

MicroRNA在调节植物生长发育和逆境胁迫中的作用

安凤霞^{1,2}, 梁艳³, 曲彦婷², 李富恒^{1,*}

¹东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨150030; ²黑龙江省科学院自然与生态研究所, 哈尔滨150040; ³齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江齐齐哈尔161006

摘要: MicroRNA是目前科学研究最为广泛的一类内源性的非编码单链小分子RNA, 作为一类重要的负调控子通过对目的基因的引导降解和阻止其翻译过程, 从而调控植物的生命进程。本文综述了microRNA在植物新陈代谢、器官发育以及各种生物和非生物逆境胁迫中所起的重要调节作用, 以期反映当前植物 microRNA 在发现、功能和进化等方面的研究进展。

关键词: MicroRNA; 植物生长发育; 逆境胁迫

Roles of MicroRNA in Regulation of Plants Growth and Development and Stress Responses

AN Feng-Xia^{1,2}, LIANG Yan³, QU Yan-Ting², LI Fu-Heng^{1,*}

¹School of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; ²Natural and Ecological Institute, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150040, China; ³College of Life Science and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China

Abstract: MicroRNA is a kind of endogenous, no-coding, single-stranded and micro-molecule RNA which is being applied extensively in modern scientific research. As a kind of important negative regulators, microRNA regulates plants' life process by guiding target genes to degrade and prohibit them from translating. The paper summarized the important regulation roles of microRNA in plants metabolism, organ development and under all kinds of biotic and abiotic stress, to introduce the latest research development of miRNA in finding, function and evolution.

Key words: microRNA; plant growth and development; stress

MicroRNAs (miRNAs)是目前研究最为广泛的一类内源性非编码单链小RNA。近年来研究发现, miRNA在基因表达过程中作为一类负调控子, 广泛存在于动物、植物以及微生物等生物体基因组中, 对生物体生长发育和疾病发生中相关基因的表达具有调控作用。对其进行深入分析将有助于推动基因间所具有多层次网络调控模式科研工作的进一步开展。植物miRNA主要通过对目的基因的引导降解和阻断目的基因翻译过程来调控植物的生长发育进程。本文主要介绍植物miRNA在植物生长发育和逆境胁迫等方面的最新研究进展。

1 miRNA参与植物开花及花器官发育

有关花发育的分子遗传学研究只是近20年的事, 随着植物分子生物诱变和突变体学技术的不断完善, 尤其是有关玉米(*Zea mays* L.)、水稻(*Oryza sativa* L.)等作物miRNA克隆研究技术的广泛应用, 人们发现某些miRNA通过调控与植物开花及

花器官发育相关基因的表达, 参与植物生殖发育及花器官分化。目前已从拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh]、水稻、矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm.)和金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)等模式植物中分离并鉴定了包括microRNA在内的许多影响花发育的基因和调控因子, 比较典型的是miR172。SMZ (sulfame thoxazole)是一种有效的开花抑制物, 5'-RACE证明SMZ也是miR172的靶基因, 过表达抗miR172的SMZ基因的拟南芥植株能够长期维持营养生长, 表明miR172对SMZ基因的作用能调控植物发育时期转变(Mathieu等2009)。Wu等(2009)发现转录因子SPL9对miR172b的转录起直接作用, 而SPL为miR156的靶基因, 因此miR156还可调节

收稿 2012-12-18 修定 2013-03-14

赞助 黑龙江省森林工业总局科技计划项目(sgzjY2010026)和东北农业大学“农业生物功能基因重点实验室”项目。

* 通讯作者(E-mail: an_fengxia@163.com, Tel: 0451-86054612)。

miR172的表达,两者共同作用控制植物营养生长向生殖生长转变。Baker等(2005)通过研究发现miR164c通过调节转录因子CUC1和CUC2转录物的积累,从而调控拟南芥花瓣的数目;同时发现miRNA同一家族的不同成员在发育过程中对相同的靶基因进行调节却行使不同的生物学功能,说明miRNA的表达与调控具有多种模式。Lauter等(2005)发现miR172通过抑制转录因子APET-LA2的表达来影响花的发育。miR166家族参与调控近轴-远轴器官极性,包括花器官极性。

2 miRNA参与植物叶片的发育和组织分化

除参与植物开花及花器官发育外,miRNA还参与植物叶片从幼叶到成熟叶的转变。这一过程通过miR172与*GL15*基因相互作用完成;玉米中过表达的*GL15*基因控制叶片由幼嫩向成熟转变,miR172的表达下调*GL15*基因,使叶片转为成熟;此外植物出现多种不良发育症状,如植物矮小、叶片卷曲、根扭曲等,这些可能都是由于miRNAs表达的减少所引起的(Husbands等2009)。

