



评述

动物中 microRNA 的保守性和进化历程

罗艳, 张群, 梁宇君, 张士瑾*

中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003

* 联系人, E-mail: sczhang@ouc.edu.cn

收稿日期: 2011-08-29; 接受日期: 2011-12-26

国家自然科学基金(批准号: 30900135)资助项目

doi: 10.1360/052011-594

摘要 microRNA 是一类长度约为 22 个核苷酸的内源性非编码单链 RNA, 在后生动物中普遍存在, 在转录后过程调控基因表达. miRNA 在个体发育过程中发挥着各种功能, 如发育时序调控和细胞分化、神经发育等. miRNA 在各种后生动物中具有保守性, 而且多个关键类群的出现皆伴随着大量新 miRNA 的产生, 这些现象都表明 miRNA 与动物的系统发生密切相关. 本文从 miRNA 的产生和作用机制、在后生动物中的分布格局及其在个体发育中的调控功能 3 个方面论述了 miRNA 的保守性, 并结合 miRNA 的发生和发展历程, 探讨了 miRNA 在动物进化中起到的重要作用.

关键词microRNA
后生动物
保守
进化

microRNAs(miRNAs)是一类长度为 18~25 nt 的小 RNA 分子, 它们是生物基因调控网络中的重要成员. miRNA 主要通过和靶基因的 mRNA 互补, 在转录后过程(post-transcription)中控制蛋白质翻译^[1]. 它们在动物的胚胎早期发育、细胞增殖、分化、凋亡及代谢过程中起重要作用^[2-5]. 近年来, 有关 miRNAs 的研究发展迅速, 在基因调控模式、肿瘤发生、个体发育和进化等方面的研究都引起了人们的极大关注, 并取得了令人瞩目的进展^[6-10].

Lee 等人^[11]在秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中发现了第一个 miRNA——lin-4. lin-4 可与 lin-14 基因的 mRNA 特定区域结合, 以抑制 lin-14 的表达, 最终导致 lin-14 蛋白合成减少, 从而调控幼虫阶段的发育过程. 后来, Reinhart 等人^[12]在线虫中发现了第二个 miRNA——let-7, 它主要控制幼虫的 L4 阶段向成虫阶段的发育. 很快, 人们发现 let-7 在人和

果蝇中都存在^[13]. 后来的研究^[10]表明, let-7 几乎存在于所有的后生动物中. 随着基因芯片、高通量测序等新技术手段的不断发展, 数以千计的 miRNAs 及其靶位点在各种动物类群中被发现. 目前, 对人、斑马鱼(*Danio rerio*)、小鼠(*Mus musculus*)、线虫和果蝇(*Drosophila melanogaster*)等模式生物的 miRNAs 都进行了深入研究, 另外对其他一些重要生物类群 miRNAs 的研究工作也已开展^[10,14-16]. 这些工作使人们对动物中存在的 miRNAs 的多样性、保守性以及发生和进化方式有了更深层次的理解.

很多 miRNAs 基因家族在后生动物中具有不同程度的保守性. 这些保守的 miRNAs 在后生动物发育过程中起着非常重要的调控作用, 比那些非保守的 miRNAs 具有更高效的表达及更广泛的功能^[17], 由此决定了保守的 miRNAs 在后生动物的进化过程中的重要地位. 本文就目前对各种后生动物中存在的一

些保守 miRNAs 的特征、功能和进化机制以及 miRNAs 在动物系统发育和演化中所起的重要作用等进行概括综述。

1 所有后生动物中存在的 miRNAs 都具有相同的生物合成途径和作用机制

成熟 miRNAs 在动物体内具有相同的合成途径, 它们都要在细胞核内和细胞质中各进行一次剪切。首先, miRNA 基因在细胞核内被 RNA 多聚酶 II 转录成原 miRNA(primary miRNA, pri-miRNA)^[18], 然后被核酸内切酶 Drosha RNaseIII 剪切成长度为 70~80 nt 的具发夹环结构的前体 miRNA(miRNA precursor, pre-miRNA)。pre-miRNA 在 Ran-GTP 依赖的核质/细胞质转运蛋白 Exportin 5 的作用下, 从细胞核运输到细胞质中^[19]。在另一种 RNA-III 酶 Dicer(双链 RNA 专一性 RNA 内切酶)的作用下, pre-miRNA 在细胞质中被切割成 miRNA: miRNA* 双螺旋结构(miRNA: miRNA* duplex)^[20]。随着双螺旋结构的解链, 单链、成熟的 miRNA 分子被释放出来。与成熟 miRNA 配对的另一条小分子 RNA, 即 miRNA*, 通常会降解, 其在细胞中的丰度很小。也有研究表明, miRNA* 并不降解, 它对基因同样有调控作用^[21]; 另一方面, miRNA* 可能会转变成新的 miRNA^[22]。

植物与动物 miRNA 的作用机制大致相同, 成熟的 miRNA 与 RNA 诱导的基因沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)结合, 通过与靶基因 mRNA 的 3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)互补配对来对靶基因的转录子进行翻译抑制或降低其稳定性^[1,23], 或与靶基因的编码区(coding sequence, CDS)互补配对来进行作用^[24]。靶基因与 miRNA 在植物中必须完全配对, 但在动物中则非完全配对。通常, 动物中的 miRNA 与靶基因的匹配位点位于 miRNA 的 5'端的 2~8 nt, 称为种子序列(seed region)^[25]。由于动物中 miRNA 与靶基因位点的配对机制仍不明确, 所以 miRNA 靶位点的确定还处于初步阶段。目前, 仅根据 miRNA 与 mRNA 匹配的 6~8 个核苷酸来确定 miRNAs 的靶基因, 此判别标准比较模糊。通过各种计算机程序的预测, 往往得到相当数量的候选基因, 给靶位点的验证带来更多的困难。另外, miRNA 成熟结构序列的第一位置的核苷酸并不稳定, 可以沿 5'方

向或 3'方向移动一位, 这种现象称为“种子移转”(seed shifting), 种子序列也会相应地移动, 使得 miRNA 的靶基因相应发生改变^[10]。

2 后生动物中的保守 miRNAs 家族

通过克隆、基因芯片、小 RNA 文库筛选、高通量测序等各种研究手段从不同动物体内寻找到更多的 miRNAs 家族, 使 miRNAs 的进化研究进一步深入。尤其, 一些后生动物的基部类群, 如扁形动物、纽形动物、环节动物等的 miRNAs 的发现^[10,15,26,27], 为后生动物及 miRNA 的系统发育与进化研究提供了更多的证据。

