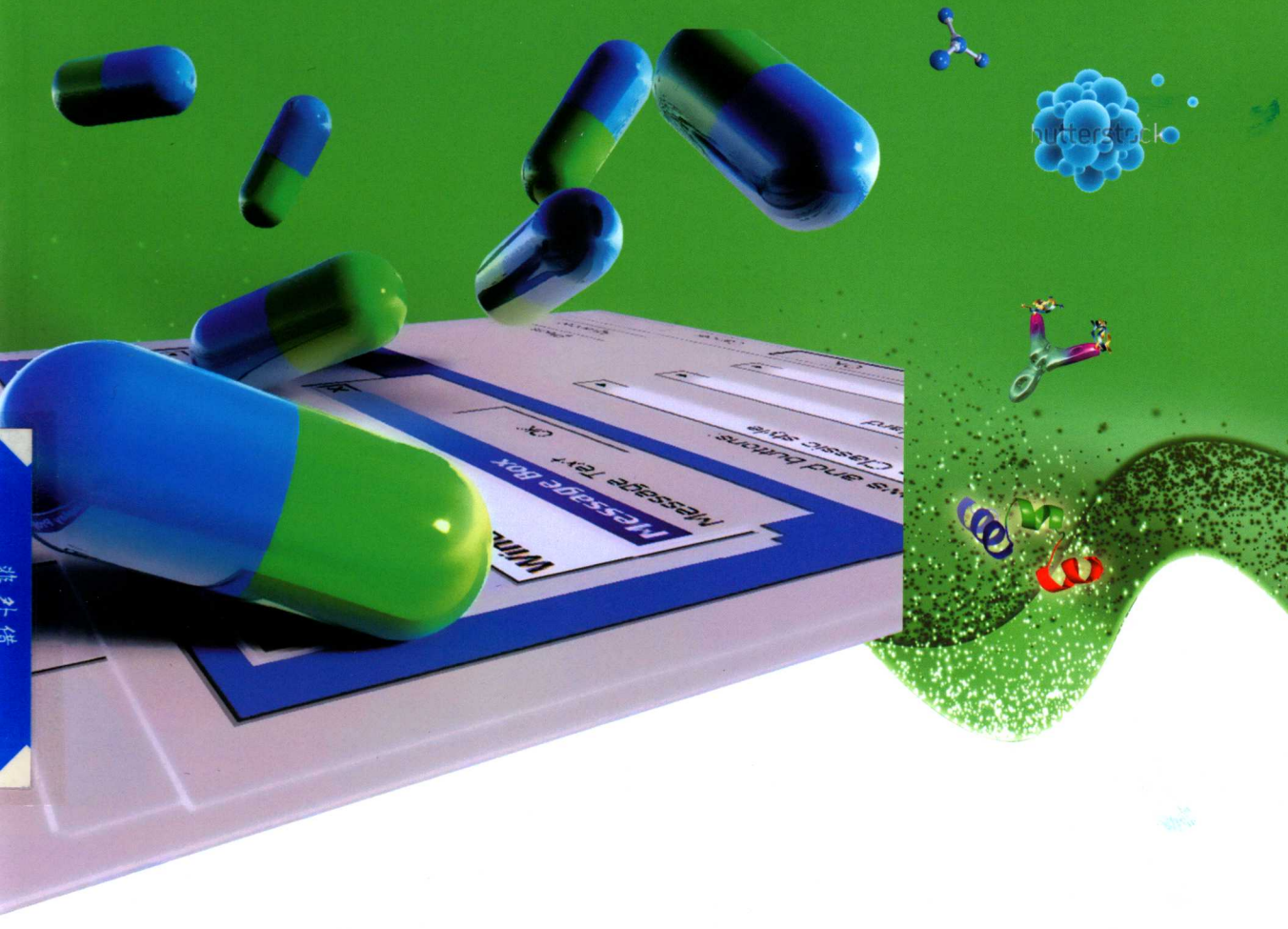
生命科学与信息技术丛书

实用生物信息学

冯世鹏　汤华　周犀　周智　著



中国工信出版集团
電子工業出版社
PUBLISHING HOUSE OF ELECTRONICS INDUSTRY
http://www.phei.com.cn

生命科学与信息技术丛书

实用生物信息学

冯世鹏　汤华　周犀　周智　著

電子工業出版社
Publishing House of Electronics Industry
北京 · BEIJING

内 容 简 介

生物信息学是生命科学领域中的一门新兴的前沿科学，其发展在很大程度上改变了人们研究利用生物的方式方法，成为生命科学研究最重要的工具之一。本书由 Windows 篇和 Linux 篇两部分组成，重点阐述生物信息学的基本概念与相关技术。Windows 篇讨论了在 Windows 操作系统下进行数据库检索、引物设计、核酸蛋白质序列转换、物种进化树构建、蛋白质高级结构预测分析、非编码 miRNA 研究应用等理论与方法，以及给出相关软件的使用介绍。Linux 篇讨论了在 Linux 操作系统下进行基因组测序，RNA-seq、miRNA-seq 等测序数据质控，基因组组装，转录组分析，基因预测、注释，基因表达分析等操作训练，并且给出对应软件的使用介绍。

本书的特色是紧贴科研实践、图文并茂、内容深浅合适、可操作性强、实用性高，读者可根据书中的步骤轻松实现相应分析，可供从事生物学、农学、医学的科技工作者、教师、学生作为生物信息学入门的参考书籍。

图书在版编目(CIP)数据

实用生物信息学 / 冯世鹏等著. —北京：电子工业出版社，2017.8
（生命科学与信息技术丛书）
ISBN 978-7-121-30224-4

I. ①实… II. ①冯… III. ①生物信息论 IV. ①Q811.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 258348 号

策划编辑：冯小贝
责任编辑：周宏敏
印　　刷：三河市鑫金马印装有限公司
装　　订：三河市鑫金马印装有限公司
出版发行：电子工业出版社
　　北京市海淀区万寿路 173 信箱　邮编　100036
开　　本：787×1092　1/16　印张：21.25　字数：550 千字
版　　次：2017 年 8 月第 1 版
印　　次：2017 年 8 月第 1 次印刷
定　　价：69.00 元

