

DOI: 10.13376/j.cblls/2015179

文章编号: 1004-0374(2015)10-1285-07

水稻病毒与其宿主miRNAs相互作用的研究进展

程青青¹, 董兰兰¹, 杨芳², 张蕾², 刘万红^{1,2*}

(1 武汉大学基础医学院病原生物与感染性疾病研究所, 武汉 430071; 2 武汉大学杂交水稻国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要: miRNAs (microRNAs) 是真核生物中一类大小约为 21 nt, 并具有调控功能的非编码小分子单链 RNA。miRNAs 能够调控水稻基因的表达, 对水稻的发育和生理机能至关重要。miRNA 沉默途径可以抵御水稻病毒的入侵, 减小病毒侵染带来的危害。然而, 一些病毒也会编码各种针对 miRNA 沉默途径的沉默抑制子来对抗这种机制。于是, miRNAs 和水稻病毒之间就形成了一种抑制与反抑制的动态平衡体系。现对水稻病毒与其宿主 miRNAs 之间的相互作用进行了系统的阐述, 以期深入理解水稻病毒与宿主相互作用的机制并为水稻病害的防治提供新的思路与方法。

关键词: miRNAs; 水稻病毒; miRNA 沉默途径; 沉默抑制子

中图分类号: Q789; S511.1 **文献标志码:** A

The research progress of interaction between viruses and miRNAs in rice

CHENG Qing-Qing¹, DONG Lan-Lan¹, YANG Fang², ZHANG Lei², LIU Wan-Hong^{1,2*}

(1 Pathogenic Organism and Infectious Diseases Research Institute, School of Basic Medical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 2 State Key Laboratory of Hybrid Rice, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: miRNAs (microRNAs), a type of small non-coding RNAs (about 21 nt in size), exist widespread in eukaryotic cells. miRNAs can regulate gene expression and are crucial for the development and physiology of rice. miRNA silencing pathways protect rice from viral attack, and viruses in turn have developed defense mechanisms by encoding various suppressors of miRNA silencing. Thus, this forms a dynamic balance of suppression and counter-suppression between miRNAs and viruses in rice. The review focuses on the interaction of viruses and their host miRNAs systematically, so as to understand deeply the relationship between viruses and rice. This also provides new ideas and methods for the control of rice diseases.

Key words: miRNAs; viruses; rice; miRNA silencing pathway; silencing suppressors

水稻病毒病是一类由病毒系统性侵染水稻而引发的病害, 严重影响水稻的产量和品质。水稻 miRNAs 是一类广泛存在于水稻组织中的大小约为 21 nt 的单链小分子 RNA。miRNAs 不仅对水稻的发育和生理机能至关重要, 而且在水稻的抗病毒防御中发挥着重要作用^[1-2]。近几年来大量的报道主要集中在水稻 miRNAs 的生成、作用机制以及 miRNAs 对水稻的功能探究上面, 而对水稻病毒和 miRNAs 的相互作用则研究得比较少, 因此, 本文主要对两者之间的关系进行系统阐述, 为更加深入地理解水稻病毒与其宿主相互作用的机制提供理论依据, 并为水稻病害的防治提供新的思路和方法。

1 水稻病毒概述

水稻病毒病已经成为一类世界性的病害, 其影响范围大, 能够造成水稻大面积减产, 甚至绝收, 严重阻碍了粮食安全生产。目前世界上已报道的可以侵染水稻的病毒有 16 种, 在我国就有约 11 种水

收稿日期: 2015-04-25; 修回日期: 2015-07-08

基金项目: 杂交水稻国家重点实验室(武汉大学)开放课题基金(KF201405); 国家自然科学基金项目(81171577, 81371790); 武汉大学医学部协同创新项目(2013-266078)

