

新型非编码小 RNA ——Piwi-interacting RNA (piRNA)

李培旺¹⁾ 卢向阳²⁾ 李昌珠¹⁾ 田 云^{2)*}

(¹⁾湖南省林业科学院, 长沙 410004; ²⁾湖南农业大学生化与发酵工程实验室, 长沙 410128)

摘要 piRNA (Piwi-interacting RNA) 是最近从哺乳动物睾丸组织中发现的一类能与 PIWI 蛋白质相互作用, 且长度分布在 26~31 nt 的新型小分子单链 RNA, 主要综述 piRNA 的相关研究进展.

关键词 piRNA, 小分子 RNA, 配子发生

学科分类号 Q52

真核生物中已先后发现大量的非编码 RNA, 如 miRNA、siRNA、snoRNA 和 tmRNA 等, 其中 miRNA 和 siRNA 均为小分子非编码 RNA, 研究表明: 这些小分子非编码 RNA 直接参与 mRNA 降解、翻译阻遏、异染色质的形成和 DNA 的消除等生命过程, 其中 miRNA 来源于 dsRNA 的发夹状结构区域, siRNA 则产生于长链 dsRNA, miRNA 和 siRNA 均通过与靶 mRNA 结合诱导 mRNA 降解、翻译阻遏以及不依赖于 mRNA 降解的 mRNA 衰变等, 从而调控相关基因的表达^[1]. 因此, 小分子非编码 RNA 在基因表达调控中起着十分重要的作用, piRNA (Piwi-interacting RNA) 是最近发现的一类新型小分子调控 RNA, 本文主要综述 piRNA 的研究进展.

1 piRNA 的发现

2006年7月以来, 相继有4个独立的实验室先后从鼠睾丸里面分离得到 piRNA^[2~5]. 其中有3个实验室是从睾丸总 RNA 电泳过程中发现的, 实际上, 睾丸中的 piRNA 远远多于其他类型的小分子 RNA. 后来, 通过实验及其预测估计, 每个精母细胞或成熟的精细胞中都存在约一百万个 piRNA 分子.

在动物细胞中, Argonaute 蛋白主要分为2个不同的亚家族: 第一个亚家族是 Argonaute 亚家族, 它们在 RNA 干扰和 miRNA 介导的基因调控

中起着十分重要的作用; 第二个亚家族是 Piwi 亚家族, Piwi 亚家族主要与种系特异性时间相关, 如胚胎干细胞的维持和减数分裂等, 然而该类亚家族蛋白质的生化功能及其互作分子特别是一类具有重要调控功能的 RNA 分子都不清楚. 在哺乳动物中, Piwi 亚家族主要有3个成员, 分别是 MIWI、MILI 和 MIWI2. Girard 等^[2]为了寻找哺乳动物雄性生殖细胞中与 Piwi 蛋白结合的小分子 RNA, 首先通过 pCp 标签检测了小鼠睾丸中的小 RNA 分子, 结果发现, 除了 21~22 nt 的小分子 RNA 外, 还有一类约 30 nt 的小分子 RNA, 并且这类小分子 RNA 还能从小鼠睾丸组织总 RNA 凝胶电泳中检测到, 一般 miRNAs 均不能用该方法检测. 随后, 他们利用常规克隆方法克隆了这类小分子 RNA, 利用 RNA 印迹检测了其组织表达特异性, 并进一步利用兔 MIWI 多克隆抗体进行免疫共沉淀试验, 结果发现这类小分子 RNA 能与 MIWI 蛋白一起纯化出来, 但不能和 Ago2 蛋白一起纯化出来. Aravin 等^[3]利用免疫共沉淀技术从成年小鼠睾丸裂解液中分离纯化到含 MILI 的核糖核蛋白复合物, 结果发现该复合物中含有一类长度在 26~28 nt 的新型小分子 RNA, 并对这些小分子 RNA 进行克隆和测序, 结果发现这类小分子 RNA 中有绝大部分在数

