2014, 40(3): 0404-0408
ISSN 0257-4799; CN 32-1115/S
E-mail: CYKE@ chinajournal.net.cn

家蚕 Bmo-miR-2739 对丝素重链基因 *Fib-H* 表达的调控作用

宋 菲[1] 王 欣[1] 钱 平[1,2] 唐顺明[1,2] 赵巧玲[1,2] 郭锡杰[1,2] 沈兴家[1,2]

([1]江苏科技大学,江苏镇江 212018; [2]中国农业科学院蚕业研究所,农业部蚕桑遗传改良重点实验室,江苏镇江 212018)

摘 要 MicroRNAs(miRNAs)是一类内源性的非编码小 RNAs,可通过序列互补配对的方式对靶基因 mRNA 的转录进行调控。丝素重链(Fib-H)是家蚕丝蛋白的重要组成成分,研究 miRNAs 对 *Fib-H* 基因 mRNA 的调控作用,有助于理解丝腺高效合成蚕丝蛋白的分子机制。用靶基因预测软件 RNA22 和 RNAhybrid 对 *Fib-H* 基因的 3′-UTR 及已知的家蚕 miRNA 进行分析,发现 *Fib-H* 基因的 3′-UTR 有一个 Bmo-miR-2739 的潜在靶位点。进一步将人工合成的 Bmo-miR-2739 模拟物和带有 *Fib-H* 基因 3′-UTR 的荧光素酶报告基因载体共转染 BmN 细胞,48 h 后检测到荧光素酶表达上调约 13%。初步推测 Bmo-miR-2739 对 *Fib-H* 具有正调控作用。

关键词 家蚕; MicroRNA; 丝素重链基因; 转录调控

中图分类号 S881.2; Q522^{+}.5 **文献标识码** A **文章编号** 0257-4799(2014)03-0404-05

Expressional Regulation of *Bombyx mori* Fibroin Heavy-chain Gene by Bmo-miR-2739

SONG Fei[1] WANG Xin[1] QIAN Ping[1,2] TANG Shun-Ming[1,2] ZHAO Qiao-Ling[1,2] Guo Xi-Jie[1,2] SHEN Xing-Jia[1,2*]

([1]*Jiangsu University of Science and Technology*, *Zhenjiang Jiangsu* 212018, *China*; [2]*The Key Laboratory of Silkworm and Mulberry Genetic Improvement*, *Ministry of Agriculture*, *Sericultural Research Institute*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Zhenjiang Jiangsu* 212018, *China*)

Abstract MicroRNAs (miRNAs) are a class of endogenous non-protein coding small RNAs that regulate expression of target genes at post-transcriptional levels by base pairing with target mRNAs. Silk fibroin heavy chain (Fib-H) is an important component of the silk protein in silkworm (*Bombyx mori*). To study the regulatory function of miRNAs on *Fib-H* gene will provide a better understanding of the molecular mechanism of high efficiency synthesis of silk protein in silk gland. We analyzed the 3′-UTR of *Fib-H* gene and the known miRNAs of silkworm by using target gene prediction software RNA22 and RNAhybrid, and found a target site of Bmo-miR-2739 in the 3′-UTR of *Fib-H* gene. To verify the regulatory function of Bmo-miR-2739 on the expression of *Fib-H* gene, *Fib-H* 3′-UTR was fused with firefly luciferase gene to construct the reporter plasmid. Then, BmN cells were co-transfected with artificially synthesized Bmo-miR-2739 mimics and the reporter plasmid. The result indicated that luciferase expression was up-regulated by 13% at 48 h after transfection, suggesting that Bmo-miR-2739 has positive regulatory function on *Fib-H*.

