

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.01179

# MicroRNAs 对斑马鱼发育的调控

丁雷<sup>1</sup>, 闫学春<sup>2</sup>, 孙效文<sup>2</sup>, 滕春波<sup>1</sup>

1. 东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040;

2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 农业部水产生物技术重点开放实验室, 哈尔滨 150070

**摘要:** microRNAs(miRNAs)是一类长度约为 22nt 的非编码小 RNA, 从单细胞到多细胞真核生物中都广泛存在, 在进化过程中高度保守, 对动物发育、生理功能及病理过程都具有重要调控作用。斑马鱼(*Danio rerio*)是现代生物学研究中广泛使用的模式动物, 以斑马鱼为模型研究 miRNAs 可以揭示 miRNAs 在脊椎动物中的功能。文章就 miRNAs 整体缺失对斑马鱼胚胎发育的影响及一些 miRNAs 在斑马鱼早期发育过程中的调控机制进行了综述, 从而为探索 miRNAs 在脊椎动物中的功能及鱼类的生产育种提供理论基础。

**关键词:** microRNAs; 斑马鱼; 发育

## Regulation of zebrafish development by microRNAs

DING Lei<sup>1</sup>, YAN Xue-Chun<sup>2</sup>, SUN Xiao-Wen<sup>2</sup>, TENG Chun-Bo<sup>1</sup>

1. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070 China

**Abstract:** MicroRNAs (miRNAs) are a class of non-coding small RNAs at the length about 22nt, which are found in the cells of both unicellular and multicellular eukaryotes, and highly conserved in many processes of biological evolution. miRNAs play important roles in the regulation of animal development, physiological functions, and pathological processes. As a model organism, zebrafish has been widely used in the modern biological researches. The studies on miRNAs in zebrafish are capable of revealing the function of miRNAs in vertebrate. This paper reviews the effects of total miRNA deletion and the individual miRNAs on the embryonic development of zebrafish in order to provide the clues for the functional researches of miRNAs on vertebrate and breeding in fish.

**Keywords:** microRNAs; zebrafish; development

microRNAs(miRNAs) 是一类长度约为 22 nt 的非编码小RNA<sup>[1,2]</sup>, 其合成过程如下: 首先在细胞核中由RNA聚合酶 II 催化合成有发夹结构的原初转录产物(pri-miRNAs), 经RNA酶 III Drosha复合体剪切形成miRNA前体(pre-miRNAs)后转运到细胞质中

<sup>[3,4]</sup>, 在细胞质中被RNA酶 Dicer加工形成成熟的双链miRNAs<sup>[5]</sup>。成熟miRNAs与多种蛋白质形成RNA诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC), RISC通过miRNAs识别结合到靶基因mRNA的特定区域(通常为3'非翻译区(3'UTR), 也

收稿日期: 2011-01-26; 修回日期: 2011-04-27

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(编号: 2009AA10Z105)资助

作者简介: 丁雷, 硕士研究生, 专业方向: 发育生物学。Tel: 0451-82191784; E-mail: ddinglei@yahoo.com.cn

通讯作者: 滕春波, 博士, 教授, 研究方向: 发育生物学。E-mail: chunboteng@yahoo.com

网络出版时间: 2011-8-22 10:05:00

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110822.1005.002.html>

可结合在 mRNA 的编码区)降解 mRNA, 或抑制 mRNA 的翻译, 从而使靶基因表达下调<sup>[6-8]</sup>。

已有研究表明, 脊椎动物的基因组能够编码超过 1 000 种 miRNAs<sup>[10-12]</sup>, 通过生物信息学预测发现, 单一 miRNA 可以调控 100 种以上不同靶 mRNAs 表达<sup>[13,14]</sup>。因此, miRNAs 在脊椎动物发育、正常生理和疾病发生过程中有重要调控作用。对于小鼠、人、鸟类、两栖类和线虫等研究发现, 许多 miRNAs 具有相似的表达模式、基因结构和拷贝数量, 在序列和功能上也非常保守<sup>[15]</sup>。

