

# 山羊 microRNA 研究进展

叶小芳<sup>①</sup> 吕雪峰<sup>②</sup>

① 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 中亚区域跨境有害生物联合控制国际研究中心, 新疆师范大学生命科学院  
乌鲁木齐 830054; ② 新疆畜牧科学院 乌鲁木齐 830000

**摘要:** 小 RNA (microRNA, miRNA) 是真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA, 长度约 20 ~ 25 个核苷酸。研究表明, miRNA 参与真核生物的许多生命过程, 包括个体发育、新陈代谢、细胞生长和凋亡等方面。目前, 关于山羊 (*Capra aegagrus hircus*) 的 miRNA 数据相对较少。文章综述了山羊 miRNA 对皮肤与毛囊发育、肌肉生长发育、泌乳及生殖的调控作用, 为利用 miRNA 调控和改善绒山羊毛绒品质、生长性能及繁殖性能等提供理论基础和研究思路。

**关键词:** 小 RNA; 山羊; 基因调控

**中图分类号:** S827, Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 01-137-11

## Advances in Research of Goat MicroRNA

YE Xiao-Fang<sup>①</sup> LÜ Xue-Feng<sup>②</sup>

① *Key Laboratory of Conservation Biology and Management for Xinjiang Special Species, National Center for International Joint Research on Cross-border Pest Management in Central Asia, College of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054;* ② *Xinjiang Academy of Animal Sciences, Urumqi 830000, China*

**Abstract:** MicroRNA (miRNA), a class of non-coding RNA (about 20 - 25 nt), has been found in eukaryotes and has regulatory functions. Many research results have confirmed that miRNAs play an important role in many life processes in eukaryotes, involving the individual development, metabolism, cell growth and apoptosis, etc. At present, there are relatively few miRNA data in goat (*Capra aegagrus hircus*). This article summarizes the regulation of miRNAs in skin and hair follicle development, muscle growth and development, lactation and reproduction of goat. This review will provide theoretical basis and research insight for possible use of miRNAs to regulate and improve the wool and cashmere quality, the growth, and reproductive performance in goat.

**Key words:** MicroRNA; Goat; Gene regulation

**基金项目** 新疆维吾尔自治区高校科研计划青年教师科研启动基金项目(No. XJEDU2011S31), 新疆师范大学博士科研启动基金项目(No. XJNBS1101), 新疆维吾尔自治区地方公派出国留学成组配套项目 (No. XJDF201327), 新疆维吾尔自治区教育厅普通本科高等学校重点实验室项目;

**第一作者介绍** 叶小芳, 女, 副教授; 研究方向: 动物学; E-mail: yxf001982@sina.com。

收稿日期: 2015-04-24, 修回日期: 2015-07-06 DOI: 10.13859/j.cjz.201601016

小RNA (microRNA, miRNA), 是1993年 Lee等在研究秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 发育基因时发现的一大类非编码小RNA分子, 长度为20~25 nt (nucleotide, nt), 其参与真核细胞生物的繁殖、发育、发病、细胞增殖、凋亡和脂肪代谢等, 通过与mRNA配对, 导致靶基因转录后抑制 (Bartel 2009)。成熟miRNA由内源性Dicer酶通过切割发夹和双链不成熟miRNA前体的转录体产生, 形成RNA诱导的沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC), miRNA通过与mRNA碱基互补配对锚定到特异靶基因mRNA的3'非翻译区 (3' untranslated regions, 3'UTR), 从而抑制转录或降解靶基因, 进而导致基因沉默。许多物种的miRNA具有保守特性, 因此, 常通过比较基因组来预测新的miRNA。

随着生物技术的飞速发展, miRNA数据库中的数据快速增多, 目前, miRbase 21数据库中已包括人类 (*Homo sapiens*)、黑猩猩 (*Pan troglodytes*)、小鼠 (*Mus musculus*)、家猪 (*Sus scrofa domesticus*)、马 (*Equus caballus*) 等223个物种共35 828条成熟的miRNA, 其中山羊 (*Capra aegagrus hircus*)的miRNA数据有264条。本文对山羊毛囊发育、肌肉生长、泌乳和生殖相关的miRNA进行了综述, 以期对山羊miRNA的深入研究提供参考。

## 1 山羊miRNA的鉴定和功能研究

由于山羊基因组序列信息还不完整, 因此通常利用miRNA物种之间的保守性, 参考牛 (*Bos taurus*) 和绵羊 (*Ovis aries*) 的miRNA数据库信息, 筛选山羊的miRNA (陈海漩等 2008); 或者以已知动物的miRNA为搜索序列与山羊的UniGene进行BLAST比对, 预测山羊新的miRNA, 并通过RT-PCR和克隆测序进行验证 (苏蕊等 2013)。但更多的方法还是采用高通量测序结合生物信息学方法来建立miRNA表达谱, 比较miRNA表达丰度, 预测新的miRNA (柏亚铎等 2014)。近年来, 通过高

通量测序、基因芯片结合RT-PCR技术, 已经发现了与山羊毛囊、肌肉发育、泌乳和生殖相关的一些miRNA, 并确定了靶基因以及这些miRNA在生命活动中的功能 (表1)。

