



综述 Review

植物RNase T2家族: 从进化到功能

杨柳^{1,2}, 付源源^{1,2}, 刘博超^{1,2}, 徐秋曼^{1,2,*}, 马轩^{1,2,*}

¹天津师范大学生命科学学院, 天津300387

²天津师范大学天津市动植物抗性重点实验室, 天津300387

*共同通信作者: 徐秋曼(qmxu0929@126.com)、马轩(skyxma@tjnu.edu.cn)

摘要: RNase T2是一类广泛存在于原核生物和真核生物中的核糖核酸酶。植物RNase T2家族成员众多, 不同亚家族成员具有不同功能, 在植物生长发育以及响应非生物和生物胁迫中发挥重要作用。本文综述了植物RNase T2家族的进化和分类, 重点总结了植物RNase T2调控rRNA和tRNA代谢、细胞分泌与自噬等细胞学过程, 以及植物RNase T2响应非生物和生物胁迫、参与抗病毒防御和自交不亲和等生物学过程。本文为进一步解析植物RNase T2的分子作用机制提供理论基础, 为研究植物RNA的生物发生和稳态调控提供重要参考。

关键词: 植物RNase T2; 进化; RNA代谢; 自交不亲和

Plant RNase T2 family: from evolution to function

YANG Liu^{1,2}, FU Yuanyuan^{1,2}, LIU Bochao^{1,2}, XU Qiuman^{1,2,*}, MA Xuan^{1,2,*}

¹College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China

²Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China

*Co-corresponding authors: Xu QM (qmxu0929@126.com), Ma X (skyxma@tjnu.edu.cn)

Abstract: RNase T2 is a class of ribonucleases that are widely present in prokaryotes and eukaryotes. Plant RNase T2 family contains a large number of members, which are classified into different subfamilies and perform distinct functions. RNase T2 members are crucial for plant development and abiotic and biotic stress responses. This review provides an overview of the evolution and classification of the plant RNase T2 family, with a focus on their biological functions, including their roles in regulating rRNA and tRNA metabolism, cellular secretion and autophagy processes. We also summarize the roles of plant RNase T2 in abiotic and biotic stress responses, antiviral defense, and self-incompatibility. This review provides a theoretical basis for further elucidating the molecular mechanisms of plant RNase T2, and facilitates studies of plant RNA biogenesis and homeostatic regulation.

Key words: plant RNase T2; evolution; RNA metabolism; self-incompatibility

收稿 2024-11-26 修定 2025-04-02

收稿 国家自然科学基金(31871321)。

核糖核酸酶T2 (RNase T2)是一类广泛存在于原核和真核生物中的核酸水解酶(Luhtala和Parker 2010)。RNase T2在植物生长发育(如衰老、自交不亲和)以及响应非生物和生物胁迫(如耐盐、抗旱和抗病毒等)中发挥重要功能(MacIntosh和Castandet 2020)。RNase T2通过其活性中心的两个His和一个Lys攻击RNA,产生3'端为2',3'环磷酸(cP)结构的RNA (Shigematsu等2018)。研究表明,细胞内含有大量cP-RNA,在细胞周期调控、RNA剪切、RNA沉默等方面发挥多种功能(Lai等2023)。近些年,植物RNase T2的细胞学机制逐渐被揭开,例如RNase T2调控rRNA代谢、参与自噬调控、介导tRNA衍生的小RNA的生成等。本文将从RNase T2的结构进化、植物RNase T2的分类和生物学功能等方面进行介绍,系统地认识植物RNase T2的演化和功能。

1 RNase T2的结构进化

第一种被分离出来的RNase是牛胰腺RNase A,之后从米曲霉中分离出了RNase T1和RNase T2 (Lü等2022; Kunitz 1940; Sato 1957)。最初认为这三种RNase属于不同的超家族(Lü等2022)。Zhang等(2012)在研究细菌毒素系统时发现,包括RNase T1在内的许多金属非依赖性RNase都具有 $\alpha 1$ - $\beta 1$ - $\beta 2$ - $\beta 3$ - $\beta 4$ 核心结构。具有该结构的代表性成员包括Barnase、EndoU、Colicin D/Colicin E5和RelE,该家族被命名为BECR超家族(Zhang等2012; Li等2023b)。Batot等(2017)发现,来自耶尔森氏菌的CdiA^{Ykris}和RNase A之间无序列相似性,但结构高度相似。Mushegian等(2020)通过序列比对和蛋白质结构比对提出,原核CdiA^{Ykris}和RNaseA类似的RNase与BECR超家族中的EndoU可能是由一个共同祖先通过结构重排进化而来的,因此RNase A也属于BECR超家族。

Li等(2023b)研究了植物、细菌和病毒的RNase T2后提出, RNase T2也属于BECR超家族,其核心结构可由BECR结构经过重排变换产生。RNase T2表现出高度复杂的“ $\alpha+\beta$ ”拓扑结构,以四个反平行 β 折叠链为中心,被几个 α 螺旋和两个短 β 发夹包围(Tanaka等2000; Krey等2012; Thorn等2012; Li等

2023b; MacIntosh 2011)。RNase T2的拓扑顺序与典型BECR结构的区别为: 典型BECR折叠从 $\alpha 1$ 开始,之后连着四个 β 折叠链($\beta 1$ - $\beta 2$ - $\beta 3$ - $\beta 4$);而RNase T2拓扑核心从两条 β 链($\beta 1$ - $\beta 2$)开始,连着两个 α 螺旋($\alpha 0$ - $\alpha 1$),后面接着两条 β 链($\beta 3$ - $\beta 4$) (Li等2023b)。这种拓扑顺序的差异被称为循环排列,是一种蛋白质N端和C端区域互换的机制,可能涉及 $\alpha 0$ 和 $\beta 4$ 之间的连接以及 $\beta 2$ 和 $\beta 3$ 之间的断裂(Bliven和Prlić 2012; Li等2023b; Uliel等2001)。细菌RNase T2和BECR家族具有类似的催化位点,都位于相邻的 $\alpha 0$ 和 $\beta 4$ (RNase T2的 $\beta 2$)之间,大多数保守残基位于 $\alpha 0$ 和 $\beta 4$ 链上(Li等2023b; Irie 1999; Tanaka等2000; Cuchillo等2011; MacIntosh 2011)。细菌RNase T2可能像其他BECR成员一样,起源于细菌毒素系统并得到了广泛的分化(Zhang等2012; Li等2023b)。

目前对植物RNase T2的结构进化还没有明确的报道,但有研究表明RNase T2的拓扑结构从细菌到动物都是保守的(MacIntosh 2011)。利用Li等(2023b)的反向循环排列分析策略重构的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) RNS1 (Ribonuclease 1) 蛋白 (revCP_RNS1)和BECR超家族的CdiA核酸酶(CdiA-CTkp342)在结构上高度相似(图1-A)。CdiA-CTkp342是肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*) 342-CdiA蛋白的C端区域,该区域为BECR结构并具有RNA酶活性(Tomita等2000; Gucinski等2019)。这说明了拟南芥RNase T2和细菌RNase在结构上的同源性。另外,拟南芥RNS1和其他RNase T2家族的催化位点都具有两个保守的His催化残基,位于 $\alpha 0$ 和 $\beta 2$ 链上(图1-B)。其他RNase T2家族和ColicinD家族在 $\alpha 0$ 的His催化残基是保守的,与Lys一起形成了“KH”保守基序,但 β 链上的His不保守, RNase T2的His在ColicinD中被转换成了Ser (Li等2023b)。

