

长链非编码 RNA-MAL2 的靶基因预测 及信号通路富集分析

罗瑶敏, 蒋 振

(川北医学院基础医学与法医学院生物化学与分子生物学教研室, 四川 南充 637000)

摘要:目的 运用生物信息学分析方法, 分析长链非编码 RNA-MAL2(lncRNA-MAL2)在细胞内的调控靶基因及信号通路, 并对其进行生物学功能注释, 阐述 lncRNA-MAL2 在细胞内的功能作用。方法 在 miRDB 数据库和 Starbase3.0 数据库中预测与 lncRNA-MAL2 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNA, 将结果取交集; 在 Starbase3.0 数据库中预测 miRNAs 靶基因, 并进行 GO 功能注释和 Pathway 通路富集。结果 在 miRDB 数据库预测到 95 个 miRNAs 与 lncRNA-MAL2 相作用, Starbase3.0 数据库预测到 167 个 miRNAs 与之相作用, 取 2 个数据库的交集共获得 5 个 miRNAs; GO 功能注释显示其靶基因主要分布在镁离子结合、酶结合、蛋白激酶、蛋白泛素化等方面; 生物学过程主要分布在细胞迁移、抑制细胞增殖、凋亡、蛋白转运和细胞周期等功能方面; 信号通路富集主要分布在 ErbB 信号通路、生长激素合成、TNF 信号通路、TGF- β 信号通路及雌激素信号通路等方面。结论 lncRNA-MAL2 在细胞内的重要调控作用具体与酶结合、蛋白激酶、蛋白泛素化、细胞迁移、抑制细胞增殖、凋亡、蛋白转运和细胞周期等多条信号通路密切相关。

关键词: lncRNA-MAL2; 调控靶基因; 细胞迁移; 蛋白泛素化

中图分类号: Q343.1; Q811.4

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.19.003

文章编号: 1006-1959(2022)19-0011-04

Target Gene Prediction and Signal Pathway Enrichment Analysis of Long Non-coding RNA-MAL2

LUO Yao-min, JIANG Zhen

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine and Forensic Medicine,
North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

Abstract: **Objective** To analyze the regulatory target genes and signaling pathways of long non-coding RNA-MAL2 (lncRNA-MAL2) in cells by bioinformatics analysis, and annotate its biological functions, so as to elaborate the functions of lncRNA-MAL2 in cells. **Methods** The miRNAs interacting with lncRNA-MAL2 were predicted in miRDB database and Starbase3.0 database, and the results were intersected. Target genes of miRNAs were predicted in the Starbase 3.0 database, and GO functional annotation and Pathway enrichment were performed. **Results** Ninety-five miRNAs were predicted to interact with lncRNA-MAL2 in the miRDB database, and 167 miRNAs were predicted to interact with lncRNA-MAL2 in the Starbase3.0 database. A total of 5 miRNAs from the intersection of the 2 databases were selected for further analysis. GO functional annotation showed that its target genes were mainly distributed in magnesium ion binding, enzyme binding, protein kinase, protein ubiquitination, etc. Biological processes are mainly distributed in cell migration, inhibition of cell proliferation, apoptosis, protein transport and cell cycle. Signal pathway enrichment was mainly distributed in ErbB signaling pathway, growth hormone synthesis, TNF signaling pathway, TGF- β signaling pathway and estrogen signaling pathway. **Conclusion** The important regulatory role of lncRNA-MAL2 in cells is closely related to multiple signaling pathways such as enzyme binding, protein kinase, protein ubiquitination, cell migration, inhibition of cell proliferation, apoptosis, protein transport and cell cycle.

Key words: lncRNA-MAL2; Regulating target genes; Cell migration; Protein ubiquitination

长链非编码 RNA(lncRNA)是转录本长度超过 200 nt 且缺乏蛋白质编码能力的 RNA 分子。lncRNA 已被证明参与细胞生长、抗凋亡、迁移和侵袭, 而且在多种恶性肿瘤中表现出调控作用, 包括乳腺癌、胃癌、胆囊癌、肝细胞癌和胰腺癌^[1-4]。MAL2 是一种脂筏蛋白, 已知在物质运输中起作用, MAL2 基因

在包括乳腺癌在内的各种肿瘤组织中表达, 肿瘤细胞中 MAL2 水平升高与患者存活率降低相关^[5-8]。尽管越来越多的研究表明 MAL2 在发病机制、疾病进展、耐药性和生存率降低中的作用, 但其作用机制在很大程度上仍不清楚。为此, 本研究运用生物信息学分析方法, 分析 lncRNA-MAL2 在细胞内的调控靶基因及信号通路, 并对其进行生物学功能注释, 阐述 lncRNA-MAL2 在细胞内的功能作用。

