

# 环状RNA: 竞争性内源RNA新成员

夏天 蒋孝明 陈晓敏 邵永富 肖丙秀\* 郭俊明\*

(宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211)

**摘要** 环状RNA(circRNA)广泛存在于各种生物细胞中, 具有结构稳定、丰度高和组织特异性表达等特征。最近的研究表明, 一些circRNA作为竞争性内源RNA(ceRNA)来发挥基因表达调控的作用。circRNA利用其microRNA(miRNA)应答元件结合miRNA, 以阻断miRNA对其靶标表达的抑制作用, 从而调控其他相关RNA的表达水平。circRNA在基因表达调控中重要作用的发现不仅丰富了人们对ceRNA调控网络的认识, 而且提示circRNA在药物开发和疾病诊治中具有良好的应用前景。

**关键词** 环状RNA; 竞争性内源RNA; microRNA; 基因表达调控

## Circular RNA: A New Member of Competing Endogenous RNAs

Xia Tian, Jiang Xiaoming, Chen Xiaomin, Shao Yongfu, Xiao Bingxiu\*, Guo Junming\*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Ningbo University School of Medicine, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo 315211, China)

**Abstract** Circular RNAs (circRNAs) are broadly found in various species' cells. They have several characteristics including structural stability, high expression and expression in a tissue-specific manner. Recent studies have demonstrated that several circRNAs regulate gene expression acting as competing endogenous RNAs (ceRNAs). circRNAs sequester microRNAs (miRNAs) to terminate suppression of their targets and modulate the expression level of other related RNA molecules, which share the same miRNA response elements (MREs). The findings of circRNAs' function in gene expression not only expand our understanding about ceRNA regulation network, but also indicate that circRNAs might be developed as potential drugs and used in disease diagnosis and treatment.

**Key words** circular RNA; competing endogenous RNA; microRNA; gene expression regulation

环状RNA(circular RNA, circRNA)是一类通常由一个以上外显子构成的环形RNA分子<sup>[1]</sup>。以往, 对circRNA的了解主要来自病毒、类病毒和拟病毒<sup>[2-3]</sup>, 来源于其他生物体的circRNA鲜有报道。早在1980年, Arnberg等<sup>[4]</sup>在酵母线粒体中发现了circRNA; 1993

年, Cocquerelle等<sup>[5]</sup>又在人体细胞中发现了circRNA。在过去的30多年间, 研究人员仅发现了少数几种circRNA<sup>[6-13]</sup>。近年来, RNA测序(RNA sequencing, RNA-seq)和生物信息学技术的快速发展, 使大规模分析转录组数据成为可能。Salzman等<sup>[14]</sup>的研究表

收稿日期: 2013-07-28 接受日期: 2013-09-02

国家自然科学基金(批准号: 81171660)、宁波市自然科学基金(批准号: 2012A610207)、宁波市科技创新团队项目(批准号: 2011B82014)、宁波市重点学科项目(批准号: XKL11D2127、XKL11D2128)和宁波大学优秀学位论文培育基金(批准号: PY2012004)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0574-87600758, E-mail: xiaobingxiu@nbu.edu.cn; Tel: 0574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

Received: July 28, 2013 Accepted: September 2, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81171660), the Natural Science Foundation of Ningbo (Grant No.2012A610207), the Scientific Innovation Team Project of Ningbo (Grant No.2011B82014), the Project of Key Disciplines in Ningbo (Grant No.XKL11D2127, XKL11D2128) and the Outstanding (Postgraduate) Dissertation Growth Foundation of Ningbo University (Grant No.PY2012004)

\*Corresponding authors. Tel: +86-574-87600758, E-mail: xiaobingxiu@nbu.edu.cn; Tel: +86-574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2013-10-15 16:44 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131015.1644.001.html>

