

转基因动物在 microRNA 研究中的应用

马 宁 高 旭*

(哈尔滨医科大学基础医学院, 哈尔滨 150086)

摘要 MicroRNA 是一类在转录后水平上调节基因表达的非编码小分子 RNA, 在生物体生理、病理等过程中发挥重要作用. MicroRNA 功能的研究将是未来人们关注的焦点. 通过转基因技术建立的多种动物模型在整体水平揭示了基因的功能. 近年, 以 microRNA 为研究对象的转基因动物模型数量不断增加, 构建策略不断丰富. 通过 miRNA 过表达、敲除及敲减等手段已揭示了 miRNA 在肿瘤、心血管系统疾病等多方面的作用. 转基因动物正成为 microRNA 研究中不可或缺的工具.

关键词 microRNA, 转基因动物, 基因打靶, 转基因

学科分类号 Q52, Q33

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00091

转基因技术(transgenic technology)是将外源 DNA 导入动物受精卵或胚胎干细胞内, 以随机插入或同源重组的方式整合到受体染色体中, 并随细胞的分裂而遗传给后代的技术. 通过该技术产生的动物, 称为“转基因动物(transgenic animal)”, 是现代实验动物学与分子生物学紧密结合的产物. 目前, 已建立小鼠^[1]、大鼠^[2]、斑马鱼^[3]及果蝇^[4]等多种转基因动物模型. 转基因动物的建立, 是对以往基因功能研究在细胞水平上的补充, 更是为探索人类疾病发病机理和治疗效果评价提供的又一平台. 自 1982 年 Palmiter 等^[5]发明“超级小白鼠”以来, 转基因技术已为生命科学和医学科学提供了包括组织发生^[6]、代谢^[7]、心脑血管疾病^[8]、神经系统疾病^[9]等方面的多种疾病模型. 这种整体水平研究基因功能的手段已被越来越多的科研工作者所接受.

从“转基因”表达水平的结果上看, 转基因动物模型可分为: 过表达(overexpression)、基因敲除(knockout, KO)及基因敲减(knockdown). 通常, “转基因动物”也可单指外源基因“过表达”的动物. 基因不同水平的表达导致其产物生成量的差异, 最终动物出现不同表型(phenotype), 从而为不同研究提供材料.

微小 RNA(microRNA, miR, miRNA)最早于 1993 年由 Lee 等^[10]在线虫体内发现. 是由约 18~24 个核苷酸组成的内源性、非编码的小分子

RNA. 它广泛存在于动植物、微生物体内, 可通过降解特定 mRNA 或抑制蛋白质翻译的方式在转录后水平上对基因表达起调节作用. 自首个 miRNA(lin-4)^[10]到第二个 miRNA(let-7)^[11]的发现, 用了 7 年时间, 而 2000 年至今已有多达 8 600 余个 miRNA 在不同物种体内被发现. 目前, miRBase 已经记录了人类 miRNA(has-miRNA)及其亚型 722 个. 在不断发现新 miRNA 的同时, 人们也开始了对其功能的探讨. 2005 年, Giraldez 等^[12]通过斑马鱼实验证实, miRNA 参与调节脑的形态发育. 2007 年 Yang 等^[13]的研究揭示了 miR-1 与心律失常的关系, 提示 miR-1 可能是抗心律失常的潜在靶点. 实验证实, microRNA 参与发育控制^[14]、细胞增殖分化^[15]、细胞凋亡^[16]、免疫反应^[17]、肿瘤发生^[18]等多种病理生理^[19~21]过程.

以往通过转基因技术导入的外源 DNA 片段主要编码酶、受体等蛋白质类物质, 2002 年起有实验室^[22, 23]开始尝试导入编码短链 RNA 的 DNA 片段, 以在动物体内达到 RNA 干扰(RNAi)使基因沉默的目的. 近年, 随着 miRNA 研究的深入, miRNA 转基因动物进入了人们的视线. 2006 年

* 通讯联系人.

