

## 综 述

# 鸡 microRNA 的研究进展

满朝来, 甄鑫, 唐高霞, 赵丽, 李凤, 弭晓菊

哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150025

满朝来, 甄鑫, 唐高霞, 等. 鸡 microRNA 的研究进展. 生物工程学报, 2013, 29(5): 578–585.  
Man CL, Zhen X, Tang GX, et al. Progress in chicken microRNAs. Chin J Biotech, 2013, 29(5): 578–585.

**摘 要:** microRNA (miRNA) 是参与基因转录后调控的一类重要的非编码小 RNA 分子。以下简要总结鸡 miRNA 的数量与染色体分布, 同时概述了鸡 miRNA 对免疫、胚胎发育和病毒感染的调控作用, 最后对鸡 miRNA 的应用前景也进行了简单探讨, 以期对 miRNA 在禽业生产中的深入研究和应用提供参考。

**关键词:** 鸡, microRNA, 免疫, 胚胎发育, 病毒

## Progress in chicken microRNAs

Chaolai Man, Xin Zhen, Gaoxia Tang, Li Zhao, Feng Li, and Xiaoju Mi

*Key Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang Province, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, Heilongjiang, China*

**Abstract:** microRNAs (miRNAs) are a family of important small non-coding RNA molecules, which participate in the post transcriptional gene regulation. In this review, the numbers and chromosomal distribution of chicken miRNAs, and the regulation and function of chicken miRNAs in immune, embryo development and virus infection were reviewed. Additionally, the applications of chicken miRNAs were also discussed briefly. We hope it can provide references for further study and use of miRNAs in poultry husbandry fields.

**Keywords:** chicken, microRNAs, immunity, embryo development, virus

**Received:** November 9, 2012; **Accepted:** February 25, 2013

**Supported by:** Natural Science Foundation of the Heilongjiang Province (No. C201135), Science and Technology Foundation of the Education Department of Heilongjiang Province (No. 12511140), Harbin Technological Innovation Special Fund Research Project (No. 2012RFQXN005), Aid program for Science and Technology Innovative Research Team in Higher Educational Institutions of Heilongjiang Province and Harbin Normal University (No. KJTD2011-2).

**Corresponding author:** Chaolai Man. Tel/Fax: +86-451-88060576; E-mail: manchaolai@126.com

黑龙江省自然科学基金项目 (No. C201135), 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (No. 12511140), 哈尔滨市科技创新人才研究专项基金 (No. 2012RFQXN005), 黑龙江省高校科技创新团队研究计划, 哈尔滨师范大学科技创新团队研究计划 (No. KJTD-2011-2) 资助。

microRNA (miRNA) 是一类高度保守的、功能性的、非编码单链小 RNA (长约 19~24 nt), 其采用序列特异性方式结合到 mRNA 3'非翻译区 (UTR) 的互补序列上, 参与转录后基因表达调控, 调控着从细胞分化到机体发育多种生物过程。鸡作为一种中间进化模式生物, 在脊椎动物生命科学研究中具有诸多优势, 例如鸡为卵生, 胚胎便于体外操作与观察, 方便获得基因组 DNA 等, 鸡已经成为生命科学研究中的优秀动物模型之一。以鸡为模式生物研究 miRNA 生物学问题, 对于深入理解和发现 miRNA 功能和作用机制, 开发和指导 miRNA 在禽业生产中的应用具有重要的参考和经济价值。

## 1 鸡 miRNA 的数量与染色体分布

目前, 鸡 miRBase 数据库 (<http://www.mirbase.org/>) 中已公布 684 条 miRNA 前体和 791 条 miRNA 成熟体。从染色体分布来看, miRNA 前体分别来源于不同染色体, 具体染色体分布概况为: 染色体 1 为 80 条、染色体 2 为 69 条、染色体 3 为 53 条、染色体 4 为 56 条、染色体 5 为 35 条、染色体 6 为 16 条、染色体 7 为 23 条、染色体 8 为 27 条、染色体 9 为 23 条、染色体 10 为 28 条、染色体 11 为 15 条、染色体 12 为 15 条、染色体 13 为 13 条、染色体 14 为 20 条、染色体 15 为 18 条、染色体 17 为 14 条、染色体 18 为 12 条、染色体 19 为 21 条、染色体 20 为 20 条、染色体 21 为 8 条、染色体 22 为 2 条、染色体 23 为 10 条、染色体 24 为 13 条、染色体 24 为 13 条、染色体 25 为 6 条、染色体 26 为 12 条、染色体 27 为 9 条、染色体 28 为 12 条、染色体 Z 为 31

