

УДК 57.052

doi: 10.31360/2225-3068-2020-72-93-98

**КОЛЬЦЕВЫЕ РНК РАСТЕНИЙ –  
НОВЫЙ УРОВЕНЬ ПОСТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ  
(миниобзор)**

**Самарина Л. С.<sup>1</sup>, Маляровская В. И.<sup>1</sup>, Чаолинг Вэй<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное научное учреждение  
"Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур",  
г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса 2/28, Россия

<sup>2</sup> Аньхойский сельскохозяйственный университет  
Федеральная ключевая лаборатория биологии и переработки чая,  
г. Хефэй, Китай  
e-mail: weichl@ahau.edu.cn

В последнее время в селекции растений активно развивается направление функциональной геномики (изучение регуляции экспрессии генов, лежащих в основе хозяйственно-ценных признаков). В этой области в недавние годы было показано, что различные РНК, в том числе микроРНК играют важную роль, активируя или ингибируя экспрессию генов роста и развития растений, генов ответа на факторы среды. Совсем недавно было выявлено, что новый класс молекул РНК, кольцевые РНК, образуемые из матричной РНК в результате бэксплайсинга, обладают регуляторными функциями. Они взаимодействуют с микроРНК, а также с матричной РНК, влияя на уровень экспрессии генов роста, развития, ответа на абиотические и биотические стрессы. В представленном миниобзоре проведён анализ последних данных о результатах исследований кольцевых РНК и их роли у растений.

**Ключевые слова:** кольцевые РНК, транскрипция, бэксплайсинг, регуляция экспрессии генов, абиотический стресс.

Кольцевые РНК (circRNAs) новая форма некодирующих молекул РНК, найденная у многих организмов прокариот и эукариот, и с недавнего времени рассматриваются как новый уровень посттранскрипционной регуляции клетки. В отличие от традиционных

линейных РНК кольцевые РНК представляют собой особые молекулы размером от 100 до 4 000 нуклеотидов, которые в основном большинстве образуются в результате бэксплайсинга [20]. Благодаря недавнему развитию технологий высокоэффективного секвенирования, экзонуклеазных стратегий и новых инструментов биоинформатики были выявлены многочисленные кольцевые РНК у эукариот, которые вовлечены в регуляцию генов.

Исследования кольцевых РНК показывают, что они могут образовываться из экзонов (EcircRNA), интронов (IcircRNA) и совместных участков, и характер их экспрессии обычно специфичен клетке, ткани, стадии развития. Кольцевые РНК более стабильны, чем обычные линейные РНК, и вовлечены в биологические процессы в растениях своим независимым путём [2]. Многие исследования в настоящее время посвящены изучению взаимодействий между кольцевыми РНК, микроРНК и матричной РНК и было показано, что кольцевые РНК могут выступать в роль «губки» для микроРНК, нейтрализуя их. Некоторые исследования показывают, что кольцевые РНК путём взаимодействия с микроРНК регулируют экспрессию генов на уровне транскрипции и/или посттранскрипционном уровне [2].

Поиск кольцевых РНК растений, как правило, состоит из трёх этапов:

1. Предсказание кольцевых РНК методами биоинформатики. При этом берутся сиквенсы RNAseq и анализируются специальными программами, которые выдают предполагаемые кольцевые РНК из этих сиквенсов.

2. Подбор праймеров к предполагаемым (предсказанным) кольцевым РНК и их подтверждение (валидация) методами RT-qPCR и Northern-blotting [15]. После такой валидации многие предполагаемые кольцевые РНК отсеиваются.

3. Функциональная аннотация – изучение роли дифференциально-экспрессирующихся кольцевых РНК в различных процессах жизнедеятельности растения.

Для предсказания кольцевых РНК из сиквенсов RNA-seq у растений было разработано несколько биоинформатических инструментов. RcircRNA\_finder – программа которая была специально разработана для растительных кольцевых РНК и обеспечивает полный, чувствительный и точный метод предсказания кольцевых РНК растений [1]. Hansen et al. (2016) сравнивал различные инструменты предсказания кольцевых РНК [6]. Эти авторы показали, что разные инструменты дают очень разные результаты и много ложноположительных результатов; однако, сопоставление результатов нескольких программ может существенно помочь снизить количество ложноположительных фракций [6]. Zeng

et al. (2017) также изучал различные инструменты с использованием разных баз данных. В результате этих работ было выявлено, что такие инструменты как CIRI, CIRCexplorer и KNIFE обеспечивают наиболее оптимальный баланс между точностью и чувствительностью [19].

