

miRNAs 与植物生长发育的调控

袁爱平^{1,2} 张福耀¹ 毛雪² 侯爱斌¹ 李润植^{2,*}

¹ 山西省农业科学院高粱研究所, 晋中 030600; ² 山西农业大学生物工程中心, 太谷 030801

miRNAs and Developmental Regulation in Plants

YUAN Ai-Ping^{1,2}, ZHANG Fu-Yao¹, MAO Xue², HOU Ai-Bin¹, LI Run-Zhi^{2,*}

¹Institute of Sorghum, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Jinzhong 030600; ²Center for Biological Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801

提要 miRNAs 是 microRNAs 的简称, 是长度约 19~25 nt 的单链核苷酸片段, 它们广泛存在于真核生物中。miRNAs 可以调节靶基因的转录和翻译。miRNAs 介导调控的靶基因很多都是转录因子。近来发现和鉴定的许多植物 miRNAs 在植物生长发育中起着关键的调节作用。该文概述了 miRNAs 的特征、作用机制、参与 miRNAs 途径的蛋白质、miRNAs 途径的突变体、miRNAs 介导的植物生长发育调控以及 miRNAs 与 siRNAs 途径交互作用的最新研究进展。

关键词 miRNAs; 基因表达; 发育调控

长久以来, 人们对 RNA 的认识只局限于 DNA 的“转录信使”这一小角色, 它们从 DNA 获得自己的顺序, 然后将遗传信息转化成蛋白质。但最近一系列的研究发现, 生物体内存在着丰富的非编码小分子 RNA, 它们可以通过与互补序列的结合反作用于 DNA, 关闭或调节目标基因的表达, 从而操纵着许多细胞功能。miRNAs (microRNAs) 就是近来受重视的一组小的 RNA 分子。它们是一些 5' 端带磷酸基团、3' 端带羟基的 19~25 个核苷酸组成的单链 RNA 分子。miRNAs 来源于具有发夹结构的转录本前体 (90~100 nt), 可结合于具有互补序列的 mRNAs 分子上, 这样它们就可以通过调节转录本的稳定性或目的 mRNAs 的翻译来调节靶基因的表达。miRNAs 大量存在于真核生物中, 在结构和功能方面具有保守性。

近年来, 有关 miRNAs 的研究日益增多, 已从秀丽线虫 (*Caenorhabditis elegans*)、果蝇 (*Drosophila*)、拟南芥 (*Arabidopsis*) 和人类基因组中发现和鉴定了许多 miRNAs, miRNAs 成为基因组学和发育生物学的一个热点研究领域^[1]。本文着重介绍植物中 miRNAs 的发现和特征、参与 miRNAs 途径的蛋白以及 miRNAs 途径突变体的鉴定、miRNAs 的信号转导、miRNA 途径和 siRNA 途径的互作以及 miRNAs 在植物生长发育中的调节作用的研究新进展。

1 miRNAs 的发现和特征

miRNAs 首次发现于秀丽线虫基因组。在研究秀丽线虫的 2 个调节发育时序的关键基因——*lin-4* 和 *let-7* 中发现, 这 2 个基因可编码产生一些小分子 RNA。这些小分子 RNA 是长度约为 19~25 nt 的单链核苷酸片段, 因此把它们定名为 microRNAs, 简称 miRNAs。*lin-4* 和 *let-7* 首先产生大约 70 nt 的有茎-环结构的前体, 然后经过核糖核酸酶 III (RNase III) DICER 和 PPD 蛋白 (RDE1/AGO 家族成员) 修饰加工为成熟的单链核苷酸 RNAs, 即 miRNAs。进一步的研究发现 *lin-4* 和 *let-7* 分别结合在线虫发育基因 *lin-14*、*lin-28* 和 *lin-41* 的 3' 端非翻译区域, 通过和靶基因的 3' 端非翻译区域同源序列的部分配对来阻碍靶基因的翻译^[2~5]。

