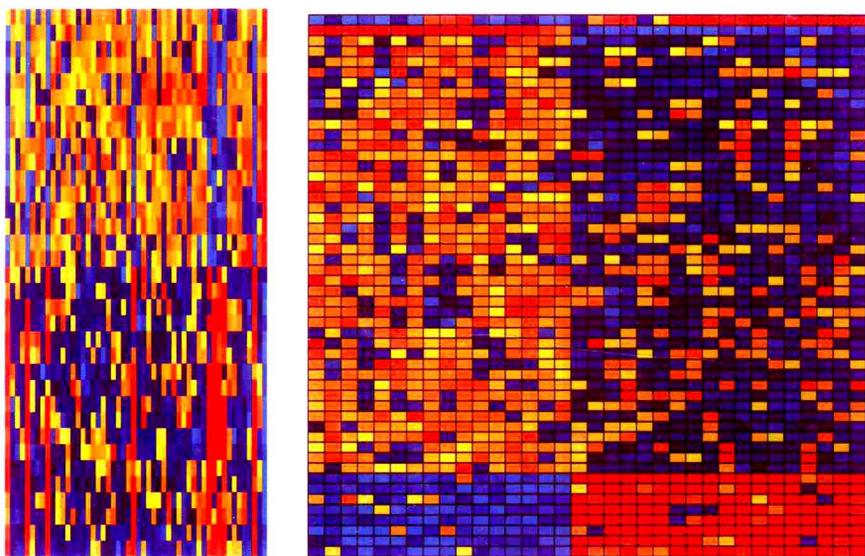


Advances in miRNA Practicality Research
(Medical Science)

实用miRNA 研究进展

(医学篇)

主编 崔世英 张嘉宁

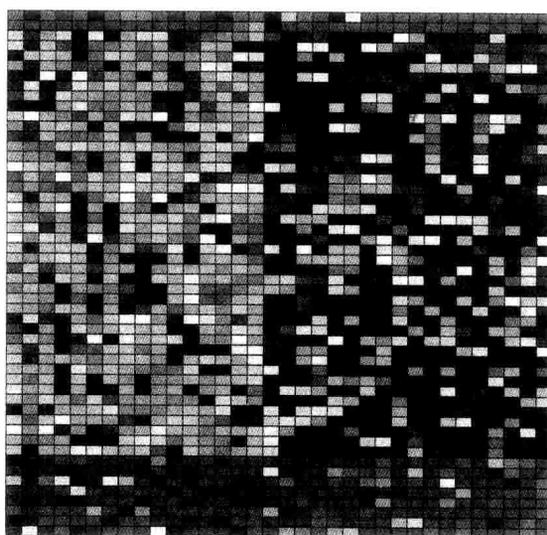
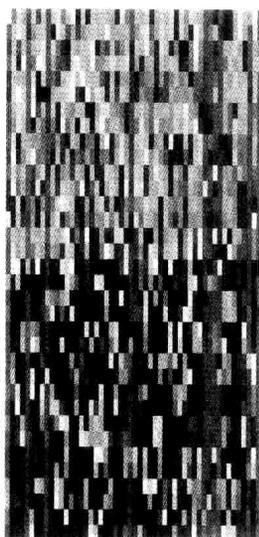


清华大学出版社

Advances in miRNA Practicality Research
(Medical Science)

实用miRNA 研究进展

主编 崔世英 张嘉宁



清华大学出版社

内 容 简 介

本书详细阐述了 miRNA 的基础理论,并针对医药卫生研究者的特点,注重实践操作,对不同技术方法的可行性及局限性进行了详细的论述。同时,本专著还包含了作者近年来在 miRNA 研究实践中的一些发明及对最新技术应用的体会,有助于 miRNA 研究人员在实际科研工作中扬长避短,节省时间,获得最佳研究成果。

