

mRNA选择性剪切在植物发育中的作用

曲瑞莲, 吴春霞*, 冯献忠

山东师范大学生命科学学院逆境植物重点实验室, 济南250014

摘要: mRNA选择性剪切(alternative splicing)是生物体基因转录调控的基本方式之一, 随着新一代测序技术的广泛应用, 越来越多的基因的选择性剪切现象被揭示。在植物发育的不同阶段及其应对外界逆境胁迫的过程中, 许多基因发生了选择性剪切, 产生植物各个发育阶段所需的特定蛋白质来完成不同的发育过程和形成不同应答因子以适应外界环境的变化。本文从种子发育、器官形态发育、开花时间、生物钟调控、环境胁迫等方面综述选择性剪切在植物发育中的研究进展。

关键词: mRNA选择性剪切; 植物发育; 逆境胁迫

Function of mRNA Alternative Splicing in Plant Development

QU Rui-Lian, WU Chun-Xia*, FENG Xian-Zhong

Shandong Provincial Key Laboratory of Plant Stress Research, College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

Abstract: mRNA alternative splicing is one of the basic ways for regulation of gene transcription in eukaryotes. With the wide application of new generation sequencing technology, more and more splicing events are revealed currently. During different stages of plant development and response to environmental stress, many genes could produce different alternative splicing products to participate in particular developmental processes and response to various environments. In this paper, we reviewed the progress of alternative splicing studies in seed and organ development, flowering time, circadian clock and environmental stress in plant.

Key words: mRNA alternative splicing; plant development; environmental stress

选择性剪切(alternative splicing, AS)又称可变剪切, 是指mRNA前体通过不同的剪切方式产生各种各样的mRNA剪切异构体, 最终产生功能和结构不同的蛋白产物, 其中比较常见的是通过产生提前终止的密码子(pre-mature termination codons, PTC)而导致编码终止。选择性剪切最早发现于免疫球蛋白 μ 基因和降钙素基因中, 免疫球蛋白基因和降钙素基因通过选择性剪切途径分别产生两种不同的mRNA (Early等1980; Rosenfeld等1982)。随后研究者陆续发现选择性剪切广泛存在于真核生物中, 是一种基本的基因表达调控方式。随着第二代测序技术的迅猛发展, 发现人类超过95%的基因中存在选择性剪切现象(Pan等2008), 并因此产生了各种各样的蛋白质, 参与细胞的分化、发育、各种生理过程以及许多疾病的调控。到目前为止, 研究的参与选择性剪切的基因在植物中所占的比例远远低于动物(周新成等2012)。在植物中大约60%包含内含子的基因有选择性剪切现象, 如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)中分别有61%和33%含有内含子的基因有选择

性剪切现象(Wang和Brendel 2006; Barbazuk等2008; Wang等2008; Filichkin等2010; Marquez等2012), 并且在不同的组织、发育阶段和环境条件下发生选择性剪切的基因数量, 还会发生较大的差异(Syed等2012)。植物发育过程中具有选择性剪切现象的许多相关基因的功能已被阐明(表1), 选择性剪切在植物发育和环境应答中的作用已受到研究者越来越多的重视。

1 选择性剪切的过程和方式

真核生物的前体mRNA含有内含子剪接信号(剪接位点, polyA加尾位点和分支位点序列)以及外显子和内含子剪接增强子和抑制序列[此序列为剪切因子(splicing factor, SF)的结合位点]。前体mRNA形成后, 剪切因子将结合在目标序列上帮助招募剪接相关蛋白(例如, 拟南芥的U2AF和U1snRNP等)以确定剪切加工位点和剪接体的组装

收稿 2014-03-03 修定 2014-05-07

资助 国家自然科学基金重大项目(91131008)和国家自然科学基金项目(31171571)。

* 通讯作者(E-mail: cxwu1001@163.com; Tel: 0531-86180792)。

表1 通过选择性剪切参与植物发育过程的基因

Table 1 The elucidated alternative splicing genes involved in plant development

植物发育过程	相关的选择性剪切基因(基因全称见下文)	参考文献
种子发育	<i>rgh3</i> 、 <i>Wx</i> 、 <i>Vp1</i> 、 <i>ABI3</i> 、 <i>lachesi</i> 、 <i>clotho</i> 、 <i>atropos</i> 、 <i>PIF6</i>	Isshiki等1998; McKibbin等2002; Gross等2007; Moll等2008; Liu等2009; Penfield等2010; Sugliani等2010; Fouquet等2011
器官发育	<i>SR</i> (<i>SR32</i> 、 <i>SR33a</i> 、 <i>SR33</i>)、 <i>YUCCA4</i> 、 <i>Osrea</i> 、 <i>ZIFL1</i> 、 <i>PLENA</i> 、 <i>FARINELLI</i>	Zhang和Komatsu 2000; Airoidi和Davies 2012; Kriebaumer等2012; Remy等2013; Zhang等2013
开花时间	<i>FLC</i> 、 <i>MAF2</i> 、 <i>SOC1</i> 、 <i>FCA</i> 、 <i>AtSRp30</i> 、 <i>FVE</i> 、 <i>FLM</i> 、 <i>SMZ</i> 、 <i>TCE1,2</i> 、 <i>SPL4</i>	Quesada等2003; Balasubramanian等2006; Terzi 2008; Song等2009; Rosloski等2013
生物钟	<i>CCA1</i> 、 <i>LHY</i> 、 <i>PRMT5</i> 、 <i>PRR9</i> 、 <i>RVE2</i> 、 <i>LCL1</i> 、 <i>PRR7</i> 、 <i>CIR1</i> 、 <i>CKB3</i> 、 <i>ASG4</i> 、 <i>CCRI</i> 、 <i>GRP8</i>	Deng等2010; Filichkin等2010; Hong等2010; Filichkin和Mockler 2012
生物和非生物胁迫	<i>HsfA2</i> 、 <i>INH2</i> 、 <i>sad1/lsm5</i> 、 <i>Wdreb2</i> 、 <i>N</i> 、 <i>RPS4</i> 、 <i>SR</i> (<i>SR32</i> 、 <i>SR33a</i>)、 <i>TNL</i> 、 <i>CNL</i>	Dinesh-Kumar 和 Baker 2000; Egawa等2006; Zhang和Gassmann 2007; Gassmann 2008; Brummell等2011; Golisz等2013; Liu等2013; Zhang等2013