斑马鱼 (*Danio rerio*) 作为水生脊椎动物的代表, 是现代遗传学、细胞生物学及发育生物学等研究的常用模式动物。生物信息学预测认为, 斑马鱼基因组可能编码超过 400 种 miRNAs<sup>[16]</sup>。通过构建不同发育阶段斑马鱼的小 RNA cDNA 文库发现, 斑马鱼 miRNAs 总数已经达到 217 个<sup>[16]</sup>, 其中一些 miRNAs 在斑马鱼中的功能已经被解析。下面就 miRNAs 对斑马鱼的发育调控进行综述。

## 1 miRNAs 整体缺失对斑马鱼胚胎发育的影响

将 miRNAs 成熟加工酶 *Dicer* 基因突变可以揭示 miRNAs 在斑马鱼胚胎发育过程中的功能<sup>[17]</sup>。然而, 在斑马鱼早期卵裂到中囊胚期之前, 胚胎发育受到母源性基因, 而不是合子基因的调控<sup>[18]</sup>。为了排除母源性 *Dicer* 蛋白的影响, Ciruna 等<sup>[19]</sup>和 Giraldez 等<sup>[20]</sup>采用了 *Dicer* 突变结合生殖细胞替换方案, 即用 *Dicer* 突变斑马鱼胚胎的生殖系细胞替换正常斑马鱼胚胎的生殖系细胞, 替换后的斑马鱼胚胎仍能发育成正常个体, 但会产生 *Dicer* 突变的生殖细胞。突变配子受精后产生的胚胎在发育过程中不能产生成熟的 miRNAs, 可以用来研究 miRNAs 缺失对斑马鱼胚胎发育的影响<sup>[20]</sup>。

研究结果表明, 缺失 miRNAs 的斑马鱼胚胎早期发育过程明显缓慢, 最初的 24 h 发育进程就被延迟了 3~4 h。在原肠胚发育过程中, 突变胚胎不能进行正常的外包和内卷, 正常胚胎的索前板迁移发生在 80% 外包时期, 而突变胚胎由于外包的推迟, 索前板迁移发生在 50%~60% 外包时期。此后, 由于体轴延伸减少导致胚胎缩短和脑部区域细胞的积累。而在发育晚期, *Dicer* 突变胚胎后部卵黄延伸的范围也减少<sup>[20]</sup>。

*Dicer* 突变严重影响了神经胚形成。由神经板发育成神经管的过程不能正常完成, 使神经管变成一个实心的棒状结构。*Dicer* 突变胚胎脑内缺乏脑间隔而导致脑室数减少, 神经管腔的缺失和神经底板的减少表明脊髓发育也被干扰。另外, 视网膜的发育也受到影响。尽管神经系统发育畸形, 基因表达分析却发现, 神经管的前-后轴和背-腹轴图示均没有被完全破坏, 说明胚胎神经系统的图式形成和命运决定过程受到 miRNAs 的影响较少, 而脑的正常发育和神经细胞分化却需要 *Dicer* 酶的作用<sup>[20]</sup>。

在体节发生过程中, 虽然 *Dicer* 突变胚胎的轴旁中胚层能够分节, 但与正常胚胎在发育晚期体节成 V 形不同, 突变胚胎体节形状不规则<sup>[20]</sup>。此外, *Dicer* 突变还能导致斑马鱼内皮前体细胞减少、血液循环中断。突变胚胎心肌细胞可以收缩, 但不能形成心脏的两室结构, 从而发育成一个管状心脏和一个心包囊<sup>[20]</sup>。而在嗅觉器官终末分化时, *Dicer* 突变组的嗅觉上皮退化<sup>[21]</sup>。

上述结果说明, *Dicer* 突变导致斑马鱼早期发育过程中不能产生成熟 miRNAs 时, 斑马鱼虽然保持正常的躯体图式, 但是相应组织器官却发生了异常的形态学变化, 尤其对神经组织发育和器官形成产生严重的影响。

