

植物环状 RNA 的生物发生及作用机制的研究进展



周洲, 李天罡, 马静芳, 王秀玲*

山东农业大学生命科学学院作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271000

摘要: 环状 RNA (circRNA) 是一类广泛存在于生物体内的单链闭合的非编码 RNA 分子, 由基因转录产物通过反向剪接形成。CircRNA 具有较高的结构稳定性、物种间保守性和组织表达特异性等特点。随着高通量测序等技术的快速发展, 目前已经在多种植物中鉴定到了大量的 circRNA, 成为非编码 RNA 研究领域的新热点。CircRNA 具有充当 microRNA 海绵、调控基因表达和转录产物加工等功能。越来越多的研究结果显示 circRNA 在生物的生长发育和对外界环境的响应等方面具有重要的调控作用。但目前对植物中 circRNA 的生物发生、作用机制及其生物学功能等方面的了解仍处于初级阶段, 尤其对其生物发生过程中反向剪接的调控机制了解较少。本文主要围绕植物中 circRNA 的形成、可变剪接调控以及其在调节植物开花等发育过程和逆境胁迫中的生物学功能及分子机理等方面的研究进展进行了综述, 以期为深入探究植物中这类非编码 RNA 的生物发生和作用机理等方面的研究提供理论参考。

关键词: 环状 RNA; 生物发生; 可变剪接; 开花转换

DOI: [10.57237/j.life.2022.01.005](https://doi.org/10.57237/j.life.2022.01.005)

Advances in Research Progress on the Biogenesis and Mechanism of Circular RNA in Plants

Zhou Zhou, Tiangang Li, Jingfang Ma, Xiuling Wang*

College of Life Sciences, National Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China

Abstract: Circular RNA (circRNA) is a class of endogenous non-coding RNA which is widely existed in organisms. It is a closed RNA molecule formed by back splicing. CircRNAs have highly structural stability, sequence conservation and tissue specificity. A large number of circRNAs have been identified for the rapid development of high-throughput sequencing and other technologies in plants, which becomes a new field of non-coding RNA research. CircRNA functions acting as microRNA sponge, in regulating gene expression and splicing of transcripts. More and more research results reveal that circRNAs play an important role in organism development and resistance to the external environment. However, at present, we know very little about the biogenesis, function and molecular mechanism of circRNAs in plants, especially the regulation of back splicing of circRNAs. In this review, we summarize the advances in research progress of plant circRNAs, mainly focusing on the alternative splicing of circRNAs and their functions in flowering transition and stress responses. This review will provide an extended understanding of the regulation of biogenesis and molecular mechanism of circRNAs in plants.

基金项目: 国家自然科学基金 (32170361).

*通信作者: 王秀玲, xlwang@sdau.edu.cn

收稿日期: 2023-02-07; 接受日期: 2023-03-17; 在线出版日期: 2023-03-28

<http://www.lifescitech.org>

Keywords: CircRNA; Biogenesis; Alternative Splicing; Flowering Transition

1 引言

环状 RNA (circRNA) 是一类新发现的非编码 RNA，具有封闭结构的环形 RNA 分子，普遍存在于真核生物中[1-2]，在高等生物的生长发育和响应外界环境变化过程中起作用[3-5]。研究发现，一些 circRNA 具有发育阶段的特异性和物种间的保守性[6]。

与 mRNA 等线性分子的剪接模式不同，circRNA 是由 5'端剪接位点与上游 3'端剪接位点共价连接产生，这种剪接方式被称为反向剪接[7-9]。因为 circRNA 没有 poly(A)尾，结构相对稳定。产生 circRNA 的基因称为源基因或母基因。根据 circRNA 序列来源，可以将

其分为以下类型：1) 产生于母基因前体 mRNA (pre-mRNA) 外显子的 circRNA (EcircRNA)；2) 由 pre-mRNA 内含子套索化形成的 circRNA (ciRNA)；3) 由 pre-mRNA 内含子与外显子共同环化形成的 circRNA (EIciRNA) (图 1)。某些 circRNA 由多个外显子或由多个外显子与内含子共同构成[9]。此外，基因间区、编码基因 UTR 区域和非编码 RNA 基因位点也能生成 circRNA。与 mRNA 相似，circRNA 形成过程中也普遍存在可变剪接等转录后水平的加工。

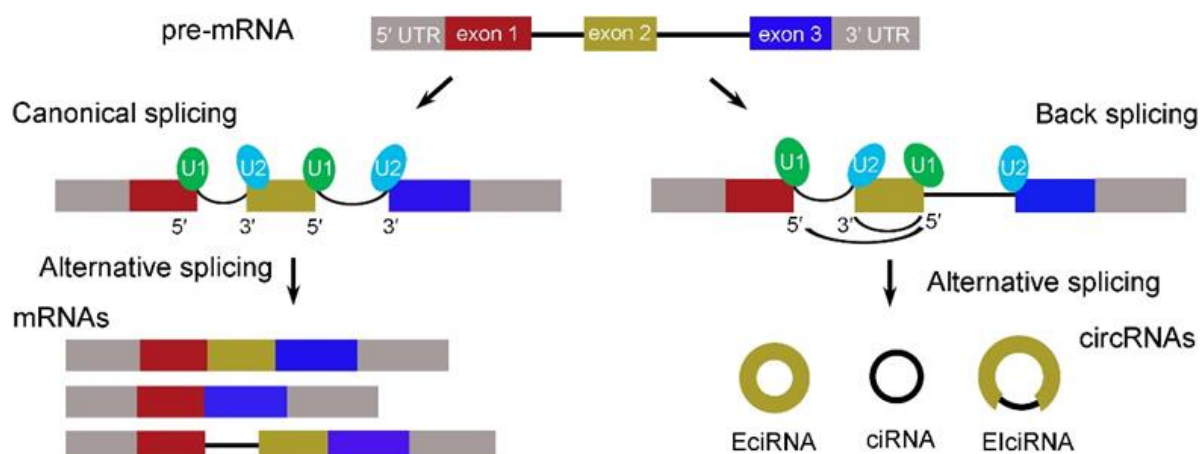


图 1 CircRNA 的形成

基因转录产物通过不同的剪接方式产生线性 mRNA 和 circRNA。如果转录产物通过常规的方式其 5'端剪接位点与下游 3'端剪接位点连接，则产生线性的 mRNA (左侧)。如果转录产物的剪接机构将 5'端剪接位点与上游 3'端剪接位点共价连接，则通过这种反向剪接产生 circRNA (右侧)。mRNA 和 circRNA 的形成过程中都能够通过可变剪接产生多个转录本。

Figure 1 The formation process of circRNA

Gene transcripts produce linear mRNA or circRNA through different splicing methods. If the 5' splice site of the transcript is connected with the downstream 3' splice site in a canonical way, the linear mRNA (left side) is generated. The circRNA (right side) is generated through the back splicing, by which the 5' splice site is covalently connected with the upstream 3' splice site. During the formation of mRNA and circRNA, multiple transcript isoforms can be generated through alternative splicing.

