

# microRNA 及其研究进展

冯琛卓 史 锋\*

(浙江大学生命科学学院, 杭州 310029)

**摘要** microRNA (miRNA) 是近年来发现的普遍存在于动植物体内的一类非编码 RNA。这类 miRNA 分子长度大约为 22 nt, 与动植物的生长发育相关。miRNA 作为新的研究切入点, 为功能基因组学、基因治疗、转录调控机制等研究提供了一条有效途径。现就其发现、生物学功能、产生与作用机制等方面作一综述。

**关键词** microRNA; 非编码 RNA; 生长发育

非编码 RNA (non-coding RNA) 是一类与 mRNA、tRNA 和 rRNA 功能不同的 RNA。非编码 RNA 在分子大小上差别很大, 调节机制也各不相同, 在生物体内它们行使着广泛的调节功能。microRNA (miRNA) 是继 siRNA (small interfering RNA) 之后, 发现的又一调节 mRNA 稳定和 mRNA 翻译的一类非编码 RNA。它是近几年生命科学研究的热点之一。在 2002 年, miRNA 被 *Science* 杂志评为十大科技突破第一名。

miRNA 的分子长度和 siRNA 相类似, 大约为 22 nt 左右, 作为一类不编码蛋白质的 RNA, 研究发现它在动植物的生长发育过程中起着调控作用。miRNA 基因的结构和功能具有一定的保守性, 其转录产物组成了一个 RNA 家族——iRNA 家族。

miRNA 的命名, 除最早发现的两种 miRNA: *lin-4* 和 *let-7* 以外, 其他现在都用“miR-#”来表示(如 miR-1, miR-2 等), 而相对应的编码基因则用“*mir-#*”或“*MIR-#*”表示(# 表示数字)<sup>[1]</sup>。

## 1 miRNA 的发现

10 年前, Lee 等<sup>[2]</sup>首先发现线虫的异时性 (heterochronic) 基因 *lin-4* 并非编码蛋白质, 它的转录产物中有一个长度为 22 nt 的 RNA。这种转录产物在幼虫的 L1 后期表达, 与 *lin-14* 的 mRNA 3' 端非翻译区 (UTR) 序列互补, 从而短暂下调 LIN-14 蛋白质的表达水平, 使线虫由 L1 期向 L2 期转化。随后, 另一促进幼虫向成虫转变的基因 *let-7* 也被发现<sup>[3]</sup>, 其转录产物为 21 nt 的 RNA 分子。它在线虫的 L3 早期表达量较少, 在 L4 早期和成虫期表达量较高。

*let-7* 的转录产物能与线虫其他异时性基因 *lin-14*、*lin-28*、*lin-41*、*lin-42*、*daf-12* 转录产物的 3' 端 UTR 序列互补。当时把这类小分子 RNA 称为 stRNA (small temporal RNA)。

## 2 动植物中的 miRNA

到目前为止, 已有 200 多个类似于 *lin-4*, *let-7* 的 miRNA 陆续在脊椎动物、软体动物、环节动物、节肢动物和拟南芥等真核生物中被发现。但这个数字还远未达到饱和, 因为 miRNA 的表达具有时间和组织的特异性, 而且一些 miRNA 在特定时期的表达量并非很高。利用计算机和分子克隆技术预测线虫 *C. elegans* 的 miRNA 基因数大约在 140~300 之间, 果蝇 *Drosophila* 的 miRNA 基因数在 110 左右<sup>[4,5]</sup>。

已发现的动植物的 miRNA 呈现出不同的保守性。在线虫 *C. elegans* 中已经确认的 miRNA 基因有 88 种左右, 它们归属于 48 个基因家族。其中 46 个基因家族在 *C. briggsae* 中呈现出保守性, 22 个基因家族在人类中呈现出保守性<sup>[6]</sup>。在许多彼此关系甚远的动物中都发现了线虫 *let-7* 的类似物<sup>[7]</sup>。在已知的鼠和人类的 miRNA 中有 53% 与 *Fugu rubripes* (pufferfish) 或 *Danio rerio* (zebrafish) 同源, 而在 *Fugu rubripes* 或 *Danio rerio* 中的 miRNA 大约有一半与 *C. elegans* 或 *D. melanogaster* 同源<sup>[8]</sup>。在拟南芥 miR156~miR171 中, 有 6 个 miRNA 呈现三对紧密联系, 它们之间的差别只有一个或两个核苷酸<sup>[9]</sup>。多

