ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ, 2020, том 67, № 4, с. 357–368

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.1.57.05;58.01

ПРЕДСКАЗАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ миРНК В мРНК ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ TCP РАСТЕНИЙ

© 2020 г.
А. К. Рахметуллина[a], А. Ю. Пыркова[a], А. В. Гончарова[a], А. Т. Иващенко[a], *

[a] *Казахский Национальный университет им. аль-Фараби, факультет биологии и биотехнологии, Алматы, Казахстан*

**e-mail: a_ivashchenko@mail.ru*

Поступила в редакцию 07.08.2019 г.
После доработки 20.01.2020 г.
Принята к публикации 20.01.2020 г.

Экспрессия генов семейства транскрипционных факторов TCP зависит от миРНК, действие которых на трансляцию их мРНК слабо изучено. Анализ взаимодействия миРНК с мРНК проведен с помощью программы MirTarget, определяющей количественные характеристики связывания всей нуклеотидной последовательности миРНК с мРНК. При анализе связывания 125 миРНК с мРНК 28 генов семейства TCP *Triticum aestivum* обнаружены восемь генов-мишеней для miR319-3p, miR444a-3p, miR5086-5p, miR9666a-3p, miR9780-3p. Сайты связывания миРНК в мРНК генов семейства TCP *T. aestivum* располагались только в CDS. Из 738 миРНК с мРНК 22 генов семейства TCP *Oryza sativa* только 12 генов связывались с miR1437b-5p, miR1846a-5p, miR1848-5p, miR1858a-5p, miR1858b-5p, miR1861d-5p, miR1861h-5p, miR2102-3p, miR2102-5p, miR2919, miR2925-5p, miR319a-3 miR408-3p, miR5075-3p, miR5819-5p. Сайты связывания миРНК в мРНК генов семейства *TCP O. sativa* располагались в 5'UTR и CDS. Из 46 генов семейства TCP *Zea mays* только десять генов были мишенями для miR164g-3p, miR164h-5p, miR166a-5p, miR168a-5p, miR171d-5p, miR399d-3p и miR408a-3p из 325 миРНК *Z. mays*. С мРНК генов GRMZM2G031905_P01, GRMZM2G055024_P01, GRMZM2G062711_P01 и GRMZM2G170232_P01 связывались zma-miR166a-5p. С мРНК генов AC213524.3_FGP003, AC233950.1_FGP002, GRMZM2G034638_P01 связывались по две миРНК. мРНК генов GRMZM2G035944_P01, AC190734.2_FGP003 и AC205574.3_FGP006 связывали по одной миРНК. Сайты связывания миРНК располагались 5'UTR и CDS мРНК генов семейства TCP *Z. mays*. Из 27 генов семейства TCP *Arabidopsis thaliana* десять были мишенями для miR319-3p, miR4228-5p, miR4228-3p, miR5021-5p, miR5658-5p и miR8181-5p из 429 миРНК *A. thaliana*. мРНК генов AT1G53230 и AT2G31070 имели сайты связывания для miR319c-3p, miR5021-5p и miR5658-5p, а мРНК гена AT3G15030 имела сайты связывания для miR319a-3p и miR4228-3p. По две миРНК связывались с мРНК генов AT1G69690, AT3G02150 и AT3G47620. По одной миРНК связывалось с мРНК генов AT1G30210, AT4G18390 и AT5G08330. Сайты связывания миРНК располагались в 5'UTR, CDS и 3'UTR мРНК генов семейства TCP *A. thaliana*. В мРНК шести групп генов семейства TCP установлены сайты связывания с miR319-3p, miR444a-3p, mir5021-5p, miR5658-5p, miR2102-5p, которые кодируют олигопептиды QRGPLQS, STSETS, SSSSSS, HHHHHH, GGGGGG, AAAAAA, консервативные в группах белков семейства TCP различных видов растений. Предсказаны количественные характеристики связывания миРНК с мРНК транскрипционных факторов растений семейства TCP, участвующих в регуляции роста и развития растений.

Ключевые слова: миРНК, мРНК, сайт связывания, гены, транскрипционный фактор, TCP, растение

DOI: 10.31857/S0015330320040144

ВВЕДЕНИЕ

Транскрипционные факторы (ТФ) семейства TCP участвуют во многих процессах развития и роста растений [1]. Согласно базе данных факторов транскрипции растений, семейство TCP включает 4187 генов различных видов растений. Гены семейства TCP участвуют в апикальном доминировании [2], контроле двусторонней цветовой симметрии [2, 3], регуляции клеточного цикла [4],

Сокращения: миРНК – малая РНК, ингибирующая трансляцию мРНК; мРНК – матричная (информационная) рибонуклеиновая кислота; ΔG – свободная энергия связывания миРНК; ΔGm – свободная энергия связывания миРНК с полной комплементарной ей нуклеотидной последовательностью; н. – нуклеотид; TCP – семейство транскрипционных факторов растений (от англ. Teosinte branched1/ Cincinnata/proliferating cell factor (TCP) family); 3'UTR – от англ. 3'-untranslated region; 5'UTR – от англ. 5'-untranslated region; CDS – от англ. coding sequence.

способствуют развитию листьев путем клеточного деления, роста и дифференциации [2]. Эти процессы регулируются многими миРНК, подавляющими экспрессию генов-мишеней на этапе трансляции. После открытия миРНК у растений [5] были проведены исследования биогенеза и участия миРНК во многих физиологических процессах [6–10]. Было показано участие miR159 в регуляции транскрипционных факторов семейства MYB, а miR319 на TCP [11, 12]. Показано участие miR156, miR159, miR160, miR164, miR172 и miR319 в развитии цветков путем регуляции транскрипционных факторов SPL, MYB, ARF, NAC, AP2 и TCP, соответственно [13]. Обнаружено участие miR156, miR164, miR167, miR319, miR399, miR444, miR1507, miR2673 в регуляции метаболизма ананаса, кукурузы и люпина [14–16]. Показано, что miR160, miR166, miR156, miR164 и miR394 участвуют в индукции эмбриогенеза каллуса, дифференцировки растений, ауксиновых ответов и тотипотентности [17]. Функции генов-мишеней miR159, miR167, miR396, miR166, miR168, miR156, miR165, miR162 и miR394 включают передачу сигнала гормонов женьшеня, регуляцию транскрипции, макромолекулярный метаболизм и передачу сигналов ауксина [18]. miR156, miR160, miR166, miR167, miR168, miR172, miR319, miR390, miR399, miR408 и miR2275 участвуют в регуляции деления клеток и развития путем действия на различные транскрипционные факторы кукурузы [19]. С помощью биоинформатического анализа были обнаружены, pbr-miR156, pbr-miR164, pbr-miR399 и pbr-miR482, участвующие в защите груши от вирусов, а pbr-miR160, pbr-miR168, pbr-miR171 и pbr-miR319 посредством регуляции сигнальных путей с участием ауксина [20]. Установлена значительная разнонаправленная регуляция экспрессии miR164, miR171, miR396, miR399, miR395, miR408, miR528, miR529, miR820, miR1432, miR1846, miR1861, miR2102 и miR2907 в ответ на действие мышьяка на растения риса [21]. В большинстве цитируемых выше работ, изучалось действие миРНК на экспрессию генов и физиологические процессы без установления конкретных связей миРНК с их генами-мишенями. Влияние миРНК на экспрессию генов ТФ TCP, играющих важную роль в росте и развитии растений, мало исследовано. В настоящей работе, используя биоинформатические подходы, изучены количественные характеристики взаимодействия миРНК с мРНК генов ТФ TCP, для установления ассоциации миРНК и генов-мишеней способных регулировать физиологические процессы в растениях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нуклеотидные последовательности генов семейства TCP *Triticum aestivum*, *Oryza sativa*, *Zea mays*, *Arabidopsis thaliana* и других видов растений были взяты из базы ТФ растений v4.0 (http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn; http://www.ncbi.nlm.nih.gov). Нуклеотидные последовательности миРНК были взяты из miRBase v.22 (http://www.mirbase.org/). Вариабельность аминокислотных последовательностей оценивали программой WebLogo (https://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi). Сайты связывания миРНК в мРНК генов были предсказаны с помощью программы MirTarget [22]. Эта программа определяет следующие особенности связывания миРНК с мРНК: а) начало сайтов связывания миРНК с мРНК; б) расположение сайтов в 5'-нетранслируемом участке (5'UTR), в белок-кодирующей части (CDS) и в 3'-нетранслируемом участке (3'UTR) мРНК; в) свободную энергию взаимодействия миРНК и мРНК (ΔG, кДж/моль); г) схемы взаимодействия нуклеотидов между миРНК и мРНК. По всей длине сайта связывания в мРНК допускается образование только одного однонуклеотидного пузыря “bulge”. Расчетные характеристики взаимодействия миРНК с мРНК приведены для отношения их концентраций 1 : 1. При изменении отношения концентраций доля комплексов миРНК с мРНК будет существенно изменяться согласно кинетическим уравнениям ингибитор-мишень. Для каждого сайта рассчитывали отношение $\Delta G/\Delta Gm$ (%), где ΔGm равно свободной энергии связывания миРНК с полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью. Внутримолекулярные взаимодействия в мРНК с участием сайта связывания миРНК всегда меньше, чем взаимодействия между миРНК и мРНК в сайтах связывания. Это нами многократно проверялось с помощью программ мРНК-фолдинг. Мы делали вставку нуклеотидной последовательности миРНК в разные участки мРНК, и миРНК всегда взаимодействовала с предсказанным сайтом связывания. То есть, итоговая свободная энергия взаимодействия миРНК с мРНК способствовала связыванию миРНК.

