostici virusnih oboljenja od značaja je identifikacija za sada oko desetak vrsta RNKi, koje se javljaju kao odgovor na prisustvo virusa u ćeliji, kao što su herpes, polio, citomegalo, Epštajn-Bar i retrovirusi. Uglavnom je njihova ekspresija vezana za onkogene tipove virusa. Novija istraživanja svedoče da se oko pet potencijalnih tipova RNKsi stvaraju kao odgovor na prisustvo HIV virusa (21–24).

Kod neurodegenerativnih oboljenja, kakav je slučaj sa spinalnom mišićnom atrofijom, ustanovljeno je da se menja tip i koncentracija nekih miRNK. U kojoj meri imaju uticaja na razvoj oboljenja perostaje da se dalje ustanovi. I neke urođene kardiomiopatije imaju za posledicu (ili uzrok) pojavu različitog spektra miRNK u tkivu miokarda. Kod nekih tipova mentalnih retardacija ustanovljen je poremećaj na nivou proteinskog kompleksa koji je deo RNKi aparata (Fragile Mental Retardation protein 1).

Proces procesuiranja miRNK poremećen je i u kombinovanom DiGeorge sindromu, koji nastaje kao posledica delecije u regionu 22q11.2 i uključuje oko 30 gena, među njima i DGCR8 komponentu i takozvani microProcessor kompleks. Poremećaj je veoma ozbiljan jer obuhvata srčanu insuficijenciju udruženu sa imunodeficijencijom i shizofrenijom, mada se mogu javiti i drugi funkcionalni ispadi. Genski lokus koji je odgovoran za sintezu miR-224 je jedan od potencijalnih okidača za pojavu neuroloških oboljenja vezanih za ranu pojavu Parkinsonove bolesti i X-vezane mentalne retardacije (25).

Kada su u pitanju metaboličke bolesti, pokazano je da povećana ekspresija miR-375 suprimira sekreciju insulina indukovanu glukozom, atko što blokira proces endocitoze insulina. Ukoliko bi se pokazalo da je to ključni defekt u insulinskoj sekreciji, to polje istraživanja bi bilo važno sa terapijskog aspekta (26).

Ne stvaraju se miRNK samo kao odgovor na prisustvo virusa, već neke imaju zadatak da se suprostave virusnoj infekciji, procesu umnožavanja virusa u ćeliji. Tako je pokazano da miR-32 reguliše proliferaciju virusa u kulturi (21, 27).

Male nekodirajuće RNK kao terapijska oružja

Na osnovu specifičnog mehanizma delovanja, male nekodirajuće RNK mogu predstavljati potencijalno oružje u borbi protiv virusa i malignih oboljenja. One trenutno najviše obećavaju i sve dok istraživače greje nada da su pronašli »pravu stvar« ova istraživanja će ići galopom kakav je sada prisutan. U ovom momentu takva terapija bi imala prednosti nad nizom konvencionalnih tipova iz više razloga, kao što je visoka specifičnost target mesta i brzo delovanje. Ali da bi se uvrstile u terapijsko oružje male nekodirajuće RNK treba da »preskoče« više etapa, kao što je tačna definicija njihovih target mesta, kako bi se izbegli neželjeni efekti, savršeno tačno dizajniranje, potvrda na animalnim studijama, optimizacija doze i načina aplikacije kako bi doprle i ušle u target ćelije (27). Potrebni su i dobrovoljci, koji će pristati da se prva faza kliničkih studija sprovede.

Literatura

1. Hannon GJ. RNA interference. *Nature* 2002; 418: 244–51.
2. Hammond SM. Dicing and slicing. The core machinery of the RNA interference pathway. *FEBS Lett.* 2005; 579: 5822–9.
3. Mello CC, Conte JD. Revealing the world of RNA interference. *Nature* 2004; 431: 338–42.
4. Ruvkun G. »Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world«. *Science* 2001; 294: 797–9.
5. Gottesman S. The small RNA regulators of *Escherichia coli*: Roles and mechanisms. *Ann Rev Microbiol* 2004; 58: 303–28.
6. Zamore PD, Haley B. Ribo-gnome: The Big World of Small RNAs. *Science* 2005; 309: 1519–24.
7. van der Krol A, Mur L, Beld M, Mol JNM, Stuitje AR. Flavonoid genes in petunia: Addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression. *Plant Cell* 1990; 2: 291–9.

8. Murchison EP, Hannon, GJ. miRNAs on the move: miRNA biogenesis and the RNAi machinery. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2004; 16: 223–9.
9. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409: 363–6.
10. Kurihara Y, Watanabe Y. Arabidopsis micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 12753–8.
11. Han J, Lee Y, Yeom K-H, Nam J-W, Heo I, Rhee J-K, Sohn SY, Cho Y, Zhang B-T, Kim VN. »Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex«. *Cell* 2006; 125: 887–901.
12. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and post-transcriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123: 631–40.
13. Meister G, Landthaler M, Dorsett Y, Tuschl T. »Sequence-specific inhibition of microRNA- and siRNA-induced RNA silencing«. *RNA* 2004; 10: 544–50.
14. Plasterk RHA. RNA Silencing: The Genome's Immune System. *Science* 2002; 296: 1263–5.
15. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, Powers S, Cordon-Cardo C, Lowe SW, Hannon GJ, Hammond SM. A microRNA polycistron as a potential human oncogene«. *Nature* 2005; 435: 828–33.
16. Hannon GJ, Rose JJ. Unlocking the potential of the human genome with RNA interference. *Nature* 2004; 431: 371–8.
17. Dorsett Y, Tuschl T. siRNAs: Applications in functional genomics and potential as therapeutics. *Nature Reviews* 2004; 3: 318–29.
18. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. »MicroRNA expression profiles classify human cancers0171. *Nature* 2005; 435 (7043): 834–8.
19. Kerscher AE, Slack FJ. Oncomics-micro RNA with a role in cancer. *Nature Reviews* 2007; 535–43.
20. Calin GA, Croce CM. Micro RNA signatures in human cancers. *Nature Reviews* 2007; 525–34.
21. Lindbo J, Silva-Rosales L, Proebsting W, Dougherty W. Induction of a highly specific antiviral state in transgenic plants: Implications for regulation of gene expression and virus resistance. *Plant Cell* 1993; 5: 1749–59.
22. Waterhouse PM, Graham MW, Wang, MB. Virus resistance and gene silencing in plants can be induced by simultaneous expression of sense and antisense RNA. *Proc. Natl Acad. Sci.* 1998; 95: 13959–64.
23. Morrissey DV. Potent and persistent in vivo anti-HBV activity of chemically modified siRNAs. *Nat Biotechnol* 2003; 23, 1002–7.
24. Palliser D. An siRNA-based microbicide protects mice from lethal herpes simplex virus infection. *Nature* 2006; 439: 89–94.
25. Gao FB. Posttranscriptional control of neuronal development by microRNA networks. *Trends in Neurosciences.* 2008; 31: 20–6.
26. Kloosterman, WP; Lagendijk AK, Ketting RF, Moulton JD, Plasterk RHA. Targeted inhibition of miRNA maturation with morpholinos reveals a role for miR-375 in pancreatic islet development. *PLoS Biol* 5: e203.
27. Soutschek, J. Therapeutic silencing of an endogenous gene by systematic administration of modified siRNAs. *Nature* 2004; 432: 173–8.

Rad primljen: 12. 04. 2008.

Prihvaćen za štampu: 11. 05. 2008.