

长非编码RNA (lncRNAs) 在心脏中的表观遗传学调控

学院：生科院

报告人：张若愚

小组成员：罗靓赞、张若愚

一.研究 背景

二.研究目的

三.实验脉络

四.主要结论

五.个人小结

一、研究背景

➤ 表观调控

➤ 从全基因组测序中得到的启示之一是：哺乳动物的基因组中只有很小比例是蛋白质编码基因。大部分的基因组DNA编码的是调控非编码RNA，代替了只是转录翻译蛋白的固有功能。

➤ 长非编码RNA(LncRNAs)是核苷酸序列在200-2000或更长。并且他们的功能是为蛋白质-蛋白质互作的桥梁或作为直接引导蛋白质复合体到特殊的RNA或DNA序列的分子伴侣。与相邻基因序列有重叠。

- 前人通过研究成熟心脏衰竭现象发现：一些 **LncRNAs** 在心脏的发育中有重要的作用。但是，目前还不能确切的知道 **LncRNAs** 在心脏发育和疾病状态下分别是怎么被调控的。

二.研究目的

1. 通过应用综合性的新一代测序技术和先进的计算机技术**鉴定心脏特异表达的LncRNAs**，并对其进行**LncRNAs表达特征的定义**。
2. 在此基础上，应用生物信息学**绘制LncRNAs表达谱**并确定**LncRNAs和mRNAs的动态变化**。
3. **验证**在发育胚胎心脏时表达出现的心脏**mRNAs**在一定程度上是由**LncRNAs**直接调控的。