2 CircRNA 的生物发生

2.1 CircRNA 的生物发生受转录水平和转录后水平的调控

CircRNA 的产生和丰度受到多方面的调控[10-11]。

有研究表明 RNA 聚合酶 II 在 circRNA 源基因的转录延伸速率高于不能生成 circRNA 的基因，暗示 circRNA 的生成可能和基因转录之间存在偶联[11-12]。另有研究发现数千个 circRNA 是在 pre-mRNA 转录完成后才能检测到，说明 circRNA 的形成发生在转录后；另外，抑制线性 RNA 3'端的加工会促进 circRNA 的形成，推测 circRNA 的生成也可能与 mRNA 的 3'末端加工过程

有关[11, 13-14]。由此说明 circRNA 的产生在转录水平和转录后水平上受到调控。

2.2 植物 circRNA 的调控

动物中 circRNA 侧翼内含子中的反向互补序列在调控其生成过程中起重要作用[15]。但目前植物中的研究结果显示, circRNA 的生成并不依赖其两端侧翼内含子的反向互补序列[2, 16], 这可能与植物内含子的长度远低于动物内含子有关。亚硫酸氢盐测序、单分子 Nanopore DNA 测序和 circRNA 测序多组学和分析显示毛竹中 circRNA 两侧的内含子区域高度甲基化, 并且侧翼内含子中转座子的富集导致侧翼内含子高度甲基化进而影响环状 RNA 的生成[16]。说明植物 circRNA 的生物发生可能具有与动物不一样的机制。

迄今为止, 已在包括拟南芥、水稻、小麦、大麦、玉米、番茄、马铃薯、大豆和棉花等多种植物中鉴定出数以万计的 circRNA [2, 17-21]。大部分植物 circRNA 的表达具有发育调控和组织器官的特异性以及受环境胁迫条件的诱导等特性[17, 20, 22-25]。如水稻中有 27 种 circRNA 在富含磷土壤和缺磷土壤中的表达呈现显著的差异[2]。玉米根在缺氮环境下有 22 个 circRNA 的表达发生显著性变化, 这些 circRNA 在调控生物体内有机氮的合成和代谢及根系发育等多种生物进程中发挥重要作用[26]。另外, 有报道称某些 RNA 结合蛋白和 DNA 结合蛋白参与 circRNA 的生物发生。例如, 含 KH 结构域的 RNA 结合蛋白 FLK 和 C₂H₂ 锌指转录因子负调控 circRNA 的生成[27]。在拟南芥 *flk* 和 *c2h2* 突变体中 circRNA 的种类和丰度均升高。由此可见, circRNA 的生物发生受多种外界环境和内部因子的调节。

3 CircRNA 的转录后调控——可变剪接

因为 circRNA 不具有 5'端帽子和 3'端 poly(A)尾, 因此对 circRNA 的转录后加工的研究主要针对其可变剪接进行。CircRNA 与成熟的 mRNA 均由同一个基因转录产生, 因此 circRNA 可以视为一种特殊的 RNA 可变剪接产物, 绝大部分的 circRNA 与 mRNA 使用相同的剪接位点和剪接机构。一个基因可以通过不同剪接位点的选择, 使用不同的下游 5'剪接位点或上游 3'剪接位点, 使单个基因产生两个或两个以上的 circRNA (图 1)。

3.1 CircRNA 的可变剪接

与线性 RNA 剪接相似, 在含两个以上外显子的 circRNA 可变剪接中, 存在内含子保留、5'和 3'选择性剪接等多种类型[11, 15]。研究表明, 人类细胞超过半数的表达基因可以通过可变反向剪接产生两个以上的 circRNA。可变反向剪接在植物中也普遍存在, 7%-35%的基因可以产生 2 个或 2 个以上的 circRNA [28]。

CircRNA 剪接过程需要常规的剪接体完成[11]。剪接体是一个巨大而又复杂的动态无膜结构, 由 U1、U2、U4、U5 和 U6, 5 个核心 snRNP 以及 200 多种非 snRNP 蛋白组成[29-30]。这些剪接因子通过蛋白间互作或蛋白质与 RNA 的结合将初级转录产物中的内含子去除[30-31]。目前已发现动物中有几个剪接因子参与 circRNA 的加工过程。Houseley 等人于 2006 年首次发现果蝇中 *Muscleblind (MBL)* pre-mRNA 的第二个外显子形成 circRNA circMbl [32]。MBL 参与肌钙蛋白 t 等基因的可变剪接, 在细胞凋亡等生命活动过程中起调控作用[33]。CircMbl 自身序列和侧翼序列中具有 MBL 特异结合位点, MBL 与该结合位点的结合促进 circMbl 的形成[34]。SF3a 和 SF3b 是剪接复合体 U2 snRNP 的两个核心复合体, 在 circRNA 的形成过程中起负调控作用。SF3a 和 SF3b 缺失突变导致 circRNA 水平上升和线性 mRNA 水平降低[14, 35]。人类细胞中 RNA 结合蛋白 Quaking (QKI) 在 pre-mRNA 加工过程中发挥剪接因子的功能[36]。QKI 结合侧翼内含子序列中的特定基序, 并且 QKI 二聚体的形成使剪接位点靠近, 促进 circRNA 的形成。通过这种方式 QKI 蛋白在超过三分之一 circRNA 的形成过程中起作用[37-38]。RNA 结合蛋白 CELF 可以特定识别 UUUGUUU 基序, 在非编码 RNA 加工过程中具有多效性[39]。

3.2 植物中 circRNA 普遍存在可变剪接

植物 circRNA 具有大量的亚型, 不同的亚型可来源于同一个基因的可变剪接, 且偏好于多个外显子环化[17, 28, 40-41]。Wang 等人 (2019) 通过生物信息学技术方法对包括拟南芥、水稻、玉米、番茄和毛果杨 (*Populus trichocarpa*) 等在内的 11 种植物的 circRNA 进行分析, 发现共有 114574 种 circRNA 的可变剪接事件。拟南芥、水稻和番茄中超过 30% circRNA 源基因具有两种或两种以上的反向剪接事件, 拟南芥中有 281

个 circRNA 的源基因能够产生超过 10 个亚型的 circRNA [28]。这些大量存在的 circRNA 可变剪接事件暗示植物 circRNA 形成过程中普遍存在可变剪接位点的识别与调控。