(Agafonov等2011)。剪切因子主要包括Ser/Arg-rich (SR)蛋白和异质核糖核蛋白颗粒(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein particle, hnRNP)蛋白两个家族。前体mRNA的剪切加工的产物由特定细胞环境下剪切因子与目标位点的结合位点的数量和所招募剪接相关蛋白的种类决定。

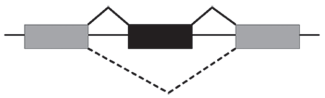
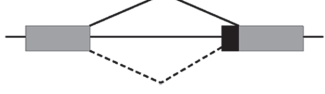


真核生物的前体mRNA可以通过不同的选择性剪切方式产生多种mRNAs,从而增加了转录组的可塑性和蛋白质组的多样性(章国卫等2004)。常见的选择性剪切方式有4种: (1)一个或几个外显子被跳过或保留的选择性剪切; (2) 3'剪切位点的选择性剪切; (3) 5'剪切位点的选择性剪切; (4)一个或几个内含子被保留的选择性剪切(Reddy等2013)。同一个基因可以通过一种或几种选择性剪切方式,产生不同的mRNA亚型。不同的剪切方式在人类以及拟南芥中发生的频率不同(图1),在人类中跳过外显子的选择性剪切方式较多,而植物中主要以内含子保留的选择性剪切方式居多(Reddy等2013)。

2 选择性剪切在植物种子发育中的作用

胚和胚乳发育是种子发育过程的一个重要阶段,二者的发育过程是协调进行的。在玉米中*Rough endosperm3* (*Rgh3*)基因编码一种参与U2和U12拼接的RNA剪切因子U2AF³⁵相关蛋白(U2AF³⁵ related protein, URP),在胚乳细胞分化、胚乳-胚胎的相互作用和胚胎及幼苗发育中发挥作用。在种子发育中期胚乳细胞由增殖状态转化为分化状态,而*rgh3*突变体的胚乳细胞则一直保持增殖状态。

*Rgh3*通过选择性剪切至少可以产生19种mRNA产物,除编码全长的*RGH3α*外,还有4种选择性剪切产物编码*RGH3β*蛋白,3种编码*RGH3γ*蛋白;*RGH3α*与U2AF⁶⁵共定位于细胞核中,在原生质内呈斑点状分布,其余蛋白在这些部位表达量较低;不同剪接的*RGH3*蛋白共同调节胚和胚乳的发育(Fouquet等2011)。在水稻中*Waxy* (*Wx*)基因能够编码淀粉合成酶,影响胚乳中直链淀粉的合成;*Wx^a*和*Wx^b*是*Wx*的2个等位基因,*Wx^b*在内含子1的5'剪切位点发生碱基突变,导致与*Wx^a*相比其表达量下降了10倍,最终使含有这对等位基因的品种中直链淀粉的含量减少(Isshiki等1998)。在胚的发育过程中,一些基因的选择性剪切决定配子细胞的发育,例如*lachesi* (Gross等2007)、*clotho* (Liu等2009)和*atropos* (Moll等2008)。

近期研究证明,选择性剪切能够影响种子的萌发以及种子成熟。SUPPRESSOR OF ABI-3 (SUA)是拟南芥中一种新型的剪切因子,属于人类剪切调节因子RBM5 (RNA binding motif protein 5)的同源蛋白,其表达能够抑制*ABSCISIC ACID INSENSITIVE3* (*ABI3*)的选择性剪切,在拟南芥中与U2AF⁶⁵互作,可能参加剪切体的形成;*ABI3*产生2种选择性剪切亚型:*ABI3-α*和*ABI3-β*。*ABI3-β*缺少77 bp隐藏的内含子,在种子成熟的末期积累,并且在成熟的种子中很可能有助于全长*ABI3*的快速下调,SUA通过控制*ABI3*的选择性剪切来影响种子的成熟(Sugliani等2010)。玉米(*Zea mays*)的*Viviparous1* (*Vp1*)转录因子通过激活胚成熟,同时抑制萌

选择性剪切的方式	人类	拟南芥
 外显子跳过/保留	>40%	~8%
 3'剪切位点的选择性剪切	~18.4%	~15.5%
 5'剪切位点的选择性剪切	~7.9%	~7.5%
 内含子保留	<5%	~40%