三.实验脉络

1.创建小鼠心脏特异表达的**LncRNAs**子集



2. **lncRNAs**在胚胎发育成成熟小鼠心脏过程的表达差异



3. **lncRNA**和**mRNA**在心脏受流动压力胁迫前后的调控



4.通过调控顺势原件**lncRNA**研究其配对的**mRNA**的表达变化，研究**lncRNA**与**mRNA**之间在胚胎到成熟心脏过程关系。



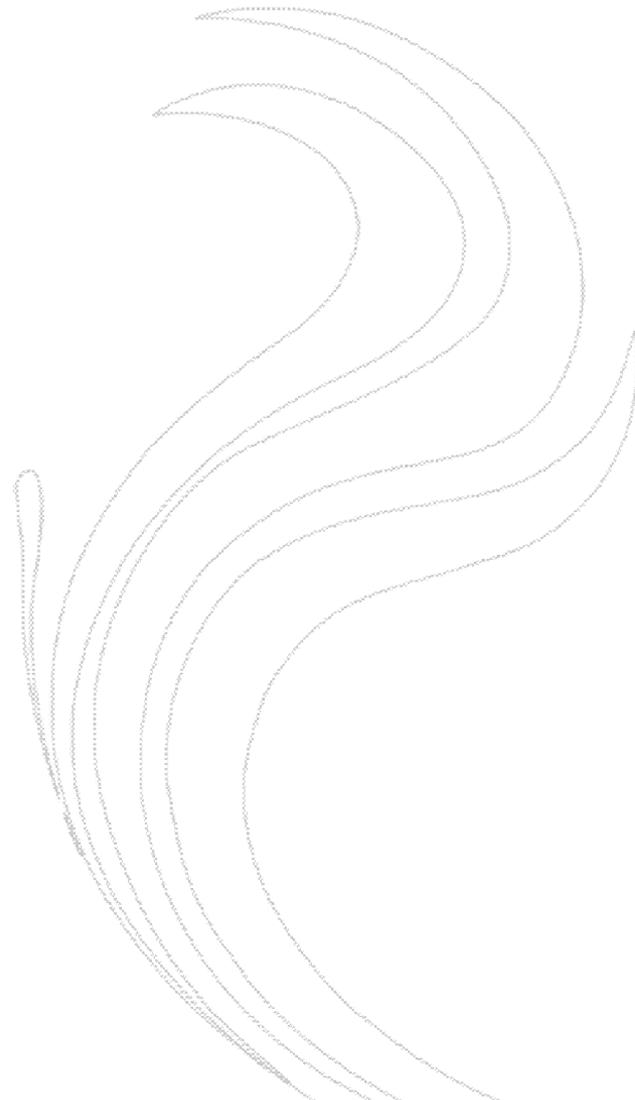
5.在心脏发育中**lncRNA**介入有重要的基因表达调控的作用。

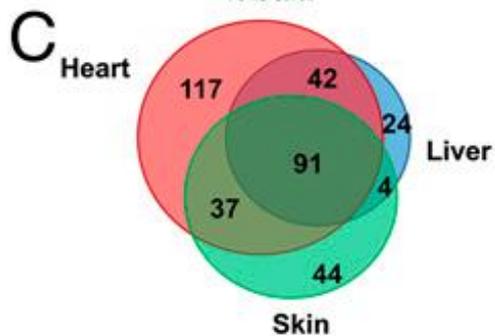
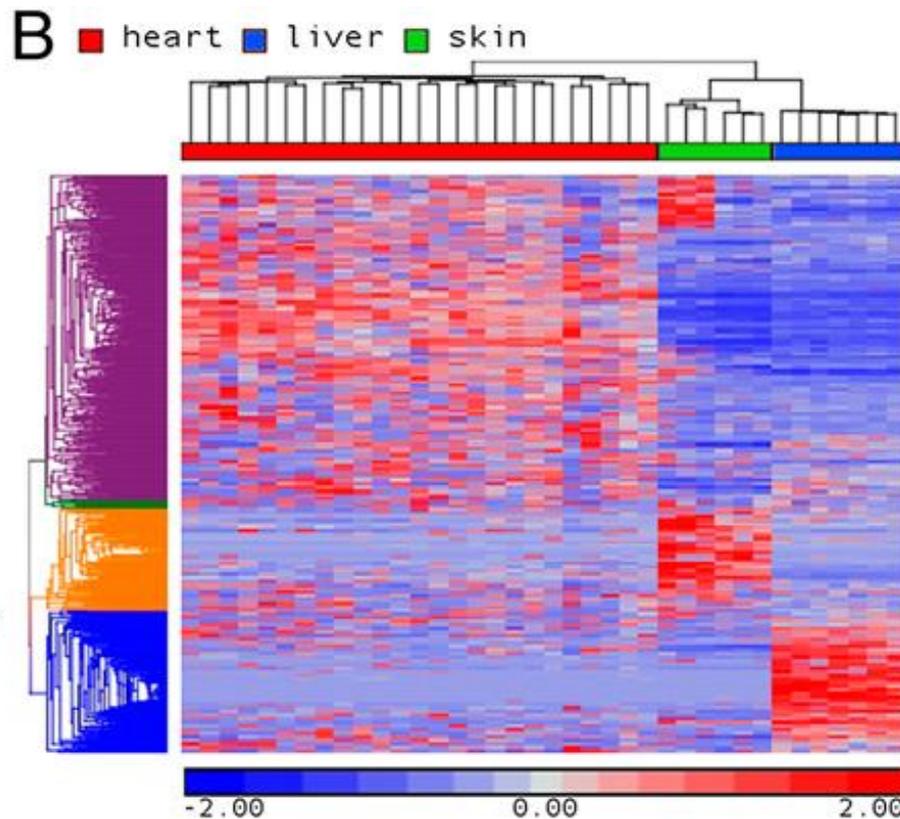
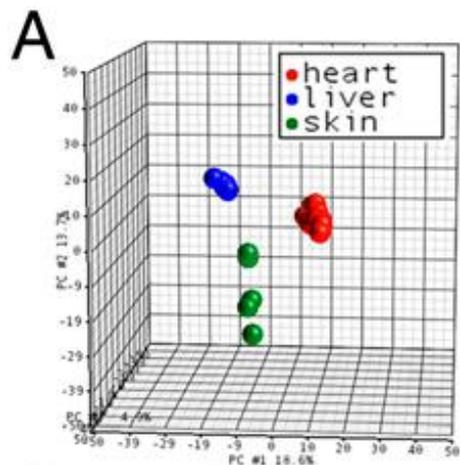
1.创建小鼠心脏的特异表达的 LncRNAs子集

➤ 2997个小鼠LncRNAs

➤ 2140个小鼠LncRNAs

➤ 736个LncRNAs





以主成分分析和双聚体
在正常的成熟心脏材料中检测到546LncRNAs。

- 认定**321**条**lncRNAs**在心脏中表达。（建子集完成）
- 其中有**152**个心脏**lncRNA**在正常成熟的心脏中表达水平**>1RPKM**。定义为**富含型心脏的lncRNA**。
- 这些富含型心脏 **lncRNA** 中的 **48** 种（包含 **Braveheart**）被定义为**浓缩型心脏lncRNA**。

- 总计，我们在成熟小鼠心脏的研究确定了**48**种浓缩型心脏**lncRNA**,和**104**个丰富的**lncRNAs**（它们在肝脏、皮肤细胞和心脏都有普遍的表达）。

