

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00874

# MicroRNAs的分子进化与调控机制

王天宇<sup>1,2</sup>, 董园园<sup>1</sup>, 李海燕<sup>1</sup>, 李校堃<sup>1</sup>

1. 吉林农业大学生物反应器与药物开发教育部工程研究中心, 长春 130118;
2. 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118

**摘要:** MicroRNAs(miRNAs)是一类专门调控基因表达的非编码小分子 RNA, 广泛参与生物发育、细胞分化、细胞凋亡等多种生命进程。miRNAs 在不同种系间独立进化且在进化演变中普遍保守。文章综述了 miRNAs 起源、进化上的保守性及甲基化调控方面研究进展, 另外在疾病和动植物应用方面的研究也作了较为详细的阐述。

**关键词:** 小分子RNA; 微小RNA 进化; 甲基化

## Molecular evolution and regulatory mechanism of microRNAs

WANG Tian-Yu<sup>1,2</sup>, DONG Yuan-Yuan<sup>1</sup>, LI Hai-Yan<sup>1</sup>, LI Xiao-Kun<sup>1</sup>

1. Engineering Research Center of Bioreactor and Pharmaceutical Development, Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
2. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

**Abstract:** MicroRNAs, a type of small non-coding RNA specialized in regulation of gene expression, extensively participate in biological development, cell differentiation, apoptosis, and other cellular processes. MiRNAs evolved independently in different strains and generally conserved in the process of evolution. This review summarized the origin, regulation of methylation, and evolutionary conservation of miRNAs. In addition, application of miRNAs in diseases, animals and plants was discussed.

**Keywords:** miRNA; microRNA evolution; DNA methylation

MicroRNAs(miRNAs)是目前研究最为广泛的一类内源性非编码小分子RNA, 长度范围在 16~29 nt, 平均长度 22 nt<sup>[1]</sup>, 进化上高度保守。转录后水平上调控真核生物超过三分之一的基因表达<sup>[2]</sup>。1993 年首个miRNA *lin-4* 在秀丽新小杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 时序性发育调控的研究中被发现<sup>[3]</sup>; 随后于 2000 年在线虫(*Nematoda*)中鉴定到*let-7*<sup>[4]</sup>。迄今更多的miRNA基因相继在植物、动物和微生物中被

发现, 并且数据不断更新, 人类中被注释的miRNA 基因在miRbase13.0 数据库统计基础上新增 15 个, 小鼠miRNA基因新增 32 个, 拟南芥新增 3 个(miRbase 14.0)。miRNA编码基因大多存在于基因间隔区、内含子及转录子内部, 且多数miRNA属内含子miRNA(intronic-miRNA)<sup>[5]</sup>。在功能上参与真核生物细胞增殖、分化、发育及凋亡等多种生理过程和病理过程, 属于小分子干扰网络调控系统中一类新

收稿日期: 2009-12-31; 修回日期: 2010-02-24

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863 计划) (编号: 2007AA100503)资助

作者简介: 王天宇(1984-), 男, 硕士研究生, 专业方向: 基因工程。E-mail: wty007wty@163.com

通讯作者: 李海燕(1972-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 植物基因工程。E-mail: hyl99@163.com

李校堃(1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 生物制药。E-mail: xiaokunli@163.net

的调控模式, 对其研究将有助于进一步理解基因间的多层次网络调控模式。miRNA表达可受DNA甲基化调控, 基因内部或邻近的CpG岛异常甲基化导致miRNA表达紊乱进而引起肿瘤和疾病。miRNA起源上存在物种差异和系统差异, 所以其形成过程在植物和动物中存在区别, 但转录初始物(pri-miRNA)均经两步加工剪切后释放成熟miRNA。

## 1 miRNA的生物合成与调控机制

### 1.1 miRNA的生物合成

miRNA 基因首先在 RNA 聚合酶 的作用下转录得到 pri-miRNA, 再经一系列酶切加工为成熟miRNA 分子。部分 pri-miRNA 携带 RNA 聚合酶转录产物特征, 位于基因上游的特异位点同转录因子结合调控 RNA 聚合酶III启动子的转录活性。

Pri-miRNA的加工在植物和哺乳动物中存在差异, 如图 1 所示。细胞核内有Drosha和Dicer两种RNase 型酶参与 miRNA 前体 (pre-miRNA) 的生成<sup>[6]</sup>。Drosha蛋白在结构上包含两个RnaseIII结构域、结合双链RNA结构域及一个N末端片段<sup>[7]</sup>。在动物细胞核内绝大多数pri-miRNA经Drosha蛋白剪切产生具有茎环结构的pre-miRNA。也并非所有动物pre-miRNA都由Drosha蛋白介导加工, 在昆虫及哺乳动物中另有一些位于内含子的pre-miRNA可以利

