

miR482介导的植物生物胁迫响应

肖裕, 栾雨时*

大连理工大学生命科学与技术学院, 辽宁大连116024

摘要: 植物在生长发育过程中会遇到各种生物胁迫, 根据响应过程的不同, 可将之分为基于蛋白质的生物胁迫和基于RNA的生物胁迫。miR482是一种植物特有的、已在23个物种中被证实存在的小RNA。miR482参与指导植物次级phasRNA的合成, 其主要靶标为植物庞大的NBS-LRR类家族抗病基因。本文通过整理近年来ETI (effector-triggered immunity)相关的NBS-LRR类抗病基因和抗RNA沉默抑制相关miR482级联调控的研究成果, 总结出了miR482介导植物两类生物胁迫响应的调控机制。

关键词: miRNA; 靶基因; NBS-LRR; 级联调控; 生物胁迫

MiR482 Mediates the Biotic Stress Response of Plant

XIAO Yu, LUAN Yu-Shi*

School of Life Science and Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116024, China

Abstract: Plants suffer a variety of biotic stress in their process of development and growth. According to different response principles, we can divide them into protein-based biotic stress and RNA-based biotic stress. The miR482, targeting gene is NBS-LRR gene, is a group of plant-specific miRNA which has been confirmed to be distributed in 23 species. Besides, miR482 is participated in the guidance for the biosynthesis of secondary phasiRNA. In this paper, we summarize a regulatory mechanism of miR482 cascading the biotic stress response of plant through the consideration of two study aspects, the NBS-LRR resistance gene related to ETI (effector-triggered immunity) and the regulatory cascade mechanism related to counter RNA silencing suppressor of miR482.

Key words: miRNA; target gene; NBS-LRR; regulatory cascades; biotic stress

植物生长过程中总是不可避免地遭受到各类病原体的侵袭, 并因此造成不同程度的损失。人们对植物基于蛋白质和基于RNA的两类生物胁迫响应的研究表明: 植物依靠自身不断进化着的防御系统抵抗病原体入侵, 病原体依靠自身不断进化着的侵染途径破坏植物的抗病防御, 这是植物与病原体基因组相互博弈的恒定主题(Pumplin和Voinnet 2013)。

MicroRNA (miRNA)是真核细胞中一类内源性非编码蛋白基因转录后, 具茎环结构的单链RNA (ssRNA)的5'或3'臂端加工修饰形成的单链RNA小分子(Bartel 2004), 长20~24个核苷酸(nt)。小干扰RNA (small interference RNA, siRNA)是真核细胞中一类保守性双链RNA (dsRNA), 来源于与其靶基因同源的dsRNA。如外源转座子基因或病毒基因转录形成的异常dsRNA, 内源基因双向转录而形成部分互补、RNA链自我互补或因RNA链复制作用而形成的dsRNA等。植物miRNA与其内

源靶基因的互补程度较高, 以指导切割靶基因mRNA的方式造成内源基因的沉默, 也可通过抑制翻译调控基因的表达(Voinnet 2009)。植物siRNA可引起与其同源的mRNA降解, 以RNA干扰(RNAi)方式造成内源或外源靶基因的沉默。植物siRNA可跨细胞运输并建立梯度, 在协助并加强miRNA的功能上发挥着重要的作用(Chitwood等2009)。miRNA对靶基因的切割沉默机制与siRNA对靶基因的干扰沉默机制均是植物在进化过程中, 为应对生物胁迫等情况而产生的一系列复杂调控机制在代谢生理及分子水平上的体现。

miRNA自被发现以来, 人们已逐步认识到其在植物的形态建成、生长发育、信号转导及逆境

收稿 2014-04-01 修定 2014-04-30

资助 国家自然科学基金(31272167)和大连理工大学大学生创新创业项目(201410141292)。

* 通讯作者(E-mail: luanyush@dlut.edu.cn; Tel: 0411-84706356)。

胁迫响应中的一些功能特性。更重要的一点是, miRNA在植物生物胁迫响应中的作用近年来也逐渐受到了人们的关注(吕帝瑾等2013)。我们在番茄上的研究恰好表明, miR482与植物生物胁迫响应关系密切, 其主要靶标是NBS-LRR类抗病基因(孙广鑫等2014)。基于已有的miR482与其靶标的研究成果, 本文综述了miR482介导植物两类生物胁迫响应的调控机制。

