

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00776

茄子 microRNAs 与其靶基因的生物信息学预测

张磊^{1,2}, 晁江涛¹, 崔萌萌¹, 陈雅琼^{1,2}, 宗鹏^{1,2}, 孙玉合¹

1. 中国农业科学院烟草研究所, 中国农业科学院烟草遗传改良与生物技术重点开放实验室, 青岛 266101;
2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081

摘要: microRNAs(miRNAs)是一类在真核生物中发现的长度为 21 nt 左右、非编码、内源性的单链小分子 RNA, 通过与靶基因的互补发挥转录后水平的负调控作用。目前, 已在许多物种中报道了 miRNAs 的存在, 然而还未见关于茄子 miRNAs 的报道。根据 miRNAs 在植物中的高度保守性及其前体的二级结构特征, 文章通过同源预测的方法, 将已知植物的 miRNAs 与茄子 EST 数据库比对, 经过一系列的筛选, 最终预测到 12 个家族的 16 条茄子 miRNAs, 其中包括 3 个 miRNA 家族的正义/反义 miRNAs, 而 miR390 和 miR399 家族的正义/反义 miRNAs 属于第一次发现。文章还通过在线软件 psRNATarget 预测到 15 条茄子 miRNAs 的 71 个靶基因, 这些靶基因主要编码与茄子生长发育、新陈代谢以及胁迫响应等过程相关的蛋白。

关键词: 茄子; microRNAs(miRNAs); 靶基因; 生物信息学; EST

Bioinformatic prediction of conserved microRNAs and their target genes in eggplant (*Solanum melongena* L.)

ZHANG Lei^{1,2}, CHAO Jiang-Tao¹, CUI Meng-Meng¹, CHEN Ya-Qiong^{1,2}, ZONG Peng^{1,2}, SUN Yu-He¹

1. Key Laboratory of Tobacco Genetic Improvement and Biotechnology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Tobacco Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266101, China;
2. Graduate School, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: MicroRNAs (miRNAs), a recently discovered class of small (~21nt), non-coding, endogenous, single-stranded RNAs in eukaryotes, regulate gene expression negatively at the post-transcriptional levels depending on the extent of complementation between miRNA and mRNA. To date, a large number of miRNAs have been reported in many species, but none for eggplant (*Solanum melongena* L.). In this paper, a computational homology search approach based on the conservation of miRNA sequences and the stem-loop hairpin secondary structures of miRNAs was adopted. The search was started with the known plant miRNAs compared to eggplant expressed sequence tags (EST) databases to find potential miRNAs. Following a range of filtering criteria, a total of 16 potential miRNAs belonging to 12 families were identified. Three pairs of sense and antisense strand eggplant miRNAs belonging to three different miRNA families were also found. Furthermore, miR390 and miR399 sense/antisense pairs are identified for the first time in plants. Using online software psRNATarget, we further predicted the target genes of these 16 miRNAs and got 71 potential targets genes on base of 15 eggplant miRNAs. Most of these target genes were predicted to encode proteins that play key role in eggplant growth, development, metabolism, and stress responses.

Keywords: eggplant(*Solanum melongena* L.); microRNAs (miRNAs); target gene; bioinformatics; EST

收稿日期: 2011-03-27; 修回日期: 2011-04-27

基金项目: 国家烟草专卖局重点科技项目(编号: 110200701021)资助

作者简介: 张磊, 硕士研究生, 专业方向: 烟草分子育种。E-mail: zhangleisdau@163.com

通讯作者: 孙玉合, 博士, 研究员, 研究方向: 烟草基因组学。E-mail: yhsun@163.com

网络出版时间: 2011-5-30 11:31:22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110530.1131.002.html>

microRNAs(miRNAs)是一类在真核生物中发现的长度为 21nt 左右、非编码、内源性的单链小分子 RNA, 在基因表达中通过对靶 mRNA 的翻译抑制或降解, 发挥转录后水平的负调控作用^[1]。作为重要的调控分子, miRNAs 参与植物生命过程中一系列重要进程, 主要包括植物器官的形态建成、激素分泌、信号转导以及抗逆反应等^[2,3]。