凡所购买电子工业出版社图书有缺损问题，请向购买书店调换。若书店售缺，请与本社发行部联系，联系及邮购电话：(010)88254888，88258888。

质量投诉请发邮件至 zlts@phei.com.cn，盗版侵权举报请发邮件至 dbqq@phei.com.cn。

本书咨询联系方式：fengxiaobei@phei.com.cn。

本书得到以下单位的支持，特此感谢。

国家自然科学基金地区基金项目（31460178）

海南大学2015年度自编教材资助项目

海南省中西部高校提升综合实力工作基金项目

海南省热带资源可持续利用重点实验室

海南省自然科学基金项目（314042）

前　言

关于本书的成因：希望通过本书让读者了解生物信息学，并能利用生物信息学工具进行常规的分析；对于学有余力或者对生物信息学有浓厚兴趣的读者，则读完本书后可进行二代测序数据的初步深度分析。本书主要针对生物科学相关专业本科生、研究生或者其他有志于学习生物信息学的初学者，希望本书能起到抛砖引玉的作用，带领他们进入生物信息学领域。

关于本书的内容：全书分为两篇，Windows 篇属于生物信息学基础，相关生物信息学软件在装有 Windows 系统的计算机上即可运行，这部分内容要求每个生物科学专业的本科生或读者必须了解掌握，主要包括生物信息相关数据库、序列比对、引物设计、序列分析、进化分析等；Linux 篇属于生物信息学的深度应用，主要软件及其应用需要在安装 Linux 系统的计算机上才能最有效地运行，这部分的内容供学有余力或者有志于进行生物信息学研究应用的学生或工作人员学习，主要包括基因组、转录组的测序、组装、注释等分析内容。

关于学习生物信息学的态度：不贪多、不畏多、自学为主、教学为辅。所谓“不贪多”，就是生物信息学涉及多个学科门类，一个人几乎不可能精通所有相关门类，因此最好根据个人兴趣选择其中一个方向刻苦钻研，勤以练习，融会贯通，同时兼顾其他方面。所谓“不畏多”，就是不要被生物信息学所需要学习的知识吓到，有的知识够用即可，遇到需要进一步学习的时候再去学习新的知识，循序渐进，学得也快。所谓“自学为主、教学为辅”，就是强调学习的主动性，带着强烈的兴趣学习，学习效果要远好于被迫学习。自学过程中不可避免地会遇到一些问题，此时力求通过查阅资料自行解决问题，因此会自然而然地产生自豪感；如果自己查阅资料无法解决的时候最好能有人给以辅助，否则会卡在那里、无法进行后续的学习，这就是要有教学为辅的作用。生物信息学注重实际分析，由于软硬件的差异，对于同样的数据，不同的人处理得到的结果可能不一致，这就要勤加练习，积累经验，分析导致不同结果产生的原因，并能对结果进行取舍，或者改变条件重新分析。