1 NBS-LRR类抗病基因概述

NBS-LRR类基因家族的数量约占植物体内抗病基因(Resistance基因, R基因)总量的四分之三(Xu等2005), 是数量最大的抗病基因家族。NBS-LRR类基因编码的蛋白是一类包括细胞膜内的核酸结合位点(nucleotide-binding site, NBS)和细胞膜外富含亮氨酸重复(leucine-rich repeat, LRR)结构域C端的跨膜受体蛋白, NBS-LRR类基因因此得名。根据NBS-LRR类基因编码蛋白的N端是否含白细胞介素受体(tollinterleukin-1 receptor, TIR), 该类基因可再分为TNL类基因(TIR-NBS-LRR)和非TNL类基因(non-TNL)。NBS-LRR类跨膜蛋白的N端各类结构域, TIR结构域(Martin等2003; Kobe和Kajava 2001)、CC (coiled coil)结构域(Ade等2007)、LZ (leucine-zipper)结构域等, 与C端LRR结构域(Wang等2004)均可代表执行对病原体蛋白的识别功能; 根据对动物蛋白中NBS结构域的研究, 通常认为NBS-LRR类基因的NBS结构域是催化核苷酸结合与水解的部位, 它可与ATP或GTP结合, 与能量的产生有关。

物种体内能引起阶段小干扰RNA (phased small interference RNA, phasiRNA)合成的基因称为PHAS基因(Zhai等2011)。Shivaprasad等(2012)发现番茄中miR482能引起次级phasiRNA的合成, 这些次级phasiRNA的序列能与miR482指导切割的某些NBS-LRR类基因mRNA序列相匹配。由此, 可将被miR482指导切割后能引起phasiRNA合成的这些NBS-LRR类基因称为pNL基因(phasi-NBS-LRR), 将余下的不能引起phasiRNA合成的NBS-LRR类基因称为非pNL类基因(non-pNL)。pNL基因通常占植物体内PHAS基因的一定数量, 如蒺藜苜蓿的112个PHAS基因座位中pNL占79个、大豆的41个PHAS基因座位中pNL占13个。已有大量TNL基因与CNL

(CC-NBS-LRR)基因被证明是pNL基因(Zhai等2011)。

2 miR482概述

miRBase 20版数据库(<http://www.mirbase.org>)记录了目前已发现的miR482家族各成员信息。自Lu等(2005)报道了毛果杨(*Populus trichocarpa*)中的miR482 (ptc-miR482a)以来, 人们陆续在火炬松(*Pinus taeda*) (Lu等2007, 2008)、大豆(*Glycine max*) (Subramanian等2008)、葡萄(*Vitis vinifera*) (Jaillon等2007)、苹果(*Malus domestica*) (Arenas-Huertero等2009)、菜豆(*Phaseolus vulgaris*) (Arenas-Huertero等2009)、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*) (Devers等2011)、番茄(*Solanum lycopersicum*) (Mohorianu等2011)等23种植物(双子叶19种、单子叶1种、裸子植物3种)中发现了miR482。miR482与植物生长发育关系密切, 但在不同植物种类及组织器官中的表达量存在差异。Shivaprasad等(2012)的研究表明, 茄科植物中miR482的表达量普遍高于其他物种; Li等(2010)发现miR482在大豆的根、茎、叶、花、幼荚、种子中均有表达, 但在茎中最高。

截止目前, 已发现23种植物体内的MIR482基因转录总共可得到63种前体, 仅前体ptc-miR482a的3'臂端经不同加工方式就可分别得到两种miR482变体——ptc-miR482a.1和ptc-miR482a.2, 其余62种前体的3'臂端经加工后各得到一种miR482-3p (通称miR482); 这62种前体中有21种前体的5'臂端可同时加工得到miR482-5p (此时, 与其来自同一前体的miR482-3p不可简称为miR482), 故miR482家族共有85个成员。就miR482成员在物种中的分布来看, 有5个物种中只发现了一个成员, 余下的18个物种中发现了多个成员。目前miR482成员数最多的植物是桃(*Prunus persica*), 其体内含有10个成员(4个为miR482-5p)。就miR482的碱基顺序来看, 多数成员具有其自身唯一的序列, 但也有2~4个成员共享同一种序列的情况; 因此, 85个成员共拥有67种序列形式。就miR482的序列长度来看, 它们分布在17~24 nt之间, 其中, 24 nt的有2个成员, 1种序列形式; 22 nt的有56个成员, 42种序列形式; 21 nt的有17个成员, 16种序列形式; 20 nt的有7个成员, 5种序列形式; 23、19、17 nt的各

1个成员, 1种序列形式。

狭义的miR482仅指miR482-3p, 人们对miR482-5p的研究较miR482-3p少, 一般认为它执行与miR482-3p不同的功能。本文所描述的功能特性主要是对miR482-3p的研究。植物体内miRNA成功的靶标反应, 需要自身残基与靶标间高度互补(Mallory和Bouché 2008), 使miRNA能指导RNA诱导沉默复合物(RNA induced silencing complex, RISC)对靶基因进行切割, 造成靶标基因的沉默(Bartel 2004; Voinnet 2009)。研究表明, 某些保守性靶标NBS-LRR类基因P-loop结构末端编码最后3个氨基酸残基GKT的核苷酸, 可被miR482起始的7个核苷酸识别, 是miR482的主要结合区域(Zhu等2013), 近年来多数实验均证实miR482的主要调控靶标是NBS-LRR类基因。植物被各类病原体侵染后, 可发现体内miR482的表达量降低, 靶标NBS-LRR类蛋白的表达量升高。这一点已在病毒性病原体芜菁皱缩病毒TCV (*Turnip crinkle virus*)、黄瓜花叶病毒CMV (*Cucumber mosaic virus*)、烟草脆裂病毒TRV (*Tobacco rattle virus*) (Shivaprasad等2012), 细菌性病原体丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*) (Shivaprasad等2012)、慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*) (Li等2010), 真菌性病原体棉花黄萎病菌(*Verticillium dahlia*) (Zhu等2013)等侵染植物的过程中得到了证实。

