

文章编号:1674-7054(2011)02-0187-06

# 植物内源小 RNA 及其介导的基因沉默途径

彭 军,黄俊生

(中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所;农业部热带农林有害生物入侵监测与控制重点开放实验室,  
海南 儋州 571737)

**摘 要:** 阐述了植物内源小 RNA 的种类及其介导的多种 RNA 基因沉默途径, RNA 沉默途径中的主要效应蛋白及复合物的组成和功能, 重点介绍了 miRNA 介导的基因沉默途径和 siRNA 介导的基因沉默途径的异同及其功能, 为便于了解植物基因表达调控的多层次性和复杂性, 进一步挖掘和利用植物内源信号途径提供一定的参考。

**关键词:** 植物小 RNA; 多样性; 基因沉默**中图分类号:** Q 78 **文献标志码:** A

RNA 沉默是指由 21~30 nt 小分子 RNA 介导的以序列特异性方式抑制靶标基因表达的现象, 这种抑制可发生在转录水平上或在翻译水平上, 同时影响 mRNA 的稳定性, 其特点是从双链 RNA (double-strand RNA, dsRNA) 前体上产生 21~24 nt 的非编码小 RNA 对基因进行调控和表达<sup>[1,2]</sup>。植物小 RNA 是一种负调控因子, 根据序列的特异性在转录水平上调控基因表达、DNA 和组蛋白的甲基化以及抵抗外源遗传因子(如: 病毒、转座子) 或转基因的入侵。依据小 RNA 的生物合成特点, 植物小 RNA 主要分为两类: 植物小干扰 RNA (siRNA, small/short interfering RNA) 和微 RNA (miRNA, microRNA), 二者长度为 20~25 nt, 均由类似 RNase III 的核酸内切酶 Dicer (或 Dicer 类似蛋白) 加工产生。它们的形成既有联系又有区别, siRNA 形成途径是由 dsRNA 引发的, 而 miRNA 形成途径是由内源性 hpRNA 诱导的。siRNA 和 miRNA 都由 DCL (或 Dicer 类似蛋白) 剪切形成, 两者均通过与 mRNA 互补的链结合形成 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-Induced Silencing Complex, RISC)。RISC 指导靶 mRNA 的特异性降解。目前, 在植物中发现多种小 RNA 介导的基因沉默途径, 不同的小 RNA 的生物发生和基因沉默途径不同, 在植物中的功能各异<sup>[3]</sup>。

目前的研究结果发现, 从低等的单细胞酵母和绿藻到高等的植物和动物, RNA 沉默途径中均存在一系列在进化和功能上保守的效应蛋白及其复合物, 比如 Dicer, Argonaute (AGO), 依赖 RNA 的 RNA 聚合酶 (RDR) 等<sup>[2]</sup>。但并不是所有的生物都存在内源基因沉默机制, 比如出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 就是目前已知的缺乏内源基因沉默机制的少数几个生物之一<sup>[4]</sup>。笔者对目前在植物上发现的小 RNA 种类及 4 种主要生物发生途径和其介导的基因沉默途径进行了阐述, 为加深对植物小 RNA 的调控的复杂性和层次性的了解, 为小 RNA 在植物抗感病, 特别是在植物与病毒互作关系的研究上提供一定的参考。

## 1 植物小 RNA 的种类

**1.1 microRNA** microRNA (或 miRNA) 是由 III 型 RNase Dicer 从含有茎环结构的内源转录本中切割产生的一种长度为 20~24 nt 的单链小分子 RNA。miRNA 广泛分布于植物基因组中, 在基因组上通常具有独立的基因座位 (locus), 其转录产物自身折叠成不完全配对的发卡结构 (hairpin)。miRNA 与靶基因绝

收稿日期: 2011-03-10

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费支持

作者简介: 彭军 (1978-), 男, 湖北天门人, 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所助理研究员。

通信作者: 黄俊生, 研究员, 主要从事热带作物生物技术。E-mail: H888111@126.com; 0898-23300187

大多数情况下是以不完全互补的方式起作用<sup>[5]</sup>。

**1.2 siRNA** siRNA来自长的完全互补的双链RNA,如病毒RNA,反向重复序列或由依赖于RNA的RNA聚合酶(*RDR*, RNA dependent RNA polymerase)合成的dsRNA。在拟南芥中siRNA可以分成反式作用siRNA、内源顺反转录本siRNA、异染色质siRNA,它们的RNA沉默途径各异。

