

非编码 微小分子RNA 与心脏疾病

主 编 杨宝峰 王志国

副主编 吕延杰 艾 静



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

非编码 微小分子RNA 与心脏疾病

主 编 杨宝峰 王志国

副主编 吕延杰 艾 静

编 者 (以姓氏笔画为序)

马 宁	王 宁	王志国	艾 静	白云龙	冯 海
朴贤美	吕延杰	朱久新	乔国芬	刘 艳	许超千
孙 菲	孙丽华	杜智敏	李 欣	李 霞	李永生
李宝馨	李柏岩	李雪连	杨宝峰	初文峰	张 妍
张 荣	张 勇	张 莹	张明宇	陈 畅	周宇宏
单宏丽	赵 鑫	班 涛	徐 娟	高 旭	龚冬梅
梁海海	董德利	蔡本志	潘振伟	霍 蓉	

秘 书 赵洪霞

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

非编码微小分子 RNA 与心脏疾病/杨宝峰, 王志国
主编. —北京: 人民卫生出版社, 2018

ISBN 978-7-117-26092-3

I. ①非… II. ①杨…②王… III. ①核糖核酸-
关系-心脏病-研究 IV. ①Q552②R541

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 028157 号

人卫智网 www.ipmph.com 医学教育、学术、考试、健康,
购书智慧智能综合服务平台
人卫官网 www.pmph.com 人卫官方资讯发布平台

版权所有, 侵权必究!

非编码微小分子 RNA 与心脏疾病

主 编: 杨宝峰 王志国

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京盛通印刷股份有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 889×1194 1/16 印张: 26

字 数: 824 千字

版 次: 2018 年 4 月第 1 版 2018 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-26092-3/R·26093

定 价: 218.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)



前言

这是一部关于微小核苷酸 microRNA (miRNA) 的书;更确切地说,这是一部关于 miRNA 与心血管功能和疾病的专著。我们编撰本书的目的有三:一是为 miRNA 和心血管研究领域的广大科研人员提供一些相关的理论指导和研究指南;二是为高校生物医学科目教学提供一本辅助教材;三是为生物医学领域研究生和本科生提供一本参考书。

miRNA 从过去的“隐姓埋名、默默无闻”到二十多年前的“崭露头角、小试锋芒”,再到如今的“无冕之王”,这种非编码小核苷酸已经成为一个传奇、一个科学界的传奇、一个生物医学科学领域的传奇!它们在生物体系中几乎无所不在、无所不能,无论是植物还是动物、抑或是微生物,每一个细胞都有它们的身影,每一种细胞功能都有它们的参与。作为一类新型的核苷酸分子,miRNA 主要在转录后水平上调控基因编码蛋白的表达,这是对转录水平基因调控表达的一种必要的补充,也是一种双保险的精细调控功能。miRNA 几乎参与了所有人类疾病的发生发展过程。心血管系统正是 miRNA 极其活跃的场所,还在胚胎发育早期心脏组织形成过程中 miRNA 就已经开始履行它们的职责,调控着所有相关基因的表达水平及其功能状态;之后,它们更是伴随人的一生,调控心脏的每一次搏动、每一轮泵血。从年轻到衰老、从健康到疾病,心脏都离不开 miRNA。从第一篇关于 miRNA 调节心血管系统发育的科研论文发表至今,经过广大科研工作者十余年来的不懈努力和辛勤劳作,迄今已经发表的关于 miRNA 与心血管功能和疾病方面的科研论文数目已经达到 3200 余篇,信息爆炸、知识暴涨!然而,这些孤立并存的信息知识却仍然处于一种“杂乱无章”的“碎片”状态,让人颇有“理不清剪还乱”的眼花缭乱之感,要引用、应用这些信息知识也往往会有一种让人无从下手、无章可循之虑,这需要人们去收集、梳理、归类、分析、总结和提炼,以达到去粗取精、去伪存真,由表及里、由小见大的目的,并由此提升出一些具有指导性和应用性的理论。