3 miR482抗病级联调控机制

miRNA作为一类重要的内源性调节小分子, 其介导的基因沉默通常是一个简单的负调控开关, 当MIRNA基因处于激活状态时, 其靶标基因即处于沉默状态。miR482家族中的某些成员仅以non-pNL类基因为靶标, 它们仅负责调节具有特定抗病功能的该类NBS-LRR蛋白的表达。而miR482家族中的更多成员是作为miRNA触发子(miRNA triggers), 除介导其一级靶标pNL类基因的沉默外, 还会以双作用靶点(two-hit) (Allen和Howell 2010)模式引发pNL基因双链RNA序列3'端次级phasiRNA的生物合成, 通过phasiRNA对二级的大量靶基因进行沉默调控(MacLean等2010)。这种以双作用靶点模式指导次级siRNA合成的特性, 通常是22 nt miRNA所独具的功能(Chen等2010; Cuperus等2010)。miR482的这种参与指导次级phasiRNA合

成后对两级大量靶基因同时进行沉默调控的机制, 文献上称之为regulatory cascades (MacLean等2010), 现将之译为级联调控。

3.1 级联调控的第一阶段

植物体内的MIR482基因的转录过程与其他MIRNA基因相同。通过RNA聚合酶II转录产生具有茎环结构的pri-miRNA, 再经由类RNA聚合酶III即SE (C₂H₂锌指蛋白serrate)-DCL1 (dicer-like酶1)-HYL1 (双链RNA结合蛋白hyponastic leaves 1)复合体切割形成前体miRNA (miRNA precursor)或者称为pre-miRNA (Kurihara和Watanabe 2004), 前体miRNA再次被该复合体切割, 产生miRNA-3p::miRNA-5p的二聚体结构(Reinhart等2002)。

图1是我们整理绘制的miR482介导植物两类生物胁迫响应的模式, 由该图的miR482级联调控部分可见, 当miR482-3p::miR482-5p二聚体在植物外运蛋白直系同源物5 (plant homolog of exportin-5) HASTY的作用下从细胞核转运到细胞质时(Park等2005), 该二聚体作为级联调控的起始子, 将激活RNA依赖的RNA酶6 (RNA-dependent RNA polymerase, RDR6) (Manavella等2012)。RDR6促使miR482的靶标pNL类基因mRNA转变成成长的双链RNA (Chen等2010; Cuperus等2010)。与此同时, 二聚体解旋释放出成熟的miR482, 在HYL1、HEN1 (S-腺苷甲硫氨酸依赖的甲基转移酶)及DCL的协助下与AGO1蛋白等组成RISC。随后, 成熟的miR482会与靶标pNL类基因mRNA上的互补位点发生配对(Bartel 2004), 并指导DCL蛋白对双链长pNL mRNA靶标的第9或第10位点进行切割(Axtell等2011; Shivaprasad等2012), 造成pNL类基因的沉默, 这可视为级联调控的第一阶段。

3.2 级联调控的第二阶段

miR482指导切割造成pNL类基因沉默的同时, 双链长pNL mRNA会从初始切割位点开始, 依次合成许多次级siRNA, 其中绝大部分长度为21 nt (Chen等2007)。这些次级siRNA依功能与形态被描述为阶段间隔子(phased intervals), 故它们也被称为phasiRNA (Zhai等2011)。miR482引起合成的phasiRNA开启了级联调控的第二阶段, 它们的作用机制与一般的miRNA相似, 将分别与AGO7蛋白

