

MicroRNA 及其靶基因的时空特异性与动态变化 *

李 洁 秦性良 邵宁生 **

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 MicroRNA(miRNA)是一类广泛存在于动植物中大小约 22nt 的内源单链非编码小 RNA 分子, 通常在转录后水平负调控其靶基因的表达, 在机体生命活动的各个过程中(如细胞增殖和分化、凋亡、疾病的发生发展等)发挥着重要的调节作用。越来越多的研究表明, miRNA 的表达具有时序特异性和组织特异性。每种 miRNA 针对的数个甚至上百个潜在靶基因, 在不同的细胞或同一细胞的不同状态下是否能发挥功能性靶标的作用也有所不同。这些研究结果不但说明 miRNA 及其靶标具有时空动态变化的特性, 而且也提示 miRNA 在机体内发挥作用的复杂性。本文就 miRNA 及其靶标时空动态变化的相关研究进展做一综述, 期望对深入了解 miRNA 的功能提供新的思路。

关键词 microRNA, 靶基因, 时空特异性, 动态变化

学科分类号 Q71

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00281

MicroRNA(miRNA)是一类非编码小 RNA, 约 22 个核苷酸, 通过碱基互补配对(完全配对或不完全配对)靶向信使 RNA(mRNA)的 3'-非转录区(3'-UTR), 直接降解 mRNA 或者抑制翻译, 从而完成对靶基因的转录后调控^[1]。根据统计数据, Sanger microRNA 序列数据库 19.0(miRBase)收集到发夹前体序列 21 264 条, 成熟 miRNA 和 miRNA* 产物共 25 141 条。经过计算生物学和实验生物学方法鉴定, 特异的 miRNA 能够选择性调节各种靶标 mRNA, 对生物体的整体表达模式有着巨大影响^[2-5]。miRNA 与许多生理病理过程密切相关, 如生长发育、细胞分化、细胞凋亡、脂类代谢、激素分泌、肿瘤形成和病毒感染等^[6-8]。随着对 miRNA 研究的深入, 越来越多的证据表明, 在不同组织、器官、细胞类型和生长发育过程中, miRNA 的表达谱有很大差异, 揭示 miRNA 的表达具有时序特异性和组织特异性。每种 miRNA 针对的数个甚至上百个潜在靶基因, 在不同的细胞或同一细胞的不同状态下发挥功能性靶标的作用也有所不同。这些研究结果不但说明 miRNA 及其靶标具有时空动态变化的特性, 而且也提示 miRNA 在机体内发挥作用的复杂性。本文就 miRNA 及其靶标时空动态变

化的相关研究进展做一综述, 期望对深入了解 miRNA 的功能提供新的思路。

1 miRNA 的生物合成途径

miRNA 基因大部分定位于基因间区, 也有部分定位于蛋白编码基因的内含子、外显子^[9]。RNA 聚合酶 III 和 RNA 聚合酶 II 均可以参与转录, 大多由 RNA 聚合酶 II 转录生成初级 miRNA(pri-miRNA), 其结构特征为: 5'端帽子结构和多聚腺苷酸尾, 能够形成 1~2 个或更多的发卡结构。pri-miRNA 在细胞核内的加工主要由核糖核酸酶 III Drosha 和含有双链 RNA 结合结构域(dsRBD)的 DGCR8(DiGeorge critical region 8)所组成的多聚蛋白复合物微处理器(microprocessor)完成。DGCR8 识别双链的茎和单链之间的链接, 指导 Drosha 切割 pri-miRNA^[10], 生成约 60~70nt 的前体 miRNA(pre-miRNA)。

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2011CB811300, 2010CB912801)和国家自然科学基金(31100569, 30971630)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-66932311, E-mail: shaonsh@hotmail.com

收稿日期: 2013-06-20, 接受日期: 2013-06-26

Exportin-5 识别 pre-miRNA 的 2 nt 的 3' 突出末端, 通过 Ran-GTP 依赖机制将 pre-miRNA 转运至细胞质^[11]. 在细胞质中, 另一个关键蛋白 Dicer, 也属于核糖核酸酶 III, 与含有 dsRBD 的蛋白复合物 (TRBP/PACT/Loquacious(Loqs)) 将 pre-miRNA 切割成 22nt 的 miRNA 双链, 即 miRNA/miRNA*. 通常双链中有一条链与 5' 端的碱基互补具有较低稳定性, 生成成熟的 miRNA 指导链, 选择性与 AGO 家族的蛋白结合形成 miRNA 诱导的沉默复合体 (miRNA-induced silencing complexes, miRISC), 从而介导靶基因沉默. 而另一条链 miRNA* 通常被降解, 但也有研究显示在某些情况下, miRNA* 在细胞内存在并具有功能^[12].

2 miRNA 表达的时空特异性和动态变化

从目前的研究结果, 人们已经清楚地认识到 miRNA 的表达具有时间和组织特异性. Babak 等^[13]利用生物芯片分析了小鼠的 17 个不同器官组织, 所分析的 78 个 miRNA 至少有一半存在组织特异性分布. Liang 等^[14]通过分析 345 个 miRNA 在 40 个正常人类组织中的表达情况, 通过聚类分析得到 8 个组织特异性的 miRNA 分组, 分别是“肌肉”、“胃肠道/上皮细胞”、“脑”、“脑/外周血单核细胞”、“心”、“肝”、“胎盘”和“睾丸”. 而 miRNA 时序特异性的最好体现是伴随着发育过程. 在动物体内, let-7 的表达依赖于动物的生长发育周期, 在发育早期 let-7 低表达, 而分化成熟的组织 let-7 高表达. 下调 let-7 的表达水平致使分化失败, 从而导致了癌症的发生^[15]. 中枢神经系统是哺乳动物最复杂的器官, 目前已知的 miRNA 有一半以上在中枢神经系统都被发现, 然而这些 miRNA 随着大脑的发育呈现动态变化. 早在 2003 年, Krichevsky 等^[16]就发现在小鼠大脑中 45 个成熟 miRNA 至少有 20% 的 miRNA 伴随着大脑发育发生了显著变化. Miska 等^[17]首次报道了随着小鼠大脑的发育, 一些 miRNA 随时间呈现波浪式的表达. 就目前知识来看, 中枢神经系统中较其他组织器官而言, miRNA 表达所具有的时间空间变幻频率更为短暂且形式更为丰富^[18-21]. 肿瘤与正常组织 miRNA 的差异从来都是研究热点, 人们一直在努力从各个方面寻找肿瘤标志物包括 miRNA^[22-23]. 早在 2003 年, Michael 等^[24]就发现 miR-143 和 miR-145 的前体分子在正常结肠组织和结肠癌组织都有表达, 而两个 miRNA 的成熟体却只在正常

结肠组织中被发现. Thomson 等^[25]则展示了在肿瘤中大规模 miRNA 被下调的研究结果. 反之, 也有肿瘤特异高表达的 miRNA 的存在^[26], 例如, miR-17-92 在许多癌症如肺癌或淋巴瘤的表达明显增加, 它的形成可以增加肺癌细胞的生长^[27-28]. 基于 miRNAs 表达谱研究, 研究者也尝试就肿瘤发育形成和分化程度对其进行分类. 较传统的基于 mRNA 表达研究的分类方法, 具有更高的精确度, 但同时也受限于 miRNA 的种类^[29-30].

