

miRNA-21 转录调控因子的生物信息学分析

刘海荣¹, 谢斌辉², 黄国红³

(赣南医学院第一附属医院 1.介入科, 2.肝外科, 3.CT室, 江西 赣州 314000)

摘要:【目的】探讨 miRNA-21 转录调控因子 AP-1、STAT3、NF11、CBP、EBP、TGF- β 、BMP-6、GFI1 的结构特征及其与 miRNA-21 转录结合位点。【方法】利用生物信息学工具分析 miRNA-21 转录调控因子的理化性质、三级结构、跨膜区、信号肽、亚细胞定位及预测与 miRNA-21 转录结合位点。【结果】等电点分析表明 STAT3 等电点小于 7.0,其余 7 个转录调控因子等电点大于 7.0;脂溶指数分析显示,EBP 脂溶指数大于 100,为亲水性蛋白,其余 7 个转录调控因子脂溶指数均小于 100,为疏水性蛋白;从不稳定指数分析结果可知,EBP 不稳定指数小于 40,为稳定蛋白,其余 7 个转录调控因子不稳定指数大于 40,为不稳定蛋白。所有转录调控因子二级结构均由 α -螺旋、无规则卷曲和扩展链结构 3 种形式组成;EBP 有跨膜区,BMP-6 有信号肽,其余均无跨膜区或信号肽。亚细胞定位分析发现 BMP-6 位于细胞质中,EBP 则位于质膜上,其余转录调控因子位于细胞核中;所有转录调控因子三级结构呈现发夹型结构,并预测出 6 个转录调控因子与 miRNA-21 转录结合位点。【结论】miRNA-21 转录调控因子呈现多样性特征,拥有典型的发夹型结构特征,可能有助于对 miRNA-21 转录表达调控,研究结果将有助于开展研究基于 miRNA-21 的癌症治疗及其相关治疗药物的筛选。

关键词:miRNA-21;转录调控因子;生物信息学分析;结合位点

中图分类号:Q285.5

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2016)01-0148-07

Bioinformatics Analysis of Transcription Factors of miRNA-21

LIU Hai-rong¹, XIE Bin-hui², HUANG Guo-hong³

(1. Department of Intervention, 2. Department of Liver Surgery, 3. CT Room, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 314000, China)

Corresponding to: XIE Bin-hui, E-mail: xiebinhui2008@163.com

Abstract:【Objective】To explore the structure characteristics and binding sites of transcription factors of miRNA-21 including AP-1, STAT3, NF11, CBP, EBP, TGF- β , BMP-6 and GFI1. 【Methods】Physical and chemical characteristics, three-dimensional structure, subcellular localization, and binding sites were analyzed using the bioinformatics tools for transcription factors of miRNA-21. 【Results】Isoelectric point of most transcription factors are greater than 7.0. Aliphatic index analysis showed that EBP protein was hydrophilic and the others were hydrophobic. The instability indices revealed that most of transcription factors of miRNA-21 were unstable. The secondary structures of corresponding all transcription factors were comprised of α -helix, random coil, and extended chain. Subcellular localization analysis implied that most transcription factors might exist in the nucleus. All transcription factor presents a hairpin structure in the level of tertiary structure, and six transcription factors were predicted for binding site. 【Conclusion】Transcription factors of miRNA-21 have the typical characteristics of hairpin structure, which may contribute to regulate the transcription of miRNA-21. Our results will contribute to the development of cancer treatment and drug design based on the miRNA-21.

Key words: miRNA-21; transcription factors; bioinformatics analysis; binding sites

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2016, 37(1): 148-154]

miRNA是真核生物中一种约 22 个核苷酸大小、参与转录后基因调控的非编码单链小分子 RNA,可特异性识别靶 mRNA 的 3'-非翻译区

(3'-UTR)并与之结合,引起靶 mRNA 的降解或翻译抑制,从而调控基因的转录后表达,可调节许多重要的细胞活动^[1]。而 miRNA 的生成是非编码基

收稿日期:2015-02-27

基金项目:江西省自然科学基金(2012ZBA205001);江西省科技厅支撑计划项目(20112BBG70037);赣州市指导性科技计划项目(2012)

作者简介:刘海荣,主治医师,讲师,研究方向:肿瘤介入治疗,E-mail:llhr200404@163.com;谢斌辉,通信作者,主任医师,硕士生导师,E-mail: xiebinhui2008@163.com