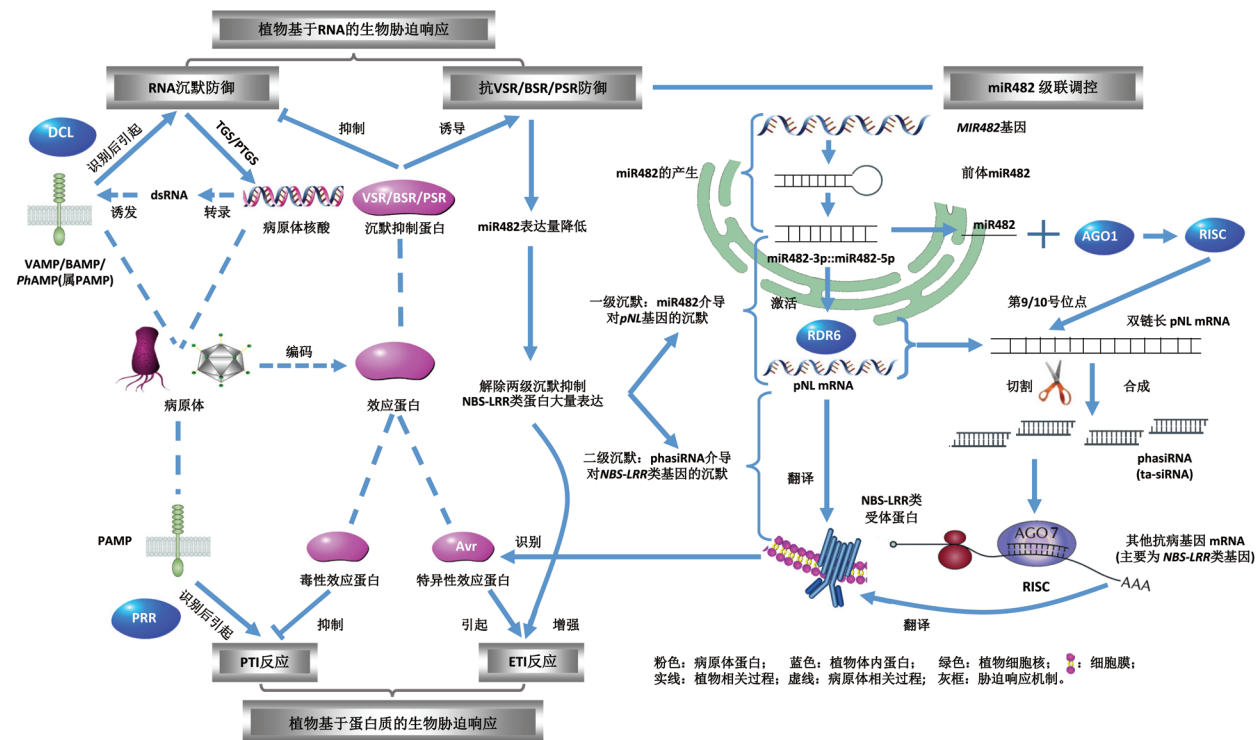


图1 miR482介导的植物两类生物胁迫响应模式图

Fig.1 The model of miR482 mediates the two classes of biotic stress response of plant

AGO: argonaute; Avr: avirulence; DCL: dicer-like; ETI: effector-triggered immunity; PAMP: pathogen-associated molecular patterns, 病原体关联的分子模式; PRR: pattern-recognition receptors, 模式识别受体; PTI: PAMP-triggered immunity; RDR: RNA-dependent RNA polymerase, RNA依赖的RNA聚合酶; RISC: RNA induced silencing complex, RNA诱导沉默复合物; TGS/PTGS: transcriptional/post-transcriptional gene silencing, 转录水平/转录后水平基因沉默; VSR/BSR/PSR: viral/bacterial/phytophthora-encoded suppressors of RNA silencing, 病毒/细菌/疫霉RNA沉默抑制蛋白。

结合形成RISC, 执行对多个植物抗病相关基因靶标进行沉默调控。由于植物内源siRNA通常作用于其同源基因的沉默, 而phasiRNA作用于非同源基因的沉默, 根据这种反式(*trans*-)作用特性(Allen等2005; Rajagopalan等2006), 它们也被称为ta-siRNA (*trans*-acting small interference RNA)。Shivaprasad等(2012)已证实番茄中miR482引起合成的phasiRNA的部分靶标为*NBS-LRR*类基因, Zhai等(2011)也证实藜苜蓿中miR482引起合成的phasiRNA的绝大部分靶标为*NBS-LRR*类基因。因此miR482级联调控的主要二级靶标也是*NBS-LRR*类基因。

4 miR482介导植物两类生物胁迫响应机制

4.1 *NBS-LRR*类蛋白与基于蛋白质的植物生物胁迫响应

实验发现, 过表达*NBS-LRR*类基因的植物即使在没有被病原体侵染的情况下, 也持续地表现

出抗病激活症状(Tian等2003; Palma等2010)。人们目前普遍认为, 植物体内部分*NBS-LRR*类抗病蛋白在植物抵御生物胁迫的信号转导过程中, 会作为受体蛋白介导对病原体编码效应蛋白(effector)中的一类无毒效应蛋白Avr (avirulence)的直接或间接的识别(程曦等2012), 引起植物抗性反应, 起到触发植物对病原体特异的内源ETI (effector-triggered immunity)的作用(Jones和Dangl 2006)。*NBS-LRR*类蛋白的抗病功能较为广泛, 即使植物体内不存在可被识别的Avr, 植物也会通过*NBS-LRR*类蛋白的表达来增强其自身的免疫能力(Pumplin和Voinnet 2013)。为阐明*NBS-LRR*类蛋白与植物免疫的关系, 现将植物基于蛋白质(R蛋白)的生物胁迫响应机制描述如下。