## 2 miRNA与皮肤毛囊发育

绒山羊具有双层毛被, 且毛囊的生长周期在一年内经历兴盛期、退行期、休止期三个阶段, 不同阶段之间的过渡由许多生长激活因子及抑制因子调控, miRNA就是通过调控不同目标信号通路来控制毛囊周期各阶段之间的过渡。目前已经挖掘的与毛囊发育相关miRNA见表2。据报道, 在山羊皮肤中高度表达的mmu-miR-720、mmu-miR-199b (Zhang et al. 2007) 和miR-379 (Liu et al. 2012a) 可能在毛囊基因转录调节中起重要作用; miR-203 调控表皮角质细胞的分化, 诱导p63表达受到抑制 (McKenna et al. 2010), 现已确定该基因为影响绒毛生长的候选miRNA (付绍印 2014); miR-200b 和 miR-196a 作为Wnt信号通路潜在的靶目标, 参与毛囊发育的调控 (Andi et al. 2006)。chi-miR-2284n、chi-miR-421\*、chi-miR-421、chi-miR-1839 和 chi-miR-374, 涉及Notch/Wnt信号转导途径, 参与绒山羊的毛被生长、停止和肌肉发育 (Su et al. 2015)。

毛囊生长周期各阶段都受miRNA的调控。miR-125b靶向FGF5在毛乳头细胞中过表达时, 能够抑制FGF5基因的表达, 并对毛囊周期性变化相关基因具有一定的调控作用 (袁超 2014)。在整个毛囊发育周期中let-7a-5P、let-7flet-7b、let-7c、let-7g、miR-199a-3p、miR-143、miR-1和miR-320a表达量最高 (Yuan et al. 2013), 它们参与细胞分化 (Shatseva et al. 2011)、增殖 (Sun et al. 2012) 及神经 (Wulczyn et al. 2007) 和肌肉 (Cordes et al. 2009) 发育, 表明这些miRNA可能参与调控皮肤毛囊发育的生物学过程。而miR-1、miR-133a、miR-133b、miR-144、miR-206、miR-299、miR-331和miR-4286在绒山羊毛囊周期的三个阶段中表达差异极显著,

表1 已经鉴定的山羊miRNA与靶基因及其功能

Table 1 Identified miRNAs and target genes and their functions in goat

miRNA	靶基因 Target genes	功能 Function	参考文献 Reference
miR-125b	FGF5	调控毛囊周期性变化相关基因 Regulating the genes related to cyclical changes of hair follicle	Yuan et al. 2013, 袁超 2014
miR-203	DOST	参与 Wnt 信号通路进而调控绒毛生长 Involving in Wnt signaling pathways and hair growth regulation	付绍印等 2014
miR-183	GLG1	参与细胞粘连进而调控绒毛生长 Involving in cell adhesion and hair growth regulation	付绍印等 2014
miR-199a	KRTAP5.5、RPL30、 MYH9、MYL6	参与皮肤和毛囊的发育 Involving in development of skin and hair follicle	付绍印等 2014
miR-103	FASN、BTN1A1、 ACOX1	参与乳脂形成 Involving in production of milk fat	林先滋等 2012
miRNA-451	CAST	与乳腺发育和泌乳有关 Related to mammary gland development and lactation	郭文娇 2013
miR-2478	TGFβ1	与乳腺发育和泌乳有关 Related to mammary gland development and lactation	郭文娇 2013
miR-27a	PPARγ	调节山羊乳腺上皮细胞甘油三酯的合成 Regulating triglyceride synthesis of mammary epithelial cells in goat	Lin et al. 2013a
miR-143	IGFBP5	延缓乳腺上皮细胞周期进程, 抑制其增殖 Delaying mammary epithelial cell cycle and inhibiting their proliferation	纪志宾 2013
miR-200a	MGF、BTN1A1、GPR43、 LPL、SCD	参与脂肪液滴形成 Involving in lipid droplets formation	Lin et al. 2013c
miR-135a	PRLR	靶向负调控 PRLR 参与乳腺发育 Negatively regulating PRLR and involving in mammary gland development	董飞 2014
miR-27b	Pax3	调控肌肉细胞命运 Regulating fate of muscle cells	凌英会等 2013a, b
miR-100	整合蛋白 β1 亚基、 Integrinβ1 subunit、 POU1F1、TLR3	调节垂体激素分泌细胞的增殖与分化 Regulating proliferation and differentiation of pituitary hormone secreting cells	娜日苏等 2013

表明它们可能参与毛囊周期过渡的调控。miR-31在毛绒生长兴盛期显著增加,而在退行期和休止期降低(Mardaryev et al. 2010)。绒山羊毛囊周期中表达变化显著的miRNA激活大量信号通路,控制编码毛发特异性分子的基因表达,可能参与毛发的形成。褪黑激素可下调绒山羊皮肤毛囊的miRNA表达量,进而诱发二次生绒提前(付绍印等 2014)。