**1.2.1 反式作用 siRNA** 反式作用siRNA(trans-acting siRNAs, ta-siRNA)是由内源TAS转录本产生,其生物发生途径将miRNA和siRNA的生物途径有机融合,产生级联ta-siRNA,主要参与叶片上轴极性发育<sup>[6-7]</sup>。

**1.2.2 内源顺反转录本 siRNA** 内源顺反转录本siRNA(natural cis-antisense siRNAs, nat-siRNA)是来源于一对天然反向互补重叠转录本,产生24 nt的初级nat-siRNA和21 nt的次级nat-siRNA,主要调节植物在胁迫下的适应性<sup>[8]</sup>。

**1.2.3 异染色质 siRNA** 异染色质siRNA(Heterochromatic siRNAs, hc-siRNA)主要是由植物的重复序列产生,长度为24 nt,参与植物表观遗传学<sup>[9-11]</sup>。

## 2 RNA沉默途径中的主要效应蛋白及复合物

**2.1 Dicer** 植物DCL核酸内切酶Dicer是RNase III家族蛋白中的一个典型成员,含有1~2个结合dsRNA的结构域、一个螺旋结构域、一个催化结构域和一个PAZ结构域,具有将长链dsRNA分子裂解成长度约21 nt的siRNA的能力。DCL家族蛋白在进化上非常保守,从线虫到果蝇、从植物(拟南芥、烟草)再到哺乳动物体内都发现有DCL家族蛋白存在,且它们都能识别dsRNA,还可将dsRNA降解成相似大小的siRNA;DCL家族蛋白在RNA沉默途径中起着关键作用<sup>[12-13]</sup>。Dicer在降解dsRNA分子的过程中,首先形成二聚体,由此形成了4个复合的活性中心,在对dsRNA起作用时,4个活性中心中的2个将失活,从而使降解过程按一定位置间隔进行,这个间隔正好为22个核苷酸,即每隔22个核苷酸,Dicer将dsRNA降解1次。但Dicer结构的微小改变会引起催化中心间隔距离的改变,所以不同物种所产生的siRNA长度也会略有差异<sup>[14]</sup>。

**2.2 AGO蛋白(Argonaute protein)** 由Dicer切割产生的21~26 nt siRNA解链后,伴随siRNA链被降解,指导siRNA链进入核酸酶复合体RISC,并引导RISC降解与siRNA自身序列互补的单链靶标mRNA,在动物中,siRNA-RISC主要造成靶标RNA翻译的阻遏<sup>[15]</sup>。RISC是一个多组分的蛋白复合体,具有核酸外切酶、核酸内切酶、解旋酶的活性和寻找同源序列的活性,其主要组分是AGO蛋白。AGO蛋白的主要结构域包括N端结构域、PAZ结构域、Mid结构域和PIWI结构域。PAZ结构域不仅在AGO蛋白中存在,而且也存在于Dicer蛋白中,如:果蝇的AGO-2与Dicer共用了AGO-2的PAZ结构域,由此推测通过AGO-2与Dicer之间的相互作用,将Dicer切割产生的siRNA由AGO-2运送到RISC复合物,进而引起目标基因的降解<sup>[16]</sup>。AGO蛋白的PAZ结构域又可以分为2个亚结构域,其中之一具有寡核苷酸结合活性。PAZ结构域的一个显著特征是具有与siRNA结合的活性,能够识别单链RNA的3'末端,由于siRNA和miRNA双链3'末端具有2个突出的核苷酸,因此PAZ结构域能够通过结合3'末端突出的核苷酸将这些小RNA与其它随机降解的RNA区分开来<sup>[17]</sup>。

**2.2.1 HEN1** 拟南芥HEN1蛋白是一种甲基转移酶,它能够特异识别siRNA/siRNA\*以及miRNA/miRNA\*双链3'末端突出的2个核苷酸,对尿嘧啶的2' OH基团进行甲基化,从而保护miRNA以及siRNA免受核酸酶的降解<sup>[18-19]</sup>。

