

植物细胞中 RNA 结合蛋白相分离现象研究进展

周华成^{1,2,#} 包秀浩^{1,#} 王晓乐^{1,#} 鲁镇飞¹ 马荣荣^{1,2} 陆永法^{1,2} 王晓燕^{1,2} 蔡克锋^{1,2}
唐志明^{1,2} 周卓奇² 陈志新² 马炜炜^{1,*}

(¹宁波市农业科学研究院, 浙江 宁波 315000; ²宁波种业股份有限公司, 浙江 宁波 315000; #共同第一作者; *通信联系人, email: jonathan_@163.com)

Research Progress in the Phase Separation of RNA-binding Proteins in Plant Cells

ZHOU Huacheng^{1,2,#}, BAO Xiuhao^{1,#}, WANG Xiaole^{1,#}, LU Zhenfei¹, MA Rongrong^{1,2}, LU Yongfa^{1,2},
WANG Xiaoyan^{1,2}, CAI Kefeng^{1,2}, TANG Zhiming^{1,2}, ZHOU Zhuoqi², CHEN Zhixin², MA Weiwei^{1,*}

(¹ Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Ningbo 315000, China; ² Ningbo Seed Co., Ltd., Ningbo 315000, China; #These authors contributed equally to this paper; *Corresponding author, email: jonathan_@163.com)

Abstract: RNA-binding proteins (RBPs) are key regulators of RNA metabolism and play crucial roles in various RNA processing events during cellular development in eukaryotes. They interact with RNA to form ribonucleoprotein complexes and can undergo phase separation, leading to the formation of dynamic, membrane-less condensates. This review begins by outlining the fundamental concepts of RBPs and phase separation. It then provides an in-depth analysis of the molecular mechanisms governing RBP-mediated phase separation in plant cells, highlighting its critical functions in plant growth, development, and responses to environmental stresses. Finally, the review discusses future challenges in researching RBP phase separation and its potential applications for crop improvement.

Key words: RNA-binding protein; phase separation; condensate; development; stress resilience

摘要: RNA 结合蛋白(RBP)作为关键的 RNA 代谢调控因子, 在真核生物的细胞发育中参与多种 RNA 加工事件。这些 RBP 能够与 RNA 结合形成核糖核蛋白复合物, 并可通过相分离机制形成动态的无膜凝集体。本文首先综述了 RBP 和相分离的基本概念, 进而深入解析了植物细胞中 RBPs 相分离的分子机制, 重点阐明其在植物生长发育和对环境变化的响应中的重要作用。最后, 展望了 RBP 相分离机制研究中面临的挑战及其在作物改良中的潜在应用价值。

关键词: RNA 结合蛋白; 相分离; 凝集体; 发育; 抗逆性

在真核生物中, RNA 代谢过程复杂且具有多层次性, 对生物体的生长、发育和生存至关重要。该过程涵盖了多种 RNA 加工事件, 包括前体 RNA 剪接、转运、稳定性调控、翻译和降解等。在这些加工事件中, 大量 RNA 结合蛋白(RNA-binding proteins, RBP)通过与 RNA 结合形成核糖核蛋白复合物(ribonucleoprotein complexes, RNP complexes), 从而介导和调控这些过程^[1, 2]。

最新研究表明, 除了传统的 RNA 结合功能外, RBP 还通过相分离机制形成功能性无膜区室, 隔离相关的 RNA 和蛋白质分子, 促进特定的生化反应, 进而促进 RNA 代谢。相分离是一种物理现象, 依赖于分子间的弱相互作用(如氢键、静电作用和疏水

互作)在细胞内形成不同的相, 从而创造出高度有序的分子环境, 这种环境有助于提高生化过程的效率和特异性。相分离机制不仅为细胞提供了一种有效的方法来组织和调控生化反应, 还在确保细胞功能的精确执行和动态调控中发挥着关键作用。

1 植物中的 RNA 结合蛋白

RBP 是一类能够特异性结合 RNA 分子并调控其功能的重要蛋白质。RBP 通过识别特定的 RNA 序列, 调控 RNA 代谢过程, 且在不同细胞类型和发育阶段中发挥广泛的功能。RBP 与 RNA 的相互作用通常由 RNA 结合域(RNA-binding domains,