用RNA的转录剪切机制形成茎环结构后直接进入下一步miRNA的加工<sup>[6]</sup>。植物细胞因缺少RNase 型Drosha蛋白家族, 该剪切功能由数个同源的Dicer酶代替, 并在产生pre-miRNA后由HASTY(HST)蛋白负责转运至核外<sup>[8]</sup>。由于miRNA/miRNA\*双体的互补结构<sup>[9]</sup>, pre-miRNA二级结构呈发夹型, 其分子长度在动物中变化并不明显, 一般由约 70 个核苷酸构成。植物pre-miRNA间长度差异很大, 茎环结构长度相差达 11 nt, 研究推测这一差异可能与pri-miRNA的识别模式有关<sup>[10]</sup>。

Pre-miRNA输出核外后经另一种RNase 型酶Dicer催化剪切并释放成熟miRNA。植物miRNA主要由类Dicer的DCL酶加工剪切。DCL是一类RNase 型酶, 结构上含有一个解旋酶结构域和两个串联的RNaseIII结构域以及一个双链RNA结构域<sup>[11]</sup>。成熟的miRNA来源于发夹结构的任意端臂, 大多数miRNA位置上起源于5'臂, 可能是由于5'臂动力学不稳定性引起<sup>[10]</sup>。

### 1.2 miRNA分子的转录后调控

内源性miRNA的转录后调控、生殖细胞特有的piRNA调控、siRNA介导的小分子干扰调控都可介导RNA转录沉默机制的发生<sup>[12]</sup>。siRNA和miRNA分别为Dicer1 及Dicer2 酶的加工产物, 有趣的是: piRNA的生物合成作用不依赖Dicer酶<sup>[13]</sup>。大多

