

• 储存血细胞中非编码RNA专题 •

• 综述 •

储存血细胞中非编码RNA研究进展*

苑召虎 魏亚明

【摘要】 非编码RNA (Non-coding RNA, ncRNA) 是一类不编码蛋白质的RNA。在红细胞及血小板储存损伤发生发展中起调控作用的非编码RNA主要集中在microRNA、lncRNA及circRNA, 本文将围绕此3种非编码RNA在红细胞及血小板储存损伤中的作用展开探讨。

【关键词】 红细胞 血小板 储存损伤 microRNA lncRNA circRNA

【中图分类号】 R457 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-2587 (2021) 04-0416-05

输血医学已经成为临床医学中不可或缺的重要组成部分, 保障患者安全、有效、合理和经济的用血是临床医疗机构输血治疗技术水平的重要体现。成分输血是临床输血治疗主要标志^[1]。临床上, 红细胞输注的主要目的是为了提高血液中的氧合血红蛋白含量, 血红蛋白与从肺部吸入的氧气结合, 运送到身体各个器官组织, 从而改善机体缺氧状态。血小板成分输注在临床治疗上被广泛应用于治疗血小板减少或血小板功能障碍相关疾病, 血小板通过内皮下组织的胶原纤维结合蛋白以及凝血酶等激活后, 发生变形、释放和聚集等一系列反应, 起到初期止血的作用。

血液离开机体在体外储存过程中会发生一系列生理生化、形态结构和功能变化, 称为“储存损伤”。研究显示, 储存红细胞的生化、形态学和组学特征在大约14天后发生了明显的变化, 血液流变学指标发生明显改变, 血液粘度和聚集性增高, 红细胞变形能力下降, 通过毛细血管时容易遭到破坏从而加重局部缺血。红细胞的体外储存损伤除引起红细胞直接破坏外, 还可促进红细胞自杀性程序性死亡, 即凋亡 (cryptosis)^[2]。研究显示储存损伤可促进受者血液中1/4以上储存红细胞在输注24 h后迅速清除^[3]。我们及他人的研究显示, 一氧化氮 (NO) 可有效改善红细胞变形能力, 血液粘度下降, 使血流阻力减少, 血流流速增加, 改善了血液流变特性, 增加了血液携氧和运输营养物质的能力^[4, 5]。与红细胞相似, 血小板在保存期间也会发生形状和生物化学变化, 这些变化包括血小板圆盘状消失, 形态由双面凸形向球形转变、树枝突起及伪足生成,

导致血小板膜糖蛋白的改变。血小板保存过程中的代谢导致耗氧增加, 使乳酸大量堆积、酸度升高、pH下降, 进而导致血小板活化、血小板颗粒分泌并释放出内容物, 其“活化”的形态学变化还常伴有凋亡, 进而导致其体外功能的变化, 如粘附和聚集等, 反映了血小板在储存期间完整性和功能的丧失^[6]。

红细胞和血小板都属于无核细胞, 但研究显示在红细胞及血小板胞浆中仍存有大量的非编码RNA (Non-coding RNA, ncRNA), 而且这些非编码RNA对红细胞和血小板的发育至关重要, 这些非编码RNA根据碱基长度可以分为短链RNA [如微小RNA (MicroRNA, miRNA)、内源性小干扰RNA (Small interfering RNA, siRNA)、与Pi蛋白相互作用 RNA (Piwi-interacting RNA, Pi RNA)]、长链非编码RNA (Long noncoding RNAs, lncRNA) 以及与以上线性结构不同的环状RNA (circular RNA, circRNA) 等^[7-10]。非编码RNA是参与基因转录后调控的小分子RNA, 其本身并不编码任何蛋白质, 只能通过逆向调节靶基因 (mRNA) 来调节蛋白质的合成与分解^[11]。不同造血细胞中ncRNA存在不同的表达类型, 以此可以区分不同的造血细胞系, 且不同的ncRNA在造血细胞系的不同阶段发挥的作用不同^[12]。近年来, 研究显示在红细胞或血小板在体外储存过程中, ncRNA呈现不同表达状态, 有可能成为“储存损伤”的标志物^[8-10]。虽然红细胞、血小板仍存在体外低温存储的情况, 如-80℃保存的冰冻血小板及冰冻甘油红细胞等, 但目前关于储存血细胞中非编码RNA的研究都集中在常规保存条件下 (红细胞在4±2℃保存, 血小板在22±2℃保存)。

