

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00919

## 利用种子序列检测山羊皮肤中 microRNA 靶基因分子方法的建立

付绍印<sup>1,2,3</sup>, 赵德超<sup>1,2</sup>, 赵宏丽<sup>2</sup>, 李金泉<sup>1,2</sup>, 张文广<sup>1,2,3</sup>

1. 内蒙古农业大学动物遗传育种与繁殖自治区重点实验室, 呼和浩特 010018;
2. 内蒙古农业大学动物科学学院, 呼和浩特 010018;
3. 内蒙古 ATCG 生物信息研究所, 呼和浩特 010020

**摘要:** 文章旨在建立一种种子序列介导的可控遗传操作—microRNA 靶基因指纹图谱(MicroRNA targets finger print, MTFP), 用于在基因表达检测中筛选与特定 microRNA 相关的靶基因。在设定上游种子序列的互补序列和下游锚定序列的基础上添加特殊接头, 通过反转录和特殊二步 PCR 将 microRNA 的靶基因扩增; 扩增后的 microRNA 靶基因在聚丙烯酰胺凝胶电泳中检测其片段大小和表达丰度, 用于筛选在不同生理状态或试验条件下特异表达的基因; 特定的靶基因序列通过 DNA 回收和测序方法得到。以 miR-203 为例, 在不同生理状态的山羊皮肤样品中获得了 5 条大小分别为 718 bp(JN709494)、349 bp(JN709495)、243 bp(JN709496)、156 bp(JN709497) 和 97 bp(JN709498) 的靶基因序列。MTFP 经济适用、可操作性强, 可用于探索 microRNA 调节的靶基因, 或用来评估靶基因的表达谱特征。

**关键词:** microRNA; 表达丰度; 靶基因指纹图谱; 山羊; 皮肤

## A method for screening microRNA target genes in goat skin by microRNA seed sequence mediated PCR

FU Shao-Yin<sup>1,2,3</sup>, ZHAO De-Chao<sup>1,2</sup>, ZHAO Hong-Li<sup>2</sup>, LI Jin-Quan<sup>1,2</sup>, ZHANG Wen-Guang<sup>1,2,3</sup>

1. Animal Genetics Breeding and Reproduction Autonomous Region Key Laboratories, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;
2. Animal Science College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;
3. Institute of ATCG, Nei Mongol Bio-Information, Hohhot 010020, China

**Abstract:** The purpose of the present study was to establish a new microRNA seed mediated controllable genetic operation, namely MicroRNA Targets Finger Print (MTFP), for screening microRNA targets and detecting target gene expression profiles. Based on combining the complementary sequence of seed sequence, upstream and downstream anchor sequence

收稿日期: 2011-12-21; 修回日期: 2012-02-08

基金项目: 国家科技支撑项目(编号: 2011BAD28B05)和国家自然科学基金项目(编号: 30960246)资助

作者简介: 付绍印, 博士研究生, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: fushao1234@126.com

通讯作者: 张文广, 教授, 博士生导师, 研究方向: 基因网络与生物信息学。E-mail: atcgnmbi@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012-6-15 09:34:37

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120615.0934.008.html>

including special adaptor, microRNA targets were amplified by means of the reverse transcription and special two step PCR. The polyacrylamide gel electrophoresis was used to analyze the sizes of amplified microRNA targets and their abundance of expression, which were used to screen specifically expressed genes in different physiological or experimental conditions. Specific target genes were obtained through isolation of DNA fragments and sequencing methods. As an example, by screening the targets of miR-203 in goat skin, five genes were amplified and sequenced with the sizes of 718 bp (JN709494), 349 bp (JN709495), 243 bp (JN709496), 159 bp (JN709497), and 97 bp (JN709498) from goat skin collections. The novel universal MTFP method could be applied for finding microRNA regulation targets or assessing target gene expression profile.

**Keywords:** microRNA; expression abundance; microRNA targets finger print (MTFP); goat; skin

MicroRNA是一类大约 18~24 nt的非编码微小RNA, 主要在转录后水平负调控基因的表达<sup>[1]</sup>。在哺乳动物中, microRNA主要通过其 5'末端第 2~8nt的种子序列与靶基因mRNA互补配对介导其靶基因的表达调控<sup>[2-4]</sup>。一个microRNA可以与多个靶基因相互作用, 多个microRNA也可能作用于同一个靶基因。microRNA与其靶基因组成了复杂的调控网络<sup>[5]</sup>。获取microRNA的靶基因对理解microRNA的生物学功能有非常重要的作用。