Для кольцевых РНК растений была создана база данных PlantcircBase1, в которой размещены все найденные кольцевые РНК. В настоящее время в неё загружено более 95 143 кольцевых РНК из 12 видов растений [2].

Кольцевые РНК животных более изучены, чем кольцевые РНК растений. У животных были показаны их роли «губки» микроРНК [5, 13]; участие в усилении транскрипции гена-хозяина [21, 11]; переносе информации от клетки к клетке [9]; участие в трансляции [10, 14, 18]; а также роль в качестве механизма клеточной памяти [3]. Хотя кольцевые РНК ранее относились к некодирующим молекулам РНК, некоторые последние исследования на животных свидетельствуют о том, что некоторые эндогенные кольцевые РНК животных кодируют белки [10, 14, 18]. У растений этот вопрос не изучался и в целом очень мало известно о регуляции и функциях кольцевых РНК в растениях [24].

Многие исследования, проведённые в последнее десятилетие, показали, что микроРНК играют очень важную роль в регуляции генов ответа на различные стрессы растений [7, 12, 22, 23]. Поэтому если кольцевые РНК взаимодействуют с микроРНК, нейтрализуя их, то они могут опосредованно влиять на работу генов. Трансгенные подходы помогли подтвердить тот факт, что кольцевые РНК могут действовать как отрицательные и положительные регуляторы работы своих родительских генов. В недавних исследованиях Cheng et al. (2017) сообщали, что гиперэкспрессия кольцевых РНК, образованных из первого интрона гена AT5G37720, влияет на экспрессию более 800 генов роста и развития арабидопсиса [2]. По всем организмам имеется большой недостаток понимания возможных взаимосвязей между кольцевыми РНК и микроРНК, в частности потому, что кольцевые РНК предположительно играют конкурирующую роль, функционируя как «губки» для микроРНК [16].

Как ранее упоминалось, кольцевые РНК проявляют видоспецифичный характер экспрессии, а также специфичны для разных клеток, тканей и органов растений и стадии их онтогенеза. У риса, арабидопсиса, чая, томата, огурца, винограда большинство выявленных кольцевых РНК были экзонного происхождения [24]. Однако у киви 51 % и у пшеницы 60,2 % кольцевых РНК смешанного экзон-интронного происхождения. У сои большинство кольцевых РНК (в листьях, корнях, побегах) были интронного происхождения, но было показано, что они более интронные в корнях, но более экзонные в побегах [4, 17]. Низкая доля экзонных кольцевых РНК у пшеницы возможно связана с огромным размером

генома, который содержит сравнительно низкое количество генов, а большее количество интронных кольцевых РНК у сои может быть связано с тем, что в её геноме содержится множество копий генов. Исследования у огурца также показали, что количество кольцевых РНК коррелирует с длиной хромосом [24].

По поводу накопления кольцевых РНК было показано что они могут играть важную роль в различных биологических процессах, таких, как связывание микроРНК, связывание белков, регуляция транскрипции [1]. Возрастающее количество исследований позволяют предположить, что кольцевые РНК играют важную роль в регуляции ответа на абиотические и биотические стрессы. У риса 27 экзонных кольцевых РНК дифференциально экспрессировались в условиях дефицита фосфата. Также у риса показано, что много кольцевых РНК вовлечены в холодовой ответ [25]. Похожим образом у киви и картофеля были найдены специфические кольцевые РНК ответа на засуху и фитопатогены. У арабидопсиса выявлено, что высокие температуры индуцируют образование большего количества кольцевых РНК и они влияют на экспрессию генов. Кроме того, кольцевые РНК также могут быть потенциальными биомаркерами, так как характер их экспрессии высокоспецифичен для разных организмов, а также маркерами устойчивости к засухе, заморозкам, биотическим стрессам, благодаря своей стабильности, и высокой специфичности детекции [8].

Из имеющихся в литературе данных можно заключить, что молекулярная основа биогенеза кольцевых РНК в растениях достаточно сложна, и необходимы детальные исследования механизмов, лежащих в основе регуляторной роли кольцевых РНК в ответах на абиотический и биотический стрессы.

