

PRZEMYSŁAW SOŁEK<sup>1,2</sup>, ALEKSANDRA MAZIARZ<sup>3</sup>, MAREK KOZIOROWSKI<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>*Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych*

<sup>2</sup>*Centrum Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych  
Uniwersytet Rzeszowski*

*Werynia 502; 36-100 Kolbuszowa*

<sup>3</sup>*Wydział Medyczny*

*Przyrodniczo-Medyczne Centrum Badań Innowacyjnych  
Uniwersytet Rzeszowski*

*Warzywna 1a; 35-310 Rzeszów*

*E-mail: pp.solek@gmail.com*

*a.maziarz01@gmail.com*

## POTENCJAŁ BIOTERAPEUTYCZNY TECHNOLOGII RNAi

### WSTĘP

Odkrycie zjawiska interferencji RNA (ang. RNA interference, RNAi) wzbudziło ogromny entuzjazm w środowisku naukowym, nie tylko dlatego, że pozwala na szybkie określenie kluczowych cząsteczek biorących udział w wielu procesach chorobowych (m.in. w nowotworach), ale także dlatego, że RNAi ma szansę na zastosowanie jako główne narzędzie terapeutyczne. Mnogość opublikowanych artykułów dotyczących RNAi w ostatnich latach spowodowała, że czasopismo „Science” uznało go za największy naukowy przełom 2002 r. Z czego wynika tak duże zainteresowanie interferencją RNA? Wyobraźmy sobie, że możemy wyciszyć funkcję genu zaangażowanego w proces nowotworzenia w ciągu zaledwie jednego dnia, w niemal każdym organizmie (WASI 2003, CAMPBELL i CHOY 2005, PAI i współaut. 2006, KOZIELSKI i współaut. 2013, YOUNIS i współaut. 2014).

Interferencja RNA jest pierwotnym mechanizmem komórkowym pełniącym funkcję obronną przed wirusami oraz ruchomymi elementami genetycznymi (DAVIDSON i MCCRAY 2011, SVOBODA 2013). Mechanizm wyciszania genów został po raz pierwszy wykorzystany u roślin do obniżenia ekspresji wybranych genów przez wprowadzenie długich, dwuniciowych cząsteczek RNA (ang. double stranded RNA, dsRNA), homo-

logicznych do sekwencji genu docelowego. U roślin odbywa się to za pośrednictwem niewielkich, 25-nukleotydowych cząsteczek dwuniciowego RNA, tak zwanych krótkich interferencyjnych RNA (ang. small interfering RNA, siRNA). Przełomem w badaniach biomedycznych było odkrycie, że dostarczenie siRNA do komórek ssaczych powoduje sekwencyjno-specyficzne wyciszanie genów poprzez RNAi. Wskazywało to, że RNAi może potencjalnie zostać wykorzystana do swobodnego hamowania ekspresji genów ssaków, w tym komórek ludzkich. Skoro biologicznie czynne siRNA można uzyskać stosunkowo łatwo i niedrogo przez syntezę chemiczną lub ekspresję na matrycy DNA, technologia nokautu genu wywołała rewolucję w genetyce komórek somatycznych, umożliwiając szybką analizę funkcji genów (MEDEMA 2004, LAGE 2005, FELLMANN i LOWE 2014).

W ciągu ostatnich lat liczne grupy naukowe rozpoczęły intensywne badania, aby połączyć dwie najbardziej ekscytujące i obiecujące technologie w biomedycynie: terapię genową oraz interferencję RNA. Terapia genowa polega na wprowadzeniu materiału genetycznego (DNA lub RNA) kodującego brakujące lub wadliwe białko do komórek lub tkanek pacjenta. Istotnym elementem terapii genowej jest skuteczne dostarczenie kwasów

nukleinowych dzięki zastosowaniu wektorów pochodzenia wirusowego oraz niewirusowego. Przykładami takich nośników są liposomy, nanocząsteczki lub wektory otrzymane z genetycznie zmodyfikowanych wirusów (GRIMM i KAY 2007, DAVIDSON i MCCRAY 2011, KOZIELSKI i współaut. 2013).