毛色影响山羊绒和山羊皮的经济价值,而

哺乳动物毛色由多因素调控,如黑素颗粒的组分、数量和排列(Kim et al. 2013)。此外, *TYR*、*MITF*、*ASIP*和*MC1R*基因也会影响毛囊色素。MIR-211与miR-10b是山羊毛色形成的重要调节因子(Wu et al. 2014a),MIR-10b是黑色毛囊中表达最为丰富的miRNA之一,它通过抑制*HoxD10*基因的翻译,导致RHOC表达增加以及AKT的磷酸化(Liu et al. 2012a, Yu et al. 2013)。研究表明, *Hox*基因家族都与毛囊的发育、毛

色的形成有关，尤其是 *HoxC13*（吴江鸿等 2010）。miR-10b 还调节 Notch 途径中的 *DVL3* 基因，Notch 信号传导途径对于黑素细胞、黑素细胞干细胞及角质形成细胞非常关键（Osawa et al. 2008）。研究证实缺乏 Notch 信号可导致黑素细胞的数量减少，引起毛被颜色变化（Schouwey et al. 2010）。miR-211 在棕色羊驼（*Lama pacos*）皮肤中高度表达（Tian et al. 2012），研究发现 miR-211 可诱导 MITF 的表达（Margue et al. 2013），而 MITF 能促进许多基因在色素细胞中表达，通过增加酶的表达从而调节黑素细胞发育，参与黑色素的合成（Vachtenheim et al. 2010）。

### 3 miRNA 与泌乳

奶山羊泌乳周期通常分为四个阶段：泌乳

早期，泌乳高峰期，泌乳后期和干奶期。乳腺上皮细胞的数量和分泌活性从泌乳早期到泌乳高峰期显著增加，随后，乳腺上皮细胞开始凋亡，进入干奶期。已经发现有大量 miRNA 参与乳腺发育和乳汁成分合成（表 3）。

通过构建不同泌乳期乳腺组织的 miRNA 文库（Ji et al. 2012, 2013）和高通量测序分析，发现了大量新的 miRNA，其中 miR-2887、miR-451 和 miR-2478 在泌乳高峰期表达上调（Li et al. 2012），bta-miR-15b、bta-miR-107、bta-miR-30B-5P、bta-miR-214、bta-miR-193A-5P、bta-miR-339b、bta-miR-375、bta-miR-487B 和 bta-miR-100 在泌乳高峰期和泌乳后期表达差异显著（Ji et al. 2012）。miR-135a 在泌乳后期的高表达抑制了催乳素受体（prolactin receptor, PRLR）基因的表达，从而负向调控

表 2 与山羊毛囊发育相关 miRNA 的鉴定结果

Table 2 Identified miRNAs related hair follicle development in goat

动物 Breed	样本设置 Sample	保守 miRNA 数量 No. of conserved miRNAs	新的 miRNA 数量 No. of novel miRNAs	差异 miRNA 数量 No. of different miRNAs	RT-PCR 验证确定 的 miRNA Confirmed miRNAs by qRT-PCR	参考文献 Reference
阿尔巴斯白绒山羊 Aerbasi white cashmere goat	皮肤 Skin	316	22		miR-379、miR-127	Liu et al. 2012b
陕北白绒山羊 Shanbei white cashmere goat	生长期、退行期、 休止期毛囊 hair follicles in anagen, catagen, and telogen phases	399	197	26	miR-125b	Yuan et al. 2013, 袁超 2014
内蒙古绒山羊 Inner Mongolia cashmere goat	皮肤 Skin			5	chi-miR-2284n、 chi-miR-421*、 chi-miR-421、 chi-miR-1839、 chi-miR-374	Su et al. 2015
黑白相间山羊 Crossbred black and white goat	黑色和白色皮肤的 毛囊 Black and white hair follicles	205	9	6	miR-10b、miR-211	Wu et al. 2014a
阿尔巴斯白绒山羊 Aerbasi white cashmere goat	70 d 胎儿和出生后 两周的皮肤组织 Skin of 70 d fetal and two-week-old goat			68	miR-376 <sup>a</sup> 、 miR-451、miR-514	樊凯军 2014

表3 与山羊泌乳相关miRNA的鉴定结果

Table 3 Identified miRNAs related to lactation in goat

动物 Breed	样本设置 Sample	保守miRNA 数量 No. of conserved miRNAs	新的miRNA 数量 No. of novel miRNAs	差异miRNA 数量 No. of different miRNAs	RT-PCR验证确 定的miRNA Confirmed miRNAs by qRT-PCR	参考文献 Reference
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	泌乳高峰期、干奶期的 乳腺组织 Mammary gland in dry period and peak lactation Lactation	346	95	169	miR-451、 miR-2478	Li et al. 2012 郭文娇 2013
崂山奶山羊 Laoshan dairy goat	泌乳高峰期和泌乳晚期 的乳腺组织 Mammary gland in dry period and late lactation	1 113	31	697		Ji et al. 2012
崂山奶山羊 Laoshan dairy goat	泌乳初期、泌乳高峰期 和泌乳末期乳腺组织 Mammary gland in early lactation, peak lactation and late lactation	336	50	189	miR-143	纪志宾 2013
崂山奶山羊 Laoshan dairy goat	泌乳高峰期和哺乳期 乳腺组织 Mammary gland in peak lactation and period		25	25	miR-378、 miR-7、 miR-423-5p	Dong et al. 2013
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	泌乳中期和干奶期 乳腺组织 Mammary gland in mid-lactation and dry period				miR-27a	Lin et al. 2013a
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	泌乳中期乳腺组织 Mammary gland in mid-lactation	823			miR-103	Lin et al. 2013b
崂山奶山羊 Laoshan dairy goat	泌乳期、泌乳高峰期、 泌乳后期乳腺组织 Mammary gland in lactation, peak lactation and late lactation			50		Ji et al. 2013
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	泌乳中期乳腺组织 Mammary gland in mid-lactation				miR-200a	Lin et al. 2013c
崂山奶山羊 Laoshan dairy goat	泌乳初期、高峰期、泌 乳后期乳腺组织 Mammary gland in early lactation, peak lactation and late lactation			66	miR-135a	董飞 2014