Key words *Bombyx mori*; MicroRNA; Fibroin heavy chain gene; Transcriptional regulation

收稿日期:2014-01-15 **接受日期**:2014-02-15
资助项目:国家重点基础研究发展计划"973"项目(No.2012CB1146-05),国家自然科学基金项目(No.31172266)。
第一作者信息:宋菲(1983-),男,博士研究生。
E-mail:123404912@ qq.com
通信作者信息:沈兴家,研究员,博士生导师。
E-mail:shenxjsri@ 163.com
* Corresponding author. E-mail:shenxjsri@ 163.com

真核生物的基因组中只有一小部分基因编码蛋白质,而超过 97%的转录产物是非编码 RNA[1-2]。MicroRNA (miRNA)是内源性非编码 RNA 的重要组成成分,为一类长度约 22 nt 的小分子 RNA,可通

过序列互补配对的方式对靶标基因 mRNA 的转录进行调控[3],因而也是真核生物体内最丰富最重要的一类基因调控因子,参与一系列重要的生命过程,包括发育进程、造血过程、器官形成、细胞增殖、细胞凋亡等,并且与肿瘤等多种疾病的发生密切相关[4-5]。对 miRNA 的生物学功能研究及靶基因鉴定已成为生命科学领域的热点之一。迄今为止,已在高等真核生物的基因组中发现了大量的 miRNAs,但是大部分 miRNAs 的生物学功能还未知,家蚕基因组中 miRNAs 功能的相关报道也很少。研究 miRNAs 功能的一种有效方法就是鉴定 miRNAs 直接作用的靶基因,该方法通常将靶基因的 3′-UTR 和荧光素酶基因连接重组,再将外源 miRNA 作用于该重组基因,分析荧光素酶的表达变化,从而鉴定 miRNAs 的靶基因,获知 miRNAs 的生物学功能[6-7]。本实验室构建了家蚕 Bmo-miR-9a 和 Bmo-miR-2b 的表达载体,并发现 Bmo-miR-2b 对家蚕丝素基因 *P25* 的表达具有调控作用[8-9];之后又通过靶基因验证实验发现 Bmo-miR-965 和 Bmo-miR-1926 能够抑制家蚕丝素轻链基因(*Fib-L*)的表达[10]。

如今,用化学方法合成的 miRNA 模拟物(miRNA mimics)模拟细胞内 miRNA 的高表达水平增强内源 miRNA 的调控作用,从而改变细胞内蛋白质的表达量进行功能获得性(gain-of-function)研究,已经是 miRNAs 靶基因鉴定的常用方法。有研究者利用人工合成的 miRNA 模拟物取代传统的 miRNA 表达质粒,通过导入人工合成的 miR-205 模拟物降低了含 SH2 结构域的人肌醇多磷酸 5′磷酸酶 2 基因(*SHIP*2)的表达水平[11];通过导入外源 miR-27a 和 miR-451 的模拟物与拮抗剂研究 miR-27a 及 miR-451 对人多药耐药基因 1(*MDR*1) mRNA 的调控作用[12]。

家蚕(*Bombyx mori*)是最早进行人工饲养的经济昆虫之一,蚕丝是其具有重要经济价值的产物。蚕丝由丝素(fibroin,FIB)和丝胶(sericin,SER)组成,其中丝素蛋白由重链(heavy chain,Fib-H)、轻链(light chain,Fib-L)和 Fhx/P25(fibrohexamerin)按摩尔比 6∶6∶1 组成[13]。家蚕幼虫 5 龄期急剧生长的丝腺是合成和分泌蚕丝蛋白的特殊器官,分为前部丝腺(ASG)、中部丝腺(MSG)和后部丝腺(PSG)3 个部分。丝素蛋白的 3 种成分都是在后部丝腺合成[14-17];丝胶蛋白是由中部丝腺合成[18-19];而前部丝腺没有合成丝蛋白的功能。蚕丝蛋白的这种表达特性受到发育时期特异性因子和组织特异性因子的调控。丝素基因的表达调控主要是在转录水平,丝素基因 5′端侧翼序列是主要的转录调控区,包含有核心启动子、上游增强元件、后部丝腺特异增强元件、内含子中的增强元件和远端 UEE 增强元件[16,20]。丝素重链是一种重要的结构蛋白,占蚕丝总蛋白的 70%以上[21-22]。丝素重链基因上游至少存在 6 种转录因子与之结合并调控其表达,分别是 SGF-1、SGF-2、SGF-3、SGF-4、FMBP-1 和 FBF-A1[16,20],但还未见 miRNA 对 *Fib-H* 调控的相关研究报道。Bmo-miR-2739 是 Yu 等[23]于 2009 年最早在家蚕基因组中发现的一个 miRNA,位于 nscaf3027 的 1 195 025~1 195 122 nt 之间,由 26 个碱基组成,所调控的靶基因尚不清楚。我们通过生物信息学分析显示,*Fib-H* 基因可能是 Bmo-miR-2739 的靶基因之一,并进一步采用靶基因验证实验证明 Bmo-miR-2739 对 *Fib-H* 基因表达的调控作用。