一般来说, microRNA靶基因挖掘方法主要有两大类, 即计算机软件预测和基于表达谱芯片的预测。应用microRNA种子序列与其靶基因之间碱基互补配对的最小自由能, 已形成了MIRECORDS、MIRTARBASE、TARBASE、TARGETSCAN-VERT、PICTAR-VERT等用于人、小鼠、大鼠、牛等哺乳动物microRNA靶基因预测的计算机方法<sup>[6]</sup>。然而, 由于种子序列较短, 每个microRNA都可能预测出大量的靶基因, 同时由于预测时未能考虑基因的组织特异性表达, 容易出现假阳性的靶基因, 仍需后续大量实验验证<sup>[7]</sup>。

基因表达谱芯片预测microRNA靶基因的方法, 是通过比较处理及对照样本间差异表达的microRNA和差异表达的mRNA的种类和丰度, 采用microRNA及其靶基因的反向筛选方法推测特定microRNA调控的靶基因<sup>[8,9]</sup>。虽然该方法获得了广泛的应用, 但基因芯片价格昂贵, 成本较高。此外, 由于需要设计探针, 这种方法与计算机预测方法同样需要事先已知大量基因的序列信息。

因此, 为提供一种不依赖于基因(组)信息的microRNA靶基因筛选方法, 本研究以对皮肤形态发

生和毛囊周期有非常重要作用的miR-203 为例<sup>[10,11]</sup>, 利用真核生物mRNA带有polyA尾巴的特点, 采用特异两步PCR、PAGE切胶等方法成功开发了microRNA靶基因指纹图谱方法(MicroRNA targets finger print, MTFP), 获得了山羊皮肤miR-203的靶基因片段及其表达特征。MTFP方法经济适用, 重复性好, 在分子生物学研究中具有很高的应用价值。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

样品来自内蒙古农业大学动物遗传育种与繁殖重点实验室 2010 年收集的一只 3 岁母山羊肩胛部位 10 个月份(2~3、5~12 月份)的皮肤样品, 样品依次编号为 1~10 种生理状态。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 引物设计

1.2.1.1 反转录引物设计 根据真核生物 mRNA 具有 polyA 尾巴的特点, 在 Reverse-1 引物的 3'端设计 12 个 T 的寡聚核苷酸与锚定碱基 NV 的组合以保证 mRNA 的从头合成; Reverse-1 引物的最上游依次为山羊基因组中不存在的特殊接头 A(linkerA)和 4 个动态碱基(表 1)。这样设计既满足了 PCR 引物设计  $T_m$  的动态范围, 又保证了 PCR 的特异性。引物均由上海英捷(Invitrogen)合成(下同)。

1.2.1.2 microRNA 种子序列介导的 PCR 引物设计 以miR-203 为例设计了PCR引物。上游引物(miR-203-b-F)为山羊基因组中不存在的特殊接头 B(linkerB)和成熟miR-203 种子序列的互补序列<sup>[12]</sup>的组合(表 1); 下游引物(linkerA)为反转录引物的特

表 1 引物序列

引物名称	序列(5'→3')	说明
linkerA	CAAGACTCGTAGCCTGTG	在山羊基因组不存在的特定序列。
linkerB	GATACTGCGTC	在山羊基因组不存在的特定序列。
Reverse-1	<u>CAAGACTCGTAGCCTGTG</u> AGICTTTTTTTTTTTTNN	框中的序列为 linkerA, 下划线序列为 4 个动态碱基, 下游为 12 个 T 和两个锚定碱基。
miR-203-b-F	<u>GATACTGCGTC</u> CATTTC	框中的序列为 linkerB, 下划线序列为 miR-203 种子序列互补序列, 设计其他 microRNA 靶基因引物时, 只需替换为对应种子序列的互补序列。

### 殊接头序列 A。

#### 1.2.2 RNA 的提取、处理及特殊两步 PCR

按 Trizol 法提取总 RNA, 再用无 RNase 的 DNase-I 处理总 RNA 以去除其中可能存在的痕量基因组 DNA。通过琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的完整性, 用核酸测定仪测定 RNA 浓度。按照 Improm-II™ (Promega) 提供的反转录方案, 用特异反转录引物 (Reverse-1) 制备 cDNA, -80 °C 保存备用。

以制备的 cDNA 为模板, 首先单独加入特异上游引物 (miR-203-b-F), 富集所有与 miR-203 相互作用的靶基因。第一步 PCR 反应体系为 24 μL, 其中包括 master Mix 12.5 μL, 上游引物 (miR-203-b-F) 3 μL, 模板 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 7.5 μL。反应程序为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 40 s, 37 °C 30 s, 72 °C 1 min 30 s, 5 个循环。