 重组区域 选择区域

图1 不同类型的选择性剪切在人类和拟南芥中的发生频率

Fig.1 Frequency of common types of AS events in humans and *Arabidopsis*

参考Reddy等(2013)文献并作修改。

发来调控种子发育;而在小麦(*Triticum aestivum*)种子中, *Vp-1*的错误剪切导致种子休眠减弱,容易发芽(McKibbin等2002)。光敏色素互作因子(phytochrome interacting factor, PIF)在环境因素的诱导下能够调节种子休眠和发芽,许多PIF转录因子家族在种子中表达,但是只有PIF1和SPATULA (SPT)控制种子的发芽,其中PIF6在种子发育过程中强烈表达,并通过选择性剪切产生两种产物:全长的 α 型和剪接后的 β 型;PIF6缺失导致种子休眠加深,过表达剪接后的 β 型PIF6的种子能够减少休眠(Penfield等2010)。在大豆(*Glycine max*)种子的休眠、吸涨以及干燥处理的过程中,选择性剪切在新陈代谢和激素介导的信号途径中发生的频率很高(Aghamirzaie等2013)。

3 选择性剪切在器官形态决定中的作用

对于高等植物来讲,不同类型器官的发生是形态建成的重要过程,参与选择性剪切的蛋白的改变会导致器官数量性状及质量性状的变化。选择性剪切因子可以结合在前体mRNA的内含子或外显子的剪接增强子的基因序列上招募剪接相关蛋白,产生不同的剪接本。Ser/Arg-rich蛋白(SR)是剪切因子的主要成员,在植物器官形态决定中的功能已逐渐被认识。在植物中,SR蛋白的缺失突

变体 $sr45$ 表现为叶片和花瓣变窄、花瓣和雄蕊数量发生改变、根变短等异常发育现象(Ali等2007)。Zhang等(2013)对3种不同生态型的水稻(*indica*、*japonica*和*javanica*)中的22个SR基因进行了研究,发现来自于不同生态型的SR基因能够产生不同的选择性剪切产物,并且不同的组织中选择性剪切形式不同,其中SR32、SR33a和SR33在3种生态型中都有表达(Reddy和Golovkin 2008)。SR32可以产生5种选择性剪切产物,在所有组织中表达,其中产物1和3表达量比其他亚型都高;SR33a基因可以产生3种选择性剪切产物,产物3在叶片、茎节、花序中表达,产物1和2在叶片中广泛表达;SR33产生2种选择性剪切产物,在所有组织中都有表达,在叶中表达量尤其多;不同类型的SR基因所产生的不同选择性剪切产物在特异的组织中发挥作用(Zhang等2013)。snRNP是剪接因子的重要招募剪接相关蛋白,拟南芥中 $At-SmD3-b$ 突变体中,snRNP的核心蛋白D3 Sm缺失,表现多样性的表型,包括晚花、根生长减缓、叶脉部分缺失、毛状体分支数量发生改变、花器官数量发生改变等(Swaraz等2011)。

*YUCCA*基因是生长素生物合成途径中的重要基因。在拟南芥中 $YUCCA$ 基因除抑制花分生组织

的发育外,还对叶的近远轴极性形成及叶缘(Wang等2011),以及导管系统和花的脉络系统的发育起一定的调控作用(Cheng等2006);在水稻中过量表达*YUCCA*基因则能促进生长素合成(Yamamoto等2007)。Kriechbaumer等(2012)对生长素生物合成酶的基因*YUCCA4*的选择性剪切进行的研究表明,*YUCCA4*的选择性剪切能够导致选择性的细胞定位;非特异表达的*YUCCA4*转录本编码的蛋白定位于细胞质中,而花特异性转录本编码的蛋白则通过一个疏水性的C端跨膜区定位于内质网(ER)中,参与花器官发育的调控。*PLENA*和*FARINELLI*的选择性剪切能够影响植物生殖器官的发育,其中*FARINELLI*影响雄蕊发育(Aioldi和Davies 2012)。

二磷酸核酮糖羧化酶(RuBisCO)活化酶催化体内二磷酸核酮糖羧化酶的激活,是光合作用中最最重要的一个酶。水稻(*Oryza sativa*) RuBisCO活化酶基因经选择性剪切后产生2种亚型,分别是*OsrcaA1*(编码47 kDa的蛋白)和*OsrcaA2*(编码43 kDa的蛋白),二者编码的氨基酸序列99%相似(Zhang和Komatsu 2000);与*OsrcaA2*相比,*OsrcaA1*拥有额外的33个氨基酸残基,并且在C端有5个氨基酸是不同的。*Osrca* mRNAs和RuBisCO活化酶特异性存在于叶片中,在叶片的发育过程中,*Osrca* mRNAs的含量在第7片至第3片叶中逐渐增加,在第2片叶中含量达到最大值。*OsrcaA1*和*OsrcaA2*的含量在这7片叶中并无明显变化,进行蛋白质表达后二者都能够参与调控RuBisCO的活性,但是只有分子量较大的*OsrcaA1*参与氧化还原反应(Zhang和Portis 1999)。

ZINC-INDUCED FACILITATOR-LIKE 1 (ZIFL1)是主要的物质运输超家族,通过选择性剪切能够形成两个蛋白亚型ZIFL1.1和ZIFL1.3,二者都能调节 $H^+ - K^+$ 的运输,但却定位于不同的组织和亚细胞中;全长的ZIFL1.1分布于根中的液泡膜上,影响细胞生长激素的流出以及植物激素的极性运输;截短了的ZIFL1.3则位于叶片气孔保卫细胞的细胞膜中,调节气孔的运动(Remy等2013)。