条, 还有 23 条 miRNA 前体未确定染色体来源。从染色体分布规律来看, 鸡的 6 对大染色体 (染色体 1、2、3、4、5 和 Z) 分布的 miRNA 前体的数目都在 30 条以上, 其中以染色体 1 为最多 (80 条), 这可能与这些染色体的长度大、基因多和功能复杂有关, 而染色体 16、32 和 W 尚未发现 miRNA 前体序列。

与人的 miRNA 前体 (1 600 条) 和 miRNA 成熟体 (2 042 条) 数目相比较而言, 鸡 miRNA 的发现和挖掘可能还存在一定空间, 因为 Glazov 等<sup>[1]</sup>利用深度测序法 (Deep sequencing approach) 对鸡胚的不同发育阶段 (5 d、7 d 和 9 d) 测得了 3 个小 RNA 库, 产生 950 万条短序列, 他们对这些小 RNA 进行分类后发现, 几乎检测到了所有先前已知的鸡 miRNA 和它们各自的 miRNA\*序列 (表达水平较低的 miRNA 后面常加上\*号, 但现在名称标记有所变化)。此外, 他们发现了 449 条新的鸡 miRNA (包括 88 条候选的 miRNA), 其中 430 条 miRNA 是鸟类所特有的, 另外 6 条新 miRNA 具有与鸟类以外至少一个种属脊椎动物的存在进化序列保守的特性, 剩余的 13 条假定 miRNA (Putative miRNA) 是已知脊椎动物 miRNA 在鸡中的同源序列。另外还发现 39 条额外的剪接来源的 miRNA (Splicing-derived miRNA, mirtron)。相信随着研究的不断深入, 鸡 miRNA 家族的新成员还会被逐渐发现和公布。

## 2 鸡 miRNA 对免疫功能的调控

miRNA 是基因表达的一类重要转录后调控子, 但是关于每个 miRNA 调控靶基因表达的独

特功能却知之甚少。目前,研究发现 miRNA 在免疫调控中起重要作用,miRNA 可能与经典的天然免疫应答体系共同组成机体抵御病原微生物入侵的“第一道防线”,而且 miRNA 水平的相互作用可能是病原微生物与其宿主展开免疫“博弈”的重要战场,这些相互作用的结果导致许多基因和基因产物的激活,多条路径汇聚在一起进而富集了特定 miRNA。例如,转录因子 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 的激活会导致 miR-155 的数量增加<sup>[2]</sup>,而 miR-155 是正常获得性免疫反应所必需的,能够调节辅助性 T 细胞分化和生发中心反应以产生最适 T 细胞依赖性抗体反应 (T cell dependent antibody response, TDAR)。miR-155 还能够通过调节细胞因子生成量的变化来实现对 T 细胞功能的调节,而且 B 细胞发生同型转换和产生高亲和抗体及记忆细胞反应时也需要 miR-155 的参与<sup>[3]</sup>。

动物的免疫反应必须被精细调节才能达到免疫应答和免疫耐受的恰当平衡,相对于蛋白因子的调节方式,miRNA 似乎更适合对免疫系统进行精细和定量调节。miRNA 不但在天然免疫反应的不同时期起重要的调控作用,而且在 T 细胞和 B 细胞发育及 T 细胞功能和抗体产生等获得性免疫过程中,miRNA 呈现出特有的时空动态表达方式,暗示 miRNA 在获得性免疫中也具有重要的调控作用;此外,与其他基因相比较而言,miRNA 的靶向位点对免疫基因具有更高的选择倾向,这不仅进一步说明 miRNA 是免疫系统的关键调控子,而且 miRNA 在免疫系统中具有多样性功能<sup>[4]</sup>。