JAK-STAT5信号通路,影响多种乳蛋白的表达,最终导致产奶量下降(董飞 2014)。Dong等(2013)在泌乳的不同时期筛选出22个差异显著的miRNA,证实了miR-378、miR-423-5p和

miR-7涉及乳成分的转运和合成,对乳腺具有重要的调控作用。miR-451在泌乳的不同时期表达差异显著,提示miR-451与乳腺发育和泌乳有关(郭文娇 2013)。miR-27a通过影响乳脂代谢相

关mRNA的表达, 靶向脂质代谢的3个基因, *PPAR $\gamma$* 、*CCAAT/增强子结合蛋白基因* (*CCAAT/enhancer-binding protein, C/EBP*) 和视黄醇X受体 $\alpha$ 基因 (*Retinoid X receptor  $\alpha$ , RXRa*), 调节乳腺上皮细胞甘油三酯的合成, 且在泌乳期水平显著高于干奶期 (Lin et al. 2013a)。miR-143在不同泌乳时期呈高表达, 可通过延缓乳腺上皮细胞的细胞周期进程, 抑制其增殖以及促进其凋亡, 其靶基因也参与乳腺的发育、细胞生长等生物学过程 (纪志宾 2013)。

山羊乳相对于牛奶来说, 具有更高的营养价值, 因为羊奶中含有大量的脂肪, 特别是不饱和脂肪酸含量很高。已经发现miR-103在乳腺上皮细胞中的过表达可增加与乳脂合成相关基因的转录, 从而导致脂滴形成, 甘油三酯积累以及不饱和脂肪酸的比例上升 (Lin et al. 2013b)。miR-200a的表达升高可抑制参与脂滴形成的基因表达, 从而调控乳脂的合成 (Lin et al. 2013c)。乳脂合成可能涉及到激素-miRNA

乳腺调控网络, 当催乳素浓度升高, miR-23a、miR-27b、miR-103和miR-200a的表达上调, 推测miR-23A和miR-103可调节乳脂合成前体物质的含量, 而miR-27b和miR-200a可控制脂滴在上皮细胞沉积。

#### 4 miRNA 与生殖

生殖是一个复杂的过程, 包括激素分泌、卵泡发育以及黄体化维持妊娠, 受各种内分泌因子和大量基因的调节。妊娠期和非妊娠期的卵巢活性和内分泌特征具有显著差异 (Stephens et al. 2009)。miRNA参与调节哺乳动物生殖系统的发育和配子发生 (Niu et al. 2011), 尤其参与了卵巢功能调节 (Cutting et al. 2012)。目前已经发现的与山羊生殖相关的miRNA见表4。miR-143是在荷斯坦奶牛的睾丸和卵巢中高度表达的miRNA, 与GnRH信号传导和胰岛素信号传导途径有关 (Huang et al. 2011), 它在妊娠山羊的卵巢中也呈高度表达 (Zhang et al. 2013), 可结合Wnt信号通路的

表4 与山羊生殖相关miRNA的鉴定结果

Table 4 Identified miRNAs related to reproduction in goat

动物 Breed	样本设置 Sample	保守miRNA 数量 No. of conserved miRNA	新的miRNA 数量 No. of novel miRNA	差异 miRNA 数量 No. of different miRNA	RT-PCR验证确定 的miRNA Confirmed miRNA by qRT-PCR	参考文献 Reference
安徽白山羊 Anhui white goat	妊娠和空怀山羊卵巢 Ovary of pregnant and nonpregnant goats	617	7	407	miR-143	Zhang et al. 2013
安徽白山羊 Anhui white goat	卵巢组织 Ovary	508	19		miR-143、miR-21、 let-7b	张晓东等 2013
阿尔卑斯山羊 Alpine goat	不同季节泌尿生殖道 Urogenital in different seasons			40	miR-1246	Longpre et al. 2014
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	睾丸组织 Testis	373	91		miR-34c	Wu et al. 2014b
安徽白山羊 Anhui white goat	多胎和单胎山羊卵巢 组织 Ovaries of multiple and uniparous goats	1317和1441	309和433	35	miR-29c、 miR-6406	Ling et al. 2014