Liu等(2009a)发现miR396在拟南芥叶片和幼苗中显著表达,并且过表达miR396拟南芥的细胞数目减少而使得叶子变窄,并且具有气孔密度低和耐旱的表型,表明miR396在植物的叶片生长和发育过程中起着重要的作用。Rodriguez等(2010)的研究发现,在拟南芥中miR396通过调节因子表达水平的平衡控制着最终叶细胞的数目,miR396可以调控细胞的增殖和分生组织的大小,这对于调节植物细胞的增殖具有重要的意义。

脱落酸(abscisic acid, ABA)诱导miR159表达,导致*MYB33*和*MYB101* mRNA的剪切,降低了植物对ABA的敏感度,这说明ABA诱导miR159表达的过程是一个自我平衡机制,保证植物在ABA胁迫解除后恢复生长;在花粉囊发育中,赤霉素(Gibberellin A3, GA₃)也可以诱导miR159的表达,推测植物中存在一个miR159的调节网络,说明ABA和GA₃对miR159的调节在胁迫响应中具有重要作用。miR393和miR160在ABA诱导下可能通过影响生长素信号通路,调控植物对ABA的敏感程度(Reyes和Chua 2007)。此外,ABA可以诱导miR397b和miR402表达小幅度上调,以及miR389a的表达量下调,但还不清楚其作用机制。Jia等(2009b)发现,毛果杨(*Populus trichocarpa* Torr. Gray)中miR398

在受到ABA诱导后,有一个上调、下调再上调的过程,同时,miR398靶基因*GSDI*的表达与miR398的表达呈负相关。

3 miRNA参与植物激素信号传导

研究发现,某些miRNA在植物激素信号传导过程中发挥重要作用。拟南芥*NAC1*基因在侧根发生的生长素信号传导过程中起作用。生长素涉及植物生长发育各个方面,一般通过生长素响应因子(auxin response factor, ARF)基因发挥作用。GA₃也参与植物花器官形成及发育。植物体内miR159水平受GA₃调节,miR159作用于靶基因*GAMYB*,*GAMYB*编码*GAMYB*转录因子,参与GA₃启动的花器官分生组织决定基因*LEAFY*的激活,调节短日照植物开花时间和花药发育(Achard等2004)。同时miR159还受ABA诱导表达,通过作用于两个MYB转录因子基因*MYB33*和*MYB101*,在种子萌发过程中起作用(Fujii等2005)。Jia等(2009b)利用ABA处理拟南芥和毛果杨时发现,miR398也受ABA诱导,且表达模式在两个物种中有所不同,进而表明miR398可能与植物抗逆性相关。Liu等(2009a, b)研究发现,miR159和miR394的表达受乙烯(ethylene)调节;miR172和miR319的表达受细胞分裂素(zeatin)调节,但这些miRNA参与乙烯和细胞分裂素信号传导途径及作用机制尚不明确。

Wang等(2005)经过研究发现,miR160通过作用于生长素响应元件ARF10和ARF16控制拟南芥根冠的形成。miR390是*TAS3* ta-siRNA的合成所必需的,而*TAS3* ta-siRNA的靶标基因是生长素家族成员ARF3,参与植物叶片的形态建成和花器官的发育(Fahlgren等2006)。以上的研究表明,miRNA在植物激素信号传导过程中起重要的调控作用。并且miRNA自身也受到植物激素的诱导,体现了植物激素信号传导途径精密的自我调控机制。

4 miRNA参与植物自身代谢负反馈调节

除了参与植物生命代谢活动及发育进程外,miRNA还参与自身代谢合成的负反馈调节。如miR162剪切产物中含有*DCL1*的转录体,而*DCL1*基因编码miRNA合成过程中的关键酶Dicer,说明miR162对Dicer酶具有负反馈调节功能(Mallory等2005)。表达抗miR168的*AGO1*基因增加植株体内*AGO1*转录水平,并具有与miRNA合成途径中关键突变如*dcl1*、*gen1*和*hyl1*等相似的发育缺陷表型。

而人为导入与抗miR168的*AGO1* mRNA互补的miRNA, 则可以使缺陷表型恢复至野生型(Xie等2003)。这些都表明某些miRNA在自身合成途径中存在负反馈调节功能。

5 miRNA对植物胁迫应答的调节作用

不同逆境会诱导或下调植物相应miRNA的表达, 有时某种miRNA会同时响应几种逆境胁迫, 许多基因的表达受到其调控, 其中包括转录水平、转录后水平和翻译水平上的调控, 而转录后水平的调控特别是转录因子直接与保守的顺式作用启动子元件结合来调控靶基因, 这种调控方式在逆境下基因表达调控中较为普遍。