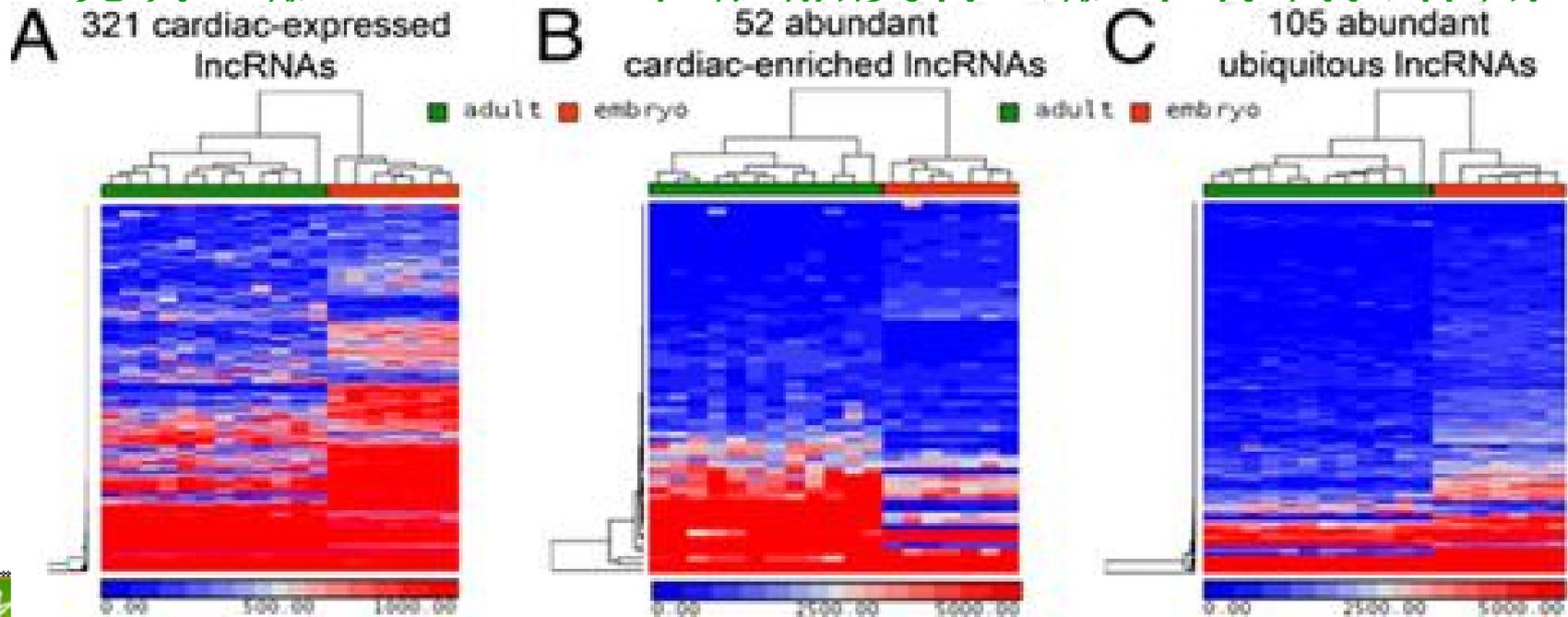
2. 与成熟心脏相比，心脏lncRNAs在胚胎发育分化心脏中的表达和作用。

➤ Braveheart lncRNA

➤ 还有其他心脏lncRNAs在胚胎发育心脏中有作用吗？

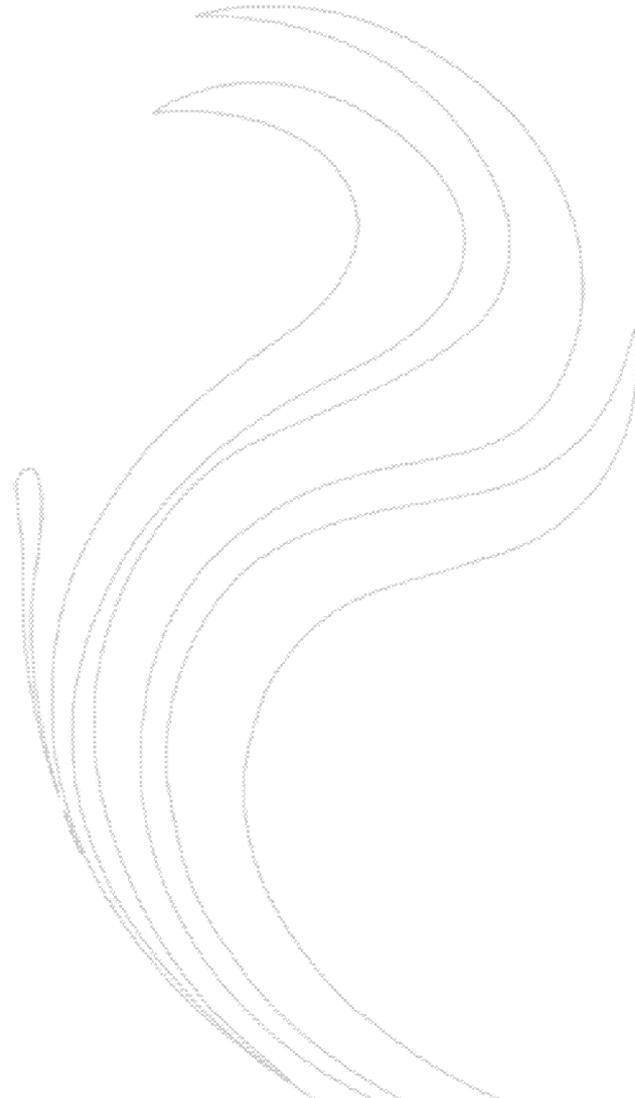
➤ ~E13.5时期的胚胎 成熟心脏 157

