

真菌非编码 RNA

李立平¹, 罗玉萍^{1,2}, 李思光^{1,2*}

¹南昌大学生命科学与食品工程学院, 南昌 330031

²同济大学医学院, 上海 200092

摘要:非编码 RNAs (non-coding RNA, ncRNAs) 是一类在生物体中广泛存在的且不编码蛋白质的功能性 RNA 分子, 直接在 RNA 水平发挥作用, 影响生物体的生命活动。动植物 ncRNAs 的研究已有大量的文献报道, 而真菌 ncRNAs 的研究报道则相对较少。近年来, 随着研究技术的进步, 人们在真菌中也发现了不少种类的 ncRNAs, 如 snoRNA 派生的 ncRNAs、长片段 ncRNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs)、干扰小 RNA (small interfering RNAs, siRNAs)、Killer 双链 RNA 病毒, 及丝状真菌的新型 ncRNAs 等。这些 ncRNAs 在真菌中具有多种多样的生物学功能, 涉及基因的转录翻译、RNA 加工修饰、染色体结构稳定性, 以及真菌致病性等。因此, 研究真菌 ncRNAs 不仅能为了解真菌的基因表达调控系统和生长提供重要信息, 也能为阐明致病性真菌的致病机理提供新思路, 对真菌性疾病的治疗具有重大意义。本文对真菌 ncRNAs 的发现、起源、分类、生物学功能等进行了综述, 以期为进一步深入研究真菌 ncRNAs 提供一定的理论与研究基础。

关键词:非编码 RNA, 真菌, 生物学功能

中图分类号: Q933 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2013)08-0790-08

非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 是一类在生物体中广泛存在的不编码蛋白质的功能性 RNA 分子, 直接以 RNA 分子形式行使其生物学功能^[1]。目前, 人们对动植物中的 ncRNAs, 特别是动植物的干扰小 RNAs (small interfering RNAs, siRNAs) 和 microRNAs (miRNAs) 的结构、功能及作用机理进行了广泛深入的研究。虽然人们在一些真菌中发现了参与 RNA 干涉现象 (RNA interference, RNAi) 的沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 的各种成分, 但对真菌中 ncRNAs, 特别是对具有调控功能的 ncRNAs 的研究则少有报道。近年来, 随着生物学研究技术的发展和

认识的深入, 人们在真菌中也逐渐发现了不少种类的 ncRNAs, 如粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) snoRNA 派生的 ncRNAs^[2]、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 的长片段 ncRNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs)^[3-5]、芽殖酵母的 siRNAs^[6]、Killer 双链 RNA 病毒^[7] 及丝状真菌的新型 ncRNAs^[8-10] 等。这些 ncRNAs 在真菌中行使着广泛的生物学功能, 涉及基因的转录翻译、RNA 的加工修饰、染色体结构稳定性、真菌的形态与致病性等^[11-15]。因此, 真菌 ncRNAs 的研究不仅能为进一步了解真菌的基因表达调控网络和生长特性提供重要的信息, 也能为阐明致病性真菌的致病机理提供

基金项目: 国家自然科学基金 (30971473, 31171317, 31271375, 31271450); 江西省自然科学基金 (2010GZ0141); 江西省卫生厅科技计划 (20092042, 20092043)

* 通信作者。Tel: +86-791-88304099; E-mail: siguangli@163.com

作者简介: 李立平 (1987-), 男, 江西上饶人, 硕士研究生, 研究方向为真菌非编码 RNA。E-mail: ncuskhliping@163.com

收稿日期: 2012-11-29; 修回日期: 2013-01-07

新的线索,对真菌性疾病的治具有重要意义。本文对真菌 ncRNAs 的发现、起源、分类和生物学功能等进行综述,以期为未来深入研究真菌 ncRNAs 提供一定的理论与研究基础。

1 真菌中 ncRNAs 的发现

Holley 等在 *S. cerevisiae* 中发现了第一个 ncRNA-丙氨酸 tRNA,并于 1965 年公布了它的结构,这也是第一个被阐明序列结构的核酸分子^[16]。1992 年, Romano 等在丝状真菌粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 中首次发现了由转基因诱导的基因抑制现象-Quelling^[17]。1996 年, Shiu 等也发现了一个类似于 Quelling 的现象-非配对 DNA (unpaired DNA) 诱导的减数沉默 (Meiotic silencing by unpaired DNA, MSUD)^[18]。Quelling 和 MSUD 都是早期与真菌基因表达沉默有关的现象。2002 年, Bartel 实验室首次发现裂殖酵母的着丝粒重复区存在 siRNAs 基因^[19]。后来,在真菌的其它一些物种中也发现了 RNAi 现象,为真菌 ncRNAs 研究揭开了新的一页。