Позиция сайтов связывания указана от первого нуклеотида мРНК. Учитываются связи не только между аденином (A) и урацилом (U), гуанином (G) и цитозином (C), но и взаимодействия между A и C, G и U посредством одной водородной связи. Расстояния между A и C (1.04 нанометра), G и U (1.02 нм) были аналогичны и между G и C, A и U и равны 1.03 нм [23]. Число водородных связей во взаимодействиях G–C, A–U, G–U и A–C было равным 3, 2, 1 и 1 соответственно. MirTarget по сравнению с программами для нахождения сайтов связывания миРНК с мРНК генов растений [24] отличается тем, что: 1) учитывает взаимодействие миРНК с мРНК по всей последовательности миРНК; 2) учитывает неканонические пары G–U и A–C; 3) рассчитывает свободную энергию взаимодействия миРНК с мРНК.

Список сокращенных названий видов растений, используемых в данной работе: *Aegilops taus-*

Таблица 1. Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК в CDS мРНК генов TCP *Triticum aestivum*

Ген	миРНК	Начало сайта, н.	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина, н.
TRAES3BF014900010CFD_t1	miR319-3p	1106	–98	85	21
Traes_2AL_EA60A06AC.1	miR444a-3p	839	–98	85	21
Traes_2AL_EA60A06AC.1	miR444a-3p	1062	–102	89	21
Traes_2BL_36A3AB3A2.1	miR444a-3p	866	–98	85	21
Traes_2BL_36A3AB3A2.1	miR444a-3p	1089	–102	89	21
Traes_4DS_59A46B69A.1	miR5086-5p	132	–98	87	21
Traes_4AL_75D069945.1	miR5086-5p	132	–98	87	21
Traes_2AL_B05A4E316.1	miR9666a-3p	17	–104	86	22
Traes_2BL_4B6057E06.1	miR9666a-3p	161	–104	86	22
Traes_2BL_36A3AB3A2.1	miR9780-3p	991	–113	88	21

Примечание. ΔG – свободная энергия связывания миРНК; ΔGm – свободная энергия связывания миРНК с полной комплементарной ей нуклеотидной последовательностью; н. – нуклеотид.

chii – Ata, Aethionema arabicum – Aar, Amborella trichopoda – Atr, Ananas comosus – Aco, Arabidopsis halleri – Aha, Arabidopsis lyrata – Aly, Arabidopsis thaliana – Ath, Arabis alpina – Aal, Azadirachta indica – Ain, Boechera stricta – Bst, Brachypodium distachyon – Bdi, Brachypodium stacei – Bsa, Brassica napus – Bna, Brassica oleracea – Bol, Brassica rapa – Bra, Camelina sativa – Csa, Capsella grandiflora – Cgr, Capsella rubella – Cru, Carica papaya – Cpa, Citrus clementina – Ccl, Citrus sinensis – Csi, Dichanthelium oligosanthes – Dol, Elaeis guineensis – Egu, Eucalyptus grandis – Egr, Eutrema salsugineum – Esa, Glycine max – Gma, Gossypium arboreum – Gar, Gossypium hirsutum – Ghi, Gossypium raimondii – Gra, Hordeum vulgare – Hvu, Leersia perrieri – Lpe, Musa acuminata – Mac, Oropetium thomaeum – Oth, Oryza barthii – Oba, Oryza brachyantha – Obr, Oryza glaberrima – Ogl, Oryza glumaepatula – Ogu, Oryza longistaminata – Olo, Oryza meridionalis – Ome, Oryza nivara – Oni, Oryza punctata – Opu, Oryza rufipogon – Oru, Oryza sativa subsp. indica – Osai, Oryza sativa subsp. japonica – Osa j, Panicum hallii – Pha, Panicum virgatum – Pvi, Phalaenopsis equestris – Peq, Phoenix dactylifera – Pda, Phyllostachys heterocycla – Phe, Populus trichocarpa – Ptr, Raphanus raphanistrum – Rra, Raphanus sativus – Rsa, Setaria italica – Sit, Setaria viridis – Svi, Sisymbrium irio – Sir, Solanum lycopersicum – Sly, Sorghum bicolor – Sbi, Spirodela polyrhiza – Spo, Tarenaya hassleriana – Tha, Thellungiella parvula – Tpa, Theobroma cacao – Tca, Triticum aestivum – Tae, Zea mays – Zma, Zostera marina – Zmr, Zoysia matrella – Zmt, Zoysia japonica – Zja, Zoysia pacifica – Zpa.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК с мРНК генов TCP Triticum aestivum

Для выявления миРНК, мишенями которых являются гены семейства ТФ TCP, был проведен поиск сайтов связывания 125 миРНК генома пшеницы с мРНК 28 генов семейства TCP *T. aestivum*. Обнаружено восемь генов-мишеней для miR319-3p, miR444a-3p, miR5086-5p, miR9666a-3p, miR9780-3p (табл. 1). Два сайта связывания в мРНК гена Traes_2AL_EA60A06AC.1 имела miR444a-3p, расстояние между которыми составляет 223 н. Такое же расстояние между двумя сайтами связывания имела miR444a-3p в мРНК гена Traes_2BL_36A3AB3A2.1 и один сайт связывания выявлен для miR9780-3p. Две или более миРНК, которые связываются с мРНК одного гена, мы называли альтернативными миРНК. Гены Traes_2AL_EA60A06AC.1 и Traes_2BL_36A3AB3A2.1 были альтернативными генами-мишенями для miR444a-3p. Для miR5086-5p альтернативными генами-мишенями являются Traes_4DS_59A46B69A.1 и Traes_4AL_75D069945.1 (табл. 1). Сайты связывания миРНК в мРНК генов семейства TCP *T. aestivum* располагались только в CDS. Эффективность действия миРНК определяется свободной энергией взаимодействия с мРНК и соотношением концентрации миРНК и мРНК. Две и более миРНК или одна миРНК, имеющая несколько сайтов связывания, могут оказывать повышенное влияние на экспрессию генов-мишеней.