*通信作者: E-mail: liuwanhong@whu.edu.cn

稻病毒被发现, 如水稻黑条矮缩病毒 (rice black-streaked dwarf virus, RBSDV)、南方水稻黑条矮缩病毒 (southern rice black-streaked dwarf virus, SRBSDV)、水稻条纹病毒 (rice stripe virus, RSV)、水稻齿叶矮缩病毒 (rice ragged stunt virus, RRSV)、水稻黄斑病毒 (rice yellow mottle virus, RYMV)、水稻矮缩病毒 (rice dwarf virus, RDV)、水稻草状矮化病毒 (rice grassy stunt virus, RGSV)、水稻瘤矮病毒 (rice gall dwarf virus, RGDV) 等^[3-8]。这些水稻病毒的形态结构、基因组 RNA、致病方式以及引起的病理变化都有较大的差异^[4-10]。RBSDV 和 SRBSDV 是目前流行在我国大部分稻区, 造成的危害较为严重的两种水稻病毒, 均属于呼肠孤病毒科 (Reoviridae) 斐济病毒属 (*Fijivirus*)^[3,10]。RDV、RGDV、RSV 和 RRSV 是研究比较多的水稻病毒, 其中 RDV 和 RGDV 来自呼肠孤病毒科植物呼肠孤病毒属 (*Phytoreovirus*), 而 RSV 和 RRSV 分别是纤细病毒属 (*Tenuivirus*) 和呼肠孤病毒科水稻病毒属 (*Oryzavirus*) 的代表种^[3-10]。

2 水稻 miRNAs 的生成和作用机制

目前发现的植物 miRNA 有几十个家族, 具有非常复杂的功能体系。在植物发育的不同阶段以及不同的植物组织和环境条件下, 各个 miRNA 家族发挥独特的功能, 形成较大的表达差异^[11]。目前为

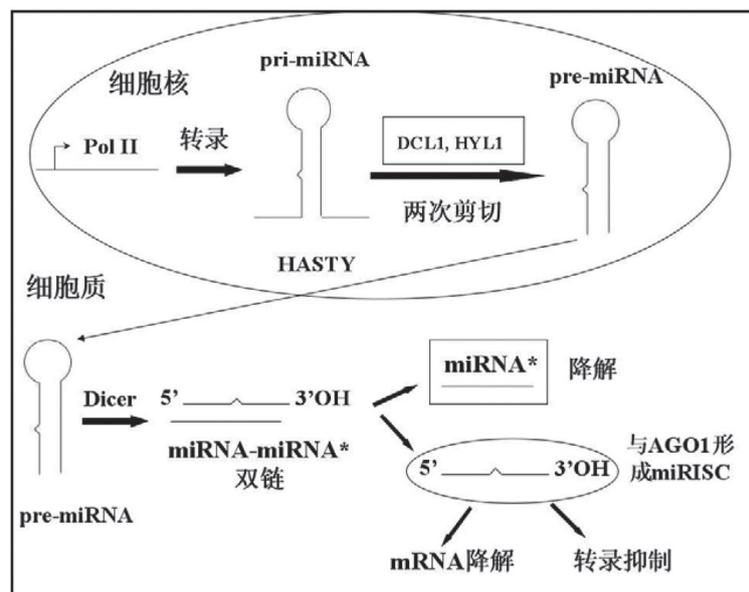
止, 在水稻中通过实验验证和生物信息学软件预测发现的 miRNAs 就有 700 种, 这些 miRNAs 在水稻的生长发育、组织分化、对环境胁迫的应答以及抗病毒防御等方面都有着至关重要的作用^[11,12-13]。

2.1 水稻 miRNAs 的生成

在水稻中, RNA 沉默是一种非常保守的防御机制, 它可以使水稻基因组免受外源物质的破坏, 如病毒入侵等。介导 RNA 沉默的小分子 RNA 主要有 siRNA (small interfering RNA) 和 miRNA^[12-13]。水稻 miRNAs 生成于细胞核中, 最初由 RNA 聚合酶 II 转录成为 pri-miRNA (primary miRNA), pri-miRNA 被类 Dicer 酶 DCL1 (Dicer-like enzyme, DCL)、HYL1 (hyponastic leaves 1) 以及其他因子经过两次剪切成为具有茎环结构的 miRNA/miRNA* 双链 (pre-miRNA)^[14-16]。pre-miRNA 在 HEN1 (Hua enhancer 1) 的作用下发生甲基化后, 被转运蛋白 HST (HASTY) 和其他一些因子运输进入细胞质中^[17]。pre-miRNA 的双链分别为指导链 (miRNA) 和伴随链 (miRNA*), miRNA* 随即被一种核酸外切酶降解, 而成熟的 miRNA 则与蛋白 Argonaute1 (AGO1) 形成 miRNA 诱导的沉默复合体 (miRNA induced silencing complex, miRISC) 发挥作用 (图 1)^[11,18]。