在鸡中,虽然关于免疫相关 miRNA 的功能

研究报道较少,但现有研究成果已经初步证明了鸡 miRNA 在免疫系统调控中的重要性。例如,为发现参与免疫反应的非编码免疫相关基因,Ahanda 等<sup>[5]</sup>利用鸡的免疫活性组织制备了一批 cDNA 序列,他们不但发现了已知非编码 RNA (miRNA, snRNA, snoRNA),还鉴定了一些新的假定 miRNA 样非编码 RNA (Putative mRNA-like non-coding RNA)。通过对这些样品的表达谱进行鉴定后,发现一些非编码 RNA 在病毒感染后表达发生了改变,而且这些非编码 RNA 的表达方式与这些组织内的编码蛋白 mRNA 表达特征相一致,暗示这些非编码 RNA 在免疫反应中可能具有活性作用。Trakooljul 等<sup>[6]</sup>利用 DNA 微阵列分析和双重荧光素酶报告检测系统研究鸡 miR-143 的下游靶基因,发现在体外利用 anti-miR-143 处理鸡胚胎淋巴细胞后,有 124 个基因表达改变,而这些基因中许多都与细胞增生、凋亡和肿瘤形成有关,所以 miR-143 很可能参与调控淋巴细胞的增生和凋亡。此后,该课题组又对 miR-10a 的表达分布进行了研究,结果表明 miR-10a 在鸡胚胎的脾脏发育中高表达,出生后在脾、肺、肾和脂肪组织等脏器中仍高表达,功能分析表明 miR-10a 能够参与 Ras 信号相关通路、细胞内运输和免疫功能发育等相关基因的表达调控<sup>[7]</sup>。还有,分泌性磷蛋白 1 (Secreted phosphoprotein 1, SPP1) 在炎症反应、钙化、器官发育、免疫细胞功能和致癌作用等生理过程中具有重要的作用,而在鸡中 miR-140 能够通过转录后调控来影响 SPP1 的表达活性<sup>[8]</sup>,进而间接实现对免疫细胞功能的影响。Akirin2 蛋白作为重要的核内转录因子在免疫反应中具有重要的

调控作用,作者在研究鸡 *akirin2* 基因的生物学功能时,预测分析发现 *akirin2* 基因的 3'UTR 区域存在潜在一个 miRNA 靶位点,而且 2 个鸡 miRNA (gga-miR-1570 和 gga-miR-216b) 靶向这一相同的靶序列,说明 *akirin2* 基因的表达活性可能受这些 miRNA 的调控<sup>[9]</sup>,而在哺乳动物中 Akirin2 是一个影响转录因子 NF- $\kappa$ B 转录活性的关键核内因子,参与 NF- $\kappa$ B 依赖的免疫相关 miRNA (如 miR-155、miR-181a、miR-17~92、miRNA-146 和 miR-223 等) 的表达调控<sup>[10-12]</sup>,但是关于鸡的 *akirin2* 基因与 miRNA 的调控相关性仍有待于深入研究。总之,越来越多的证据表明鸡 miRNA 也能够以直接或间接的方式影响着免疫相关基因或细胞的活性,发挥着对免疫功能的调节作用。

### 3 鸡 miRNA 对胚胎发育的调控

miRNA 的组织特异性表达研究揭示了 miRNA 在胚胎发育中的多种功能,其中 miRNA 的一个主要作用就是调控发育过程中的靶基因表达。例如,Hicks 等<sup>[13]</sup>利用 11 d 鸡胚构建了一个小 RNA 文库,获得了 10 466 个序列,其中包括已知的鸡 miRNA、与其他物种同源的 miRNA 和新发现的 miRNA。他们发现许多已知的 miRNA 在鸡胚的脾、肝和法氏囊中差异表达,表明孵化 11 d 鸡胚中的 miRNA 表达是极其多样和动态变化的,而且这种变化可能是与胚胎特征发育相对应的。

#### 3.1 鸡 miRNA 对骨骼发育的调控

高等脊椎动物利用相似的遗传工具却传递着极其不同的面部特征,这种多样性被认为是通

过颅神经嵴细胞 (Cranial neural crest cells) 内基因的表达时间、空间和种属特异性变化而实现的,这不仅会促进面部骨骼的形成,而且还包含着种属特异性信息,从而导致形态的不同。在这一过程中,一些信号分子和转录因子起着重要作用,而关于 miRNA 在这一过程中的作用却知之甚少。Powder 等<sup>[14]</sup>通过对比鉴定和分析 3 种禽类动物 (鸡、鸭和鹌鹑) 特异性面部特征发生变化前后的颅神经嵴细胞中全部 miRNA 的表达变化,结果发现了 170 个差异表达的 miRNA,并且在这个过程中这些 miRNA 的表达呈现显著动态变化,这表明 miRNA 在胚胎头面发育过程中起着重要作用。

