

海洋动物 microRNAs 研究进展与展望

刘小卓¹, 张晓明^{1,2}, 董波^{1,2}

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生物学与生物技术功能实验室, 山东 青岛 266237)

摘要: MicroRNAs (miRNAs) 是一类小分子非编码 RNA, 通过特异性结合靶基因, 对靶基因转录后表达进行调控。miRNAs 参与众多生物学过程并发挥关键调控角色。作者介绍了 miRNAs 生物合成和作用机制, 回顾了近年来海洋动物 miRNA 研究取得的进展, 并阐述了目前已知的 miRNA 对海洋动物重要生理过程的调控过程和机制, 旨在为今后更深入地研究海洋动物 miRNA 功能提供参考。

关键词: microRNA; 海洋动物; 生长和发育; 免疫; 附着变态

中图分类号: Q-1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2018)03-0157-12

DOI: 10.11759/hyxx 20171211001

海洋动物由于其生存环境的特殊性造就了其独特的生理过程, 包括渗透压调控、免疫和幼虫附着变态等, 但目前调控这些生理过程的分子机制还知之甚少。最近几年, 随着组学等技术的发展推进, 在海洋动物中已经获得了大量 miRNAs, 其中部分 miRNAs 的功能得到了验证。microRNA (miRNA) 是一类长约 18—25 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子, 通过碱基互补配对结合靶基因 3' 非翻译区, 降解靶基因 mRNA 或抑制其翻译^[1-2]。miRNA 首先在秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*) 中被发现: Ambros 等^[3-5]通过定位克隆和定点突变的方法发现秀丽隐杆线虫 *lin-4* 基因并不编码蛋白, 而是在转录后形成 22 和 61 个核苷酸的转录产物, 这些转录产物结合到另外一个基因 *lin-14* 的 3' 非翻译区, 抑制 *lin-14* 的翻译。Reinhart^[6]等也在秀丽隐杆线虫中发现 *let-7* 可以通过结合 *lin-41* 的 3' 非翻译区, 从而抑制其表达。后来, 对其他物种的研究发现 miRNA 普遍存在于真核动物中, 物种间具有高度的保守性, 表达具有时序性和组织特异性, miRNA 参与调控动物生长发育、免疫、应激反应及附着变态等多种生物学过程。作者将对近年来发现的海洋动物 miRNA 及其涉及的功能研究进行综述, 并对此领域未来研究提出展望。

1 miRNA 的合成和调控机制

miRNA 是一类非编码短序列 RNA, 在 RNA 聚合酶 II 作用下, 1 个 miRNA 基因被转录形成一段长度超过 1kb 的 miRNA 初级转录产物(pri-miRNA)^[7]; 或者几个距离较近的 miRNA 构成一个多顺反子转录

单元, 共同起始转录^[8]。动物体内典型的 pri-miRNA 包含 1 个长约 33~35 个碱基的茎环双链结构, 在 5' 和 3' 末端各存在一段单链 RNA。pri-miRNA 被 RNA III 型核酸内切酶 Drosha 识别并剪切, 释放出 65 个碱基左右的发夹状片段, 形成 miRNA 前体 (precursor miRNA, pre-miRNA)^[9]。miRNA 前体和转运蛋白 Exportin-5 以及 GTP 结合蛋白 RanGTP 形成转运复合体被转运到细胞质^[10], RNA III 型核酸内切酶 Dicer 对其进行加工形成 miRNA 双链复合体。随后双链 miRNA 在解旋酶的作用下解链, 产生两条具有生物学活性的成熟 miRNA^[11](图 1)。

miRNA 主要通过抑制靶基因翻译^[12], 或者降低靶基因稳定性^[13], 甚至是激活基因的表达来调控靶基因的功能^[14]。新近研究发现菟丝子(*Cuscuta campestris*) 的 miRNA 能够跨物种靶向寄主靶基因, 从而调控寄主基因的表达, 展示了一种 miRNA 跨物种调控基因表达的新模式^[15]。因为只有极少数动物 miRNA 与靶基因以完全互补的形式结合, 大部分 miRNA 可以不完全与靶基因序列配对结合, 因此一个 miRNA 可以调控多个靶基因^[16]。

收稿日期: 2017-12-11; 修回日期: 2018-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(41706153); 山东省泰山学者建设工程专项经费资助(201502035)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No. 41706153; Taishan Scholar Program of Shandong Province, No. 201502035]

作者简介: 刘小卓(1993-), 男, 山东青岛人, 硕士研究生, 主要从事 miRNA 调控动物胚胎发育研究, 电话: 17864279852, E-mail: xiaozh-
huoliu001@163.com; 董波, 通信作者, E-mail: bodong@ouc.edu.cn