此后, 采用基因组学的方法和以 DICER 的产物特征为指导, 不同研究小组分别从秀丽线虫、果蝇、人类、拟南芥和裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 等基因组中分离并测到了大量 19~25 nt 的 RNAs 分子。通过与基因组序列的比较发现, 许多小的 RNAs 是从大的、具发夹结构的双螺旋

收稿 2003-11-20 修定 2004-02-17

资助 国家教育部科技重点项目和国家教育部出国留学人员科研基金 (2001-11) 和山西省出国留学人员科研资助 (1999-85)。

*通讯作者 (E-mail: rli2001@hotmail.com, Tel: 0354-6288374)。

RNA 前体的 3' 末端加工而成, 因此是典型的 miRNAs。

现今研究表明 miRNAs 有以下特征: (1) 成熟的 miRNAs 是长度 19~25 nt 的单链核苷酸片段, 可通过 Northern 印迹检测到; (2) 在 DICER 酶和 PPD 蛋白的作用下由前体双链 RNA (dsRNA) 生成; (3) 能够与靶标 mRNA 部分互补配对干扰合成蛋白质, 但本身不编码蛋白质; (4) 在生物体中大量存在但不是无所不在, 可能只在特定的组织和特定的时间才表达。

miRNAs 的这些特征类似于干扰性小分子 RNA——siRNAs (small interfering RNA)。siRNAs (21~24 nt) 是植物转录后基因沉默的标志, 它们具有很强的关闭基因的功能, 能够介导 RNA 干扰 (RNA interfering, RNAi) 现象。miRNAs 和 siRNAs 的区别主要在于: (1) 成熟的 miRNAs 以单链形式存在, 而成熟的 siRNAs 是以双链形式存在; (2) miRNAs 参与正常情况下的生长发育基因调控, 而 siRNAs 不参与生物体的正常生长发育调控, 只在病毒和其他双链 RNA 的诱导下才产生; (3) miRNAs 在转录水平和翻译水平起作用, 而 siRNAs 为转录后水平的调控; (4) 两类 RNA 在加工过程中都需要 DICER 酶的作用, 但 miRNAs 是不对称加工, siRNAs 则对称来源于双链 RNA 的前体和两侧臂^[6~10]。

2 植物中的 miRNAs

2002 年夏, Llave 等^[11]、Reinhart 等^[12]和 Park 等^[13] 3 个研究小组在拟南芥中分离出了 100 多个 miRNAs。和动物中 miRNAs 一样, 这些植物 miRNAs 也是通过 DICER 切割有茎-环结构的前体而生成的, 其大小为 20~24 nt。与动物中不同的是, 拟南芥 miRNAs 的前体双链 RNA (dsRNA) 大约是动物中的 3 倍长^[6]。他们所发现的 miRNAs 只有少数几个是相同的, 这意味着他们所检测的 miRNAs 只是拟南芥 miRNAs 中的一部分。因此, 可以推测仍然有大量的植物 miRNAs 有待鉴定。Tang 等^[5] 研究组最近又发现了 280 个 miRNAs 序列可以有力地证明这一点。另外, 用 Northern 印迹检测了 25 个 miRNAs 的表达, 其中绝大多数呈现时空表达特异性, 反映出植物 miRNAs 的转录和加工受发育调控^[14, 15]。

在拟南芥中发现的一些 miRNAs 也分别存在于水稻、玉米和烟草的基因组序列中。水稻基因

组中有 8 个与拟南芥相应的 miRNAs 的同源序列, 且多数水稻同源序列与其邻近的序列也能形成茎-环结构。尽管紧接编码 miRNAs 序列的两侧翼序列在水稻和拟南芥基因组中差异较大, 然而编码 miRNAs 序列的特有结构却是保守的, 说明 miRNAs 在经过了长达 2.5 亿年的进化后仍然有一定的保守性^[11]。大量不同种类的 miRNAs 在植物中的存在以及它们在进化中的保守性有力地表明, miRNAs 具有重要的生物学功能^[10, 11]。