因序列由 RNA 聚合酶 II 转录生成初级转录产物 (pri-miRNA), 然后在 Drosha 和 RNA 结合蛋白 DGCR8 的作用下剪切成长度约 70 个核苷酸并具有茎环结构的 miRNA 前体 (pre-miRNA)。Pre-miRNA 在 Ran-GTP 依赖的核质/细胞质转运蛋白 Exportin5 的作用下, 从细胞核运送到细胞质中, 然后被 RNase III-Dicer 核酸内切酶复合物剪切成 21 ~ 25 个核苷酸长的成熟的 miRNA^[2-3]。然而, 目前对 miRNA 表达转录调控仍然缺乏了解。分段 miR-21 (miR-21) 已被发现在多种血液系统和实体器官的恶性肿瘤中发挥重要作用^[4], 是目前发现的唯一一种在多种实体肿瘤(肺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌、结肠癌、头颈部肿瘤、食管癌等)及非实体瘤(慢性淋巴细胞性白血病、B 细胞性淋巴瘤等)中高表达的 miRNA^[5-6], 也是第一个在肿瘤病人血清中检测到的 miRNA, 在人类 miRNA 功能学的研究中不可忽视。分段 miR-21 的生成首先是非编码基因序列由 RNA 聚合酶转录生成初级转录产物 (pri-miRNA), 该过程受到转录因子(transcription factor)的调控。分段 miR-21 的转录调节因子可以分为正向调节因子和负向调节因子, 而在时间上又可分为转录前调节因子和转录后调节因子, 有部分调控 miR-21 的转录因子本身也是 miR-21 的靶基因^[7]。研究表明, miR-21 转录调控因子有 transcription factor AP-1、signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)、NFI-nuclear factor 1 C-type isoform 1 (NFI1)、CBP、EBP、TGF beta-inducible nuclear protein 1(TGF- β)、bone morphogenetic protein 6 (BMP-6)、GFI1 等^[8-10]。从生物信息学角度探究 miR-21 转录因子结构特征, 有助于理解转录因子调控 miR-21 表达的分子机制。然而, 目前国内外尚未有系统地分析 miR-21 转录调控因子结构特征的报道。因此, 本文拟对 miR-21 转录调控因子进行系统地分析, 从其理化性质、二级结构、与 miR-21 结合位点等方面阐释 miR-21 转录因子结构特征, 为以 miRNA 为基础的癌症治疗研究及相关药物筛选提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 miR-21 转录调控因子编码序列收集

从美国国立生物技术信息中心网站 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 收集

miRNA-21 转录调控因子蛋白序列, 包括 AP-1、STAT3、NFI1、CBP、EBP、TGF- β 、BMP-6、GFI1。

1.2 miR-21 转录调控因子生物信息学分析

对 miR-21 转录调控因子进行生物信息学分析, 包括利用 ProtParam 在线工具 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 计算 miR-21 转录调控因子的理化性质, 如氨基酸数目、分子量、理论等电点、分子式、脂溶指数和不稳定指数等; 蛋白二级结构使用 Hnn Secondary Prediction Method 程序预测 (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_hnn.html); 蛋白三级结构使用 SWISS-MODEL 在线服务器预测 (<http://swissmodel.expasy.org/>)。TMpredict 进行蛋白质序列跨膜区分析 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>); 利用 SignalP v4.0 进行信号肽预测 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>); 利用 PSORT (<http://psort.hgc.jp/form.html>) 进行亚细胞定位分析。

1.3 miR-21 转录因子与 miR-21 结合位点预测

将转录因子氨基酸序列提交至在线工具 DP-Bind (<http://lcg.rit.albany.edu/dp-bind/>), 预测转录因子与 DNA 的结合位点; 将转录因子氨基酸序列提交至 NCBI 网站 PDB 数据库进行 PSI-BLAST 比对, 以获得同源性 PDB-ID, 用 SWISS-MODEL 在线服务器预测 miR-21 转录调控因子的分子模型 (<http://swissmodel.expasy.org/>), 将建立的分子模型存为后缀名为.pdb 文件, 上传至 Q-SiteFinder 在线工具 (<http://www.modelling.leeds.ac.uk/qsitefinder/>) 预测转录因子结合位点。结合两种方法预测结果, 判断预测模型位点。

