

# microRNA的跨界调控

Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian  
LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA

王博  
2011-11-25

# 背景知识

MicroRNA (miRNA) :

一类由基因编码的长度约为19-24个核苷酸的**非编码单链RNA分子**。

**miRNA基因**转录出最原始的**pri-miRNA**，长度大约为300~1000个碱基；pri-miRNA经过一次加工后，成为**miRNA前体 (pre-miRNA)**，长度大约为70~90个碱基；pre-miRNA再经过Dicer酶酶切后，成为成熟miRNA。

载体：**microvesicles(MVs)**，MVs通过转运mRNA、miRNA和蛋白质等参与细胞间通讯。

通过**部分互补配对**结合到目标mRNA的互补区域，抑制蛋白质翻译；或者与目标mRNA**完全互补配对**，促进其降解。

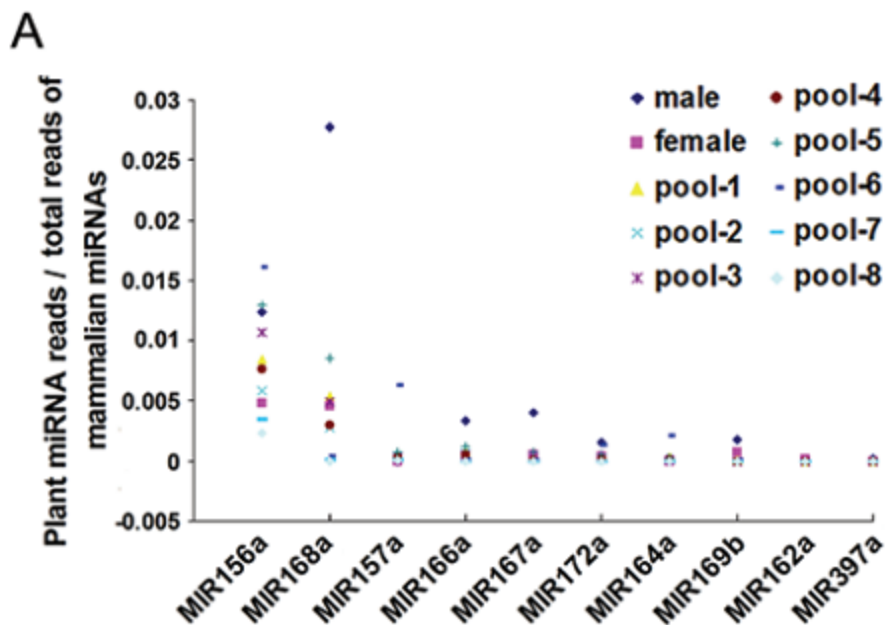
供体细胞生成

转移

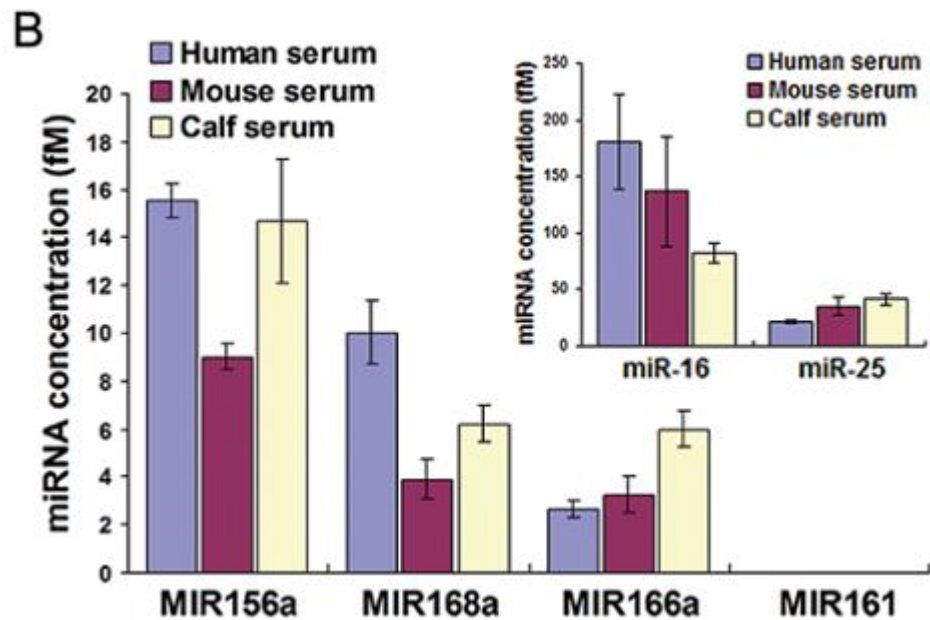
靶细胞

# 新发现

——在高等动物体内发现有植物miRNA存在

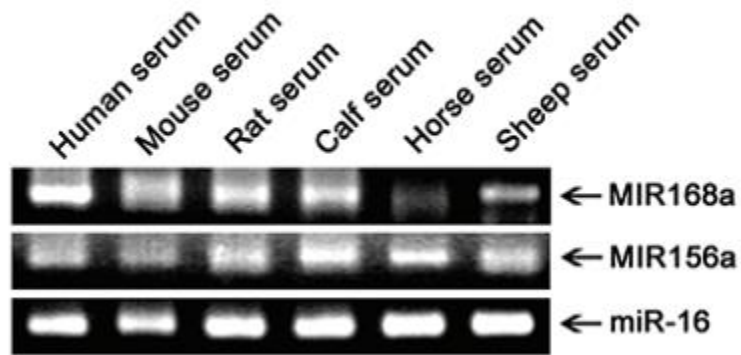


RNA测序



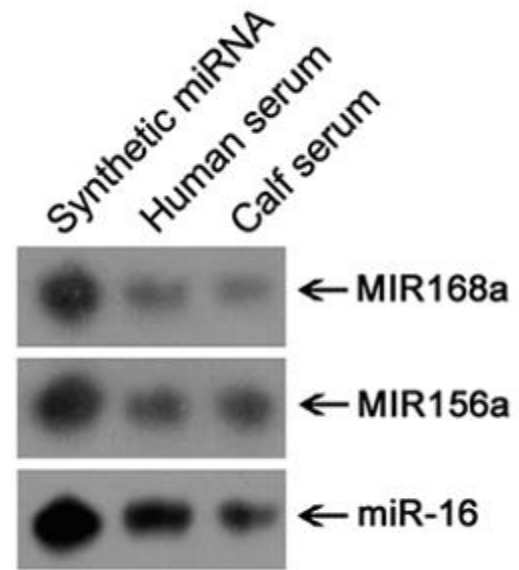
定量RT-PCR

C



半定量RT-PCR

D

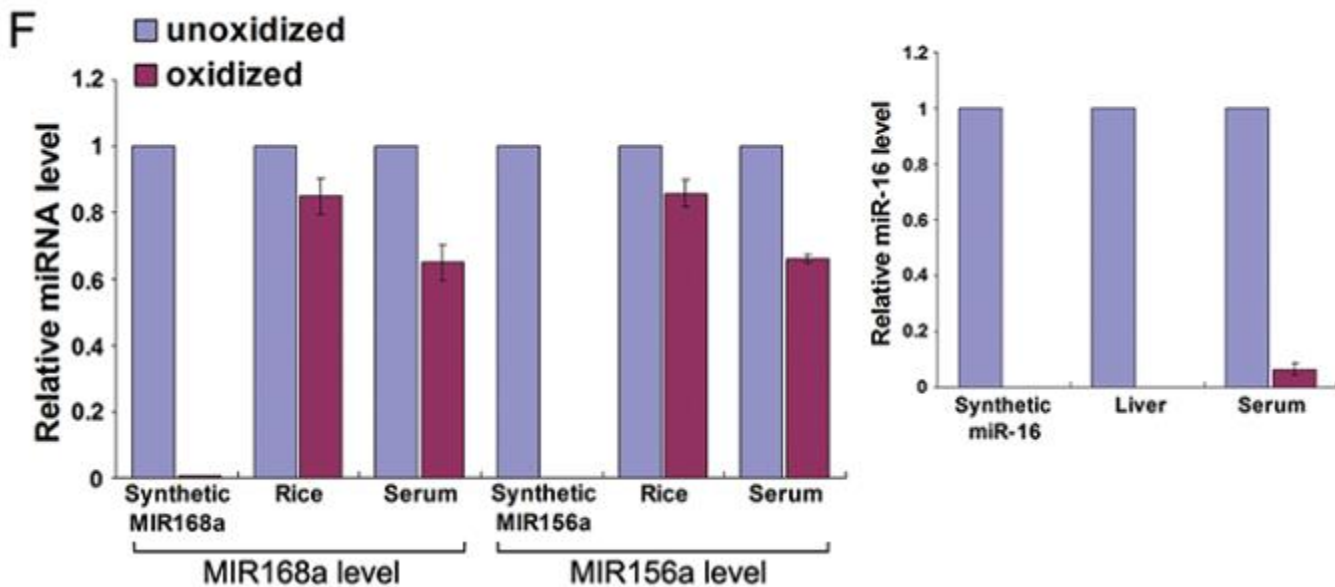
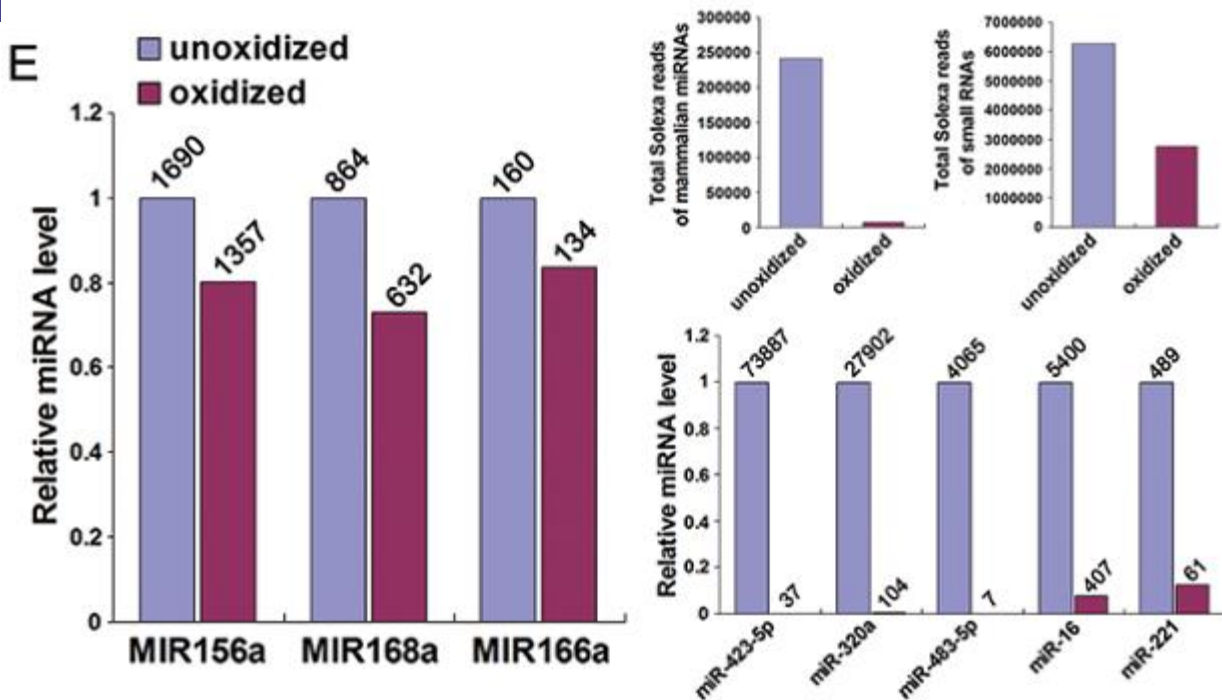


