

The expanding world of small RNAs in plants

翻译：邹艳艳 张伟彤 张葆睿

PPT：邹艳艳 张葆睿

演讲：邹艳艳 张伟彤

相关背景

- 对于大部分物种的基因组而言，编码蛋白的基因都只占基因组的很小一部分，这个数据在人类当中是3%。曾今我们认为这些非编码基因无用，是垃圾基因。直到非编码小RNA的发现，极大的丰富了基因表达调控因子，并为人类探索自然界打开了一扇新的大门
- 植物基因组编码各种小RNA，它们在不同的、重叠的、遗传的和表观遗传的沉默途径中发挥作用。
- 小RNA参与植物发育，繁殖和基因组重编程，植物中大量的小RNA途径可能有助于其表型可塑性。
- 丰富多样的小RNA类植物物种之间的变化，表明了环境适应和基因沉默机制之间的协同进化

- 几种主要内源性小RNA的生物发生
- 小RNA的特异性AGO蛋白负载
- 小RNA的修饰
- 次级小RNA的生物触发
- 基因沉默的转换
- 小RNA的细胞间移动以及跨代遗传
- 小RNA在减数分裂和细胞命运规范中起作用

内源性小RNA的生物发生

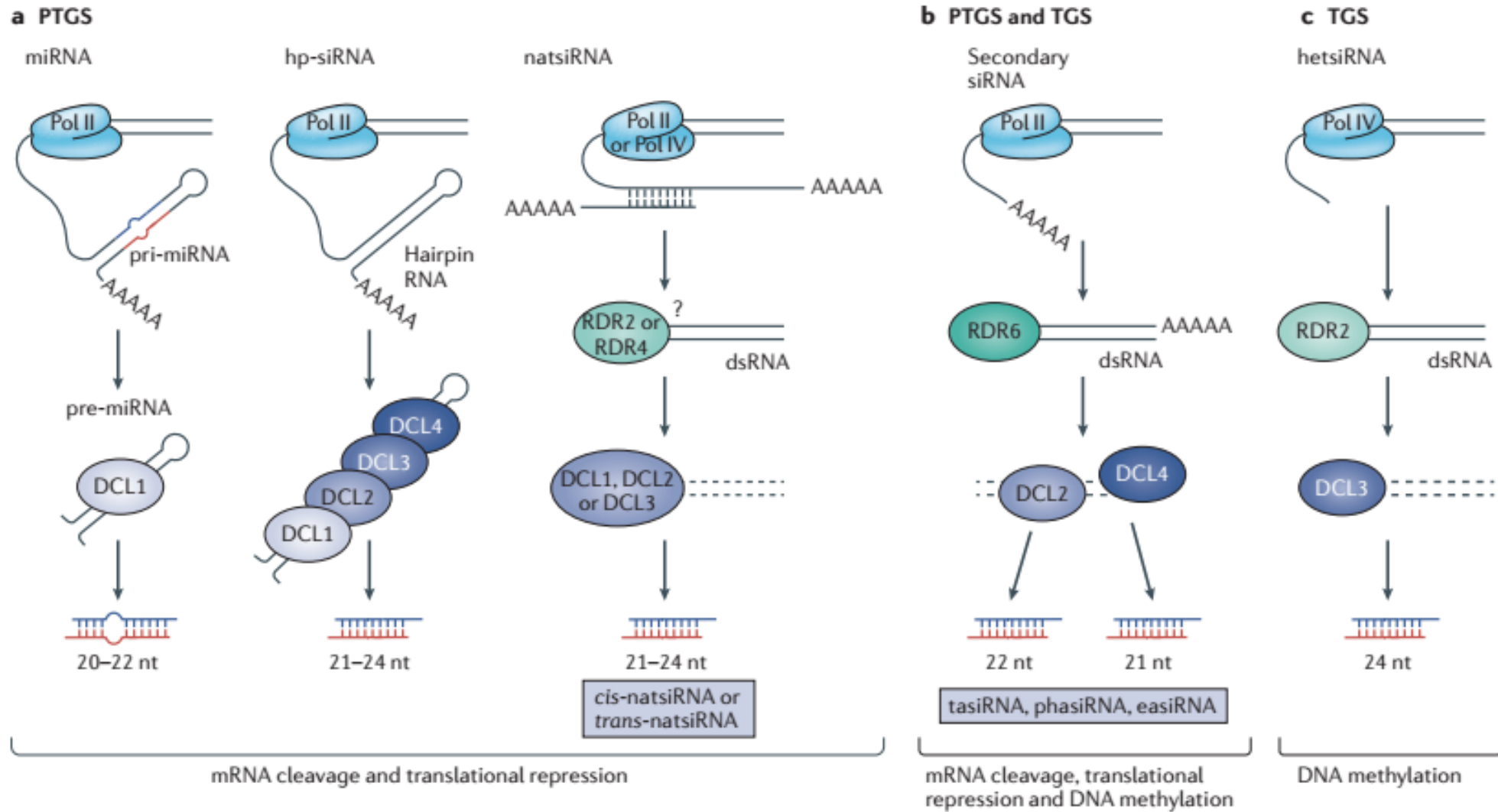


