

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.03.008

## Neuritin 在人非小细胞肺癌血管内皮细胞中的表达

张峤<sup>1</sup>, 王强<sup>1</sup>, 张健<sup>2</sup>, 单莉<sup>1</sup> (1. 新疆医科大学附属肿瘤医院 肺癌一病区, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 中国人民解放军 69260 部队 卫生队, 新疆 乌鲁木齐 830011)

**[摘要]** **目的:** 明确 Neuritin 在人非小细胞肺癌血管内皮细胞(non-small lung cancer-vascular endothelial cells, NSCLC-VECs)中的表达水平, 探讨 Neuritin 与非小细胞肺癌血管发生的关系。**方法:** 培养及鉴定人 NSCLC-VECs 及肺微血管内皮细胞株(human pulmonary microvascular endothelial cell, HPMEC), 使用免疫荧光组织化学染色检测细胞膜上 Factor VIII 抗体及 CD34 抗体表达水平, 应用 RT-PCR 及 Western blotting 法检测 Neuritin 的表达水平。**结果:** 经加压筛选稳定传代的 NSCLC-VECs 及 HPMEC 细胞膜上可见内皮细胞特异性标记物 Factor VIII 抗体及 CD34 抗体表达。NSCLC-VECs 中 Neuritin mRNA 的表达水平显著高于 HPMEC [ $(0.95 \pm 0.09)$  vs  $(0.64 \pm 0.05)$ ,  $P < 0.05$ ], Neuritin 蛋白在 NSCLC-VECs 中的表达的水平明显高于 HPMEC [ $(1.15 \pm 0.11)$  vs  $(0.27 \pm 0.14)$ ,  $P < 0.05$ ]。**结论:** Neuritin 在人 NSCLC-VECs 中过表达, 提示 Neuritin 可能与肿瘤血管发生相关, 是一个潜在的肿瘤治疗靶点。

**[关键词]** Neuritin; 人非小细胞肺癌; 血管内皮细胞; 肿瘤血管发生

**[中图分类号]** R734.2; R730.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2015)03-0326-05

## Expression of Neuritin in human non-small lung cancer-vascular endothelial cells

Zhang Qiao<sup>1</sup>, Wang Qiang<sup>1</sup>, Zhang Jian<sup>2</sup>, Shan Li<sup>1</sup> (1. Lung cancer No. 1 Ward, Tumor Hospital affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang, China; 2. Medical Team of 69260 Troops, Chinese People's Liberation Army, Urumqi 830002, Xinjiang, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of Neuritin in non-small lung cancer-vascular endothelial cells (NSCLC-VECs) and its potential role in the development of vessels in non-small lung cancer. **Methods:** We have cultivated and identified NSCLC-VECs and human pulmonary microvascular endothelial cells (HPMEC) by using anti-Factor VIII and CD34 antibodies. The expression of neuritin in these cells were examined through RT-PCR and immunoblotting. **Results:** After pressurized filtration, we obtained stably passaged NSCLC-VECs and HPMECs, which express endothelial cells specific markers Factor VIII and CD34. The level of neuritin mRNA in NSCLC-VECs is significantly higher than that of HPMEC [ $(0.95 \pm 0.09)$  vs  $(0.64 \pm 0.05)$ ,  $P < 0.05$ ]. At protein level, neuritin expression in NSCLC-VECs is more than 4-fold higher than that in HPMEC [ $(1.15 \pm 0.11)$  vs  $(0.27 \pm 0.14)$ ,  $P < 0.05$ ]. **Conclusion:** Neuritin is overexpressed in human NSCLC-VECs and may contribute to tumor angiogenesis. The differential expression also suggests that neuritin is a potential therapeutic target for non-small cell lung cancer.