Мишенями для миРНК являются не только гены семейства TCP *T. aestivum*, но и гены семейства TCP других организмов. tae-miR319-3p, имеющая сходные нуклеотидные последовательности в *A. thaliana, O. sativa* и *Z. mays*, связывалась в мРНК генов TRAES3BF014900010CFD_t1 *T. aestivum*, гена LOC_Os01g11550.1 *O. sativa*, генов AC205574.3_FGP006 и GRMZM2G015037_P01 *Z. mays*, генов AT3G15030 и AT1G53230 *A. thaliana* с близкими характеристиками. Учет образования неканонических пар A–C и G–U увеличивает свободную энергию взаимодействия миРНК с мРНК. Нуклеотидные последовательности сайтов связывания tae-miR319-3p в этих мРНК гомологичны и кодируют олигопептид QRGPLQS (рис. 1а). Сайты связывания tae-miR319-3p кодируют консервативный олигопептид QRGPLQS в

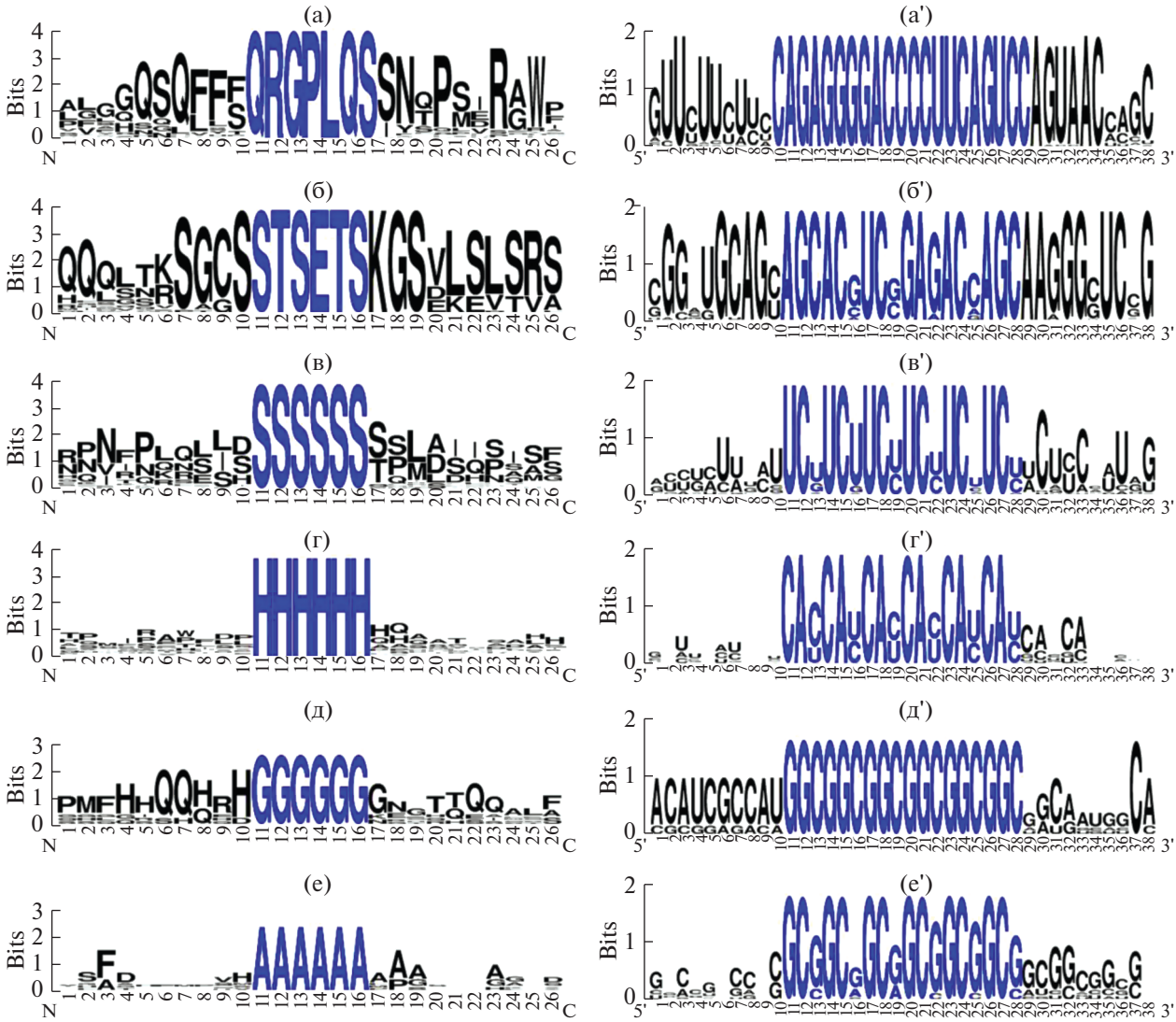

Рис. 1. Вариабельность аминокислот олигопептидов, кодируемых сайтами связывания миРНК с мРНК, и вариабельность нуклеотидов сайтов связывания, кодирующих белки TCP разных растений. (а) – Олигопептид QRGPLQS, кодируемый сайтами связывания tae-miR319-3p в мРНК 56 генов у 54 видов растений; (а') – олигонуклеотид CAGAGGGGACCCCUUCAGUCC сайтов связывания, кодирующий олигопептид QRGPLQS. (б) – Олигопептид STSETS, кодируемый сайтами связывания tae-miR444a-3p в мРНК 29 генов у 28 видов растений; (б') – олигонуклеотид AGCACGUCGGAGACCAGC сайтов связывания, кодирующий олигопептид STSETS. (в) – Олигопептид SSSSSS, кодируемый сайтами связывания ath-mir5021-5p в мРНК 30 генов у 17 видов растений; (в') – Weblogo для набора нуклеотидов, кодирующих олигопептид SSSSSS. (г) – Олигопептид HHHHHH, кодируемый сайтами связывания ath-miR5658-5p в мРНК 23 генов у 19 видов растений; (г') – Weblogo для набора нуклеотидов, кодирующих олигопептид HHHHHH. (д) – Олигопептид GGGGGG, кодируемый сайтами связывания osa-miR2102-5p в мРНК 8 генов у 6 видов растений; (д') – олигонуклеотид GGCGGCGGCGGCGGCGGC сайтов связывания, кодирующий олигопептид GGGGGG. (е) – Олигопептид AAAAAA, кодируемый сайтами связывания osa-miR2102-5p в мРНК 10 генов у 7 видов растений; (е') – Weblogo для набора нуклеотидов, кодирующих олигопептид AAAAAA. Вариабельность аминокислотных последовательностей оценивали программой WebLogo (https://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi).

белках факторов транскрипции TCP у 54 видов растений (*Aar, Aco, Ain, Aly, Ata, Ath, Atr, Bdi, Bna, Bol, Bra, Bsa, Bst, Ccl, Cgr, Csa, Dol, Egr, Egu, Esa, Gar, Ghi, Gma, Gra, Hvu, Lpe, Mac, Oba, Ogl, Ogu, Ome, Oni, Opu, Oru, Osai, Osaj, Peq, Pha, Ptr, Pvi, Rra, Sbi, Sir, Sit, Sly, Spo, Svi, Tae, Tca, Tha, Tpa, Zja, Zma, Zmr*). Нуклеотидные последовательности сайтов связывания кодирующих олигопептид QRGPLQS были идентичны (рис. 1а'). Вариабельность аминокислот, примыкающих к олигопептиду QRGPLQS, и вариабельность нуклеотидов, фланкирующих сайт связывания, свидетельствует, что только связь tae-miR319-3p с генами-мишенями сохранялась в течение многих миллионов лет дивергенции изученных видов растений.