4 选择性剪切对植物开花时间的调控

植物开花是由营养生长转变为生殖生长的一个重要发育进程。植物开花的时间是由内在因素和外界环境信号来(包括生长前的层积处理,昼夜

时长和环境温度等)决定的(Andrés和Coupland 2012),选择性剪切在调控开花时间的过程中也起着重要的作用。Terzi和Simpson(2008)对拟南芥开花过程中相关的基因进行了研究,发现很多基因会发生选择性剪切,如*FLOWERING LOCUS VE (FVE)*, *FLOWERING LOCUS M (FLM)*, *SCHLAFMUTZE (SMZ)*, *trichloroethylene 1、2 (TCE1、2)*, *squamosa-promoter binding protein-like 4 (SPL4)*等。Rosloski等(2013)研究发现, MADS ASSOCIATED FLOWERING1 (MAF1)/FLOWERING LOCUS M (FLM)和MAF2是开花抑制蛋白FLOWERING LOCUS C (FLC)的旁系同源蛋白, *FLC*的表达能抑制拟南芥开花,其表达水平的变化能够影响拟南芥成花转化的过程,是很多开花调控基因的上游基因;MAF2能够识别短的低温期,防止在这种条件下出现早花的表型;在较短的冷处理下,经选择性剪切后,MAF2产生两种选择性剪切产物,其编码全长蛋白的选择性剪切产物MAF2 var1在植物体内积累,抑制开花,而其编码短的蛋白的选择性剪切产物MAF2 var2在植物体内表达量下调。花调节器基因*SUPPRESSOR OF CONSTANS OVEREXPRESSION1 (SOC1)*在选择性剪切的作用下产生的SOC1选择性剪切产物通过*EARLY FLOWERING9 (ELF9)*作用于无义介导的mRNA降解(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)途径,影响开花时间(Song等2009)。

拟南芥*FCA*基因通过选择性剪切能够控制植物由营养生长向生殖生长的转变(Quesada等2003)。*FCA*经选择性剪切产生4种产物: α 、 β 、 γ 和 δ ; α 包含完整的内含子3, β 内含子3经过聚腺苷酸化, γ 则不包含内含子3, δ 不包含内含子13;只有转录产物 γ 编码全长的蛋白,能够弥补*fca*突变体的晚花表型(Quesada等2003)。*FCA*的选择性剪切通过限制*FCA*蛋白的数量影响开花时间, *FCA*基因中内含子3的选择性剪切在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和油菜(*Brassica napus*)中是保守的,说明*FCA*的选择性剪切对其他物种开花时间的影响也是十分重要的(Macknight等2002)。开花过程中, *SR*基因也参与选择性剪切,在拟南芥中, *AtSRp30*的过量表达能够影响其他SR前体mRNA的选择性剪切,导致晚花表型(Balasubramanian等2006; Lopato等1999)。

5 选择性剪切对植物生物钟的调控

生物钟是控制植物生理活动周期波动的内在因素,作为植物内源性的一种计时器来适应昼夜以及季节变化等节律性变化。控制植物昼夜节律生物钟的选择性剪切在植物中广泛存在,植物中超过30%的基因与生物钟有关,这些基因编码的蛋白通过光信号诱导途径和昼夜节律振荡器来参与生物钟系统的调控(Schöning和Staiger 2005; Más 2008; Herrero和Davis 2012)。Hazen等(2009)使用嵌合芯片技术对拟南芥全基因组的编码区和非编码区进行了分析,在与生物钟有关外显子的相邻位置会检测到大量与生物钟有关的内含子,发现了大量与生物钟基因相关的选择性剪切。

James等(2012)对一些生物钟相关基因[如 *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1)*, *LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)*, *TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1)*, *proline rich 3、5、7、9 (PRR3、5、7、9)*, *ZEITLUPE (ZTL)*, *GI-GANTEA (GI)*和*chemotaxis (CHE)*]进行了系统分析,发现这些基因有的不发生选择性剪切(*CHE*)或者选择性剪切的产物含量很低(*GI*),大部分都是无义的选择性剪切。*CCA1*和*LHY*是植物生物钟调控网络的组成部分,二者随着温度的变化其选择性剪切呈动态变化,*LHY*在低温条件下其选择性剪切的产物明显高于常温条件,而*CCA1*则相反;*CCA1*包含内含子4的选择性剪切产物在植物高光胁迫时表达量上升,在低温时表达量下降(Filichkin等2010)。此外, Filichkin和Mockler (2012)对其他生物钟相关基因做了分析,发现*REVEILLE 2 (RVE2)*、*LHY/CCA1-LIKE 1 (LCL1)*、*Corepressor interacting with RBPJ 1 (CIR1)*、*Casein kinase II beta chain 3 (CKB3)*、*ALTERED SEED GERMINATION 4 (ASG4)*、*chemokine (C-C motif) receptor 1 (CCR1)*和*Glycine-rich RNA-binding protein 8 (GRP8)*等基因也有选择性剪切现象。

