



# 读书报告

---

张文雅

2018-3-31





# Identification of exosomes and its signature miRNAs of male and female *Cynoglossus semilaevis*

Zhanpeng Sun<sup>1</sup>, Tong Hao<sup>2</sup> & Jinze Tian<sup>2</sup>

# 研究背景



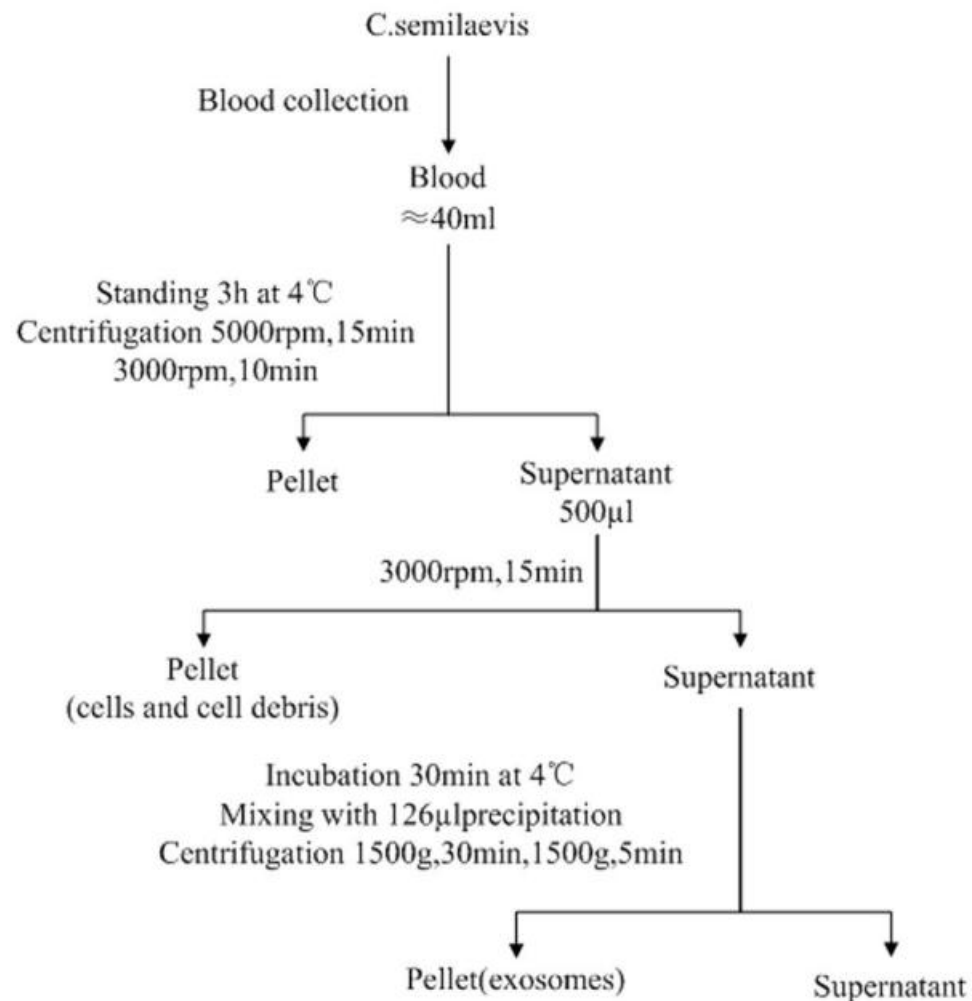
## *Cynoglossus semilaevis*

半滑舌鳎属鲽形目、舌鳎科、舌鳎属。是一种暖温性近海大型底层鱼类，终年生活栖息在中国近海地区。在性成熟之前，这种物种在雄鱼和雌鱼之间没有明显的差异，雌性生长速度比雄性快得多，最终达到雄性体长的2-4倍。由于个体生长差异，仅仅在体型上区分鱼类性别会导致大量浪费。为了提高半滑舌鳎繁殖的效率，可靠的性别分化检测方法是非常重要的。