Таблица 2. Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК в мРНК генов TCP *Oryza sativa*

Ген	миРНК	Начало сайта, н.	Участок мРНК	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина, н.
LOC_Os03g49880.1	miR1437b-5p	557	5'UTR	–102	89	21
LOC_Os02g51280.1	miR1846a-5p	8	5'UTR	–110	90	21
LOC_Os03g57190.1	miR1848-5p	246	5'UTR	–113	88	21
LOC_Os02g51280.1	miR1858a-5p	1358	CDS	–106	88	21
LOC_Os05g43760.1	miR1861d-5p	706	CDS	–108	91	22
LOC_Os05g43760.1	miR1861h-5p	706	CDS	–106	88	20
LOC_Os08g43160.1	miR2102-3p	872	CDS	–113	88	22
LOC_Os01g11550.1	miR2102-5p	1670	CDS	–110	91	20
LOC_Os01g55750.1	miR2102-5p	923	CDS	–104	86	20
LOC_Os01g69980.1	miR2102-5p	1007	CDS	–110	91	20
LOC_Os05g43760.1	miR2102-5p	428	CDS	–108	89	20
LOC_Os06g12230.1	miR2102-5p	644	5'UTR	–108	89	20
LOC_Os07g05720.1	miR2102-5p	1357	CDS	–110	91	20
LOC107277536	miR2102-5p	997	CDS	–110	91	20
LOC_Os03g49880.1	miR2919	827	CDS	–96	88	19
LOC_Os07g05720.1	miR2925-5p	912	CDS	–100	89	19
LOC_Os03g57190.1	miR319a-3p.2-3p	1214	CDS	–98	88	20
LOC_Os07g05720.1	miR319a-3p.2-3p	1441	CDS	–98	88	20
LOC_Os07g05720.1	miR408-3p	904	CDS	–106	89	21
LOC_Os01g55750.1	miR5075-3p	965	CDS	–108	88	21
LOC_Os06g12230.1	miR5075-3p	642	5'UTR	–108	88	21
LOC_Os12g42190.1	miR5075-3p	120	CDS	–110	90	21
LOC_Os01g11550.1	miR5819-5p	1163	CDS	–110	90	21
LOC_Os03g57190.1	miR5819-5p	721	CDS	–110	90	21

Примечание. ΔG – свободная энергия связывания миРНК; ΔGm – свободная энергия связывания миРНК с полной комплементарной ей нуклеотидной последовательностью; н. – нуклеотид.

Нуклеотидная последовательность miR444a-3p известна только для *T. aestivum и O. sativa*. Эта миРНК имела сайты связывания в CDS мРНК двух генов *T. aestivum* и одного гена *Z. mays*. Характеристики сайтов связывания tae-miR444a-3p с мРНК генов Traes_2AL_EA60A06AC.1, Traes_2BL_36A3AB3A2.1, GRMZM2G020805_P01 семейства TCP сходны и сайты связывания кодируют гексапептид STSETS. Потенциальные сайты связывания tae-miR444a-3p выявлены в мРНК 29 генов у 28 видов растений (*Bdi*, *Bsa*, *Dol*, *Hvu, Lpe, Mac, Oba, Ogl, Ogu, Ome, Oni, Opu, Oru, Osai, Osaj, Oth, Pda, Peq, Pha, Phe, Sbi, Sit, Spo, Svi*, *Tae, Zja, Zma, Zmt*). Гексапептид STSETS, кодируемый сайтами связывания tae-miR444a-3p, входит в состав консервативного олигопептида SSTSETSKGS белков TCP (рис. 1б). Примыкающие к этому олигопептиду аминокислоты вариабельны. Нуклеотидные последовательности сайтов связывания, кодирующих гексапептид STSETS, состоят из синонимических кодонов, в которых изменяется только третий нуклеотид (рис. 1б'). Следовательно, взаимодействие между tae-miR444a-3p и мРНК генов ТФ изученных видах растений семейства TCP сохраняется в течение многих миллионов лет.

Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК в мРНК генов TCP Oryza sativa

Проведен поиск возможных сайтов связывания 738 миРНК с мРНК 22 генов семейства TCP *O. sativa*. Только 12 генов были мишенями для miR1437b-5p, miR1846a-5p, miR1848-5p, miR1858a-5p, miR1858b-5p, miR1861d-5p, miR1861h-5p, miR2102-3p, miR2102-5p, miR2919, miR2925-5p, miR319a-3 miR408-3p, miR5075-3p, miR5819-5p (табл. 2). У гена LOC_Os07g05720.1 обнаружены сайты связывания для miR2102-5p, miR2925-5p, miR319a-3p.2-3p, miR408-3p. Три миРНК имели сайты связывания с мРНК генов LOC_Os03g57190.1, LOC_Os05g43760.1. По две миРНК связывались с

Таблица 3. Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК с мРНК генов мишеней ТФ семейства TCP *Zea mays*

Ген	миРНК	Начало сайта, н.	Участок мРНК	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина, н.
AC205574.3_FGP006	miR164g-3p	157	CDS	−102	86	21
AC233950.1_FGP002	miR164h-5p	87	5'UTR	−102	87	21
GRMZM2G170232_P01	miR166a-5p	158	5'UTR	−106	91	21
GRMZM2G031905_P01	miR166a-5p	123	CDS	−104	89	21
GRMZM2G062711_P01	miR166a-5p	112	CDS	−106	91	21
GRMZM2G055024_P01	miR166a-5p	270	CDS	−104	89	21
GRMZM2G170232_P01	miR166c-5p	158	5'UTR	−102	89	21
GRMZM2G055024_P01	miR166c-5p	270	CDS	−100	87	21
GRMZM2G031905_P01	miR166c-5p	123	CDS	−100	87	21
GRMZM2G062711_P01	miR166c-5p	112	CDS	−102	89	21
GRMZM2G170232_P01	miR166k-5p	158	5'UTR	−104	89	21
GRMZM2G062711_P01	miR166k-5p	112	CDS	−104	89	21
GRMZM2G034638_P01	miR168a-5p	460	CDS	−100	85	21
AC213524.3_FGP003	miR168a-5p	477	CDS	−100	85	21
GRMZM2G035944_P01	miR171d-5p	328	5'UTR	−104	91	21
AC190734.2_FGP003	miR399d-3p	355	CDS	−100	85	21
AC233950.1_FGP002	miR399d-3p	764	CDS	−100	85	21
GRMZM2G034638_P01	miR408a-3p	364	CDS	−102	86	21
AC213524.3_FGP003	miR408a-3p	381	CDS	−102	86	21

Примечание. ΔG – свободная энергия связывания миРНК; ΔGm – свободная энергия связывания миРНК с полной комплементарной ей нуклеотидной последовательностью; н. – нуклеотид.