版权所有,侵权必究。侵权举报电话:010-62782989 13701121933

图书在版编目(CIP)数据

实用 miRNA 研究进展/崔世英,张嘉宁主编.—北京:清华大学出版社,2015

ISBN 978-7-302-39421-1

I. ①实… II. ①崔… ②张… III. ①基因表达调控—研究 IV. ①Q786

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 032186 号

责任编辑:罗 健

封面设计:戴国印

责任校对:王淑云

责任印制:沈 露

出版发行:清华大学出版社

网 址: <http://www.tup.com.cn>, <http://www.wqbook.com>

地 址:北京清华大学学研大厦 A 座 邮 编:100084

社 总 机:010-62770175 邮 购:010-62786544

投稿与读者服务:010-62776969, c-service@tup.tsinghua.edu.cn

质 量 反 馈:010-62772015, zhiliang@tup.tsinghua.edu.cn

印 装 者:三河市中晟雅豪印务有限公司

经 销:全国新华书店

开 本:185mm×260mm 印 张:21.25 插 页:8 字 数:547千字

版 次:2015年8月第1版 印 次:2015年8月第1次印刷

印 数:1~1000

定 价:99.80元

产品编号:057800-01

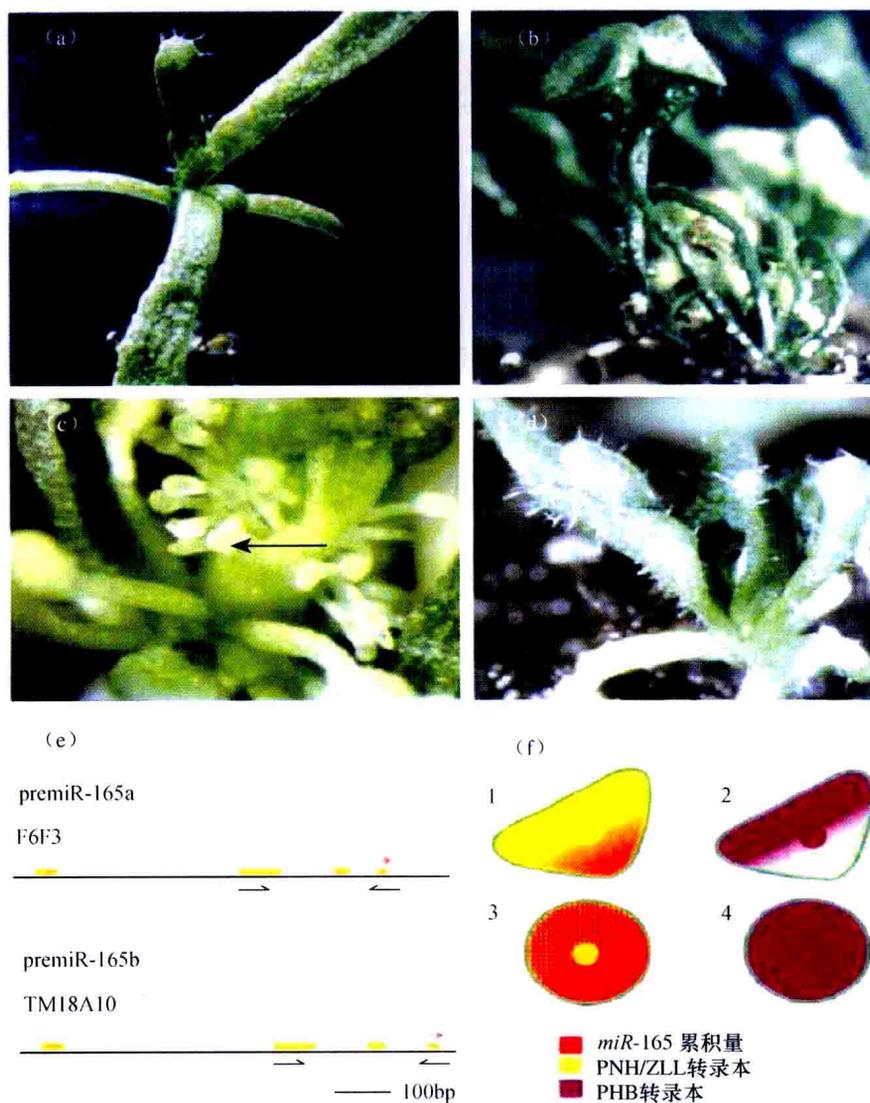
编委会名单

(按姓氏笔画排列)

