

动植物microRNA的起源、合成及作用模式

马智明 曹家树*

(浙江大学蔬菜研究所, 细胞与分子生物学实验室, 杭州 310058)

摘要 microRNA(miRNA)是一种真核生物内源产生的长度约为20~23个核苷酸的非编码小分子RNA, 作为一种调控因子广泛存在于动物和植物中。虽然动植物miRNA均是通过对靶基因进行转录后负调控从而参与动植物的生长发育过程, 但动植物miRNA起源方式和合成途径却不尽相同, 其对靶基因调控的作用模式也存在很大差异。该文就动植物miRNA在起源、合成及作用模式上的异同点作一综述, 为深入认识动植物miRNA提供理论依据。

关键词 miRNA; 起源; 合成; 调控

Origin, Biogenesis and Mechanism of Plant and Animal microRNA

Ma Zhiming, Cao Jiashu*

(Laboratory of Cell & Molecular Biology, Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract microRNA (miRNA) is a kind of 20-23 nt endogenous non-coding small RNA in eukaryotes, which is widely existed in animals and plants. Although animal and plant miRNA participate in a wide range of growth and development processes both through negatively regulating their target genes at post-transcriptional levels, their origin and biogenesis pathways are different, and their working mechanisms for target gene regulation are also diverse. In this review, similarities and differences of the origin, biogenesis and mechanism between plant and animal miRNAs were summarized and discussed to provide theoretical basis for deeply studying the miRNAs in plants and animals.

Keywords miRNA; origin; biogenesis; regulation

microRNA(miRNA)是一种真核生物内源产生的长度约为20~23 nt的非编码小分子RNA。这类小分子RNA可结合到RNA诱导沉默复合体(RNA induced silence complex, RISC)上, 并与其靶mRNA(miRNA的靶基因转录产物)互补配对, 在特定的作用机制下导致靶mRNA的降解或翻译抑制, 从而在转录后水平上对其靶基因的表达进行负调控^[1]。自1993年miRNA首次在秀丽隐杆线虫中发现以来, miRNA迅速成为一个越来越热门的研究领域^[2]。到目前为止, 已公布的动植物miRNA已达到了数万种。这

些miRNA通过调控其靶基因的表达从而参与动植物的一些重要的生长发育进程, 如细胞分化、信号转导、生殖发育以及器官发育等。虽然动植物miRNA均是通过转录后调控的方式调控其靶基因的表达, 但其在起源、合成及作用模式上仍存在很大的区别^[3]。对动植物miRNA保守的运作机制及两者之间差异的认识将有助于人们更加深入地了解这类小分子RNA在生物体生长发育过程中扮演的重要角色。近年来, 随着分子生物学技术的发展, 动植物miRNA起源、合成和作用模式日趋明朗, 同时这些

收稿日期: 2016-03-13 接受日期: 2016-05-03

国家自然科学基金(批准号: 31272176)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-88982188, E-mail: jshcao@zju.edu.cn

Received: March 13, 2016 Accepted: May 3, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31272176)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88982188, E-mail: jshcao@zju.edu.cn

网络出版时间: 2016-08-01 11:11:24

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160801.1111.004.html>

通路上的调控因子也越来越多地被鉴定。人们发现,动植物miRNA具有一定相似性,同时也显示出了更加丰富的特性。本文梳理了近年来在动植物miRNA起源、合成及作用模式上的研究进展,为认识动植物miRNA发挥的作用提供理论依据。

1 miRNA的起源

在研究一些较晚才进化完成的拟南芥miRNA过程中,Allen等^[4]发现,miR161的前体发夹序列与其靶基因的相应区域具有很高的相似性。据此,他们首次提出了关于植物miRNA起源的基因反向复制学说(图1)。该学说认为,植物新的miRNA起源于蛋白质编码基因的反向复制。在细胞分裂比较旺盛时,这种反向复制极有可能发生。因为细胞每分裂一次,基因组就复制一次,在复制过程中,可能因为偶然的因素或特殊原因,某些基因或基因的一部分反方向整合到基因组上,当再一次被转录时就会形成发夹结构。基因的反向复制为植物miRNA的产生提供了最初的原型proto-miRNA。在类Dicer酶DCL4(Dicer-like 4)或DCL3的作用下, proto-miRNA最初会被加工成small interfering RNA(siRNA)。而在随后的进化过程中, proto-miRNA颈环区域点突变的积累使其逐渐被DCL1识别并剪切,并可被加工产生少量的miRNA,调控原始基因的表达。随着时间的推移,这些proto-miRNA逐渐进化成最原始的miRNA^[4-5]。而发生反向复制的基因即成为该miRNA的原始靶基因。基因的反向复制学说解释了大多数较晚才进化完成的植物miRNA表达量较低,且与靶mRNA的互补程度较高的现象。因此,该学说也成为关于植物miRNA起源的一种最公认的学说。此外, Felippes等^[6]认为,植物miRNA起源于基因组内的一些短的发夹序列。这些序列在基因组中随机分布,其转录产物可被DCL1剪切并随机获得其靶mRNA。Piriyaongsa等^[7]也提出,植物miRNA起源于微型反向重复转座子(miniature inverted-repeat transposable elements, MITEs)。但这两种学说只与个别植物miRNA的结构和表达特征相符,如拟南芥miR824、水稻miR439等。

