# 人类信使 RNA 和长链非编码 RNA 基本属性比较

# Comparison of human mRNA and lncRNA basic properties

马旭营　伊现富

**摘 要:**

长链非编码 RNA(long non-coding RNA，lncRNA)是指一类长度大于 200nt，几乎不具有蛋白编码功能的 RNA。近年来大量的研究证明 lncRNA 在生物体中广泛地参与各种生理及病理过程，具有促进细胞凋亡、病毒入侵、多能干细胞去分化等多种功能，与生物体的生活息息相关。本文主要比较了 lncRNA 与 mRNA 的一些基本属性，重点比较了两者的编码潜能，探究 lncRNA 的功能，为进一步深入研究 lncRNA 提供参考。

**Abstract:**

Long non-coding RNA (lncRNA) refers to a class of RNA with a length greater than 200 nt and almost no protein coding function. In recent years, a large number of studies have shown that lncRNA is widely involved in various physiological and pathological processes in the organism. It has many functions, such as promoting apoptosis, virus invasion and pluripotent stem cell dedifferentiation, and is closely related to the life of the organism. In this paper, we compared some basic properties of lncRNA and mRNA, focusing on the coding potential of both, exploring the function of lncRNA, and providing a reference for further study of lncRNA.

关键词：

长链非编码 RNA；mRNA；编码潜能

## 1. 前言

### 1.1 lncRNA 的概念

长链非编码 RNA(long non－coding RNA 或 long noncoding RNA，lncRNA）亦称长非编码 RNA，是一类不有相同的转录机制，即需要 RNA 聚合酶Ⅱ的参与以及与转录起始和延伸相关的组蛋白的修饰。这些 lncRNA 具有 5’端的甲基鸟苷帽子，相当一部分 lncRNA 的 3’端具有多聚腺苷尾。

最初研究认为，这些由不编码蛋白质的 DNA 转录出的产物没有生物学作用，仅仅是“转录噪声”。近期研究发现，lncRNA 虽然不能被翻译成蛋白质，但它参与许多生命活动在基因转录调控、翻译后修饰和表观遗传学调控等方面有十分重要的作用，并且和疾病的发生、发展、诊断及治疗有密切的关系[1]。

1.2 lncRNA 的分类

对 lncRNA 进行科学的分类是有效地研究 lncRNA 的前提，目前比较公认的是根据其来源于基因组的不同位置分为五类：①正义的(sense)，蛋白编码基因转录产物经过剪接产生的无编码功能的转录本；②反义的(antisense，AS)，由与蛋白编码基因互补的 DNA 链转录产生，且和该基因有一个或数个外显子的重叠；③双向的(bidirectional)，基因组邻近区域互补的两条链上的基因同时表达的转录本；④内含子的(intronic)，即完全来源于基因的内 含子；⑤基因间的(intergenic)，位于两个基因间的区域[2]。

1.3 lncRNA 的分子结构

lncRNA 的一级结构即为 lncRNA 的核苷酸排列顺序。lncRNA 调节基因功能的途径多种多样，其中最为重要的一种方式便是通过碱基互补配对方式与靶基因结合来直接调节靶基因的转录翻译或间接调节靶基因上游或下游基因的转录翻译，碱基配对的基础便是其一级结构。研究报道 lncRNA Gas5 可直接与糖皮质激素上的 DNA 结合域(DNAbinding domain)结合，进而与含有糖皮质激素反应元件(glucocorticoid response elements)目的基因竞争并调节其表达，而与靶标碱基互补配对的基础便是 lncRNA 的一级结构。

lncRNA 二级结构及三级结构(空间结构) 是 lncRNA 发挥其功能的中枢。2012 年，Novikova 等报道了人类 SRAlncRNA(steroid receptor RNA activator lncRNA )二级结构信息。SRA 能够激活数种性激素受体，并与乳腺癌的发病密切相关。

目前，还没有更多关于 lncRNA 空间结构(三级结构及四级结构)的研究报道，现有的关于 lncRNA 高级结构的认识仅来源于 NEAT1。NEAT1 的两个亚基拥有相同的启动子及相似表达量(人 NEAT1 亚基为：NEAT_V1：3.7kB，NEAT_V2：22.7 kB )，二者均参与特异性核腔隙(specific nuclear compartments) -paraspeckles 的形成[3]。