2 真菌 ncRNAs 的发生与加工

在以 *S. cerevisiae*、白假丝酵母 (*Candida albicans*)、*S. pombe* 和 *N. crassa* 等为代表的真菌中,除 rRNA、tRNA、snRNA 外,由 RNA 聚合酶 II 转录的 ncRNAs 主要来源于双向转录的启动子、无核小体区、基因编码区及一些特殊位点等^[6, 8, 12, 19-22]。

2.1 起源于双向转录启动子、无核小体区和基因编码区的 ncRNAs

在酵母基因表达研究中,人们发现许多启动子序列存在双向转录现象,即在基因组 DNA 双链上转录方向相反的一对相邻基因共用一个启动子元件,该启动子也称为双向转录启动子^[21-22]。Neil 等^[22]采用基因表达系列分析和焦磷酸测序技术,发现酵母中大量 ncRNAs 起源于这种双向转录现象。Xu 等^[21]采用全覆盖微阵列技术发现 ncRNAs 广泛地分布在无核小体区域,显示 ncRNA 的丰度很可能与核小体密度存在一定对应关系。在基因编码区内人们也发现了由未知启动子转录的 ncRNAs。*S. cerevisiae* 中调控染色质结构与功能的基因发生突

变,会导致这类 ncRNAs 的转录显著上升。Cheung 等发现当酵母细胞从完全培养基转移到基本培养基时,部分 ncRNAs 基因的表达水平会发生显著变化,表明外部环境可能与这类神秘 ncRNAs 的表达有着密切的联系^[23]。另外, Neil 等还发现了一类与 mRNA 同向转录的短而不稳定的 ncRNA。这类 ncRNA 从 mRNA 转录起始位点上游开始转录,在达到 mRNA 编码区末端前被 Nrd1/Nab3/Sen1 转录终止复合物终止,从而与正常的 mRNA 前体区分^[24]。

2.2 一些特殊位点转录的 ncRNAs

在真菌染色体组的一些特殊位点上也存在重要的 ncRNAs 基因。*S. pombe* 的 siRNAs 主要从着丝粒重复序列区转录生成^[19]。2009 年, Drinnenberg 等首先在芽殖酵母 *Saccharomyces castellii* (*S. castellii*) 和 *C. albicans* 中发现了 siRNAs。这些 siRNAs 主要产生于重复序列,如长末端重复反转座子 (Ty 元件)、Zorro 元件和亚端粒重复元件 (Y' 元件) 等^[6]。我们对酵母形态和菌丝形态的 *C. albicans* 的小 RNAs 转录组进行了高通量测序分析,发现 *C. albicans* 的 R 染色体和线粒体 DNA 上分布着大量的 siRNA 基因,其表达的成熟 siRNAs 长度主要为 20 - 24 nt。在酵母形态和菌丝形态的 *C. albicans* 中,ncRNAs 的种类和表达量存在着一定差异(结果未发表),这些差异表达的 ncRNAs 很可能在 *C. albicans* 的酵母形态和菌丝形态转换过程中发挥着重要作用。Lee 等则首次在 *N. crassa* 中发现了存在于 rDNA 位点的新型 siRNAs。这类 siRNAs 因能与 Argonaute (AGO) 家族蛋白 QDE-2 相互作用而称之为 QDE-2 相互作用小 RNAs (QDE-2-interacting small RNAs, qiRNAs)^[8]。此外, *S. pombe* 的 H/ACA box snoRNAs 及 CD box snoRNAs 能被进一步加工生成另一类 ncRNAs,即 snoRNA 派生的 RNAs (sno-derived RNAs, sdRNAs)^[2]。最新的证据显示 sdRNAs 属于一类新的 ncRNAs,在基因表达中可能发挥重要作用^[25]。然而,对这类 ncRNAs 可能参与的生理过程及详细作用机制,还有待进一步研究。

3 真菌 ncRNAs 的种类

依据 ncRNA 的表达特性,可将其分为组成型 RNA 和调控型 RNA 两大类。组成型 RNA 在真菌

中是组成型表达的,保持较高的表达水平,维持着细胞基础性结构与功能,包括 rRNA、tRNA、snRNA 及 snoRNA 等。调控型 RNA 是一类在真菌细胞中特异性表达的且具有调控作用的 RNA 分子,主要包括 siRNAs、sdRNAs 和 qiRNAs 等。