➤ 说明心脏 lncRNAs在胚胎发育心脏中有调控作用

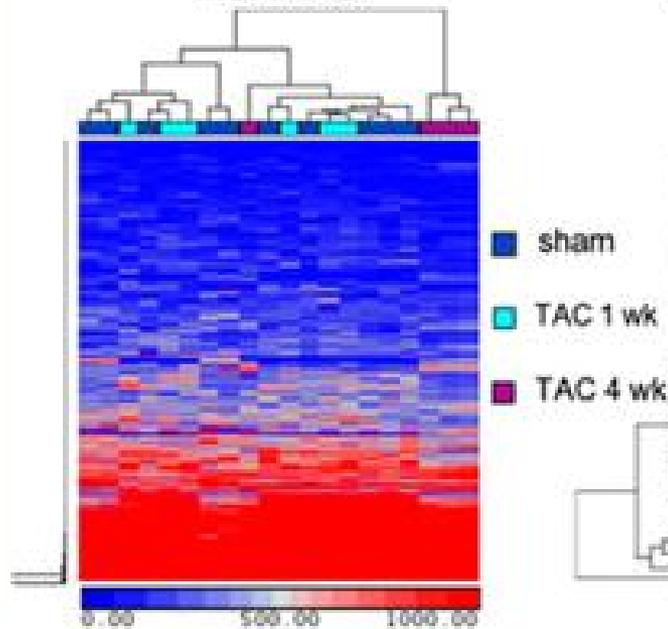


3. lncRNA和mRNA在心脏受流动压力胁迫前后的调控

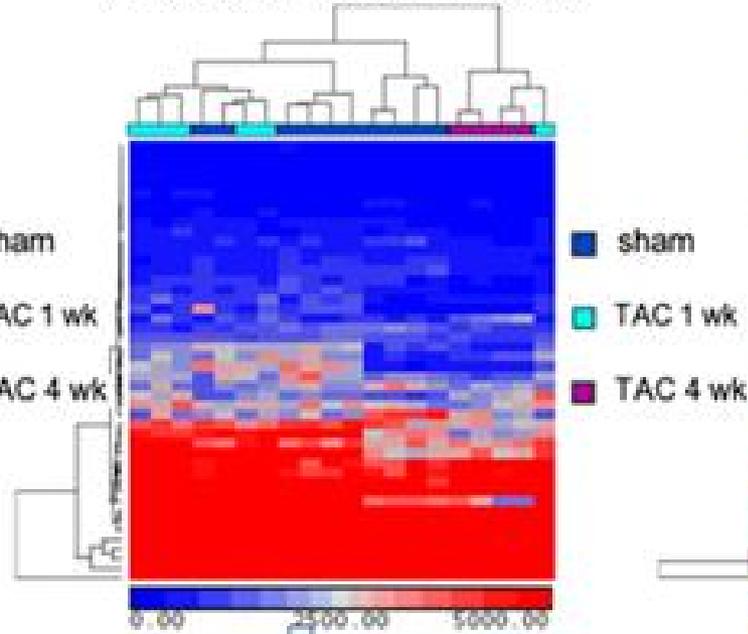
- 思路
- 实验设计
 - 假手术
 - 心脏动脉结扎(1w)
 - 心脏动脉结扎(4w)