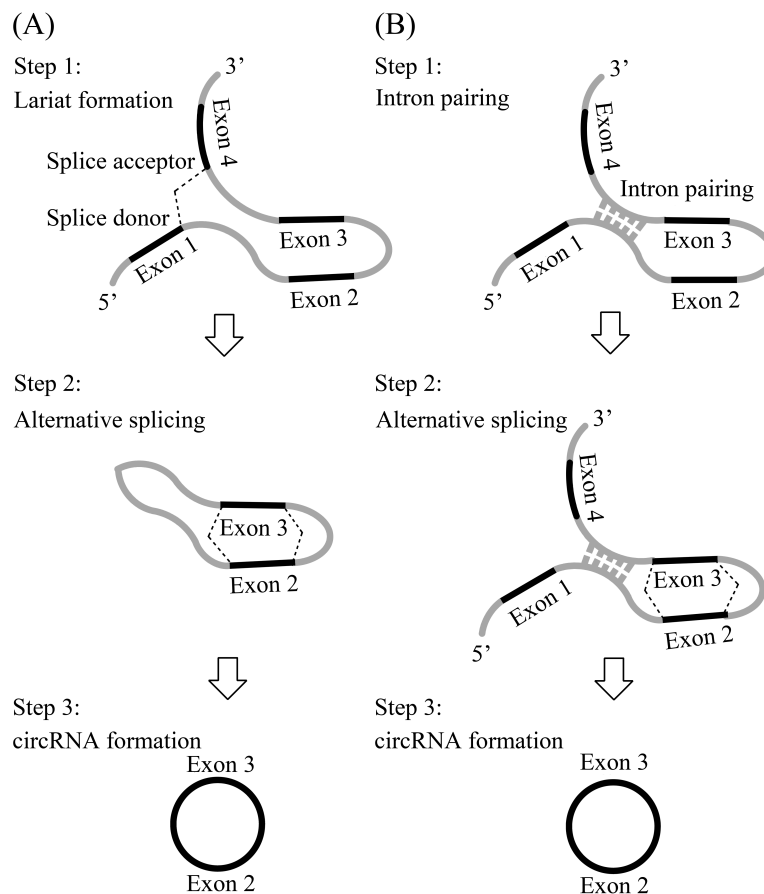
明, 数以百计的人类基因表达circRNA; 而Jeck等<sup>[1]</sup>在人类成纤维细胞中检测到了高达25 000多种的circRNA; Memczak等<sup>[15]</sup>则从RNA-seq数据中鉴定出约2 000种人类circRNA、1 900种小鼠circRNA和700种线虫circRNA。此外, circRNA也被证明普遍存在于古生菌细胞中<sup>[16]</sup>。

迄今为止, 虽然我们对这些circRNA的具体生物学功能还知之甚少, 然而最近的两项研究表明, 一些circRNA可以竞争性内源RNA(competiting endogenous RNA, ceRNA)角色发挥基因表达调控的作用<sup>[15,17]</sup>。circRNA通过结合microRNA(miRNA)来阻断后者对靶RNA的抑制作用, 从而调控miRNA靶标的表达水平<sup>[18]</sup>。另外, 在生物体中普遍存在的circRNA很可能是一类重要的新型转录后调控因子, 具有调控其他RNA水平、调节蛋白质活性和作为蛋白质合成的模板等功能。为此本文介绍其发生机制、特征、功能和应用前景。

## 1 circRNA的发生机制与特征

在RNA转录后加工过程中, 选择性剪接是生成成熟RNA的关键步骤。这一步骤除了产生线性RNA外, 还产生其他3种RNA: 套索内含子(lariat intron)、Y结构内含子(Y-structure intron)和circRNA<sup>[19-20]</sup>。套索内含子和Y结构内含子分别是顺式剪接和反式剪接的中间产物, 那么circRNA是如何产生的呢? Jeck等<sup>[1]</sup>提出了circRNA发生的两种模型: 套索驱动的环化(lariat-driven circularization)和内含子配对驱动的环化(intron-pairing-driven circularization)。它们生成的第一步是不同的(图1): 套索驱动的环化由外显子组成的剪接供体(splice donor)和剪接受体(splice acceptor)共价结合, 而内含子配对驱动的环化则由2个内含子互补配对结合, 从而形成环状结构。在接下来的步骤中, 这两种模型的过程基本一致, 即: 剪接体(splicesome)切除剩余内含子和形成circRNA<sup>[1]</sup>。

根据目前的研究, circRNA具有如下特征: (1)大



A: 套索驱动的环化; B: 内含子配对驱动的环化。

A: lariat-driven circularization; B: intron-pairing-driven circularization.