收稿日期: 2024-11-25; 修改稿收到日期: 2025-04-09。

基金项目: 浙江省农业新品种选育专项(2021C02063-1); 宁波市重点研发计划暨“揭榜挂帅”项目(2023Z117)。

RBD)介导,这些结合域能够识别特定的 RNA 序列或二三级结构。在真核细胞中 RBD 包括 RNA 识别基序(RNA Recognition Motif, RRM)、锌指结构域(Zinc Finger, ZnF)、KH 结构域(K Homology, KH)、RGG 基序(Arginine-Glycine-Glycine, RGG Box)、DEAD/DEAH 螺旋酶结构域(DEAD-box helicase domain)、冷休克结构域(Cold Shock Domain, CSD domain)、YTH 结构域(YT521-B homologs domain)等^[3-6]。这些结构域的不同组合使得 RBP 具有多样化的功能和高度的特异性。

根据蛋白的结构和功能特性,目前将 RBP 大致分为几类,包括富含丝氨酸-精氨酸的 RNA 结合蛋白(Serine/Arginine-rich Proteins, SR 蛋白)、富含甘氨酸的 RNA 结合蛋白(Glycine-Rich RNA-Binding Proteins, GR-RBP)、三角状五肽重复区蛋白(Pentatricopeptide Repeat Proteins, PPR 蛋白)、DEAD-box RNA 解旋酶(DEAD-box RNA Helicases, DEAD-box RH)、RNA 分子伴侣(RNA molecular chaperone)和 YTH 蛋白(YT521-B Homology Domain-containing Proteins)等(表 1)。

SR 蛋白家族在高等真核生物中高度保守,其 N 端包含一个或多个 RRM,而 C 端含有富集的丝氨酸和精氨酸区域(SR 结构域)。SR 蛋白通过参与 mRNA 的剪接、输出和翻译来调节植物生长发育^[7,8]。尽管动物中对 SR 蛋白的研究相对成熟,但在植物中,SR 蛋白的许多机制仍需深入探索。

富含甘氨酸的蛋白(Glycine-Rich Proteins, GRP)是一类在 C 端富含甘氨酸的蛋白质,其中第 IV 类(GR-RBP)具有 RNA 结合功能,通常包含一个 RRM 或 CSD。根据结构特点,GR-RBP 可进一步分为 a、b、c 和 d 四个亚类。其中, b 亚类的 GR-RBP 在 N 端具有一个 RRM 结构域, C 端含有富含甘氨酸的区域,并间隔分布着 CCHC 型锌指基序; c 亚类的 GR-RBP 则在 N 端携带一个 CSD 结构域, C 端的结构与 b 亚类相似。这些 GR-RBP 在植物生长发育及非生物胁迫响应中发挥着重要作用^[9]。

PPR 蛋白在植物中普遍存在,水稻、玉米和拟南芥等植物中的 PPR 蛋白均有较多报道,是调控基因表达的关键因子^[10,11]。PPR 蛋白主要分为 P 类和 PLS 类。P 类 PPR 蛋白由相对保守的 35 个氨基酸串联重复排列而成,主要参与 RNA 的剪接、稳定性调控、切割和翻译过程。PLS 类 PPR 蛋白由 P 基序(35 个氨基酸)、L 基序(35~36 个氨基酸)和 S 基序(31~32 个氨基酸)组成一个重复单位,主要参与 RNA 的编辑过程^[12]。

RNA 解旋酶(RH)通过改变 RNA 的结构来参与多种 RNA 代谢过程,通常分为 6 个超家族,其中超家族 II (SF2)是规模最大的家族,由 DEAD-box RH 构成,具有 RNA 结合和解旋功能。拟南芥约有 58 个 RH 基因,水稻约有 50 个^[13,14],目前的研究集中于这些 RH 在植物生长发育及非生物胁迫响应中的调控机制,特别是在逆境条件下如何调控 RNA 代谢途径以维持细胞稳态。

RNA 分子伴侣是一类非特异性结合 RNA 的蛋白,能够通过帮助 RNA 正确折叠来确保 RNA 代谢过程的顺利进行。许多 GR-RBP 和 DEAD-box RH 家族成员在植物中表现出 RNA 分子伴侣活性。例如拟南芥的 AtGRP2 和 AtGRP7^[15,16]。研究表明,这些具有 RNA 分子伴侣活性的蛋白可能通过参与 RNA 代谢,在植物生长发育和胁迫响应中发挥关键作用。