生物信息学，你可以爱它，因为它帮你解决了很多生物学的问题；你也可以恨它，因为有时候你的问题它无法解决。但不管你是爱还是恨，它就在那里，如果你的工作或者学习跟生物有关，你就必须要了解它！

冯世鹏

2017 年 6 月 12 日于海大

写作任务分工

篇	章	标题	任务分工
	第 0 章	绪论	冯世鹏、汤华
Windows 篇	第 1 章	文献信息检索	冯世鹏、汤华
	第 2 章	生物信息数据资源	冯世鹏、汤华
	第 3 章	序列比对	周犀
	第 4 章	核酸序列分析	周犀
	第 5 章	蛋白质序列分析	周犀
	第 6 章	基因表达分析	周犀
	第 7 章	进化分析	周智
	第 8 章	非编码 miRNA 分析	周智
Linux 篇	第 9 章	Linux 系统	冯世鹏
	第 10 章	Perl 语言	冯世鹏
	第 11 章	测序方法及数据处理	冯世鹏
	第 12 章	基因组组装	冯世鹏
	第 13 章	小 RNA 测序数据分析	周犀
	第 14 章	RNA-seq 数据分析	周智
	第 15 章	基因预测	冯世鹏
	第 16 章	基因注释及功能分析	冯世鹏
	附录 A	生物信息学文件格式	冯世鹏

作者简介

冯世鹏：博士，讲师，海南大学热带农林学院
汤　华：博士，教授，海南大学热带农林学院
周　犀：博士，讲师，海南大学热带农林学院
周　智：博士，副教授，海南大学海洋学院

目　录

Windows 篇

Linux 篇

第0章 绪 论

0.1 生物信息学的发展历史

以人类基因组计划实施为界，生物信息学的发展大致经历3个阶段，包括前基因组时代、基因组时代和后基因组时代。前基因组时代，有部分计算生物学家进行算法开发及核酸与蛋白质大分子数据收集及数据库构建。基因组时代，由人类基因组计划的实施开始，先后有6个国家的科学家直接参与人类基因组计划项目开发，同时也有像Celera公司为代表的其他科学家进行基因组测序及相应数据分析软件开发。后基因组时代，虽然进行了更广泛的生物物种的序列测定，但是基因组序列研究已经不是重点，更多的生物信息学研究人员转向研究蛋白质组、转录组、代谢组、比较基因组、结构基因组、功能基因组等研究领域。

0.1.1 Bioinformatics的来源

Bioinformatics(生物信息学)一词最早是荷兰科学家 Paulien Hogeweg 与 Ben Hesper 于1978年使用的，但其实他们更早是在1970年用荷兰文字(Bioinformatica)发表文献，但是该文献关注的人较少。该词当时代表生物过程中的信息流，与现在生物信息学的定义有很大的差别。

华裔科学家林华安(Hwa A. Lim)博士1987年提出Bioinformatics，并对生物信息学定义进行了探讨，并在20世纪90年代多次主持召开生物信息学相关会议，对生物信息学的推广做出了一定的贡献。

0.1.2 生物信息学的定义

生物信息学还没有统一的定义，不同的生物信息学家对其定义均有所差异，1995年人类基因组计划第一个五年报告中给出了一个定义，在李霞教授主编的《生物信息学》一书中采用了该定义："生物信息学是一门交叉学科，它包含了生物信息的获取、加工、储存、分配、分析、解释在内的所有方面，它综合运用数学、计算机科学和生物学的各种工具来阐明和理解大量数据所包含的生物学意义。"

生物信息学包括广义生物信息学和狭义生物信息学，广义生物信息学是研究整个生命过程的相关信息；狭义生物信息学是研究生物大分子(主要是核酸和蛋白质)所包含的生物信息，有时候也称为分子生物信息学。目前的生物信息学研究主要集中在狭义生物信息学方面，因此本书的内容也主要集中在狭义生物信息学。