本书以 miRNA 的发现和研究发现历程作为开端,一一讲述其基本的生物学本质、生物合成过程、基因表达调控的分子机制、细胞生物学功能、它们在心血管生理和病理过程中所发挥的作用以及它们作为心血管疾病治疗靶点在新药发展中的现状和潜力。全书按照篇、章、节规范编撰。我们根据 miRNA 的基础知识、其心脏生理和病理功能、其在心脏疾病发生发展中所起的作用、其研究策略及方法以及基于 miRNA 的心脏疾病治疗药物的研发,分为五大篇。各篇根据所涵盖内容分为若干章,全书共二十四章。每一章构成一个独立的主题内容(即心脏的某一生理功能如心脏节律或某一心脏疾病如

心律失常),以“概述”开篇,正文先行以该章主题(如心律失常)的基础知识做铺垫,随之转入详述 miRNA 对相关功能(如心脏节律)或疾病(如心律失常)的调控作用,最后总结该研究领域现存的问题以及未来的发展趋势。值得一提的是,本书还纳入了有关 miRNA 的研究策略方案和技术方法,以帮助 miRNA 研究新人或有心涉足 miRNA 研究领域的新手尽快入门。此外,本书还着力介绍了 miRNA 临床前和临床研究的现状以及未来的发展趋势,为有心开发 miRNA 作为心血管疾病治疗新药的人士提供一些具有指南价值的信息。全书力求做到内容充实、新颖、全面,写作风格尽量保持一致,语言通俗易懂、生动明快,配以卡通式插图化繁为简、化深为浅、化难为易,让读者能够一目了然。本书不局限于单纯介绍知识,而是注重揭示 miRNA 发现过程和研究历程中,特别是 miRNA 调控心血管功能和疾病的事实中给我们所带来的启迪,以及新观念和新思维。总结已有知识,不仅仅是为了增加和保护我们的知识宝库更是为了展望未来,从中领悟新的科学启示和制定新的研究方向。

作为 miRNA 调控心脏电生理学和心律失常研究领域的开创人,本书的编撰团队(包括编者和作者)具有多年专注 miRNA 与心血管疾病研究的经历和一定水平的学术造诣,曾经发表过大量的有关科研论文,出版过若干 miRNA 研究领域的英文专著,负责或参与编写教育部指定的高校医药学教材,因此具备一定的书籍编撰经验。即便如此,编者和作者仍深感自己无论在学术水平和编写能力等方面都有一定的局限性,书中错误和遗漏以及其他不足之处在所难免,敬请专家们和读者们不吝赐教、批评指正。

杨宝峰 王志国

2017 年 7 月

目 录

第一篇 非编码小分子 RNA 概论

第一章 miRNA 研究历史	3
第一节 miRNA:非编码 RNA 家族新贵	4
一、非编码 RNA 家族	4
二、miRNA 与 siRNA	6
第二节 miRNA 的发现及其启示	7
一、lin-4 在 1993:第一个 miRNA 的发现	8
二、let-7 在 2000:第二个 miRNA 的发现	9
三、miRNA 在 2001:miRNA 时代的开启	9
四、miRNA 命名体系	10
五、发现 miRNA 给我们的启迪	11
第三节 miRNA 研究学科的发展历程	14
第四节 miRNA 研究前景展望	20
第二章 miRNA 生物学过程	29
第一节 miRNA 的生物合成和修饰	30
一、miRNA 的生物合成	30
二、miRNA 的基因修饰	34
第二节 miRNA 的生物学功能	35
一、miRNA 对基因的表达调控	35
二、miRNA 与靶基因之间的相互关系	38
第三节 miRNA 转运体	40
一、囊泡类转运体	40
二、脂蛋白	41
三、RNA 结合蛋白	42
第三章 细胞外的 miRNA	46
第一节 体液 miRNA 的检测	47
第二节 循环血液中 miRNA	48
一、心血管系统疾病与血液 miRNA	48
二、肿瘤疾病与血液 miRNA	52
第三节 其他体液中的 miRNAs	59
第四节 展望	60