与植物相反,目前普遍认为动物miRNA基因的最初原型是动物基因组内随机分布的可形成发夹结构的短序列^[8](图1)。这些序列被转录后可形成稳定的发夹结构,随后被Drosha酶识别并剪切,形成最初

的成熟miRNA。这些miRNA可随机获得靶mRNA并抑制其表达。动物miRNA在进化过程中会经历自然选择和Drosha酶的双重选择。由于原始的miRNA发夹序列还不能完全满足Drosha酶的剪切形式,大多数会被直接降解。通过Drosha酶剪切得到的成熟miRNA表达丰度已经非常低,能够在一定程度上抑制靶mRNA的表达,但不足以影响动物的正常生长发育。随着时间的推移,一方面这些发夹序列会逐渐向适合Drosha酶剪切的最佳形式进化,表达量也逐渐升高,其形成的成熟miRNA对靶mRNA的调控程度也逐渐提升。另一方面,自然选择也会趋于保留那些对动物自身生长发育有利的原始miRNA^[9-10]。Berezikov等^[11]在黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的转录本中发现了多种原始的miRNA发夹序列,但这些序列并不会被加工形成成熟的miRNA,而是作为miRNA进化过程中的一种中间体的形式存在。这表明,动物原始miRNA从最初的形成到最终被动物利用经历了比植物更为复杂的选择过程。

尽管动物和植物miRNA的主要起源方式不同,但基因组复制对动植物miRNA家族的扩张均起到了重要作用^[12-13]。基因组复制如串联复制、片段复制、转座子复制在动植物基因组中时有发生。由于miRNA基因较短,因此很容易跟随蛋白质编码基因的复制而复制,一些大型的复制事件,如全基因组复制使miRNA基因成倍扩增^[14]。研究表明,拟南芥、水稻、大豆中miRNA家族成员的增加主要来源于串联重复,而杨树miRNA家族的扩张则主要来源于片段复制^[12,15]。在动物中,miRNA基因的串联复制使其在基因组中常成簇分布。同时,由于动物miRNA的保守序列较短,因此串联重复常常也导致一些新的动物miRNA基因的产生^[16]。miRNA基因被复制后产生的拷贝一般不会完全保留下来,特别是那些较晚才进化完成的miRNA。这类miRNA的靶基因比较广泛,表达量较低,动植物对其缺失一般不敏感,因此其被复制后产生的拷贝又会很快丢失。关于动植物miRNA的进化历程可详见参考文献[17]和[18]。

2 miRNA的生物合成

与普通转录本一样,每一个miRNA都有一个或多个特定的前体基因。当miRNA合成时,miRNA前体基因首先会在RNA聚合酶的作用下转录成初始

miRNA(primary-miRNA, pri-miRNA), 然后进一步被核酸内切酶剪切形成miRNA/miRNA*(miRNA*表示在pri-miRNA中与miRNA成熟序列反向互补的一段序列)复合体。该复合体随后被整合到AGO(ARGONAUTE), 并转运到RNA诱导沉默复合体上发挥作用^[19]。动物和植物miRNA合成大致都是按照这个过程进行, 但两者各有特点。

在RNA聚合酶II的作用下, 植物miRNA基因首先被转录形成含有颈环结构的初始miRNA, 其长度在植物中呈适度多样化, 短至70 nt, 长至200~300 nt。随后, 在类Dicer酶DCL1的作用下, 初始miRNA首先会被剪切形成pre-miRNA, 继而被进一步剪切形成miRNA/miRNA*复合体^[20]。在这个过程中, 一些重要的辅助因子如CBC(CAP-BINDING PROTEIN COMPLEX)、SE(SERRATE)、HYL1(HYPONASTIC LEAVES)、TGH(TOUGH)、RCF3(REGULATOR OF CBF GENE EXPRESSION 3)等, 会与DCL1形成复合体, 保证DCL1功能的正常发挥^[21-22](图1)。一般来讲, DCL1会首先剪切初始miRNA颈环结构的基部, 之后再剪切头部, 但也有