**[Keywords]** neuritin; human non-small lung cancer; vascular endothelial cells; tumor angiogenesis

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(3): 326-330]

Neuritin, 又称为长期可塑性基因 15 (CPG15), 是 1993 年由 Nedivi 等<sup>[1]</sup>从鼠海马 cDNA 文库中筛选和鉴定发现的, 之前的研究多集中在如神经元的存活<sup>[2]</sup>、凋亡<sup>[3]</sup>、神经祖细胞的分化、移形以及突触回路的形成<sup>[4-5]</sup>等神经生理的相关研究中。随着研究的深入, 发现 Neuritin 在多种实体肿瘤组织中表达升高<sup>[6-7]</sup>, 在缺氧条件的血管内皮细胞及部分胚胎期血管内皮细胞中表达上调<sup>[8]</sup>, 但在成人实体瘤血

管内皮细胞及相应正常组织血管内皮细胞中的表达

**[基金项目]** 新疆医科大学科研创新基金(No. XJC201159)。Project supported by Scientific Research Innovation Fund of Xinjiang Medical University(No. XJC201159)

**[作者简介]** 张峤(1983 - ), 女, 新疆乌鲁木齐市人, 硕士, 主治医师, 主要从事肺癌的基础及临床研究, E-mail: 962923466@qq.com

**[通信作者]** 单莉(Shan Li, corresponding author), E-mail: teen825@sohu.com

情况不详。同时 Neuritin 蛋白是 Notch 信号途径的负向调节因子<sup>[9-10]</sup>,而 Notch 信号途径在多个血管生成研究中尤其是小鼠实体瘤的研究中显示出与血管的萌发、密度增大,尖端细胞选择密切相关。推测 Neuritin 可能与肿瘤血管发生相关,是肿瘤血管发生的一个调节因子。

本研究在前期研究的基础上,通过细胞培养技术分别培养、鉴定人非小细胞肺癌血管内皮细胞(non-small lung cancer-vascular endothelial cells, NSCLC-VECs)及人肺微血管内皮细胞株(human pulmonary microvascular endothelial cells, HPMECs),应用 RT-PCR 及 Western blotting 技术从基因及蛋白水平检测人 NSCLC-VEC 中 Neuritin 的表达水平,初步探讨 Neuritin 与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancers, NSCLCs)血管发生的关系,为后续 Neuritin 作用机制的研究提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本、细胞株及主要试剂

NSCLC 大体标本由新疆医科大学附属肿瘤医院提供,HPMEC 细胞株购自 ATCC 公司。胎牛血清购自美国 Gibco 公司。IV 胶原酶与胰蛋白酶购自美国 Sigma 公司,Factor VIII 抗体购自英国 Abcam 公司,CD34 抗体与二抗、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔 IgG-HRP 抗体、兔抗人 GAPDH 多克隆抗体均购自天津赛尔生物技术有限公司,PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司,TIRzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司,逆转录试剂盒购自美国 Promega 公司,人 Neuritin 单克隆抗体为美国 RD 公司产品,PCR 引物由北京华大基因公司合成。

### 1.2 细胞培养与传代

NSCLC 组织无菌取材后迅速放入 4 ℃ 预冷的 F12 培养液中,低温保存带至细胞培养室。无菌条件下取出肺癌组织,用预冷的 PBS 液反复冲洗,玻璃匀浆器研磨后,无菌 200 目钢筛网过滤,收集网上沉淀,放入培养瓶中,加入 0.2% 胰蛋白酶 15 ml,常温下消化 90 min;无菌 200 目钢筛网过滤组织悬液,收集网上沉淀,0.5% 胶原酶 37 ℃ 消化 90 min,无菌 500 目钢筛网过滤,最大程度保留血管膜层;挑出血管薄膜样组织块,置入适量含医用肝素 100 U/ml、20% 胎牛血清的 F12 培养液的培养皿内,保持组织块刚好与培养皿底部接触,放入 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱内培养。每 2~3 d 更换培养液,并用倒置显微镜观察 NSCLC-VECs 的生长并传代。HPMEC 细胞经含 20% 胎牛血清的 F12 培养基进行培养,待生长至