**2.2.2 SGS3** 基因沉默抑制子(Suppressor of gene silencing, SGS3)是生物体内普遍存在的一类与dsRNA结合的蛋白,能识别miRNA切割后产生的具有5'端碱基突出的粘性末端dsRNA。其和RDR一起作用,可将单链RNA转换成dsRNA,在DCL或DCL-like蛋白的作用下产生反式siRNA<sup>[20]</sup>。

**2.2.3 Pol IV** RNA依赖的RNA聚合酶(RDR)在RNA沉默中起重要作用,在病毒侵入植物后其活性明显提高。拟南芥中存在6种RDR(*RDR1*~*RDR6*),能以单链DNA(ssDNA)、单链RNA(ssRNA)及dsRNA为模板,合成互补RNA(cRNA)<sup>[7]</sup>。RNA聚合酶IV(Pol IV)目前仅仅在植物的细胞核中有发现,其具有引物/非引物依赖的聚合酶特性和末端核苷转移酶活性,但不能识别mRNA的5'帽子和3'Poly(A)尾;其存

在 *Pol IVa* 或 *Pol IVb* 两种形式<sup>[21]</sup>。

### 3 小 RNA 介导的基因沉默途径的多样性

**3.1 miRNAs 介导的 RNA 沉默** 目前, miRNA 的生物发生和运输加工途径是研究比较透彻的一个基因沉默途径, 它是一个非常复杂的过程, 需要多个步骤、多个蛋白效应物和酶的参与, 经过从细胞核到细胞质的运输和加工才形成成熟的有功能的 miRNA<sup>[5]</sup>。

**3.1.1 miRNA 的生物发生及运输** miRNA 加工的中心步骤是 Dicer( RNase-III like) 对 pri-miRNA 的精确剪切。拟南芥有 4 个 Dicer 基因, 分别是 *DCL1*、*DCL2*、*DCL3*、*DCL4* (或 Dicer-like), 但只有 *DCL1* 是 miRNA 加工所必须的。在植物中 *DCL1* 直接参与了 pr-miRNA 和 pre-miRNA 两步的加工过程并释放出双链 miRNA-miRNA\* 双联体( duplex), 而此过程在动物中则分别由 Drosha 和 Dicer 2 个蛋白来完成<sup>[5]</sup>。已发现的 pre-miRNA 前体的颈环结构的颈部均长于 21 nt, 但 *DCL1* 可以在特异位点上精确剪切 pri-miRNA, 产生特异的 miRNA 序列(即成熟 miRNA); 这种识别机制目前还是一个谜, 目前已经证明 pri-miRNA 的二级结构会影响 *DCL1* 的识别和剪切过程, 且认为是在 miRNA-miRNA\* 双联体序列的下面大约 15 nt 的结构影响 miRNA 前体的加工和 miRNA 的成熟<sup>[22-24]</sup>。*HYL1* (*HYPONASTIC LEAVES1*) 和 *HEN1* (*HUA ENHANCER*) 在 miRNA 的成熟过程中也起重要作用, *HYL1* 参与 pri-miRNA 的识别和加工过程, 与 *DCL1* 起协同作用; *HEN1* 具有甲基转移酶的结构域, 可在体外甲基化 miRNA-miRNA\* 双链, 同时 miRNA 的 3' 末端甲基化可以稳定 miRNA。大多数甲基化的 miRNA-miRNA\* 在转运蛋白 *HST1* (*HASTY1*) 的帮助下可从细胞核转移到细胞质中<sup>[25-26]</sup>。

**3.1.2 miRNA 进入 RNA 诱导的沉默复合体(RISC)** 从 pri-miRNA 发卡结构( hairpin) 加工而来的 miRNA-miRNA\* 是双链 RNA, 其双链分别称为指导链和伴随链( guide and passenger strands)。与 miRNA\* 的 5' 端相比, miRNA 的 5' 端的配对更不稳定, 可能正是这种特点导致了 miRNA 最终进入 RISC 复合体, 而 miRNA\* 被排除在 RISC 外而被降解。目前对 *DCL1* 和 *HYL1* 在 miRNA-RISC 装配过程中是否起作用以及 RISC 的装配是发生在核里还是细胞质里仍有疑问, 但可以确定的是 miRNA/siRNA 生物合成的最终产物是以成熟的单链 RNA 形式进入沉默复合体<sup>[18, 21]</sup>。