5.1 miRNA与植物营养不足

5.1.1 miRNA与氮(nitrogen)不足 氮是植物三大营养元素之一, 对植物生长发育具有重要作用。虽然与植物氮素响应miRNA相关的报道很少, 但有研究显示某些miRNA在低氮情况下表达发生改变。用实时定量PCR方法研究了拟南芥营养元素响应的miRNA, 发现低氮抑制miR169和miR398表达(Pant等2009)。这说明低氮水平下, miR169在豆科植物根瘤发育过程中起重要作用。冯卓(2012)通过比较基因组学的方法对低氮胁迫下黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗差异表达基因进行鉴定, 结果发现黄瓜幼苗在低氮胁迫下差异表达的基因共有11 655个, 其中符合FDR \leq 0.001且倍数差异在2倍以上的基因共868个, 上调表达的有654个, 占总数的75.3%; 下调表达的有214个, 占总数的24.7%。许振华(2011)在玉米叶片中检测到14个稳定低硝酸盐响应miRNA和9个瞬时低硝酸盐响应miRNA, 两种响应的表达模式相反; 而miR169e对低硝酸盐既有稳定响应也有瞬时响应。他还在根中检测到8个稳定低硝酸盐响应miRNA和9个瞬时低硝酸盐响应miRNA, 且miR169p和miR169i-k在叶片和根中都存在(许振华2011)。

5.1.2 miRNA与磷(phosphorus)不足 目前对低磷胁迫诱导基因表达和调控做了大量研究, 拟南芥miR399能够对低磷胁迫发生响应并保持体内磷素稳定平衡(Pant等2008)。miR399参与体内磷素平衡模型指出, 高磷环境下, 根部表达的*UBC24*可能会下调特异磷吸收转运系统的表达, 从而抑制过量无机磷进入植物体内; 缺磷时, miR399表达量增加, *UBC24*表达下调, 从而缓解了被抑制的无机磷

吸收和转运, 增加植物对无机磷的吸收以应对磷素缺乏。最近研究发现, 缺磷诱导拟南芥miR778和miR827表达, 但下调miR398表达(Pant等2009)。miR827的靶基因是*E3*连接酶*NLA* (At1g0260), *NLA*参与植物花青素合成, *nla*突变体在缺氮条件下花青素含量下降, 叶片早衰; 但磷和氮素同时缺乏时, 突变体表现为野生型。表明尽管miR827会抑制*NLA*表达, 但缺磷作为一种信号, 足以诱导花青素合成, 弥补miR827对*NLA*的抑制(Chiou 2007)。

5.1.3 miRNA与硫(sulphur)不足 目前关于植物缺硫响应miRNA的相关研究已有报道。miR395的目标基因是催化硫同化起始反应的*ATP*硫酸化酶基因(*APS*)和一个对硫低亲和力的运载体基因(*AST68*)。拟南芥中有4种*APS*, 分别是质体中的*APS1*、*APS3*和*APS4*以及细胞质中的*APS2*, 5'-RACE分析表明*APS1*和*APS4*是miR395的靶基因, 说明miR395主要涉及质体中的硫, miR395在硫浓度比较低时诱导表达, *APS1*被同化, mRNAs被剪切; 而在硫供应充足时, miR395的表达水平很低, *APS1*表达量丰富。*AST68*编码的硫运载体定位于叶和根的微管组织, 涉及植物体内硫酸盐从根到叶的转运。在硫酸盐供应不足时, 大量的*AST68* mRNA在根部积累。可以看出miR395不仅可以调节植物体内硫的再分配, 而且调节硫的代谢, 两者协作完成同一代谢途径, 这种一个miRNA调控两个不同基因的现象在植物中是非常少见的(Sunkar等2007)。

5.1.4 miRNA与铜(copper)不足 铜是某些结构蛋白和催化蛋白的重要组成部分, 对植物的生长发育具有重要的作用。miR398通过剪切目标基因*CSD1*和*CSD2*的mRNA参与铜的胁迫反应。在铜离子的供应不足时, miR398表达上升, *CSD1*和*CSD2*的mRNA被剪切, *CSD*消耗的铜离子含量减少, 节省下来的铜离子被质体蓝素(plastocyanin)所用(Yamasaki等2007)。植物中另外3个miRNA家族: miR397、miR408和miR857, 其目标基因也编码含铜蛋白(如含铜漆酶家族), 在铜离子的浓度比较低的情况下, miR397、miR408和miR857积累(Abdel-Ghany和Pilon 2008)。可以看出, 在铜离子供应不足时, miRNA负调节部分含铜蛋白, 节省下来的铜离子为最必需的含铜蛋白所利用, 对调节铜离子的动态平衡具有重要意义。