1 资料与方法

1.1 lncRNA-MAL2 靶基因预测 经 NCBI 基因数据库查询 lncRNA-MAL2 的序列, 经 miRDB 数据库 (<http://www.mirdb.org/>) 和 Starbase 3.0 数据库 (<https://starbase.sysu.edu.cn/index.php>) 预测与 lncRNA-

基金项目: 南充市科技局项目(编号: 20SXJCQN0004、18SXHZ0281)

作者简介: 罗瑶敏(1994.10-), 女, 四川南充人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤分子生物学研究

通讯作者: 蒋振(1983.10-), 男, 四川南充人, 硕士, 讲师, 主要从事肿瘤分子生物学研究

MAL2 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNA, 取 2 个数据库的预测交集进行进一步分析。

1.2 miRNAs 靶基因预测 在 Starbase 3.0 数据库中分别对这些 miRNA 进行靶基因预测, 选取预测程序个数为 3, 预测靶基因评分比较高的前 5 个, 通过 DAVI 数据库进行靶基因的 GO 注释和信号通路富集分析。

1.3 GO 注释 从基因功能的 3 个方面: 细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF)、生物学过程 (biological process, BP) 进行分析, 得到具有统计学意义的 GO 注释显著性分析 ($P < 0.05$), 信号通路富集分析阈值取 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

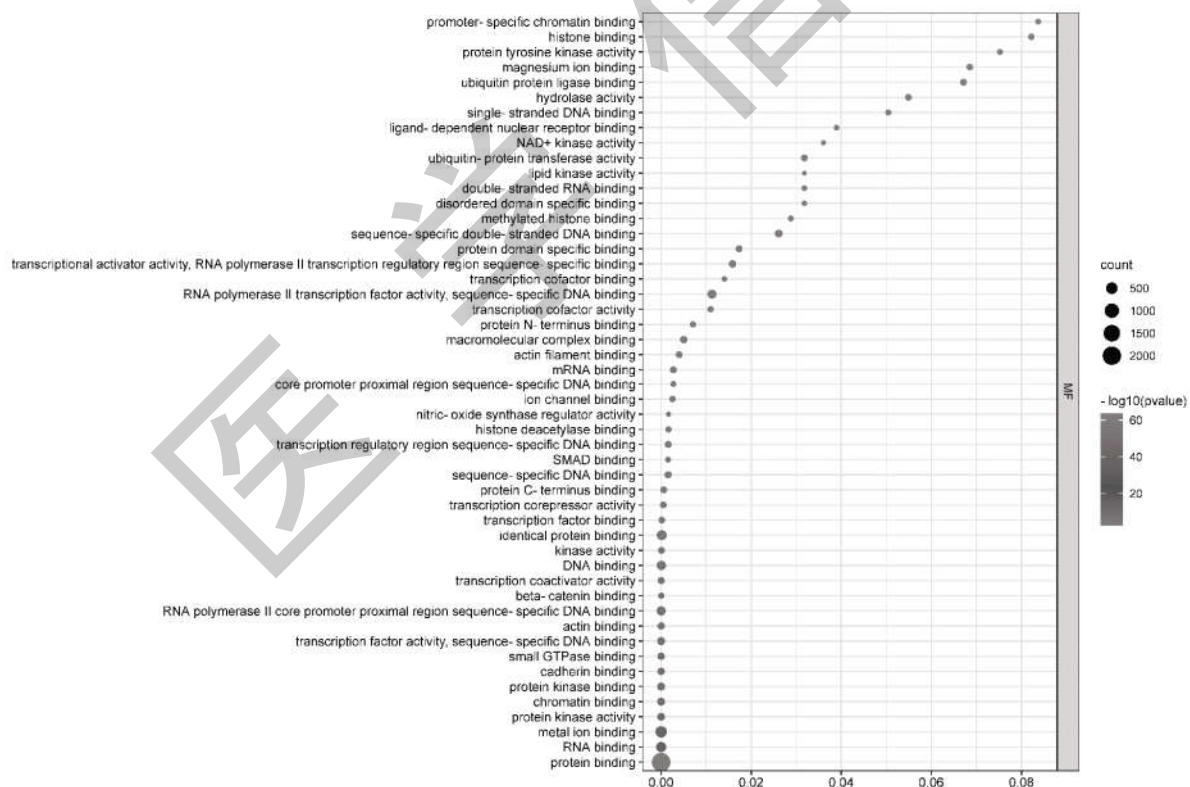
2.1 lncRNA-MAL2 预测 miRNAs 在 miRDB 数据库预测到与 lncRNA-MAL2 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNAs 有 95 个, Starbase 3.0 数据库预测到的有 167 个 miRNAs, 取交集共有 5 个 miRNAs, 其 miRNA 序列见表 1。