70% 细胞密度后传代。

### 1.3 免疫荧光染色观察 NSCLC-VECs 及 HPMEC 的细胞形态

将 NSCLC-VECs 及 HPMECs 接种于 6 孔板中,磷酸盐缓冲液冲洗 3 次后 4% 多聚甲醛固定 10 min。用 0.5% triton 透膜 15 min。5% 羊血清封闭 30 min,去除液体后加入 Factor VIII 抗体及 CD34 抗体 4 ℃ 过夜(1:200)。次日 FITC 标记二抗(1:500)室温避光孵育 1 h。5 μl/ml 的 DAPI 套染细胞核,PBS 清洗 3 次,每次 5 min。抗淬灭封片剂封片,在激光共聚焦显微镜下进行观察。

### 1.4 RT-PCR 检测 NSCLC-VECs 及 HPMECs 中 Neuritin mRNA 的表达水平

选择稳定传代的 NSCLC-VECs 及 HPMEC 细胞,利用 TRIzol 法抽提细胞总 RNA,分别以上述总 RNA 5 μg 为模板,以 Neuritin 基因引物序列及 GAPDH 引物序列进行 RT-PCR。Neuritin 基因引物序列如下:Neuritin-F, 5'-CTCTCTGTGCTGCTGATG-GAGG-3'; Neuritin-R, 5'-TTGAGCAAACAGTCCGA AAAGC-3'。GAPDH 为内参照,引物序列如下:GAPDH-F, 5'-GCCACATCGCTCAGACACCATG-3'; GAPDH-R, 5'-TGTGGTCATGATCCTTCCACG-3'。RT 反应:94 ℃ 4 min,1 个循环。PCR 反应:94 ℃ 30 s, 58 ℃ 1 min,72 ℃ 40 s,30 个循环。待反应完毕,PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,在凝胶成像系统中拍照分析。实验重复 3 次。

### 1.5 Western blotting 检测 NSCLC-VECs 及 HPMECs 中 Neuritin 蛋白的表达

100 μl RIPA 细胞裂解液提取细胞总蛋白,采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。每孔加 30 μg 等量蛋白,电泳,将电泳分离后的蛋白电转至硝酸纤维素膜上,5% 封闭液封闭 1.5 h,以 Neuritin 抗体(1:300)和 GAPDH 抗体(1:1 000)4 ℃ 孵育过夜。以兔抗鼠 IgG-HRP 二抗(1:2 000)室温孵育 2 h,充分洗涤后显影观察,使用 Image-pro 软件对条带进行灰度分析,计算其与 GAPDH 的比值。实验重复 3 次。

### 1.6 统计学处理

采用 SPSS16.0 统计软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NSCLC-VECs 及 HPMECs 的鉴定结果