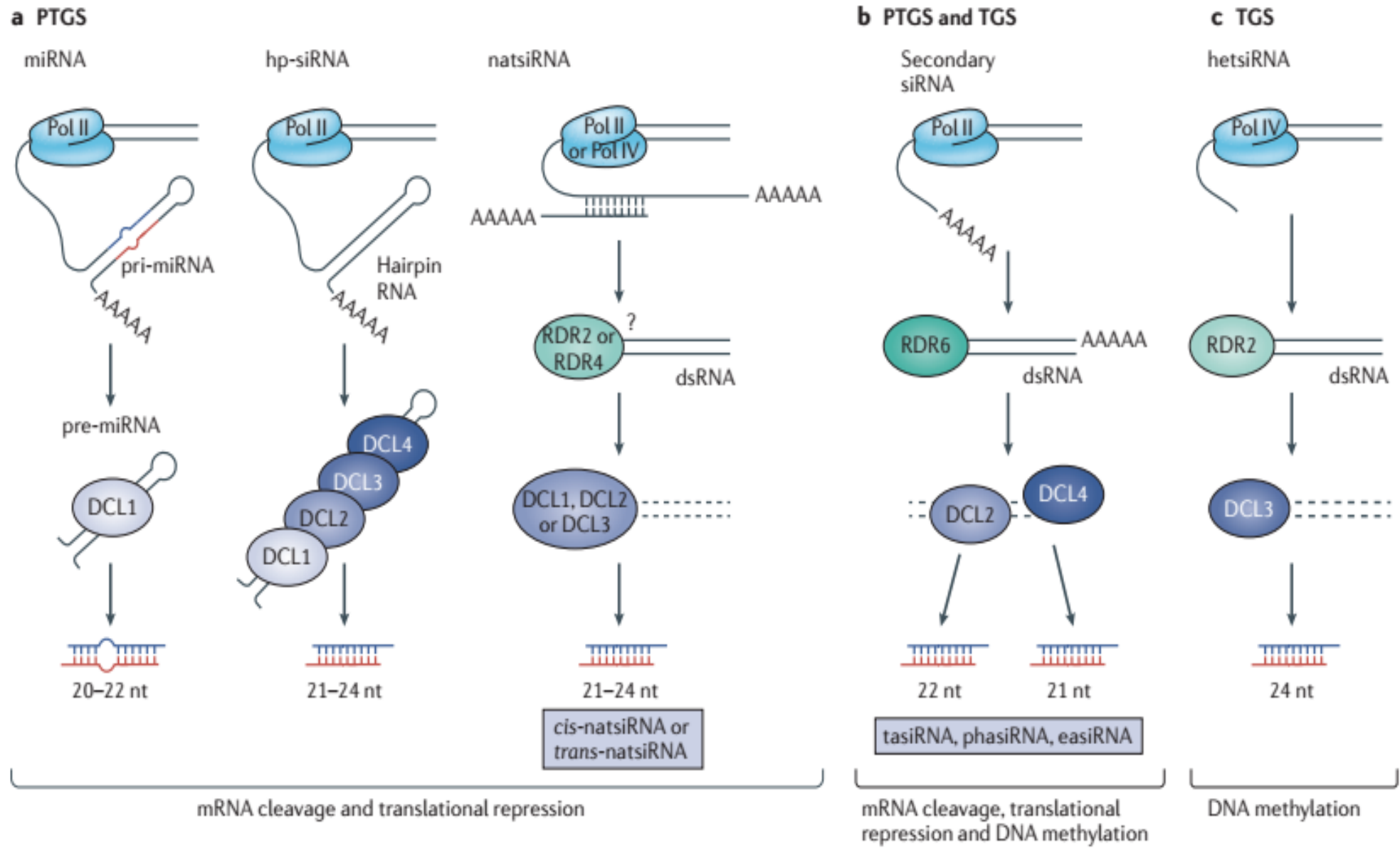
Figure 1 | Main pathways for biogenesis of endogenous small RNAs in plants. a | Genes encoding microRNAs

miRNA:

发夹结构的前体经DCL1酶切割两次

Hp-siRNA:

反向重复序列互补配对形成较长发夹结构，由多种DCL蛋白共同剪切，形成多种长度



natsiRNA:

(自然发生型小RNA)

转录产物与另一基因座转录产物互补配对，经RNA依赖性RNA聚合酶形成双链，再由多种DCL蛋白剪切形成

Figure 1 | Main pathways for biogenesis of endogenous small RNAs in plants. a | Genes encoding microRNAs

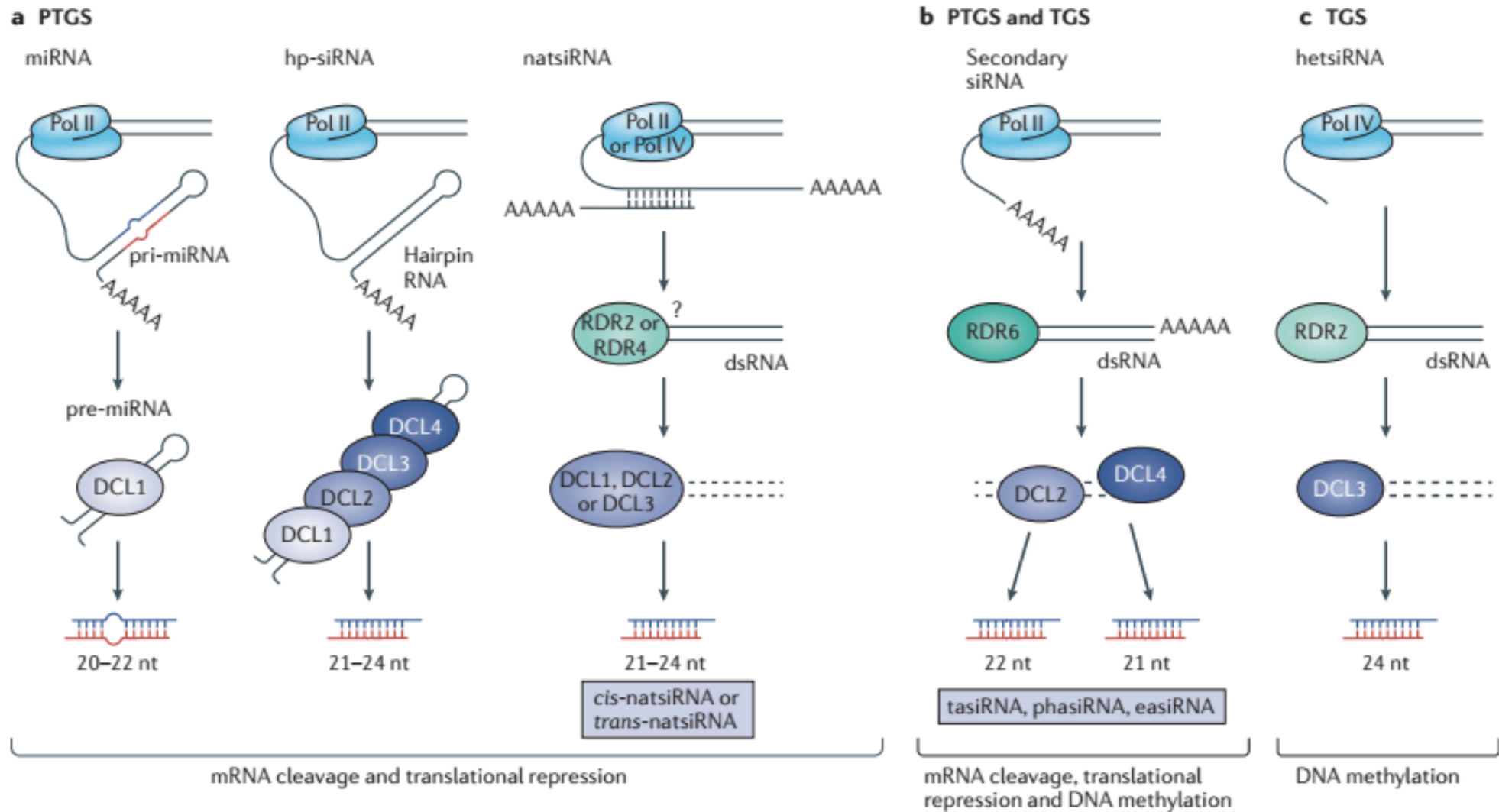


Figure 1 | Main pathways for biogenesis of endogenous small RNAs in plants. a | Genes encoding microRNAs