**3.1.3 miRNAs 的作用机制** 在 RISC 复合体中, miRNA 与目标 mRNA 结合, 通过完全配对或者近完全配对切割 mRNA 并随后降解, 这种基因的沉默机制称为转录后基因沉默( PTGS)。动物 miRNA 通常与目标基因的多个识别位点进行不完全配对, 从而阻止核糖体在 mRNA 上的移动抑制基因的表达。目前, 在植物上也发现类似的翻译抑制调控机制, 但是植物 miRNA 仅存在唯一对应的靶标基因, 而且其结合位点不一定在 3'-UTR, 而可能在基因的任何地方, 这暗示植物具有更加精确和复杂的调控机制, 目前提出植物的 microRNA 的 15 个碱基原则, 即在植物 miRNA - miRNA\* 序列下方大约 15 nt 的碱基对 miRNA 的加工至关重要, 植物 miRNA 通过 2 种方式在 RNA 水平上调控基因表达, 不仅可以通过抑制 mRNA 的翻译来抑制目标基因的表达, 还可以直接切割目标 mRNA<sup>[22-24]</sup>。

**3.2 反式作用 siRNA 介导的基因沉默** 反式作用 siRNA( trans-acting siRNAs, ta-siRNAs) 的生物发生途径比较特殊, 它既需要 miRNA 切割, 也需要 siRNA 的生物发生途径, 是 miRNA 和 siRNA 两种途径共同作用产生的一类具有调控作用的 siRNA。目前, 在拟南芥中发现了 4 个 ta-siRNA 家族共 8 个 *TAS* 转录本<sup>[6-8]</sup>。

**3.2.1 ta-siRNA 的生物发生途径** ta-siRNA 的生物发生是由 miRNA 起始的, miRNA 首先切割由 *Pol II* 转录产生的非编码单链转录本 *TAS* 产生切点, 然后进入经 *RDR6*/*SGS3* 途径将单链 RNA 转换成的 dsRNA 后, 再被 *DCL4* 按照 21 nt 的梯度加工成级联发生的 ta-siRNA, 一般产生 8 个不同的 21 nt 的 ta-siRNAs。ta-siRNA 产生需要 *DCL1*、*AGO1*、*HEN1*、*RDR6* 和 *SGS3* 等蛋白的参与, 其中 *DCL1*、*AGO1* 和 *HEN1* 蛋白是 miRNA 生物合成途径所必需的。ta-siRNA 与 siRNA 的生物发生明显不同的地方是 ta-siRNA 的生物发生不需要 *DCL3* 和 *RDR2* 的参与; ta-siRNA 与 miRNA 的明显不同的地方是 miRNA 不需要 *RDR6* 和 *SGS3* 的参与<sup>[27]</sup>。

目前, 拟南芥中已知存在 4 个 *TAS* 基因家族共 8 个 *TAS* 基因。*TAS1*、*TAS2* 家族由 miR173 引发, *TAS3*

由 miR390 引发, *TAS4* 由 miR828 引发。miR173 在拟南芥中有 4 个靶标基因: *At2g27400*, *At1g50055*, *At2g39675* 和 *At2g39680*, 其中前 3 个靶标基因的靶点 3' 端均能检测到 ta-siR255 的序列, 这 3 个靶标基因与 miR173 的共瞬时表达实验也证实了 ta-siR255 是由这些基因产生, 因此分别被命名为 *TAS1a* (*Trans-Acting siRNA1a*), *TAS1b* 和 *TAS1c*。*At2g39680* 与其他的 ta-siRNA 的产生有关, 因此被命名为 *TAS2*。在这些 *TAS* 家族中, *TAS1*, *TAS2*, *TAS4* 存在拟南芥及其近亲中, 均可在 *TAS* 5' 端产生 1 个切点, 由 5' - 3' 方向产生级联 ta-siRNA, 其功能蛋白是 *AGO1*; *TAS3* 存在于拟南芥以及其他高等植物中, 如苔藓、松树、玉米等植物, 它存在 5' 和 3' 2 个切点, 但是仅仅在 3' 产生有效切点, 由 3' - 5' 方向产生级联 ta-siRNA, 其功能蛋白是 *AGO7* [27-28]。

