

microRNA 及其在植物生长发育中的作用

章文蔚 罗玉萍* 李思光

南昌大学生命科学学院, 南昌 330031

microRNA and Its Role in Plant Growth and Development

ZHANG Wen-Wei, LUO Yu-Ping*, LI Si-Guang

College of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China

提要 microRNA (miRNA)是真核生物中一类长度约为22个核苷酸的调控基因表达的非编码小分子RNA。文章介绍miRNA在植物生长发育、激素分泌与信号转导、对外界环境胁迫的应答以及调控自身合成中的作用的研究进展。

关键词 microRNA; 非编码RNA; 植物生长发育

自从牵牛花中发现小分子干扰RNA (small interference RNA, siRNA)以后,人们又相继在粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)、秀丽新小杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)、Hela细胞、斑马鱼(*Brachydanio rerio*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)等许多真核模式生物中找到了数百个有功能的非编码小分子RNA,并将这些小分子RNA分为microRNA (miRNA)、siRNA、tiny non-coding RNA (tncRNA)和small modulatory RNA (smRNA)四大类,其中miRNA是当前研究比较深入的一类小分子RNA (Kim 2005)。

lin-4、*let-7*是最早在秀丽新小杆线虫中发现的长约22 nt的miRNA (Lee等1993; Reinhart等2000)。当时,人们将这种具有时间表达特异性的小分子RNA称为小分子时序RNA (small temporal RNA, stRNA),随后又将这类长度为19~25 nt的非编码小分子RNA命名为microRNA,即miRNA。Reinhart等(2002)从拟南芥小分子文库中获得16个miRNA。尽管植物miRNA的发现比动物miRNA晚10年,但由于鉴定方法的不断发展,因而植物miRNA的报道数量呈几何级数增长。miRNA广泛分布于植物基因组中,它是真核生物基因表达的一类负调控因子,主要在转录后水平上通过介导mRNA靶分子的切割或降低靶分子的翻译来调节植物基因的表达,从而调控植物器官的形态建成、生长发育、激素分泌与信号转导以

及植物对外界环境胁迫因素的应答能力。

1 植物miRNA的特征

目前,对miRNA的鉴定主要有计算机RNA组学和实验RNA组学2种方法。人们采用基于计算机软件分析的计算机RNA组学方法和基于小分子RNA的cDNA文库构建和测序的实验RNA组学方法已经在植物中发现了数百个miRNA,在这些植物miRNA中有863个已经登入miRNA数据库 (<http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>),它们分别属于67个miRNA基因家族(Griffiths-Jones等2006; Zhang等2006)。

随着miRNA研究的不断深入,人们发现miRNA基因以单拷贝、多拷贝或基因簇(cluster)的形式广泛存在于真核生物基因组中,且大部分位于基因间隔区(intergenic region, IGR),也有相当一部分位于编码蛋白基因的内含子中(Baskerville和Bartel 2005)。和动物miRNA一样,植物miRNA无开放阅读框且表现出进化上的保守性,由含有发夹结构的前体剪切加工而来,通常其前体的自由能比较低(-239~-134 kJ·mol⁻¹) (Bonnet等2004)。成熟的miRNA长度为19~25 nt,5'端带有磷酸基团且多为尿嘧啶核苷酸,3'端带有羟基,因而miRNA能与大多数寡核苷酸和功能RNA的降解片