2.2 水稻 miRNAs 的作用机制

目前已经报道的 miRNA 作用机制有 4 种, 即



Pol II (polymerase II): RNA 聚合酶 II; pri-miRNA (primary miRNA): 原始 miRNA; DCL1: HYL1 (Dicer-like enzyme 1, Hyponastic leaves 1), 原始 miRNA 的加工蛋白; pre-miRNA (precursor miRNA): miRNA 前体; HASTY: 转运蛋白 HST; AGO1 (Argonaute 1): 水稻蛋白; miRISC (miRNA induced silencing complex): miRNA 诱导的沉默复合体

图1 水稻 miRNA 的生成及作用过程

miRNA 介导的 mRNA 的切割、mRNA 的降解、翻译的抑制以及 miRNA 在转录水平上的调控^[19]。其中 miRNA 介导的 mRNA 的切割和翻译水平的抑制是两种最普遍的作用机制^[20]。动物 miRNA 通常与目标基因的多个识别位点进行不完全配对, 从而阻止核糖体在 mRNA 上的移动, 抑制基因的表达^[20-21]。植物 miRNA 与其靶标 mRNA 几乎完全互补配对, 因此, 多是通过介导 mRNA 的切割发挥作用, 与 siRNA 的作用机制类似, 都是通过引导沉默复合体 RISC 去切割与其互补配对的 mRNA^[21]。

目前水稻 miRNAs 的作用机制尚不完全清楚, 但是关于模式植物等的研究较多。根据植物 miRNAs 作用机制的可能共性, 我们推测了一个水稻 miRNA 的可能作用机制模式图(图 1)。与一般植物相同, 水稻 miRNA 沉默途径也可能与转录后水平的 RNA 沉默机制相关, 但是其具体沉默的途径与信号分子可能不同, 如水稻 miR168 的表达在病毒感染的水稻中显著升高, 阻止了 AGO1 蛋白表达, 降低了水稻抗病毒的作用^[10], 这些作用机制不同于 RNA 的转录水平沉默机制^[22]。通常水稻 miRNA 途径可能是以水稻自身 miRNA 为诱导物的沉默机制, 通过对水稻基因转录产物的表达进行调控, 从而影响水稻的生长发育^[19-20]。在这个过程中, 水稻 miRNA 与其沉默机制蛋白 AGO1 结合生成沉默复合体 miRISC。miRISC 的靶标是水稻自身的转录产物, 如各种转录因子的基因转录物 mRNA、蛋白降解调节物的转录物 mRNA 以及一些环境因子诱导产生的转录物 mRNA^[21,23]。当 miRISC 在其内部的 miRNA 的引导下与靶标 mRNA 结合后, AGO1 蛋白就会对其进行剪切或抑制其翻译过程的发生, 从而引起水稻基因表达的沉默(图 1)^[18,24]。

3 水稻病毒与 miRNAs 的相互作用

水稻 miRNA 对特定基因的 mRNA 进行识别和作用, 造成其基因沉默, 是水稻生长发育的一个重要调控机制。miRNA 沉默途径的另一个重要功能就是抵御病毒入侵。当水稻被病毒侵染时, 水稻自身的 miRNA 会抑制病毒基因组的复制和表达^[1]。为逃避这一防御机制, 水稻病毒会进化出相应的策略来拮抗 miRNA 介导的沉默途径^[10,14]。该策略以水稻病毒编码的沉默抑制子为主体, 针对水稻基因沉默途径进行攻击, 致使 miRNA 不能行使其正常的生物学功能, 最终导致水稻在生理功能上发生异常, 水稻的病毒侵染症状也随即出现^[25]。

3.1 miRNA 介导的沉默途径抵御水稻病毒入侵

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 是一种基因沉默机制, 可特异识别双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA) 分子并对其切割^[17]。当水稻病毒侵染水稻时, 病毒的 dsRNA 结构会激活和诱发水稻体内的基因沉默系统来抵御病毒的入侵^[14,18]。成熟的水稻 miRNA 与 AGO1 结合生成沉默复合体 miRISC, 然后 miRNA 作为引导序列, 按照碱基互补配对原则介导 AGO1 进入与其完全互补的水稻病毒 mRNA 靶标区进行切割, 抑制病毒的复制^[26-27]。