虽然相对于 miRNA 对靶基因的作用, miRNA 自身的时空动态变化机制研究只是刚刚起步, 但是 miRNA 的生物合成途径本身就具有转录与转录后加工的时间变化以及细胞核到细胞质的空间变化. 这就提示 miRNA 生物合成途径在不同时空的调控是导致 miRNA 表达谱的组织特异性以及在同一组织中的时间特异性^[31-34]的主要原因, 具体体现在以下几个水平:

2.1 miRNA 产生的转录水平调控

miRNA 的转录主要依赖于 pol II (RNA 聚合酶 II), 少部分内含子 miRNA 含有 pol III 调控元件^[35-36]. 最初认为基因间的 miRNA 通常具有自己独立的启动子完成转录, 而基因内的 miRNA 通常与其宿主基因具有转录一致性^[37], 例如 miR-33 与其宿主基因 SREBP、miR-342 与 EVL 等. 然而, 越来越多的证据显示, 基因内 miRNA 与其宿主基因存在独立的转录机制, 例如 pri-miR-21 在 293T 细胞中的转录本约为 3.5 kb, 而在佛波醇诱导的 HL-60 细胞中却使用了独立启动子使得 pri-miR-21 长达 4.5 kb^[38]. Ozsolak 与 Corcoran 等^[39-40]推测约有 30% 的内含子 miRNA 具有自己独立的启动子, 而这些启动子通常远离(平均 57 kb)其宿主基因的转录起始位点.

一部分已知的 miRNA 成簇分布, 并且能够以多顺反子的形式共同转录, 例如, miR-23a~27a~24-2 簇是最先在人类细胞中鉴定出具有共同转录本的^[41], miR-200b~200a~429、miR-200c~141 也具有共同的起始转录本^[42]. 然而 miRNA 簇的家族成员距离从几个碱基到几千个碱基, 很难预测它们是否共同转录. Baskerville 等^[43]推测 miRNA 簇成员间距离 < 50 kb 通常具有共同转录本. 然而这也只是人为推测, miR-127 与 miR-143 只相差 1 kb, 却存在于两个相互重叠的独立转录本中^[44].

对应人类 175 个 miRNA 的启动子通过核小体定位和染色体免疫共沉淀实验分析, 发现 miRNA

启动子区域与 mRNA 启动子区域并无本质区别, 同样存在 CpG 岛、TATA 盒、TF II B 识别位点以及组蛋白修饰等. 因此, miRNA 基因在转录水平既会受到表观遗传的调控, 也会受到转录因子的影响. 恶性肿瘤中, 抑癌基因通常会发生 DNA 高甲基化^[45-46], 而目前发现具有抑癌功能的几种 miRNA (miR-9-1、miR-193a、miR-137、miR-342、miR-203 及 miR-34b/c) 在多种人类肿瘤中都存在高度甲基化而被抑制表达^[47-48]. 相反, DNA 去甲基化则可能上调致癌性 miRNA 基因的表达^[49-50], 如 let-7a-3 在肺腺癌中的高表达^[51]. 在生物体的发育和病理中, miRNA 的启动子也能受到组蛋白修饰的调控. 用组蛋白去乙酰化酶抑制剂处理某些癌细胞能够使一类 miRNA 上调, 包括 miR-1^[52]; 而在乳腺癌细胞 SKBr3 中, 组蛋白去乙酰化酶抑制剂却导致 32 个 miRNA 下调^[53]. 组蛋白 H3 第 56 位赖氨酸乙酰化是许多因子(如 nanog、sox2、oct4)诱导胚胎干细胞多能性的重要因素, 同时也使得 13 个 miRNA 随之高表达^[54]. miRNA 基因位点的表观修饰在发育及疾病转录调控中可能发挥另一层次的作用, 更增加了 miRNA 转录调控的复杂性^[55-56].

转录因子对 miRNA 转录调控更是一个复杂网络, 到目前为止已经证明近百种 miRNA 受到各种转录因子的调控^[57-62], 而 c-Myc 与 p53 作为转录因子尤其成为肿瘤研究中的热点. 原癌基因 c-Myc 作为转录因子调控着约 10%~15% 人类基因, 在细胞生长与凋亡调控中至关重要. 研究表明 c-Myc 同样能够调控 miRNA 的转录. c-Myc 能够结合 miR-17-92 簇启动子区域的 E-boxes (enhancer box sequences) 激活相应 miRNA 的转录^[63], 导致 miR-17-92 在肿瘤中通常高表达. 相反, c-Myc 也能够抑制抑癌 miRNA (miR-15a、miR-29、miR-34 和 let-7 家族) 的转录^[64]. p53 在负责调节多种与癌症相关的复杂分子网络中, 处于核心地位. 新近发现 p53 参与 miRNA 生物合成的各级调控. 其中在转录水平, p53 作为 DNA 序列特异性结合的转录因子调控 miRNA 的转录, 例如 miR-34 家族、miR-605、miR-143~145 和 miR-1246^[65-68] 几种生长抑制性 miRNA 启动子都含有 p53 的结合序列.

2.2 pri-miRNA 的加工调控

如果将成熟 miRNA 序列定义编码区, 那么 pri-miRNA 从转录起始位点到编码区这段序列定义为 5' 非编码区 (5'-uncoding region, 5' UCR). 研究显示, 超过 70% 的 miRNA 的 5' 非编码区大于 2 kb,

事实上用于 pri-miRNA 加工的序列至茎环结构两端都不超过 100 个碱基, 那么这么长的非编码序列到底有何功能? Mahony 等^[69]通过分析 145 个基因间 miRNA 的 5' 非编码区发现, 这些序列相对蛋白编码区的 5' UTR 更具保守性, 推测可能具有转录增强子与沉默子的作用位点.