收稿 2006-08-10 修定 2006-11-17

资助 国家自然科学基金(30660042)和江西省自然科学基金(0630136)。

*通讯作者(E-mail: luoyuping@163.com, Tel: 0791-8304938)。

段区分开来(Lau等2001; Lee和Ambros 2001)。大多数植物 miRNA 还呈现出组织特异性表达和发育阶段特异性表达的特点, 且具有调控自身转录的机制。尽管植物 miRNA 与动物 miRNA 之间存在着诸多共同特征, 但两者也有一些明显不同的特征: (1) 植物 miRNA 虽然比较保守, 但仅是成熟的植物 miRNA 才表现出进化上的保守性。这一点与动物 miRNA 不同, 动物 miRNA 则无论是其前体还是成熟的 miRNA 都表现出保守的特性(Reinhart 等 2002)。(2) 植物 miRNA 前体的长度变化较大, 一般为 60~342 nt, 有的超过 1 kb; 而动物 miRNA 前体为 60~80 nt。成熟的植物 miRNA 长度为 20~24 nt, 动物 miRNA 为 20~22 nt (Millar 和 Waterhouse 2005)。(3) 植物 miRNA 和动物 miRNA 成熟所需要的一些关键蛋白质不同。植物 miRNA 成熟加工需要 Dicer-like 1 (DCL1)、Hasty (HST)、Hyponastic leaves 1 (HYL1) 和 Hua enhancer 1 (HEN1) 蛋白等, 而动物 miRNA 则需要 Drosha、Dicer 和 Exportin-5 蛋白等。植物中 DCL1 酶在细胞核内将 miRNA 前体 (pre-miRNA) 切割成 miRNA: miRNA* 双体, 然后由 HST 蛋白将其转运到细胞质中进行进一步的加工。在动物中, 这一步骤却由 Exportin-5 蛋白直接将 miRNA 前体从细胞核转运到细胞质中, 紧接着由 Dicer 酶进一步加工 (Papp 等 2003; Bartel 2004; Lund 等 2004)。(4) 与动物 miRNA 不同的是, 植物 miRNA 与靶基因的结合位点不仅限于靶基因的 3' 非翻译区 (untranslated region, UTR), 还可以位于转录区域。此外, 植物 miRNA 与其靶基因序列具有更高的互补性。目前发现多数植物 miRNA 与其靶基因几乎完全可以互补, 因此就可以较容易预测出它们所作用的一系列可能的靶标, 而动物 miRNA 与其靶基因不完全配对 (Llave 等 2002a)。大多数情况下, 植物 miRNA 作用的靶标主要是一些在植物生长发育过程中起作用的转录调控因子, 而动物 miRNA 不但能调控一些转录因子, 还可以对物质代谢、细胞周期、细胞分化和凋亡以及个体发育等一系列生命活动进行调节 (Jover-Gil 等 2005)。

2 植物 miRNA 的功能

2.1 miRNA 与植物的生长发育 miRNA 的正常表达是植物正常生长发育所必需的。人们最初通过

提高或降低植物体中 miRNA 的表达量, 或者通过改变 miRNA 中核苷酸以降低与其靶 mRNA 中碱基配对程度来研究植物 miRNA 的功能。最近, 有人通过转基因手段改变植物中靶 mRNA 的序列, 使其具有抗 miRNA 降解能力来研究 miRNA 对靶基因的调控作用。目前, 植物以拟南芥 miRNA 的研究最为详尽, Palatnik 等 (2003) 发现 *miR319* (或称为 *miR-JAW*) 基因在野生型植株的芽顶端组织、花器官和果实中均有表达, 通过对 *jaw-D* 基因进行突变研究, 发现 *miR319* 能通过靶向作用于 *TCP* 转录因子 (*TBI/CYC/PCFs*, *TCP*) 基因家族成员来调控植物叶片的形态建成。*miR319* 基因过量表达导致植物的叶片偏上生长、果实畸形、叶片边缘锯齿化和开花期延迟等一系列异常的多效表型 (pleiotropic phenotype)。*miR164* 家族能通过调节具有 *NAC* 功能域的转录因子 (*NAM/ATAF/CUC*, *NAC*) 基因家族中的 *CUP SHAPED COTYLEDON1 (CUC1)*、*CUC2* 和 *CUC3* 来实现对植物的花瓣数量以及花器官边缘细胞与顶端分生组织细胞分化的调控 (Aida 等 1997; Rhoades 等 2002)。*miR165/166* 能作用于第 III 类带有同型亮氨酸拉链结构域 (*class III homeodomain-leucine zipper*, *class III HD-Zip*) 基因家族和 *KANADI* 基因家族成员, 其中基因 *PHABULOSA (PHB)*、*PHAVOLUTA (PHV)*、*REVOLUTA (REV)*、*KAN1*、*KAN2* 和 *KAN3* 能调节叶片、花器官和维管组织细胞的极性分化, 从而影响植物形态的建成 (Chen 2005)。在被子植物、裸子植物、蕨类植物、石松属植物、苔藓植物、地钱以及金鱼藻的研究中发现, *miR165/166* 与 *class III HD-Zip* 基因家族成员结合的靶位点表现出极高的保守性 (Floyd 和 Bowman 2004)。

在植物中已经分离鉴定出一些对 miRNA 合成与功能起作用的基因, 如 *DCL1*、*AGO1*、*HEN1*、*HYL1* 和 *HST* 基因, 通过对这些基因进行突变, 发现导致植物 miRNA 靶基因表达上调, 并导致植物生长发育异常。基因 *dcl1* 突变可减少成熟 miRNA 的合成量, 并改变叶片形态, 导致花期延迟和雌性不育等现象 (Schauer 等 2002)。基因 *hst* 突变也可影响花器官与叶片的形态, 以致可育性降低, 加速营养生长转向生殖生长并改变叶在茎枝上的排列方式 (Telfer 和 Poethig 1998), 这