检索最新版本 miRNAs 数据库^[28](Release 17), 比较了已获得的不同动物的 miRNAs 家族, 共得到 376 个在后生动物中存在的保守 miRNAs 家族, 按照起源时间和普遍共有性的程度将这些保守 miRNAs 进行了划分(表 1), 现分述如下:

(1) 后生动物保守的 miRNAs。Grimson 等人^[14]和 Wheeler 等人^[10]通过建立小分子 RNA 库进行测序并与基因组序列比对, 得到了多孔动物海绵(*Amphimedon queenslandica*), 以及刺丝胞动物海葵(*Nematostella vectensis*)、水螅(*Hydra magnipapillata*)的 miRNAs, 表明作为基因调控的 miRNA 在后生动物演化早期就已存在。但有趣的是, 在这些原始简单的后生动物中发现的 miRNA 家族仅有 mir-100 与两侧对称动物同源。

mir-100 是一个非常保守的 miRNA 家族, 其成熟序列在果蝇和人都完全一致, 海葵的成熟序列与人仅第一个核苷酸不同。大部分后生动物中仅存在 1 个 mir-100 基因, 只有七鳃鳗(*Petromyzon marinus*)的基因组中存在 3 个 mir-100(mir-100a, mir-100b 和 mir-100c)基因, 另外斑马鱼中存在 2 个 mir-100 基因: mir-100-1 和 mir-100-2。

(2) 两侧对称动物保守的 miRNAs。由现有数据可见, 两侧对称动物中至少存在 32 个保守的 miRNA 家族, 表明这些 miRNA 家族应该存在于后口动物与原口动物最近的共同祖先中。mir-216 曾被认为是脊索动物所特有^[7,26], 但后来在两侧对称动物的基部类群扁形动物、软体动物和纽形动物中也有发现^[10], 因此将其归为此类保守 miRNAs。

let-7 是所有后生动物中最为保守的一个 miRNA

表 1 保守的 miRNA 家族在后生动物中的分布格局^{a)}

动物类群	miRNAs 数量	miRNA 家族
后生动物	1	100
两侧对称动物	32	let-7, 1, 7, 9, 10, 29, 31, 33, 34, 71, 79, 92, 96, 124, 125, 133, 137, 153, 182, 183, 184, 190, 193, 210, 216, 219, 242, 252, 278, 281, 315, 375
原口动物	13	Bantam, 2, 8, 12, 36, 67, , 87, 277, 279, 317, 981, 993, 996
后口动物	2	22, 200
脊索动物	14	15, 19, 101, 126, 129, 132, 135, 141, 155, 181, 196, 199, 217, 367
脊椎动物	73	16, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 30, 32, 93, 98, 99, 103, 106, 107, 122, 128, 130, 138, 139, 140, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 150, 152, 187, 191, 192, 194, 202, 203, 204, 205, 206, 108, 211, 212, 214, 215, 218, 221, 222, 223, 301, 302, 320, 338, 363, 365, 383, 426, 429, 449, 451, 454, 455, 456, 466, 489, 490, 497, 499, 551, 762, 875
哺乳动物	125	28, 105, 127, 134, 136, 151, 185, 186, 188, 195, 197, 224, 296, 297, 298, 299, 300, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330, 331, 335, 337, 339, 340, 342, 345, 346, 350, 361, 362, 369, 370, 371, 374, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 384, 409, 410, 411, 421, 422, 423, 424, 432, 433, 448, 450, 452, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 491, 493, 494, 495, 496, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 509, 511, 514, 532, 539, 541, 542, 543, 544, 545, 568, 574, 582, 590, 592, 598, 599, 615, 628, 652, 653, 654, 656, 660, 664, 665, 668, 670, 671, 675, 676, 708, 718, 720, 744, 758, 759, 760, 761, 764, 767, 770, 802, 872, 873, 874, 876, 877, 885
灵长类动物	116	198, 372, 373, 412, 422, 431, 498, 506, 507, 508, 510, 512, 513, 514, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 523, 524, 525, 526, 548, 549, 550, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 562, 563, 567, 569, 570, 571, 572, 573, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 583, 584, 586, 587, 589, 593, 595, 597, 600, 601, 603, 604, 605, 607, 609, 611, 612, 616, 618, 619, 622, 624, 625, 626, 627, 631, 632, 633, 636, 638, 639, 640, 642, 643, 644, 648, 649, 650, 651, 657, 661, 662, 663, 711, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 920, 922, 924, 933, 934, 936, 937, 938, 939, 940, 942, 944, 1224, 1225, 1226, 1227, 1233, 1234

a) 所有数据来源于 miRNAs 数据库(Release 17)^[28]

家族^[13,29,30]. 除无体腔扁形动物外, let-7 广泛存在于脊椎动物与无脊椎动物中, 并且在后生动物的基部类群中都有发现, 如毛颚动物、纽形动物、多肠目和三肠目扁形动物中^[13,30]. 各种生物之间 let-7 的成熟序列的同源性可达 85%~100%^[31]. 另外, mir-124 也非常保守, 几乎存在于所有的两侧对称动物中.

在 32 个两侧对称动物保守 miRNAs 中, 其中 7 个仅存在于原口动物和一些低等后口动物中, 而在脊椎动物中没有发现. 例如, mir-71, mir-79, mir-242, mir-252 和 mir-278 为多数原口动物共有, 在囊舌虫(*Saccoglossus kowalevskii*)、海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)和文昌鱼(*Branchiostoma floridae*)中都存在, 但在海鞘(*Ciona intestinalis*)和脊椎动物中未发现^[7]; 而 mir-28, mir-315 除了在原口动物和低等后口动物中被发现外, 仅在无颌类的脊椎动物中被发现. 因此, 这 7 个 miRNAs 可能是起源较早的古老 miRNAs, 也应存在于原口动物和后口动物的共同祖先中.

(3) 原口动物保守的 miRNAs. 原口动物中共有的保守 miRNAs 有 13 个. 其中包括 bantam, 最初在多种昆虫中被发现, 认为是昆虫特有^[32], 其成熟序列在不同昆虫的同源性高达 90%, 仅在第 10~12 位核苷酸会产生差异. 果蝇中, bantam 在翼盘和眼部发育中具有促进细胞增殖的作用^[33]. 后来, bantam 又在扁形虫(*Schmidtea mediterranea*)和小头虫(*Capitella teleta*)

中被发现^[10,15], 表明 bantam 并非昆虫特有, 而是原口动物中的一个古老 miRNA. 但在脊椎动物中还未发现此 miRNA, 说明此 miRNA 仅出现在原口动物这条演化支上.