在上述 PCR 产物中再加入下游引物 (linkerA) 1 μL, 特异扩增 miR-203 的靶基因。反应条件为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 40 s, 60.5 °C 30 s, 72 °C 1 min 30 s, 32 个循环; 72 °C 完全延伸 10 min; 4 °C 保存。分别用 1% 的琼脂糖凝胶快速检测扩增产物, 用 10% 的

#### PAGE 检测和分析 miR-203 的靶基因指纹图谱。

#### 1.2.3 特定靶基因的 PAGE 胶回收、重扩增与克隆测序

切取上述步骤 10% PAGE 胶中特定的清晰条带, 100 °C 煮沸 10 min, 取 5 μL 上清重扩增。PCR 反应体系为 25 μL, 其中包括 master Mix 12.5 μL, 上游引物和下游引物各 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 5.5 μL。反应程序为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 40 s, 60.5 °C 30 s, 72 °C 1 min 30 s, 32 个循环; 72 °C 完全延伸 10 min; 4 °C 保存。1% 琼脂糖凝胶检测重扩增产物。普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收目的条带, 经连接、转化 (天根 pGM-T 克隆试剂盒)、菌落 PCR 鉴定后测序 (北京六合华大科技股份有限公司)。

#### 1.2.4 miR-203 及其靶基因实时定量 PCR

根据山羊成熟 miR-203 (EF638059.1) 和步骤 1.2.3 获得的核苷酸序列, 利用 primer5 设计 miR-203 及其靶基因、看家基因 *GAPDH* 的实时定量引物 (表 2)。

利用 ABI MP3005 Real-time PCR System (ABI, USA), 参考 SYBR Premix Ex Taq™ (TAKARA) 试剂

表 2 实时定量引物序列

基因名称	引物名称	序列(5'→3')	复性温度(°C)	产物长度(bp)
<i>MBNLI</i>	<i>MBNLI</i> -F	GCTTGTAGTTTGCCAGGATTTT	58.2	133
	<i>MBNLI</i> -R	TAATGGTTGAAGGACCTGCTAT		
<i>ZKSCAN1</i>	<i>ZKSCAN1</i> -F	GTTAGAGTGGTGAGGTCGGA	60.1	75
	<i>ZKSCAN1</i> -R	GATTTGGAAGAAAACATAAAGAG		
<i>GAPDH</i>	<i>GAPDH</i> -F	TCCACGGCACAGTCAAGG	58.2	112
	<i>GAPDH</i> -R	TCAGCACCAGCATCACCC		
<i>miR-203</i>	miR-203-F	GGCGTGAAATGTTTAGGACCACTAG	65.5	80
	miR-b-R	GTCAGATGACGATACGACGTAG		
<i>5S-rRNA</i> <sup>[13]</sup>	5S-rRNA-F	CTCGTCTGATCTCGGAAGCTAA	56	83
	5S-rRNA-R	CTACAGCACCCGGTATTC		

盒说明书, 采用三步法进行 Real-time PCR 扩增: 94 °C 预变性 2 min; 94 °C 30 s, 表 3 复性温度 20 s, 72 °C 20 s, 40 个循环; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s 至 95 °C 30 s 连续扫描, 0.5 °C 作为一个梯度, 扫描 0.06 s。获取各个基因 10 种生理状态样品的  $C_t$  值, 每个基因每个样品做 3 个重复。反应体系为 20  $\mu$ L, 包括 SYBG MIX (TaKaRa) 10  $\mu$ L, 上下游引物各 0.5  $\mu$ L, cDNA 1.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 8.0  $\mu$ L。

### 1.2.5 数据分析

**1.2.5.1 PAGE 条带分析** 借助凝胶成像辅助工具 (如 Genetool) 确定 10% PAGE 中各片段相对于 Marker 的大小和相对质量。选取各月份共表达的 200 bp 条带为内参标准, 其他条带质量与同一月份 (同一泳道) 的内参标准的质量之比定义为相对表达量。

**1.2.5.2 实时定量 PCR 结果分析** 分别以 5S rRNA 为 miR-203 实时定量的内参 [13], GAPDH 为靶基因实时定量的内参, 运用  $2^{-\Delta C_t}$  ( $\Delta C_t = C_{t\text{看家基因}} - C_{t\text{目的基因}}$ ) 法分析了各个基因不同月份的相对表达量。