次级小RNA:

转录产物经过剪切由RNA复制酶形成双链结构，经两种DCL蛋白酶切形成

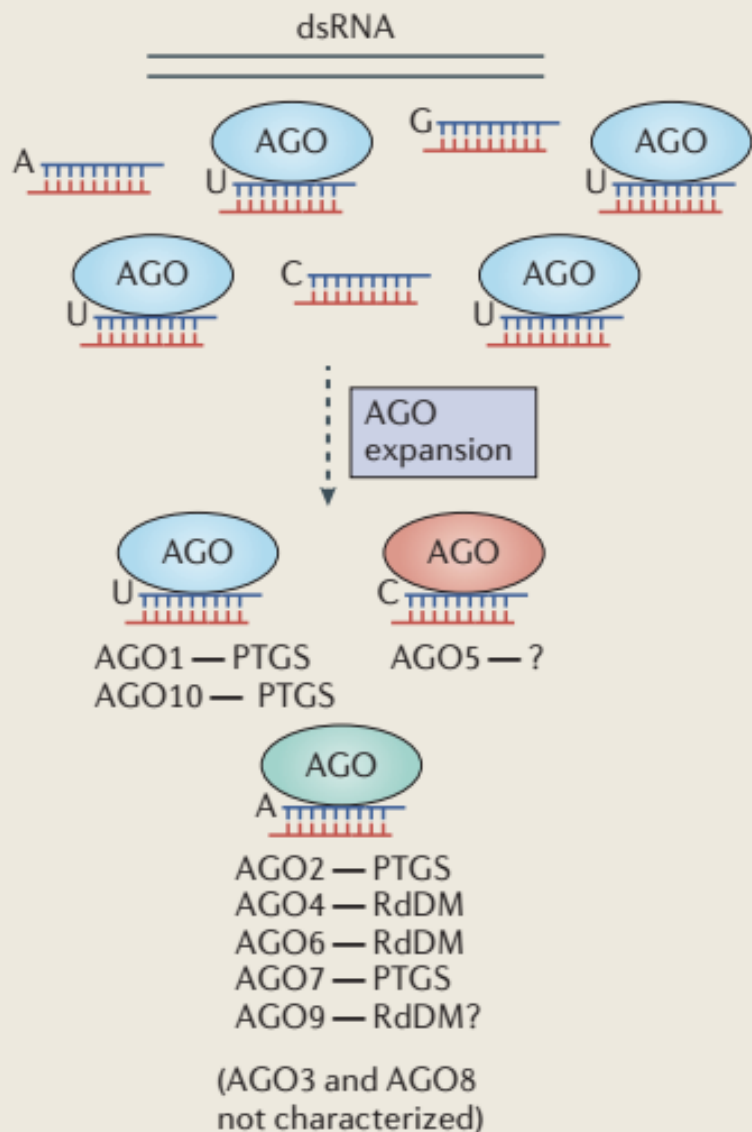
hetsiRNA:

(异染色质RNA)

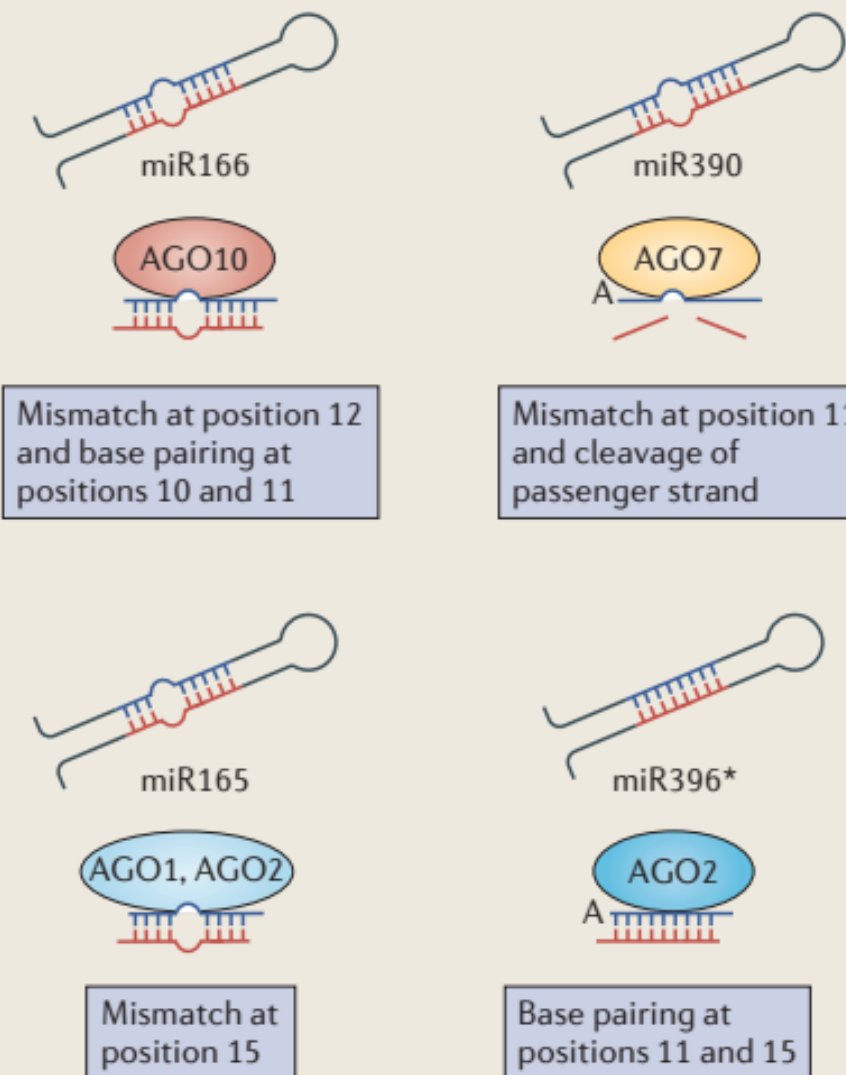
主要发生于其转座原件和重复序列区，

Box 1 | Sorting small RNAs onto AGOs

a 5'-terminal nucleotide preference by AGOs



b Structural determinants of miRNA sorting and function



AGO蛋白家族:

基因沉默的主要效应蛋白，其结合小RNA双链体并促进小RNA介导的靶标识别和切割。

AGO 蛋白结合小RNA:

- 5'末端偏好性
- 双链互补配对结构偏好性

拓展：

- 拟南芥和水稻中miRNA的亚型由相对罕见的长长的miRNA组成，其长度为23-25个核苷酸，由DCL3处理并在TGS中起作用。此外，在拟南芥中，发现了由DCL4处理一类新进化的miRNA。这些观察结果表明了不同DCLs与前体miRNA识别的可能反映了miRNA基因的进化