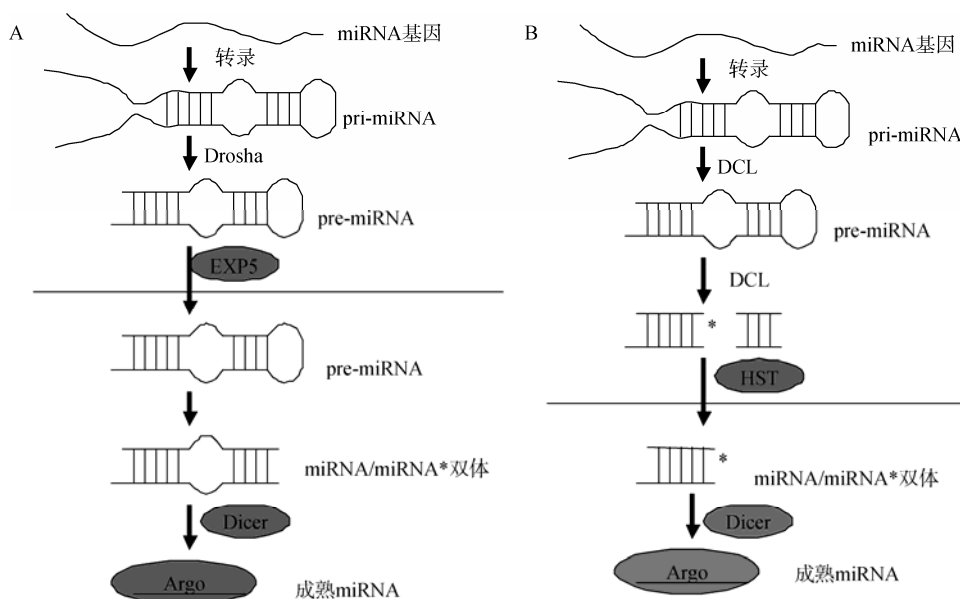


图1 microRNA 在动、植物中的加工过程

A: 动物 miRNA 生物合成; B: 植物 miRNA 生物合成。

siRNA起源于双链RNA(DsRNA)前体产物,与成熟miRNA分子大小及作用机制相似,均可作为转录因子行使基因表达调控,也可介导抗病毒机制。成熟miRNA和miRNA\*在细胞质中的去向有别。miRNA可与蛋白结合形成RISC(RNA诱导的转录沉默复合物)后与靶标mRNA以碱基互补方式结合,进而降解靶标分子或抑制蛋白的翻译过程,如图2所示。在RISC复合体诱导转录复合物降解过程中,研究者发现多蛋白因子协助复合体对靶基因结合从而介导转录抑制<sup>[14]</sup>。Jinek等<sup>[15]</sup>研究指出GW-182家族蛋白N末端的保守序列TNRC6C为RISC内Argo蛋白的结合域,同C末端PABC沉默结构域组成晶体复合物介导mRNA脱腺苷化。miRNA\*分子因动力学不稳定性则被核酸酶降解。在转录后水平的基因表达调控中,miRNA作为RNA干扰调控系统中的一类进化保守的关键因子介导靶基因降解或抑制蛋白翻译。动物miRNA特异识别并结合3'-非编码区(3'-UTR),该匹配不完全互补,允许一定程度的错配<sup>[16]</sup>。miRNA内部7~8 nt的种子区,是发挥靶标序列识别和精确匹配的关键结构。Malhas等<sup>[17]</sup>研究显示:miRNA31正是通过同靶基因*P16/P19*的3'-UTR区域结合来调控CDKN2a细胞分裂周期。植物miRNA同靶标的绑定位点似乎更广泛,不仅可以同mRNA的3'-UTR结合,也可识别包括开放阅读框在内的成熟转录序列<sup>[18]</sup>。尽管动物和植物miRNA在结构和作用机制上存在差异,但参与miRNA加工的催化酶却相同或高度同源,推测他们进化上可能起源于相同的RNA干扰系统,而在随后的进化演变中,因动物及植物的miRNA独立进化而呈现物种间的系统差异和弱相关<sup>[19,20]</sup>。

作为两类广泛参与基因表达调节与转录后调控的小分子干扰RNA, siRNA及miRNA的作用机制也存在微小差异<sup>[21]</sup>: (1) 在基因来源方面, miRNA是一类内源小分子RNA, 自身存在编码基因; 而siRNA不存在编码基因, 主要来源于外源双链小分子RNA的降解或在基因组中整合的转位因子的转录物; (2) 在匹配程度上, siRNA同靶基因完全匹配, 而在动物细胞中, miRNA同靶基因存在一定程度的错配<sup>[2]</sup>。

miRNA抑制靶基因的翻译, 并通过mRNA 3'端脱腺苷酸化导致整个mRNA降解。Joel等<sup>[22]</sup>运用无功能突变子竞争抑制和RNA干扰技术等方法, 寻找并证实了CCR4-NOT复合体的成员*CAF1* 和*POP2* 在miRNA引发的mRNA脱腺苷酸化过程中起到了关键性的作用。研究还首次证实了*CAF1* 在siRNA引起的off-target现象中也起到了重要作用。进一步研究发现, *CAF1* 并不是通过RISC的直接招募作用而发挥功能, 而可能通过miRNA和RISC改变mRNA的结构, 从而促进*CAF1* 对mRNA的降解。该研究成果为进一步揭示哺乳动物细胞内大量mRNA分子命运如何被决定奠定了基础。