依据成熟 ncRNA 分子的大小,可将 ncRNAs 分为小分子 ncRNAs (small non-coding RNAs, sncRNA) 和长片段 ncRNAs (lncRNAs) 两大类。成熟的 sncRNAs 长度在十几到数百个核苷酸之间,包括 tRNA、snRNAs、siRNAs、sdRNAs 和 qiRNAs 等; lncRNAs 的长度在数百至数千个核苷酸之间,有的高达上万个核苷酸。lncRNAs 由于其功能的多样性及重要性,而逐渐成为 ncRNAs 的研究热点。

4 真菌 ncRNAs 生物学功能

4.1 组成型 ncRNAs 的功能

rRNA、tRNA、snRNA 及 snoRNA 等作为细胞中高表达的组成型 ncRNAs,是细胞维持生存和发挥基本功能必不可少的分子。

研究发现 snRNA 除参与形成剪接体、执行 mRNA 前体剪接加工外,还具有其它功能。例如,在裂殖酵母中,Chinen 等发现参与剪接体组装的 U4 snRNA 是着丝粒中 RNAi 介导的异染色质基因沉默所必需的。着丝粒内当剪接体或亚剪接体复合物组装发生在具有内含子的 ncRNA 上时,能够促进 RNAi 介导的异染色质形成^[14]。

除了在 rRNA 加工成熟过程中指导 rRNA 甲基化和假尿嘧啶化修饰外, snoRNA 还参与了包括 rRNA 在内的众多 RNA 的加工成熟^[26]。S. cerevisiae 的 snoRNA snR30 是 18S rRNA 合成所必需的^[27]。Marmier-Gourrier 等发现 S. cerevisiae 的 U3 与 rRNA 前体 5'-ETS 区的互补配对作用对 rRNA 前体切割与细胞生长起着关键性的作用^[28]。另外, S. pombe 的大部分 sdRNAs 富含 5'U, 与其 AGO1 蛋白联系密切,表明组成型 RNA 和调控型 RNA 在起源上存在关联性,并在功能发挥上也可能具有一定的协调关系^[2]。

4.2 调控型 ncRNAs 的功能

很多情况下,调控型 RNAs 通过与其它 RNA (DNA) 或蛋白质结合,形成 RNA-RNA (RNA-DNA)

复合物或 RISC 来执行调控功能。而在缺失 RNAi 的 S. cerevisiae 中, ncRNAs 则主要通过自身转录过程中招募 RNA 聚合酶 II 及转录因子时产生的局部结构变化来影响其周边染色体结构、组蛋白修饰以及邻近基因的表达等^[12]。

4.2.1 ncRNAs 影响邻近基因转录: ncRNAs 的转录能调控其邻近编码基因的转录。2006 年, Hongay 等发现 S. cerevisiae 的 IME4 mRNA 表达受到从其 3' UTR 内起始转录的反义转录物的调控。当该转录物受抑制时, IME4 mRNA 又得以转录表达^[4]。现已证实 IME4 的反义转录物及另一 lncRNA IRT1 的转录介导了芽殖酵母配子发生的接合型控制^[5]。2008 年, Berretta 等发现 S. cerevisiae 的 Ty1 反转座子中存在一种 RNA 聚合酶 II 转录的反义 RNA, 该 RNA 抑制了 Ty1 的转录及转座作用^[29]。2012 年, Bumgarner 等利用单细胞成像技术发现 S. cerevisiae 的两个 ncRNAs 通过调控邻近基因 FLO11 的转录而在决定酵母表型方面扮演了重要角色^[30]。这些结果表明 S. cerevisiae 中虽无 RNAi, 却存在反式作用 RNA, 对基因的表达发挥着重要的调控作用。通过对高通量的 S. cerevisiae 转录组数据进行分析, 我们发现了一批新的、明显缺乏开放阅读框的转录物。这些转录物主要位于已知基因的附近或内含子区。我们推测这些新发现的转录物很可能也参与了对其邻近基因的调控过程(结果未发表)。本课题组正在对这些新的转录物的结构和功能进行深入研究。

4.2.2 ncRNAs 影响染色体结构和参与异染色质基因沉默: 参与 ncRNAs 转录加工的许多因子(如 RNA 聚合酶 II 和 Nrd1/Nab3 复合物)是 S. cerevisiae 异染色质基因沉默所必需的。Nrd1/Nab3/Sen1 终止复合物的突变造成 ncRNAs 转录的失败,而使异染色质基因获得表达,提示 ncRNAs 的转录可能参与了异染色质基因沉默过程^[31]。裂殖酵母中, RNAi 则是其异染色质化所必需的^[32-33]。S. pombe 的 siRNAs 与 AGO 蛋白结合形成 RISC 后通过组蛋白甲基转移酶对 H3K9 进行甲基化修饰,来促进特异性位点异染色质的形成。同时,甲基化的 H3K9 会招募异染色质蛋白,最终沉默异染色体基因的转录^[33]。Volpe 等发现, S. pombe 中参与 RNAi 的成员突变会使着丝粒重复序列区的转录物大量地累

