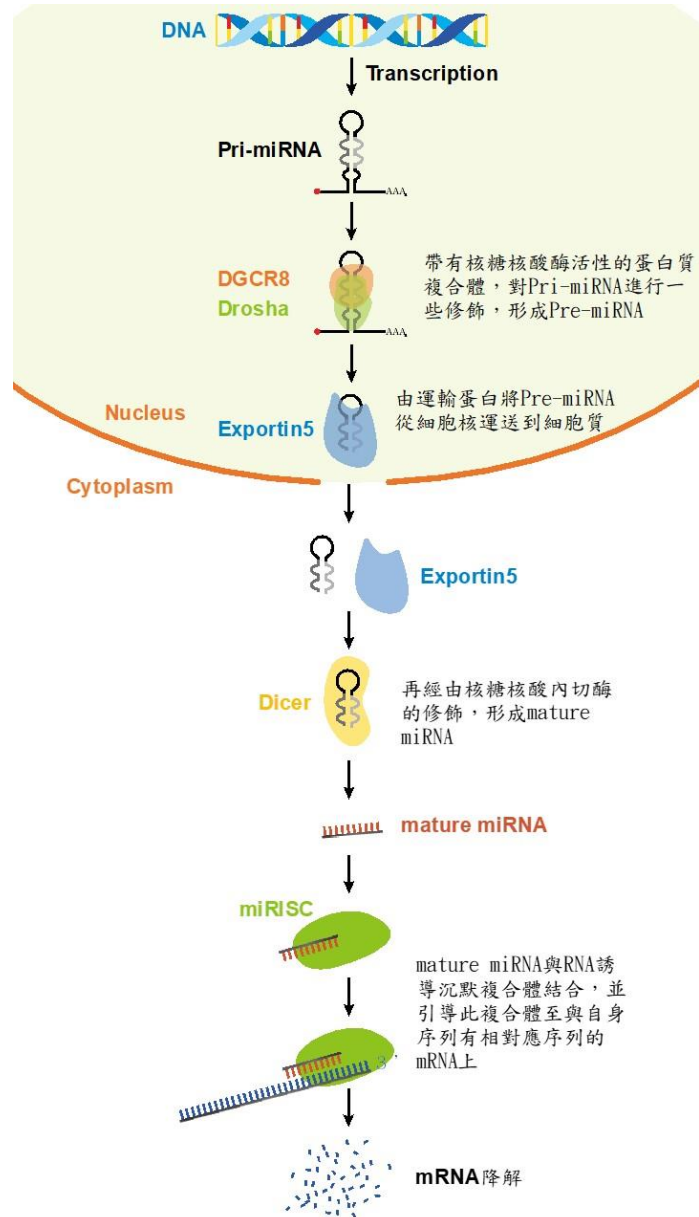


微小RNA在癌症治療的應用

細胞的生理控制和手機的運作方式有異曲同工之處。手機的記憶體裏面儲存了很多的電腦程式（DNA），而這些程式會轉換成工作指令（mRNA），指引手機裏的每一個應用軟體（蛋白質）去執行功能。當電腦程式的編碼出錯時，錯誤的工作指令就會讓一些維持手機基本運作的應用軟體關閉，或是不斷地開啓一些沒有用的頁面，消耗手機的電力。同理，當細胞的基因發生突變時，就可能產生失去正常功能的蛋白質，舉例來說：控制細胞分裂的基因若是突變，可能會轉譯出過度活化的蛋白，導致細胞不正常增生，大量堆疊形成腫瘤。引導細胞進行凋亡的蛋白若失去活性，則會導致細胞永生不死，大量耗去身體所攝取的養分，導致該器官衰竭。

令人意想不到的，總共只有約2%的DNA能夠轉譯出蛋白質，其餘98%的DNA都屬於非編碼DNA。這些非編碼DNA具有功能嗎？這些非編碼DNA轉錄出來的非編碼RNA，能夠進行RNA干擾（RNA interference, RNAi），影響mRNA的表現。其中，微小RNA（microRNA）在RNA干擾中就扮演了不可被忽視的角色。

微小RNA是一段由DNA轉錄而來，長度約22個核苷酸的RNA分子。如右圖所示，微小RNA會透過互補序列找到特定基因mRNA上3'端的不轉譯序列互相配對，配對成功後，微小RNA所形成的RISC蛋白複合體會對該mRNA進行降解，或是阻止它的轉譯，因此微小RNA能夠幫助我們在不改變基因組成的前提下，精準地抑制某種蛋白質的表現，這對於促進或是抑制腫瘤的進程有非常大的影響。同時，因為微小RNA在體內具有高度的穩定性，且多數表現量與癌症的類型或進程有高度的關係，因此在臨床上常常作為預後的指標。