拟南芥招募剪接相关蛋白PRMT5 (PROTEIN ARGININE METHYL TRANSFERASE5)能够醇化大量底物,包括组氨酸和剪切体蛋白(Hong等2010),*PRR9 (PSEUDO RESPONSE REGULATOR9)*编码核心生物钟系统的一个组份。拟南芥*prmt5*突变体表现为生理周期增长,强烈影响*PRR9*的选择

性剪切,PRMT5的形成需要前体mRNA的正确选择性剪切(Hong等2010; Deng等2010)。

6 选择性剪切在植物应对生物与非生物胁迫中的作用

因为植物固定的生活方式,在生长发育过程中往往会受到环境的影响,来自环境的影响包括非生物胁迫(温度、光强、干旱、土壤性质、脱落酸等)和生物胁迫(病原体等)。在各种胁迫的影响下植物体能够通过选择性剪切迅速地调整其自身的转录组,以提高植物的逆境耐受性。曾纪晴和张明永(2006)对植物逆境诱导的选择性剪切机制的研究进展进行了阐述,提出了这些抗逆基因的选择性剪切几乎都是在逆境条件下发生的,或者说逆境诱导了抗逆基因的选择性剪切。

选择性剪切对温度的响应极为显著,选择性剪切对较小的温度变化(4 °C)就会产生明显的响应(James等2012)。低温和高温的胁迫不仅能够影响转录组的稳定性,而且能够引起选择性剪切形式的改变(Christensen等1992; Larkin和Park 1999; Iida等2004; Filichkin等2010)。植物对高温的响应主要是热休克转录因子(heat shock transcription factor, Hsfs)起作用,它能够结合在热休克转录因子的启动子上,介导植物对高温、热击等产生响应(Von Koskull-Döring等2007)。在拟南芥中,*HsfA2*基因在不同温度诱导下通过选择性剪切产生两个亚型*HsfA2II*和*HsfAIII*,*HsfAIII*随着温度的升高其含量逐渐升高,*HsfA2II*则相反,通过改变两者的比例来调控*HsfA2*的表达水平(Sugio等2009; Liu等2013)。高温还会影响miRNAs的加工,miR400内含子与其宿主基因*Atlg32583*共转录,在高温胁迫下miR400定位的306 bp的内含子发生选择性剪切,导致miR400初始转录产物明显增多,但是成熟的miR400减少(Yan等2012)。在低温条件下,马铃薯(*Solanum tuberosum*)中编码的一种转化酶基因(invertase gene)的激活位点受到剪切修饰,导致液泡内的酸性转化酶将淀粉转化成蔗糖、葡萄糖或是果糖,最终导致马铃薯变甜(Bournay等1996);而其抑制基因*inhibitor-2 (INH2)*通过选择性剪切产生高度表达的2种选择性剪切产物*INH2 α* 和*INH2 β* ,来阻止低温诱导的变甜(Brummell等2011)。

Sm-like (LSM)蛋白存在于所有生物当中,与

RNA代谢相关,其中LSM5是U6 snRNP的核心组分(Golisz等2013)。拟南芥中*sad1*能够编码LSM5的同源蛋白,*sad1*突变体对干旱和ABA超敏感,在干旱和ABA胁迫下,*sad1/lsm5*突变体中U6 snRNP水平降低,引起未发生剪切的前体mRNAs大量积累(Golisz等2013),而对盐和ABA敏感的*lsm4*突变体表现出错误剪切(Zhang等2011)。

*Wdreb2*是DREB2的同系物,是*Cor/Lea* (低温响应/胚胎发生晚期丰富蛋白)基因的转录因子的候选基因,在低温、干旱、盐、外源ABA的处理下能够激活*Wdreb2*的表达。*Wdreb2*经选择性剪切后产生3种选择性剪切产物:*Wdreb2 α* 、*Wdreb2 β* 和*Wdreb2 γ* ;在干旱和盐胁迫下,*Wdreb2 β* 的表达量一直处于稳定水平,其他二者则表现为瞬时增加;在低温处理下,三者表达量都表现为上调(Egawa等2006)。在外界环境胁迫下,众多SR基因的选择性剪切也会受到相应变化,上文提到的3种水稻生态型中,在低温胁迫下SR32的选择性剪切产物2、3、4和5在*indica*生态型中表达受到抑制;在*japonica*和*javanica*生态型中SR33a选择性剪切产物2在盐胁迫下表达受到抑制,SR33在低温胁迫下其选择性剪切产物2表达量上升(Zhang等2013)。

防御蛋白对于植物抵抗病原体是至关重要的,大部分植物防御(R)基因包含一个核苷酸结合位点(nucleotide binding sites, NBS)和富含亮氨酸的重复序列(leucine-rich repeat, LRR), NBS-LRR R蛋白分为两大类: CC-NBS-LRR (CNL)和TIR-NBS-LRR (TNL),二者的选择性剪切在植物防御反应中起着重要作用,拟南芥中大部分的R基因属于TNL家族(Gassmann 2008)。烟草(*Nicotiana tabacum*)的N基因是防御基因之一,能够编码含有TIR-NBS-LRR结构域的蛋白,对烟草花叶病毒(TMV)产生防御反应;在选择性剪切的作用下能够产生2个转录本: NS和NL, NS在植物中是普遍存在的,而NL则在侵染后4~8 h才能分布到整个植株,二者都表达的植株对病毒产生完整的防御反应(Dinesh-Kumar和Baker 2000)。

