

植物环状 RNA 研究进展

骆甲, 王型力, 孙志超, 吴迪, 张玮, 王正加

浙江农林大学, 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 杭州 311300

摘要: 环状 RNA (circRNA) 是一类由 mRNA 前体经反向可变剪切而来的共价闭合且保守的单链转录本, 通过 miRNA 海绵功能、干扰可变剪切、结合蛋白等方式调控源基因及线性 mRNA 的表达。测序结果显示, circRNA 广泛存在于不同的植物体内, 通过细胞类型特异性表达以及组织特异性表达参与花发育、果实成熟、逆境响应等多个生命过程, 在植物发育过程中发挥着重要作用。本文综述了植物 circRNA 的形成机制、鉴定方法、数据库、表达模式以及潜在的生物学功能, 通过与动物相关研究结果的比较, 概括了植物 circRNA 的结构特征和调控潜能, 以期植物 circRNA 研究提供参考。

关键词: 植物 circRNA; 数据库; 调控; 功能

Progress in circular RNAs of plants

Jia Luo, Xingli Wang, Zhichao Sun, Di Wu, Wei Zhang, Zhengjia Wang

Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China

Abstract: Circular RNAs (circRNAs) are covalently closed, conserved single-stranded transcripts that are produced from precursor mRNA (pre-mRNA) back-splicing. They could function as microRNA sponges, interfere with splicing and bind to protein to regulate the expression of parental genes and linear mRNAs. Next-generation RNA sequencing (RNA-seq) has recently shown that the expression of circRNAs is widespread in plants. circRNAs participate in multiple biological processes such as floral development, fruit ripening, and biotic and abiotic stress responses by cell type-specific and tissue-specific expression patterns, indicating that they may play an important role in plant development. In this review, we summarize the current knowledge of plant circRNAs in recent years, including the biogenesis, detection, databases, expression pattern, and potential functions in comparison with animal results to provide new insights for functional research interests of circRNAs in the future.

Keywords: plant circRNA; database; regulation; function

收稿日期: 2018-01-08; 修回日期: 2018-03-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31570666), 国家高技术研究发展计划项目(863 项目)(编号: 2013AA102605), 浙江省自然科学基金杰出青年项目(编号: LR14C160002)和浙江省农业新品种选育重大科技专项(编号: 2016C02052) 资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31570666), the National High-Tech Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2013AA102605), Zhejiang Provincial Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholars (No. LR14C160002), Zhejiang Provincial New Varieties Breeding Major Agricultural Science and Technology Projects (No. 2016C02052)]

作者简介: 骆甲, 硕士研究生, 专业方向: 林木遗传育种。E-mail: jlocke@163.com

通讯作者: 王正加, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 林木遗传育种。E-mail: wzj21@163.com

DOI: 10.16288/j.yczs.18-009

网络出版时间: 2018/5/31 14:33:22

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180531.1433.003.html>

非编码 RNA (non-coding RNA) 是一类直接发挥催化和调控功能的转录本, 包含 miRNA (microRNA)、lncRNA (long non-coding RNA) 和 circRNA (circular RNA) 等, 占真核细胞总 RNA 的 95% 以上^[1], 在生物体许多生理生化过程中发挥了重要作用^[1-3]。miRNA 是一类长度约为 21 nt 的非编码 RNA, 主要通过引导效应蛋白 AGO (Argonaute) 抑止编码 mRNA 的表达^[4]。研究表明, circRNA 能够特异性结合 miRNA, 使其失去调控 mRNA 的功能^[5]。在哺乳动物中, 一个 miRNA 通常含有 1~2 个特异性结合位点, 当 miRNA 表达量占主导地位时, circRNA 具有的 miRNA 海绵功能不再有效^[6, 7]。

不同于线性 RNA, circRNA 具有高度保守性以及不易被降解的特性^[8], 在生物体内行使 miRNA 海绵、调控可变剪切、长距离传递信号等功能^[9]。根据组成来源, circRNA 分为外显子 circRNA、基因间 circRNA 和内含子 circRNA。circRNA 主要形成方式有 4 种: (1) 反向可变剪切(back-splicing)环化^[10-12]; (2) 内含子驱动反向互补序列形成环化^[13, 14]; (3) 来自单个基因内不同内含子序列配对环化^[13]; (4) 受到 RNA 结合蛋白调控的外显子环化^[10, 15]。circRNA 作为内源性非编码 RNA 在真核生物的生长发育过程中发挥着重要作用^[12, 16-20], 引起人们广泛的关注。

植物 circRNA 的研究还处于起步阶段, 转录组测序以及生物信息学分析证实 circRNA 在植物中同样具有高保守性, 但动植物间 circRNA 发生机制及功能的差异性尚不明确。随着研究的不断深入, 已陆续证明植物 circRNA 能通过内源性竞争、干扰可变剪切、结合蛋白等方式, 在植物生长发育、生物与非生物胁迫等生物过程中发挥了重要作用^[18, 19, 21]。本文综述了近年来植物 circRNA 形成机制、鉴定方法、数据库、表达模式等研究进展, 概括了植物 circRNA 结构特征和调控潜能, 为其在植物发育过程中的功能研究提供参考。

1 植物 circRNA 鉴定

20 世纪 70 年代, Sanger 等^[22]在植物病毒中发现了闭合的 circRNA 分子, 并在真核细胞中验证了 circRNA 的存在, 当时 circRNA 被认为是剪切错

误的产物^[23-25]。随着高通量测序和基因组分析技术的发展, Salzman 等^[17]首次指出 circRNA 由 mRNA 前体可变剪切而来, 是一类 3' 与 5' 共价闭合且广泛大量存在于真核生物体内的 RNA, 参与转录后调控过程^[16, 26]。

Jack 等^[26]在人类成纤维细胞中检测出 25 000 多个可区分的 RNA, 其中外显子 circRNA 约占总量的 14.4%。Memczak 等^[16]通过重新计算多个动物数据库中 RNA 测序数据, 共鉴定出 1950 个人类(*Homo sapiens*) circRNA、1903 个小鼠(*Mus musculus*) circRNA 和 724 个线虫(*Caenorhabditis elegans*) circRNA。Guo 等^[27]通过优化算法对去 poly(A) 的 RNA 测序数据进行分析, 新注释了 7112 个人类 circRNA 和 635 个小鼠 circRNA, 并关联得到一个具有 miRNA 海绵功能的 circ-ZNF91。Wang 等^[28]通过鉴定真菌、原生物和模式植物的 circRNA, 证实 circRNA 是一个古老且保守、具有调控功能的细胞转录产物。