些现象表明 miRNA 是在植物发育过程中起作用的。大多数的 miRNA 通过调控转录因子的表达来调节植物的发育过程, 目前发现植物 miRNA 靶标中的 50% 左右是一些转录调控因子。在拟南芥中, miR164 通过调节具有 NAC 功能域的转录因子家族成员, 如 CUC1、CUC2、NAM、NAC1、At5g07680 和 At5g61430 来调控植物分生组织的发育、顶端器官的分离以及侧根的发育 (Rhoades 等 2002; Mallory 等 2004)。miR166 通过调节拟南芥 Homeobox 15 蛋白 (ATHB 15) 来调控植物的维管细胞和韧皮部细胞的发育 (Kim 等 2005), 一些 miRNA 还与植物细胞壁的合成及纤维的发育有关。

对于开花植物来说, 花器官的发育是植物发育过程中的一个重要阶段。miR172 通过调控靶标 *AP2* (*APETALA2*) 和 *AP2-like* 基因来调节植物开花的时间和花的形态。过量表达 miR172 能抑制 *AP2* 基因和 *AP2-like* 基因如 *TOE1* (*TARGET OF EAT1*) 的表达, 导致植物开花期提前并影响花器官的形态建成 (Chen 2004)。拟南芥中 miR171 通过对具有 GRAS 结构域的 SCL (SCARECROE-LIKE) 转录因子家族成员如 SCL6-II、SCL6-III 和 SCL6-IV 的调控, 来控制花的发育和根系发育 (Llave 等 2002b)。miR156 也能影响植物的开花时间, 在 *35S::MIR156* 转基因植物大量表达 miR156 后, 发现植株表现出短日照条件下开花延迟和能育性降低, 因此 miR156 可能是通过靶向作用于转录因子 SPL (squamosa promoter binding protein like) 来行使其功能的 (Schwab 等 2005)。另外, miR319 的过量表达会导致 *TCP* mRNA 水平下降, 因而植物叶片弯曲并呈锯齿状, 同时植物花期也延迟。

此外, miRNA 还参与植物生长发育过程中的转型, 如幼叶转向成熟叶, 营养生长转变为生殖生长, 花序分化转向为花器官生长等。miR172 调节一些 *AP2-like* 基因, 如 *TOE1*、*TOE2*、*TOE3*、*SM2* 和 *SNZ*, 从而对植物发育过程中的转型进行调控。拟南芥中, miR172 通过指导切割 *TOE1* 和 *TOE2* mRNA 调控植物从营养生长向生殖生长的转变 (Aukerman 和 Sakai 2003)。玉米中, miR172 通过调控 *AP2-like* 基因 *glossy15* 调节幼叶向成熟叶的转变。

2.2 miRNA与植物激素的调节及信号转导 植物激素是植物生长与发育的重要调控因子, 不仅在植物细胞的分裂、延长和分化中起调控作用, 而且在植物器官的形成与应答外界压力中也发挥作用 (王金祥等 2005; 周德保 2005)。植物激素分子通过与生长素反应因子 (auxin response factor, ARF) 相结合, 影响植物生长和发育的诸多方面。GH3 和生长素/吲哚乙酸 (Aux/IAA) 通过植物生长素反应启动子 (auxin-response promoter element, AuxRE) 结合起来调控激素的表达 (Hagen 和 Guilfoyle 2002)。植物激素能导致一些转录抑制蛋白的降解, 例如通过泛素-蛋白酶通路的 Aux/IAA 蛋白的降解。目前发现, 许多植物激素的信号分子是 miRNA 的作用靶标, 在拟南芥中已经鉴定出 23 个 ARF 转录因子家族成员, 其中至少有 5 个 ARF 基因具有 miRNA 的互补位点, 它们分别是 *ARF10*、*ARF16*、*ARF17*、*ARF6* 和 *ARF8*, 其中 *ARF10*、*ARF16*、*ARF17* 是 miR160 的靶标基因, 而 *ARF6* 和 *ARF8* 是 miR167 的靶标基因 (Bartel 和 Bartel 2003)。Wang 等 (2005) 发现 miR160 通过调控 *ARF10* 和 *ARF16* 的表达影响拟南芥根冠细胞的形成。Mallory 等 (2005) 证实, 中断 miR160 的转录, *ARF10*、*ARF16*、*ARF17* mRNA 水平即增加, 从而改变生长素诱导因子 *GH3-like* 基因的表达和影响另一生长素效应因子 DR5 的正常功能, 并导致植株的严重发育缺陷, 这种现象同样在含有 5 个沉默突变位点的 *ARF17* mRNA 转基因植株中也观察到。在此种转基因的植株中, 由于 miR160 作用的靶标——*ARF17* mRNA 含有 5 个沉默突变位点, 以致 miR160 不能正常介导 *ARF17* mRNA 切割, 导致植株表现出多效异常表型, 如产生锯齿状叶片或卷缩状叶片, 开花期提前, 花形态改变和可育性降低等, 这表明 miR160 在植物发育和激素信号的调节中起作用 (Mallory 等 2005)。此外, *ARF3*、*ARF4* 还含有从 *TAS3* 基因座上产生的 ta-siRNA (*trans-acting siRNA*) 的结合位点。ta-siRNA 是一类作用于 mRNA 的 siRNA, 主要在转录后基因沉默 (post transcriptional gene silencing, PTGS) 中起作用, 目前已鉴定出 5 个 ta-siRNA 转录本是 miR173 与 miR390 作用的靶标, 在体内可检测到由 *TAS3* ta-siRNA 介导的 *ARF3* 和 *ARF4* mRNA 的