3 miRNAs 的靶标

鉴定 miRNAs 作用的靶基因是 miRNAs 研究的一项重要任务。尽管已经有了完整的秀丽线虫和果蝇的基因组序列, 但是大多数动物 miRNAs 的靶标还没有得到鉴别。Rhoades 等^[16] 曾提出一个比较算法来鉴别秀丽线虫和果蝇中 miRNAs 的靶标, 但是没有收到明显的成效。

然而, Llave 等^[11]、Reinhart 等^[12]和 Park 等^[13] 3 个研究小组都报道植物 miRNAs 的靶标是能与 miRNAs 部分或完全互补的 mRNAs。与动物相比, 植物 miRNAs 与其靶基因序列具有更高的互补性。受 miRNAs 作用的靶 mRNAs 一般含有单一的靶位点, 且常位于开放阅读框内。植物多数 miRNAs 都和一些已知基因序列几乎完全互补, 因此就可以推测出它们所作用的一系列可能的靶标^[11, 16]。Rhoades 等^[16] 的研究发现, 至少有 1 个 mRNA 是所检测的 16 个 miRNAs 中的 14 个 miRNAs 的作用靶标, 而且大多数得到鉴定的 miRNAs 作用靶标是转录因子。不同的 miRNAs 可与一个基因家族的多个成员互补, 显示出多个转录本的表达可被协同调节。

miRNAs 的靶标包括控制植物生长发育的基因, 例如, 与芽顶端分生组织形成有关的基因杯状子叶 2 (*CUPSHAPED-COTYLEDONS 2*); 参与信号转导和细胞不对称分裂的 *SCARECROW* 基因家族成员; 生长素感应基因和用来调节花发育的基因, 如 *LEAFY* 调节因子 *myb33* 和 *APETALA1* 调节因子 *SPBL3*^[17]。引起人们极大关注的 miRNAs 的靶标是同源域-ZIP (homeodomain-ZIP) 基因家族的成员, 包括 *revoluta*、*phabulosa* (*phb*) 和 *phavoluta* (*phv*)。 *phabulosa* 和 *phavoluta* 的显性等位基因影响叶子的极性, 能够使与 miRNAs 相互补的一个长度为 19 nt 的编码区受到损害, *phabulosa* 和 *phavoluta* 的显性等位基因中单个碱基的变化可以

导致目标 mRNA 的异位表达或过量表达, 表明碱基对的互补性参与了功能获得性的表型, 靶基因 mRNA 的消长及翻译都可受到 miRNAs 的调节^[18]。

4 miRNAs 的作用机制

人类细胞系的研究结果表明, miRNAs 和它的靶标之间的互补程度决定了 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)是否能引起目标 mRNAs 的切除(完全配对时)或翻译阻遏(不完全配对时)^[19, 20]。相对于动物而言, 植物 mRNAs 一般包含 1 个位于开放阅读的单靶标位点, 且这个位点几乎和 miRNAs 完全互补配对, 因此, 推测 miRNAs 在植物中普遍存在的作用是对靶标的切除, 而不是翻译阻遏。Llave 等^[20]、Tang 等^[5]也都提到了 miRNAs 引导的切除作用确实存在, 指出 miRNAs 的精确配对是类 *SCARECROW* 基因 mRNAs 的切除所必需的。

4.1 参与 miRNAs 加工的蛋白质 DICER 是形成 miRNAs 加工所必需的酶, 它包括 1 个 RNA 解螺旋酶结构域即 PAZ 结构域和 1 个或多个 RNase III 结构域。拟南芥基因组中包括 4 个推测的 *Dicer* 同源序列, 编码 *Dicer* 的拟南芥同源序列的基因称为类 *Dicer* 基因 (*DCL*)。Schauer 等^[21] 研究指出, *DCL1* 和 *DCL4* 含有核定位序列, *DCL2* 和 *DCL3* 则定位于细胞质, 这些酶在植物中可能有不同的功能。