自 2014 年拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根部首次发现 circRNA 后^[28], 7 个物种的 circRNA 被陆续鉴定(表 1)。Ye 等^[21]重新计算已公开的转录组数据, 补充报道了水稻(*Oryza sativa*)和拟南芥中有 12037 和 6012 个 circRNA。2015 年, Lu 等^[19]在水稻中鉴定出 2354 个 circRNA, 其中外显子 circRNA 为 1356 个, 包含微型反向重复转座元件(miniature inverted repeat transposable elements, MITEs)的 circRNA 为 92 个^[21]。Liu 等^[29]对不同生长阶段的拟南芥叶片进行转录组测序, 验证发现 circRNA 除保守的序列信息外, 还具有时空表达特异性。circRNA 在番茄(*Solanum lycopersicum*)冷害逆境响应、小麦(*Triticum aestivum*)干旱逆境响应、猕猴桃(*Pseudomonas syringae*)对溃疡病菌响应以及植物类病毒感染荔枝(*Litchi chinensis*)的过程中均起到重要的调控作用^[30-33]。同时, 叶绿体和线粒体基因组的可变剪切也可以得到 circRNA^[21, 34, 35], 说明 circRNA 参与包括光合作用和呼吸作用在内的多个重要生命过程的调控。

目前, 公开发表的 circRNA 预测软件有 10 余种(表 2), 其中包含植物特异的 circRNA 预测软件 PcircRNA_finder^[39]。基于不同算法, 可将软件分为两种: 一是针对内含子驱动模式下的反向可变剪切

表 1 7 种植物 circRNA 鉴定信息

Table 1 Identification of circular RNAs in seven plants

物种	测序组织	数据来源	circRNA 数量(外显子 circRNA 数量)
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	叶片 ^[21]	数据库编号 PRJNA218215	6012 (5152)
	叶片 ^[29]	数据库编号 GSE43616	168 (158)
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	水稻根部 ^[21]	数据库编号 PRJNA215013	12037 (6074)
	幼穗和成熟叶片 ^[36]	栽培稻自测	2354 (1356)
	根部 ^[37]	水培稻自测	3011 (1846)
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	幼苗叶片 ^[30]	干旱逆境处理自测	88 (6)
大麦(<i>Hordeum vulgare</i>)	叶片和未成熟的种子 ^[34]	铁锌溶液喷施叶面处理自测	62 (5)
番茄(<i>Solanum lycopersicum</i>)	果皮 ^[32]	冷胁迫处理自测	854 (615)
猕猴桃(<i>Pseudomonas syringae</i>)	幼叶 ^[33]	病菌胁迫处理自测	3582 (2293)
大豆(<i>Glycine max</i>)	根茎叶 ^[38]	温室种植自测	5372 (2494)

表 2 7 种 circRNA 预测方法

Table 2 Summary of seven methods for circRNA detection

软件名称	编写语言	比对方法	比对程序	敏感度	准确度	计算速度	备注
CIRCexplorer	Python	有参	TopHat/STAR	高	高	慢	基因注释需求
CIRI	Perl	无参	BWA-MEM	高	低	慢	高 RAM 需求
find_circ	Python	无参	Bowtie2	低	低	快	低 RAM 需求
circRNA_finder	Perl	无参	STAR	低	低	快	双端测序验证
Mapssplice	Python	有参	Bowtie1	高	高	慢	基因注释要求
KNIFE	Python& Perl	有参	Bowtie 1& 2	高	高	慢	外显子注释要求
PcircRNA_finder	Perl	有参	Tophat-Fusion	高	高	慢	植物特异

接头序列(back-spliced junction)设计的预测软件,如 find_circ^[40]、CIRCexplorer^[13]、CIRI^[41, 42]和 MapSplice^[43]等;二是通过基因组注释信息推测得到反向可变剪切接头序列,然后与注释的外显子序列进行匹配,预测得到新 circRNA 的软件,如 KNIFE^[44, 45]、NCLscan^[46]等。根据预测软件的准确度、敏感度等方面来评估性能^[47, 48],在对相同样本数据进行分析时,CIRCexplorer 和 KNIFE 的准确度和敏感度都在较高水平;find_circ 具有高准确度,而 MapSplice 具有较高的检测敏感度;PcircRNA_finder 在植物 circRNA 的鉴定中更具优势^[39]。虽然一些程序支持无参组装测序结果并进行独立注释信息,但是完善的基因组注释能够进一步提高剪切接头检测的灵敏度、扩大剪切信号的检测范围以及降低错误率。不同的软件在计算成本上也有不同的要求,因此

综合两种或多种不同软件预测的结果将有效提高 circRNA 鉴定的效率。

随着研究数据的不断积累和分析流程的重新设计,已建立起一系列不同作用和功能的数据库(表 3),这些数据库不仅包含了 circRNA 的序列、基因组注释、功能预测等信息,同时也提供可变剪切预测、互作分析以及可视化等工具。