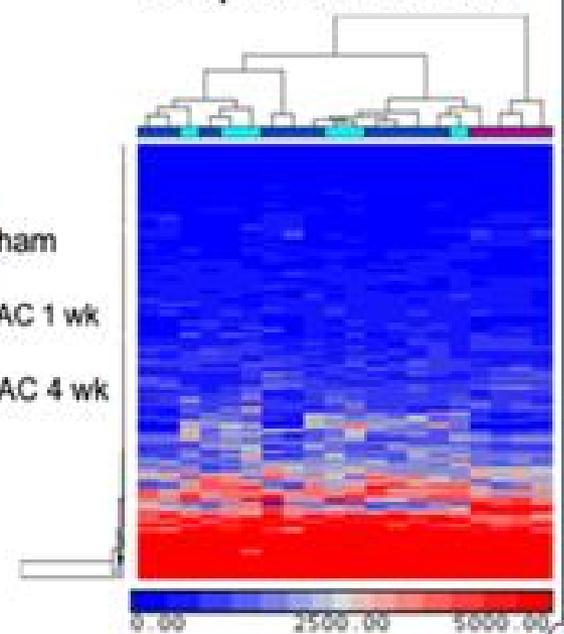
D 321 cardiac-expressed lncRNAs



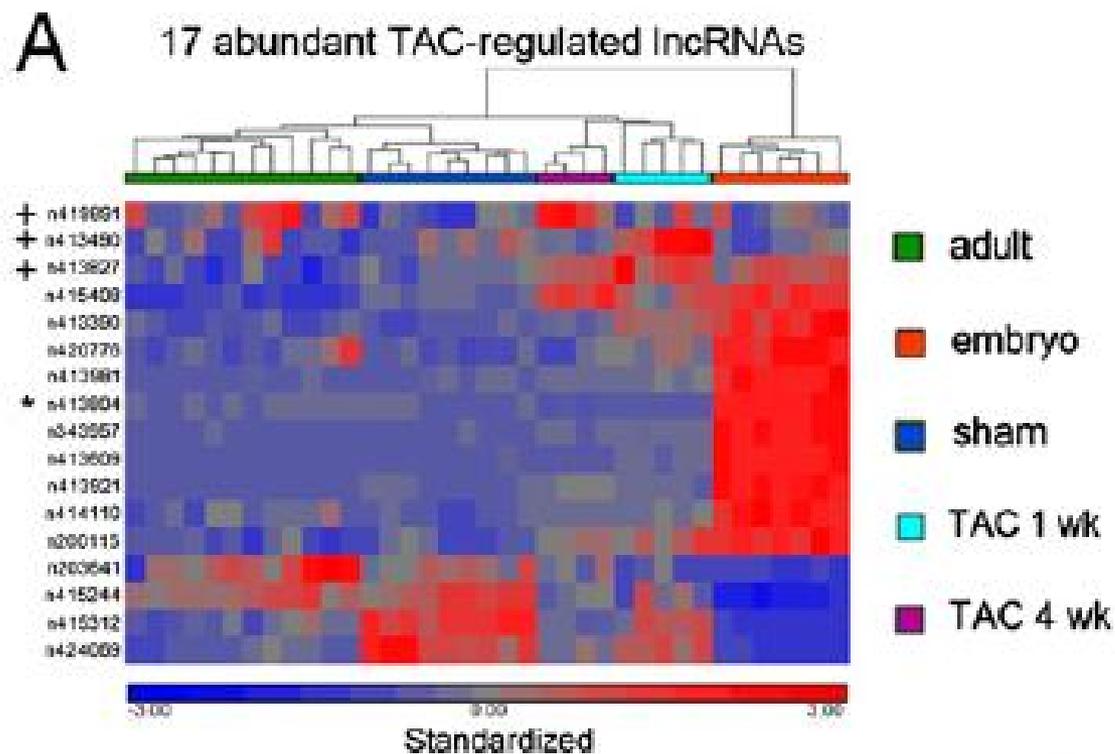
E 52 abundant cardiac-enriched lncRNAs



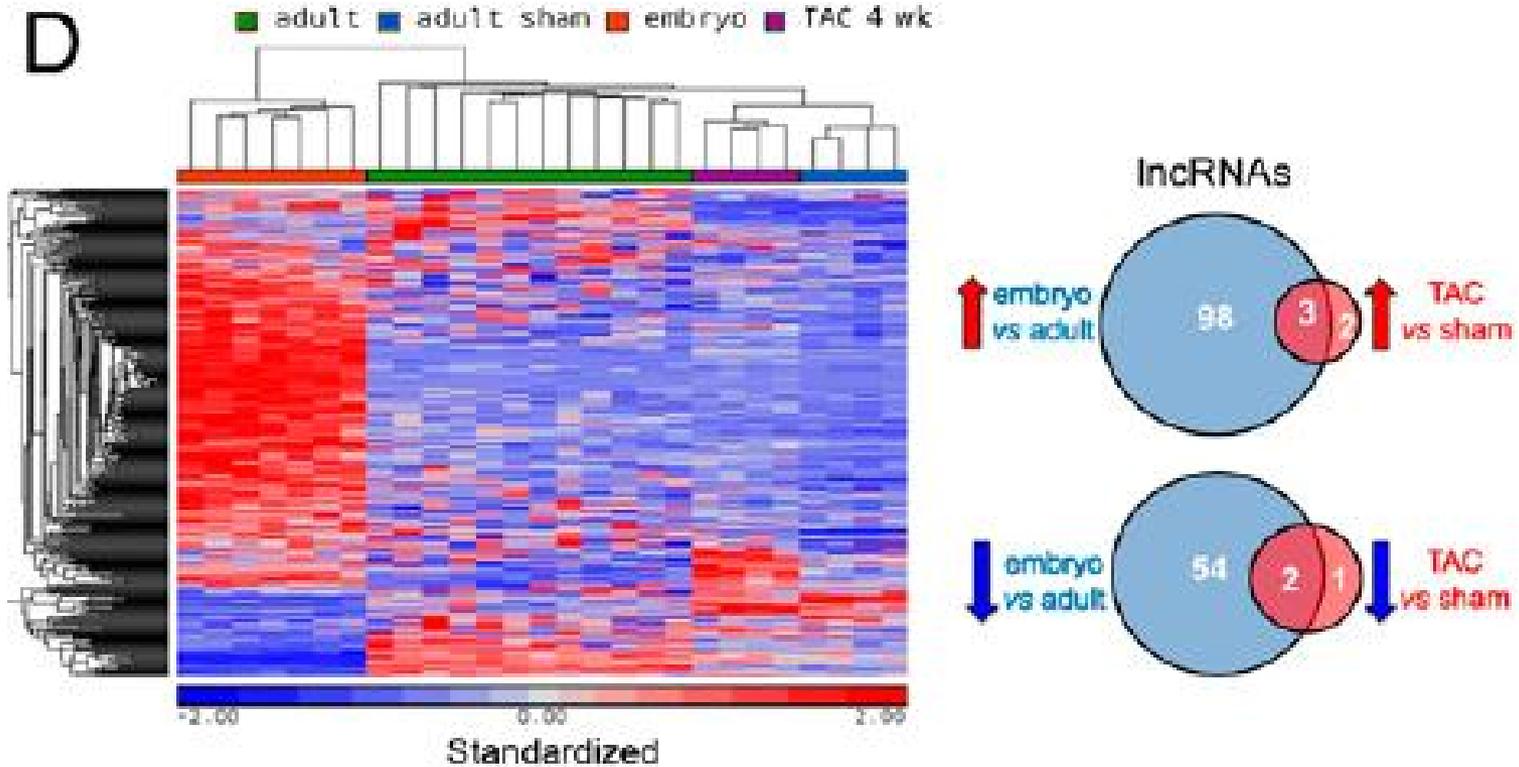