以下是一名新進研究人員在進行研究時候所遇到的困難，請利用以上所提及的背景知識，幫助他回答下列各題：

1. TP53、KRAS、EGFR 等基因是在肺癌中常見的突變基因，其中一個基因發生突變就可以導致肺癌的發生。現在這位新進研究員手上只有 A549 (KRAS 突變) 這種細胞株。請問如果他想要研究大量表現 microRNA 對這個細胞的毒殺效果，應該使用下列哪一個 microRNA？

TP53 的 3' 不轉譯序列：5' ...CACUCC...3'

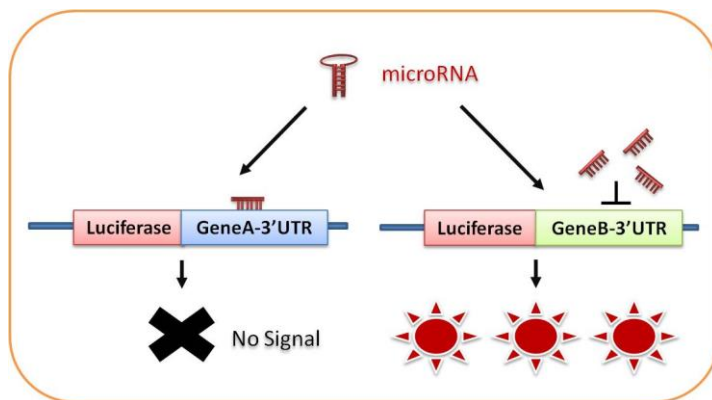
KRAS 的 3' 不轉譯序列：5' ... ACACUA...3'

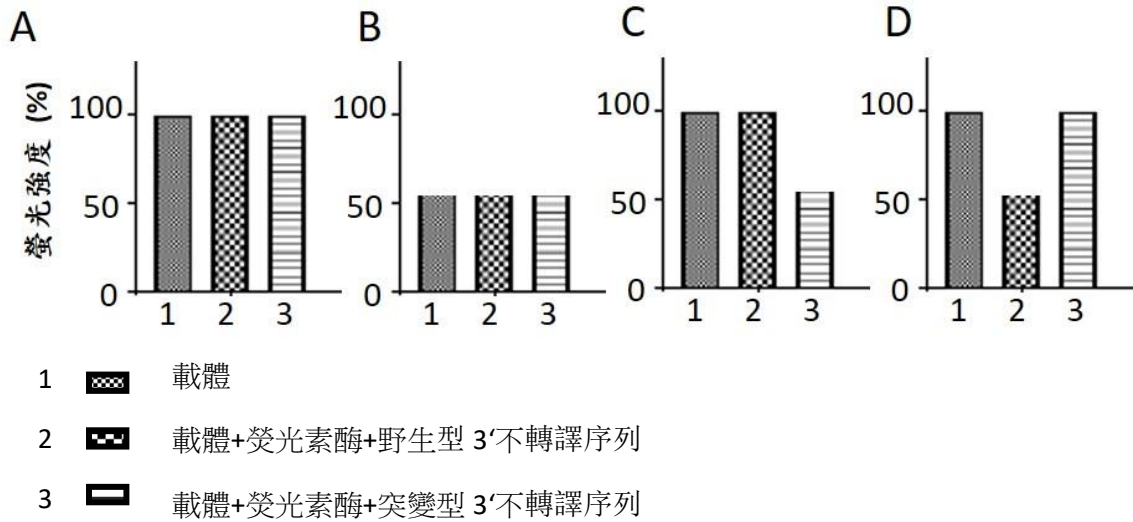
EGFR 的 3' 不轉譯序列：5' ... GGACCA...3'

- A. microRNA-133 序列：5' ...UGGUCC...3'
- B. microRNA-148 序列：5' ...UGUGAU...3'
- C. microRNA-142 序列：5' ...UAGUGU...3'
- D. microRNA-122 序列：5' ...GAGUGU...3'