虽然植物RNase T2和其他BECR家族RNase无序列相似性,但都具有相似的三维结构和催化位点,说明植物RNaseT2家族与其他BECR家族在进化上的渊源(Li等2023b)。

2 植物RNase T2的分类和进化

在大多数其他生物中,基因组中RNase T2基因

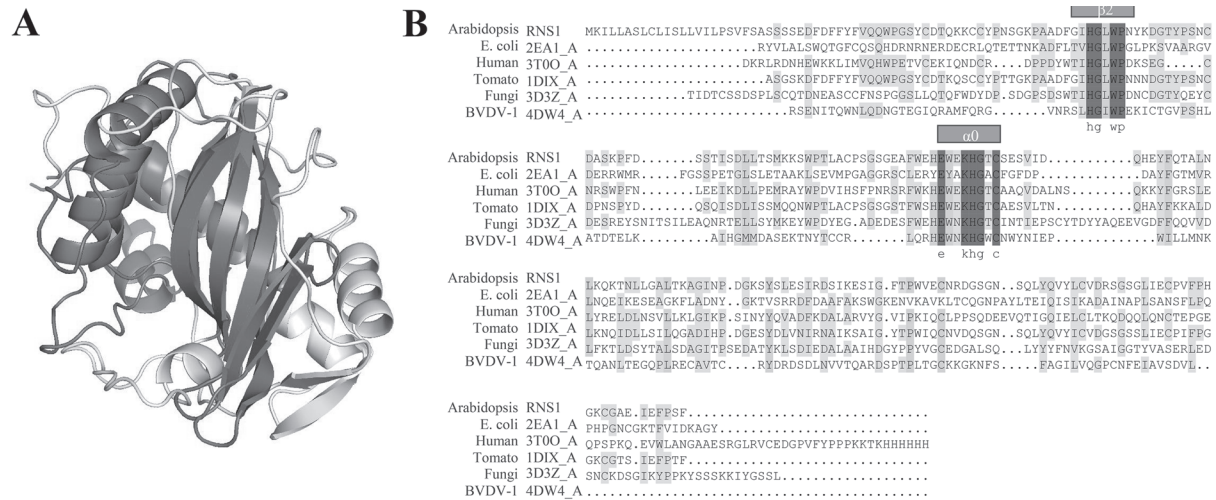


图1 拟南芥RNS1结构和序列比对分析

Fig. 1 *Arabidopsis* RNS1 structure and sequence alignment analysis

A: 拟南芥revCP_RNS1与CdiA-CTkp342的结构叠加比对, 显示拟南芥revCP_RNS1和CdiA-CT-kp342蛋白结构的高度相似性; revCP_RNS1采用Li等(2023b)设计的反向循环排列分析策略, 切换了拟南芥RNS1的前半部分和后半部分, 利用AlphaFold3和Dali程序对重建的蛋白进行建模; B: 拟南芥RNS1与其他RNase T2成员序列比对。

拷贝数较少(Hillwig等2009; Ambrosio等2014)。然而在植物中, RNase T2家族经历了大规模扩增, 并伴随着基因复制和基因丢失, 导致不同植物RNase T2的基因数不同(MacIntosh 2011)。Lü等(2022)在81个植物基因组中鉴定得到785个RNase T2基因, 从绿色藻类到被子植物, RNase T2基因数目在不同谱系和物种之间的变化很大。例如在豆科植物中鉴定到11~28个基因, 在蔷薇科植物中发现了3~24个基因; 而在蕨类植物、石松植物、苔藓植物和绿色藻类中发现的RNase T2基因数小于3 (Lü等2022)。RNase T2家族基因分为三大类: I类、II类和III类(表1)。I类基因成员功能多样, 参与各种胁迫反应, 通常具有组织特异性(MacIntosh等2010, 2011; Hillwig等2011a)。几乎在所有植物中, 尤其在一些早期分化的类群(如地钱、苔藓、石松和蕨类植物)中都能检测到I类成员, 表明这类RNase T2的起源较早。另外, I类RNase T2基因的数目普遍高于其他两类, 但其数目在不同物种中差异较大。I类可进一步划分为I-A、I-B和I-C三个亚类, I-A亚类专属于被子植物, I-B亚类专属于双子叶植物, 而在I-C亚类中, 发现了从早期分化的绿色植物到真叶植物的成员, 包括华藻、绿藻、链藻、苔藓植物、

石松植物、蕨类植物、裸子植物和被子植物(Lü等2022)。II类RNase T2基因成员与RNA再生相关, 在大多数植物中检测到的基因数较少; 并且在所有种子植物中高度保守, 具有持家基因的作用(MacIntosh等2010, 2011, 2020; Hillwig等2011a; Lü等2022; Köthke和Köck 2011)。II类可进一步划分为II-A、II-B和II-C三个亚类。II-A亚类主要由豆科、十字花科和芸香科植物组成, II-B亚类主要由单子叶植物和几个裸子植物科组成, II-C亚类大多数成员来自茄科和蔷薇科(Lü等2022)。第III类RNase T2成员仅在核心真双子叶植物中发现, 包括大多数与开花植物自交不亲和性相关的S-RNase (Ramanauskas和Igić 2017)。III类可进一步划分为五个亚类III-A、III-B、III-C、III-D和III-E, III-A亚类为豆科特有, III-B亚类为蔷薇科特有, III-C亚类的成员主要来自于蔷薇科和葫芦科, III-D亚类成员包括了许多真双子叶植物比如茄科、车前科和茜草科的基因, III-E亚类仅包括来自茄科、蔷薇科和芸香科的基因。蔷薇科中被鉴定的S-RNase仅存在于III-C亚类中, 在III-E亚类中没有鉴定到。茄科、车前科和茜草科中被鉴定的S-RNase仅存在于III-D亚类中, 芸香科中被鉴定的S-RNase仅存在于III-E

表1 植物RNase T2的类别及功能
Table 1 Classes and functions of plant RNase T2

RNase T2类别	亚类	生物学和生理学功能	主要参考文献
I类	I-A被子植物特有	(1)调控tRNA的稳态代谢	Alves等2017; Bariola等1999; Chen等2024; Diaz-Baena等2023; Gho等2020; Gross等2004; Hugot等2002; Kim等2019; Kurata等2002; LeB-rasseur等2002; Lehmann等2001; Lers等2006; MacIntosh等2010; Megel等2019; Ohno和Ehara 2005; Sun等2022; Velasco等2016; Ye和Droste 1996; Zheng等2014
	I-B双子叶植物特有	(2)响应各种胁迫反应(Pi饥饿、高盐、干旱、低温、氧化应激、衰老等)	
	I-C从早期分化的绿色植物到真叶植物	(3)防御(抗菌、抗病毒、机械创伤等)	
II类	II-A豆科、十字花科、芸香科	(1)调控rRNA和tRNA代谢及细胞稳态, 与自噬途径关联 (2)响应胁迫(如Pi饥饿、氧化应激等)	Bariola等1999; Chen等2024; Gho等2020; Hillwig等2011a; MacIntosh 2011
	II-B单子叶植物和少数裸子植物科		
	II-C茄科、蔷薇科		
III类	III-A豆科植物特有	(1)作为细胞毒素参与自交不亲和 (2)防御(抗菌)	MacIntosh 2011; Luhtala和Parker 2010; Hillwig等2011b; Ramanauskas和Igi 2017; Zhao 等2022
	III-B蔷薇科植物特有		
	III-C蔷薇科、葫芦科		
	III-D大部分真双子叶植物		
	III-E茄科、蔷薇科、芸香科		