小RNA要行使功能还需要保护自身不被降解

植物中所有小RNA双链都可在3'末端被2-O-甲基化修饰来防止其被尿苷酸化以及降解，包括在动物中是不存在这种修饰的 miRNA

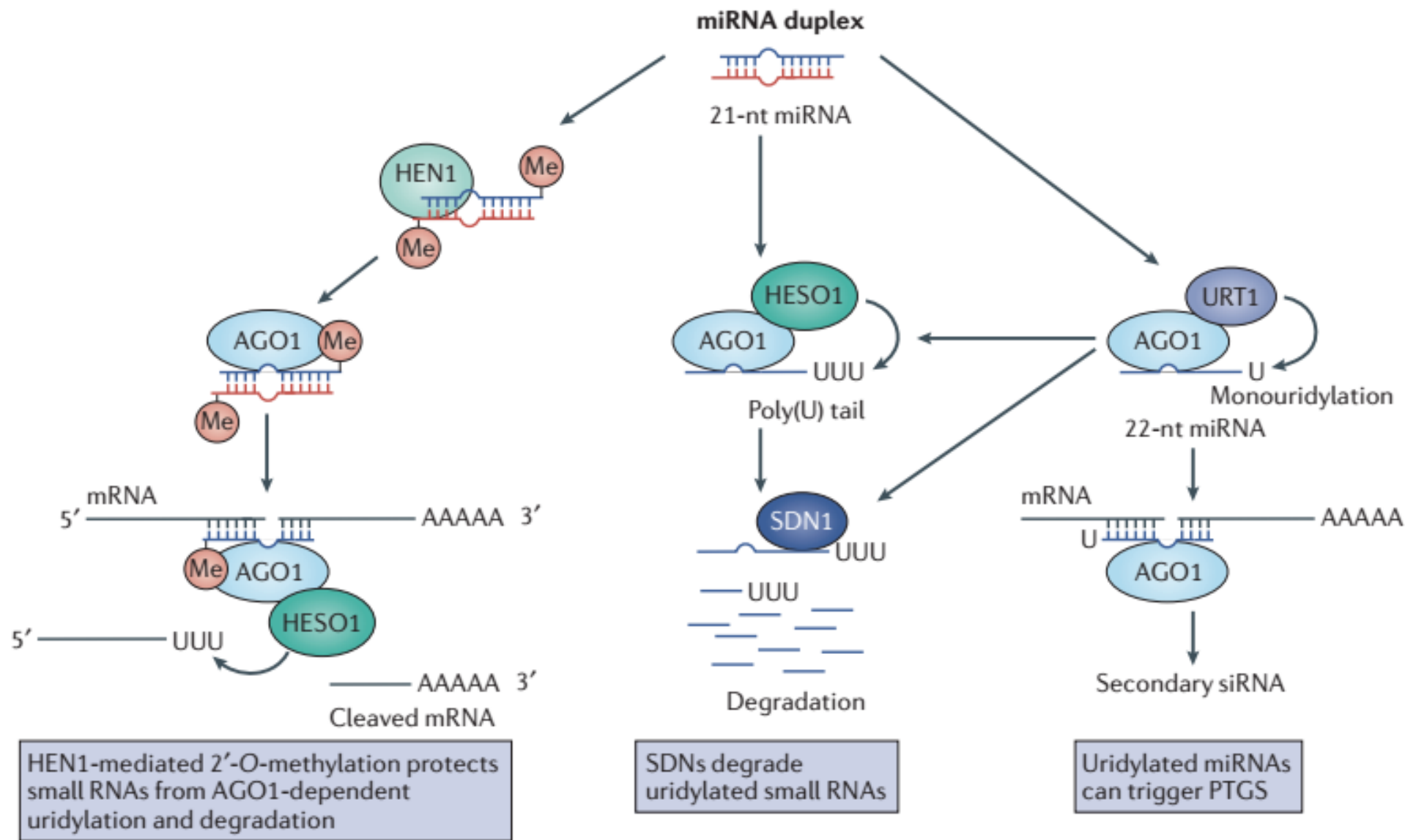


Figure 2 | 2'-O-methylation, uridylation and degradation of microRNAs (miRNAs) in *Arabidopsis thaliana*.