Northern杂交

## 这些miRNA确实是植物miRNA吗？

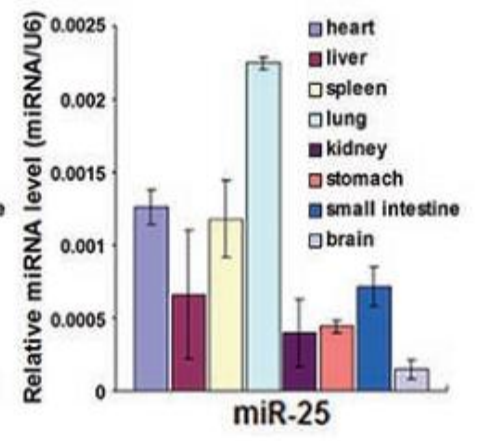
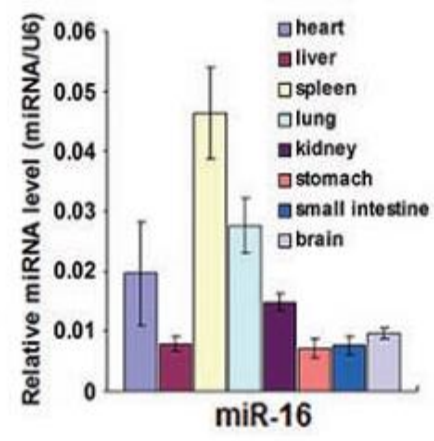
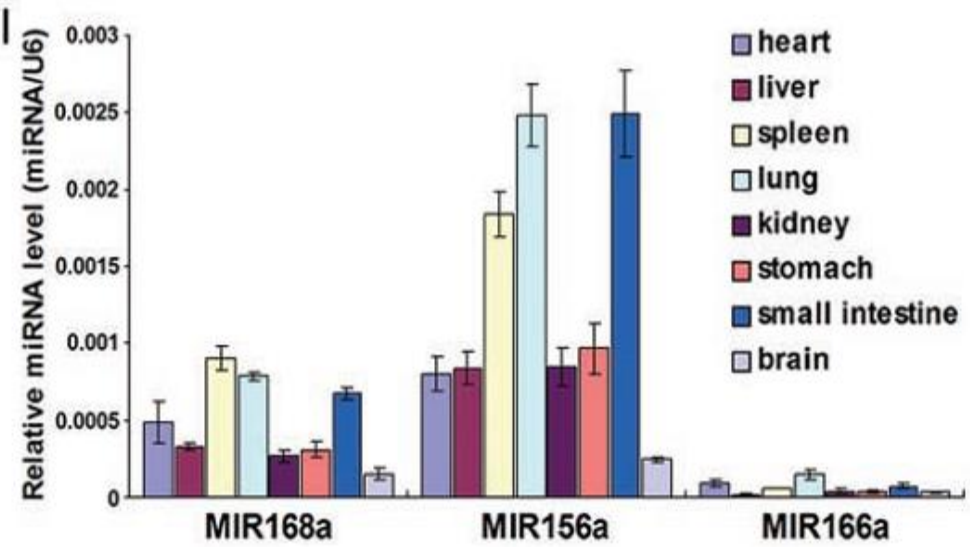
植物miRNA的3'端核糖有2'-O-甲基，可以抗氧化物氧化，而动物miRNA的3'端核糖没有甲基化。

高碘酸钠处理



RNA测序

定量PCR



小鼠各器官中植物miRNA的含量

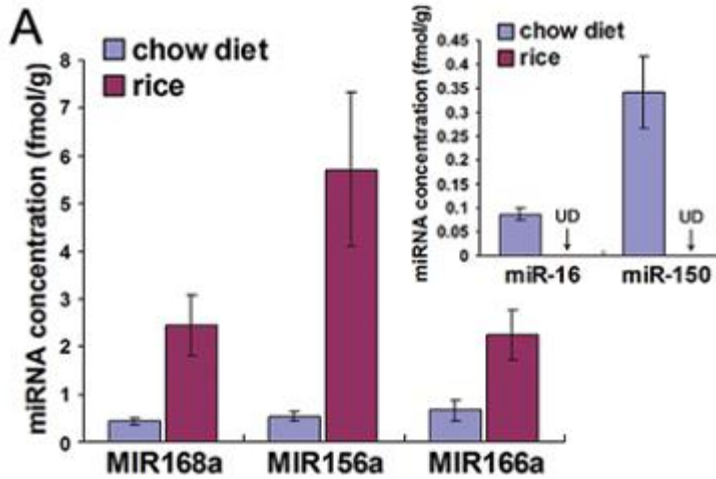
## 结论

高等动物的体内确实存在植物miRNA, 各种不同的器官中的含量各不相同。这些植物miRNA的含量大约为动物miRNA的十分之一。

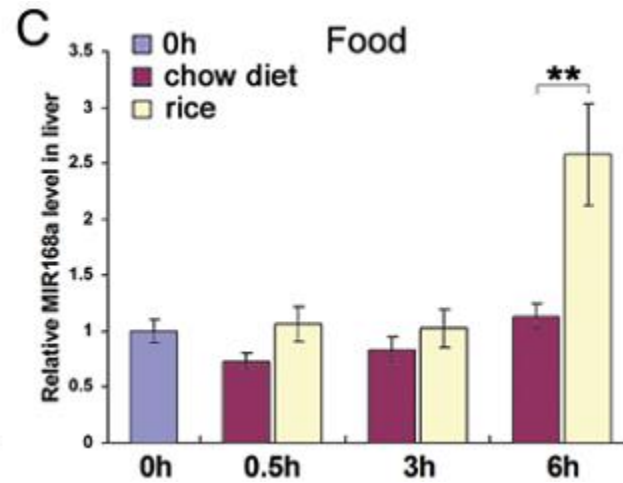
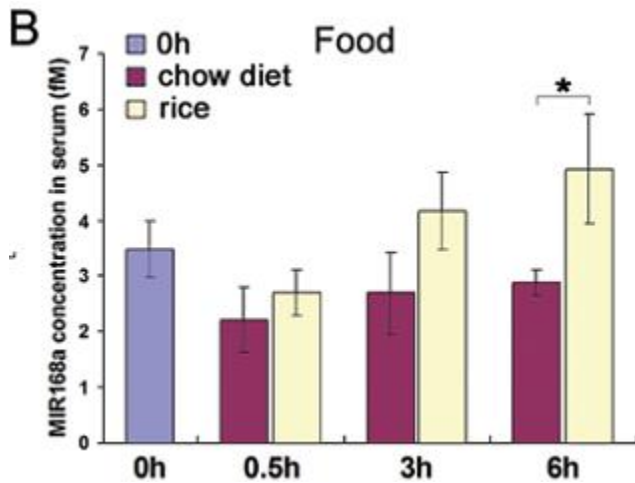