亚类中(Lü等2022)。这些结果表明S-RNase在不同的植物家族中经历了谱系特异性的进化。

这三类RNase T2最早出现在针叶树中, 表明RNase T2多样化的基因复制发生在石松类植物和真叶植物分离之后, 被子植物和裸子植物分离之前(MacIntosh等2010)。植物RNase T2家族I类基因在进化中经历了大规模扩增, 基因复制和基因失活导致了I类基因的高度多样化, 可能在经历了这些基因复制失活事件之后获得新功能(Zhang等2000; MacIntosh 2011; Lü等2022)。基因组共线性分析发现, I类和III类RNase T2之间存在高密度的共线性关系; 在I类中发现了III类S-RNase的同源物S-like RNase, 表明III类基因可能起源于I类基因(Lü等2022; MacIntosh等2010)。与I类和III类相比, II类基因在几乎所有的植物中都是保守的, 并且保留了更多的祖先特征(MacIntosh等2010, 2011; Köthke和Köck 2011)。

3 植物RNaseT2的细胞学和生物学功能

3.1 植物RNaseT2调控rRNA代谢

近些年, RNase T2调控植物生理的分子机理取得了一定进展(Macintosh等2020)。拟南芥II类RNase T2蛋白RNS2定位在内质网和液泡中, *rns2*突变体的液泡中积累了过量的rRNA (Hillwig等2011a)。半衰期标记实验表明28S rRNA和18S rRNA的半衰期加倍, 表明RNS2对rRNA的降解是必不可少的(Hillwig等2011a)。Chen等(2024)发现拟南芥RNase T2家族的RNS2基因突变会导致10~30 nt小RNA积累。同时rRNA衍生的小RNA (rsRNA)在*rns2*突变体中的比例也大幅度增加, 占小RNA的60%以上, rRNA稳态在突变体中被破坏(Chen等2024)。在水稻(*Oryza sativa*)中, 磷缺陷情况下6个RNase T2家族基因*OsRNS*基因(*OsRNS1-4*、*OsRNS6*、*OsRNS8*)被诱导表达, 导致芽和根中的rRNA降解, 小RNA片段增加(Gho等2020)。RNase T2降解rRNA这一

功能似乎在所有真核生物中都具有保守性。在斑马鱼(*Danio rerio*)、人(*Homo sapiens*)和酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中, RNase T2通过溶酶体或液泡调控rRNA稳态(Haud等2011; Henneke和Gärtner 2010; Hillwig等2009; Thompson和Parker 2009)。一些植物II类RNase T2可能具有特定功能, 如拟南芥RNase T2家族成员RNS2在衰老期间会以更高的水平表达, 参与植物衰老调控(MacIntosh等2010)。

3.2 植物RNaseT2在调控tRNA代谢中的作用

植物RNase T2在调节tRNA代谢方面也有重要作用, 它可以切割tRNA产生tRNA的衍生片段tRFs(表1)。tRFs是一类功能性非编码小RNA, 参与广泛的生物过程, 例如参与各种胁迫应答、Argonaute (AGO)依赖的基因沉默、抑制转座子迁移和翻译过程等(Wang等2023a; Chen等2024; Ma等2021)。它最初被认为是tRNA随机降解的产物, 但越来越多的证据表明, tRFs是被特异性RNase切割的产物(Wang等2023a; Alves等2017; Martinez等2017; Megel等2019)。根据长度、切割位点以及前体类型可以把tRFs分为三种主要类型: 长度为30~35 nt的5'或3'-tRH (tRNA半分子), 长度为10~30 nt的5'或3'-tRF以及来源于RNase Z加工的前体tRNA 3'端的3'-tRF (Zhu等2018; Ma等2021)。到目前为止, 在植物中尚未报道3' tRF的产生(Wang等2023a)。另外, tRNA半分子也被称为tRNA衍生的应激诱导RNA (tiRNA), 因为它们是在饥饿、氧化应激、热休克等应激条件下产生的(Ha和Lee 2023)。由于3'-tiRNA具有可变环和CCA末端, 因此它们通常比5'-tiRNA长(Akiyama和Ivanov 2023)。在哺乳动物中, 30~35 nt的5'或3'-tRH是由RNase A家族的血管生成素切割tRNA产生的, 部分物种的18~22 nt tRFs的产生被认为与Dicer和AGO蛋白相关(Fu等2009; Martinez等2017)。在酵母中, tRHs是由RNase T2家族成员Rny1裂解tRNA产生的(Thompson和Parker 2009)。在嗜热四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)中, 营养饥饿导致RNase T2家族RNT2-A和RNT2-C的表达增加, 诱导产生过量的tRHs (Andersen和Collins 2012)。在拟南芥花粉中Dicer-like 1 (DCL1)负责产生19 nt tRFs; 但是DCL1不参与拟南芥花和幼苗中tRFs的产生, 说明有另外的RNase在tRFs产生中发挥作用

(Megel等2019; Alves等2017; Martinez等2017)。在拟南芥I类RNase T2成员RNS1过表达的植物中, 5' tRFs和3' tRFs水平较高, 表明该酶可能参与拟南芥tRFs的产生(Alves等2017)。Megel等(2019)的体外实验表明, 拟南芥RNS1、RNS2和RNS3都具有切割tRNA产生tRFs的能力。另外, RNS1和RNS3主要在角果中产生tRFs, 而RNS2与叶片中tRFs的产生有关(Megel等2019)。Chen等(2024)对正常和损伤的拟南芥叶片中的小RNA进行分析后鉴定出四种16 nt的tRFs, 这些tRFs在*rns2*突变体中的丰度都显著降低, 表明RNS2促进16 nt tRFs的产生。Sun等(2022)发现小麦(*Triticum aestivum*)被禾谷镰刀菌感染后, 小麦所有TaAGO1和TaDCL家族成员都受到了显著的抑制, 而RNase T2家族成员TraesCS3A02-G398300被显著诱导, 并切割小麦中积累的tRNA产生tRFs。

3.3 植物RNaseT2与细胞分泌和自噬途径相关

RNaseT2在调控rRNA和tRNA稳态的同时, 与细胞分泌和自噬途径也有关联(Floyd等2015)。对植物I类和II类RNase T2蛋白C末端分析表明, II类酶的C末端有一个延伸区域, 长度为13~27个氨基酸, 可能为内质网或液泡定位信号(Floyd等2017)。研究发现拟南芥RNS2定位在于内质网, 同时在原生质体液泡中也检测到RNS2信号(Hillwig等2011a)。通过分离细胞组分发现, RNS2除了存在于内质网中, 在含有可溶性细胞质和液泡蛋白组分中也检测到了其活性, 说明RNS2与分泌途径相关(Hillwig等2011a)。番茄(*Solanum Lycopersicum*) RNase T2也定位于内质网和液泡, 与拟南芥相似(Bariola等1999)。拟南芥RNase T2家族蛋白RNS1是一种细胞外蛋白, 它存在于胞外组分; RNS1在N末端有一段信号肽, 可能靶向分泌途径(Bariola等1999; Hillwig等2011a)。食肉植物丝叶狸藻(*Utricularia gibba*)的UgRibT2-1基因编码N端包含信号肽的RNase T2酶, 通过荧光定位实验发现其定位于丝叶狸藻诱捕陷阱内的四方腺细胞中。四方腺细胞分泌消化酶, 说明该RNase T2酶与分泌途径相关(Oropeza-Aburto 2020)。