经加压筛选稳定传代的 NSCLC-VECs 呈短梭型,胞体大,折光性强,少数可见多边形及三角形。

HPMECs 细胞呈三角形,单层细胞呈“铺路石样”排列。免疫荧光染色激光共聚焦显微镜观察结果(图 1)显示,内皮细胞特异性标记物 Factor VIII 抗体

及 CD34 抗体表达于细胞膜,呈绿色荧光;DAPI 表达于细胞核,呈蓝色荧光。

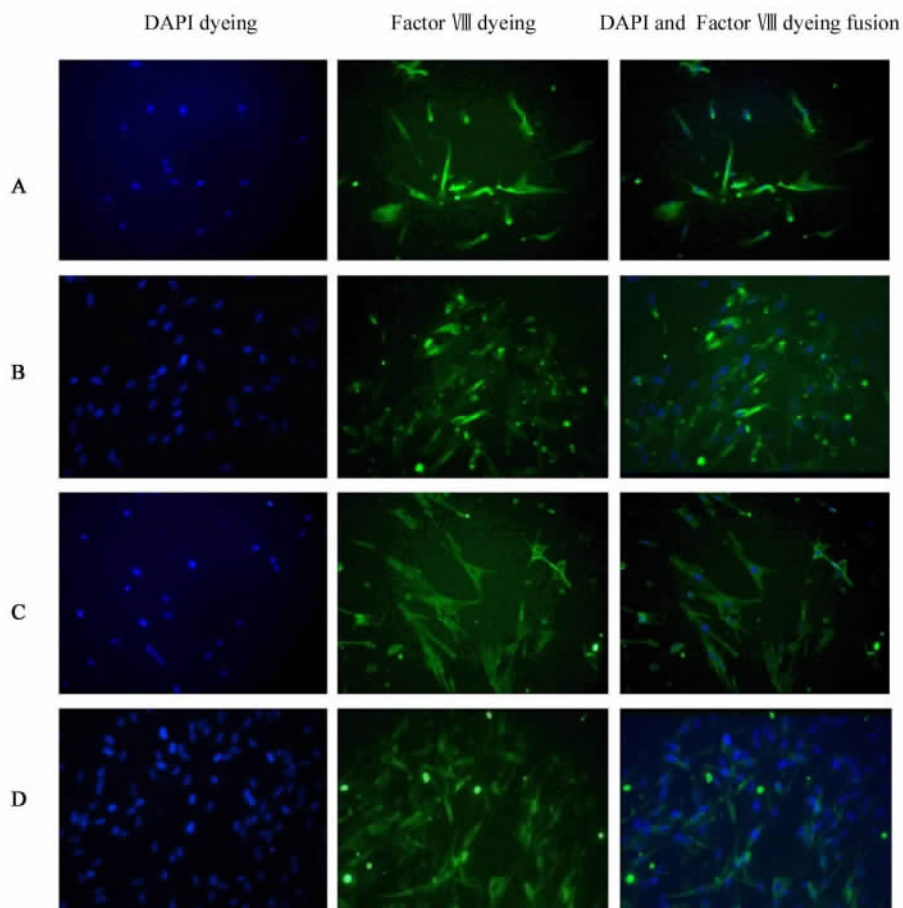


图 1 激光共聚焦观察 Factor VIII、CD34 在 NSCLC-VECs 与 HPMECs 中的表达情况( ×400 )

Fig. 1 Observing expressions of Factor VIII and CD34 in NSCLC-VECs and HPMECs under laser scanning confocal microscope ( ×400 )

A: Expression of Factor VIII in NSCLC-VECs; B: Expression of Factor VIII in HPMECs; C: Expression of CD34 in NSCLC-VECs; D: Expression of CD34 in HPMECs

### 2.2 Neuritin mRNA 在 NSCLC-VECs 中表达明显高于 HPMECs

RT-PCR 检测结果(图 2)显示:RNA 28S、18S 和 5S 三条带中 28S 与 18S 的亮度和宽度比约为 2:1。纯度测定  $D_{260}/D_{280}$  比值为 1.9 ~ 2.0, 表示 RNA 抽提完整、无降解、无蛋白质污染(图 2)。NSCLC-VECs 及 HPMECs 的 RT-PCR 产物在 500 bp 左右出现特异性条带,与 Neuritin 片段大小相符,NSCLC-VECs 中 Neuritin mRNA 的表达水平显著高于 HPMECs [  $(0.95 \pm 0.09C) vs (0.64 \pm 0.05)$ ,  $P < 0.05$  ]。

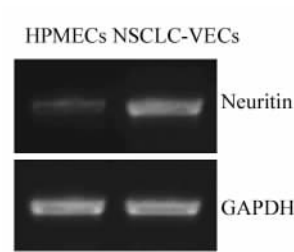


图 2 RT-PCR 检测 Neuritin mRNA 在 HPMECs 及 NSCLC-VECs 中的表达情况

Fig. 2 Expression of Neuritin mRNA in HPMECs and NSCLC-VECs by RT-PCR

### 2.3 Neuritin 蛋白在 NSCLC-VECs 中表达明显高于 HPMECs

Western blotting 检测结果(图3)显示: Neuritin 蛋白在 NSCLC-VECs 中的表达的水平明显高于 HPMECs[ $(1.15 \pm 0.11)$  vs  $(0.27 \pm 0.14)$ ,  $P < 0.05$ ]。

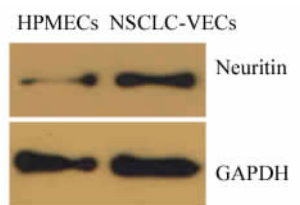


图3 Western blotting 检测 Neuritin 蛋白在 HPMECs 及 NSCLC-VECs 中的表达情况  
Fig.3 Expression of Neuritin in HPMECs and NSCLC-VECs by Western blotting