Tel: 0451-86671684, E-mail: gaoxu_671227@yahoo.com.cn

收稿日期: 2009-02-19, 接受日期: 2009-04-08

Stefan 等应用转基因技术建立了 miR-155 过表达的小鼠模型^[24]. 2007 年 Zhao 等^[25]应用基因打靶技术建立了 miR-1-2 的基因敲除模型. 近三年, 与

“miRNA 和转基因动物”相关的研究数量更是不断增长, 建立策略不断丰富. miRNA 转基因动物模型正成为 miRNA 功能研究的有力工具(表 1).

Table 1 The functions of microRNAs revealed by using transgenic mouse
表 1 应用转基因小鼠证实的 microRNA 功能

microRNA	功能	验证途径	主要文献
miR-155	血液肿瘤、淋巴瘤等	TG/KO	[24, 26, 27]
miR-17-92	淋巴细胞增殖与肺发育	TG/KO	[28, 29]
miR-30	沉默 <i>Prnp</i> 表达	TG	[30]
miR-195	心肌肥大、心衰	TG	[31]
miR-214	心肌肥大、心衰	TG	[31]
miR-24	心肌肥大、心衰	TG	[31]
miR-208	心脏收缩功能	KO	[32]
miR-1-2	心脏发生	TG/KO	[25]
miR-126	血管发生与完整性	KO	[32]
miR-223	血细胞增殖与功能	KO/KD	[33, 34]

TG: 转基因(过表达); KO: 基因敲除; KD: 基因敲减.

1 过表达转基因动物在 microRNA 研究中的应用

利用转基因技术在动物体内表达 microRNA 是研究其功能的重要手段. 与真核细胞转染相比, 该方法结果更接近于体内复杂反应的真实“结果”. 2006 年, Stenfa 等建立了 B 细胞特异过表达 miR-155 的转基因小鼠, 证实了其成淋巴细胞白血病和恶性淋巴瘤发生之间的关系^[24]. 2007 年, Lu 等^[28]建立了 *miR-17-92* 簇(Cluster)过表达的转基因小鼠, 该 microRNA 簇表达于肺上皮细胞, 具有促进增殖、抑制分化的作用.

以往认为, microRNA 分子小, 难以进行该类操作. 但实践证明, microRNA 过表达转基因动物模型的建立从技术上是可行的. 对“转基因”的构建与操作, 结合我们自身的实践与目前建立的模型, 总结如下:

1.1 microRNA 编码基因碱基数量少可直接构建

成熟的 microRNA 只有 20 nt 左右的碱基数, 而在其编码序列的上下游有一定数量的碱基参与 Pre-miRNA 茎环结构的形成过程^[35, 36]. 故在构建转基因构件时, 克隆的目的片段应保留 pre-miRNA 序列上下游各 100~400 bp^[31, 24]的碱基侧翼序列. 但 Micaela 等报道的 miR-30 转基因小鼠, 将

pre-miR-30 的共 83 个碱基直接构建入载体. 转基因构件中增加侧翼序列是否影响 mature-miRNA 的形成及表达效率的研究还未见报道. 另外, microRNA 编码产物仅为一段 RNA. 不涉及蛋白质的翻译过程, 故在构建转基因构件时可不考虑“翻译起始点”和“开放阅读框架”等信息. 这不会影响 miRNA 的表达. 典型的 microRNA 转基因构件应包括: 启动子、Pre-miRNA、侧翼序列及转录终止信号(图 1a, b).

1.2 可将 microRNA 簇视为整体

某些 microRNA 编码基因在基因组中成簇出现, 方向相同或相反, 功能相近或相异. 如 *miR-17-92* 簇, *miR-133-1* 簇等. 对这些可将其作为整体, 一并构建入载体. 2007 年 Lu 等^[28]研究的转基因小鼠模型中, 将编码 7 个 miRNA (miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18, miR-19a, miR-20a, miR19b-1, miR-92-1)的 *miR-17-92* 簇作为整体, 上下游各增加 133 bp 的侧翼序列而成为转基因构件的主要部分. 结果表明, 该 miRNA 簇在转基因动物体内能够有效表达, 但过表达程度有所差异, 其中野生型小鼠体内很少表达的 miR-17-5p 在转基因小鼠肺上皮细胞中呈高表达. 与单一 miRNA 过表达相比, miRNA 簇的过表达可能更加复杂.