主 编	编 委	崔世英	张嘉宁		
		丁艳芳	于晓棠	李盛	
		汪淑晶	宋嘉哲	赵赫男	
		柳林华	樊建慧	薛恺	

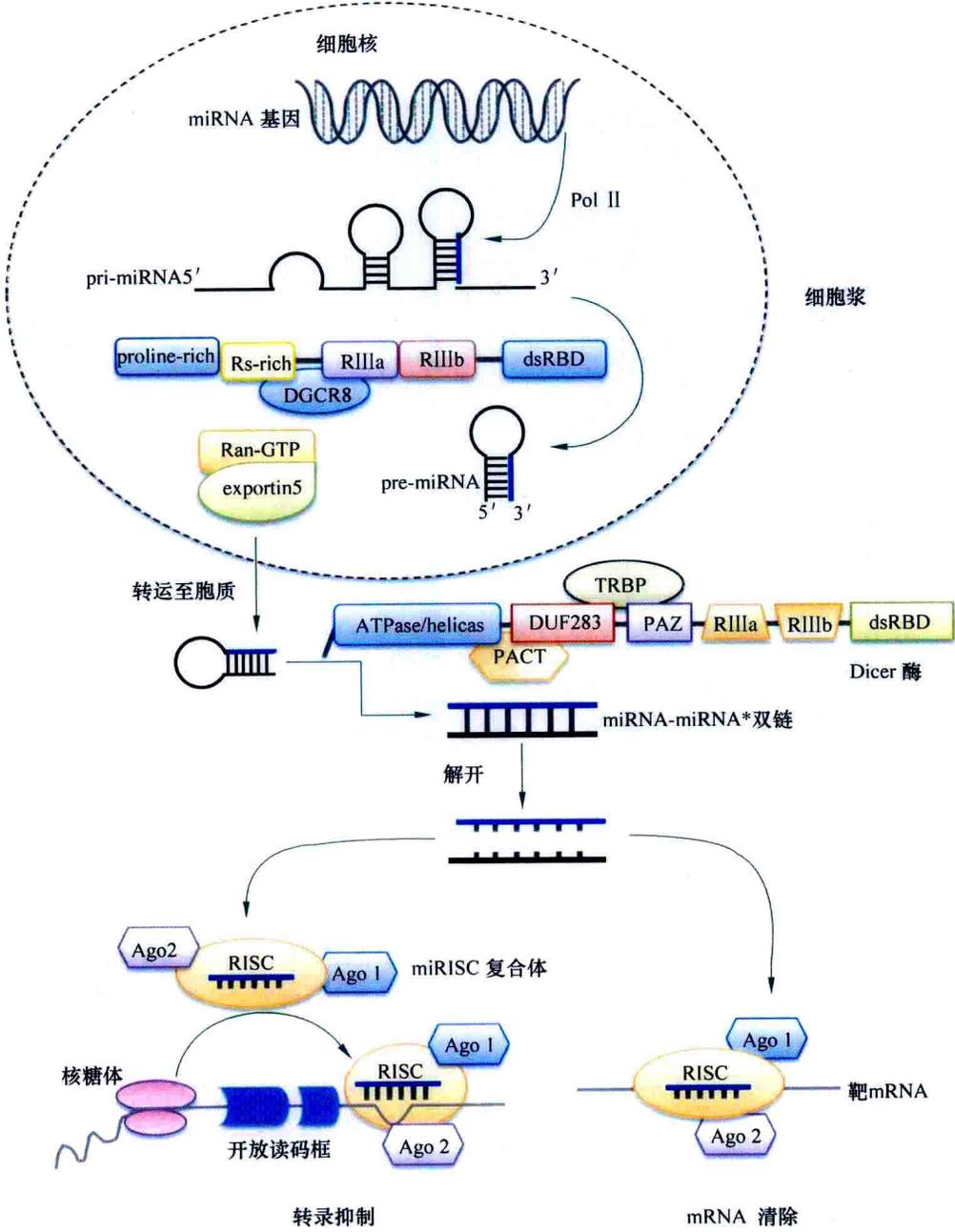


后排左起：樊建慧、李盛、张嘉宁、崔世英、赵赫男、薛恺
前排左起：丁艳芳、汪淑晶、柳林华、于晓棠、宋嘉哲

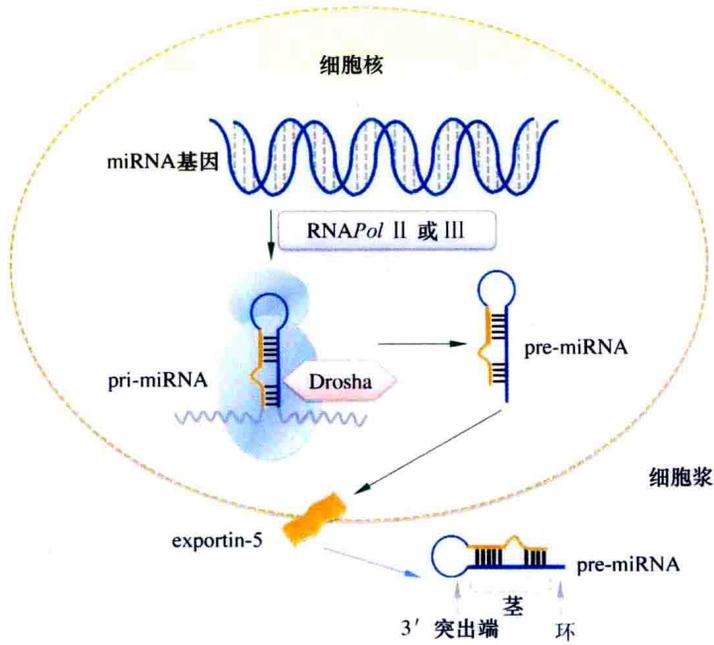


彩图 1-1 植物叶片极性的建立与 miRNA 调控的关系

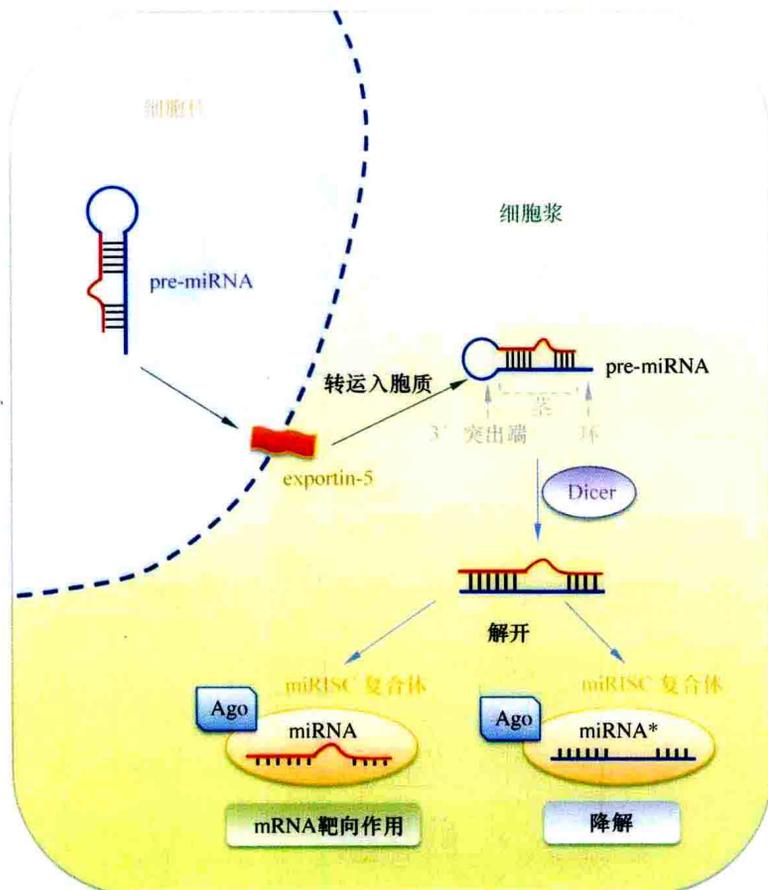
在涉及 miRNA 的突变体中，叶片不能形成平展的叶片，而是长成棒状的形态。(f) 1、2 为野生型表达；3、4 为突变型



彩图 3-1 miRNA 的生物合成过程



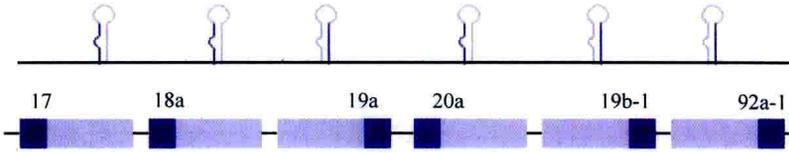
彩图 3-2 miRNA 的编码基因的转录与转录初产物的剪接及经由 Drosha 及 exportin-5 的细胞核过程



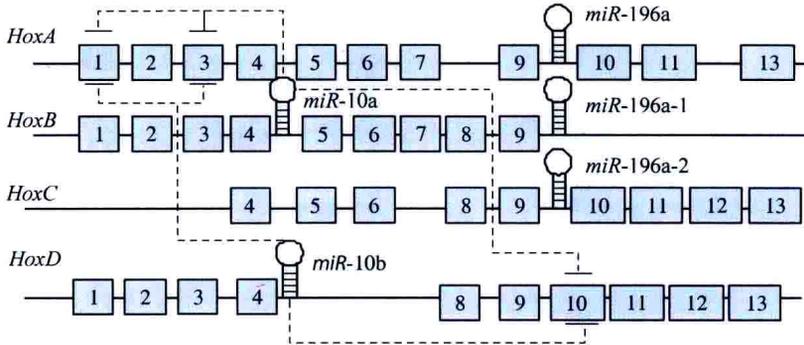
彩图 4-1 RISC 复合体中向导链的加载及激活模式图

miRNA 在 Dicer 酶切割后，完成 RISC 的组装过程，并形成 miRISC（主要由 miRNA 及 Ago 蛋白等组成），最终完成对靶 mRNA 的表达调控