第二篇 miRNA 与心脏生理和病理

第四章 miRNA 与心脏发育	79
第一节 心脏发育的生理过程	80
一、心脏发育概述	80
二、心脏发育的生理过程	80
第二节 miRNA 对心脏发育的调控	80
一、miRNA 对心脏胚胎发育的影响	80
二、miRNA 对心肌细胞分化及发育的影响	81
三、展望	84
第五章 miRNA 调控心脏节律	86
第一节 生理性心脏节律的调节	87
一、心脏电生理学基础	87
二、心肌细胞离子通道	88
三、细胞膜受体蛋白	89
四、缝隙连接蛋白对心脏节律的调节	90
第二节 miRNA 对心脏节律的调节	90
一、miRNA 对离子通道蛋白的调节	90
二、miRNA 对缝隙连接蛋白的调节	91
三、miRNA 对细胞膜受体蛋白的调节	92
第六章 miRNA 调控心肌收缩	94
第一节 心肌收缩的生理机制	95
第二节 miRNA 对心肌收缩的调节	96
一、miRNA 调控肌球蛋白重链	96
二、miRNA 调控细胞骨架	96
三、miRNA 调控兴奋收缩耦联	97
第七章 miRNA 与心肌肥厚	100
第一节 心肌肥厚的病理过程	101
一、心肌肥厚的结构重塑	101
二、心肌肥厚的信号转导通路	101
第二节 miRNA 对心肌肥厚的调控	102
一、miRNA 参与心肌肥厚发生的调控	103
二、miRNA 参与心肌肥厚时细胞骨架蛋白的调控	104
三、miRNA 参与心肌肥厚过程中心肌细胞凋亡的调控	105
四、miRNA 参与糖尿病性心肌肥厚的调控	105
五、其他	105
六、展望	106

第八章 miRNA 与心肌纤维化	108
第一节 心肌纤维化及其发生机制	109
一、成纤维细胞与心肌纤维化	109
二、心肌纤维化的分子机制	109
第二节 miRNA 与心肌纤维化	110
一、miRNA 与心肌纤维化研究的开端(2008—2010 年)	110
二、miRNA 与心肌纤维化研究的发展(2011 年至今)	111
三、miRNA 与心肌纤维化研究的展望	113
第九章 miRNA 与心肌细胞凋亡	115
第一节 心肌细胞凋亡的信号通路	116
一、死亡受体途径	116
二、线粒体途径	117
三、内质网途径	117
四、其他死亡途径	118
第二节 miRNA 对心肌细胞凋亡的调节	119
一、促进心肌细胞凋亡的 miRNAs	119
二、抑制心肌细胞凋亡的 miRNA	121
三、miRNA—miRNA 相互作用模式对心肌细胞凋亡的调控	122
四、miRNA—long non-coding RNA 相互作用对心肌细胞凋亡的调节	123
五、miRNA 介导药物对心肌细胞凋亡的调节	124
六、展望	124
第十章 miRNA 与心肌自噬	129
第一节 心肌自噬的生理过程	130
一、心肌自噬的发生过程及调控	130
二、心肌自噬的生理功能	131
第二节 miRNA 对心肌自噬的调控	131
一、miRNA 调节自噬基因的表达	132
二、miRNA 在心脏疾病中对自噬的调控	135
三、展望	139
第十一章 miRNA 与心肌损伤及修复	144
第一节 心肌损伤与自我修复的生理机制	145
一、干细胞与心脏再生	145
二、干预心肌细胞凋亡、自噬、坏死,增加细胞存活通路	146
三、心肌胞外基质对心脏再生的影响	146
四、心肌细胞缺氧对心肌再生的影响	147
第二节 miRNA 对心肌损伤与修复的调节	147
一、miRNA 与干细胞增殖、迁移、分化	147
二、miRNA 与心肌细胞存活	150
三、miRNA 与心肌细胞增殖	150