Wyciszanie genów poprzez krótkie interferencyjne RNA jest w dalszym ciągu rozwijającą się dziedziną biologii, zmierzającą w kierunku potranskrypcyjnej strategii wyciszania genów, o dużym potencjale terapeutycznym. Za pośrednictwem siRNA praktycznie każdy gen w genomie człowieka staje się podatny na regulację, otwierając tym samym niespotykane dotąd możliwości dla farmakoterapii (CEJKA i współaut. 2006, LARES i współaut. 2010).

### MECHANIZM DZIAŁANIA

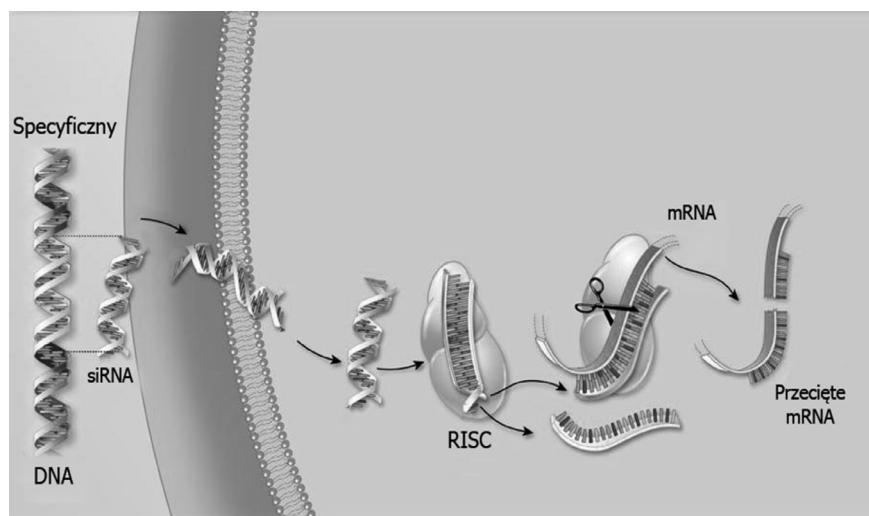
Interferencja RNA jest zjawiskiem, w którym dwuniciowa cząsteczka RNA hamuje ekspresję docelowego białka poprzez swoistą degradację komplementarnego matrycowego RNA (ang. messenger RNA, mRNA). Wyciszanie ekspresji genu jest zachowawczym procesem biologicznym, wśród różnorodnych organizmów eukariotycznych. Proces potranskrypcyjnego wyciszania genów przez dwuniciowy RNA jest wysoce specyficzny co do sekwencji w stosunku do genów docelowych oraz konserwatywny wśród różnych organizmów (LEUNG i WHITTAKER 2005, TAKESHITA i OCHIYA 2006, YANG i współaut. 2011, SVOBODA 2013, TSAI i CHANG 2014, YOUNIS i współaut. 2014).

Ze względu na ogromne zainteresowanie RNAi oraz jej funkcję w licznych systemach, wiele uwagi skupia się na wyjaśnieniu mechanizmu działania tego procesu. Pewne

przełomowe wydarzenia, w szczególności odkrycie, że siRNA są głównymi mediatorami RNAi, dostarczyły kluczowych informacji na temat szlaku interferencji RNA (CAMPBELL i CHOY 2005).