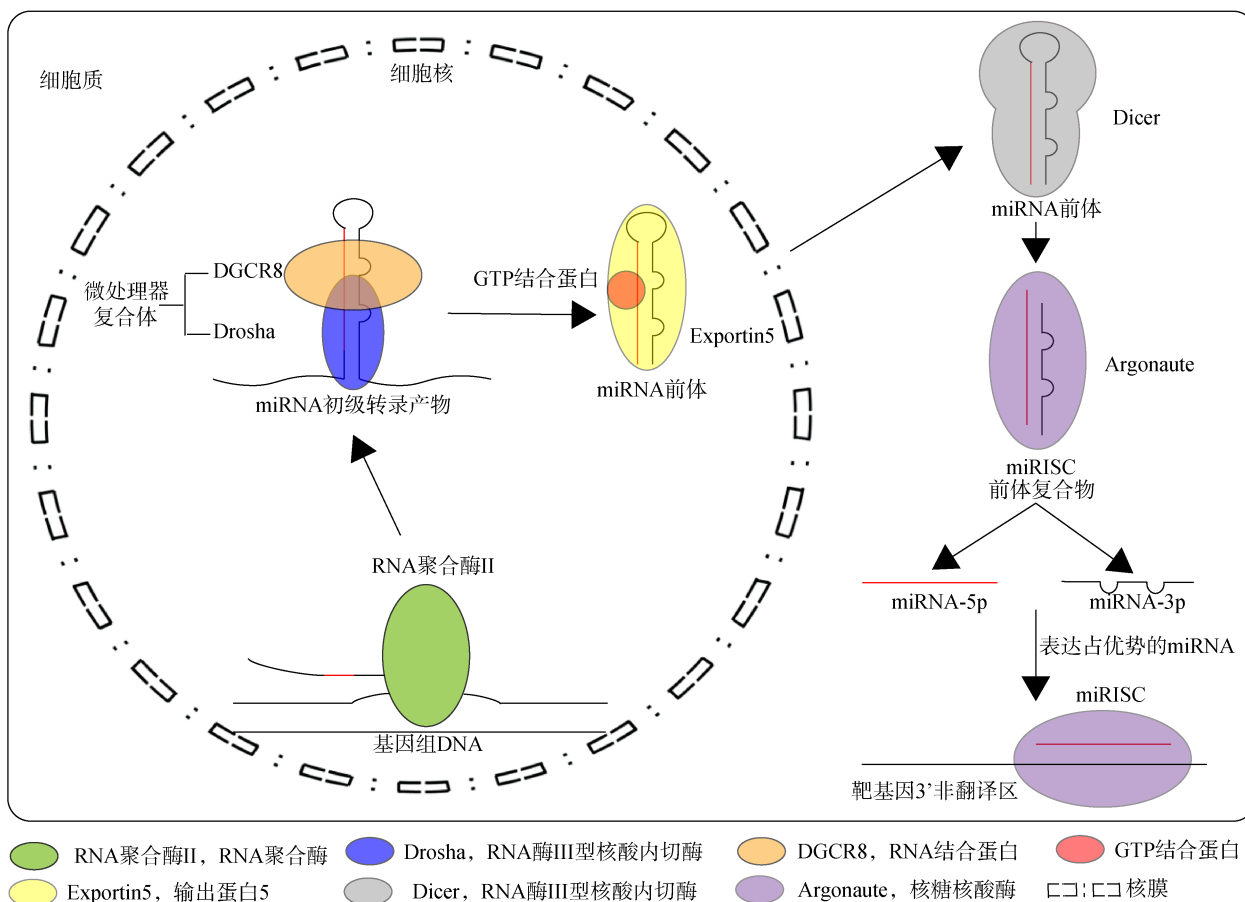


图1 动物 miRNAs 合成过程和调控机制示意图

Fig. 1 Biogenesis and regulatory mechanisms of animal miRNAs

2 海洋动物 miRNAs

海洋占据了总地球总面积的 71%，拥有着数量庞大的生物资源，截至 2017 年 5 月，海洋生物种类多达 243 000 种^[17]。海洋动物 miRNA 研究起步相对较晚，截至 2017 年 12 月，miRBase(<http://www.mirbase.org>)中已收录 2191 条海洋动物成熟 miRNA，它们在生殖、生长、发育、免疫调控和代谢等方面具有重要的功能。除了海鞘纲(Ascidiacea)和海胆纲(Echinoidea)等海洋模式动物以及部分鱼类，大部分海洋物种的 miRNA 研究还仅限于 miRNA 的筛选及鉴定，对于 miRNA 功能的研究报道还比较有限(表 1)。

海洋动物 miRNAs 具有进化保守性。学者^[20]在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)中发现了 140 个在后口动物中保守的 miRNAs，在头索动物(包括佛罗里达文昌鱼(*Branchiostoma floridae*)^[48-49]和厦门文昌鱼(*Branchiostoma belcheri*)^[50])中鉴定出 54 个脊椎动物保守的 miRNAs 家族、18 个无脊椎动物中保守的 miRNAs，在光棘球海胆(*Strongylocentrotus nudus*)中

发现了 345 个后口动物保守的 miRNAs^[29]。

除了进化上保守的 miRNAs，海洋动物在进化过程中还丢失了一些 miRNAs 或获得了新的特异性 miRNAs。通过与已知的 miRNAs 比对，发现佛罗里达文昌鱼和厦门文昌鱼都存在一些物种特异的 miRNAs^[25]。从深海热液中存活的优势种——大西洋无眼裂缝虾(*Rimicaris exoculata*)的肌肉组织中鉴定出 159 个已知的 miRNAs 和 34 个新 miRNAs，其中 miR-275、miR-276、miR-iab4-3p 和 miR-iab4-5 被推测是在节肢动物出现以后，添加到后口动物基因组中的；miR-2001 和 miR-277 系首次在甲壳纲(Crustacean)中发现^[35]。Xu 等^[51]获得 19 个太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)的新 pre-miRNAs，这些 miRNAs 的表达具有明显的组织特异性。

3 miRNA 调控海洋动物重要生理过程

miRNA 广泛参与各种不同生理过程，包括发育、生长、细胞增殖、细胞凋亡和应激反应等。由于海洋环境的特殊性，海洋动物具有许多独特的生理机能，

表 1 海洋动物 miRNAs
Tab. 1 miRNAs of marine animals

物种	发现 miRNA 数量/个	数据来源	表达情况	具有调控功能的 miRNAs	功能	参考文献
牙鲆	140	孵化后 13, 17, 19, 21, 23, 29, 31, 33, 36 及 42 d 个体	12 个 miRNA 在 29 dpf 表达上调; 54 个 miRNA 在 29 dpf 表达下调	let-7	参与变态期细胞增殖与分化	[18]
		孵化后 17 与 29 d 个体	孵化后 17 d 表达量显著低于 29 d 表达量	miR-731	诱导病毒在感染阶段的复制	[19]
		孵化后 17 d 个体	孵化后 17 d 表达量显著高于 29 d 表达量	miR-1, miR-206b	调控牙鲆变态过程	[20]
		孵化后 17 d 个体	孵化后 17 d 表达量显著高于 29 d 表达量	miR-10d, miR-22a	抑制 TLR13 负向调节鲑鱼免疫应答	[21]
海洋鱼类	6	鳃弧菌感染后鳃鱼个体	感染后表达量上升	miR-8195	参与 Toll 样受体调节的免疫反应	[22]
		鳃弧菌感染后鳃鱼个体	感染后表达量下降	miR-122	抑制炎症细胞因子表达量, 炎症反应	[23]
		哈维氏弧菌感染后鳃鱼个体	感染后表达量上升	miR-148	抑制炎症细胞因子表达量, 炎症反应	[23]
		哈维氏弧菌感染后鳃鱼个体	感染后表达量上升	miR-148	抑制炎症细胞因子表达量, 炎症反应	[23]
大西洋庸鲽	42	5 龄个体	在脑部表达量显著高于其他组织	miR-3588, miR-34b, miR-574	脑部发育和再生	[24]
		5 龄个体	在性腺高表达	miR-24	调节性成熟	
		5 龄个体	未发现特异性表达区域	miR-301b	抑制 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶调控代谢途径	
		5 龄个体	未发现特异性表达区域	miR-301b	抑制 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶调控代谢途径	
头索动物	155	经细菌感染 6, 12, 18, 24, 32, 40, 48 h 后个体及正常个体	感染后表达量下调	miR-92d	调节急性免疫反应抵抗细菌感染	[25]
		经细菌感染 6, 12, 18, 24, 32, 40, 48 h 后个体及正常个体	感染后表达量上调	miR-7, miR-4868a, miR-2065, miR-34b	抑制病毒转录	
		正常及皮肤溃疡综合征个体	被感染后表达量下调	miR-137	调控体腔细胞的凋亡过程	
		正常及皮肤溃疡综合征个体	被感染后表达量下调	miR-137	调控体腔细胞的凋亡过程	
刺参	40	经灿烂弧菌感染后的个体及正常个体	被感染后表达量下调	miR-210	调控 TLR 通路抵御细菌感染	[26]
		经灿烂弧菌感染后的个体及正常个体	被感染后表达量上调	miR-31	作用到 AjTollip 上增强体腔细胞抗菌能力	
		经灿烂弧菌感染后的个体及正常个体	被感染后表达量上调	miR-200	作用到 AjTollip 上增强体腔细胞抗菌能力	
		经灿烂弧菌感染后的个体及正常个体	被感染后表达量上调	miR-200	作用到 AjTollip 上增强体腔细胞抗菌能力	
光棘球海胆	345	正常个体	表达量最高	miR-184	物种进化	[29]
		正常个体	表达量最高	miR-184	物种进化	
		正常个体	表达量最高	miR-184	物种进化	
		正常个体	表达量最高	miR-184	物种进化	
紫海胆	49	卵巢, 受精卵, 32 细胞期, 囊胚期, 原肠胚, 早期幼虫	在早期胚胎高表达	miR-1, miR-71, miR-31 miR-2012	调控早期胚胎发育	[30]
		卵巢, 受精卵, 32 细胞期, 囊胚期, 原肠胚, 早期幼虫	在早期胚胎高表达	miR-1, miR-71, miR-31 miR-2012	调控早期胚胎发育	
		卵巢, 受精卵, 32 细胞期, 囊胚期, 原肠胚, 早期幼虫	在早期胚胎高表达	miR-1, miR-71, miR-31 miR-2012	调控早期胚胎发育	
		卵巢, 受精卵, 32 细胞期, 囊胚期, 原肠胚, 早期幼虫	在早期胚胎高表达	miR-1, miR-71, miR-31 miR-2012	调控早期胚胎发育	
甲壳动物	199	经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-31	影响 PMC 基因调控网络, 抑制海胆骨架形成	[31]
		经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-31	影响 PMC 基因调控网络, 抑制海胆骨架形成	
		经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-31	影响 PMC 基因调控网络, 抑制海胆骨架形成	
		经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-31	影响 PMC 基因调控网络, 抑制海胆骨架形成	
日本囊对虾	199	经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-7	参与机体免疫反应, 抑制 WSSV 病毒表达	[32]
		经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-7	参与机体免疫反应, 抑制 WSSV 病毒表达	
		经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-7	参与机体免疫反应, 抑制 WSSV 病毒表达	
		经 MSSV 病毒感染的个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-7	参与机体免疫反应, 抑制 WSSV 病毒表达	