四、miRNA 与心脏血管生成	151
五、miRNA 与缺氧所诱导的心肌细胞再生	151
第三节 基于 miRNA 的心肌再生的治疗	152

第三篇 miRNA 与心脏疾病

第十二章 miRNA 与先天性心脏病	157
第一节 先天性心脏病的分类及病理生理	158
第二节 miRNA 对先天性心脏病的调节	159
第十三章 miRNA 与心律失常	165
第一节 心律失常的发病机制	167
第二节 miRNA 与心律失常	169
第三节 展望	177
第十四章 miRNA 与心力衰竭	181
第一节 心力衰竭的病理生理机制	182
第二节 miRNA 对心力衰竭病理过程的调节	182
一、心力衰竭时 miRNA 表达谱	182
二、miRNA 与心肌肥厚	183
三、miRNA 与心肌纤维化	183
四、miRNA 与心肌细胞凋亡	184
五、miRNA 与心律失常	184
六、miRNA 与炎症反应	185
第三节 miRNA 在心力衰竭中的应用	186
一、miRNA 对心力衰竭的诊断和预后评估	186
二、miRNA 对心力衰竭治疗展望	187
第十五章 miRNA 与冠状动脉硬化性心脏病	191
第一节 冠状动脉硬化性心脏病	192
一、冠心病发生的危险因素	192
二、冠心病发生的病理机制	192
第二节 miRNA 对冠心病的病理作用	194
一、miRNA 对冠状动脉的生理作用	194
二、miRNA 在冠状动脉硬化性心脏病中病理作用	194
第三节 miRNA 在冠心病治疗中应用	197
一、miRNA 临床治疗药物的开发	197
二、miRNA 临床诊断的应用	198
三、展望	200
第十六章 miRNA 与心脏瓣膜病	204

第一节 心脏瓣膜病的病理生理	205
第二节 miRNA 与心脏瓣膜疾病	205
第三节 miRNA 调控心脏瓣膜疾病的分子机制	206
第四节 循环 miRNA 在心脏瓣膜疾病诊断与预后评价中的意义	208
第五节 展望	209
 第十七章 miRNA 与心肌病	211
第一节 心肌病概述	212
一、心肌病简介	212
二、心肌病的分类	212
第二节 miRNA 对原发性心肌病的调控	213
一、miRNA 与扩张型心肌病	214
二、miRNA 与肥厚型心肌病	215
三、miRNA 与限制型心肌病	216
第三节 miRNA 对继发性心肌病的调控	216
一、miRNA 与糖尿病型心肌病	216
二、miRNA 与应激性心肌病	219
三、miRNA 与病毒性心肌病	221
四、miRNA 与酒精性心肌病	222
五、miRNA 与小儿心肌病	223
六、miRNA 与遗传性心肌病	223
七、miRNA 与围产期心肌病	224
八、miRNA 与慢性查加斯心肌病	224
九、miRNA 与营养不良性心肌病	224
第四节 miRNA 在心肌病的治疗和诊断中的前景与展望	225
 第十八章 miRNA 与原发性高血压	233
第一节 原发性高血压的病理生理及分子机制	234
一、原发性高血压定义	234
二、原发性高血压的分子机制	234
三、原发性高血压的病理生理变化	236
第二节 miRNA 对血压的调节	237
一、心脏中 miRNA 对血压的调节	237
二、血管中 miRNA 对血压的调节	239
三、肾脏中 miRNA 对血压的调节	243
四、神经系统中 miRNA 对血压的调节	245
五、其他单核苷酸多态性对血压的调节	246
 第四篇 miRNA 研究策略及方法	
 第十九章 miRNA 研究的基本策略	255

