亮点

棉花胚珠中的miRNA调控

李艳^{1,2}, 戚益军^{1,2,3}

1. 清华大学生命科学学院, 植物生物学研究中心, 北京 100084;

2. 清华大学-北京大学生命科学联合中心, 北京 100084;

3. 清华大学, 结构生物学高精尖创新中心, 北京生物结构前沿研究中心, 北京 100084

* 联系人, E-mail: qiyijun@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2021-01-22; 接受日期: 2021-02-10; 网络版发表日期: 2021-03-08

棉花是世界上最重要的经济作物之一, 棉花胚珠表皮细胞特化形成的超长表皮毛即为棉纤维^[1,2]. 棉纤维是人类用以遮身蔽体、御寒保暖的衣物之源. 棉花属于锦葵科棉属, 共有4个栽培种, 即陆地棉(*Gossypium hirsutum*)、海岛棉(*Gossypium barbadense*)、亚洲棉(*Gossypium arboreum*)和草棉(*Gossypium herbaceum*). 具有AADD异源四倍体基因组的陆地棉是世界上栽培面积最广的品种. 陆地棉的A二倍体基因组起源于草棉(A₁)和亚洲棉(A₂)的共同祖先A₀(已灭绝)^[3]. 草棉和亚洲棉具有的基因组和功能基因的特性, 是陆地棉性状的重要遗传基础.

microRNA(miRNA)是一类长度为21~24 nt的小RNA. miRNA由Dicer-Like 1(DCL1)酶从具有发卡结构的前体RNA切割加工产生, 与Argonaute家族蛋白AGO1结合, 然后通过碱基互补配对识别靶基因mRNA并对其进行切割或抑制其翻译, 从而负调控靶基因的表达^[4]. miRNA在植物生长发育、响应生物(如病原侵染)和非生物(如高温、干旱)逆境过程中起重要调控作用, 因此与作物的产量、品质、抗病和耐逆等农艺性状密切相关^[5,6]. 近年来, 从不同品种棉花不同组织中已鉴定到大量miRNA^[7], 例如, 从陆地棉发育的胚珠和纤维中, 鉴定到96个保守的miRNA和46个新miRNA^[8]. 一些miRNA被证实能够调控棉花胚珠和纤

维的发育^[7], 如在陆地棉和海岛棉中, miR160能够负调控ARF17基因从而促进棉纤维伸长^[9].

武汉大学和北京大学朱玉贤教授课题组长期从事棉纤维伸长机制研究, 作出了一系列重要发现, 其中包括发现植物激素乙烯在棉纤维伸长过程中发挥重要调控作用^[10,11]. 最近, 朱玉贤教授课题组探索了亚洲棉miRNA在棉花胚珠发育及纤维伸长过程中的调控功能. 该研究系统鉴定了亚洲棉胚珠和纤维中的miRNA, 发现大量miRNA在胚珠不同发育时期特异性表达; 在此基础上, 发现一个锦葵科植物特有的新miRNA——miRN44, 该miRNA可调控编码锌离子转运蛋白的GaZIPIL基因和胚珠中锌离子水平^[12].

该研究收集了亚洲棉开花后0, 5, 10, 15, 20天的带有纤维的胚珠并对这些材料进行了小RNA深度测序. 鉴定到84个差异表达的miRNA, 其中包括38个保守的miRNA和46个之前尚未报道过的新miRNA. 根据其在不同样品中的表达水平, miRNA被分为六类. 第I类miRNA(包括gar-miR165, 166, N18和N9等4个)只在开花后0天尚未长出纤维的胚珠中表达. 第II~IV类miRNA分别在开花后5, 10, 15天处于纤维快速伸长期的胚珠中表达, 共43个; 值得一提的是, 有一半新的miRNA属于第II~IV类, 说明新鉴定到的miRNA可能对胚珠发育和棉纤维的伸长具有调控功能. 第V类miRNA

引用格式: 李艳, 戚益军. 棉花胚珠中的miRNA调控. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 476–478

Li Y, Qi Y J. miRNA regulation in cotton ovules (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 476–478, doi: 10.1360/SSV-2021-0015

在开花后20天的胚珠中表达, 这些miRNA可能参与调控胚珠和棉纤维的成熟. 第VI类miRNA在胚珠和纤维发育这个连续的过程中表达忽高忽低, 没有明显规律. 生物信息学预测发现, 这84个miRNA有215个潜在的靶基因. 基因本体(Gene Ontology, GO)分析表明, 这些靶基因显著富集于26个生物学过程, 其中包括生物结合、膜组分、分解代谢和转录调控等.

miRNA在棉胚珠和纤维中的高表达表明它们很可能在胚珠发育和纤维伸长过程中发挥重要调控作用. 该研究选定锦葵科植物特有的miRN44, 进行了深入研究. 生物信息预测miRN44的潜在靶基因为*GaZIP1-like(GaZIP1L)*. 5' RACE(rapid amplification of cDNA ends)实验表明, *GaZIP1L*可被miRN44准确切割, 证实*GaZIP1L*确为miRN44的靶基因. 在进化树上, *GaZIP1L*基因与*GaZIP1*基因处于两个不同的分支, *GaZIP1L*基因由*GaZIP1*基因通过基因复制事件进化而来. 但是, miRN44只靶向*GaZIP1L*, 而不靶向*GaZIP1*, 提示miRN44可能是伴随着*GaZIP1*基因复制事件出现的. *GaZIP1L*基因与*GaZIP1*基因都编码含锌离子转运结构域的蛋白质, 但是*GaZIP1L*具有额外的结构基序. 通过3D结构预测及分子动力学模拟, 发现*GaZIP1L*比*GaZIP1*具有更多的结合锌离子的氨基酸残基. 均方根位移分析表明, *GaZIP1L*与锌离子结合能够形成更稳定的构象, 与锌离子结合能力更强, 说明*GaZIP1L*比*GaZIP1*具有更强的锌离子转运能力.