续表

物种	发现 miRNA 数量/个	数据来源	表达情况	具有调控功能的 miRNAs	功能	参考文献
日本囊对虾	199	经 MSSV 病毒感染个体	分布于被 MSSV 感染的组织中	miR-12 miR-100	抵御病毒的吞噬, 启动抗病毒细胞凋亡机制 抑制细胞凋亡	[33] [34]
大西洋无眼裂缝虾	193	肌肉组织	表达量最高的 miRNA	miR-100	消化器官生成	[35]
梭子蟹	67	鳃部	低盐胁迫处理个体	miR-317, miR-2788, miR-305	抵抗低盐胁迫对机体生理机能的影响	[36]
拟穴青蟹	421	肠, 心脏, 肝脏, 腮, 脑, 肌肉, 血	在被副溶血弧菌感染的个体表达存在差异	miR-146, miR-125	调控先天免疫	[37]
太平洋牡蛎	199	分别经染菌、加热染菌共处理个体的血细胞	4 个 miRNA 在染菌、加热染菌共处理个体中表达量显著上升 3 个 miRNA 在染菌、加热染菌共处理个体中表达量显著降低	miR-2a, miR-307, miR-745b, miR-1984 miR-10a, miR-10b, miR-182	维持逆境血细胞功能	[38]
牡蛎	199	过表达 miRNA	血细胞迁移率显著降低	scaffold42648_5080	通过降低血细胞迁移率, 调控免疫响应	[39]
软体动物		经暴露过空气及未经处理	暴露过空气的个体 miRNA 表达量显著提升	miR-365	抵抗潮间带的缺水环境	[40]
香港巨牡蛎	87	正常个体及低盐胁迫个体	经低盐胁迫后高表达 经低盐胁迫后低表达	miR-3205 miR-2353	应对胁迫环境	[41]
栉孔扇贝	68	正常个体及经 AVNV 感染个体	经感染后表达量显著上升	miR-92, miR-745b, miR-745a, miR-279	抵御 AVNV 病毒感染	[42]
泥蚶	254	正常及经重金属镉处理个体	经重金属处理后表达量上升	miR-21 miR-8, miR-10, miR-67	维持体内稳态及耐受性 与重金属转运相关	[43]
马氏珠母贝	258	高通量测序	过表达后珍珠层生长模式紊乱 在马氏珠母贝中特有	miR-2305, miR-29a, miR-183 miR-0046	调控珍珠层生长模式 参与生物矿化调控	[44-47] [44]

注: 牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*); 鲈鱼 (*Mitchthys miun*); 大西洋庸鲷 (*Atlantic halibut*); 厦门文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*); 刺参 (*Stichopus japonicus*); 光棘球海胆 (*Strongylocentrotus nudus*); 紫海胆 (*Strongylocentrotus purpuratus*); 日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*); 大西洋无眼裂缝虾 (*Rimicaris exoculata*); 梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*); 拟穴青蟹 (*Scylla poranamosan*); 太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*); 香港巨牡蛎 (*Crassostrea hongkongensis*); 栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*); 泥蚶 (*Tegillarca granosa*); 马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*); 曼弧菌 (*Vibrio anguillarum*); 哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*)

如感知水流、渗透压调节、鳃呼吸、附着变态、无限 生长发育等,多种 miRNA 已被鉴定出参与其中(图 2)。

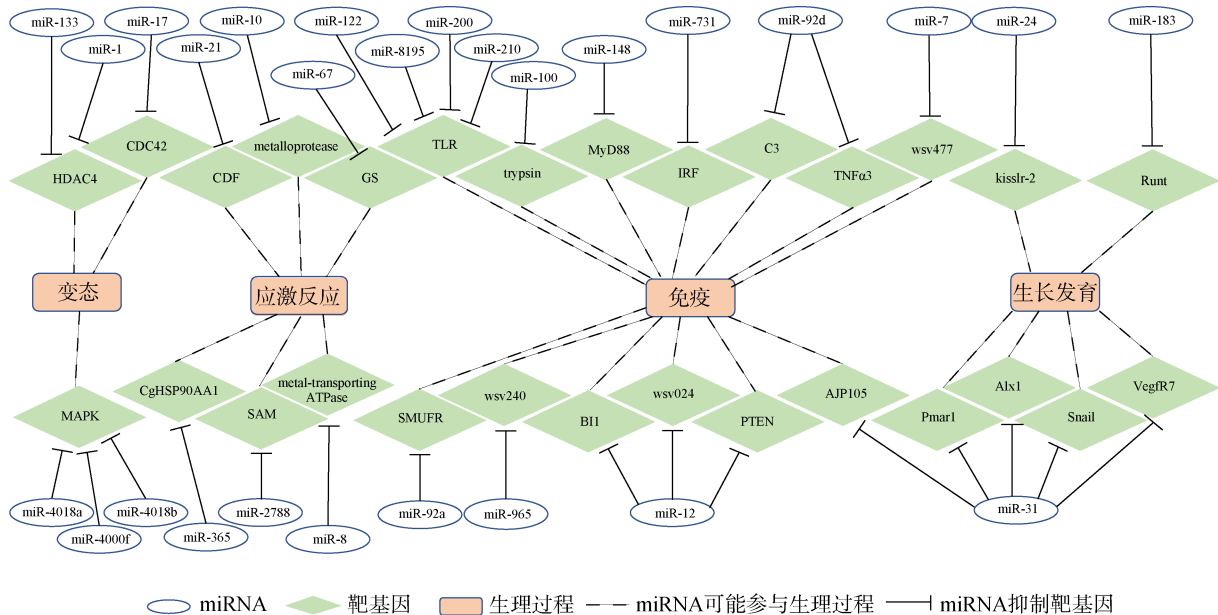


图 2 miRNAs 与靶基因相互作用调控海洋动物重要生理过程

Fig. 2 miRNAs regulate the physiological processes of marine animals through their targeted genes