第一节 miRNA 的筛选策略	256
一、miRNA 的高通量筛选	256
二、特征性 miRNA 的筛选验证策略	257
三、特征性 miRNA 的新型检测方法	259
第二节 miRNA 对靶基因调节的研究策略	260
一、miRNA 靶基因的筛选	260
二、miRNA 对靶基因的调节方式	261
三、miRNA 对靶基因调控的验证	262
第三节 miRNA 功能研究	263
一、miRNA 获得型功能研究	263
二、miRNA 功能缺失型研究	264
三、miRNA 功能研究	265
第二十章 miRNA 的研究方法	269
第一节 目的 miRNA 的筛选方法	270
一、基于芯片技术的 miRNAs 的高通量筛选方法	270
二、基于网络数据库的 miRNAs 的高通量筛选方法	277
第二节 miRNA 的检测方法	280
一、miRNA 的提取和富集方法	280
二、miRNA 的检测及定量分析	281
第三节 miRNA 的功能分析	293
一、生物学实验方法	293
二、建立转基因动物研究方法	306
第四节 miRNA 遗传改变动物	306
一、miRNA 遗传改变动物简介	306
二、miRNA 重组体的构建	307
三、miRNA 腺病毒/慢病毒包装	308
四、基因过表达动物模型制备	308
五、基因敲减动物模型制备	310
六、转基因动物基因型鉴定方法	311
七、miRNA 敲除小鼠模型的制备	311
八、展望	312
第二十一章 miRNA 的现代生物信息学研究策略与实用方法	314
第一节 miRNA 靶基因的高通量识别及功能预测	315
一、miRNAs 序列数据库	315
二、miRNA 靶基因的高通量实验检测数据的计算分析	315
三、miRNA 靶基因预测的计算方法	317
四、miRNA-靶基因互作数据资源	320
五、基于调控的靶基因预测 miRNA 功能	321
第二节 miRNA 功能型(应用型)数据资源	325
一、miRNA 和疾病数据库	325

二、miRNA 药物影响数据库.....	326
三、转录调控及表观修饰调控数据库.....	326
四、其他.....	328
第三节 miRNA 相关组学数据的生物信息学分析策略.....	328
一、miRNA 转录组的基本生物信息学分析策略.....	328
二、miRNA 相关的 DNA 甲基化组的基本生物信息学分析策略.....	331
三、miRNA 组蛋白修饰组的基本生物信息学分析策略.....	332
四、miRNA 组学数据的深层次生物信息分析策略.....	334
第四节 miRNA 组学数据的整合生物信息分析策略.....	335
一、miRNAs 表达谱与 mRNA 表达谱的整合分析技术.....	335
二、疾病相关 miRNAs 的计算识别.....	336
三、miRNAs 介导的内源性竞争互作的识别技术.....	338
四、miRNA-miRNA 协同调控作用的识别技术.....	340

第五篇 miRNA 与心脏疾病药物研发

第二十二章 miRNA 的临床前研究.....	345
第一节 miRNA 成药性研究.....	346
第二节 miRNA 在疾病治疗中的应用.....	349
一、miRNA 在心血管疾病治疗中的应用.....	350
二、miRNA 在肿瘤治疗中的应用.....	351
三、miRNA 在其他疾病治疗中的应用.....	351
第三节 miRNA 临床前研究面临的困境.....	352
第二十三章 miRNA 药物研发的临床研究.....	354
第一节 miRNA 药物研发临床研究现状.....	355
一、miRNA 作为生物标记物在临床早期诊断的应用.....	355
二、miRNA 药物靶向治疗的临床研究现状/miRNA 治疗从基础研究到临床应用.....	357
第二节 临床用药对 miRNA 表达调节的机制.....	359
一、miRNA 可能成为药物治疗房颤新的药物作用靶点.....	360
二、肾上腺素受体阻断药以 miRNA 为靶点发挥抗心肌梗死的作用.....	360
三、中药活性成分丹参酮 II A 以 miRNA 为靶点治疗缺血性心律失常.....	360
四、血管紧张素转化酶抑制药调节 miRNA 的研究.....	361
五、阿司匹林调节 miRNA 的研究.....	361
第三节 展望.....	362
第二十四章 miRNA 干扰技术与 miRNA 药物研发.....	363
第一节 miRNA 干扰技术.....	364
一、miRNA 干扰技术概述.....	364
二、miRNA 功能增强技术.....	365

三、miRNA 功能抑制技术	370
第二节 miRNA 药物研发	377
一、miRNA 作为疾病治疗靶点	377
二、miRNA-based 药物的转运	380
三、miRNA 药物治疗	387
第三节 miRNAi 的应用前景	390
一、靶向性给药途径	390
二、微粒清除系统	391
三、多靶基因的疗效不确定性	391
四、免疫反应	391
中英文名词对照索引	395