Allen 等认为 miRNA 介导的对 *TAS* 转录本的剪切产生的 5' 或 3' 剪切切口能够被 *RDR6* 识别, 并在 *SGS3* 的参与下以剪切产物为模板扩增出 dsRNA, dsRNA 经 *DCL* 蛋白加工成 ta-siRNA; 目前, 人们已经证实了拟南芥 *DCL4* 负责将 pri-ta-siRNA 前体 dsRNA 加工成 ta-siRNA [29]。Montgomery 等证明 *AGO7* 和 miR390 是一个功能特异性的复合体, *AGO7* 是 miR390 特异性的切割器 (slicer) [28]。目前在玉米和水稻中均验证了 *TAS3* 途径的功能 [30-32]。

**3.2.2 ta-siRNA 的作用机制** ta-siRNA 与 miRNA 和 siRNA 一样, 均可在转录水平上通过切割转录本调控基因表达。除了这种方式以外, Chen 等研究发现 *TAS2* 产生的 ta-siRNA 可以替代 miR173 切割转录本再次产生 ta-siRNA, 并推测这种 ta-siRNA 的切割产生新的 ta-siRNA 的反应会一直持续下去 [27]。目前, 对于 ta-siRNA 的生物学功能了解比较少, 已发现的几个 ta-siRNA 的靶标包括了 2 种生长素响应因子 (auxin response factor, ARF3, ARF4) 和三角状五肽重复区 (pentatricopeptide repeat, PPR)、MYB 转录因子及其他功能未知的蛋白。在拟南芥、水稻和玉米中, 已经证明 ta-siRNA 主要调控叶片的上轴极性发育, 由此推测在植物中 ta-siRNA 介导的基因沉默机制十分保守 [29]。

**3.3 nat-siRNAs 介导的基因沉默** nat-siRNA (natural antisense siRNAs) 来源于 1 对天然反向互补重叠转录本。在拟南芥 1 对天然的顺式反义转录本中, 1 个转录本为组成型表达, 另一个转录本在盐胁迫条件下可被诱导表达, 这 2 个基因在染色体上的位点相邻, 但方向相反。当 2 个转录本同时存在时, 在 *DCL2*、*Pol IVa*, *RDR6* 和 *SGS3* 的共同作用下, 与诱导转录本互补的长 dsRNA 被切割, 仅形成 1 个 24 nt 的初级 nat-siRNA。此过程还需要 *RDR6*、*SGS3* 和 *NRPD1A* 等蛋白的参与。24 nt 的初级 nat-siRNA 指导 siRNA-RISC 复合物识别和剪切组成型表达转录本, 在 *DCL1* 以及 *RDR6*、*SGS3* 和 *NRPD1A* 等蛋白的作用下产生随后的 21nt nat-siRNA [8]。

由于在拟南芥中存在 2 000 余个像 *P5CDH-SRO5* 这样的 cis-antisense 转录本, 而且在其他物种中也广泛存在, 因此推测这种重叠基因的调控机制在生物中广泛存在 [29]。Nat-siRNA 途径可以看做是植物胁迫时的一种适应机制, 比如, 高盐胁迫时持续表达 *P5CDH* 转录本 (*At5g62530*) 导致脯氨酸的积累以减轻所受到的胁迫; 细菌诱导产生的 nat-siRNA 起到增强寄主抗性, 抑制抗病负调控因子的积累 [30]。

**3.4 异染色质 siRNA 介导的基因沉默** 在植物中, 异染色质 siRNA 含量十分丰富, 大小为 24 nt, 主要由基因组的重复序列如转座子、反转座因子、rDNAs 以及着丝粒重复序列等, 通过 *DCL3-RDR2-HEN1-Pol IV* 生物发生途径形成, 可与 RISC 或 RNA 干扰诱导的转录沉默复合物 (RNAi-induced transcriptional silencing, RITS) 结合, 引发 DNA 甲基化和染色质重塑 (chromatin remodeling) [9-11]。