少数的miRNA在合成过程中DCL1的剪切顺序正好相反, 如miR159、miR319。此外, 大多数植物初始miRNA被剪切后会形成唯一的miRNA/miRNA*复合体, 但也有一些miRNA形成的miRNA/miRNA*复合体是多样化的。如拟南芥MIRNA169m可产生两种不同的miRNA/miRNA*复合体, 进而形成两种不同的成熟miRNA, 且两者的表达丰度差别很大^[23]。在核糖体HEN1(Hua enhancer 1)的作用下, 最终形成的miRNA/miRNA*复合体的3'末端会被2'-O甲基化, 以形成更稳定的结构, 防止其被腺苷化或被降解^[24]。之后, 这个稳定的复合体会搭载在HASTY上, 从细胞核转出, 运送到RNA诱导沉默复合体上, 并在SQN(SQUINT)和HSP90(HEAT SHOCK SROTEIN 90)的辅助下与AGO结合^[25-27](图1)。随后miRNA*被降解, 留下单链的miRNA识别靶基因mRNA的特异位点并与之结合。AGO是miRNA实施功能的效应蛋白质, 在已发现的十种拟南芥AGO中, miRNA主要与AGO1结合并实施其功能^[28](表1)。

在动物中, 大多数miRNA基因是在RNA聚合酶II的作用下被转录。然而Borchert等^[29]发现, 位

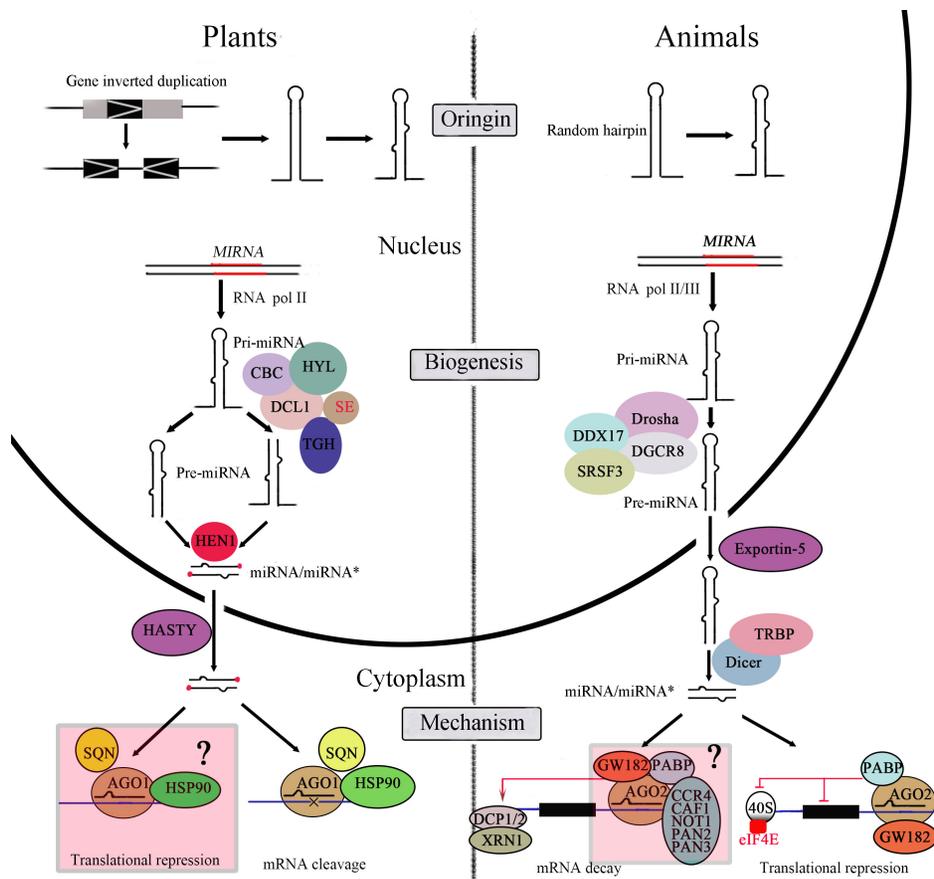


图1 动植物miRNA的起源、合成及作用模式比较(根据参考文献[8,21]修改)