除了 DICER 外, miRNAs 途径还必须有 PPD (因共有 PAZ 和 PIWI domains 而得名) 蛋白的参与, 包括 AGO、PNH、EIF2C2 等, 它们组成了一个大的 PPD 蛋白家族。这个家族在线虫、果蝇、人类和植物的生长发育中是必不可少的。尽管 PPD 蛋白的详尽功能(包括保守的结构域的作用)还不十分明确, 但是已经确定它在 miRNAs 途径中起重要的作用, 并且和 DICER、RISC 复合体以及 miRNP(核糖核蛋白)有一定的联系^[22]。

拟南芥基因组编码 10 种可推测的 PPD 蛋白, 其中有 3 种特征已得到鉴定和描述, 包括 *ARGONAUTE1* (*AGO1*) 基因编码的蛋白、*PINHEAD* (*PNH*) / *ZWILLE* (*ZLL*) 基因编码的蛋白和 *ARGONAUTE4* (*AGO4*) 编码的蛋白。

4.2 miRNAs 途径的突变体 拟南芥是研究 miRNAs 途径的理想模式植物, 它不仅具有可识别的靶标, 而且已鉴定和描述了一些与 miRNAs 途径有关的突

变体。

通过对有关 *dc11* 突变的研究, 鉴定出与该基因相关的不同表型。*dc11* 突变可阻断 miRNAs 的切除作用, 但不影响 siRNAs 的合成。*dc11* 的零等位基因(曾称为 *sus1*) 导致胚发育在心形期以前就夭折, 胚柄过度分裂增生^[23]。去除碳末端结合双链 RNA 区域的 *dc11* 亚等位基因(曾称为 *caf1*, *carpel factory*) 则造成窄小、丝状叶片和花器官以及花分生组织中央区域的缺失。该突变也引起茎顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM) 的膨大和侧生分生组织的缺陷^[24]。

RNA 解螺旋酶区域点突变的其它两个 *dc11* 亚等位基因(曾称为 *sin1*) 的表型为植株矮小、开花推迟、短节间和雌性不育^[25]。由于受精后仅雌性的 *dc11* 等位基因表达, *sin-1* 类的亚等位突变对胚胎发育模式有母体效应^[26]。

拟南芥中 *caf/sin1* 突变导致 miRNAs 不能积累, 植株总是在进行营养生长而不进入生殖生长阶段^[3, 25]。

AGO1 基因是植物侧生器官极性建立所必需的。*ago1* 突变导致转录后基因沉默(PTGS) 出现障碍, 功能强的 *ago1* 基因突变可以破坏腋芽分生组织的形成和叶的发育, 植株出现窄的呈辐射状的叶片、开花延迟、窄的萼片和花瓣以及未连接的心皮^[27]。*ago1* 突变株的表现型类似于 *dc11* 突变体表现型。*dc11* 突变体中核糖核酸酶 III 的一个结构域遭到破坏, 使 miRNAs 的形成受到阻碍^[28]。功能弱的亚等位 *ago1* 基因的突变体产生的表现型类似于 *caf-1* 突变体产生的表现型——小而模糊的锯齿状叶子和短小的茎、半不育的花以及多个心皮, 说明亚等位基因 *ago1* 和 *caf-1* 影响相似的靶标^[28]。

AGO1 和另一种由 *PNH/ZLL* 编码的 PPD 蛋白有重叠作用^[29]。*PNH* 在水稻和拟南芥的茎尖、维管组织前体和近轴叶面表达。*PNH* 的异位表达引起侧生器官丧失。在拟南芥中, *pnh* 突变株茎干的生长受到抑制, 茎顶端分生组织扁平, 或植株呈现单个的辐射状的叶片结构。*pnh* 的水稻同源序列 *OsPNH* 的反义结构也可产生相似的表型。这说明 *AGO1* 和 *PNH* 功能在于建立器官的极性和保持茎顶端分生组织中细胞分生状态的能力。*pnh* 和 *ago1* 的双突变体的胚胎发育停止在球状阶段, 造成胚柄增殖过多^[29]。此表型与 *dc11* 的零等位基