1.4 lncRNA 的作用机制

研究表明, lncRNA 发挥生物学功能的主要机制有基因印记(Genetic imprinting)、染色质重塑、细胞周期调控、剪接调控、mRNA 降解和翻译调控等(表 1)。

表 1　部分 lncRNA 的生物学功能

| lncRNA 名称 | 生物学功能 |
|---|---|
| H19 | 基因印记 |
| Xist | X 染色体失活 |
| Tsix | 阻断 Xist 积累, 维持 X 染色体的活性 |
| HOTAIR | 组蛋白修饰复合体的骨架分子 |
| ANRIL | 抑制转录 |
| Gas5 | 糖皮质激素受体的诱饵 |
| lincRNA-p21 | 通过结合转录因子抑制基因表达 |
| PANDA | 转录因子的诱饵 |

| | |
|---|---|
| hsr ω -n | 调控 mRNA 前体的剪接 |
| sat III | 调控 mRNA 前体的剪接 |
| MALAT1 | 调控丝氨酸/精氨酸剪接因子磷酸化 |
| 1/2-sbsRNA | 介导 mRNA 降解 |
| BACE1-AS | 增加 mRNA 的稳定性 |

1.5 lncRNA 研究中存在的问题

当前，lncRNA 研究正处于起步阶段，因此面临着许多亟待解决的问题：(1)lncRNA 的定义仍存在争议。一般认为，lncRNA 是长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA。但是，Spizzo 等认为，以 200 个核苷酸作为界定 lncRNA 过于武断，因为小于 200 个核苷酸的非编码 RNA 中还存在很多非编码 RNA，它们既不属于小 RNA(Small RNA)也不属于结构 RNA (Structural RNA)。(2)lncRNA 生物学功能的阐明并非易事。一方面，如何区分功能性和非功能性非编码转录物依然存在困难，另一方面，由于 lncRNA 种类和功能的多样性，致使不同的 lncRNA 研究结果之间的借鉴意义并不高。(3)尚无统一的命名原则。目前 lncRNA 还没有一个规范的命名方法，只是研究者根据其功能、结构特点、作用方式等进行命名，有时很难从名称中了解其真正含义和功能。 (4)lncRNA 数据库不够全。相对于其他非编码 RNA 数据库，lncRNA 相关数据库的内容还不够全，对 lncRNA 的注释远远不够丰富。(5)lncRNA 功能预测的工具不多。针对 lncRNA 的生物信息学工具仍然极少，例如，目前难以对 lncRNA 二级结构和靶标等进行有效地预测。(6)研究领域有待拓展。目前，有关 lncRNA 的研究主要集中于肿瘤、神经、发育、植物等领域，在其他领域和对其他疾病的研究依然欠缺。(7)用于 lncRNA 研究的新技术并不多。因此，需要建立更多、更有效的研究方法用于系统地研究 lncRNA 的结构和功能[4]。

本次研究希望通过对 mRNA 与 lncRNA 的基本属性进行对比，从而加深对 lncRNA 的了解，为以后对 lncRNA 的深入探索打下基础。

## 2. 原理和方法

本次实验使用的数据是人类的部分 mRNA 和全部 lncRNA，基因组版本为 hg19(GRCh37)。

2.1 人类 mRNA 与 lncRNA 编码潜能的比较

首先从 NONCODE(http://www.noncode.org/)中下载人类全部 lncRNA 的“bed”格式文件，然后打开 CPAT(http://lilab.research.bcm.edu/cpat/)上传数据。CPAT 是一款预测 RNA 编码潜能的在线工具，与其他的预测编码潜能工具不同，CPAT 不是基于比对来搜索蛋白质证据或多重比对来计算系统发育保守性评分，而是使用了一种以 4 种序列特征：开放阅读框大小，开放阅读框覆盖，Fickett TESTCODE 统计和六联体使用偏倚构建的逻辑回归模型来预