## 2 miRNAs 对斑马鱼原肠胚及脑部发育的调控

*Dicer* 突变导致斑马鱼原肠胚和脑发育缺陷<sup>[20]</sup>, 表明某些 miRNAs 在斑马鱼胚胎的早期发育中有着重要的作用。Giraldez 等<sup>[20]</sup>通过 GFP 作为报告基因分析发现, miR-430 家族在胚胎 50% 外包时起始表达, 在原肠胚和体节形成过程中继续表达, 发育 48 h 后表达下调。将人工合成的 miR-430 双链核苷酸注射到 *Dicer* 突变胚胎中可以减轻原肠胚和脑部发育的异常<sup>[20]</sup>。Lim 等<sup>[14]</sup>对 miR-430 的靶基因进行预测发现, miR-430 能够调控多个靶基因的表达, 从而在早期胚胎形成过程中促进母源 mRNA 脱腺苷化和母源 mRNA 的清除。

miR-125b 也是一种斑马鱼脑中丰富表达的 miRNA, 能够直接作用于 P53 mRNA 的 3' UTR 从而抑制 p53 蛋白的表达。利用  $\gamma$  射线和喜树碱处理的斑马鱼胚胎中 miR-125b 水平下降, P53 蛋白的水平迅速增加, 从而导致斑马鱼脑细胞的凋亡<sup>[22]</sup>。说明

miR-125b在斑马鱼脑部发育过程中具有重要功能。

### 3 miRNAs 在斑马鱼肌肉发育中的作用

已经发现多个在斑马鱼肌肉发育过程中起作用的miRNAs。miR-214 是一种主要在胚胎体节形成过程中细胞分裂阶段表达的miRNA, 抑制miR-214 可引起胚胎中慢肌细胞类型的缺失。实验证明, miR-214 的靶基因之一*Su(fu)*是Hedgehog信号的负调控因子, 如果抑制*Su(fu)*的表达, 肌肉细胞对Hedgehog的应答加强从而确定肌肉细胞发育命运<sup>[23]</sup>。而在肌动蛋白形成的过程中, *Dicer*突变可导致miR-1 和miR-133 表达水平降低, 从而使其靶基因——肌动蛋白与肌动蛋白结合蛋白调控基因表达水平增高, 影响肌动蛋白的形成<sup>[24]</sup>。

miR-145 能调控斑马鱼肠平滑肌发育。抑制miR-145 表达导致肠平滑肌和上皮细胞发育不完全, 碱性磷酸酶表达完全缺失, 并且影响肠平滑肌的功能。因此miR-145 对于肠早期发育和成熟非常关键<sup>[25]</sup>。而miR-143 则是斑马鱼心室形成所必须的miRNA, 它可以直接抑制F-actin 加帽蛋白基因*Adducin3* 的表达。敲除miR-143 或抑制miR-143 可以抑制心室肌肉F-actin的重构, 从而导致心室的塌陷和收缩力的降低。因此miR-143 调控*Adducin3* 基因的表达对于心室形成和功能是必须的<sup>[26]</sup>。

### 4 miRNAs 在斑马鱼血管生成及血细胞成熟中的作用

miR-126 在受精后 12 h的斑马鱼胚胎内皮细胞中特异表达, 它能够调控内皮细胞对血管内皮生长因子的应答。有研究表明, 血液流动可以调控脊椎动物血管再生<sup>[27]</sup>, 刺激血液干细胞的生成<sup>[28]</sup>。Nicoli 等<sup>[29]</sup>通过对斑马鱼主动脉血管研究发现, 血流刺激可以通过机械敏感的锌指转录因子*klf2a*<sup>5-7</sup>诱导内皮特异性miR-126 的表达, 从而激活血管内皮生长因子信号, 使主动脉血管芽发育。在斑马鱼胚胎发育过程中, 抑制miR-126 的表达将导致血管发育不完整和出血<sup>[30,31]</sup>。通过生物信息学发现, *pak1* 是miR-126a和miR-126b的靶基因, 并且当miR-126a/b被抑制时, *pak1* 在内皮细胞的表达水平提高。过表达*pak1* 能够引起颅骨出血, 而当敲除*pak1* 时能够有效的缓

解因miR-126a/b 的抑制引起的出血<sup>[31]</sup>。同时, miR-126 还是原癌基因 *c-myb*的调控因子, 如果miR-126 被敲除将导致*c-myb*水平增加并且以血小板生成成为代价促进红细胞的生成。血小板和红细胞的发育需要miR-126 和miR-150 协同调控, 这两种miRNAs共同决定了血细胞生成过程中红细胞与巨噬细胞的发育命运<sup>[32]</sup>。

miR-451 对于斑马鱼红细胞的成熟有调控作用。抑制miR-451 的表达虽然能够正常形成红细胞, 但其成熟过程被推迟, 而注射miR-451 双链可以恢复红细胞成熟过程。已经证实, miR-451 的靶基因是干细胞转录因子*Gata2*。在miR-451 表达缺失的胚胎中, 抑制*Gata2* 的表达能够使红细胞正常成熟。因此, miR-451 可能通过抑制*Gata2* 的表达调控红细胞成熟的过程<sup>[33]</sup>。