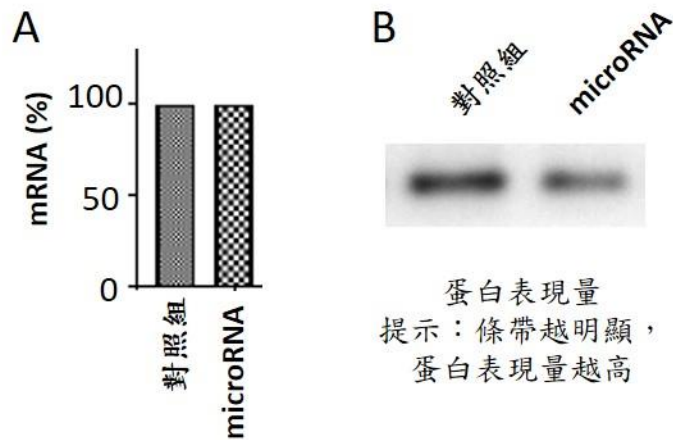
2. 這位研究員在確認了想要使用的微小 RNA 之後，下一步他想要了解這個微小 RNA 對於突變基因的影響是直接或是間接。在研究上常使用的方法叫做 3' 不轉譯-螢光酶報告試驗 (3' untranslated region reporter assay)。這個方法的原理是將某標靶基因的 3' 不轉譯序列，接到編碼螢光素酶基因的後面，假設微小 RNA 和我們所放入的 3' 不轉譯序列能夠互補，螢光酶 (Luciferase) 就無法被表達，就無法催化螢光素 (Luciferin) 發光，藉由實驗結果就可以知道微小 RNA 是否能直接影響該基因的表達。右圖是基因載體的示意圖：

這個研究員做了上述的實驗，實驗設計如下：三組載體都帶有編碼螢光酶的序列，同時 2, 3 兩組在後端分別接上預測微小 RNA 會配對的基因序列以及點突變後的序列。三個載體和微小 RNA 個別送入細胞內。假設實驗的結果證明所發現的微小 RNA 對該基因表達的影響是直接的，請問研究人員會看到下列哪一張結果圖？



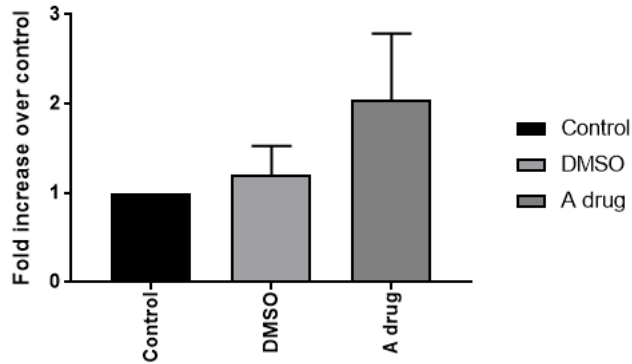


3. 在確認了微小 RNA 具有直接影響該基因表達的能力後，研究人員想再進一步了解這個微小 RNA 是透過何種方式抑制 KRAS 的表現量。研究員將含有該微小 RNA 的質體送進細胞，使該微小 RNA 過量表達，分別觀察蛋白質以及 mRNA 的表現量。試問：當該名研究員看到下列的實驗結果圖，可以判斷出這個調控是透過甚麼樣的修飾作用？（組別解釋：對照組：送入絕對不會影響細胞的短鏈 RNA；microRNA：送入研究者在探討的 microRNA）