W procesie interferencji RNA (Ryc. 1) można wyszczególnić dwa zasadnicze etapy. W pierwszym zachodzi przekształcenie prekursorowego dsRNA w krótkie siRNA, natomiast w kolejnym ma miejsce degradacja docelowego mRNA (CAMPBELL i CHOY 2005, LAGE 2005). Długie, dwuniciowe cząsteczki RNA są cięte enzymatycznie do struktur zwanych małymi interferencyjnymi RNA w wyniku działania na dsRNA specyficznej endonukleazy Dicer, podobnej strukturalnie do RNazy III. Powstałe dwuniciowe siRNA o długości 21-24 nukleotydów są homologiczne do sekwencji docelowego mRNA. Tak otrzymane siRNA są włączane do enzymatycznego kompleksu efektorowego interferencji RNA, określanego jako RISC (ang. RNA-induced silencing complex). W trakcie tworzenia kompleksu RISC następuje hydroliza jednej nici z dupleksu siRNA. Nić antysensowna łączy się komplementarnie z sekwencją docelowego mRNA. W odległości 10-11 nukleotydów następuje hydroliza wiązania fosfodiesterowego od końca 3' siRNA, za pośrednictwem białka wchodzącego w skład kompleksu RISC. Ze względu na utratę nukleozydu, 7-metyloguanozyny, wchodzącego w skład struktury czapeczki na końcu 5' informacyjnego RNA oraz ogona poliA na końcu 3', mRNA nie jest dłużej chroniony przed endogennymi RNazami i ulega degradacji (MITTAL 2004, CAMPBELL i CHOY 2005, LAGE 2005, ANGAJI i współaut. 2010, FELLMANN i LOWE 2014, MANSOORI i współaut. 2014).

Białka są odpowiedzialne za fizyczne i dynamiczne właściwości żywej komórki, dla-



Ryc. 1. Mechanizm interferencji RNA – schemat uproszczony.

Tabela 1. Główne wady i zalety stosowania wektorów retrowirusowych.

Zalety	Wady
stosunkowo wysoka wydajność transfekcji	fakt, że jedynie dzielące się komórki są podatne na transdukcję
stabilna integracja przekazywanego materiału genetycznego do genomu komórki docelowej	stosunkowo niewielka pojemność retrowirusów rzędu około 7,5 kb informacji genetycznej
potencjalnie długotrwała ekspresja transgenu	niekontrolowana integracja wirusa do genomu gospodarza, co teoretycznie może prowadzić do wystąpienia ryzyka transformacji nowotworowej komórki
brak immunogenności białek wirusowych w komórkach docelowych	możliwość rekombinacji homologicznej terapeutycznych wektorów z endogennym retrowirusem, w wyniku replikacji nowych wirusów

tego wady w ich funkcji lub regulacji przyczyniają się do wielu chorób. W rzeczywistości większość obecnie stosowanych leków jest zaprojektowana tak, aby skutecznie inaktywować białka. Wobec tego, terapia genowa wykorzystująca mechanizm interferencji RNA, powinna skutecznie eliminować funkcje białek, ponieważ mRNA stanowi matrycę w procesie translacji. Technologia RNAi może potencjalnie znaleźć zastosowanie w badaniach biomedycznych, immunologicznych oraz opiece zdrowotnej, np. leczeniu: zakażeń wirusem HIV, wirusowego zapalenia wątroby, chorób układu krążenia i naczyń mózgowych, chorób metabolicznych, neurodegeneracyjnych oraz nowotworów (ANGAJI i współaut. 2010, YANG i współaut. 2011).

## WPROWADZANIE SIRNA DO KOMÓREK

Skuteczne wprowadzanie siRNA do komórek ssaków jest ważnym krokiem w większości eksperymentów opartych na wyciszeniu ekspresji genów za pośrednictwem RNAi. Syntetyczne siRNA mogą być dostarczane przez transfekcję za pomocą liposomów, elektroporację, transfer genów przy użyciu plazmidu lub przez zastosowanie wektora wirusowego. Obecnie stosuje się 5 rodzajów wektorów wirusowych, do których należą: adenowirusy, retrowirusy, lentiwirusy, wirusy towarzyszące adenowirusom (ang. AAV-adenovirus-associated virus) oraz baculowirusy (MITTAL 2004, LAGE 2005, LI i współaut. 2006, LARES i współaut. 2010, DAVIDSON i MCCRAY 2011).