1 miRNA miRNA是一种内源性、广泛存在于真核生物中的单链小RNA。miRNA基因以单拷贝、多拷贝及基因簇的形式分散地分布在基因组中, 其中70%~90%位于间隔区, 其余位于内含子或外显子上。大多数miRNA基因在RNA聚合酶Ⅱ作用下转录产生几百至几千个核苷酸的初级miRNA产物 (pri-miRNA), 在细胞核内被RNaseⅢ内切酶家族的Drosha酶切割成70个核糖核苷酸左右的发夹状前体miRNA (pre-miRNA), pre-miRNA在转运蛋白的作用下转运出核, 然后经Dicer酶切割成长度约19~25个核苷酸的成熟miRNA^[13, 14]。miRNA在多种生命过程中发挥着重要作

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2021.04.003

*本课题受广州市科技计划项目 (No. 202002030427, No. 201904010027)、广州市临床重大技术项目 (No. 2019ZD18) 资助

作者单位: 510180 广州市第一人民医院输血科

作者简介: 苑召虎 (1985-), 男, 山东济南人, 副主任技师, 硕士研究生导师, 博士, 主要从事输血免疫学研究, (E-mail) eyyuanzhaohu@scut.edu.cn。

通信作者: 魏亚明, 男, 研究员, 主任技师, 博士研究生导师, 博士, 主要从事临床输血与细胞治疗, (E-mail) eywym@scut.edu.cn。

用,其在特定的细胞或组织、时间、发育阶段才会表达,提示它对组织的发育有着潜在的重要作用^[7-9]。

1.1 miRNA在体外储存红细胞中的表达及其在储存损伤的作用:miRNA在造血过程中的重要作用早期已有报道,近期人们发现成熟红细胞内含有大量miRNA。2010年,MEGANATHAN KANNAN等首次提供了存储红细胞的miRNA差异图谱,为识别新的储存损伤的RBC生物标志物开辟了新的途径,提出了储存红细胞可能存在靶基因-miRNA调控途径^[1]。2015年,CHINTAMANI ATREYA通过在人有核红细胞系过表达hsa-miR-196a,证实了hsa-miR-196a对红细胞衰老和ATP消耗的保护作用^[2]。随后探索了AGO2-miRNA复合体在成熟红细胞中的作用。我们通过基因芯片研究显示,当储存20天红细胞与新鲜组比较时,有109个miRNA在储存过程中表达上调和102个基因表达下调。经RT-PCR验证的13个miRNAs中,miR-31-5p、miR-196a-5p、miR-203a、miR-654-3p、miR-3591-5p和miR-769-3p表达上升,let-7a-3p、miR-96-5p、miR-150-5p和miR-197-3p表达下降,具有明显变化趋势的miRNAs可以作为“储存损伤”的生物标志物^[15]。其中,miR-196a-5p、let-7a-3p、miR-96-5p、miR-150-5p、miR-145-3p和miR-197-3p被证实与RBC和血小板储存过程中的凋亡信号通路有关,其中miR-196a-5p、miR-96-5p、miR-150-5p和miR-197-3p在红细胞储存0~20天时表现为上升趋势,let-7a-3p和miR-145-3p在红细胞整个储存过程中均保持较低水平,let-7b可作为分期特异性红细胞转录程序的关键调控因子,而miR-150-5p的下调是红细胞生成所必需的;miR-96-5p在网织红细胞中亦高表达,与Hb形成有关^[16, 17]。通过KEGG预测分析显示,miR-203a、miR-654-3p和miR-31-5p表达上调调节CASP10表达下调;miR-203a和miR-196a-5p表达上调调节CASP8表达下调;miR-31-5p表达上调调节MAP3K14表达下调;miR-203a表达上调调节IL3表达下调;miR-203a、miR-654-3p、miR-3591-5p和miR-31-5p表达上调调节PPP3CA表达下调;miR-203a、miR-654-3p和miR-3591-5p表达上调调节ATM表达下调,从而抑制凋亡,延长红细胞储存时间^[5, 17]。SARACHANA等学者分析发现了四种与红细胞储存损伤相关的microRNA,通过RT-PCR分析发现这4个miRNA在第14天和第28天存在差异表达。生物信息学分析确定了这些miRNA的潜在靶点和生物学功能。在人红细胞细胞系中过表达hsa-miR-196a证实了它对细胞死亡和ATP丢失的保护作用^[8]。