测编码潜能。这种逻辑回归模型使得 CPAT 具有很高的准确性，同时也使得 CPAT 比 Coding-Potential Calculator 和 Phylo Codon Substitution Frequencies 快约 4 个数量级，使得用户能够在数秒钟内处理数以千计的转录本。CPAT 允许用户上传“bed”格式或“fasta”格式的数据，也可以直接粘贴数据或数据所在网址，支持的人类基因组版本为 hg19(GRCh37)。但 CPAT 也有一个小缺陷，那就是能够承载的数据量较小，仅能接受 10M 以内的数据。由于 lncRNA 的数据文件大于 10M，所以不能直接上传，分三次将其手动粘贴至接受数据区域，选择物种基因组版本为 Human (hg19, GRCh37)，然后提交即可。将跳转页面的预测结果全部粘贴至 Excel，使用函数“COUNTIF”统计其中可以编码的 lncRNA 数目，计算其所占比例，再将原始数据上传至 Galaxy(https://usegalaxy.org/)，使用 Text Manipulation 工具集中的“Text reformatting with awk ”工具将每条染色体上的 lncRNA 分离出来再进行每条染色体上 lncRNA 的编码潜能预测。由于人类全部基因组的 mRNA 数据量实在太大，本次实验在每条染色体上随机选取了 2000 条 mRNA 进行预测，然后在 Excel 中进行统计，再将两者进行比较。

2.2 人类 mRNA 与 lncRNA 的 SNP 比较

首先将从 NONCODE 中下载的 lncRNA 数据上传至 Galaxy，使用“Text reformatting with awk ”提取出每条染色体上的 lncRNA。然后从 Galaxy 的数据库中搜索人类基因组中每条染色体的 SNP，基因组版本选择 hg19(GRCh37)。使用 Operate on Genomic Intervals 工具集中的“Join”工具，以 lncRNA 数据为第一套数据集，以 SNP 数据为第二套数据集，其他选项默认，通过坐标比较提取含有 SNP 的 lncRNA。再使用 Join, Subtract and Group 中的“Group”工具，以提取过 SNP 的 lncRNA 为数据集，对 lncRNA 的 ID 进行计数，“Group by column”中选择“column4”，点击“Insert Operation”，“Type”中选择“Count”，“On column”选择“1”，其余参数默认，得到的结果中第一列为 lncRNA 的 ID，第二列为每条 lncRNA 上的 SNP 数目。然后使用 Filter and Sort 工具集中的“Sort”工具，对第二列 SNP 数目采用降序排列，所有参数默认即可。将所得出的结果文件下载复制到 Excel 中，统计每条 lncRNA 上 SNP 的数目，再计算平均数目。

对 mRNA 的操作与上述步骤相同，在此不再赘述。最后将两者进行比较。由于 mRNA 的数据量过大，Galaxy 运行时间过长，而时间又有些紧迫，所以本实验只选取了 Y 染色体作为例子，以后如有机会，在进行其他染色体的操作。