3.1 生长和发育

研究发现 miRNAs 对紫海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)早期细胞命运决定起了重要的调控作用,通过抑制 Dicer 和 Drosha 基因功能从而会影响海胆 miRNAs 的形成可导致胚胎无法正常发育成原肠胚,同时也影响调控胚层分化相关基因的表达^[30]。Stepicheva 等^[31]发现 miR-31 在海胆不同发育时期不同组织中的表达没有显著差异,但敲除 miR-31 后,影响初级间充质细胞正常功能,海胆胚胎不能正常发育。研究证实 miR-31 通过抑制 *Pmar1*、*Alx1*、*Snail* 和 *VegfR7* 基因表达,从而最终抑制海胆骨架形成。总之,miRNA 在海胆发育过程中起到了至关重要的作用。

性腺的发育情况及生殖能力直接关系到海水养殖物种所带来的经济价值。研究发现 miRNAs let-7、let-7c、let-7f、mir-2、mir-184 和 mir-276 在梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)卵巢和精巢高表达^[52]。已有研究表明 miR-184 调控果蝇(*Drosophila melanogaster*)雌性生殖细胞的发育,miR-184 的缺失导致卵子形成的异常^[53],miR-184 还可以促进雄性生殖细胞的增殖^[54],据此推测性腺中高表达的这些 miRNAs 在梭子蟹性腺发育中发挥重要作用。在大西洋庸鲽中,miR-24 主要表达在精巢中,实验证实 *kiss1r-2* 是 miR-24 的

靶基因,而 *kiss1r-2* 是脊椎动物调控性腺发育的关键基因,这也暗示了 miR-24 通过调控 *kiss1r-2* 表达,进而调控大西洋庸鲽的性腺发育^[24]。

miRNA 还参与调控贝类珍珠层的形成及生物矿化过程。在马氏珠母贝中发现 miR-2305 和 miR-0046 的靶基因包括多个生物矿化相关基因(biomineralization-related genes)^[44],其中将 miR-2305 注射入马氏珠母贝的肌肉后,珍珠层的生长模式紊乱^[45]。过表达 miR-29a 的表型与过表达 miR-2305 的表型一致,也会引起珍珠层生长模式的紊乱^[46]。另外,miR-183 被发现可以显著降低其靶基因 *Runt* 转录因子的表达,从而调控珍珠层的形成^[47]。

3.2 免疫

鱼类免疫系统包括先天性或非特异性防御系统以及获得性或特异性防御系统,miRNAs 在鱼类免疫系统的作用机制接近于哺乳动物。细菌或病毒感染的半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)^[55] 和牙鲆^[19]的不同组织中均检测到表达量明显变化的 miRNAs,预测结果显示这些 miRNAs 的靶基因参与多种免疫相关的分子通路。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)是参与非特异性免疫(天然免疫)的一类重要蛋白质。当病原入侵时,TLRs 被活化并识别病原体相关分子模式,其后通过结合髓样分化因子(Myeloid differen-

tiation factor 88, MyD88), 诱导炎症细胞因子的转录, 激活下游信号通路, 产生免疫反应。TLR 信号通路基因 TLR13、TLR14、IRF7 和 MyD88 等都已发现是参与鱼类炎症反应及免疫应答 miRNAs 的靶基因^[19, 21-23], 一方面 TLRs 可以诱导 miRNAs 的表达, 同时 miRNAs 也调控 TLRs 通路。在鲢鱼中, MyD88 被鉴定是 miR-148 的靶基因, 当机体感染了哈维氏弧菌或内毒素后, miR-148 的表达量显著上升; 过表达 miR-148, 内毒素引起的炎症反应消失, 暗示着 miR-148 是 MyD88 调控免疫反应的抑制因子, 可以调节鱼类甚至哺乳动物过度炎症反应发生^[56]。当鳃弧菌侵染鲢鱼后, miR-8195 的表达量上升, TLR13 表达量降低, 进而通过抑制 TLR 信号通路调控鲢鱼病原体的识别和免疫反应, 同时研究者发现激活 TLR13 的表达可以导致 miR-8195 启动子区域核转录因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 的激活, 从而调控 miR-8195 的表达^[21]。TLR14 是 miR-122 在炎症反应及免疫反应中涉及的靶基因, 经过鳃弧菌侵染后, miR-122 的表达量显著降低, miR-122 可能通过调节 TLR14 的表达激活机体免疫反应^[22]。

在高等脊椎动物中已有研究表明病毒可以利用寄主的 miRNA 为病毒自身复制提供更良好的条件^[57], 在鱼类中也发现病毒可以诱导寄主 miRNA 表达, 使机体失去抗病毒的功能^[19]。当细胞肿大病毒(megalocytivirus)侵染牙鲈时, miR-731 的表达量明显上升, miR-731 通过调控干扰素调节因子 7(interferon regulatory factor 7, IRF7)和抑癌基因 p53 表达, 增加病毒在早期感染时的复制, 也抑制了 p53 介导的细胞凋亡^[58], 这与哺乳动物 miR-146a 和 miR-155 的功能类似。IRF7 是 I 型干扰素(type I IFN)响应的主要效应因子, miRNA 通过抑制 I 型 IFN 通路, 负调控 I 型 IFN 免疫反应, 维持免疫反应稳态^[59-60]。上述研究成果丰富了鱼类 miRNA 在免疫应答中的功能, 勾画了一个由 miRNAs 构成的免疫调控网络。

无脊椎动物对病原体的防御是非特异性的, 它们缺乏获得性免疫功能, 仅具有先天性免疫, 主要通过细胞免疫和体液免疫来发挥免疫应答功能。现有研究已经在刺参^[61]、太平洋牡蛎^[41]、栉孔扇贝^[42]、拟穴青蟹^[37]、日本囊对虾^[32]等海洋无脊椎动物中鉴定出上百个参与免疫反应的 miRNAs。当灿烂弧菌侵染刺参后, miR-200 通过正向调节 Toll 作用蛋白(Toll-interacting protein, AjTollip)的表达参与刺参的免疫反应^[28]。miR-31 的靶基因 Ajp105 属于一类重要