在脊椎动物胚胎发育中,中轴骨 (Axial bone) 的形成需要精确时空调控 *Hox* 基因的表达。Hornstein 等<sup>[15]</sup>研究表明:在鸡体内肢体发育环境下,miR-196 作用于 *Hoxb8* 和 *SHH* (Sonic hedgehog) 上游,并且 miR-196 能够确保被调控的表达域 (Expression domains) 在转录水平上的精准性,这表明 miRNA 功能上是作为一个二级水平的基因调控。随后,McGlinn 等<sup>[16]</sup>在鸡胚胎发育中利用反义寡核苷酸技术,通过应用 miR-196 家族确定了鸡胚轴形成前后 *Hox* 基因表达的时空界限,他们发现当 miR-196 表达被封闭后,鸡胚的末尾颈椎 (Last cervical vertebrae) 存在向着胸椎特征方向同源异形转化现象,而这种表型的改变部分原因是与转化之前 *Hoxb8* 基因表达被上调有关,同时这也进一步佐证了 *Hox* 基因能够被 miRNA 转录后调控的相关性。此外,miRNA 在软骨形成中还发挥着重要作用,例如,细胞凝聚 (Cellular condensation) 对成软骨细胞

的分化是一个必要的起始过程, Song 等<sup>[17]</sup>通过研究 miR-488 在细胞凝聚中的作用, 发现在鸡肢间充质细胞 (Limb mesenchymal cells) 软骨形成的过程中, miR-488 是细胞与细胞外基质相互作用中的调控因子之一。

### 3.2 鸡 miRNA 对神经发育的调控

神经发育是高度协调的生理过程, 神经元基因的表达式是被严格调控的。在鸡中枢神经系统组织发育中, *SCP1* (Small C-terminal domain phosphatase 1) 基因表达适时的下调对诱导神经组织的发生至关重要, 而在这一过程中 miR-124 参与了 *SCP1* 基因的表达下调过程<sup>[18]</sup>。进一步研究发现, miR-124 的两个内源性的靶标分别是层粘连蛋白  $\gamma 1$  (Laminin gamma 1) 和整合素  $\beta 1$  (Integrin beta1) 两个基因, 这两个基因在神经祖细胞 (Neural progenitor cells) 中高表达, 但在神经细胞分化中被抑制, miR-124 是通过对神经祖细胞中祖基因 (Progenitor genes) 的转录后抑制进而实现神经细胞的分化<sup>[19]</sup>。另外, 在鸡胚胎发育中, 运动神经元亚型的特化 (Specification of motor neuron (MN) subtypes) 和脊髓柱状体形成 (Columnar formation) 也受多种转录因子的调控。例如, FoxP1 (Forkhead box protein P1) 能够驱动晚期运动神经元亚型的特化, 但是 FoxP1 的表达水平是受 miR-9 调控的, 所以 miR-9 是运动神经元特化和柱状体形成的一个必要的调控子<sup>[20-21]</sup>。此外, miRNA 对神经细胞的正常发育和凋亡也起着重要的调控作用。例如 Wang 等<sup>[22]</sup>利用 miRNA 的微阵列分析表明 miR-206 是亚砷酸钠 (SA) 诱导的鸡胚神经管缺陷 (Neural tube defects, NTDs) 的差异表达的特征性基因。在

SA 处理后的鸡胚中 miR-206 表达存在差异, miR-206 过表达会促进 U343 和 SK-N-SH 细胞的凋亡, 而 miR-206 低表达会抑制细胞凋亡, 表明 miR-206 在调控神经细胞凋亡的过程中可能起了重要作用。