因的表型相似。这显示这些基因在相似的途径中行使功能。

与 *PNH* 相反, *AGO4* 是 PTGS 所需的, 而不是发育所必需的。*ago4* 突变导致 DNA 甲基化位点特异性减少和长 siRNAs 水平的降低, 但未引起形态变化^[30]。这说明植物 DCL 蛋白和 PPD 蛋白一样, 在 miRNA 途径或 siRNA 途径中行使特异功能。

Chen 等^[31]最近还发现了另一个突变——*HUN enhancer 1 (HEN1)* 突变。*HEN1* 突变也阻止 miRNAs 的积累, 植株表现型类似于 *DCL1* 中 *caf-1* 突变体, 即叶卷曲、开花推迟、无花药和心皮特化。同样, *HEN1* 是 miRNAs 形成所需要的。*HEN1* 编码一种新的蛋白质, 表达广泛, 亦含有一个细胞核定位序列, 因此, 推测 *HEN1* 可能通过和 *DCL1* 的交互作用在细胞核内产生 miRNAs。

4.3 miRNAs的信号转导作用 尽管仍有待查明 *CAF* 和 *AGO1* 等突变体所存在的发育缺陷表型是否是由推测的 miRNAs 靶标所介导, 但是 Foster 等^[32]已证明一种病毒移动蛋白在烟草上的过量表达会产生放射状叶片, 表现型类似于拟南芥中 *AGO* 的强等位基因和显性 *PHB* 等位基因产生的表现型。移动蛋白促进病毒 RNA 在胞间连丝的迁移。而且, 叶子的极性需要分生组织和初始叶原基之间的信号交流^[33]。一种可能就是在分生组织的 RNAi 加工过程中产生的 miRNAs 通过胞间连丝到达近轴的区域后被运输到叶片, 这样, miRNAs 就能加入多肽、激素以及其它一些小分子一起行使主要发育信号作用, 从而调节植物基因的表达。

4.4 miRNA 途径与 siRNA 途径的互作 愈来愈多的研究显示, 除 miRNA 途径外, 许多有机体中存在着 siRNA 途径。siRNAs 通过与互补的 mRNAs 靶标紧密结合, 激活 RNAi 沉默联合体 (RNAi silencing complex, RISC), 从而切除靶标 mRNAs^[9]。siRNA 途径在控制转座子活性、调节植物生长发育、转录后基因沉默与植物抗病毒防卫机制中行使重要的内源作用^[34]。

DICER 酶和 PPD 蛋白不仅在 miRNA 途径中起作用, 在动植物和真菌中普遍存在的 RNA 沉默以及基因沉默中都有作用。某些 PPD 蛋白同时存在 miRNA 途径和 siRNA 途径中 (如 *AGO1*), 也有些 PPD 蛋白仅具 miRNAs 特异或 siRNAs 特异的功能 (如 *DCL1*)。Llave 等^[20]报道了几种与转座子相应的 miRNAs 的序列, 这和果蝇中发现转座子是 RNAi 靶标的结果是一致的。对裂殖酵母的研

究发现, 异染色质的存在依赖于 RNAi 机制的组成成分, 异染色质也是植物转座因子和 DNA 甲基化的主要区域。综上所述, miRNA 途径和 siRNA 途径有许多共同点。尽管现在对这两个途径是否是在不同的细胞器中起作用以及有多少基因同时参与两个途径还有待进一步研究, 但可以确定 miRNA 途径和 siRNA 途径的联系非常紧密。

Mallory 等^[35]报道病毒 PTGS 抑制因子 HcPro 可以减少烟草中 siRNAs 的数量而增加 miRNAs 的含量水平。最近, Kasschau 等^[15]在研究 HcPro 对拟南芥作用时, 也发现了同样的现象, 而且, HcPro 的过度表达还会导致 miRNAs 下游靶标的剪切率降低, 植物花的发育表型类似于 *dc11* 突变体的表型。这些结果表明 HcPro 是通过干扰 miRNAs 的活性来调控植物的发育, 而不是影响 miRNAs 的生成。miRNAs 活性的降低为何与 miRNAs 数量增加相关, 其原因尚不知。