Najprostszym sposobem uruchomienia mechanizmu RNAi jest wykorzystanie syntetycznych siRNA. Niemniej jednak, oprócz syntezy na drodze chemicznej, siRNA można otrzymać *in vitro* z długich dsRNA za pomocą rekombinowanego kompleksu Dicer. W procesie transkrypcji *in vitro* pośredniczy polimeraza RNA T7. Klasyczne metody transfekcji cząsteczek siRNA, wykorzystujące me-

tody fizyczne, takie jak: lipofekcja, elektroporacja czy mikroiniekcja pojedynczej komórki, zostały również z powodzeniem zastosowane (MITTAL 2004, LAGE 2005, LI i współaut. 2006, DAVIDSON i MCCRAY 2011).

Mechanizm RNAi charakteryzuje wysoka specyficzność, wszechstronność oraz efektywność. Największym wyzwaniem w zastosowaniu terapii wykorzystującej interferencję RNA jest trudność wprowadzania siRNA do komórek docelowych. Aby skutecznie wyciszać ekspresję genów, siRNA musi zostać dostarczony do cytoplazmy komórki. Nagie RNA nie może przenikać przez lipidy występujące w obrębie błony komórkowej, dlatego skuteczność używania niemodyfikowanych siRNA jest mało prawdopodobna. Dostarczenie siRNA do komórki jest najwyraźniej największą przeszkodą, dlatego problem ten musi zostać rozwiązany, aby metoda ta znalazła szerokie zastosowanie biomedyczne (LI i współaut. 2006, CHOI i współaut. 2014).

W celu wyeliminowania potencjalnych zagrożeń związanych z transferem genów *in vivo*, np. indukcji transformacji nowotworowej lub rozwoju nowych chorób wirusowych u ludzi, konieczny jest rozwój wektorów o najwyższym profilu bezpieczeństwa (Tabela 1, 2). Jednocześnie, kluczem do ewentualnego sukcesu w terapii genowej jest dostępność przenośników genów, charakteryzujących się dużo większą wydajnością transdukcji *in vivo* niż obecnie stosowane w badaniach (ROCHLITZ 2001, OH i PARK 2009, GERMANO i BINELLO 2013).

Do chwili obecnej wykorzystanie adenowirusów w opublikowanych próbach klinicznych stanowiło około 20%. Niestety żaden z obecnie dostępnych wektorów wirusowych nie spełnia wszystkich warunków idealnego narzędzia terapeutycznego. Jest bardzo prawdopodobne, że wektory zawierające minimalne pozostałości macierzystych wirusów lub całkowicie syntetyczne wektory wiruso-

Tabela 2. Główne wady i zalety stosowania wektorów adenowirusowych.

Zalety	Wady
możliwość osiągnięcia wysokiego miana wirusa	
doświadczenia na ponad dziesięciu milionach szczepionek zawierających niezmodyfikowane adenowirusy bez poważnych efektów ubocznych	immunogenność adenowirusów, powodująca problemy z wielokrotnym zastosowaniem
możliwość upakowania większego fragmentu materiału genetycznego w porównaniu z retrowirusami	brak integracji z genomem komórki, co prowadzi do utraty informacji genetycznej zaledwie po kilku podziałach stransfekowanych komórek
zdolność do transfekcji komórek niereplikujących się	

we, odegrają w przyszłości większą rolę (ROCHLITZ 2001, LARES i współaut. 2010).

Niewirusowe metody terapii genowej są atrakcyjne głównie dlatego, że dzięki nim można uniknąć potencjalnego ryzyka, związanego ze stosowaniem wszystkich rodzajów wektorów wirusowych. Liposomy zostały wykorzystane jako narzędzie transferu genów w licznych badaniach *in vitro* oraz w badaniach prowadzonych na zwierzętach. Krótkoterminowa ekspresja genów może zostać osiągnięta poprzez domięśniową iniekcję pozbawionego wektora DNA (nagie DNA) lub za pomocą mikroskopijnych złotych kulek opłaszczonych plazmidowym DNA, które następnie dostarczane są przy użyciu strzelby genowej do wnętrza komórki (ROCHLITZ 2001).