0.1.3 人类基因组计划

人类基因组计划(Human Genome Project，HGP)是由美国科学家发起，由美国NIH及能源部支持，先后有英国、法国、德国、日本和中国共6国科学家参与的大型国际合作项目，1990年10月启动，总投资30亿美元，计划用15年时间完成人类基因组30亿个碱基对的测

序。人类基因组计划(1990—2003 年)与阿波罗登月计划(1961—1969 年)、曼哈顿原子弹计划(1942—1946 年)并称为 20 世纪人类自然科学史上三大科学计划。人类基因组计划在生物信息学学科发展过程中的作用再怎么强调都不为过。国际人类基因组计划由美国 1988 年成立的国家人类基因组研究中心(现国家人类基因组研究所)的第一任主任 Watson Jamas 领导，后 Watson 于 1992 年辞职，改由 Francis Collins 任国家人类基因组研究所所长，并继续领导国际人类基因组计划。

国际人类基因组计划团队采用逐步克隆(clone by clone)的方法，并使用第一代测序仪进行测序。人类基因组包含 22 条常染色体和 x、y 两条性染色体，6 国科学家分别承担其中一部分染色体测序任务，以杨焕明为首的我国科学家承担了第三号染色体短臂上约 30Mb 区域的测序任务，占人类基因组测序任务的 1%。1998 年以 Craig Venter 为首成立了 Celera 公司，号称要用 3 亿美金，以 300 台最新毛细管自动测序仪(ABI 3700)及全球第三的超大型计算机在 3 年内完成人类基因组的测序，Venter 采用的测序策略是全基因组鸟枪法(whole genome shotgun)。随着 Celera 公司人类基因组计划的启动，形成了与国际协作组的竞争，迫使国际协作组加快了测序步伐，最终于 2000 年 6 月 26 日由美国总统克林顿宣布人类基因组草图的完成，当时 Collins 和 Venter 并肩站在克林顿后面。国际协作组及 Venter 的人类基因组测序结果文章分别在 2001 年的 *Nature* 及 *Science* 杂志上发表。2003 年 4 月宣布人类基因组序列图绘制成功，人类基因组计划的所有目标全部实现，人类基因组计划完满结束，主要完成了人类基因组的 4 张图：遗传图谱、物理图谱、序列图谱、基因图谱；基因组测序覆盖度达到 99%，测序准确度达到 99.99%。2004 年 10 月公布人类基因组完成图，后续科学家不断对人类基因组图谱进行补充完善，目前 UCSC 数据库人类基因组图谱已更新至第 38 版（GRch 38/hg38，于 2013 年 12 月释放)。

0.1.4 生物信息学发展重要人物及大事件

1. 生物信息概念的建立

1956 年在美国田纳西州盖特林堡首次召开生物学中的信息理论研讨会，产生了生物信息的概念。

1970 年，Hogeweg 使用了 bioinformatics 一词。

1987 年，Hwa A. Lim 再次提出 bioinformatics 一词，并陆续召开了一系列生物信息相关会议。

2. 算法的建立及发展

1962 年，Zucherkandl(Emile Zucherkandl)和 Pauling(Linus Pauling)开创了分子进化这个全新的研究领域，主要通过序列分析研究序列变化与进化之间的关系，后来被称为分子钟(molecular clock)。

1966 年 Dayhoff(Margaret Belle (Oakley) Dayhoff)运用计算机及 maximum parsimony 方法重建蛋白进化树。

1970 年 Needleman(Saul B. Needleman)和 Wunsch(Christian D. Wunsch)一起开发了序列比对算法(Needleman-Wunsch 序列比对算法)，是首个动态规划算法，用于序列间的全局比对，为序列间的比较及数据库的搜索提供了可能，可以说是生物信息学发展史上的里程碑事件。

1978年，Dayhoff建立蛋白质序列比较的PAM(Point Accepted Mutation)替换矩阵，大大提高了序列比较算法的性能。

1981年，Smith(Temple F. Smith)和Waterman(Michael S. Waterman)提出了著名了局部对位排列算法(Smith-Waterman算法)，提高了序列比对的精确度。