切割产物(Allen等2005)。而miR164和其作用的靶标基因——*NAC1* mRNA同样也受生长素的诱导,*NAC1*编码的侧根发育时的正调控转录因子能下调*TIR1* (*transport inhibitor response 1*)水平。用T-DNA插入miR164a和miR164b,会发生功能损失突变,从而导致*NAC1* mRNA水平增加,虽然在植物根部检测到的miR164水平只有野生型的1/3~1/4,但在相同的发育时期,其比野生型长出更多的侧根(Guo等2005)。

一些miRNA还能影响信号转导通路,尤其是植物激素通路。Zhang等(2005)用表达序列标签(expressed sequence tag, EST)分析时发现,一些miRNA可在受脱落酸(abscisic acid, ABA)、赤霉素(gibberellic acid, GA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)和其他植物激素诱导的组织中检测到,如miR159、miR160、miR164和miR167。*LEAFY* (*LFY*)基因在高等植物的营养和生殖组织中广泛表达,该基因处于成花调控网络的关键位置,植物激素如GA及ABA的信号转导与*LFY*基因表达有关。*GAMYB*相关蛋白是一类通过调控*LEAFY*蛋白水平影响花器官正常发育的转录因子,miR159通过指导切割*GAMYB* mRNA,对*LEAFY*蛋白进行调控。miR159受GA的正调控,miR159过量表达可导致*LEAFY* mRNA降解,开花期延迟,影响花的发育过程。*NAC1*是一种转录激活因子,它通过调节转运抑制效应因子*TIR1*作为调控侧根的生长素信号。miR164突变可导致植物生长素信号通路发生中断,以及*NAC1* mRNA水平增加和更多的侧根生成,而miR164大量表达则会导致*NAC1*基因表达的下调和减少侧根的形成(Achard等2004)。

此外,miR393也可以通过调节*TIR1*来调控信号通路(Wang等2004)。拟南芥的F-box蛋白*TIR1*是植物生长素受体,也是泛素化降解途径中的E3连接酶复合体的一种非常重要的组分,在应答激素反应中,*TIR1*形成的SCF^{*TIR1*}复合体不需要任何修饰的情况下可直接与生长素结合,从而导致Aux/IAA蛋白降解(Dharmasiri等2005; Kepinski和Leyser 2005)。还有报道认为,编码F-box蛋白*TIR1*的mRNA是miR393的作用靶标(Jones-Rhoades和Bartel 2004; Sunkar和Zhu