图1 circRNA的生成机制

Fig.1 Mechanisms of circRNA formation

多数定位于细胞质, 且序列高度保守<sup>[1,14]</sup>; (2)比线性RNA更稳定, 不易被降解<sup>[1,15]</sup>; (3)许多circRNA表达水平与线性RNA的表达水平相当, 一些circRNA的表达水平甚至超过它们的线性异构体10倍<sup>[1,14]</sup>; (4)大多数来自蛋白质编码基因的外显子<sup>[1,14-15]</sup>; (5)一些circRNA拥有miRNA应答元件(miRNA response element, MRE), 能与miRNA相互作用<sup>[1,21]</sup>; (6)大部分是非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA)<sup>[1]</sup>。

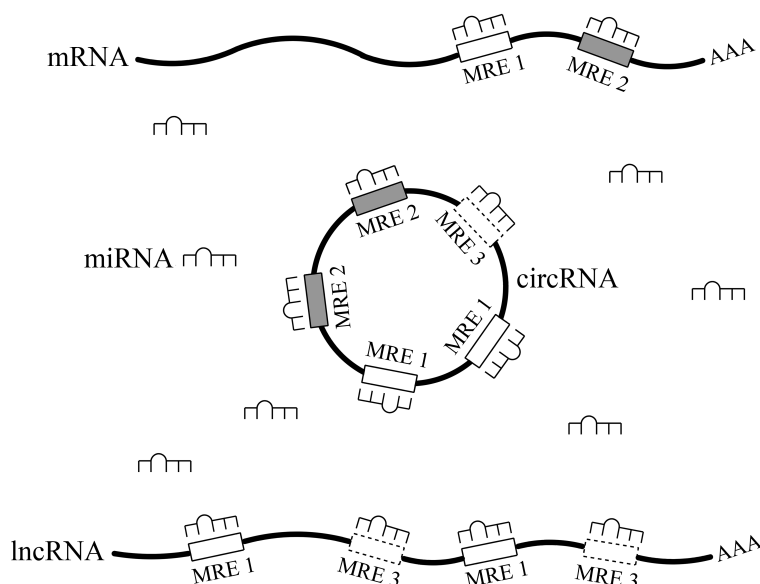
上述特征使circRNA具备了成为一类高效ceRNA的可能性。几种ceRNA分子间通过竞争性结合共同的miRNA来相互调控各自的表达水平, 从而实现基因表达调控的作用<sup>[22-24]</sup>。位于细胞质中的circRNA具有结构较稳定、高丰度表达的特征, 这使它们能发挥ceRNA功能, 较持久、迅速地调控miRNA水平。

由于大多数circRNA由蛋白质编码基因的外显子构成, 所以它们可以与线性RNA异构体(即mRNA)共享MRE, 从而调控蛋白质的表达水平, 起着类似于假基因转录物的调控作用<sup>[25]</sup>。Salmena等<sup>[22]</sup>认为, ncRNA比编码RNA更适合作为ceRNA, 因为它们不受翻译活性的干扰。例如, 一种称为“linc-RoR”的长链非编码RNA(long noncoding RNA, lincRNA)就可通过竞争性结合miR-145来调控多能性相关转录因子的表达水平<sup>[26]</sup>。

## 2 有些circRNA可充当环状ceRNA

ceRNA假说向我们展示了不同类型的RNA以miRNA为介导形成的复杂ceRNA网络(ceRNA network, ceRNET)。ceRNET是一种无尺度网络(scale-free network), 改变其中一种ceRNA的表达水平将会使整个ceRNET的内容发生明显变化<sup>[27-28]</sup>。它不仅让我们看到了不同转录物之间是如何沟通的, 还提示我们: mRNA除了具有经典意义的指导蛋白质合成的功能外, 它们在转录后调控阶段就已发挥着一些生物学功能; 同样, lincRNA也不仅仅通过几种常见机制发挥其生物学功能<sup>[29-30]</sup>, 在转录后水平也可起作用。Memczak等<sup>[15]</sup>和Hansen等<sup>[17]</sup>的研究从circRNA角度扩充了ceRNA的内容(图2)。

Hansen等<sup>[21]</sup>于2011年发现, 小脑变性相关蛋白1(cerebellar degeneration-related protein 1, *CDR1*)基因可表达一种被称为小脑变性相关蛋白1反义转录物(antisense to the cerebellar degeneration-related protein 1 transcript, *CDR1as*)的环状天然反义转录物(natural antisense transcript, NAT)。与一般NAT通过碱基互补配对直接调控正义转录物的作用方式不同<sup>[31]</sup>, *CDR1as*还能与miRNA相互作用, 并被与之完全互补的miR-671降解<sup>[21]</sup>。在随后的研究中, Memczak等<sup>[15]</sup>和Hansen等<sup>[17]</sup>发现, *CDR1as*包含了miR-7的约70个MRE, 但却不被miR-7降解。他们还发现, *CDR1as*



具有相同MRE的mRNA、lincRNA和circRNA通过竞争性结合miRNA, 相互调控各自功能的发挥。  
mRNA, lincRNA and circRNA sharing MREs regulate their respective roles by competing for miRNAs.