2 植物 circRNA 特征

2.1 植物 circRNA 序列组成和结构

研究发现,circRNA 的生物合成通常受到顺式作用元件和反式作用因子的调控,环化外显子的侧翼内含子序列 ALU 重复片段和反向互补序列能够

表 3 常见 circRNA 数据库

Table 3 Summary of common circRNA databases

数据库	circRNA 数量	样本来源	数据来源	网址	信息说明	文献
circBase	199 161	动物组织样本	文献及其他数据库	http://circbase.org/	包含所有的 circRNA 转录本注释信息, 预测其剪接形式, 并且提供剪切位点间序列的比对信息。提供 Blast 比对工具及 fasta 格式数据下载功能	[49]
Circ2Traits	1951	人类疾病组织样本	文献及其他数据库	http://gyanxet-beta.com/circdb/	包含计算 circRNA 与疾病相关的 miRNA 互作的可能性, 构建 miRNA 与蛋白质、长链非编码 RNA 和 circRNA 之间的互作网络及富集分析, circRNA 与疾病相关 SNP 互作位点分析	[50]
CircNet	282 948	动物组织样本	数据库	http://circnet.mbc.ntu.edu.tw/	包含新鉴定的 circRNA、整合 miRNA 靶基因网络, circRNA 可变剪切体的表达谱、基因组注释以及序列信息	[51]
CSCD	1 121 871	肿瘤组织样本	228 个肿瘤组织细胞系 RNA 测序数据	http://gb.whu.edu.cn/CSCD	包含每一个 circRNA 的 miRNA 应答元件位点、RNA 蛋白结合位点、开放阅读框 (ORF) 以及每一个 circRNA 的线性转录本的剪接事件的预测信息	[52]
circRNADb	32 914	人类组织样本	重新整合多个数据库	http://reprod.njmu.edu.cn/circrnadb	包含人类外显子 circRNA 外显子剪接事件、基因组序列、内部核糖体进入位点 (IRES)、开放阅读框信息及证据支撑的参考文献	[53]
PlantcircBase	77 595	水稻、拟南芥、玉米、番茄和大麦	生物信息学预测或实验验证	http://ibi.zju.edu.cn/plantcircbase/	包含 circRNA 的 miRNA 海绵功能信息, circRNA-miRNA-mRNA 互作网络图, 基于基因组位置对 circRNA 结构的可视化以及提供 circRNA 的序列查询工具	[54]
PlantCircNet	139 276	拟南芥、水稻及其他 8 种植物	数据库	http://bis.zju.edu.cn/plantcircnet/index.php	包含互作网络图的可视化工具, 过表达 miRNA 靶基因的 GO 富集工具, 以及 circRNA 基因组注释、序列、剪切体的信息	[55]
AtCircDB	84 685	拟南芥	622 个拟南芥 RNA 测序数据	http://genome.sdau.edu.cn/circRNA	包含拟南芥全面的组织特异性 circRNA 数据, 提供检索、可视化以及下载拟南芥 circRNA 数据	[56]

大大提高其环化的效率^[13, 26, 57]。但是, 与动物相比, 植物中大多数外显子 circRNA 侧翼序列并不包含大量的重复序列和反向互补序列^[19, 21, 35]。这表明在植物中“内含子驱动环化”模式并不是形成 circRNA 的主要机制。此外, 超过 33% 的植物 circRNA 在上下游序列中包含两个及多个不同的接头序列, 可能弥补了序列缺失从而提高其环化效率^[35]。

植物 circRNA 具有大量亚型, 许多亚型来源于

同一个基因的可变剪切, 且偏好于多个外显子形成的环化^[19, 21]。目前, 已在水稻中鉴定得到约 2806 个 circRNA 全长序列, 其中只有 206 个 circRNA 的侧翼包含经典的 GT/AG 剪切信号^[21], 这表明植物中的 circRNA 可能并不是依赖经典的 circRNA 剪切信号序列驱动环化。

另外, 当外显子相邻内含子序列较长时, 一般不具备线性剪切能力^[10, 26]。例如, 水稻和拟南

芥的 circRNA 都比线性亚型具有更长的侧翼内含子^[19, 21, 40], 这可能是由于更长的内含子序列可以捕捉到更多短的反向互补序列从而提升环化效率, 而侧翼序列中包含较长的内含子序列, 可能通过提高相邻外显子之间的空间距离, 阻止线性剪切的发生。

2.2 植物 circRNA 来源和保守性

通常来说, 植物 circRNA 的表达丰度较低, 通过细胞类型特异性以及组织特异性表达来发挥其调控功能^[19, 21, 32, 35, 58]。除了核基因组序列能够产生植物 circRNA, 叶绿体和线粒体基因组序列也能够产生植物 circRNA^[21, 34, 35], 说明 circRNA 也可能参与调控光合作用和呼吸作用过程。同时, circRNA 通过与 miRNA 互作、结合蛋白和干扰剪切过程等方式来调节基因的表达, 从而有效地提升了植物转录调控过程的多样性和复杂性^[59]。

植物 circRNA 的组成可以分别来源于外显子、内含子或由其两者共同组成^[60], 且植物外显子和内含子 circRNA 的功能表达与组织特异性紧密联系^[51]。通过不同的剪切模式, 同一个基因座可以转录出 circRNA 或者线性 mRNA, circRNA 的表达与其亲本基因表达存在显著相关性。例如猕猴桃中 *AC_ciRNA_04842* 正调控 *Achn372061* 的表达^[33]。此外, 在水稻中过表达 *Os08circ16564* 可以较大程度抑制其亲本基因的表达, 显示 circRNA 能够负调控其来源基因^[19], 但调控机制还需深入研究。Ye 等^[21]在拟南芥和水稻中发现 700 多个直系同源基因, 其中 300 多个 circRNA 均来自于基因组相同位点, 说明在不同的植物中 circRNA 高度保守。但是, 在这些保守的 circRNA 侧翼内含子中并没有发现相似的序列或者共享相同的基序, 说明在植物中 circRNA 的生物合成可能还存在其他机制^[21]。

3 植物 circRNA 功能

3.1 具有 miRNA 海绵特征

由于 circRNA 缺少 poly(A)尾巴和 5'端, 不受核糖核酸酶(RNase)的降解, 在脱帽和降解过程中一般会与 miRNA 结合^[61], 参与转录后调控^[21, 62]。Hansen

等^[62]认为植物中的 circRNA 作为 miRNA 海绵在植物生长发育过程中具有调控功能, 成为 circRNA 早期功能研究的重点。

circRNA 在发挥海绵功能时, 需要多个 miRNA 结合位点或在细胞质中高水平表达^[6, 7]。通过紫外交联免疫沉淀结合高通量测序技术(crosslinking-immunoprecipitation and high-throughput sequencing, HITS-CLIP), 研究人员发现人类中 *circCDR1as* 能够结合 miR-7 和 miRNA 效应蛋白 AGO2, 并且具有 70 多个保守的 miR-7 结合位点^[21, 62]; *circSry* 包含 16 个 miR-138 的结合位点, 能够调控靶 mRNA 来减弱 *circSry* 的过表达^[63]。与动物不同, 植物中只有少数的 circRNA 拥有 miRNA 结合位点(拟南芥 5%, 水稻 6.6%)^[16, 19, 21, 35]。Lu 等^[19]发现水稻中过表达的 *Os08circ16564* 可能与 *OsmiR172* 互作, 降低其亲本基因的表达水平, 但不影响 *OsmiR172* 本身的表达, 这说明该 circRNA 分子在体内并没有作为 miR172 海绵。另外, circRNA 的二级结构可能包含潜在的 miRNA 结合位点, 从而降低预测的准确度。