# 研究结果

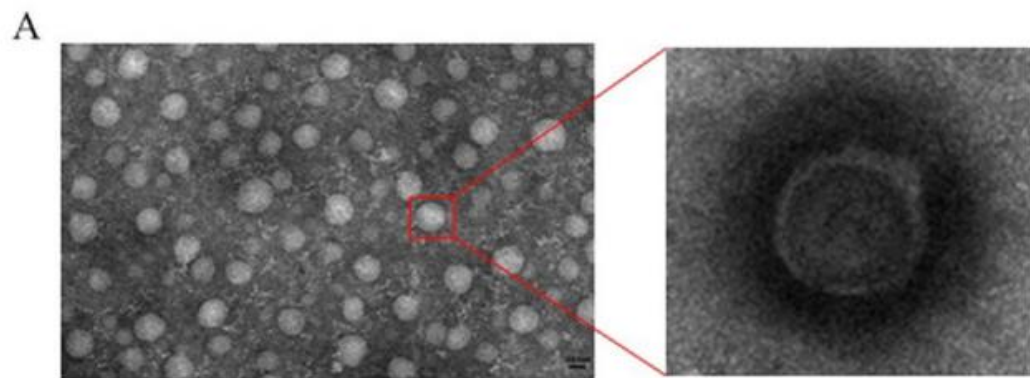
---

# 半滑舌鰨血清外泌体的分离鉴定

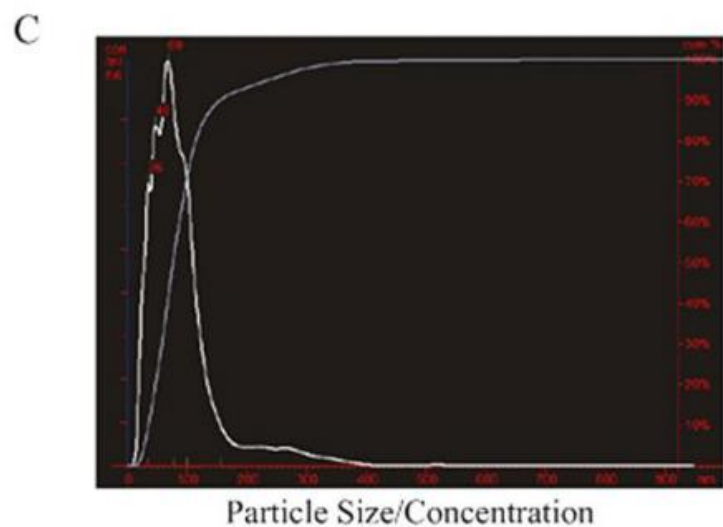
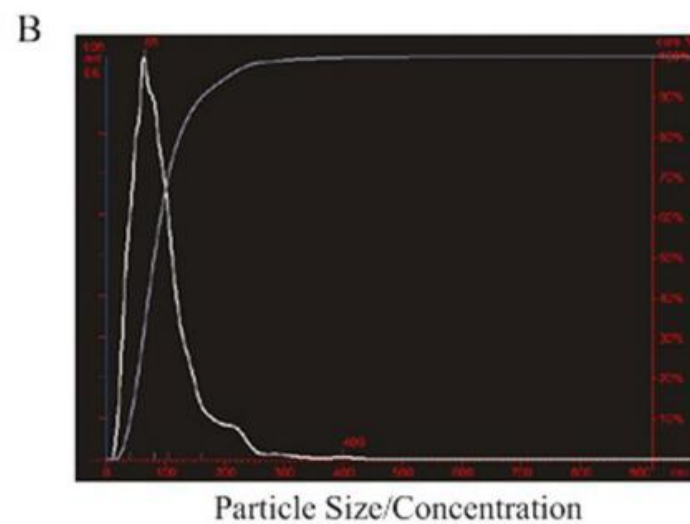