图2 ceRNA网络  
Fig.2 ceRNA network

在神经组织中高表达,且定位于细胞质中<sup>[15,17]</sup>。当CDR1as高表达时,它能大量结合miR-7,抑制miR-7的活性,导致miR-7靶标的表达水平升高;而当CDR1as低表达时,它对miR-7活性的抑制作用降低,导致miR-7靶标的表达水平降低<sup>[15,17]</sup>。Memczak等<sup>[15]</sup>研究发现,在斑马鱼胚胎中超表达CDR1as将导致中脑容量减小,这与沉默miR-7引起的效应一致。Hansen等<sup>[17]</sup>则另外研究了一种转录自Y染色体性别决定区(sex-determining region Y, Sry)的circRNA,该circRNA上存在miR-138的16个MRE,可作为天然miRNA海绵(natural miRNA sponge)抑制miR-138的活性。

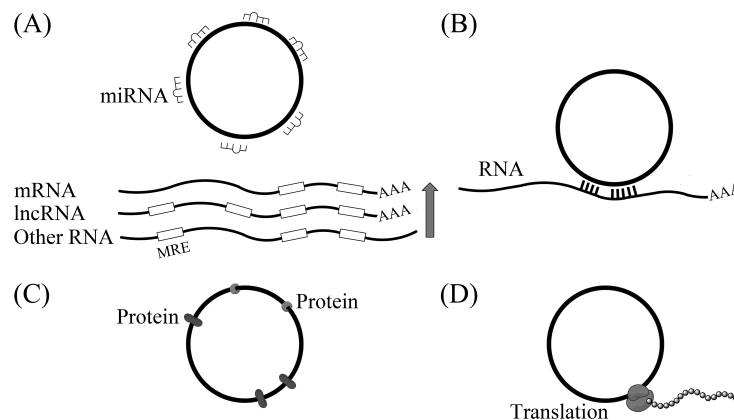
与其他类型的ceRNA相比,circRNA作为ceRNA具有以下优势:首先,大多数互为ceRNA的RNA分子间的相互作用是对称的<sup>[27]</sup>,这意味着ceRNA之间能互相调控各自功能的发挥,它们都能被miRNA抑制或降解。然而,目前的几个实验发现,circRNA不易被RNA酶和miRNA降解<sup>[1,14-15,17]</sup>,这使得circRNA有可能可以稳定地抑制miRNA功能的发挥。其次,现有的研究表明,多数circRNA是高表达的<sup>[1,14-15]</sup>,而且单个分子中可含有大量MRE<sup>[15,17]</sup>,因此,circRNA能够瞬间结合或释放大量miRNA,从而高效地发挥其调控作用。例如,在单个人胚肾细胞HEK293中的CDR1as就被发现能够结合约20 000个miR-7<sup>[15]</sup>。最后,我们注意到CDR1as能被miR-671降解,却不能被miR-7降解<sup>[15,17,21]</sup>,这意味着circRNA还可能具有储存和运输miRNA的功能。例如:CDR1as

先结合miR-7并运输到特定位点,然后由miR-671降解CDR1as,最后释放出miR-7<sup>[15]</sup>。这一特点势必影响整个ceRNET的功能,因为circRNA在特定区域结合或释放多种miRNA将影响上百种转录物,从而丰富ceRNET的调控功能<sup>[32]</sup>。

