雷公藤LLDT8研究思路

可从以下2方面进行后续实验：

**1、分析lncRNA在LLDT8作用机制中发挥的调控作用；**

**2、分析miRNA在LLDT8作用机制中发挥的调控作用；**

详述如下：

**1、基于lncRNA芯片数据（mRNA-lncRNA互作）**

**（1）KEGG pathway筛选**

OE2015Q812-B/ 2-functional prediction/ keg enrichment/ all result sorted(用EXCEL打开)，从表格中筛选与Cytokine-cytokine receptor interaction、Rheumatoid arthritis、Chemokine signaling pathway、TGF-beta signaling pathway相关的lncRNA及mRNA，筛选结果详见表“LLDT8”中的总表（蓝色标注）

**（2）lncRNA cis作用机制**

OE2015Q812-B/ 3-cis analysis/ all cis plot(用EXCEL打开)，筛选结果详见表“LLDT8”中的总表（黄色标注）

**（3）lncRNA trans作用机制**

OE2015Q812-B/ 4-trans analysis/ cytoscape/ source data/ ln TF taeget-interaction，筛选结果详见表“LLDT8”中的总表（橙色标注）

OE2015Q812-B/ 4-trans analysis/ cytoscape/ source data/ ln TF-interaction，筛选结果详见表“LLDT8”中的总表（橙色标注）

**（4）在参与lncRNA cis作用机制的lncRNA中筛选富集到4条pathway，筛选结果详见下述表格；在参与lncRNA trans作用机制的lncRNA中筛选富集到4条pathway，筛选结果详见下述表格；**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **ID** | **Pathway** |
| **lncRNA cis** | FR066129 | Chemokine signaling pathway, Rheumatoid arthritis |
| NONHSAG021516 | trans机制 |
| FR014741 | Chemokine signaling pathway, trans机制 |
| NR\_046035.1 | TGF-beta signaling pathway |
| NONHSAG038186 | Rheumatoid arthritis |
| NONHSAT113256 | trans机制 |
| FR108880 | trans机制 |
| NONHSAT026878 | Chemokine signaling pathway |
| NONHSAT068920 | trans机制 |
| **lncRNA trans** | NONHSAT024575 | Rheumatoid arthritis |
| ENST00000584934 | Cytokine-cytokine receptor interaction, Rheumatoid arthritis, Chemokine signaling pathway |
| XR\_251773.1 | Rheumatoid arthritis, Chemokine signaling pathway |
| NONHSAG028996 | Rheumatoid arthritis |
| ENST00000426270 | Rheumatoid arthritis |
| XR\_244218.1 | Rheumatoid arthritis, Chemokine signaling pathway |
| NONHSAG024081 | Chemokine signaling pathway |
| NONHSAT105164 | Rheumatoid arthritis, Chemokine signaling pathway |
| NONHSAT096168 | Cytokine-cytokine receptor interaction |
| NR\_049793.1 | Cytokine-cytokine receptor interaction, Rheumatoid arthritis, Chemokine signaling pathway |
| NONHSAT079629 | Cytokine-cytokine receptor interaction, Rheumatoid arthritis |
| NONHSAT002850 | Rheumatoid arthritis |
| FR018579 | Cytokine-cytokine receptor interaction, Rheumatoid arthritis |
| NONHSAT066903 | Cytokine-cytokine receptor interac, Chemokine signaling pathway |
| NONHSAT129936 | Cytokine-cytokine receptor interaction |
| TCONS\_00012348 | Rheumatoid arthritis |
| NONHSAT039207 | Rheumatoid arthritis |
| NR\_049793.1 | Cytokine-cytokine receptor interaction, Rheumatoid arthritis, Chemokine signaling pathway |
| ENST00000457996 | Rheumatoid arthritis, Chemokine signaling pathway |
| NONHSAG044956 | Rheumatoid arthritis |
| FR014741 | Chemokine signaling pathway |
| NONHSAT077268 | Chemokine signaling pathway |
| NONHSAT064271 | Cytokine-cytokine receptor interaction |
| NONHSAT026090 | Cytokine-cytokine receptor interaction, Rheumatoid arthritis |

**备注：红色标注的lncRNA可作为后续的研究重点。此外，后续也可基于具体实际情况做相应的调整。上述筛选路径仅供参考，望您理解，谢谢！**

**（5）基于上述筛选结果，进行real time PCR验证（细胞模型、临床样本等）和功能验证实验，目前先简单列出2篇文献供参考，详见附件文献。**

**Cis文献:**

Trimarchi T, Bilal E, Ntziachristos P, et al. Genome-wide mapping and characterization of Notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia [J]. Cell, 2014, 158(3): 593-606.

**Trans文献：**

Li Z, Chao T C, Chang K Y, et al. The long noncoding RNA THRIL regulates TNFα expression through its interaction with hnRNPL [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111(3): 1002-1007.

**2、miRNA**

LLDT-8为治疗类风湿性关节炎国家一类化学药品，目前已完成非临床研究，且已申请进行临床研究。LLDT-8在体外能够抑制炎症细胞的增殖和细胞因子的产生，在体内具有免疫抑制和抗炎作用，对关节炎疾病动物模型具有防止作用。**miRNA参与关节炎类疾病的发生发展，但miRNA是否介导LLDT8的作用机制目前还不是很清楚，因此可从这一方面着手。**

（1）采用**miRNA芯片**筛选参与LLDT8的作用机制的miRNA及其靶基因、信号通路等。

（2）基于lncRNA芯片和miRNA芯片实验结果，进行**ceRNA机制分析**。

ceRNA假说：miRNAs介导的一个复杂的转录后调控网络，通过共享一个或多个miRNA反应元件(MREs)，一些蛋白质编码RNAs和非编码RNAs竞争结合miRNAs，由此调控彼此的表达。

內源竞争性RNAs（ceRNAs）包括mRNA、假基因、lncRNA、circRNA，可以竞争性结合miRNA。

**备注：目前先给出以上2个思路作为参考，后续如有需要在做进一步的调整和细化。**

**除了上述思路外，还可从蛋白质组、代谢组、甲基化芯片等研究方向进行分析，暂不详述，如有需要再做进一步探讨。**