мРНК генов LOC_Os01g11550.1, LOC_Os01g55750.1, LOC_Os02g51280.1, LOC_Os03g49880.1, LOC_Os06g12230.1, LOC_Os12g42190.1. мРНК других генов могли связываться только с одной миРНК. miR2102-5p имеет восемь альтернативных генов-мишеней, что свидетельствует о важной роли этой миРНК в регуляции нескольких физиологических функций растений. Сайты связывания миРНК в миРНК генов семейства TCP *O. sativa* расположены в 5'UTR и CDS. Сайты связывания osa-miR2102-5p в мРНК двух генов *O. sativa* и генов GRMZM2G003944_P01, ONIVA07G01330.1, ORGLA07G0028600.1, Zpz_sc01752.1.g00080.1.sm.mk кодировали консервативный гексапептид AAAAAA.

Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК в мРНК генов TCP Zea mays

Анализ связывания 325 миРНК с мРНК 46 генов семейства TCP *Z. mays* предсказал только десять генов-мишеней для miR164g-3p, miR164h-5p, miR166a,c,k-5p, miR168a-5p, miR171d-5p, miR399d-3p, miR408a-3p-5p (табл. 3). С мРНК генов GRMZM2G031905_P01, GRMZM2G055024_P01, GRMZM2G062711_P01 и GRMZM2G170232_P01 связывались zma-miR166a-5p и zma-miR166c-5. С мРНК генов AC213524.3_FGP003, AC233950.1_FGP002, GRMZM2G034638_P01 связывались по две миРНК. мРНК генов GRMZM2G035944_P01, AC190734.2_FGP003 и AC205574.3_FGP006 связывали по одной миРНК. Сайты связывания миРНК располагались 5'UTR и CDS мРНК генов семейства TCP *Z. mays* (табл. 3).

Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК в мРНК генов TCP Arabidopsis thaliana

Анализ взаимодействия 429 миРНК с мРНК 27 генов семейства TCP *A. thaliana* показал, что только десять генов были мишенями для miR319-3p, miR4228-5p, miR4228-3p, miR5021-5p, miR5658-5p и miR8181-5p (табл. 4). мРНК генов AT1G53230 и AT2G31070 имели сайты связывания для miR319c-3p, miR5021-5p и miR5658-5p, а мРНК гена AT3G15030 имела сайты связывания для miR319a-3p и miR4228-3p. По две миРНК связывались с мРНК генов AT1G69690, AT3G02150 и AT3G47620. По одной миРНК связывалось с мРНК генов AT1G30210, AT4G18390 и AT5G08330. Сайты связывания миРНК располагались в 5'UTR, CDS и 3'UTR мРНК генов семейства TCP *A. thaliana*.

Таблица 4. Характеристики потенциальных сайтов связывания миРНК с мРНК генов мишеней ТФ семейства TCP *Arabidopsis thaliana*

Ген	миРНК	Начало сайта, н.	Участок мРНК	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %	Длина, н.
AT3G15030.1	miR319a-3p	1619	CDS	–100	87	21
AT1G53230.1	miR319c-3p	1184	CDS	–98	87	21
AT2G31070.1	miR319c-3p	1379	CDS	–98	87	21
AT3G15030.1	miR319c-3p	1620	CDS	–100	89	21
AT3G15030.1	miR4228-3p	1370	CDS	–100	87	21
AT3G47620.1	miR4228-5p	1732	3'UTR	–98	87	21
AT2G31070.1	miR5021-5p	52	5'UTR	–89	91	20
AT1G53230.1	miR5021-5p	91	5'UTR	–91	93	20
AT5G08330.1	miR5021-5p	359	5'UTR	–89	91	20
AT3G02150.1	miR5021-5p	697	CDS	–89	91	20
AT1G69690.1	miR5021-5p	945	CDS	–91	93	20
AT1G30210.2	miR5021-5p	1114	CDS	–93	96	20
AT1G30210.1	miR5021-5p	1241	CDS	–93	96	20
AT1G69690.1	miR5658-5p	415	5'UTR	–100	98	21
AT3G02150.1	miR5658-5p	972	CDS	–91	90	21
AT4G18390.1	miR5658-5p	1214	CDS	–98	96	21
AT1G53230.1	miR5658-5p	1236	CDS	–96	94	21
AT2G31070.1	miR5658-5p	1287	CDS	–91	90	21
AT3G47620.1	miR8181-5p	295	CDS	–100	85	20

Примечание. ΔG – свободная энергия связывания миРНК; ΔGm – свободная энергия связывания миРНК с полной комплементарной ей нуклеотидной последовательностью; н. – нуклеотид.

Гексасерин и гексагистидин обнаружены в белках TCP, кодируемых соответственно сайтами связывания ath-miR-5021-5p, ath-miR-5658-5p. В таблице 5 приведены характеристики взаимодействия ath-miR-5021-5p с генами мРНК семейства TCP, которые могут связываться со значением ΔG/ΔGm 91–96%. Схемы взаимодействия ath-miR5658-5p с генами мРНК ТФ TCP показаны на рисунке 2. Приведенные схемы взаимодействия ath-miR5658-5p с мРНК нескольких генов отчетливо показывают эффективность нашей программы MirTarget. Все нуклеотиды ath-miR5658-5p образуют водородные связи с мРНК генов AT1G53230.1 и GSBRNA2T00009950001. В последнем случае образуется семь связей A–C, которые сохраняют двухспиральную структуру комплекса миРНК и мРНК с сохранением стекинг взаимодействий всех их нукдеотидов. мРНК других генов связывают ath-miR5658-5p образуя подряд 19–20 водородных связей, что тоже сохраняет стекинг взаимодействия в этих участках миРНК и мРНК.

Сайты связывания миРНК в мРНК генов *TCP* многих видов растений кодируют консервативные олигопептиды, что свидетельствует о раннем возникновении функциональной связи между миРНК и генами-мишенями, которая сохраняется на протяжении многих миллионов лет. Обнаружены сайты связывания ath-miR5021-5p в мРНК трех генов *A. thaliana* и в мРНК 27 генов 17 видов растений, кодирующих олигопептид SSSSSS (*Aar, Aha, Aly, Ath, Bna, Bol, Bra, Bst, Cgr, Cru, Csa, Esa, Rra, Rsa, Sir, Tha, Tpa*). В этих белках олигопептид SSSSSS является высоко консервативным, что отражено на рисунке 1в. Белок AA54G00421 *A. thaliana* содержит декасерин, двенадцать белков содержат октасерин и пять белков содержат гептасерин. Сайты связывания, кодирующие гексасерин, состоят из синонимических кодонов серина, в которых изменяется третий нуклеотид (рис. 1в'). Это не изменяет состав олигопептида, но влияет на свободную энергию взаимодействия ath-miR5021-5p с мРНК генов TCP. В данном случае преобладающей причиной консервативности аминокислот является функциональное значение гексасерина по сравнению с величиной свободной энергии взаимодействия ath-miR5021-5p с мРНК генов ТФ TCP.