5.2 miRNA在植物逆境胁迫中的作用

5.2.1 miRNA与重金属胁迫 重金属污染已经成为一个日趋严重的环境问题。Zhou等(2008b)研究了重金属(Hg、Cd和Al)对截形苜蓿(*Trigonella ruthenica* L.) miRNAs的影响,发现miR171在重金属胁迫下表达量发生改变,并与重金属种类和浓度有关。在重金属胁迫下miR319、miR393和miR529表达量上升,其中,miR319可以被Cd和Al诱导,但不受Hg的影响;miR393可以被Hg和Cd诱导,但不受Al的影响;miR529可以被上述3种重金属胁迫诱导表达,Al胁迫的诱导效应最强。在3种重金属胁迫下,miR171表达只略微增加;而miR166和miR398则表达下降。miR160和miR395在重金属胁迫下诱发活性氧出现,从而不受重金属胁迫影响(Zhou等2008b)。

5.2.2 miRNA与高盐胁迫 近年来通过对逆境响应miRNA的研究,鉴定了一些盐胁迫响应miRNA。如盐胁迫后青杨中有161个miRNA表达变化,旱柳(*Salix matsudana* Koidz)中有32个miRNA表达变化(周婧2010)。Jia等(2009b)研究了盐胁迫下拟南芥与毛果杨miRNA的时序表达,结果表明,盐胁迫下,毛果杨miR398上调表达,但表达量随时间不断变化;而在拟南芥中miR398表达受盐胁迫抑制,且表达量恒定。研究证实包括高盐胁迫在内的多种逆境抑制miR398表达(Jagadeeswaran等2009)。此外,miR160是另一个响应盐胁迫的miRNA,高盐处理后miR160b下调表达,推测高盐处理引起miR-160b靶基因*ARF17*表达水平增加,从而影响盐胁迫下根的生长(周立敬2011)。Gao等(2010)研究发现,水稻osa-MIR396c在盐胁迫下发生下调表达,而其他osa-MIR396家族成员则不受其诱导。过表达osa-MIR396c的转基因水稻,其耐盐性大大降低,说明osa-MIR396c是水稻中参与耐盐的负调控子。在盐胁迫下,水稻miR393家族的osa-MIR393b表达不受影响。通过对过表达osa-MIR393拟南芥和水稻的表型分析发现,与野生型植株相比,转基因株系对盐胁迫较敏感。这些结果表明过表达osa-MIR393能够负调控水稻的耐盐性(Gao等2011)。

转miR397基因的拟南芥植株抗盐性提高;与之相反,抗miR397的转基因拟南芥的耐盐能力减弱(Sunkar和Zhu 2007);由此说明,miR397可能对植物耐盐性是非常重要的。

5.2.3 miRNA与低温胁迫 低温是限制植物生长和分布的一种非生物胁迫因素,多种miRNA可以通过影响生长素或ABA信号途径,参与植物的低温胁迫反应。研究表明,某些miRNA可能参与了与胁迫响应基因的表达及植株适应性变化;芯片杂交实验还表明,低温诱导拟南芥miR172、miR171、miR169、miR408及毛果杨miR477、miR168的表达;同时也可以诱导miR164a、miR165a/b、miR166a/b/d和miR394a的表达,他们分别抑制*NAC1*和*ATHB-8*的表达,最终通过降低生长素效应,提高植物对低温胁迫的适应。其中miR169家族在低温下表达上调,通过抑制细胞壁松弛或生长植物,参与到植物低温胁迫反应中,在植物抵御生物胁迫的过程中发挥作用(Liu等2008)。与之相反,低温抑制了毛果杨miR156、miR475和miR476的表达。Zhou等(2008a)基于转录组预测方法鉴定出拟南芥miR398也受低温诱导表达。低温可以诱导木薯(*Manihot esculenta* Crantz)的miR156a和miR399e等6个miRNA上调表达,而miR171a/b/c和miR157b等10个miRNA被抑制表达(Zhang等2009)。

通过全基因组测序及芯片杂交方法对冷胁迫下短柄草(*Brachypodium distachyon* L.)属的miRNA研究证实,低温诱导了miR397表达,短柄草属miRNA主要由一些保守的miRNA和一些低丰度的非保守miRNA组成,这些miRNA均在冷胁迫下产生(Lu等2008)。其中所有的保守miRNA在冷胁迫下呈上调趋势,从而揭示了miRNA在冷胁迫下的重要作用(Zhao等2007)。miR393的靶基因是E3泛素连接酶和生长素信号的正调控因子TIR1,其中E3的靶蛋白被推测是植物适应冷胁迫的调节因子(杨光2010)。