2004),这表明miRNA同样也能靶向作用于F-box蛋白和影响E3连接酶的活性。所有这些均表明,miRNA在激素调节和信号转导中发挥作用。

2.3 miRNA与植物病害和应答环境胁迫 病毒感染是一个广泛影响植物生长发育的生物因素,每年因植物病毒感染而导致大多数农作物和果树减产30%左右。在长期的进化过程中,植物已经形成了一些抵制病毒感染的机制,其中一种机制就是病毒介导的转录后基因沉默。已有越来越多的证据表明,miRNA与病毒介导的疾病以及病毒诱导的基因沉默有关(Chapman等2004)。现已从植物病毒中鉴定出的RNA沉默抑制因子有30多种,如p19、p21、p25和p69等,这些抑制因子通常称为致病因子。致病因子通常可阻碍siRNA的形成,或影响siRNA的稳定性,或干扰siRNA与RISC复合物的结合,并能导致植物的一些相关疾病的产生和引起发育畸形。植物中过量的HC-Pro蛋白酶(helper component-proteinase)会降低miR171水平,产生与miR171相关的发育缺失型植株(Kasschau等2003)。通过拟南芥中过量表达的*Hc-Pro*基因,发现miR171的多数靶mRNA水平提高,致使植物出现受病毒介导的相关病症(Kasschau等2003)。

在植物形成的多种应答各种环境胁迫的机制中,还有一种是通过调节miRNA起作用。最近的研究发现,干旱、严寒和盐分会影响植物miR319c、miR393、miR395、miR397b和miR402的表达,如miR319c仅由严寒因素诱导表达(Sunkar和Zhu 2004),miR395在低硫酸盐的条件下诱导表达,此时miR395的靶标基因*APS1* (*ATP sulfurylase 1*)表达明显下降(Jones-Rhoades和Bartel 2004)。Lu等(2005)从杨树中分析出48个miRNA序列,其中大多数miRNA靶向作用于与发育和胁迫以及抗病毒侵染有关的基因。植物miRNA还参与植物应答外界环境胁迫的反应,植物在环境胁迫因素作用下能诱导某些miRNA过量或低量表达,或直接合成一些miRNA并对外界环境胁迫做出应答反应。

3 结语

植物中的miRNA及其对植物生长发育的影响是植物生物学研究领域中的一个热点,它为植物

生物学的研究提出了新的研究思路。但是随着研究的深入, 越来越多的问题摆在人们面前有待解决, 如 miRNA 对多个靶基因的网络调控具体机制是怎样的, miRNA 作用过程中是否有放大效应, 植物中究竟有多少 miRNA, 如何查清楚植物中的 miRNA 并找出它们的靶基因和揭示它们的功能。只有揭示其作用的靶基因后才能更好地进行功能研究, 从而也才可以弄清楚它在生命活动中的作用。就目前的研究来看, 虽然各个物种中发现的 miRNA 数量已不少, 但能说明 miRNA 的靶基因及其功能的直接证据并不多, 而且多数是通过筛选突变体获得的。相信, 随着 miRNA 研究技术的不断成熟, 将有更多的 miRNA 及其靶基因被鉴定出来。