5 结语和展望

真核细胞中存在的数目庞大的 miRNAs 可能是基因调控途径中丰富而重要的组分, 在生物中发挥着调节作用。miRNAs 的发现是生命科学的一大突破, 它拓展和丰富了以往人们对小分子 RNA 的认识, 促使生物学家重新反思对细胞进化的理解和认知。

miRNAs 途径中基因的突变产生的植株表现型有一些共同的特征, 涉及茎、花、腋芽的分生组织的形成, 叶的极性, 植株营养生长转向生殖生长的时序性等。某些突变体之间存在着遗传交互作用。Park 等^[13]小组研究 miRNAs 的靶基因指出, 49 个靶基因中有 34 个是参与植物茎尖和花分生组织发育的转录因子。这些都暗示 miRNAs 在植物发育过程中所起的作用, 尤其是在影响茎细胞功能和叶子的极性方面。根据 miRNAs 和 siRNAs 均可长距离传递的现象, Jorgensen^[36]认为 miRNAs 是诱导植物花分生组织分化的“成花素”(florigen)。

miRNAs 在植物中的发现以及对植物生长发育的影响是植物生物学研究领域的一个热点, 它为植物生物学研究提出了新的挑战和研究思路。有关植物 miRNAs 的研究还有许多需回答的问题。例如, miRNAs 是如何在翻译水平上抑制那些不能与其序列完全互补的靶基因表达的, 植物 miRNAs 和动物 miRNAs 的作用机制是否相同, 细胞中是否还存在更多的对基因表达起调控作用的未被我们发现的非

编码 RNA, 以及那些已经被发现的 RNA 在细胞中是否还起着一些不为人知的作用呢, 究竟在多大程度上, miRNAs 途径和 siRNAs 途径使用平行进化的同源基因以及这两条途径是否在细胞不同部位行使功能, 何种因素介导 miRNA 复合体的核-质转运, 这些都有待于进一步研究和探索。

因此, 随着基因组学研究的深入, 全面研究非编码 RNA 在不同细胞以及细胞的不同时期的功能已经成为后基因组时代的必需和必然, 这些研究成果也必将促进人类和整个生物界研究领域的进一步发展。