从左到右：

- 由甲基化酶（HEN1）甲基化正常行使功能

- 由甲基化抑制酶结合加polyA尾走向降解

- 尿嘧啶酶在尾部加U，走向降解。

- 特别的，单尿嘧啶加尾，22-nt能触发次级小RNA途径

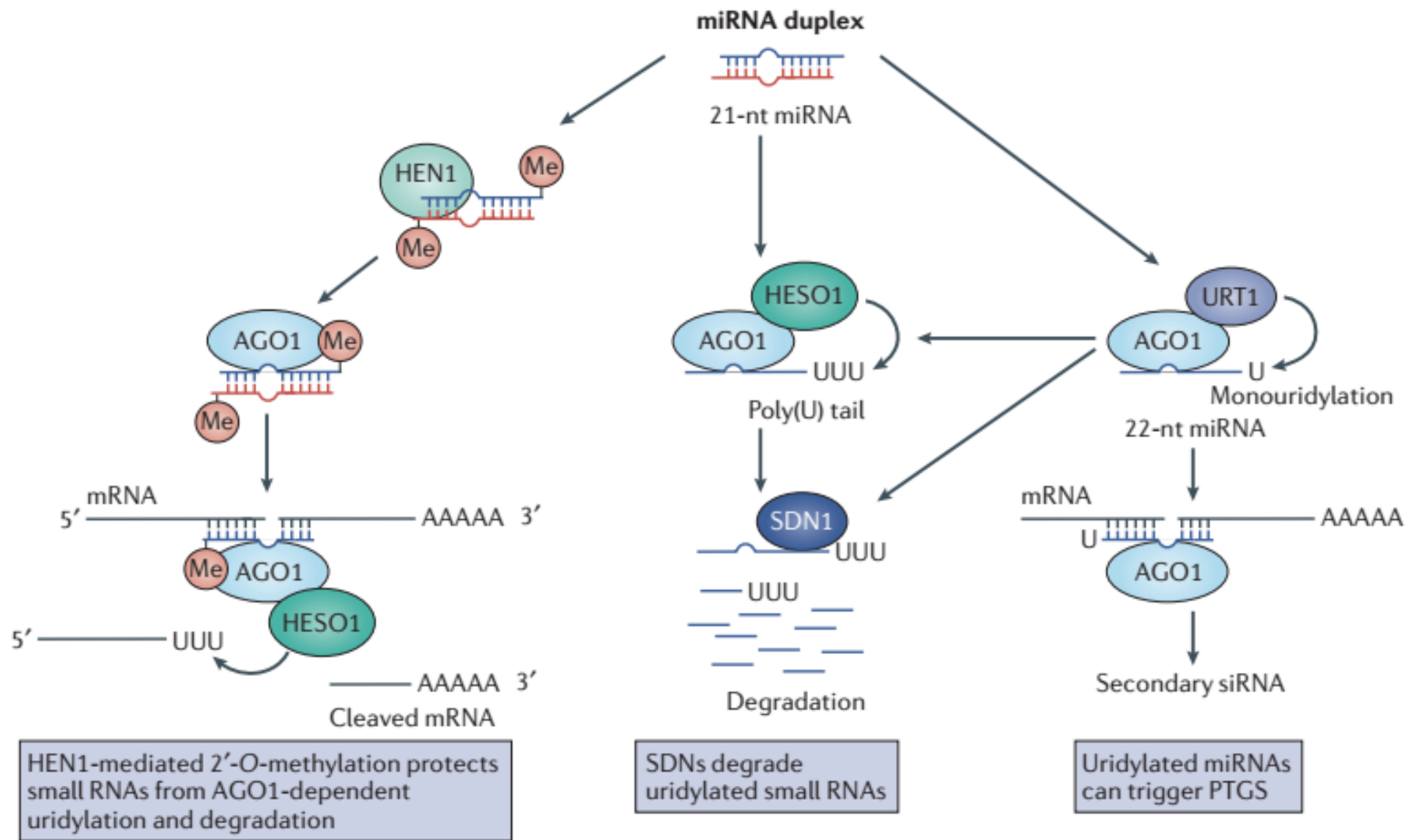


Figure 2 | 2'-O-methylation, uridylation and degradation of microRNAs (miRNAs) in *Arabidopsis thaliana*.

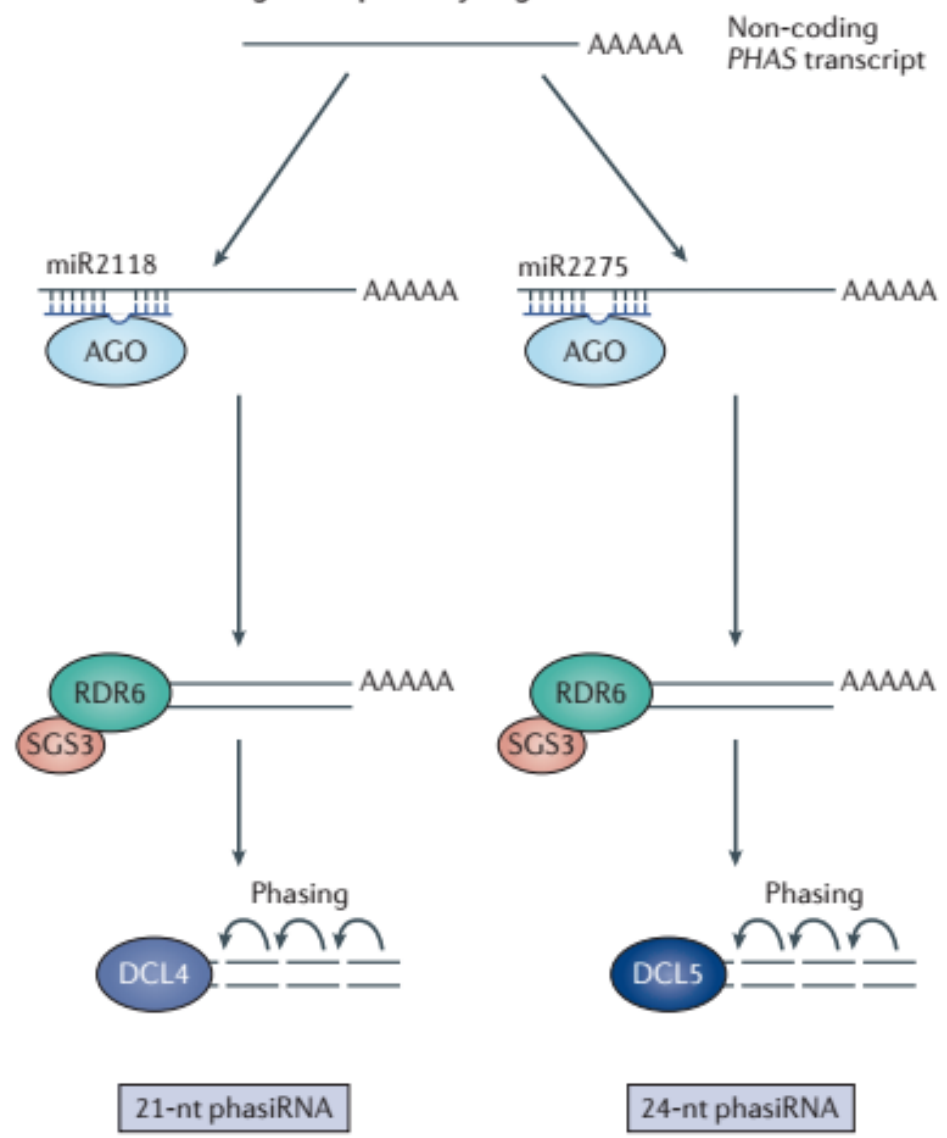
拓展：

- 小RNA修饰可以调节其免疫和功能，从而有助于调节基因沉默。在植物中，这些修饰主要在3'末端被观察到，并且是赋予稳定性和防止小的RNA降解所必需的。对拟南芥中这些途径的进一步机理分析表明，保护性RNA修饰在某些组织和细胞类型或某些生长条件下被旁路，从而促进小RNA多样性。
- 在缺乏HESO1和URT1活性的突变体中发现其他类型的miRNA尾，包括非尿苷核苷酸，表明可能存在其他小RNA修饰途径在植物中。
- 通过比较基因组序列之间的错配，以及小RNA测序技术的发展，发现通过反转录，一些修饰会带偏好性地掺入错误碱基到cDNA序列，并整合回基因组。