**Figure 8.** Flowchart for exosomes isolation from *C. semilaevis* serum.

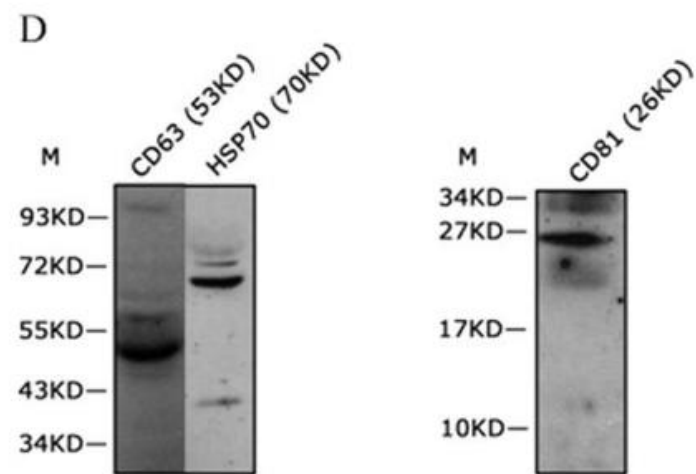
# 半滑舌鳎血清外泌体的分离鉴定



30-120nm



$3.3 \times 10^9$  颗粒/ml



# 外泌体的核苷酸组成

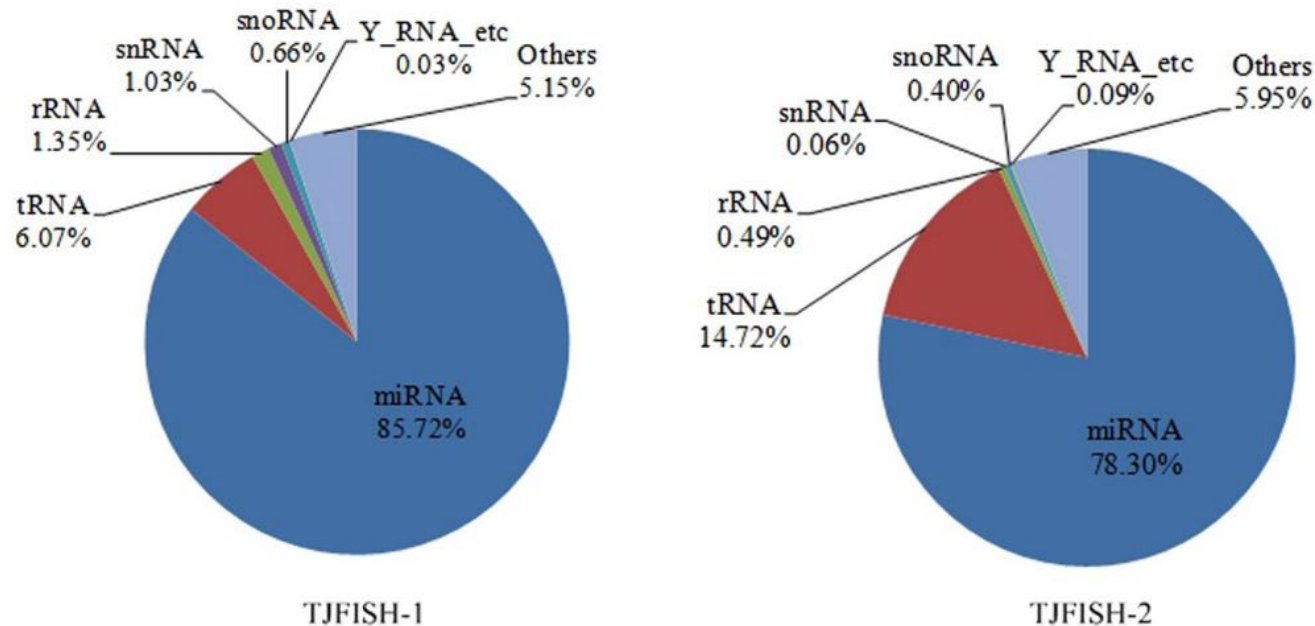
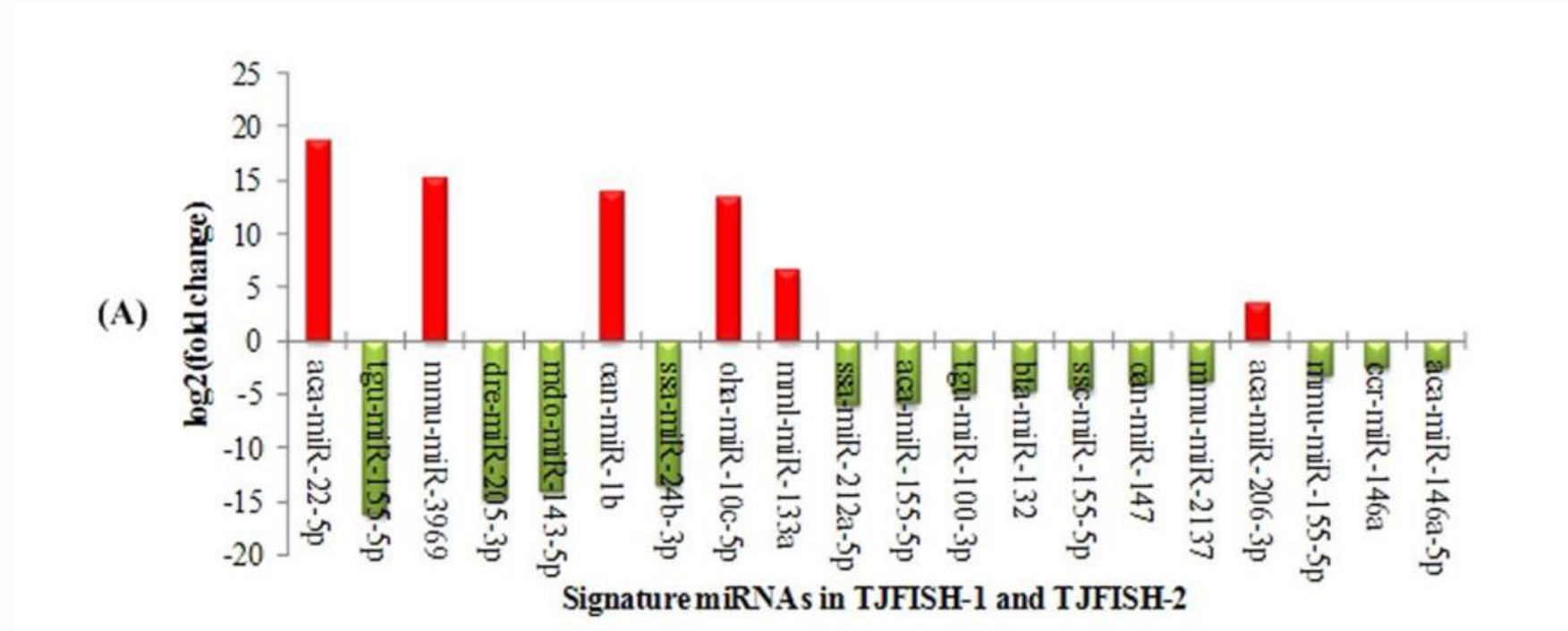


Figure 2. Nucleotide composition of exosomes in TJFISH-1 and TJFISH-2.