为了确证miRN44在体内调控*GaZIP1L*的表达, 该研究检测了miRN44和*GaZIP1L*在体内的表达模式. 发现miRN44在开花后5天的胚珠中表达最高, 随后miRN44的表达不断下降; 与之相反, *GaZIP1L*在开花后5天的胚珠中表达水平很低, 而在开花后15~25天的胚珠中表达最高. 有意思的是, 胚珠中的锌离子浓度与*GaZIP1L*的表达呈高度相关. 同时, 该研究在拟南芥中进一步验证了miRN44对*GaZIP1L*的调控作用. 在拟南芥中通过转基因单独表达*GaZIP1L*或共表达miRN44和*GaZIP1L*, 在单独表达时, *GaZIP1L*表达水平较高从而导致拟南芥种子中锌离子含量明显增高, 而当和miRN44共表达时, *GaZIP1L*表达水平很低, 拟南芥种子中锌离子含量没有变化. 锌离子为氧化还原反应所必需, 同时是很多酶的辅因子, 其中包括对纤维成熟很关键的纤维素合酶^[13]. 这些结果说明, miRN44可通过调控*GaZIP1L*的表达而调控锌离子的转运, 最终调控胚珠和纤维发育.

综上所述, 该研究首次系统鉴定了亚洲棉胚珠和纤维发育不同阶段的miRNA, 并预测了其靶标, 为将来研究miRNA在胚珠和纤维发育过程中的功能奠定了重要基础. 同时, 该研究进一步探索了一个锦葵科植物特有的新miRNA——miRN44, 及其通过调控锌离子转运从而调控胚珠和纤维发育的分子机制, 为认识棉花胚珠和纤维发育的调控规律提供了新的视角, 也为今后棉花的分子育种提供了新的基因资源.

参考文献

- Huang G, Huang J Q, Chen X Y, et al. Recent advances and future perspectives in cotton research. *Annu Rev Plant Biol*, 2021, 72
- Qin Y M, Zhu Y X. How cotton fibers elongate: a tale of linear cell-growth mode. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, 14: 106–111
- Huang G, Wu Z, Percy R G, et al. Genome sequence of *Gossypium herbaceum* and genome updates of *Gossypium arboreum* and *Gossypium hirsutum* provide insights into cotton A-genome evolution. *Nat Genet*, 2020, 52: 516–524
- Fang X, Qi Y. RNAi in Plants: An argonaute-centered view. *Plant Cell*, 2016, 28: 272–285
- Song X, Li Y, Cao X, et al. MicroRNAs and their regulatory roles in plant-environment interactions. *Annu Rev Plant Biol*, 2019, 70: 489–525
- Yu Y, Jia T, Chen X. The 'how' and 'where' of plant microRNAs. *New Phytol*, 2017, 216: 1002–1017
- Wang Q, Zhang B. MicroRNAs in cotton: an open world needs more exploration. *Planta*, 2015, 241: 1303–1312
- Wang Y, Ding Y, Liu J Y. Identification and profiling of microRNAs expressed in elongating cotton fibers using small RNA deep sequencing. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1722
- Liu G, Liu J, Pei W, et al. Analysis of the *MIR160* gene family and the role of *MIR160a_A05* in regulating fiber length in cotton. *Planta*, 2019, 250: 2147–2158
- Qin Y M, Hu C Y, Pang Y, et al. Saturated very-long-chain fatty acids promote cotton fiber and *Arabidopsis* cell elongation by activating ethylene biosynthesis. *Plant Cell*, 2007, 19: 3692–3704

- 11 Shi Y H, Zhu S W, Mao X Z, et al. Transcriptome profiling, molecular biological, and physiological studies reveal a major role for ethylene in cotton fiber cell elongation. *Plant Cell*, 2006, 18: 651–664
- 12 Wen X, Huang G, Li C, et al. A Malvaceae-specific miRNA targeting the newly duplicated *GaZIP1L* to regulate Zn^{2+} ion transporter capacity in cotton ovules. *Sci China Life Sci*, 2021, 64: 339–351
- 13 Kurek I, Kawagoe Y, Jacob-Wilk D, et al. Dimerization of cotton fiber cellulose synthase catalytic subunits occurs via oxidation of the zinc-binding domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 11109–11114

miRNA regulation in cotton ovules

LI Yan^{1,2} & QI YiJun^{1,2,3}

1 Center for Plant Biology, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China;

2 Tsinghua-Peking Center for Life Sciences, Beijing 100084, China;

3 Beijing Advanced Innovation Center for Structural Biology, Beijing Frontier Research Center for Biological Structure, Tsinghua University, Beijing 100084, China

doi: [10.1360/SSV-2021-0015](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0015)