1988年，Pearson(William R. Pearson)和Lipman(David J. Lipman)发表了著名的FASTA序列运算法则，其产生的fasta序列格式目前被广泛使用。

1990年，BLAST算法及软件发表，目前仍然被广泛使用，并在其基础上有新的改进软件出现。

1992年，BLOSUM打分矩阵发布，是目前进行蛋白质序列比较的应用最广泛的打分方法。

3．大型数据库的建立

1965年，Dayhoff收集蛋白质序列及机构，并以图书形式陆续出版，1984年由该数据建立了PIR数据库。

1982年，欧洲分子生物学实验室EMBL诞生，提供核算序列数据库服务。

1982年，美国国立卫生研究院下属的国立生物技术信息中心建立了GeneBank数据库。

1986年，日本核酸序列数据库DDBJ诞生。

1988年，三大数据库达成协议：采用共同的数据库记录格式收集直接提交的数据，并定期进行数据交换。

1986年，创建专家注释非冗余蛋白质数据库Swiss-Prot，1996年创建蛋白翻译TrEMBL数据库，2002年两个数据库整合为UniProtKB数据库。

1999年，启动Ensemble计划，目标在于开发工具及软件进行基因组的自动注释，并将相关注释结果在网页呈现并进行共享。

2000年，创建了UCSC Genome Browse基因组浏览器，进行基因组注释信息的可视化操作。

2003年，创建miRBase数据库，用于存储非编码miRNA数据。

2003年，启动ENCODE(Encyclopedia of DNA Elements)项目，目标是解析人类基因组的功能区域，2011年进行了第一次数据的大型释放，目前该项目仍在继续。

4．物种测序

1990年，人类基因组计划启动，2000年完成人类基因组草图，2003年完成精细图。

1995年，第一个细菌全基因组测序完成(流感嗜血杆菌，Haemophilus influenza Rd)，这是人类拥有的第一个能自由活动生物的全基因组序列，使用全基因组鸟枪法，基因组大小为1.8Mb。

1996年，第一个真核生物基因组测序完成(面包酵母，saccharomyces cerevisiae)，基因组大小为12.1Mb，16条染色体。

1997年，第一个模式生物完成测序(大肠杆菌，escherichia coli)，基因组大小为5.1Mb。

1998年，第一个多细胞生物测序完成(秀丽线虫，caenorhabditis elegans)，基因组大小为99.2Mb，6条染色体。

2000年，第一个植物基因组测序完成(拟南芥，arabidopsis thaliana)，基因组大小为125Mb，10条染色体。果蝇(drosophila melanogaster)的基因组测序完成，基因组大小148.5Mb。

2002年，水稻(oryza sativa)和小鼠(mus musculus)基因组草图完成。

2002 年，国际人类基因组单体型图计划(The International HapMap Project)启动，来自美国、日本、英国、加拿大、中国、尼日利亚的科学家协作，旨在确定和编目人类遗传的相似性和差异性，该计划于 2005 年完成。

2006 年，癌症基因组图集(The Cancer Genome Atlas，TCGA)计划启动，计划测定 10 000 个肿瘤基因组，于 2014 年宣告结束。

2006 年，深圳华大启动炎黄计划，计划测定 100 个黄种人基因组，旨在为黄种人疾病防治提供参考，2007 年炎黄一号发布，其他项目仍在进行。

2009 年，万种脊椎动物基因组计划(the Genome 10K project，G10K)启动，计划测定 1 万种脊椎动物基因组序列，目前未完成。

2010 年，深圳华大启动千种动植物基因组计划，目前尚未完成。

5. 测序技术发展

1970 年，吴瑞（Ray，Wu）开发了第一种 DNA 测序方法。

1977 年，Sanger(Frederick Sanger)开发双脱氧测序技术，也称为 Sanger 测序法。

1986 年，第一台商业化测序仪推出(370A，ABI)，也称为第一代测序仪，1998 年推出了 3700 测序仪，目前已经发展至 3730xl 全自动四色荧光聚焦测序仪，基于双脱氧测序技术，是目前测序通量最高的第一代测序仪。