Характеристики сайтов связывания ath-miR-5658-5p с мРНК генов TCP показаны в таблице 6. Гены-мишени для ath-miR-5658-5p содержали эффективные сайты связывания для этой миРНК, поскольку ΔG/ΔGm варьировала от 90 до 98%. Сайты связывания ath-miR5658-5p кодируют гексапептид HHHHHH в 18 белках. Из приведенных дан-

Таблица 5. Характеристики потенциальных сайтов связывания ath-miR5021-5p в CDS мРНК генов TCP растений

Ген	Начало сайта, н.	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %
473241	808	–93	96
476101	511	–91	93
476101	67	–85	87
676708942	877	–89	91
676720890	67	–85	87
AA54G00421	961	–85	87
Araha.15691s0008.1.p	508	–91	93
Araha.15691s0008.1.p	67	–85	87
Araha.6346s0001.1.p	829	–93	96
AT1G30210.1	1241	–93	96
AT1G69690.1	945	–91	93
AT3G02150.2	1416	–85	87
AT3G02150.2	697	–89	91
Bostr.10273s0396.1.p	505	–87	89
Bostr.10273s0396.1.p	64	–85	87
Cagra.13056s0010.1.p	508	–91	93
Cagra.13056s0010.1.p	64	–85	87
Carubv10011113m	832	–93	96
Carubv10020637m	508	–91	93
Csa03g033390.1	742	–93	96
Csa05g087530.1	307	–91	93
GSBRNA2T00025745001	769	–87	89
GSBRNA2T00025745001	775	–91	93
GSBRNA2T00112877001	58	–85	87
RrC2920_p3	55	–85	87
Rsa1.0_00361.1_g00006.1	787	–87	89
Rsa1.0_00361.1_g00006.1	793	–91	93
Rsa1.0_01246.1_g00003.1	505	–91	93
Rsa1.0_01246.1_g00003.1	61	–85	87
Thhalv10008175m	811	–87	89
Thhalv10008175m	817	–91	93
Thhalv10018834m	55	–85	87
Tp1g26030	832	–93	96
Tp5g24820	67	–85	87
XP_009104987.1	61	–85	87
XP_009109609.1	751	–87	89
XP_009109609.1	757	–91	93
XP_010551531.1	508	–91	93
XP_013616237.1	67	–85	87
XP_013622999.1	751	87	89
XP_013622999.1	757	–91	93

Примечание. ΔG – свободная энергия связывания миРНК; ΔGm – свободная энергия связывания миРНК с полной комплементарной ей нуклеотидной последовательностью; н. – нуклеотид.

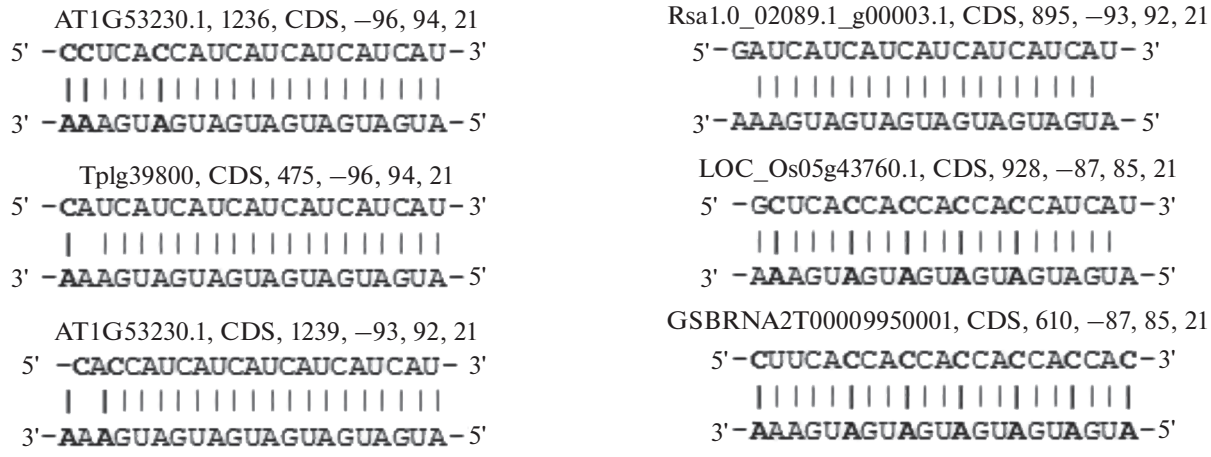

Рис. 2. Схемы взаимодействия ath-miR5658-5p с генами мРНК ТФ TCP. Ген; начало сайта связывания (н.); участок мРНК; свободная энергия, ΔG, (кДж/моль); ΔG/ΔGm, %; длина миРНК (н.); верхняя и нижняя нуклеотидные последовательности мРНК и ath-miR5658-5p соответственно. Жирным шрифтом обозначены нуклеотиды неканонических пар U–G и A–C.

ных следует, что гексапептид HHHHHH является консервативным в TCP-белках, кодируемых сайтами связывания ath-miR5658-5p в мРНК 23 генов у 19 видов растений: *Aly, Ath, Bdi, Bna, Bol, Bst, Cgr, Cru, Csa, Gar, Ghi, Gma, Gra, Osaj, Rra, Rsa, Tca, Tha, Tpa* (рис. 1г). Сайты связывания ath-miR-5658-5p в мРНК генов GSBRNA2T00009950001, Bostr.0124s0115.1.p и Tp1g39800 кодируют октагистидин, а мРНК гена Thecc1EG031706T1 декагистидин.

Нуклеотидные последовательности сайтов связывания ath-miR-5658-5p, кодирующих гексагистидин, состоят из синонимических кодонов с вариацией третьего нуклеотида (рис. 1г'). Причиной разной консервативности нуклеотидного состава сайтов связывания ath-miR-5658-5p и соответствующих аминокислот, вероятно, является большая значимость роли гексагистидина в белках TCP и по сравнению со свободной энергией связывания этой миРНК.

Характеристики потенциальных сайтов связывания osa-miR2102-5p в мРНК CDS генов семейства TCP растений

Сайты связывания некоторых миРНК имеют гомологичные нуклеотидные последовательности, которые могут быть прочитаны в разных открытых рамках считывания. Например, нуклеотидная последовательность сайтов связывания osa-miR2102-5p GCGGCGGCGGCGGCGGCGGCG в первой рамке считывания будет кодировать олигопептид AAAAAAA, во второй рамке считывания RRRRRR, а в третьей рамке считывания сайтов связывания osa-miR2102-5p будет кодироваться олигопептид GGGGGG. На рисунке 1д показаны содержащие полиглицин области белков шести растений: *Oba*, *Ogl*, *Ome*, *Oru*, *Osaj*, *Tae*. Нуклеотидные последовательности сайтов связывания osa-miR2102-5p консервативны (рис. 1д').

Для группы 10 генов семейства TCP видов *Ogl*, *Oni*, *Osaj*, *Spo*, *Tae*, *Zma* и *Zpa*, сайты связывания osa-miR2102-5p, кодировали гексааланин. Из рисунка 1е видно, что области белков, смежные с гексапептидом AAAAAA, являются вариабельными. Это указывает на консерватизм сайтов связывания osa-miR2102-5p в мРНК десяти генов TCP. Сайты связывания osa-miR2102-5p состоят из синонимических кодонов, что обусловливает консервативность только первых двух нуклеотидов (рис. 1е'). По-видимому, функциональная роль гексапептида AAAAAA преобладает над зависимостью экспрессии гена от osa-miR2102-5p.