拟南芥RPS4 (*RESISTANCE TO PSEUDOMONAS SYRINGAE4*)的选择性剪切在对病原体防御过程中呈动态变化,防御反应需要全长蛋白和截短了的蛋白共同存在的情况下才能发生;在其同源

的无毒蛋白avrRps4存在的情况下,通过EDS1 (enhanced disease susceptibility1)途径使RPS4表达增强(Zhang和Gassmann 2003, 2007)。在接种番茄的无致病性的假单胞菌后,包含一个PTC (premature termination codons)的内含子3的选择性剪切产物大量增加(Zhang和Gassmann 2007),不能够产生这种选择性剪切产物的转基因植株则不能产生完整的抗病能力,说明这种选择性剪切对于RPS4产生的抗病功能是必要的。

7 结语

选择性剪切在植物在发育过程中起着不可或缺的作用,在外界环境的影响下,选择性剪切通过动态变化来改变自身转录组的水平控制不同转录亚型的表达,以此来适应外界环境的变化。近来测序技术的发展为研究选择性剪切的调控机制提供了有力的手段,越来越多的深度转录组测序不仅证实了大量的已经注释过的内含子,而且鉴定了更多新的选择性剪切的mRNA亚型。同时,剪切位点的突变对于植物自然变异的产生起着重要作用,研究不同基因选择性剪切的多样性,为研究植物形态的自然变异和环境适应能力提供了重要的理论基础。相信随着对选择性剪切的深入研究,大量的选择性剪切本在植物发育中的功能将会被揭示,选择性剪切在植物科学研究中的重要性会越来越受到关注。

参考文献

- 曾纪晴, 张明永(2006). 选择性剪接在植物逆境相关基因表达调控中的作用. 植物生理学通讯, 42 (6): 1005~1014
- 章国卫, 宋怀东, 陈竺(2004). mRNA选择性剪接的分子机制. 遗传学报, 31 (1): 102~107
- 周新成, 王海燕, 卢诚, 王文泉(2012). 植物功能基因选择性剪接研究进展. 热带农业科学, 32 (2): 36~41
- Agafonov DE, Deckert J, Wolf E, Odenwalder P, Bessonov S, Will CL, Urlaub H, Luhrmann R (2011). Semiquantitative proteomic analysis of the human spliceosome via a novel two-dimensional gel electrophoresis method. Mol Cell Biol, 31: 2667~2682
- Aghamirzaie D, Nabiyouni M, Fang Y, Klumas C, Heath L S, Grene R, Collakova E (2013). Changes in RNA splicing in developing soybean (*Glycine max*) embryos. Biology, 2: 1311~1337
- Airoldi CA, Davies B (2012). Gene duplication and the evolution of plant MADS-box transcription factors. J Genet Genomics, 39: 157~165
- Ali GS, Palusa SG, Golovkin M, Prasad J, Manley JL, Reddy AS (2007). Regulation of plant developmental processes by a novel