### 3 circRNA的其他功能和应用前景

许多circRNA的表达具有时空特异性,这暗示circRNA可能具有多种生物学功能<sup>[15,32]</sup>。除了与miRNA相互作用外(图3A),circRNA至少还可能具有以下3种功能:(1)circRNA通过碱基互补配对直接调控其他RNA水平(图3B)。例如,CDR1as能与*CDR1* mRNA互补配对,从而增强*CDR1* mRNA的稳定性<sup>[21]</sup>。(2)circRNA能与蛋白质结合(图3C),抑制蛋白质活性、募集蛋白质复合体的组分或调控蛋白质的活性<sup>[15,17,33-34]</sup>。例如,CDR1as能与阿格蛋白(Argonaute, AGO)紧密结合<sup>[15,17]</sup>。(3)一些circRNA可作为翻译的模板指导蛋白质的合成(图3D)<sup>[35-36]</sup>。

circRNA独特的特征和多样的功能,使它们在生命科学和医学中具有广阔的应用前景:(1)circRNA作为稳定高效的miRNA抑制剂。相比仅含成串单一MRE的miRNA海绵<sup>[37]</sup>,circRNA含有多种MRE,可以同时抑制不同的miRNA,发挥网络调控的作用。另外,通过改变MRE的种类、数量和比例可以使circRNA达到不同的调节效果。虽然已有研究人员开发了包含多种MRE的线性miRNA抑制剂——短串联靶标类似物(short tandem target



A: 环状ceRNA; B: circRNA通过碱基配对直接作用于靶RNA; C: circRNA调控蛋白质功能; D: circRNA作为蛋白质合成的模板。

A: circ-ceRNA; B: circRNA directly target RNA by base pairing; C: regulator of protein; D: template for protein synthesis.

图3 circRNA的主要功能

Fig.3 Main roles of circRNAs



mimic, STTM)<sup>[38]</sup>, 但circRNA在稳定性方面比它更具优势。(2)circRNA用于稳定地调控RNA结合蛋白(RNA-binding protein, RBP)的活性。例如: Bohjanen等<sup>[34]</sup>设计了一种环状的反式激活应答元件(transactivation response element, TAR)RNA, 能够特异地结合反式激活调控蛋白(transactivating regulatory protein, Tat), 从而抑制人类免疫缺陷病毒1型(human immunodeficiency virus type 1, HIV-1)基因的表达。(3)circRNA作为稳定的蛋白质合成模板。例如, Perriman等<sup>[36]</sup>利用circRNA成功合成了绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)。(4)circRNA应用于RNA干扰。环状干扰RNA(circularized interfering RNA, ciRNA)由于结构稳定, 因而不易被核酸酶降解, 其干扰效果优于普通型小干扰RNA<sup>[39]</sup>。(5)circRNA作为适配体(aptamer)用于高效地结合特定靶标。Umekage等<sup>[40]</sup>制备了一种环状的链霉亲和素(streptavidin) RNA适配体, 其稳定性远优于线性RNA适配体。(6)circRNA作为生物标志物用于疾病诊断及易感性分析。由于circRNA的稳定性高, 我们可以方便地从体液中获取circRNA。Burd等<sup>[41]</sup>发现了一种环状的INK4位点反义非编码RNA(circular antisense noncoding RNA in the INK4 locus, cANRIL)的表达与动脉粥样硬化发病风险相关。

#### 4 展望

尽管circRNA的研究才刚刚起步, 但其应用前景已见端倪。circRNA独具的ceRNA特征可为药物开发提供新的思路。利用circRNA可以抑制特定miRNA的活性, 也可将特定miRNA运输到靶组织。circRNA的组织特异性和稳定性有可能使circRNA成为一种良好的生物标志物。然而, 有关circRNA的功能有待我们深入研究<sup>[42]</sup>。我们对circRNA在ceRNA中如何发挥作用以及其中的一些细节仍然知之甚少。circRNA参与疾病发生发展的具体机制也有待我们去揭示。

此外, circRNA还没有正式的命名系统, Kosik<sup>[43]</sup>建议使用与miRNA类似的命名方法, 根据发现的先后顺序使用阿拉伯数字命名, 即将CDR1as命名为circR-1。随着生物信息学的发展, 目前已有大量数据库可供我们使用, 利用数据挖掘工具深入挖掘这些大数据, 将有助于我们揭示生物体中各种分子的复杂网络关系。