5.2.4 miRNA与干旱胁迫 植物的生长受干旱影响很大,实验发现拟南芥中的miR169g和miR393可以被干旱诱导(Robertus等2009)。Wei等(2009)通过miRNA芯片杂交实验表明,干旱胁迫下,来自13个物种的34个miRNA表达显著变化。这些miRNA靶基因大部分都含有干旱胁迫下ABA响应元件。miR474受干旱胁迫诱导,其靶基因丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)是脯氨酸积累过程的负调控元件。干旱胁迫抑制miR168、miR528和miR167表达,其各自靶基因有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)、过

氧化物酶(peroxidase, POD)和磷脂酶(phospholipases D, PLD)表达上调,启动ABA诱导的气孔运动和抗氧化防御。

陈锐(2009)分析了野生大豆(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.)小分子RNA文库,得到141个保守的miRNA和171个新的miRNA,新的miRNA中有53个预测到共206个靶基因,其功能涉及到植物生长发育和环境响应的各个方面,其中miR319、miR160和miR167在干旱胁迫后明显下调表达;gso-miR1和gso-miR6在干旱胁迫后上调表达。干旱胁迫下,拟南芥中有9个miRNA与在水稻中的表达方式相反(Zhou等2010)。miR169在拟南芥和紫花苜蓿(*Medicago sativa* Linn.)中下调表达,而在水稻中上调表达(Sunkar等2012)。以上研究表明,不同作物,甚至是同一作物的不同品种对干旱胁迫的响应机制也不尽相同。

5.2.5 miRNA与植物病虫害胁迫 在正常情况下,miRNA能够调控某些抗病途径中的关键靶基因来抵御病菌的侵袭,鞭毛蛋白能提高拟南芥对紫丁香属假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)的抗性,原因在于来源于鞭毛蛋白的多肽能诱导产生一个对生长素受体(*TIR1*、*TIR2*和*TIR3*) F-box mRNAs进行负调控的miRNA,抑制生长素信号,从而能抑制该菌的生长(Navarro等2006)。其中miR159的表达量急剧上升,表明它可能参与了大豆对该菌侵染过程的应答。Ng等(2011)的研究发现,miR158和miR159基因在植物抵御病毒侵染的过程中参与调控介导。

除了参与植物对细菌的抗性反应外,也参与植物对真菌和昆虫的抗性反应,如松树(*Pinus thunbergii* Parl.)感染梭形锈病之后,一些miRNAs表达与梭形锈病的发病程度有关(Lu等2007)。如果沉默烟草(*Nicotiana tabacum* Linn.)中*RDR1*,会大大增加植物对食草昆虫,如烟草原蛾(*Manduca sexta* L.)、盲蝻(*Isabel ravana* Kirby)、甲虫(*Dastarcus longulus* Sharp)和蝗虫(*Oxya chinesis* Thunbery)攻击的敏感程度,而*RDR1*在miRNA生物合成中起着重要作用,推测miRNAs在植物防御有害昆虫方面也起作用(Pandey和Baldwin 2007)。

5.2.6 miRNA与氧化胁迫 植物在正常和逆境环境中均能产生活性氧(ROS),植物在长期的进化过程中发展了一套复杂有效的系统来维持体内ROS的

平衡(Apel和Hirt 2004)。目前已知的miRNA398靶向的另外一个基因是细胞色素c氧化酶V亚基,但对其调控网络和是否参与植物的抗氧化过程还有待进一步研究。氧化胁迫下,*CSD1*和*CSD2* mRNA上miR398剪切位点发生改变(Dugas和Bartel 2008);*CSD1*及其蛋白质的积累受到miR398调控,*CSD2* mRNA的转录产生能量消耗,从而推测miR398应该在正常生长条件也有重要作用,如超表达miR398的拟南芥,除了*CSD*活性下降,没有其他明显的表型变化(Yamasaki等2007)。

Moldovan等(2010)从经过缺氧处理的拟南芥根组织中鉴定出属于46个家族的65个特异miRNA,属于3个家族的14个tasiRNA,缺氧导致19个家族中46个miRNA及所有tasiRNA发生丰度改变。齐晓花等(2011)进行了黄瓜3-磷酸甘油醛脱氢酶基因(*CsGAPDH*)的克隆及其淹涝胁迫响应分析,结果发现*CsGAPDH*属于黄瓜淹涝胁迫响应基因,当黄瓜受到淹涝胁迫后,*CsGAPDH*在黄瓜根、茎、叶中均有表达,但在根中被强烈诱导表达,表达量的上升幅度显著高于茎和叶中的增加幅度,表明黄瓜根细胞是响应淹涝胁迫的主要组织,同时研究还表明淹涝胁迫使得茎叶中的糖酵解途径增强,糖代谢能力短时间内得到加强,从而使植物体维持较高的能荷水平而正常生长。