在酵母中, 核糖体在营养胁迫的情况下会被类似自噬的过程选择性降解(Kraft等2008)。在植物中, RNase T2可能也参与类似的过程。在正常

生长的拟南芥中检测不到自噬,而当植物受到营养胁迫时,就很容易检测到自噬体的积累,*rns2*突变体中自噬体的数量几乎比野生型高10倍(Hillwig等2011a)。拟南芥*rns2*突变体的液泡中积累了大量rRNA和自噬小体,自噬体在该突变体中是组成型产生的(Floyd等2015)。互补实验和荧光共定位发现组成型自噬在RNS2活性恢复后减少,说明这种自噬现象是由于缺乏RNS2活性导致的(Floyd等2015)。ATG5蛋白是自噬途径中形成自噬囊泡所必需的,在*rns2 atg5*双突变体中也发现rRNA增多的现象,表明RNS2和自噬途径都是维持细胞正常RNA水平所必需的;自噬过程增多是为了补偿RNS2的缺失,进而降解rRNA (Floyd等2015)。此外,RNS2缺乏能够引发组成型自噬,RNS2的表达和液泡活性是维持细胞稳态所必需的(MacIntosh 2011; Floyd等2017)。Hickl等(2021)还发现,RNS2丢失会使液泡腺苷酸含量和RNA水解酶活性降低。RNA组成以及分解产物和中间体的影响P小体是参与RNA降解的细胞质复合物,含有数种RNase (Buchan等2013)。在胁迫情况下,植物中P小体含量增加;在酵母和哺乳动物细胞中,P小体的形成与自噬途径相关(Buchan等2013; Frankel等2017)。在植物中,自噬途径和液泡相关联实现了对细胞内生物大分子的降解和循环利用,RNase T2在液泡中介导了RNA降解再生过程,对植物生长发育和响应胁迫至关重要(Marshall等2018)。

3.4 植物RNaseT2在响应非生物胁迫反应中的作用

植物RNaseT2家族成员可以分为两个亚家族,即S-RNase和S-like-RNase (Zheng等2014)。S-RNase参与植物的自交不亲和作用,S-like-RNase与S-RNase同源,不参与自交不亲和但参与各种应激胁迫反应(表1) (MacIntosh 2011, 2020; Zheng等2014)。拟南芥RNS1和RNS2的蛋白水平在Pi饥饿期间急剧增加,可能通过降解RNA维持Pi稳态(Bariola等1999)。在低Pi浓度培养基上,盐芥RNaseT2家族成员*EsRNS1*响应Pi胁迫反应表达,*EsRNS1*转录本在芽中和根中分别增加了20倍和4倍(Velasco等2016)。水稻中存在8个RNase T2家族成员,其中*OsRNS1*、*OsRNS3*、*OsRNS4*、*OsRNS5*、*OsRNS7*和*OsRNS8*是I类RNS基因,而*OsRNS2*和*OsRNS6*是II类RNS基因。

基因表达分析发现水稻RNase T2家族基因的表达与Pi饥饿密切相关(Gho等2020)。在Pi饥饿条件下,水稻I类RNase T2基因在芽中或根中表现出2倍以上的表达上调;II类RNaseT2基因*OsRNS2*在根和芽中表达上调,*OsRNS6*在根中表达上调(Gho等2020)。番茄RNaseT2家族成员*RNaseLX*和*RNaseLE*在Pi饥饿时被诱导并高表达(Gross等2004)。在花烟草(*Nicotiana glauca*)中,发现了一种被命名为*NaPi/Sx-RNase*的RNase T2基因,它在Pi饥饿条件下在生长的根中被诱导表达(Rojas等2018)。百日草(*Zinnia elegans*)的RNase T2基因*Z RNase I*在体外导管分子分化后期表达,表明Z RNase I可能参与细胞死亡过程中Pi的循环(Ye和Droste 1996)。还有研究表明,在番茄衰老叶片以及开花后的花瓣中RNase LX的含量显著增加,在衰老晚期的含量最高,并且*RNase LX*在木质部分化过程也有表达(Lehmann等2001)。其他受Pi饥饿调节的基因也包括烟草*RNaseNE*以及小麦的*WRN2*和*WRN3* (MacIntosh 2011)。除了Pi胁迫,在普通豆幼苗发芽过程中,豆RNaseT2家族成员PvRNS3酶的表达在某些胁迫情况下会被选择性诱导,例如胚根和受伤叶片中的高盐胁迫(Diaz-Baena等2023)。在高盐处理下,杜仲(*Eucommia ulmoides*)根中*EURNS4*、*EURNS8*和*EURNS10*的表达增加,而*EURNS6*和*EURNS19*的表达降低(Qing等2021)。在水稻中,RNaseT2家族成员*OsRNS4*基因的过表达增强了水稻对高盐度的耐受性,并且*OsRNS4*也被鉴定为在干旱胁迫后受到差异调节的基因,说明*OsRNS4*响应水稻的盐胁迫和干旱胁迫反应(Zheng等2014)。另外,RNaseT2家族成员*OsRNS1*基因过表达时,根表皮中ROS水平强度大大降低,说明*OsRNS1*响应氧化应激反应,参与调节ROS稳态(Gho 2022)。除此之外,砷中毒会导致*OsRNS4*表达增加,*OsRNS1*表达减少。盐胁迫还强烈诱导*OsRNS3*和*OsRNS5*的表达,抑制*OsRNS1*的表达;*OsRNS3*响应低温胁迫,在低温时表达上调(MacIntosh等2010)。

3.5 植物RNaseT2对病原体的防御作用

许多不参与自交不亲和的S-like RNase参与植物病原体防御作用(表1)。研究表明,烟草RNase T2家族基因*Rkl1*响应黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*)而被诱导,另一种RNase T2家族基因*NGR3*在

感染烟草花叶病毒48 h后表达上调(Kurata等2002; Ohno和Ehara 2005)。RNase T2家族基因RNase NE在烟草叶片感染寄生疫霉之后被诱导, 并且RNase NE可以分泌到烟草叶片的细胞外空间抑制寄生疫霉在体内的发育(Hugot等2002)。另外, 在体外添加纯化后的RNase NE可以抑制寄生孢子尖孢镰刀菌的菌丝生长(Hugot等2002)。I类RNase T2水稻基因*OsRNS4*和*OsRNS5*在感染细菌黄单胞菌和真菌稻瘟病菌后被诱导, *OsRNS3*在感染稻瘟病菌后表达上调, 表明编码的蛋白在防御过程中发挥作用(MacIntosh等2010)。在小麦中, 接种小麦条锈病菌后24 h内小麦RNase T2家族基因*TraesCS1B02G170200*在小麦条锈病抗性品种中表达下调, 在感病品种中表达上调(Qiao等2024)。另外, 植物激素信号在植物抗病性和防御中起着重要作用, 而该基因在植物激素信号转导的通路中显著富集(Qiao等2024)。另有研究表明, 外源鼠诺如病毒1 (MNV1)可以通过根和叶侵染拟南芥(Kim等2019)。在感染MNV1 3~9 h内, RNase T2家族基因*RNS1*表达上调, MNV1的侵染程度短暂减少, 这表明拟南芥在这个阶段可能激活了防御反应以减轻MNV1的侵染(Kim等2019)。在矮牵牛花的蜜腺中检测到了S-RNase活性, 蛋白质组学分析将S-RNase鉴定为花蜜蛋白, 这些酶抑制真菌和细菌的生长(Hillwig等2011b)。在接种灰葡萄孢杆菌孢子后, 番茄RNase T2家族基因RNase LE的转录水平增加了18倍, 同时LE抑制突变体中与病原体防御相关的基因表达被抑制(Singh等2020)。这说明了RNase LE响应灰葡萄孢杆菌孢子的诱导参与影响病原体防御反应的细胞机制。另外, 植物在被昆虫啃食以及植物组织机械损伤时会诱导化学防御反应以及多种基因表达, 这些基因产物有助于抵御感染受伤植物的病原体(Gross等2004; MacIntosh 2011; Hillwig等2008)。水稻RNase T2家族基因*OsRNS4*和*OsRNS5*在响应昆虫攻击和创伤时表达上调(MacIntosh等2010)。拟南芥受损的叶、茎和幼苗在不同时间内诱导多种酶活性, 其中包括拟南芥RNase T2家族的*RNS1* (LeBrasseur等2002)。番茄RNase T2家族成员RNase LE虽然仅在局部出现, 但在植物叶片受伤后会快速表达, 并在10 h内维持最大RNA酶活性(Gross等2004)。