Frizzled-6 和 Frizzled-3 受体基因, 影响 Wnt4 与其受体结合。Wnt4 基因是 Wnt 家族的重要成员之一, 参与调控卵巢颗粒细胞和黄体细胞的功能 (Hsieh et al. 2002, Ricken et al. 2002)。已证实 miR-10b、miR-126-3p、miR-126-5p、miR-34c、miR-449B 和 miR-146 可能参与奶山羊睾丸发育和减数分裂 (Wu et al. 2014b), 其中 miR-34c、miR-449 与精原干细胞的自我更新和精子发生有关 (Huszar et al. 2013)。miR-34c 作用于 P53 的下游可导致奶山羊雄性生殖系干细胞凋亡 (Li et al. 2013, Yang et al. 2013)。

产羔率也是肉用山羊一个重要的经济性状, 而排卵数决定产羔率。miRNA 在卵巢所有生物学过程中都有重要的作用。卵泡期, 产单羔山羊和产多羔山羊的卵巢组织 miRNA 表达模式不同, 产多羔山羊卵巢中特异性表达最高的 miRNA 是 miR-29c, 而产单羔山羊卵巢中特异性表达最高的是 miR-6406 (Ling et al. 2014)。miR-29c 与促卵泡素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 的分泌有关, 能促进卵泡数目增加, miR-6406 的功能仍需进一步探讨。此外, miR-100 作为山羊繁殖相关的候选 miRNAs 之一, 在产单羔山羊卵巢中表达极显著高于产多羔山羊 (娜日苏等 2013), 这可能是由于

miR-100 作用于 POU1F1 及整合蛋白  $\beta 1$  亚基, 调节垂体激素分泌细胞的增殖与分化, 参加下丘脑-垂体-性腺轴的激素调节, 影响早期胚胎的着床与发育。

## 5 miRNA 与肌肉发育

中国有近 50 个本地山羊品种, 2013 年底饲养数量达到 1.4 亿只, 在肉类供应中起重要作用。肌肉的生长和发育来源于肌肉纤维数量的增加和肌细胞体积的增大, miRNA 通过转录调控介导肌肉细胞的增殖和分化, 且与肌肉发育和疾病密切相关 (Huang et al. 2012)。已经报道的与山羊肌肉发育相关的 miRNA 见表 5, 肌肉中一些高表达的 miRNA 可调控肌肉的增殖和分化, 从而影响山羊生长发育。如 miR-133 家族 (miR-133a、-133b、-133c) 在山羊肌肉中高度表达, 它可能通过结合到靶序列, 抑制血清应答因子基因的表达, 从而促进成肌细胞的增殖 (韩志玲等 2012, Ling et al. 2013)。山羊骨骼肌中高度表达的另一个 miRNA 是 miR-27b (凌英会等 2013a), 可影响骨骼肌的生长和发育, 能够调节小鼠骨骼肌细胞中 Pax3 基因的表达, 而 Pax3 在肌肉发生及调控肌肉细胞命运中极为重要 (Jothi et al. 2012)。此外,

表5 与山羊肌肉发育相关miRNA的鉴定结果

Table 5 Identified miRNAs related to muscle development in goat

动物 Breed	样本设置 Sample	保守miRNA 数量 No. of conserved miRNA	新的miRNA 数量 No. of novel miRNA	差异miRNA 数量 No. of different miRNA	RT-PCR验证确定的 miRNA Confirmed miRNA by qRT-PCR	参考文献 Reference
内蒙古绒山羊 Inner Mongolia cashmere goat	背部和后腿肌肉 Muscles in back and hind leg				miR-122、miR-1、 miR-133、miR-143	韩志玲等 2012
波尔山羊 Boer goat	背最长肌 Longissimus	562	5			Ling et al. 2013
安徽白山羊 Anhui white goat	背最长肌 Longissimus	517	2			凌英会等 2013b
黄淮山羊 Huanghuai goat	胎儿期和六月龄 背最长肌 Fetal period and six-months-old longissimus	464	83	336	miR-424-5p、miR-29a	Wang et al. 2014

miRNA-424-5p 和 miR-29a 也对肌肉发育具有重要的调节作用 (Cui et al. 2011, Wang et al. 2014)。miRNA-29a 可抑制细胞增殖, 涉及大部分调控网络, 在不同发育阶段的肌肉中表达差异显著; 而 miR-424-5p 靶目标的生物学特性和分子机制, 还需进一步的研究和探讨。

肌肉生长抑制素是骨骼肌生长的一个负调控因子, 抑制成肌细胞的增殖和分化。肌肉生长抑制素基因发生功能障碍, 无论是由于自然突变或敲除、敲低, 都可以增加哺乳动物肌肉质量。Zhong (2014) 等设计并合成了山羊4个 miRNA 以模拟肌肉生长抑制素, 在瞬时转染的 CFF 细胞中, 84% 肌肉生长抑制素 mRNA 发生沉默; 在稳定转染的 CFF 细胞也有 31% 发生沉默。Patel (2014) 等用肌酸激酶 (muscle creatine kinase, MCK) 启动子诱导人工合成的小 RNA (amiRNA) 对激活素受体 II B (activin receptor type II B, ACVR2B) 进行敲低并瞬时转染, 导致山羊成肌细胞 32% 的沉默, miRNA 在转录水平上, 通过对 ACVR2B 的敲低, 导致 SMAD2/3 信号下降, 增加成肌调控因子 (MRFs) 的表达, 增强成肌细胞的增殖和分化。因此, 采用 miRNA 进行基因敲除对于研究和调控肌肉生长发育是一种行之有效的方法。