1　材料与方法

1.1　材料和主要试剂

供试家蚕品种 p50,由中国农业科学院蚕业研究所提供。

大肠杆菌受体菌株,携带海肾荧光素酶报告基因的质粒 pRL-CMV,pGL3-Basic 质粒,pGL3[FH-luc]质粒,BmN 细胞,均由农业部蚕桑遗传改良重点开放实验室保存。质粒载体 pMD18-T 购自宝生物工程(大连)有限公司。荧光素酶检测试剂盒购自 Promega 公司。转染试剂 Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司。

1.2　miRNAs 靶位点预测

家蚕 miRNA 序列来自 miRBase 数据库(http://www.mirbase.org/)。家蚕 mRNA 序列来自 NCBI 数据库(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=unigene)。家蚕 *Fib-H* 的序列登录号为 AF226688,获得其 3′-UTR 序列。用 RNA22 靶基因预测在线软件(http://cbcsrv.watson.ibm.com/rna22.html)预测家蚕 miRNA 的靶基因,采用软件默认参数,再用 RNAhybrid 靶基因预测在线软件(http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid)重复预测,采用软件默认参数。

根据种子序列(miRNA 的 5′端 2~8 位碱基序列)配对情况以及 miRNA 与靶位点结合自由能,筛

选 miRNAs 候选靶基因,并尽量选择 2 种软件中都预测到的靶位点和 miRNA 进行后续验证实验。

1.3 引物的设计与合成

根据 NCBI 中公布的序列信息分别设计 *Fib-H* 的启动子和 3′-UTR 序列引物:Fib-H 启动子上游引物(5′-AGATCTGCAGTATGTCGTGCTAA-3′,下划线为 *Bgl* Ⅱ 酶切位点),Fib-H 启动子下游引物(5′-CCATGGTGAGAGTTGGAACCGAAC-3′,下划线为 *Nco* Ⅰ 酶切位点),Fib-H 3′UTR 上游引物(5′-TCTAGATTTTTAATATAAAATAACC-3′,下划线为 *Xba* Ⅰ 酶切位点),Fib-H 3′UTR 下游引物(5′-GGCCGGCCAAGCTTCTCTATACACGAC-3′,下划线为 *Fse* Ⅰ 酶切位点)。以上引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.4 靶基因片段的克隆

取家蚕 5 龄第 3 天幼虫的后部丝腺组织约 0.5 g,参照文献[24]的方法提取基因组 DNA。

PCR 反应体系(25 μL):10×PCR Buffer (Mg^{2+} Plus)缓冲液 2.5 μL,2.5 mmol/L dNTP Mixture 1.0 μL,50 μmol/L 上、下引物各 0.4 μL,100 ng/μL 基因组 DNA 0.5 μL,5 U/μL Ex *Taq* 酶 0.2 μL,其余用 ddH_2O 补足。PCR 反应程序:94 ℃预变性 4 min;94 ℃、30 s,55 ℃、30 s,72 ℃、45 s,25 个循环;72 ℃延伸 5 min。扩增产物回收纯化,再连接到 pMD18-T 载体上,转化后提取重组质粒进行测序验证。