分别从雄性和雌性中鉴定了723和662个已知的miRNA，其中635个是常见的miRNA。另外，在雄性中预测了20种新型miRNA和17种新型pre-miRNA，而在雌性中预测了13种新型miRNA和12种新型pre-miRNA。

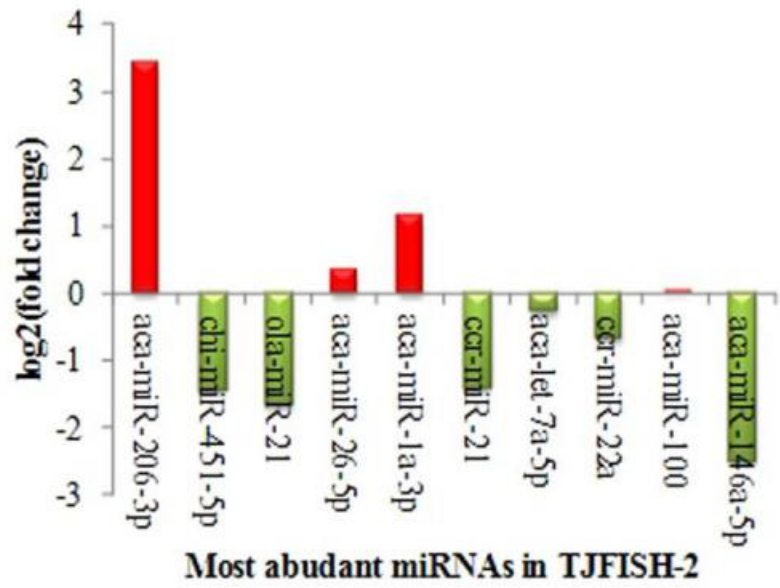
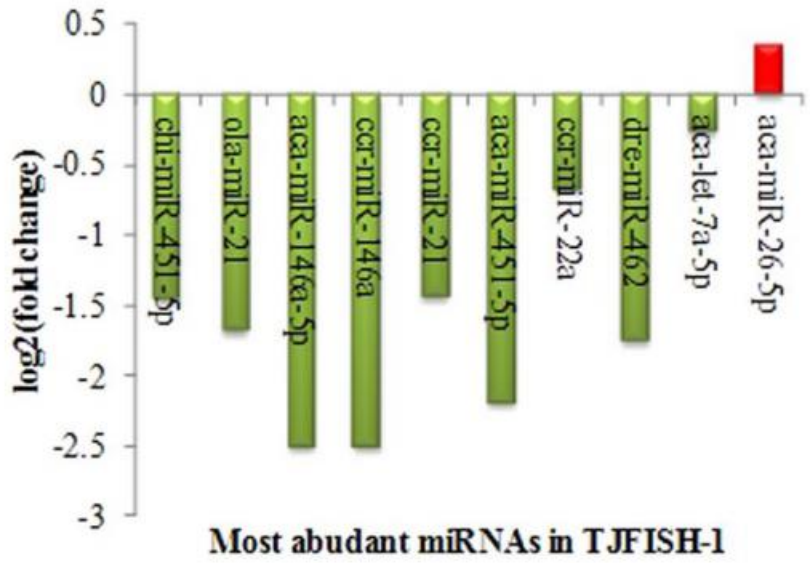
# miRNA表达谱



- (1) 8个在一组中表达而在另一组中不表达的miRNA;
- (2) 在一个组中具有非零表达但在另一个中表达高得多的9种miRNA;
- (3) 两组中都有3种miRNA具有相当高的表达（高于3000RPM），但是倍数变化很大。