积,有力地证明了 RNAi 不仅是异染色质化所必需的,且对异染色质基因的沉默起着关键性作用^[32]。2010年, Halic 和 Moazed 报道了一类称之为原始小 RNA (primal small RNAs, priRNAs) 的 ncRNA。priRNAs 源于 RNA 转录物的降解产物,其合成及加工成熟不依赖于 Dicer 和 RNA 依赖型的 RNA 聚合酶复合物。priRNAs 与 AGO1 密切相关,可以引发 RNAi 和异染色质的形成。这些发现首次回答了裂殖酵母着丝粒周围异染色质组装与其中 siRNA 生成之间的相互依赖性如何实现这一问题^[34]。2011年, Zaratiegui 等发现在 *S. pombe* 异染色质复制过程中 RNAi 通过释放与 DNA 聚合酶竞争的 RNA 聚合酶 II,使异染色质复制与组蛋白修饰顺利完成而促进了异染色质基因沉默^[35]。这进一步丰富了 RNAi 沉默异染色质基因表达的作用机制。

4.2.3 ncRNAs 调控基因表达和影响真菌生命活动: Romano 等发现 Quelling 既能抑制转入的外源基因,也可沉默内源基因^[17]; Shiu 等发现 MSUD 发生在减数分裂时期,通过非配对 DNA 产生的 ncRNAs 来沉默同源的非配对基因^[18, 36]。这反映了真菌 RNAi 现象的多样性及对真菌生命活动影响的重要性^[37]。Lee 等发现的 qiRNAs 能与 QDE-2 形成活化的 RISC 复合物,在 DNA 损伤诱发后可能参与抑制 rRNA 的生成及蛋白质的合成,以保证细胞的正常活动^[8]。这些证据为 RNAi 技术在真菌(尤其致病性真菌)研究中的广泛应用提供了理论依据。

5 真菌 ncRNAs 研究中的新发现

RNA 组学研究时代的来临,使 ncRNAs 研究成为了生命科学领域的研究热点之一。近年来,人们采用高通量测序技术大规模分析 ncRNAs,在过去未发现 RNAi 的真菌中发现了 siRNAs,而且在丝状真菌中发现了与 miRNAs 类似的 RNAs^[6-9]。

5.1 真菌中 RNAi 与 Killer 双链 RNA 病毒的兼容性

2009年, Drinnenberg 等发现在芽殖酵母 *S. castellii* 和 *C. albicans* 中存在 RNAi 的重要成员 Dicer 酶和 AGO 蛋白。他们对 *S. castellii* 和 *C. albicans* 中的小分子 RNA 进行深度测序、染色体定

位及 RNA 结构分析,发现长度为 18 - 30 核苷酸的 ncRNAs 具有典型的 siRNAs 结构特征。因此,这些 ncRNAs 也被归类为 siRNAs。*C. albicans* 的 siRNAs 主要分布于 Zorro 元件;而 *S. castellii* 中的 siRNAs 则在长的反向重复子中异常丰富。构建的外源双链 RNAs 在 *S. castellii* 内成功地沉默了报告基因的表达,进一步证明 *S. castellii* 中存在 RNAi 机制。有趣的是,当 *S. castellii* 中产生 RNAi 所需的成员在 *S. cerevisiae* 中表达时也可使 *S. cerevisiae* 重新建立 RNAi 机制^[6]。但到目前为止,*C. albicans* 中还没有发现 RNAi 的报道,*C. albicans* 的 AGO1 (orf19.2903) 和非经典的 Dicer (DCR1, orf19.3796) 似乎不足以引发 RNAi^[38]。Bernstein 等的研究结果显示,*C. albicans* 基因组中具有 2 个与 *S. castellii* 的 Dicer 酶同源的基因-DCR1 和 CDL1 (*Candida* Dicer-like)。并证实了 DCR1 是 rRNA 及 snRNA 成熟所必需的,但 CDL1 的功能仍不清楚。AGO1 的缺失几乎对 *C. albicans* 生长也无影响,并没有检测到明显的 Zorro 转座差异现象^[39]。令人意外的是, Drinnenberg 等的测序结果显示在没有发现 RNAi 的真菌中都存在一种称之为 Killer 的双链 RNA 病毒,而在发现了 RNAi 的真菌却没有这种病毒^[7]。这表明在 RNAi 缺失型真菌中出现 Killer 可能是对 RNAi 缺失的一个补充,但对这一现象详尽的解释,还需要在不同的真菌中开展更为全面而深入的研究。