## 这些植物miRNA从哪里来的？

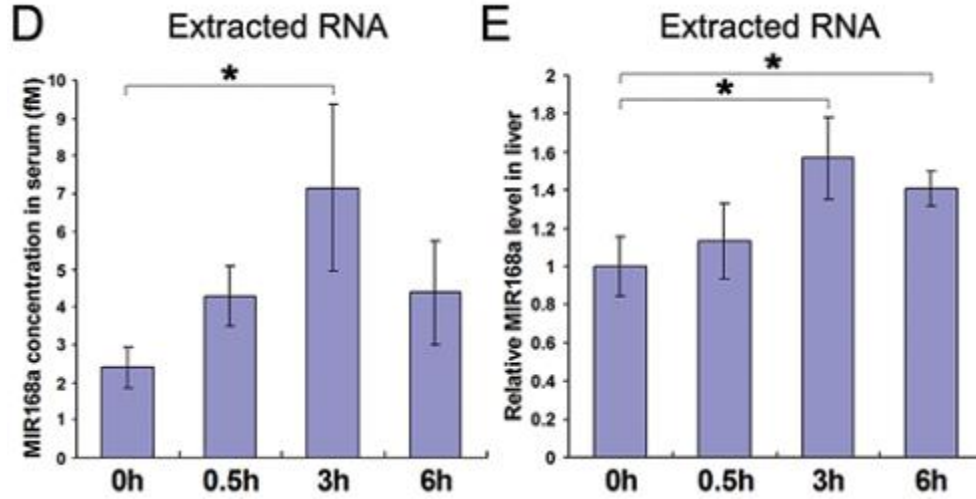
植物MIR168a和MIR156a在水稻、十字花科等植物中含量丰富，而中国人的主食就是大米，因此假设这些植物miRNA是通过食物进入动物体内的。



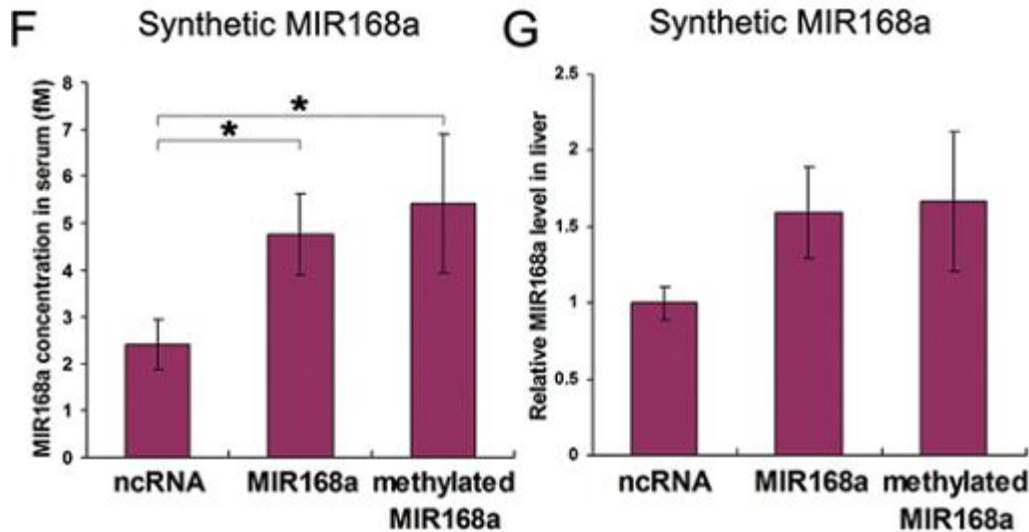
大米中miRNA含量



大米喂食小鼠后其体内MIR168a的含量



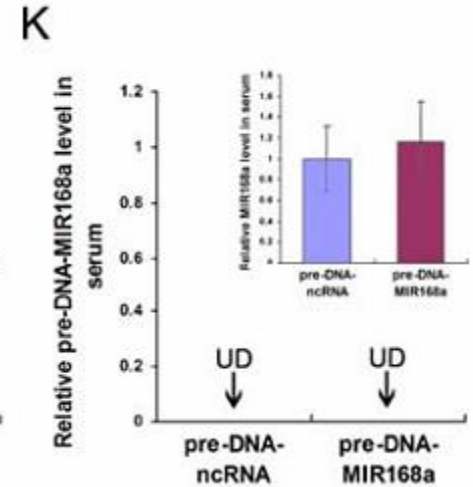
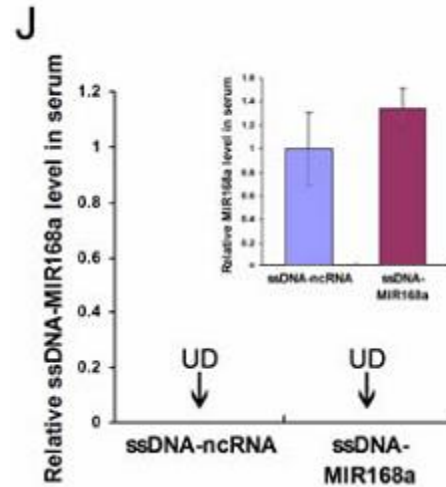
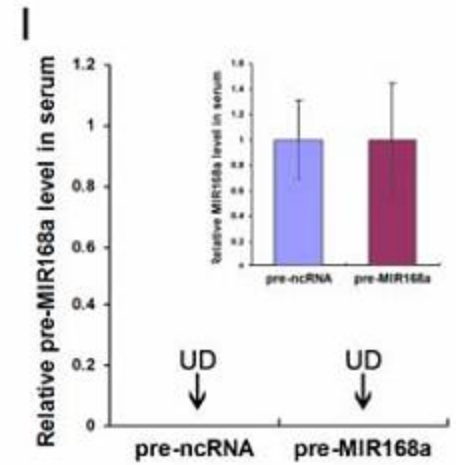
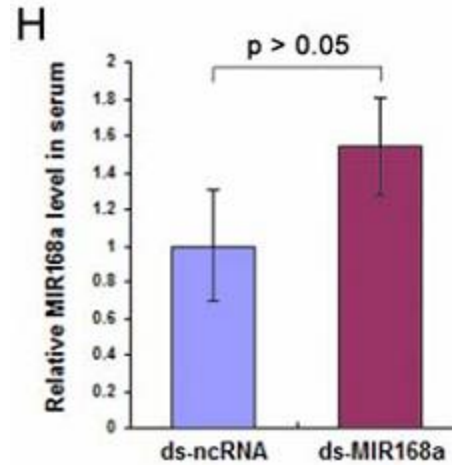
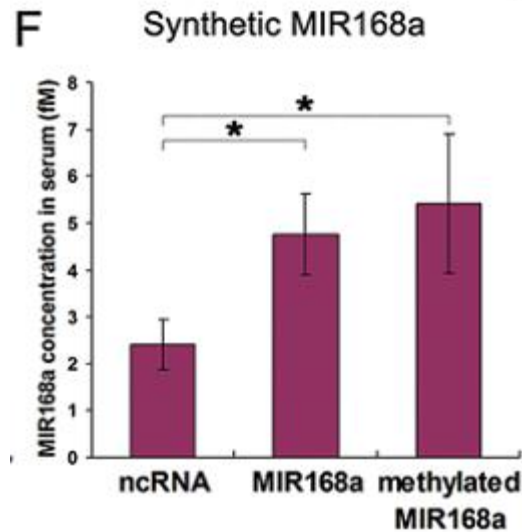
大米中提取的RNA喂食小鼠后其体内MIR168a的含量



人工合成的miRNA喂食小鼠后其体内MIR168a的含量

# MIR168a以什么形式进入实验鼠体内?

- pre-DNA-MIR168a?
- ssDNA-MIR168a?
- pre-MIR168a?
- ds-MIR168a?
- mature MIR168a?