参考文献

- 王金祥, 严小龙, 潘瑞焯 (2005). 不定根形成与植物激素的关系. 植物生理学通讯, 41 (2): 133~142
- 周德保 (2005). 植物激素与细胞骨架的排向. 植物生理学通讯, 41 (2): 224~228
- Achard P, Herr A, Baulcombe DC, Harberd NP (2004). Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA. *Development*, 131: 3357~3365
- Aida M, Ishida T, Fukaki H, Fujisawa H, Tasaka M (1997). Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of the *cup-shaped cotyledon* mutant. *Plant Cell*, 9: 841~857
- Allen E, Xie Z, Gustafson AM, Carrington JC (2005). microRNA-directed phasing during *trans*-acting siRNA biogenesis in plants. *Cell*, 121: 207~221
- Aukerman MJ, Sakai H (2003). Regulation of flowering time and floral organ identity by a microRNA and its *APETALA2*-like target genes. *Plant Cell*, 15: 2730~2741
- Bartel B, Bartel DP (2003). MicroRNAs: at the root of plant development? *Plant Physiol*, 132: 709~717
- Bartel DP (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116: 281~297
- Baskerville S, Bartel DP (2005). Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA*, 11: 241~247
- Bonnet E, Wuyts J, Rouze P, Van de Peer Y (2004). Evidence that microRNA precursors, unlike other non-coding RNAs, have lower folding free energies than random sequences. *Bioinformatics*, 20: 2911~2917
- Chapman EJ, Prokhnovsky AI, Gopinath K, Dolja VV, Carrington JC (2004). Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step. *Genes Dev*, 18: 1179~1186
- Chen X (2004). A microRNA as a translational repressor of *APETALA2* in *Arabidopsis* flower development. *Science*, 303: 2022~2025
- Chen X (2005). MicroRNA biogenesis and function in plants. *FEBS Lett*, 579: 5923~5931
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435: 441~445
- Floyd SK, Bowman JL (2004). Gene regulation: ancient microRNA target sequences in plants. *Nature*, 428: 485~486
- Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ (2006). miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res*, 34: D140~D144
- Guo HS, Xie Q, Fei JF, Chua NH (2005). MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor *MCI* to downregulate auxin signals for *Arabidopsis* lateral root development. *Plant Cell*, 17: 1376~1386
- Hagen G, Guilfoyle T (2002). Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. *Plant Mol Biol*, 49: 373~385
- Jones-Rhoades MW, Bartel DP (2004). Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Mol Cell*, 14: 787~799
- Jover-Gil S, Candela H, Ponce MR (2005). Plant microRNAs and development. *Int J Dev Biol*, 49: 733~744
- Kasschau KD, Xie Z, Allen E, Llave C, Chapman EJ, Krizan KA, Carrington JC (2003). P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with *Arabidopsis* development and miRNA function. *Dev Cell*, 4: 205~217
- Kepinski S, Leyser O (2005). The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435: 446~451
- Kim J, Jung JH, Reyes JL, Kim YS, Kim SY, Chung KS, Kim JA, Lee M, Lee Y, Kim VN et al (2005). microRNA directed cleavage of *ATHB15* mRNA regulates vascular development in *Arabidopsis* inflorescence stems. *Plant J*, 42: 84~94
- Kim VN (2005). Small RNAs: classification, biogenesis, and function. *Mol Cells*, 19: 1~15
- Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP (2001). An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 294: 858~862
- Lee RC, Ambros V (2001). An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 294: 862~864
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75: 843~854
- Llave C, Kasschau KD, Rector MA, Carrington JC (2002a). Endogenous and silencing-associated small RNAs in plants. *Plant Cell*, 14: 1605~1619
- Llave C, Xie Z, Kasschau KD, Carrington JC (2002b). Cleavage of *scarecrow-like* mRNA targets directed by a class of *Arabidopsis* miRNA. *Science*, 297: 2053~2056

- Lu S, Sun Y, 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
- Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U (2004). Nuclear export of microRNA precursors. *Science*, 303: 95~98
- 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: 1360~1375
- Mallory AC, Dugas DV, Bartel DP, Bartel B (2004). MicroRNA regulation of NAC-domain targets is required for proper formation and separation of adjacent embryonic, vegetative, and floral organs. *Curr Biol*, 14: 1035~1046
- Millar AA, Waterhouse PM (2005). Plant and animal microRNAs: similarities and differences. *Funct Integr Genomics*, 5: 129~135
- Palatnik JF, Allen E, Wu X, Schommer C, Schwab R, Carrington JC, Weigel D (2003). Control of leaf morphogenesis by miRNAs. *Nature*, 425: 257~263
- Papp I, Mette MF, Aufsatz W, Daxinger L, Schauer SE, Ray A, Van der Winden J, Matzke M, Matzke AJM (2003). Evidence for nuclear processing of plant microRNA and short interfering RNA precursors. *Plant Physiol*, 132: 1382~1390
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G (2000). The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403: 901~906
- Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP (2002). MicroRNAs in plants. *Genes Dev*, 16: 1616~1626
- Rhoades MW, Reinhart BJ, Lim LP, Burge CB, Bartel B, Bartel DP (2002). Prediction of plant microRNA targets. *Cell*, 110: 513~520
- Schauer SE, Jacobsen SE, Meinke DW, Ray A (2002). *DICER-LIKE1*: blind men and elephants in *Arabidopsis* development. *Trends Plant Sci*, 7: 487~491
- Schwab R, Palatnik JF, Riester M, Schommer C, Schmid M, Weigel D (2005). Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome. *Dev Cell*, 8: 517~527
- Sunkar R, Zhu JK (2004). Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 2001~2019
- Telfer A, Poethig RS (1998). HASTY: a gene that regulates the timing of shoot maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 125: 1889~1898
- 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: 2204~2216
- Wang XJ, Reyes JL, Chua NH, Gaasterland T (2004). Prediction and identification of *Arabidopsis thaliana* microRNAs and their mRNA targets. *Genome Biol*, 5: 1~15
- Zhang BH, Pan XP, Anderson TA (2006). Identification of 188 conserved maize microRNAs and their targets. *FEBS Lett*, 580: 3753~3762
- Zhang BH, Pan XP, Wang QL, Cobb GP, Anderson TA (2005). Identification and characterization of new plant microRNAs using EST analysis. *Cell Res*, 15: 336~360