2 结果

2.1 miR-21 转录调控因子理化性质分析

从 NCBI 收集到 8 个 miR-21 转录调控因子, GI 编号见表 1, 对转录调控因子理化性质进行了分析 (表 1), 等电点 (PI) 分析显示: STAT3 等电点小于 7.0, 呈酸性; 其余 7 个转录调控因子蛋白等电点大于 7.0, 呈碱性; 其中 TGF- β 等电点最高 (10.28), STAT3 等电点最低 (5.94)。脂溶指数 (aliphatic index) 分析显示: EBP 脂溶指数大于 100, 为亲水性蛋白; 其余 7 个转录调控因子脂溶指数均小于 100, 为疏水性蛋白。不稳定指数

表 1 miRNA-21 转录调控因子的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of transcription factors of miRNA-21

Gene	GI No.	aa	PI	Molecular mass/ku	Formula	Aliphatic index	Instability index
AP-1	4758616	331	8.90	35675.5	C ₁₅₅₄ H ₂₅₀₉ N ₄₄₉ O ₄₈₄ S ₁₄	74.65	53.28
STAT3	21618340	770	5.94	88067.8	C ₃₉₁₀ H ₆₁₆₁ N ₁₀₆₁ O ₁₁₇₀ S ₄₁	83.45	48.22
NFI1	299758476	494	9.13	55180.5	C ₂₄₅₉ H ₃₈₂₆ N ₆₈₄ O ₇₃₁ S ₁₆	65.69	62.73
CBP	3168627	923	9.13	101797.5	C ₄₃₈₉ H ₆₉₈₂ N ₁₃₂₈ O ₁₃₃₉ S ₆₃	59.52	84.51
EBP	49457141	230	7.76	26352.8	C ₁₂₄₆ H ₁₈₆₂ N ₃₁₀ O ₃₀₉ S ₇	108.87	38.81
TGF-β	119616155	260	10.28	30065.4	C ₁₃₄₄ H ₂₂₂₂ N ₄₀₀ O ₃₆₀ S ₁₀	74.19	40.32
BMP-6	119575623	513	8.39	57225.6	C ₂₅₁₈ H ₃₉₁₁ N ₇₃₉ O ₇₄₇ S ₂₃	70.57	63.15
GFI1	21618436	422	9.24	45297.1	C ₁₉₇₂ H ₃₀₇₈ N ₅₉₆ O ₅₈₉ S ₂₃	54.22	50.14

表 2 miRNA-21 转录调控因子的二级结构

Table 2 Higher structure simulations of transcription factors of miRNA-21

Protein ID	PDB-ID	Transmembrane regions	Signal peptide	Secondary structure		
				Alpha helix	Extended strand	Random coil
AP-1	1JNM_A	0	No	120	11	200
STAT3	4E68_A	0	No	372	110	288
NFI1	3IUU_A	0	No	116	48	330
CBP	4BHW_A	0	No	305	53	565
EBP	3FX3_A	5	No	128	25	77
TGF-β	3J20_J	0	No	95	49	116
BMP-6	2R52_A	0	Yes	157	61	295
GFI1	2KMK_A	0	No	52	54	316

(instability index)分析表明;EBP 不稳定指数小于 40,为稳定蛋白;其余 7 个转录调控因子不稳定指数大于 40, 为不稳定蛋白。从不稳定指数分析结果可知,大部分转录调控因子是不稳定的,由此可以推测,miR-21 转录调控可能受外界环境条件刺激诱导产生。

2.2 miR-21 转录调控因子二级结构分析

对 8 个 miR-21 转录调控因子二级结构分析表明, 这些转录调控因子二级结构均由 α-螺旋(alpha helix)、无规则卷曲(random coil)和扩展链(extended strand) 结构 3 种形式组成。其中 6 个 miR-21 转录调控因子 AP-1、STAT3、NFI1、CBP、TGF-β、BMP-6 中各组成的比例为: 无规则卷曲>α-螺旋>扩展链,EBP 的比例为:α-螺旋>无规则

表 3 miRNA-21 转录调控因子亚细胞定位分析

Table 3 Subcellular localization of transcription factors of miRNA-21

Protein ID ¹⁾	nucleus	mitochondrial matrix space	microbody (peroxisome)	lysosome (lumen)	cytoplasm	endoplasmic reticulum (membrane)
AP-1	0.940	0.425	0.300	0.186	—	—
STAT3	0.450	0.100	0.300	0.100	—	—
NFI1	0.700	0.360	0.300	0.100	—	—
CBP	0.300	0.100	0.300	0.262	—	—
TGF-β	0.988	0.100	0.300	0.100	—	—
BMP-6	—	0.100	—	0.172	0.650	0.000
GFI1	0.300	0.100	0.152	0.100	—	—

1) In addition: EBP, endoplasmic reticulum (membrane) (0.300), plasma membrane (0.600), mitochondrial inner membrane (0.030), Golgi body (0.400).