1.2 miRNA在体外储存血小板中的表达及其在储存损伤的作用:与红细胞相似,血小板中亦含有大量的miRNA,这些miRNA表达量随着血小板在体外保存时间的延长,呈现不同变化趋势。在体外储存血小板中miRNA表达量降低为主要趋势,升高的miRNA数量远少于降低的miRNA,这些变化的miRNA可通过调控相应的蛋白表达来影响血小板的聚集功能。如在血小板活化聚集通路中miR-223、miR-21、let-7b可通过相关的mRNA来调节血小板中蛋白表达,进而

影响血小板的聚集功能。血小板miRNA的靶基因还与血小板活化、脱粒、血小板源生长因子受体信号通路及干细胞分化等相关。其中miR-223显示了对P2Y₁₂的调控、对血小板活化通路的影响,且具有易检测的特征,具备成为首个血小板储存损伤的生物学标记的潜质^[18]。在人类中,估计约60%的蛋白编码基因受miRNAs的调控,并被认为是参与了大部分的生理和病理过程。在血小板储存条件下,miRNAs继续发挥活性,血小板贮藏过程中与血小板表型相关的miRNA-mRNA表达可能发生改变。多种靶向预测显示一个miRNAs可以靶向多个mRNA,大多数mRNA被多个miRNAs靶向,揭示了miRNA谱和血小板反应性之间的联系^[19]。

KANNAN等学者通过膜阵列miRNA分析明确了血小板储存凋亡相关的52个miRNA,研究显示miR-150、miR-151、miR-152、miR-184、miR-188、miR-196a、miR-197和miR-202在血小板的体外储存期间始终保持较高水平;let-7b和miR-16在PLT存储过程中表现出显著增加的趋势,而miR-7和miR-145表现出显著下降的趋势,并进一步通过生物学信息预测出这四个miRNA潜在的靶mRNA,为血小板存储相关病变的分子机制提供新的见解^[7]。通过KEGG数据库及相关文献推测miRNA与血小板活化聚集过程存在有调控关系,如let-7b影响GPⅢa从而影响血小板聚集过程,miR-223参与对P2Y₁₂ mRNA表达的调控,从而影响P2Y₁₂蛋白的合成,miR-21也可能作用于P2Y₁₂^[18]。此外,miR-326可下调抗凋亡基因Bcl-xL的表达外,进而引起血小板凋亡^[20]。与上述结果一致的是,在血小板储存过程中miR-16靶基因的增加参与了凋亡。DAHIYA等还发现在储存的血小板中,miR-570可与编码mRNA的线粒体ATP酶亚基g(ATP5L)相互作用,因此,miR-570也可以作为存储血小板质量和活性的生物标志物之一^[21]。通过ApoE^{-/-}小鼠模型研究显示来源于小鼠血小板的miR-25-3p可通过NF-κB以减轻脂质氧化^[22]。miR-96可以作用于VAMP8相关的mRNA,VAMP8可通过影响ADP在血小板活化聚集通路中起作用,miRNA-96含量与VAMP8蛋白及其mRNA的含量呈反比,并且miRNA-96具有抑制VAMP8蛋白表达的作用,从而可降低血小板的活化能力^[23]。

2 长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)lncRNA是一种长度大于200bp,不能编码蛋白质,具有重要调控功能的转录本。大量研究证实lncRNA可在表观遗传、转录、翻译和蛋白修饰等四个水平调控基因的表达,在细胞分化、增殖、凋亡等过程中发挥重要作用。lncRNAs在不同的组织,发育阶段和生理情况下的表达也不同;有些是生命所必需的,有些只是特定的发育阶段或生理功能所必需的。lncRNA与DNA、RNA及蛋白质通过多种方式相互作用,通过碱基互补配对或者是形成结构域来发挥调节作用。

2.1 lncRNA在体外储存红细胞中的表达及其在储存损伤的作用:截至投稿,关于lncRNA在RBC中功能的研究,更多的集中在红系祖细胞的分化、白细胞激活和DNA修复上,