#### Библиографический список

1. Chen L.L. The biogenesis and emerging roles of circular RNAs. *Nat. Rev. // Mol. Cell Biol.* – 2016. – № 17. – P. 205-211. – doi: 10.1038/nrm.2015.32.
2. Chu Q., Shen E., Ye C., Fan L., Zhu Q. Emerging roles of plant circular RNAs // *Journal of Plant Cell Development.* – 2018. – Vol. 1. – № 1. – P. 1-14.
3. Fischer JW, Leung AK CircRNAs: a regulator of cellular stress // *Critical reviews in biochemistry and molecular biology.* – 2017. – № 52. – P. 220-233.
4. 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 // *Plant Physiology.* – 2019. – Vol. 180. – № 2. – P. 966-985. – doi:10.1104/pp.18.01331.
5. Hansen T.B., Jensen T.I., Clausen B.H., Bramsen J.B., Finsen B., Damgaard C.K. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges // *Nature.* – 2013. – № 495. – P. 384-388. – doi:10.1038/nature11993.
6. Hansen T.B., Venø M.T., Damgaard C.K., and Kjems J. Comparison of circular RNA prediction tools // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – Vol. 44. – № 6:e58. – doi: 10.1093/nar/gkv1458.

7. Jeyaraj A., Liu S., Zhang X., Zhang R., Shangguan M., Wei C. Genome-wide identification of microRNAs responsive to *Ectropis oblique* feeding in tea plant (*Camellia sinensis* L.) // *Sci Rep.* – 2017. – 7:13634. – doi.org/10.1038/s41598-017-13692-7.
8. Lai X., Bazin J., Webb S., Crespi M., Zubieta C. and Conn, S.J., ed. J. Xiao (Singapore: Springer), *CircRNAs in plants*. In: *Circular RNAs // Advances in Experimental Medicine and Biology.* – 2018. – Vol. 1087. – P. 370.
9. Lasda E., Parker R. Circular RNAs Co-Precipitate with Extracellular Vesicles: A Possible Mechanism for circRNA Clearance // *PLoS ONE.* – 2016. – 11(2): e0148407. – doi.org/10.1371/journal.pone.0148407.
10. Legnini I., Di Timoteo G., Rossi F., Morlando M., Briganti F., Sthandier O., Fatica A., Santini T., Andronache A., Wade M., Laneve P., Rajewsky N., Bozzoni I. Circ-ZNF609 Is a Circular RNA that Can Be Translated and Functions in Myogenesis // *Molecular Cell.* – 2017. – № 66. – P. 22-37.
11. Li Z., Huang C., Bao C., Chen L., Lin M., Wang X., et al. (2015). Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – Vol. 22. – P. 256-264. – doi: 10.1038/nsmb.2959.
12. Liu S.C., Xu Y.X., Ma J.Q., Wang W.W., Chen W., Huang D.J., Fang J., Li X.J., Chen L. (2016) Small RNA and degradome profiling reveals important roles for microRNAs and their targets in tea plant response to drought stress // *Physiol Plant.* – Vol. 158(4). – P. 435-451.
13. Memczak S., Jens M., Elefsinioti A., Torti F., Krueger J., Rybak A., et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency // *Nature.* – 2013. – № 495. – P. 333-338. – doi: 10.1038/nature11928.
14. Pamudurti N.R., Bartok O., Jens M., Ashwal-Fluss R., Stottmeister C., Ruhe L., Hanan M., Wyler E., Perez-Hernandez D., Ramberger E., Sheniz S., Samson M., Dittmar G., Landthaler M., Chekulaeva M., Rajewsky N., Kadener S. Translation of CircRNAs // *Molecular cell.* – 2017. – Vol. 66. – № 1. – P. 22-37.e9. – doi: 10.1016/j.molcel.2017.02.017.
15. Schneider T., Schreiner S., Preußner C., Bindereif A., Rossbach O. Northern Blot Analysis of Circular RNAs. In: Dieterich C. and Papantonis A. (eds.) *Circular RNAs: Methods and Protocols // Methods in Molecular Biology*, 2018. – Vol. 1724. – Springer. – doi.org/10.1007/978-1-4939-7562-4\_10.
16. Tong W., Yu J., Hou Y., Li F., Zhou Q., Wei Ch., Bennetzen J.L. Circular RNA architecture and differentiation during leaf bud to young leaf development in tea (*Camellia sinensis*) // *Planta.* – 2018. – Vol. 248. – № 6. – P. 1417-1429. – doi.org/10.1007/s00425-018-2983-x.
17. Wang Z., Liu Y., Li D., Li L., Zhang, Q., Wang S., et al. Identification of circular RNAs in kiwifruit and their species-specific response to bacterial canker pathogen invasion // *Front Plant Sci.* – 2017. – № 8. – P. 413. – doi: 10.3389/fpls.2017.00413.
18. Yang Y., Fan X.J., Mao M.W., Song X.W., Wu P., Zhang Y., Jin Y.F., Yang Y., Chen L.L., Wang Y., Wong C.C.L., Xiao X.S., Wang Z.F. Extensive translation of circular RNAs driven by N<sup>6</sup>-methyladenosine // *Cell Research.* – 2017. – № 27. – P. 626-641.
19. Zeng X., Lin W., Guo M., and Zou Q. A comprehensive overview and evaluation of circular RNA detection tools // *PLoS Comput. Biol.* – 2017. – 13:e1005420. – doi: 10.1371/journal.pcbi.1005420.
20. Zhao W., Chu S. and Jiao Y. Present Scenario of Circular RNAs (circRNAs) in Plants // *Front. Plant Sci.* – 2019. – № 10. – P. 379. – doi: 10.3389/fpls.2019.00379.
21. Zhang Y., Zhang X.O., Chen T., Xiang J.F., Yin Q.F., Xing Y.H., Zhu S., Yang L., and Chen L.L. Circular intronic long noncoding RNAs // *Mol Cell* – 2013. – Vol. 51. – № 6. – P. 792-806. – doi: 10.1016/j.molcel.2013.08.017.
22. Zhang X.O., Wang H.B., Zhang Y., Lu X., Chen L.L., Yang L. Complementary sequence-mediated exon circularization // *Cell.* – 2014. – Vol. 159. – № 1. – P. 134-147. – doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.001.