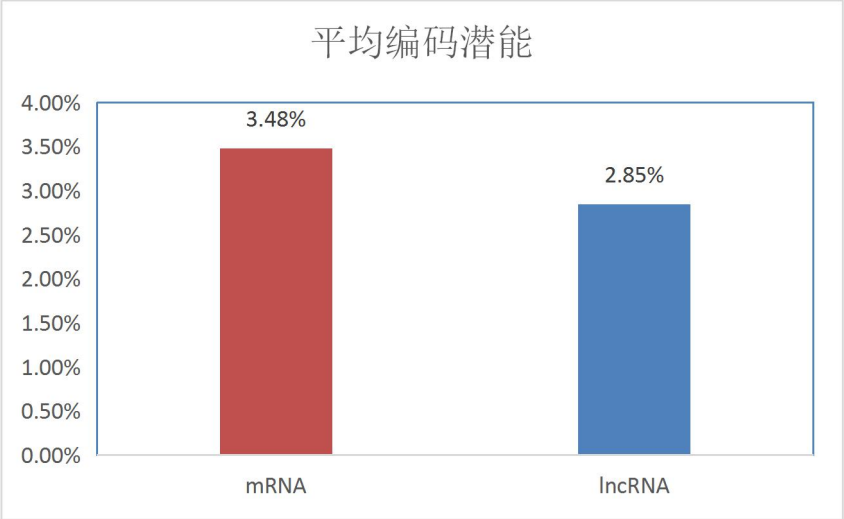
## 3. 结果

3.1 人类的 mRNA 与 lncRNA 编码潜能比较

根据 CPAT 工具的预测以及 Excel 分析的结果，mRNA 的平均编码潜能约为 3.48%，也就是说，在本次实验所选择进行统计的 48000 条 mRNA 中，约有 1670 条 mRNA 可以用于编码蛋白质，具有编码潜能；而 lncRNA 的平均编码潜能为 2.85%，换句话说，在所有的 227332 条 lncRNA 中，约有 6479 条 lncRNA 可以用于编码蛋白质，具有编码潜能(图 1)。由此可以

看出 mRNA 的编码潜能略高于 lncRNA，但是差异并不显著，仅为 0.63%。

图 1　人类 mRNA 与 lncRNA 平均编码潜能比较




关于每条染色体上 mRNA 与 lncRNA 编码潜能的差异，在 1-6、10-15、17、20、Y 染色体上较为显著，即 mRNA 的编码潜能高于 lncRNA，但是差异并不显著，分别为 1.97%、1.76%、 0.24%、0.86%、5.45%、3.10%、1.91%、1.19%、0.14%、1.81%、2.35%、0.19%、1.05%、0.15%、0.77%；在 7-9、16、18、19、21、22、X 染色体上，lncRNA 的编码潜能与 mRNA 相比较高一些，然而差异也不显著，分别为 2.07%、0.37%、0.74%、1.10%、3.15%、0.20%、0.33%、0.05%、0.02%(表 2，图 2)。

表 2　每条染色体上人类 mRNA 和 lncRNA 编码潜能比较

| 染色体号 | 基因总数目 | 可编码数目 | 基因总数目 | 可编码数目 | 编码潜能 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | mRNA | | lncRNA | | mRNA | lncRNA |
| 1 | 2000 | 88 | 19407 | 472 | 4.40% | 2.43% |
| 2 | 2000 | 73 | 19662 | 372 | 3.65% | 1.89% |
| 3 | 2000 | 42 | 13209 | 246 | 2.10% | 1.86% |
| 4 | 2000 | 58 | 11340 | 231 | 2.90% | 2.04% |
| 5 | 2000 | 157 | 13241 | 318 | 7.85% | 2.40% |
| 6 | 2000 | 106 | 14176 | 312 | 5.30% | 2.20% |
| 7 | 2000 | 22 | 11405 | 362 | 1.10% | 3.17% |
| 8 | 2000 | 41 | 10852 | 263 | 2.05% | 2.42% |
| 9 | 2000 | 42 | 9642 | 274 | 2.10% | 2.84% |
| 10 | 2000 | 79 | 10527 | 215 | 3.95% | 2.04% |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 | 2000 | 93 | 9939 | 344 | 4.65% | 3.46% |
| 12 | 2000 | 51 | 10921 | 263 | 2.55% | 2.41% |
| 13 | 2000 | 60 | 7584 | 90 | 3.00% | 1.19% |
| 14 | 2000 | 90 | 7503 | 161 | 4.50% | 2.15% |
| 15 | 2000 | 46 | 7150 | 151 | 2.30% | 2.11% |
| 16 | 2000 | 71 | 7713 | 359 | 3.55% | 4.65% |
| 17 | 2000 | 98 | 8952 | 345 | 4.90% | 3.85% |
| 18 | 2000 | 33 | 5643 | 271 | 1.65% | 4.80% |
| 19 | 2000 | 118 | 6781 | 414 | 5.90% | 6.10% |
| 20 | 2000 | 63 | 6196 | 186 | 3.15% | 3.00% |
| 21 | 2000 | 45 | 3720 | 96 | 2.25% | 2.58% |
| 22 | 2000 | 98 | 4383 | 218 | 4.90% | 4.95% |
| X | 2000 | 56 | 6232 | 176 | 2.80% | 2.82% |
| Y | 2000 | 38 | 1154 | 130 | 1.90% | 1.13% |
| 总计 | 48000 | 1668 | 227332 | 6479 | 3.48% | 2.85% |