众所周知, mRNA 具有 5' 帽子和 3' poly(A) 尾的结构特征, 可以维持 mRNA 稳定性, 并具有利于出核及翻译等功能. 而 pri-miRNA 也具有类似的结构, 但 pri-miRNA 却又在出核前加工去除了这些结构. 这些结构存在的意义为何? 可能的解释是 pri-miRNA 加工成为 pre-miRNA 的过程远比我们目前所认知的复杂. pri-miRNA 加帽、帽子结合复合物以及去帽等过程是否与 mRNA 相似, 我们都不得而知. Gruber 等^[70]研究发现 Ars2 (能够与核内 mRNA 帽子复合物相互作用的蛋白) 影响了一些 pri-miRNA 的加工, 包括 miR-21、let-7 和 miR-155.

核糖核酸酶 III Drosha 是目前已知在细胞核内加工 pri-miRNA 的关键蛋白. 微处理器 (microprocessor) 复合物包括 Drosha 和 DGCR8, 它们形成一个自身反馈调控, DGCR8 可以稳定 Drosha 的蛋白质水平, 而 Drosha 可通过对 DGCR8 的 mRNA 发卡结构的切割稳定 DGCR8 的 mRNA^[71]. 此外, DEAD-box RNA 解旋酶 p68 (DDX5)、p72 (DDX17)、异质核糖核蛋白复合物 (hnRNPs) 以及核因子 NF90、NF45、SMAD、EWSR1、FUS、ER α 等也在该复合体功能发挥中起着重要的作用.

p68 和 p72 与 RNA 加工密切相关, 如转录、剪切、RNA 降解、RNA 输出和翻译等^[72-74]. Fukuda 等^[75]通过实验证实, 在缺失 p72 和 p68 的小鼠胚胎中, 成熟 miRNA 的水平降低, 因此内源的 p68/p72 能促进 Drosha 对 pri-miRNA 的加工. 在 DNA 损伤条件下, 野生型的 p53 可以协同 p68 促进 Drosha 对某些 pri-miRNA 的加工, 如 miR-16-1、miR-143、miR-145 的 pri-miRNA^[76]. 然而突变型的 p53 却不能达到招募 Drosha 到 pri-miRNA 的功能, 反而会阻止 Drosha 复合物的聚合. 在 TGF- β 和 BMP 的诱导下, SMAD 与 p68 相互作用, 也能够促进 pri-miR-21 的加工^[77]. 在雌激素受体 α (ER α) 刺激下, 能够通过抑制 p68/p72 而阻止 Drosha 的切割^[78]. 因此, 在特定的刺激下, p68 和 Drosha 可通过 p53、SMAD、ER α 之间的蛋白质相互作用而促进 pri-miRNA 加工.

核不均一核糖核蛋白 A1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, hnRNP A1)与 pri-miR-18a 的末端茎环相结合,从而打开茎环结构并促进 Drosha/DGCR8 的加工^[79].此外, hnRNP A1 还可与 pri-let-7a-1 或 pri-miR-101-1 的末端环相结合^[80].相反,另一个 RNA 结合蛋白, KSRP(KH-type splicing regulatory protein),可以与 pri-miRNA 或 pre-miRNA 的末端茎环相结合,抑制 Drosha 或 Dicer 复合物的相互作用,从而减少 miRNA 的生成^[81-82].另外, NF90 和 NF45 含有双链 RNA 结合结构域,被证明能够与 pri-miRNA 结合,从而抑制 Drosha 的聚合,阻止 pri-miRNA 的加工^[83].

细胞核内存在 miRNA 加工成熟的调控,大多数调控蛋白都是与 Drosha 介导的 pri-miRNA 加工相关,它们或是促进或是抑制 Drosha 的作用,从而调节 miRNA 的加工.但是, Drosha/DGCR8 本身表达含量对 miRNA 加工的影响并非人们想象的那样广泛.事实上,在宫颈癌中发现,即使 Drosha 表达含量升高 2~7 倍,只有 miR-31 表达上调,而另外的差异 miRNA 表达水平却呈现下调^[84].在小鼠缺失 DGCR8 模型中,也只有 59 种成熟 miRNA 呈现温和下调^[85].这些结果都让人质疑 Drosha/DGCR8 在 miRNA 加工过程中的关键地位.一些研究者倾向于这些现象可能归因于 Drosha/DGCR8 相互的自身反馈调节,当然也不能排除 pri-miRNA 加工另有途径.至少体内已经发现不依赖于 Drosha 的 miRNA 加工方式,如: a. mirtron. 深度测序结果显示,在果蝇中 mirtron 具有潜在的发卡结构,能够不依赖于 microprocessor,直接形成 pre-miRNA 发卡结构并被 Dicer 切割^[86].随后不久相继在哺乳动物和植物中证实其存在^[87]. b. 内源性短发卡的内含子(endo-shRNA). 其能够直接生成包含两个类似 pre-miRNA 发卡结构的转录物,仅其中一个发卡生成 miRNA(如 miR-1980、miR-320 和 miR-484)^[88]. c. 核仁小 RNA(small nuclear RNA, snoRNA). 与 endo-shRNA 类似,某些 snoRNA 也是 pre-miRNA 的直接来源. d. 转运 RNA(tRNA)和病毒 miRNA 前体(MHV68). 是由 RNA 聚合酶 III 转录,再由 tRNA 加工酶 tRNaseZ 加工, tRNaseZ 能够切开 tRNA 3'端释放出 pre-miRNA^[89-90].

2.3 Pre-miRNA 的出核调控

在细胞核中 RanGTP 浓度较高, exportin-5 与 RanGTP 相结合,进而识别 pre-miRNA 的双链以及 3'突出末端,促使其从 Drosha 中解离^[91-93].通过核

孔复合物,将 pre-miRNA 从核内转运至细胞质.在细胞质中, RanGTP 水解成 RanGDP,释放出 pre-miRNA.目前,人们对 pre-miRNA 的出核机制调控了解得很少,但这种调控却真实存在.例如, pre-miR-31 在胰腺癌细胞 HS766T 中能够正常转运出核,而在乳腺癌细胞 MCF7 中却滞留在细胞核中,提示未知因子对 pre-miRNA 出核的调控作用^[94]. Yi 等^[95]研究结果显示,缺失 exportin-5 并没有发现 pre-miRNA 在核内的聚集,因此推测, exportin-5 具有稳定 pre-miRNA 的作用.然而, pre-miRNA 在细胞内的拷贝数远远大于 exportin-5 的拷贝数, exportin-5 如何维持众多 pre-miRNA 的稳定性? 我们实验室的研究首次发现 RMND5A 能够影响 exportin-5 的稳定性调控部分 miRNA 的出核,并且出现了 pre-miRNA 的核内聚集现象(待发表资料).这些看似矛盾的结果,需要对 pre-miRNA 的出核进行深入研究才能有合理的解释,包括 exportin-5 是否是 pre-miRNA 出核的唯一途径.