3.2 circRNA 表达模式

植物体内 circRNA 广泛存在, 在生长发育过程中具有重要作用。如 circRNA 通过激素信号转导、吡啉和叶绿素代谢等途径参与叶片衰老、花发育、果实成熟的调控^[29, 38, 58, 64]。同时, circRNA 在应对不同的环境胁迫时会出现差异表达现象。如在水稻磷饥饿处理时, 27 个外显子 circRNA 差异表达^[25]; 小麦在干旱胁迫情况下, 发现了 62 个差异表达的 circRNA^[30]; 在番茄响应冷胁迫过程中, 检测到 163 个 circRNA 差异表达^[32]; 同时, 大麦(*Hordeum vulgare*)用微量元素铁锌处理以及拟南芥在不同的光强度下, 也发现了不同程度差异表达的 circRNA^[21, 34]。在病原体侵入以及植物类病毒感染的生物胁迫过程中, circRNA 同样通过特异性表达实现不同的生物响应^[31, 33], 表明 circRNA 是植物体应对环境压力过程中重要的功能调控者。

由于 circRNA 的闭环结构没有 5'端和 3'端, 不容易被 RNA 外切酶降解^[63], 在应对生物与非生物胁迫时 circRNA 具有较长的响应周期, 可能在植物长距离传递信号中发挥一定功能。已有研究表明, 植

物类病毒能够利用 circRNA 基序直接在细胞与细胞间进行长距离运输^[65-67], 这些分子能够结合不同的功能蛋白, 通过木质部和韧皮部来传递细胞与细胞间信息的信号。但是, 植物内源性 circRNA 相关机制与功能研究尚未见报道。

3.3 circRNA 与蛋白互作

除了具有 miRNA 海绵功能外, circRNA 通过识别、储存、运输不同蛋白, 并将其携带到特定的亚细胞位置, 通过调控靶 mRNA 或核糖体生成的方式发挥其功能^[68, 69]。如 *ciR-7/CDRIas* 能够通过 AGO2 蛋白实现竞争性结合 miR-7^[62]; *circ-PABPN1* 竞争性结合 *HuR*, 抑制后者与 *PABPN1* 的 mRNA 结合, 降低 *PABPN1* 翻译效率^[70]; *circANRIL* 与 PES1 富含赖氨酸结构域的碳端相结合, 竞争抑制 PES1 与核糖体结合, 调控核糖体生成过程^[71]。同时, circRNA 能够通过蛋白互作, 参与包括细胞衰老、细胞周期、泛素化等多种生命过程。如 *circ-FOXO3* 通过与不同的因子互作参与衰老过程, 促进 MDM2 介导 p53 蛋白泛素化降解过程^[72, 73]。FOXO3 蛋白可微弱地结合 *circ-FOXO3*, 抑制 FOXO3 与 MDM2 的结合, 促进 FOXO3 的富集^[74]。*circ-Amotl1* 通过诱导 c-Myc 进入细胞核内从而促进肿瘤的发生, 能够与 Myb、

NF1、Akt、E2F1、E2F4、EGF 等多种蛋白相互作用^[75, 76]。但是, 由于 circRNA 与线性 RNA 在结构上存在明显差异, 通过传统的 RNA 结合蛋白实验验证难以实现^[77]。目前 circRNA 与蛋白互作分析的验证方法主要基于免疫沉淀分析, 包括蛋白质体外结合实验(RNA pull-down)、RNA 结合蛋白免疫沉淀(RNA binding protein immunoprecipitation)等技术, 荧光原位杂交技术和 RNase 保护分析的方法能够更为准确获得互作 circRNA 的序列。合理利用功能数据库(表 4)预测分析结果, 并结合实验验证, 能够填补植物中 circRNA 与蛋白互作研究的空缺。

3.4 circRNA 翻译

circRNA 并非是一类真正的非编码 RNA, 其中一部分具有可编码性^[83, 84]。在真核生物中, 经典的 mRNA 翻译依赖于 40s 核糖体亚基与 5'端帽子结合发生翻译过程^[85]。由于 circRNA 分子的闭合结构无法与核糖体亚基结合^[63], 因此 circRNA 可能依赖于其他翻译蛋白的途径。如 Mounir 等^[86]在水稻中发现了一种具有内部核糖体结合位点(IRES)的 circRNA 结构类病毒, 当 IRES 元件插入到起始密码子 AUG 的上游时, 能够启动翻译过程^[87]; Yang 等^[88]在人类细胞中证实 circRNA 能够通过 N6-甲基腺苷(m⁶A)途

表 4 circRNA 功能预测的在线工具

Table 4 Summary of online tools for functional prediction of circRNAs

数据库	类别	网址	说明	文献
Circinteractome	核糖核蛋白复合物预测分析	http://circinteractome.nia.nih.gov	提供人类 circRNA 上的 RNA 结合蛋白和 miRNA 结合位点信息, 检测引物设计工具, 设计用于 circRNA 沉默的 siRNA, 以及鉴定 circRNA 上潜在的内部核糖体切入位点	[78]
circIncRNAet	lncRNAs-circRNAs 互作与共表达预测分析	http://app.cgu.edu.tw/circInc/	提供灵活的框架及多个分析模块, 可接受和处理用户定义的 NGS 表达数据, 得到表达谱、共表达网络和通路以及分子相互作用信息	[79]
deepBase	非编码 RNA 与蛋白的互作预测分析	http://biocenter.sysu.edu.cn/deepBase/	提供 19 个物种不同的非编码 RNA 进化、表达和功能分化信息, 预测蛋白质-lncRNA-circRNA 互作网络	[80]
SomamiR 2.0	miRNA-lncRNA-circRNA 互作预测分析	http://compbio.uthsc.edu/SomamiR	提供体细胞突变对 miRNA 和 lncRNA 及 circRNA 互作的影响的分析, 集成数据库 miR2GO 工具, 及定位 miRNA 靶位点分析	[81]
CIRCpedia	可变剪切位点预测	http://www.picb.ac.cn/rnomics/circpedia/	提供人、小鼠、果蝇及蠕虫样本不同细胞系中 circRNAs 中可变剪切注释信息, 提供可变反向剪切 circRNA 的鉴定工具	[82]