1.5 表达载体的构建

以 pGL3-Basic 质粒为载体,将靶基因 *Fib-H* 的 3′-UTR 克隆到荧光素酶基因 *Luc* 的下游,并用 *Fib-H* 启动子驱动,构建 pGL3[FH-luc-*FH* 3′UTR]靶基因载体(图 1)。

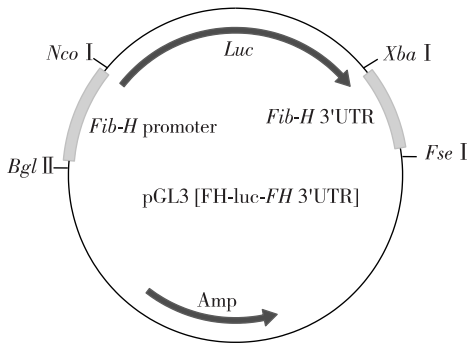

图 1 pGL3[FH-luc-*FH* 3′UTR]靶基因载体的结构示意

Fig. 1 Schematic diagram of pGL3[FH-luc-*FH* 3′UTR] vector

1.6 细胞培养和转染

BmN 细胞的培养参照文献[25-26]。转染前 1 d,将细胞接种到 24 孔细胞培养板(600 μL/孔)中,静置培养使其贴壁。转染时将细胞培养液吸掉,再用不含血清的 TC-100 培养基清洗细胞 2 次。每孔细胞转染 0.1 μg 报告基因载体 pGL3[FH-luc-*FH* 3′UTR]或 pGL3[FH-luc],10 ng 内参质粒 pRL-CMV 及 0.05 nmol 人工合成的 Bmo-miR-2739 模拟物 Bmo-miR-2739 mimics(GAGAUGUGGAUAUUAUGGUGUGGAGG),分别通过转染试剂 Lipofectamine 2000 转染细胞,具体步骤参照操作手册。

设 3 次独立实验,每次设 3 个重复。在细胞转染时设对照组和试验组,靶基因载体 pGL3[FH-luc-*FH* 3′UTR]以 pGL3[FH-luc]为对照,人工合成的 miRNA Bmo-miR-2739 mimics 以 mimics negative control(UCACAACCUCCUAGAAAGAGUAGA)为对照,并以质粒 pRL-CMV 为内参照。

1.7 靶基因的瞬时表达检测

转染 48 h 后,吸去细胞培养孔中的培养液,用 PBS 缓冲液洗涤培养孔,然后将孔中的残液去除;每孔中加入 150 μL 1×Passive Lysis Buffer (1×PLB),在摇床上低速摇动 15 min,使细胞充分裂解;将细胞裂解液转到 1.5 mL 离心管中,4 ℃条件下 12 000 r/min 离心 30 s,吸取上清至新的 1.5 mL 离心管中;取 20 μL 细胞裂解液加入检测管中并加入 100 μL Luciferase Assay Reagent Ⅱ(LAR Ⅱ),混匀,检测管放入 20/20 Luminometer 荧光素酶检测仪(Promega 公司)中,开始检测第 1 次荧光,记录数据;加入 100 μL Stop & Glo™,检测第 2 次荧光,记录数据。用 Spss 统计软件分析试验数据。

2 结果与分析

2.1 Bmo-miR-2739 与靶基因 *Fib-H* 的结合位点

已知 *Fib-H* 基因全长 16 788 bp,polyA 位点位于终止密码子 TAA 下游 85 bp 处[27-28],确定 *Fib-H* 的 3′-UTR 长度为 85 bp,序列为:TTTTTAATATAAAATAACCCTTGTTTCTTACTTCGTCCTGGATACATCTATGTTTTTTTTTTCGTTAATAAATGAGAGCATTTAA。结合软件 RNA22 和 RNAhybrid 对 miRNAs 靶位点的预测结果(图 2),并根据得分以及在种子区 2~8 位碱基互补配对的情况,推测 Bmo-miR-2739 可能作用于 *Fib-H* 的 3′-UTR。