5.2 丝状真菌中的类 miRNAs RNAs 及其多样化生成途径

调控型 ncRNAs 执行调控功能时通常需要 AGO 家族蛋白的加入^[40]。Lee 等在 *N. crassa* 中采用免疫共沉淀技术获得了 QDE-2 结合的 ncRNAs,经测序分析而首次发现了新型 ncRNAs,即 qiRNAs。这类 ncRNAs 主要源于 rDNA 位点,以 DNA 损伤诱导产生的异常 RNAs (aberrant RNAs, aRNAs) 为前体,由 RNA 依赖的 RNA 聚合酶 QDE-1、DNA 解旋酶 QDE-3 及 Dicers 酶类似物 (DCL-1 和 DCL-2) 加工生成。根据其前体特征及加工是否依赖 Dicer 酶, qiRNAs 可分为类似于经典 miRNAs 的 siRNAs (miRNAs-like RNAs, milRNAs) 和 Dicer 非依赖型的 siRNAs (Dicer-independent siRNAs, disiRNAs)^[9]。milRNAs 具有发夹结构的前体。按照加工成熟路线

的不同,miRNAs可细分为以miR-1、miR-2、miR-3和miR-4为代表的四种类型:miR-1的生成依赖于Dicer,也需要QDE-2及QDE-2相作用外切酶;miR-3的合成与植物miRNAs最相似,仅需要Dicer;令人惊讶的是,miR-2的产生不依赖Dicer,但需要QDE-2或一些未知因子的参与;而miR-4显示出对Dicer的部分依赖性,在Dicer突变体中miR-4的表达量只是有所下降而已,表明有其它包含某些RNA内切酶的途径参与了miR-4的生成。与miRNAs不同,disiRNAs源于双链转录物,由一条非依赖于Dicer的途径加工形成。但是,miRNAs和disiRNAs最终都通过与QDE-2结合形成活化的复合物,在细胞中发挥作用。这些结果表明真菌siRNAs具有多样化的生成途径^[9, 40]。2012年,黄博实验室首先在病原性真菌黑僵菌(*Metarhizium anisopliae*, *M. anisopliae*)中发现了许多新的miRNAs^[41]。这些miRNAs可能在*M. anisopliae*的菌丝生长及孢子发生过程中起着重要的调控作用。这是第一次在肉座菌目(Hypocreales)中发现miRNAs的报道,为未来*M. anisopliae*基因调控网络的研究提供了重要的信息。

与动植物中的ncRNAs相比,真菌ncRNAs有其显著的特点。从ncRNAs在基因组中的分布来看,动植物的ncRNAs基因广泛分布于基因组中,而目前在真菌中发现的ncRNAs主要分布在基因组重复序列区、逆转座子或rDNA位点等^[2, 6, 8, 19];从功能上看,动植物的ncRNAs(尤其siRNAs和miRNAs)在生命体各个阶段均发挥着重要的调控作用,而且RNAi所需的RISC各种成分的缺失会导致RNAi介导的基因表达调控出现障碍,对动植物的正常生长产生比较严重的影响。然而,对于具有siRNAs和RISC各种成分的一些真菌(如*C. albicans*),敲除RISC中AGO成分的菌株仍可正常生长^[39],提示真菌中siRNAs对基因的表达调控途径与动植物不完全相同。另外,*N. crassa*的miRNAs在DNA损伤时发挥作用,而*qde-2*或miRNAs缺失型菌株在自然条件下生长不受影响^[9-10],表明真菌miRNAs有着与动植物中miRNAs不同的功能。

6 问题与展望

近年来,真菌ncRNAs的研究受到了越来越多

的关注。尽管生物学技术的进步与不断更新使很多新的ncRNAs被发现,但同时尚有不少问题需要进一步阐明:(1)siRNA、miRNA和disiRNA等的完整调控网络是怎样的,还有哪些RNA内切酶参与了miR-4的生成;(2)RISC中除了AGO和ncRNAs外还有哪些至关重要的成员;除依赖AGO蛋白家族的siRNA外,是否存在非依赖AGO蛋白发挥基因沉默作用的siRNA;(3)Killer双链RNA病毒与RNAi的不兼容性能够很好地解释RNAi缺失型真菌中的ncRNAs调控现象。但是,如果*C. albicans*中不RNAi存在,那么*C. albicans*的CDL1和AGO1究竟有何功能。这些问题很可能成为未来真菌ncRNAs研究的热点问题,对于这些问题的解析将为功能RNA研究领域带来新的突破。