В некоторых белках TCP *T. aestivum*, *O. sativa*, *Z. mays*, *A. thaliana* были обнаружены полиглутамин, политреонин, полиаспарагин, полипролин, полиаспаргиновая кислота (табл. 7). Нуклеотидные последовательности, кодирующие эти олигопептиды не являются сайтами известных миРНК *T. aestivum*, *O. sativa*, *Z. mays*, *A. thaliana*. Эти олигопептиды могут кодироваться сайтами связывания пока не обнаруженных миРНК. В генах животных и человека эти олигопептиды кодируются сайтами связывания миРНК [25–27]. Основные свойства взаимодействий миРНК с генами мРНК у растений и животных похожи, что указывает на сходство регуляции экспрессии генов посредством миРНК у представителей разных царств эукариотических организмов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Количество генов и миРНК, способных взаимодействовать друг с другом, отличаются для

Таблица 6. Характеристики потенциальных сайтов связывания ath-miR-5658-5p в мРНК CDS генов TCP растений

Ген	Начало сайта, н.	ΔG, кДж/моль	ΔG/ΔGm, %
474447	960	–96	94
AT1G53230.1	1236	–96	94
AT3G02150.2	11183	–91	90
Bostr.0124s0115.1.p	978	–91	90
Cagra.1472s0007.1.p	970	–96	94
Carubv10009348m	966	–96	94
Cotton_A_20110_BGI-A2_v1.0	738	–89	87
Csa14g063740.1	957	–96	94
Gh_D01G0419	738	–89	87
Glyma.08G097900.1.p	1078	–100	98
Gorai.002G064500.1	738	–89	87
GSBRNA2T00009950001	610	–87	85
LOC_Os05g43760.1	930	–87	85
LOC_Os07g05720.1	1476	–89	87
RrC11789_p1	817	–96	94
Rsa1.0_02089.1_g00003.1	895	–93	92
Thecc1EG031706t1	1584	–89	87
Tp1g39800	475	–96	94
XP_010519240.1	1071	–87	85
XP_013630036.1	729	–87	85

Примечание. ΔG – свободная энергия связывания миРНК; ΔGm – свободная энергия связывания миРНК с полной комплементарной ей нуклеотидной последовательностью; н. – нуклеотид.

T. aestivum, *O. sativa*, *Z. mays*, *A. thaliana*. Полученные результаты показывают, что экспрессия генов семейства TCP может регулироваться путем связывания миРНК с их мРНК. Значительная часть ТФ может быть мишенью миРНК, о чем свидетельствуют предыдущие исследования [28, 29]. Сайты связывания миРНК в генах мРНК растений расположены в основном в CDS (табл. 1, 2, 5, 6). Часть генов семейства TCP имеет сайты связывания в 5'UTR и 3'UTR мРНК (табл. 3, 4).

Сайты белков, содержащих олигопептиды, кодируемые сайтами связывания миРНК, имеют следующие особенности. В некоторых белках TCP фланкирующие аминокислоты варьируют по сравнению с олигопептидом, кодируемым сайтами связывания миРНК. Для некоторых миРНК олигопептид, кодируемый сайтом связывания миРНК, является консервативным, вместе с фланкирующими аминокислотами (рис. 1). В транскрипционных факторах SPL арабидопсиса выявлен олигопептид который консервативен в нескольких белках и нуклеотидные последовательности сайтов связывания miR156j в мРНК соответствующих генов полностью комплементарны и тоже консервативны [29]. В ортологичных генах восьми видов растений олигопептид ALSLLS, кодируемый сайтами связывания miR156a, и нуклеотидные последовательности этих сайтов были высоко консервативны [29]. Нуклеотидные последовательности сайтов связывания miR396 и кодируемые ими олигопептиды в транскрипционных факторах GRF были консервативны по сравнению с фланкирующими их последовательностями нуклеотидов и аминокислот [28]. Особый интерес представляют сайты связывания миРНК, которые кодируют аминокислотные повторы (рис. 1). Это свойство растительных миРНК напоминает миРНК животных, сайты связывания которых тоже кодируют аминокислотные повторы [25, 26]. Основные свойства взаимодействий миРНК с генами мРНК у растений и животных очень похожи, что указывает на сходство регуляции экспрессии генов посредством миРНК у представителей разных царств эукариотических организмов [27]. miR319-3p, miR444a-3p, mir5021-5p, miR5658-5p имели сайты связывания в мРНК генов семейства ТФ TCP. Эти сайты связывания кодируют олигопептиды QRGPLQS, STSETS, SSSSSS, HHHHHH, соответственно. miR2102-5p имела сайты связывания, кодирующие олигопептиды GGGGGG и AAAAAA. Участки мРНК, длиной 18 н. и более нуклеотидов, являющиеся сайтами связывания миРНК, кодируют полисерин, полигистидин, полиглицин и полиаланин, которые могут служить фе-

Таблица 7. Олигопептиды, которые могут кодироваться сайтами связывания миРНК *Triticum aestivum*, *Oryza sativa*, *Zea mays*, *Arabidopsis thaliana*

Ген	Сокращенное название вида	Олигопептиды
AT2G31070.1	*Ath*	QQQQQQ, TTTTTT
AT3G15030.1	*Ath*	QQQQQQQQ
AT3G47620.1	*Ath*	QQQQQQQ
AT5G23280.1	*Ath*	NNNNNNNNNNN, QQQQQQ
LOC_Os01g69980.1	*Osaj*	QQQQQQ
LOC_Os02g51280.1	*Osaj*	QQQQQQQQQQQQQQQQQ
LOC_Os03g57190.1	*Osaj*	QQQQQQ
LOC_Os07g05720.1	*Osaj*	QQQQQQ, QQQQQQQQ
LOC_Os08g43160.1	*Osaj*	QQQQQQQ
LOC_Os09g24480.1	*Osaj*	QQQQQQQ
LOC_Os12g07480.1	*Osaj*	DDDDDD, NNNNNN
TRAES3BF146000020CFD_t1	*Tae*	QQQQQQ, QQQQQQQ
Traes_5BL_2DDBAA0C2.1	*Tae*	QQQQQQ, QQQQQQQ
Traes_5BL_B94C45A8F.1	*Tae*	QQQQQQQ
Traes_6AL_DA27ABCA61.2	*Tae*	QQQQQQQQ
Traes_6DL_136DE13FB.1	*Tae*	QQQQQQQQ
GRMZM2G003944_P01	*Zma*	QQQQQQ
GRMZM2G034638_P01	*Zma*	QQQQQQ, QQQQQQ
GRMZM2G060319_P01	*Zma*	TTTTTT
GRMZM2G077755_P01	*Zma*	QQQQQQQ
GRMZM2G078077_P01	*Zma*	QQQQQQQQ
GRMZM2G089361_P01	*Zma*	PPPPPPP
GRMZM2G089638_P01	*Zma*	QQQQQQ
GRMZM2G107031_P01	*Zma*	DDDDDD
GRMZM2G142751_P01	*Zma*	QQQQQQ
GRMZM2G148022_P02	*Zma*	QQQQQQQ, QQQQQQQ

нотипическим признаком белка, свидетельствующим о зависимости его синтеза от соответствующих миРНК. Консервативность олигопептидов, кодируемых сайтами связывания соответствующих миРНК в генах различных видов растений, указывает на эволюционно раннее появление регуляции экспрессии генов с использованием миРНК (рис. 1). Благодаря программе MirTarget, предсказаны количественные характеристики взаимодействия миРНК с мРНК генов транскрипционных факторов семейства TCP, которые существенно увеличивают возможность установления взаимодействия конкретных миРНК с мРНК генов соответствующих транскрипционных факторов.