目前, 在植物中鉴定 miRNAs 主要有两种策略: 分子生物学和生物信息学^[4]。分子生物学主要包括正向遗传学^[5,6]、直接克隆^[7]以及新近发展起来的新一代高通量测序^[8]等方法; 其优点是能够高效的鉴定 miRNAs, 其结果具有较少的假阳性, 特别是对于发现新的以及组织特异性的 miRNAs 非常有效。然而分子生物学方法耗费时间, 价格昂贵, 具有很强的技术依赖性, 生物信息学方法则弥补了这些缺陷。通过比较基因组学研究发现, 从低等的苔藓、裸子植物到高等的单子叶、双子叶植物, 大量已知的 miRNAs 在植物物种中是高度保守的^[9,10]。miRNAs 在物种间的高度保守性为在其他物种中同源预测 miRNAs 提供了依据。迄今为止, 已开发出多种程序成功地预测了植物中的 miRNAs^[2,11~13]。据报道, Zhang 等^[13]利用 EST 序列对 miRNAs 进行生物信息学预测, 在 18 694 条 EST 序列中预测了 60 个植物物种的 388 条保守的潜在 miRNAs。此后, 不同的学者利用 EST 序列以及 GSS 序列, 通过同源预测方法在其他物种中发现了大量的保守 miRNAs, 例如番茄^[14]、棉花^[15]、玉米^[16]以及烟草^[17,18]等。研究表明, 对于未全基因组测序的物种, 利用 EST 或 GSS 序列同源预测 miRNAs 是一种方便、快速和经济的方法。

茄子(*Solanum melongena* L.)是亚洲、欧洲以及非洲的一种重要蔬菜^[19], 具有很高的经济价值、营养价值和药用价值, 我国是世界上最大的茄子生产和消费国。截止到 2010 年 9 月 10 日, 在 miRBase 16.0 版本中共收录了 43 个植物物种的 3 070 条 miRNAs^[20], 但还没有有关茄子 miRNAs 的相关记录。本研究利用植物中已知的 miRNAs 与茄子的 EST 数据库做同源比对, 预测茄子中的 miRNAs 及其靶基因, 研究结果对深入了解茄子的生长发育调控等机理具有重要的意义。

1 材料和方法

1.1 已知的 miRNAs 序列

在 miRNA 数据库 miRBase ([http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl;Release 16,September 2010](http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl;Release%2016,September%202010))^[20]中下载拟南芥、大豆、水稻、玉米等 43 种植物的 3 070 条 miRNAs。为避免相同 miRNA 在预测后造成的结果冗余性, 本研究去除了不同物种中具有相同碱基序列的 miRNA, 剩余的 miRNAs 序列作为预测茄子 miRNAs 的参照序列。

1.2 茄子 EST 序列

茄子的 EST 序列在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的 GenBank 核酸序列数据库网站上(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)下载得到。到目前为止(2011 年 4 月), 在 EST 数据库中共有 98 089 条茄子的 EST 序列。

1.3 茄子 miRNAs 的生物信息学预测

根据之前报道的 miRNAs 的预测方法^[9,12,21], 茄子 miRNAs 预测的具体流程如图 1 所示。首先, 将获得的植物已知的 miRNAs 相互比对, 去除重复序列后与茄子的 EST 序列进行 PatScan^[22]比对, 允许小于等于 3 个的碱基错配但不能有碱基的插入和缺失, 得到候选的 miRNAs 序列; 然后, 去除重复的 miRNAs 序列, 将筛选后获得的候选 miRNAs 序列与 NCBI 蛋白质数据库 BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)比对, 去除蛋白质编码序列, E 值设置为 1e-6; 最后, 剩余的 EST 序列使用 RNAfold^[23]软件预测二级结构, 分析筛选二级结构获得茄子 miRNAs。

生物信息学预测茄子 miRNA 的标准^[13~18]如下:

(1)新预测的茄子 miRNA 与已知的 miRNA 序列碱基错配数小于等于 3; (2) miRNA 前体能够折叠成发夹状的二级结构; (3)成熟的 miRNA 与相同家族已知的 miRNA 位于前体发夹结构的相同臂上; (4) miRNA 前体要有绝对值较高的最小折叠自由能(Minimal folding free energy, MFE)和较高的最小折叠自由能系数(Minimal folding free energy index, MFEI); (5)成熟的 miRNA 与另一条臂上的互补序列有不超过 5 个的错配碱基; (6)成熟的 miRNA 与另一条臂上的互补序列不允许有缺口或者较大的环; (7)将茄子