Oczywiste jest, że umiejętności naukowców do modulowania ekspresji genu w sposób sekwencyjno-specyficzny szybko się rozwijają, zapewniając doskonałe możliwości regulacji aktywności konkretnych genów. Kluczem do sukcesu może okazać się wybór sekwencji docelowej, rozpoznawanej przez siRNA w sposób taki, aby minimalna liczba kopii siRNA była wystarczająca do skutecznego wyłączenia ekspresji genu kodującego białko (MEDEMA 2004).

#### ZASTOSOWANIE INTERFERENCJI RNA W TERAPII

Mechanizm interferencji RNA ma szansę znaleźć zastosowanie w szeroko rozumianej opiece zdrowotnej, wskutek czego odegra znaczącą rolę w produkcji nowoczesnych leków. Ponadto, metoda RNAi może stanowić ważne narzędzie współczesnej biomedycyny. Cząsteczki dsRNA są projektowane tak, aby wyciszać określone geny u ludzi i zwierząt. W celu aktywacji maszyny RNAi, wyciszające cząsteczki RNA są wprowadzane do komórki przy pomocy odpowiedniego wektora (ANGAJI i współaut. 2010, GAVRILOV i SALTZMAN 2012).

Interferencja RNA stanowi potężne narzędzie do wyciszenia ekspresji genów w sposób sekwencyjno-specyficzny, przez co ma potencjał do leczenia chorób, np. nowotworowych. Teoretycznie, siRNA może wpływać na proces translacji praktycznie każdego mRNA tak długo, jak mRNA ma specyficzną sekwencję, podczas gdy cele tradycyjnych leków są ograniczone jedynie do określonego typu receptorów komórkowych, kanałów jonowych lub enzymów (OH i PARK 2009, YANG i współaut. 2011).

Ze względu na wysoce specyficzną i silną aktywność RNAi, cząsteczki siRNA mogą pojawić się jako bioleki nowej generacji w niedalekiej przyszłości. Dwuniciowy RNA ma duży potencjał w terapii biofarmaceutycznej. Skoro RNAi wpływa na translację, a nie na transkrypcję DNA, zatem siRNA nie może wchodzić w interakcje z chromosomowym DNA. Brak wzajemnych oddziaływań znacząco zmniejsza obawy dotyczące możliwości wystąpienia niepożądanych mutacji w wyniku stosowania terapii genowej. Interakcje siRNA z matrycowym RNA, a nie z białkiem, pozwalają zredukować produkcję szkodliwych białek.

Inną zaletą zastosowania siRNA jako leku terapeutycznego jest szeroki zakres białek docelowych, które mogą być wykorzystywane do wyciszenia ekspresji genów w leczeniu wielu chorób (OH i PARK 2009, BOVENBERG i współaut. 2013).

Terapia genowa może być bardzo skuteczna w połączeniu z innymi strategiami klinicznymi, takimi jak chemioterapia i radioterapia. Obecnie wiele badań wskazuje ogromne możliwości współpracy między terapią genową a takimi dziedzinami jak farmacja, immunologia czy radioterapia, których wspólnym celem jest likwidacja dużej liczby komórek, w sposób najbardziej efektywny. Mało prawdopodobne jest więc, że terapia genowa samodzielnie odegra kluczową rolę w leczeniu chorób nowotworowych (BOVENBERG

i współaut. 2013, VILE i współaut. 2000, LEI i współaut. 2013).

Mechanizm RNAi jest badany pod kątem możliwości hamowania ekspresji genów zaangażowanych w proces nowotworzenia. Translokacja prowadząca do powstania chromosomu Philadelphia (Ph) powoduje powstanie genu fuzyjnego *bcr-abl*. Produkowane nowe, nieprawidłowe białko, tak zwana kinaza tyrozynowa *bcr-abl*, wykazuje stałą aktywność. Białko to jest wykrywane w przewlekłej białaczce szpikowej oraz ostrej białaczce limfoblastycznej. Okazało się, że siRNA specyficzne do transkryptu genu *bcr-abl* wyciszają onkogenny transkrypt fuzyjny, bez wpływu na poziom ekspresji prawidłowych transkryptów c-ABL oraz c-BCR. Badania tego typu potwierdzają koncepcję opartą na mechanizmie RNAi, mającą na celu odwrócenie procesu nowotworzenia (ANGAJI i współaut. 2010).