径翻译蛋白; Zhou 等^[89]发现 eIF4G2 参与 m⁶A 修饰调控的 circRNA 翻译过程, 证明 m⁶A 修饰对 circRNA 的翻译具有直接影响。m⁶A 是真核生物体内 RNA 腺嘌呤碱基非常重要的甲基化修饰, 参与 RNA 剪接、翻译等多个过程, 在体内主要通过 YTH 结构域家族蛋白识别来调节 RNA 二级结构的稳定性以及调控 RNA 与蛋白的互作^[90]。目前, 对拟南芥中 m⁶A 修饰已有了初步认识, 其修饰位点通常位于 mRNA 的起始和终止密码子附近^[91, 92], 但是尚未见其他植物 circRNA 中 m⁶A 修饰的相关研究报道。

4 结语与展望

近年来, circRNA 的生物合成、分子调控等功能陆续被报道, 多个蛋白分别参与调控 RNA 的剪接作用。例如, FUS 蛋白介导 circRNA 的形成^[93]; 作为 CRISPR 家族 Cas-9 的同源蛋白 Csy4, 共表达后促进环化效率^[94]; Fei 等^[95]使用 CRISPR 技术筛选前列腺癌相关基因, 聚类分析得到 HNRNPL 拼接因子, 并通过 RIP-seq 实验验证了该因子参与调控 RNA 可变剪切和 circRNA 形成过程。这些研究不仅说明 circRNA 在各个生命周期过程中具有极大的调控潜能, 同时又受到其他分子的相互制约, 提示 circRNA 的发生以及调控机制的复杂性, 值得进一步研究。目前, 仍存在着大量未知领域, 如 circRNA 如何实现 miRNA 海绵作用, 如何更有效地使用生物信息学工具预测 circRNA, circRNA 在特殊组织和病变中如何表达调控等。

高通量测序与生物信息学分析显示 circRNA 广泛表达于不同的植物中, 且表达具有时空组织特异性。对 circRNA 特异性表达进行深入分析, 不仅能够丰富已有植物生长发育关键途径的调控网络, 而且能够作为植物病害提前发现的重要线索。同时, 植物 circRNA 表达与来源基因的相关性分析也为科研人员提供了新的研究思路。合理利用综合数据库及生物信息学工具, 将进一步推进 circRNA 的功能研究, 通过开发植物特异 circRNA 分析软件及植物综合数据库能够提高预测分析的准确度。综上所述, circRNA 的研究虽然已取得了一定的研究进

展, 但是对于植物 circRNA 的认识仍是一个漫长的过程。

参考文献(References):

- [1] Batista PJ, Chang HY. Long noncoding RNAs: Cellular address codes in development and disease. *Cell*, 2013, 152(6): 1298–1307. [DOI]
- [2] Guttman M, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature*, 2012, 482(7385): 339–346. [DOI]
- [3] Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. *Cell*, 2013, 154(1): 26–46. [DOI]
- [4] Baek D, Villén J, Shin C, Camargo FD, Gygi SP, Bartel DP. The impact of microRNAs on protein output. *Nature*, 2008, 455(7209): 64–71. [DOI]
- [5] Ebert MS, Neilson JR, Sharp PA. MicroRNA sponges: Competitive inhibitors of small RNAs in mammalian cells. *Nat Methods*, 2007, 4(9): 721–726. [DOI]
- [6] Ebert MS, Sharp PA. Emerging roles for natural microRNA sponges. *Curr Biol*, 2010, 20(19): R858–861. [DOI]
- [7] Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, Santini T, Sthandier O, Chinappi M, Tramontano A, Bozzoni I. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. *Cell*, 2011, 147(2): 358–369. [DOI]
- [8] Lu C, Huang YH. Progress in long non-coding RNAs in animals. *Hereditas (Beijing)*, 2017, 39(11): 1054–1065. 路畅, 黄银花. 动物长链非编码 RNA 研究进展. *遗传*, 2017, 39(11): 1054–1065. [DOI]
- [9] Lasda E, Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function. *RNA*, 2014, 20(12): 1829–1842. [DOI]
- [10] Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, Ivanov A, Bartok O, Hanan M, Evantal N, Memczak S, Rajewsky N, Kadener S. circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. *Mol Cell*, 2014, 56(1): 55–66. [DOI]
- [11] Starke S, Jost I, Rossbach O, Schneider T, Schreiner S, Hung LH, Bindereif A. Exon circularization requires canonical splice signals. *Cell Rep*, 2015, 10(1): 103–111. [DOI]
- [12] Wang Y, Wang ZF. Efficient backsplicing produces translatable circular mRNAs. *RNA*, 2015, 21(2): 172–179. [DOI]
- [13] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, Lu X, Chen LL, Yang L. Complementary sequence-mediated exon circularization.