# miRNA表达谱



# GO 分析

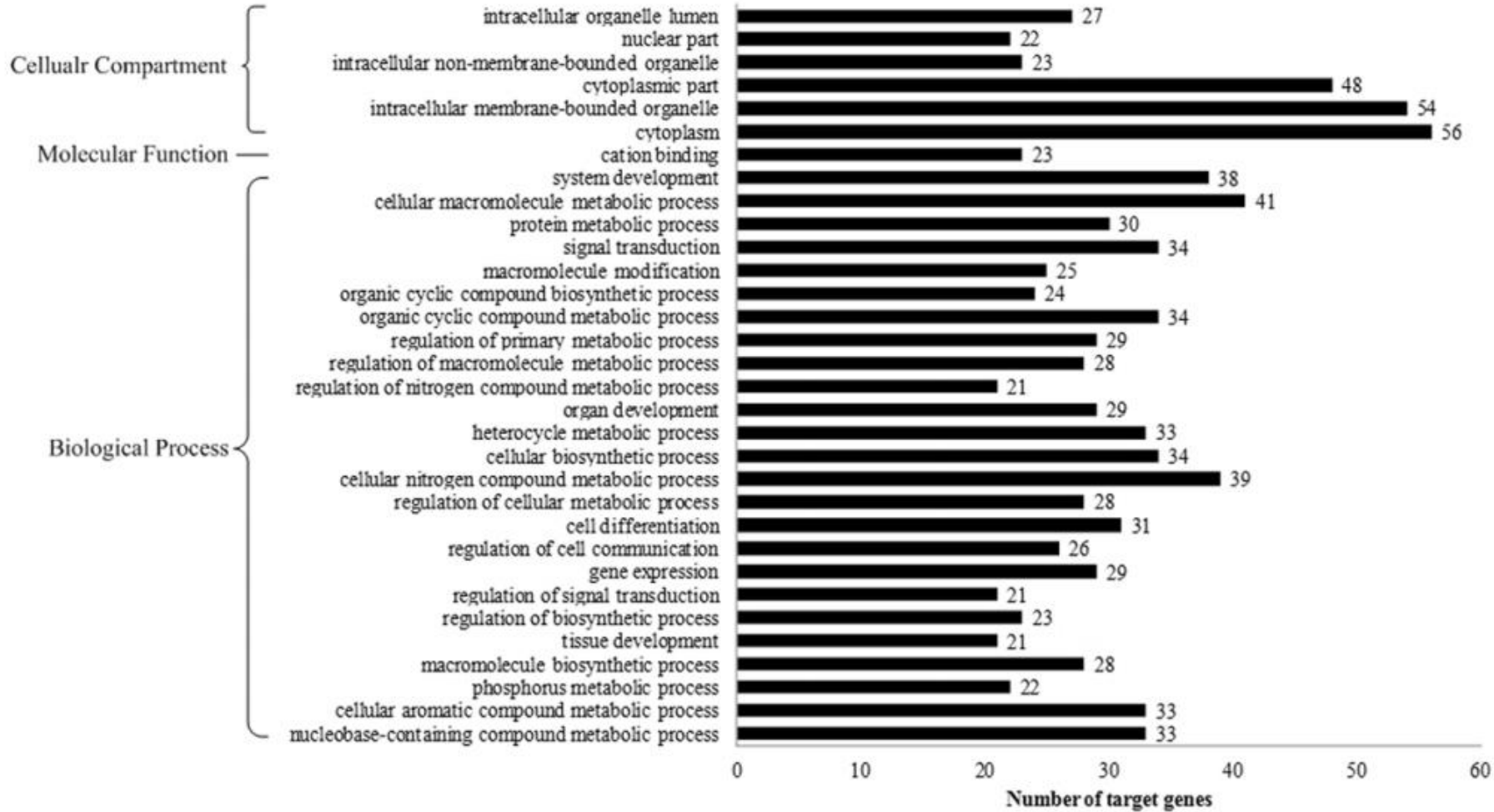
Gene Ontology可分为分子功能（Molecular Function），生物过程（biological process）和细胞组成（cellular component）三个部分。蛋白质或者基因可以通过ID对应或者序列注释的方法找到与之对应的GO号，而GO号可对于到Term，即功能类别或者细胞定位。

GO分析：根据挑选出的差异基因，计算这些差异基因同GO 分类中某（几）个特定的分支的超几何分布关系，GO 分析会对每个有差异基因存在的GO 返回一个p-value，小的p 值表示差异基因在该GO 中出现了富集。

GO 分析对实验结果有提示的作用，通过差异基因的GO 分析，可以找到富集差异基因的GO 分类条目，寻找不同样品的差异基因可能和哪些基因功能的改变有关。

KEGG(京都基因与基因组百科全书)是基因组破译方面的数据库。在后基因时代一个重大挑战是如何使细胞和有机体在计算机上完整的表达和演绎，让计算机利用基因信息对更高层次和更复杂细胞活动和生物体行为作出计算推测。为达到此目的，人们建立了一个在相关知识基础上的网络推测计算工具。在给出染色体中一套完整的基因的情况下，它可以对蛋白质交互（互动）网络在各种细胞活动起的作用作出预测。