### 3.3 鸡 miRNA 对性腺发育的调控

在鸡胚胎发育中, miRNA 的组织特异性表达可以促进多种器官组织的发生, 例如, miRNA 在鸡胚胎性腺组织发育中起着重要的调控作用。首先, miRNA 能够调控鸡胚盘和原始生殖细胞 (PGCs) 的分化, 而且生殖细胞的特化时间也是通过 miRNA 的表达来调控的。Lee 等<sup>[23]</sup>在鸡胚胎和原始生殖细胞 (PGCs) 中已经分别鉴定出 7 个和 10 个高表达的 miRNA, 发现 miRNA 介导的转录后调控是维持胚盘和 PGCs 的未分化状态所必需的。其中 miR-302a 和 miR-456 直接结合到性决定区 Y 盒 11 转录体 (Sex-determining region Y box 11 transcript) 上, 并且作为转录后共调控子来维持鸡胚盘的未分化状态。miR-181a\* 在 PGCs 中通过结合 2 个不同的转录体进而表现出双重功能, miR-181a\* 通过沉默同源盒 A1 的表达来抑制 PGCs 的体细胞分化 (Somatic differentiation), 此外 miR-181a\* 还可以通过抑制核受体亚家族 6、A 组 1 号转录体 (The nuclear receptor subfamily 6, group A, member 1 transcript) 来阻止 PGCs 进入减数分裂。

其次, 鸡胚胎通过雌性或雄性特异性基因表达来控制着性腺向着卵巢或睾丸方向发育, 而在这一性腺分化过程中许多 miRNA 参与了调控。Bannister 等<sup>[24]</sup>通过对鸡早期胚胎体内注射雌二醇-17 $\beta$  来研究雌雄性腺的改变与 miR-202\* 表达

的变化关系, 结果表明 miR-202\* 的表达上调与鸡胚睾丸分化步调相一致。Huang 等<sup>[25]</sup>利用半定量 RT-PCR 和全胚原位杂交方法 (Whole-mount in situ hybridization) 分析了鸡胚胎早起发育阶段 miR-363 和 miR-363\* 前体的时空表达特征, 发现 miR-363 的表达在雌雄鸡胚 (E3.5 to 6.5 d) 性腺中存在显著差异, 推测 miR-363 可能参与了性腺分化发育。Bannister 等<sup>[26]</sup>又利用微阵列、原位杂交和 Northern blotting 等方法研究发现 miR-202\* 在雄性鸡胚性别分化起始后睾丸发育中表达上调, 这表明脊椎动物性腺分化过程中 miRNA 的表达是动态变化的, 而且 miR202\* 可能在功能上参与了睾丸发育的调控。

最后, 在鸡性腺发育中大量表达的 miRNA, 其中一些在性腺分化过程中会表现出性别二态性表达方式 (Sexually dimorphic expression patterns)。例如, Cutting 等<sup>[27]</sup>就发现 miR-101、miR-31 和 miR-202-5p 的这种表达方式对性腺分化中具有一定作用。

#### 4 鸡 miRNA 在病毒感染和致病中的作用

miRNA 能够被植物、动物和病毒所表达, 它们的重要性在许多生理过程中通过不同的表达方式而得以凸显出来。Burnside 等<sup>[28]</sup>鉴定了禽类致癌性马立克氏病病毒 (MDV1)、非致癌性马立克氏病病毒 (MDV2)、火鸡疱疹病毒 (HVT) 和传染性喉气管炎病毒 (ILTV) 编码的 miRNA。发现每一种禽类疱疹病毒都含有独特序列的 miRNA, 但它们的基因组定位 (Genomic location) 却相似, 这是因为 miRNA 倾向于成群聚集在病毒基因组的快速进化重复区域中。但不同地域来源的 MDV1 病毒株, miRNA 却高度保

守, 这些 miRNA 在裂解性感染、潜伏性感染和 MDV1 所致的肿瘤中均被表达, 表明这些小分子对病毒来说非常重要, 它们可能在病毒免疫逃避、抗凋亡和增生中发挥作用。鸡 MDV1 编码的 miR-4 与 miR-155 具有相同的靶标, 而且 miR-4 是 miR-155 的一个功能上的同源物, 而 miR-155 在恶性淋巴瘤和免疫反应中具有重要调控作用, 这表明了 MDV1 的 miRNA 在淋巴瘤形成的调控和生物学功能中的重要性<sup>[29-30]</sup>。