(A)　*Fib-H*　5′ - CTTCGTCCTGGATACATCTATGTTTT-3′
　　Bmo-miR-2739　3′ GGAGGUGUGGUAUUA-UAGGUGUAGAG 5′

(B)　*Fib-H*　5′- GUUUCUUACUUC　GUCCUGGAUACAUCUA-3′
　　Bmo-miR-2739　3′ GGAGGUGUGGUAUUAUAGG　UGUAGAG 5′

A.RNA22 软件预测结果　折叠能量为-26.0 kcal/mol,靶基因结合起始位点为 3′-UTR 第 31 位碱基。
B.RNAhybrid 软件预测结果　折叠能量为-19.0 kcal/mol,靶基因结合起始位点为 3′-UTR 第 23 位碱基。
A. Result predicted by software RNA22　The folding energy was -26.0 kcal/mol. The initiation binding site of target gene was the 31st base of 3′-UTR.　B. Result predicted by software RNAhybrid　The folding energy was -19.0 kcal/mol. The initiation binding site of target gene was the 23rd base of 3′-UTR.

图 2　2 种软件预测的 Bmo-miR-2739 与靶基因 *Fib-H* 的结合位点

Fig. 2　Prediction of the binding site of Bmo-miR-2739 and *Fib-H* by two kinds of target prediction software

2.2　靶基因 *Fib-H* 的 3′-UTR 重组质粒酶切鉴定

本研究中所用 *Fib-H* 启动子大小为 566 bp,位于 *Fib-H* 基因的起始密码子 ATG 上游-568～-3 nt 处。pGL3[FH-luc-*FH* 3′UTR]载体经 *Nco* Ⅰ、*Bgl* Ⅱ双酶切鉴定,证明 *Fib-H* 启动子已成功插入到 *Luc* 基因的上游。

2.3　人工合成 Bmo-miR-2739 mimics 对靶基因 *Fib-H* 表达的影响

细胞转染后 48 h 的荧光素酶表达检测结果表明,Bmo-miR-2739 mimics 与对照 mimics negative control 相比,上调 pGL3[FH-luc-*FH* 3′UTR]中 *Luc* 的表达量约 13%(图 3),说明 *Fib-H* 是 Bmo-miR-2739 的靶基因,且 Bmo-miR-2739 对 *Fib-H* 的表达有促进作用,而不是通常的抑制作用。检测到的荧光素酶表达上调率仅 13%左右,可能是由于 miRNA 对靶基因的调控通常是一种转录后的微调[29],调控作用比较弱。