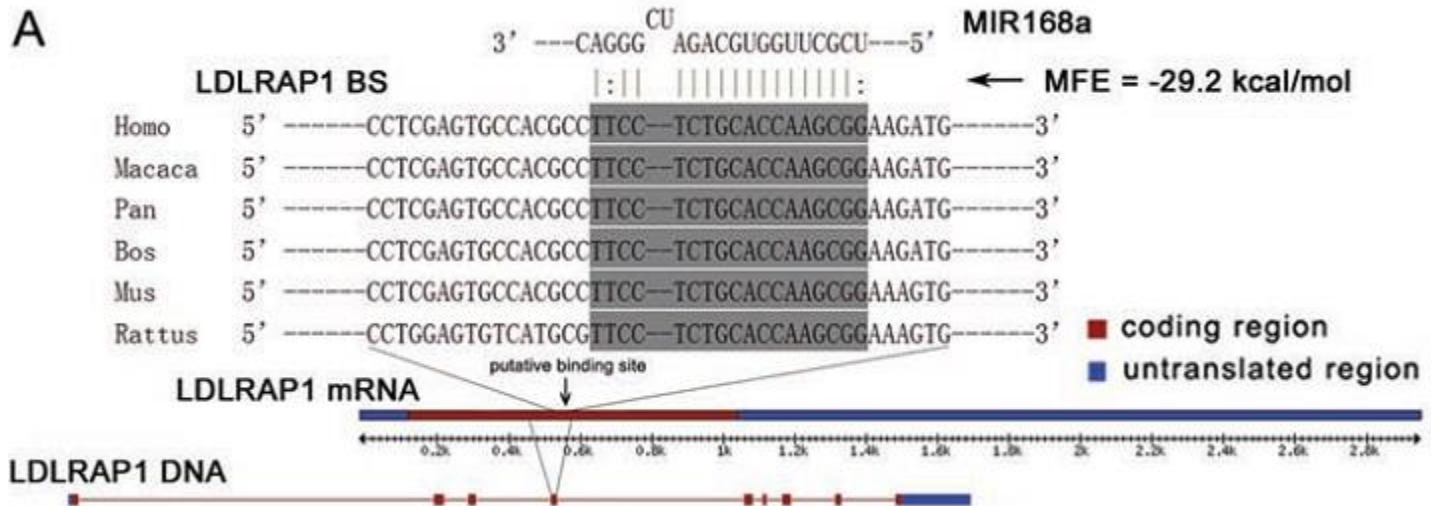


## 结论

外源的植物miRNA是通过进食的方式进入动物体内的，并且只以成熟miRNA的形式进入。

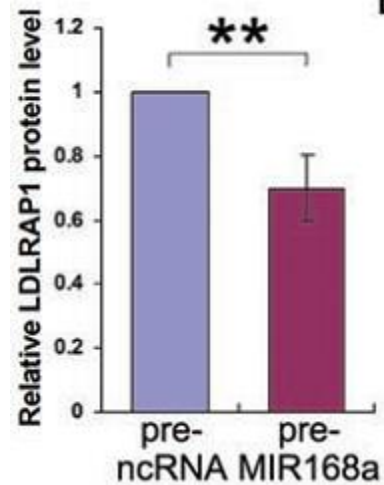
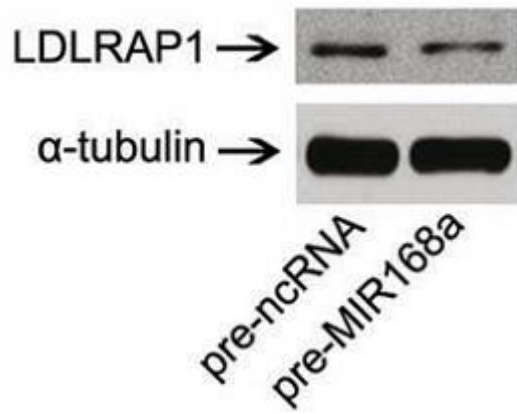


外源植物miRNA在动物体内能够调控基因的表达吗？

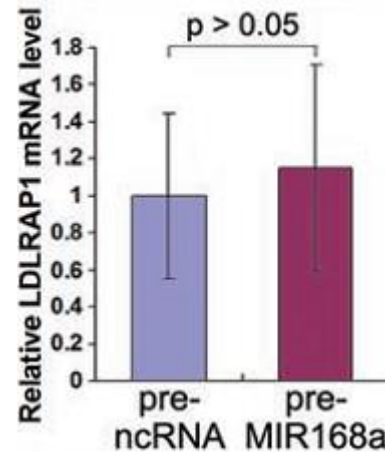
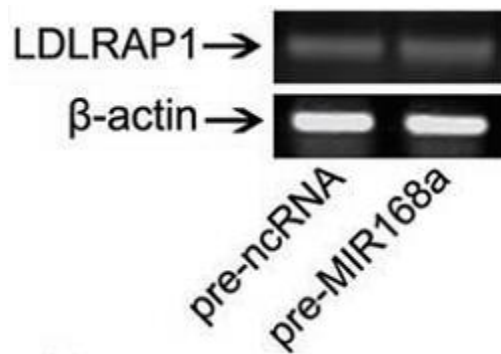