## 2 miRNA的进化

### 2.1 miRNA的保守性

绝大多数miRNA基因是高度保守的, 这一保守性尤其体现在同靶标基因匹配的种子区序列的保守

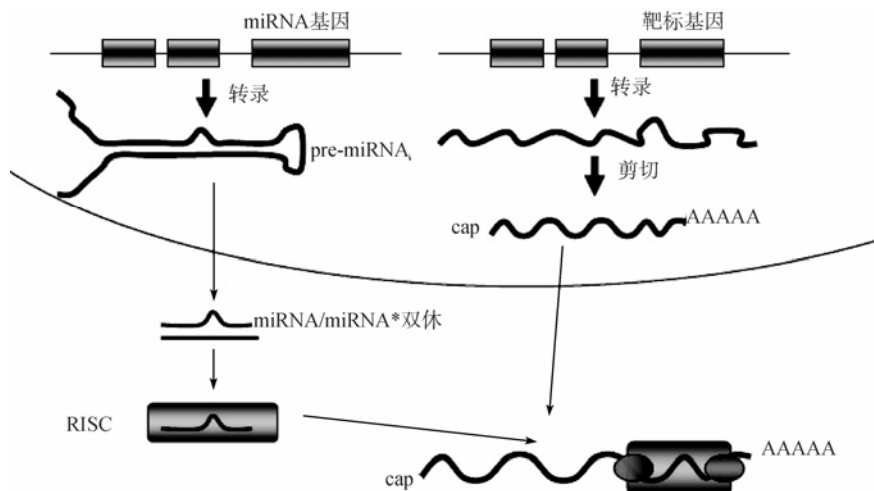


图2 miRNA介导的转录抑制机制

性上。双子叶植物拟南芥的*miR-168*基因同样保守地存在于单子叶植物水稻中。Axtell等<sup>[23]</sup>还发现该基因也存在于被子植物、裸子植物和蕨类植物,但并未在苔藓类植物中发现。目前已有包括*miR-168*在内的21个miRNA基因家族被发现存在于被子植物中有保守性,这些基因甚至出现在进化上更为古老的藻类植物和裸子植物中,其中13个miRNA可以预测到对应靶mRNA及在进化中的地位。被子植物中的两个miRNA基因家族*miR-165*、*miR-166*在苔藓和水藻中完全保守,尤其是针对*miR-166*的高度保守性可推测在进化中这些植物可能起源于共同的陆生植物祖先。动物miRNA与植物保守程度一致,都属于系间高度保守。如动物中*let-7*基因在脊椎动物、节肢动物、线虫中均被证实保守。这些保守的miRNA基因均参与了动植物进化、演变、分化与发展等过程<sup>[24]</sup>。

miRNA在植物与动物间差异较大,推测这可能是独立进化引起。通常认为不存在在动植物间均保守的miRNA,但是研究人员发现来源于长末端重复的转录子区域的*miR-854*及*miR-855*基因,在动物和植物中均存在,意味着动物和植物可能来源于同一基因调控系统<sup>[25]</sup>。

miRNA并非多细胞真核生物特有的一类调控分子,近来发现单细胞生物也能够加工单链前体得到miRNA。研究表明单细胞生物也能从不完美匹配的单链前体结构中加工得到小分子RNA,如藻类和细菌<sup>[26]</sup>。尽管在细菌中还未检测到与miRNA相作用的靶标,但藻类miRNA经证实可诱导靶基因降解。目前,在单细胞生物和多细胞生物研究领域尚未发现单细胞生物中的miRNA同动植物miRNA存在相似或同源性。

## 2.2 miRNA与靶标的进化关系

进化关系相近的种系间常存在一系列保守的miRNA,如动物中的*let-7*等miRNA基因,其转录产物序列分析表明:对于直系同源的miRNA,与它们相互作用的靶基因也是同源的,并且这种相互关系更倾向存在于进化关系邻近的种系内。对脊椎动物及昆虫而言,保守miRNA同靶基因3'-UTR互补序列的分析有利于进行亲缘关系较近物种的miRNA靶基因预测。但对于一些种系进化关系较远的种间虽

存在高度保守miRNA,其靶基因只有部分同源。Grun等<sup>[27]</sup>研究发现:大多数动物及昆虫中保守的miRNA,两个种系间对应的靶标却并不同源。推测保守miRNA基因在起源上并不同步,动物内保守的miRNA起源时序先于昆虫,导致系间miRNA与其靶标mRNA的进化历程不同,系特异的miRNA在mRNA的进化过程起了重要作用。Ruby等<sup>[28]</sup>提到动物中平均每个mRNA分子受到7个miRNA分子的调控,mRNA内3'-UTR区序列受突变影响,在进化历程中和miRNA间的相互关系并不固定,除了高度保守的miRNA外还存在着大量低丰度表达的系特异miRNA,这些miRNA常以组合方式调控转录。由于动物中miRNA同靶标的匹配不像植物那么严格,因此,动物体内功能基因更易受到进化miRNA的转录后调控。

## 3 miRNA基因的甲基化调控

表观遗传是指在核酸序列水平上不涉及基因组改变的遗传变化。表观遗传的发生与改变调节细胞内多数关键生理过程的有效进行<sup>[29]</sup>。miRNA自身转录表达也受到一系列表观遗传学、尤其是DNA甲基化的严密调控。miRNA基因内部或邻近的CpG岛发生异常甲基化导致某些关键miRNA表达紊乱进而引起肿瘤和疾病发生<sup>[30]</sup>。Lodygin等<sup>[31]</sup>对抑癌基因*p53*的研究发现,*p53*转录因子可靶向调节*miR34-a*,*p53*产物可同*miR34-a*基因结合并通过介导G<sub>1</sub>期细胞复制停滞从而抑制前列腺、黑色素肿瘤、膀胱等多数癌细胞的增殖。如果*miR34-a*启动子受到异常水平的甲基化调控后不能被*p53*诱导,其肿瘤抑制作用也相应减弱。此外在不同类型癌症中均发现*miR34-a*基因受到的甲基化调控。