迄今为止,对 circRNA 可变剪接的分子机制研究较少。某些剪接因子基因突变常导致 circRNA 积累数量增加。拟南芥 CREB 结合蛋白 80 (CBP80) 参与 pre-mRNA 的剪接和 miRNA 的加工,主要在 pre-mRNA 第一个内含子的 5'剪接位点识别中起作用[42, 43]。CBP80 缺失导致 *FLC* pre-mRNA 的内含子(尤其是第一个内含子)的剪接效率降低,引起 *FLC* mRNA 丰度降低[44]。近期的研究显示 CBP80 还参与拟南芥 circRNA 的形成和加工。CBP80 突变不仅导致 circRNA 的数量增加,还导致一些 circRNA 中异常的包含了第一个外显子,说明 CBP80 在 circRNA 的剪接过程中起作用[27]。蛋白质序列和结构域比对分析显示拟南芥中有 5 个 QKI 样蛋白,这些蛋白通过影响 pre-mRNA 加工调节拟南芥生长发育和对逆境胁迫的响应[45-48]。但这些蛋白是否在 circRNA 加工过程中起作用,还有待进一步研究。

4 CircRNA 的作用机制

4.1 细胞核中的 circRNA

动物中的研究发现细胞质和细胞核中都有 circRNA 的存在。细胞核中的 circRNA 通过增强与 RNA 聚合酶 II 的结合,促进或抑制其源基因的表达[49, 50];某些 circRNA 还能影响其源基因前体 mRNA (pre-mRNA) 的剪接等加工过程[34] (图 2A)。有些 circRNA 能与源基因及其表达产物 pre-mRNA 形成 R 环结构,R 环通常会影响到该基因的剪接效率。在毛茛中,过表达 circ-*IRX7* 增加了其与源基因 *IRX7* 的 R 环结构的发生,在线性 *IRX7* 转录本中降低了内含子保留的频率,增加了可变剪接事件的发生[51]。

4.2 细胞质中的 circRNA

细胞质中的 circRNA 主要作为 microRNA 海绵(miRNA sponge)起作用[52] (图 2B)。CircRNA 与 miRNA 序列存在部分互补,二者竞争性的结合影响 miRNA 的运输和功能,进而影响 miRNA 下游靶基因的表达。水稻 Os06circ02797 为首个植物中被发现具有 miRNA 海绵功能的 circRNA,Os06circ02797 通过结合

OsMIR408 抑制 Os01g45830 等 7 个潜在靶基因的表达[53]。目前多种植物中的 circRNA 被预测具有结合 miRNA 的能力[54],但还需要具体的实验证据加以证实。此外,circRNA 与 miRNA 结合后还能启动 circRNA 的衰变,调节 miRNA 的稳定性[11]。

有些 circRNA 能够结合特异的 RNA 结合蛋白(RBP),参与调节蛋白-蛋白或蛋白-RNA 间的相互作用,起到蛋白质海绵或抑制剂的作用,可以作为支架使不同的蛋白质彼此建立联系,或者可以将蛋白质募集到特定的亚细胞区室[50] (图 2C)。已有相关数据库可供预测分析与 RBP 结合的 circRNA 位点和序列 (CircInteractome, Circular RNA Interactome, <https://circinteractome.nia.nih.gov/index.html>) [50, 55]。因为大部分 circRNA 不能翻译成蛋白质起作用,因此研究初期将这类 RNA 归为非编码 RNA。近年来越来越多的研究表明,某些 circRNA 可以被翻译成短肽或蛋白质起作用[56-60] (图 2D)。一个里程碑式的研究显示 circRNA 存在 m6A 甲基化修饰能够促进 circRNA 的翻译[61]。另外,有些 circRNA 可以通过外泌体分泌到细胞外起作用,或者通过内吞作用进入相邻细胞,在细胞增殖、细胞间通讯等过程中起作用[62] (图 2E)。

4.3 植物中 circRNA 的作用机制

与动物中的研究相比,人们目前对植物中 circRNA 的功能以及作用机制了解还少[63]。拟南芥 *SEPALLATA3* (*SEP3*) 基因编码一个 MADS-box 转录因子,参与花器官的形成。由 *SEP3* 第 6 个外显子环化形成的 *SEP3* exon 6 circRNA 是首个鉴定出功能的植物 circRNA。*SEP3* exon 6 circRNA 能够结合到 *SEP3* 基因的 DNA 上形成一个 RNA:DNA R 环,这种 R 环结构暂停 *SEP3* 的转录而使得众多的剪接因子被招募到其 pre-mRNA 上,从而提高 *SEP3* pre-mRNA 的剪接效率[64]。说明与动物 circRNA 类似,植物中的 circRNA 也能够调节源基因的表达和转录产物的加工。拟南芥存在近 400 种内含子环化形成的套索 RNA,这些 circRNA 与 DLC/HYL1 切割复合体结合,竞争性抑制 HYL1 与 pri-miRNA 的结合,影响 pri-miRNA 的加工和 miRNA 的形成[65]。

尽管在人和动物中鉴定到了细胞质中多个作为 miRNA 海绵的 circRNA,但迄今为止仅在植物中鉴定少数几个具有 miRNA 结合位点的 circRNA。

ARGONAUTE (AGO) 蛋白是真核生物一类 RNA 介导的 RNA 内切酶, 为 miRNA 提供锚定位点, 是 RNA 诱导沉默复合体的主要成分, 在降解靶基因或者抑制翻译过程中起重要作用。AGO 免疫沉淀结果显示拟南芥花中存在 5 个 circRNA, 具有与 14 个 miRNA 结合的位点[66], 但其作为 miRNA 海绵的功能还需要进一步研究确定。除此之外, 植物细胞也存在分泌到细胞外空间的 circRNA。Karimi 等人近期发现拟南芥叶片的质外体中存在 circRNA, 并且与富含甘氨酸的 RNA 结合蛋白 7 (GRP7) 和 AGO2 结合。GRP7 和 AGO2 有助于这类 circRNA 的分泌和/或稳定[67]。表明这些 circRNA 可能在植物与微生物的相互作用中发挥核心作用, 也可能有助于宿主诱导的基因沉默。

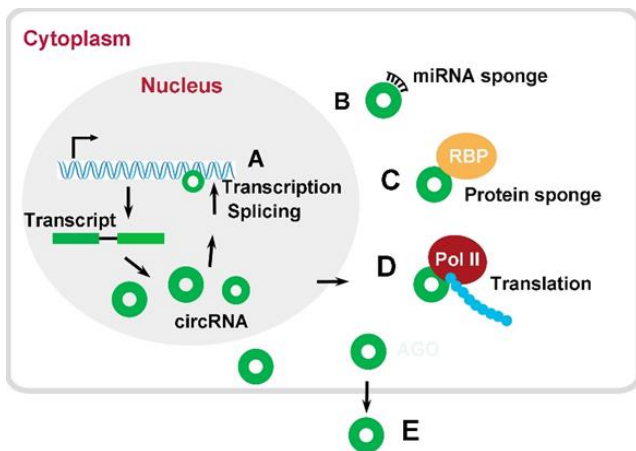


图 2 CircRNA 的功能

(A) 某些 circRNA 在细胞核中起作用, 调控源基因的表达或转录产物的剪接; (B) 细胞质中的 circRNA 与 miRNA 结合, 作为 miRNA 海绵解除 miRNA 对靶基因的抑制作用; (C) 某些 circRNA 被输送到细胞质中与 RNA 结合蛋白 (RBP) 结合, 作为蛋白质分子海绵起作用; (D) 某些 circRNA 可以翻译成蛋白质; (E) circRNA 被分泌到细胞外起作用。

Figure 2 The functions of circRNA

(A) A subset of circRNAs play a role in the nucleus, regulating the expression of cognate gene or splicing of transcript; (B) CircRNAs in the cytoplasm as miRNA sponges by binding with miRNA and thus relieving the inhibition of miRNA on downstream target genes; (C) Some circRNAs acts as a protein sponge in the cytoplasm by binding to RNA binding protein (RBP); (D) A few circRNAs can be translated into proteins; (E) Some circRNAs are secreted into extracellular matrix.