## 2 结果与分析

### 2.1 miR-203 靶基因检测

山羊皮肤样品总 RNA 经 DNaseI 消化、反转录、特异两步 PCR 扩增, 产物分别用 1% 琼脂糖、10% PAGE 检测结果如图 1 例示。结果表明, 不论是分辨率相对较低的 1% 的琼脂糖, 还是分辨率相对较

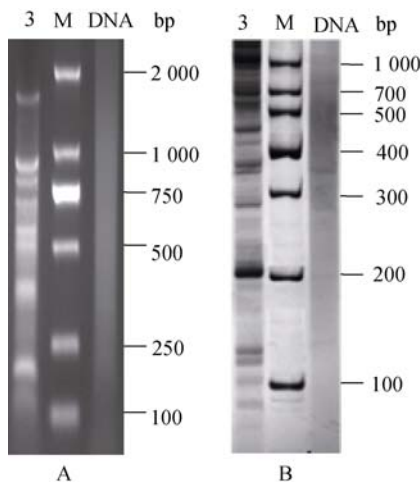


图 1 山羊皮肤第 3 生理状态样品 miR-203 靶基因扩增产物 A: 1% 琼脂糖电泳检测结果; B: 10% PAGE 检测结果。M: 分别是 DL2000 和 DL1000 Marker。

高的 10% 的 PAGE, DNA 模板都不能获得任何的条带, 而以 cDNA 为模板获得了多条清晰可辨的条带。

从 10% PAGE 胶上切取片段大小在 100~800 之间的特定条带, 重扩增产物经 1% 琼脂糖检测如图 2 所示。经克隆、测序获得 5 条序列, 其大小分别为 751 bp、382 bp、276 bp、189 bp、130 bp, 分别命名为 miR-203-tar-1、miR-203-tar-2、miR-203-tar-4、miR-203-tar-5、miR-203-tar-6。

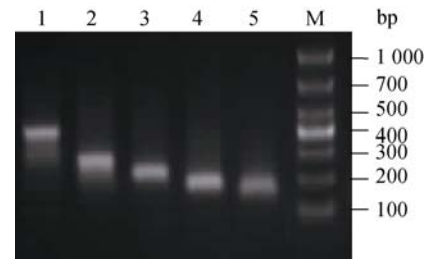


图 2 山羊皮肤第 3 生理状态样品 miR-203 部分靶基因重扩增电泳检测结果

1~5 表示山羊皮肤第 3 生理状态样品大小不同条带重扩增检测结果; M: DL1000 Marker。

### 2.2 皮肤样品 miR-203 靶基因的检测分析

利用上面建立的方法, 特异两步 PCR 扩增山羊 10 种皮肤样品 miR-203 的靶基因。经 1% 琼脂糖、10% PAGE 检测, 结果见图 3。结果表明, 单一皮肤样品存在多个 miR-203 的靶基因片段; 不同皮肤样品之间 miR-203 靶基因种类和表达丰度均存在差异, 10% PAGE 更能清楚的显示 miR-203 靶基因的表达谱。

借助 PAGE 辅助判型工具, 分别选择 10% PAGE 胶各泳道中大小为 200 bp 的条带为内参, 10 种生理状态的皮肤样品中每条带的相对表达量如表 3。片段大小为 453 bp、385 bp、284 bp、200 bp、124 bp、116 bp、100 bp 在所有月份共表达 (表 3 中下划线标示条带); 其他分子量大小的靶基因片段差异表达。

从 10% PAGE 胶上切取特定条带, 重扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶检测如图 4。表 3 中 385 bp、349 bp、284 bp、200 bp、124 bp 条带经重扩增, 克隆、测序后分别获得了 382 bp (miR-203-tar-2)、345 bp (miR-203-tar-3)、276 bp (miR-203-tar-4)、189 bp (miR-203-tar-5)、130 bp (miR-203-tar-6) 的序列。

### 2.3 序列比较

将获得的 miR-203 靶基因序列去掉两端接头序列, 提交至 GenBank, 其登录号分别 miR-203-tar-1:

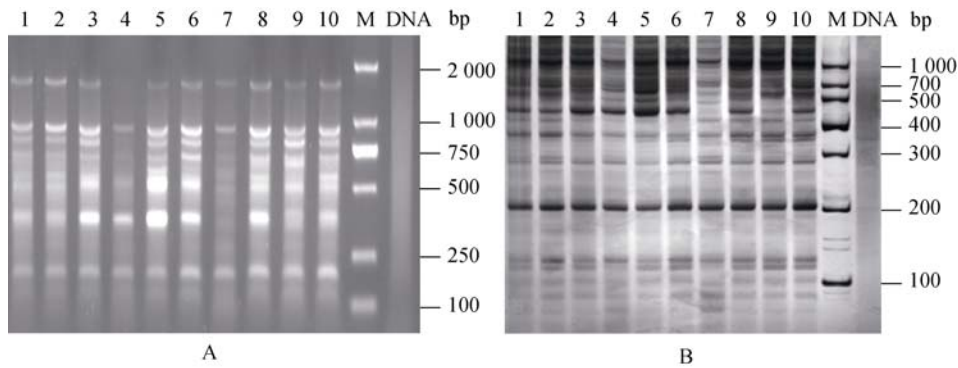


图 3 10 种皮肤样品 miR-203 靶基因扩增结果

A: 1%琼脂糖检测结果; B: 10%PAGE 检测结果。1~10: 10 种生理状态的皮肤样品特异两步 PCR 扩增结果; 标注 DNA 是以 DNA 为模板的扩增结果; M: 分别是 DL2000 和 DL1000 Marker。

表 3 10 种生理状态的皮肤样品 miR-203 靶基因的相对表达量

条带范围 (bp)	不同生理状态相对表达量									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
698		0.25	0.21	0.24		0.20		0.19	0.05	
687										0.29
630			0.08	0.13		0.10				
606					0.28					
580	0.08	0.11					0.08	0.05	0.13	0.14
495				0.07	0.06		0.05			
453	<u>0.20</u>	<u>0.22</u>	<u>0.36</u>	<u>0.46</u>	<u>0.39</u>	<u>0.37</u>	<u>0.05</u>	<u>0.27</u>	<u>0.05</u>	<u>0.16</u>
423	0.03	0.07					0.14	0.12	0.10	0.06
385	<u>0.26</u>	<u>0.35</u>	<u>0.24</u>	<u>0.23</u>	<u>0.24</u>	<u>0.17</u>	<u>0.26</u>	<u>0.32</u>	<u>0.28</u>	<u>0.41</u>
349						0.06		0.09	0.13	0.12
293		0.19					0.22			
284	<u>0.14</u>	<u>0.18</u>	<u>0.23</u>	<u>0.35</u>	<u>0.19</u>	<u>0.34</u>	<u>0.28</u>	<u>0.23</u>	<u>0.24</u>	<u>0.41</u>
200	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>	<u>1.00</u>
165	0.04	0.13								
124	<u>0.15</u>	<u>0.36</u>	<u>0.19</u>	<u>0.23</u>	<u>0.19</u>	<u>0.36</u>	<u>0.31</u>	<u>0.39</u>	<u>0.40</u>	<u>0.38</u>
116	0.11	0.17	0.16	0.17	0.22	0.27	0.10	0.23	0.33	0.24
100	0.06	0.11	0.08	0.04	0.14	0.16	0.05	0.17	0.16	0.19

注: 表中下划线标示为所有生理状态均表达的条带; 下划线加斜体标示为内参条带。

JN709494; miR-203-tar-2 : JN709495; miR-203-tar-4 : JN709496; miR-203-tar-5 : JN709497; miR-203-tar-6 : JN709498。经 NCBI 的 BLAST 搜索, JN709494 与家犬、河豚、欧洲野马、人类、长臂猿的 *MBNLI* 3'-UTR 相似性分别为 97%、96%、96%、95%、95%; JN709497 与大猩猩锌脂蛋白的 KRAB 和 SCAN 结构域 3'-UTR 的相似性为 83%; JN709498 与牛溶质携带物家族 *SLC7A6OS* 3'-UTR 的相似性为 95%; 其他序列未找到相似序列。

## 2.4 实时定量 PCR 结果

### 2.4.1 miR-203 实时定量 PCR 结果

10 种生理状态的皮肤样品 miR-203 相对于 5S-rRNA 的表达量见图 5。miR-203 各个月份均有表达; 其中, 第 1 生理状态的相对表达量最高, 7、8 生理状态相对表达量最低。

### 2.4.2 靶基因实时定量 PCR 结果

10 种生理状态皮肤样品 *MBNLI* 相对于 *GAPDH*、

ZKSCAN1 的表达量分别见表 4, 计算 *MBNLI/GAPDH* 与 *MBNLI/ZKSCAN1* 的相关系数为 0.93( $P < 0.01$ ), 说

