

基因表达调节：

采摘 miRNA



强效筛选小分子RNA及其靶标 mRNA 的生化方法的面世，令鉴定更多在活体内受小分子RNA调节的基因成为可能。

小 分子RNA (miRNAs) 因其微小难觅以至它们多年来一直藏匿于不为人知的阴暗角落。直至一次偶然的机缘巧合，人们在熟知的模式生物中发现了由miRNAs所引起的突变，这一神秘的小分子才走入我们的视线。由于缺少快速鉴定miRNAs及其靶标mRNAs的遗传学工具，研究人员只能用生物信息学的方法预测miRNAs的作用途径，但这种电脑辅助研究的成功率却并不尽如人意。科罗拉多大学波尔得分校 (University of Colorado at Boulder) 的Min Han研究组宣布，利用一种高效的生物化学方法能筛选小分子RNA及其靶标mRNA，这一突破使在活体内鉴定出隐蔽的新miRNAs成为可能。

miRNAs前体经加工成为miRNAs成熟体，后者结合相关蛋白质形成RNA诱导的基因沉默复合体 (RNA-induced silencing complexes, RISCs)，干扰靶标mRNAs的表达。GW182蛋白是miRISC的重要组成部分之一，在秀丽线虫 (Caenorhabditis elegans) 中由基因ain-1编码。当秀丽线虫的该基因发生突变时，其miRNAs缺失的突变表型并不明显。Han和其同事据此推测ain-1基因有冗余形式存在并寻找鉴定出其同源基因，命名为ain-2。当ain-1、ain-2同时发生突变时，秀丽线虫的miRNA调节路径将被完全阻断。进一步的研究表明AIN-1和AIN-2是miRNA发挥作用的必需因子，但并不参与miRNA的形成。研究人员们预测，结合了AIN-1或AIN-2的miRISCs中可能含有成熟的miRNA及其靶标mRNAs，在miRNA调节路径的效应阶段起作用。

Han和他的同事们通过免疫共沉淀实验 (coimmunoprecipitation assay)，将结合了AIN-1或AIN-2的miRISCs分离出来，保持其在体内发挥作用时的活性形式，而后分析鉴别该效应复合物的其

作用靶点之花

它组分。他们首先分离收集与AIN-1或AIN-2共沉淀的样品中的小分子量RNAs，测定其核苷酸序列，发现其中106种属于现已知的130种miRNAs之列，另外还有9个新品种。可能是因为表达量低和序列保守性小，这9种“准miRNA”在以往筛选中从未发现过。多种新老miRNAs的发现证明了这一方法的有效性和普遍适用性。

这一研究的另外两位第一作者Liang Zhang和Lei Ding则负责从AIN-1或AIN-2免疫共沉淀样品中分离纯化mRNA。Zhang介绍说，在之前的预实验中，他们以纯化所得的mRNA为模板进行定量逆转录PCR，发现这些和miRISCs稳定结合的mRNAs多为已知的靶标mRNAs。受到预实验结果的鼓舞，研究人员进而用生物芯片（microarray）研究复合物中的mRNA组分，在接近90%的样品中检测到了已知的12种靶标mRNAs，如此高的miRNA靶标检测灵敏度是计算机预测法或利用其它组分分离miRISCs的生物化学法所不能比拟的。

研究人员总计共鉴定出3600条与AIN-1或AIN-2结合的转录本。通过追踪已知的发育阶段靶标mRNAs，发现其只在受到miRNA调节的阶段才

出现在AIN-1或AIN-2免疫共沉淀样品中，从而验证了所得数据能充分反映活性miRISCs的组分。生物信息学分析预测28%的AIN-1或AIN-2结合转录本为miRNA的作用靶标，这大大高于转录组（transcriptome）13%的预测比例，说明AIN-1或AIN-2免疫共沉淀样品富集了具有miRNA作用靶标生物信息学特征的转录本。

Han希望，这些从AIN-1或AIN-2结合miRISCs中筛选出来的“准miRNA”集合能在计算机预测模型的优化中发挥其价值，提高模型的预测能力。Han解释说，“如果我们能搜集到足够多的、在各种不同生理条件下大量复合体的组分数据，分析miRNA和miRNA作用靶标的对应关系，也许就能够建立这两者相互作用的脉络图。”他认为，生物化学筛选法是“鉴定miRNA作用靶标的极有效途径”，同时也可应用于其它体系。因此，GW182这类蛋白的序列虽然已经发生了分化，但其保守的功能却暗示这一蛋白家族可能是研究效应miRISC的立足点，研究人员也借此在miRNA世界占据了一个有利的位置，一窥其密。

参考文献

- [1]Zhang, L. et al. Systematic identification of *C. elegans* miRISC proteins, miRNAs, and mRNA targets by their interactions with GW182 proteins AIN-1 and AIN-2. *Mol. Cell* 28, 598–613 (2007).

原文检索: <http://www.signaling-gateway.org/update/updates/200802/nmeth0208-122b.html>



Sirius 编译