F 105 abundant ubiquitous lncRNAs



- 结果：与假手术对照相比，术后1周或4周老鼠心脏中lncRNAs有17种表达出现差异。

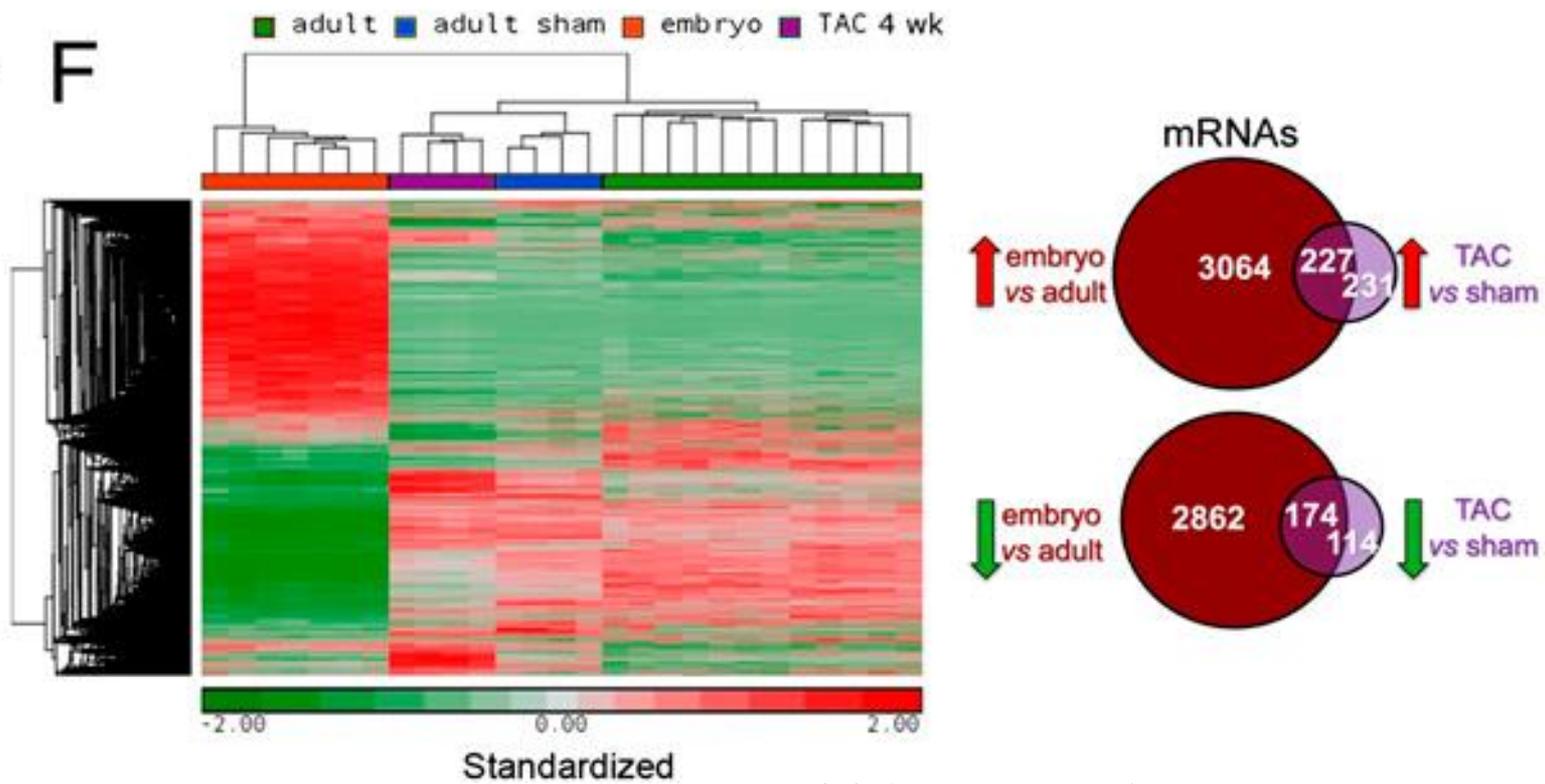


注：但是胚胎发育心脏与成熟心脏比较有157种 lncRNA 表达差异。



结论：**lncRNA**在胚胎发育心脏和成熟心脏中表达差异显著不同，但在模拟病变的成熟心脏和健康成熟心脏表达相似。