* 通讯联系人. Tel: 0731-4635292, E-mail: tianyun79616@163.com

收稿日期: 2006-08-22, 接受日期: 2006-09-30

数据库中均没有注释,而且也不是从已知的转录子或基因组片段衍生而来. Lau 等^[4]为了寻找鉴定哺乳动物中与转录基因沉默(transcriptional gene silencing, TGS)有关的复合物,他们首先制备成年 SD 大鼠睾丸提取物,并进行分级纯化,通过离子交换层析检测小分子 RNA,结果发现,洗脱过程中有一个长度大于 22 nt 的小 RNA 分子高峰,通过对其测序发现这些小分子 RNA 的长度主要为 25~31 nt, RNA 印迹分析表明这些小分子 RNA 具有睾丸组织表达特异性. Grivna 等^[5]首先分离纯化出睾丸总 RNA,然后利用聚丙烯酰胺凝胶电泳对总 RNA 进行分离,结果发现电泳过程中有一个丰富的约 28~32 nt 的 RNA 条带,同时对 *miwi*^{-/-} 睾丸组织 RNA 检测发现这类小分子 RNA 的表达显著下降,说明这类小分子 RNA 大部分在精母细胞和精细胞中表达,并且它们的表达依赖于 MIWI 的功能.因此,这类与 MIWI 结合的新型小分子 RNA 被称为 piRNA. Watanabe 等^[6]也从 C57/B6 鼠的睾丸中发现了一类不同于 miRNA 和 rasiRNA 的小分子 RNA,其长度主要分布在 24~30 nt,他们称之为 gsRNA (germline small RNA),实际上这些小分子 RNA 也是 piRNA.

2 piRNA 的特点

与 miRNA 和 siRNA 分子相比, piRNA 具有一些它自身的特性: a. piRNA 长度约 26~31 nt, 大部分集中在 29~30 nt, 5'端具有尿嘧啶(Uracil, U)偏向性(约 86%). 成熟的 miRNA 一般具有 22 nt, 而 siRNA 一般分布在 21~28 nt. b. piRNA 和 miRNA 都是单链小分子 RNA, 而 siRNA 为双链小分子 RNA. c. piRNA 与 Argo 蛋白家族中的 Piwi 亚家族蛋白相互结合, 而 miRNA 和 siRNA 则与 Argo 蛋白家族中的 Argo 亚家族蛋白相互作用. d. piRNA 的表达具有组织特异性, 目前只在哺乳动物精母细胞和精细胞中发现了这类小分子 RNA. 而 miRNA 和 siRNA 在动植物的各种组织中基本都有表达. e. piRNA 在染色体上的分布极不均匀, 在小鼠中主要分布在 17、5、4、2 染色体上, 基本上不分布在性染色体上^[7], 同时 piRNA 主要存在于基因间隔区, 而很少存在于基因区和重复序列区, 它们一般集中成簇分布在 1~100 kb 相对较短的基因组位点, 一个这样的位点一般包含 10~4500 个小分子 RNA, 更为重要的是, 每一个成簇的 piRNA 几乎都具有同一取向, 说明同一簇 piRNA 可能来源

于同一个初始转录体,当然,有很少一部分成簇的 piRNA 其取向会突然发生改变,这些具有双向特点的成簇 piRNA 则可能从同一个中心启动子转录而来.另外,目前 piRNA 主要只从鼠、人等极少数几种模式动物的睾丸组织中发现并克隆出来,其序列在不同物种中的同源保守性还不好分析.

3 piRNA 的生物学作用

piRNA 主要在哺乳动物的精母细胞和成熟的精细胞中表达,同时它能与 Argonaute 蛋白家族的 PIWI 亚家族蛋白相互作用,通过对 PIWI 亚家族蛋白的遗传分析以及 piRNA 积累的时间特性研究发现, piRNA-PIWI 复合物在配子发生过程中起着十分重要的作用, piRNA 则可能参与配子发生过程中基因表达模式以及基因组染色体结构的调节. C57BL/6J 雄鼠中已克隆的 piRNA 根据其长度主要分为两大类: 第一类 piRNA 主要与 MIWI 蛋白结合, 长度为 29~31 nt, 其表达的时间特异性与 MIWI 蛋白相同, 主要从减数分裂的粗线期到早期的圆形精细胞阶段, 15 天的 C57BL/6J 雄鼠中就可以检测到这类 piRNA, 到 18 天时其积累达到最大; 第二类 piRNA 的长度主要为 26~28 nt, 它更偏爱于 MILI 蛋白相互作用, 14 天的 C57BL/6J 雄鼠中就能检测到大量的该类 piRNA, 其表达从早期的精原细胞阶段开始, 到圆形精细胞阶段就开始下降^[8]. 在成熟 C57BL/6J 雄鼠的睾丸组织中, 第一类 piRNA 的表达远远多于第二类 piRNA 的表达, 但这两类 piRNA 可能在同一位置因经过不同的加工方式而产生. Lau 等^[4]从 SD 大鼠睾丸组织中分离纯化的 piRNA 复合物不仅含有 RIWI, 还含有 rRecQ1. RIWI 是人 PIWI 的同源蛋白, PIWI 蛋白与基因转录沉默密切相关, 因此, piRNA 在哺乳动物的基因转录沉默中具有重要作用. 人体中的 RecQ1 是一种依赖于 ATP 的 DNA 解旋酶, 与 piRNA 相互结合的 rRecQ1 既具有 ATPase 活性又具有 DNA 解旋活性, 但分析表明, rRecQ1 与 piRNA 的作用不如 RIWI 强, 因此 rRecQ1 对于 piRNA 的功能行使可能不具有重要作用^[9]. Grivna 等^[5]为了检测 piRNA 是否能与多聚核糖体相互结合, 对正常三周龄成年小鼠以及 *miwi*^{+/-}、*miwi*^{-/-} 三周龄成年小鼠的睾丸组织提取物进行分级分离纯化, 结果发现, piRNA 在核糖核蛋白、单核糖体以及多聚核糖体组分中的相对含量分别为 38%、28%和 34%, 表明 piRNA 的潜在功能是在转录水