## 6 结语

自 miRNA 首次报道以来, 从发现、克隆、产生机制和作用规律到应用, miRNA 数量一直在不断增加, 理论也日趋完善。高通量测序技术的出现和发展为基因组的测序带来革命性的改变, 运用高通量测序技术挖掘 miRNA, 已经成为当前常用的技术手段。随着测序技术的不断进步, 已经挖掘了大量山羊 miRNA。然而, 测序法本身也有一定的局限性, 通过构建 cDNA 文库克隆测序, 难以获得表达丰度低和组织特异性的 miRNA, 而且测序后的 miRNA 一般都是通过与已知物种的 miRNA 序列比对, 受已知 miRNA 的限制, 如果没有参照, 则很难获取相关的 miRNA。新的 miRNA 是根据 miRNA

的筛选标准预测的, 由于研究条件的限制, 有些曾经认为是高信度的 miRNA, 随着研究的深入, 现在已经发现不是 miRNA, 因此, 对 miRNA 的认识与研究仍然是个长期的过程。

miRNA 对机体具有重要的调控功能, 关于 miRNA 在发育、代谢过程以及在某些病理过程中的作用及其靶基因的研究, 使得对动物生产性能的定向改变成为可能, 而且有望为动物疾病治疗提供新的思路和方法, 但受饲养条件、品种、健康状况等影响, miRNA 的功能还需进一步验证。

目前对 miRNA 的研究主要集中于发现其生物学效应和靶基因上, 有关 miRNA 如何精确调控生命过程中各项功能以及如何加以利用, 还有待进一步研究和探讨。此外, 由于 miRNA 的数量众多以及 miRNA 下游靶基因的多样性, 也增加了对其功能研究的复杂性。山羊的经济性状主要体现在肉、绒和奶上, 已发现一些与之相关的 miRNA, 今后除了继续挖掘生产性能有关的 miRNA, 更重要的是研究现有 miRNA 的调控功能, 并充分利用这些 miRNA 来调控和改善山羊的毛绒性状、生产和生殖性能, 从而提高山羊的养殖效益。

## 参 考 文 献

- Andi T, Murchison E P, Liu F, et al. 2006. The miRNA-processing enzyme dicer is essential for the morphogenesis and maintenance of hair follicles. *Current Biology*, 16(10): 1041–1049.
- Bartel D P. 2009. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136(2): 215–233.
- Cordes K R, Sheehy N T, White M P, et al. 2009. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. *Nature*, 460(7256): 705–710.
- Cui Y, Su WY, Xing J, et al. 2011. MiR-29a inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest through the downregulation of p42.3 in human gastric cancer. *PLoS One*, 6(10): e25872.
- Cutting A D, Bannister S C, Doran T J, et al. 2012. The potential role of microRNAs in regulating gonadal sex differentiation in the