的转录因子家族成员, 其可正向调控 NF- κ B 基因的表达, 过表达 miR-31 后显著提高了机体的氧化应激反应^[27], 说明 miR-31 在免疫反应中发挥作用。Aj14-3-3 ζ 基因是 miR-137 的靶基因之一, 分别敲降 miR-137 或者 Aj14-3-3 ζ 都会促进体腔细胞凋亡, 据此推测 miR-137 正向调节 Aj14-3-3 ζ 的表达从而调控体腔细胞的凋亡过程^[26]。研究发现灿烂弧菌侵染太平洋牡蛎后, miR-92d 的表达量显著降低, 而其靶基因肿瘤坏死因子 α 效应因子 3(Tumor necrosis factor α factor 3, TNF α factor 3, LITAF3)的表达量显著提高, LITAF3 可以通过 TLR-2/4 调节的信号通路激活肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor α , TNF α)的表达, 参与调控免疫反应^[62]。对太平洋牡蛎进行热激处理后, 共有 65 个 miRNAs 表达量发生变化, 其中 42 个 miRNAs 在细菌侵染时也发生了显著变化, 说明机体通过调节与免疫相关 miRNA 的表达应对外界热激刺激^[38]。血细胞中也包含了大量的免疫细胞, 在免疫系统中扮演了重要的角色, 血细胞迁移被认为是免疫反应最主要的特点^[39]。scaffold42648_5080 是在太平洋牡蛎中特异表达的 miRNA, 由牡蛎编码基因的内含子区域转录而来。经灿烂弧菌或内毒素处理后, scaffold42648_5080 的表达量均显著下调, 因此推断 scaffold42648_5080 对于革兰氏阴性菌普的免疫反应具有普适性; 过表达 scaffold42648_5080, 血细胞吞噬、细胞凋亡及迁移率都与对照组存在显著差别; 敲降 scaffold42648_5080 的靶基因整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK), 血细胞迁移率也显著降低, 因此推测 scaffold42648_5080 参与调控太平洋牡蛎免疫应答过程^[39]。

多项研究证实 miRNA 在海洋动物抵抗外界病毒侵染过程中起到了重要的作用。Yang 等^[34]通过分析日本囊对虾 miRNA 微阵列数据发现了 199 个 miRNA 与 WSSV 感染引起的细胞凋亡有关, 其中, miR-100 通过作用于胰蛋白酶(trypsin)信号通路, 抑制血细胞凋亡, 进而抑制 WSSV 病毒的侵染。miR-100 可以通过负调控靶基因的表达诱导细胞凋亡已经在多种哺乳动物细胞系中被证实^[63-64]。对虾白斑综合症病毒侵染对虾后, miRNA 可以通过作用于病毒基因或宿主基因, 诱导机体释放多种激活因子, 激活抗病毒信号通路抑制病毒增殖^[32-33]。日本囊对虾被 WSSV 侵染后, miR-7 可以作用于对虾白斑综合症病毒 wsv477 基因, 抑制 WSSV 病毒复制, 参与机体的免疫反应^[65]。Shu^[33]等在日本囊对虾中发现 miR-12 的

靶基因包括 *wsv024*、*PTEN* 和 *BII*。miR-12 可以靶向结合 *wsv024* 的 3'UTR, 抵御 WSSV 病毒的感染; miR-12 与 *PTEN* 相互作用, *PTEN* 抑制免疫受体酪氨酸活化基序的信号转导, 并控制 RAC 的活性, 从而抑制细胞自噬; miR-12 还可抑制 *BII* 表达, 启动抗病毒的细胞凋亡机制。在栉孔扇贝的研究中 Chen^[42] 等构建了经急性病毒性坏死病毒侵染和未侵染的 miRNA 文库, 在病毒侵染组中获得了 37 个表达量变化明显的 miRNAs, 这些 miRNA 靶基因主要是与免疫或胁迫相关的蛋白, 因此推断栉孔扇贝 miRNA 在抵御病原体侵染中有着十分重要的作用。

3.3 附着变态

附着变态是很多海洋动物类群生活史中的关键环节, 涉及底质选择、幼体器官退化和成体器官发生等过程, 期间幼体细胞经历形变、迁移、生长、分化和凋亡等复杂细胞学过程。这些细胞学变化通过系列级联信号传导通路和基因网络调控, 并且在幼体附着变态过程中高度协调有序发生。鳃形目(Pleuronectiformes)鱼类发育过程中, 经历了一个非常奇妙的变态过程, 右眼经过背部迁移到左眼上方位于身体同一侧, 身体偏转 90 度, 在变态过程中, 随着组织结构及器官功能的改变, 鱼的生活习性由浮游型生活方式转变为底栖型生活方式^[66-67]。继 Inui 等^[68]首次发现甲状腺素 T4 在牙鲆变态过程中显著上升以来, 大量关于牙鲆变态的研究围绕着甲状腺素展开, 但甲状腺素调节牙鲆变态的分子机制仍不清楚。全基因组和转录组数据分析揭示, 褐牙鲆幼体变态过程受甲状腺激素、视黄酸信号通路以及光传导等通路调控^[69]。可能参与鱼类变态过程的 miRNA 也已经被报道, 通过 miRNA 微阵列技术(miRNA-microarray)发现了 66 个 miRNA 在牙鲆变态时期的表达存在显著差异, 其中包括 3 个调控成肌细胞增殖分化的 miR-1、miR-133 和 miR-206、调控色素沉积的 miR-25 及在皮肤特异表达的 miR-203^[20]。变态前期 *let-7*^[18] 和 miR-17^[70] 表达量显著提高, 用硫脲抑制 *let-7* 的表达, 牙鲆变态过程停滞, 说明 *let-7* 参与调控牙鲆变态过程; 过表达 miR-17, 其靶基因 *CDC42* 的表达量显著降低, miR-17 通过抑制 *CDC42* 表达调控软骨形成、增殖及骨的重吸收过程, 最终调控牙鲆体轴不对称的发育和组织器官的重排。

海鞘属于尾索动物, 具有浮游生活和固着生活两个生活阶段, 附着变态是衔接这两个阶段的重要生理过程。海鞘幼体附着变态包含了一系列细胞学

改变, 由多种分子机制进行调节。MAPK 信号通路参与调控玻璃海鞘 (*Ciona intestinalis*) 的附着变态过程, 浮游幼体后期, 表皮细胞生长因子(Epidermal Growth Factor, EGF)和 ERK 信号通路被激活, 细胞外信号促使浮游幼体通过附着乳突附着在基底, 然后位于中枢神经系统的 JNK 和 β 肾上腺素信号传导通路被激活, 从而触发海鞘蝌蚪幼体尾部不同类型细胞的凋亡退化^[71]。作者已经筛选出海鞘附着变态期表达量明显变化的诸多 miRNAs, 并鉴定出 3 个 miRNAs (miR-4000f、miR-4018a 和 miR-4018b)特异性表达在海鞘幼体的间充质细胞中, 幼虫变态后, 其表达水平显著降低, 这意味着其可能在海鞘幼体变态中通过释放抑制表达的靶基因而调控成体组织的新生过程^[72]。

研究人员应用差异显示 PCR、基因芯片和转录组学等方法鉴别了大量鲍^[73-75]和牡蛎^[76-77]等附着变态的相关基因; 应用蛋白质组学研究方法, 识别了牡蛎附着变态相关的多种蛋白^[78]。参与调控藤壶 (*Amphibalanus amphitrite*)附着变态和基质选择的重要基因和蛋白也相继被发现^[79]。但海洋无脊椎动物中与附着变态相关的 miRNAs 至今报道不多。太平洋牡蛎中, 已经识别了包括 *cgi-miR-33-5p* 在内的多个 miRNA 在面盘幼虫时期高表达, 由于 miR-33-5p 的保守性及其人类同源 miRNAs, miR-33a-5p 和 miR-33b-5p 对胰岛素信号通路和脂肪酸代谢的调控功能^[80-81], 推测 miR-33-5p 可能参与幼虫变态时期的代谢调控^[51]。