miRNA 不但在多种生物学过程中起关键调控作用, 而且还是复杂的宿主-抗原相互作用网络中的重要效应因子。Wang 等<sup>[31]</sup>从被低致病性的 H5N3 禽流感病毒 (Avian influenza virus, AIV) 感染 4 d 无特定病原体 (SPF) 鸡的肺和气管中提取总 RNA, 分别得到 278 398 条和 340 726 条序列, 在肺中检测到 377 个 miRNA, 在气管中检测到 149 个 miRNA。其中, 肺中 73 个和气管中 36 个 miRNA 在感染组和未感染对照组间存在表达差异, 而且在未感染组织中有更多的 miRNA 被表达。有意义的是, 已研究表明一些差异表达的 miRNA (包括 miR-146) 是与哺乳动物免疫信号通路相关的。这表明某些 miRNA 在宿主-抗原相互作用中是必需的, 所以阐明 miRNA 对宿主-AIV 相互作用的调控机制, 这对于开发新策略来预防和治疗禽业生产中的 AIV 感染问题具有重要的意义。

#### 5 鸡 miRNA 的应用展望

鸡作为生命科学研究中的重要模式动物之一, 在免疫学、发育生物学、微生物学和肿瘤等领域做出了杰出贡献。同时, 养鸡业生产作为畜牧业发展中的重要部分, 是人类最主要的肉蛋来

源之一。当前,随着家禽饲养规模的不断扩大,国内外交往和贸易活动的日益频繁,疾病传播的机会大大增加,加之鸡的免疫抑制性疾病及其他一些因素所造成的疫苗免疫抗体水平下降、免疫耐受和免疫失败等问题,给养禽业带来了巨大的经济损失,所以深入研究禽类免疫调控机制,对于改善和解决禽业生产的实际问题具有重要意义。目前,miRNA在免疫中的功能作用和应用价值逐渐被发现和重视,miRNA研究已经成为生命科学研究中的热点之一<sup>[11-12]</sup>,所以深入研究鸡miRNA的功能及作用机制,对于理解复杂生物学过程和调控机制,以及开发和利用特定miRNA在禽类疾病诊断和防治中的可能应用具有重要的意义<sup>[32-33]</sup>。

## REFERENCES

- [1] Glazov EA, Cottee PA, Barris WC, et al. A microRNA catalog of the developing chicken embryo identified by a deep sequencing approach. *Genome Res*, 2008, 18(6): 957-964.
- [2] Dahlberg JE, Lund E. Micromanagement during the innate immune response. *Sci STKE*, 2007, 387: pe25.
- [3] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, et al. Requirement of microRNA-155 for normal immune function. *Science*, 2007, 316: 608-611.
- [4] Hicks JA, Tembhurne PA, Liu HC. Identification of microRNA in the developing chick immune organs. *Immunogenetics*, 2009, 61(3): 231-240.
- [5] Ahanda ML, Ruby T, Wittzell H, et al. Non-coding RNAs revealed during identification of genes involved in chicken immune responses. *Immunogenetics*, 2009, 61(1): 55-70.
- [6] Trakooljul N, Hicks JA, Liu HC. Identification of target genes and pathways associated with chicken microRNA miR-143. *Anim Genet*, 2010, 41(4): 357-364.
- [7] Trakooljul N, Hicks JA, Liu HC. Characterization of miR-10a mediated gene regulation in avian splenocytes. *Gene*, 2012, 500(1): 107-114.
- [8] Lim W, Jeong W, Kim J, et al. Differential expression of secreted phosphoprotein 1 in response to estradiol-17 $\beta$  and in ovarian tumors in chickens. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 422(3): 494-500.
- [9] Man CL, Li X, Cao M. Cloning and tissue expression analysis of chicken akirin homologous gene. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2011, 27(1): 55-61 (in Chinese).  
满朝来, 李响, 曹敏. 鸡 Akirin 同源基因的克隆与组织表达分析. *中国生物化学与分子生物学报*, 2011, 27(1): 55-61.
- [10] Goto A, Matsushita K, Gesellchen V, et al. Akirins, highly conserved nuclear proteins, required for NF- $\kappa$ B dependent gene expression in Drosophila and mice. *Nat Immunol*, 2008, 9: 97-104.
- [11] Boldin MP, Baltimore D. MicroRNAs, new effectors and regulators of NF- $\kappa$ B. *Immunol Rev*, 2012, 246(1): 205-220.
- [12] Lindsay MA. microRNAs and the immune response. *Trends Immunol*, 2008, 29 (7): 343-351.
- [13] Hicks JA, Tembhurne P, Liu HC. MicroRNA expression in chicken embryos. *Poult Sci*, 2008, 87(11): 2335-2343.
- [14] Powder KE, Ku YC, Brugmann SA, et al. A cross-species analysis of microRNAs in the developing avian face. *PLoS ONE*, 2012, 7(4): e35111.
- [15] Hornstein E, Mansfield JH, Yekta S, et al. The microRNA miR-196 acts upstream of Hoxb8 and Shh in limb development. *Nature*, 2005, 438(7068): 671-674.
- [16] McGlinn E, Yekta S, Mansfield JH, et al. In ovo application of antagomiRs indicates a role for miR-196 in patterning the chick axial skeleton through Hox gene regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(44): 18610-18615.
- [17] Song J, Kim D, Jin EJ. MicroRNA-488 suppresses