最近的研究表明, 水稻病毒感染可能影响 miRNAs 的表达^[3,10,28], 如 SRBSDV 感染水稻以后, 会引起水稻 miR164、miR396、miR530、miR1846、miR1858 和 miR2097 家族中的 miRNAs 表达水平发生变化^[3]; RSV 感染后会上调水稻 miR535、miR390、miR171、miR168 的表达, 同时, 会下调水稻 miR156、miR166、miR167 等的表达^[10]; RDV 感染也会引起某些 miRNAs 表达的下调, 如 miR167、miR171、miR1863^[10]。在病毒感染的水稻中, 水稻 miR168 的表达水平有显著升高^[10,29]。水稻 miR168 能够使水稻抗病毒所必需的 AGO1 蛋白的表达水平下降, 而水稻 AGO18 蛋白则能够抑制 miR168 的表达, 从而使 AGO1 蛋白的表达不受影响, 达到抗病毒的作用^[29-31]。上述这些 miRNAs 通过与病毒感染相关的水稻基因相互作用, 发挥抗病毒抑制作用, 因此, miRNA 途径在病毒和植物的相互作用中发挥重要的作用^[3,10,28]。这些研究结果为进一步深入探究 miRNA 介导的病毒与水稻的相互作用提供了理论基础。

3.2 病毒沉默抑制子干扰水稻 miRNA 途径

水稻 miRNA 介导的沉默途径会抑制水稻病毒的入侵, 而病毒为了逃避这一防御系统更好地增殖, 编码了一些特定的蛋白质, 即沉默抑制因子, 对宿主基因沉默的过程进行干扰^[10,14,25]。miRNA 和 siRNA 作为 RNA 沉默的小分子, 在生成上有着本质的区别, 但在结构上, 它们都是大小约为 21 nt, 5' 端具有磷酸基团, 3' 端具有 2 nt 的突出, 并无太大差异^[32]。在作用机制上, 它们都是通过引导沉默复合体对与其互补配对的 RNA 进行切割发挥作用^[17,32]。因此, 水稻病毒编码的沉默抑制子在抑制基因沉默的同时也干扰了 miRNA 途径。

为了对抗基于 RNA 沉默的抗病毒防御系统, 病毒生成了多种多样的 RNA 沉默病毒抑制子抑制宿主的抗病毒反应。多数沉默抑制子主要通过

胞沉默途径的主要成分作用或者模拟正常细胞的功能,抑制宿主的抗病毒防御反应。如表1所示, RGDV 编码的沉默抑制子 Pns11 和 Pns12 主要通过和细胞沉默途径中的主要成分相互作用来对抗宿主的抗病毒反应^[4,33]。Pns11 是 RGDV 感染水稻的一个重要的致病性因素, Pns11 可以调控多种 miRNAs, 如 miRNA160、miRNA162 和 miRNA168, 以及它们相应的靶基因 *ARF10*、*DCL1* 和 *AGO1* 的表达水平, 从而影响 miRNA-RISC 的活性, 最终发挥对抗宿主的抗病毒反应^[4]; Pns12 作为 RGDV 的第二个沉默抑制子, 可以靶向 RNA 沉默途径中 dsRNA 形成的上游过程, 如降低 siRNA 的累积, Pns12 蛋白主要聚集在核中, 核定位对 Pns12 的沉默抑制活性是必需的^[33]。许多病毒的沉默抑制子具有 RNA 结合活性, 这致使 RNA 极可能成为抑制子通用的一个靶点。病毒沉默抑制子可以靶向 RNA 沉默途径的不同阶段, 如 RRSV 编码的沉默抑制子 Pns6, 通过靶向 RNA 沉默途径中 dsRNA 形成的上游过程来发挥作用^[34]; RDV 编码的沉默抑制子 Pns10 能够下调 RDR6 的表达, RDR6 是 siRNA 生成的一个重要酶^[35]; RSV 编码的沉默抑制子 NS3 能够抑制 ssRNA 和 dsRNA 诱导的沉默途径, 同时, 水稻白叶病毒 (rice hoja blanca virus, RHBV) 的 NS3 也是一种沉默抑制子, 能够特异性地识别结合 siRNA, 并抑制 RNA 沉默途径^[36-37]。表1总结了水稻病毒编码的沉默抑制子与其作用机制。

水稻病毒对其寄主 miRNA 沉默途径的作用具有组织特异性, 不同的水稻病毒对 miRNA 沉默途径的影响程度也有差别^[14,25]。水稻病毒编码的沉默抑制子干扰 miRNA 介导的对水稻生长发育的调控, 最终使水稻出现发育异常的表型^[25]。同时, 沉默抑制子也可以干扰 miRNA 介导的对病毒抗性相关基因的沉默途径, 从而改变水稻对病毒感染的敏感性, 致使水稻被病毒侵染出现病症^[4,33]。由此可见, 水