明 ZKSCAN1 可以像内参的看家基因 *GAPDH* 一样, 在本研究的 PAGE 分析中作为内标(表 3 中用 1.00 标示)。

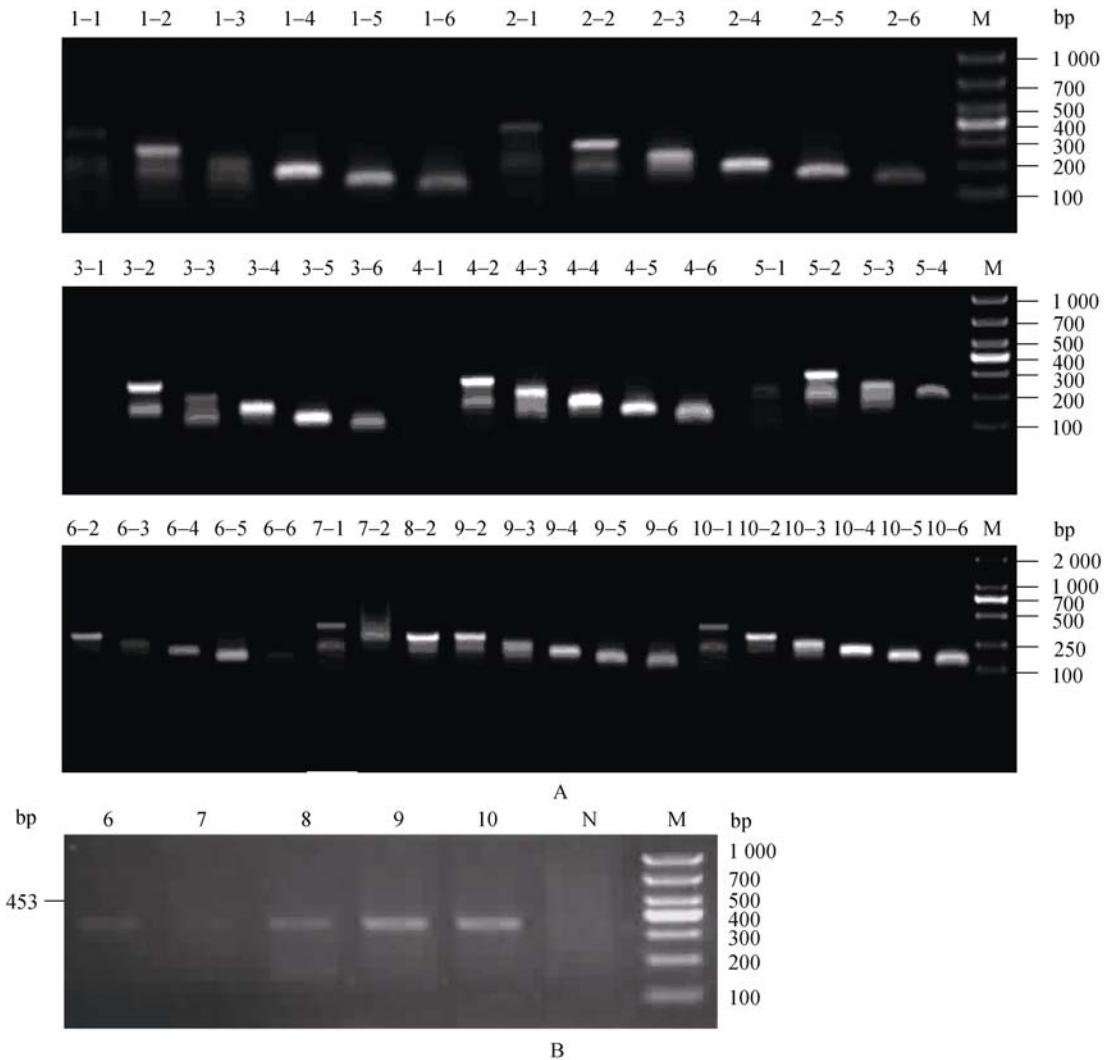


图 4 山羊皮肤样品 miR-203 靶基因重扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测结果

A : X-Y 表示第 X 种生理状态的第 Y 条带重扩增结果, 例如 1-1 代表切取第一种生理状态的第一条带重扩增的结果; M : Marker。 B : 345 bp 特异条带重扩增检测结果, 6~10 代表不同生理状态样品, N 为阴性对照, M 为 Marker。