3.4 应激反应

盐度是水生动物生理代谢的重要影响因素, 水环境中盐度的变化会引起动物各项生理指标的变化, 海洋动物对盐度的反应主要靠渗透压调节来完成。miRNAs 对海洋动物渗透压的调控机制尚不明确^[41], 这方面的研究报道也非常有限。在受低盐胁迫的情况下, 太平洋牡蛎 miR-1984、miR-92-3p 高表达, 而 miR-183、miR-2353 和 miR-184-3p 表达明显降低^[40], miR-183 通过激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路调节细胞凋亡^[82], 参与环境胁迫调控; 香港巨牡蛎 miR-3205 表达量增加而 miR-2353 显著降低^[41]; 梭子蟹 miR-2788 可以调控腺苷甲硫氨酸合成酶(S-adenosylmethionine synthetase, SAM)的表达, SAM 对植物抵御高盐、高碱环境有着重要的作用, 暗示了 miR-2788 在梭子蟹渗透压调控中有着十分重要的作用^[36]。上述表达变化显著 miRNA 的靶基因涉及了很多渗透压调节过程, 如细胞内蛋白运输, 氨基酸代谢, 几丁质代谢和离子转运等^[36]。鱼类可以通过肾脏、

鳃保持体内水分和盐的平衡,控制体表细胞膜的通透性来调节渗透压,渗透胁迫转录因子 1(osmotic stress transcription factor 1, OSTF1)在渗透压调节过程中起着重要作用,miR-8 家族^[83]和 miR-30c^[84]被报道参与淡水鱼类渗透压的调节,但调控海水鱼类渗透压的 miRNA 至今未见报道。

研究证明去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE)在牡蛎处于干燥环境时会显著上升,在太平洋牡蛎中,miR-365 被去甲肾上腺素调控,从而进一步上调 CgHSP90AA1 的表达,抵抗潮间带的缺水环境;抑制去甲肾上腺素的分泌,miR-365 的表达也会受到抑制^[40],因此在缺水条件下,机体可以通过 NE 调节 miRNA 的表达抵御干燥环境。Bao^[43]等构建了重金属镉处理泥蚶(*Tegillarca granosa*)及未处理泥蚶的 miRNA 库,获得了重金属镉处理后表达量显著变化的 miRNA,其中,miR-21 的靶基因是阳离子转运和扩散蛋白(cation transport and diffusion facilitators, CDF),说明 miR-21 可能通过抑制 CDF,维持体内稳态及耐受性;同时他们还发现了一些与重金属转运相关的靶基因,如重金属转运 ATP 酶,解聚素和金属蛋白酶,谷氨酰胺合成酶和 GTP 酶激活蛋白,它们分别是 miR-8、miR-10、miR-67 的靶基因,因此他们推测 miRNA 在软体动物环境胁迫中扮演了极为重要的角色。

4 海洋动物 miRNA 研究存在的问题及展望

通过建立不同组织、不同发育时期或不同生长条件下的 miRNA 文库,已经在海洋动物中筛选并鉴定出上千个 miRNA。研究结果表明 miRNA 在海洋动物免疫、发育、生长等过程中起着重要作用。虽然 miRNA 数量较多,但对其表达定位及功能分析的研究还比较少,经实验证实参与调控海洋动物发育、生长和免疫等过程的 miRNA 更是鲜有报道。

海洋动物具有在脊椎动物中功能保守的 miRNA,还包括一部分海洋动物自身特有的 miRNA,研究海洋动物特异 miRNA 将有利于了解 miRNA 的起源和进化机制,发现 miRNA 的新功能。miRNA 通过调控靶基因的表达行使生物学功能,生物信息学预测靶基因数量增长迅速,靶基因的鉴定就成为 miRNA 功能研究的关键。开发高通量特异的,灵敏度高的 miRNA 靶基因筛选与鉴定方法对 miRNA 功能研究变得十分重要。大多数海洋动物是重要的经济物种,

发现并验证与经济性状相关的 miRNA,将会提高养殖动物的繁殖,生长及抗病能力。

总之,海洋动物的各项生理过程都通过复杂的信号传导通路和基因通路调控,miRNA 是这一调控网络中的重要因子,深入研究 miRNA 在海洋动物中的调控作用,将促进对重要功能基因转录后调控机制的认识,对于深入揭示海洋动物重要生理过程的分子机制具有重要意义。

参考文献:

- [1] Carthew R W, Sontheimer E J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs[J]. Cell, 2009, 136(4): 642-655.
- [2] Guo H, Ingolia N T, Weissman J S, et al. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels[J]. Nature, 2010, 466(7308): 835-840.
- [3] Ambros V. A hierarchy of regulatory genes controls a larva-to-adult developmental switch in *C. elegans*[J]. Cell, 1989, 57(1): 49-57.
- [4] Horvitz H R, Sulston J E. Isolation and genetic characterization of cell-lineage mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*[J]. Genetics, 1980, 96(2): 435-454.
- [5] Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854.
- [6] Reinhart B J, Slack F J, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature, 2000, 403(6772): 901-906.
- [7] Lee Y, Kim M, Han J J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II[J]. Embo Journal, 2004, 23(20): 4051-4060.
- [8] Lee Y, Jeon K, Lee J T, et al. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization[J]. EMBO J, 2002, 21(17): 4663-4670.
- [9] Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing[J]. Nature, 2003, 425(6956): 415-419.
- [10] Bohnsack M T, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs[J]. Rna-a Publication of the Rna Society, 2004, 10(2): 185-191.
- [11] Griffiths-Jones S, Hui J H, Marco A, et al. MicroRNA evolution by arm switching[J]. EMBO Rep, 2011, 12(2): 172-177.
- [12] Petersen C P, Bordeleau M E, Pelletier J, et al. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells[J]. Mol Cell, 2006, 21(4): 533-542.
- [13] Bagga S, Bracht J, Hunter S, et al. Regulation by *let-7*