2005 年，454 公司推出基于焦磷酸测序的 454 测序仪，是第一台二代测序仪。

2006 年，Illumina 推出基于 Solexa 技术的二代测序仪。

2007 年，ABI 推出基于连接法测序的 Solid 二代测序仪。

2010 年，Life 公司推出基于 PCR 反应释放 H^+导致 PH 变化进行检测的 Ion Torrent 二代测序仪。

2010 年，PacBio 公司推出第三代纳米孔单分子测序仪。

0.2 生物信息学的研究内容

0.2.1 生物分子数据的收集与管理

生物分子的类型：目前生物信息学研究的生物分子主要集中在核酸和蛋白质，因此生物分子的类型包括：蛋白质、DNA(包括基因组 DNA、线粒体 DNA、叶绿体 DNA)、RNA(包括 mRNA、tRNA、rRNA、miRNA、lncRNA 等不同类型的 RNA)。

生物分子数据类型：包括序列信息、结构信息、表达信息、定位信息、相互作用信息等。对于 DNA 分子来说，主要研究其序列信息、结构信息、片段注释等信息。对于 RNA 来说，主要研究其表达信息、结构信息、定位信息等。对于蛋白质来说，主要研究其结构信息、定位信息、相互作用信息等。

分子数据收集方法：序列信息的收集包括一代测序、二代测序、蛋白质序列测定等方法。结构信息的收集包括 X-ray、核磁共振(NMR)、高效液相色谱技术(HPLC)等方法。表达信息的收集包括二代测序、定量 PCR、芯片杂交、Northern Blot、Western Blot 等。定位信息的收集主要包括原位杂交、融合蛋白标记、荧光共振能量转移(FRET)等方法。相互作用信息收集主要包括酵母杂交技术、凝胶阻滞实验(EMSA)等。

数据管理：包括所收集的生物信息等数据提交给已有的数据库，或者构建本地数据库等。

0.2.2 数据库搜索及序列比较

数据库的分类：按照数据来源分为一级数据库，主要收集实验获得的原始数据；二级数据库，在一级数据库的基础上加工而成的数据库，目前的数据库大多都同时收录原始数据及在原始数据基础上的注释信息，因此均兼具一级、二级数据库的特征。按照收录的数据类型分为核酸数据库，如 GenBank、ENA、DDBJ 等；蛋白质序列数据库，如 Uniprot；蛋白质结构数据库，如 PDB 等。还有一些专有数据库，如线虫基因组数据库 AceDB、拟南芥数据库 tair；非编码 RNA 数据库，如 ncRNAdb、miRBase；蛋白质序列二级结构数据库，如 Prosite。数据库的类型很多，我们应该了解大型数据库及其所收录的数据类型，以便于有针对性地查找相关数据库，比如要找基因的序列，可在三大核酸数据库进行搜索；要找 miRNA 相关信息，最好在 miRBase 数据库搜索等。

数据库搜索方法：一般数据库搜索的设计比较人性化，易于掌握，而且各数据库网站会提供较详尽的帮助文件介绍数据库的搜索方法以供自学。当然，本书也会展示重要数据库的搜索方法，供读者举一反三。

序列比较：序列比较在生物信息分析过程中应用广泛，通过比较寻找序列的插入缺失等异同；寻找同源蛋白并推测未知基因的功能；通过序列比较可进行进化分析、寻找特定结构域等多方面的应用。序列比较可以使用数据库在线比较，比如三大核酸数据库 GenBank、ENA、DDBJ 均提供序列的 blast 搜索比较方法；也可以使用软件本地比较，比如 Cluster 软件、DNAstar 软件等。

0.2.3 基因组序列分析

随着二代测序技术的发展成熟，目前进行基因组的测序费用已经大大降低，一般的实验室都能承受，测序完毕之后的基因组序列分析包括如下内容。

基因组序组装：通过不同软件将测序所得的短 Reads 组装成 Contigs 或者 Scaffolds；对 Gaps 进行生物信息学修补。

基因预测：包括基因(gene)、启动子(promoter)、多聚 A 位点(polyA)、mRNA、tRNA、rRNA、snoRNA、miRNA、重复序列等序列模块的预测。

基因注释：对基因进行 NR、Swissprot、KEGG、InterProScan、COG 注释，预测这些基因潜在的功能。对 tRNA、rRNA、miRNA 等非编码 RNA，需通过比对，找出已知的非编码 RNA 及可能新的非编码 RNA。对于重复序列，要能区分这些重复序列的类型，比如 Alu 序列、微卫星序列等。对于 miRNA，还要预测其调控的潜在的靶基因。