稻病毒编码的沉默抑制子可通过干扰 miRNA 途径, 直接或间接地改变水稻对病毒的抗性作用^[25]。

目前, 对于水稻病毒是否特异性地干扰 miRNA 途径仍存在争议。有报道称, 由于 miRNA 沉默途径和 siRNA 基因沉默具有某些共同的理化过程, 因此, 水稻病毒对 miRNA 途径的干扰没有特异性, 这反映了 miRNA 途径与 siRNA 途径可能存在共同的信号通路^[17,32]。但也有人认为, 水稻病毒可能是特异性地干扰 miRNA 途径^[1,14]。鉴于 miRNA 途径是水稻基因调控的重要机制之一, 影响着植物的生长发育、组织分化和环境胁迫反应等, 因此, 水稻病毒很可能通过干扰 miRNA 途径来增加病毒的致病力^[10,25]。

3.3 病毒感染对水稻 miRNAs* 的影响

已有报道证实许多不同的植物病毒沉默抑制子会导致宿主中保守的 miRNAs 表达水平降低^[40-41]。水稻病毒感染会引起一些水稻 miRNAs 的表达水平发生不同程度的变化。同一个 miRNA 前体可以产生多个序列不同的成熟 miRNAs。RSV 感染会诱导水稻产生并表达不同的新型 miRNAs, 这些新型 miRNAs 有来自自己报道的 pre-miRNAs, 也有来自未报道的一些保守的 pre-miRNAs^[10,42]。

miRNA* 是 miRNA 在加工成熟的过程中与其互补的 RNA 序列, 一般认为 miRNA* 仅用来维持 miRNA 前体的结构, 在 RNAi 途径中并不发挥功能。然而, 2012 年, 马圣运等^[43]发现, miRNA* 与 miRNA 一样可以介导转录后的基因调控, 不同的是 miRNA* 在 AGO2 的协助下形成 RISC 复合体进行 RNA 干扰。Hu 等^[44]证明了在特定的压力条件下, 水稻 miRNA* 能够替代 miRNA 发挥 RNA 干扰功能。Du 等^[10]证明了 miRNA* 可以下调其靶基因的表达, 且检测到了切割产物, 这为 miRNA* 可以调控其靶基因的稳定性提供了一个直接的证据。RSV 感染能够促进水稻 miRNA* 的表达, 却

表1 水稻病毒编码的沉默抑制子及其作用机制

病毒(英文缩写)	抑制子	作用机制	参考文献
水稻瘤矮病毒(RGDV)	Pns11/Pns12	Pns11调控miRNAs以及它们相应的靶基因的表达, 从而影响miRNA-RISC的活性; Pns12则靶向RNA沉默途径中dsRNA形成的上游过程	[4,33]
水稻齿叶矮缩病毒(RRSV)	Pns6	靶向RNA沉默途径中dsRNA形成的上游过程	[34]
水稻矮缩病毒(RDV)	Pns10	下调RDR6 (siRNA生成的重要酶)的表达	[35]
水稻条纹病毒(RSV)	NS3/NS2/p3	NS2、NS3和p3均是转录后基因沉默抑制子	[36-39]
水稻草状矮化病毒(RGSV)	p5	p5是转录后基因沉默抑制子	[38]
水稻白叶病毒(RHBV)	NS3	特异性地识别结合siRNA并抑制RNA沉默途径	[36]

不能上调与其相应的 miRNAs 的表达, 这种特殊的上调作用可能是由于 RSV 感染激活了某些与 miRNA* 相关的 RISCs 复合体的活性, 也可能是 RSV 干扰了 miRNAs 进入 RISC 的载量引起的^[10]。水稻病毒感染还会影响水稻基因家族 OsDCLs、OsAGOs 和 OsRDRs 中的一些基因的表达, 如 RSV 感染后会引发 OsDCL2、OsAGO1a、OsAGO1b、OsAGO1c、OsAGO2、OsAGO18 表达上调, 而 OsDCL3a 和 OsDCL3b 的表达则下调; RDV 感染后引起 OsRDR1 和 OsRDR4 的表达上调, 这些基因与水稻 miRNA 沉默途径相关(图 2)^[10,45]。