a Triggers of secondary siRNA production in plants



b PhasiRNA biogenesis pathway in grasses

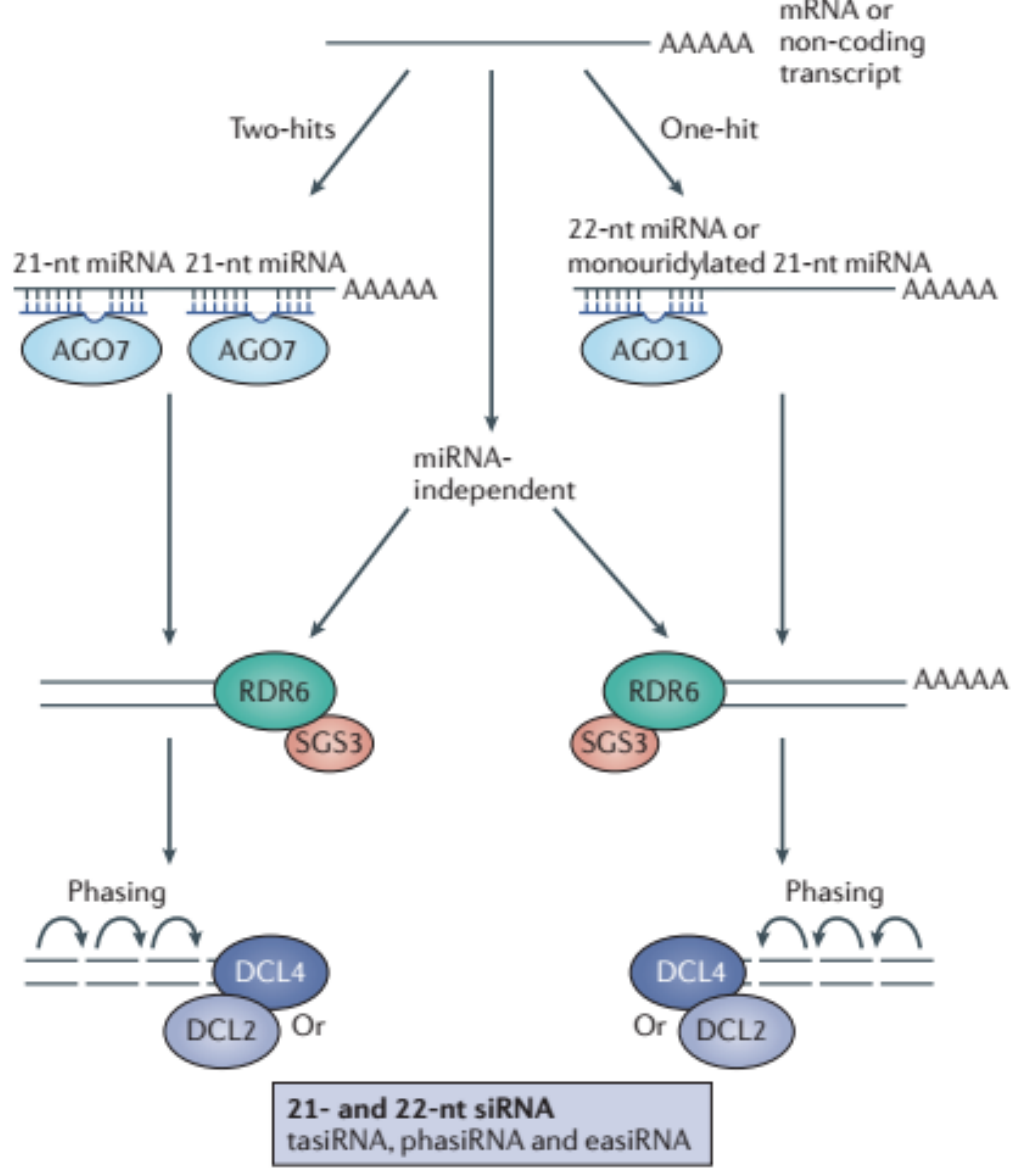


次级小RNA的触发:

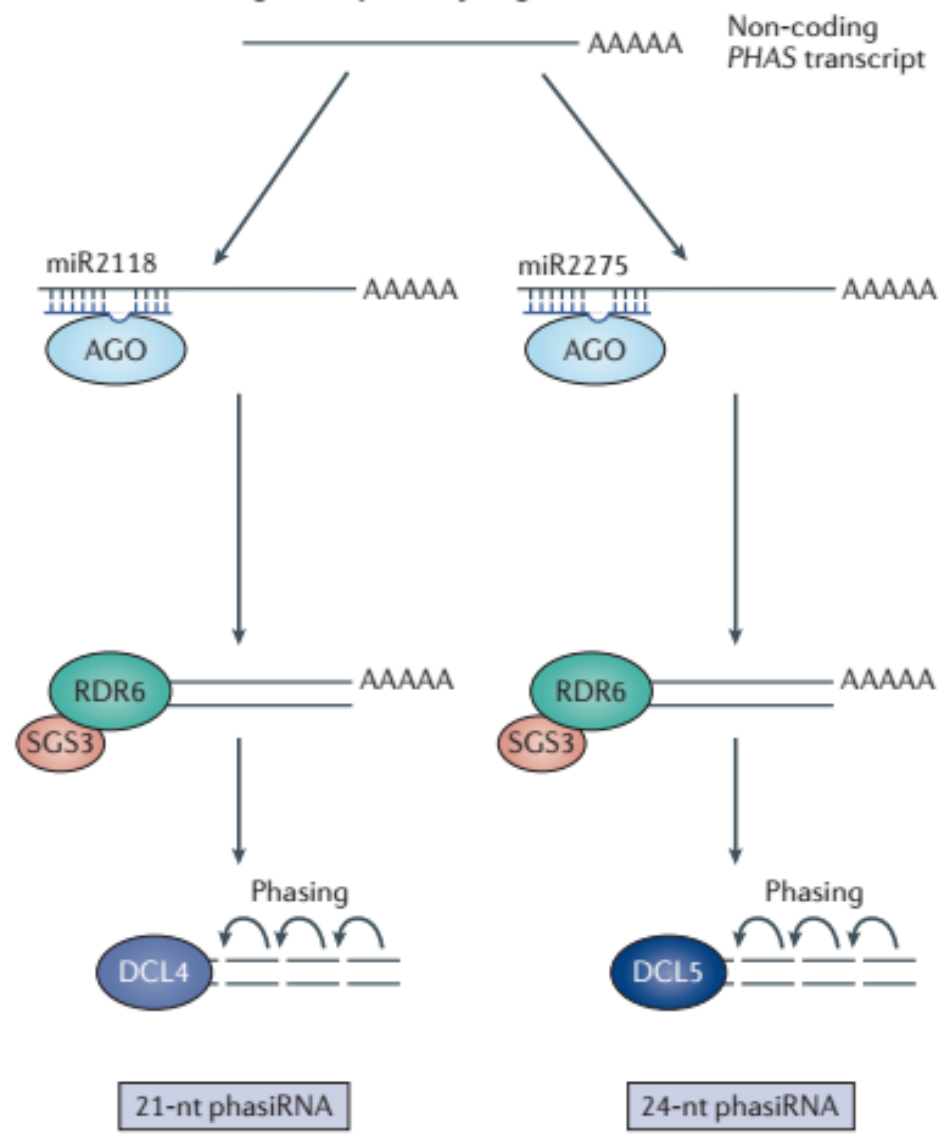
- Two-hit
- One-hit
- Mi-RNA-independent
- 逐步剪切

Figure 3 | Triggers of secondary siRNA biogenesis. a | Plant microRNAs (miRNAs) target transcripts for cleavage or

a Triggers of secondary siRNA production in plants



b PhasiRNA biogenesis pathway in grasses



phasiRNA:

相位siRNA

单子叶植物
特定部位的
转录本被特
异性小RNA
结合剪切

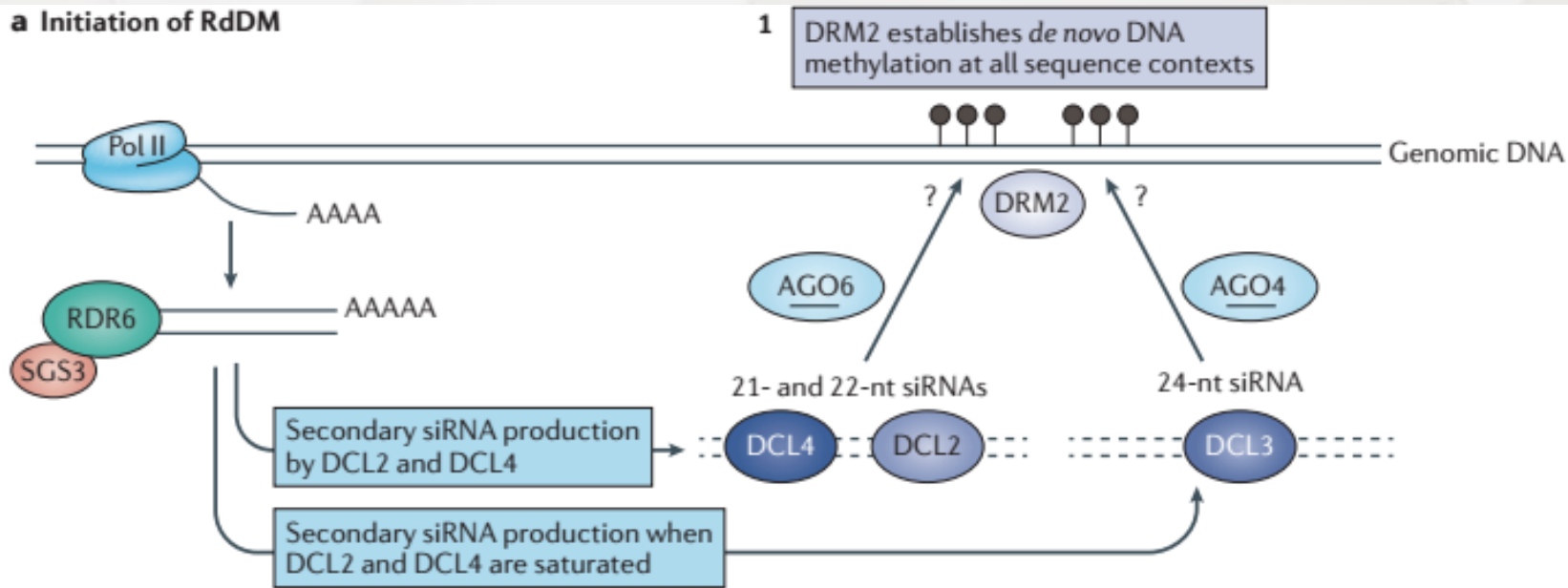
经RNA复制
酶补齐双链,
经特定DCL
酶等相位剪
切

Figure 3 | Triggers of secondary siRNA biogenesis. a | Plant microRNAs (miRNAs) target transcripts for cleavage or

拓展：

- 使用与tasiRNAs类似的遗传途径，miRNA也能够从转录激活的转座因子触发二级siRNA生物发生。在野生型拟南芥花粉中，如果细胞损伤或在胁迫条件下，一些转座子和easiRNA的发生和再激活常常发生在表观遗传里。
- 次要siRNA发生途径也可能与其他细胞途径相互作用（例如RNA剪接）。最近在酵母和苍蝇中的工作已经表明，将在弱剪接位点和内含子处的剪接体停转，可以起到触发RNAi的信号的作用，因此代表了区分小RNAs和蛋白质编码转录物的转座子或前体的方法。
- 在拟南芥中，由于RDR6介导的转基因和内源基因的PTGS在非致敏介导的衰变（NMD）突变体中增强，因此RNA衰变和PTGS是功能相关的。在裂殖酵母和果蝇中也观察到RNAi和RNA衰变之间的相互作用

a Initiation of RdDM



b Maintenance of RdDM

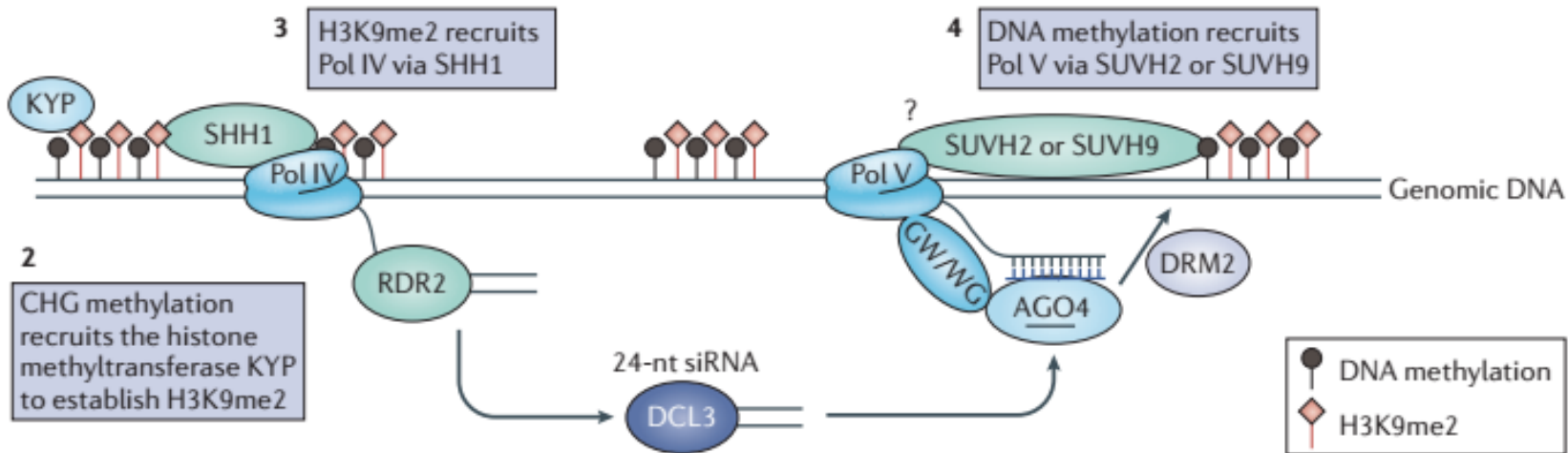


Figure 4 | The transition from post-transcriptional gene silencing (PTGS) to TGS in transgenes, epialleles and active transposons. a | PTGS by microRNAs (miRNAs) is probably the major pathway triggering the biogenesis of secondary 21-