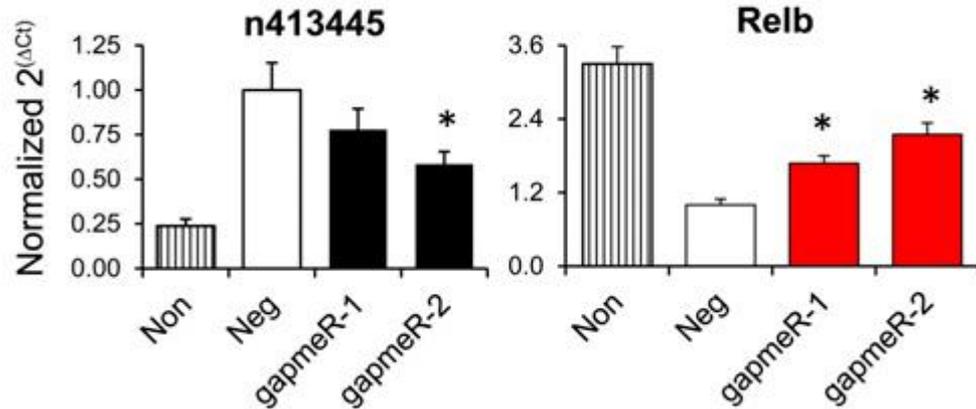
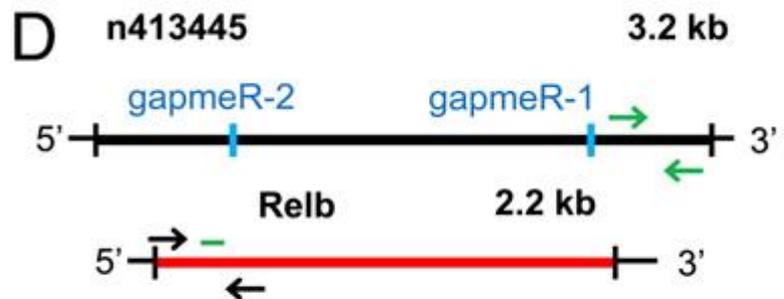
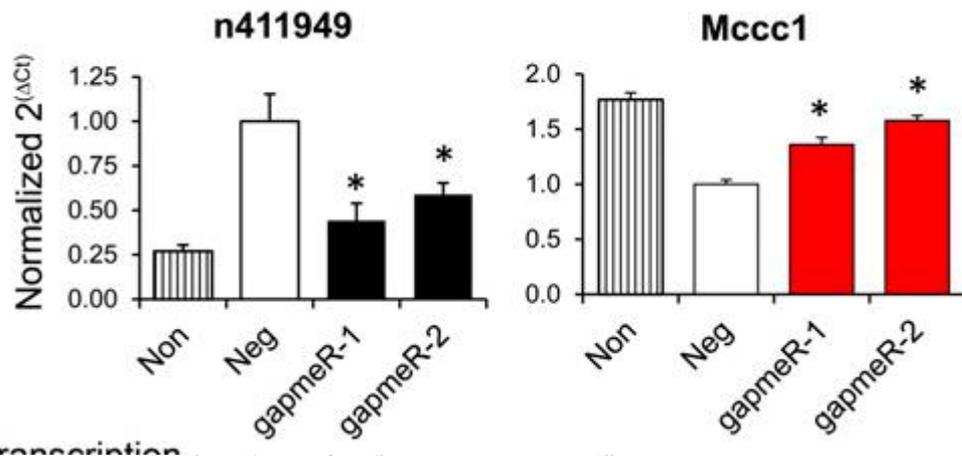
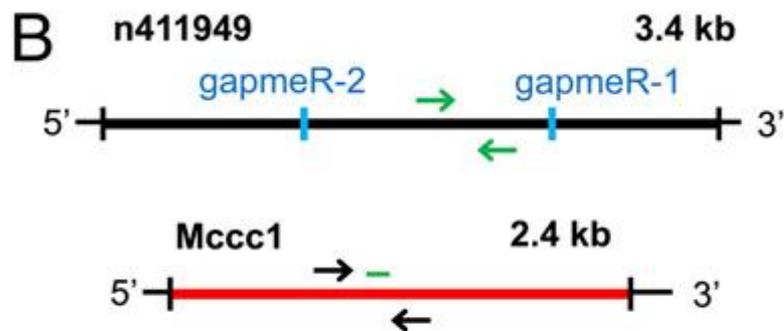
F