(4) 后口动物保守的 miRNAs. 在后口动物这一演化支中, 共有的 miRNAs 仅为 mir-22 和 mir-200. mir-200 在囊舌虫、海胆、海鞘、文昌鱼和脊椎动物中都存在. 而在脊椎动物中, mir-200 通常与 mir-141 或 mir-429 形成基因簇, 调控上皮细胞向间叶细胞转化的发育过程^[34], 但后两种 miRNAs 还未在除脊椎动物以外的后口动物中发现.

(5) 脊索动物保守的 miRNAs. 目前脊索动物中存在的保守 miRNAs 有 14 个, 而 Heimberg 等人^[7]仅在脊索动物中发现 2 个共有的 miRNAs. 该数据的更新是由实验技术手段的推进, 更多的 miRNAs 在原始的脊索动物海鞘、文昌鱼及柱头虫(*Oikopleura dioica*)中被发现^[35~37].

(6) 脊椎动物保守的 miRNAs. 作为后生动物一个较大的演化支, 脊椎动物中共有的保守 miRNAs 达到 73 个. 其中, 在无颌类七鳃鳗的基因组中只拥有其中的 38 个, 表明其在脊椎动物基部类群的系统地位.

(7) 哺乳动物保守的 miRNAs. 哺乳动物共有的 miRNAs 有 125 个. 从已知各种哺乳动物的 miRNAs

来看, 哺乳类发生 miRNAs 丢失的现象非常少. 这些新产生的保守 miRNAs 可能参与了哺乳类与其他后生动物不同的发育模式. 例如, mir-134 与哺乳动物脑部的发育相关^[38,39]. mir-134 特定在小鼠脑部表达, 它通过调控一种蛋白激酶 Limk1 的表达而控制树突棘形成突触的过程^[38]. 最近, Gao 等人^[39]报道了 mir-134 介导的 SIRT1 调控的突触可塑性和记忆形成的一种新路径.

(8) 灵长类保守的 miRNAs. 灵长类动物在后生动物中属于较年轻的演化分支, 共有 116 个 miRNAs 在灵长类保守. 一些保守的 miRNAs 存在于人和黑猩猩(*Pan troglodytes*)的脑部, 这些脑部特有 miRNAs 与脑部特有基因的表达相关, 控制高等生物的脑部发育^[40].

3 miRNAs 的功能保守性

对多种动物 miRNAs 的时空表达研究表明, 在动物发育的过程中, 一些保守的 miRNAs 可在不同动物类群中的同源器官中表达, 表明它们的功能保守. 例如, mir-124 在斑马鱼和小鼠的脑部和脊髓中特定表达, 在果蝇的腹神经管中表达; mir-1 的特定表达部位是心脏和肌肉^[41~44]. 运用计算机手段分析脊椎动物的 miRNAs 靶基因, Robin 等人^[45]分析了人转录本的 3'UTR 区域, 发现一些与 miRNAs 匹配的位点也具有保守性, 意味着 miRNAs 的靶基因存在保守性, 而这些保守的 miRNAs 的靶基因在脊椎动物中也具有保守性, 表明这些 miRNAs 的功能在动物进化过程中仍然保留. 从目前更为广泛的 miRNA 基因的功能学研究来看, 这些保守的 miRNAs 的功能往往与动物的各种发育过程相关, 包括发育的时序调控、各种器官的发生与分化的发育过程等.

后生动物中广泛存在 let-7, 其成熟序列结构具有较高的保守性, 另外其保守性还表现在其作用机制上. 线虫中, let-7 主要调控 *hbl-1*, *lin-41*, *daf-12* 和 *RAS* 等基因^[46~49], 在晚期幼虫过渡为成虫的发育阶段中具有重要的作用^[50]. let-7 与这些不同靶基因结合的序列配对联体具有相同的二级结构, 通常与 let-7 的 5'端的前 5 个碱基完全匹配, 而在 let-7 的第 10 个碱基位置处或是靠近 3'末端形成一个较小的内环. 在果蝇的 let-7 功能研究中, 发现果蝇的 let-7 在从蛹到成虫的发育阶段具有重要的作用^[51], 相当于线虫从

幼虫至成虫的阶段. 因此从功能上看, let-7 的发育时序调控功能在线虫和果蝇中具有相似性.

果蝇 mir-9a, 人 mir-9 和小鼠 mir-9 的成熟序列完全相同, 它在不同生物中执行的功能也具有相似性. 果蝇的 mir-9a 调控周围神经系统中的 *senseless* 基因, 控制感觉器官前细胞(sensory organ precursors)的形成^[52]. mir-9 在斑马鱼受精后 24 h 的胚胎中表达量急剧增加, 而此时正是斑马鱼脑部开始发育之时^[29]. 在哺乳动物中, 人们发现 mir-9 在胚胎干细胞中控制神经的分化^[53,54]. 这些研究表明, mir-9 对后生动物中的脑部发育及神经发生及分化的过程进行调控.

mir-183 是一个非常保守的 miRNA, 在后口动物和原口动物中都存在^[26]. 脊椎动物中, mir-183 与 mir-96 和 mir-182 在基因组中的位置靠近, 形成 mir-183 基因簇. 在斑马鱼中, 这 3 个位置相近的 miRNAs 基因位于基因 *Nrf1* 和 *Ube2h* 之间, 具有共表达的特性, 形成 1~4 kb 片段不等的转录产物^[42]. 可在斑马鱼的眼部、鼻子的上皮细胞, 以及耳部和神经丘的感觉毛细胞中检测到这 3 个基因的表达. 在斑马鱼胚胎中注入 mir-183 基因簇成员, 则会对其发育过程造成影响, 还能引起神经丘迁移(neuromast migration)^[43]. 在小鼠的眼部和耳部的感觉毛细胞也检测到 mir-183 基因家族的表达^[55]. Pierce 等人^[56]发现, mir-183 表达的保守性不仅存在于脊椎动物中, 在无脊椎动物中的表达都存在保守性. 研究人员在半索动物囊舌虫的上皮细胞中发现 mir-183 的表达; 在无脊椎后口动物海胆中, mir-183 可在管足等神经支配的区域中表达; 在果蝇和线虫的感觉器官中也可见 mir-183 的表达. 由此可知, mir-183 可在有关感觉神经器官或细胞中表达. mir-183 表达方式的保守性, 与后生动物的感觉器官的发育调控相关.