与红细胞储存损伤相关研究尚处于早期阶段;早期丁楠等学者通过高通量测序技术获得转录组数据,从脐带血造血干细胞到无核成熟的红细胞共六个阶段(即HSC、P2、P3、P4、P5和无核RBC六个阶段)中研究发现了1 034个已知lncRNAs,明确了35 090对lncRNAs-基因潜在的互作关系,综合分析表明lncRNA可参与调控红细胞的成熟,特别是与血红蛋白代谢、对氧反应性和DNA损伤的有关^[24]。JUAN等学者通过全基因组分析发现了多种在红细胞生成过程中动态表达及显示表观遗传调控的lncRNAs,这些lncRNAs可被关键的红细胞转录因子GATA1、TAL1或KLF1靶向控制,这些lncRNA的耗尽可严重损害红细胞的成熟,抑制红细胞体积的减小及去核过程^[25],如lncRNA shlnc-EC6可通过Rac1/PIP5K信号通路调节小鼠胚胎成熟红细胞的去核^[24]。

2.2 lncRNA在体外储存血小板中的表达及其在储存损伤中的作用:早期我们通过芯片研究显示在人血小板储存过程中有大量的lncRNA表达发生改变,第5天与第2天相比,有162种lncRNA表达发生了变化,升高的有4种,降低的有158种;第8天与第2天相比,有691种lncRNA发生变化,表达升高的有20种,降低的有671种;第8天与第5天相比,有246种lncRNA发生变化,有2种表达升高,244种表达降低,分析表明部分变化的lncRNA与血小板聚集、血小板激活、内吞等生理过程相关。KEGG功能分析显示lnc-WBSCR16-3:6、lnc-CHD1L-1:10、lnc-EWSR1-2:1及lnc-PIM2-1:1与内吞途径高度相关。血小板激活也在KEGG分析统计中被高度富集,血小板储存损伤发生时,血小板首先发生激活,释放出一系列炎症因子,同时伴随着血小板凋亡的发生,其生理功能和存活率显著下降。KEGG分析表明lnc-FAM75A7-2:5、lnc-MARCH6-2:1、lnc-TMEM86B-2和lnc-TOMM22-1:1在血小板激活中具有重要的意义,为进一步探究血小板储存损伤机制提供了新的靶点^[26]。cis调控分析得出lncRNA-mRNA可能的相互调节关系如下:lnc-USP39-1调控VAMP8的表达;lnc-TMEM86B-2调控GP6的表达;lnc-MAPK13-3调控MAPK14的表达;lnc-FOXS1-2调控BCL2L1的表达;lnc-CAPN2-1调控CAPN2的表达等等,这些调控关系与血小板的激活或凋亡有着密不可分的联系^[27-29]。研究显示血小板lncRNA表达量随着血小板储存时间的延长而呈不同的变化趋势,下调的lncRNA数量较多,且下调幅度更明显,lncRNA的表达随着血小板生理状态的变化而改变,部分变化的lncRNA与血小板生理功能相关,并且在血小板储存损伤中发挥作用^[26]。

3 环状RNA(circular RNA, circRNA) circRNA是一类新的共价闭合单链RNA,通过特殊的选择性剪切,由外显子或内含子衍生而来。circRNA的主要生物学功能有miRNA sponge、调控蛋白结合、调控基因转录、编码功能。由于没有游离的poly(A)末端,环状RNA对RNA核酸外切酶和脱支酶存在一定的抗性,无论在细胞核中还是在细胞质中都可稳定存在^[3]。

3.1 circRNA在体外储存红细胞中的表达及其在储存损伤中的作用:研究显示有核细胞的circRNA丰度约占细胞总mRNA的2%~4%,在无核的血小板和红细胞这一比例更高,已经证实多个circRNA比人类红细胞中的相对应线性mRNA高出50到1 000倍。在造血系统中,通过RNA-seq分析鉴定出造血细胞表达的55 187个环状RNA,数据显示显著的细胞类型特异性和非编码转录本在造血过程中的潜在调控作用。在所有造血细胞中,血小板和红细胞含有的circRNA数量最多,并且circRNA的类型和数量在成熟过程中发生变化^[4, 5]。红细胞及血小板没有细胞核,它们需要使用RNA来维持其功能,对环境因素作出反应,或通过微囊泡向其他细胞传递信号^[6, 7]。红细胞中circRNA丰度高,稳定性好,可作为红细胞储存损伤的标志物,此外, circRNA在红细胞代谢和储存病变中也起着重要调控作用。