在对致病性真菌如皮炎芽生菌和荚膜组织胞浆菌的研究中,Nemecek等发现通过RNAi技术沉默组蛋白激酶DRK1,可以调控这两种真菌形态的变化及毒性基因的表达,达到降低其致病性的目的^[11]。这为真菌性疾病的治疗提供了新思路,采用RNAi技术可望为未来真菌性疾病的治疗提供新的手段。最新的国内研究结果显示在黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)中利用RNAi技术沉默其几丁质合成酶基因*chs4*的表达,不仅可以改变黄青霉的形态,更大大提高了青霉素的产量^[42],进一步表明RNAi技术在真菌研究中具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Eddy SR. Non-coding RNA genes and the modern RNA world. *Nature Reviews Genetics*, 2001, 2(12): 919-929.
- [2] Taft RJ, Glazov EA, Lassmann T, Hayashizaki Y, Carninci P, Mattick JS. Small RNAs derived from snoRNAs. *RNA*, 2009, 15(7): 1233-1240.
- [3] Martens JA, Laprade L, Winston F. Intergenic transcription is required to repress the *Saccharomyces cerevisiae* SER3 gene. *Nature*, 2004, 429(6991): 571-574.
- [4] Hongay CF, Grisafi PL, Galitski T, Fink GR. Antisense transcription controls cell fate in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell*, 2006, 127(4): 735-745.
- [5] van Werven FJ, Neuert G, Hendrick N, Lardenois A,

- Buratowski S, van Oudenaarden A, Primig M, Amon A. Transcription of two long noncoding RNAs mediates mating-type control of gametogenesis in budding yeast. *Cell*, 2012, 150(6): 1170-1181.
- [6] Drinnenberg IA, Weinberg DE, Xie KT, Mower JP, Wolfe KH, Fink GR, Bartel DP. RNAi in budding yeast. *Science*, 2009, 326(5952): 544-550.
- [7] Drinnenberg IA, Fink GR, Bartel DP. Compatibility with killer explains the rise of RNAi-deficient fungi. *Science*, 2011, 333(6049): 1592.
- [8] Lee HC, Chang SS, Choudhary S, Aalto AP, Maiti M, Bamford DH, Liu Y. qiRNA is a new type of small interfering RNA induced by DNA damage. *Nature*, 2009, 459(7244): 274-277.
- [9] Lee HC, Li L, Gu W, Xue Z, Crosthwaite SK, Pertsemliadis A, Lewis ZA, Freitag M, Selker EU, Mello CC, Liu Y. Diverse pathways generate microRNA-like RNAs and Dicer-independent small interfering RNAs in fungi. *Molecular Cell*, 2010, 38(6): 803-814.
- [10] Chang SS, Zhang Z, Liu Y. RNA interference pathways in fungi: mechanisms and functions. *Annual Review of Microbiology*, 2012, 66: 305-323.
- [11] Nemecek JC, Wuthrich M, Klein BS. Global control of dimorphism and virulence in fungi. *Science*, 2006, 312(5773): 583-588.
- [12] Harrison BR, Yazgan O, Krebs JE. Life without RNAi: noncoding RNAs and their functions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemistry and Cell Biology*, 2009, 87(5): 767-779.
- [13] Huisinga KL, Elgin SC. Small RNA-directed heterochromatin formation in the context of development: what flies might learn from fission yeast. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1789(1): 3-16.
- [14] Chinen M, Morita M, Fukumura K, Tani T. Involvement of the spliceosomal U4 small nuclear RNA in heterochromatic gene silencing at fission yeast centromeres. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(8): 5630-5638.
- [15] Simmer F, Buscaino A, Kos-Braun IC, Kagansky A, Boukaba A, Urano T, Kerr AR, Allshire RC. Hairpin RNA induces secondary small interfering RNA synthesis and silencing in trans in fission yeast. *EMBO Reports*, 2010, 11(2): 112-118.
- [16] Holley RW, Apgar J, Everett GA, Madison JT, Marquisee M, Merrill SH, Penswick JR, Zamir A. Structure of a Ribonucleic Acid. *Science*, 1965, 147(3664): 1462-1465.
- [17] Romano N, Macino G. Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. *Molecular Microbiology*, 1992, 6(22): 3343-3353.
- [18] Shiu PK, Raju NB, Zickler D, Metzberg RL. Meiotic silencing by unpaired DNA. *Cell*, 2001, 107(7): 905-916.
- [19] Reinhart BJ, Bartel DP. Small RNAs correspond to centromere heterochromatic repeats. *Science*, 2002, 297(5588): 1831.
- [20] Djupedal I, Kos-Braun IC, Mosher RA, Soderholm N, Simmer F, Hardcastle TJ, Fender A, Heidrich N, Kagansky A, Bayne E, Wagner EG, Baulcombe DC, Allshire RC, Ekwall K. Analysis of small RNA in fission yeast; centromeric siRNAs are potentially generated through a structured RNA. *The EMBO Journal*, 2009, 28(24): 3832-3844.
- [21] Xu Z, Wei W, Gagneur J, Perocchi F, Clauder-Munster S, Camblong J, Guffanti E, Stutz F, Huber W, Steinmetz LM. Bidirectional promoters generate pervasive transcription in yeast. *Nature*, 2009, 457(7232): 1033-1037.
- [22] Neil H, Malabat C, d'Aubenton-Carafa Y, Xu Z, Steinmetz LM, Jacquier A. Widespread bidirectional promoters are the major source of cryptic transcripts in yeast. *Nature*, 2009, 457(7232): 1038-1042.
- [23] Cheung V, Chua G, Batada NN, Landry CR, Michnick SW, Hughes TR, Winston F. Chromatin-and transcription-related factors repress transcription from within coding regions throughout the *Saccharomyces cerevisiae* genome. *PLoS Biology*, 2008, 6(11): e277.
- [24] Steinmetz EJ, Ng SB, Cloute JP, Brow DA. cis- and trans-acting determinants of transcription termination by yeast RNA polymerase II. *Molecular and Cellular Biology*, 2006, 26(7): 2688-2696.
- [25] Falaleeva M, Stamm S. Processing of snoRNAs as a new source of regulatory non-coding RNAs; snoRNA fragments form a new class of functional RNAs. *Bioessays*, 2013, 35(1): 46-54.