往往越早出现的 miRNAs, 在动物的发育中所占位置更为重要, 其在生物体中表达的水平 and 广度都比后出现的高^[17]. 例如, mir-1 和 mir-208 都被发现与心脏发育有关. mir-1 为两侧对称动物保守, 在原始的扁形动物中就已出现^[10], 而 mir-208 出现较晚, 在脊椎动物中才出现^[7]. 除了调控心脏发育外, mir-1 还在骨骼肌里表达, 而 mir-208 则局限表达在心脏^[57]. 阻止 mir-1 的表达, 会发生心脏形态建成、电传导、细胞周期控制等方面的缺陷, 从而导致死亡^[58]; 而阻止 mir-208 的表达, 则不会产生这些致命

的效应, 表型基本正常, 只是心脏功能不太完善^[59].

4 miRNAs 在动物演化中的进化事件

4.1 miRNA 革新事件(miRNA innovation)与动物形态建成的复杂化

许多研究通过基因组序列比对的方法对各种后生动物存在的 miRNA 进行了系统演化研究^[7,8,10,26,60,61]. miRNAs 基因的进化模式不同于 *hox* 基因, miRNAs 基因家族的进化是通过连续性的更新方式来进行, 即在共同祖先中并不存在相同的 miRNAs 家族, 而是在衍生的各个进化谱系上产生全新的 miRNAs^[7,10], 这就是 miRNA 革新事件.

Wheeler 等人^[10]通过 Northern 杂交和基因组比对的方法研究了后生动物中的一些关键类群的 miRNAs, 他们发现在后生动物的重要演化分支处至少会增加一种新的 miRNA, 而新产生的 miRNA 家族仍然会在衍生的类群中保留, 即 miRNAs 的更新是连续性的事件. 例如, 低等的刺丝胞动物海葵和水螅增加了 1 个新的 miRNA 家族, 而在棘皮动物演化支上增加了 10 个新的 miRNA 家族.

后生动物的各演化支都可独立获得自身的 miRNAs, 但获得新 miRNAs 的速率并不一致. 在几乎相同的地质时间里, 两侧对称动物出现, 获得了 32 个新 miRNA 家族, 而刺丝胞动物仅获得了 1 个; 脊椎动物出现, 获得了 40 个新 miRNA 家族, 但甲壳动物、环节动物、软体动物及棘皮动物却仅有 5~8 个新 miRNAs 产生; 另外, 灵长类动物获得了 84 个新 miRNAs, 而啮齿类仅获得了 16 个新 miRNAs^[8].

较大程度的 miRNAs 革新事件发生在后生动物演化的 4 个重要阶段^[7,8,10,26,60,61]. 第一次是在两侧对称动物中, miRNA 发生扩张, 较刺丝胞动物, 两侧对称动物新产生的 miRNAs 为 32 个; 第二次是在脊椎动物中, miRNA 的更新又比两侧对称动物中表现得更为突出, 新产生了 73 个 miRNAs; 第三次是哺乳类, 新产生了 125 个 miRNAs, 几乎是脊椎动物的 2 倍; 第四次是灵长类, 新产生的 miRNAs 数目为 116 个(表 1).

miRNA 在动物演化中发生的重要革新事件与生物形态复杂性的出现密切相关. 人们通常采用比较基因组的方法来探讨基因组的大小及含量与后生动物形体复杂性关系^[62,63]. 后来发现, 动物从简单向复

杂的演化趋势还与不断增加的 miRNAs 密切相关^[7,26,64], 即后生动物的起源与其体制建成的复杂性与发育阶段的调控相关^[65]. 与基因倍增的结果相似, 调控线路的增加意味着相同的基因组可以通过不同的调控路径来控制物种起源及演化. 作为基因转录后调控作用的 miRNAs 便成为基因调控网络的重要角色^[26]. Sempere 等人^[26]研究了一些后生动物中保守的 miRNAs, 提出后生动物在进化中形态逐步复杂化与 miRNAs 在脊椎动物中的扩增性表达相关. 他们的数据表明, 生物体中基因组 miRNAs 的数目在不断增加, miRNAs 很少发生丢失事件; 另外, 新组织或器官跳跃式的不断增加似乎与新 miRNAs 的产生有关. 后生动物的基因组在漫长的演化中逐渐获得新的 miRNAs, 新的 miRNAs 加入到蛋白质编码的基因调控网络, 逐步使得后生动物的基因调控网络越来越复杂^[66,67]. 目前从各模式生物的 miRNAs 的数量来看, 线虫具有 22 种细胞类型(cell types)和 207 种 miRNAs; 到人类, 细胞类型增至 411 种, 而 miRNAs 基因数目达到了 1424 个, 并且新的 miRNAs 还在不断被发现^[31]. 胚胎干细胞在向体细胞组织类型分化时期, miRNAs 的表达量会增加^[68], 表明 miRNAs 对于干细胞分化具有重要的调控作用. 生物进化历程中新的组织和新的器官不断增加, 导致发育过程的复杂化, 这种发育过程的复杂性与 miRNAs 调控网络的发展恰巧吻合. miRNAs 在细胞分化与形态建成中具有重要的作用, 因此与后生动物形态演化有重要的关系.

4.2 miRNAs 次生丢失(secondary loss)事件与动物的系统发育

从各种研究来看, miRNAs 发生独立演化的例子比较少见, 但是基因的次生丢失和成熟序列中的核苷酸替代确实发生, 这些事件使得 miRNAs 之间的关系以及动物类群之间的关系变得模糊.

Sperling 和 Peterson^[69]用目前已获得的果蝇属的 miRNAs 与其他后生动物作系统发育分析, 得出从海绵动物到果蝇的演化过程中, 一共获得了 139 个 miRNAs, 而在每一分支上至少获得 1 个新增加的 miRNAs, 而在所有演化支中共发生了 7 个 miRNAs 丢失. 在节肢动物这一支上, 新增加了 7 个 miRNAs 家族, 发生了一个 miRNA(mir-750)丢失. 而果蝇与蚊(*Anopheles gambiae*)分离后, 果蝇属这一演化支增加了 27 个新 miRNAs 家族, 仅发生了 1 个 miRNA

(mir-71)丢失. 而模式生物果蝇中增加了 5 个其他果蝇中没有的 miRNAs.

尾索动物海鞘、线虫的分子进化速率都很高, 线虫和海鞘的基因组表现出非常显著的基因次生丢失^[70,71]. 通过这些动物类群 miRNAs 的研究发现, 与基因的次生丢失类似, 它们的 miRNAs 的次生丢失现象也非常显著. 许多研究表明, 同一种 miRNA 可以负责多达数百个蛋白编码基因的表达调控^[72~74], 因此 miRNA 丢失的事件发生的几率很小, 并且不会轻易改变序列结构. 而线虫和海鞘的基因组表明, 蛋白编码基因的丢失现象非常显著.