外显子4

**LDLRAP1**: 低密度脂蛋白感受器官适配器蛋白1, 它的功能是参与循环系统中低密度脂蛋白(LDL)的清除。

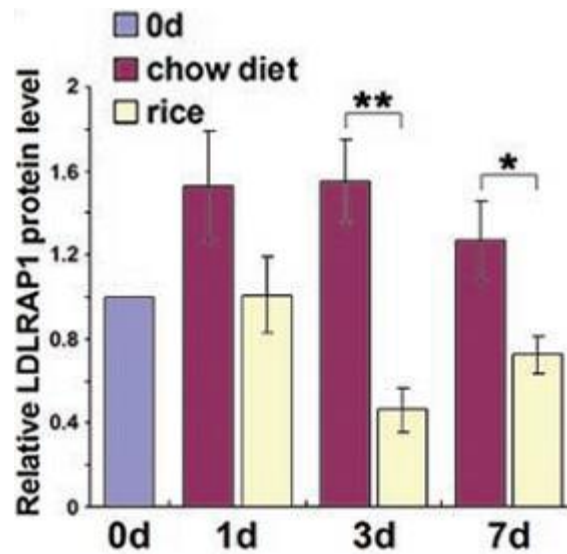
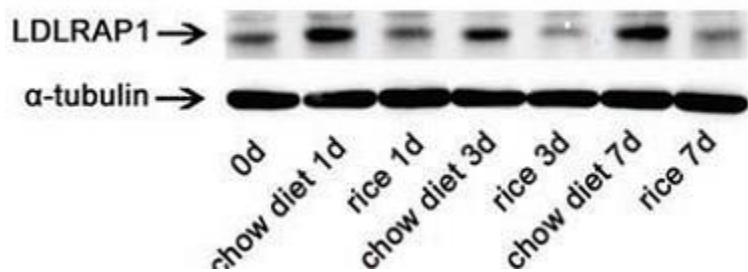


pre-MIR168a转染HepG2细胞后，其内LDLRAP1蛋白表达量

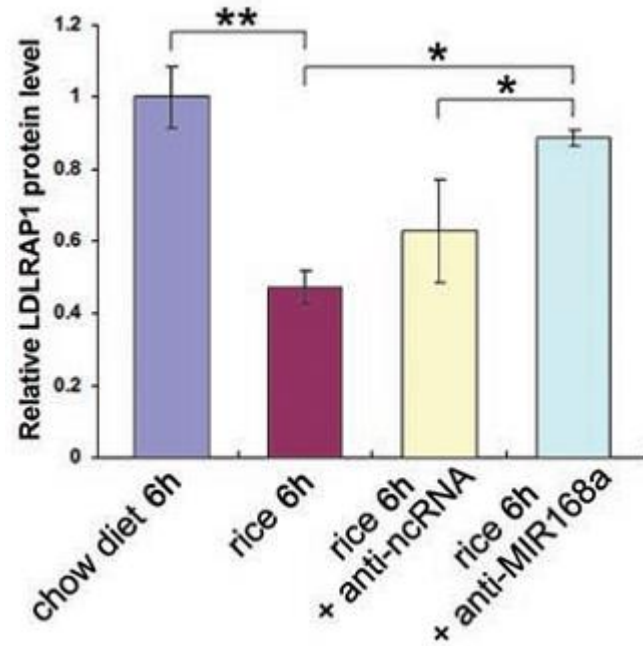
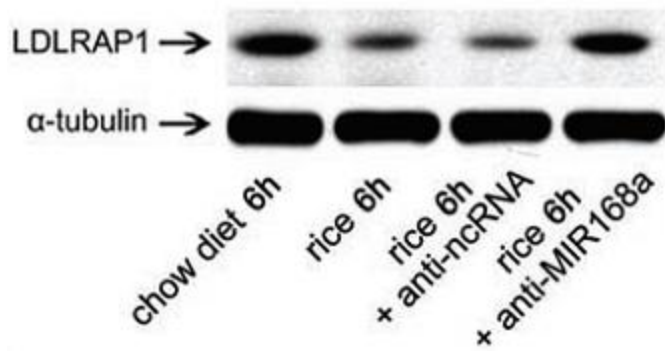


pre-MIR168a转染HepG2细胞后，其内LDLRAP1 mRNA的量

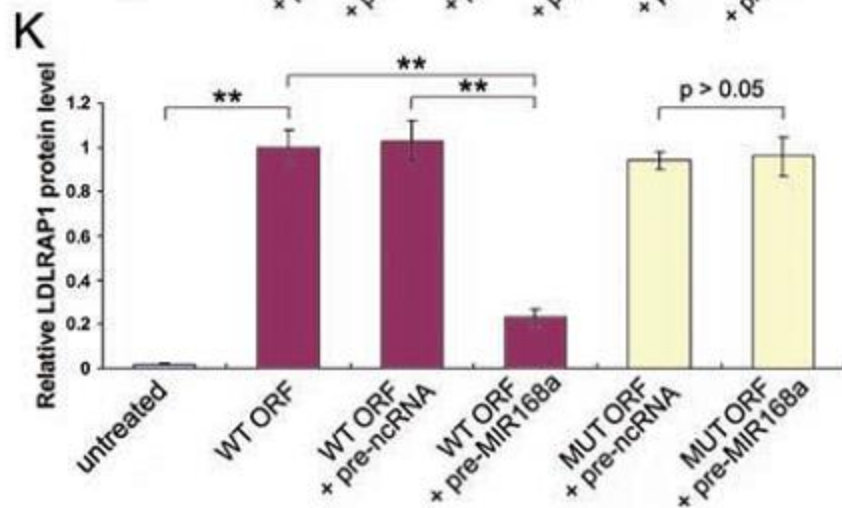
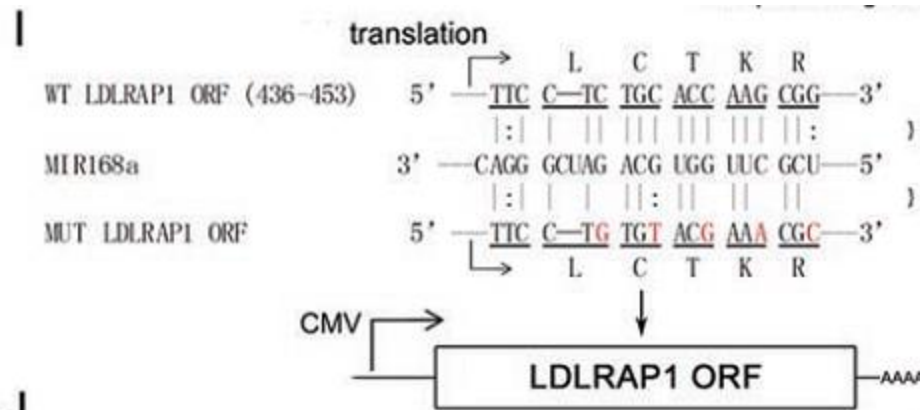