如图1所示, 病原体入侵植物后, 一些非特异性胞外非毒性分子被带至植物体内。植物通过位于膜上的模式识别受体蛋白PRR (pattern-recognition

receptors), 监控这些分子的行为模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP) (Zipfel等2004), 激活植物的防御系统并触发植物PTI (PAMP-triggered immunity) (Jones和Dangl 2006; Postel和Kemperling 2009)。PAMP相关的分子在病原体中广泛存在, 不具有特异性: 如细菌中的鞭毛蛋白(flagellin)、翻译延伸因子(EF-Tu)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和肽聚糖(peptidoglycan), 真菌中的多聚半乳糖醛酸内切酶、木聚糖酶、几丁质(chitin)和麦角固醇(ergosterol), 卵菌中的 β -葡聚糖和转氨酰胺酶等(Naito等2008; van de Veerdonk等2008; 高明君和何祖华2013)。PTI广谱、稳定、持久, 是植物抵抗病原菌的第一道基础性屏障。部分病原体已进化出应对PTI的抗防御机制, 以分泌多样性毒素因子, 即效应蛋白用以抑制PTI (Shan等2008)。效应蛋白通常具有病原体特异性, 植物将依靠NBS-LRR类受体蛋白加以识别, 并触发植物ETI (Jones和Dangl 2006), 这可作为植物应对病原体的抗-抗防御机制。在自然选择作用下, 病原微生物可能再次进化出新的效应蛋白以避免ETI, 而植物又会进化出新的NBS-LRR类蛋白来再次触发ETI (Jones和Dangl 2006)。因此, *NBS-LRR*类基因是一类随病原体基因组进化而进化的庞大基因家族。与通常具毒性的效应蛋白不同, 由于NBS-LRR类受体蛋白所识别的病原体特异的效应蛋白能引起强烈的ETI而被清除, 因而对植物无害, 故这类效应蛋白被命名为Avr (Pumplin和Voinnet 2013)。ETI通过积累抗病蛋白、将之分泌至病原体所感染部位, 引起局部过敏性细胞死亡反应(hypersensitive cell death response, HR)等一系列步骤完成植物对病原体最终的驱逐(Pumplin和Voinnet 2013)。

4.2 miR482与基于RNA的植物生物胁迫响应

与植物依靠蛋白质进行生物胁迫响应的古老机制相似, 依靠RNA沉默途径抵抗外源核酸, 如病毒、活性转座元件的侵染, 是植物基于RNA的生物胁迫响应机制(Voinnet 2005)。病毒、细菌、疫霉菌等病原体入侵植物后, 外源核酸在植物体内增殖带来的dsRNA会被植物加工成siRNA, 后者将指导对外源核酸进行转录水平或转录后水平的基因沉默(transcriptional gene silencing, TGS; post-transcriptional gene silencing, PTGS) (Pumplin

和Voinnet 2013)。据Pumplin和Voinnet (2013)的报道, 病毒入侵后外源核酸在植物体内扩增带来的dsRNA将诱发VAMP (virus-associated molecular pattern; 属PAMP的一种), 被植物DCL识别后加工成vsiRNA (virus-derived small interfering RNA)。同理, 细菌、疫霉菌入侵植物后, 相关dsRNA也可能相应诱发BAMP (bacterial-associated molecular pattern)和PhAMP (*Phytophthora*-associated molecular pattern)。这类植物对外源基因的沉默调控机制, 正是植物体通过miRNA和siRNA对内源基因沉默调控机制(如miR482沉默*NBS-LRR*类基因)的起源(Ding和Voinnet 2007)。

如图1所示, 为了抵抗植物RNA沉默防御, 大多数病原体进化出抗防御分子, 即表达毒性RNA沉默的抑制蛋白, 通过干扰TGS/PTGS等过程来抑制植物对自身基因的沉默(Voinnet 2005), 这些蛋白依据不同的病原体分别被称为VSR (viral suppressors of RNA silencing)、BSR (bacterial suppressors of RNA silencing)、PSR (*Phytophthora*-encoded suppressors of RNA silencing) (Pumplin和Voinnet 2013)。相应地, 为抵抗病原体的RNA沉默抑制作用, 植物进化出抗VSR/BSR/PSR防御, 以此作为抗-抗防御途径。目前已有多种抗VSR/BSR/PSR防御机制被揭示。Feng和Chen (2013)最近的实验表明, 番茄体内的一些miRNA-5p (如sly-miR482-5p)可干扰黄瓜花叶病毒(CMV)多种VSR蛋白的表达, 从而参与番茄的抗VSR防御。Du等(2011)研究发现, 水稻条纹病毒(rice stripe virus, RSV)感染后的植株体内可检测出多种miRNA与siRNA, 表明小RNA在植物生物胁迫响应中的作用可能也与抗VSR防御有关。