Nowe terapie w leczeniu nowotworów są niezbędne, a wykorzystanie małych interferujących RNA może stanowić realną strategię. Dzięki unikatowym właściwościom siRNA, takim jak niewielki rozmiar, duże powinowactwo, brak immunogenności, szeroka możliwość modyfikacji w celu poprawy ich zastosowania *in vivo*, cząsteczki te mogą stanowić alternatywę dla przeciwciał, szczególnie przy pokonywaniu bariery krew-mózg (GERMANO i BINELLO 2013, LIU i współaut. 2013, RÈME i współaut. 2013).

siRNA są z powodzeniem stosowane w leczeniu wielu ludzkich chorób, a w ostatnich latach ta klasa cząsteczek wykazała ogromny potencjał terapeutyczny w walce z nowotworami.

Szczególnie istotną przeszkodą w rozwoju terapii klinicznej wykorzystującej zjawisko interferencji RNA, jest konieczność zapewnienia odpowiednio wysokiej wydajności dostarczania cząsteczek siRNA do komórek zmienionych nowotworowo. Zaproponowano różne strategie, aby sprostać temu zadaniu. Na przykład, plazmid kodujący krótkie RNA o strukturze szpilki do włosów (ang. small hairpin RNA, shRNA), skierowane na ludzki receptor EGFR (ang. epidermal growth factor receptor), został dostarczony do komórek nowotworowych przez kapsułkowanie w immunoliposomach (ang. pegylated immunoliposomes, PILs) sprzężonych z dwoma przeciwciałami monoklonalnymi odpowiedzialnymi za transport cząsteczki (CATUOGNO i współaut. 2012).

## PODSUMOWANIE

Interferencja RNA jest procesem sekwencyjno-specyficznego wyciszania genów za pomocą dwuniciowego RNA. Małe interferujące siRNA powstają z długich dwuniciowych

RNA przy udziale endonukleazy Dicer. W rezultacie siRNA są włączane do kompleksu RISC, którego celem jest połączenie z komplementarną cząsteczką mRNA, a w konsekwencji jej degradacja. Mechanizm interferencji RNAi w komórkach ssaków z pewnością pozostanie gorącym tematem nadchodzących lat (CAMPBELL i CHOY 2005, GARTEL i KANDEL 2006).

Niemniej jednak, zanim technologia RNAi zostanie z powodzeniem wykorzystana w badaniach klinicznych, trzeba pokonać istotne przeszkody, takie jak dostarczenie siRNA do komórek, niepełne wyciszenie genów docelowych, niespecyficzne reakcje immunologiczne czy skutki niespecyficznego wyciszania genów (ang. off-target effects) (PAI i współaut. 2006).

## Streszczenie

W ciągu ostatnich lat zjawisko interferencji RNA (RNAi) stało się powszechnie wykorzystywane jako eksperymentalne narzędzie do analizy genów oraz pełnionych przez nie funkcji. Wraz ze wzrostem wiedzy na temat molekularnych mechanizmów działania endogenego interferującego RNA, małe interferujące RNA (siRNA), mogą pojawić się jako grupa innowacyjnych bioleków stosowanych do leczenia wielu chorób m.in. chorób nowotworowych. Poznanie i zrozumienie szlaków molekularnych istotnych w procesie nowotworzenia stwarza możliwości dla terapii nowotworowej wykorzystującej mechanizm RNAi. Nowe terapie w leczeniu nowotworów są niezbędne, a wykorzystanie małych interferujących RNA może stanowić realną strategię.