- Cell*, 2014, 159(1): 134–147. [DOI]
- [14] Liang D, Wilusz JE. Short intronic repeat sequences facilitate circular RNA production. *Genes Dev*, 2014, 28(20): 2233–2247. [DOI]
- [15] Conn SJ, Pillman KA, Toubia J, Conn VM, Salmanidis M, Phillips CA, Roslan S, Schreiber AW, Gregory PA, Goodall GJ. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs. *Cell*, 2015, 160(6): 1125–1134. [DOI]
- [16] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, Torti F, Krueger J, Rybak A, Maier L, Mackowiak SD, Gregersen LH, 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. *Nature*, 2013, 495(7441): 333–338. [DOI]
- [17] Salzman J, Gawad C, Wang PL, Lacayo N, Brown PO. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30733. [DOI]
- [18] Lee SM, Kong HG, Ryu CM. Are circular RNAs new kids on the block? *Trends Plant Sci*, 2017, 22(5): 357–360. [DOI]
- [19] Lu TT, Cui LL, Zhou Y, Zhu CR, Fan DL, Gong H, Zhao Q, Zhou CC, Zhao Y, Lu DF, Luo JH, Wang YC, Tian QL, Feng Q, Huang T, Han B. Transcriptome-wide investigation of circular RNAs in rice. *RNA*, 2015, 21(12): 2076–2087. [DOI]
- [20] Wang PL, Bao Y, Yee MC, Barrett SP, Hogan GJ, Olsen MN, Dinneny JR, Brown PO, Salzman J. Circular RNA is expressed across the eukaryotic tree of life. *PLoS One*, 2014, 9(6): e90859. [DOI]
- [21] Ye CY, Chen L, Liu C, Zhu QH, Fan L. Widespread noncoding circular RNAs in plants. *New Phytol*, 2015, 208(1): 88–95. [DOI]
- [22] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, Gross HJ, Kleinschmidt AK. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, 73(11): 3852–3856. [DOI]
- [23] Kos A, Dijkema R, Arnberg AC, van der Meide PH, Schellekens H. The hepatitis delta (δ) virus possesses a circular RNA. *Nature* 1986, 322(6088): 558–560. [DOI]
- [24] Hsu MT, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells. *Nature*, 1979, 280(5720): 339–340. [DOI]
- [25] Cocquerelle C, Mascrez B, Hétiuin D, Bailleul B. Mis-splicing yields circular RNA molecules. *FASEB J*, 1993, 7(1): 155–160. [DOI]
- [26] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, Slevin MK, Burd CE, Liu J, Marzluff WF, Sharpless NE. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA*, 2013, 19(2): 141–157. [DOI]
- [27] Guo JU, Agarwal V, Guo H, Bartel DP. Expanded identification and characterization of mammalian circular RNAs. *Genome Biol*, 2014, 15(7): 409. [DOI]
- [28] Wang PL, Bao Y, Yee MC, Barrett SP, Hogan GJ, Olsen MN, Dinneny JR, Brown PO, Salzman J. CircularRNA is expressed across the eukaryotic tree of life. *PLoS One*, 2014, 9(e): 90859. [DOI]
- [29] Liu T, Zhang L, Chen G, Shi T. Identifying and characterizing the circular RNAs during the lifespan of Arabidopsis leaves. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1278. [DOI]
- [30] Wang Y, Yang M, Wei S, Qin F, Zhao H, Suo B. Identification of Circular RNAs and their targets in leaves of *Triticum aestivum* L. under dehydration stress. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 2024. [DOI]
- [31] Jiang JH, Zhang ZX, Hu B, Hu GB, Wang HQ, Faure C, Marais A, Candresse T, Li SF. Identification of a viroid-like RNA in a lychee transcriptome shotgun assembly. *Virus Res*, 2017, 240: 1–7. [DOI]
- [32] 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, 479(2): 132–138. [DOI]
- [33] Wang ZP, Liu YF, Li DW, Li L, Zhang Q, Wang SB, Huang HW. Identification of Circular RNAs in kiwifruit and their species-specific response to bacterial canker pathogen invasion. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 413. [DOI]
- [34] Darbani B, Noeparvar S, Borg S. Identification of Circular RNAs from the Parental Genes Involved in Multiple Aspects of Cellular Metabolism in Barley. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 776. [DOI]
- [35] Sun XY, Wang L, Ding JC, Wang YR, Wang JS, Zhang XY, Che YL, Liu ZW, Zhang XR, Ye JZ, Wang J, Sablok G, Deng ZP, Zhao HW. Integrative analysis of Arabidopsis thaliana transcriptomics reveals intuitive splicing mechanism for circular RNA. *FEBS Lett*, 2016, 590(20): 3510–3516. [DOI]
- [36] Xu SB, Xiao SJ, Qiu CJ, Wang ZY. Transcriptome-wide identification and functional investigation of circular RNA in the teleost large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Mar Genomics*, 2017, 32: 71–78. [DOI]