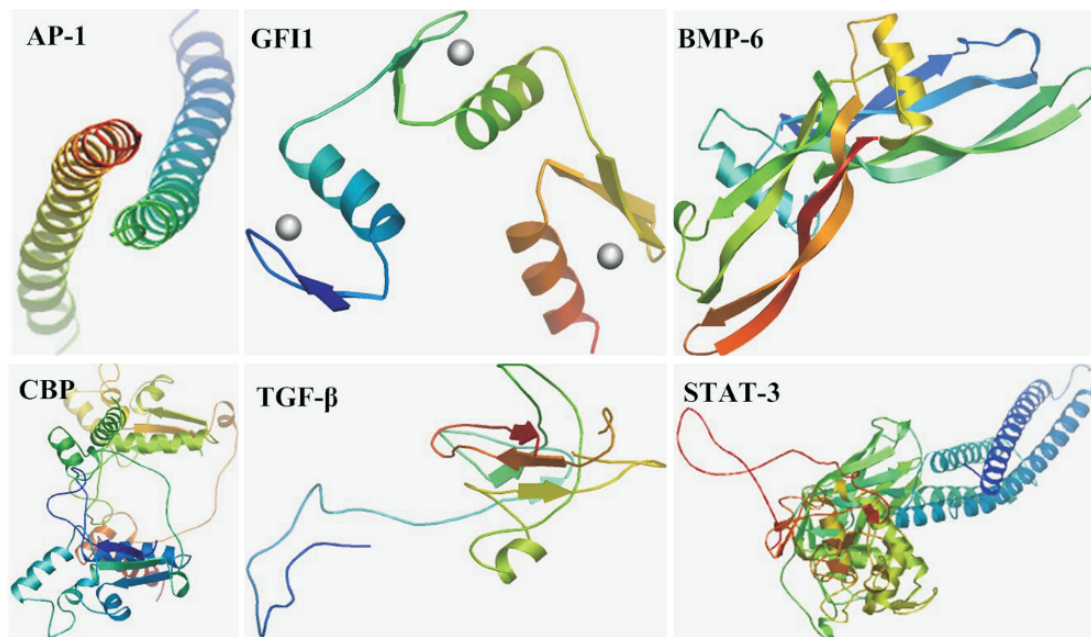
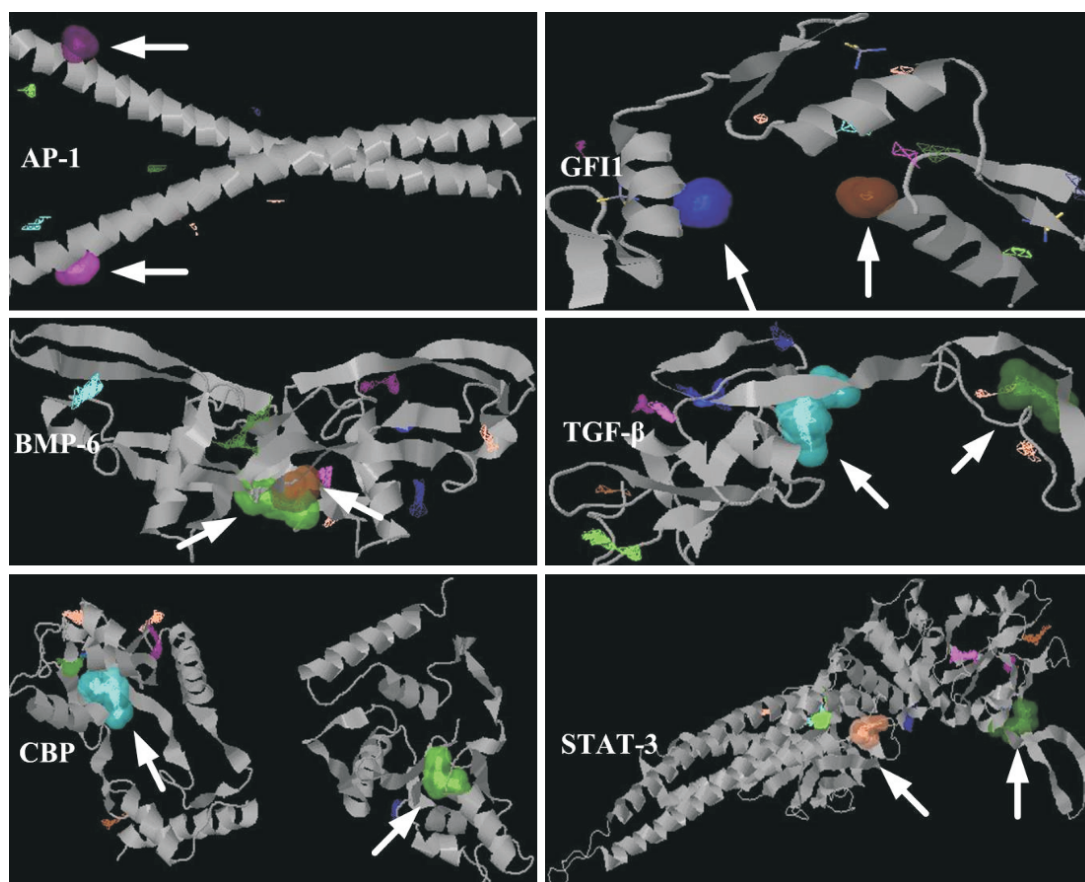