线虫中, 一种 miRNA 只对一个或少数基因进行调控^[75]. 这种调控方式使得单个的 miRNAs 由于其靶基因的丢失而随之丢失. 因此存在基因丢失事件显著的生物类群, 也伴随着 miRNAs 的丢失事件频繁发生. 研究较多的模式生物秀丽隐杆线虫, 目前已经通过各种途径得到了 207 个 miRNAs(miRbase 17). 线虫中许多保守 miRNAs 都发生了丢失, 两侧对称动物保守的 miRNAs 有 32 个, 线虫中仅保留了 8 个. 但它显然也非两侧对称动物的基部类群, 它还拥有约半数的原口动物保守性的 miRNAs.

尾索动物海鞘也丢失了大量的 miRNAs. 在 32 个两侧对称动物保守的 miRNAs 中, 海鞘仅保留了 20 个, 而头索动物文昌鱼中仍存在 30 个; 海鞘中存在的脊索动物保守的 miRNAs 有 12 个, 文昌鱼中仅具有 4 个(表 2, 图 1). 因此, 从拥有不同进化程度的保守 miRNAs 来看, 头索动物文昌鱼中存在着更多的古老 miRNAs, 而尾索动物海鞘则较文昌鱼有更多的起源较晚的脊索动物保守 miRNAs. 与基因及基因组研究的结论一致, 文昌鱼可作为脊椎动物的基部类群, 海鞘才是脊椎动物关系最近的原索动物^[76](图 1).

5 新 miRNAs 的起源

既然动物在演化进程中, 不论是新类群或是新物种的形成, 都会产生一些类群特有或是种特有的新 miRNAs, 那么这些不断增加的 miRNA 基因是如何起源的, 它们来自本身基因还是外源基因, 通过基因倍增还是突变? 这些有关 miRNAs 基因家族的进化问题得到了较多关注, 目前对于新 miRNAs 的进化也得到了一些研究结果, 但这些研究结果仍处于假想阶段, 存在较大争议.

第一, 新 miRNAs 的重生(*De novo appearance*): 一些全新 miRNAs 来自基因组中具发夹结构的 RNA.

动物演化过程中发生了 4 次 miRNAs 更新事件, 这些大批量的新 miRNAs 从何处发生? Heimberg 等人认为, 这些 miRNAs, 尤其是保守的古老起源的 miRNAs, 与基因组倍增事件无关, 它们的产生可能是动物祖先类群的偶然发生事件. 动物的基因组中有很多序列都可形成具有发夹结构的 RNA, 这些不具功能且能形成发夹结构的 RNA 会形成新的 miRNAs^[60,66].

动物中的有些 miRNA 基因位于编码蛋白基因的内含子中. Campo-Paysaa 等人^[37]提出了内含子联适应(*intronic exaptation*)模式, 认为 miRNAs 基因可能从内含子起源. 他们列举了在两侧对称动物中保守的 mir-190, 该基因位于 *talin* 基因的内含子中. mir-190 基因发现存在于现存的多数两侧对称动物中, 而 *talin* 基因的起源很早, 几乎存在于所有后生动物中, 甚至存在于原生动物领鞭毛虫中. mir-190 如何在 *talin* 基因的内含子中产生? Campo-Paysaa 等人^[37]认为, *talin* 基因的内含子通过累积核苷酸突变形成可被 Droscha 酶识别切割的发夹结构, 从而形成 mir-190. 这种基因内含子突变产生 miRNA 的方式即内含子联适应的现象. 他们同时指出, 内含子起源的 miRNAs 可以依赖其宿主(host)基因的启动子进行转录, 而不需要形成特定的启动子^[37].

Tanzer 和 Stadler^[77]在研究 mir-17 基因簇的进化时, 发现包含 mir-92 基因的转录单元中除了形成 pre-mir-92 序列外, 还可以形成第 2 个发夹结构, 这段 RNA 序列如果被赋予功能则可形成一个新 miRNA. 果蝇中发现的很多新起源的 miRNAs, 仅 1.7% 与果蝇中其他 miRNAs 存在旁系同源关系, 它们的出现可能属于这种新 miRNAs 的重生途径^[78].

第二, 基因复制事件产生新 miRNAs.

与上述 Heimberg 等人关于新 miRNAs 的产生观点相反, 一些研究认为, 新 miRNAs 的产生与新基因

表 2 在囊舌虫、海胆、文昌鱼、海鞘中分布的保守的 miRNAs 的数量

保守 miRNAs 类别	囊舌虫	海胆	文昌鱼	海鞘
后生动物保守的 miRNAs	1	0	1	0
两侧对称动物保守的 miRNAs	30	27	30	20
后口动物保守的 miRNAs	1	2	2	1
脊索动物保守的 miRNAs	0	0	4	12



图1 各级保守 miRNAs 在人(hsa)、海鞘(cin)、文昌鱼(bfl)、海胆(spu)和囊舌虫(sko)中的分布

M-c: 后生动物保守的 miRNAs; B-c: 两侧对称动物保守的 miRNAs; D-c: 后口动物保守的 miRNAs; C-c: 脊索动物保守的 miRNAs. 黑色方块表示有, 白色方块表示无

的产生类似, 很大程度上与基因复制事件有关^[60]. 一些位于蛋白编码基因内部的 miRNAs, 通过该基因发生基因复制, 可以形成并系关系的 miRNA 家族. 这些并系关系的 miRNAs, 具有相同的种子序列, 也就意味着它们的靶位点可能一致. 但对于 mir-2 和 mir-22 比较特别, 它们通过基因重复事件产生, 但是由于产生了种子移转, 第一位核苷酸的位点发生了移动, 导致种子序列发生偏移, 而致使靶位点不同. 这种方式十分有效, 能够产生完全不同的 miRNAs 及作用靶位点^[10].

动物中, miRNAs 基因成簇分布的现象非常普遍^[79]. 最近的一些研究发现, 成簇分布的 miRNAs 的发生可能来自共同祖先基因的串联复制(tandem duplication)过程^[60,80]. mir-397/mir-656 是哺乳动物保守的 miRNAs 基因簇, Glazov 等人^[81]通过序列比对分析得到 mir-379/mir-656 基因簇来自一段长度为 45 kb 的序列, 这段序列包含了 2 个 miRNAs 家族的 pre-miRNAs 序列及 2 个基序(motif). 这段序列最初是来自祖先的一段重复序列, 经过多次扩增事件, 快速进化并形成了哺乳类特有的 miRNAs. 经过表达实验及靶基因的验证, 这两个 miRNAs 可调控哺乳类特有的发育和生理相关的基因, 表明它们的出现与真哺乳类动物新功能的发生相适应.