目前, 普遍认为 *Pol IVa* 在核仁中从转座子或者其他重复序列的基因座中产生单链 RNA 并转移到核仁, 然后在 *RDR2* 的作用下转换成 dsRNA 并随后在核仁加工中心 (nucleolar processing center) 被 *DCL3* 切割产生异染色质 siRNA, *HEN1* 使其甲基化 [9]。随后成熟的 hc-siRNA 可能在卡哈氏体 (Cajal bodies) 中与 RISC 及 *Pol IVb* 形成复合物催化 RNA 介导的 DNA 从头甲基化, 组蛋白 H3K9 甲基化、组蛋白去乙酰化, 驱动异染色质的形成和染色质重塑。这个生物发生模型得到了 deep sequencing 数据等证据的支持 [31]。除了以上 4 种研究有比较清楚的信号通路以外, 还有其他一些信号途径对异染色质 siRNA 介导的 RNA 沉默的途径以及相应的功能研究目前还不太清楚, 如 Katiyar-Agarwal 等在 2007 年发现了一种由病原细菌诱导产生的植物长片段小 RNA, 长度在 30 ~ 40 nt, 在植物抗病中发挥一定的作用 [30]。

## 4 植物小 RNA 的研究展望

植物小 RNA 在植物生长发育中的作用已成为植物生物学研究领域中的热点和新的生长点,大大拓展了人们对生命活动过程的认识,为生物学家提供了新的研究思路和研究方向。随着越来越多的 miRNA 家族的发现和功能的阐明,显示出 miRNA 在生物体内处于基因表达调控的中心位置。miRNA 广泛参与了生物的生长发育进程和器官发育过程中的各个方面。miRNA 是基因进行精细调控(微调)必不可少的重要手段,它可以在不同层次上(转录、转录后、翻译等)对靶基因进行调控。

了解植物内源小 RNA 的种类以及生物发生途径,一方面有利于加深对植物信号传导和调控机理的研究,促进改良植物提高产量和品质,提高植物的抗逆性。另外,挖掘并利用小 RNA 信号途径设计 RNAi 进行基因功能研究也是非常有研究前景的。

### 参考文献:

- [1] ZAMORE P D, HALEY B. Ribo-gnome: the big world of small RNAs[J]. *Science*, 2005, 309: 1519 – 1524.
- [2] CHAPMAN E J, CARRINGTON J C. Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways[J]. *Nat Rev Genet*, 2007( 8): 884 – 896.
- [3] XIE Z X, QI X P. Diverse small RNA-directed silencing pathways in plants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta* 2008, 1779: 720 – 724.
- [4] ANANTHARAMAN V, KOONIN E V, ARAVIND L. Comparative genomics and evolution of proteins involved in RNA metabolism[J], *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 1427 – 1464.
- [5] JONES-RHOADES M W, BARTEL D P, BARTEL B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants[J]. *Annu Rev Plant Biol* 2006( 5/7): 19 – 53.
- [6] VAUCHERET H. Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations[J]. *Genes Dev* 2006, 20: 759 – 771.
- [7] KANNO T, HUETTEL B, METTE M F, et al. A typical RNA polymerase subunits required for RNA-directed DNA methylation[J]. *Nat Genet*, 2005, 37: 761 – 765.
- [8] BORSANI O, ZHU J, VERSLUES P E, et al. Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in Arabidopsis[J]. *Cell*, 2005, 123: 1279 – 1291.
- [9] HAMILTON A, VOINNET O, CHAPPELL L, et al. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing[J]. *EMBO J*, 2002, 21: 4671 – 4679.
- [10] LIPPMAN Z, MARTIENSSEN R. The role of RNA interference in heterochromatic silencing[J]. *Nature*, 2004, 431: 364 – 370.
- [11] KASSCHAU K D, FAHLGREN N, CHAPMAN E J, et al. Genome-wide profiling and analysis of Arabidopsis siRNAs[J]. *PLoS Biology* 2007, 5( 3): 57.
- [12] BERNSTEIN E, CAUDY A A, HAMMOND S M, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference[J]. *Nature*, 2001, 409: 363 – 366.
- [13] SCHAUER S E, JACOBSEN S E, MEINKE D W, et al. DICER-LIKE1: blind men and elephants in Arabidopsis development[J]. *Trends Plant Sci* 2002, 7: 487 – 491.
- [14] MARTINEZ J. Single-stranded antisense siRNAs guide target RNA cleavage in RNAi[J]. *Cell*, 2002, 110( 5): 563 – 574.
- [15] HAMMOND S M, BOETTCHER S, CAUDY A A, et al. Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi[J]. *Science*, 2001, 293: 1146 – 1150.
- [16] PLASTERK R H, KETTING R F. The silence of the genes[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2000, 10( 5): 562 – 567.
- [17] CARMELL M A, XUAN Z, ZHANG M Q, et al. The Argonaute family: tentacles that reach into RNAi, developmental control, stem cell maintenance, and tumorigenesis[J]. *Genes Dev* 2002, 16: 2733 – 2742.
- [18] HORWICH M D, LI C, MATRANGA C, et al. The Drosophila RNA methyltransferase, DmHen1, modifies germline piRNAs and single-stranded siRNAs in RISC[J]. *Curr Biol*, 2007, 17: 1265 – 1272.
- [19] SAITO K, SAKAGUCHI Y, SUZUKI T, et al. Pimet, the Drosophila homolog of HEN1, mediates 2'-O-methylation of Piwi-interacting RNAs at their 3' ends[J]. *Genes Dev* 2007, 21: 1603 – 1608.
- [20] FUKUNAGA R, DOUDNA J A. dsRNA with 5' overhangs contributes to endogenous and antiviral RNA silencing pathways in