一些生物信息学工具对研究植物 circRNA 的鉴定、序列分析、功能和作用机理的实验研究具有重要的指导作用[24, 68, 69]。Plant-circBase 为汇集拟南芥、水稻、玉米、大麦和番茄等多种植物中鉴定的 circRNA 信息

的数据库 (<http://ibi.zju.edu.cn/plantcircbase>) [70]。其中 178 种 circRNA 的反向剪接位点和 70 种 circRNA 的全长序列已经得到实验验证。另外, 有 1861 种 circRNA 被预测作为 miRNA 海绵起作用, 1335 种 circRNA-miRNA-基因调控网络得以构建。另一个生物信息学工具 CircPlant (<http://bis.zju.edu.cn/circplant>) 可以从拟南芥和水稻高通量 RNA-Seq 数据库中准确和高效的分析出 circRNA 并预测其功能[71]。PlantCircNet (<http://bis.zju.edu.cn/plantcircnet/index.php>) 数据库涵盖了包括拟南芥、玉米、小麦和水稻在内的 8 种植物 circRNA-miRNA-基因调控网络分析[72]。这些资源可以为研究植物 circRNA 的功能和分子机制提供有效的帮助。

5 植物 circRNA 的生物学功能

5.1 CircRNA 调节植物开花等发育过程

目前已有多个植物 circRNA 的功能得到鉴定。通过在植物中过表达这些 circRNA, 对其生物学功能进行了研究[25, 73-75] (表 1)。如拟南芥 *SEP3* 基因第 6 个外显子形成的 circRNA (*SEP3* exon 6 circRNA) 参与花器官的发育[64]; 拟南芥 AT5G37720 的 circRNA 在叶片发育、开花时间和育性等过程中起作用[76]。番茄中的八氢番茄红素合酶 1 (PSY1) 和八氢番茄红素脱氢酶 (PDS) 是类胡萝卜素合成途径的两个关键酶。*PSY1* 和 *PDS* 基因转录产物通过反向剪接生成 circRNA *PSY1-circ1* 和 *PDS-circ1* [77]。过表达 *PSY1-circ1* 和 *PDS-circ1* 的番茄果实中其源基因的 mRNA 水平降低, 番茄红素和 β -胡萝卜素的含量均下降。

开花是高等植物由营养生长向生殖生长转换的关键环节, 受遗传因子和环境因素的协同调控。CircRNA 在植物开花转换过程中起调节作用。拟南芥 AT5G37720 基因第 1 个内含子环化形成的 circRNA 在花期调控、叶片发育和育性调控等过程中起关键作用。过表达该 circRNA 导致拟南芥花期延迟。RNA 测序数据显示, 过表达株系中包括开花整合基因 *FT* 在内的约 800 个基因的表达水平显著降低[76]。另外, Conn 等人根据拟南芥 circRNA Datasets 数据, 鉴定到了包括开花关键抑制基因 *FLC* 和 *FLM* (*Flowering Locus M*) 在内的多个 MADS-box 转录因子基因形成的 circRNA [64]。*FLM* 的 pre-mRNA 经可变剪接形成一对互斥剪接产物 *FLM- δ* 和 *FLM- β* , 参与环境温度调节的开花作用[78]。

FLM- δ 和 *FLM- β* 各自形成不同的 circRNA, 并且源自 *FLM- β* 的 circRNA 受低温 (16 °C) 诱导, 但 *FLM- δ* 和 *FLC* 转录产物形成的 circRNA 丰度不受环境温度影响

[64], 推测这些 circRNA 可能在开花时间的调节过程中起作用, 其生物学功能和分子机制有待研究。

表 1 植物中已经鉴定的 circRNAs 及其功能

Table 1 Identified circRNAs and their functions in plants

名称 Name	物种 Species	来源基因 Host gene	功能 Function	参考文献 Reference
circGORK	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Exons 2 and 3 of <i>GORK</i>	参与 ABA 信号途径调控的干旱胁迫;	[25]
Os05circ02465	<i>Oryza sativa</i>	Between the LOC_Os05g04950 and LOC_Os05g04960	参与水稻种子对盐胁迫的抗性;	[53]
Os06circ02797	<i>Oryza sativa</i>	Exon 3 and Intron 2 of LOC_Os06g04610	参与水稻幼苗的发育;	[53]
<i>SEP3</i> exon 6 circRNA SEP3 circRNA	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Exon 6 of <i>SEP3</i>	参与花器官的发育;	[64]
Vv-circATS1	<i>Vitis vinifera</i>	Exons 5-8 of <i>ATS1</i>	参与冷胁迫;	[74]
circR5g05160	<i>Oryza sativa</i>	LOC_Os05g05160 Chr5: 2512798j2514806	参与水稻对稻瘟病菌的抗性;	[75]
PSY1-circ1	<i>Solanum lycopersicum</i>	Exons 7-8 of <i>PSY1</i>	参与果实中番茄红素和 β -胡萝卜素的积累;	[77]
PDS-circ1	<i>Solanum lycopersicum</i>	Exons 6-9 of <i>PDS</i>	参与叶片与果实的发育和成熟;	[77]
AT5G37720 circRNA	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Intron 1 of AT5G37720	参与叶片发育、开花时间和育性;	[76]