### 5 miRNAs 在斑马鱼胚胎其他发育过程中的作用

在脊椎动物发育过程中, *Hox*基因参与了躯体前后轴图示形成。除了*Hox*蛋白编码基因, miR-10、miR-196 和miR-165 也位于*Hox*基因簇上<sup>[34-37]</sup>。Woltering等<sup>[38]</sup>发现, 过表达miR-10 能够导致*HoxB1a*和*HoxB3a*的功能缺失, 而敲除miR-10 则引起*HoxB1a*和*HoxB3a*表达上调。他们还证明, miR-10 可以通过与*HoxB4* 协同作用在斑马鱼胚胎脊髓中抑制*HoxB1a*和*HoxB3a*的表达<sup>[38]</sup>。而miR-196 和miR-165 在斑马鱼中的作用还不清楚。

miR-183 家族成员包括miR-96、miR-182 和miR-183, 它们在眼、鼻和内耳中的感觉细胞中表达丰富<sup>[39]</sup>。其家族成员miR-96 和miR-182 过表达可导致多个听囊, 听觉斑的扩大和异位及听毛细胞增多, 而且对平衡神经产生有害影响。敲除miR-183、miR-96 和miR-182 能够导致内耳中听毛细胞减少, 平衡神经缩小, 半规管及神经丘发育缺陷, 说明miR-183 家族对于内耳细胞的决定有着重要作用<sup>[40]</sup>。

miR-8 家族成员包括miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和miR-429, 它们对于斑马鱼胚胎的渗透压调节、压力应答有重要调节作用。离子运输细胞(Ionocyte)是一种广泛分布于表皮的特化细胞<sup>[41, 42]</sup>, 在腮形成前的早期发育阶段调节pH值和体

内的离子平衡。miR-8 家族成员在离子运输细胞中表达,能够通过调控*Nherf1*(一种跨膜离子转运蛋白的调控因子)而调节离子的运输。抑制miR-8 将导致细胞不能应答渗透压的变化,阻止离子运输细胞上跨膜蛋白的运输能力<sup>[43]</sup>。

此外, miR-133 和miR-203 被发现可能参与调控斑马鱼鳍的再生过程<sup>[44,45]</sup>。在FGF信号通路促进鳍的再生过程中发现miR-133 表达水平降低。注射成熟miR-133 可以减慢鳍的再生速度,而注射miR-133 的抑制物可以增加鳍的再生速度。实验证明,再生的正向调控因子*mps1* 激酶是miR-133 的靶基因<sup>[45]</sup>,而miR-203 的靶基因为Wnt信号通路转录因子*Lef1*<sup>[44]</sup>。因此,miR-133 和miR-203 通过作用于FGF和Wnt信号通路来调控斑马鱼鳍的再生过程。

## 6 结语与展望

目前,miRNAs 作为动物发育过程中的一类重要调控因子而被广泛关注,它们在斑马鱼发育及正常生理过程中的调控功能也逐渐被揭示。斑马鱼由于具有易饲养、胚胎透明、体外受精、突变体丰富、遗传学研究技术成熟等优点,使用其做为模式动物进行miRNAs 功能研究比小鼠更加简便。

此外,斑马鱼的许多miRNAs不仅在序列上与其它脊椎动物具有高度保守性,而且在功能上也非常保守。如miR-1、miR-133 和miR-214 等不仅在斑马鱼肌肉发育过程中起作用,而且在小鼠骨骼肌与心肌细胞的分化和增殖过程中也具有重要的作用<sup>[46-49]</sup>。因而,对斑马鱼miRNAs功能的揭示有助于我们更好地了解miRNAs在脊椎动物发育、不同生理过程和疾病发生中的作用。同时,斑马鱼作为鱼类的代表,对其miRNAs的功能研究可以应用于鱼类品种的改良及生产中。