参考文献

- Couzin J. Breakthrough of the year. Small RNAs make big splash. *Science*, 2002, 298: 2296~2297
- Wightman B, Ha I, Ruvkun G et al. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 1993, 75: 855~862
- Lee RC. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75: 843~854
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403: 901~906
- Tang G, Reinhart BJ, Bartel DP et al. A biochemical framework for RNA silencing in plants. *Genes Dev*, 2003, 17: 49~63
- 马中良, 杨怀义, 田波. 真核生物中的微小RNA及其功能研究进展. *遗传学报*, 2003, 30(7): 693~696
- Hamilton AJ, Baulcombe DC. A species of small antisense RNA in post-transcriptional gene silencing in plants. *Science*, 1999, 286: 950~952
- Elbashir SM. RNA interference is mediated by 21- and 22-nt nucleotide RNAs. *Genes Dev*, 2001, 15: 188~200
- Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA et al. RNAi: Double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. *Cell*, 2000, 101: 25~33
- Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 2001, 294: 862~864
- Llave C, Kasschau KD, Rector MA et al. Endogenous and silencing-associated small RNAs in plants. *Plant Cell*, 2002, 14: 1605~1619
- Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW et al. MicroRNAs in plants. *Genes Dev*, 2002, 16(13): 1616~1626
- Park W, Li J, Song R et al. CARPEL FACTORY, a Dicer homolog, and HEN1, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 2002, 12: 1484~1495
- Finnegan EJ, Margis R, Waterhouse PM. Posttranscriptional gene silencing is not compromised in the *Arabidopsis* CARPEL FACTORY (DICER-LIKE1) mutant, a homolog of Dicer-1 from *Drosophila*. *Curr Biol*, 2003, 13: 236~240
- Kasschau KD, Xie Z, Allen E et al. P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with *Arabidopsis* development and miRNA function. *Dev Cell*, 2003, 4: 205~217
- Rhoades MW, Reinhart BJ, Lim LP et al. Prediction of plant microRNA targets. *Cell*, 2002, 110: 513~520
- Catherine A, Kidner, Rober A et al. Micro effects of microRNAs in plants. *Trends Genet*, 2003, 19(1): 13~16
- McConnell JR, Emery J, Eshed Y et al. Role of PHABULOSA and PHAVOLUTA in determining radial patterning in shoots. *Nature*, 2001, 411: 709~713
- Hutvagner G, Zamore PD. A microRNA in a multiple-turnover RNAi enzyme complex. *Science*, 2002, 297: 2056~2060
- Llave C, Xie Z, Kristin D et al. Cleavage of *Scarecrow*-like mRNA targets directed by a class of *Arabidopsis* miRNA. *Science*, 2002, 297: 2053~2056
- Schauer SE, Jacobsen SE, Meinke DW et al. DICER-LIKE1: blind men and elephants in *Arabidopsis* development. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 487~491
- Carmell MA, Xuan Z, Michael Q et al. The Argonaute family: tentacles that reach into RNAi, developmental control, stem cell maintenance, and tumorigenesis. *Genes Dev*, 2002, 16(21): 2733~2742
- Schwartz BW, Meinke DW. Disruption of morphogenesis and the transformation of the suspensor in abnormal suspensor mutants of *Arabidopsis*. *Development*, 1994, 120: 3235~3245
- Jacobsen SE, Running MP, Meyerowitz EM. Disruption of an RNA helicase/RNase III gene in *Arabidopsis* causes unregulated cell division in floral meristems. *Develop*, 1999, 126: 5231~5243
- Ray A, Lang JD, Golden T et al. *SHORT INTEGUMENT (SINI)*, a gene required for ovule development in *Arabidopsis*, also controls flowering time. *Development*, 1996, 122: 2631~2638
- Golden TA, Schauer SE, Lang JD et al. *SHORT INTEGUMENTS1/SUSPENSOR1/CARPEL FACTORY*, a Dicer homolog, is a maternal effect gene required for embryo development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2002, 130: 808~822
- Bohmer K et al. *AGO1* defines a novel locus of *Arabidopsis* controlling leaf development. *EMBO J*, 1998, 17: 170~180
- Morel JB, Godon C, Mourrain P et al. Fertile hypomorphic *ARGONAUTE (ago1)* mutants impaired in post-transcriptional gene silencing and virus resistance. *Plant Cell*, 2002, 14: 629~639
- Lynn K, Fernandez A, Aida M et al. The *PINHEAD/ZWILLE* gene acts pleiotropically in *Arabidopsis* development and has overlapping functions with the *ARGONAUTE1* gene. *Development*, 1999, 126: 469~481
- Zilberman D, Cao X, Jacobsen SE. *ARGONAUTE4* control of locus-specific siRNA accumulation and DNA and histone methylation. *Science*, 2003, 299: 716~719
- Chen X, Liu J, Cheng Y et al. *HEN1* functions pleiotropically in *Arabidopsis* development and acts in C function in the flower. *Development*, 2002, 129: 1085~1094
- Foster TM, Lough TJ, Emerson SJ et al. A surveillance system regulates selective entry of RNA into the shoot apex. *Plant Cell* 2002, 14: 1497~1508
- Sussex IM. Morphogenesis in *Solanum tuberosum* L: experimental investigation of leaf dorsiventrality and orientation in the juvenile shoot. *Phytomorphology*, 1955, 5: 286~300
- 刘征, 李润植. 转录后基因沉默与植物抗病毒防卫机制. *植物生理学通讯*, 2001, 37(3): 274~279
- Mallory AC, Reinhart BJ, Bartel D et al. A viral suppressor of RNA silencing differentially regulates the accumulation of short interfering RNAs and micro-RNAs in tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 15228~15233
- Jorgensen RA. RNA traffics information systemically in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 11561~11563