功能基因分析：对感兴趣的基因进行基因家族分析，分析基因共有或特有结构域，对不同物种的相似基因做进化分析等。

比较基因分析：比较基因组里的插入、缺失(InDel)、转位、移位、SNP 位点、基因数量的变化、共有基因、特有基因分析等。

0.2.4 基因表达数据的分析与处理

基因表达数据分析，依据数据测定的方法不同，分析方法也会有很大的差别。

Northern Blot：抽提 RNA 后电泳、杂交、显影/拍照，通过软件对条带取灰度值进行分析

来获得基因表达差异数据，该方法灵敏度低，可能要对放射性同位素进行操作等，其应用受到一定的限制。

定量 PCR 数据：抽提 RNA 定量 PCR 操作完成后，先通过定量扩增曲线确定各样本的 Ct 值，然后通过经典的 2^{-ddct} 方法进行基因差异表达计算，该方法灵敏度高，操作相对容易，是使用最多的基因定量检测方法之一。

芯片数据：抽提 RNA 后，通过标记、芯片杂交、扫描、取灰度值获得原始芯片数据，对原始数据进行质控分析及归一化处理，再使用 ArrayTools、R 软件等对芯片数据进行基因差异表达分析。芯片可同时检测成千上万的基因，因此该方法对于转录组研究使用较多，尤其适合基因组信息比较明确、并有商业化芯片的物种，如人、小鼠、拟南芥等模式生物。

二代测序数据：抽提 RNA 后建库并进行二代测序（RNA-seq），将所获得的原始 Reads 信息转换为各基因的 RPKM 值(此过程相当于对数据的归一化处理)，再运用 R 软件、cufflinks 等软件对基因进行差异表达分析。该方法既可研究已知基因，亦可研究未知基因，因此对于基因组信息有限的物种的转录组研究，应用非常广泛。

0.2.5 蛋白质结构预测

蛋白质结构可通过实验方法直接测定，如利用 X 光(X-ray)晶体学、核磁共振(NMR)、荧光光谱、紫外光光谱等方法直接测定。

X 光晶体学：X 光射入晶体后会发生衍射，衍射线的分布和强度与晶体结构密切相关，类似晶体指纹，因此该方法是目前使用最多的蛋白晶体结构研究方法。实验过程需先对蛋白质过表达并创造条件使其形成结晶，再通过 x 光衍射测定衍射数据、对衍射数据进行分析并构建结构模型。该方法测定结果比较准确，但是获得良好的蛋白结晶相对困难。

核磁共振：其原理是原子核在强磁场作用下，吸收外来电磁辐射产生核能级的跃迁，从而产生核磁共振(NMR)现象。物质的分子结构与所处的化学环境对 NMR 信号有影响，因此在化学环境一定时，即可研究物质的分子结构，尤其适合进行有机化合物结构研究。实验过程将蛋白质溶于一定的介质中，并置于强磁场条件下获得 NMR 图谱，将所得图谱与对照图谱进行比较分析，即可推断蛋白质的结构。该方法在溶液状态下对蛋白质结构进行测定，所测定的结构更符合生理状态真实结构，其应用越来越受到重视。

蛋白质结构预测的简单分类大概有两类方法。第一是通过与现有已知结构的蛋白质进行序列比较，通过序列的相似性来推断待测序列的结构，常用软件如 interProScan、SWISS-MODEL 等。第二是重新预测，即将已知的蛋白质结构分拆来构建模型构件数据库，然后通过对待测蛋白质序列进行构件分析，并最终预测其可能的结构。对蛋白质的预测涉及不同的算法，有兴趣的读者可自行查阅相关资料，如果对算法不了解也没有关系，因为很多算法已经开发出完整的软件工具，还有部分提供网页版的，大多数人仅需要知道如何使用这些工具即可，对于其具体的运算过程可以不必考虑。

0.2.6 非编码 RNA 研究

非编码 RNA 种类包括最早发现的 tRNA、rRNA；当前研究热点的非编码小 RNA（包括 miRNA、piRNA、snoRNA）；长非编码 RNA(lncRNA)等。

tRNA 与 rRNA 是最早发现的非编码 RNA，其功能研究得比较清楚，对于新测序物种，