目前关于水稻 miRNAs 与病毒相互作用的研究比较少, 我们主要通过阐述病毒感染水稻后 miRNAs 和 miRNAs* 表达水平的改变, 以及 miRNAs 靶向病毒基因组或水稻基因发挥抗病毒防御作用, 来探究水稻病毒与 miRNA 沉默途径的关系。这有利于进一步深入理解病毒和宿主相互作用的复杂性和新的机制, 为水稻病毒病的防治提供新的理论依据, 并且为研究其他植物病毒与 miRNAs 之间的关系提供了参考。

4 miRNAs防治水稻病害的前景

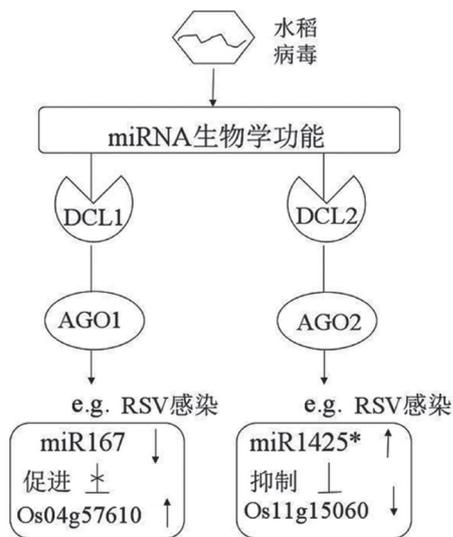
水稻病害成灾重, 发生面积大而且防治困难, 因此, 造成的经济损失比较严重。目前对水稻疾病的防治还局限在“治虫防病”上, 对已经大面积暴

发的水稻病害没有成功的防治经验和有效的防治措施^[46]。随着对水稻病毒和宿主相互作用的机制的深入探究, 以及基因沉默技术的发展, 利用 RNA 干扰的高效性和特异性来控制 and 预防植物病毒病的策略已经开始得到重视^[47]。

尽管 miRNAs 调控水稻生长过程的复杂性机制尚未完全清楚, 但已经有很多报道成功利用 miRNAs 进行基因工程研究^[48-50]。人工 miRNA (artificial miRNA) 技术作为一项新兴的生物技术, 为我们提供了一种新的基因沉默的方法。根据 miRNAs 的结构特点和作用机制, 通过人工设计构建等一系列基因工程的手段产生特定的人工 miRNAs, 进行特异性的转基因介导的基因沉默^[49,51]。同时, 可以结合不同的水稻病毒沉默抑制子, 构建嵌合转基因抑制子, 从而使水稻获得对多种水稻病毒的高度抗性^[35]。目前人工 miRNAs 的推广和应用还存在一些不确定的因素, 但随着我们对 miRNAs 作用机制、miRNAs 与病毒相互作用的深入研究以及人工 miRNA 技术的完善, 相信人工 miRNA 技术将在水稻抗病毒研究领域发挥更大的作用^[48-52]。

[参 考 文 献]

- [1] Maghuly F, Ramkat RC, Laimer M. Virus versus host plant microRNAs: who determines the outcome of the interaction? PloS One, 2014, 9 (6): e98263
- [2] Qu F. Plant viruses versus RNAi: simple pathogens reveal complex insights on plant antimicrobial defense. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2010, 1(1): 22-33
- [3] Xu D, Mou G, Wang K, et al. MicroRNAs responding to southern rice black-streaked dwarf virus infection and their target genes associated with symptom development in rice. Virus Res, 2014, 190: 60-8
- [4] Shen WJ, Ruan XL, Li XS, et al. RNA silencing suppressor Pns11 of rice gall dwarf virus induces virus-like symptoms in transgenic rice. Arch Virol, 2012, 157 (8): 1531-9
- [5] Wang Z, Li X, Wang W, et al. Interaction research on the antiviral molecule dufulin targeting on southern rice black streaked dwarf virus p9-1 nonstructural protein. Viruses, 2015, 7(3): 1454-73
- [6] Zheng L, Mao Q, Xie L, et al. Infection route of rice grassy stunt virus, a tenuivirus, in the body of its brown planthopper vector, *Nilaparvata lugens* (hemiptera: delphacidae) after ingestion of virus. Virus Res, 2014, 188: 170-3
- [7] Pinel-Galzi A, Traore O, Sere Y, et al. The biogeography of viral emergence: rice yellow mottle virus as a case study. Curr Opin Virol, 2015, 10: 7-13
- [8] Xiong R, Wu J, Zhou Y, et al. Characterization and