甲基化调控的miRNA表达水平在正常组织和不同时期的癌组织中差异很大。最近研究发现:miRNA在肿瘤发生中可作为致癌或抑癌因子,并且miRNA启动子的CpG岛甲基化也被视为癌细胞转移的常规分子标识。Amaia等<sup>[32]</sup>报道癌组织中*miR-148a*、*miR-34b/c*及*miR-9*基因的表达均因受甲基化调控而基因表达沉默,而*miR-148a*等基因去甲基化后转录激活,相应地癌细胞发生减少,癌细胞转移信号路



径受到抑制,同时伴随C-MYC、E2F3、CDK6 靶基因表达水平下调。miRNA基因甲基化与癌症发生及

表 1 肿瘤细胞内受甲基化调控的 miRNA

| 肿瘤类型 | 甲基化的 miRNA 基因                          | 调控或作用因子         |
|------|--|-----------------|
| 卵巢癌  | miR21、miR203、miR205                    | TGIF2           |
| 直肠癌  | miR124a                                | TPM1            |
| 乳腺癌  | miR9-1、miR124-a3、miR148a、miR152、miR663 | CDK6、C-MYC、E2F3 |
| 肺癌   | Let7a-1、Let7a-2、Let7a-3                | DNM73A、DNM73B   |
| 皮肤癌  | miR34b、miR137、miR193a、miR203           | P53、BTG6        |
| 白血病  | miR223                                 | AML1、ETO        |

#### 4 miRNA的最新应用

随着核酸高通量测序技术的发展,miRNA 基因合成测序与基因芯片、生物信息学中 miRNA 基因及靶基因预测、基因发现和功能验证等分子实验手段结合,至今越来越多的新 miRNA、候选 miRNA 基因以及非保守 miRNA 相继被发现和证实,从而为 miRNA 功能研究及应用奠定了坚实的基础。

##### 4.1 miRNA在肿瘤中的调控作用

对肿瘤的研究目前已越来越多的关注微环境作用。借助于高通量miRNA测序等技术,研究发现 miRNA在癌组织和正常组织中的表达水平差异很大。其中,Wu等<sup>[33]</sup>在卵巢癌细胞调控中发现miR-205 表达水平明显低于癌旁组织,指出miR205 与抑制细胞增殖有关。Tavazoie等<sup>[34]</sup>同样发现LM2 细胞中存在 miR-335、miR-126、miR-206、miR-122a、miR-199a\*、miR-489 共 6 个表达失调的 miRNA 基因,其中 miR-335、miR-126、miR-206 表达差异最为显著,和正常组织相差 5 倍。Marcucci等<sup>[35]</sup>利用芯片方法发现淋巴细胞白血病中包含miR-21 在内的 21 个上调 miRNA和miR-128a等 6 个下调 miRNA基因,其中 let-7b、miR-128a、miR-128b和miR-223 表达水平差异最显著。高表达的miRNA通过抑制某些抑癌基因而起到癌基因作用,低表达的miRNA则失去对抑癌基因的抑制而发挥抑癌基因的作用。研究结果预示了miRNA的复杂作用机制,单个miRNA基因可调控多个靶基因,多个miRNA也可能作用于同一靶基因,且带有一定特异性。miRNA表达变化的这一特征可作为癌症早期诊断的分子标记物<sup>[36]</sup>,也可以解释和阐述肿瘤的发生及恶化的作用机制。

癌细胞转移密切相关(表 1)。

##### 4.2 对植物的调控作用

目前研究发现,植物miRNA可以调节生长机制,维持正常生理活动,影响植物发育过程。拟南芥中 miR319a可同靶基因TCP2、TCP3、TCP4、TCP10 结合调控花瓣发育过程<sup>[37]</sup>,尤其是TCP4 转录因子的靶向结合。miR319 家族中miR319a推测同叶片表型发育相关。miR319a基因内部一个核苷酸定点突变后,异常表达导致花瓣及雄蕊表型缺陷。miRNA还参与调控植物对环境适应性的调节,包括植物对逆境抗性。Zhang等<sup>[38]</sup>利用高通量测序方法对断尾草全基因组的大量小RNA分析发现一套非保守miRNA,其中miR395 家族的基因组结构与水稻区别明显,3 个保守miRNA和预测的 9 个 miRNA基因的表达均随寒冷刺激发生变化,推测这些小分子RNA与植物抗寒性相关。有研究指出,苜蓿(*Medicago truncatula*) 在干旱条件下根部miR169 表达下降,而茎和根部的 miR398a/b和miR408 表达均上调,引起与铜调节蛋白Cox5b、过氧化物歧化酶CSD1 表达下降,预计这两种蛋白主要调控苜蓿对缺水状态的适应性。有趣的是,根部 miR169 的下调未引起靶基因 MtHaP2-1 产物积累,推测miR169 可能是通过其他调控路径参与耐旱机制<sup>[39]</sup>。