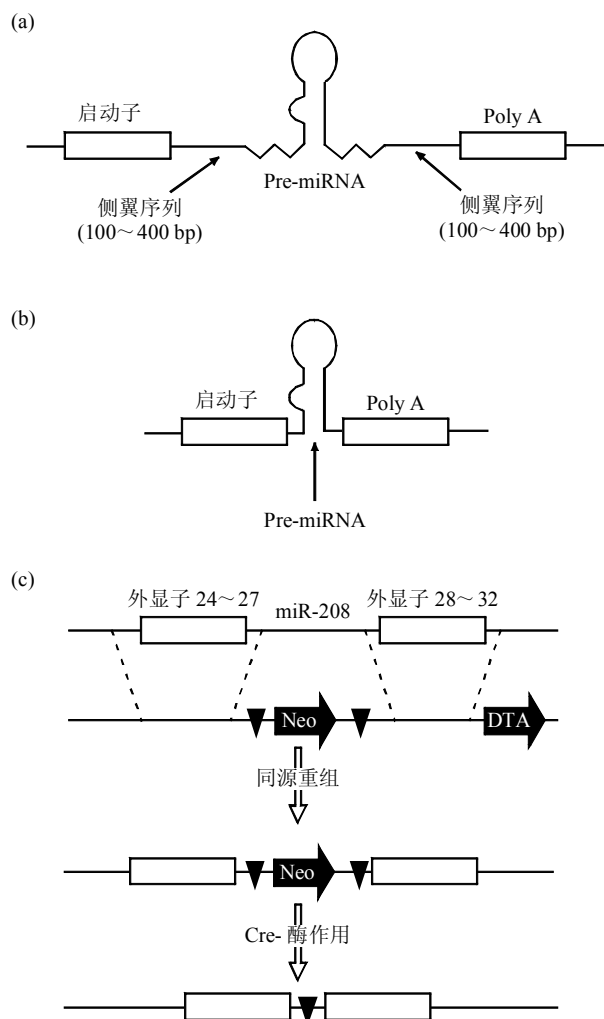


Fig. 1 Construction of microRNA transgene

图 1 microRNA 转基因的构建

(a) miR-155^[24], miR-195^[31]及 miR-214^[31]等转基因的构建策略. (b) miR-30^[30]转基因的构建策略. (c) miR-208 基因敲除的策略, Neo/DTA 为筛选基因; ▼ 为 LoxP 位点.

1.3 MicroRNA 的生物学特性符合转基因操作

MicroRNA 的表达具有组织特异性和阶段特异性^[37]. 对于前者, 可选择不同组织特异性的启动子 (tissue-specific promoter), 如: 心肌细胞特异启动子 α -MHC 和 B 细胞特异启动子 E μ 等使其在特定组织进行表达. 而对于某些在个体发育特定时期表达的 miRNA、严重影响发育及器官功能的 miRNA, “过表达”可能导致胚胎在发育过程中死亡, 如在心脏功能中起作用的 miR-24^[31]. 对此, 应注意观察转基因动物产仔和仔鼠死亡情况, 必要时在胚胎发育的不同时期进行检测.

1.4 MicroRNA 过表达转基因动物的建立成本低、周期短、设计相对简单

目前, 国内转基因技术日臻完善, 多家科研院

所、公司均能够按要求提供转基因服务. 转基因小鼠的产生周期 3 至 6 个月. 相比于传统过表达编码蛋白的基因, 无需考虑蛋白编码情况, 使其实际操作起来更为简单.

2 基因打靶 (gene targeting) 技术在 microRNA 研究中的应用

基因打靶技术是建立在以胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ES) 技术和同源重组技术基础上的转基因技术. 经过多年的探索与完善, 于 1989 年首次通过该技术建立了基因敲除 (knockout, KO) 小鼠模型^[38~40]. 2007 年该技术更是获得了诺贝尔生理学医学奖, 进一步揭开了基因打靶在基因功能研究中的帷幕.