## 3 讨论

肿瘤血管形成是肿瘤发生、浸润和转移的重要条件<sup>[12]</sup>。在肿瘤微环境的作用下,肿瘤血管内皮细胞与正常组织中的内皮细胞在基因表达、生物学行为上均具有明显的差异<sup>[13]</sup>。

既往 Neuritin 相关研究显示,Neuritin 蛋白在肺癌<sup>[6]</sup>、结肠癌、前列腺癌、成肾细胞瘤及成胶质细胞瘤<sup>[7]</sup>等多种实体肿瘤组织中表达升高,缺氧可诱导 Neuritin 在人脐静脉内皮细胞(HUVEC)和人真皮微血管内皮细胞(HMEC-1)中表达上调<sup>[8]</sup>。体外实验显示<sup>[14]</sup>,Neuritin 过表达的 HUVEC 较对照组在细胞增殖及迁移上无明显变化,但体内实验则可见在裸鼠皮下移植人 SMMC-7721 肝癌细胞后,瘤体内血管数量较对照组明显增多但瘤体体积缩小。目前已知的血管调控因子有 VEGFs、bEGF、TGF $\beta$ -1、PLGF 等<sup>[18-20]</sup>。Neuritin 是 Notch 信号途径的一个调控因子,在 293T 细胞中,Neuritin 蛋白对 Notch 信号途径具有抑制作用<sup>[9-11]</sup>。在小鼠视网膜血管、斑马鱼胚胎血管发育<sup>[8,13,15]</sup>及小鼠实体瘤<sup>[17-18]</sup>等多个实验系统的研究中均显示,抑制 Notch 信号途径可以导致血管尖端细胞数量增加,血管萌发增多、密度增大但功能不良;相反若激活 Notch 信号途径则可以抑制过多尖端细胞的出现,维护血管正常分支及动静脉分化。

由于目前无成熟的肺癌血管内皮细胞株,本研究应用原代细胞培养技术培养并加压筛选稳定传代 NSCLC-VECs,选择同为肺组织微血管内皮的

HPMEC 作为对照组,通过内皮细胞特异性标记物 Factor VIII 及 CD34 对其进行验证,实验获得了高纯度并较为稳定的 NSCLC-VECs。由于肿瘤血管内皮细胞的特点及肿瘤微环境的作用相信其在分子标志物的表达上应与正常血管内皮细胞有差异。本研究发现 NSCLC-VECs 中 Neuritin 无论是在基因还是蛋白水平的表达均显著高于 HPMEC,这与部分体外模拟肿瘤微环境的研究结果相似,但其表达上调是否与已知的血管调控因子 VEGFs、bEGF 有协同作用还需进一步实验验证。但由于 Neuritin 蛋白是 Notch 信号途径的抑制因子,其在肿瘤血管内皮细胞中表达上调可能导致在肿瘤生长过程中表现为血管萌发增多、密度增大但细胞形态异常、无功能或差功能血管数量增多,从而导致组织间流体静压力的增高,血流紊乱,酸性物质堆积,进而出现肿瘤组织血流灌注欠佳,组织缺氧,阻碍药物输送及扩散等。该种种情况与肿瘤血管形态学研究及临床表现相吻合,因此推测 Neuritin 是一个潜在的肿瘤血管调控因子。

综上所述,在 NSCLC-VECs 与 HPMEC 细胞中检测到 Neuritin 表达差异提示了 Neuritin 与肿瘤血管发生相关,是一个潜在的肿瘤血管调节因子,有可能成为一个潜在的抗肿瘤血管治疗靶点,但其具体作用机制有待进一步研究。