## LITERATURA

- ANGAJI S. A., HEDAYATI S. S., POOR R. H., MADANI S., POOR S. S., PANABI S., 2010. *Application of RNA interference in treating human diseases*. J. Genet. 4, 527-537.
- BOVENBERG M. S., DEGELING M. H., TANNOUS B. A., 2013. *Advances in stem cell therapy against gliomas*. Trends Mol. Med. 19, 281-291.
- CAMPBELL T. N., CHOY F. Y., 2005. *RNA interference: past, present and future*. Curr. Issues Mol. Biol. 1, 1-6.
- CATUOGNO S. S., ESPOSITO C. L., QUINTAVALLE C., CONDORELLI G., FRANCISCIS V., CERCHIA L., 2012. *Nucleic acids in human glioma treatment: innovative approaches and recent results*. J. Signal Transd. <http://dx.doi.org/10.1155/2012,735135>.
- CEJKA D., LOSERT D., WACHECK V., 2006. *Short interfering RNA (siRNA): tool or therapeutic?* Clin. Sci. 1, 47-58.
- CHOI K. Y., SILVESTRE O. F., HUANG X., MIN K. H., HOWARD G. P., HIDA N., JIN A. J., CARVAJAL N., LEE S. W., HONG J. I., CHEN X., 2014. *Vesatile RNA interference nanoplatfor for systemic delivery of RNAs*. ASC Nano 8, 4559-4570.
- DAVIDSON B. L., MCCRAY P. B., 2011. *Current prospects for RNA interference-based therapies*. Nat. Rev. Genet. 12, 329-340.
- FELLMANN C., LOWE S. W., 2014. *Stable RNA interference rules for silencing*. Nat. Cell Biol. 16, 10-18.