Fig.1 Comparison of the origin, biogenesis and mechanism between plant and animal miRNAs (modified from references [8,21])

表1 动植物miRNA起源、合成及作用模式主要的差异列表

过程或中间产物 Processes or Projects	植物 Plants	动物 Animals
Gene arise	Inverted duplication	Random hairpin sequences
Transcription	RNA polymerase II	RNA polymerase II (Partly III)
Pri-miRNA	70 to hundreds of bases	55-70 bases
Cleavage	DCL1, two steps, in nucleus	Drosha, two steps, in nucleus and cytoplasm
miRNA/miRNA*	3' methylated	No 3' methylated
Export	HASTY	Exportin-5
AGO protein	AGO1	AGO2
Accessory factors	SE, HYL, CBC, TGH	TRBP
Target site	5' UTRs, ORFs and 3' UTRs	3' UTRs
Complementarity	Nearly perfect complementarity with no more than 3 mismatches	Only complementarity mainly at 5' nucleotides 2 to 8
Target numbers	One miRNA at one mRNA	Multiple miRNAs at one miRNA
Working mechanism	Mainly cleavage	Mainly translational repression

于人类第19号染色体的miRNA簇(C19MC)中,有42个miRNA基因与Alu重复序列相间排列,每个miRNA基因位于一个Alu序列的上游约100 bp处,随同Alu序列一起被转录。而早有研究表明,人类Alu重复序列的转录是在RNA聚合酶III的作用下进行的。因此他们的研究表明,少数动物miRNA基因也可以被RNA聚合酶III转录^[29-30]。与植物相比,动物miRNA的合成最大的不同在于其初始转录产物会先后在细胞核和细胞质中分两步被剪切(图1)。在细胞核中,Drosha核酸内切酶III(Drosha RNase III)和双链RNA结合蛋白DGCR8(DiGeorge syndrome critical region gene 8)组成miRNA加工复合体(microprocessor complex),对动物初始miRNA的基部进行第一步剪切,形成长度为55~70 nt的具有茎环结构的前体miRNA^[31-32]。当然,一些辅助因子的参与可增加miRNA加工复合体的作用效率,如人的SRSF3和DDX17,然而这些辅助因子的作用机制目前还尚不清楚^[33-34]。随后,前体miRNA被转运蛋白质Exportin-5(XPO5,与HASTY同源)运出细胞核,在细胞质Dicer酶的作用下对其头部进行第二步剪切,并加工形成miRNA/miRNA*复合体,之后再被运送到RNA诱导沉默复合体上并与AGO(哺乳动物主要以AGO2作为miRNA的效应蛋白质)结合(图1)。最新的研究表明,在敲除XPO5的人细胞中,大多数miRNA的合成并未受到影响,这说明动物中可能还存在其他的转运蛋白质^[35]。动物Dicer酶和植物类Dicer酶DCL1的结构和作用机制相似,但在动物中参与Dicer酶剪切的辅助因子并不与在植物中的辅

助因子同源。目前研究比较深入的动物Dicer酶辅助因子有果蝇的Loquaciou及其在人的同源蛋白质TAR RNA-binding protein,两者均对miRNA的合成不可或缺^[36]。

3 miRNA与其靶mRNA的识别及作用模式

由于大多数植物miRNA起源于靶基因的反向复制,因此,其与靶mRNA的结合是完全或几乎完全互补。当植物miRNA与靶mRNA识别并结合后,AGO1一般会在miRNA结合位点的第10和第11个核苷酸间将靶mRNA直接剪切(图1)。AGO1一共有4个结构域:PAZ、Mid、PIWI和N-末端结构域。其中PAZ结构域能够特异性的与miRNA 3'末端结合, Mid结构域可锚定miRNA的5'磷酸基团,而PIWI结构域具有核酸内切酶的活性,行使对靶mRNA的剪切功能。研究表明,植物miRNA剪切位点附近的碱基与靶mRNA的完全互补配对是AGO1实现其剪切功能的必要条件^[37]。Franco等^[38]发现,拟南芥*IPSI*(INDUCED BY PHOSPHATE STARVATION 1,一种非编码基因)的转录本可被miR399识别并结合,但其在miR399的剪切位点处不能与miR399完全互补配对,这导致AGO1不能对其进行剪切。基于此原理,人们现已设计出了多种可以与目标miRNA结合但不能被AGO1剪切的伪靶基因序列(target mimicry)用于植物miRNA的功能研究^[38-39]。此外,植物miRNA一般会在靶mRNA的编码区与其结合,因此靶mRNA被剪切后会留下编码区的残留序列,这也为植物miRNA靶基因的预测和验证提供了很大