Tanzer 和 Stadler^[77]分析了存在于脊椎动物的 mir-17 基因簇的 8 个 miRNA 基因家族之间的同源性, 发现这些成簇排列的 miRNAs 是通过共同祖先的基因片段经过串联复制形成. 最初, mir-17 基因簇在脊椎动物祖先中只存在 3 个 miRNAs 基因: mir-17, mir-19 和 mir-92, 之后经过一系列的基因复制过程, 这 3 个 miRNAs 分别产生了多个旁系同源的 miRNA 基因. Zhang 等人^[82]报道了灵长类特有的位于 X 染色体上的 mir-506 基因簇在不同的灵长类之间也发生了

串联复制事件. 果蝇中的 mir-310s 基因簇的 4 个新 miRNAs 源自一个古老的 miRNA——mir-92 的串联复制^[17].

第三, 基因组中存在的重复序列或转座因子(transposable elements)可形成 miRNAs 基因.

人类中, 5%~20%的 miRNAs 的成熟序列或是前体序列中包含有较多的重复序列和转座因子^[83~86]. 有些 miRNAs 的前体中包含 LINE2 序列(属于长分散重复序列), 其发夹结构可能来自两个相邻的反向重复的 LINE 因子, 还有些 miRNAs 来自短分散重复序列的 MIR 家族^[86,87]. 人的 mir-548 和 mir-603 等 miRNAs 基因来自微型反向重复转座子(MITEs)的 Made1 家族^[85].

大多数与转座子相关的 miRNAs 通常由单一的转座子插入形成, 但也有少数的 miRNAs 由 2~3 个转座子通过嵌套插入的方式形成^[86]. 转座子来源的 miRNAs 的保守性不是很高, Piriyaongsa 等人^[86]检测到的 55 个转座子来源的 miRNAs 多数在哺乳动物中保守, 而非一些起源更早的古老 miRNAs. Borchert 等人^[84]在人的 19 号染色体上还发现一些 miRNAs 基因簇位于 Alu 转座因子中, 并且依赖 Alu 的启动子进行转录. 一些灵长类特有的 miRNAs 基因家族由 Alu 因子的插入产生差异, 由此产生了灵长类之间的物种特异性 miRNAs^[88].

这些研究表明, 转录因子和动物 miRNAs 之间的确存在某种联系, 可能一些重复序列可以产生 miRNAs 基因, 但相关的形成机制或是途径仍不清楚.

此外, 后生动物还可通过其他途径产生 miRNAs, 不断增加 miRNAs 的多样性. miRNA 的互补序列 miRNA*在特定情况下也会转变成新的 miRNAs. miRNA*通常会在代谢过程中降解, 并不参与调控.

但后来有些 miRNA*也会与某些基因位点结合进行基因调控,从而产生新的 miRNA^[22,89]. 另外, miRNA 基因在生成的过程中,成熟 miRNA 序列 5'端的核苷酸编辑(5'editing),导致靶序列的配对种子序列发生变化,这样也有可能产生新的 miRNAs 和新的作用靶基因^[10].

6 结论与展望

短短十几年的时间,人们在对 miRNAs 的研究中获得了许多重要的进展和发现. 在生物体的发育和生理过程中, miRNAs 都发挥着重要功能,但很多 miRNAs 的功能研究还仅限于少数生物个体,并且众多的 miRNAs 的功能及调控模式还不清楚. 目前可知, miRNAs 主导着生物体的基因调控网络,控制着生物体的发育过程、体内平衡和生理等各个方面的机能. 目前,人们对 miRNAs 的认识仍处于起步阶段,还有很多重要的问题有待发现和解决.

在动物的进化史中,每个大的进化阶段都会出现 miRNAs 的扩张,如本文所述,两侧对称动物较刺

胞动物增加了 32 种 miRNAs,脊椎动物较头索和尾索动物增加了 73 种 miRNAs,而哺乳动物的发生则总共新增了 125 种 miRNAs. 这些大批新增的 miRNAs 是怎样产生的,如何进行进化? 它们又是如何与新功能基因相适应? 古老起源的 miRNAs 与新起源的 miRNAs 的进化速率是否存在差别? 还有其他有关 miRNAs 的进化问题都值得探讨. miRNAs 在生物体中的发展是一个动态的过程,新的 miRNAs 不断出现,也会不断消失,同时体内仍然保留着很多古老起源的 miRNAs,它们的产生和发展与生物体的个体发育、形态建成及各种生理功能都密切相关. 生物体如何控制 miRNAs 的生成,如何去引导它们执行特定功能? 这些问题也将带给人们极大的挑战.

miRNAs 在细胞分化与形态建成中具有重要的作用,因此与后生动物形态演化有重要的关系. 是否是 miRNAs 引起新细胞类型的演化,或是新细胞类型的出现导致产生与之相符合的新的 miRNAs,这些问题仍需探讨. miRNAs 与形态演化之间的关系并非简单的相关,其中的机制还需更多的实验和理论研究进行阐述.

参考文献

- 1 Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281–297
- 2 Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, 431: 350–355
- 3 Niwa R, Slack F J. The evolution of animal microRNA function. *Curr Opin Genet Dev*, 2007, 17: 145–150
- 4 Zhao Y, Srivastava D. A developmental view of microRNA function. *Trends Biochem Sci*, 2007, 32: 189–197
- 5 Liu N, Okamura K, Tyler D M, et al. The evolution and functional diversification of animal microRNA genes. *Cell Res*, 2008, 18: 985–996
- 6 Kong Y W, Cannell I G, de Moor C H, et al. The mechanism of micro-RNA-mediated translation repression is determined by the promoter of the target gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 8866–8871
- 7 Heimberg A M, Sempere L F, Moy V N, et al. MicroRNAs and the advent of vertebrate morphological complexity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 2946–2950
- 8 Peterson K J, Dietrich M R, McPeck M A. MicroRNAs and metazoan macroevolution: insights into canalization, complexity, and the Cambrian explosion. *Bioessays*, 2009, 31: 736–747
- 9 Shenouda S K, Alahari S K. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev*, 2009, 28: 369–378
- 10 Wheeler B M, Heimberg A M, Moy V N, et al. The deep evolution of metazoan microRNA. *Evol Dev*, 2009, 11: 50–68
- 11 Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75: 843–854
- 12 Reinhart B J, Slack F J, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403: 901–906
- 13 Pasquinelli A E, Reinhart B J, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 2000, 408: 86–89
- 14 Grimson A, Srivastava M, Fahey B, et al. Early origins and evolution of microRNAs and Piwi-interacting RNAs in animals. *Nature*, 2008, 455: 1193–1197
- 15 Lu Y C, Smielewska M, Palakodeti D, et al. Deep sequencing identifies new and regulated microRNAs in *Schmidtea mediterranea*. *RNA*,