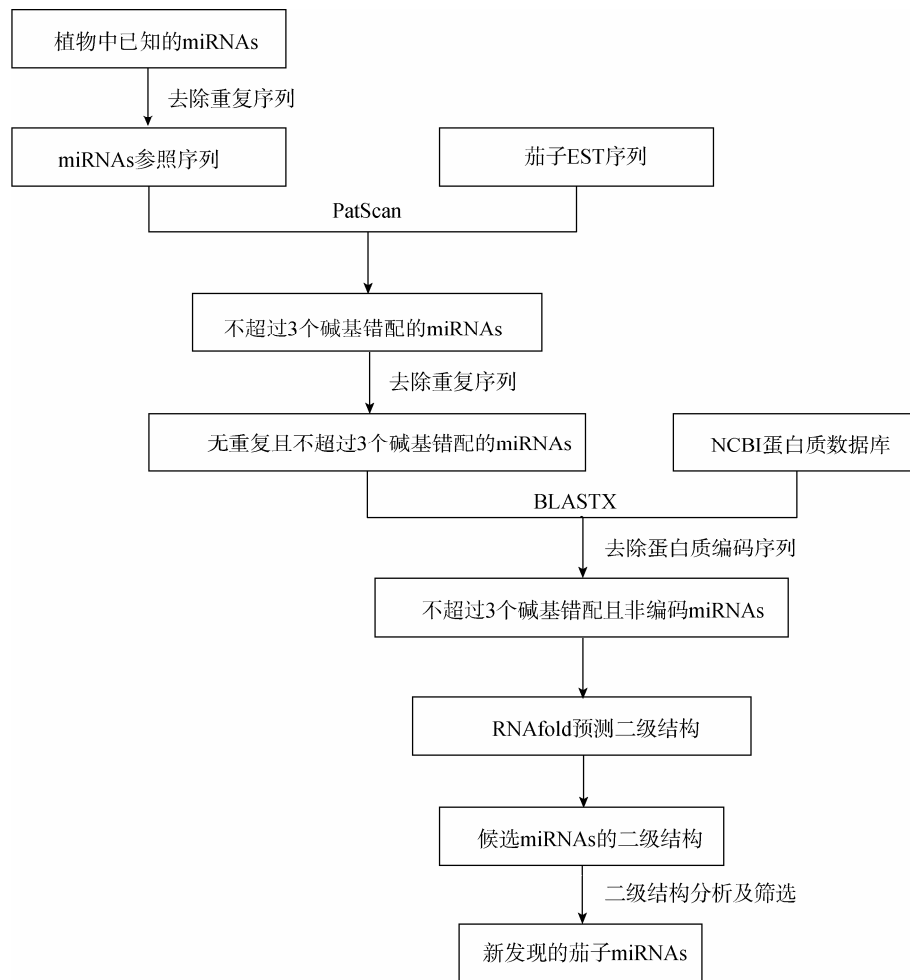


图 1 茄子 miRNAs 的生物信息学预测流程

EST 序列用于 BLASTX 分析, 去除 E 值小于 $1e-6$ 的序列。

1.4 茄子 miRNA 靶基因的预测

由于植物 miRNA 与其靶基因具有高度的序列互补性, 人们根据这一特点开发了多种预测植物 miRNA 靶基因的软件, 如 miRU、miRNAassist、PatScan 及 psRNATarget 等。根据 Dai 等^[24]对这些软件比较, 本研究利用 psRNATarget 软件(<http://www.plantgrn.org/psRNATarget/>), 在 Eggplant DFCI Gene Index(SOMEI) Release 1 数据库中预测茄子 miRNA 的靶基因。设置最大期望值为 3, 其他为默认参数; psRNATarget 通过罚分机制^[25]筛选靶基因, 每 20 nt 得分为 3, 每个 G:U 摆动配对、缺失或插入以及其他错配对分别罚 0.5、2 和 1 分(由于 miRNA 5'端的序列对靶基因的互补非常重要, 在 miRNA 5'端第 2~7 nt 内发生除 G:U 外的碱基错配罚分为 1), 总

得分小于 3 且 UPE 小于 25.0 kcal/mol 的序列为 miRNA 的潜在靶基因。对于 SOMEI 数据库中未作功能注释的 mRNA, 本研究将其与 NCBI 蛋白质数据库 BLASTX 比对分析其功能。

2 结果与分析

2.1 预测的茄子 miRNAs

根据大量的 miRNAs 在植物物种间的高度保守性及其前体的二级结构特征, 本研究通过同源预测的方法, 经过一系列的筛选, 最终在茄子 EST 数据库中预测到 16 条保守的 miRNAs(表 1)。结果表明, 0.0163%的茄子 ESTs 含有一条 miRNA, 这与其他植物中预测的几率相似^[18,26]。

本研究中新发现的 16 条茄子 miRNAs 属于 12 个 miRNA 家族, 其中 miR156、miR172、miR390 和 miR399 家族各有两个成员, 其他 8 个家族只有一个