收稿日期: 2003-12-05 接受日期: 2004-03-15

\* 通讯作者。 Tel: 0571-86971414, E-mail: shifeng@zju.edu.cn

数动植物中的 miRNA 还具有以 U 开头的特征<sup>[9,10]</sup>。

miRNA 在动物中的表达还呈现出时间和组织的特异性。如线虫的 *lin-4* 在时序上的表达量就表现出较为明显的差异<sup>[11]</sup>。在鼠的心脏、肝脏、和脑组织中分别发现了某一种在数量上占绝对优势的 miRNA。在鼠分化和未分化的干细胞中也发现了特异性的 miRNA，而这些 miRNA 在成年老鼠中却未被检测到<sup>[12,13]</sup>。

同样，植物中发现的 miRNA 也具有组织和时间上的特异性。如 miR157 在树苗中的表达量最高，而 miR171 在花组织中表达量最高<sup>[9]</sup>。miRNA 在植物中的发现，说明了 miRNA 在真核生物进化的早期就已经存在。miRNA 时间和组织上的特异性提示在选择实验材料的时候要仔细地筛选细胞的类型和特定的时期，以期发现更多的 miRNA 及其作用方式。

除此之外，有一些生物的 miRNA 的表达量在其整个生长发育阶段呈现出动态平衡状态。如在线虫整个生长发育阶段就存在着这种 miRNA，且表达量较高<sup>[10]</sup>。

miRNA 种类的普遍性、表达方式的多样性及进化上的保守性预示它在生物界中具有广泛的功能。

### 3 miRNA 在动植物中的功能

目前，许多 miRNA 的功能还尚待深入研究，但从已知的 miRNA 来看，其作用主要为调节动植物的生长发育。如线虫的 *lin-4* 和 *let-7* 是线虫幼虫发育过程中主要的调节因子。在果蝇和一些脊椎动物中，*let-7* 和 *lin-4/mir-125* 基因呈紧密连锁，可能这两种 miRNA 之间有着相互的协同作用。脊椎动物的 LIN-28 蛋白质类似物在发育过程中呈下调水平，鼠类和人类 *lin-28* 基因的转录产物 3' 端的 UTR 都有与 *lin-4* 的互补位点，说明 *lin-4* 对 *lin-28* 基因表达的调节方式存在同样的保守性<sup>[14]</sup>。

关于 miRNA 对植物生长发育作用的研究主要是从分析 miRNA 的产生和 miRNA 所作用的目的基因这两方面进行。miRNA 的产生需要 RNA 核酸酶的作用。在线虫和果蝇中这类 RNA 核酸酶被命名为 DICER，在拟南芥中，这类核酸酶与 DICER 相类似，被称为 DCL1。*DCL1* 的突变体引起的拟南芥生理现象的缺陷有：分生组织的过度增殖、花的分生组织向不确定的分生组织的转变、花期的推迟、胚芽囊胚细胞的过度增殖等。在 *DCL1* 突变体中 miRNA 呈下调水平，且 miRNA 作用的目的基因呈

现出异常表达。在一些与 miRNA 的产生相关的基因突变体中，除发现与 *DCL1* 突变体相类似的缺陷以外，其叶片的极性也呈现出缺陷<sup>[14,15]</sup>。另一方面，植物 miRNA 作用的目的 mRNA 大都编码转录因子，这些转录因子与分生组织的特性、细胞的分裂、器官的分离、器官的极性相关<sup>[14]</sup>。此外，在 *Arabidopsis* 的基因组中发现了 *JAW* 座位，它编码的 miRNA 能引起 *TCP* 基因的 mRNA 断裂，一些 *TCP* 基因又调控着 *Arabidopsis* 叶子形态的形成<sup>[16]</sup>。此发现更直接说明了 miRNA 在植物中的作用。