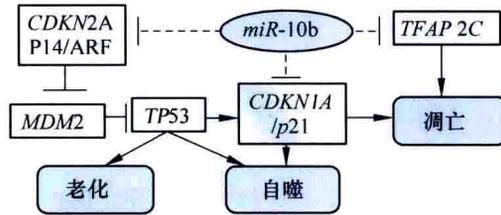
miR-17-92家族基因



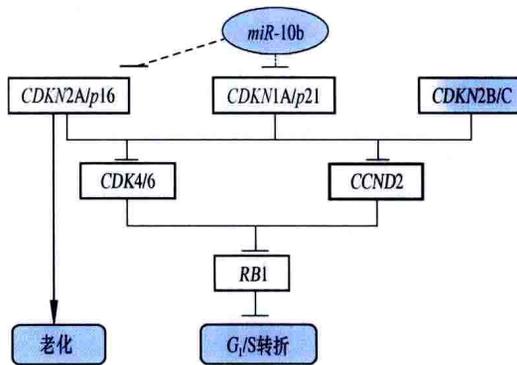
彩图 6-2 miR-17-92 基因簇



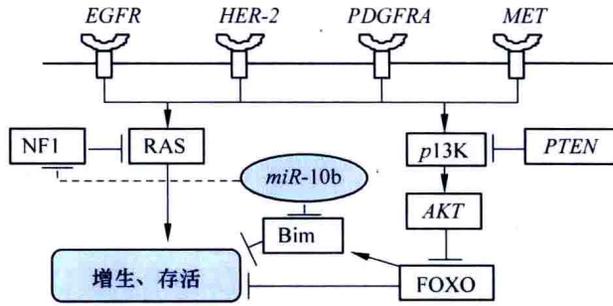
彩图 6-5 miR-10 的基因位置 (⊥: 抑制)



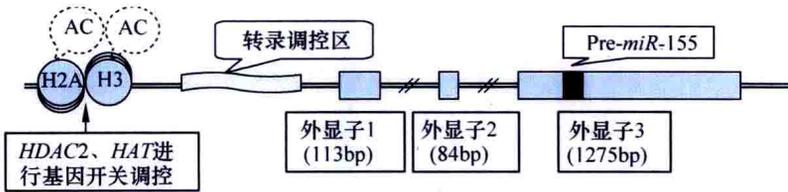
彩图 6-6 胶质母细胞瘤中 miR-10b 参与 p53 信号转导通路 (⊥: 抑制; →: 促进)



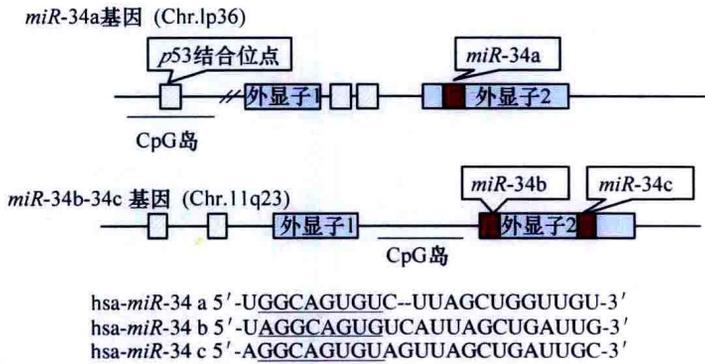
彩图 6-7 胶质母细胞瘤中 miR-10b 参与 RB 信号转导通路(⊥:抑制;→:促进)



彩图 6-8 胶质母细胞瘤中 *miR-10b* 参与 RAS 信号转导通路 (⊥: 抑制; →: 促进)