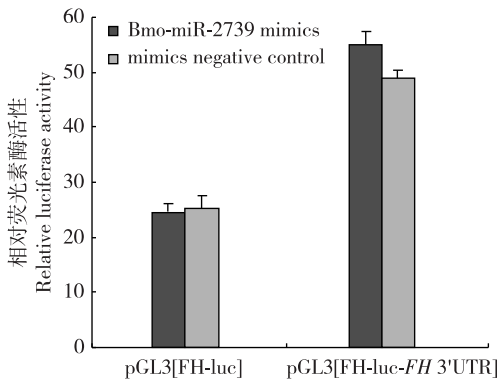

图 3　细胞转染后 48 h 的荧光素酶活性

Fig. 3　The luciferase activity at 48 h after cell transfection

3　讨论

本实验的结果显示 Bmo-miR-2739 能够上调靶基因 *Fib-H* 的表达,这与 miRNA 通常抑制调靶基因表达的现象不同。最近的研究发现了 miRNA 的一些新的作用方式,如正调控和去抑制作用等,表明 miRNA 不全是基因表达的负调控因子,在一定条件下 miRNA 也可上调靶基因的表达。在细胞周期停滞的情况下,人 miR369-3 能够上调靶基因肿瘤坏死因子 TNFα mRNA 的转录水平[30]。在茴香霉素诱导下,鼠 miR-10a 结合于核糖体蛋白基因 mRNA 的 5′-UTR 上调该基因 mRNA 的转录水平,从而促进核糖体蛋白合成[31]。人 miRNA-122 能够结合于丙型肝炎病毒基因组 RNA 5′-UTR 的 2 个靶位点上,在翻译的起始阶段增强核糖体与病毒 RNA 的结合,从而刺激丙型肝炎病毒 RNA 的转录[32]。也有报道认为 miRNA 转染细胞后靶基因表达上调的现象,其原因可能在于细胞内外源性的 miRNA 与内源性 miRNA 竞争性结合某些细胞内装置从而引起一种“饱和效应”[33]。通过研究家蚕丝腺中 miRNA 在转录后水平对丝素基因的调控作用,为我们提供了一个理解丝素蛋白表达机制的新思路。

参考文献　(References)

[1] Shabalina S A, Spiridonov N A. The mammalian transcriptome and the function of non-coding DNA sequences[J/OL]. Genome Biol, 2004, 5(4): 105[2014-01-13]. http://www.biomedcentral.com/content/pdf/gb-2004-5-4-105.pdf

[2] Feng J L, Wang K, Liu X, et al. The quantification of tomato

microRNAs response to viral infection by stem-loop real-time RT-PCR[J].Gene,2009,437(1/2):14-21

[3] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J].Cell,2004,116(2):281-297

[4] Guarnieri D J,DiLeone R J.MicroRNAs:a new class of gene regulators[J].Ann Med,2008,40(3):197-208

[5] Bushati N,Cohen S M. microRNA functions[J]. Annu Rev Cell Dev Biol,2007,23(1):175-205

[6] Boutla A, Delidakis C, Tabler M. Developmental defects by antisense-mediated inactivation of micro-RNAs 2 and 13 in *Drosophila* and the identification of putative target genes[J]. Nucleic Acids Res,2003,31(17):4973-4980

[7] Lee J Y,Kim S,Hwang W,et al.Development of a dual-luciferase reporter system for *in vivo* visualization of MicroRNA biogenesis and posttranscriptional regulation[J].J Nucl Med,2008,49(2):285-294

[8] Huang Y,Zou Q,Wang S P,et al.Construction and detection of expression vectors of microRNA-9a in BmN cells[J].J Zhejiang Univ Sci,B,2011,12(7):527-533

[9] Huang Y,Zou Q,Shen X J,et al. Differential expression of micro RNA-2b with potential target coding P25 in the fifth instar larvae posterior silk gland of the silkworm[J]. Mol Biol,2011,45(4):576-581

[10] Huang Y,Zou Q,Song F,et al.The regulation of silkworm fibroin L chain production by miRNA-965 and miRNA-1926 in insect cells[J].Russ J Bioorganic Chem,2012,38(4):477-481

[11] Jia Y,Ryan D G,Getsios S,et al.MicroRNA-184 antagonizes microRNA-205 to maintain SHIP2 levels in epithelia[J].Proc Natl Acad Sci USA,2008,105(49):19300-19305

[12] Zhu H,Wu H,Liu X P,et al.Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of *MDR1*/P-glycoprotein expression in human cancer cells[J].Biochem Pharmacol,2008,76(5):582-588

[13] Inoue S,Tanaka K,Arisaka F,et al.Silk fibroin of *Bombyx mori* is secreted,assembling a highmolecular mass elementary RNA unit-consisting of H-chain,L-chain,and P25,with a 6∶6∶1 molar ratio[J].J Biol Chem,2000,275(51):40517-40528