早期我们通过高通量测序分析在储存红细胞中发现了2 586个已知的和6 216个新发现的circRNA,储存红细胞中存在100多种表达差异的circRNA,其中下调的circRNA数量较多,且下调幅度比升高幅度更大。mireap、miranda、targetscan和mirTarBase预测显示有多个circRNA可靶向作用于miRNA和mRNA,如通过CirRNA-miRNA-mRNA分析得出:hsa_circ_00007470的两个靶miRNA,即hsa-miR-155-5p与hsa-miR-6827-5p的靶蛋白是MRP4。hsa_circ_00007470和其靶miRNA都起着调控MRP4的作用。hsa_circ_00007470或许能通过解除miRNA对MRP4的抑制作用通过ATP代谢改善红细胞变形能力。生物信息学分析显示这些变化的circRNA主要与泛素介导的蛋白水解、RNA降解、RNA转运、cAMP信号通路、红细胞粘着连接、TGF- β 信号转导、AMPK信号通路及细胞周期中凋亡通路等生理过程相关。我们研究显示circRNA.0007127可能通过吸附miR-513a-5p,促进下游靶基因CASP8表达,进而调控红细胞的细胞凋亡,这一过程类似于K-562氧化应激反应中的调控过程。在整个红细胞储存期,泛素介导的蛋白水解通路一直为变化最为显著,其余通路的名称及排名随储存时间发生变化,说明circRNA的差异表达与红细胞生理状态改变有一定敏感性与相关性^[30]。此外,JENNIFER F.DOSS等人分析发现miR-4732-3p可靶向作用于SMAD2和SMAD4,这两种关键成分涉及TGF- β 途径与红细胞生成有关^[31]。

3.2 circRNA在体外储存血小板中的表达及其在储存损伤中的作用:目前,关于circRNA在红细胞储存损伤中的研究尚处于早期阶段。MASS等人研究显示在储存血小板中有3 324个circRNA表达。血小板虽然缺乏细胞核,但与其他组织相比,血小板中含有更多circRNA的表达。如在ACVR2A和SMARCA5中circRNA的表达显著高于mRNA。circRNA在磷酸二酯酶PDE3A、PDE4D和PDE5A中表达也得到了验证,PDEs可水解cAMP和cGMP,控制血管舒张、心脏收缩和抑制血小板聚集^[32]。此外,血小板还可将胞浆中circRNA血小板囊泡(微囊泡和外泌体)释放到体外发挥作用^[33]。

4 其他非编码RNA 红细胞和血小板中除含有大量的

miRNA、lncRNA及circRNA外,亦含有部分siRNA及PiRNA。SiRNA是一类双链RNA分子,长度为20~5个碱基对,它可干扰表达与其互补的核苷酸序列的mRNA,从而防止翻译,目前体外过表达的siRNA常用于各种分子生物学实验,但是目前仍未见有内源性siRNA在体外储存红细胞及血小板中相关作用的报道^[7-10]。PiRNA是一类含有24~31个核苷酸残基的非编码RNA,可通过结合argonaute蛋白的PIWI亚家族发挥作用,具有维持基因组稳定以及调节表观遗传学、生殖干细胞分化、胚胎发育等功能,但目前尚未见有在体外储存红细胞及血小板中作用的相关报道^[7-10]。