5.2 CircRNA 参与植物对环境胁迫的响应

一些 circRNA 在植物应对环境胁迫过程中起作用 (表 1)。某些 circRNA 的表达受热胁迫诱导, 这些 circRNA 可能参与植物对高温胁迫的响应[79]。在番茄鉴定的 854 种 circRNA 中, 有 163 种 circRNA 的表达受低温诱导[80]。低温诱导葡萄中产生 475 种 circRNA, 其中将甘油-3-磷酸-乙酰转移酶 (ATS) 基因产生的 circRNA Vv-circATS1 定位于细胞核和细胞质中, 将 Vv-circATS1 过表达能显著提高拟南芥对低温胁迫的耐受性[74]。拟南芥过表达 circGORK (Guard cell outward-rectifying K^+ -channel) 提高了植株对逆境胁迫激素脱落酸的敏感性, 从而提高了植株对土壤干旱的耐受性[25]。CircR5g05160 是来自于水稻 *Os05g05160* 基因的一种 circRNA, 在水稻与稻瘟病的相互作用中起作用[75]。研究人员利用 CRISP/Cas9 基因编辑技术研究水稻 circRNA 的功能, 发现 *os05circ02465* 敲除株系在种子萌发阶段具有更强的耐盐性, 而 *os06circ02797* 敲低株系在幼苗期能够促进第一叶梢的发育[53]。对植物中 circRNA 的生物学功能及作用机理需要更深入的研究。

6 结论

CircRNA 一度被认为产生于生物体内的错误剪接。但近年来对 circRNA 的相关研究数量呈指数型增长, 加深了对于其作用机制和生物学功能的理解。由于植物和动物细胞中基因结构以及 circRNA 形成机制方面的差异, 制约植物 circRNA 生物学功能及作用机制方面的研究。因此, 尽管已经在植物鉴定到了数以万计的 circRNA, 但至今仅有少数 circRNA 的生物学功能和作用机制得到解析。Conn 等人通过表达 *SEP3* 的 circRNA 和其侧翼内含子序列, 在拟南芥中成功表达出了该 circRNA, 首次获得了表达植物 circRNA 的转基因植株, 发现了 *SEP3* circRNA 在调节花器官等发育过程中的功能[64]。最近, 利用 CRISPR-Cas9 基因组编辑技术成功敲除了水稻中来自于非编码区的 circRNA [53]。此外, 还可以利用碱基突变和 CRISPR/Cas9 基因编辑技术针对 circRNA 的生物发生位点进行定点突变, 影响剪接因子与侧翼内含子的结合位点的识别和结合, 从而抑制 circRNA 的产生[81-83]。以上技术的应用有助于推动植物 circRNA 的生物学功能及作用机制的研究。

特异的蛋白质在 circRNA 的生物发生和剪接过程中起重要作用。在人和动物中, RNA 结合蛋白 QKI 通过同源二聚化使 RNA 环化, 直接参与超过三分之一 circRNA 的形成[37-38]。CircRNA 由 pre-mRNA 通过反

向剪接产生, 一个含有两个或两个以上外显子的 pre-mRNA 可以通过可变剪接产生两个或多个 mRNA 和 circRNA (图 1), 二者之间呈负相关, 因此二者的丰度受到分子的调控, 但目前对这方面的机制了解较少。动物中剪接体组分 U2 的两个核心复合体 SF3a 和 SF3b 调节 circRNA 的形成和可变剪接[14, 35]。尽管已经在模式植物拟南芥等植物中鉴定到了多个 *QKI*、*SF3a* 和 *SF3b* 等同源基因, 但目前对这些基因在 circRNA 的形成和可变剪接中的作用及其生物学功能还有待深入研究。我们目前的实验结果显示拟南芥剪接因子 SF3b 复合体组分在植物开花转换过程中起调控作用, 并且影响多个开花相关基因的 circRNA 生物发生和可变剪接。

对来自于开花关键基因的 circRNA 进行深入研究, 将有助于人们对植物 circRNA 的生物发生和作用机制以及可变剪接等方面的了解。开花是高等植物由营养生长向生殖生长转换的关键环节, 受遗传因子和环境因素的协同调控, 植物延迟或提早开花都会影响果实和种子的产量。近几年对植物开花转换过程中关键基因的表达和转录产物可变剪接的调控机制取得多方面的突破性的进展。例如, 多种剪接因子通过对 *FLC* 和 *FLM* 等开花关键抑制基因 pre-mRNA 的可变剪接参与植物开花调控[84-85]; *FLM* 可变剪接产物 *FLM- δ* 和 *FLM- β* 以相反的方式在温度调节的开花中起作用[86]。CONN 等人发现 *FLC* 和 *FLM* 转录产物形成 circRNA 过程中均存在可变剪接[64]。并且与 *FLM- β* 一样, 产生自 *FLM- β* 的 circRNA 也受环境温度调节。推测来源于这些基因的 circRNA 及其可变剪接可能在开花调控过程中起重要作用。因此, 有必要利用第三代测序和单细胞测序技术鉴定开花转换时期茎尖等组织器官中特异表达的 circRNA 及其可变剪接事件, 利用荧光原位杂交和核质分离等方法检测这些 circRNA 的亚细胞定位, 利用 RNA pull down 和 AGO-IP 等技术筛选和鉴定与这些 circRNA 特异结合的蛋白质, 以及利用转基因技术过表达或沉默这些 circRNA 以了解其在开花调控等发育过程中的作用机制。

参考文献

- [1] MEMCZAK S., JENS M., ELEFSINIOTI A., TORTI F., KRUEGER J., RYBAK A., MAIER L., MACKOWIAK S D., GREGERSEN L H., MUNSCHAUER M., LOEWER A., ZIEBOLD U., LANDTHALER M., KOCKS C., LE NOBLE F., RAJEWSKY N. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. Nature, 2013, 495 (7441): 333-338.
- [2] YE C Y., CHEN L., LIU C., ZHU Q H, FAN L. Widespread noncoding circular RNAs in plants [J]. New Phytol, 2015, 208 (1): 88-95.
- [3] LAI X., BAZIN J., WEBB S., CRESPI M., ZUBIETA C, CONN S J. CircRNAs in plants [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1087: 329-343.
- [4] XIAO J. Circular RNAs biogenesis and functions: biogenesis and functions [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 13 (1426): 978-981.
- [5] XIAO M S., AI Y, WILUSZ J E. Biogenesis and functions of circular RNAs come into focus [J]. Trends Cell Biol, 2020, 30 (3): 226-240.
- [6] JECK W R., SORRENTINO J A., WANG K., SLEVIN M K., BURD C E., LIU J., MARZLUFF W F, SHARPLESS N E. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. RNA (New York, NY), 2013, 19 (2): 141-157.
- [7] CHEN L L., YANG L. Regulation of circRNA biogenesis [J]. RNA Biol, 2015, 12 (4): 381-388.
- [8] 高振., 骆萌., 王磊., 宋士任., 赵丽萍., 许文平., 张才喜., 王世平, 马超. 植物环状 RNA 研究进展 [J]. 园艺学报, 2019, 46 (1): 176-181.
- [9] KRISTENSEN L S., ANDERSEN M S., STAGSTED L V W., EBBESEN K K., HANSEN T B. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20 (11): 675-691.
- [10] EBBESEN K K., HANSEN T B., KJEMS J. Insights into circular RNA biology [J]. RNA Biol, 2017, 14 (8): 1035-1045.
- [11] CHEN L L. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs [J]. Nat Rev Mol Cell Bio, 2020, 21 (8): 475-490.
- [12] ZHANG Y., XUE W., LI X., ZHANG J., CHEN S., ZHANG J L., YANG L., CHEN L L. The biogenesis of nascent circular RNAs [J]. Cell Rep, 2016, 15 (3): 611-624.
- [13] LIANG D, WILUSZ J E. Short intronic repeat sequences facilitate circular RNA production [J]. Gene Dev, 2014, 28 (20): 2233-2247.
- [14] LIANG D., TATOMER D C., LUO Z., WU H., YANG L., CHEN L L., CHERRY S., WILUSZ J E. The output of protein-coding genes shifts to circular RNAs when the pre-mRNA processing machinery is limiting [J]. Mol Cell, 2017, 68 (5): 940-954. e943.
- [15] ZHANG X O., DONG R., ZHANG Y., ZHANG J L., LUO Z., ZHANG J., CHEN L L., YANG L. Diverse alternative back-splicing and alternative splicing landscape of circular RNAs [J]. Genome Res, 2016, 26 (9): 1277-1287.