2.4 Pre-miRNA 加工水平的调控

在细胞质中, miRNA 加工成熟的关键蛋白 Dicer, 与 Tar RNA 结合蛋白(Tar RNA binding protein, TRBP)和 PKR 的蛋白激活因子(protein kinase R (PKR)-activating protein, PACT)以及 Ago(1-4)蛋白家族成员之一组成 RISC 复合物(RNA induced silencing complex)^[96-98]. TRBP 和 PACT 能够促进 RISC 的组装,但对 miRNA 的加工并不是必要的^[99].然而,磷酸化的 TRBP 可以维持 Dicer 复合物的稳定性^[100].过表达 TRBP 磷酸化的类似物可以提高 miRNA 的水平,如 miR-17、miR-20a、miR-92.

Ago2 是 RISC 复合物中的核心蛋白,对 miRNA 的生成有重要影响.过表达 Ago 家族蛋白(Ago1-4),可以上调一系列 miRNA 表达水平,包括 miR-215、miR-17-5p、miR-23b 和 miR-92^[101].我们实验室通过降低 AGO2 也发现了一系列 miRNA 表达水平下调,但是与文献报道的上调 miRNA 并不能完全对应(待发表资料).Ago2 还受 p38 MAPK 信号通路磷酸化以及胶原 I 型 4-脯氨酰羟化酶羟基化修饰而影响功能^[102].

近年来研究最清楚的 pre-miRNA 成熟调控模型是 LIN28 蛋白与 pre-let-7 的相互作用. Lin28A 和 Lin28B 是 let-7 miRNA 生物合成中的重要转录后抑制子.研究人员证实 Lin28A 主要是通过招募 TUTase (Zcchc11/TUT4)至 Let-7 前体介导末端尿苷

化, 从而阻断了细胞之中 Dicer 的处理过程及 let-7 的成熟. 而 Lin28B 则是在细胞核中以 Zcchc11 非依赖性机制阻断 let-7 加工的^[103].

最新研究发现不是所有的 miRNA 加工都依赖于 Dicer, 如 miR-451. pre-miR-451 可以由 Ago2 的切割活性生成 ac-pre-miRNA, 由于具有多聚尿苷酸化的特点, 进一步的加工成熟都不依赖于 Dicer. 哺乳动物的 4 个 Ago 蛋白中, 仅有 Ago2 维持有 DDH 基序和切割活性. Hannon 研究小组对 Ago2 突变的肝脏 miRNA 进行深度测序, 结果显示, 突变体中 miR-451 显著降低, 而其他 miRNA 与正常水平相当^[104]. 因此, Ago2 对于 miR-451 的生成至关重要. 通常的 miRNA 也有 ac-pre-miRNA 中间体, 也可以作为 Dicer 的底物, 却不像 miR-451 特异地由 Ago2 切割. 由 miR-451 的序列和结构的保守性可以推断, Ago2 介导的 miRNA 生成是进化保守的^[104-105].

2.5 miRNA 编辑

RNA 编辑作用通常发生在 pri-miRNA 水平, pri-miRNA 的腺苷酸被腺苷酸脱氨酶编辑, 经历 A 到 I 的转变. 根据预测, 人体内 16% 的 pri-miRNA 都经历腺苷(A)到肌苷(I)的编辑. Kawahara 等^[106]证实了在脑组织中, 作用于 RNA 的腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase that act on RNA, ADAR) 对 miRNA 前体的编辑能够调节成熟 miRNA 的靶标特异性. 组织特异性 miR-376 转录本的 A 转变成 I 导致编辑后的 miR-376 呈现优势表达, 而编辑热点位于 miRNA 的 5' 端与靶标配对的种子区域中部, 从而改变了 miR-376 的靶标特异性. 例如, 参与尿酸合成的磷酸核糖焦磷酸合成酶 1 是编辑后的 miR-376 的靶标, 该酶的抑制导致了尿酸水平在脑组织中特异性地严谨调控. 表达于造血组织的 miR-142 前体 pri-miR-142 的编辑抑制了 Drosha 的加工, 编辑后的 pri-miR-142 由 Tudor-SN 降解^[107]. miRNA 编辑从另一方面调控 miRNA 的动态变化^[108-111].

2.6 miRNA 的多态性影响 miRNA 的产生

目前看来在生物进化过程中, miRNA 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)基本呈现为中性特征, 主要位于 pre-miRNA 的茎环结构区和 miRNA 的种子区以外, 揭示了 miRNA 本身所具有的保守性和在生命活动中重要的地位^[112-113]. Duan 等^[114]对 227 个人类已知 miRNA 的 SNP 进行分析, 发现了 323 个 SNP, 其中 12 个位

于 miRNA 前体. 多数位点 SNP 并未对 miRNA 的功能产生影响, 但是成熟 miR-125a 第 8 个碱基存在 U/G 多态性, 其中 miR-125a 的 U 型产物阻碍了 pri-miRNA 向 pre-miRNA 的加工剪切. Wu 等^[115]检测了 100 余个肿瘤样本以及 20 多个肿瘤细胞系的 miRNA SNP, 结果发现 8 个新的 SNP 位点以及 14 个新的突变点, 其中在 let-7e 的第 19 个碱基存在 G-A 突变, 阻碍其表达, 可能与肿瘤形成相关. 位于 miRNA 种子区的 SNP 将影响 miRNA 与靶 mRNA 的相互作用, 但是 miRNA 种子区的多态性非常罕见, 其频率估计在 1% 以下. 相对于 SNP, 在肿瘤中更倾向于直接缺失 miRNA 位点来调控 miRNA 的数量. 例如, miR-15a/16 基因簇位于 13q14, 目前证明具有抑癌作用, 已经发现慢性淋巴细胞性白血病、非小细胞肺癌以及去分化肝细胞癌都存在该位点的缺失, 直接引起 miR-15a/16 表达下调^[116]. 在肺癌中常见 5q33 的缺失, 并可以检测到 miR-143 和 miR-145 表达下调, 研究证明这两个 miRNA 定位于 5q33^[117].

3 miRNA 靶标的动态变化与功能性靶标

每种 microRNA 针对着数个甚至上百个潜在靶基因. 越来越多的实验证据表明, 不同的细胞或同一细胞的不同状态, 某一特定 miRNA 可调控的靶标是不完全相同的, 是动态变化的. 为此, 我们提出了 miRNA 功能靶标的概念^[118]. 那么, 什么原因导致 miRNA 靶标的时空特异性及动态变化? 我们认为从以下两个方面可能得到比较合理的解释.