## 参考文献(References):

- [1] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-906. DOI
- [2] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858. DOI
- [3] Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 2001, 409(6818): 363-366. DOI
- [4] Lee Y, Ahn C, Han JJ, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III *Drosha* initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-419. DOI
- [5] Ketting RF, Fischer SEJ, Bernstein E, Sijen T, Hannon GJ, Plasterk RHA. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. *Genes Dev*, 2001, 15(20): 2654-2659. DOI
- [6] Tuschl T, Zamore PD, Lehmann R, Bartel DP, Sharp PA. Targeted mRNA degradation by double-stranded RNA *in vitro*. *Genes Dev*, 1999, 13(24): 3191-3197. DOI
- [7] Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA, Bartel DP. RNAi: doublestranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. *Cell*, 2000, 101(1): 25-33. DOI
- [8] Okamura K, Ishizuka A, Siomi H, Siomi MC. Distinct roles for Argonaute proteins in small RNA-directed RNA cleavage pathways. *Genes Dev*, 2004, 18(14): 1655-1666. DOI
- [9] Pillai RS, Bhattacharyya SN, Filipowicz W. Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms? *Trends Cell Biol*, 2007, 17(3): 118-126. DOI
- [10] Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RHA, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell*, 2005, 120(1): 21-24. DOI
- [11] Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, Sewer A, Iovino N, Aravin A, Pfeffer S, Rice A, Kamphorst AO, Landthaler M, Lin C, Socci ND, Hermida L, Fulci V, Chiaretti S, Foà R, Schliwka J, Fuchs U, Novosel A, Müller RU, Schermer B, Bissels U, Inman J, Phan Q, Chien M, Weir DB, Choksi R, De Vita G, Frezzetti D, Trompeter HI, Hornung V, Teng G, Hartmann G, Palkovits M, Di Lauro R, Wernet P, Macino G, Rogler CE, Nagle JW, Ju JY, Papavasiliou FN, Benzing T, Lichter P, Tam W, Brownstein MJ, Bosio A, Borkhardt A, Russo JJ, Sander C, Zavolan M, Tuschl T. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell*, 2007, 129(7): 1401-1414. DOI
- [12] Williams AE. Functional aspects of animal microRNAs. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(4): 545-562. DOI
- [13] Giraldez AJ, Mishima Y, Rihel J, Grocock RJ, van Dongen S, Inoue K, Enright AJ, Schier AF. Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs. *Science*, 2006, 312(5770): 75-79. DOI