- [37] Ye CY, Zhang X, Chu Q, Liu C, Yu Y, Jiang W, Zhu QH, Fan L, Guo L. Full-length sequence assembly reveals circular RNAs with diverse non-GT/AG splicing signals in rice. *RNA Biol*, 2017, 14(8): 1055–1063. [DOI]
- [38] Zhao W, Cheng YH, Zhang C, You QB, Shen XJ, Guo W, Jiao YQ. Genome-wide identification and characterization of circular RNAs by high throughput sequencing in soybean. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5636. [DOI]
- [39] Chen L, Yu YY, Zhang XC, Liu C, Ye CY, Fan LQ. PcircRNA_finder: a software for circRNA prediction in plants. *Bioinformatics*, 2016, 32(22): 3528–3529. [DOI]
- [40] Westholm JO, Miura P, Olson S, Shenker S, Joseph B, Sanfilippo P, Celniker SE, Graveley BR, Lai EC. Genome-wide analysis of *drosophila* circular RNAs reveals their structural and sequence properties and age-dependent neural accumulation. *Cell Rep*, 2014, 9(5): 1966–1980. [DOI]
- [41] Gao Y, Wang JF, Zhao FQ. CIRI: an efficient and unbiased algorithm for de novo circular RNA identification. *Genome Biol*, 2015, 16: 4. [DOI]
- [42] Gao Y, Zhang JY, Zhao FQ. Circular RNA identification based on multiple seed matching. *Brief Bioinform*, 2017, bbx014. [DOI]
- [43] Wang K, Singh D, Zeng Z, Coleman SJ, Huang Y, Savich GL, He XP, Mieczkowski P, Grimm SA, Perou CM, Macleod JN, Chiang DY, Prins JF, Liu JZ. MapSplice: accurate mapping of RNA-seq reads for splice junction discovery. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(18): e178. [DOI]
- [44] Salzman J, Chen RE, Olsen MN, Wang PL, Brown PO. Cell-type specific features of circular RNA expression. *PLoS Genet*, 2013, 9(9): e1003777. [DOI]
- [45] Szabo L, Morey R, Palpant NJ, Wang PL, Afari N, Jiang C, Parast MM, Murry CE, Laurent LC, Salzman J. Statistically based splicing detection reveals neural enrichment and tissue-specific induction of circular RNA during human fetal development. *Genome Biol*, 2015, 16: 126. [DOI]
- [46] Chuang TJ, Wu CS, Chen CY, Hung LY, Chiang TW, Yang MY. NCLscan: accurate identification of non-co-linear transcripts (fusion, trans-splicing and circular RNA) with a good balance between sensitivity and precision. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(3): e29. [DOI]
- [47] Gao Y, Zhao FQ. Computational Strategies for Exploring Circular RNAs. *Trends Genet*, 2018, 34(5): 389–400. [DOI]
- [48] Hansen TB, Veno MT, Damgaard CK, Kjems J. Comparison of circular RNA prediction tools. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): e58. [DOI]
- [49] Glažar P, Papavasileiou P, Rajewsky N. circBase: A database for circular RNAs. *RNA*, 2014, 20(11): 1666–1670. [DOI]
- [50] Ghosal S, Das S, Sen R, Basak P, Chakrabarti J. Circ2Traits: a comprehensive database for circular RNA potentially associated with disease and traits. *Front Genet*, 2013, 4: 283. [DOI]
- [51] Liu YC, Li JR, Sun CH, Andrews E, Chao RF, Lin FM, Weng SL, Hsu SD, Huang CC, Cheng C, Liu CC, Huang HD. CircNet: a database of circular RNAs derived from transcriptome sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(Database issue): D209–215. [DOI]
- [52] Xia SY, Feng J, Chen K, Ma YB, Gong J, Cai FF, Jin YX, Gao Y, Xia LJ, Chang H, Wei L, Han L, He CJ. CSCD: A database for cancer-specific circular RNAs. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(Database issue): D925–D929. [DOI]
- [53] Chen XP, Han P, Zhou T, Guo XJ, Song XF, Li Y. circRNADb: A comprehensive database for human circular RNAs with protein-coding annotations. *Sci Rep*, 2016, 6: 34985. [DOI]
- [54] Chu Q, Zhang X, Zhu X, Liu C, Mao L, Ye C, Zhu QH, Fan L. PlantcircBase: A Database for Plant Circular RNAs. *Mol Plant*, 2017, 10(8): 1126–1128. [DOI]
- [55] Zhang PJ, Meng XW, Chen HJ, Liu YJ, Xue JT, Zhou YC, Chen M. PlantCircNet: a database for plant circRNA–miRNA–mRNA regulatory networks. *Database*, 2017, 2017: bax089. [DOI]
- [56] Ye JZ, Wang L, Li SZ, Zhang QR, Zhang L Q, Tang WH, Wang K, Song K, Sablok G, Sun XY, Zhao HW. AtCircDB: a tissue-specific database for *Arabidopsis* circular RNAs. *Brief Bioinform*, 2017, bbx089. [DOI]
- [57] Ivanov A, Memczak S, Wyler E, Torti F, Porath HT, Orejuela MR, Piechotta M, Levanon EY, Landthaler M, Dieterich C, Rajewsky N. Analysis of intron sequences reveals hallmarks of circular RNA biogenesis in animals. *Cell Rep*, 2015, 10(2): 170–177. [DOI]
- [58] Zhang G, Duan A, Zhang J, He C. Genome-wide analysis of long non-coding RNAs at the mature stage of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* Linn) fruit. *Gene*, 2017, 596: 130–136. [DOI]
- [59] Chen LL. The biogenesis and emerging roles of circular RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(4): 205–211. [DOI]
- [60] Zhang Y, Xue W, Li X, Zhang J, Chen S, Zhang JL, Yang

- L, Chen LL. The biogenesis of nascent circular RNAs. *Cell Rep*, 2016, 15(3): 611–624. [DOI]
- [61] Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: Contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(2): 99–110. [DOI]
- [62] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK, Kjems J. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 2013, 495(7441): 384–388. [DOI]
- [63] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(5): 453–461. [DOI]
- [64] Conn VM, Hugouvieux V, Nayak A, Conos SA, Capovilla G, Cildir G, Jourdain A, Tergaonkar V, Schmid M, Zubieta C, Conn SJ. A circRNA from SEPALLATA3 regulates splicing of its cognate mRNA through R-loop formation. *Nat Plants*, 2017, 3: 17053. [DOI]
- [65] Wang Y, Ding B. Viroids: small probes for exploring the vast universe of RNA trafficking in plants. *J Integr Plant Biol*, 2010, 52(1): 28–39. [DOI]
- [66] Qi Y, Pélissier T, Itaya A, Hunt E, Wassenegger M, Ding B. Direct role of a viroid RNA motif in mediating directional RNA trafficking across a specific cellular boundary. *Plant Cell*, 2004, 16(7): 1741–1752. [DOI]
- [67] Ding B, Itaya A, Zhong XH. Viroid trafficking: A small RNA makes a big move. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8(6): 606–612. [DOI]
- [68] Hentze MW, Preiss T. Circular RNAs: splicing's enigma variations. *EMBO J*, 2013, 32(7): 923–925. [DOI]
- [69] Du WW, Zhang C, Yang W, Yong T, Awan FM, Yang BB. Identifying and characterizing circRNA-protein interaction. *Theranostics*, 2017, 7(17): 4183–4191. [DOI]
- [70] Abdelmohsen K, Panda AC, Munk R, Grammatikakis I, Dudekula DB, De S, Kim J, Noh JH, Kim KM, Martindale JL, Gorospe M. Identification of HuR target circular RNAs uncovers suppression of PABPN1 translation by CircPABPN1. *RNA Biol*, 2017, 14(3): 361–369. [DOI]
- [71] Holdt LM, Stahringer A, Sass K, Pichler G, Kulak NA, Wilfert W, Kohlmaier A, Herbst A, Northoff BH, Nicolaou A, Gabel G, Beutner F, Scholz M, Thierry J, Musunuru K, Krohn K, Mann M, Teupser D. Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans. *Nat Commun*, 2016, 7: 12429. [DOI]
- [72] Li J, Zhang YJ, Li DM, Liu YC, Chu DP, Jiang XH, Hou DX, Zen K, Zhang CY. Small non-coding RNAs transfer through mammalian placenta and directly regulate fetal gene expression. *Protein Cell*, 2015, 6(6): 391–396. [DOI]
- [73] Du WW, Yang WN, Liu E, Yang ZG, Dhaliwal P, Yang BB. Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2846–2858. [DOI]
- [74] Du WW, Fang L, Yang WH, Wu N, Awan FM, Yang ZG, Yang BB. Induction of tumor apoptosis through a circular RNA enhancing Foxo3 activity. *Cell Death Differ*, 2017, 24(2): 357–370. [DOI]
- [75] Yang Q, Du WW, Wu N, Yang W, Awan FM, Fang L, Ma J, Li X, Zeng Y, Yang Z, Dong J, Khorshidi A, Yang BB. A circular RNA promotes tumorigenesis by inducing c-myc nuclear translocation. *Cell Death Differ*, 2017, 24(9): 1609–1620. [DOI]
- [76] Yang ZG, Awan FM, Du WW, Zeng Y, Lyu J, Wu, Gupta S, Yang W, Yang BB. The circular RNA interacts with STAT3, increasing its nuclear translocation and wound repair by modulating Dnmt3a and miR-17 function. *Mol Ther*, 2017, 25(9): 2062–2074. [DOI]
- [77] You XT, Vlatkovic I, Babic A, Will T, Epstein I, Tushev G, Akbalik G, Wang M, Glock C, Quedenau C, Wang X, Hou JY, Liu HY, Sun W, Sambandan S, Chen T, Schuman EM, Chen W. Neural circular RNAs are derived from synaptic genes and regulated by development and plasticity. *Nat Neurosci*, 2015, 18(4): 603–610. [DOI]
- [78] Dudekula DB, Panda AC, Grammatikakis I, De S, Abdelmohsen K, Gorospe M. CircInteractome: A web tool for exploring circular RNAs and their interacting proteins and microRNAs. *RNA Biol*, 2016, 13(1): 34–42. [DOI]
- [79] Wu SM, Liu H, Huang PJ, Chang IY, Lee CC, Yang CY, Tsai WS, Tan BC. circLncRNA.net: An integrated web-based resource for mapping functional networks of long or circular forms of non-coding RNAs. *GigaScience*, 2018, 7(1): 1–10. [DOI]
- [80] Zheng LL, Li JH, Wu J, Sun WJ, Liu S, Wang ZL, Zhou H, Yang JH, Qu LH. deepBase v2.0: Identification, expression, evolution and function of small RNAs, LncRNAs and circular RNAs from deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(D1): D196–D202. [DOI]
- [81] Bhattacharya A, Cui Y. SomamiR 2.0: A database of cancer somatic mutations altering microRNA-ceRNA interactions. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(D1): D1005–D1010. [DOI]
- [82] Zhang XO, Dong R, Zhang Y, Zhang JL, Luo Z, Zhang J, Chen LL, Yang L. Diverse alternative back-splicing and