表 1 茄子(*Solanum melongena*)中新发现的 miRNAs 及其序列特征

miRNA	miRNA 成熟序列(5'→3')	基因 ID		Location	LM(nt)	LP(nt)	(A+U)%	MFE(kcal/mol)	MFEI
156a	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC	261634036	+	5'	20	86	60.47	50.1	1.47
156b	UGACAGAAGAUAGAGAGCAC	261627711	+	5'	20	100	62.00	41.53	1.09
169	CAGCCAGGGAUGACUUGCCGA	261661848	+	5'	21	78	53.85	42.32	1.18
172a	GGAAUCUUGAUGAUGCUGCAU	261706661	-	3'	21	129	69.77	45.90	1.18
172b	GAAUCUUGAUGAUGUUGCAU	261706661	+	3'	21	129	69.77	39.90	1.02
390a	AAACUCAGGAUGGAUAGCGCU	261642419	-	5'	21	85	51.76	40.09	0.98
390b	AAGCUCAGGAGGGAUAGCGCC	261642419	+	5'	21	85	51.76	38.47	0.94
393	UCCAAAGGGAUCGCAUUGAUCC	261659742	-	5'	22	342	71.35	121.1	1.24
398	UGUGUUCUCAGGUCGCCCCUG	261704647	+	3'	21	83	63.86	35.90	1.2
399a	UGCCAAUAAGAGAGUAGCCCUA	261609462	-	3'	21	66	51.52	32.27	1.01
399b	CGCCAAAGGAGAGCUGCCCUA	261609462	+	3'	21	66	51.52	31.50	0.98
408	AUGCACUGCCUCUUCCUGGC	261716180	+	3'	21	70	45.71	34.80	0.92
472	UUUUUCCUAU ⁻ UCC ⁻ ACCAUGCC	261694351	-	3'	22	70	60.00	32.00	1.14
482	UCUUGCCUGC ⁻ ACCG ⁻ CCCAUGCC	261694350	+	3'	22	70	55.71	36.20	1.17
837	CAUUGUUUCUUGUUUU ⁻ UC ⁻ CU	261647128	+	5'	21	328	60.98	78.10	0.61
854	GAUGAU ⁻ GAA ⁻ UGGGAGGAGGAG	261614249	+	5'	21	287	60.98	74.24	0.66

注: Location: 成熟 miRNA 在前体中的定位; LM: 成熟 miRNA 的长度; LP: 前体序列的长度; MFE: 最小折叠自由能; MFEI: 最小折叠自由能指数; 下划线碱基为错配碱基; 阴影部分为正义/反义 miRNAs。

成员。通过分析 miRNA 家族在不同物种中的分布,发现茄子 miR472、miR482、miR837 以及 miR854 等 4 个 miRNA 家族只在双子叶植物中存在,其他 8 个 miRNA 家族在单子叶和双子叶植物中都存在。这些结果表明,miRNA 家族在不同物种中具有相对的保守性。

2.2 茄子 miRNAs 的特性分析

在茄子中预测的 16 条成熟 miRNAs 的长度为 20~22 nt,其中大多数(69%)为 21 nt。与成熟 miRNA 不同是,miRNA 前体表现出更多的多样性。大多数动物 miRNA 前体的长度为 70~100 nt,其二级结构也比较保守^[27];然而植物 miRNA 前体的长度和二

级结构比动物的多样性更高^[16]。由图 2 可以看出,茄子 miRNA 前体的长度变化范围很大,在 66~342 nt 之间;大多数(69%)茄子 miRNA 前体的长度在 70~130 nt 之间,这与在棉花^[15]、玉米^[16]、烟草^[18]以及大豆^[26]等植物中的报道一致。从图 3 可以看出,虽然茄子 miRNA 前体的长度和二级结构变化很大,但它们都能够折叠成二级茎环结构。

成熟的 miRNAs 一般定位于前体茎环结构的一条臂上。本研究发现茄子中各有 50%成熟 miRNAs 序列位于前体 5'臂和 3'臂上(表 1);这与在其他植物中的报道相似^[18,26]。可以推测,茄子成熟 miRNA 在前体茎环结构的任何一条臂上的概率几乎相等。

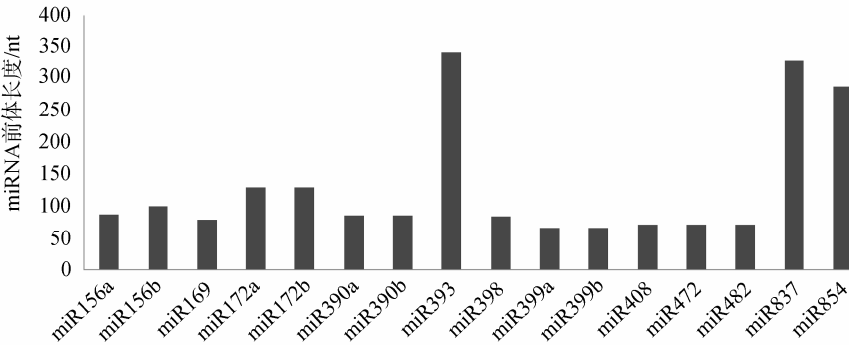


图 2 茄子 miRNA 前体长度

miR156a

	10	20	30	40
<u>U</u>	—	—	UCA—	C
GACAGAA	GAGA	GUGAGCACACGCAG	AAUUGUAUA	G
CUGUCUU	CUCU	CACUCGUGUGCGUU	UUAACAUAUU	A
A	A	U	UACUG	U
80	70	60	50	