图 1 miRNA-21 转录调控因子的三级结构

Fig.1 The predicted tertiary structure of transcription factor of miR-21



Predicted active sites were labeled by the arrows

图 2 miR-21 转录调控因子结合位点预测模型

Fig.2 The structure of binding sites of miR-21 and its transcription factors

卷曲>扩展链,而 GFI1 的比例为:无规则卷曲>扩展链> α -螺旋(表 2)。此外,跨膜结构预测表明,EBP 有 5 个跨膜区,其余 7 个 miR-21 转录调控因子均无跨膜结构;信号肽预测显示,BMP-6 具有信号肽,其余 7 个 miR-21 转录调控因子均无信号肽结构(表 2)。

2.3 miR-21 转录调控因子三级结构分析

通过 PSI-BLAST 比对分析,获得 8 个 miR-21 转录调控因子同源性 PDB-ID(表 2),以 PDB-ID 为模板,利用 SWISS-MODEL 在线服务器预测出 6 个 miR-21 转录调控因子的三级结构,而转录调控因子 NF11 和 EBP 未能预测出三级结构,预测结果见图 1。从图 1 可以看出,miR-21 转录调控因子的三级结构具有较好的对称性,呈现发夹型结构特点,这可能有助于结合 miR-21 基因进行转录调控。

2.4 miR-21 转录调控因子亚细胞定位分析

对 8 个 miR-21 转录调控因子进行亚细胞定位分析(表 3),结果表明:AP-1、STAT3、NF11、CBP、TGF- β 、GFI1 六个转录调控因子位于细胞核中(nucleus);而 BMP-6 位于细胞质(cytoplasm)中,EBP 则位于质膜(plasma membrane)上。令人惊讶的预测结果是 2 个 miR-21 转录调控因子 BMP-6 和 EBP 出现在细胞质中或质膜上,这两个转录调控因子如何去实施其对 miR-21 转录的调控功能,是一个值得令人思考的科学问题。

2.5 miR-21 转录调控因子与 miR-21 结合位点预测

对 8 个 miR-21 转录调控因子进行了 miR-21 结合位点预测,通过在线工具 DP-Bind 进行预测,获得 miR-21 转录调控因子与 miR-21 结合位点氨基酸残基如下:

AP1 的结合位点

4K、47G、49L、50K、92P、93T、94P、95T、100P、101K、154S、165S、178P、182S、191G、194G、197F、199A、200Q、215M、226K、240P、243S、258K、259R、261R、262N、263R、265A、266A、267S、268K、269C、270R、272R、273K

bone morphogenetic protein 6 的结合位点

6R、38A、41G、48G、52R、72K、97H、98G、99L、100Q、183N、191G、234H、236K、243S、253A、264M、288S、289D、302E、304G、311T、322Q、323H、324N、379R、382Q、385R、387R、388S、389T、390Q、391S、392Q、395A、396R、397V、398S、399S、400A、414K、415H、437A、439N、454N、455A、456T、457N、458H、472Y、476P、477C、478C、479A、481T、482K、