- [16] ZHANG Z., WANG H., WANG Y., XI F., WANG H., KOHNEN M V., GAO P., WEI W., CHEN K., LIU X., GAO Y., HAN X., HU K., ZHANG H., ZHU Q., ZHENG Y., LIU B., AHMAD A., HSU Y H., JACOBSEN S E., GU L. Whole-genome characterization of chronological age-associated changes in methylome and circular RNAs in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) from vegetative to floral growth [J]. Plant J, 2021, 106 (2): 435-453.
- [17] LU T., CUI L., ZHOU Y., ZHU C., FAN D., GONG H., ZHAO Q., ZHOU C., ZHAO Y., LU D., LUO J., WANG Y., TIAN Q., FENG Q., HUANG T., HAN B. Transcriptome-wide investigation of circular RNAs in rice [J]. RNA (New York, NY), 2015, 21 (12): 2076-2087.
- [18] SUN X., WANG L., DING J., WANG Y., WANG J., ZHANG X., CHE Y., LIU Z., ZHANG X., YE J., WANG J., SABLOK G., DENG Z., ZHAO H. Integrative analysis of *Arabidopsis thaliana* transcriptomics reveals intuitive splicing mechanism for circular RNA [J]. FEBS Lett, 2016, 590 (20): 3510-3516.
- [19] DARBANI B., NOEPARVAR S., BORG S. Identification of circular RNAs from the parental genes involved in multiple aspects of cellular metabolism in barley [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 776.
- [20] CHEN G., CUI J., WANG L., ZHU Y., LU Z., JIN B. Genome-wide identification of circular RNAs in *Arabidopsis thaliana* [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 776.
- [21] ZHANG X., ZHANG Y., WANG T., LI Z., CHENG J., GE H., TANG Q., CHEN K., LIU L., LU C. A comprehensive map of intron branchpoints and lariat RNAs in plants [J]. Plant Cell, 2019, 31 (5): 956-973.
- [22] 尹军良., 马东方., 刘乐承., 夏雨晨., 朱永兴. 环状 RNA 的生物特征及其在植物中的研究进展 [J]. 西北植物学报, 2017, 37 (12): 2510-2518.
- [23] 岳慧芳., 任永哲., 王志强., 辛泽毓., 林同保. circRNAs 在植物中的研究进展 [J]. 西北植物学报, 2018, 38 (2): 386-392.
- [24] WANG Y., XIONG Z., LI Q., SUN Y., JIN J., CHEN H., ZOU Y., HUANG X., DING Y. Circular RNA profiling of the rice photo-thermosensitive genic male sterile line Wuxiang S reveals circRNA involved in the fertility transition [J]. BMC Plant Biol, 2019, 19 (1): 340.
- [25] ZHANG P., FAN Y., SUN X., CHEN L., TERZAGHI W., BUCHER E. A large-scale circular RNA profiling reveals universal molecular mechanisms responsive to drought stress in maize and *Arabidopsis* [J]. Plant J, 2019, 98 (4): 697-713.
- [26] MA P., GAO S., ZHANG H Y., LI B Y., ZHONG H X., WANG Y K., HU H M., ZHANG H K., LUO B W., ZHANG X., LIU D., WU L., GAO D J., GAO S Q., ZHANG S Z., GAO S B. Identification and characterization of circRNAs in maize seedlings under deficient nitrogen [J]. Plant Biology, 2021, 23 (5): 850-860.
- [27] PHILIPS A., NOWIS K., STELMASZCZUK M., PODKOWIŃSKI J., HANDSCHUH L. *Arabidopsis thaliana* *cbp80*, *c2h2*, and *flk* knockout mutants accumulate increased amounts of circular RNAs [J]. Cells, 2020, 9 (9): 1937.
- [28] CHU Q., BAI P., ZHU X., ZHANG X., MAO L., ZHU Q H., FAN L., YE C Y. Characteristics of plant circular RNAs [J]. Brief Bioinform, 2018, 1 (21): 135-143.
- [29] MATERA A G., WANG Z. A day in the life of the spliceosome [J]. Nat Rev Mol Cell Bio, 2014, 15 (2): 108-121.
- [30] SHI Y. Mechanistic insights into precursor messenger RNA splicing by the spliceosome [J]. Nat Rev Mol Cell Bio, 2017, 18 (11): 655-670.
- [31] KONCZ C., DEJONG F., VILLACORTA N., SZAKONYI D., KONCZ Z. The spliceosome-activating complex: molecular mechanisms underlying the function of a pleiotropic regulator [J]. Front Plant Sci, 2012, 3: 9.
- [32] HOUSELEY J M., GARCIA-CASADO Z., PASCUAL M., PARICIO N., O'DELL K M., MONCKTON D G., ARTERO R D. Noncanonical RNAs from transcripts of the *Drosophila muscleblind* gene [J]. J Hered, 2006, 97 (3): 253-260.
- [33] VICENTE-CRESPO M., PASCUAL M., FERNANDEZ-COSTA J M., GARCIA-LOPEZ A., MONFERRER L., MIRANDA M E., ZHOU L., ARTERO R D. *Drosophila muscleblind* is involved in troponin T alternative splicing and apoptosis [J]. Plos One, 2008, 3 (2): e1613.
- [34] ASHWAL-FLUSS R., MEYER M., PAMUDURTI N R., IVANOV A., BARTOK O., HANAN M., EVANTAL N., MEMCZAK S., RAJEWSKY N., KADENER S. CircRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing [J]. Mol Cell, 2014, 56 (1): 55-66.
- [35] HAN X., LIN Y., GAO X Q., WANG X L. Non-canonical functions of splicing factors in RNA metabolism [J]. Crit Rev Plant Sci, 2020, 39 (6): 493-513.
- [36] DE MIGUEL F J., PAJARES M J., MART NEZ-TERROBA E., AJONA D., MORALES X., SHARMA R D., PARDO F J., ROUZAUT A., RUBIO A., MONTUENGA L M., PIO R. A large-scale analysis of alternative splicing reveals a key role of QKI in lung cancer [J]. Mol Oncol, 2016, 10 (9): 1437-1449.
- [37] HALL M P., NAGEL R J., FAGG W S., SHIUE L., CLINE M S., PERRIMAN R J., DONOHUE J P., ARES M, JR. Quaking and PTB control overlapping splicing regulatory networks during muscle cell differentiation [J]. RNA (New York, NY), 2013, 19 (5): 627-638.