miR156b

		10	20	30	40
<u>U</u>	<u>G</u>	—	U	—	AGAUGGAGGAAAU
<u>A</u>	<u>C</u>	<u>GAAG</u>	<u>AUAGAGAGCACA</u>	<u>AUGA</u>	<u>UGAGAUGCU</u>
<u>CUG</u>	<u>CUUC</u>	<u>UAUCUCUCGUGU</u>	<u>UACU</u>	<u>ACUUUACGA</u>	<u>U</u>
A	C	G	U	UC	AAUUAUUUAGGAGG
		90	80	70	60 50

miR169

	10	20	30
<u>C</u>	<u>UG</u>	G	U
<u>AGCCAGGGA</u>	<u>ACUUGCCGA</u>	GU	UC CUA
<u>UCGGUCCCU</u>	<u>UGAACGCGU</u>	CG	AG GAAU
A	GU	G	UUU -
	70	60	50
			40

miR398

	10	20	30	40
	A	U	UUUUUUUUUU	U
UAGGGGC	ACUUGAGA	CACAUGUUA		UC G
GUCCCCG	UGGACUCU	GUGUACAAU		AG A
	<u>C</u>	<u>U</u>	CUUUUAUUCU-	U
80	70	60	50	

miR408

	10		20		30	
GA	C	A	A	AG	U	UU
	CGGGGA	GAG	CAG	GCAUG	AUG	GCAA
	GUCCCU	CUC	GUC	CGUAC	UAC	CGUU
<u>CG</u>	<u>U</u>	<u>C</u>	<u>A</u>	CU	C	CA
	60		50		40	

miR472

10	20	30
	—	A-----
GGUGUGGGUGGGGU	GGAAAAAU	UCUUG A
<u>CCGUACCCACCUUA</u>	<u>CCUUUUUA</u>	AGAAU A
	<u>U</u>	GUGUUA AAA
60	50	40

miR482

	10	20	30	
	U	-	AGA	-
GGCAUG	GUGGUGU	GGUAAAGAU	UC	UAUCAU
<u>CCGUAC</u>	<u>CGCCACG</u>	<u>CCGUUCUA</u>	AG	AUAGUA
<u>C</u>	<u>U</u>	A--	U	
60	50	40		

miR393

[illegible]

miR837

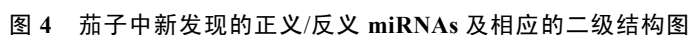
	10	20	30	60	100	110	120	130	140	150
UG	UU-	G	(22 side loop)	UAUG	-(30 side loop)AAG	UA	AAA	C	A	UAUC
	UCA	GUUUUUU	UUUUUUUUUUUUUU	GUGUUU	UU CAAGU	UUC	CUUUU ACUG	AGAA AU	CAA A	GAU
	GGU	CGAAGAA	GAAAGAGGAAGAAGA	CACAAA	AA GUUCA	AAG	GA AAA UGAC	UAUAGUG	UCUU UA	CU UCAA
GU	UUC	-	(70 side loop)	CCAA U	CCCCA	AA-	--	GUA	- C	---
	320	310	300	220	200	190	180	170	160	150

miR854

10		20		30		40		50		60		70		80		90	
U	G	U	G	U	G	U	G	U	G	U	G	U	G	U	G	U	G
GAUGA	GAA	G	GA	GAGGA	AGGA	AGA	AG	CAAG	GGUG	GGACGG	GCAGAGU	UUCUGAG	AAUAUAUCC				G
UUACU	CUU	C	UU	UUUUU	UCCU	UUU	UUC	GUUC	UUAC	CCUGUU	CGUUUCG	GAGAUUU	UUAUAUGGG				A
-	U	G	G		AA	CA	GA	G-	C-	AUUA (77 side loop)	(26 side loop)	UACC					AAAGAC
280				270		260		250		240		150		120		110	100

图3 预测的10条茄子miRNA前体的二级结构图(下划线为成熟miRNA序列)

最近的研究发现,在动物中位于相同基因组位点的 miRNAs 能够被双向性转录,即正义链和反义链转录^[29]。这些前体序列经过加工,最终产生具有功能性的成熟 miRNAs^[29]。然而,在植物还没有大量报道有关反义 miRNAs 的存在。Zhang 等^[18,26]通过生物信息学预测在大豆和烟草中发现了正义/反义 miRNAs。本研究在茄子中发现了 3 个 miRNA 家族的 3 对正义/反义 miRNAs, 分别包括 miR172a/miR172b、miR390a/miR390b 和 miR399a/miR399b(图 4)。这是第一次在植物中发现 miR390 和 miR399 家族的正义/反义 miRNAs。