表 1 长链非编码 RNA-MAL2 预测的 miRNAs

序号	miRNA
1	hsa-miR-513b-5p
2	hsa-miR-613
3	hsa-miR-206
4	hsa-miR-1-3p
5	hsa-miR-766-5p

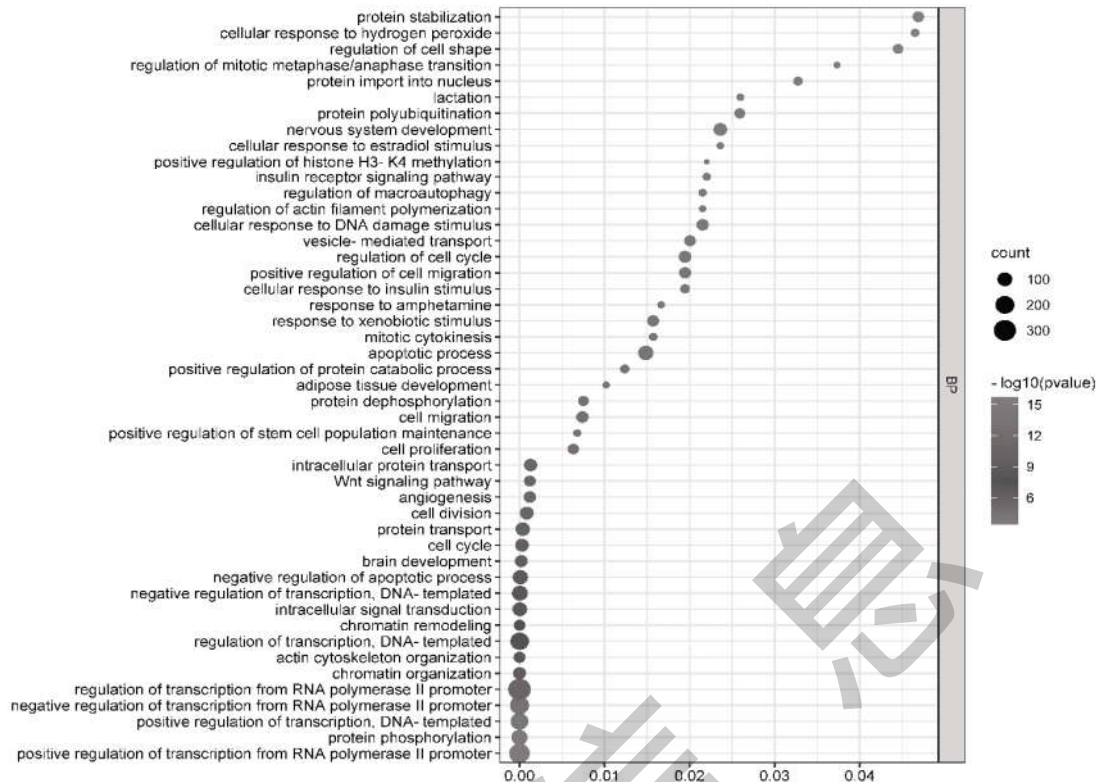
2.2 GO 注释分析 长链非编码 RNA MAL2 通过 hsa-miR-613 作用的靶基因主要调控蛋白质的稳定性、细胞形状、蛋白的泛素化降解过程、神经系统发育、细胞对雌激素刺激的反应、胰岛素受体信号途径和细胞对病因损伤的反应等病理生理过程, 见图 1。

2.3 信号通路富集分析 lncMAL2 通过 hsa-miR-613 调控的信号通路包括乙型肝炎病毒信号通路、肾细胞癌信号通路、长时程增强信号通路、Th17 细胞分化、Cushing 综合征、甲状旁腺激素合成、分泌和作用、甲状腺癌、结直肠癌等肿瘤信号通路, 见图 2。