MicroRNA 的表达具有阶段和组织特异性, 有些 microRNA 在胚胎发育过程中起着关键作用, 有些 microRNA 只在特定组织表达. 这完全适合运用条件基因打靶 (conditional gene targeting) 技术对其进行功能研究. 在传统基因打靶过程中, microRNA 从发育的开始就在其全部脏器内被 “敲除”, 这会严重影响胚胎发育, 甚至造成胎死 (embryonic lethality) 现象. 而条件基因敲除的应用很好地解决了这一问题. 目前, 重组酶 Cre-LoxP 系统已在 microRNA 基因敲除动物中有所应用. 2007 年, van Rooij 等^[41]报道了心肌细胞条件敲除 miR-208 (图 1c) 对 α MHC 基因表达的影响, 进一步揭示了其对心脏发育的作用. 该技术需要一种含组织特异性表达 Cre 重组酶的转基因动物, 同时经同源重组建立另一种含 LoxP 重组酶位点的基因打靶动物, 二者杂交产生的后代, 就可产生组织特异性的 miRNA 敲除的动物.

此外, 2007 年 Zhao 等^[29]通过肌肉特异 miR-1-2 基因敲除小鼠模型发现心脏电活动的异常, 部分胚胎由于心脏发生的缺陷而死亡. 同年, 两个研究组^[26, 27]成功建立了 miR-155 基因敲除小鼠模型, 该突变小鼠的免疫细胞功能异常, 容易发生感染而死亡. 2008 年, Jonathan 等建立了 miR-223 基因敲除小鼠, 揭示其在粒细胞发生与炎症反应中的作用^[34]. Wang 等^[32]建立的 miR-126 基因敲除小鼠由于内皮细胞发生、迁移和血管发生的缺陷而极易发生胎死.

目前, 国际上已建立了 “小鼠基因敲除联盟” 等组织以加强信息交流和数据共享. 我国这方面的研究起步较晚, 但发展迅速. 一方面, 国家投入资

金支持相关项目的研究, 另一方面, 在国外有着丰富经验的专家纷纷回国工作进一步带动了我国基因敲除研究的发展.

3 其他转基因策略在 microRNA 研究中的应用

传统转基因技术是针对特定 miRNA 直接进行过表达或敲除的研究. 根据 miRNA 的分子特点、成熟过程及作用机理, 我们还可采用其他转基因策略(图 2)来研究其功能.

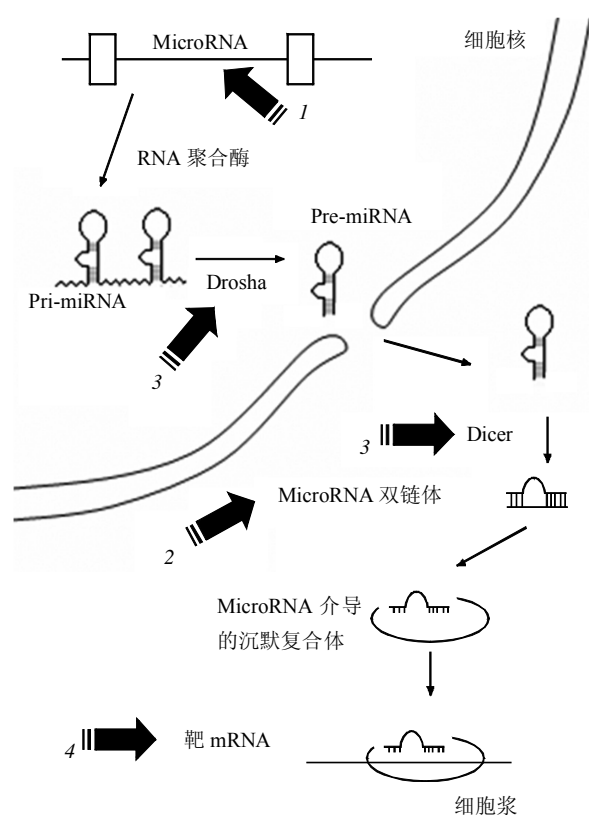


Fig. 2 Transgenic strategies in studies of microRNA

图 2 microRNA 研究中的转基因策略

1: 条件性敲除 miRNA; 2: 过表达 miRNA; 3: 敲除 Dicer/Drosha; 4: 过表达 miRNA 的靶序列.