在动物中,反义 miRNA 与正义 miRNA 有至少一个碱基的差异;本研究也在茄子中发现了这个现象。笔者推测这些碱基的差异能使正义/反义 miRNAs 结合功能不同的靶基因,从而调控不同基因的表达。在一对正义/反义 miRNAs 中,它们都有相同的前体长度;然而,这些前体的 MFE、碱基组成以及二级结构却不相同(表 1,图 4)。

2.4 茄子 miRNA 靶基因的预测及主要功能分析

本研究利用新发现的 16 条茄子 miRNAs,通过

在线软件 psRNATarget 在 Eggplant DFCI Gene Index(SOMEGI) Release 1 数据库中进行靶基因预测,共预测到 15 条茄子 miRNAs 的 71 个靶基因,其中 miR399b 未能预测到相关的靶基因。这些靶基因属于不同的基因家族,主要编码与茄子生长发育、胁迫响应、信号转导、转录调节、跨膜运输和 DNA 加工等相关的蛋白(表 2),还有一部分靶基因编码的蛋白质功能未知(未列出)。

本研究共预测到茄子 6 个 miRNA 家族的 12 条靶基因编码转录因子。茄子 miR156 的靶基因有 3

表 2 茄子中预测到的 miRNA 靶基因及其功能

miRNA	靶蛋白	靶基因功能	靶基因
miR156	SPL 类转录因子	转录因子	TC5371,FS039084,TC9790
	钙调素结合蛋白	胁迫响应,信号转导	TC4857
	天冬氨酸转氨酶	新陈代谢	FS067862,TC1842,TC228
	糖基转移酶	新陈代谢	TC10226
	镁螯合酶	新陈代谢	TC10380
miR169	CCAAT 结合蛋白亚基 B(CBF-B)	转录因子	TC10500,TC10943,FS094697
miR172	bZIP 转录因子	转录因子	FS084280
	烯丙醇脱氢酶	新陈代谢	TC4684
miR390	Kunitz 型丝氨酸蛋白酶抑制剂	胁迫响应	TC11586
	S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶	新陈代谢	TC1175
	核酸内切酶 4	DNA 加工	TC10331,TC11375
miR393	F-box 蛋白	转录因子	TC5152
	U-box 蛋白	新陈代谢	FS083813
	呼吸链 NADH 脱氢酶亚基 1	新陈代谢	FS003221
	蔗糖非发酵-1 相关蛋白激酶	胁迫响应,信号转导	TC12954
miR398	Cu/Zn 超氧化物歧化酶	胁迫响应	TC8971
	蓝铜蛋白前体	新陈代谢	TC11233
	多聚半乳糖醛酸酶前体	新陈代谢	TC2207
	丝氨酸羟甲基转移酶	新陈代谢	TC5338
miR399	光合体系 IP700 叶绿素 A 脱辅基酶	新陈代谢	TC8241
miR408	碱性蓝铜蛋白	新陈代谢	TC8138
miR472	NBS-LRR 抗病蛋白	胁迫响应	FS076830
	抗晚疫病蛋白	胁迫响应	TC2620
	半乳糖苷酶	新陈代谢	TC11670
	CP12 前体蛋白	新陈代谢	TC4617
miR482	NBS-LRR 抗病蛋白	胁迫响应	FS087636,TC2708,TC14326
miR837	TCP 转录因子	转录因子	TC14128
	硫氧还原蛋白还原酶	新陈代谢	FS083724
	阳离子过氧化物酶同工酶	新陈代谢,胁迫响应	TC6498
	甲酸脱氢酶	新陈代谢,信号转导	TC12880
miR854	ERF 转录因子 7	转录因子	TC9431
	SF3 蛋白	生长发育	TC8637
	26s 蛋白酶体亚基	新陈代谢	FS075589
	DAG 蛋白激酶	新陈代谢	TC5133
	臂重复蛋白 ARC	新陈代谢	TC431
	RNA 聚合酶 III	转录因子	FS031560
	LBD 蛋白	生长发育	FS063572
	RNA 聚合酶 σ 因子	转录因子	TC6085
	香叶基二磷酸合酶	新陈代谢	TC6580