5.2.7 miRNA与物理胁迫 检测白杨受张力或压缩力胁迫时木质部的miRNA时(Lu等2005),发现其中大部分miRNAs表达量发生了变化,且与张力或压缩力胁迫的矫正生长有关。其中两类在张力或压缩力胁迫时表达相反。Lu等(2008)从毛果杨木质部组织受到机械胁迫的5个样品中分离出多种与机械损伤相关的miRNA,例如受张力和压力下调表达的miR156、miR162和miR164;受张力和压力上调表达miR408;受压力增强表达的miR159;仅受压力下调表达的miR160和miR172,以及受张力轻微下调的miR168。miRNA在植物面对机械应力状态发生改变时有着重要的防御调控作用(Lu等2008)。

在长期的进化过程中,植物自身也发展了抵御UV-B辐射的保护和修复损伤机制,推测有11个miRNA家族涉及UV-B胁迫反应。这些miRNA家族中,每个家族至少有一个成员在UV-B辐射下的表达量上调。Jia等(2009a)研究证明,毛果杨中的miRNA在紫外线辐射下也起到了调控作用。

UV-B辐射诱导miRNA基因表达来源于对模式植物拟南芥的研究。Zhou等(2007)利用miRNA基因芯片从拟南芥植株中筛选与UV-B辐射相关的miRNA,并提出新的生物信息学方法来验证得到的与UV-B辐射有关的miRNA和它们在基因表达调控中的功能。该研究得到了21个miRNAs,分别属于11个miRNA基因家族,这些miRNA基因均受UV-B辐射的正调控。对这些miRNA的靶基因预测后发现,这些与UV-B辐射有关的miRNA可能参与了微管细胞的分化、微管的发育、分生组织的形成和侧根形成等生理过程中的生长素信号传导过程。但这些由miRNA介导的抗UV-B辐射的分子机制有待于进一步的研究。

6 展望

miRNA是生物体内一类重要的小分子RNA,具有调控生物体的生长发育、细胞程序性死亡以及新陈代谢等多种功能。miRNA的发现是RNA研究领域一个里程碑式的突破,目前关于miRNA的研究主要集中在基因组已被解析的模式植物上,对于非模式植物则研究较少。今后加强基因组信息较少的非模式植物miRNA研究,必将对拓宽研究物种及其研究领域具有重大意义。

虽然对于某些miRNA在植物生长发育过程中的功能得以验证,但大部分miRNA作用机理尚不明确。多数miRNA可以调控多种靶基因,确定相应转录因子或相关蛋白在植物整个发育过程及生命过程中的调控机制,弄清miRNA的功能及其复杂的网络关系,是今后miRNA研究的重大挑战。同时,miRNA在参与植物逆境胁迫基因表达调控中的重要作用,将为我们理解植物抗逆生物学机制提供了新的认识,也为作物抗逆境胁迫研究指明了新的方向。随着对植物miRNA的形成、功能及作用机制深入研究及针对miRNA研究方法不断改进,miRNA在植物体中的生物学功能、作用机制、生长发育以及抗逆调控途径将会得到更清晰地阐释。