##### 4.3 对脊椎动物的调控作用

哺乳动物细胞中miRNA以转录后调节作用的方式参与调控细胞发育和分化、代谢增值、细胞凋亡、病毒感染等<sup>[40]</sup>。miRNA可参与脊椎动物包括心血管生成及正常发育调控。如miR-133a参与肌细胞发育,miR-23b调节鼠神经发育等。脊椎动物内皮细胞尤其是血管的构造、功能及血管再生都与miRNA的调控作用密切相关。miRNA还参与复杂疾病调控。如miR-378、miR-296 及miR-17-92

基因簇调控肿瘤血管生成, 这为病理血管治疗提供了新的路径<sup>[41]</sup>。miRNA还在心室肥厚、心律失常、心力衰竭等心脏疾病中起调控作用。区别于正常心脏调控表达, 在疾病组织中的 *let-7c*、*miR-23a*、*miR-100*、*miR-103*、*miR-140\**、*miR-214* 表达量上升; *miR-126\** 表达水平下降, 表明多种miRNA在心脏疾病中起调控作用。另外在肝脏中 *miR122* 可调控胆固醇合成速率从而介导脂肪肝形成过程<sup>[42]</sup>。病毒性肝炎中, HCV病毒序列与 *miR-1*、*miR-30*、*miR-128*、*miR-196*、*miR-296*、*miR-351*、*miR-431* 及 *miR-448* 的种子区存在互补区域, 并能够抑制HCV病毒的复制与感染, *miRNA-1* 等上调表达有效抑制了病毒性肝炎的发生<sup>[43]</sup>。可见在一系列的复杂疾病中对miRNA调控机制的发现有助于疾病的治疗, 并促进由药物治疗向基因靶向治疗的过程转变。

## 5 前景与展望

小分子 RNA 的转录调控渗透于真核生物发育的各个过程, 其中大多数基因位于复杂基因组序列, 且多数为重复序列, 在以往的研究中易于被忽视。随着高通量 miRNA 测序方法的应用, 对 miRNA 的报道将愈加广泛, 其参与的基因表达调控机制也逐渐明确。

miRNA保守性研究不但关联分子发育机制和分子进化; miRNA靶向调控真核生物各种生理病理路径; miRNA转录后调控与人类的复杂疾病关系紧密, 可以作为疾病早期诊断的分子信号, 或利用其分子干扰机制进行分子治疗; miRNA甚至可以作为癌细胞增生及癌细胞凋亡的分子标识<sup>[44]</sup>。在miRNA基因的表现遗传调控中, 对正常细胞及肿瘤细胞中miRNA基因的研究有助于了解肿瘤发生。表现遗传调控的miRNA基因表达调节为癌症治疗提供了新的分子治疗方法<sup>[45]</sup>, 通过染色质修饰、甲基化修饰、miRNA基因表达沉默或过表达等方法恢复抑癌因子活性, 癌细胞中去异常甲基化等。但新近的研究表明利用miRNA对靶基因的调节过程远比想象要复杂得多, 如miRNA的过量表达可能会引起“饱和效应”, 启动内源miRNA的保护机制, 导致靶基因的表达量升高<sup>[46]</sup>。另外, 在特异性调节方面, 由于家族内miRNA的序列同源度极高, 针对miRNA家族不同个体的特异性调节仍是一个难题<sup>[47]</sup>。但目前对大多数生物发育、分化和疾病方面的小分子基因表达调控