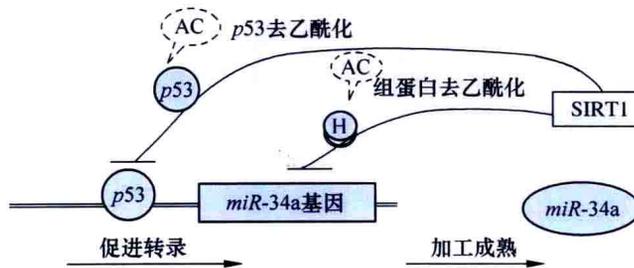


彩图 6-9 *miR-155* 基因

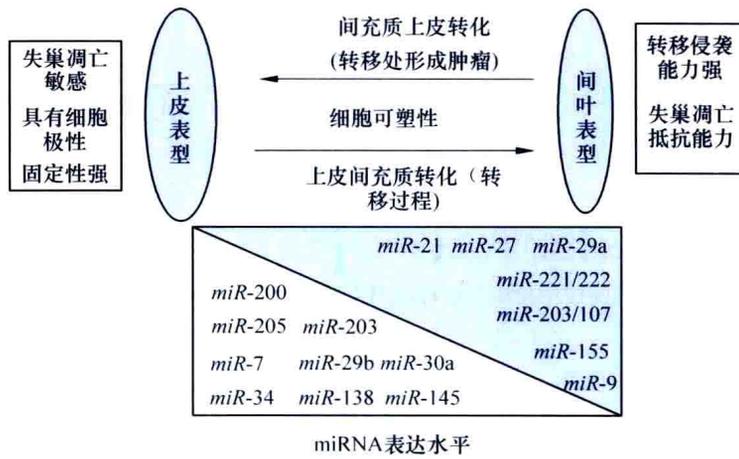


彩图 6-10 *miR-34* 家族基因

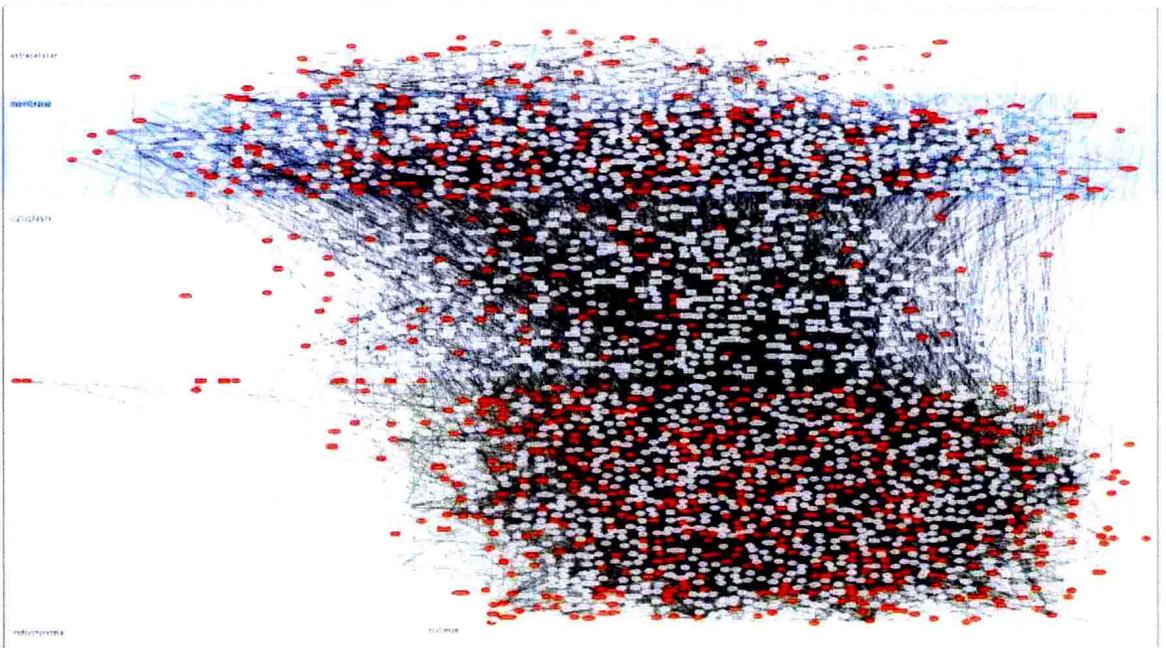
下划线为种子区, 斜线框为 *p53* 结合位点



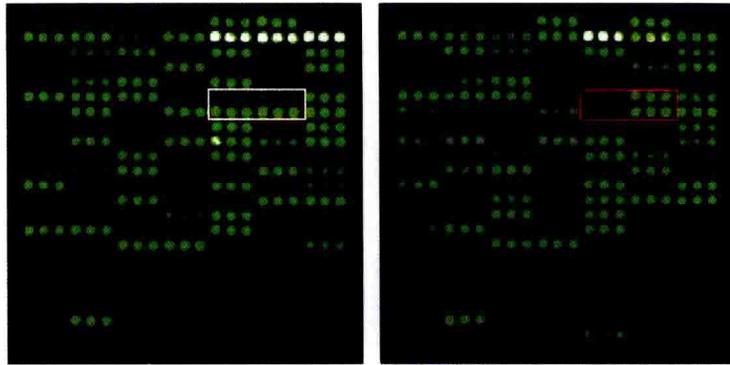
彩图 6-12 *p53* 与 *miR-34a* 之间的正反馈通路



彩图 6-14 miRNA 与 EMT



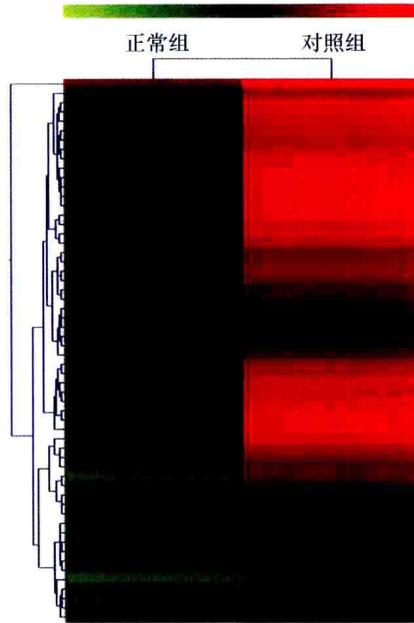
彩图 8-1 KeyMolnet 图显示了在阿尔兹海默病中，下调的 miRNA 所调控的下游靶基因具有高度复杂的分子网络。该图列出了在阿尔兹海默病患者脑中下调的 miRNA 所调控的 852 个靶基因。这一高度复杂的分子网络可以进一步通过相邻的网络搜索算法获得 3428 个相关的分子及 6837 个相关的分子关系，这说明还需要做大量的研究工作，才能确定其中最为关键的调控通路，从而为阿尔茨海默病的防治提供重要信息和线索。