参考文献

- 陈锐(2009). 耐旱野生大豆microRNA的鉴定与表达分析[博士学位论文]. 北京: 中国农业科学院
- 冯卓(2012). 低氮胁迫下黄瓜幼苗差异表达基因鉴定与蛋白质组学分析[硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学
- 齐晓花, 许文学, 罗晶晶, 高海洁, 徐强, 林肖剑, 朱碧云, 陈学好(2011). 黄瓜3-磷酸甘油醛脱氢酶基因*CsGAPDH*的克隆及其胁迫响应分析. 园艺学报, 38 (9): 1693~1698
- 许振华(2011). 玉米低硝酸盐响应microRNA及靶基因鉴定与验证[硕士学位论文]. 北京: 中国农业科学院
- 杨光(2010). 玉米苗期冷响应分子机理的研究[博士学位论文]. 长春: 吉林大学
- 周立敬(2011). 盐芥根响应高盐的microRNA的分离与验证[硕士学位论文]. 北京: 中央民族大学
- 周婧(2010). 盐胁迫条件下青杨和旱柳miRNA表达变化研究[硕士学位论文]. 北京: 中国林业科学研究院
- Abdel-Ghany SE, Pilon M (2008). MicroRNA mediated systemic down regulation of copper. Protein, Expression in response to low copper availability in *Arabidopsis*. J Biol Chem, 283 (23): 15932~15945
- Achard P, Herr A, Baulcombe DC, Harberd NP (2004). Modulation of floral development by a gibberellin regulated microRNA. Development, 131 (14): 3357~3365
- Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu Rev Plant Biol, 55: 373~399
- Baker CC, Sieber P, Wellmer F, Meyerowitz EM (2005). The early *extra petals1* mutant uncover sarole for microRNA *miR164c* in regulating petal number in *Arabidopsis*. Curr Biol, 15 (4): 303~315
- Chiou TJ (2007). The role of microRNAs in sensing nutrient stress. Plant Cell Environ, 30 (3): 323~332
- Dugas DV, Bartel B (2008). Sucrose induction of *Arabidopsis* miR398 represses two Cu/Zn superoxide dismutases. Plant Mol Biol, 67 (4): 403~417
- Fahlgren N, Montgomery TA, Howell MD, Allen E, Dvorak SK, Alexander AL, Carrington JC (2006). Regulation of *AUXIN RESPONSE FACTOR3* by *TAS3* ta-siRNA affects developmental timing and patterning in *Arabidopsis*. Curr Biol, 16 (9): 939~944
- Fujii H, Chiou TJ, Lin SI, Aung K, Zhu JKA (2005). miRNA involved in phosphate starvation response in *Arabidopsis*. Curr Biol, 15 (22): 2038~2043
- Gao P, Bai X, Yang L, Lv D, Pan X, Li Y, Cai H, Ji W, Chen Q, Zhu Y (2011). *osa-MIR393*: a salinity- and alkaline stress-related microRNA gene. Mol Biol Rep, 38 (1): 237~242
- Gao P, Bai X, Zhu Y, Lv D, Bai X, Yang L, Li Y, Cai H, Ji W, Guo DJ, Zhu YM (2010). Over-expression of *osa-MIR396c* decreases salt and alkali stress tolerance. Planta, 231 (5): 991~1001
- Husbands A, Chitwood D, Plavskin Y, Timmermans MCP (2009). Signals and prepatterns: new insights into organ polarity in plants. Genes Dev, 23: 1986~1997
- Jagadeeswaran G, Saini A, Sunkar R (2009). Biotic and abiotic stress down-regulate miR398 expression in *Arabidopsis*. Planta, 229 (4): 1009~1014
- Jia X, Ren L, Chen Q, Li R, Tang G (2009a). UV-B-responsive microRNAs in *Populus tremula*. Plant Physiol, 166 (18): 2046~2057
- Jia XY, Wang WX, Ren LG, Chen QJ, Mendu V, Willcut B, Dinkins R, Tang XQ, Tang GL (2009b). Differential and dynamic regulation of miR398 in response to ABA and salt stress in *Populus tremula* and *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol Biol, 71 (1-2): 51~59