- chicken embryo. *Chromosome Research*, 20(1): 201–213.
- Dong F, Ji Z B, Chen C X, et al. 2013. Target gene and function prediction of differentially expressed microRNAs in lactating mammary glands of dairy goats. *International Journal of Genomics*, 2013: Article ID 917342.
- Hsieh M, Johnson M A, Greenberg N M, et al. 2002. Regulated expression of Wnts and frizzleds at specific stages of follicular development in the rodent ovary. *Endocrinology*, 143(3): 898–908.
- Huang J M, Ju Z H, Li Q L, et al. 2011. Solexa sequencing of novel and differentially expressed microRNAs in testicular and ovarian tissues in Holstein cattle. *International Journal of Biological Sciences*, 7(7): 1016–1026.
- Huang Z P, Espinoza-Lewis R, Wang D Z. 2012. Determination of miRNA targets in skeletal muscle cells // DiMario J X. *Myogenesis: Methods in Molecular Biology*. Berlin: Humana Press, 798: 475–490.
- Huszar J M, Payne C J. 2013. MicroRNA146 (Mir146) modulates spermatogonial differentiation by retinoic acid in MICE. *Biology of Reproduction*, 88(1): 15.
- Ji Z B, Wang G Z, Xie Z J, et al. 2012. Identification of novel and differentially expressed microRNAs of dairy goat mammary gland tissues using solexa sequencing and bioinformatics. *PLoS One*, 7(11): e49463.
- Ji Z B, Wang G Z, Zhang C L, et al. 2013. Identification and function prediction of novel microRNAs in Laoshan dairy goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(3): 309–315.
- Jothi M, Nishijo K, Keller C, et al. 2012. AKT and PAX3-FKHR cooperation enforces myogenic differentiation blockade in alveolar rhabdomyosarcoma cell. *Cell Cycle*, 11(5): 895–908.
- Kim S C, Lee J H, Kim M H, et al. 2013. Hordenine, a single compound produced during barley germination, inhibits melanogenesis in human melanocytes. *Food Chemistry*, 141(1): 174–181.
- Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V, et al. 1993. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5): 843–854.
- Li M, Yu M, Liu C, et al. 2013. miR-34c works downstream of p53 leading to dairy goat male germline stem-cell (mGSCs) apoptosis. *Cell Proliferation*, 46(2): 223–231.
- Li Z J, Lan X Y, Guo W J, et al. 2012. Comparative transcriptome profiling of dairy goat microRNAs from dry period and peak lactation mammary gland tissues. *PLoS One*, 7(12): e52388.
- Lin X Z, Luo J, Zhang L P, et al. 2013a. miR-27a suppresses triglyceride accumulation and affects gene mRNA expression associated with fat metabolism in dairy goat mammary gland epithelial cells. *Gene*, 521(1): 15–23.
- Lin X Z, Luo J, Zhang L P, et al. 2013b. MiR-103 controls milk fat accumulation in goat (*Capra hircus*) mammary gland during lactation. *PLoS One*, 8(11): e79258.
- Lin X Z, Luo J, Zhang L P, et al. 2013c. MicroRNAs synergistically regulate milk fat synthesis in mammary gland epithelial cells of dairy goats. *Gene Expression*, 16(1): 1–13.
- Ling Y H, Ding J P, Zhang X D, et al. 2013. Characterization of microRNAs from goat (*Capra hircus*) by Solexa deep-sequencing technology. *Genetics and Molecular Research*, 12(2): 1951–1961.
- Ling Y H, Ren C H, Guo X F, et al. 2014. Identification and characterization of microRNAs in the ovaries of multiple and uniparous goats (*Capra hircus*) during follicular phase. *BMC Genomics*, 15(1): 339.
- Liu Z H, Xiao H G, Li H P, et al. 2012b. Identification of conserved and novel microRNAs in cashmere goat skin by deep sequencing. *PLoS One*, 7(12): e50001.
- Liu Z, Zhu J, Cao H, et al. 2012a. MiR-10b promotes cell invasion through RhoC-AKT signaling pathway by targeting HOXD10 in gastric cancer. *International Journal of Oncology*, 40(5): 1553–1560.
- Longpre K M, Kinstlinger N S, Mead E A, et al. 2014. Seasonal variation of urinary microRNA expression in male goats (*Capra hircus*) as assessed by next generation sequencing. *General and Comparative Endocrinology*, 199: 1–15.
- Mardaryev A N, Ahmed M I, Vlahov N V, et al. 2010. Micro-RNA-31 controls hair cycle-associated changes in gene expression programs of the skin and hair follicle. *The FASEB Journal*, 24(10): 3869–3881.
- Margue C, Philippidou D, Reinsbach S E, et al. 2013. New target genes of MITF-induced microRNA-211 contribute to melanoma cell invasion. *PLoS One*, 8(9): e73473.