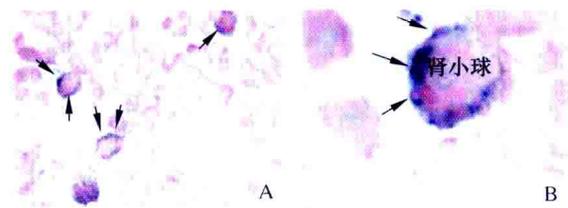
正常组织芯片结果

肿瘤组织芯片结果

彩图 11-1 芯片扫描结果

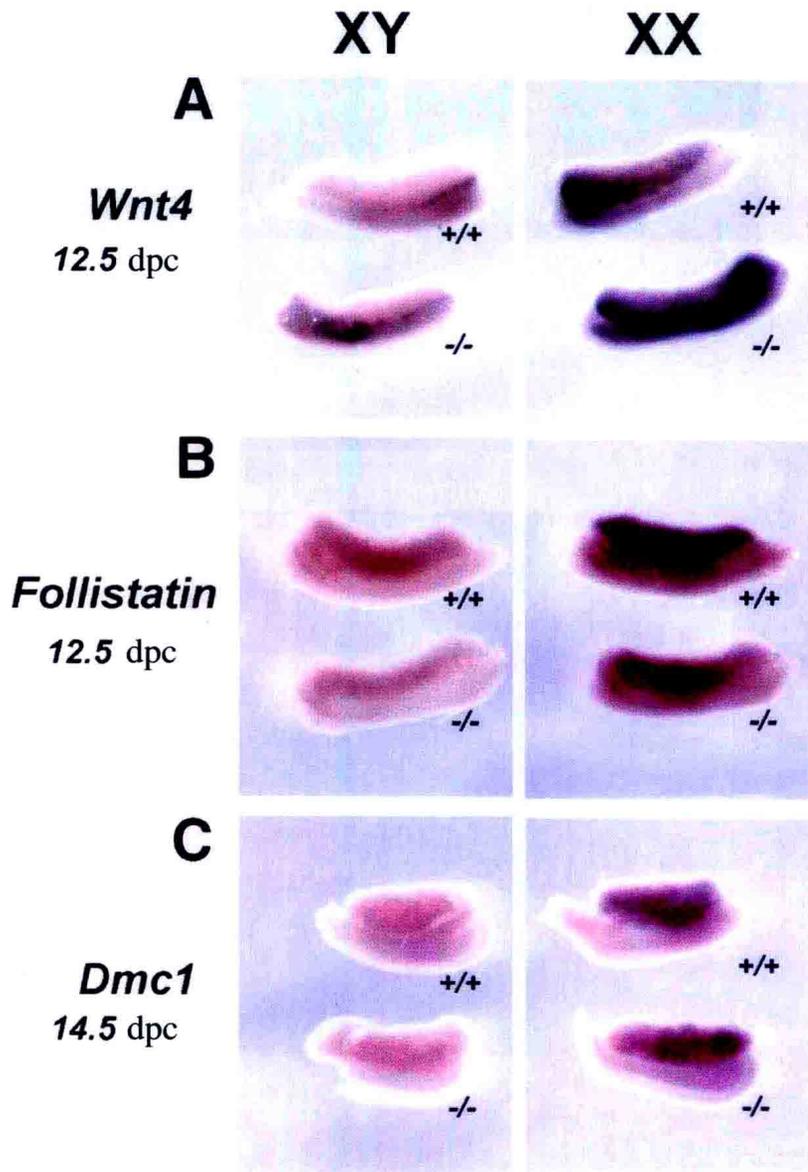


彩图 11-2 聚类分析结果

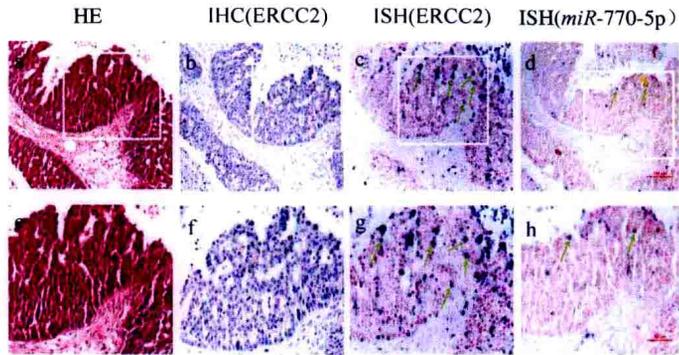


彩图 13-1 存储一年的小鼠冰冻转移切片原位杂交结果图

图中箭头所示蓝紫色为 *nephrin* 的 mRNA 探针与肾小球足细胞中的核酸的原位杂交，红色为核固红复染的细胞核。

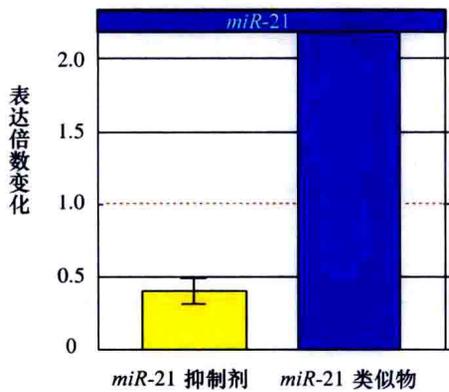


彩图 13-2 用整体原位杂交法检测小鼠胚胎^[5]



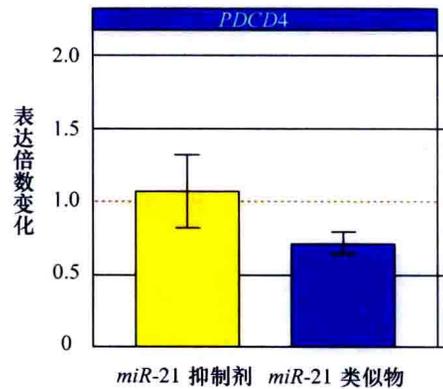
彩图 13-3 HE、IHC、ISH 结果图

连续切片显示的分别为 HE、ERCC2 (免疫组织化学法)、ERCC2 mRNA (原位杂交法)、*miR-770-5p* (原位杂交法)。ERCC2 与 ERCC2 mRNA 的表达水平一致, 与 *miR-770-5p* 表达呈反比^[8]



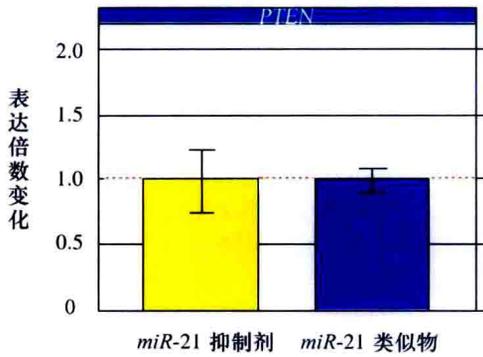
彩图 14-15 *miR-21* 表达的高水平变化

图中显示的是在 *miR-21* 抑制 (黄色条) 或过表达 (蓝色条) 之后的 *miR-21* 水平, 分别与各自的抑制剂和类似物对照转染细胞 (红色虚线=1.0) 进行比较



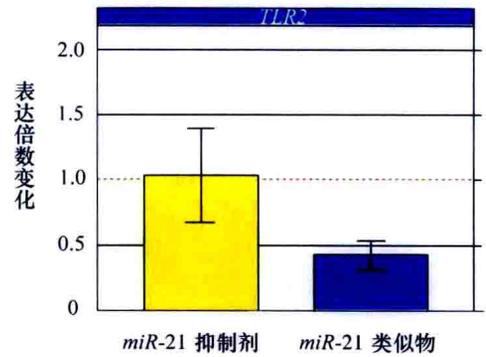
彩图 14-16 *miR-21* 对 *PDCD4* 基因表达的调控

mRNA-21 过表达 (蓝色条) 导致 *PDCD4* mRNA 水平下降, 而 *miRNA-21* 下调 (黄色条) 并不影响 *PDCD4* 的 mRNA 水平, 分别与各自的抑制剂和类似物对照转染细胞 (红色虚线=1.0) 进行比较



彩图 14-17 miR-21 水平调节对 *PTEN* 基因表达的影响

当细胞内 miRNA-21 浓度发生变化时, *PTEN* RNA 的 mRNA 水平并不发生变化。图中显示的是分别在 miRNA-21 过表达 (黄色条) 和 miRNA-21 抑制 (蓝色条) 之后 *PTEN* 基因 mRNA 的表达水平, 分别与各自对照的抑制剂和类似物转染细胞 (红色虚线=1.0) 进行比较