23. Zhu Q., Luo Y. Identification of miRNAs and their targets in tea (*Camellia sinensis*) // J. Zhejiang Univ Sci B. – 2013. – Vol. 14.– № 10. – P. 916-923. – doi: 10.1631/jzus. B1300006.
24. Zhu Y., Jia J., Yang L., Xia Y., Zhang H., Jia J., Zhou R., Nie P., Yin J., Ma D., Liu L. Identification of cucumber circular RNAs responsive to salt stress. BMC // Plant Biology. – 2019. – Vol. 19. – P. 164. – doi.org/10.1186/s12870-019-1712-3.
25. Zuo J., Wang Q., Zhu B., Luo Y., Gao L. Deciphering the roles of circRNAs on chilling injury in tomato // Biochem Biophys Res Commun. – 2016. –Vol. 479(2). – P. 132-138. – doi.org/10.1016/j. brc.2016.07.032.

**CIRCULAR RNAS IN PLANTS –  
THE NEW LEVEL OF POSTTRANSCRIPTIONAL REGULATION  
(minireview)**

**Samarina L. S.<sup>1</sup>, Malyarovskaya V. I.<sup>1</sup>, Wei Chaoling<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Federal Governmental Budgetary Scientific Institution  
“Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops”,  
Sochi, Russia*

<sup>2</sup> *State Key Laboratory of Tea Plant Biology  
and Utilization Anhui Agricultural University,  
Hefei, China*

*e-mail: weichl@ahau.edu.cn*

Lately, functional genomics (which studies the regulation in expression of genes fundamental for economically valuable traits) has been actively developed in plant breeding research. In recent years, it has been shown that various RNAs, including miRNAs, play an important role in genes regulation by activating or inhibiting the expression of plant growth and development genes, as well as environmental response genes. Then, quite recently, it was shown that a new class of RNA molecules - circular RNAs, which are formed from mRNA as a result of back-splicing, have regulatory functions interacting with miRNA, as well as with mRNA, affecting positively or negatively the expression level of growth genes, development genes and abiotic-and-biotic stress response genes. This mini-review includes an analysis of recent data about the role of circular RNA in plants.

**Key words:** circular RNAs, transcription, back-splicing, gene regulation, abiotic stress.