3.6 植物RNaseT2作为细胞毒素参与自交不亲和作用

3.6.1 S-RNase参与自交不亲和的机制

植物RNase T2家族成员被认为是细胞毒素(Luhtala和Parker 2010)。该家族中第一个明确功能的酶是S-RNase, S-RNase在开花授粉阶段和花粉排斥机制中起维持自交不亲和(Self-incompatibility, SI)机制的作用(表1) (Luhtala和Parker 2010; MacIntosh 2011)。目前的SI机制模型都认为S-RNase是一种细胞毒素, 在不亲和相互作用中抑制花粉管生长(Luhtala和Parker 2010; MacIntosh 2011)。研究表明, S-RNase分泌到细胞外基质中, 进入相容和不相容的花粉管(Luhtala和Parker 2010; MacIntosh 2011)。在茄科矮牵牛属植物中, S-RNase被SLF (S-locus F-box)蛋白特异性识别, SLF招募SLF-interacting SKP1-like1 (SSK1)、Cullin 1 (CUL1)和RING-BOX1 (RBX1)形成SCF复合物充当E3泛素酶(Zhao等2021)。多泛素化的S-RNase被其降解, 从而生成相容的花粉管(Entani等2014)。这个过程被认为是一个协作的非自我识别过程, 非自我S-RNase可以被多个SLF解毒(Kubo等2010, 2015)。在不相容的花粉管中, SLF无法形成SCF复合物, S-RNase充当细胞毒素降解花粉RNA, 造成自花授粉失败(Luhtala和Parker 2010; MacIntosh 2011; Liu等2014; Zhang等2024)。在烟草属植物中, S-RNase被液泡这种酸性区室包裹, 在不相容的花粉管中液泡结构被破坏, S-RNase释放到细胞质中, 触发细胞毒性导致RNA降解(Goldraij等2006)。在蔷薇科植物的不相容花粉管中, S-RNase通过抑制可溶性无机焦磷酸酶的活性, 从而破坏tRNA氨酰化导致程序性细胞死亡(Li等2018)。在山茶属植物中, 由于S-RNase无法被SCF识别, 导致自花授粉植株的花粉管生长停滞在花柱基部(Gong等2022)。在芸香科柑橘属植物沙田柚中, 柱头S-RNase蛋白能进入花粉管, 降解花粉管中的rRNA, 抑制花粉管中蛋白质的合成, 从而抑制花粉管的生长(Qin等2018)。另有研究表明, S-RNase还可以通过增加花粉磷脂酸水平, 抑制脱落酸信号转导破坏苹果的肌动蛋白和肌动蛋白之间的相互作用(Chen等2018; Yang等2018; Wu等2023)。此外, S-RNase还可以直接或间接诱导茉莉酸信号通路和BZR1介导

的信号通路来抑制花粉管的生长(Gu等2019; Wang等2023b)。

3.6.2 基于S-RNase的配子体自交不亲和的进化

自交不亲和广泛存在于开花植物中,在不同物种中进化出了不同的SI系统(Fujii等2016)。在经典遗传学研究中,SI系统可以分为两种类型:配子体自交不亲和(Gametophytic SI, GSI)和孢子体自交不亲和(Sporophytic SI, SSI) (Zhang等2009; Fujii等2016)。GSI通常受单个高度多态性基因座(或禾本科植物的两个基因座)控制,称为S基因座(S位点)(Lü等2022; Zhang等2024; Zhao等2022)。S位点包括单倍型雌性决定基因S-RNase基因和其他单倍型雄性决定基因F-box基因(Lü等2022)。研究表明,基于S-RNase的GSI系统可能起源于蔷薇和紫萼蒲分化之前的核心真双子叶植物,是75%开花植物的祖先,具有独立的谱系起源(Igic和Kohn 2001; Ramanauskas和Igić 2017; Zhang等2024; Gibbs 2014)。目前已经在茄科、车前科、蔷薇科、芸香科、茜草科和仙人掌科六个双子叶植物科中鉴定了GSI (Li等2023a; Sijacic等2004; Asquini等2011; Li等2019; Liang等2020; Ramanauskas和Igić 2021; Vieira等2021)。对芸香科中的S-RNase分析表明, S-RNase出现在芸香科I和II小类分化之前,为S-RNase在核心双子叶植物中的单一来源提供了更充分的证据(Liang等2020)。GSI在进化的过程中,由于大量的基因重复事件导致SI系统丢失从而产生自交亲和(Self-compatibility, SC)系统(Fujii等2016; Lü等2022)。SI的缺失可能通过多种途径出现: (1)全基因组重复或者片段重复产生S位点的副本,两者之间的竞争性相互作用导致SI系统丢失; (2) S位点的S-RNase丢失或失活; (3) S位点的所有组分都丢失(Tomato Genome Consortium 2012; Liang等2020; Du等2021; Lü等2022; Zhao等2022)。然而大多数植物依旧表现出SI,说明在某些SC谱系中可以通过某些途径重新获得SI (Lü等2022; Zhao等2022; Zhang等2024)。在此基础上,有研究提出了SI系统可以通过以下方式重新获得: (1)重复的S位点失活或者表达减少; (2)重复的S位点缺失; (3) S-RNase的再激活(Lü等2022; Zhao等2022; Zhang等2024)。目前为止,蔷薇科物种的S位点的起源和进化已经得到了很好的

研究(Gibbs 2014; Du等2021; Lü等2022)。蔷薇科祖先在获得S-RNase基因之后与祖先F-box基因形成S位点,蔷薇亚科在分离时保留了S位点但S-RNase基因丢失,之后杏仁科在分离时保留了S位点和S-RNase基因。苹果族在分离时丢失了S-RNase基因,但在经历了最近一次全基因组重复之后又重新获得了S-RNase基因,导致了S位点所在染色体位置不保守(Lü等2022)。