# miRNA靶标的预测和功能分析



细胞内细胞器腔

核部分

细胞内非膜界限的细胞器

细胞质部分

细胞内膜结合的细胞器

细胞质

阳离子结合

个体发育

细胞大分子代谢过程

蛋白质代谢过程

信号转导

大分子修饰

有机环状化合物生物合成过程

有机环状化合物代谢过程

主要代谢过程的调节

调控大分子代谢过程

调节氮化合物代谢过程

器官发育

杂环代谢过程

细胞生物合成过程

细胞氮化合物代谢过程

调节细胞代谢过程

细胞分化

细胞通讯的调控

基因表达

信号转导的调节

生物合成过程的调节

组织发育

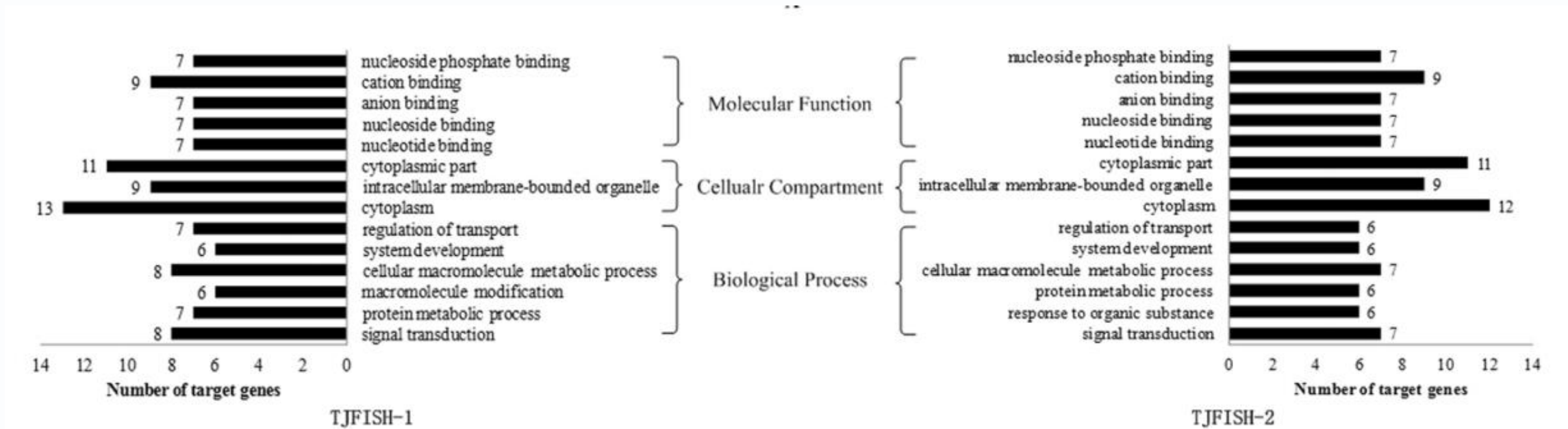