此外, Shivaprasad等(2012)发现病原体RNA沉默抑制蛋白可使miR482的表达量降低, *NBS-LRR*类基因表达量增加, 当他们使用无法分泌BSR蛋白(Navarro等2008)的突变病原体侵染番茄时, 未观察到miR482的响应。由于miR482级联调控对两级内源基因的沉默机制与植物对外源基因的沉默机制本质上是相似的, 因此可以推测病原体沉默抑制蛋白除了解除植物对外源基因的沉默外, 还可能同时解除了miR482对内源*NBS-LRR*类基因的沉默, 继而引发了植物免疫反应。基于对比实验的结果

及沉默机制同源性的分析, Pumplin和Voinnet (2013)、Shivaprasad等(2012)均将miR482级联调控看作是植物的抗VSR/BSR/PSR防御途径之一。

4.3 miR482介导的植物生物胁迫响应

在过去很长的一段时间内, 人们都认为前述植物抵御生物胁迫的两类响应——以蛋白质为基础的抗病免疫机制和以RNA为基础的抗病沉默机制之间是相互独立的, 但最近已有越来越多的研究表明两者之间是紧密联系的(Li等2012), 某些R蛋白可监视VSR/BSR/PSR蛋白的行为, 并因此而触发ETI (van der Hoorn和Kamoun 2008)。通过对miR482级联调控的分析可发现, miR482同样将两类响应很好的联系起来, miR482介导的植物两类生物胁迫响应模式图展示了一个以miR482为中心的信号通路。依据该信号通路所示的植物生物胁迫响应机制, 可推知植物基于RNA的抗VSR/BSR/PSR防御的结果, 不单可以解除VSR/BSR/PSR蛋白的抑制作用, 增强植物对病原体基因的沉默, 还可以将防御过程引入防御作用更强的基于蛋白的免疫途径。根据植物是否受到病原体侵染的不同, 可分两种情况描述该机制。

以NBS-LRR类基因为基础的抗病ETI是非常高效的, 并且ETI异常地被激活或异常地持续响应, 对植物的健康是不利的、以甚至是致命的(Pumplin和Voinnet 2013); 因此当植物未受病原体侵染时, 植物会选择通过miR482级联调控使体内大部分NBS-LRR类基因处于沉默状态, 确保多样性抗病蛋白的表达维持在一个较低的水平。Zhai等(2011)认为, 植物通过miR482调控pNL的表达就可使大范围的NBS-LRR类基因处于沉默或者失活的状态, 与动物体内*Xist*非编码RNA造成X染色体失活的现象(Duret等2006)异曲同工。植物的这种调节机制会带来两个显而易见的好处, 其一是未感染状态下, 抗病蛋白的低水平表达可减轻植物的负担, 使植物有更多的精力进行正常的生长发育; 其二是当感染发生时, 只需要下调miR482的表达, 就可立即激活抗病蛋白的大量表达, 这可视为植物对生物胁迫响应的准备使然。

当病原体侵入植物细胞后, 其编码的RNA沉默抑制蛋白大量产生并被输送到植物细胞内; 这些沉默抑制蛋白诱使植物miR482的表达量降低,

继而介导pNL生物合成phasRNA的量减少, 致使miR482级联调控的两级沉默解除(Navarro等2008)。被侵染植物细胞内级联调控主要靶标——NBS-LRR类蛋白被成百或上千倍的翻译, 这些防御相关蛋白的大量表达, 将使植物的ETI能力进一步增强, 最终指导免疫系统完成对病原体的清除。

由此可知miR482介导的植物生物胁迫响应并不只针对某几种病原体(Meyers等2005), VSR/BSR/PSR蛋白诱导miR482级联调控途径的解除, 导致多种NBS-LRR类蛋白的过表达, 使得这种胁迫响应具有非种族特异性。从蛋白质层面看, 是因为NBS-LRR类蛋白家族成员分别具有对不同病原体效应蛋白的识别功能, 可以触发对相应病原体的ETI; 但从基因层面上看, 是miR482大范围级联靶向控制NBS-LRR类基因所致, 这是单一miRNA介导植物生物胁迫响应具有广谱抗病性的本因。

5 结语

miR482是一个序列多样化的、广泛存在于双子叶植物中的miRNA家族, 其主要靶标NBS-LRR类基因是植物长期应对生物胁迫而进化出的一类庞大的抗病基因家族, 与植物的ETI相关。miR482级联调控信号通路将植物两类分子水平的生物胁迫响应很好地联系在一起, 体现了miR482的重要作用。尽管该级联调控信号通路中的某些细节还有待实验验证, 但在目前相关信息较少的背景下, 希望本文所综述的与miR482有关的信号通路能有助于解决其他网络调控问题, 并促进人们对相关miRNA的功能研究。