机制、非保守miRNA的起源及其与靶基因作用方式等还有待研究者深入探讨, 以期早日将miRNA的机制研究应用到实际中。

## 参考文献(References):

- [1] Zhang B, Stellwag EJ, Pan X. Large-scale genome analysis reveals unique features of microRNAs. *Gene*, 2009, 443(1–2): 100–109. [\[DOI\]](#)
- [2] He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(7): 522–531. [\[DOI\]](#)
- [3] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75(5): 843–854. [\[DOI\]](#)
- [4] Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kurroda MI, Maller B, Hayward DC, Ball EE, Degen B, Muller P, Spring J, Srinivasan A, Fishman M, Finnerty J, Corbo J, Levine M, Leahy P, Davidson E, Ruvkun G. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 2000, 408(6808): 86–89. [\[DOI\]](#)
- [5] Ying SY, Lin SL. Intron-mediated RNA interference and microRNA biogenesis. *Methods Mol Biol*, 2009, 487: 387–413. [\[DOI\]](#)
- [6] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, 431(7006): 350–355. [\[DOI\]](#)
- [7] Collins RE, Cheng X. Structural domains in RNAi. *FEBS Lett*, 2005, 579(26): 5841–5849. [\[DOI\]](#)
- [8] Park MY, Wu G, Gonzalez-Sulser A, Vaucheret H, Poethig RS. Nuclear processing and export of microRNAs in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10): 3691–3696. [\[DOI\]](#)
- [9] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, 120(1): 15–20. [\[DOI\]](#)
- [10] Shabalina SA, Koonin EV. Origins and evolution of eukaryotic RNA interference. *Trends Ecol Evol*, 2008, 23(10): 578–587. [\[DOI\]](#)
- [11] Ye X, Paroo Z, Liu Q. Functional anatomy of the *Drosophila* microRNA-generating enzyme. *J Biol Chem*, 2007, 282(39): 28373–28378. [\[DOI\]](#)
- [12] Matrangola C, Zamore PD. Small silencing RNAs. *Curr Biol*, 2007, 17(18): R789–793. [\[DOI\]](#)
- [13] Miyoshi K, Miyoshi T, Hartig JV, Siomi H, Siomi MC. Molecular mechanisms that funnel RNA precursors into endogenous small-interfering RNA and microRNA biogenesis pathways in *Drosophila*. *RNA*, 2010, 16(3): 506–515. [\[DOI\]](#)
- [14] Chekulaeva M, Filipowicz W. Mechanisms of miRNA-mediated post-transcriptional regulation in animal cells. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(3): 452–460. [\[DOI\]](#)
- [15] Jinek M, Fabian MR, Coyle SM, Sonenberg N, Doudna JA.