483L、511G、513H

CBP 的结合位点

5H、7W、8A、10P、11P、30K、32K、33R、35Q、70K、101E、108E、109T、145R、153R、155K、163R、164R、165S、166K、167W、168S、177H、189N、198R、199W、200H、216T、265Q、266C、267R、270N、271C、272S、273L、274P、275S、277Q、278K、280K、281R、284Q、285H、288G、289C、290K、291R、292K、293T、294N、295G、301K、310H、312K、313H、320P、323F、328K、331L、332R、341Q、347R、348R、349R、350M、351A、352T、354N、357N、358V、361Q、374P、376Q、377Q、378P、379S、380T、381P、382Q、383T、384P、385Q、386P、387P、388A、389Q、390P、391Q、392P、393S、394P、395V、397M、399P、400A、401G、402F、403P、404S、408T、411P、412T、413T、414V、415S、416T、417G、418K、419P、420T、421S、422Q、423V、424P、425A、426P、427P、431Q、432P、433P、434P、435A、436A、438E、439A、440A、441R、442Q、443I、444E、445R、447A、448Q、449Q、450Q、451Q、452H、453L、454Y、455R、456V、457N、458I、459N、460N、461S、462M、463P、464P、465G、467T、468G、469M、470G、471T、472P、473G、474S、475Q、476M、477A、478P、479V、480S、481L、482N、483V、484P、485R、487N、488Q、489V、490S、491G、492P、493V、494M、495P、496S、497M、498P、499P、500G、501Q、502W、504Q、505A、506P、507L、508P、509Q、510Q、511Q、512P、513M、514P、515G、516L、517P、518R、519P、520V、521I、522S、523M、524Q、525A、526Q、527A、528A、529V、530A、531G、532P、533R、534M、535P、536S、537V、538Q、539P、540P、541R、542S、543I、544S、545P、546S、547A、548L、549Q、550D、551L、552L、553R、554T、555L、556K、557S、558P、559S、560S、561P、562Q、563Q、564Q、565Q、566Q、574N、575P、576Q、577L、578M、580A、581F、583K、584Q、585R、586T、587A、588K、589Y、590V、591A、592N、593Q、594P、595G、596M、597Q、598P、599Q、600P、601G、602L、603Q、604S、605Q、606P、607G、608M、609Q、610P、611Q、612P、613G、614M、615H、616Q、617Q、618P、619S、620L、621Q、622N、623L、624N、625A、626M、627Q、628A、629G、630V、631P、632R、633P、634G、635V、636P、637P、638Q、639Q、640Q、641A、642M、643G、644G、645L、646N、647P、648Q、649G、650Q、651A、652L、653N、654I、655M、656N、657P、658G、659H、660N、661P、662N、663M、664A、665S、666M、667N、668P、669Q、670Y、671R、672E、673M、674L、675R、676R、677Q、678L、679L、680Q、681Q、682Q、683Q、684Q、685Q、686Q、687Q、688Q、689Q、690Q、691Q、692Q、693Q、694Q、695Q、696Q、697Q、698G、699S、700A、701G、702M、703A、704G、705G、706M、707A、708G、709H、710G、711Q、712F、713Q、715P、716Q、717G、

718P、719G、720G、721Y、722P、723P、724A、725M、726Q、727Q、728Q、729Q、730R、731M、732Q、733Q、734H、735L、736P、737L、738Q、739G、740S、741S、742M、743G、744Q、746A、748Q、749M、750G、751Q、752L、753G、754Q、755M、756G、757Q、758P、759G、760L、761G、762A、764S、765T、766P、767N、768I、769Q、770Q、772L、773Q、774Q、775R、776I、778Q、779Q、780Q、783K、784Q、785Q、786I、787G、788S、789P、790G、791Q、792P、793N、794P、795M、796S、797P、798Q、803S、804G、805Q、806P、808A、809S、810H、811L、812P、815Q、816I、818T、819S、820L、821S、822N、823Q、824V、825R、826S、827P、828A、829P、830V、831Q、832S、833P、834R、835P、836Q、837S、838Q、839P、840P、842S、843S、844P、845S、846P、847R、848I、849Q、850P、851Q、852P、853S、854P、855H、856H、857V、858S、859P、863S、864P、866P、871T、872M、873A、874S、876I、878Q、882G、884P、886Q、892Q、893L、896P、897S、912T、915T