水稻喂食小鼠后，其肝细胞内LDLRAP1蛋白表达量



anti-MIR168a能够逆转LDLRAP1表达量的降低

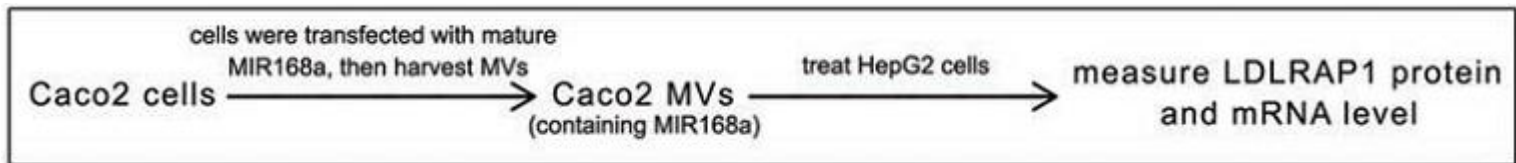


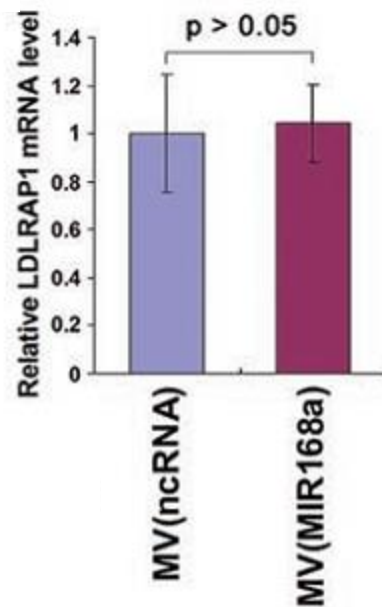
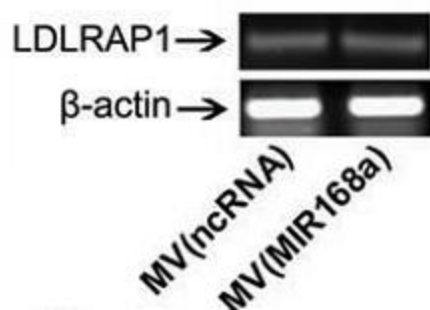
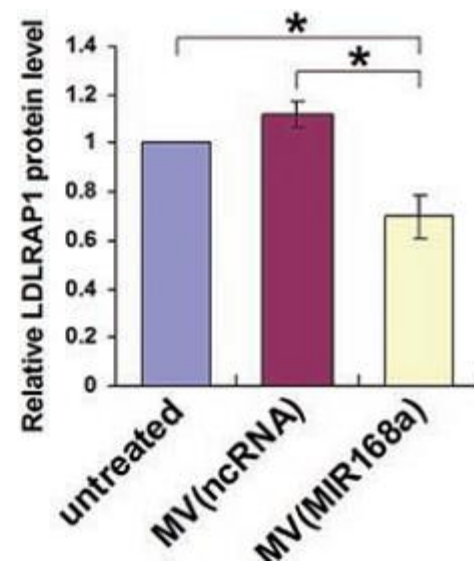
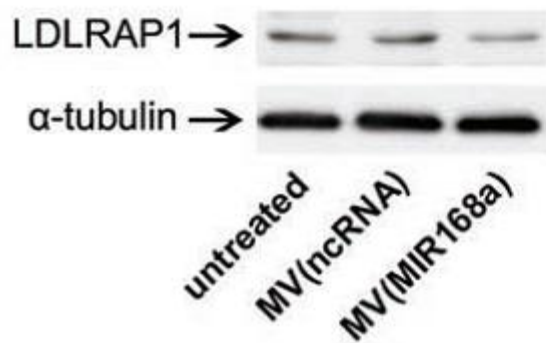
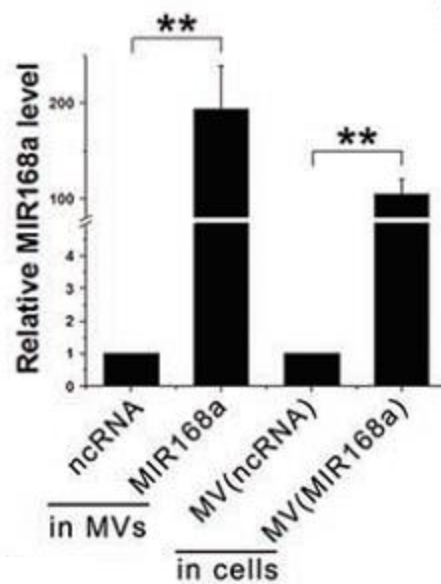
定点突变技术确定MIR168a的结合位点确实为LDLRAP1基因的外显子4区域。

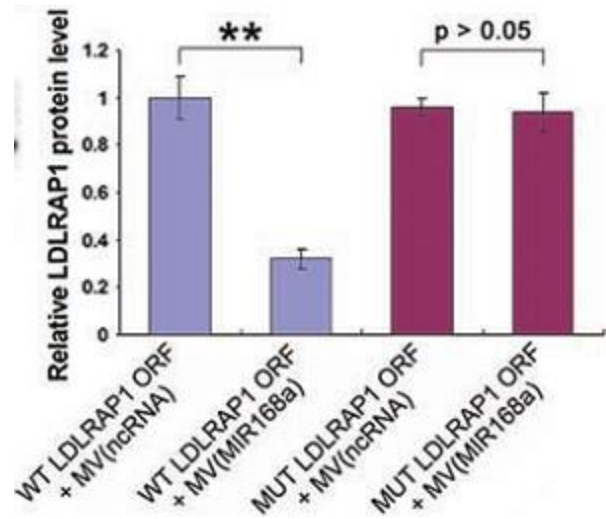
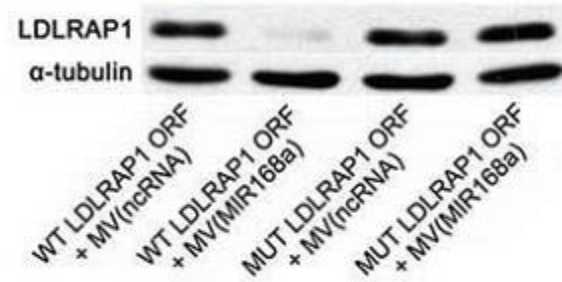
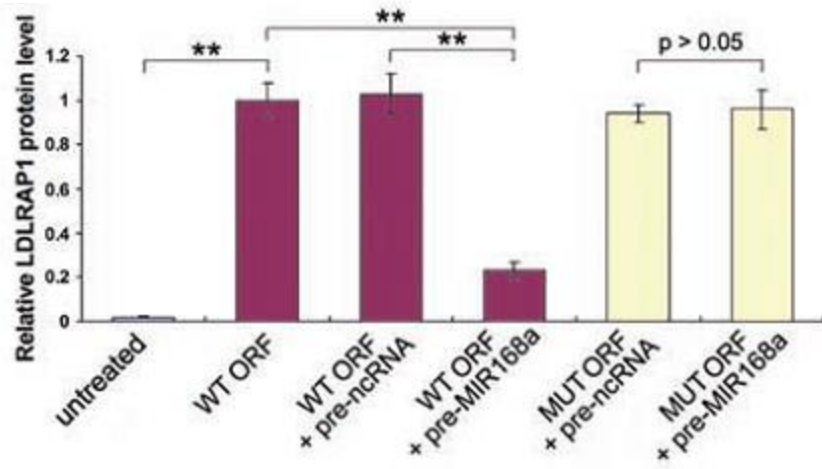
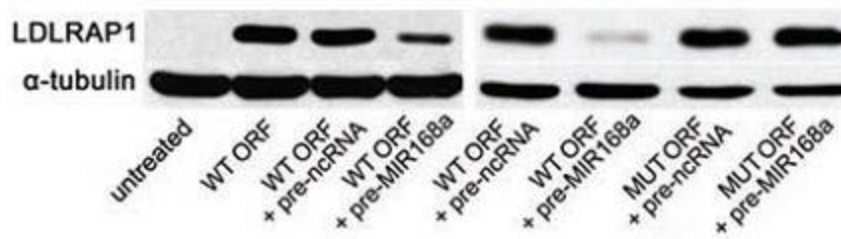
## 结论