## [参考文献]

- [1] Nedivi E, Hevroni D, Naot D, et al. Numerous candidate plasticity-related genes revealed by differential cDNA cloning [J]. Nature, 1993, 363(6431): 718-722.
- [2] Fujino T, Wu Z, Lin WC, et al. Cpg15 and Cpg15-2 constitute a family of activity-regulated ligands expressed differentially in the nervous system to promote neurite growth and neuronal survival [J]. J Comp Neurol, 2008, 507(5): 1831-1845.
- [3] Putz U, Harwell C, Nedivi E. Soluble CPG15 expressed during early development rescues cortical progenitors from apoptosis [J]. Nat Neurosci, 2005, 8(3): 322-331.
- [4] Fujino T, Leslie JH, Eavri R, et al. CPG15 regulates synapse stability in the developing and adult brain [J]. Genes Dev, 2011, 25(24): 2674-2685.
- [5] Son H, Banasr M, Choi M, et al. Neuritin produces antidepressant actions and blocks the neuronal and behavioral deficits caused by chronic stress [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(28): 11378-11383.
- [6] Raggio C, Ruhl R, McAllister S, et al. Novel cellular genes essential for transformation of endothelial cells by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus [J]. Cancer Res, 2005, 65(12): 5084-5095.
- [7] 巴鹏飞,赵瑾,李新丽,等. Neuritin 基因在肺癌及正常肺组织中表达的检测 [J]. 农垦医学, 2007, 4(29): 219-222.
- [8] Le Jan S, Le Meur N, Cazes A, et al. Characterization of the ex-

- pression of the hypoxia-induced genes neuritin, TXNIP and IGFBP3 in cancer [ J ]. FEBS Lett, 2006, 580( 14 ): 3395-3400.
- [ 9 ] 郭正. Neuritin 对 Neuralized 介导的 Notch 信号途径的影响 [ D ]. 石河子: 石河子大学医学院, 2009.
- [ 10 ] 钟晨. Neuritin 对 Neuralized 介导的 Notch 信号途径配体 JAG1 泛素化的影响 [ D ]. 石河子: 石河子大学医学院, 2011.
- [ 11 ] 张峤. 应用 RNA 干扰技术研究 Neuritin 对 Neuralized 介导的 Notch 信号途径的影响 [ D ]. 石河子: 石河子大学医学院, 2010.
- [ 12 ] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases [ J ]. Nature, 2000, 407( 6801 ): 249-257.
- [ 13 ] Siekmann AF, Lawson ND. Notch signalling limits angiogenic cell behaviour in developing zebrafish arteries [ J ]. Nature, 2007, 445 ( 7129 ): 781-784.
- [ 14 ] Han Dingding, Qin Bo, Liu Guoqing. Characterization of neuritin as a novel angiogenic factor [ J ]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 415( 4 ): 608-612.
- [ 15 ] Leslie JD, Ariza-McNaughton L, Bermange AL, et al. Endothelial signaling by the Notch ligand delta-like 4 restricts angiogenesis [ J ]. Development, 2007, 134( 5 ): 839-844.
- [ 16 ] Noguera-Troise I, Daly C, Papadopoulos NJ, et al. Blockade of Dll4 inhibits tumour growth by promoting non-productive angiogenesis [ J ]. Nature, 2006, 444 ( 7122 ): 1032-1037.
- [ 17 ] Ridgway J, Zhang G, Wu Y, et al. Inhibition of Dll4 signalling inhibits tumour growth by deregulating angiogenesis [ J ]. Nature, 2006, 444 ( 7122 ): 1083-1087.
- [ 18 ] Gerhardt H, Golding M, Fruttiger M, et al. VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia [ J ]. J Cell Biol, 2003, 161( 6 ): 1163-1177.
- [ 19 ] Tammela T, Zarkada G, Wallgard E, et al. Blocking VEGFR-3 suppresses angiogenic sprouting and vascular network formation [ J ]. Nature, 2008, 454( 7204 ): 656-660.
- [ 20 ] Jakobsson L, Bentley K, Gerhardt H. VEGFs and Notch: A dynamic collaboration in vascular patterning [ J ]. Biochem Soc Trans, 2009, 37( Pt 6 ): 1233-1236.
- [ 收稿日期 ] 2015 - 02 - 23 [ 修回日期 ] 2015 - 05 - 07
- [ 本文编辑 ] 阮芳铭