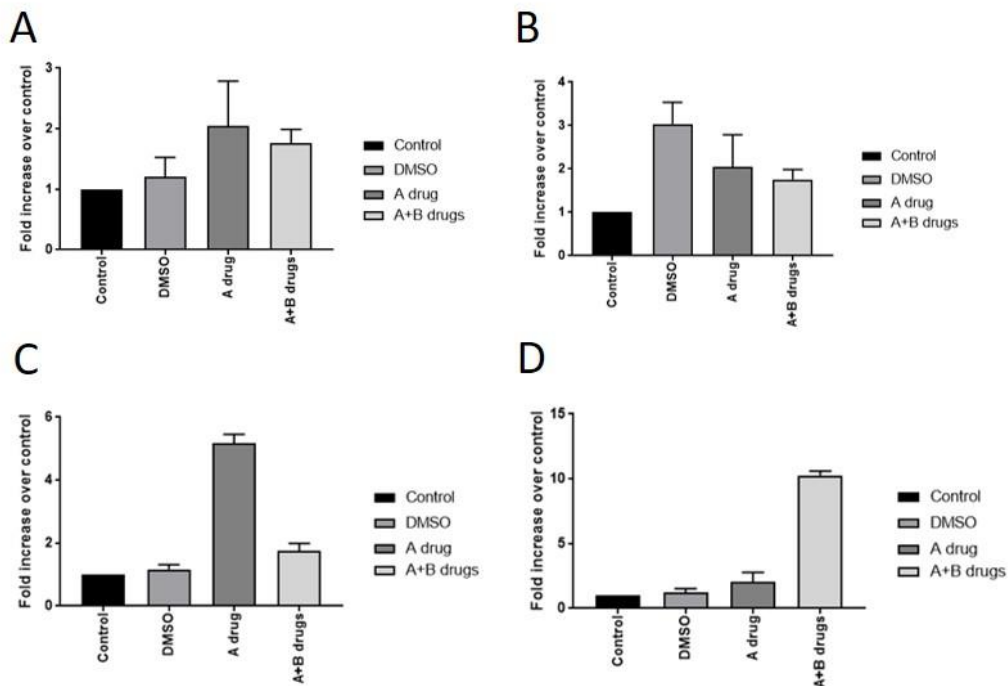
- 降解 mRNA
- 阻擋 mRNA 被 rRNA 轉譯成蛋白
- 降解 mRNA 並阻擋 mRNA 被 rRNA 轉譯成蛋白
- 以上皆非

4. 接著，研究員希望加入可以提升微小 RNA 表現量的藥物，達到抑制特定癌細胞基因的效果，下圖是他加入 A 藥物之後微小 RNA 表現量的圖表。

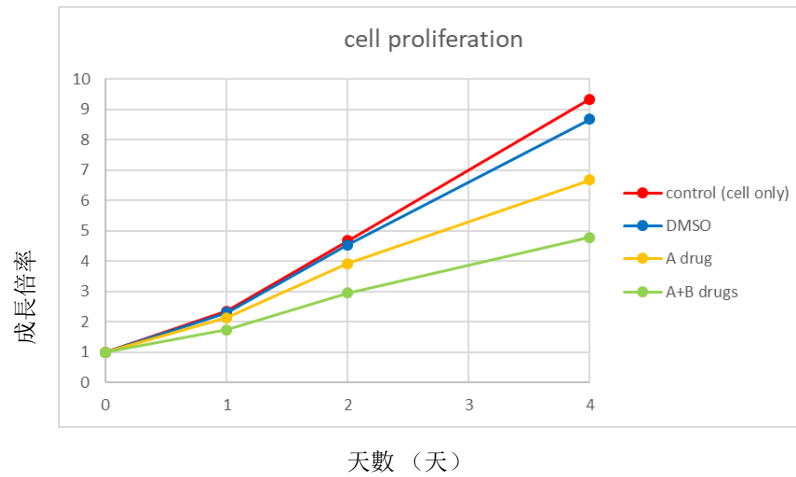


從結果看來利用 A 藥物所造成的微小 RNA 表現量增加的效果並不明顯，因此研究員進一步探討可能的原因，發現是因為在該微小 RNA 上游的啟動子區域，有被**高度甲基化**的現象，而啟動子區域高度甲基化會**抑制下游的基因表現**，也就是研究員利用 A drug 卻做不出大量提升微小 RNA 的原因。

請問如果此時研究人員同時加入可以去除啟動子區域甲基化的藥物(藥物 B)，理想中應該可以得到下列何張圖表？



5. (接續上題)經過一番研究之後，研究人員終於找出加入藥物對於微小 RNA 表現量影響的關係圖。如果已知該微小 RNA 的表現量越高，抑制癌細胞生長的情況就越好。研究人員在完成癌細胞增生實驗以後得到了這張結果圖，請問**最適合**這張圖的分析是：



(Cell proliferation 指的是細胞增生，而 DMSO 是藥物的溶劑，作為控制組)

- A. B 藥物對於 A 藥物的毒殺效果有加乘作用，能夠大幅抑制癌細胞的增生，具有臨床上治療癌症的潛力。
- B. A 藥物的毒殺效果來自於 DMSO 溶劑的毒性。
- C. 到了實驗的第四天，只使用 A 藥物和混合使用 A 與 B 藥物對於癌細胞的毒殺效果差別不大。
- D. 根據圖表，在經過 4 天的加藥處理過後，可以發現 A 和 B 藥物混合使用能夠大幅促進細胞增生。