个编码类 Squamosa 启动子结合蛋白(SPL), 这类转录因子在植物花和果实发育以及激素应答等过程中起到一定的调控作用^[30]。茄子 miR169 的靶基因编码 CCAAT 结合蛋白 CBF(又称 NF-Y 或 HAP), 该转录因子通过作用于真核基因启动子区的 CCAAT 盒, 在植物的生长发育过程中起着重要的调控作用^[31,32]。研究表明, 苜蓿 miR169 的靶基因 HAP2-1 调控侧根的发育^[33]。茄子 miR393 的靶基因编码 F-box 蛋白, 其通过参与 SCF 复合体的形成介导泛素化蛋白底物的特异性识别, 在蛋白质降解过程中发挥关键作用。本研究还预测到茄子 miR172 的靶基因编码 bZIP 转录因子, miR837 的靶基因编码 TCP 转录因子, miR854 的靶基因编码 ERF 转录因子, 这些转录因子在植物发育和代谢过程中起着关键性的调控作用。

本研究预测到茄子 miRNA 的靶基因还编码与胁迫响应等相关的蛋白。茄子 miR398 的靶基因编码 Cu/Zn 超氧化物歧化酶(Cu/Zn-superoxide dismutase, CSD), 它通过负调控 CSD 的表达, 在调节铜代谢平衡, 参与应答外界胁迫等过程中起到重要作用^[34,35]。茄子 miR472、miR482 的靶基因编码抗病蛋白, 参与植物应答非生物胁迫等过程。目前已在拟南芥中用 5' RACE 验证了 miR472 的靶基因编码 NBS-LRR 类抗病基因^[36]。

3 讨论

miRNAs 作为一种新发现的非编码的基因表达调控因子, 在真核生物的基因表达调控中起到重要作用, 它的发现丰富了人们对基因表达调控的认识。目前, miRNAs 的功能研究集中在模式植物中, 如拟南芥^[6, 7, 12, 34, 35]等。然而在一些经济作物中, miRNAs 的研究比较滞后, 主要集中在 miRNAs 的克隆和预测上, 如番茄^[14]、棉花^[15]以及烟草^[17, 18]等; 对于 miRNAs 生物学功能的研究还很少。本研究预测了茄子 miRNAs 的序列, 为进一步研究茄子 miRNAs 的功能奠定了基础。

利用生物信息学同源预测 miRNAs 是一种方便、快速和经济的方法。目前, 据笔者所知, 还没有有关茄子 miRNAs 的报道。本研究在茄子中发现了 12 个 miRNA 家族的 16 条序列, 其中有 15 条 miRNAs 靶定 71 个靶基因, 这些靶基因参与到植物生命过程中一系列重要的进程。由于目前茄子基因

组信息不完善, 本研究没有更全面的预测到茄子的 miRNAs 及其靶基因。今后随着茄子基因组信息的逐步完善, miRNAs 研究手段的不断更新, 必将发现更多的茄子 miRNAs 及其靶基因, 进而通过研究其功能, 对于进一步揭示茄子的生长发育调控等机理具有重要的意义。

参考文献(References):

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281–297.
- [2] Zhang BH, Pan XP, Cobb GP, Anderson TA. Plant microRNA: A small regulatory molecule with big impact. *Dev Biol*, 2006, 289(1): 3–16.
- [3] Chen XM. MicroRNA biogenesis and function in plants. *FEBS Lett*, 2005, 579(26): 5923–5931.
- [4] Taylor PF, Zhang BH. Identification of plant microRNAs using expressed sequence tag analysis. *Methods Mol Biol*, 2011, 678: 13–25.
- [5] 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.
- [6] Baker CC, Sieber P, Wellmer F, Meyerowitz EM. The *early extra petals1* mutant uncovers a role for microRNA *miR164c* in regulating petal number in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2005, 15(4): 303–315.
- [7] Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57(1): 19–53.
- [8] 卫波, 张荣志, 李爱丽, 毛龙. 利用高通量测序技术发现植物小分子 RNA 研究进展. *中国农业科学*, 2009, 42(11): 3755–3764.
- [9] Zhang BH, Pan XP, Cannon CH, Cobb GP, Anderson TA. Conservation and divergence of plant microRNA genes. *Plant J*, 2006, 46(2): 243–259.
- [10] Floyd SK, Bowman JL. Gene regulation: ancient microRNA target sequences in plants. *Nature*, 2004, 428(6982): 485–486.
- [11] Wang JF, Zhou H, Chen YQ, Luo QJ, Qu LH. Identification of 20 microRNAs from *Oryza sativa*. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(5): 1688–1695.
- [12] Jones-Rhoades MW, Bartel DP. Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Mol Cell*, 2004, 14(6): 787–799.
- [13] Zhang BH, Pan XP, Wang QL, Cobb GP, Anderson TA. Identification and characterization of new plant microRNAs using EST analysis. *Cell Res*, 2005, 15(5): 336–360.