从细胞生物学角度来看，动物生长发育过程是与其细胞繁殖、死亡和分化相互联系的。有些 miRNA 能调节细胞凋亡，促进组织的生长。如果蝇 *Bantam* 基因编码的 miRNA 在促进细胞增殖的同时抑制细胞凋亡<sup>[17]</sup>。在人类直肠癌形成过程中，miR-143 和 miR-145 表达量保持较低稳态<sup>[18]</sup>。研究还发现 miRNA 具有保持细胞多功能状态和诱导细胞分化的功能。在鼠的胚胎干细胞中一些 miRNA 被表达，当胚胎干细胞向胚胎分化时，它们的表达受到抑制，在成年鼠的器官中，检测不到这些 miRNA 的表达<sup>[12]</sup>。在视黄酸诱导的 NT2 神经细胞分化过程中，*Hes1* 的表达受到 miR-23 的调节<sup>[19]</sup>。此外，果蝇 miR-14 与脂类代谢相关，miR-14 的缺失会导致甘油三脂、甘油二脂水平的升高<sup>[20]</sup>。

### 4 miRNA 的形成和作用机制

miRNA 具有调节动植物生长发育的作用，暗示 miRNA 的表达受到某些因子的调控。目前对 miRNA 基因上的顺式作用元件和 miRNA 的合成酶还不清楚。但是通过一些比较研究，可以看出某些物质与 miRNA 的特异性表达有关。比如：果蝇和线虫发育都是受蜕皮固酮调节的一类动物；*let-7* 在它们幼虫晚期表达，果蝇的 *let-7* 表达与蜕皮固酮的产生有关<sup>[21]</sup>。因此推测在线虫中 *let-7* 的产生可能与线虫的蜕皮固酮有关。

miRNA 的前体是约为 70 nt 的茎环结构的 RNA 分子。与 siRNA 前体相比，miRNA 前体相互配对程度较低。miRNA 的成熟需要 DICER 及其类似物 DCL1 的作用<sup>[22-24]</sup>。DICER 及其类似物 DCL1 是一类多结构域的 RNA 酶 III 样蛋白，从拟南芥到人类都有类似的核酸酶。DICER/Argonaute 复合物能特异性识别 miRNA 前体，并剪切成为 22 nt 左右单链 miRNA 分子<sup>[25]</sup>。

DICER对miRNA前体和siRNA前体进行加工的过程存在着差异。miRNA来源于茎环结构前体的一个侧臂,每次加工产生一个miRNA;而siRNA来源于双链RNA前体的两臂,成熟的siRNA有正义链和反义链。DICER对siRNA的加工能造成siRNA在生物体内的积聚,这可能与siRNA的防御作用相关(图1)。

虽然大部分的miRNA是由一个miRNA前体加工形成的,但也有一些miRNA可能是由同一个miRNA前体经过一系列加工而成的。如线虫的miRNA-35~miRNA-41<sup>[13]</sup>。miRNA的前体在细胞的核仁区产生,经核孔运输到细胞质,在细胞质中加工形成成熟的miRNA<sup>[26]</sup>。成熟的miRNA还要与蛋白质结合,形成miRNA与蛋白质的复合物miRNPs才能执行其特定的功能<sup>[27]</sup>。在Hela细胞的裂解液中发现这类核糖核酸蛋白复合物的尺寸在15S左右,其主要成分为Gemin3、Gemin4和eIF2C2因子<sup>[28]</sup>。

miRNA与目的基因的作用方式主要有两种。其一,成熟的miRNA识别并与目的mRNA序列的3'UTR互补配对,抑制其翻译过程从而调控目的基因的表达。在拟南芥中,也有siRNA呈现出这样的作用机制<sup>[29,30]</sup>。其二,miRNA与目的基因的mRNA某段序列互补配对,引起目的mRNA在互补区的特异性断裂,从而导致基因沉默。这种作用方式与siRNA相似<sup>[31-33]</sup>。

miRNA以何种方式与目的基因作用和miRNA与目的基因的配对程度相关。miRNA与目的基因配对不完全时,miRNA就以抑制目的基因表达方式作用;miRNA与目的基因某段序列配对完全时,就可