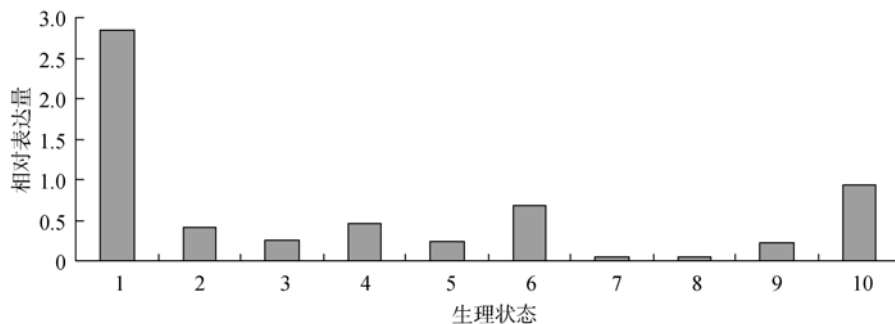


图 5 10 种生理状态 miR-203 实时定量结果

表4 不同生理状态下 *MBNLI* 的相对表达量

基因	生理状态									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>MBNLI/GAPDH</i>	6.58	3.58	4.74	0.46	0.29	4.46	4.53	0.41	8.52	5.88
<i>MBNLI/ZKSCAN</i>	2.24	0.75	0.95	0.09	0.14	1.34	0.90	0.11	1.86	1.91

### 3 讨论

MicroRNA 作为一类新发现的转录后调控因子, 通过与靶 mRNA 复杂的相互作用参与细胞的生长、发育、增殖、凋亡等几乎所有的生物学过程<sup>[14-16]</sup>。因此, microRNA 靶基因的研究对深入了解 microRNA 的功能有十分重要的作用。但目前靶基因研究多以计算机预测和高通量基因芯片预测为主, 费时费力、价格昂贵, 且以基因组或者转录组数据已知为前提。本文建立的 MTFP 方法可以快速挖掘 microRNA 靶基因, 价格低廉、可操作性强。

本文中的 MTFP 方法通过引入一个在山羊基因组中不存在的特殊序列接头 A, 组合 12 个 T 以及锚定碱基 NV 的反转录引物, 既满足了 mRNA 3' 末端存在 polyA 情况下 cDNA 的从头合成, 又保证了 PCR 特异性扩增时的复性温度的一致性。特异两步 PCR 过程中, microRNA 种子序列互补序列和另一个在山羊基因组中不存在的特殊序列接头 B 组合成的上游引物的加入保证了低温情况下, miR-203 介导的所有靶基因在第一步 PCR 过程的单向富集, 也为第二步下游引物接头 A 加入扩增体系后的 PCR 特异性扩增准备了条件。通过两步 PCR 过程获得了可用于琼脂糖检测的 microRNA 靶基因片段, 利用高分辨率的 PAGE 电泳进行片段的高分辨率分离和分析(图 1), 煮沸回收、重扩增、克隆测序获得了特定 microRNA 可能介导调控的靶基因 mRNA。

以同一只 3 岁母山羊 10 种生理状态的皮肤样品分析为例, 特定 miR-203 的靶基因分析结果表明, 这种方法可以用来筛选不同生理状态 microRNA 介导的 mRNA 表达差异, 即可以分析不同时期 microRNA 调控的靶基因种类和表达丰度。miR-203 及其靶基因实时定量验证也为本研究提供了充分的数据支持。miR-203 在第 1 生理状态高表达, 7、8 生理状态低表达; 而各种生理状态下 miR-203 的靶基因 *ZKSCAN* 的 mRNA 相对表达量基本无变化, 靶基因 *MBNLI* 各种生理状态相对表达量存在显著差异。显

然 microRNA 与靶基因 *MBNLI*、*ZKSCAN* 等靶基因的表达不是简单的线性关系(未列出), 这可能与 microRNA 与靶基因之间存在一对多的复杂调控关系有关<sup>[5,17]</sup>。

综上所述, MTFP 方法利用 microRNA 与靶基因相互作用的特点, 在特异接头的上下游引物存在的条件下, 通过特殊两步 PCR, 建立了一种价格低廉的实验性获得 microRNA 多个靶基因的有效方法, 为筛选不同时期的分子靶标奠定了基础。需要特别指出的是, 本文所述的 MTFP 方法不需要预先知道参考基因组信息或转录组信息, 这对于其他物种的 microRNA 靶基因分析也具有很好的借鉴意义。

### 参考文献(References):

- [1] Carthew RW. Gene regulation by microRNAs. *Curr Opin Genet Dev*, 2006, 16(2): 203–208. DOI
- [2] Guarnieri DJ, DiLeone RJ. MicroRNAs: a new class of gene regulators. *Ann Med*, 2008, 40(3): 197–208. DOI
- [3] Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*, 2007, 318(5858): 1931–1934. DOI
- [4] Prasun JM, Joseph RB. MicroRNA polymorphisms: the future of pharmacogenomics, Molecular epidemiology and individualized medicine. *Pharmacogenomics*, 2009, 10(3): 399–416. DOI
- [5] Alexandra D, Dimitrios I. MicroRNA gene networks in oncogenesis. *Curr Genomics*, 2009, 10(1): 35–41. DOI
- [6] Kozomara A, Griffiths-Jones S. MiRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Suppl. 1): D152–D157. DOI
- [7] Neil RS, Vette IT. A population-based statistical approach identifies parameters characteristic of human microRNA-mRNA interactions. *BMC Bioinformatics*, 2004, 5: 13. DOI
- [8] Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*, 2005, 433(7027): 769–773. DOI