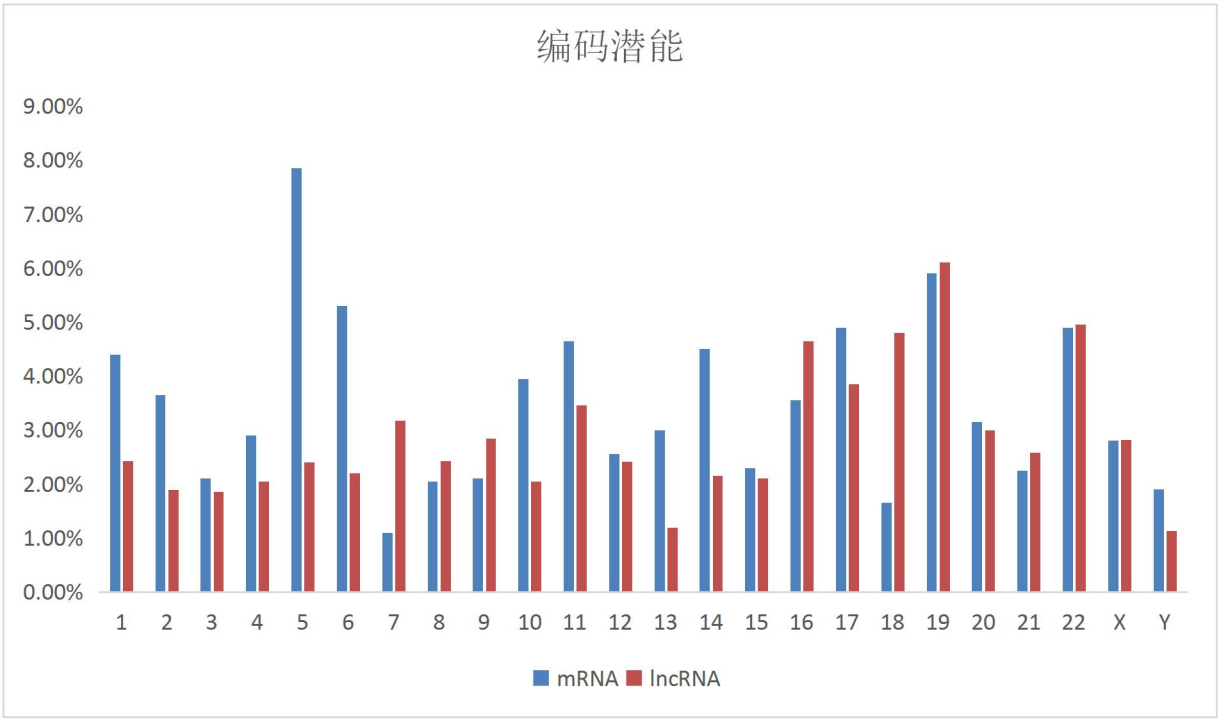



图 2　每条染色体上人类 mRNA 和 lncRNA 编码潜能比较

3.2 人类 mRNA 和 lncRNA 上 SNP 数目比较

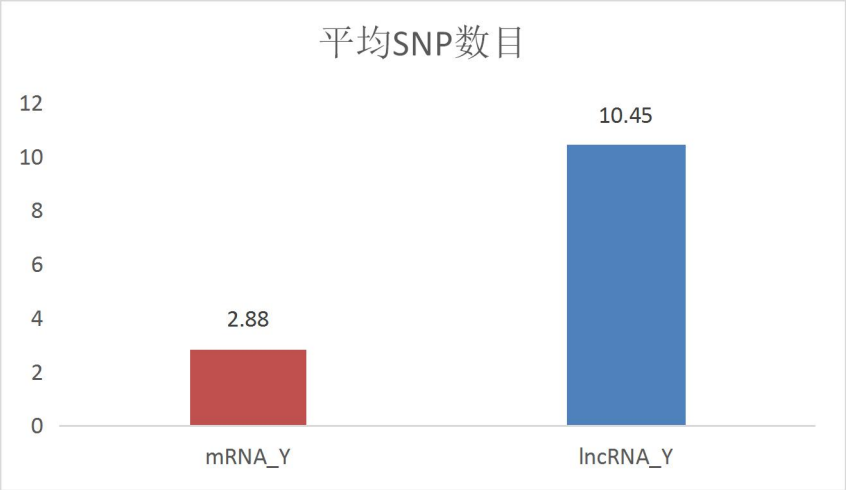
根据 Galaxy 运行出的结果以及 Excel 分析出的结果，从人类 Y 染色体上 lncRNA 中提