- [14] Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele 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](#)
- [15] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 2001, 294(5543): 853–858. [DOI](#)
- [16] Kloosterman WP, Plasterk RHA. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell*, 2006, 11(4): 441–450. [DOI](#)
- [17] Thatcher EJ, Bond J, Paydar I, Patton JG. Genomic organization of zebrafish microRNAs. *BMC Genomics*, 2008, 9: 253. [DOI](#)
- [18] Wienholds E, Koudijs MJ, van Eeden FJM, Cuppen E, Plasterk RHA. The microRNA-producing enzyme Dicer1 is essential for zebrafish development. *Nat Genet*, 2003, 35(3): 217–218. [DOI](#)
- [19] Ciruna B, Weidinger G, Knaut H, Thisse B, Thisse C, Raz E, Schier AF. Production of maternal-zygotic mutant zebrafish by germ-line replacement. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(23): 14919–14924. [DOI](#)
- [20] Giraldez AJ, Cinalli RM, Glasner ME, Enright AJ, Thomson JM, Baskerville S, Hammond SM, Bartel DP, Schier AF. MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. *Science*, 2005, 308(5732): 833–838. [DOI](#)
- [21] Choi PS, Zakhary L, Choi WY, Caron S, Alvarez-Saavedra E, Miska EA, McManus M, Harfe B, Giraldez AJ, Horvitz HR, Schier AF, Dulac C. Members of the miRNA-200 family regulate olfactory neurogenesis. *Neuron*, 2008, 57(1): 41–55. [DOI](#)
- [22] Le MTN, Teh C, Shyh-Chang N, Xie HM, Zhou BY, Korzh V, Lodish HF, Lim B. MicroRNA-125b is a novel negative regulator of p53. *Genes Dev*, 2009, 23(7): 862–876. [DOI](#)
- [23] Flynt AS, Li N, Thatcher EJ, Solnica-Krezel L, Patton JG. Zebrafish miR-214 modulates hedgehog signaling to specify muscle cell fate. *Nat Genet*, 2007, 39(2): 259–263. [DOI](#)
- [24] Mishima Y, Abreu-Goodger C, Staton AA, Stahlhut C, Shou C, Cheng C, Gerstein M, Enright AJ, Giraldez AJ. Zebrafish miR-1 and miR-133 shape muscle gene expression and regulate sarcomeric actin organization. *Genes Dev*, 2009, 23(5): 619–632. [DOI](#)
- [25] Zeng L, Carter AD, Childs SJ. miR-145 directs intestinal maturation in zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(42): 17793–17798. [DOI](#)
- [26] Deacon DC, Nevis KR, Cashman TJ, Zhou Y, Zhao L, Washko D, Guner-Ataman B, Burns CG, Burns CE. The miR-143-adducin3 pathway is essential for cardiac chamber morphogenesis. *Development*, 2010, 137(11): 1887–1889. [DOI](#)
- [27] Yashiro K, Shiratori H, Hamada H. Haemodynamics determined by a genetic programme govern asymmetric development of the aortic arch. *Nature*, 2007, 450(7167): 285–288. [DOI](#)
- [28] Adamo L, Naveiras O, Wenzel PL, McKinney-Freeman S, Mack PJ, Gracia-Sancho J, Suchy-Dacey A, Yoshimoto M, Lensch MW, Yoder MC, García-Cardena G, Daley GQ. Biomechanical forces promote embryonic haematopoiesis. *Nature*, 2009, 459(7250): 1131–1135. [DOI](#)
- [29] Nicoli S, Standley C, Walker P, Hurlstone A, Fogarty KE, Lawson ND. MicroRNA-mediated integration of haemodynamics and Vegf signalling during angiogenesis. *Nature*, 2010, 464(7292): 1196–1200. [DOI](#)
- [30] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, Yu S, Yeh RF, Wythe JD, Ivey KN, Bruneau BG, Stainier DY, Srivastava D. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell*, 2008, 15(2): 272–284. [DOI](#)
- [31] Zou J, Li WQ, Li Q, Li XQ, Zhang JT, Liu GQ, Chen J, Qiu XX, Tian FJ, Wang ZZ, Zhu N, Qin YW, Shen B, Liu TX, Jing Q. Two functional microRNA-126s repress a novel target gene p21-activated kinase 1 to regulate vascular integrity in zebrafish. *Circresaha*, 2010, 108(2): 201–209. [DOI](#)
- [32] Grabher C, Payne EM, Johnston AB, Bolli N, Lechman E, Dick JE, Kanki JP, Look AT. Zebrafish microRNA-126 determines hematopoietic cell fate through c-Myb. *Leukemia*, 2010, 25(3): 506–514. [DOI](#)
- [33] Pase L, Layton JE, Kloosterman WP, Carradice D, Waterhouse PM, Lieschke GJ. miR-451 regulates zebrafish erythroid maturation *in vivo* via its target *gata2*. *Blood*, 2009, 113(8): 1794–1804. [DOI](#)
- [34] Lim LP, Glasner ME, Yekta S, Burge CB, Bartel DP. Vertebrate microRNA genes. *Science*, 2003, 299(5612): 1540. [DOI](#)
- [35] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Meyer J, Borkhardt A, Tuschl T. New microRNAs from mouse and human. *RNA*, 2003, 9(2): 175–179. [DOI](#)
- [36] Cummins JM, He YP, Leary RJ, Pagliarini R, Diaz LA Jr, Sjoblom T, Barad O, Bentwich Z, Szafranska AE, Labourier E, Raymond CK, Roberts BS, Juhl H, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. The colorectal microRNAome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(10): 3687–3692. [DOI](#)
- [37] Mineno J, Okamoto S, Ando T, Sato M, Chono H, Izu H,