大分子生物合成过程

磷代谢过程

细胞芳香化合物代谢过程

含核碱基的化合物代谢过程

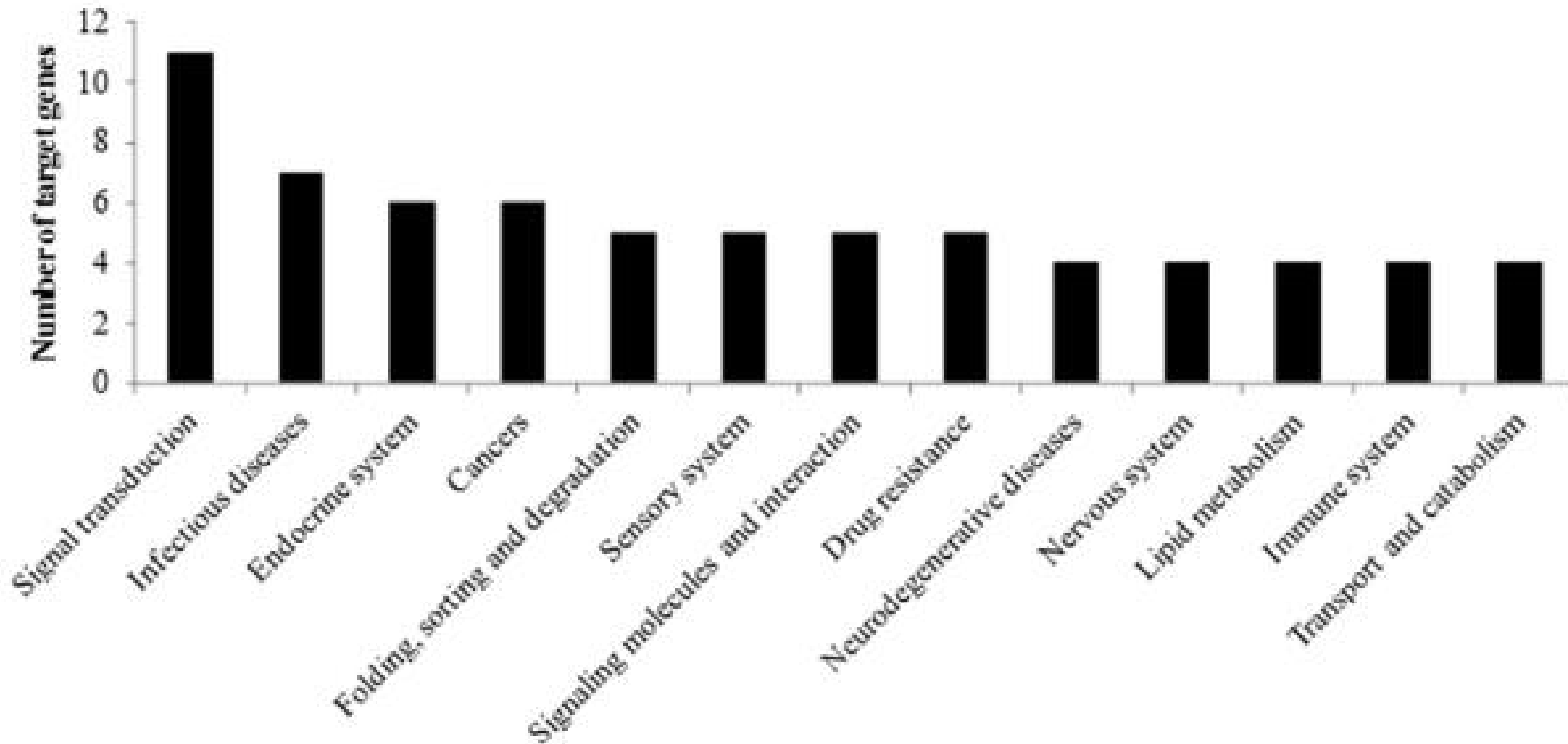
# miRNA靶标的预测和功能分析



核苷磷酸结合  
 阳离子结合  
 阴离子结合  
 核苷结合  
 核苷酸结合  
 细胞质部分  
 细胞内膜结合的细胞器  
 细胞质

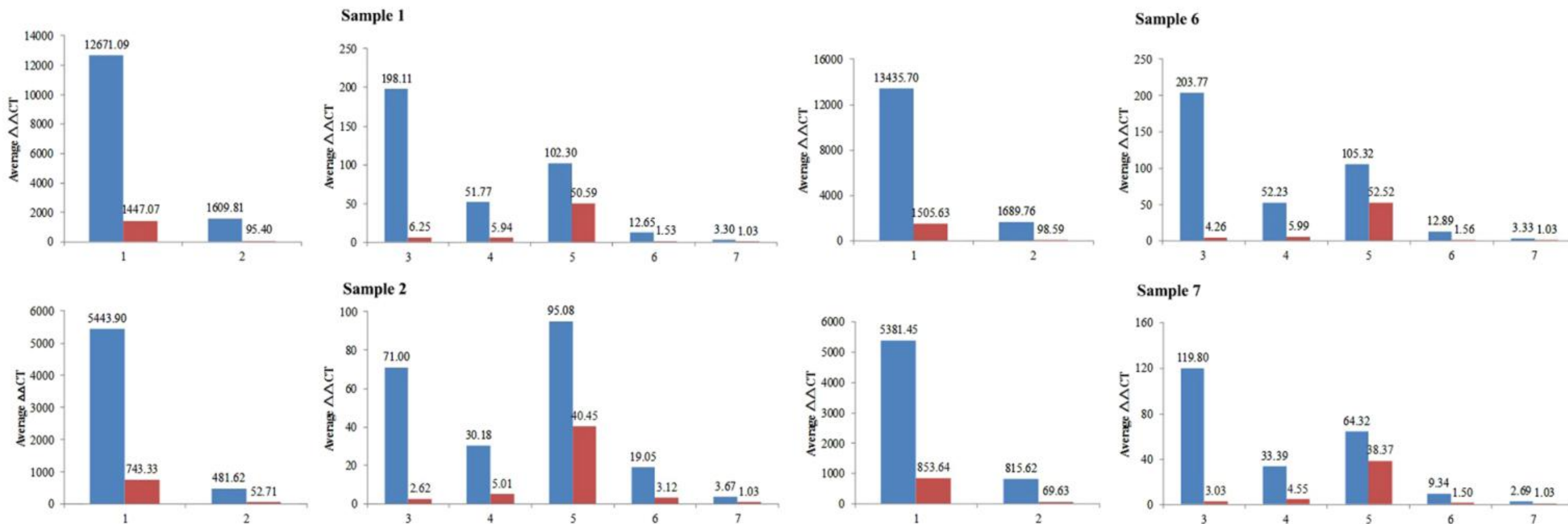
运输调节  
 个体发育  
 细胞大分子代谢过程  
 大分子修饰  
 蛋白质代谢过程  
 信号转导