5 展望 通过对ncRNA功能的阐述,使我们明确非编码RNA调控血细胞存储损伤中的重要作用,同时,也揭示了非编码RNAs很可能成为血细胞存储期间的重要调节因子。对ncRNAs的功能以及它们之间、它们和mRNA及DNA之间的相互作用的研究,有利于进一步明确ncRNA在血细胞存储过程中调控机制,提高血细胞体外储存的质量,延长体外储存时间,进而改善患者输血疗效。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 樊凤艳,汪德清.我国临床输血发展的挑战与思考[J].临床输血与检验,2021,23(1):10-12.
- [2] GUO J U, AGARWAL V, GUO H, et al. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs[J]. Genome Biol, 2014, 15(7):409.
- [3] D'ALESSANDRO A, KRIEBARDIS A G, RINALDUCCI S, et al. An update on red blood cell storage lesions, as gleaned through biochemistry and omics technologies[J]. Transfusion, 2015, 55(1):205-219.
- [4] DAI R J, PHILLIPS R A, ZHANG Y, et al. Suppression of LPS-induced Interferon- γ and nitric oxide in splenic lymphocytes by select estrogen-regulated microRNAs: a novel mechanism of immune modulation[J]. Blood, 2008, 112(12):4591-4597.
- [5] 姚慧青,解绪红,魏亚明.添加硝普钠对储存红细胞内凋亡相关microRNA表达的影响[J].中国输血杂志, 2017, 30(6):578-581.
- [6] SCHUBERT P, THON J N, WALSH G M, et al. A signaling pathway contributing to platelet storage lesion development: targeting PI3-kinase-dependent Rap1 activation slows storage-induced platelet deterioration[J]. Transfusion, 2009, 49(9):1944-1955.
- [7] KANNAN M, MOHAN K V, KULKARNI S, et al. Membrane array-based differential profiling of platelets during storage for 52 miRNAs associated with apoptosis[J]. Transfusion, 2009, 49(7):1443-1450.
- [8] SARACHANA T, KULKARNI S, ATREYA C D. Evaluation of small noncoding RNAs in ex vivo stored human mature red blood cells: changes in noncoding RNA levels correlate with storage lesion events[J]. Transfusion, 2015, 55(11):2672-2683.
- [9] OUDEJANS C, MANDERS V, VISSER A, et al. Circular RNA sequencing of maternal platelets: a novel tool for the identification of pregnancy-specific biomarkers[J]. Clin Chem, 2021, 67(3):508-517.
- [10] ZARE S, MOUSAVI HOSSEINI K, MAGHSUDLU M, et al. miRNA96 expression level within red blood cells is probably associated with RSL indicators during the storage of red blood cell units[J]. Transfus Apher Sci, 2021, 60(3):103122.
- [11] ZHANG X O, WANG H B, ZHANG Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization[J]. Cell, 2014, 159(1):134-147.
- [12] IVANOV A, MEMCZAK S, WYLER E, et al. Analysis of intron sequences reveals hallmarks of circular RNA biogenesis in animals[J]. Cell Rep, 2015, 10(2):170-177.
- [13] JECK W R, SHARPLESS N E. Detecting and characterizing circular RNAs[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(5):453-461.
- [14] ASHWAL-FLUSS R, MEYER M, PAMUDURTI N R, et al. circRNA Biogenesis Competes with Pre-mRNA Splicing[J]. Mol Cell, 2014, 56(1):55-66.
- [15] CHEN X, XIE X, XING Y, et al. MicroRNA dysregulation associated with red blood cell storage[J]. Transfus Med Hemother, 2018, 45(6):397-402.
- [16] HAMILTON A J. MicroRNA in erythrocytes[J]. Biochem Soc Trans, 2010, 38(pt 1):229-231.
- [17] LISTOWSKI M A, HEGER E, BOGUSŁAWSKA D M, et al. microRNAs: fine tuning of erythropoiesis[J]. Cell Mol Biol Lett, 2013, 18(1):34-46.
- [18] 吴千羽. 储存血小板miRNA表达及其作为潜在储存损伤标志可行性研究[D]. 广州医科大学, 2016.
- [19] YAN Y, ZHANG J, ZHANG Q, et al. The role of microRNAs in platelet biology during storage[J]. Transfus Apher Sci, 2017, 56(2):147-150.
- [20] YU S F, HUANG H C, DENG G, et al. miR-326 targets antiapoptotic bcl-xL and mediates apoptosis in human platelets[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0122784. DOI:10.1371/journal.pone.0122784.
- [21] DAHIYA N, SARACHANA T, KULKARNI S, et al. miR-570 interacts with mitochondrial ATPase subunit g (ATP5L) encoding mRNA in stored platelets[J]. Platelets, 2017, 28(1):74-81.
- [22] YAO Y, SUN W, SUN Q, et al. Platelet-derived exosomal MicroRNA-25-3p inhibits coronary vascular