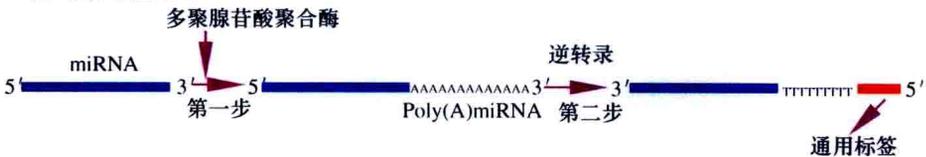
彩图 14-18 miR-21 水平调节对 *TLR2* 基因表达的影响

miRNA-21 抑制 (黄色条) 并不会影响 *TLR2* mRNA 水平, 而 miR-21 过表达 (蓝色条) 会导致 *TLR2* mRNA 水平下降, 分别与各自对照的抑制剂和类似物转染细胞 (红色虚线=1.0) 进行比较

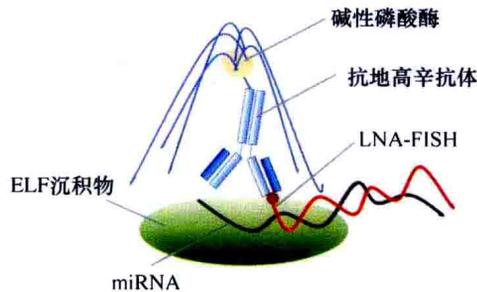
A. 特异性引物一步法反转录



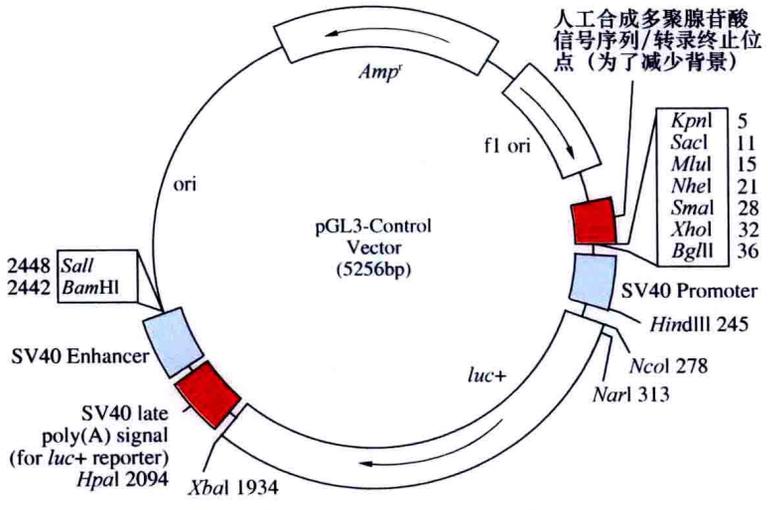
B. 加A两步法反转录



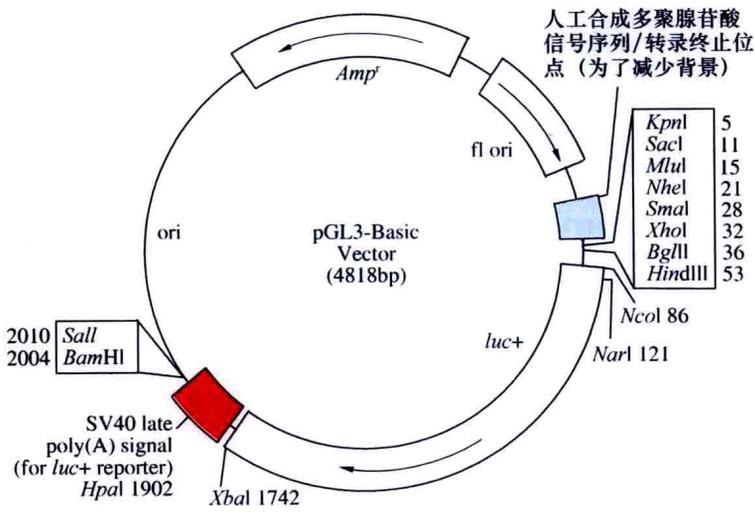
彩图 16-1 聚合酶加 A 法反转录方案



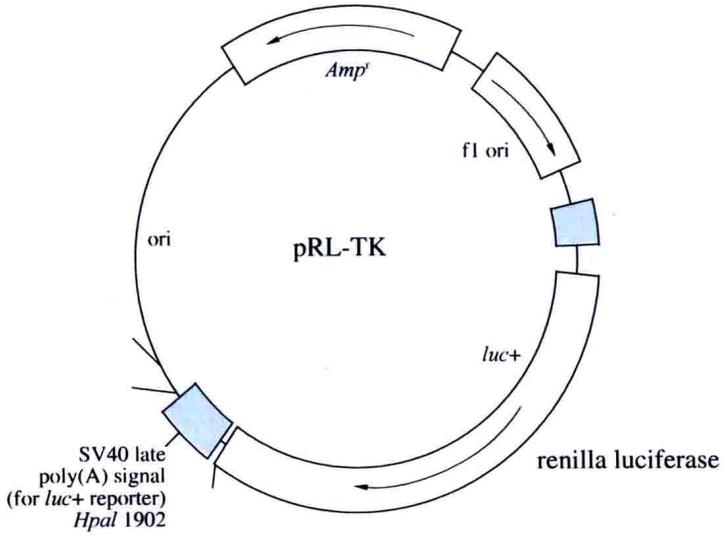
彩图 18-1 用 LNA-ELF-FISH 方法检测 miRNA 示意图^[8]