4 总结与展望

RNase T2广泛存在于原核和真核生物中,在植物生理发育和响应胁迫中发挥重要功能。植物RNase T2在结构上与细菌毒素系统BECR超家族具有同源性。植物RNase T2分为三大类: I类成员起源较早且分化广泛,具有多种功能,主要参与各种胁迫反应; II类成员具有持家基因的作用,在植物中较为保守; III类成员仅在真双子叶植物中出现,可能起源于I类基因,主要参与植物自交不亲和。植物RNase T2又可以根据是否与自交不亲和相关而分为两个亚类: S-RNase和S-like RNase。S-RNase在不同植物中具有特殊的谱系进化。S-RNase可以作为一种细胞毒素参与植物自交不亲和系统,在不亲和的花粉管中降解花粉RNA; 也可以作为植物免疫防御系统的一部分抑制某些真菌和细菌的生长。S-like RNase不参与植物的自交不亲和,具有多种生物学功能: 响应各种非生物胁迫(耐盐、抗旱等)、调控rRNA的降解、参与细胞自噬、切割tRNA产生tRNA的衍生片段(tRFs)以及病原体防御等。目前,植物RNase T2在细胞中的具体定位(如内质网、液泡、自噬体)以及其在不同胁迫条件下的动态变化尚不明确,并且RNase T2如何通过囊泡运输等方式作用于特定细胞器仍需研究。未来可以通过利用荧光标记技术解析RNase T2的亚细胞定位,通过生化分离技术进一步验证其亚细胞分布。另外,植物RNase T2是否通过特定信号通路与内质网相关的蛋白质互作,以及是否通过自噬途径参与细胞内有害物质清除尚不明确。因此,可以筛选RNase T2的潜在互作蛋白,结合基因编辑敲除或过表达,研究其与自噬相关基因的关联。RNase T2通过降解rRNA、tRNA及其他小RNA维持RNA

稳态平衡的机制, 以及与其他RNA降解酶或RNA结合蛋白之间的协同作用机制也有待于深入解析。未来可以应用高通量测序技术筛选RNase T2的特定底物RNA, 深入探讨其在RNA代谢中的作用。最后, 尽管植物RNase T2在胁迫反应中的功能已有一定了解, 但其参与的信号通路及其在植物抗胁迫反应中的上下游调控分子仍需明确, 未来应深入分析RNase T2在胁迫条件下的分子调控网络, 鉴定RNase T2作用的靶标RNA。通过上述研究, 将有助于揭示植物RNase T2的亚细胞功能及其在植物生长发育与胁迫响应中的分子机制, 为改良作物抗逆性和提高农业生产效率提供理论支持。

参考文献(References)

- Akiyama Y, Ivanov P (2023). tRNA-derived RNAs: biogenesis and roles in translational control. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 14: e1805
- Alves CS, Vicentini R, Duarte GT, et al (2017). Genome-wide identification and characterization of tRNA-derived RNA fragments in land plants. *Plant Mol Biol*, 93: 35–48
- Ambrosio L, Morriss S, Riaz A, et al (2014). Phylogenetic analyses and characterization of RNase X25 from *Drosophila melanogaster* suggest a conserved housekeeping role and additional functions for RNase T2 enzymes in protostomes. *PLOS One*, 9: e105444
- Andersen KL, Collins K (2012). Several RNase T2 enzymes function in induced tRNA and rRNA turnover in the ciliate *Tetrahymena*. *Mol Biol Cell*, 23: 36–44
- Asquini E, Gerdol M, Gasperini D, et al (2011). S-RNase-like sequences in styles of *Coffea* (Rubiaceae). Evidence for S-RNase based gametophytic self-incompatibility? *Trop Plant Biol*, 4: 237–249
- Bariola PA, Macintosh GC, Green PJ (1999). Regulation of S-like ribonuclease levels in *Arabidopsis*. Antisense inhibition of RNS1 or RNS2 elevates anthocyanin accumulation. *Plant Physiol*, 119: 331–342
- Batot G, Michalska K, Ekberg G, et al (2017). The CDI toxin of *Yersinia kristensenii* is a novel bacterial member of the RNase A superfamily. *Nucleic Acids Res*, 45: 5013–5025
- Bliven S, Prlić A (2012). Circular permutation in proteins. *PLOS Comput Biol*, 8: e1002445
- Buchan JR, Kolaitis RM, Taylor JP, et al (2013). Eukaryotic stress granules are cleared by autophagy and Cdc48/VCP function. *Cell*, 153: 1461–1474
- Chen J, Wang P, De Graaf BH, et al (2018). Phosphatidic acid counteracts S-RNase signaling in pollen by stabilizing the actin cytoskeleton. *Plant Cell*, 30: 1023–1039
- Chen Y, Liu X, Chen W, et al (2024). RNS2 is required for the biogenesis of a wounding responsive 16 nts tsRNA in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 114: 6
- Cuchillo CM, Nogués MVR, Raines RT (2011). Bovine pancreatic ribonuclease: fifty years of the first enzymatic reaction mechanism. *Biochemistry*, 50: 7835–7841
- Diaz-Baena M, Galvez-Valdivieso G, Delgado-Garcia E, et al (2023). High ribonuclease activity in the testa of common bean seedlings during germination: implication and characterization of the ribonuclease T2 PvRNS3. *Agronomy*, 13: 2750
- Du J, Ge C, Li T, et al (2021). Molecular characteristics of S-RNase alleles as the determinant of self-incompatibility in the style of *Fragaria viridis*. *Hortic Res*, 8: 185
- Entani T, Kubo KI, Isogai S, et al (2014). Ubiquitin–proteasome-mediated degradation of S-RNase in a solanaceous cross-compatibility reaction. *Plant J*, 78: 1014–1021
- Floyd BE, Morriss SC, Macintosh GC, et al (2015). Evidence for autophagy-dependent pathways of rRNA turnover in *Arabidopsis*. *Autophagy*, 11: 2199–2212
- Floyd BE, Mugume Y, Morriss SC, et al (2017). Localization of RNS2 ribonuclease to the vacuole is required for its role in cellular homeostasis. *Planta*, 245: 779–792
- Frankel LB, Lubas M, Lund AH (2017). Emerging connections between RNA and autophagy. *Autophagy*, 13: 3–23
- Fu H, Feng J, Liu Q, et al (2009). Stress induces tRNA cleavage by angiogenin in mammalian cells. *FEBS Lett*, 583: 437–442
- Fujii S, Kubo KI, Takayama S (2016). Non-self- and self-recognition models in plant self-incompatibility. *Nat Plants*, 2: 1–9
- Gho YS, Choi H, Moon S, et al (2020). Phosphate-starvation-inducible S-like RNase genes in rice are involved in phosphate source recycling by RNA decay. *Front Plant Sci*, 11: 585561
- Gho YS, Choi H, Moon S, et al (2022). Tissue-specific enhancement of OsRNS1 with root-preferred expression is required for the increase of crop yield. *J Adv Res*, 42: 69–81
- Gibbs PE (2014). Late-acting self-incompatibility—the pariah breeding system in flowering plants. *New Phytol*, 203: 717–734
- Goldraij A, Kondo K, Lee CB, et al (2006). Compartmentalization of S-RNase and HT-B degradation in self-incompatible *Nicotiana*. *Nature*, 439: 805–810
- Gong W, Xiao S, Wang L, et al (2022). Chromosome-level genome of *Camellia lanceoleosa* provides a valuable resource for understanding genome evolution and self-incompatibility. *Plant J*, 110: 881–898
- Gross N, Wasternack C, Köck M (2004). Wound-induced