- splicing factor. *PLoS One*, 2: e471
- Andrés F, Coupland G (2012). The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. *Nat Rev Genet*, 13: 627-639
- Balasubramanian S, Sureshkumar S, Lempe J, Weigel D (2006). Potent induction of *Arabidopsis thaliana* flowering by elevated growth temperature. *PLoS Genet*, 2: e106
- Barbazuk WB, Fu Y, McGinnis KM (2008). Genome-wide analyses of alternative splicing in plants: opportunities and challenges. *Genome Res*, 18: 1381-1392
- Bournay AS, Hedley PE, Maddison A, Waugh R, Machray GC (1996). Exon skipping induced by cold stress in a potato invertase gene transcript. *Nucleic Acids Res*, 24: 2347-2351
- Brummell DA, Chen RK, Harris JC, Zhang H, Hamiaux C, Kralicek AV, McKenzie MJ (2011). Induction of vacuolar invertase inhibitor mRNA in potato tubers contributes to cold-induced sweetening resistance and includes spliced hybrid mRNA variants. *J Exp Bot*, 62: 3519-3534
- Cheng Y, Dai X, Zhao Y (2006). Auxin biosynthesis by the YUCCA flavin monooxygenases controls the formation of floral organs and vascular tissues in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 20: 1790-1799
- Christensen AH, Sharrock RA, Quail PH (1992). Maize polyubiquitin genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Mol Biol*, 18: 675-689
- Deng X, Gu L, Liu C, Lu T, Lu F, Lu Z, Cui P, Pei Y, Wang B, Hu S et al (2010). Arginine methylation mediated by the *Arabidopsis* homolog of PRMT5 is essential for proper pre-mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 19114-19119
- Dinesh-Kumar SP, Baker BJ (2000). Alternatively spliced *N* resistance gene transcripts: their possible role in tobacco mosaic virus resistance. *Proc Nat Acad Sci USA*, 97: 1908-1913
- Early P, Rogers J, Davis M, Calame K, Bond M, Wall R, Hood L (1980). Two mRNAs can be produced from a single immunoglobulin μ gene by alternative RNA processing pathways. *Cell*, 20: 313-319
- Egawa C, Kobayashi F, Ishibashi M, Nakamura T, Nakamura C, Takumi S (2006). Differential regulation of transcript accumulation and alternative splicing of a *DREB2* homolog under abiotic stress conditions in common wheat. *Genes Genet Syst*, 81: 77-91
- Filichkin SA, Mockler TC (2012). Unproductive alternative splicing and nonsense mRNAs: a widespread phenomenon among plant circadian clock genes. *Biol Direct*, 7: 20
- Filichkin SA, Priest HD, Givan SA, Shen R, Bryant DW, Fox SE, Wong WK, Mockler TC (2010). Genome-wide mapping of alternative splicing in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Res*, 20: 45-58
- Fouquet R, Martin F, Fajardo DS, Gault CM, Gómez E, Tseung CW, Policht T, Hueros G, Settles AM (2011). Maize *rough endosperm3* encodes an RNA splicing factor required for endosperm cell differentiation and has a nonautonomous effect on embryo development. *Plant Cell*, 23: 4280-4297
- Gassmann W (2008). Alternative splicing in plant defense. *Curr Top Microbiol Immunol*, 326: 219-233
- Golisz A, Sikorski PJ, Kruska K, Kufel J (2013). *Arabidopsis thaliana* LSM proteins function in mRNA splicing and degradation. *Nucleic Acids Res*, 41: 6232-6249
- Gross HR, Kägi C, Baumann N, Moore JM, BaskarR, Gagliano WB, Jürgens G, Grossniklaus U (2007). *LACHESIS* restricts gametic cell fate in the female gametophyte of *Arabidopsis*. *PLoS Biol*, 5: e47
- Hazen SP, Naef F, Quisel T, Gendron JM, Chen H, Ecker JR, Borevitz JO, Kay SA (2009). Exploring the transcriptional landscape of plant circadian rhythms using genome tiling arrays. *Genome Biol*, 10: R17
- Herrero E, Davis SJ (2012). Time for a nuclear meeting: protein trafficking and chromatin dynamics intersect in the plant circadian system. *Mol Plant*, 5: 554-565
- Hong S, Song HR, Lutz K, Kerstetter RA, Michael TP, McClung CR (2010). Type II protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) is required for circadian period determination in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 21211-21216
- Iida K, Seki M, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Toyoda T, Konagaya A, Shinozaki K (2004). Genome-wide analysis of alternative pre-mRNA splicing in *Arabidopsis thaliana* based on full-length cDNA sequences. *Nucleic Acids Res*, 32: 5096-5103
- Isshiki M, Morino K, Nakajima M, Okagaki RJ, Wessler SR, Izawa T, Shimamoto K (1998). A naturally occurring functional allele of the rice *waxy* locus has a GT to TT mutation at the 5' splice site of the first intron. *Plant J*, 15: 133-138
- James AB, Syed NH, Bordage S, Marshall J, Nimmo GA, Jenkins GI, Herzyk P, Brown JW, Nimmo HG (2012). Alternative splicing mediates responses of the *Arabidopsis* circadian clock to temperature changes. *Plant Cell*, 24: 961-981
- Kriechbaumer V, Wang P, Hawes C, Abell BM (2012). Alternative splicing of the auxin biosynthesis gene *YUCCA4* determines its subcellular compartmentation. *Plant J*, 70: 292-302
- Larkin PD, Park WD (1999). Transcript accumulation and utilization of alternate and non-consensus splice sites in rice granule-bound starch synthase are temperature-sensitive and controlled by a single-nucleotide polymorphism. *Plant Mol Biol*, 40: 719-727
- Liu J, Sun N, Liu M, Liu J, Du B, Wang X, Qi X (2013). An autoregulatory loop controlling *Arabidopsis HsfA2* expression: role of heat shock-induced alternative splicing. *Plant Physiol*, 162: 512-521
- Liu M, Yuan L, Liu NY, Shi DQ, Liu J, Yang WC (2009). *GAMETOPHYTIC FACTOR 1*, involved in pre-mRNA splicing, is essential for megagametogenesis and embryogenesis in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 51: 261-271
- Lopato S, Kalyna M, Dorner S, Kobayashi R, Krainer AR, Barta A (1999). atSRp30, one of two SF2/ASF-like proteins from *Arabidopsis thaliana*, regulates splicing of specific plant genes. *Genes Dev*, 13: 987-1001
- Macknight R, Duroux M, Laurie R, Dijkwel P, Simpson G, Dean C (2002). Functional significance of the alternative transcript processing of the *Arabidopsis* floral promoter *FCA*. *Plant Cell*, 14: 877-888
- Marquez Y, Brown JW, Simpson C, Barta A, Kalyna M (2012). Transcriptome survey reveals increased complexity of the alternative splicing landscape in *Arabidopsis*. *Genome Res*, 22: 1184-1195