- cell migration through modulation of the focal adhesion activity during chondrogenic differentiation of chick limb mesenchymal cells. *Cell Biol Int*, 2011, 35(2): 179–185.
- [18] Visvanathan J, Lee S, Lee B, et al. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development. *Genes Dev*, 2007, 21(7): 744–749.
- [19] Cao X, Pfaff SL, Gage FH. A functional study of miR-124 in the developing neural tube. *Genes Dev*, 2007, 21(5): 531–536.
- [20] Otaegi G, Pollock A, Sun T. An optimized sponge for microRNA miR-9 affects spinal motor neuron development *in vivo*. *Front Neurosci*, 2011, 5(1): 146–155.
- [21] Otaegi G, Pollock A, Hong J, et al. MicroRNA miR-9 modifies motor neuron columns by a tuning regulation of FoxP1 levels in developing spinal cords. *J Neurosci*, 2011, 31(3): 809–818.
- [22] Wang R, Hu Y, Song G, et al. MiR-206 regulates neural cells proliferation and apoptosis via Otx2. *Cell Physiol Biochem*, 2012, 29(3/4): 381–390.
- [23] Lee SI, Lee BR, Hwang YS, et al. MicroRNA-mediated posttranscriptional regulation is required for maintaining undifferentiated properties of blastoderm and primordial germ cells in chickens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(26): 10426–10431.
- [24] Bannister SC, Smith CA, Roeszler KN, et al. Manipulation of estrogen synthesis alters MIR202\* expression in embryonic chicken gonads. *Biol Reprod*, 2011, 85(1): 22–30.
- [25] Huang P, Gong Y, Peng X, et al. Cloning, identification, and expression analysis at the stage of gonadal sex differentiation of chicken miR-363 and 363\*. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2010, 42(8): 522–529.
- [26] Bannister SC, Tizard ML, Doran TJ, et al. Sexually dimorphic microRNA expression during chicken embryonic gonadal development. *Biol Reprod*, 2009, 81(1): 165–176.
- [27] Cutting AD, Bannister SC, Doran TJ, et al. The potential role of microRNAs in regulating gonadal sex differentiation in the chicken embryo. *Chromosome Res*, 2012, 20(1): 201–213.
- [28] Burnside J, Morgan R. Emerging roles of chicken and viral microRNAs in avian disease. *BMC Proc*, 2011, 5(4): S2.
- [29] Zhao Y, Yao Y, Xu H, et al. A functional MicroRNA-155 ortholog encoded by the oncogenic Marek's disease virus. *J Virol*, 2009, 83(1): 489–492.
- [30] Yao Y, Zhao Y, Xu H, et al. MicroRNA profile of Marek's disease virus-transformed T-cell line MSB-1: predominance of virus-encoded microRNAs. *J Virol*, 2008, 82(8): 4007–4015.
- [31] Wang Y, Brahmakshatriya V, Zhu H, et al. Identification of differentially expressed miRNAs in chicken lung and trachea with avian influenza virus infection by a deep sequencing approach. *BMC Genomics*, 2009, 10: 512–522.
- [32] Pereira TC, Lopes-Cendes I. Emerging RNA-based drugs: siRNAs, microRNAs and derivatives. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2012, 12(3): 217–232.
- [33] Tsai LM, Yu D. MicroRNAs in common diseases and potential therapeutic applications. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37(1): 102–107.

(本文责编 陈宏宇)