- RNaseLE expression is jasmonate and systemin independent and occurs only locally in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Lukullus). *Phytochemistry*, 65: 1343–1350
- Gu Z, Li W, Doughty J, et al (2019). A gamma-thionin protein from apple, MdD1, is required for defence against S-RNase-induced inhibition of pollen tube prior to self/non-self recognition. *Plant Biotechnol J*, 17: 2184–2198
- Gucinski GC, Michalska K, Garza-Sánchez F, et al (2019). Convergent evolution of the Barnase/EndoU/Colicin/RelE (BECR) fold in antibacterial tRNase toxins. *Structure*, 27: 1660–1674
- Ha SG, Lee SV (2023). The role of tRNA-derived small RNAs in aging. *BMB Rep*, 56: 49–55
- Haud N, Kara F, Diekmann S, et al (2011). *rnaset2* mutant zebrafish model familial cystic leukoencephalopathy and reveal a role for RNase T2 in degrading ribosomal RNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 1099–1103
- Henneke M, Gärtner J (2010). RNase T2 deficient cystic leukoencephalopathy resembles congenital cytomegalovirus brain infection. *Nat Genet*, 41: 773–775
- Hickl D, Drews F, Girke C, et al (2021). Differential degradation of RNA species by autophagy-related pathways in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 72: 6867–6881
- Hillwig MS, Contento AL, Meyer A, et al (2011a). RNS2, a conserved member of the RNase T2 family, is necessary for ribosomal RNA decay in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 1093–1098
- Hillwig MS, Kanobe C, Thornburg RW, et al (2011b). Identification of S-RNase and peroxidase in petunia nectar. *J Plant Physiol*, 168: 734–738
- Hillwig MS, Lebrasseur ND, Green PJ, et al (2008). Impact of transcriptional, ABA-dependent, and ABA-independent pathways on wounding regulation of RNS1 expression. *Mol Genet Genomics*, 280: 249–261
- Hillwig MS, Rizhsky L, Wang Y, et al (2009). Zebrafish RNase T2 genes and the evolution of secretory ribonucleases in animals. *BMC Evol Biol*, 9: 170
- Hugot K, Ponchet M, Marais A, et al (2002). A tobacco S-like RNase inhibits hyphal elongation of plant pathogens. *Mol Plant Microbe Interact*, 15: 243–250
- Igic B, Kohn JR (2001). Evolutionary relationships among self-incompatibility RNases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 13167–13171
- Irie M (1999). Structure-function relationships of acid ribonucleases: lysosomal, vacuolar, and periplasmic enzymes. *Pharmacol Ther*, 81: 77–89
- Kim K, Yadav D, Cho M (2019). Multi-phased internalization of murine norovirus (MNV) in *Arabidopsis* seedlings and its potential correlation with plant defensive responses. *Microb Pathog*, 135: 103648
- Köthke S, Köck M (2011). The *Solanum lycopersicum* RNaseL ER is a class II enzyme of the RNase T2 family and shows preferential expression in guard cells. *J Plant Physiol*, 168: 840–847
- Kraft C, Deplazes A, Sohrmann M, et al (2008). Mature ribosomes are selectively degraded upon starvation by an autophagy pathway requiring the Ubp3p/Bre5p ubiquitin protease. *Nat Cell Biol*, 10: 602–610
- Krey T, Bontems F, Vornrhein C, et al (2012). Crystal structure of the pestivirus envelope glycoprotein Erns and mechanistic analysis of its ribonuclease activity. *Structure*, 20: 862–873
- Kubo KI, Entani T, Takara A, et al (2010). Collaborative non-self recognition system in S-RNase-based self-incompatibility. *Science*, 330: 796–799
- Kubo KI, Paape T, Hatakeyama M, et al (2015). Gene duplication and genetic exchange drive the evolution of S-RNase-based self-incompatibility in *Petunia*. *Nat Plants*, 1: 14005
- Kunitz M (1940). Crystalline ribonuclease. *J Gen Physiol*, 24: 15–32
- Kurata N, Kariu T, Kawano S, et al (2002). Molecular cloning of cDNAs encoding ribonuclease-related proteins in *Nicotiana glutinosa* leaves, as induced in response to wounding or to TMV-infection. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66: 391–397
- Lai H, Feng N, Zhai Q (2023). Discovery of the major 15-30 nt mammalian small RNAs, their biogenesis and function. *Nat Commun*, 14: 5796
- Lebrasseur ND, Macintosh GC, Pérez-Amador MA, et al (2002). Local and systemic wound-induction of RNase and nuclease activities in *Arabidopsis*: RNS1 as a marker for a JA-independent systemic signaling pathway. *Plant J*, 29: 393–403
- Lehmann K, Hause B, Altmann D, et al (2001). Tomato ribonuclease LX with the functional endoplasmic reticulum retention motif HDEF is expressed during programmed cell death processes, including xylem differentiation, germination, and senescence. *Plant Physiol*, 127: 436–449
- Lers A, Sonogo L, Green PJ, et al (2006). Suppression of LX ribonuclease in tomato results in a delay of leaf senescence and abscission. *Plant Physiol*, 142: 710–721
- Li C, Lu M, Zhou J, et al (2023a). Transcriptome analysis of the late-acting self-incompatibility associated with RNase T2 Family in *Camellia oleifera*. *Plants*, 12: 1932
- Li H, Schneider T, Tan YJ, et al (2023b). Ribonuclease T2 represents a distinct circularly permuted version of the BECR RNases. *Protein Sci*, 32
- Li M, Zhang D, Gao Q, et al (2019). Genome structure and evolution of *Antirrhinum majus* L. *Nat Plants*, 5: 174–183