- [9] Qin L, Han JF, Fang S, Hao MZ, Yi T, Jie Z, Rui YX, Zhi XS, Zheng XFZ. miR-16 family induces cell cycle arrest by regulating multiple cell cycle genes. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(16): 5391–5404. [DOI](#)
- [10] Zhang WG. Subset of skin-expressed microRNAs with possible roles in goat and sheep hair growth based on expression profiling of mammalian microRNAs. *OMICS*, 2007, 11(4): 385–396. [DOI](#)
- [11] 刘丹丹, 赫晓燕, 郝欢庆. MicroRNAs在动物皮肤和毛发发育中的调控作用. *中国生物化学与分子生物学报*, 2010, 26(9): 802–808. [DOI](#)
- [12] Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(Database issue): D140–144. [DOI](#)
- [13] 景花, 宋沁馨, 周国华. MicroRNA 定量检测方法的研  
究进展. *遗传*, 2010, 32(1): 31–40. [DOI](#)
- [14] Behm AI, Rehwinkel J, Doerks T, Stark A, Bork P, Izaurralde E. mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1: DCP2 decapping complexes. *Genes Dev*, 2006, 20(14): 1885–1898. [DOI](#)
- [15] Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(11): 4034–4039. [DOI](#)
- [16] Lukiw WJ. MicroRNA speciation in fetal, adult and Alzheimer's disease hippocampus. *Neuroreport*, 2007, 18(3): 297–300. [DOI](#)
- [17] Tal EM, Igor U, Ronna H, Anya R. Integration of transcriptomics, proteomics, and microRNA analyses reveals novel microRNA regulation of targets in the mammalian inner ear. *PLOS ONE*, 2011, 6(4): e18195. [DOI](#)

## •综合信息•

### 第十三届人类基因组变异学会会议将在上海召开

2012年9月6-8日,第十三届人类基因组变异学会会议-人类基因组变异和复杂基因组分析(13th International Meeting on Human Genome Variation and Complex Genome Analysis, HGV2012)将在上海浦东召开。此次会议由人类基因组变异学会主办,复旦大学承办。随着人类基因多样性研究的深入,各种常见疾病的全基因组关联分析(GWAS)、全基因组测序、外显子组测序、转录组高通量测序及千人基因组计划等发展迅速,各个分支领域的成果亟需交流。本次会议将召集全球从事人类多样性研究的顶级学者进行交流、探讨,以相互促进并共同推动对人类多样性与健康关系的研究,解开人类基因多样性与健康关系之谜。

会议议题: Beyond GWAS ; Impact of 1,000 Genomes Project ; Genome variation in complex diseases ; Rare variations in neuropsychiatric and developmental disorders ; New technologies ; Challenges and Opportunities of large datasets ; Therapeutic Targets Emerging from Genetic Variants in Common Networks

特邀报告人: Ségolène Aymé, Orphanet, Inserm ; Anthony J Brookes, University of Leicester ; Stephen J. Chanock, National Cancer Institute ; Nilanjan Chatterjee, National Cancer Institute ; Kathy Giacomini, University of California, San Francisco ; Felix (Li) Jin, Fudan University ; Jingyue Ju, Columbia University ; Pui-Yan Kwok, University of California, San Francisco ; Charles Lee, Harvard University ; Dongxin Lin, Peking Union Medical College ; Dennis Yuk-Ming Lo, Chinese University of Hong Kong ; Joseph Nadeau, The Institute for Systems Biology ; Hidewaki Nakagawa, RIKEN Institute ; Ming Qi, Zhejiang University ; Nathaniel Rothman, National Cancer Institute ; Cathy Schaefer, Kaiser Permanente ; Steve Scherer, The Hospital for Sick Children, Toronto ; Jeong-Sun Seo, Seoul National University ; Hongyan Wang, Fudan University ; Cisca Wijmenga, University Medical Center Groningen ; Barbara Wold, California Institute of Technology

本地组委会: 金力、王红艳、卢大儒、王久存

会议网址 <http://hgvmeeting.org/>