- [38] CONN S J., PILLMAN K A., TOUBIA J., CONN V M., SALMANIDIS M., PHILLIPS C A., ROSLAN S., SCHREIBER A W., GREGORY P A., GOODALL G J. The RNA binding protein Quaking regulates formation of circRNAs [J]. *Cell*, 2015, 160 (6): 1125-1134.
- [39] NASIRI-AGHDAM M., GARCIA-GARDU O T C. CELF family proteins in cancer: Highlights on the RNA-binding protein/noncoding RNA regulatory Axis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (20): 11056.
- [40] YE C Y., ZHANG X., CHU Q., LIU C., YU Y., JIANG W., ZHU Q H., FAN L., GUO L. Full-length sequence assembly reveals circular RNAs with diverse non-GT/AG splicing signals in rice [J]. *RNA Biol*, 2017, 14 (8): 1055-1063.
- [41] WANG H., WANG H., ZHANG H., LIU S., WANG Y., GAO Y., XI F., ZHAO L., LIU B., REDDY A S N., LIN C., GU L. The interplay between microRNA and alternative splicing of linear and circular RNAs in eleven plant species [J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2019, 35 (17): 3119-3126.
- [42] LAUBINGER S., SACHSENBERG T., ZELLER G., BUSCH W., LOHMANN J U., R TSCH G., WEIGEL D. Dual roles of the nuclear cap-binding complex and SERRATE in pre-mRNA splicing and microRNA processing in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105 (25): 8795-8800.
- [43] RACZYNSKA K D., SIMPSON C G., CIESIOLKA A., SZEWC L., LEWANDOWSKA D., MCNICOL J., SZWEYKOWSKA-KULINSKA Z., BROWN J W., JARMOLOWSKI A. Involvement of the nuclear cap-binding protein complex in alternative splicing in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38 (1): 265-278.
- [44] KUHN J M., BRETON G., SCHROEDER J I. mRNA metabolism of flowering-time regulators in wild-type *Arabidopsis* revealed by a nuclear cap binding protein mutant, *abh1* [J]. *Plant J*, 2007, 50 (6): 1049-1062.
- [45] KANNO T., VENHUIZEN P. A collection of pre-mRNA splicing mutants in *Arabidopsis thaliana* [J]. *G3 (Bethesda)*, 2020, 10 (6): 1983-1996.
- [46] PIECZYNSKI M., KRUSZKA K., BIELEWICZ D., DOLATA J., SZCZESNIAK M., KARLOWSKI W., JARMOLOWSKI A., SZWEYKOWSKA-KULINSKA Z. A role of *u12* intron in proper pre-mRNA splicing of plant cap binding protein 20 genes [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 475.
- [47] BEN CHAABANE S., LIU R., CHINNUSAMY V., KWON Y., PARK J H., KIM S Y., ZHU J K., YANG S W., LEE B H. STA1, an *Arabidopsis* pre-mRNA processing factor 6 homolog, is a new player involved in miRNA biogenesis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41 (3): 1984-1997.
- [48] KONG X., MA L., YANG L., CHEN Q., XIANG N., YANG Y., HU X. Quantitative proteomics analysis reveals that the nuclear cap-binding complex proteins *Arabidopsis* CBP20 and CBP80 modulate the salt stress response [J]. *J Proteome Res*, 2014, 13 (5): 2495-2510.
- [49] LI Z., HUANG C., BAO C., CHEN L., LIN M., WANG X., ZHONG G., YU B., HU W., DAI L., ZHU P., CHANG Z., WU Q., ZHAO Y., JIA Y., XU P., LIU H., SHAN G. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22 (3): 256-264.
- [50] HUANG A., ZHENG H., WU Z., CHEN M., HUANG Y. Circular RNA-protein interactions: Functions, mechanisms, and identification [J]. *Theranostics*, 2020, 10 (8): 3503-3517.
- [51] LIU X., GAO Y., LIAO J., MIAO M., CHEN K., XI F., WEI W., WANG H., WANG Y., XU X., REDDY A S N., GU L. Genome-wide profiling of circular RNAs, alternative splicing, and R-loops in stem-differentiating xylem of *Populus trichocarpa* [J]. *J Integr Plant Biol*, 2021, 63 (7): 1294-1308.
- [52] HANSEN T B., JENSEN T I., CLAUSEN B H., BRAMSEN J B., FINSEN B., DAMGAARD C K., KJEMS J. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495 (7441): 384-388.
- [53] ZHOU J., YUAN M., ZHAO Y., QUAN Q., YU D., YANG H., TANG X., XIN X., CAI G., QIAN Q. Efficient deletion of multiple circle RNA loci by CRISPR-Cas9 reveals *Os06circ02797* as a putative sponge for OsMIR408 in rice [J]. *Plant Biotechnology J*, 2021, 19 (6): 1240-1252.
- [54] XU H., CHEN B., ZHAO Y., GUO Y., LIU G. Non-coding RNA analyses of seasonal cambium activity in *Populus tomentosa* [J]. *Cells*, 2022, 11 (4): 640.
- [55] ZHANG K., PAN X., YANG Y., SHEN H B. CRIP: predicting circRNA-RBP interaction sites using a codon-based encoding and hybrid deep neural networks [J]. *RNA (New York, NY)*, 2019, 25 (12): 1604-1615.
- [56] MORLANDO M., STHANDIER O., ANDRONACHE A., BOZZONI I., LEGNINI I., TIMOTEO G D., FATICA A., WADE M., LANEVE P., ROSSI F. Circ-znf609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis [J]. *Mol Cell*, 2013, 66 (1): 22-37.
- [57] PAMUDURTI N R., BARTOK O., JENS M., ASHWAL-FLUSS R., STOTTMEISTER C., RUHE L., HANAN M., WYLER E., PEREZ-HERNANDEZ D., RAMBERGER E., SHENZIS S., SAMSON M., DITTMAR G., LANDTHALER M., CHEKULAEVA M., RAJEWSKY N., KADENER S. Translation of circRNAs [J]. *Mol Cell*, 2017, 66 (1): 22-37.