- Takayama M, Asada K, Mirochnitchenko O, Inouye M, Kato I. The expression profile of microRNAs in mouse embryos. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(6): 1765–1771. [DOI](#)
- [38] Woltering JM, Durston AJ. MiR-10 represses HoxB1a and HoxB3a in zebrafish. *PLoS One*, 2008, 3(1): e1396. [DOI](#)
- [39] Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, Alvarez-Saavedra E, Berezikov E, de Bruijn E, Horvitz HR, Kauppinen S, Plasterk RHA. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*, 2005, 309(5732): 310–311. [DOI](#)
- [40] Li HQ, Kloosterman W, Fekete DM. MicroRNA-183 family members regulate sensorineural fates in the inner ear. *J Neurosci*, 2010, 30(9): 3254–3263. [DOI](#)
- [41] Jonz MG, Nurse CA. Epithelial mitochondria-rich cells and associated innervation in adult and developing zebrafish. *J Comp Neurol*, 2006, 497(5): 817–832. [DOI](#)
- [42] Lin LY, Horng JL, Kunkel JG, Hwang PP. Proton pump-rich cell secretes acid in skin of zebrafish larvae. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(2): C371–C378. [DOI](#)
- [43] Flynt AS, Thatcher EJ, Burkewitz K, Li N, Liu Y, Patton JG. miR-8 microRNAs regulate the response to osmotic stress in zebrafish embryos. *J Cell Biol*, 2008, 185(1): 115–127. [DOI](#)
- [44] Thatcher EJ, Paydar I, Anderson KK, Patton JG. Regulation of zebrafish fin regeneration by microRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(47): 18384–18389. [DOI](#)
- [45] Yin VP, Thomson JM, Thummel R, Hyde DR, Hammond SM, Poss KD. Fgf-dependent depletion of microRNA-133 promotes appendage regeneration in zebrafish. *Genes Dev*, 2008, 22(6): 728–733. [DOI](#)
- [46] Chen JF, Tao YZ, Li J, Deng ZL, Yan Z, Xiao X, Wang DZ. microRNA-1 and microRNA-206 regulate skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by repressing Pax7. *J Cell Biol*, 2010, 190(5): 867–879. [DOI](#)
- [47] Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu QL, Callis TE, Hammond SM, Conlon FL, Wang DZ. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*, 2006, 38(2): 228–233. [DOI](#)
- [48] Liu J, Luo XJ, Xiong AW, Zhang ZD, Yue S, Zhu MS, Cheng SY. MicroRNA-214 promotes myogenic differentiation by facilitating exit from mitosis via down-regulation of proto-oncogene N-ras. *J Biol Chem*, 2010, 285(34): 26599–26607. [DOI](#)
- [49] Jiang YL, Yin H, Zheng XL. MicroRNA-1 inhibits myocardin-induced contractility of human vascular smooth muscle cells. *J Cell Physiol*, 2010, 225(2): 506–511. [DOI](#)

## •综合信息•

### 2011 年第 11 期《遗传》封面说明

从孤雌胚胎建立的孤雌胚胎干细胞具有与从正常受精胚胎获得的胚胎干细胞相同的性质，同时不受伦理及法律的制约，可应用于组织修复、疾病治疗等医学领域。运动神经元病是指病变选择性侵犯脊髓前角细胞、脑干颅神经运动核以及大脑运动皮质锥体细胞，及锥体束受损的一组进行性变性疾病，目前尚无有效治疗方法，利用干细胞分化为运动神经元进行替代治疗是一种可行的治疗方法。本研究利用体外培养条件的改变将孤雌胚胎干细胞诱导为拟胚体。模拟体内神经元分化的过程，在拟胚体培养液中添加外源性的全反式维甲酸和音猬因子，并将拟胚体接种到多聚赖氨酸基质上培养，之后发现能够贴附生长的拟胚体向外伸出大量上皮样细胞，而未贴壁的拟胚体不能进行分化。接种后一周可观察到拟胚体周围有许多细长的突起。免疫荧光染色显示拟胚体表达神经元标记 Tuj1 以及运动神经元标记 HB9 和 Olig2。这一研究为运动神经元病的干细胞治疗提供了良好的实验基础。本期《遗传》封面的图片为小鼠孤雌胚胎干细胞形成的拟胚体向运动神经元诱导分化的免疫荧光图。图中绿色为神经元标记 Tuj1 阳性的细胞，蓝色为细胞核。详见本期第 1131~1138 页王振东，薛媛，单智焱，郑重，李雪，吴嫣爽，孙瑞珍，石健，李明杰，刘忠华，雷蕾的文章“小鼠孤雌胚胎干细胞的建立及其向运动神经元分化的初探”一文。

(王振东，刘忠华，雷蕾)