# miRNA靶标的预测和功能分析



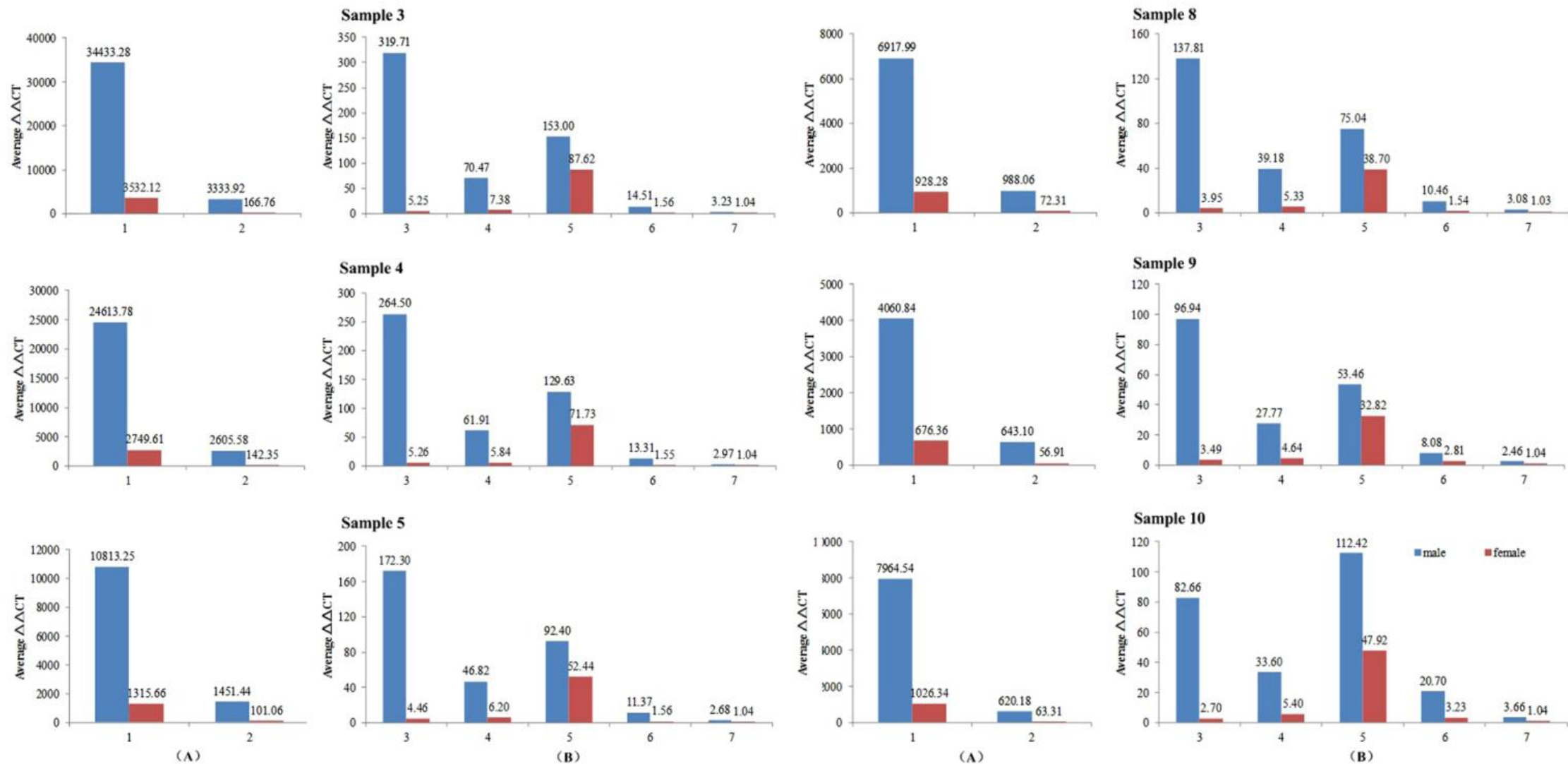
信号转导  
传染性疾病  
内分泌系统  
癌症  
折叠, 分类和降解  
感官系统  
信号分子和相互作用  
耐药性  
神经退行性疾病  
神经系统  
脂质代谢  
免疫系统  
运输和分解代谢

# 标记miRNA的表达



1: Aca-miR-155-5p; 2: Bta-miR-132; 3: Mmu-miR-155-5p; 4: Aca-miR212a-5p;  
5: Dre-miR-205-3p; 6: Tgu-miR-155-5p; 7: oan-miR-147.

# 标记miRNA的表达





# 标记miRNA的表达

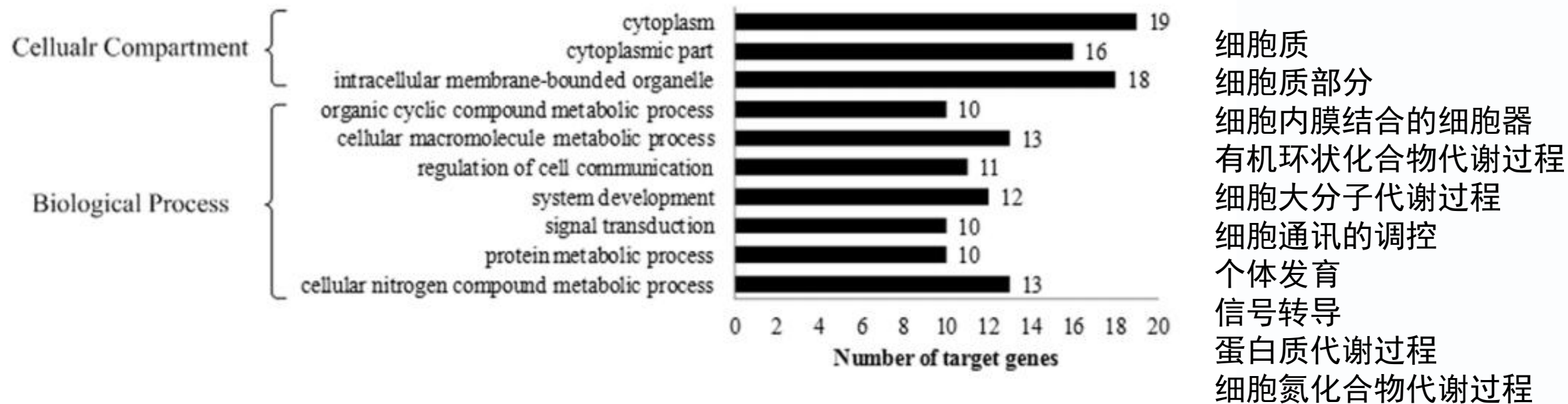


Figure 7. GO analysis of targets genes related to marker miRNAs.

# 总结

- 分离并鉴定了半滑舌鳎血清中外泌体。
- 高通量测序鉴定了来自外泌体的miRNA在总RNA组成中占主导地位。
- 发现signature miRNAs，预测其靶标基因并通过GO分析与KEGG确定其主要功能与性别分化有关。
- 通过RT-qPCR进一步验证marker miRNAs的功能与性别分化有关。



请各位老师同学批评指正！

---