- GARTEL A. L., KANDEL E. S., 2006. *RNA interference in cancer*. *Biomol. Engin.* 1, 17-34.
- GAVRILOV K., SALTZMAN W. M., 2012. *Therapeutic siRNA: principles, challenges, and strategies*. *Yale J. Biol. Med.* 85, 187-200.
- GERMANO I. M., BINELLO E., 2013. *Gene therapy as an adjuvant treatment for malignant gliomas: from bench to bedside*. *J. Neuro-Oncol.* 93, 79-87.
- GRIMM D., KAY M., 2007. *RNAi and gene therapy: a mutual attraction*. *Hematology* 473-481.
- KOZIELSKI K. L., TZENG S. Y., GREEN J. J., 2013. *Bioengineered nanoparticles for siRNA delivery*. *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.* 5, 449-468.
- LAGE H., 2005. *Potential applications of RNA interference technology in the treatment of cancer*. *Future Oncol.* 1, 103-113.
- LARES M. R., ROSSI J. J., OUELLET D. L., 2010. *RNAi and small interfering RNAs in human disease therapeutic application*. *Trends Biotechnol.* 28, 570-579.
- LEI C., CUI Y., ZHENG L., KAH-HOE CHOW P., WANG C. H., 2013. *Development of a gene/drug dual delivery system for brain tumor therapy: Potent inhibition via RNA interference and synergistic effects*. *Biomaterials* 30, 7483-7494.
- LEUNG R. K., WHITTAKER P. A., 2005. *RNA interference: from gene silencing to gene-specific therapeutics*. *Pharmacol. Therapeut.* 2, 222-239.
- LI C. X., PARKER A., MENOCAL E., XIANG S., BORO-DYANSKY L., FRUEHAUF J. H., 2006. *Delivery of RNA interference*. *Cell Cycle* 18, 2103-2109.
- LIU B., WANG L., SHEN L. L., SHEN M. Z., GUO X. D., WANG T., LIANG Q. C., WANG C., ZHENG J., LI Y., JIA L. T., ZHANG H., GAO G. D., 2013. *RNAi-mediated inhibition of presenilin 2 inhibits glioma cell growth and invasion and is involved in the regulation of Nrg1/ErbB signaling*. *Neuro-Oncol.* 14, 994-1006.
- MANSOORI B., SHOTORBANI S. S., BARADARAN B., 2014. *RNA interference and its role in cancer therapy*. *Adv. Pharmaceut. Bull.* 4, 313-321.
- MEDEMA R. H., 2004. *Optimizing RNA interference for application in mammalian cells*. *Biochem. J.* 3, 593-603.
- MITTAL V., 2004. *Improving the efficiency of RNA interference in mammals*. *Nat. Rev. Genet.* 5, 355-65.
- OH Y. K., PARK T. G., 2009. *siRNA delivery systems for cancer treatment*. *Adv. Drug Del. Rev.* 10, 850-862.
- PAI S. I., LIN Y. Y., MACAES B., MENESHIAN A., HUNG C. F., WU T. C., 2006. *Prospects of RNA interference therapy for cancer*. *Gene Therap.* 6, 464-477.
- RÈME T., HUGNOT J. P., BIÈCHE I., RIGAU V., BURREL-VANDENBOS F., PRÉVOT V., BARONCINI M., FONTAINE D., CHEVASSUS H., VACHER S., LIDÉREAU R., DUFFAU H., BAUCHET L., JOUBERT D., 2013. *A molecular predictor reassesses classification of human grade II/III Gliomas*. *PLoS ONE* 6, e66574.
- ROCHLITZ C. F., 2001. *Gene therapy of cancer*. *Swiss Med. Weekly* 131, 4-9.
- SVOBODA P., 2013. *Renaissance of mammalian endogenous RNAi*. *FEBS Lett.* 588, 2550-2556.
- TAKESHITA F., OCHIYA T., 2006. *Therapeutic potential of RNA interference against cancer*. *Cancer Sci.* 8, 689-696.
- TSAI W. H., CHANG W. T., 2014. *Construction of simple and efficient siRNA validation systems for screening and identification of effective RNAi-targeted sequences from mammalian genes*. *Meth. Mol. Biol.* 1101, 321-338.
- VILE R. G., RUSSELL S. J., LEMOINE N. R., 2000. *Cancer gene therapy: hard lessons and new courses*. *Gene Therap.* 1, 2-8.
- WASI S., 2003. *RNA interference: the next genetics revolution?* Nature Publishing Group <http://www.nature.com/horizon/rna/background/interference.html>.
- YANG Y. L., CHANG W. T., SHIH Y. W., 2011. *Gene therapy using RNAi*. [W:] *Gene Therapy – Developments and Future Perspectives*. KANG C. (red.). Chung Hwa University of Medical Technology, InTech, 31-52.
- YOUNIS A., SIDDIQUE M. I., KIM C. K., LIM K. B., 2014. *RNA interference (RNAi) induced gene silencing: a promising approach of hi-tech plant breeding*. *Int. J. Biol. Sci.* 10, 1150-1158.

**KOSMOS Vol. 65, 1, 17–22, 2016**

#### BIO-THERAPEUTIC POTENTIAL OF RNAi TECHNOLOGY

PRZEMYSŁAW SOLEK<sup>1,2</sup>, ALEKSANDRA MAZIARZ<sup>3</sup>, MAREK KOZIOROWSKI<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Applied Biotechnology and Basic Sciences, <sup>2</sup>Centre of Applied Biotechnology and Basic Sciences, University of Rzeszów, Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa, <sup>3</sup>Faculty of Medicine, Centre for Innovative Research in Medical and Natural Sciences, University of Rzeszów, Warszylwa 1a; 35-310 Rzeszów, e-mail: pp.solek@gmail.com, a.maziarz01@gmail.com

#### Summary

In the last few years, RNA interference (RNAi) has become widely used as an experimental tool for the analyses of genes and their functions. With increasing knowledge about the molecular mechanisms of function of endogenous RNA interference, small interfering RNA (siRNA), may occur as innovative bio-drugs for treatment of diseases such as cancer. Knowledge and understanding of the molecular pathways important for carcinogenesis create opportunities for cancer therapy using RNAi mechanism. New therapies are essential for tumors treatment, and small interfering RNAs may provide a viable strategy.