#### 参考文献 (References)

- 1 Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, Slevin MK, Burd CE, Liu J, *et al.* Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA* 2013; 19(2): 141-57.
- 2 Wilusz JE, Sharp PA. Molecular biology: A circuitous route to noncoding RNA. *Science* 2013; 340(6131): 440-1.
- 3 Wu Q, Wang Y, Cao M, Pantaleo V, Burgyan J, Li WX, *et al.* Homology-independent discovery of replicating pathogenic circular RNAs by deep sequencing and a new computational algorithm. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(10): 3938-43.
- 4 Arnberg AC, van Ommen GJ, Grivell LA, van Bruggen EF, Borst P. Some yeast mitochondrial RNAs are circular. *Cell* 1980; 19(2): 313-9.
- 5 Cocquerelle C, Mascrez B, Hetuin D, Bailleul B. Mis-splicing yields circular RNA molecules. *FASEB J* 1993; 7(1): 155-60.
- 6 Grabowski PJ, Zaug AJ, Cech TR. The intervening sequence of the ribosomal RNA precursor is converted to a circular RNA in isolated nuclei of *Tetrahymena*. *Cell* 1981; 23(2): 467-76.
- 7 Capel B, Swain A, Nicolis S, Hacker A, Walter M, Koopman P, *et al.* Circular transcripts of the testis-determining gene *Sry* in adult mouse testis. *Cell* 1993; 73(5): 1019-30.
- 8 Schindewolf C, Braun S, Domdey H. *In vitro* generation of a circular exon from a linear pre-mRNA transcript. *Nucleic Acids Res* 1996; 24(7): 1260-6.
- 9 Pasman Z, Been MD, Garcia-Blanco MA. Exon circularization in mammalian nuclear extracts. *RNA* 1996; 2(6): 603-10.
- 10 Zaphiropoulos PG. Circular RNAs from transcripts of the rat cytochrome P450 2C24 gene: Correlation with exon skipping. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(13): 6536-41.
- 11 Braun S, Domdey H, Wiebauer K. Inverse splicing of a discontinuous pre-mRNA intron generates a circular exon in a HeLa cell nuclear extract. *Nucleic Acids Res* 1996; 24(21): 4152-7.
- 12 Surono A, Takeshima Y, Wibawa T, Ikezawa M, Nonaka I, Matsuo M. Circular dystrophin RNAs consisting of exons that were skipped by alternative splicing. *Hum Mol Genet* 1999; 8(3): 493-500.
- 13 Li XF, Lytton J. A circularized sodium-calcium exchanger exon 2 transcript. *J Biol Chem* 1999; 274(12): 8153-60.
- 14 Salzman J, Gawad C, Wang PL, Lacayo N, Brown PO. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types. *PLoS One* 2012; 7(2): e30733.
- 15 Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, Torti F, Krueger J, Rybak A, *et al.* Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature* 2013; 495(7441): 333-8.
- 16 Danan M, Schwartz S, Edelleit S, Sorek R. Transcriptome-wide discovery of circular RNAs in archaea. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(7): 3131-42.
- 17 Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK, *et al.* Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature* 2013; 495(7441): 384-8.
- 18 Valdmann PN, Kay MA. The expanding repertoire of circular RNAs. *Mol Ther* 2013; 21(6): 1112-4.
- 19 Suzuki H, Zuo Y, Wang J, Zhang MQ, Malhotra A, Mayeda A. Characterization of RNase R-digested cellular RNA source that consists of lariat and circular RNAs from pre-mRNA splicing. *Nucleic Acids Res* 2006; 34(8): e63.
- 20 Green MR. Biochemical mechanisms of constitutive and regulated