- and lin-4 miRNAs results in target mRNA degradation[J]. Cell, 2005, 122(4): 553-563.
- [14] Mortensen R D , Serra M , Steitz J A , et al. Posttranscriptional activation of gene expression in *Xenopus laevis* oocytes by microRNA-protein complexes (miRNPs)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(20): 8281.
- [15] Shahid S, Kim G, Johnson N R, et al. MicroRNAs from the parasitic plant *Cuscuta campestris* target host messenger RNAs[J]. Nature, 2018, 553(7686): 82-85.
- [16] Betel D, Wilson M, Gabow A, et al. The microRNA.org resource: targets and expression[J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36: 149-153.
- [17] Costello M J, Chaudhary C. Marine biodiversity, biogeography, deep-sea gradients, and conservation[J]. Curr Biol, 2017, 27(11): R511-R527.
- [18] Fu Y S, Shi Z Y, Wang G Y, et al. Expression of let-7 microRNAs that are involved in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) metamorphosis[J]. Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology, 2013, 165(2): 106-113.
- [19] Zhang B C, Zhou Z J, Sun L. Pol-miR-731, a teleost miRNA upregulated by megalocytivirus, negatively regulates virus-induced type I interferon response, apoptosis, and cell cycle arrest[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 28354.
- [20] Fu Y, Shi Z, Wu M, et al. Identification and differential expression of microRNAs during metamorphosis of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. PLoS One, 2011, 6(7): e22957.
- [21] Cui J X, Gao Y H, Chu Q, et al. MiRNA-8159 is involved in TLR signaling pathway regulation after pathogen infection by direct targeting TLR13 in miiuy croaker[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 66: 531-539.
- [22] Cui J X, Chu Q, Xu T J. MiR-122 involved in the regulation of toll-like receptor signaling pathway after *Vibrio anguillarum* infection by targeting TLR14 in miiuy croaker[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 58: 67-72.
- [23] Chu Q, Gao Y H, Bi D K, et al. MicroRNA-148 as a negative regulator of the common TLR adaptor mediates inflammatory response in teleost fish[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 4124-4133.
- [24] Bizuayehu T T, Fernandes J M O, Johansen S D , et al. Characterization of novel precursor miRNAs using next generation sequencing and prediction of miRNA targets in Atlantic halibut[J]. Plos One, 2013, 8(4): e61378.
- [25] Yang R, Zheng T, Cai X, et al. Genome-wide analyses of amphioxus microRNAs reveal an immune regulation via miR-92d targeting C3[J]. J Immunol, 2013, 190(4): 1491-1500.
- [26] Lv M, Chen H, Shao Y, et al. miR-137 modulates coelomocyte apoptosis by targeting 14-3-3zeta in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Dev Comp Immunol, 2017, 67: 86-96.
- [27] Lu M, Zhang P, Li C, et al. MiR-31 modulates coelomocytes ROS production via targeting p105 in *Vibrio splendidus* challenged sea cucumber *Apostichopus japonicus* in vitro and in vivo[J]. Fish Shellfish Immunol, 2015, 45(2): 293-299.
- [28] Lv Z, Li C, Zhang P, et al. MiR-200 modulates coelomocytes antibacterial activities and LPS priming via targeting Tollip in *Apostichopus japonicus*[J]. Fish Shellfish Immunol, 2015, 45(2): 431-436.
- [29] Wei Z, Liu X, Feng T, et al. Novel and conserved microRNAs in Dalian purple urchin (*Strongylocentrotus nudus*) identified by next generation sequencing[J]. Int J Biol Sci, 2011, 7(2): 180-192.
- [30] Song J L, Stoeckius M, Maaskola J, et al. Select microRNAs are essential for early development in the sea urchin[J]. Dev Biol, 2012, 362(1): 104-113.
- [31] Stepicheva N A, Song J L. MicroRNA-31 modulates skeletal patterning in the sea urchin embryo[J]. Development, 2015, 142(21): 3769-3780.
- [32] Huang T, Zhang X. Functional analysis of a crustacean microRNA in host-virus interactions[J]. J Virol, 2012, 86(23): 12997-13004.
- [33] Shu L, Zhang X. Shrimp miR-12 suppresses white spot syndrome virus infection by synchronously triggering antiviral phagocytosis and apoptosis pathways[J]. Front Immunol, 2017, 8: 855-867.
- [34] Yang L, Yang G, Zhang X B. The miR-100-mediated pathway regulates apoptosis against virus infection in shrimp[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 40(1): 146-153.
- [35] Zhou Y, He Y, Wang C, et al. Characterization of miRNAs from hydrothermal vent shrimp *Rimicaris exoculata*[J]. Mar Genomics, 2015, 24 (3): 371-378.
- [36] Lv J, Liu P, Gao B, et al. The identification and characteristics of salinity-related microRNAs in gills of *Portunus trituberculatus*[J]. Cell Stress & Chaperones, 2015, 21(1): 1-12.
- [37] Li S, Zhu S, Li C, et al. Characterization of microRNAs in mud crab *Scylla paramamosain* under *Vibrio parahaemolyticus* infection[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e73392.
- [38] Zhou Z, Wang L L, Song L S, et al. The identification and characteristics of immune-related microRNAs in haemocytes of oyster *Crassostrea gigas*[J]. Plos One, 2014, 9(2): e88397.
- [39] Chen H, Wang H, Jiang S, et al. An oyster species-

- specific miRNA scaffold42648_5080 modulates haemocyte migration by targeting integrin pathway[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 57: 160-169.
- [40] Chen H, Xin L, Song X, et al. A norepinephrine-responsive miRNA directly promotes CgHSP90AA1 expression in oyster haemocytes during desiccation[J]. Fish Shellfish Immunol, 2017, 64: 297-307.
- [41] Zhao X, Yu H, Kong L, et al. High throughput sequencing of small RNAs transcriptomes in two Crassostrea oysters identifies microRNAs involved in osmotic stress response[J]. Sci Rep, 2016, 6: 22687.
- [42] Chen G F, Zhang C Y, Jiang F J, et al. Bioinformatics analysis of hemocyte miRNAs of scallop Chlamys farreri against acute viral necrobiosis virus (AVNV)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 37(1): 75-86.
- [43] Bao Y B, Zhang L L, Dong Y H, et al. Identification and comparative analysis of the Tegillarca granosa haemocytes microRNA transcriptome in response to Cd using a deep sequencing approach[J]. Plos One, 2014, 9(4): e93619.
- [44] Jiao Y, Zheng Z, Du X, et al. Identification and characterization of microRNAs in pearl oyster Pinctada martensii by Solexa deep sequencing[J]. Mar Biotechnol (NY), 2014, 16(1): 54-62.
- [45] Jiao Y, Zheng Z, Tian R, et al. MicroRNA, Pm-miR-2305, participates in nacre formation by targeting pearl in pearl oyster Pinctada martensii[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(9): 21442-21453.
- [46] Tian R R, Zheng Z, Huang R L, et al. MiR-29a participated in nacre formation and immune response by targeting Y2R in Pinctada martensii[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(12): 29436-29445.
- [47] Zheng Z, Du X D, Xiong X W, et al. PmRunt regulated by Pm-miR-183 participates in nacre formation possibly through promoting the expression of collagen VI-like and Nacrein in pearl oyster Pinctada martensii[J]. Plos One, 2017, 12(6): e0178561.
- [48] Campo-Paysaa F, Semon M, Cameron R A, et al. MicroRNA complements in deuterostomes: origin and evolution of microRNAs[J]. Evolution & Development, 2011, 13(1): 15-27.
- [49] Dai Z H, Chen Z Z, Ye H, et al. Characterization of microRNAs in cephalochordates reveals a correlation between microRNA repertoire homology and morphological similarity in chordate evolution[J]. Evolution & Development, 2009, 11(1): 41-49.
- [50] Wheeler B M, Heimberg A M, Moy V N, et al. The deep evolution of metazoan microRNAs[J]. Evol Dev, 2009, 11(1): 50-68.
- [51] Xu F, Wang X, Feng Y, et al. Identification of conserved and novel microRNAs in the Pacific oyster Crassostrea gigas by deep sequencing[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104371.
- [52] Meng X, Zhang X, Li J, et al. Identification and comparative profiling of ovarian and testicular microRNAs in the swimming crab Portunus trituberculatus[J]. Gene, 2018, 640: 6-13.
- [53] Iovino N, Pane A, Gaul U. MiR-184 has multiple roles in drosophila female germline development[J]. Developmental Cell, 2009, 17(1): 123-133.
- [54] Wu J W, Bao J Q, Wang L, et al. MicroRNA-184 downregulates nuclear receptor corepressor 2 in mouse spermatogenesis[J]. BMC Developmental Biology, 2011, 11(1): 1-10.
- [55] Sha Z, Gong G, Wang S, et al. Identification and characterization of Cynoglossus semilaevis microRNA response to Vibrio anguillarum infection through high-throughput sequencing[J]. Dev Comp Immunol, 2014, 44(1): 59-69.
- [56] Purcell M K, Smith K D, Hood L, et al. Conservation of toll-like receptor signaling pathways in teleost fish[J]. Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics, 2006, 1(1): 77-88.
- [57] Cullen B R. MicroRNAs as mediators of viral evasion of the immune system[J]. Nature Immunology, 2013, 14(3): 205-210.
- [58] Zhang B C, Zhou Z J, Sun L. Pol-miR-731, a teleost miRNA upregulated by megalocytivirus, negatively regulates virus-induced type I interferon response, apoptosis, and cell cycle arrest[J]. Sci Rep, 2016, 6: 28354.
- [59] Hou J, Wang P, Lin L, et al. MicroRNA-146a feedback inhibits RIG-I-dependent Type I IFN production in macrophages by targeting TRAF6, IRAK1, and IRAK2[J]. J Immunol, 2009, 183(3): 2150-2158.
- [60] Zhou H, Huang X, Cui H, et al. MiR-155 and its star-form partner miR-155* cooperatively regulate type I interferon production by human plasmacytoid dendritic cells[J]. Blood, 2010, 116(26): 5885-5894.
- [61] Li C, Feng W, Qiu L, et al. Characterization of skin ulceration syndrome associated microRNAs in sea cucumber Apostichopus japonicus by deep sequencing[J]. Fish Shellfish Immunol, 2012, 33(2): 436-441.
- [62] Chen H, Jiang S, Wang L, et al. Cgi-miR-92d indirectly regulates TNF expression by targeting CDS region of lipopolysaccharide-induced TNF-alpha factor 3 (CgLTAF3) in oyster Crassostrea gigas[J]. Fish Shellfish Immunol, 2016, 55: 577-584.
- [63] Ng W L, Yan D, Zhang X, et al. Over-expression of miR-100 is responsible for the low-expression of ATM in the human glioma cell line: M059J[J]. Dna Repair, 2010, 9(11): 1170-1175.