取出的 SNP 数目为 12060 个，Y 染色体上的 lncRNA 条数为 1157 条，平均每条 lncRNA 上的 SNP 数目为 10.45 个；从人类 Y 染色体上 mRNA 中提取出的 SNP 数目为 174429 个，Y 染色体上的 mRNA 条数为 60583 条，平均每条 mRNA 上的 SNP 数目为 2.88 个(表 3，图 3)。由此可以看出在人类 Y 染色体上 lncRNA 的平均 SNP 数目要显著高于 mRNA 的平均 SNP 数目，且差距并不算小，为 7.57，接近 mRNA 平均 SNP 数目的三倍。

表 3　人类 Y 染色体上 mRNA 与 lncRNA 的平均 SNP 数目比较

| RNA 种类 | RNA 数目 | SNP 数目 | 平均 SNP 数目 |
|---|---|---|---|
| mRNA | 60583 | 174429 | 2.88 |
| lncRNA | 1157 | 12060 | 10.45 |

图 3　人类 Y 染色体上 mRNA 与 lncRNA 的平均 SNP 数目比较




## 4. 结论

根据上述结果进行分析，大致可以得到如下结论：

(1) 人类的 mRNA 编码潜能要略大于 lncRNA，因为 mRNA 要编码蛋白质，而 lncRNA 并不编码蛋白质，故而 lncRNA 的编码潜能要比 mRNA 的编码潜能小一些，这一点与已知的研究进展是一致的。

(2) 人类的 Y 染色体上 mRNA 的 SNP 数目要小于 lncRNA 的 SNP 数目，这说明 mRNA 的保守性要大于 lncRNA，因为 mRNA 要编码蛋白质，而 lncRNA 一般不编码蛋白质，所以 lncRNA 的变异位点多一些对生物体的表型影响并不算大，这一点也与研究进展及实验之前的推论是相同的。

## 5. 讨论

由于一些客观上的因素以及主观上的阻力，本次实验尚存在以下问题：

(1) 由于人类的全部基因组 mRNA 数据量过于庞大，CPAT 这个工具无法承载如此巨大

的数据量，故而在每条染色体上挑选了 2000 条 mRNA，由于样本数目较小，导致 mRNA 编码潜能与 lncRNA 编码潜能的差距并不显著，如果样本数据量大一些，或使用整个基因组 mRNA，差异可能会更大一些。

(2)由于实验者的能力有限，未能利用现有知识随机挑选样本，所以挑选 mRNA 的过程有些随意，不够专业。

(3)由于 Galaxy 的运行时间过长，而实验时间有限，所以 SNP 的比较只选取了人类 Y 染色体作为例子，以后要如有时间，应使用所有的染色体进行分析。

## 6. 参考文献

[1] 井深，张惠荣.长链非编码 RNA 研究现状与趋势的文献计量分析.中华医学图书情报杂志,2012,21(9)：54-56

[2] 王国强，卫宁，王禹等.长链非编码 RNA 的生物学功能研究进展.家畜生态学报,2014,35(3)：1-5

[3] 王婷梅，曲丽娜，李莹辉.lncRNA 的结构、功能及其与疾病的关系.中国生物化学与分子生物学报,2015,31(7):659-666

[4] 夏天,肖丙秀,郭俊明.长链非编码 RNA 的作用机制及其研究方法.HEREDITAS (Beijing),2013,35(3):269－280