的便利^[40]。

植物miRNA也可以以翻译抑制的方式实现其功能(图1)。Aukerman等^[41]在研究miR172时,发现将miR172过表达并未减少靶mRNA的表达丰度,但是相应的靶mRNA编码的蛋白质水平却明显降低,因此他们首次提出,植物miRNA也可抑制靶基因的翻译。随后,多个研究表明,植物miRNA对靶基因的翻译抑制也是一种普遍现象,甚至同一种miRNA都有可能同时以剪切和翻译抑制的方式对靶基因进行调控^[42-43]。这也就是植物miRNA并不完全与其靶基因的表达量完全互补的原因之一。植物miRNA抑制靶基因翻译的详细机制目前还尚不清楚。近期的报道指出,由于植物miRNA的抑制而未被翻译的靶mRNA是存储在细胞质中的P小体(processing body, P-body)中,P小体中包含了多个与miRNA翻译抑制相关蛋白质如SCV(VARICOSE)、SUO等^[44-45]。而在动物中,miRNA的靶mRNA可在P小体中脱腺苷化或去甲基化,影响mRNA的正常翻译^[46]。这些结果表明,植物miRNA的翻译抑制机制可能会与动物miRNA相似。此外,Li等^[47]发现,拟南芥miRNA抑制靶基因的翻译需要线粒体膜AMP1(ALTERED MERISTEM PROGRAM 1)的参与。在突变体*amp1*中,miRNA不能对靶基因进行正常的翻译抑制^[47],这表明,植物miRNA对靶基因的翻译抑制可能是发生在线粒体上。在最新的研究中,Reis等^[48]鉴定到了一个植物miRNA介导的翻译抑制必需因子DRB2(double-stranded RNA binding protein 2),并发现DRB2在植物进化过程中高度保守,这进一步表明,植物miRNA介导的翻译抑制也是一种古老的植物miRNA作用方式。

与植物相反,动物miRNA是在最初形成之后才根据其序列随机获得靶基因。因此,动物miRNA一般与其靶mRNA并不完全互补配对。研究表明,几乎所有的动物miRNA在其2~7位点都能与靶mRNA序列完全互补,而能在其2~8位点与靶mRNA完全互补配对的动物miRNA也超过了70%。这说明动物miRNA主要通过其2~8位点的序列识别靶mRNA并为之结合,因此该段序列也被称为种子序列(seed region)^[49-51]。不同的动物miRNA家族的种子序列高度保守,这也保证了其功能的保守性。动物miRNA成熟序列与AGO结合后,种子序列会预先在AGO内形成一个半开放性的螺旋结构。该结构有利于靶

mRNA的识别并为之结合形成稳定的双螺旋结构。而其9~11位点的核苷酸是以一种背对着靶mRNA的构象存在。即使这段序列能够与靶mRNA互补,miRNA也不会与靶mRNA完全配对,AGO的剪切功能也不能有效的发挥。因此,动物miRNA很少以剪切靶mRNA的方式实现其功能^[52]。动物miRNA的这些特性使其靶基因比植物更多。约30%的动物基因已经被鉴定或预测为miRNA的靶基因,而在植物中这一数字仅为1%。同一个动物基因可能会有多个miRNA结合位点,受到多个miRNA的调控(表1)。而在植物中,几乎所有的miRNA靶基因上都只有一个miRNA结合位点,即只受单个miRNA的调控^[53]。因此,动物miRNA所处的调控网络远远比植物更复杂,这与动物生长发育、新陈代谢的复杂程度不无关系。

动物miRNA主要以翻译抑制的方式对靶基因进行调控。一方面,在靶mRNA的翻译起始阶段,动物miRNA与GW182(glycine-tryptophan repeat-containing protein of 182 kDa)、PABP(polyA-binding protein)组成的复合体能够抑制起始转录因子eIF4E与靶mRNA帽子结构的识别,或干扰核糖体60S大亚基与40S小亚基的结合,从而抑制靶mRNA的翻译^[54-55]。另一方面,当靶mRNA翻译起始后,上述复合体能够通过打断肽链的延伸、促进核糖体大小亚基脱落及降解新生多肽的方式进一步抑制靶mRNA的翻译^[10,56](图1)。此外,动物miRNA也可介导靶mRNA的降解^[57]。在此作用途径中,GW182首先以某种未知的机制促进脱腺苷化酶复合体CCR4-CAF1-NOT1和PAN2-PAN3与RNA诱导沉默复合体结合并促进脱帽酶DCP1/2(decapping-complex protein 1/2)降解靶mRNA的5'帽子结构^[58-59]。随后,细胞质核酸内切酶XRN1可进一步介导靶mRNA的降解^[60-61](图1)。