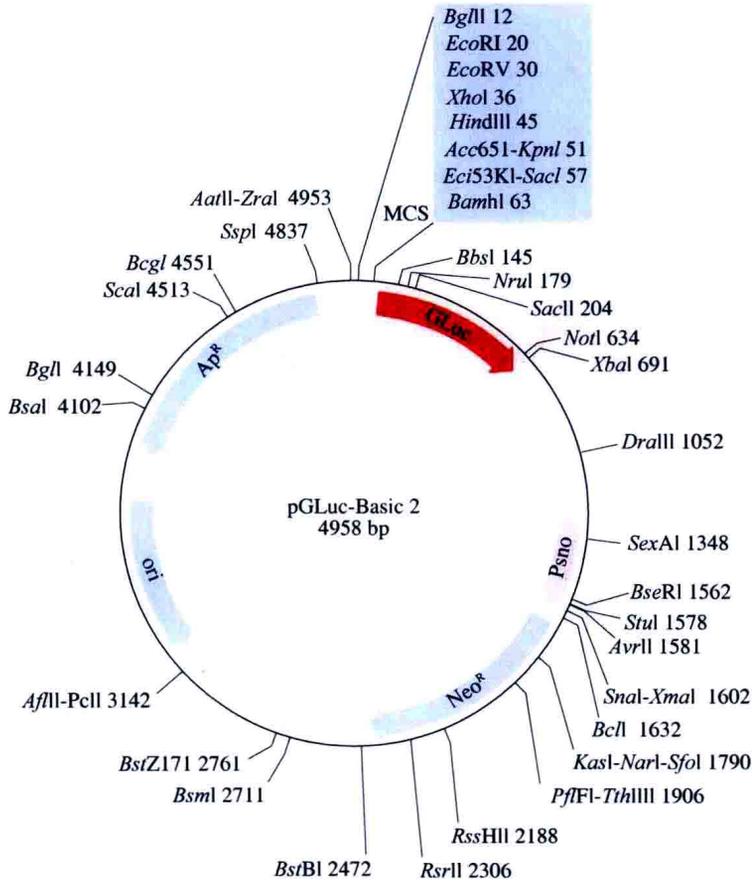
彩图 19-1 pGL3-control 载体



彩图 19-2 pGL3-Basic 载体



彩图 19-3 pRL-TK 载体



彩图 19-4 pGLuc-Basic 2 载体



彩图 20-1 miRNA 靶位点分类示意图

Search for predicted microRNA targets in mammals

- [Go to TargetScanMouse]
- [Go to TargetScanWorm]
- [Go to TargetScanFly]
- [Go to TargetScanFish]

1. Select a species Human

AND

2. Enter a human Entrez Gene symbol (e.g. "LIN28A")

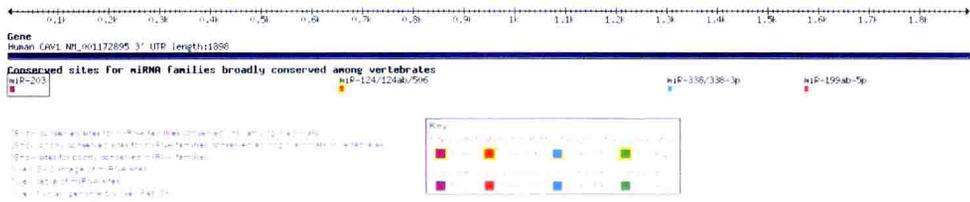
AND/OR

3. Do one of the following:

- Select a broadly conserved* microRNA family (Broadly conserved miRNA families)
- Select a conserved* microRNA family (Conserved miRNA families)
- Select a poorly conserved microRNA family (Poorly conserved miRNA families) * Note that these families also include small RNAs that have been misclassified as miRNAs

彩图 20-2 TargetScan 数据库首页

Human CAV1 3' UTR



彩图 20-3 人 caveolin-1 3' UTR 候选 miRNA (局部)

TargetScans: Prediction of microRNA targets

Search the database of microRNA targets conserved in 5 vertebrates:

Select a microRNA family here: Submit

Enter human RefSeq mRNA id here: Submit

Conserved targeting was also detected in the open reading frames (ORFs) of vertebrate genomes. The database of ORF target sites is not currently accessible. TargetScan web interface but is included in the supplementary information that accompanies [Lewis et al., 2005](#) (see the bottom of Supplementary Table 2).

Links

- Burne lab
- Bartel lab
- MIT Department of Biology
- Whitehead Institute
- TargetScan Web Server
- Vienna RNA Package
- MicroRNA Registry

彩图 20-4 TargetScans 数据库首页 (http://genes.mit.edu/tscan/targetscanS2005.html)

Searching "miR-22": 114 miRNA:UTR pairs conserved in vertebrates

Total number of target sites matching each stringency level are listed in parenthesis.

miRNA	Target gene id (RefSeq mRNA id)	seedM + seedM	seedM + 1TA	seedM + 1TA + seedM	Target gene symbol	Target gene name	Target gene description
miR-22	NM_013843	1 (2)	0 (0)	1 (2)	CD114	glycophorin glycoprotein-114	Clustered in genes, are a diverse group of proteins that regulate fundamental cellular processes, including stimulation of cell membrane potential, transcriptional transport, membrane remodeling, and regulation of cell growth. Glycophorin glycoprotein-114 (CD114) protein, encoded by the CD114 gene, is a member of the p54 family. The gene is expressed in many tissues and exhibits a particular restriction pattern of placental cytotrophoblastic cells.
miR-22	NM_013481	0 (0)	0 (0)	0 (0)	RNF44	ring finger protein-44	The protein encoded by this gene contains a RING finger, a motif present in a variety of fundamental, distinct proteins and known to be involved in protein-protein and protein-DNA interactions.
miR-22	NM_017743	0 (0)	0 (0)	0 (0)	LRWD16	leucine-rich repeat domain containing 16	LOC
miR-22	NM_013457	0 (0)	0 (0)	0 (0)	CTSC16	CTSC16	LOC
miR-22	NM_023172	2 (2)	0 (0)	0 (0)	NEK9	NEK9	NEK9-related kinase 9
miR-22	NM_003633	0 (0)	0 (0)	0 (0)	PPP1R42	protein phosphatase 1 regulatory subunit 42	The mRNA coding sequence in this gene is transcribed from a promoter that is thought to be under a p53-MDM2 signaling pathway. This protein belongs to a family of proteins that includes other phosphatase 1 regulatory subunits (PP1RS) and other dependent kinases (CDKs). This protein is regarded as a CTA-like kinase (CKL) with homology to mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1). Sequence analysis identified two target sites that include the same protein.
miR-22	NM_017926	0 (0)	0 (0)	0 (0)	PTIP11	protein tyrosine phosphatase 11	LOC

彩图 20-5 miR-22 候选靶基因数据库 (局部)