第一篇

非编码小分子RNA概论

第一章

miRNA研究历史

概 述

这一章是全书的开篇!它是独立的一章,也应该是本书后续章节的引子。它的使命是为读者提供一份关于 miRNA 的发现及其研究历程的“大事记”。自第一个 miRNA 被发现以来,miRNA 研究已经走过了 23 年的历程。迄今为止科学家们已经在 SCI 期刊上发表了 60 000 多篇有关 miRNA 的科学论文,发现了 5600 个人类 miRNAs。这期间,科学家们在 miRNA 这个新的研究领域里建立了很多的理论学说,发明了不少新的技术方法,积累了不少新的知识信息,也提出了不少新的理念观点。人类就如同乘上了“中国高铁”,迅速驶入了转化开发 miRNA 相关医药产品,造福人类健康的时代!讲述历史,不单纯是让读者“坐在高高的谷堆旁边,听妈妈讲那过去的事情”、倾听一段属于 miRNA 及其研究者的往日的轶事和辉煌,更重要的是让读者沿着 miRNA 的研究历程去寻觅先驱们留下的那一个个永不磨灭的足迹,永不消逝的身影;去探索先驱们留下的一座座英名永留的丰碑和永不枯竭的宝藏。并从中获得启迪,领悟 miRNA 研究的科学思维方式,激发 miRNA 研究的兴趣和灵感。miRNAs 的发现对生命科学的发展无疑具有无可估量、巨大深远的影响,可以称得上是 20 世纪到 21 世纪跨世纪的重大科学发现之一,具有广泛的理论意义、应用价值和深远的科学影响。既然是 miRNA 的发现及其研究历程的“大事记”,本章内容不可能包罗万象、事无巨细地回放所有事件,而是精挑细选、精提细炼,将 23 年来 miRNA 研究的发展历程定格在若干重要的阶段。第一节以介绍各类非编码 RNA(ncRNA)作为开端,引入对 miRNA 和 siRNA 这两个相似又相异的小 ncRNA 的比较,帮助读者能够更好地认识 miRNA 的特点及其在基因调控网络中的地位和作用。第二节讲述初期发现 miRNA 的过程以及 miRNA 的发现给我们带来的一系列重要的启迪,特别是一些值得深思的颇具颠覆性的新观念和新思维,诸如 miRNA 研究成果如何补充和发展了遗传信息传递的中心法则;如何丰富了表观遗传学的内容和机制;如何揭示了基因表达调控的新模式和新机制;如何颠覆了人们对“垃圾 DNA”的认识等等。这一节还介绍了 miRNA 的命名方法和规则,以便我们能够恰当准确地描述 miRNA。第三节系统回顾了 miRNA 研究历程中的一些最重要的阶段,总结了这些阶段中具有变革性和驱动力的重大科研发现和成果,并将它们标记为 miRNA 研究历程中的里程碑。其中包括 miRNA 在癌症发生发展、心血管疾病、神经系统疾病、免疫系统疾病,以及在疾病诊断、新药发展治疗疾病中的价值和在发展创新性生物技术方法中的催化作用等。在最后一节中,笔者预测了一些在今后的 miRNA 研究中需要填补的空白领域,以及将会得到关注和值得重视的课题。回顾历史,是为了总结过去,但更是为了展望未来,从中领悟新的科学启示和制定新的研究方向。

第一节 miRNA:非编码 RNA 家族新贵

一、非编码 RNA 家族

生物体中的核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)可以分成两大类:编码 RNA(protein-coding RNA)和非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)。前者仅有一种,即信使 RNA(messenger RNA, mRNA),而后者包括近 20 种不同的 RNA 分子^[1-3]。mRNA 的序列中含有所谓开放阅读框(open reading frame, ORF),其中包括蛋白质翻译的启动位点(start codon)和终止位点(stop codon)。ncRNA 不含有 ORF,因此不编码蛋白质。mRNA 不具备直接的细胞功能,它们通过翻译程序生成蛋白质或者产生 ncRNA 来行使细胞功能,而 ncRNA 本身就能够发挥各种各样的细胞功能,因此也被称为功能性 RNA(functional RNA, fRNA)。为了方便叙述,笔者在此将所有 ncRNA 归入非编码 RNA 大家族(ncRNA superfamily),这个大家族的成员可以按照“个头”大小(核苷酸序列长度)分为三个家族(family):小 ncRNA 或短链 ncRNA 家族(核苷酸序列长度通常<50nt)、中长或中链 ncRNA 家族(序列长度=50~500nt)和长链 ncRNA 家族(序列长度>500nt)。每个家族又是由若干个亚家族组成,而每个亚家族的成员数目不等,少则几个,多则数千。