- Más P (2008). Circadian clock function in *Arabidopsis thaliana*: time beyond transcription. *Trends Cell Biol*, 18: 273~281
- McKibbin RS, Wilkinson MD, Bailey PC, Flintham JE, Andrew LM, Lazzeri PA, Gale MD, Lenton JR, Holdsworth MJ (2002). Transcripts of *Vp-1* homeologues are misspliced in modern wheat and ancestral species. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 10203~10208
- Moll C, von Lyncker L, Zimmermann S, Kägi C, Baumann N, Twell D, Grossniklaus U, Gross-Hardt R (2008). *CLO/GFA1* and *ATO* are novel regulators of gametic cell fate in plants. *Plant J*, 56: 913~921
- Pan Q, Shai O, Lee LJ, Frey BJ, Blencowe BJ (2008). Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing. *Nat Genet*, 40: 1413~1415
- Penfield S, Josse EM, Halliday KJ (2010). A role for an alternative splice variant of *PIF6* in the control of *Arabidopsis* primary seed dormancy. *Plant Mol Biol*, 73: 89~95
- Quesada V, Macknight R, Dean C, Simpson GG (2003). Autoregulation of *FCA* pre-mRNA processing controls *Arabidopsis* flowering time. *EMBO J*, 22: 3142~3152
- Reddy AS, Golovkin MV (2008). Current topics in microbiology and immunology. Nuclear pre-mRNA processing in plants. Preface. *Curr Top Microbiol Immunol*, 326: v~vii
- Reddy AS, Marquez Y, Kalyna M, Barta A (2013). Complexity of the alternative splicing landscape in plants. *Plant Cell*, 25: 3657~3683
- Remy E, Cabrito TR, Baster P, Batista RA, Teixeira MC, Friml J, Sá-Correia I, Duque P (2013). A major facilitator superfamily transporter plays a dual role in polar auxin transport and drought stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 901~926
- Rosenfeld MG, Lin CR, Amara SG, Stolarsky L, Roos BA, Ong ES, Evans RM (1982). Calcitonin mRNA polymorphism: peptide switching associated with alternative RNA splicing events. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79: 1717~1721
- Rosloski SM, Singh A, Jali SS, Balasubramanian S, Weigel D, Grbic V (2013). Functional analysis of splice variant expression of *MADS AFFECTING FLOWERING 2* of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 81: 57~69
- Schöning JC, Staiger D (2005). At the pulse of time: protein interactions determine the pace of circadian clocks. *FEBS Lett*, 579: 3246~3252
- Song HR, Song JD, Cho JN, Amasino RM, Noh B, Noh YS (2009). The RNA binding protein ELF9 directly reduces *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1* transcript levels in *Arabidopsis*, possibly via nonsense-mediated mRNA decay. *Plant Cell*, 21: 1195~1211
- Sugio A, Dreos R, Aparicio F, Maule AJ (2009). The cytosolic protein response as a subcomponent of the wider heat shock response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 642~654
- Sugliani M, Brambilla V, Clerckx EJ, Koornneef M, Soppe WJ (2010). The conserved splicing factor SUA controls alternative splicing of the developmental regulator *ABI3* in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 22: 1936~1946
- Swaraz AM, Park YD, Hur Y (2011). Knock-out mutations of *Arabidopsis SmD3-b* induce pleiotropic phenotypes through altered transcript splicing. *Plant Sci*, 180: 661~671
- Syed NH, Kalyna M, Marquez Y, Barta A, Brown JW (2012). Alternative splicing in plants—coming of age. *Trends Plant Sci*, 17: 616~623
- Terzi LC, Simpson GG (2008). Regulation of flowering time by RNA processing. *Curr Top Microbiol Immunol*, 326: 201~218
- Von Koskull-Döring P, Scharf KD, Nover L (2007). The diversity of plant heat stress transcription factors. *Trends Plant Sci*, 12: 452~457
- Wang BB, Brendel V (2006). Genomewide comparative analysis of alternative splicing in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 7175~7180
- Wang BB, O'Toole M, Brendel V, Young ND (2008). Cross-species EST alignments reveal novel and conserved alternative splicing events in legumes. *BMC Plant Biol*, 19: 8~17
- Wang W, Xu B, Wang H, Li J, Huang H, Xu L (2011). *YUCCA* genes are expressed in response to leaf adaxial-abaxial juxtaposition and are required for leaf margin development. *Plant Physiol*, 157: 1805~1819
- Yamamoto Y, Kamiya N, Morinaka Y, Matsuoka M, Sazuka T (2007). Auxin biosynthesis by the *YUCCA* genes in rice. *Plant Physiol*, 143: 1362~1371
- Yan K, Liu P, Wu CA, Yang GD, Xu R, Guo QH, Huang JG, Zheng CC (2012). Stress-induced alternative splicing provides a mechanism for the regulation of microRNA processing in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Cell*, 48: 521~531
- Zhang N, Portis AR Jr (1999). Mechanism of light regulation of Rubisco: a specific role for the larger Rubisco activase isoform involving reductive activation by thioredoxin-f. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 9438~9443
- Zhang P, Deng H, Xiao F, Liu YS (2013). Alterations of alternative splicing patterns of *Ser/Arg-Rich (SR)* genes in response to hormones and stresses treatments in different ecotypes of rice (*Oryza sativa*). *J Integr Agr*, 12: 737~748
- Zhang XC, Gassmann W (2003). *RPS4*-mediated disease resistance requires the combined presence of *RPS4* transcripts with full-length and truncated open reading frames. *Plant Cell*, 15: 2333~2342
- Zhang XC, Gassmann W (2007). Alternative splicing and mRNA levels of the disease resistance gene *RPS4* are induced during defense responses. *Plant Physiol*, 145: 1577~1587
- Zhang Z, Komatsu S (2000). Molecular cloning and characterization of cDNAs encoding two isoforms of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase in rice (*Oryza sativa* L.). *J Biochem*, 128: 383~389
- Zhang Z, Zhang S, Zhang Y, Wang X, Li D, Li Q, Yue M, Li Q, Zhang YE, Xu Y et al (2011). *Arabidopsis* floral initiator SKB1 confers high salt tolerance by regulating transcription and pre-mRNA splicing through altering histone H4R3 and small nuclear ribonucleoprotein LSM4 methylation. *Plant Cell*, 23: 396~411