• 储存血细胞中非编码RNA专题 •

• 论著 •

储存红细胞中circRNA变化对泛素介导蛋白水解通路调控的预测分析*

张怡宇 黄国清 张勇刚 苑召虎 王强 陈小洁 黄建云 李楠 魏亚明

【摘要】 目的 探讨储存红细胞中circRNA对泛素蛋白水解通路调节的可能机制及其在红细胞储存损伤中可能发挥的作用的预测分析。**方法** 健康无偿献血者3(人)份血液制备的悬浮红细胞,过滤白细胞后平均分为新鲜组(0 d组),4℃储存20 d红细胞组(20 d组),4℃储存40 d红细胞组(40 d组);对3组标本用高通量测序检测,然后做KEGG和GO分析,选取母基因在泛素介导的蛋白水解通路中的circRNA做PCR验证,用circBase和mirTarBase完成数据库注释与靶向预测,并将miRNA可能作用的mRNA也进行了关联分析。用circRNA interactome预测circRNA的RBP结合蛋白。**结果** 与泛素蛋白水

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2021.04.004

*本课题受广州市科技计划项目(No.201904010027),广州市临床重大项目(No.2019ZD18),国家自然科学基金青年项目(No.81801474),深圳市科技计划项目(No.JCYJ20180306172502097)和深圳市龙华区科技创新项目(No.2020033)资助

作者单位:518000 深圳市龙华区中心医院(张怡宇,黄国清,张勇刚,王强);华南理工大学附属第二医院(广州市第一人民医院),广东省精准输血技术工程研究中心(苑召虎,陈小洁,黄建云,李楠,魏亚明)

作者简介:张怡宇(1988-),女,广东深圳人,主管技师,硕士,主要从事输血免疫及分子生物学方面研究,(E-mail)273801816@qq.com。

并列第一作者:黄国清(1970-),男,广东深圳人,主任技师,本科,主要从事输血方向研究,(E-mail)522415654@qq.com。

通信作者:魏亚明,男,研究员,博士生导师,主要从事干细胞治疗与输血免疫学方面研究,(E-mail)eywym@scut.edu.cn。

endothelial cell inflammation through Adam10 via the NF-κB signaling pathway in ApoE^{-/-} mice[J].Front Immunol,2019,10:2205.

[23] ARADI D,STOREY R F,KOMÓCSI A,et al.Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention[J].Eur Heart J,2014,35(4):209-215.

[24] DING N,XI J,LI Y,et al.Global transcriptome analysis for identification of interactions between coding and noncoding RNAs during human erythroid differentiation[J].Front Med,2016,10(3):297-310.

[25] ALVAREZ-DOMINGUEZ J R,HU W,YUAN B,et al.Global discovery of erythroid long noncoding RNAs reveals novel regulators of red cell maturation[J].Blood,2014,123(4):570-581.

[26] 李楠,苑召虎,陈小洁,等.储存血小板差异性长链非编码RNA表达谱研究[J].中国输血杂志,2018,31(1):27-32.

[27] LAFFONT B,CORDUAN A,PLÉ H,et al.Activated platelets can deliver mRNA regulatory Ago2-microRNA complexes to endothelial cells via microparticles[J].Blood,2013,122(2):253-261.

[28] WANG C H,WU X H,SHEN F Y,et al.ShInc-EC6

regulates murine erythroid enucleation by Rac1-PIP5K pathway[J].Develop Growth Differ,2015,57(6):466-473.

[29] GIDLÖF O,VAN DER BRUG M,OHMAN J,et al.Platelets activated during myocardial infarction release functional miRNA,which can be taken up by endothelial cells and regulate ICAM1 expression[J].Blood,2013,121(19):3908-3917,S1-26.

[30] 张怡宇.储存去白红细胞内差异circRNA筛选及表达研究[D].广州:广州医科大学,2018.

[31] CHEN L L.The biogenesis and emerging roles of circular RNAs[J].Nat Rev Mol Cell Biol,2016,17(4):205-211.

[32] MAASS P G,GLAŽAR P,MEMCZAK S,et al.A map of human circular RNAs in clinically relevant tissues[J].J Mol Med (Berl),2017,95(11):1179-1189.

[33] OUDEJANS C,MANDERS V,VISSER A,et al.Circular RNA sequencing of maternal platelets: a novel tool for the identification of pregnancy-specific biomarkers[J].Clin Chem,2021,67(3):508-517.

(收稿日期:2021-04-12)

(本文编辑:王慧茹)