(一) 短链 ncRNA 家族

高等生物体内存在着大量的短链 ncRNA,它们组成了细胞中高度复杂的基因调控网络。短链 ncRNA 在胚胎发生发育、细胞增殖分化、肿瘤发生发展、干细胞分化等细胞水平的几乎所有生命活动中,以及各类人类疾病的发生发展中,都起着极其重要的调控作用。短链 ncRNA 家族是由微小 RNA、小干扰 RNA、piRNA、小核 RNA 和核仁小 RNA 这些亚家族所组成的,它们各自在生物体中起着不同但又可能互相重叠的基因调控作用。

1. 微小 RNA(microRNA, miRNA 或 miR) 成熟的 miRNA 的序列长度大约为 21~25nt,是由其 70~90nt 长的带有发夹结构的 miRNA 前体(miRNA precursor, pre-miRNA)经过 Dicer(RNAase III 家族中对双链 RNA 具有特异性切割功能的酶)加工后生成。它们广泛存在于真核生物中,在物种间具有高度的序列保守性,表达具时序性、组织特异性以及疾病特异性(即特定的 miRNA 只有在特定的时间、组织或病理状态才会表达)^[4,5]。从第一个 miRNA 被发现以来,迄今人们已经从 206 个不同的物种中确认了 3 万多个 miRNAs 分子(包括人类基因组中的约 5600 个 miRNAs)^[6],而且这个数值还在不断地攀升。据推测,miRNAs 调节着至少 50% 的人类基因。可见,miRNA 是当之无愧的 ncRNA 家族的新贵和“掌门人”,也是本书的主角。

miRNA 通过其种子序列(seed sequence, 5'端 2~8 位碱基)与靶基因(mRNA)3'末端非翻译区(3' UTR)碱基互补并以氢键结合,继而起到抑制基因表达的作用。这种结合会阻止蛋白翻译过程,也可能导致靶 mRNA 的降解^[7-10]。按其作用模式的不同,miRNAs 可被分为三个类型:①抑制翻译型,以线虫 *lin-4* 为代表。发挥作用时与靶基因不完全互补结合,抑制翻译而不影响 mRNA 的稳定性(不改变 mRNA 丰度)。这类 miRNAs 是目前发现最多的一类。②mRNA 降解型,以拟南芥 *miR-171* 为代表。其作用方式和功能与 siRNA 非常类似,发挥作用时与靶标基因完全互补结合,使靶 mRNA 降解,从而抑制基因表达。这个类型主要存在于植物细胞中。③全能型,以 *lethal-7 (let-7)* 为代表。它同时具备以上两种作用模式:当与靶标基因完全互补结合时,直接降解靶 mRNA;当与靶基因不完全互补结合时,起着蛋白翻译抑制的作用。研究表明:每个 miRNA 可以有多个靶基因,而同一个基因亦有可能接受多个 miRNAs 的调节。这种复杂的调节网络达成了对靶基因的精细调控。

2. 小干扰 RNA(small/short interference RNA, siRNA) 1999 年,Hamilton 等在植物基因沉默的研究中首次发现:21~25nt 双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)。dsRNA 的出现对转基因所导致的基因沉默十分重要,而在转基因正确表达的植株中此 dsRNA 则不出现。随后,Hammond 等在进行细胞提取物核酸酶活性实验时证明了小分子 RNA 在 RNAi(RNA interference)中的作用,这些小分子 RNAs 就是由 dsRNA 形成的 siRNA。siRNA 与靶基因完全互补结合,降解 mRNA,从而沉默基因表达,起到诸如抗病毒、基因组