3.1 竞争性内源 RNA 调控网络

目前认为 miRNA 与靶标 mRNA 的比例对于 miRNA 的功能发挥至关重要: 即如果调节本身低表达的 miRNA 对其靶标的影响甚微, 调控高表达的 miRNA, 将会对靶标的功能具有更深远的作用^[119]. Seitz^[120]提出竞争性内源 RNA 假说, 具有相同 miRNA 应答元件的 mRNA、假基因转录物、长链非编码 RNA 等转录物通过竞争性结合同种 miRNA 来调节各自的表达水平, 从而影响生物学功能. 事实上这一假说在 PTEN^[121]、VACN^[122]和 CD44^[123]的调控过程中得到证实. 我们课题组在研究 miRNA 与靶标 mRNA 相互作用过程中, 发现了同一 miRNA 的不同靶标具有竞争作用, 而这种竞争作用体现在 mRNA 细胞质与细胞核分布比例高低, 即靶标 mRNA 质 / 核比例高更容易被 miRNA 选择调控, 成为 miRNA 的功能靶标. 在不同细胞

中,或者同一细胞不同状态下,功能靶标是动态变化的,与之对应的 mRNA 质核比也是动态变化的,并且具有很好的一致性.虽然 mRNA 质核比的调控以及 miRNA 的优势选择机制都不清楚,但不妨碍将这一结果用于预测与验证 miRNA 在特定时空的功能靶^[118].

3.2 靶 mRNA 的单核苷酸多态性影响 miRNA 与靶基因的相互作用

与 miRNA 多态性相比,靶基因 3'UTR 的多态性更加丰富. miRNA 的靶基因 3'端发生突变并不影响蛋白质的序列,但可以引起蛋白质表达异常.靶基因 3'端突变阻碍 miRNA 结合,引起 miRNA 蛋白质合成抑制作用丧失.这种现象已在头颈部鳞状细胞癌、结肠癌、乳腺癌、糖尿病以及心血管疾病等相关基因中得到证明,显示出肿瘤中靶标对 miRNA 调控的逃逸现象^[124].基因 3'端突变产生新的 miRNA 结合位点,可以使基因表达抑制,在 mRNA 没有变化的前提下引起蛋白质合成下降. Sandberg 等^[125]还报道了在增殖细胞中 mRNA 3'UTR 保守性的缩短,导致 miRNA 靶位点减少或丧失,从而逃避 miRNA 的负调控.靶基因 3'端多态性或突变可以解释 mRNA 表达未发生变化而蛋白质翻译产生变化的生物学机制,尤其为肿瘤生物学提供了新的研究方向.

4 总结与展望

miRNA 的加工成熟过程并不是单一线性的,是纷繁复杂的,它具有时空转换性,多水平调节性.从细胞核内转录水平的调控, Drosha 关键蛋白的切割(及不依赖 Drosha 的方式),前体 miRNA 出核以及在细胞质中另一个关键蛋白 Dicer 的加工成熟(及不依赖 Dicer 的方式),这其中每一步都会受到各种调节因子的调控.不同细胞或同一细胞不同状态上述调节因子都会发生相应改变,最终会导致 miRNA 产生的时空特异性和动态变化.另外,一些目前未知的因素是否有可能引起 miRNA 的时空差异和动态变化还不得而知.譬如,目前体内发现的大量循环 miRNA,它们的产生和细胞间转移极有可能引起 miRNA 的时空差异和动态变化,深入开展这方面的研究,也许会使 miRNA 的时空变化更丰富多彩.充分认识到 miRNA 及其靶标的时空特异性及其动态变化,探索相关机制对于开展 miRNA 的研究非常重要,它能使我们更客观地理解 miRNA 的生物学作用及其调控网络的复杂性,

也应是今后 miRNA 研究的重要方向之一.

参 考 文 献

- [1] Filipowicz W, Bhattacharyya S N, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight. *Nat Rev Genet*, 2008, **9**(2): 102-114
- [2] Grimson A, Srivastava M, Fahey B, *et al.* Early origins and evolution of microRNAs and Piwi-interacting RNAs in animals. *Nature*, 2008, **455**(7217): 1193-1197
- [3] Technau U. Evolutionary biology: Small regulatory RNAs pitch in. *Nature*, 2008, **455**(7217): 1184-1185
- [4] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009, **136**(2): 215-233
- [5] Friedman R C, Farh K K, Burge C B, *et al.* Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 2009, **19**(1): 92-105
- [6] Bushati N, Cohen S M. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, **23**: 175-205
- [7] Montserrat E, Moreno C. Genetic lesions in chronic lymphocytic leukemia: clinical implications. *Curr Opin Oncol*, 2009, **21**(6): 609-614
- [8] Davalos V, Esteller M. MicroRNAs and cancer epigenetics: a macroevolution. *Curr Opin Oncol*, 2010, **22**(1): 35-45
- [9] Kim V N, Nam J W. Genomics of microRNA. *Trends Genet*, 2006, **22**(3): 165-173
- [10] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, **116**(2): 281-297
- [11] Bohnsack M T, Czapinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA*, 2004, **10**(2): 185-191
- [12] Okamura K, Phillips M D, Tyler D M, *et al.* The regulatory activity of microRNA* species has substantial influence on microRNA and 3' UTR evolution. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, **15**(4): 354-363
- [13] Babak T, Zhang W, Morris Q, *et al.* Probing microRNAs with microarrays: tissue specificity and functional inference. *RNA*, 2004, **10**(11): 1813-1819
- [14] Liang Y, Ridzon D, Wong L, *et al.* Characterization of microRNA expression profiles in normal human tissues. *BMC Genomics*, 2007, **8**(1): 166-185
- [15] Bussing I, Slack F J, Grosshans H. let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer. *Trends Mol Med*, 2008, **14**(9): 400-409
- [16] Krichevsky A M, King K S, Donahue C P, *et al.* A microRNA array reveals extensive regulation of microRNAs during brain development. *RNA*, 2003, **9**(10): 1274-1281
- [17] Miska E A, Alvarez-Saavedra E, Townsend M, *et al.* Microarray analysis of microRNA expression in the developing mammalian brain. *Genome Biol*, 2004, **5**(9): R68
- [18] Kosik K S, Krichevsky A M. The elegance of the microRNAs: a neuronal perspective. *Neuron*, 2005, **47**(6): 779-782
- [19] Sun A X, Crabtree G R, Yoo A S. MicroRNAs: regulators of neuronal fate. *Curr Opin Cell Biol*, 2013, **25**(2): 215-221
- [20] Jovicic A, Roshan R, Moiso N, *et al.* Comprehensive expression