- 2009, 15: 1483–1491
- 16 Luo Y, Zhang S C. Computational prediction of amphioxus microRNA genes and their targets. *Gene*, 2009, 428: 41–46
- 17 Lu J, Fu Y, Kumar S, et al. Adaptive evolution of newly emerged microRNA genes in *Drosophila*. *Mol Biol Evol*, 2008, 25: 929–938
- 18 Lee Y, Kim M, Han J J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *Embo J*, 2004, 23: 4051–4060
- 19 Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425: 415–419
- 20 Lee Y, Jeon K, Lee J T, et al. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *Embo J*, 2002, 21: 4663–4670
- 21 Yang J S, Phillips M D, Betel D, et al. Widespread regulatory activity of vertebrate microRNA* species. *RNA*, 2011, 17: 312–326
- 22 Okamura K, Phillips M D, Tyler D M, et al. The regulatory activity of microRNA* species has substantial influence on microRNA and 3' UTR evolution. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15: 354–363
- 23 Bernstein E, Caudy A A, Hammond S M, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 2001, 409: 363–366
- 24 Hafner M, Landthaler M, Burger L, et al. Transcriptome-wide identification of RNA-Binding protein and microRNA target sites by PAR-CLIP. *Cell*, 2010, 141: 129–141
- 25 Lewis B P, Burge C B, Bartel D P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, 120: 15–20
- 26 Sempere L F, Cole C N, McPeck M A, et al. The phylogenetic distribution of metazoan microRNAs: insights into evolutionary complexity and constraint. *J Exp Zool*, 2006, 306B: 575–588
- 27 Sempere L F, Martinez P, Cole C, et al. Phylogenetic distribution of microRNAs supports the basal position of acoel flatworms and the polyphyly of Platyhelminthes. *Evol Dev*, 2007, 9: 409–415
- 28 Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: D152–D157
- 29 Chen P Y, Manninga H, Slanchev K, et al. The developmental miRNA profiles of zebrafish as determined by small RNA cloning. *Genes Dev*, 2005, 19: 1288–1293
- 30 Pasquinelli A E, McCoy A, Jiménez E, et al. Expression of the 22 nucleotide let-7 heterochronic RNA throughout the Metazoa: a role in life history evolution? *Evol Dev*, 2003, 5: 372–378
- 31 Lee C T, Risom T, Strauss W M. Evolutionary conservation of microRNA regulatory circuits: an examination of microRNA gene complexity and conserved microRNA–target interactions through Metazoan phylogeny. *DNA Cell Biol*, 2007, 26: 209–218
- 32 Aravin A A, Lagoa-quintana M, Yalcin A, et al. The small RNA profile during *Drosophila melanogaster* development. *Dev Cell*, 2003, 5: 337–350
- 33 Brennecke J, Hipfner D R, Stark A, et al. Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene *hid* in *Drosophila*. *Cell*, 2003, 113: 25–36
- 34 Gregory P A, Bert A G, Paterson E L, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nature Cell Biol*, 2008, 10: 593–601
- 35 Fu X, Adamski M, Thompson E M. Altered miRNA repertoire in the simplified chordate, *Oikopleura dioica*. *Mol Biol Evol*, 2008, 25: 1067–1080
- 36 Dai Z, Chen Z, Ye H, et al. Characterization of microRNAs in cephalochordates reveals a correlation between microRNA repertoire homology and morphological similarity in chordate evolution. *Evol Dev*, 2009, 11: 41–49
- 37 Campo-Paysaa F, Semon M, Cameron R A, et al. microRNA complements in deuterostomes: origin and evolution of microRNAs. *Evol Dev*, 2011, 13: 15–27
- 38 Schrat G M, Tuebing F, Nigh E A, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*, 2006, 439: 283–289
- 39 Gao J, Wang W Y, Mao Y W, et al. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature*, 2010, 466: 1105–1109
- 40 Berezikov E, Thuemmler F, Van Laake L W, et al. Diversity of microRNAs in human and chimpanzee brain. *Nat Genet*, 2006, 38: 1375–1377
- 41 Aboobaker A A, Tomancak P, Patel N, et al. *Drosophila* microRNAs exhibit diverse spatial expression patterns during embryonic development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 18017–18022
- 42 Wienholds E, Kloosterman W P, Miska E, et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*, 2005, 309: 310–311
- 43 Ason B, Darnell D K, Wittbrodt B, et al. Differences in vertebrate miRNA expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 14385–14389
- 44 Kloosterman W P, Wienholds E, de Bruijn E, et al. *In situ* detection of miRNAs in animal embryos using LNA-modified oligonucleotide