DCL1: 原始miRNA的加工蛋白; AGO1: 水稻蛋白 Argonate 1; AGO2: 水稻蛋白Argonate 2; Os04g57610: miRNA167的靶基因; Os11g15060: miRNA1425*的靶基因

图2 水稻病毒感染后对水稻miRNAs及miRNAs*生物学功能的影响

- subcellular localization of an RNA silencing suppressor encoded by rice stripe tenuivirus. *Virology*, 2009, 387 (1): 29-40
- [9] Xu Y, Huang L, Fu S, et al. Population diversity of rice stripe virus-derived siRNAs in three different hosts and RNAi-based antiviral immunity in *laodelphgax striatellus*. *PLoS One*, 2012, 7 (9): e46238
- [10] Du P, Wu J, Zhang J, et al. Viral infection induces expression of novel phased microRNAs from conserved cellular microRNA precursors. *PLoS Pathog*, 2011, 7 (8): e1002176
- [11] Katiyar-Agarwal S, Jin H. Role of small RNAs in host-microbe interactions. *Annu Rev Phytopathol*, 2010, 48: 225-46
- [12] Nobuta K, Venu RC, Lu C, et al. An expression atlas of rice mRNAs and small RNAs. *Nat Biotechnol*, 2007, 25 (4): 473-7
- [13] Lacombe S, Nagasaki H, Santi C, et al. Identification of precursor transcripts for 6 novel miRNAs expands the diversity on the genomic organisation and expression of miRNA genes in rice. *BMC Plant Biol*, 2008, 8: 123
- [14] Ramesh SV, Ratnaparkhe MB, Kumawat GP, et al. Plant miRNAome and antiviral resistance: a retrospective view and prospective challenges. *Virus Genes*, 2014, 48 (1): 1-14
- [15] Bologna NG, Voinnet O. The diversity, biogenesis, and activities of endogenous silencing small RNAs in *Arabidopsis*. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, 65: 473-503
- [16] Arikiti S, Zhai J, Meyers BC. Biogenesis and function of rice small RNAs from non-coding RNA precursors. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16(2): 170-9
- [17] Hohn T, Vazquez F. RNA silencing pathways of plants: silencing and its suppression by plant DNA viruses. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1809 (11-12): 588-600
- [18] Hicks J, Liu HC. Involvement of eukaryotic small RNA pathways in host defense and viral pathogenesis. *Viruses*, 2013, 5 (11): 2659-78
- [19] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116 (2): 281-97
- [20] Dugas DV, Bartel B. MicroRNA regulation of gene expression in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7 (5): 512-20
- [21] Sieber P, Wellmer F, Gheyselinck J, et al. Redundancy and specialization among plant microRNAs: role of the MIR164 family in developmental robustness. *Development*, 2007, 134 (6): 1051-60
- [22] Simon-Mateo C, Garcia JA. Antiviral strategies in plants based on RNA silencing. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1809 (11-12): 722-31
- [23] Rogers K, Chen X. Biogenesis, turnover, and mode of action of plant microRNAs. *Plant Cell*, 2013, 25(7): 2383-99
- [24] Shao C, Dong AW, Ma X, et al. Is Argonaute 1 the only effective slicer of small RNA-mediated regulation of gene expression in plants? *J Exp Bot*, 2014, 65 (22): 6293-9
- [25] Diaz-Pendon JA, Ding SW. Direct and indirect roles of viral suppressors of RNA silencing in pathogenesis. *Annu Rev Phytopathol*, 2008, 46: 303-26
- [26] Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing. *Cell*, 2008, 132 (1): 9-14
- [27] Li S, Liu L, Zhuang X, et al. MicroRNAs inhibit the translation of target mRNAs on the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis*. *Cell*, 2013, 153(3): 562-74
- [28] Yang J, Zhang HM, Chen JP, et al. Identification of 23 novel conserved microRNAs in three rice cultivars. *Gene*, 2014, 548: 285-93
- [29] Wu J, Yang Z, Wang Y, et al. Viral-inducible Argonaute18 confers broad-spectrum virus resistance in rice by sequestering a host microRNA. *Elife*, 2015, 4: e05733
- [30] Hauptmann J, Meister G. Argonaute regulation: two roads to the same destination. *Dev Cell*, 2013, 25(6): 553-4
- [31] Xie M, Zhang S, Yu B. MicroRNA biogenesis, degradation and activity in plants. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(1): 87-99
- [32] Seo JK, Wu J, Lii Y, et al. Contribution of small RNA pathway components in plant immunity. *Mol Plant Microbe Interact*, 2013, 26 (6): 617-25
- [33] Wu JG, Wang CZ, Du ZG, et al. Identification of Pns12 as the second silencing suppressor of rice gall dwarf virus. *Sci Chn Life Sci*, 2011, 54: 201-8
- [34] Wu JG, Wang CZ, Du ZG, et al. Identification of Pns6, a putative movement protein of RRSV, as a silencing suppressor. *Viol J*, 2010, 7: 335
- [35] Ren B, Guo YY, Gao F, et al. Multiple functions of rice dwarf phytoevirus Pns10 in suppressing systemic RNA silencing. *J Virol*, 2010, 84: 12914-23
- [36] Shen M, Xu Y, Jia R, et al. Size-independent and noncooperative recognition of dsRNA by the rice stripe virus RNA silencing suppressor NS3. *J Mol Biol*, 2010, 404: 665-79
- [37] 郑璐平, 林辰, 谢荔岩, 等. 水稻条纹病毒NS2和NS3基因共干扰转基因水稻的培育及抗病性分析. *病毒学报*, 2014, 30(6): 661-7
- [38] Netsu O, Hiraguri A, Komatsu K, et al. Functional comparison of RNA silencing suppressor between the p5 protein of rice grassy stunt virus and the p3 protein of rice stripe virus. *Virus Res*, 2015, 203: 10-9
- [39] Kormelink R, Garcia ML, Goodin M, et al. Negative-strand RNA viruses: the plant-infecting counterparts. *Virus Res*, 2011, 162(1-2): 184-202
- [40] Mallory AC, Reinhart BJ, Bartel D, et al. A viral suppressor of RNA silencing differentially regulates the accumulation of short interfering RNAs and microRNAs in tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (23): 15228-33
- [41] Dunoyer P, Lecellier CH, Parizotto EA, et al. Probing the microRNA and small interfering RNA pathways with virus-encoded suppressors of RNA silencing. *Plant Cell*, 2004, 16 (5): 1235-50
- [42] Guo W, Wu G, Yan F, et al. Identification of novel *Oryza sativa* miRNAs in deep sequencing-based small RNA libraries of rice infected with Rice stripe virus. *PLoS One*, 2012, 7 (10): e46443