- plants [J]. *EMBO J* 2009 28: 545 – 555.
- [21] PONTIER D , YAHUBYAN G , VEGA D et al. Reinforcement of silencing at transposons and highly repeated sequences requires the concerted action of two distinct RNA polymerases IV in Arabidopsis [J]. *Genes Dev* , 2005 , 19: 2030 – 2040.
- [22] SONG L , AXTELL M J , FEDOROFF N V. RNA secondary structural determinants of miRNA precursor processing in Arabidopsis [J]. *Curr Biol* , 2010 20: 37 – 41.
- [23] WERNER S , WOLLMANN H , WEIGEL D. Structure determinants for accurate processing of miR172a in Arabidopsis thaliana [J]. *Curr Biol* 2010 20: 42 – 48.
- [24] MATEOS J L , BOLOGNA N G , CHOROSTECKI U , et al. Identification of miRNA processing determinants by random mutagenesis of Arabidopsis MIR172a precursor [J]. *Curr Biol* 2010 20: 49 – 54.
- [25] BOHNSACK M T , CZAPLINSKI K , GORLICH D , Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs [J]. *RNA* , 2004 , 10( 2) : 185 – 191.
- [26] BOHNSACK M T , CZAPLINSKI K , GORLICH D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs [J]. *RNA* , 2004 , 10( 2) : 185 – 191.
- [27] ALLEN E , XIE Z , GUSTAFSON A M , et al. microRNA-directed phasing during trans-acting siRNA biogenesis in plants [J]. *Cell* , 2005 , 121: 207 – 221.
- [28] MONTGOMERY T A , HOWELL M D , CUPERUS J T , et al. Specificity of ARGONAUTE7-miR390 interaction and dual functionality in TAS3 trans-acting siRNA formation [J]. *Cell* , 2008 , 133: 128 – 141.
- [29] CHEN H M , LI Y H , WU S H. Bioinformatic prediction and experimental validation of a microRNA-directed tandem trans-acting siRNA cascade in Arabidopsis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2007 , 27: 3318 – 3323.
- [30] KATIYAR-AGARWAL S , GAO S , VIVIAN-SMITH A , et al. A novel class of bacteria-induced small RNAs in Arabidopsis [J]. *Genes Dev* , 2007 , 21: 3123 – 3134.
- [31] ONODERA Y , HAAG J R , THOMAS R et al. Plant Nuclear RNA Polymerase IV Mediates siRNA and DNA Methylation-Dependent Heterochromatin Formation [J]. *Cell* , 2005 , 120( 5) : 613 – 622.

## Diversity of Endogenous small RNAs and Gene Silencing Pathways in Plants

PENG Jun , HUANG Jun-sheng

( Environment and Plant Protection Institute , Chinese Academy of Tropical Agricultural Science , Key Laboratory of Monitoring and Control of Tropical Agricultural and Forest Invasive Alien Pests , Ministry of Agriculture , Danzhou 571737 , China)

**Abstract:** In the paper , the species of plant endogenous RNA and related gene silencing pathways and the constitute and function of main effectors in the silencing pathways were reviewed. In order to further explore the complexity and diversity of regulation process in plant gene expression , the differences in their function between miRNA and siRNA were discussed. The paper provides basic introduction for the utilization of plant endo signal pathway and will prompt the further research work in this field.

**Key words:** plant endogenous small RNAs; diversity; gene silencing pathway