- analyses of neural cell-type-specific miRNAs identify new determinants of the specification and maintenance of neuronal phenotypes. *J Neurosci*, 2013, **33**(12): 5127–5137
- [21] O'Carroll D, Schaefer A. General principals of miRNA biogenesis and regulation in the brain. *Neuropsychopharmacology*, 2013, **38**(1): 39–54
- [22] Jeffrey S S. Cancer biomarker profiling with microRNAs. *Nat Biotechnol*, 2008, **26**(4): 400–401
- [23] Williams Z, Ben-Dov I Z, Elias R, *et al.* Comprehensive profiling of circulating microRNA *via* small RNA sequencing of cDNA libraries reveals biomarker potential and limitations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(11): 4255–4260
- [24] Michael M Z, O' C S M, van Holst Pellekaan N G, *et al.* Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*, 2003, **1**(12): 882–891
- [25] Thomson J M, Newman M, Parker J S, *et al.* Extensive post-transcriptional regulation of microRNAs and its implications for cancer. *Genes Dev*, 2006, **20**(16): 2202–2207
- [26] Yang M, Shen H, Qiu C, *et al.* High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*, 2013, **49**(3): 604–615
- [27] Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, *et al.* A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res*, 2005, **65**(21): 9628–9632
- [28] Osada H, Takahashi T. let-7 and miR-17-92: small-sized major players in lung cancer development. *Cancer Sci*, 2011, **102**(1): 9–17
- [29] Lu J, Getz G, Miska E A, *et al.* MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 2005, **435**(7043): 834–838
- [30] Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, *et al.* MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol*, 2008, **26**(4): 462–469
- [31] He L, Hannon G J. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*, 2004, **5**(7): 522–531
- [32] Miska E A. How microRNAs control cell division, differentiation and death. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, **15**(5): 563–568
- [33] Smith-Vikos T, Slack F J. MicroRNAs and their roles in aging. *J Cell Sci*, 2012, **125**(Pt 1): 7–17
- [34] Espinoza-Lewis R A, Wang D Z. MicroRNAs in heart development. *Curr Top Dev Biol*, 2012, **100**(1): 279–317
- [35] Monteys A M, Spengler R M, Wan J, *et al.* Structure and activity of putative intronic miRNA promoters. *RNA*, 2010, **16**(3): 495–505
- [36] Sun Y H, Shi R, Zhang X H, *et al.* MicroRNAs in trees. *Plant Mol Biol*, 2012, **80**(1): 37–53
- [37] Baskerville S, Bartel D P. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA*, 2005, **11**(3): 241–247
- [38] Fujita S, Ito T, Mizutani T, *et al.* miR-21 Gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism. *J Mol Biol*, 2008, **378**(3): 492–504
- [39] Oszolak F, Poling L L, Wang Z, *et al.* Chromatin structure analyses identify miRNA promoters. *Genes Dev*, 2008, **22**(22): 3172–3183
- [40] Corcoran D L, Pandit K V, Gordon B, *et al.* Features of mammalian microRNA promoters emerge from polymerase II chromatin immunoprecipitation data. *PLOS ONE*, 2009, **4**(4): e5279
- [41] Lee Y, Kim M, Han J, *et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J*, 2004, **23**(20): 4051–4060
- [42] Bracken C P, Gregory P A, Kolesnikoff N, *et al.* A double-negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res*, 2008, **68**(19): 7846–7854
- [43] Baskerville S, Bartel D P. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA*, 2005, **11**(3): 241–247
- [44] Song G, Wang L. Transcriptional mechanism for the paired miR-433 and miR-127 genes by nuclear receptors SHP and ERRgamma. *Nucleic Acids Res*, 2008, **36**(18): 5727–5735
- [45] Baer C, Claus R, Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res*, 2013, **73**(2): 473–477
- [46] Tardito D, Mallei A, Popoli M. Lost in translation. New unexplored avenues for neuropsychopharmacology: epigenetics and microRNAs. *Expert Opin Investig Drugs*, 2013, **22**(2): 217–233
- [47] Lujambio A, Calin G A, Villanueva A, *et al.* A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(36): 13556–13561
- [48] Lujambio A, Esteller M. How epigenetics can explain human metastasis: a new role for microRNAs. *Cell Cycle*, 2009, **8**(3): 377–382
- [49] Hu H, Li S, Cui X, *et al.* The overexpression of hypomethylated miR-663 induces chemotherapy resistance in human breast cancer cells by targeting heparin sulfate proteoglycan 2 (HSPG2). *J Biol Chem*, 2013, **288**(16): 10973–10985
- [50] Szenthe K, Koroknai A, Banati F, *et al.* The 5' regulatory sequences of active miR-146a promoters are hypomethylated and associated with euchromatic histone modification marks in B lymphoid cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, **433**(4): 489–495
- [51] Brueckner B, Stresemann C, Kuner R, *et al.* The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function. *Cancer Res*, 2007, **67**(4): 1419–1423
- [52] Nasser M W, Datta J, Nuovo G, *et al.* Down-regulation of micro-RNA-1 (miR-1) in lung cancer. Suppression of tumorigenic property of lung cancer cells and their sensitization to doxorubicin-induced apoptosis by miR-1. *J Biol Chem*, 2008, **283**(48): 33394–33405
- [53] Scott G K, Mattie M D, Berger C E, *et al.* Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition. *Cancer Res*, 2006, **66**(3): 1277–1281
- [54] Xie W, Song C, Young N L, *et al.* Histone h3 lysine 56 acetylation is linked to the core transcriptional network in human embryonic stem cells. *Mol Cell*, 2009, **33**(4): 417–427
- [55] Baer C, Claus R, Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res*, 2013, **73**(2): 473–477
- [56] Fabbri M, Calore F, Paone A, *et al.* Epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Adv Exp Med Biol*, 2013, **754**(1): 137–148