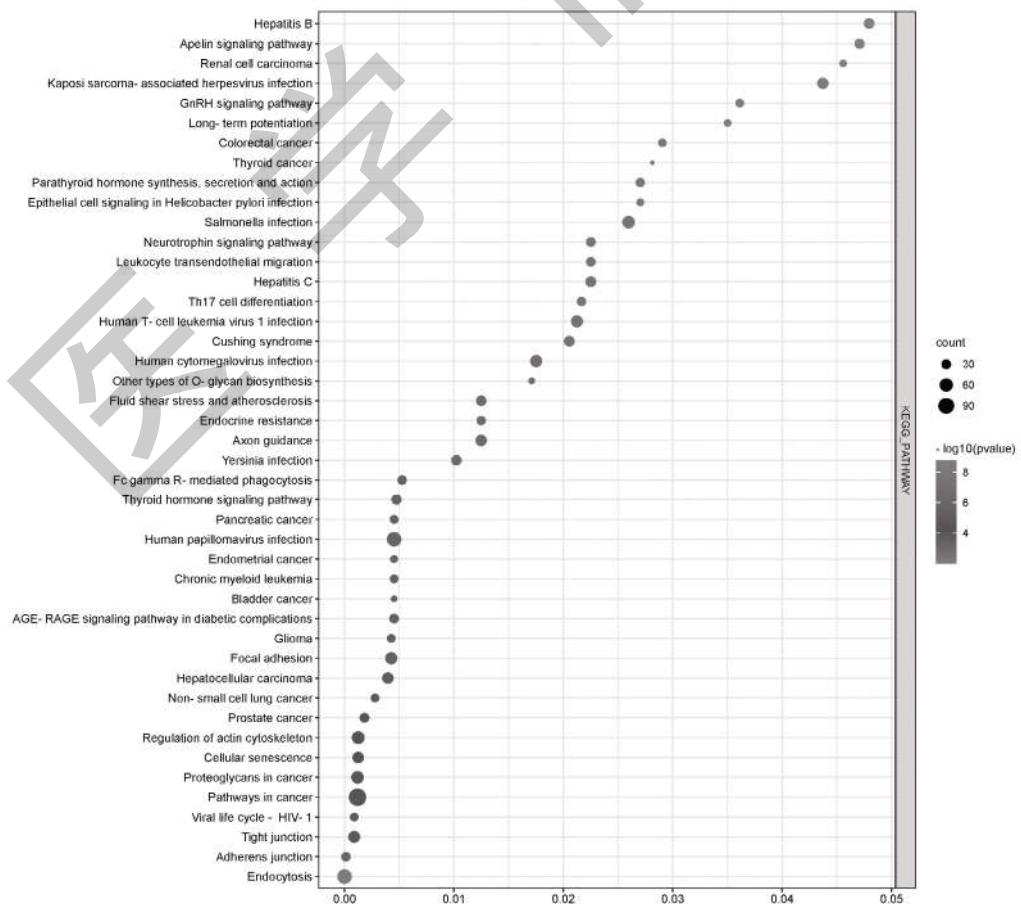
注: hsa-miR-613 靶基因的 GO 注释分析

图 1 GO 注释分析



注:hsa-miR-613 靶基因的 GO 注释分析

图 1 GO 注释分析(续)



注:hsa-miR-613 靶基因的 Pathway 分析

图 2 富集通路分析

3 讨论

lncRNA 在过去几十年中得到了广泛的研究,被认为是一类已知参与生理和病理状况的非编码 RNA,其特点是没有显著的蛋白质编码潜力^[9,10],在细胞增殖、发育、衰老、表观遗传、转录和转录后水平调节基因表达方面发挥着重要作用^[11-14]。lncRNA 以转录物的形式从哺乳动物基因组中广泛转录,在大量生物过程中保持着重要功能,并与癌症等多种疾病相关,lncRNA 在细胞的多种生理和病理过程中的作用被广泛研究^[15-18]。本研究通过分析来自 NCBI、miRDB 和 Starbase 3.0 及 DAVID 数据库的数据^[19,20],确定了 lncRNA-MAL2 的靶基因,并进一步分析了其在细胞内调控的信号通路。

本研究在 miRDB 数据库得到与 lncRNA-MAL2 相关的 miRNAs 共 95 个,在 Starbase 3.0 数据库得到与 lncRNA-MAL2 相关的 miRNAs 共 167 个,取交集后共得到 5 个 miRNAs,分别是 hsa-miR-513b-5p、hsa-miR-613、hsa-miR-206、hsa-miR-1-3p、hsa-miR-766-5p。对 miRNAs 通过 GO 功能注释发现,lncRNA MAL2 通过 hsa-miR-613 作用的靶基因主要调控蛋白质的稳定性、细胞的形状、蛋白的泛素化降解过程、神经系统发育、细胞对雌激素刺激的反应、胰岛素受体信号途径和细胞对病因损伤的反应等病理生理过程,提示其生理功能主要与细胞的开关、细胞对雌激素刺激的反应以及细胞对多种外界刺激因素的反应密切相关。