EBP 的结合位点

8L、9H、10P、11Y、52R、56V、57P、58L、59G、60T、61W、89D、110R、111Y、142R、144H、145P、146L、179L、209K、225A、226K、227S、228K、229K、230N

GFI1 protein 的结合位点

3R、57P、107P、115F、134H、135L、136V、137Q、138S、139Y、140R、141P、143G、144A、146E、147R、148G、149A、150G、151L、152G、161P、162G、163H、164P、165A、166A、167L、168Y、169G、170P、171K、172R、173A、174A、175G、176G、177A、178G、179A、180G、182P、189A、190G、191A、192T、193A、194G、195P、196G、198G、199L、200Y、201G、202D、203F、204G、205S、206A、207A、208A、209G、210L、217A、218A、219G、220L、222Y、223P、224E、225R、226G、227H、228G、235A、236G、237V、238K、239V、240E、241S、242E、243L、244L、246T、247R、248L、249L、250L、251G、252G、253G、255Y、261S、262K、263V、264F、265S、266T、267P、268H、269G、271E、273H、276R、277S、278H、279S、280G、281T、282R、284F、291K、292T、293F、294G、295H、296A、297V、298S、300E、301Q、302H、303K、304A、305V、306H、307S、308Q、309E、310R、311S、312F、318G、319K、320S、321F、322K、323R、324S、325S、326T、328S、329T、330H、331L、332L、333I、334H、335S、336D、337T、338R、340Y、347K、348R、349F、350H、351Q、352K、353S、354D、356K、357K、358H、359T、360F、361I、362H、363T、364G、365E、366K、368H、375K、376A、377F、378S、379Q、380S、381S、382N、384I、385T、386H、387S、388R、389K、390H、391T、392G、393F、394K、395P、396F、403K、404G、405F、406Q、407R、408K、409V、410D、412R、413R、414H、415R、416E、

417T、418Q、419H、420G、421L、422K

nuclear factor 1 B-type isoform 1 的结合位点

23H、25R、26A、27I、28A、29Y、30T、31W、35Q、36A、37R、38K、39R、40K、41Y、58K、75R、79K、81R、82K、97T、114K、150R、169I、170T、171V、172S、174K、195P、216G、239F、249Y、250Y、252D、254N、255S、256G、257V、258N、259L、260Q、261R、262S、263L、264S、265S、266P、267P、268S、269S、270K、271R、273K、274T、284S、285P、286T、287G、291P、292S、293P、295S、300S、301R、302T、303W、313P、314T、315T、316M、317K、318K、319P、322P、323L、324F、327A、328S、329P、334P、335R、336L、337S、338T、339F、340P、344H、345P、347I、348P、351A、352H、353S、354V、358R、359T、360P、365P、367P、368F、369P、372A、375P、376P、378P、379S、380S、381Y、386T、387I、388R、389Y、390P、391P、410S、411P、412Q、415Q、416P、418G、419S、420G、421Q、422V、423V、425K、427P、428G、429H、430F、431T、432P、433V、435A、436P、437S、438P、439H、440P、441S、443V、444R、445P、446V、449S、450M、451T、456I、464T、465A、466S、468T、470Q、479P、480R、481D、482P、483S、489Q、490S、491W、492Y

signal transducer and activator of transcription 3 isoform 1 的结合位点

4W、379R、409K、423R、465S、466N、467I、468C、469Q、511Q、512F、518R、520L、551K、560S、561F、581N、591K、609R、611S、620T、679K、685K、686Y、689P、705Y、727S、728P、729R

TGF beta-inducible nuclear protein 1 的结合位点

3Q、12K、13R、14Y、17R、23K、25R、26K、27K、30R、33H、38K、39A、40K、41K、46K、47A、48K、49L、52K、53Q、54R、55H、56A、58K、62K、63K、64T、66K、74K、99A、100K、101V、103S、107K、110R、113K、115G、116K、117W、123K、125R、136I、137R、139G、140K、141R、142K、143K、144K、145A、146W、148R、149M、172R、174M、175G、177R、192F、205S、206P、210T、215T、216K、217G、238W、240K、241Y、243Q、244V、245T、246N、247N、255N

通过 PSI-BLAST 比对分析,获得同源性PDB-ID (表 2),利用 SWISS-MODEL 和 Q-SiteFinder 在线工具进一步预测分析,获得 6 个 miR-21 转录调控因子结合位点预测模型(图 2)。结合两种预测结果发现,miR-21 转录调控因子与 miR-21 结合位点的位置呈现出对称结构特征,与其三级结构形状相似。而转录调控因子 NF11 和 EBP 未能预