能引起目的基因在互补区断裂而导致基因沉默(图1)。

## 5 总结与展望

### 5.1 miRNA与基因调控理论

近年来,大量miRNA在动植物体内的发现,为非编码RNA参与基因调控提供了一个范例。非编码RNA被认为是原始RNA世界的稀有遗物,现在它们有一部分被更为有效的蛋白质等其他活性分子所取代,所以在现有的基因调控理论中,蛋白质和其他活性分子一直扮演着重要角色。但是非编码RNA似乎具有其自身独特的优越性。特别是通过碱基互补配对,识别特异性RNA序列时最为有效。从原始物种到现有的高等生物中都发现了miRNA及其相类似的作用方式,这表明生物进化很可能是首先以非编码RNA而不是蛋白质为最原始的基因表达调节分子。非编码RNA对基因表达的调节作用是对基因调控理论的一个重要补充。

### 5.2 miRNA的保守性

在已知的miRNA中,我们猜测许多miRNA在动植物中呈现出的高度保守性是与其作用方式和功能的复杂性和普遍性密切相关的。miRNA作用方式呈现出的不同复杂性可能是制约miRNA进化的原因之一。miRNA的作用过程并不是一两步简单的生化反应而是一个链式反应过程,上下反应之间都是环环相扣,每一步反应物的变化都会引起整个链式反应的变化。所以,miRNA在进化过程中保持着“谨慎”的态度。生长发育过程是动植物的基本特征,miRNA的主要功能是调节动植物的生长发育。对大多数动植物来讲,可能不需要miRNA显著的进化,就能满足其基本的生长发育的需要。这有可能是许多miRNA具有高度保守性的又一原因。miRNA保守性的发现无疑为生物系统进化提供了又一个有力的证据,特别是那些呈现出惊人保守性miRNA,如let-7,它们能很好地反映物种间的亲缘关系。

### 5.3 miRNA与RNA干涉

自从RNA干涉被发现以来,它很快成为攻击一些病毒的最新武器。它与无序列特异性的干扰素相比,专一性更强,反应更为有效。一些抗特异性病毒的siRNA已经被设计出来,如HIV siRNA。其高度的特异性是siRNA发挥干涉作用的关键,当siRNA改变一个碱基时,目的RNA的降解就会显著的降低<sup>[35]</sup>。尽管miRNA对基因表达的抑制作用不要求严格的碱基配对,但最近研究发现在人类细胞

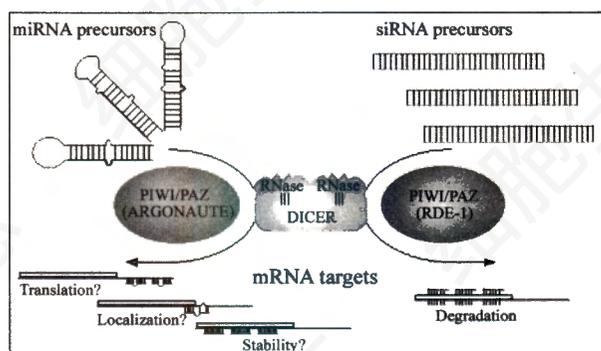


图1 miRNA与siRNA产生及作用机制的比较<sup>[34]</sup>

miRNA前体和siRNA前体的加工都需要DICER或其类似物DCL1的参与。DICER能与不同的具有PIWI/PAZ结构域的蛋白质相结合,促进对miRNA前体或siRNA前体的加工。DICER/Argonaute复合物能特异性识别miRNA前体,并剪切成为单链miRNA分子,而DICER/RDE-1的复合物对siRNA前体进行剪切加工成为双链siRNA分子。

中,自行设计的 miRNA 与 miR-30 一样,能抑制 miR-30 目的基因的表达<sup>[36]</sup>。这说明通过自行设计的 miRNA 也能选择性的抑制目的基因的表达。

随着人类基因组和水稻基因组等的框架图的完成,后基因组时代已经到来,全面研究非编码 RNA 成为后基因组时代重要任务之一,miRNA 干扰作用的发现为功能基因和复杂的基因调控网络的研究提供了可能。miRNA 引起的干扰作用与传统的基因敲除不同,它与基因敲除相比,操作相对简便,而且体外转录的 RNA 进行注射时,其剂量和时间都可以人为控制。与 siRNA 相比,miRNA 对基因的抑制作用没有 siRNA 的抑制作用彻底。而且温度对 miRNA 在植物体内的积聚没有影响<sup>[37]</sup>。