外源的植物MIR168a能够通过与其LDLRAP1基因mRNA的外显子4区域结合，抑制该蛋白质的翻译。

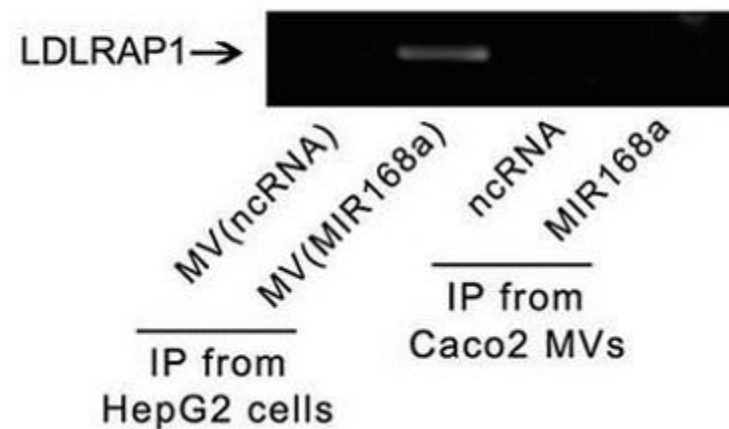
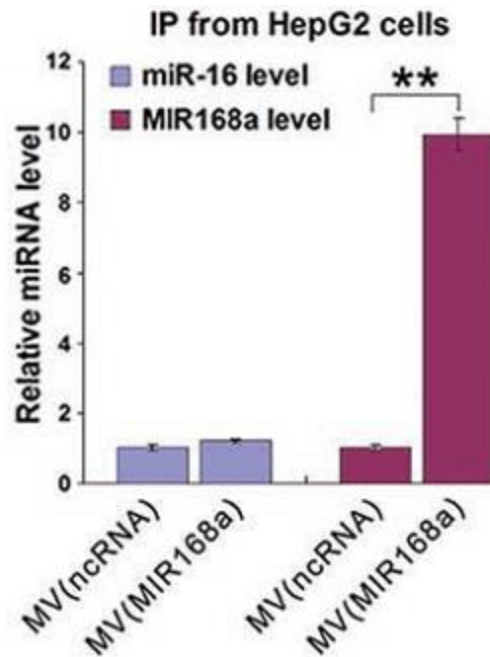
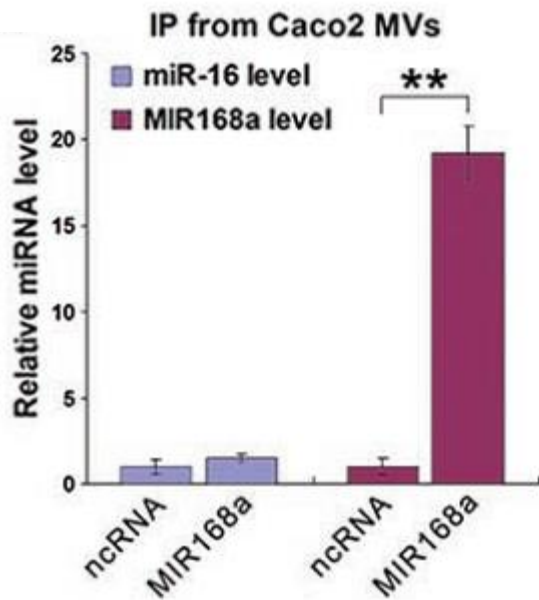
这些外源植物miRNA的转运和MVs有关吗？







MVs中存在的AGO2蛋白通过与miRNA形成RISC(RNA-induced silencing complex)促进miRNA与目标序列的结合。外源植物miRNA能够和AGO2行成RISC吗？





## 结论

与内源的miRNA类似，动物体内的外源植物miRNA也借助MV<sub>s</sub>进行转运，并且能够利用动物MV<sub>s</sub>内的AGO2蛋白形成RISC再结合到目标mRNA上。

# 总结

- 成熟的单链植物miRNA十分稳定，它们能够通过进食进入动物体内，这种稳定性或许与它们的3'端甲基化有关。
- 植物miRNA能够被小肠上皮细胞等细胞吸收，然后装入MVs，这些MVs再被分泌到循环系统，进而到达靶细胞以调控目标基因表达。
- 动物体内的外源植物miRNA也能够与AGO2结合为RISC，这种复合体能够提高miRNA的调控作用。
- 外源植物MIR168a能够抑制动物LDLRAP1基因转录后翻译，目标结合位点位于外显子4区域。

# 潜在意义

- ▶ 该研究显著地扩展了miRNA的功能。
- ▶ 该研究为我们理解跨“界”（比如动植物间）的相互作用甚至是共进化（co- evolution）提供了新的线索。
- ▶ 该研究证明植物miRNA可能是食物中的“第七种营养成分”（其他六种分别是水、蛋白质、脂肪酸、碳水化合物、维他命和稀有元素）。
- ▶ 该研究为代谢紊乱症的发生发展提供了一种新的分子机制。
- ▶ 对于中国人来说，该研究还为在中草药中发现一类全新的活性分子提供了依据。
- ▶ 该研究有助于建立一种高效的将干扰RNA(siRNA)或miRNA等小分子RNA传输入动物体内的实验方法。



Thanks for your attention!