4 结语与展望

动植物miRNA作用机制的差异是其不同的起源方式和合成途径造成的必然结果(表1)。总的来说,植物miRNA源于靶基因,因此,其与靶mRNA的结合更加紧密,有利于AGO的剪切;而动物miRNA是在原始的miRNA形成之后才随机获得靶基因,因此,其靶基因更加广泛。动植物miRNA不同的起源、合成及作用模式似乎表明miRNA在动物和植物中的形成是两个独立的进化事件。然而,动植物miRNA的一些共性如两者合成途径中的一些重要的酶高度

同源、两者都能以翻译抑制的方式调控靶基因的表达等似乎又预示着miRNA可能在动植物的共同祖先中就早已存在。虽然现阶段,人们对miRNA的研究已经非常深入,但我们对miRNA合成和调控路径上的很多谜题还不甚清楚,如植物miRNA如何协调对靶mRNA的剪切和翻译抑制?动物miRNA以什么样的机制介导靶mRNA的降解?已发现的个别动物miRNA促进靶mRNA翻译现象,是否是动物miRNA的普遍作用机制?在回答这些问题之前,我们暂时还无法对上述的两种推论做出合理的解释。相信,随着现阶段miRNA研究技术的发展以及研究的深入,人们很快会对miRNA及其在生物中扮演的角色有更加深刻的认识。

参考文献 (References)

- Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2): 281-97.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75(5): 843-54.
- 龙茹, 李玉花, 徐启江. 动植物miRNA的生物合成、作用机理及其功能. *生命科学*(Long Ru, Li Yuhua, Xu Qijiang. Biogenesis, mechanism, function of miRNAs in plants and animals. *Chinese Bulletin of Life Sciences*) 2007; 19(2): 127-31.
- Allen E, Xie ZX, Gustafson AM, Sung GH, Spatafora JW, Carrington JC. Evolution of microRNA genes by inverted duplication of target gene sequences in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genet* 2004; 36(12): 1282-90.
- Vazquez F, Blevins T, Ailhas J, Boller T, Meins F. Evolution of *Arabidopsis* MIR genes generates novel microRNA classes. *Nucleic Acids Res* 2008; 36(20): 6429-38.
- de-Felippes F, Schneeberger K, T, Huson D, Weigel D. Evolution of *Arabidopsis thaliana* microRNAs from random sequences. *RNA* 2008; 14(12): 2455-9.
- Piriyapongsa J, Jordan IK. Dual coding of siRNAs and miRNAs by plant transposable elements. *RNA* 2008; 14(5): 814-21.
- Axtell MJ, Westholm JO, Lai EC. Vive la difference: Biogenesis and evolution of microRNAs in plants and animals. *Genome Biol* 2011; 12(4): 1.
- Lu J, Shen Y, Wu Q, Kumar S, He B, Shi S, *et al.* The birth and death of microRNA genes in *Drosophila*. *Nat Genet* 2008; 40(3): 351-5.
- Hussain MU. Micro-RNAs (miRNAs): Genomic organisation, biogenesis and mode of action. *Cell Tissue Res* 2012; 349(2): 405-13.
- Berezikov E, Robine N, Samsonova A, Westholm JO, Naqvi A, Hung JH, *et al.* Deep annotation of *Drosophila melanogaster* microRNAs yields insights into their processing, modification, and emergence. *Genome Res* 2011; 21(2): 203-15.
- Sun J, Zhou M, Mao Z, Li C. Characterization and evolution of microRNA genes derived from repetitive elements and duplication events in plants. *PLoS One* 2012; 7(4): e34092.
- Smith LM, Burbano HA, Wang X, Fitz J, Wang G, Ural-Blimke Y, *et al.* Rapid divergence and high diversity of miRNAs and miRNA targets in the Camelinae. *Plant J* 2015; 81(4): 597-610.
- Sun C, Wu J, Liang J, Schnable JC, Yang W, Cheng F, *et al.* Impacts of whole-genome triplication on MIRNA evolution in *Brassica rapa*. *Geno Biol Evol* 2015; 7(11): 3085-96.
- Zhao M, Meyers BC, Cai C, Xu W, Ma J. Evolutionary patterns and coevolutionary consequences of MIRNA genes and microRNA targets triggered by multiple mechanisms of genomic duplications in Soybean. *Plant Cell* 2015; 27(3): 546-62.
- Hertel J, Stadler PF. The expansion of animal microRNA families revisited. *Life* 2015; 5(1): 905-20.
- 魏强, 梁永宏, 李广林. 植物miRNA的进化. *遗传*(Wei qiang, Liang Yonghong, Li Guanglin. Evolution of miRNA in plants. *Hereditas*) 2013; 35(3): 315-23.
- 罗艳, 张群, 梁宇君, 张士瑾. 动物中microRNA的保守性和进化历程. *中国科学: 生命科学*(Luo Yan, Zhang Qun, Liang Yujun, Zhang Shicui. Conservation and evolution of microRNAs in animals. *Scientia Sinica Vitae*) 2012; 42(2): 96-106.
- Khraiweh B, Zhu JK, Zhu JH. Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1819(2): 137-48.
- Schauer SE, Jacobsen SEMeinke DW, Ray A. DICER-LIKE1: Blind men and elephants in *Arabidopsis* development. *Trends Plant Sci* 2002; 7(11): 487-91.
- Wu G. Plant microRNAs and development. *J Genet Geno* 2013; 40(5): 217-30.
- Karlsson P, Christie MD, Seymour DK, Wang H, Wang X, Hagmann J, *et al.* KH domain protein RCF3 is a tissue-biased regulator of the plant miRNA biogenesis cofactor HYL1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(45): 14096-101.
- Zhang W, Gao S, Zhou X, Xia J, Chellappan P, Zhou X, *et al.* Multiple distinct small RNAs originate from the same microRNA precursors. *Genome Biol* 2010; 11(8): 1-18.
- Li J, Yang Z, Yu B, Liu J, Chen X. Methylation protects miRNAs and siRNAs from a 3'-end uridylation activity in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2005; 15(16): 1501-7.
- Earley KW, Poethig RS. Binding of the cyclophilin 40 ortholog SQUINT to Hsp90 protein is required for SQUINT function in *Arabidopsis*. *J Biol Chem* 2011; 286(44): 38184-9.
- Iki T, Yoshikawa M, Meshi T, Ishikawa M. Cyclophilin 40 facilitates HSP90-mediated RISC assembly in plants. *EMBO J* 2012; 31(2): 267-78.
- Park MY, Wu G, Gonzalez-Sulser A, Vaucheret H, Poethig RS. Nuclear processing and export of microRNAs in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(10): 3691-6.
- Thieme CJ, Schudoma C, May P, Walther D. Give It AGO: the search for miRNA-Argonaute sorting signals in *Arabidopsis thaliana* indicates a relevance of sequence positions other than the 5'-position alone. *Front Plant Sci* 2012; 3(7): 272.
- Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struc Mol Biol* 2006; 13(12): 1097-101.
- Monteys AM, Spengler RM, Wan J, Tecedor L, Lennox KA, Xing Y, *et al.* Structure and activity of putative intronic miRNA promoters. *RNA* 2010; 16(3): 495-505.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, *et al.* The nuclear