RdDM:
依赖于RNA的DNA甲基化

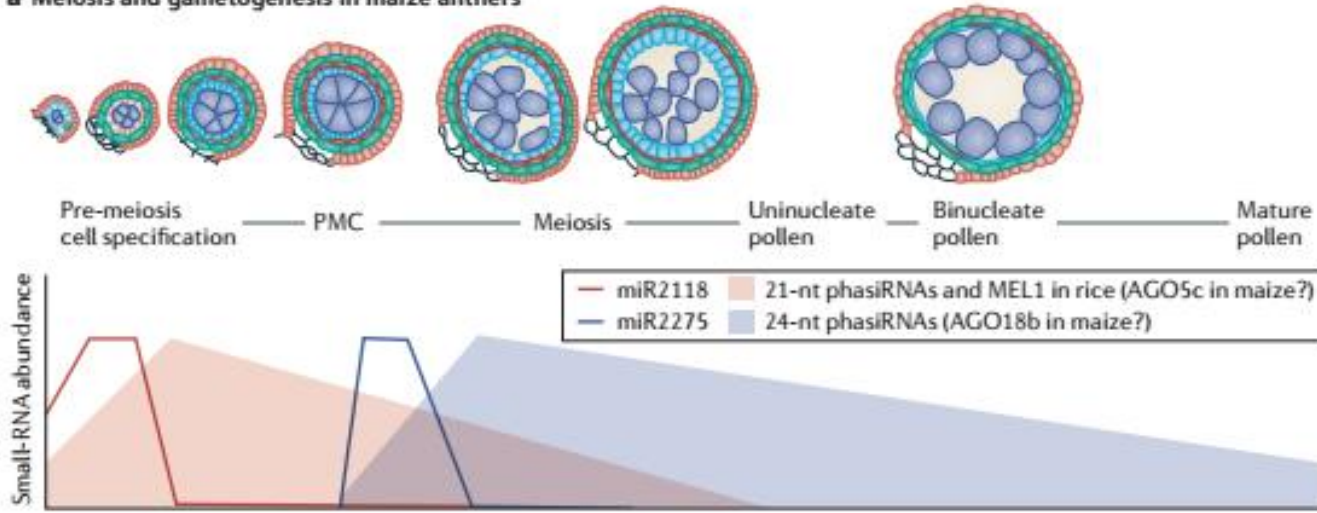
RDR:
依赖于RNA的RNA聚合酶

DRM2:
甲基转移酶

拓展：

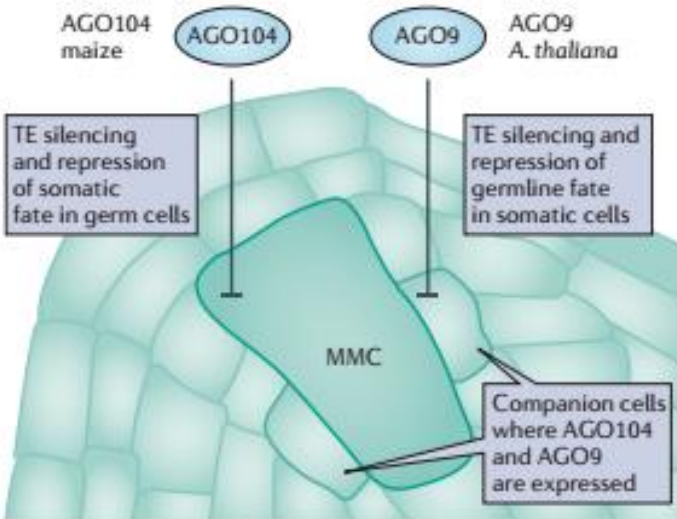
- 不同物种杂交的后代和种间异源倍体后代在植物中特别常见。作物如小麦，棉花和油菜是种间异质多倍体，而玉米和高粱则以种内杂种维持。在这两种情况下，保持杂合性是促进生长表型的重要因素，也称为杂种活力或杂种优势。杂交中小RNA的作用已经在许多植物物种中广泛研究。
- RNAi介导的DNA损伤修复发生在植物中，这与在真菌*Neurospora crassa*（粗糙脉孢菌）和*S. Pombe*（耻垢分枝杆菌）中的先前研究一致。值得注意的是，在人类细胞，黑腹果蝇和*S.pombe*中也发现了小RNA和AGO在DSB（核苷酸双链断裂）修复中的作用，特别是在同源重组中的作用，表明在DSB修复中小RNA的重要和保守作用，可能在招募其他蛋白质复合物到DSB位点。

a Meiosis and gametogenesis in maize anthers



b Meiosis, cell specification and chromosome segregation

AGO104 in maize and AGO9 in *A. thaliana* are involved in MMC specification in the female gametophyte



AGO104 in maize is involved in chromosome segregation

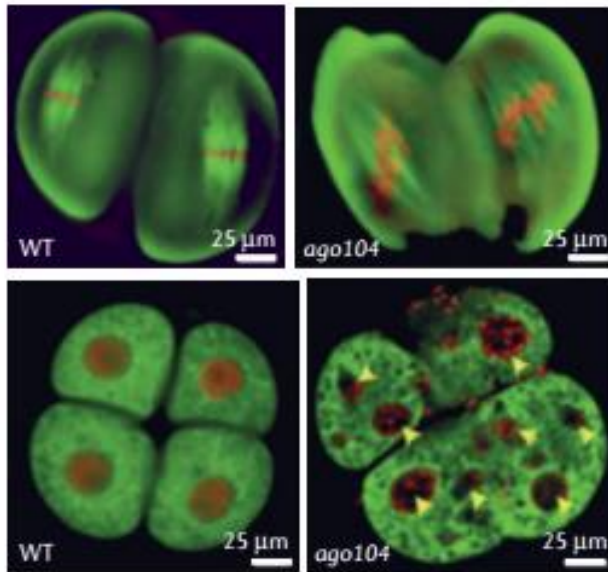


Figure 5 | Small-RNA functions in meiosis and cell fate specification. a | In grass anthers, two distinct small-RNA

玉米花药中21个核苷酸的 phasiRNA在配子体发育过程中被表达在细胞中并且呈下降趋势，而24个核苷酸phasiRNAs在减数分裂中累积并在成熟花粉中保持丰富

结论和未来前景

大多数小RNA类对生物和非生物胁迫的贡献以及获得性的基于RNA的应答的跨代遗传和稳定性仍不清楚。

我们已经能够描绘涉及植物中小RNA生物发生和功能的复杂分子机制，但是完全了解在植物细胞中运行的不同基因沉默机制之间的特异性和相互作用将保持不变，直到我们能够分离分离的细胞类型和单细胞中的小RNA。

解决这些挑战的研究工作正在进行中，将为各种细胞，发育和跨代背景下的基于RNA的基因调控提供重要的新见解。

Thank you !