- [58] BARTSCH D., ZIRKEL A., KURIAN L. Characterization of circular RNAs (circRNA) associated with the translation machinery [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1724: 159-166.
- [59] YANG Y., GAO X., ZHANG M., YAN S., SUN C., XIAO F., HUANG N., YANG X., ZHAO K., ZHOU H., HUANG S., XIE B., ZHANG N. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110 (3): 304-315.
- [60] SHI Y., JIA X., XU J. The new function of circRNA: translation [J]. *Clin Transl Oncol*, 2020, 22 (12): 2162-2169.
- [61] YANG Y., FAN X., MAO M., SONG X., WU P., ZHANG Y., JIN Y., YANG Y., CHEN L L., WANG Y., WONG C C., XIAO X., WANG Z. Extensive translation of circular RNAs driven by N (6)-methyladenosine [J]. *Cell Res*, 2017, 27 (5): 626-641.
- [62] SEIMIYA T., OTSUKA M., IWATA T., SHIBATA C., TANAKA E., SUZUKI T., KOIKE K. Emerging roles of exosomal circular RNAs in Cancer [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 568366.
- [63] 骆甲, 王型力, 孙志超, 吴迪, 张玮, 王正加. 植物环状RNA 研究进展 [J]. *遗传*, 2018, 40 (6): 467-477.
- [64] CONN V M., HUGOUIVIEUX V., NAYAK A., CONOS S A., CAPOVILLA G., CILDIR G., JOURDAIN A., TERGAONKAR V., SCHMID M. A circRNA from *SEPALLATA3* regulates splicing of its cognate mRNA through R-loop formation [J]. *Nat plants*, 2017, 3: 17053.
- [65] LI Z., WANG S., CHENG J., SU C., ZHONG S., LIU Q., FANG Y., YU Y., LV H., ZHENG Y., ZHENG B. Intron lariat RNA inhibits microRNA biogenesis by sequestering the dicing complex in *Arabidopsis* [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12 (11): e1006422.
- [66] FRYDRYCH CAPELARI É., DA FONSECA G C., GUZMAN F., MARGIS R. Circular and micro RNAs from *Arabidopsis thaliana* flowers are simultaneously isolated from AGO-IP libraries [J]. *Plants*, 2019, 8 (9): 302.
- [67] ZAND KARIMI H., BALDRICH P., RUTTER B D., BORNIEGO L., ZAJT K K., MEYERS B C., INNES R W. *Arabidopsis apoplast* fluid contains sRNA- and circular RNA-protein complexes that are located outside extracellular vesicles [J]. *Plant Cell*, 2022, 34 (5): 1863-1881.
- [68] 陈力. 植物非编码环化RNA 的鉴定与分析 [D]. 浙江大学, 2016.
- [69] ZHANG K., PAN X., YANG Y., SHEN H B. CRIP: predicting circRNA-RBP-binding sites using a codon-based encoding and hybrid deep neural networks [J]. *RNA (New York, NY)*, 2019, 25 (12): 1604-1615.
- [70] CHU Q., ZHANG X., ZHU X., LIU C., MAO L., YE C., ZHU Q H., FAN L. PlantcircBase: A database for plant circular RNAs [J]. *Mol Plant*, 2017, 10 (8): 1126-1128.
- [71] ZHANG P., LIU Y., CHEN H., MENG X., XUE J., CHEN K, CHEN M. CircPlant: An integrated tool for circRNA detection and functional prediction in plants [J]. *Genom Proteom Bioinf*, 2020, 18 (3): 352-358.
- [72] ZHANG P., MENG X., CHEN H., LIU Y., XUE J., ZHOU Y., CHEN M. PlantCircNet: a database for plant circRNA-miRNA-mRNA regulatory networks [J]. *Database (Oxford)*, 2017.
- [73] LIU D., CONN V., GOODALL G J, CONN S J. A highly efficient strategy for overexpressing circRNAs [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1724: 97-105.
- [74] GAO Z., LI J., LUO M., LI H., CHEN Q., WANG L., SONG S., ZHAO L., XU W., ZHANG C., WANG S, MA C. Characterization and cloning of grape circular RNAs identified the cold resistance-related Vv-circATS1 [J]. *Plant Physiol*, 2019, 180 (2): 966-985.
- [75] FAN J., QUAN W., LI G B., HU X H., WANG Q., WANG H., LI X P., LUO X., FENG Q., HU Z J. CircRNAs are involved in the rice-*Magnaporthe oryzae* interaction [J]. *Plant Physiol*, 2020, 182 (1): 272-286.
- [76] CHENG J., ZHANG Y., LI Z., WANG T., ZHANG X., ZHENG B. A lariat-derived circular RNA is required for plant development in *Arabidopsis* [J]. *Sci China Life Sci*, 2017, 61 (2): 204-213.
- [77] TAN J., ZHOU Z., NIU Y., SUN X, DENG Z. Identification and functional characterization of tomato circRNAs derived from genes involved in fruit pigment accumulation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 8594.
- [78] 刘娟., 黎黎., 陆柄辰., 邓朴., 艾辛. 温度调控植物开花研究进展 [J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26 (3): 713-721.
- [79] PAN T., SUN X., LIU Y., LI H., DENG G., LIN H., WANG S. Heat stress alters genome-wide profiles of circular RNAs in *Arabidopsis* [J]. *Plant Mol Biol*, 2018, 96 (3): 217-229.
- [80] ZUO J., WANG Q., ZHU B., LUO Y, GAO L. Deciphering the roles of circRNAs on chilling injury in tomato [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 479 (2): 132-138.
- [81] GAO X., MA X K., LI X., LI G W., LIU C X., ZHANG J., WANG Y., WEI J., CHEN J., CHEN L L., YANG L. Knockout of circRNAs by base editing back-splice sites of circularized exons [J]. *Genome Biol*, 2022, 23 (1): 16.
- [82] LIU R., MA Y., GUO T, LI G. Identification, biogenesis, function, and mechanism of action of circular RNAs in plants [J]. *Plant Commun*, 2022, 100430.

- [83] ZHANG P, DAI M. CircRNA: a rising star in plant biology [J]. Genet Genomics, 2022, 49 (12): 1081-1092.
- [84] XIONG F., REN J J., YU Q., WANG Y Y., LU C C., KONG L J., OTEGUI M S., WANG X L. AtU2AF65b functions in abscisic acid mediated flowering via regulating the precursor messenger RNA splicing of *ABI5* and *FLC* in *Arabidopsis* [J]. New Phytol. 2019, 223 (1): 277-292.
- [85] QI H D., LIN Y., REN Q P., WANG Y Y., XIONG F., WANG X L. RNA splicing of *FLC* modulates the transition to flowering [J]. Front Plant Sci, 2019, 10: 1625.
- [86] JIN S., KIM S Y., SUSILA H., NASIM Z., YOUN G, AHN J H. FLOWERING LOCUS M isoforms differentially affect the subcellular localization and stability of SHORT VEGETATIVE PHASE to regulate temperature-responsive flowering in *Arabidopsis* [J]. Mol Plant, 2022, 15 (11): 1696-1709.