- [26] Bachellerie JP, Cavaille J, Huttenhofer A. The expanding snoRNA world. *Biochimie*, 2002, 84(8): 775-790.
- [27] Morrissey JP, Tollervey D. Yeast snR30 is a small nucleolar RNA required for 18S rRNA synthesis. *Molecular and Cellular Biology*, 1993, 13(4): 2469-2477.
- [28] Marmier-Gourrier N, Clery A, Schlotter F, Senty-Segault V, Branlant C. A second base pair interaction between U3 small nucleolar RNA and the 5'-ETS region is required for early cleavage of the yeast pre-ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(22): 9731-9745.
- [29] Berretta J, Pinskaya M, Morillon A. A cryptic unstable transcript mediates transcriptional trans-silencing of the Ty1 retrotransposon in *S. cerevisiae*. *Genes Development*, 2008, 22(5): 615-626.
- [30] Bumgarner SL, Neuert G, Voight BF, Symbor-Nagrabska A, Grisafi P, van Oudenaarden A, Fink GR. Single-cell analysis reveals that noncoding RNAs contribute to clonal heterogeneity by modulating transcription factor recruitment. *Molecular Cell*, 2012, 45(4): 470-482.
- [31] Arigo JT, Eyler DE, Carroll KL, Corden JL. Termination of cryptic unstable transcripts is directed by yeast RNA-binding proteins Nrd1 and Nab3. *Molecular Cell*, 2006, 23(6): 841-851.
- [32] Volpe TA, Kidner C, Hall IM, Teng G, Grewal SI, Martienssen RA. Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science*, 2002, 297(5588): 1833-1837.
- [33] Moazed D, Buhler M, Buker SM, Colmenares SU, Gerace EL, Gerber SA, Hong EJ, Motamedi MR, Verdel A, Villen J, Gygi SP. Studies on the mechanism of RNAi-dependent heterochromatin assembly. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 2006, 71: 461-471.
- [34] Halic M, Moazed D. Dicer-independent primal RNAs trigger RNAi and heterochromatin formation. *Cell*, 2010, 140(4): 504-516.
- [35] Zaratiegui M, Castel SE, Irvine DV, Kloc A, Ren J, Li F, de Castro E, Marin L, Chang AY, Goto D, Cande WZ, Antequera F, Arcangioli B, Martienssen RA. RNAi promotes heterochromatic silencing through replication-coupled release of RNA Pol II. *Nature*, 2011, 479(7371): 135-138.
- [36] Shiu PK, Metzberg RL. Meiotic silencing by unpaired DNA: properties, regulation and suppression. *Genetics*, 2002, 161(4): 1483-1495.
- [37] Li L, Chang SS, Liu Y. RNA interference pathways in filamentous fungi. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2010, 67(22): 3849-3863.
- [38] Staab JF, White TC, Marr KA. Hairpin dsRNA does not trigger RNA interference in *Candida albicans* cells. *Yeast*, 2011, 28(1): 1-8.
- [39] Bernstein DA, Vyas VK, Weinberg DE, Drinnenberg IA, Bartel DP, Fink GR. *Candida albicans* Dicer (CaDcr1) is required for efficient ribosomal and spliceosomal RNA maturation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(2): 523-528.
- [40] Jin H, Zhu JK. How many ways are there to generate small RNAs? *Molecular Cell*, 2010, 38(6): 775-777.
- [41] Zhou Q, Wang Z, Zhang J, Meng H, Huang B. Genome-wide identification and profiling of microRNA-like RNAs from *Metarhizium anisopliae* during development. *Fungal Biology*, 2012, 116(11): 1156-1162.
- [42] Liu H, Wang P, Gong G, Wang L, Zhao G, Zheng Z. Morphology engineering of *Penicillium chrysogenum* by RNA silencing of chitin synthase gene. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(3): 423-429.