· 科技动态 ·

## m<sup>6</sup>A 修饰参与调控初级 microRNA 的加工剪切

m<sup>6</sup>A 修饰广泛存在于高等真核生物的 RNA 上,特别是存在于 mRNA 的 CDS 区、3'-UTR 区及终止密码子附近区域,其广泛参与了 RNA 代谢的各种生物学过程,包括 RNA 剪接、RNA 出核、RNA 与蛋白相互作用和 RNA 降解等。

MicroRNA ( miRNA ) 成熟的第一步就是由加工复合体 ( RNA 结合蛋白 DGCR8 和 RNA 酶 DROSHA ) 介导的初级 miRNA 的剪切。该剪切过程首先需要 DGCR8 识别初级 miRNA 发夹结构中的单链 RNA,从而招募 DROSHA 酶将双链 RNA 剪切成前体 miRNA。虽然初级 miRNA 剪切加工的机制已经很明确,但 DGCR8 特异性识别并结合初级 miRNA ( 而不是转录子中的其他二级结构 ) 的机制尚不清楚。笔者首先通过信息学分析发现,初级 miRNA 上存在 m<sup>6</sup>A 修饰的保守序列 GGAC,而前体 miRNA 上却不存在该序列,通过 m<sup>6</sup>A 抗体免疫共沉淀测序实验证实初级 miRNA 的近端确实存在 m<sup>6</sup>A 修饰,而这种修饰是由 m<sup>6</sup>A 甲基化转移酶 METTL3 所介导的,并且该修饰存在于 100 多种物种中均保守的初级 miRNA 上。在乳腺癌细胞系中干扰 METTL3 后,发现绝大部分成熟的 miRNA 表达量显著降低,由于累积效应,相应的初级 miRNA 表达却显著升高,提示 METTL3 是初级 miRNA 有效剪切加工所必需的。为证明 m<sup>6</sup>A 修饰在初级 miRNA 中的直接作用,笔者通过体外剪切实验证实,发生了 m<sup>6</sup>A 修饰的体外转录的初级 miRNA 剪切效率明显高于没有发生 m<sup>6</sup>A 修饰的初级 miRNA。当初级 miRNA 上的 m<sup>6</sup>A 修饰位点突变后,其剪切效率明显降低,表明初级 miRNA 上的 m<sup>6</sup>A 修饰对其剪切加工非常重要。

随后笔者对 m<sup>6</sup>A 修饰影响初级 miRNA 剪切加工的机制做了进一步的探讨,发现 METTL3 能与 DGCR8 结合,该结合依赖 RNA 的存在。进一步研究发现, DGCR8 在体内能与发生了 m<sup>6</sup>A 修饰的初级 miRNA 结合,当干扰了 METTL3 后, DGCR8 结合的初级 miRNA 的量就显著减少,而 DGCR8 却不能特异性地识别 m<sup>6</sup>A 修饰,表明 DGCR8 是通过一种未知的 m<sup>6</sup>A 结合蛋白来特异性识别 m<sup>6</sup>A 修饰的初级 miRNA。

综上,笔者研究发现了 m<sup>6</sup>A 修饰是 miRNA 剪切加工过程中非常关键的转录后修饰。当 METTL3 对基因间或基因内的初级 miRNA 发生 m<sup>6</sup>A 修饰后,该修饰能被某未知的 m<sup>6</sup>A 结合蛋白特异性地识别,从而招募加工复合体 ( DGCR8 和 DROSHA ) 结合到初级 miRNA 的特异性位点,避免复合体错误地结合到其他相似的 RNA 二级结构上,从而正确起始初级 miRNA 的剪切加工。但该过程中特异识别 m<sup>6</sup>A 修饰的蛋白还未知,而如何在细胞核或细胞质中发现并鉴定特异性识别 m<sup>6</sup>A 修饰的蛋白仍然是这个领域研究的重点和难点。

[ 郑青亮 摘译, 侯晋 审阅. Alarcon CR, H Lee, Goodarzi H, et al. Nature, 2015, 519( 7544 ): 482-485. ]