参考文献

- 程曦, 田彩娟, 李爱宁, 邱金龙(2012). 植物与病原微生物互作分子基础的研究进展. 遗传, 34: 134~144
- 高明君, 何祖华(2013). 水稻免疫机制研究进展. 中国科学: 生命科学, 43: 1016~1029
- 吕帝瑾, 赵佳媛, 陈婧, 钟扬, 南蓬(2013). 植物microRNA的研究进展. 植物生理学报, 49: 847~854
- 孙广鑫, 栾雨时, 崔娟娟(2014). 番茄中与致病密切相关miRNA的挖掘及特性分析. 遗传, 36: 69~76
- Ade J, DeYoung BJ, Golstein C, Innes RW (2007). Indirect activation of a plant nucleotide binding site-leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. Proc Natl Acad Sci USA, 104: 2531~2536
- Allen E, Howell MD (2010). miRNAs in the biogenesis of *trans*-acting siRNAs in higher plants. Semin Cell Dev Biol, 21: 798~804
- Allen E, Xie Z, Gustafson AM, Carrington JC (2005). MicroRNA

- directed phasing during *trans*-acting siRNA biogenesis in plants. *Cell*, 121: 207~221
- Arenas-Huertero C, Perez B, Rabanal F, Blanco-Melo D, De la Rosa C, Estrada-Navarrete G, Sanchez F, Covarrubias AA, Reyes JL (2009). Conserved and novel miRNAs in the legume *Phaseolus vulgaris* in response to stress. *Plant Mol Biol*, 70: 385~401
- Axtell MJ, Westholm JO, Lai EC (2011). Vive la difference: biogenesis and evolution of microRNAs in plants and animals. *Genome Biol*, 12: 221
- Bartel DP (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116: 281~297
- Chen HM, Chen LT, Patel K, Li YH, Baulcombe DC, Wu SH (2010). 22-Nucleotide RNAs trigger secondary siRNA biogenesis in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 15269~15274
- Chen HM, Li YH, Wu SH (2007). Bioinformatic prediction and experimental validation of a microRNA-directed tandem *trans*-acting siRNA cascade in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 3318~3323
- Chitwood DH, Nogueira FTS, Howell MD, Montgomery TA, Carrington JC, Timmermans MCP (2009). Pattern formation via small RNA mobility. *Genes*, 23: 549~554
- Cuperus JT, Carbonell A, Fahlgren N, Garcia-Ruiz H, Burke RT, Takeda A, Sullivan CM, Gilbert SD, Montgomery TA, Carrington JC (2010). Unique functionality of 22-nt miRNAs in triggering RDR6-dependent siRNA biogenesis from target transcripts in *Arabidopsis*. *Nat Struct Mol Biol*, 17: 997~1003
- Devers EA, Branscheid A, May P, Krajinski F (2011). Stars and symbiosis: microRNA- and microRNA*-mediated transcript cleavage involved in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol*, 156: 1990~2010
- Ding SW, Voinnet O (2007). Antiviral immunity directed by small RNAs. *Cell*, 130: 413~426
- Du P, Wu J, Zhang J, Zhao S, Zheng H, Gao G, Wei L, Li Y (2011). Viral infection induces expression of novel phased microRNAs from conserved cellular microRNA precursors. *PLoS Pathogens*, 7: e1002176
- Duret L, Chureau C, Samain S, Weissenbach J, Avner P (2006). The *Xist* RNA gene evolved in eutherians by pseudogenization of a protein-coding gene. *Science*, 312: 1653~1655
- Feng J, Chen J (2013). *In silico* analysis the complementarity of tomato microRNA/microRNA* sequences with *Cucumber mosaic virus* (CMV) genomic RNAs. *J Nanosci Nanotechnol*, 13: 4421~4426
- Jaillon O, Aury JM, Noel B, Policriti A, Clepet C, Casagrande A, Choisne N, Aubourg S, Vitulo N, Jubin C et al (2007). The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 449: 463~467
- Jones JDG, Dangl JL (2006). The plant immune system. *Nature*, 444: 323~329
- Kobe B, Kajava AV (2001). The leucine-rich repeat as a protein recognition motif. *Curr Opin Struc Biol*, 11: 725~732
- Kurihara Y, Watanabe Y (2004). *Arabidopsis* micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 12753~12758
- Li F, Pignatta D, Bendix C, Brunkard JO, Cohn MM, Tung J, Sun H, Kumar P, Baker B (2012). MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 1790~1795
- Li H, Deng Y, Wu TL, Subramanian S, Yu O (2010). Misexpression of miR482, miR1512, and miR1515 increases soybean nodulation. *Plant Physiol*, 153: 1759~1770
- Lu S, 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: 1077~1098
- Lu S, Sun YH, Chiang VL (2008). Stress-responsive microRNAs in *Populus*. *Plant J*, 55: 131~151
- 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: 2186~2203
- MacLean D, Elina N, Havecker ER, Heimstaedt SB, Studholme DJ, Baulcombe DC (2010). Evidence for large complex networks of plant short silencing RNAs. *PLoS ONE*, 5: 9901
- Mallory AC, Bouché N (2008). MicroRNA-directed regulation: To cleave or not to cleave. *Trends Plant Sci*, 13: 359~367
- Manavella PA, Koenig D, Weigel D (2012). Plant secondary siRNA production determined by microRNA-duplex structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 2461~2466
- Martin GB, Bogdanove AJ, Sessa G (2003). Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 23~61
- Meyers BC, Kaushik S, Nandety RS (2005). Evolving disease resistance genes. *Curr Opin Plant Biol*, 8: 129~134
- Mohorianu I, Schwach F, Jing R, Lopez-Gomollon S, Moxon S, Szittyta G, Sorefan K, Moulton V, Dalmay T (2011). Profiling of short RNAs during fleshy fruit development reveals stage-specific sRNAome expression patterns. *Plant J*, 67: 232~246
- Naito K, Taquchi F, Suzuki T, Inagaki Y, Toyoda K, Shiraishi T, Ichinose Y (2008). Amino acid sequence of bacterial microbe-associated molecular pattern flg22 is required for virulence. *Mol Plant-Microbe Interact*, 21: 1165~1174
- Navarro L, Jay F, Nomura K, He SY, Voinnet O (2008). Suppression of the microRNA pathway by bacterial effector proteins. *Science*, 321: 964~967
- Palma K, Thorgrimsen S, Malinovsky FG, Fiil BK, Nielsen HB, Brodersen P, Mundy J (2010). Autoimmunity in *Arabidopsis acd11* is mediated by epigenetic regulation of an immune receptor. *PLoS Pathogens*, 6: e1001137
- Park MY, Wu G, Gonzalez-Sulser A, Vaucheret H, Poethig RS (2005). Nuclear processing and export of microRNAs in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 3691~3696
- Postel S, Kemmerling B (2009). Plant systems for recognition of pathogen-associated molecular patterns. *Semin Cell Dev Biol*, 20: 1025~1031
- Pumplin N, Voinnet O (2013). RNA silencing suppression by plant pathogens: defence, counter-defence and counter-counter-defence. *Nat Rev Microbiol*, 11: 745~760
- Rajagopalan R, Vaucheret H, Trejo J, Bartel DP (2006). A diverse and evolutionarily fluid set of microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev*, 20: 3407~3425

- Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP (2002). MicroRNAs in plants. *Gene Dev*, 16: 1616~1626
- Shan L, He P, Li J, Heese A, Peck SC, Nürnberger T, Sheen J (2008). Bacterial effectors target the common signaling partner BAK1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity. *Cell Host Microbe*, 4: 17~27
- Shivaprasad PV, Chen HM, Patel K, Bond DM, Santos BACM, Baulcombe DC (2012). A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs. *Plant Cell*, 24: 859~874
- Subramanian S, Fu Y, Sunkar R, Barbazuk WB, Zhu JK, Yu O (2008). Novel and nodulation-regulated microRNAs in soybean roots. *BMC Genomics*, 9: 160
- Tian D, Traw MB, Chen JQ, Kreitman M, Bergelson J (2003). Fitness costs of R-gene-mediated resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 423: 74~77
- van de Veerdonk FL, Kullberg BJ, van der Meer JW, Gow NA, Netea MG (2008). Host-microbe interactions: innate pattern recognition of fungal pathogens. *Curr Opin Microbiol*, 11: 305~312
- van der Hoorn RAL, Kamoun S (2008). From guard to decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell*, 20: 2009~2017
- Voinnet O (2005). Induction and suppression of RNA silencing: Insights from viral infections. *Nat Rev Genet*, 6: 206~220
- Voinnet O (2009). Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, 136: 669~687
- Wang GL, Wu C, Zeng L, He C, Baraoidan M, da Silva FDAG, Williams CE, Ronald PC, Leung H (2004). Isolation and characterization of rice mutants compromised in *Xa21*-mediated resistance to *X. oryzae* pv. *oryzae*. *Theor Appl Genet*, 108: 379~384
- Xu Q, Wen XP, Deng XX (2005). Isolation of TIR and nonTIR NBS-LRR resistance gene analogues and identification of molecular markers linked to a powdery mildew resistance locus in chestnut rose (*Rosa roxburghii* Tratt). *Theor Appl Genet*, 111: 819~830
- Zhai J, Jeong DH, De Paoli E, Park S, Rosen BD, Li Y, Gonzalez AJ, Yan Z, Kitto SL, Grusak MA et al (2011). MicroRNAs as master regulators of the plant *NB-LRR* defense gene family via the production of phased, *trans*-acting siRNAs. *Gene Dev*, 25: 2540~2553
- Zhu QH, Fan L, Liu Y, Xu H, Llewellyn D, Wilson I (2013). MiR482 regulation of *NBS-LRR* defense genes during fungal pathogen infection in cotton. *PLoS ONE*, 8: e84390
- Zipfel C, Robatzek S, Navarro L, Oakeley EJ, Jones JD, Felix G, Boller T (2004). Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception. *Nature*, 428: 764~767