- pre-mRNA splicing. *Annu Rev Cell Biol* 1991; 7: 559-99.
- 21 Hansen TB, Wiklund ED, Bramsen JB, Villadsen SB, Statham AL, Clark SJ, *et al.* miRNA-dependent gene silencing involving Ago2-mediated cleavage of a circular antisense RNA. *EMBO J* 2011; 30(21): 4414-22.
- 22 Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? *Cell* 2011; 146(3): 353-8.
- 23 夏天, 肖丙秀, 郭俊明. 竞争性内源 RNA: 一种全新的基因表达调控模式. *中国生物化学与分子生物学报*(Xia Tian, Xiao Bingxiu, Guo Junming. The competing endogenous RNA: A new pattern of gene expression regulation. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*) 2012; 28(12): 1075-81.
- 24 向剑锋, 殷庆飞, 陈玲玲. 探索长非编码RNA在哺乳动物细胞中的功能秘密. *中国细胞生物学报*(Xiang Jianfeng, Yin Qingfei, Chen Lingling. Long noncoding RNAs: Regulatory molecules in mammalian cells. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2013; 35(3): 262-72.
- 25 Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature* 2010; 465(7301): 1033-8.
- 26 Wang Y, Xu Z, Jiang J, Xu C, Kang J, Xiao L, *et al.* Endogenous miRNA sponge lincRNA-RoR regulates Oct4, Nanog, and Sox2 in human embryonic stem cell self-renewal. *Dev Cell* 2013; 25(1): 69-80.
- 27 Sumazin P, Yang X, Chiu HS, Chung WJ, Iyer A, Llobet-Navas D, *et al.* An extensive microRNA-mediated network of RNA-RNA interactions regulates established oncogenic pathways in glioblastoma. *Cell* 2011; 147(2): 370-81.
- 28 Ala U, Karreth FA, Bosia C, Pagnani A, Taulli R, Leopold V, *et al.* Integrated transcriptional and competitive endogenous RNA networks are cross-regulated in permissive molecular environments. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(18): 7154-9.
- 29 宋皓军, 俞秀冲, 夏天, 郭俊明, 肖丙秀. 长链非编码RNA与肿瘤的关系及其临床价值. *中国细胞生物学报*(Song Haojun, Yu Xiuchong, Xia Tian, Guo Junming, Xiao Bingxiu. Associations between long non-coding RNAs and tumors, and their clinical values. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2012; 34(7): 704-12.
- 30 夏天, 肖丙秀, 郭俊明. 长链非编码RNA的作用机制及其研究方法. *遗传*(Xia Tian, Xiao Bingxiu, Guo Junming. Acting mechanisms and research methods of long noncoding RNAs. *Hereditas*) 2013; 35(3): 269-80.
- 31 蹇爱荣, 李迪杰, 商 澎. 天然反义转录物生物学功能及其意义. *中国细胞生物学报*(Qian Airong, Li Dijie, Shang Peng. Biological function and significance of natural antisense transcripts. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2013; 35(4): 536-42.
- 32 Taulli R, Loretelli C, Pandolfi PP. From pseudo-ceRNAs to circ-ceRNAs: A tale of cross-talk and competition. *Nat Struct Mol Biol* 2013; 20(5): 541-3.
- 33 Hentze MW, Preiss T. Circular RNAs: Splicing's enigma variations. *EMBO J* 2013; 32(7): 923-5.
- 34 Bohjanen PR, Colvin RA, Puttaraju M, Been MD, Garcia-Blanco MA. A small circular TAR RNA decoy specifically inhibits Tat-activated HIV-1 transcription. *Nucleic Acids Res* 1996; 24(19): 3733-8.
- 35 Chen CY, Sarnow P. Initiation of protein synthesis by the eukaryotic translational apparatus on circular RNAs. *Science* 1995; 268(5209): 415-7.
- 36 Perriman R, Ares MJ. Circular mRNA can direct translation of extremely long repeating-sequence proteins *in vivo*. *RNA* 1998; 4(9): 1047-54.
- 37 Ebert MS, Neilson JR, Sharp PA. MicroRNA sponges: Competitive inhibitors of small RNAs in mammalian cells. *Nat Methods* 2007; 4(9): 721-6.
- 38 Tang G, Yan J, Gu Y, Qiao M, Fan R, Mao Y, *et al.* Construction of short tandem target mimic (STTM) to block the functions of plant and animal microRNAs. *Methods* 2012; 58(2): 118-25.
- 39 Lundin P, Moreno PM, Smith CI, Andaloussi SE. Circular RNA interference effector molecules (WO10084371). *Expert Opin Ther Pat* 2011; 21(1): 115-9.
- 40 Umekage S, Kikuchi Y. *In vitro* and *in vivo* production and purification of circular RNA aptamer. *J Biotechnol* 2009; 139(4): 265-72.
- 41 Burd CE, Jeck WR, Liu Y, Sanoff HK, Wang Z, Sharpless NE. Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk. *PLoS Genet* 2010; 6(12): e1001233.
- 42 Perkel JM. Assume nothing: the tale of circular RNA. *Biotechniques* 2013; 55(2): 55-7.
- 43 Kosik KS. Molecular biology: Circles reshape the RNA world. *Nature* 2013; 495(7441): 322-4.