- Structural insights into the human GW182-PABC interaction in microRNA-mediated deadenylation. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(2): 238–240. [\[DOI\]](#)
- [16] Davis S, Lollo B, Freier S, Esau C. Improved targeting of miRNA with antisense oligonucleotides. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(8): 2294–2304. [\[DOI\]](#)
- [17] Malhas A, Saunders NJ, Vaux DJ. The nuclear envelope can control gene expression and cell cycle progression via miRNA regulation. *Cell Cycle*, 2010, 9(3): 531–539. [\[DOI\]](#)
- [18] Brodersen P, Sakvarelidze-Achard L, Bruun-Rasmussen M, Dunoyer P, Yamamoto YY, Sieburth L, Voinnet O. Widespread translational inhibition by plant miRNAs and siRNAs. *Science*, 2008, 320(5880): 1185–1190. [\[DOI\]](#)
- [19] Margis R, Fusaro AF, Smith NA, Curtin SJ, Watson JM, Finnegan EJ, Waterhouse PM. The evolution and diversification of Dicers in plants. *FEBS Lett*, 2006, 580(10): 2442–2450. [\[DOI\]](#)
- [20] Chapman EJ, Carrington JC. Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(11): 884–896. [\[DOI\]](#)
- [21] Cerutti H, Casas-Mollano JA. On the origin and functions of RNA-mediated silencing: from protists to man. *Curr Genet*, 2006, 50(2): 81–99. [\[DOI\]](#)
- [22] Piao X, Zhang X, Wu L, Belasco JG. CCR4-NOT deadenylates RISC-associated mRNA in human cells. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(6): 1486–1494. [\[DOI\]](#)
- [23] Axtell MJ, Bartel DP. Antiquity of microRNAs and their targets in land plants. *Plant Cell*, 2005, 17(6): 1658–1673. [\[DOI\]](#)
- [24] Floyd SK, Bowman JL. Gene regulation: ancient microRNA target sequences in plants. *Nature*, 2004, 428(6982): 485–486. [\[DOI\]](#)
- [25] Arteaga-Vazquez M, Caballero-Perez J, Vielle-Calzada JP. A family of microRNAs present in plants and animals. *Plant Cell*, 2006, 18(12): 3355–3369. [\[DOI\]](#)
- [26] Hinas A, Reimegard J, Wagner EG, Nellen W, Ambros VR, Soderbom F. The small RNA repertoire of *Dictyostelium discoideum* and its regulation by components of the RNAi pathway. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(20): 6714–6726. [\[DOI\]](#)
- [27] Grun D, Wang YL, Langenberger D, Gunsalus KC, Rajewsky N. MicroRNA target predictions across seven *Drosophila* species and comparison to mammalian targets. *PLoS Comput Biol*, 2005, 1(1): e13. [\[DOI\]](#)
- [28] Ruby JG, Stark A, Johnston WK, Kellis M, Bartel DP, Lai EC. Evolution, biogenesis, expression, and target predictions of a substantially expanded set of *Drosophila* microRNAs. *Genome Res*, 2007, 17(12): 1850–1864. [\[DOI\]](#)
- [29] Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*, 2008, 358(11): 1148–1159. [\[DOI\]](#)
- [30] Weber B, Stresemann C, Brueckner B, Lyko F. Methylation of human microRNA genes in normal and neoplastic cells. *Cell Cycle*, 2007, 6(9): 1001–1005.
- [31] Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, Berking C, Knyazeva T, Korner H, Knyazev P, Diebold J, Hermeking H. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle*, 2008, 7(16): 2591–2600. [\[DOI\]](#)
- [32] Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, Ropero S, Sanchez-Cespedes M, Blanco D, Montuenga LM, Rossi S, Nicoloso MS, Faller WJ, Gallagher WM, Eccles SA, Croce CM, Esteller M. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(36): 13556–13561. [\[DOI\]](#)
- [33] Wu H, Zhu S, Mo YY. Suppression of cell growth and invasion by miR-205 in breast cancer. *Cell Res*, 2009, 19(4): 439–448. [\[DOI\]](#)
- [34] Tavazoie SF, Alarcon C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD, Gerald WL, Massague J. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature*, 2008, 451(7175): 147–152. [\[DOI\]](#)
- [35] Marcucci G, Mrozek K, Radmacher MD, Bloomfield CD, Croce CM. MicroRNA expression profiling in acute myeloid and chronic lymphocytic leukaemias. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2009, 22(2): 239–248. [\[DOI\]](#)
- [36] Kato MA, Fahey TJ 3rd. Molecular markers in thyroid cancer diagnostics. *Surg Clin North Am*, 2009, 89(5): 1139–1155. [\[DOI\]](#)
- [37] Nag A, King S, Jack T. miR319a targeting of TCP4 is critical for petal growth and development in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(52): 22534–22539. [\[DOI\]](#)
- [38] Zhang J, Xu Y, Huan Q, Chong K. Deep sequencing of Brachypodium small RNAs at the global genome level identifies microRNAs involved in cold stress response. *BMC Genomics*, 2009, 10: 449. [\[DOI\]](#)
- [39] Trindade I, Capitao C, Dalmay T, Fevereiro MP, Santos DM. miR398 and miR408 are up-regulated in response to water deficit in *Medicago truncatula*. *Planta*, 2009, 231(3): 705–716. [\[DOI\]](#)
- [40] Liu HC, Hicks JA, Trakooljul N, Zhao SH. Current knowledge of microRNA characterization in agricultural animals. *Anim Genet*, 2010, 41(2): 179–190. [\[DOI\]](#)
- [41] Wang S, Olson EN. AngiomiRs—key regulators of angiogenesis. *Curr Opin Genet Dev*, 2009, 19(3): 205–211. [\[DOI\]](#)
- [42] Chen XM. MicroRNA signatures in liver diseases. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(14): 1665–1672.
- [43] Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, Volinia S, Croce CM, Chisari FV, David M. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature*, 2007, 449(7164): 919–922. [\[DOI\]](#)
- [44] Sirotkin AV, Laukova M, Ovcharenko D, Brenaut P, Mlynec M. Identification of microRNAs controlling human ovarian cell proliferation and apoptosis. *J Cell Physiol*, 2010, 223(1): 49–56.
- [45] Yang N, Coukos G, Zhang L. MicroRNA epigenetic al-

- terations in human cancer: one step forward in diagnosis and treatment. *Int J Cancer*, 2008, 122(5): 963–968.[\[DOI\]](#)
- [46] Khan AA, Betel D, Miller ML, Sander C, Leslie CS, Marks DS. Transfection of small RNAs globally perturbs gene regulation by endogenous microRNAs. *Nat Biotechnol*, 2009, 27(6): 549–555.
- [47] Peter ME. Targeting of mRNAs by multiple miRNAs: the next step. *Oncogene*, 2010, 29(15): 2161–2164.[\[DOI\]](#)