信号通路富集的结果显示,lncRNA-MAL2 通过 hsa-miR-613 调控的信号通路包括乙型肝炎病毒信号通路、肾细胞癌信号通路、长时程增强信号通路、Th17 细胞分化、Cushing 综合征,以及甲状旁腺激素合成、分泌和作用,甲状腺癌、结直肠癌等肿瘤信号通路,进一步提示 lncRNA-MAL2 可能通过这些细胞内的与细胞正常的生理过程、炎症感染以及肿瘤信号通路发挥调控作用。

综上所述,lncRNA-MAL2 在细胞内调控的多个靶基因和信号通路,这些信号通路与多种疾病相关。

参考文献:

[1]Wang W,Lou W,Ding B,et al.A novel mRNA-miRNA-lncRNA competing endogenous RNA triple sub-network associated with prognosis of pancreatic cancer [J].Aging (Albany NY),2019,11(9):2610-2627.
[2]He J,Yan H,Wei S,et al.LncRNA ST8SIA6-AS1 Promotes Cholangiocarcinoma Progression by Suppressing the miR-145-5p/MAL2 Axis[J].Onco Targets Ther,2021,14:3209-3223.
[3]Huang Y,Wang X,Zheng Y,et al.Construction of an mRNA-miRNA-lncRNA network prognostic for triple-negative breast cancer[J].Aging (Albany NY),2021,13(1):1153-1175.

[4]Shao B,Fu X,Li X,et al.RP11-284F21.9 promotes oral squamous cell carcinoma development via the miR-383-5p/MAL2 axis[J].J Oral Pathol Med,2020,49(1):21-29.
[5]de Marco MC,Martin-Belmonte F,Kremer L,et al.MAL2, a novel raft protein of the MAL family, is an essential component of the machinery for transcytosis in hepatoma HepG2 cells [J].J Cell Biol,2002,159:37-44.
[6]Schuck S,Simons K.Polarized sorting in epithelial cells: raft clustering and the biogenesis of the apical membrane [J].J Cell Sci,2004,117:5955-5964.
[7]Bhandari A,Shen Y,Sindan N,et al.MAL2 promotes proliferation, migration, and invasion through regulating epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cell lines [J].Biochem Biophys Res Commun,2018,504:434-39.
[8]Li J,Li Y,Liu H,et al.The four-transmembrane protein MAL2 and tumor protein D52 (TPD52) are highly expressed in colorectal cancer and correlated with poor prognosis [J].PLoS One,2017,12:e0178515.
[9]Shehata M,Bieche I,Boutros R,et al.Nonredundant functions for tumor protein D52-like proteins support specific targeting of TPD52[J].Clin Cancer Res,2008,14:5050-5060.
[10]Yu S,Li Y,Liao Z,et al.Plasma extracellular vesicle long RNA profiling identifies a diagnostic signature for the detection of pancreatic ductal adenocarcinoma[J].Gut,2020,69(3):540-550.
[11]Zhong G,Lou W,Yao M,et al.Identification of novel mRNA-miRNA-lncRNA competing endogenous RNA network associated with prognosis of breast cancer [J].Epigenomics,2019,11(13):1501-1518.
[12]Ali T,Grote P.Beyond the RNA-dependent function of LncRNA genes[J].Elife,2020,9:e60583.
[13]Bridges MC,Daulagala AC,Kourtidis A.LNCcation: lncRNA localization and function[J].J Cell Biol,2021,220(2):e202009045.
[14]Ferrè F,Colantoni A,Helmer-Citterich M.Revealing protein-lncRNA interaction[J].Brief Bioinform,2016,17(1):106-116.
[15]Xing C,Sun SG,Yue ZQ,et al.Role of lncRNA LUCAT1 in cancer[J].Biomed Pharmacother,2021,134:111158.
[16]Qian X,Zhao J,Yeung PY,et al.Revealing lncRNA Structures and Interactions by Sequencing-Based Approaches [J].Trends Biochem Sci,2019,44(1):33-52.
[17]Tan YT,Lin JF,Li T,et al.LncRNA-mediated posttranslational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer[J].Cancer Commun (Lond),2021,41(2):109-120.
[18]Wang J,Su Z,Lu S,et al.LncRNA HOXA-AS2 and its molecular mechanisms in human cancer [J].Clin Chim Acta,2018,485:229-233.
[19]Jathar S,Kumar V,Srivastava J,et al.Technological Developments in lncRNA Biology [J].Adv Exp Med Biol,2017,1008:283-323.
[20]Robinson EK,Covarrubias S,Carpenter S.The how and why of lncRNA function: An innate immune perspective[J].Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech,2020,1863(4):194419.

收稿日期:2022-09-19;修回日期:2022-09-28

编辑/成森