测出模型结果,可能存在其他模式的结合位点,有待于进一步深入研究。

3 讨 论

miRNA 转录过程受到转录因子(transcription factor)的调控。miR-21 相关转录因子已报道的有 AP-1、STAT3、NFI1、CBP、EBP、TGF- β 、BMP-6、GFI1 等,其中,AP-1、STAT3、TGF- β 为正向调节因子,NFI1、CBP、EBP 和 GFI1 为负向调节因子^[7],而 BMP-6 对 miR-21 启动区域的转录后调节既有正向调节,也有负向调节^[10]。本研究对这些转录因子理化性质分析发现,EBP 的脂溶指数和不稳定指数和其他转录因子有明显的差异,为亲水性稳定蛋白。研究表明,编码 EBP 的相关基因缺失可能导致人类 Conradi-Hunermann-Happle 综合征^[11],说明该基因在人体中扮演着极其重要的角色。而其余 7 个转录因子是不稳定的疏水性蛋白,因而可以推测这些转录因子可能受外界环境条件刺激诱导表达产生,进一步可以判断 miR-21 转录调控可能受外界环境条件刺激诱导产生。

转录因子与 miRNA 基因结合是 miRNA 转录调节机制中至关重要的一步。研究发现,STAT3 调控 miRNA 转录有两个结合位点(binding site)^[9],这两个结合位点在 miR-21 转录启动子区域的上游转录起始位点(transcription start site, TSS)被检测到^[8],因而 STAT3 可作为癌症治疗非常有前景的靶标^[12]。本研究通过建模预测 miR-21 转录调控因子的作用位点结果发现,每个转录因子有 2 个作用位点(图 2),并且呈现对称的发夹结构模型,与文献报道结果一致^[9]。此外,我们还发现,miR-21 转录调控因子的三级结构也具有较好的对称性,呈现发夹型结构特征,可能有助于与 miR-21 基因结合进行转录调控。这些研究结果将有助于开展研究癌症治疗及其相关治疗药物的筛选。

参考文献:

- [1] CHEN CZ, LI L, LODISH HF, et al. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation [J]. Science, 2004, 303(5654): 83-86.
- [2] NILSEN TW. Mechanisms of microRNA-mediated gene regulation in animal cells[J]. Trends Genet, 2007, 23(5): 243-249.
- [3] DU T, ZAMORE PD. MicroPrimer: the biogenesis and function of microRNA [J]. Development, 2005, 132(21): 4645-4652.
- [4] DILLHOFF M, LIU J, FRANKEL W, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in pancreatic cancer and a potential predictor of survival[J]. J Gastrointest Surg, 2008, 12(12): 2171-2176.
- [5] LU Z, LIU M, STRIBINSKIS V, et al. MicroRNA-21 promotes cell transformation by targeting the programmed cell death 4 gene[J]. Oncogene, 2008, 27(31): 4373-4379.
- [6] ASAGA S, KUO C, NGUYEN T, et al. Direct serum assay for microRNA -21 concentrations in early and advanced breast cancer[J]. Clin Chem, 2011, 57(1): 84-91.
- [7] 方士强, 卢忠心. MicroRNA-21 的生物学功能及其与肿瘤关系的研究进展 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(6): 428-432.
FANG SQ, LU ZX. Advance in the research on biological function of microRNA -21 and relationship between microRNA-21 and cancer[J]. J Mol Diagn Ther, 2011, 3(6): 428-432.
- [8] FUJITA S, ITO T, MIZUTANI T, et al. miR-21 Gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism [J]. J Mol Biol, 2008, 378(3): 492-504.
- [9] LOFFLER D, BROCKE-HEIDRICH K, PFEIFER G, et al. Interleukin -6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer[J]. Blood, 2007, 110(4): 1330-1333.
- [10] DU J, YANG S, AN D, et al. BMP-6 inhibits microRNA -21 expression in breast cancer through repressing deltaEF1 and AP-1 [J]. Cell Res, 2009, 19(4): 487-496.
- [11] MORICE-PICARD F, KOSTRZEWA E, WOLF C, et al. Evidence of postzygotic mosaicism in a transmitted form of Conradi -Hunermann -Happle syndrome associated with a novel EBP mutation [J]. Arch Dermatol, 2011, 147(9): 1073-1076.
- [12] KLAMPFER L. Signal transducers and activators of transcription (STATs): novel targets of chemopreventive and chemotherapeutic drugs [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2006, 6(2): 107-121.

(编辑 孙慧兰)