- [57] Agirre X, Martinez-Climent J A, Odero M D, *et al.* Epigenetic regulation of miRNA genes in acute leukemia. *Leukemia*, 2012, **26**(3): 395–403
- [58] Wang Z, Yao H, Lin S, *et al.* Transcriptional and epigenetic regulation of human microRNAs. *Cancer Lett*, 2013, **331**(1): 1–10
- [59] Aguda B D. Modeling microRNA-transcription factor networks in cancer. *Adv Exp Med Biol*, 2013, **774**(1): 149–167
- [60] Sun J, Gong X, Purow B, *et al.* Uncovering microRNA and transcription factor mediated regulatory networks in glioblastoma. *PLoS Comput Biol*, 2012, **8**(7): e1002488
- [61] Bisognin A, Sales G, Coppe A, *et al.* MAGIA(2): from miRNA and genes expression data integrative analysis to microRNA-transcription factor mixed regulatory circuits (2012 update). *Nucleic Acids Res*, 2012, **40**(Web Server issue): W13–21
- [62] Qiu C, Wang J, Yao P, *et al.* microRNA evolution in a human transcription factor and microRNA regulatory network. *BMC Syst Biol*, 2010, **4**(1): 90
- [63] O'Donnell K A, Wentzel E A, Zeller K I, *et al.* c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 2005, **435**(7043): 839–843
- [64] Chang T C, Yu D, Lee Y S, *et al.* Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis. *Nat Genet*, 2008, **40**(1): 43–50
- [65] Chang T C, Wentzel E A, Kent O A, *et al.* Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell*, 2007, **26**(5): 745–752
- [66] 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
- [67] Suh S O, Chen Y, Zaman M S, *et al.* MicroRNA-145 is regulated by DNA methylation and p53 gene mutation in prostate cancer. *Carcinogenesis*, 2011, **32**(5): 772–778
- [68] Xiao J, Lin H, Luo X, *et al.* miR-605 joins p53 network to form a p53: miR-605: Mdm2 positive feedback loop in response to stress. *EMBO J*, 2011, **30**(3): 524–532
- [69] Mahony S, Corcoran D L, Feingold E, *et al.* Regulatory conservation of protein coding and microRNA genes in vertebrates: lessons from the opossum genome. *Genome Biol*, 2007, **8**(5): R84
- [70] Gruber J J, Zatechka D S, Sabin L R, *et al.* Ars2 links the nuclear cap-binding complex to RNA interference and cell proliferation. *Cell*, 2009, **138**(2): 328–339
- [71] Han J, Pedersen J S, Kwon S C, *et al.* Posttranscriptional crossregulation between Drosha and DGCR8. *Cell*, 2009, **136**(1): 75–84
- [72] Fuller-Pace F V. DEXD/H box RNA helicases: multifunctional proteins with important roles in transcriptional regulation. *Nucleic Acids Res*, 2006, **34**(15): 4206–4215
- [73] Moore H C, Johnston M, Nicol S M, *et al.* An evolutionarily conserved, alternatively spliced, intron in the p68/DDX5 DEAD-box RNA helicase gene encodes a novel miRNA. *RNA*, 2011, **17**(4): 555–562
- [74] Fuller-Pace F V, Moore H C. RNA helicases p68 and p72: multifunctional proteins with important implications for cancer development. *Future Oncol*, 2011, **7**(2): 239–251
- [75] Fukuda T, Yamagata K, Fujiyama S, *et al.* DEAD-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of microRNAs. *Nat Cell Biol*, 2007, **9**(5): 604–611
- [76] Suzuki H I, Yamagata K, Sugimoto K, *et al.* Modulation of microRNA processing by p53. *Nature*, 2009, **460**(7254): 529–533
- [77] Davis B N, Hilyard A C, Lagna G, *et al.* SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. *Nature*, 2008, **454**(7200): 56–61
- [78] Yamagata K, Fujiyama S, Ito S, *et al.* Maturation of microRNA is hormonally regulated by a nuclear receptor. *Mol Cell*, 2009, **36**(2): 340–347
- [79] Michlewski G, Guil S, Semple C A, *et al.* Posttranscriptional regulation of miRNAs harboring conserved terminal loops. *Mol Cell*, 2008, **32**(3): 383–393
- [80] Michlewski G, Caceres J F. Antagonistic role of hnRNP A1 and KSRP in the regulation of let-7a biogenesis. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, **17**(8): 1011–1018
- [81] Gherzi R, Lee K Y, Briata P, *et al.* A KH domain RNA binding protein, KSRP, promotes ARE-directed mRNA turnover by recruiting the degradation machinery. *Mol Cell*, 2004, **14**(5): 571–583
- [82] Garcia-Mayoral M F, Hollingworth D, Masino L, *et al.* The structure of the C-terminal KH domains of KSRP reveals a noncanonical motif important for mRNA degradation. *Structure*, 2007, **15**(4): 485–498
- [83] Sakamoto S, Aoki K, Higuchi T, *et al.* The NF90-NF45 complex functions as a negative regulator in the microRNA processing pathway. *Mol Cell Biol*, 2009, **29**(13): 3754–3769
- [84] Muralidhar B, Goldstein L D, Ng G, *et al.* Global microRNA profiles in cervical squamous cell carcinoma depend on Drosha expression levels. *J Pathol*, 2007, **212**(4): 368–377
- [85] Stark K L, Xu B, Bagchi A, *et al.* Altered brain microRNA biogenesis contributes to phenotypic deficits in a 22q11-deletion mouse model. *Nat Genet*, 2008, **40**(6): 751–760
- [86] Okamura K, Hagen J W, Duan H, *et al.* The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell*, 2007, **130**(1): 89–100
- [87] Ruby J G, Jan C H, Bartel D P. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*, 2007, **448**(7149): 83–86
- [88] Ender C, Krek A, Friedlander M R, *et al.* A human snoRNA with microRNA-like functions. *Mol Cell*, 2008, **32**(4): 519–528
- [89] Haussecker D, Huang Y, Lau A, *et al.* Human tRNA-derived small RNAs in the global regulation of RNA silencing. *RNA*, 2010, **16**(4): 519–528
- [90] Sobala A, Hutvagner G. Small RNAs derived from the 5' end of tRNA can inhibit protein translation in human cells. *RNA Biol*, 2013, **10**(4): 553–563
- [91] Zeng Y, Cullen B R. Structural requirements for pre-microRNA