В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы: 1) для миРНК предсказаны гены-мишени из семейства TCP *T. aestivum*, *O. sativa*, *Z. mays* и *A. thaliana*; 2) сайты связывания некоторых миРНК консервативны в мРНК генов-мишеней различных растений и кодируют консервативные олигопептиды; 3) некоторые миРНК могут иметь более одного сайта связывания в одной мРНК и более одного гена-мишени; 4) мРНК некоторых генов-мишеней могут иметь сайты связывания для двух или более разных миРНК; 5) tae-miR319-3p имеет консервативные сайты связывания в мРНК генов семейства TCP *T. aestivum*, *O. sativa*, *Z. mays* и *A. thaliana*; 6) сайты связывания миРНК растений могут располагаться в 5'UTR, CDS и 3'UTR; 7) выявлены миРНК, которые могут связываться с мРНК генов из разных семейств ТФ растений; 8) перечисленные свойства миРНК растений подобны свойствам миРНК животных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Li S.* The *Arabidopsis thaliana* TCP transcription factors: a broadening horizon beyond development // Plant Signal. Behav. 2015. V. 10: e1044192. https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1044192
2. *Manassero N., Viola I., Welchen E., Gonzalez D.* TCP transcription factors: architectures of plant form // Biomol. Concepts. 2013. V. 4. P. 111. https://doi.org/10.1515/bmc-2012-0051
3. *Sengupta A., Hileman L.* Novel traits, flower symmetry, and transcriptional autoregulation: new hypotheses

from bioinformatic and experimental data // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 1.
https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01561

4. *Mart M., Cubas P.* TCP genes: a family snapshot ten years later // Trends Plant Sci. 2010. V. 15. P. 31.
https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.003
5. *Reinhart B., Weinstein E., Rhoades M., Bartel B., Bartel D.* MicroRNAs in plants // Genes Dev. 2002. V. 16. P. 1616.
https://doi.org/10.1101/gad.1004402
6. *Rogers K., Chen X.* Biogenesis, turnover, and mode of action of plant microRNAs // Plant Cell. 2013. V. 25. P. 2383.
https://doi.org/10.1105/tpc.113.113159
7. *Navarro L., Dunoyer P., Jay F., Arnold B., Dharmasiri N.* A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling // Science. 2006. V. 312. P. 436.
https://doi.org/10.1126/science.aae0382
8. *Zhang L., Zheng Y., Jagadeeswaran G., Li Y., Gowdu K., Sunkar R.* Identification and temporal expression analysis of conserved and novel microRNAs in Sorghum // Genomics. 2011. V. 98. P. 460.
https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2011.08.005
9. *Phillips J.R., Dalmay T., Bartels D.* The role of small RNAs in abiotic stress // FEBS Lett. 2007. V. 581. P. 3592.
https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.007
10. *Yan Y., Wang H., Hamera S., Chen X., Fang R.* miR444a has multiple functions in the rice nitrate-signaling pathway // Plant J. 2014. V. 78. № 1. P. 44.
https://doi.org/10.1111/tpj.12446
11. *Palatnik J.F., Wollmann H., Schommer C., Schwab R., Boisbouvier J., Rodriguez R., Warthmann N., Allen E., Dezulian T., Huson D., Carrington J.C., Weigel D.* Sequence and expression differences underlie functional specialization of Arabidopsis microRNAs miR159 and miR319 // Dev. Cell. 2007. V. 13. № 1. P. 115.
https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.04.012
12. *Tomotsugu K., Fumihiko S., Masaru O.* Roles of miR319 and TCP transcription factors in leaf development // Plant Physiology. 2017. V. 175. P. 874.
https://doi.org/10.1104/pp.17.00732
13. *Li Z., An X., Zhu T., Yan T., Wu S., Tian Y., Li J., Wan X.* Discovering and constructing ceRNA-miRNA-target gene regulatory networks during anther development in maize // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. № 14. P. 1.
https://doi.org/10.3390/ijms20143480
14. *Yusuf N.H., Ong W.D., Redwan R.M., Latip M.A., Kumar S.V.* Discovery of precursor and mature microRNAs and their putative gene targets using high-throughput sequencing in pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) // Gene. 2016. V. 571. № 1. P. 71.
https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.06.050
15. *Wu F.Y., Tang C.Y., Guo Y.M., Yang M.K., Yang R.W., Lu G.H., Yang Y.H.* Comparison of miRNAs and their targets in seed development between two maize inbred lines by high-throughput sequencing and degradome analysis // PLoS One. 2016. V. 17. № 1. P. 1.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159810
16. *De Boer K., Melser S., Sperschneider J., Kamphuis L.G., Garg G., Gao L.L., Frick K., Singh K.B.* Identification and profiling of narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius*) microRNAs during seed development // BMC Genomics. 2019. V. 20. № 1. P. 1.
https://doi.org/10.1186/s12864-019-5521-8
17. *López-Ruiz B.A., Juárez-González V.T., Sandoval-Zapotitla E., Dinkova T.D.* Development-related miRNA expression and target regulation during staggered in vitro plant regeneration of tuxpeño VS-535 maize cultivar // Int. J. Mol. Sci. V. 20. № 9.
https://doi.org/10.3390/ijms20092079
18. *Wang Y., Peng M., Wang W., Chen Y., He Z., Cao J., Lin Z., Yang Z., Gong M., Yin Y.* Verification of miRNAs in ginseng decoction by high-throughput sequencing and quantitative real-time PCR // Heliyon. 2019. V. 5. № 4. P. 1.
https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01418
19. *Aydinoglu F., Lucas S.J.* Identification and expression profiles of putative leaf growth related microRNAs in maize (*Zea mays* L.) hybrid ADA313 // Gene. 2019. V. 690. P. 57.
https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.12.042
20. *Zhang Q., Zhang Y., Wang S., Hao L., Wang S., Xu C., Jiang F., Li T.* Characterization of genome-wide microRNAs and their roles in development and biotic stress in pear // Planta. 2019. V. 249. № 3. P. 693.
https://doi.org/10.1007/s00425-018-3027-2
21. *Sharma D., Tiwari M., Lakhwani D., Tripathi R.D., Trivedi P.K.* Differential expression of microRNAs by arsenate and arsenite stress in natural accessions of rice // Metallomics. 2015. V. 7. № 1. P. 174.
https://doi.org/10.1039/c4mt00264d
22. *Ivashchenko A., Pyrkova A., Niyazova R., Alybayeva A., Baskakov K.* Prediction of miRNA binding sites in mRNA // Bioinformation. 2016. V. 12. P. 237.
https://doi.org/10.6026/97320630012237
23. *Garg A., Heinemann U.* A novel form of RNA double helix based on G·U and C·A$^+$ wobble base pairing // RNA. 2018. V. 24. № 2. P. 209.
https://doi.org/10.1261/rna.064048.117
24. *Dai X., Zhuang Z., Zhao P.* Computational analysis of miRNA targets in plants: current status and challenges // Briefings in Bioinformatics. 2011. V. 12. P. 115.
https://doi.org/10.1093/bib/bbq065
25. *Niyazova R., Berillo O., Atambayeva Sh., Pyrkova A., Alybayeva A., Ivashchenko A.* miR-1322 binding sites in paralogous and orthologous genes // BioMed Research Int. 2015. V. 1. P. 1.
https://doi.org/10.1155/2015/962637
26. *Kondybayeva A.M., Akimniyazova A.N., Kamenova S.U., Ivashchenko A.T.* The characteristics of miRNA binding sites in mRNA of *ZFHX3* gene and its orthologs // Vavilov journal of Genetics and Breeding. 2018. V. 22. P. 438.
https://doi.org/10.18699/VJ18.380
27. *Yurikova O.Yu., Aisina D.E., Niyazova R.E., Atambayeva Sh.A., Labeit S., A. Ivashchenko A.T.* The interaction of miRNA-5p and miRNA-3p with the mRNAs of orthologous genes // Mol. Biol. 2019. V. 53. №. 4. P. 612.
https://doi.org/10.1134/S0026893319040174
28. *Bari A., Sagaidak I., Pinskii I., Orazova S., Ivashchenko A.* Binding of miR396 to mRNA of genes encoding growth-regulating transcription factors of plants // Russian Journal of Plant Physiology. 2014. V. 61. P. 807.
https://doi.org/10.1134/S1021443714050033
29. *Bari A., Orazova A., Ivashchenko A.* miR156- and miR171-binding sites in the protein-coding sequences of several plant genes // BioMed Res. Int. 2013. V. 10. P. 1.
https://doi.org/10.1155/2013/307145