#### 5.4 存在的问题

虽然 miRNA 的研究已取得了很大的进展,但从现有的研究结果来看,还存在一些问题有待解决,如:除现有的 miRNA 外,更多的 miRNA 有待发现;解决 3' 端不完全配对引起的目的基因鉴定上的困难;miRNA 可能存在的更多的作用形式;miRNA 基因转录和 miRNA 进行加工的信号等等。

miRNA 的发现只是小分子 RNA 研究的一部分,生物体内大量非编码 RNA 的作用还有待确定。我们相信随着研究的深入,生物体内其它非编码 RNA 分子也会陆续浮出水面,这将有助于对生命之谜的破解。

#### 参考文献 (References)

[1] Ambros V *et al. RNA*, 2003, 9: 277

- [2] Lee RC *et al. Cell*, 1993, 75: 843  
 [3] Reinhart BJ *et al. Nature*, 2000, 403: 901  
 [4] Grad Y *et al. Mol Cell*, 2003, 11: 1253  
 [5] Lai EC *et al. Genome Biol*, 2003, 4: R42  
 [6] Lim LP *et al. Genes Dev*, 2003, 17: 991  
 [7] Pasquinelli AE *et al. Nature*, 2000, 408: 86  
 [8] Lagos-Quintana M *et al. RNA*, 2003, 9: 175  
 [9] Reinhart BJ *et al. 2002, Genes Dev*, 16: 1616  
 [10] Lau NC *et al. Science*, 2001, 294: 858  
 [11] Feinbaum R *et al. Dev Biol*, 1999, 210: 87  
 [12] Lagos-Quintana M *et al. Curr Biol*, 2002, 12: 735  
 [13] Houbaviv HB *et al. Dev Cell*, 2003, 5: 351  
 [14] Carrington JC *et al. Science*, 2003, 301: 336  
 [15] Schauer SE *et al. Trends Plant Sci*, 2002, 7: 487  
 [16] Palatnik JF *et al. Nature*, 2003, 425: 257  
 [17] Brennecke J *et al. Cell*, 2003, 113: 25  
 [18] Michael MZ *et al. Mol Cancer Res*, 2003, 1: 882  
 [19] Kawasaki H *et al. Nature*, 2003, 423:838  
 [20] Xu P *et al. Curr Biol*, 2003, 13: 790  
 [21] Sempere LF *et al. Dev Biol*, 2003, 259: 9  
 [22] Hutvagner G *et al. Science*, 2001, 293: 834  
 [23] Ketting RF *et al. Genes Dev*, 2001, 15: 2654  
 [24] Park W *et al. Curr Biol*, 2002, 12: 1484  
 [25] Grishok A *et al. Cell*, 2001, 106: 23  
 [26] Lee Y *et al. EMBO J*, 2002, 21: 4663  
 [27] Dostie J *et al. RNA*, 2003, 9: 180  
 [28] Mourelatos Z *et al. Genes Dev*, 2002, 16: 720  
 [29] Doench JG *et al. Genes Dev*, 2003, 17: 438  
 [30] Moss EG *et al. Cell*, 1997, 88: 637  
 [31] Llave C *et al. Science*, 2002, 297: 2053  
 [32] Zeng Y *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 9779  
 [33] Hutvagner G *et al. Science*, 2002, 297: 2056  
 [34] Pasquinelli AE. *Trends Genet*, 2002, 18: 171  
 [35] Kitabwalla M *et al. N Engl J Med*, 2002, 347: 1364  
 [36] Zeng Y *et al. Mol Cell*, 2002, 9: 1327  
 [37] Szittyta G *et al. EMBO J*, 2003, 22: 633

## Recent Advance in MicroRNA

Chen-Zhuo Feng, Feng Shi\*

(College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract** microRNAs (miRNAs) are an abundant class of ~22-nucleotide non-coding RNAs, which are encoded as short inverted repeats in the genomes of diverse organisms. Recent studies showed that miRNAs regulate translation and stability of target mRNAs based on (partial) sequence complementarity during development. The discovery of these novel RNA molecules has generated considerable research interests. miRNA will be a target for the research on the physiology of plant and animal, human pathology and system development. Here, we review the recent studies and progress on the respects of the discovery, functions and mechanisms of the miRNA.

**Key words** microRNA; non-coding RNA; development time

Received: December 5, 2003 Accepted: March 15, 2004

\*Corresponding author. Tel: 86-571-86971414, E-mail: shifeng@zju.edu.cn