- alternative splicing landscape of circular RNAs. *Genome Res*, 2016, 26(9): 1277–1287. [DOI]
- [83] 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. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 22–37.e9. [DOI]
- [84] Pamudurti NR, Bartok O, Jens M, Ashwal-Fluss R, Stottmeister C, Ruhe L, Hanan M, Wyler E, Perez-Hernandez D, Ramberger E, Shenxis S, Samson M, Dittmar G, Landthaler M, Chekulaeva M, Rajewsky N, Kadener S. Translation of CircRNAs. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 9–21.e7. [DOI]
- [85] Sonenberg N, Hinnebusch AG. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. *Cell*, 2009, 136(4): 731–745. [DOI]
- [86] AbouHaidar MG, Venkataraman S, Golshani A, Liu BL, Ahmad T. Novel coding, translation, and gene expression of a replicating covalently closed circular RNA of 220 nt. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(40): 14542–14547. [DOI]
- [87] Perriman R, Ares M Jr. Circular mRNA can direct translation of extremely long repeating-sequence proteins *in vivo*. *RNA*, 1998, 4(9): 1047–1054. [DOI]
- [88] Yang Y, Fan XJ, Mao MW, Song XW, Wu P, Zhang Y, Jin YF, Yang Y, Chen LL, Wang Y, Wong CCL, Xiao XS, Wang ZF. Extensive translation of circular RNAs driven by N⁶-methyladenosine. *Cell Res*, 2017, 27(5): 626–641. [DOI]
- [89] Zhou C, Molinie B, Daneshvar K, Pondick JV, Wang JK, Van Wittenberghe NO, Xing Y, Giallourakis CC, Mullen AC. Genome-Wide maps of m6A circRNAs identify widespread and Cell-Type-Specific methylation patterns that are distinct from mRNAs. *Cell Rep*, 2017, 20(9): 2262–2276. [DOI]
- [90] Meyer KD, Jaffrey SR. The dynamic epitranscriptome: N6-methyladenosine and gene expression control. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(5): 313–326. [DOI]
- [91] Luo GZ, Macqueen A, Zheng G, Duan H, Dore LC, Lu Z, Liu J, Chen K, Jia G, Bergelson J, He C. Unique features of the m6A methylome in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Commun*, 2014, 5: 5630. [DOI]
- [92] Wan YZ, Tang K, Zhang DY, Xie SJ, Zhu XH, Wang ZG, Lang ZQ. Transcriptome-wide high-throughput deep m(6)A-seq reveals unique differential m(6)A methylation patterns between three organs in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Biol*, 2015, 16: 272. [DOI]
- [93] Errichelli L, Dini Modigliani S, Laneve P, Colantoni A, Legnini I, Caputo D, Rosa A, De Santis R, Scarfò R, Peruzzi G, Lu L, Caffarelli E, Shneider NA, Morlando M, Bozzoni I. FUS affects circular RNA expression in murine embryonic stem cell-derived motor neurons. *Nat Commun*, 2017, 8: 14741. [DOI]
- [94] Borchardt EK, Meganck RM, Vincent HA, Ball CB, Ramos SBV, Moorman NJ, Marzluff WF, Asokan A. Inducing circular RNA formation using the CRISPR endoribonuclease Csy4. *RNA*, 2017, 23(5): 619–627. [DOI]
- [95] Fei T, Chen Y, Xiao T, Li W, Cato L, Zhang P, Cotter MB, Bowden M, Lis RT, Zhao SG, Wu Q, Feng FY, Loda M, He HH, Liu XS, Brown M. Genome-wide CRISPR screen identifies HNRNPL as a prostate cancer dependency regulating RNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(26): E5207–E5215. [DOI]

(责任编辑: 赵方庆)