- RNase III Droscha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425(6956): 415-9.
- 32 Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N, *et al.* The microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature* 2004; 432(7014): 235-40.
- 33 Auyeung V, Ulitsky I, Mcgeary S, Bartel D. Beyond secondary structure: Primary-sequence determinants license pri-miRNA hairpins for processing. *Cell* 2013; 152(4): 844-58.
- 34 Mori M, Triboulet R, Mohseni M, Schlegelmilch K, Shrestha K, Camargo F, *et al.* Hippo signaling regulates microprocessor and links cell-density-dependent miRNA biogenesis to cancer. *Cell* 2014; 156(5): 893-906.
- 35 Kim YK, Kim B, Kim VN. Re-evaluation of the roles of DROSHA, Exportin 5, and DICER in microRNA biogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113(13): E1881-9.
- 36 Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(8): 605-10.
- 37 Liu Q, Wang F, Axtell MJ. Analysis of complementarity requirements for plant microRNA targeting using a *Nicotiana benthamiana* quantitative transient assay. *Plant Cell* 2014; 26(2): 741-53.
- 38 Franco-Zorrilla JM, Valli A, Todesco M, Mateos I, Puga MI, Rubio-Somoza I, *et al.* Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity. *Nat Genet* 2007; 39(8): 1033-7.
- 39 Yan J, Gu Y, Jia X, Kang W, Pan S, Tang X, *et al.* Effective small RNA destruction by the expression of a short tandem target mimic in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2012; 24(2): 415-27.
- 40 Rhoades MW, Reinhart BJ, Lim LP, Burge CB, Bartel B, Bartel DP. Prediction of plant microRNA targets. *Cell* 2002; 110(4): 513-20.
- 41 Aukerman MJ, Sakai H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a MicroRNA and its APETALA2-like target genes. *Plant Cell* 2003; 15(11): 2730-41.
- 42 Brodersen P, Sakvarelidze-Achard L, Bruun-Rasmussen M, Dunoyer P, Yamamoto YY, Sieburth L, *et al.* Widespread translational inhibition by plant miRNAs and siRNAs. *Science* 2008; 320(5880): 1185-90.
- 43 Lanet E, Delannoy E, Sormani R, Floris M, Brodersen P, Cr  te P, *et al.* Biochemical evidence for translational repression by *Arabidopsis* microRNAs. *Plant Cell* 2009; 21(6): 1762-8.
- 44 Yang L, Wu G, Poethig RS. Mutations in the GW-repeat protein SUO reveal a developmental function for microRNA-mediated translational repression in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(1): 315-20.
- 45 Iwakawa HO, Tomari Y. Molecular insights into microRNA-mediated translational repression in plants. *Mol Cell* 2013; 52(4): 591-601.
- 46 Liu J, Valencia-Sanchez MA, Hannon GJ, Parker R. microRNA-dependent localization of targeted mRNAs to mammalian P-bodies. *Nat Cell Biol* 2005; 7(7): 719-23.
- 47 Li S, Liu L, Zhuang X, Yu Y, Liu X, Cui X, *et al.* microRNAs inhibit the translation of target mRNAs on the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis*. *Cell* 2013; 153(3): 562-74.
- 48 Reis RS, Hart-Smith G, Eamens AL, Wilkins MR, Waterhouse PM. Gene regulation by translational inhibition is determined by Dicer partnering proteins. *Nat Plants* 2015; doi: 10.1038/nplants.2014.27.
- 49 Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003; 115(7): 787-98.
- 50 Bartel DP. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136(2): 215-33.
- 51 Helwak A, Kudla G, Dudnakova T, Tollervey D. Mapping the human miRNA interactome by CLASH reveals frequent noncanonical binding. *Cell* 2013; 153(3): 654-65.
- 52 Brodersen P, Voinnet O. Revisiting the principles of microRNA target recognition and mode of action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(2): 141-8.
- 53 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120(1): 15-20.
- 54 Mathonnet G, Fabian MR, Svitkin YV, Parsyan A, Huck L, Murata T, *et al.* microRNA inhibition of translation initiation *in vitro* by targeting the cap-binding complex eIF4F. *Science* 2007; 317(5845): 1764-7.
- 55 Meijer H, Kong Y, Lu W, Wilczynska A, Spriggs R, Robinson S, *et al.* Translational repression and eIF4A2 activity are critical for microRNA-mediated gene regulation. *Science* 2013; 340(6128): 82-5.
- 56 Nottrott S, Simard MJ, Richter JD. Human let-7a miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes. *Nat Struc Mol Biol* 2006; 13(12): 1108-14.
- 57 Eulalio A, Huntzinger E, Nishihara T, Rehwinkel J, Fauser M, Izaurralde E. Deadenylation is a widespread effect of miRNA regulation. *RNA* 2009; 15(1): 21-32.
- 58 Wu L, Fan J, Belasco JG. microRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103(11): 4034-9.
- 59 Fabian MR, Cieplak MK, Frank F, Morita M, Green J, Srikumar T, *et al.* miRNA-mediated deadenylation is orchestrated by GW182 through two conserved motifs that interact with CCR4-NOT. *Nat Struc Mol Biol* 2011; 18: 1211-7.
- 60 Rehwinkel J, Behm-Ansmant I, Gatfield D, Izaurralde E. A crucial role for GW182 and the DCP1: DCP2 decapping complex in miRNA-mediated gene silencing. *RNA* 2005; 11(11): 1640-7.
- 61 Thibault PA, Huys A, Amador-Ca  nizares Y, Gailius JE, Pinel DE, Wilson JA. Regulation of hepatitis C virus genome replication by Xrn1 and microRNA-122 binding to individual sites in the 5' untranslated region. *J Viro* 2015; 89(12): 6294-311.