- binding and nuclear export by Exportin 5. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32**(16): 4776–4785
- [92] Leisegang M S, Martin R, Ramirez A S, *et al*. Exportin t and Exportin 5: tRNA and miRNA biogenesis - and beyond. *Biol Chem*, 2012, **393**(7): 599–604
- [93] Wang X, Xu X, Ma Z, *et al*. Dynamic mechanisms for pre-miRNA binding and export by Exportin-5. *RNA*, 2011, **17**(8): 1511–1528
- [94] Lee E J, Baek M, Gusev Y, *et al*. Systematic evaluation of microRNA processing patterns in tissues, cell lines, and tumors. *RNA*, 2008, **14**(1): 35–42
- [95] Yi R, Qin Y, Macara I G, *et al*. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev*, 2003, **17**(24): 3011–3016
- [96] Chendrimada T P, Gregory R I, Kumaraswamy E, *et al*. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature*, 2005, **436**(7051): 740–744
- [97] Haase A D, Jaskiewicz L, Zhang H, *et al*. TRBP, a regulator of cellular PKR and HIV-1 virus expression, interacts with Dicer and functions in RNA silencing. *EMBO Rep*, 2005, **6**(10): 961–967
- [98] Lehrbach N J, Miska E A. Regulation of pre-miRNA processing. *Adv Exp Med Biol*, 2010, **700**(1): 67–75
- [99] Lee Y, Hur I, Park S Y, *et al*. The role of PACT in the RNA silencing pathway. *EMBO J*, 2006, **25**(3): 522–532
- [100] Paroo Z, Ye X, Chen S, *et al*. Phosphorylation of the human microRNA-generating complex mediates MAPK/Erk signaling. *Cell*, 2009, **139**(1): 112–122
- [101] Diederichs S, Haber D A. Dual role for argonautes in microRNA processing and posttranscriptional regulation of microRNA expression. *Cell*, 2007, **131**(6): 1097–1108
- [102] Zeng Y, Sankala H, Zhang X, *et al*. Phosphorylation of Argonaute 2 at serine-387 facilitates its localization to processing bodies. *Biochem J*, 2008, **413**(3): 429–436
- [103] Piskounova E, Polyarchou C, Thornton J E, *et al*. Lin28A and Lin28B inhibit let-7 microRNA biogenesis by distinct mechanisms. *Cell*, 2011, **147**(5): 1066–1079
- [104] Cheloufi S, Dos S C O, Chong M M, *et al*. A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis. *Nature*, 2010, **465**(7298): 584–589
- [105] Cifuentes D, Xue H, Taylor D W, *et al*. A novel miRNA processing pathway independent of Dicer requires Argonaute2 catalytic activity. *Science*, 2010, **328**(5986): 1694–1698
- [106] Kawahara Y, Zinshteyn B, Sethupathy P, *et al*. Redirection of silencing targets by adenosine-to-inosine editing of miRNAs. *Science*, 2007, **315**(5815): 1137–1140
- [107] Yang W, Chendrimada T P, Wang Q, *et al*. Modulation of microRNA processing and expression through RNA editing by ADAR deaminases. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, **13**(1): 13–21
- [108] Kawahara Y, Zinshteyn B, Sethupathy P, *et al*. Redirection of silencing targets by adenosine-to-inosine editing of miRNAs. *Science* (80-), 2007, **315**(5815): 1137–1140
- [109] Peng Z, Cheng Y, Tan B C, *et al*. Comprehensive analysis of RNA-Seq data reveals extensive RNA editing in a human transcriptome. *Nat Biotechnol*, 2012, **30**(3): 253–260
- [110] Choudhury Y, Tay F C, Lam D H, *et al*. Attenuated adenosine-to-inosine editing of microRNA-376a* promotes invasiveness of glioblastoma cells. *J Clin Invest*, 2012, **122**(11): 4059–4076
- [111] Habis J W, Dale T, Bass B L. miRNA editing—we should have inosine this coming. *Mol Cell*, 2007, **25**(6): 792–793
- [112] Gong J, Tong Y, Zhang H M, *et al*. Genome-wide identification of SNPs in microRNA genes and the SNP effects on microRNA target binding and biogenesis. *Hum Mutat*, 2012, **33**(1): 254–263
- [113] Barenboim M, Zoltick B J, Guo Y, *et al*. MicroSNiPer: a web tool for prediction of SNP effects on putative microRNA targets. *Hum Mutat*, 2010, **31**(11): 1223–1232
- [114] Duan R, Pak C, Jin P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA. *Hum Mol Genet*, 2007, **16**(9): 1124–1131
- [115] Wu M, Jolicoeur N, Li Z, *et al*. Genetic variations of microRNAs in human cancer and their effects on the expression of miRNAs. *Carcinogenesis*, 2008, **29**(9): 1710–1716
- [116] Bandi N, Zbinden S, Gugger M, *et al*. miR-15a and miR-16 are implicated in cell cycle regulation in a Rb-dependent manner and are frequently deleted or down-regulated in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*, 2009, **69**(13): 5553–5559
- [117] Diederichs S, Haber D A. Sequence variations of microRNAs in human cancer: alterations in predicted secondary structure do not affect processing. *Cancer Res*, 2006, **66**(12): 6097–6104
- [118] Li J, Xia W, Huang B, *et al*. A strategy to rapidly identify the functional targets of microRNAs by combining bioinformatics and mRNA cytoplasmic/nucleic ratios in culture cells. *FEBS Lett*, 2010, **584**(14): 3198–3202
- [119] Arvey A, Larsson E, Sander C, *et al*. Target mRNA abundance dilutes microRNA and siRNA activity. *Mol Syst Biol*, 2010, **6**(1): 363–369
- [120] Seitz H. Redefining microRNA targets. *Curr Biol*, 2009, **19**(10): 870–873
- [121] Poliseno L, Salmena L, Zhang J, *et al*. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*, 2010, **465**(7301): 1033–1038
- [122] Lee D Y, Jeyapalan Z, Fang L, *et al*. Expression of versican 3'-untranslated region modulates endogenous microRNA functions. *PLOS ONE*, 2010, **5**(10): e13599
- [123] Jeyapalan Z, Deng Z, Shatseva T, *et al*. Expression of CD44 3'-untranslated region regulates endogenous microRNA functions in tumorigenesis and angiogenesis. *Nucleic Acids Res*, 2011, **39**(8): 3026–3041
- [124] Kontorovich T, Levy A, Korostishevsky M, *et al*. Single nucleotide polymorphisms in miRNA binding sites and miRNA genes as breast/ovarian cancer risk modifiers in Jewish high-risk women. *Int J Cancer*, 2010, **127**(3): 589–597
- [125] Sandberg R, Neilson J R, Sarma A, *et al*. Proliferating cells express mRNAs with shortened 3' untranslated regions and fewer microRNA target sites. *Science*, 2008, **320**(5883): 1643–1647

Time and Space Specificity and Dynamic Change of microRNA and Its Targets*

LI Jie, QIN Xing-Liang, SHAO Ning-Sheng**

(Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

Abstract MicroRNA(miRNA) are endogenous ~22 nt non-coding small RNAs broadly expressed in plants and mammals. MiRNAs are involved in the negative regulation of gene expression through the targeting of mRNAs during the process and activity of life such as cell proliferation and differentiation, apoptosis as well as the development of diseases. Recently, numerous studies have demonstrated that the expression of miRNA is of time and tissue specificity. It has been predicted that each miRNA may target more than one or hundreds of mRNAs. In addition, the functional targets of miRNAs may be different in different cells or the different states of the same cell. All these results suggested that miRNA and its functional targets may be dynamically variable with the time and space. MiRNAs may play complex roles in human body. In this paper the dynamic change of miRNA and its targets has been reviewed and it may provide new idea for the study of miRNAs.

Key words microRNA, target gene, time and space specificity, dynamic change

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00281

* This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2011CB811300, 2010CB912801) and The National Natural Science Foundation of China (31100569, 30971630).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-66932311, E-mail: shaonsh@hotmail.com

Received: June 20, 2013 Accepted: June 26, 2013