4.通过调控顺势原件lncRNA研究其配对的mRNA的表达变化，研究lncRNA与mRNA之间在胚胎到成熟心脏过程的关系。

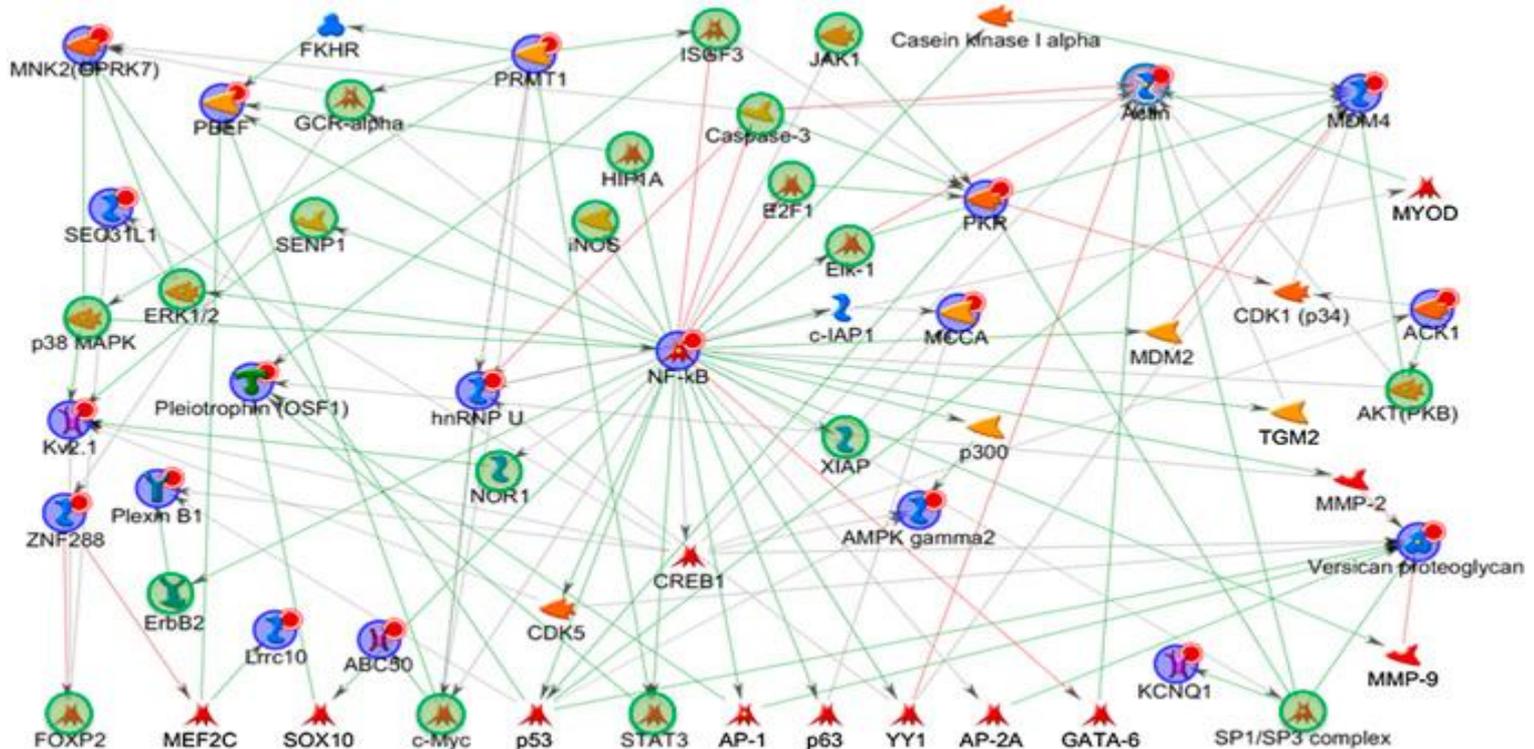
- **lncRNA与mRNA匹配，找到33对**
- 在胚胎中，其中**22对**为正向调控变化；另外**11对**为反向调控变化（这**11**中**lncRNA**有抑制的功能）。

gapmeRs是反义调控序列



5.在心脏发育中lncRNA介入有重要的基因表达调控的作用。

- 上述有**22种**由**lncRNA**调控的**mRNA**有调控组织生长发育的功能。
- 对这些**mRNA**进行网络分析 **NFkB(ReIB)**



四. 主要成果和结论

- 1. 本实验鉴定了**321**个心脏表达和**48**个心脏浓缩型**lncRNA**，这为我们后期研究**lncRNA**在心脏中的生物学意义提供了很好的基础。
- 2. **lncRNA**在心脏的胚胎发育中有重要的表观调控发育基因表达的作用。
- 3. 成熟心脏病变后**lncRNA**的功能有限。

- 4.证明了**lncRNA**的表达量可以直接调控**mRNA**，既可以是正向，也可以是反向的。
- 5.在心脏发育中**lncRNA**介入有重要的基因表达调控的作用。

五。个人小结

内容：

首次阐明心脏**lncRNA**通过调控**mRNA**表达，对胚胎心脏发育有重要调控作用。

创新点和贡献：

1.首次对**lncRNA**采用反义调控方法，研究具体**lncRNA**与对应**mRNA**的调控关系。（非常有效）

2.首次创建了一个小鼠心脏特异**lncRNAs**的子集，利于后人研究。

- 启示：研究要有创新思维和发散思维，本实验在**lncRNA**心脏领域有开拓贡献，要学习其开拓精神和借鉴实验设计思路。
- 不足：**1.**文献上有明显前后错误，前文文字定义浓缩型**lncRNA**有**48**种，而后文多副图标识有**52**种。
- **2.**本文在设计实验，选着的胚胎发育时期较晚（心肌细胞发育明显，中胚层特化基本完成），不知道更早期胚胎发育中**lncRNA**的调控作用。

敬请马老师和各位同学批评指正
谢谢！