3.1 敲除 RNase III (Dicer/Drosha)

Dicer 酶是 microRNA 成熟过程中的酶, Dicer 的敲除将导致体内所有 miRNA 缺失, 直接导致早期胚胎发育异常而致胎死现象的发生^[42]. 2007 年 Otsuka 等^[43]建立了 Dicer 低表达的突变小鼠. 在该小鼠体内, 部分组织低表达 Dicer, 而部分组织不表达 Dicer. 由于巨噬细胞不表达 Dicer 使 miRNA 缺陷, 造成突变鼠在病毒感染后细胞内有更高的病

毒滴度. 2008 年, Ho 等^[44]建立了肾小球足细胞 Dicer 敲除的动物模型. Nagaraja 等^[45]建立了雌性生殖系的 Dicer 敲除模型. Katsuhiko 等建立了雄性生殖细胞的 Dicer 敲除模型^[46]. RNase III 的条件敲除渐渐成为 microRNA 研究的重要手段之一. 但应用该方法将使某一组织中全部 miRNA 的表达受到影响, 可能对后续分析带来影响.

3.2 过表达 miRNA 的靶序列 (target sequences)

在 miRNA 调节基因表达的过程中, miRNA 与 mRNA 相互作用. 通过体内过表达 miRNA 的靶序列, 对 miRNA 可以起到基因敲减的作用. 2009 年, Bernhard 等通过慢病毒载体在体内稳定表达 miR-223 的靶序列从而有效地抑制其功能. 该研究应用了称为“海绵”(Sponges)的构建策略, 但实验表明靶序列的有效作用依赖于强启动子、重复的多拷贝以及不完全互补的结构^[33]. 而该方法的应用还需考虑靶基因的特异性. 这种过表达靶序列以竞争 miRNA 的天然序列对其作用的构建策略, 可能成为未来 miRNA 功能抑制的主要方法.

3.3 类似转基因动物模型的应用

2006 年, Lin 等^[47]报道了一种类似转基因动物模型(transgene-like animal models)的建立. 该研究将 miRNA 构建于绿色荧光蛋白基因的内含子中, 通过该转基因在体内的表达和剪接作用生成成熟的 miRNA. 该方法可直接通过观察荧光而验证内含子 miRNA 的产生.

3.4 可逆性条件基因敲除

与 Cre-LoxP 系统相似, 基于四环素诱导的调控载体可为研究 miRNA 提供“时间”上的可控性. 2007 年, Ross 等通过四环素敏感的 RNA 聚合酶 II 在动物体内启动了特定 shRNA(short hairpin RNA)的表达, 后者以肿瘤抑制因子 Trp53 为作用靶点参与肿瘤的发生过程^[48]. 而“关掉”其表达后, 肿瘤发生退化. 这种 RNAi 技术也为 miRNA 的研究提供了参考.

4 展 望

MicroRNA 是一类新发现的具有基因表达调控作用的小分子. 进一步明确其生物学功能可以帮助人们了解更多生命现象. “转基因技术”这一整体水平研究基因功能的工具无疑会推动 microRNA 功能的研究. MicroRNA 基因分子小, 易操作, 具有表达的时空特异性, 适合进行条件性操作, 产物为基因表达调节因子, 结果易检测. 因此,

microRNA 转基因动物模型的建立在其功能及与疾病关系的研究中具有广阔的应用前景。随着我国对转基因技术理论与实践研究的深入, 相信该技术将为我国的生命科学和医学科学研究提供更多的研究成果。