- probes. *Nat Methods*, 2006, 3: 27–29
- 45 Robin C F, Kyle K F, Christopher B B, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 2009, 19: 92–105
 - 46 Lin S Y, Johnson S M, Abraham M, et al. The *C. elegans* hunchback homolog, hbl-1, controls temporal patterning and is a probable microRNA target. *Dev Cell*, 2003, 4: 639–650
 - 47 Vella M C, Choi E Y, Lin S Y, et al. The *C. elegans* microRNA let-7 binds to imperfect let-7 complementary sites from the lin-41 3'UTR. *Genes Dev*, 2004, 18: 132–137
 - 48 Grosshans H, Johnson T, Reinert K L, et al. The temporal patterning microRNA let-7 regulates several transcription factors at the larval to adult transition in *C. elegans*. *Dev Cell*, 2005, 8: 321–330
 - 49 Johnson S M, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*, 2005, 120: 635–647
 - 50 Reinhart B J, Slack F J, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403: 901–906
 - 51 Sempere L F, Sokol N S, Dubrovsky E B, et al. Temporal regulation of microRNA expression in *Drosophila melanogaster* mediated by hormonal signals and Broad-Complex gene activity. *Dev Biol*, 2003, 259: 9–18
 - 52 Li Y, Wang F, Lee J A, et al. MicroRNA-9a ensures the precise specification of sensory organ precursors in *Drosophila*. *Genes Dev*, 2006, 20: 2793–2805
 - 53 Smirnova L, Grafe A, Seiler A, et al. Regulation of miRNA expression during neural cell specification. *Eur J Neurosci*, 2005, 21: 1469–1477
 - 54 Krichevsky A M, Sonntag K C, Isacson O, et al. Specific microRNAs modulate embryonic stem cell derived neurogenesis. *Stem Cells*, 2006, 24: 857–864
 - 55 Weston M D, Pierce M L, Rocha-Sanchez S, et al. MicroRNA gene expression in the mouse inner ear. *Brain Res*, 2006, 1111: 95–104
 - 56 Pierce M L, Weston M D, Fritsch B. MicroRNA-183 family conservation and ciliated neurosensory organ expression. *Evol Dev*, 2008, 10: 106–113
 - 57 Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell*, 2007, 129: 1401–1414
 - 58 Zhou Y, Ransom J F, Li A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2. *Cell*, 2007, 129: 303–317
 - 59 van Rooij E, Sutherland L B, Qi X, et al. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science*, 2007, 316: 575–579
 - 60 Hertel J, Lindemeyer M, Missal K, et al. The expansion of the metazoan microRNA repertoire. *BMC Genomics*, 2006, 7: 25
 - 61 Prochnik S E, Rokhsar D, Aboobaker A A. Evidence for a microRNA expansion in the bilaterian ancestor. *Dev Genes Evol*, 2007, 217: 73–77
 - 62 Gregory T R. Genome size and developmental complexity. *Genetica*, 2002, 115: 131–146
 - 63 Lynch M, Conery J S. The origins of genome complexity. *Science*, 2003, 302: 1401–1404
 - 64 Christodoulou F, Raible F, Tomer R, et al. Ancient animal microRNAs and the evolution of tissue identity. *Nature*, 2010, 463: 1084–1088
 - 65 Valentine J W, Erwin D H, Jablonski D. Developmental evolution of metazoan bodyplans: the fossil evidence. *Dev Biol*, 1996, 173: 373–381
 - 66 Chen K, Rajewsky N. The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. *Nat Rev Genet*, 2007, 8: 93–103
 - 67 Shalgi R, Lieber D, Oren M, et al. Global and local architecture of the mammalian microRNA-transcription factor regulatory network. *PLoS Comp Biol*, 2007, 3: 1291–1304
 - 68 Strauss W M, Chen C, Lee C T, et al. Nonrestrictive developmental regulation of microRNA gene expression. *Mamm Genome*, 2006, 17: 833–840
 - 69 Sperling E A, Peterson K J. microRNAs and metazoan phylogeny: big trees from little genes. In: Telford M J, Littlewood D T J, eds. *Animal Evolution: Genomes, Trees and Fossils*. Oxford: Oxford University Press, 2009. 157–237
 - 70 Copley R R, Aloy P, Russell R B, et al. Systematic searches for molecular synapomorphies in model metazoan genomes give some support for Ecdysozoa after accounting for the idiosyncrasies of *Caenorhabditis elegans*. *Evol Dev*, 2004, 6: 164–169
 - 71 Hughes A L, Friedman R. Loss of ancestral genes in the genomic evolution of *Ciona intestinalis*. *Evol Dev*, 2005, 7: 196–200
 - 72 Lim L P, Lau N C, Garrett-Engle P, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*, 2005, 433: 769–773

- 73 Baek D, Villén J, Shin C, et al. The impact of microRNAs on protein output. *Nature*, 2008, 455: 64–71
- 74 Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, et al. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature*, 2008, 455: 58–63
- 75 Ambros V, Chen X. The regulation of genes and genomes by small RNAs. *Development*, 2007, 134: 1635–1641
- 76 Delsuc F, Brinkmann H, Chourrout D, et al. Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates. *Nature*, 2006, 439: 965–968
- 77 Tanzer A, Stadler P F. Molecular evolution of a microRNA cluster. *J Mol Biol*, 2004, 339: 327–335
- 78 Lu J, Shen Y, Wu Q, et al. The birth and death of microRNA genes in *Drosophila*. *Nat Genet*, 2008, 40: 351–355
- 79 张雁峰, 张锐, 宿兵. MicroRNA 基因簇的多样性与进化. *中国科学: 生命科学*, 2009, 39: 114–120
- 80 Seitz H, Royo H, Bortolin M L, et al. A large imprinted microRNA gene cluster at the mouse Dlk1-Gtl2 domain. *Genome Res*, 2004, 14: 1741–1748
- 81 Glazov E A, McWilliam S, Barris W C, et al. Origin, evolution, and biological role of miRNA cluster in DLK-DIO3 genomic region in placental mammals. *Mol Biol Evol*, 2008, 25: 939–948
- 82 Zhang R, Peng Y, Wang W, et al. Rapid evolution of an X-linked microRNA cluster in primates. *Genome Res*, 2007, 17: 612–617
- 83 Smalheiser N R, Torvik V I. Mammalian microRNAs derived from genomic repeats. *Trends Genet*, 2005, 21: 322–326
- 84 Borchert G M, Lanier W, Davidson B L. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nature Struct Mol Biol*, 2006, 13: 1097–1101
- 85 Piriyaongsa J, Jordan I K. A family of human microRNA genes from miniature inverted-repeat transposable elements. *PLoS ONE*, 2007, 2: e203
- 86 Piriyaongsa J, Marino-Ramirez L, Jordan I K. Origin and evolution of human microRNAs from transposable elements. *Genetics*, 2007, 176: 1323–1337
- 87 Silva J C, Shabalina S A, Harris D G, et al. Conserved fragments of transposable elements in intergenic regions: evidence for widespread recruitment of MIR- and L2-derived sequences within the mouse and human genomes. *Genet Res*, 2003, 82: 1–18
- 88 Zhang R, Wang Y Q, Su B. Molecular evolution of a primate-specific microRNA family. *Mol Biol Evol*, 2008, 25: 1493–1502
- 89 汪小我, 张学工, 李衍达. 脊椎动物中微小 RNA 进化模式研究. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2008, 38: 348–355

Conservation and Evolution of microRNAs in Animals

LUO Yan, ZHANG Qun, LIANG YuJun & ZHANG ShiCui

School of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs, ~ 22 nucleotides in length, which have been found in diverse animals and function as post-transcriptional regulators of gene expression. MiRNAs play versatile and important roles in the ontogeny of developmental timing, cell differentiation and nervous system development. Recent evidence has suggested that miRNAs have huge impacts on animal phylogeny. Many of miRNAs are phylogenetically conserved among different animals. In addition, the miRNAs innovation appears to be associated with the advent of major lineages of metazoans. This review summarizes conservations of miRNAs in their biogenesis, regulatory mechanisms, the phylogenetic distribution and functions in the ontogeny. We also discuss evolutionary histories of miRNAs and how they impact on the animal evolution.

microRNA, metazoa, conservation, evolution

doi: 10.1360/052011-594