Non-coding RNA in fungi—A review

Liping Li¹, Yuping Luo^{1,2}, Siguang Li^{1,2*}

¹College of Life Sciences and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China

²Tongji University, School of Medicine, Shanghai 200092, China

Abstract: Non-coding RNAs (ncRNAs) existing widely in many living organisms are functional RNA molecules, function directly as structural or regulatory RNAs in organisms. Although large and diverse populations of ncRNAs have been extensively studied and well understood in animals and plants, few reports could be found about ncRNAs in fungi. Recently, with the development of modern biological techniques, a number of ncRNAs have been identified in fungi, including snoRNA-derived RNAs, long non-coding RNAs, small interfering RNAs (siRNAs), dsRNA Killer viruses, and novel classes of ncRNAs discovered in filamentous fungi. These ncRNAs play important roles in gene transcription and translation, RNA processing and modifying, chromatin structure, and even fungal pathogenicity. Therefore, studies on ncRNAs in fungi may shed light on the regulatory system of gene expression and the characteristics of fungal growth, and even provide some clues towards understanding pathogenic mechanisms of pathogenic fungi, which will contribute to the treatment of fungal diseases. Here, we reviewed the discovery of fungal ncRNAs, their origins and processing, classification, and biological functions, aiming to establish a theoretical foundation and basis for deep understanding of fungal ncRNAs in future.

Keywords: non-coding RNA, fungi, biological functions

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30971473, 31171317, 31271375, 31271450), by the Natural Science Foundation of Jiangxi Province (2010GZN0141) and by the Science and Technology Project of Health Department of Jiangxi Province (20092042, 20092043)

* Corresponding author. Tel: +86-791-88304099; E-mail: siguangli@163.com

Received: 19 November 2012/Revised: 7 January 2013

《微生物学报》EndNote Style

EndNote 文献管理软件能够帮助科研人员更好地进行学术研究、学习以及论文的撰写,这已经被越来越多的人熟悉、接受。为了方便作者写作与投稿,我们编制了“《微生物学报》EndNote Style”文件。利用 EndNote 轻松调取收集的文献,自动按照《微生物学报》的格式生成论文的参考文献。

1. 建议作者在投稿本刊时使用“《微生物学报》EndNote Style”文件,这会让您在写作过程中更加轻松快乐。请到本刊网站的“下载专区”中获取这个文件。

2. 将“《微生物学报》EndNote Style”文件下载后,复制到 EndNote 安装文件夹下面的 Style 子目录中。

3. 在使用 EndNote 文献管理软件插入文献后,投稿前,请用 EndNote 软件的“Convert to Plain Text”功能,将文章中的参考文献转化成 Plain Text 格式,以便于编辑修改。【注:本刊的这个文件是在 EndNote X5 环境下编制的,因此无法在低于 X5 版本的环境打开和使用。】

4. 因本刊是中文期刊,需要作者对 3 处手工调节。具体写法参见本刊网站“投稿须知”中的“参考文献”。

(1) 西文刊名:2009 年开始西文刊名需要全拼,为的是保证刊名的书写准确。

(2) 非英文的期刊:以尊重原始语种为主,2012 年底开始采用双语表述。先英文文献后原文文献,并在英文文献的后面标出“语种”。

(3) 译著:需要给出外国作者的原姓名。

致谢:“《微生物学报》EndNote Style”是在本刊副主编、中国军事医学科学院微生物流行病学研究所杨瑞馥先生的建议下开始的,杨老师实验室的崔玉军博士按照《微生物学报》的要求编辑了该文件。在此,谨向他们表示衷心地感谢!