- [64] Sun J, Chen Z, Tan X, et al. MicroRNA-99a/100 promotes apoptosis by targeting mTOR in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Medical Oncology, 2013, 30(1): 411-419.
- [65] Huang T, Zhang X. Functional analysis of a crustacean microRNA in host-virus interactions[J]. J Virol, 2012, 86(23): 12997-13004.
- [66] 雷霖霖, 马爱军, 刘新富, 等. 大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)胚胎及仔稚幼鱼发育研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(1): 9-18.
Lei Jilin, Ma Aijun, Liu Xinfu, et al. Study on the development of embryo, larval and juvenile of turbot *Scophthalmus maximus* L.[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2003, 34(1): 9-18.
- [67] 张俊玲, 施志仪. 牙鲆早期阶段的变态发育及其机制[J]. 上海海洋大学学报, 2003, 12(4): 348-352.
Zhang Junling, Shi Zhiyi. Metamorphosis and mechanism during early development of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2003, 12(4): 348-352.
- [68] Inui Y, Miwa S. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae[J]. General & Comparative Endocrinology, 1985, 60(3): 450.
- [69] Shao C, Bao B, Xie Z, et al. The genome and transcriptome of Japanese flounder provide insights into flatfish asymmetry[J]. Nature Genetics, 2017, 49(1): 119-124.
- [70] Zhang H, Fu Y, Shi Z, et al. MiR-17 is involved in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) development by targeting the Cdc42 mRNA[J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2016, 191: 163-170.
- [71] Chambon J P, Nakayama A, Takamura K, et al. ERK- and JNK-signalling regulate gene networks that stimulate metamorphosis and apoptosis in tail tissues of ascidian tadpoles[J]. Development, 2007, 134(6): 1203-1219.
- [72] Zhang X, Liu X, Liu C, et al. Identification and characterization of microRNAs involved in ascidian larval metamorphosis [J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 168.
- [73] He T, Chen J, Zhang J, et al. SARP19 and vdg3 gene families are functionally related during abalone metamorphosis[J]. Development Genes and Evolution, 2014, 224(4-6): 197-207.
- [74] Huang Z, Chen Z, Ke C, et al. Pyrosequencing of haliotis diversicolor transcriptomes: insights into early developmental molluscan gene expression[J]. PloS One, 2012, 7(12): e51279.
- [75] Williams E A, Degnan S M. Carry-over effect of larval settlement cue on postlarval gene expression in the marine gastropod *Haliotis asinina*[J]. Molecular Ecology, 2009, 18(21): 4434-4449.
- [76] Qin J, Huang Z, Chen J, et al. Sequencing and de novo analysis of *Crassostrea angulata* (Fujian oyster) from 8 different developing phases using 454 GSFLX[J]. PloS One, 2012, 7(8): e43653.
- [77] Yang B, Li L, Pu F, et al. Molecular cloning of two molluscan caspases and gene functional analysis during *Crassostrea angulata* (Fujian oyster) larval metamorphosis[J]. Molecular Biology Reports, 2015, 42(5): 963-975.
- [78] Huan P, Wang H, Liu B. A label-free proteomic analysis on competent larvae and juveniles of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. PloS One, 2015, 10(8): e0135008.
- [79] Zhang G, He L, Wong Y, et al. p38 MAPK regulates PKA α and CUB-serine protease in *Amphibalanus ampelitrity* cyprids[J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 14767.
- [80] Davalos A, Goedeke L, Smibert P, et al. MiR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(22): 9232-9237.
- [81] Najafi-Shoushtari S H, Kristo F, Li Y, et al. MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis[J]. Science, 2010, 328(5985): 1566-1569.
- [82] Kovalchuk O, Zemp F, Filkowski J N, et al. MicroRNAome changes in bystander three-dimensional human tissue models suggest priming of apoptotic pathways[J]. Carcinogenesis, 2010, 31(10): 1882-1888.
- [83] Flynt A S, Thatcher E J, Burkewitz K, et al. MiR-8 microRNAs regulate the response to osmotic stress in zebrafish embryos[J]. J Cell Biol, 2009, 185(1): 115-127.
- [84] Yan B, Guo J T, Zhao L H, et al. MiR-30c: a novel regulator of salt tolerance in tilapia[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 425(2): 315-320.

Progress and perspective of microRNA research in marine animals

LIU Xiao-zhuo¹, ZHANG Xiao-ming^{1, 2}, DONG Bo^{1, 2}

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China)

Received: Dec. 11, 2017

Key words: microRNAs; marine animals; osmotic regulation; immune; metamorphosis

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are small noncoding RNAs that modulate the expression of diverse targeted mRNAs at the posttranscriptional level. They are also known to be involved in numerous biological processes. Although a large number of miRNAs have been identified in marine animals, only a few investigations have been conducted on their functional mechanisms. In this review, we first summarize the biogenesis mechanisms and the advances in miRNA identification in marine animals. We then focus on the progress made in the research on miRNA functions in some specific physiological processes of marine animals, such as osmotic regulation, immune, and metamorphosis. Finally, we outline a prospective of the research on marine animal miRNAs.

(本文编辑: 谭雪静)