- [14] Yin ZJ, Li CH, Han XL, Shen FF. Identification of conserved microRNAs and their target genes in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Gene*, 2008, 414(1-2): 60-66.
- [15] Zhang BH, Wang QL, Wang KB, Pan XP, Liu F, Gou TL, Cobb GP, Anderson TA. Identification of cotton microRNAs and their targets. *Gene*, 2007, 397(1-2): 26-37.
- [16] Zhang BH, Pan XP, Anderson TA. Identification of 188 conserved maize microRNAs and their targets. *FEBS Lett*, 2006, 580(15): 3753-3762.
- [17] Lang QL, Jin CZ, Lai LY, Feng JL, Chen SN, Chen JH. Tobacco microRNAs prediction and their expression infected with Cucumber mosaic virus and Potato virus X. *Mol Biol Rep*, 2010, 38(3): 1523-1531.
- [18] Frazier TP, Xie FL, Freistaedter A, Burklew CE, Zhang BH. Identification and characterization of microRNAs and their target genes in bobacco (*Nicotiana tabacum*). *Planta*, 2010, 232(6): 1289-1308.
- [19] Daunay MC, Lester RN. The usefulness of taxonomy for Solanaceae breeders, with special reference to the genus *Solanum* and to *Solanum melongena* L. (eggplant). *Cap-sicum Newslett*, 1988, (7): 70-79.
- [20] Griffiths-Jones S, Saini HK, Dongen SV, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(S1): D154-D158.
- [21] Song CN, Fang JG, Wang C, Guo L, Nicholas KK, Ma ZQ. MiR-RACE, a new efficient approach to determine the precise sequences of computationally identified trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) microRNAs. *PLoS ONE*, 2010, 5(6): e10861.
- [22] Dsouza M, Larsen N, Overbeek R. Searching for patterns in genomic data. *Trends Genet*, 1997, 13(12): 497-498.
- [23] Hofacker IL, Fontana W, Stadler PF, Bonhoeffer LS, Tacker M, Schuster P. Fast folding and comparison of RNA secondary structures. *Monatshefte für Chemie*, 1994, 125(2): 167-188.
- [24] Dai XB, Zhuang ZH, Zhao PX. Computational analysis of miRNA targets in plants: current status and challenges. *Brief Bioinform*, 2011, 12(2): 115-121.
- [25] Zhang YJ. MiRU: an automated plant miRNA target prediction server. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(S2): 701-704.
- [26] Zhang BH, Pan XP, Stellwag EJ. Identification of soybean microRNAs and their targets. *Planta*, 2008, 229(1): 161-182.
- [27] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, 431: 350-355.
- [28] Zhang BH, Pan XP, Cox B, Cobb GP, Anderson TA. Evidence that miRNAs are different from other RNAs. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63(2): 246-254.
- [29] Stark A, Bushati N, Jan CH, Kheradpour P, Hodges E, Brennecke J, Bartel DP, Cohen SM, Kellis M. A single Hox locus in *Drosophila* produces functional microRNAs from opposite DNA strands. *Genes Dev*, 2008, 22(1): 8-13.
- [30] Achard P, Herr A, Baulcombe DC, Harberd NP. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA. *Development*, 2004, 131(14): 3357-3365.
- [31] Mantovani R. The molecular biology of the CCAAT-binding factor NF-Y. *Gene*, 1999, 239(1): 15-27.
- [32] Maity SN, de Crombrughe B. Role of the CCAAT-binding protein CBF/NF-Y in transcription. *Trends Biochem Sci*, 1998, 23(5): 174-178.
- [33] Combier JP, Frugier F, de Billy F, Boualem A, El-Yahyaoui F, Moreau S, Vernié T, Ott T, Gamas P, Crespi M, Niebel A. *MtHAP2-1* is a key transcriptional regulator of symbiotic nodule development regulated by microRNA169 in *Medicago truncatula*. *Genes Dev*, 2006, 20(22): 3084-3088.
- [34] Dugas DV, Bartel B. Sucrose induction of *Arabidopsis* miR398 represses two Cu/Zn superoxide dismutases. *Plant Mol Biol*, 2008, 67(4): 403-417.
- [35] 丁艳菲, 王光钺, 傅亚萍, 朱诚. miR398 在植物逆境胁迫应答中的作用. *遗传*, 2010, 32(2): 129-134.
- [36] Lu C, Kulkarni K, Souret FF, MuthuValliappan R, Tej SS, Poethig RS, Henderson IR, Jacobsen SE, Wang WZ, Green PJ, Meyers BC. MicroRNAs and other small RNAs enriched in the *Arabidopsis* RNA-dependent RNA polymerase-2 mutant. *Genome Res*, 2006, 16(10): 1276-1288.