[14] Suzuki Y, Gage L P, Brown D D. The genes for silk fibroin in *Bombyx mori*[J].J Mol Biol,1972,70(3):637-649

[15] Suzuki Y,Suzuki E.Quantitative measurements of fibroin messenger RNA synthesis in the posterior silk gland of normal and mutant *Bombyx mori*[J].J Mol Biol,1974,88(2):393-407

[16] Hui C C,Suzuki Y.Enhancement of transcription from the Ad2 major late promoter by upstream elements of the fibroin- and sericin-1-encoding genes in silk gland extracts[J].Gene,1989,85(2):403-411

[17] Bello B,Couble P.Specific expression of a silk-encoding gene of *Bombyx* in the anterior salivary gland of *Drosophila*[J].Nature,1990,346(6283):480-482

[18] Saito S, Aizawa T, Kawaguchi K, et al. Structural approach to a novel tandem repeat DNA-binding domain,STPR,by CD and NMR[J].Biochemistry,2007,46(7):1703-1713

[19] Takasu Y,Yamada H,Tamura T,et al.Identification and characterization of a novel sericin gene expressed in the anterior middle silk gland of the silkworm *Bombyx mori*[J].Insect Biochem Mol Biol,2007,37(11):1234-1240

[20] Takiya S,Kokubo H,Suzuki Y.Transcriptional regulatory elements in the upstream and intron of the fibroin gene bind three specific factors POU-M1,Bm Fkh and FMBP-1[J].Biochem J,1997,321(3):645-53

[21] 汪生鹏,陆长德.家蚕丝素重链启动子克隆片段在家蚕体内和昆虫培养细胞内的内的渗漏表达[J].蚕业科学,2006,32(4):491-494

[22] 卢神州.家蚕丝素蛋白重链的结构[J].国外丝绸,2004,1(4):1-4

[23] Yu X M,Zhou Q,Cai Y M,et al.A discovery of novel microRNAs in the silkworm (*Bombyx mori*) genome[J].Genomics,2009,94(6):438-444

[24] 赵巧玲,张志芳,何家禄.家蚕蛹体基因组 DNA 的快速制备方法[J].蚕业科学,2000,26(1):63-64

[25] Summers M D,Smith G E.A manual of methods for baculovirus vectors and insect cell culture procedures[M]. Houston: Agricultural Experiment Station,1987:15-20

[26] Zhou Y,Xiao Q Y,Zhang Z,et al.Foreign insect hormones stimulating the transcription of the *ie*-1 promoter of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus *in vivo* and *in vitro*[J].Biosci Biotechnol Biochem,2002,66(7):1488-1494

[27] Zhou C Z, Confalonieri F, Medina N, et al. Fine organization of *Bombyx mori* fibroin heavy chain gene[J]. Nucleic Acids Res,2000,28(12):2413-2419

[28] Wang S P,Guo T Q,Guo X Y,et al.In vivo analysis of fibroin heavy chain signal peptide of silkworm *Bombyx mori* using recombinant baculovirus as vector[J].Biochem Biophys Res Commun,2006,341(4):1203-1210

[29] 汤锋,刘昆梅,李润乐,等.竞争性内源 RNA(ceRNA)研究进展——RNA 对话的新机制[J].中国药科大学学报,2012,43(6):481-485

[30] Vasudevan S,Tong Y C,Steitz J A.Switching from repression to activation:microRNAs can up-regulate translation[J].Science,2007,318(5858):1931-1934

[31] Ørom U A,Nielsen F C,Lund A H.microRNA-10a binds the 5′ UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation[J].Mol Cell,2008,30(4):460-471

[32] Henke J I,Goergen D,Zheng J,et al.microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA[J].EMBO J,2008,27(24):3300-3310

[33] Khan A A,Betel D,Miller M L,et al.Transfection of small RNAs globally perturbs gene regulation by endogenous microRNAs[J]. Nat Biotechnol,2009,27(6):549-555