参 考 文 献

- Scholten J, Hartmann K, Gerbaulet A, *et al.* Mast cell-specific Cre/loxP-mediated recombination *in vivo*. *Transgenic Res*, 2008, **17** (2): 307~315
- Dann C T. New technology for an old favorite: lentiviral transgenesis and RNAi in rats. *Transgenic Res*, 2007, **16** (5): 571~580
- Burket C T, Montgomery J E, Thummel R, *et al.* Generation and characterization of transgenic zebrafish lines using different ubiquitous promoters. *Transgenic Res*, 2008, **17**(2): 265~279
- Sokol N S, Xu P, Jan Y N, *et al.* *Drosophila let-7* microRNA is required for remodeling of the neuromusculature during metamorphosis. *Genes Dev*, 2008, **22**(12): 1591~1596
- Palmiter R D, Brinster R L, Hammer R E, *et al.* Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature*, 1982, **222**(615): 611~615
- Vervoort V S, Lu M, Valencia F, *et al.* A novel *Flk1-TVA* transgenic mouse model for gene delivery to angiogenic vasculature. *Transgenic Res*, 2008, **17**(3): 403~415
- Christen U, von Herrath M G. Transgenic animal models for type 1 diabetes: linking a tetracycline-inducible promoter with a virus-inducible mouse model. *Transgenic Res*, 2002, **11**(6): 587~595
- Riazi A M, Van Arsdell G, Buchwald M. Transgenic expression of CECR1 adenosine deaminase in mice results in abnormal development of heart and kidney. *Transgenic Res*, 2005, **14** (3): 333~336
- Guillemot F, Cerutti I, Auffray C, *et al.* A transgenic mouse model engineered to investigate human brain-derived neurotrophic factor *in vivo*. *Transgenic Res*, 2007, **16**(2): 223~237
- Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, **75**(5): 843~854
- Pasquinelli A E, Reinhart B J, Slack F, *et al.* Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 2000, **408** (6808): 86~89
- Giraldez A J, Cinalli R M, Glasner M E, *et al.* MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. *Science*, 2005, **308** (5723): 833~838
- Yang B, Lin H, Xiao J, *et al.* The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nat Med*, 2007, **13** (4): 486~491
- Johnston R J, Hobert O. A microRNA controlling left/right neuronal asymmetry in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2003, **426** (6968): 845~849
- Corney D C, Flesken-Nikitin A, Godwin A K, *et al.* MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth. *Cancer Res*, 2007, **67**(18): 8433~8438
- Chan J A, Krichevsky A M, Kosik K S. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res*, 2005, **65**(14): 6029~6033
- Stern-Ginossar N, Elefant N, Zimmermann A, *et al.* Host immune system gene targeting by a viral miRNA. *Science*, 2007, **317**(5836): 376~381
- Gregory R I, Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis and cancer. *Cancer Res*, 2005, **65**(9): 3509~3512
- Wu H, Neilson J R, Kumar P, *et al.* miRNA profiling of naive, effector and memory CD8 T cells. *PLoS ONE*, 2007, **2**(10): e1020
- Hansen T, Olsen L, Lindow M, *et al.* Brain expressed microRNAs implicated in schizophrenia etiology. *PLoS ONE*, 2007, **2**(9): e873
- Sonkoly E, Wei T, Janson P C, *et al.* MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of Psoriasis?. *PLoS ONE*, 2007, **2**(7): e610
- Hasuwa H, Kaseda K, Einarsdottir T, *et al.* Small interfering RNA and gene silencing in transgenic mice and rats. *FEBS Lett*, 2002, **532**(1~2): 227~230
- Kunath T, Gish G, Lickert H, *et al.* Transgenic RNA interference in ES cell derived embryos recapitulates a genetic null phenotype. *Nat Bio*, 2003, **21**(5): 559~561
- Costinean S, Zanesi N, Pekarsky Y, *et al.* Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E(mu)-miR155 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(18): 7024~7029
- Zhao Y, Ransom J F, Li A, *et al.* Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2. *Cell*, 2007, **129**(2): 303~317
- Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, *et al.* Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science*, 2007, **316** (5824): 608~611
- Thai T H, Calado D P, Casola S, *et al.* Regulation of the germinal center response by microRNA-155. *Science*, 2007, **316** (5824): 604~608
- Lu Y, Thomson J M, Wong H Y, *et al.* Transgenic over-expression of the microRNA miR-17-92 cluster promotes proliferation and inhibits differentiation of lung epithelial progenitor cells. *Dev Biol*, 2007, **310**(2): 442~453
- Andrea V, Amanda G Y, Monte M W, *et al.* Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17~92 family of miRNA clusters. *Cell*, 2008, **132**(5): 875~886
- Gallozzi M, Chapuis J, Le Provost F, *et al.* Prnp knockdown in transgenic mice using RNA interference. *Transgenic Res*, 2008, **17** (5): 783~791
- van Rooij E, Sutherland L B, Liu N, *et al.* A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(48): 18255~18260
- Wang S, Aurora A B, Johnson B A, *et al.* The endothelial-specific

- microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell*, 2008, **15**(2): 261~271
- 33 Gentner B, Schira G, Giustacchini A, *et al.* Stable knockdown of microRNA *in vivo* by lentiviral vectors. *Nat Methods*, 2009, **6**(1): 63~66
 - 34 Johnnidis J B, Harris M H, Wheeler R T, *et al.* Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. *Nature*, 2008, **451**(7182): 1125~1129
 - 35 Bushati N, Cohen S M. MicroRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, **23**: 175~205
 - 36 Pawlicki J M, Steitz J A. Primary microRNA transcript retention at sites of transcription leads to enhanced microRNA production. *J Cell Biol*, 2008, **182**(1): 61~76
 - 37 Tang G, Tang X, Mendu V, *et al.* The art of microRNA: various strategies leading to gene silencing *via* an ancient pathway. *Biochim Biophys Acta*, 2008, **1779**(11): 655~662
 - 38 Thompson S, Clarke A R, Pow A M, *et al.* Germ line transmission and expression of a corrected HPRT gene produced by gene targeting in embryonic stem cells. *Cell*, 1989, **56**(2): 313~321
 - 39 Koller B H, Hagemann L J, Doetschman T, *et al.* Germ-line transmission of a planned alteration made in a hypoxanthine phosphoribosyltransferase gene by homologous recombination in embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**(22): 8927~8931
 - 40 Zijlstra M, Li E, Sajjadi F, *et al.* Germ-line transmission of a disrupted beta 2-microglobulin gene produced by homologous recombination in embryonic stem cells. *Nature*, 1989, **342**(6248): 435~438
 - 41 van Rooij E, Sutherland L B, Qi X, *et al.* Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science*, 2007, **316**(5824): 575~579
 - 42 Bernstein E, Kim S Y, Carmell M A, *et al.* Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet*, 2003, **35**(3): 215~217
 - 43 Otsuka M, Jing Q, Georgel P, *et al.* Hypersusceptibility to vesicular stomatitis virus infection in Dicer1-deficient mice is due to impaired miR24 and miR93 expression. *Immunity*, 2007, **27**(1): 123~134
 - 44 Ho J, Ng K H, Rosen S, *et al.* Podocyte-specific loss of functional microRNAs leads to rapid glomerular and tubular injury. *J Am Soc Nephrol*, 2008, **19**(11): 2069~2075
 - 45 Nagaraja A K, Andreu-Vieyra C, Franco H L, *et al.* Deletion of Dicer in somatic cells of the female reproductive tract causes sterility. *Mol Endocrinol*, 2008, **22**(10): 2336~2352
 - 46 Hayashi K, Chuva de Sousa Lopes S M, Kaneda M, *et al.* MicroRNA biogenesis is required for mouse primordial germ cell development and spermatogenesis. *PLoS ONE*, 2008, **3**(3): e1738
 - 47 Lin S L, Chang S J, Ying S Y. Transgene-like animal models using intronic microRNAs. *MicroRNA Protocols*. Totowa, N.J.:Humana Press, 2006. 321~334
 - 48 Dickins R A, McJunkin K, Hernando E, *et al.* Tissue-specific and reversible RNA interference in transgenic mice. *Nat Genet*, 2007, **39**(7): 914~921

The Application of Transgenic Animals in MicroRNA Research

MA Ning, GAO Xu*

(Basic Medical College, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Abstract MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs which are essential for posttranscriptional gene regulation and have important roles in physiology and pathology. The researches on function of miRNA will be a focus in the future. Several animal models have been built by transgenic technology, making important contributions to our understanding of gene function at the whole scale. Recently, the number of transgenic animal models for microRNAs and construction strategies have been increasing and diversifying. Some roles of miRNA in tumor and cardiovascular disease have been revealed by transgenic animals. Transgenic animals are becoming a kind of powerful tool in microRNA researches.

Key words microRNA, transgenic animal, gene targeting, transgene

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00091

*Corresponding author.

Tel: 86-451-86671684, E-mail: gaouxu_671227@yahoo.com.cn

Received: February 19, 2009 Accepted: April 8, 2009