- [43] 马圣运, 白玉, 韩凝, 等. miRNA*生物合成及其功能研究的新发现. 遗传, 2012, 34 (4): 383-8
- [44] Hu W, Wang T, Yue E, et al. Flexible microRNA arm selection in rice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447 (3): 526-30
- [45] Liu B, Li P, Li X, et al. Loss of function of OsDCL1 affects microRNA accumulation and causes developmental defects in rice. *Plant Physiol*, 2005, 139 (1): 296-305
- [46] Wang MB, Abbott DC, Waterhouse PM. A single copy of a virus-derived transgene encoding hairpin RNA gives immunity to barely yellow dwarf virus. *Mol Plant Pathol*, 2000, 1 (6): 347-56
- [47] Wesley SV, Helliwell CA, Smith NA, et al. Construct design for efficient, effective and high-throughput gene silencing in plants. *Plant J*, 2001, 27 (6): 581-90
- [48] Hayakawa T, Zhu Y, Itoh K, et al. Genetically engineered rice resistant to rice stripe virus, an insect-transmitted virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89 (20): 9865-9
- [49] Schwab R, Ossowski S, Riester M, et al. Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18 (5): 1121-33
- [50] Carbonell A, Fahlqren N, Mitchell S, et al. High specific gene silencing in a monocot species by artificial microRNAs derived from chimeric miRNA precursors. *Plant J*, 2015, 82(6): 1061-75
- [51] Carbonell A, Takeda A, Fahlqren N, et al. New generation of artificial microRNA and synthetic transacting small interfering RNA vectors for efficient gene silencing in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2014, 165(1): 15-29
- [52] Tiwari M, Sharma D, Trivedi PK. Artificial microRNA mediated gene silencing in plants: progress and perspectives. *Plant Mol Biol*, 2014, 86(1-2): 1-18