- Li W, Meng D, Gu Z, et al (2018). Apple S-RNase triggers inhibition of tRNA aminoacylation by interacting with a soluble inorganic pyrophosphatase in growing self-pollen tubes *in vitro*. *New Phytol*, 218: 579–593
- Liang M, Cao Z, Zhu A, et al (2020). Evolution of self-compatibility by a mutant *S_m-RNase* in citrus. *Nat Plants*, 6: 131–142
- Liu W, Fan J, Li J, et al (2014). SCF(SLF)-mediated cytosolic degradation of S-RNase is required for cross-pollen compatibility in S-RNase-based self-incompatibility in *Petunia hybrida*. *Front Genet*, 5: 228
- Luhtala N, Parker R (2010). T2 Family ribonucleases: ancient enzymes with diverse roles. *Trends Biochem Sci*, 35: 253–259
- Lü SZ, Qiao X, Zhang W, et al (2022). The origin and evolution of RNase T2 family and gametophytic self-incompatibility system in plants. *Genome Biol Evol*, 14: 1215–1221
- Ma X, Liu CY, Cao XF (2021). Plant transfer RNA-derived fragments: biogenesis and functions. *J Integr Plant Biol*, 63: 1399–1409
- Ma Z, Li J, Fu L, et al (2023). Epididymal RNase T2 contributes to astheno-teratozoospermia and intergenerational metabolic disorder through epididymosome-sperm interaction. *BMC Med*, 21: 453
- Macintosh GC (2011). RNase T2 family: enzymatic properties, functional diversity, and evolution of ancient ribonucleases. *Ribonucleases*: 89–114
- Macintosh GC, Castandet B (2020). Organellar and secretory ribonucleases: major players in plant RNA homeostasis. *Plant Physiol*, 183: 1438–1452
- Macintosh GC, Hillwig MS, Meyer A, et al (2010). RNase T2 genes from rice and the evolution of secretory ribonucleases in plants. *Mol Genet Genomics*, 283: 381–396
- Marshall RS, Vierstra RD (2018). Autophagy: the master of bulk and selective recycling. *Annu Rev Plant Biol*, 69 (1): 173–208
- Martinez AG, Slotkin RK, Choudury SG (2017). tRNA-derived small RNAs target transposable element transcripts. *Nucleic Acids Res*, 45 (9): 5142–5152
- Matos RG, Pobre V, Reis FP, et al (2011). Structure and degradation mechanisms of 3' to 5' exoribonucleases. *Ribonucleases*: 193–222
- Megel C, Hummel G, Lalande S, et al (2019). Plant RNases T2, but not Dicer-like proteins, are major players of tRNA-derived fragments biogenesis. *J Integr Plant Biol*, 47: 941–952
- Mushegian A, Sorokina I, Eroshkin A, et al (2020). An ancient evolutionary connection between Ribonuclease A and EndoU families. *RNA*, 26: 803–813
- Ohno H, Ehara Y (2005). Expression of ribonuclease gene in mechanically injured or virus-inoculated *Nicotiana tabacum* leaves. *Tohoku J Agric Res*, 55: 99–109
- Oropeza-Aburto A, Cervantes-Pérez SA, Albert VA, et al (2020). *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of the aquatic carnivorous plant *Utricularia gibba*. *Plant Methods*, 16: 50
- Qiao L, Gao X, Jia Z, et al (2024). Identification of adult resistant genes to stripe rust in wheat from southwestern China based on GWAS and WGCNA analysis. *Plant Cell Rep*, 43: 67
- Qing J, Du Q, Meng Y, et al (2021). Genome-wide identification and expression pattern analysis of the ribonuclease T2 family in *Eucommia ulmoides*. *Sci Rep*, 11: 6900
- Qin XM, Zhang Y, Liu YJ, et al (2018). Molecular mechanisms underlying the participation of Ribonuclease T2 gene into self-incompatibility of *Citrus grandis* var. *Shatianyu* Hort. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 64: 1153
- Ramanauskas K, Igić B (2017). The evolutionary history of plant T2/S-type ribonucleases. *PeerJ*, 5: e3790
- Ramanauskas K, Igić B (2021). RNase-based self-incompatibility in cacti. *New Phytol*, 231: 2039–2049
- Rojas HJ, Caspani C, Escobar EG, et al (2018). NaPi/SX-RNase segregates as a functional S-RNase and is induced under phosphate deficiency in *Nicotiana glauca*. *Biol Plant*, 62: 261–268
- Sato K, Egami F (1957). Studies on ribonucleases in takadiastase. I. *J Biochem*, 44: 753–767
- Shigematsu M, Kawamura T, Kirino Y (2018). Generation of 2',3'-cyclic phosphate-containing RNAs as a hidden layer of the transcriptome. *Front Genet*, 9: 562
- Sijacic P, Wang X, Skirpan AL, et al (2004). Identification of the pollen determinant of S-RNase-mediated self-incompatibility. *Nature*, 429: 302–305
- Singh NK, Paz E, Kutsher Y, et al (2020). Tomato T2 ribonuclease LE is involved in the response to pathogens. *Mol Plant Pathol*, 21: 895–906
- Sun Z, Hu Y, Zhou Y, et al (2022). tRNA-derived fragments from wheat are potentially involved in susceptibility to Fusarium head blight. *BMC Plant Biol*, 22: 1–17
- Tanaka N, Arai J, Inokuchi N, et al (2000). Crystal structure of a plant ribonuclease, RNase LE. *J Mol Biol*, 298: 859–873
- Thompson DM, Parker R (2009). The RNase Rny1p cleaves tRNAs and promotes cell death during oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol*, 185: 43–50
- Thorn A, Steinfeld R, Ziegenbein M, et al (2012). Structure and activity of the only human RNase T2. *Nucleic Acids Res*, 40: 8733–8742
- Tomato Genome Consortium (2012). The tomato genome

- sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 485: 635
- Tomita K, Ogawa T, Uozumi T, et al (2000). A cytotoxic ribonuclease which specifically cleaves four isoaccepting arginine tRNAs at their anticodon loops. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 8278–8283
- Uliel S, Fliess A, Unger R (2001). Naturally occurring circular permutations in proteins. *Protein Eng*, 14: 533–542
- Velasco VME, Mansbridge J, Bremner S, et al (2016). Acclimation of the crucifer *Eutrema salsugineum* to phosphate limitation is associated with constitutively high expression of phosphate-starvation genes. *Plant Cell Environ*, 39: 1818–1834
- Vieira J, Pimenta J, Gomes A, et al (2021). The identification of the *Rosa* S-locus and implications on the evolution of the Rosaceae gametophytic self-incompatibility systems. *Sci Rep*, 11: 3710
- Wang CJ, Chen WQ, Aili M, et al (2023a). tRNA-derived small RNAs in plant response to biotic and abiotic stresses. *Front Plant Sci*, 14: 1131977
- Wang Y, Liu P, Cai Y, et al (2023b). PbrBZR1 interacts with PbrARI2.3 to mediate brassinosteroid-regulated pollen tube growth during self-incompatibility signaling in pear. *Plant Physiol*, 192: 2356–2373
- Wu L, Liu X, Zhang MY, et al (2023). Self S-RNase inhibits ABF–LRX signaling to arrest pollen tube growth to achieve self-incompatibility in pear. *Plant J*, 113: 595–609
- Yang Q, Meng D, Gu Z, et al (2018). Apple S-RNase interacts with an actin-binding protein, Md MVG, to reduce pollen tube growth by inhibiting its actin-severing activity at the early stage of self-pollination induction. *Plant J*, 95: 41–56
- Ye ZH, Droste DL (1996). Isolation and characterization of cDNAs encoding xylogenesis-associated and wounding-induced ribonucleases in *Zinnia elegans*. *Plant Mol Biol*, 30: 697–709
- Zhang D, de Souza RF, Anantharaman V, et al (2012). Polymorphic toxin systems: comprehensive characterization of trafficking modes, processing, mechanisms of action, immunity and ecology using comparative genomics. *Biol Direct*, 7: 18
- Zhang D, Li YY, Zhao X, et al (2024). Molecular insights into self-incompatibility systems: from evolution to breeding. *Plant Commun*, 5: 100719
- Zhang J, Dyer KD, Rosenberg HF (2000). Evolution of the rodent eosinophil-associated RNase gene family by rapid gene sorting and positive selection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 4701–4706
- Zhang Y, Zhao Z, Xue Y (2009). Roles of proteolysis in plant self-incompatibility. *Annu Rev Plant Biol*, 60: 21–42
- Zhao H, Song Y, Li J, et al (2021). Primary restriction of S-RNase cytotoxicity by a stepwise ubiquitination and degradation pathway in *Petunia hybrida*. *New Phytol*, 231: 1249–1264
- Zhao H, Zhang Y, Zhang H, et al (2022). Origin, loss, and regain of self-incompatibility in angiosperms. *Plant Cell*, 34: 579–596
- Zheng J, Wang Y, He Y, et al (2014). Overexpression of an S-like ribonuclease gene, *OsRNS4*, confers enhanced tolerance to high salinity and hyposensitivity to phytochrome-mediated light signals in rice. *Plant Sci*, 214: 99–105
- Zhu L, Ow DW, Dong Z (2018). Transfer RNA-derived small RNAs in plants. *Sci China Life Sci*, 61: 155–161