- Lauter N, Kampani A, Carlson S, Goebel M, Moose SP (2005). *MicroRNA172* down-regulates *glossy15* to promote vegetative phase change in maize. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (26): 9412~9417
- Liu D, Songa Y, Chen Z, Yu D (2009a). Ectopic expression of miR396 suppresses *GRF* target gene expression and alters leaf growth in *Arabidopsis*. *Physiol Plant*, 136 (2): 223~236
- Liu HH, Tian X, Li YJ, Wu CA, Zheng CC (2008). Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *RNA*, 14 (5): 836~843
- Liu Q, Zhang YC, Wang CY, Luo YC, Huang QJ, Chen SY, Zhou H, Qu LH, Chen YQ (2009b). Expression analysis of phytohormone-regulated microRNAs in rice, implying their regulation roles in plant hormone signaling. *FEBS Lett*, 583 (4): 723~728
- Lu S, Sun YH, Shi R, Clark C, Li L, Chiang VL (2005). Novel and mechanical stress-responsive MicroRNAs in *Populus trichocarpa* that are absent from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17 (8): 2186~2203
- Lu SF, Sun YH, Chiang VL (2008). Stress-responsive microRNAs in *Populus*. *Plant J*, 55 (1): 131~151
- Lu SF, Sun YH, Amerson H, Chiang VL (2007). MicroRNAs in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) and their association with fusiform rust gall development. *Plant J*, 51 (6): 1077~1098
- Mallory AC, Bartel DP, Bartel B (2005). MicroRNA directed regulation of *Arabidopsis AUXIN RESPONSE FACTOR17* is essential for proper development and modulates expression of early auxin response genes. *Plant Cell*, 17 (5): 1360~1375
- Mathieu J, Yant L J, Murdter F, Kuttner F, Schmid M (2009). Repression of Flowering by the miR172 target SMZ. *PLOS Biol*, 7 (7): e1000148
- Moldovan D, Spriggs A, Yang J, Pogson BJ, Dennis ES, Wilson IW (2010). Hypoxia responsive and microRNAs *trans*-acting small interfering RNAs in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 61 (1): 165~177
- Navarro L, Dunoyer P, Jay F, Arnold B, Dharmasiri N, Estelle M, Voinnet O, Jones JD (2006). A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science*, 312 (5772): 436~439
- Ng DWK, Zhang CQ, Miller M, Palmer G, Whiteley M, Thollic D, Chen ZJ (2011). *Cis*- and *trans*-regulation of miR163 and target genes confers natural variation of secondary metabolites in two *Arabidopsis* species and their allopolyploids. *Plant Cell*, 23 (5): 1729~1740
- Pant BD, Buhtz A, Kehr J, Scheible WR (2008). MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis. *Plant J*, 53 (5): 731~738
- Pant BD, Musialak Lange M, Nuc P, May P, Buhtz A, Kehr J, Walther D, Scheible WR (2009). Identification of nutrient responsive *Arabidopsis* and rapeseed microRNAs by comprehensive realtime polymerase chain reaction profiling and small RNA sequencing. *Plant Physiol*, 150 (3): 1541~1555
- Pandey SP, Baldwin IT (2007). RNA directed RNA polymerase 1 (RdR1) mediates the resistance of *Nicotiana attenuata* to herbivore attack in nature. *Plant J*, 50 (1): 40~53
- Reyes JL, Chua NH (2007). ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 49 (4): 592~606
- Robertus JL, Harms G, Blokzijl T, Booman M, de Jong D, van Imhoff G, Rosati S, Ed Schuurring, Kluin P, van den Berg A (2009). Specific expression of miR-17-5p and miR-127 in testicular and central nervous system diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol*, 37 (31): 227~235
- Rodriguez RE, Meczial MA, Debernardi JM, Schommer C, Weigel D, Palatnik JF (2010). Control of cell proliferation in *Arabidopsis thaliana* by microRNA miR396. *Development*, 137 (1): 103~112
- Sunkar R, Chinnusamy V, Zhu J, Zhu JK (2007). Small RNAs as big players in plant abiotic stress responses and nutrient deprivation. *Trends Plant Sci*, 12 (7): 301~309
- Sunkar R, Li YF, Jagadeeswaran G (2012). Functions of microRNAs in plant stress responses. *Trends Plant Sci*, 17 (4): 1~8
- Sunkar R, Zhu JK (2007). MicroRNAs and short-interfering RNAs in plants. *J Integr Plant Biol*, 49 (6): 817~826
- Wang JW, Wang LJ, Mao YB, Cai WJ, Xue HW, Chen XY (2005). Control of root cap formation by microRNA-targeted auxin response factors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17 (8): 2204~2216
- Wei LY, Zhang DF, Xiang F, Zhang ZX (2009). Differentially expressed miRNAs potentially involved in the regulation of defense mechanism to drought stress in maize seedlings. *Int J Plant Sci*, 170 (8): 979~989
- Wu G, Park MY, Conway SR, Wang JW, Weigel D, Poethig RS (2009). The sequential action of miR156 and miR172 regulates developmental timing in *Arabidopsis*. *Cell*, 138 (4): 750~759.
- Xie Z, Kasschau KD, Carrington JC (2003). Negative feedback regulation of *Dicer-Like1* in *Arabidopsis* by microRNA guided mRNA degradation. *Curr Biol*, 13 (9): 784~789
- Yamasaki H, Abdel-Ghany SE, Cohu CM, Kobayashi Y, Shikanai T, Pilon M (2007). Regulation of copper homeostasis by microRNA in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 282 (22): 16369~16378
- Zhang JY, Xu YY, Huan Q, Chong K (2009). Deep sequencing of *Brachypodium* small RNAs at the global genome level identifies microRNAs involved in cold stress response. *BMC Genomics*, 10: 449
- Zhao B, Liang R, Ge L, Li W, Xiao H, Lin H, Ruan K, Jin Y (2007). Identification of drought-induced microRNAs in rice. *Biochem Biophys Res Commun*, 354 (2): 585~590
- Zhou LG, Liu YH, Liu ZC, Kong DY, Duan M, Luo LY (2010). Genome-wide identification and analysis of drought-responsive microRNAs in *Oryza sativa*. *J Exp Bot*, 61 (15): 4157~4168
- Zhou XF, Wang GD, Sutoh K, Zhu JK, Zhang WX (2008a). Identification of cold-inducible microRNAs in plants by transcriptome analysis. *Biochim Biophys Acta*, 1779 (11): 780~788
- Zhou XF, Wang GD, Zhang WX (2007). UV-B responsive microRNA genes in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Syst Biol*, 3 (103): 1~10
- Zhou ZS, Huang SQ, Yang ZM (2008b). Bioinformatic identification and expression analysis of new microRNAs from *Medicago truncatula*. *Biochem Biophys Res Commun*, 374 (3): 538~542