平上对相关基因的表达进行调控. 因此, piRNA 的生物学功能主要是通过转录水平调控哺乳动物配子发生过程中相关基因的表达, 从而影响哺乳动物配子的发生. 另外, 由重复序列编码的 piRNA 则可能与 rasiRNA 具有相同的作用, 即保护单倍体基因组使其免于由转座元件引起的重排作用发生.

4 展 望

piRNA 的发现开辟了小分子调控 RNA 研究的一个新领域, 虽然 piRNA 的研究已经取得了阶段性的成果, 但仍然有许多问题需要进一步研讨, 如 piRNA 的生物发生过程、piRNA 的调控作用机制等, 另外, 既然 piRNA 在配子发生过程具有重要调控作用, 那么 piRNA 是否也存在于雌性生殖器官及其植物生殖器官中? 因此, 对 piRNA 的研究不仅可以丰富小分子 RNA 的研究内容, 同时, 有利于我们进一步了解生物配子发生的分子调控及其机理, 具有十分重要的理论价值和应用前景.

参 考 文 献

- 1 Valencia-Sanchez M A, Liu J, Hannon G J, *et al.* Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. *Genes & Dev*, 2006, **20** (5): 515~524
- 2 Girard A, Sachidanandam R, Hannon G J, *et al.* A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. *Nature*, 2006, **442** (7099): 199~202
- 3 Aravin A, Gaidatzis D, Pfeffer S, *et al.* A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testis. *Nature*, 2006, **442** (7099): 203~207
- 4 Lau N C, Seto A G, Kim J, *et al.* Characterization of the piRNA complex from rat testes. *Science*, 2006, **313** (5785): 363~367
- 5 Grivna S T, Beyret E, Wang Z, *et al.* A novel class of small RNAs in mouse spermatogenic cells. *Genes & Dev*, 2006, **20** (13): 1709~1714
- 6 Watanabe T, Takeda A, Tsukiyama T, *et al.* Identification and characterization of two novel classes of small RNAs in the mouse germline: Retrotransposon-derived siRNAs in oocytes and germline small RNAs in testes. *Genes & Dev*, **20** (13): 1732~1743
- 7 Kim V N. Small RNAs just got bigger: Piwi-interacting RNAs (piRNAs) in mammalian testes. *Genes & Dev*, 2006, **20**(15): 1993~1997

The Novel Noncoding Small RNA: Piwi-interacting RNA (piRNA)

LI Pei-Wang¹⁾, LU Xiang-Yang²⁾, LI Chang-Zhu¹⁾, TIAN Yun^{2)*}

¹⁾Hunan Forestry Academy, Changsha 410004, China;

²⁾Biochemistry & Fermentation Laboratory of Life Science, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract piRNA is a novel class of small single strand RNA that were recently isolated from testes of the mammals. These RNAs are bigger (26~31 nt) than most previously described small RNAs (21~23 nt) and are associated with Piwi-subfamily members of the Argonaute protein family.

Key words piRNA, small RNA, gametogenesis

*Corresponding author. Tel: 86-731-4635292, E-mail: tianyun79616@163.com

Received: August 22, 2006 Accepted: September 30, 2006