- McKenna D J, McDade S S, Patel D, et al. 2010. MiR-203 expression in keratinocytes is dependent on regulation of p53 levels by E6. *Journal of Virology*, 84(20): 10644–10652.
- Niu Z, Goodyear S M, Rao S, et al. 2011. MicroRNA-21 regulates the self-renewal of mouse spermatogonial stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(31): 11270–12745.
- Osawa M, Fisher D E. 2008. Notch and melanocytes: Diverse outcomes from a single signal. *Journal of Investigative Dermatology*, 128(11): 2571–2574.
- Patel A K, Shah R K, Patel U A, et al. 2014. Goat activin receptor type IIB knockdown by muscle specific promoter driven artificial microRNAs. *Journal of Biotechnology*, 187: 87–97.
- Ricken A, Lochhead P, Kontogianna M, et al. 2002. Wnt signaling in the ovary: identification and compartmentalized expression of wnt-2, wnt-2b, and frizzled-4 mRNAs. *Endocrinology*, 143(7): 2741–2749.
- Schouwey K, Larue L, Radtke F, et al. 2010. Transgenic expression of Notch in melanocytes demonstrates RBP-J $\kappa$ -dependent signaling. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 23(1): 134–136.
- Shatseva T, Lee D Y, Deng Z Q, et al. 2011. MicroRNA miR-199a-3p regulates cell proliferation and survival by targeting caveolin-2. *Journal of Cell Science*, 124(16): 2826–2836.
- Stephens S M, Moley K H. 2009. Follicular origins of modern reproductive endocrinology. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(6): E1235–E1236.
- Su R, Fu S Y, Zhang Y J, et al. 2015. Comparative genomic approach reveals novel conserved microRNAs in Inner Mongolia cashmere goat skin and longissimus dorsi. *Molecular Biology Reports*, 42(5): 989–995.
- Sun J Y, Huang Y, Li J P, et al. 2012. MicroRNA-320a suppresses human colon cancer cell proliferation by directly targeting  $\beta$ -catenin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 420(4): 787–792.
- Tian X, Jiang J B, Fan R W, et al. 2012. Identification and characterization of microRNAs in white and brown alpaca skin. *BMC Genomics*, 13: 555.
- Vachtenheim J, Borovansky J. 2010. “Transcription physiology” of pigment formation in melanocytes: Central role of MITF. *Experimental Dermatology*, 19(7): 617–627.
- Wang Y H, Zhang C L, Fang X T, et al. 2014. Identification and profiling of microRNAs and their target genes from developing caprine skeletal muscle. *PLoS One*, 9(5): e96857.
- Wu J, Zhu H, Song W, et al. 2014a. Identification of Conservative MicroRNAs in Saanen dairy goat testis through deep sequencing. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(1): 32–40.
- Wu Z Y, Fu Y H, Cao J H, et al. 2014b. Identification of differentially expressed miRNAs between white and black hair follicles by RNA-sequencing in the goat (*Capra hircus*). *International Journal of Molecular Sciences*, 15(6): 9531–9545.
- Wulczyn F G, Smirnova L, Rybak A, et al. 2007. Post-transcriptional regulation of the *let-7* microRNA during neural cell specification. *The FASEB Journal*, 21(2): 415–426.
- Yu X, Li Z, Shen J X, et al. 2013. MicroRNA-10b promotes nucleus pulposus cell proliferation through RhoC-Akt Pathway by targeting HOXD10 in intervertebral disc degeneration. *PLoS One*, 8(12): e83080.
- Yuan C, Wang X L, Geng R Q, et al. 2013. Discovery of cashmere goat (*Capra hircus*) microRNAs in skin and hair follicles by Solexa sequencing. *BMC Genomics*, 14(1): 511.
- Zhang W G, Wu J H, Li J Q, et al. 2007. A subset of skin-expressed microRNAs with possible roles in goat and sheep hair growth based on expression profiling of mammalian microRNAs. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 11(4): 385–396.
- Zhang X D, Zhang Y H, Ling Y H, et al. 2013. Characterization and differential expression of microRNAs in the ovaries of pregnant and non-pregnant goats (*Capra hircus*). *BMC Genomics*, 14(1): 157.
- Zhong B S, Zhang Y L, Yan Y B, et al. 2014. MicroRNA-mediated myostatin silencing in caprine fetal fibroblasts. *PLoS One*, 9(9): e107071.
- 柏亚铎, 尹羿, 汪琳, 等. 2014. 高通量测序技术在动物 MicroRNA 研究中的应用. *检验检疫学刊*, 24(2): 68–72.
- 陈海漩, 严忠海, 龙健儿, 等. 2008. 应用生物信息学寻找山羊新的 microRNA 分子及其实验验证. *遗传*, 30(10): 1326–1332.
- 董飞. 2014. 奶山羊乳腺组织差异表达 miRNA 功能预测及 miR-135a 对 *PRLR* 基因靶向调控研究. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文.

- 樊凯军. 2014. 绒山羊皮肤 microRNA 的研究. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文.
- 付绍印. 2014. 绒山羊绒毛周期性相关 microRNA 及其靶基因的研究. 呼和浩特: 内蒙古农业大学博士学位论文.
- 付绍印, 赵宏丽, 郑竹清, 等. 2014. 褪黑激素对绒山羊皮肤中毛囊周期相关 miRNAs 表达模式的影响. 遗传, 36(12): 1235-1242.
- 郭文娇. 2013. 奶山羊 miRNA-451 表达谱分析及靶基因的初步鉴定. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文.
- 韩志玲, 赵德超, 付绍印, 等. 2012. 绒山羊骨骼肌 miRNAs 及其靶基因表达谱分析. 畜牧兽医学报, 43(10): 1539-1546.
- 纪志宾. 2013. 奶山羊泌乳期乳腺组织 microRNA 表达谱分析及 miR-143 调控 IGFBP5 对细胞作用研究. 泰安: 山东农业大学博士学位论文.
- 林先滋, 罗军, 张犁苹, 等. 2012. 调控山羊乳腺脂肪酸代谢 miRNAs 筛选及相关 Pri-miRNAs 克隆验证. 农业生物技术学报, 20(6): 589-598.
- 凌英会, 丁建平, 张晓东, 等. 2013a. MicroRNA (miR)-27b 在山羊生长过程中的组织表达谱分析. 农业生物技术学报, 21(6): 677-683.
- 凌英会, 张晓东, 王丽娟, 等. 2013b. 山羊肌肉组织 microRNA Solexa 测序与生物信息学分析. 畜牧兽医学报, 44(3): 481-487.
- 娜日苏, 刘广, 向阳, 等. 2013. 山羊卵巢富集 chi-miR-100f-5p 的鉴定与表达分析. 中国农业科学, 46(22): 4784-4790.
- 苏蕊, 吕晓曼, 赵德超, 等. 2013. 基于 UniGene 寻找山羊新的 miRNA 及其试验验证. 中国畜牧兽医, 40(11): 7-11.
- 吴江鸿, 闫祖威, 胡斯乐, 等. 2010. Hoxc13 在毛囊发育中的作用. 遗传, 32(7): 656-662.
- 袁超. 2014. 绒山羊次级毛囊周期性变化相关 microRNA 的鉴定及 miR-125b 在毛乳头细胞中的功能研究. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文.
- 张晓东, 凌英会, 张运海, 等. 2013. 应用 Solexa 测序技术挖掘山羊卵巢组织 microRNA. 中国农业科学, 46(1): 146-153.