YTH 蛋白包含一个高度保守的由 140 个氨基酸组成的 YTH 结构域,该结构域与 RRM 具有高度同源性,能够形成芳香族笼结构,与 RNA 上的表观转录修饰结合,调控 RNA 代谢影响蛋白翻译,在促进植物生长发育及增强其抗逆性方面发挥了重要作用^[17]。在真核生物中,YTH 蛋白主要分为三类:YTHDC1(YTH domain-containing protein 1)、YTHDC2(YTH domain-containing protein 2)和 YTHDF(YTH domain-containing family protein),除了高度保守的 YTH 结构域外,其余氨基酸序列在相似性、蛋白质大小以及结构域排列方面均存在显著差异。

2 植物 RBP 蛋白的相分离机制

相分离(phase separation)是一种物理现象,指的是在特定条件下,二元或多元混合物自发地分离成不同的相。相分离的驱动力来自分子间的相互作用,当这些相互作用足够强时,体系会从均匀状态分离为不同的相。这个过程可以通过热力学原理解释,自由能的变化决定了相分离的发生概率与相的分布特性^[18]。这种现象不仅存在于非生物系统中,也广泛存在于生物系统中。在生物系统中,相分离可以形成具有不同化学和物理性质的区域,例如液滴、凝胶或其他非均相结构,这些结构的形成和解聚受诸多因素的调控,包括温度、pH 值、离子强度以及特定分子的浓度^[19,20]。在真核细胞中,相分离主要涉及细胞核和细胞质中的多种生物分子。例如,细胞核内的核仁是由蛋白

表 1 植物中 RNA 结合蛋白的类型与基本情况

Table 1. Types and basic information of RNA-binding proteins in plants

名称 Name	结构特征 Structural characteristics	生理功能 Physiological function
SR 蛋白 Serine/Arginine-rich protein	N 端: 含 RRM 结构域 N-terminus: containing an RRM domain C 端: 富含 SR 的结构域 C-terminus: containing an SR-rich domain	调控前体 mRNA 的剪接、转运及翻译, 参与植物生长发育调控(如细胞增殖、开花时间), 增强高温、低温等非生物胁迫适应性 Regulates precursor mRNA splicing, transport, and translation; participates in plant growth and development regulation (e.g., cell proliferation, flowering time); enhances adaptation to abiotic stresses such as high and low temperatures
GR-RBP Glycine-rich RNA-binding protein	N 端: 含 RRM 或 CSD 结构域 N-terminus: containing RRM or CSD domain C 端: 存在富含甘氨酸区域(部分该类型蛋白的该区域间隔分布着 CCHC 型锌指基序) C-terminus: containing glycine-rich region(in some proteins, this region is interspersed with conserved CCHC-type zinc finger motifs)	促进 RNA 折叠, 响应干旱、盐、低温胁迫; 通过激素信号调控植物开花、生物钟及种子萌发等发育过程 Promotes RNA folding; responds to drought, salt, and low-temperature stresses; regulates flowering, circadian rhythm, and seed germination through hormone signaling
PPR 蛋白 Pentatricopeptide repeat protein	P 类: 串联重复的 35 个氨基酸基序 P-type: tandem repeats of 35-amino acid motifs PLS 类: 由 P 基序(35 aa)、L 基序(35~36 aa)和 S 基序(31~32 aa)组成 PLS-type: composed of P motifs (35 aa), L motifs (35~36 aa), and S motifs (31~32 aa)	靶向线粒体和叶绿体, 调控 RNA 编辑、剪接及稳定性, 影响光合作用、呼吸作用、胚胎发育, 并参与胁迫响应 Regulates mitochondria and chloroplasts; controls RNA editing, splicing, and stability; influences photosynthesis, respiration, embryogenesis, and participates in stress responses
DEAD-box RH DEAD-box RNA helicase	包含保守的 DEAD 基序及 Q、I、III 等结构域, 有 ATP 依赖的 RNA 解旋活性 Containing conserved DEAD motifs (Q, I, II, III, V, VI) with ATP-dependent RNA helicase activity	催化 RNA 二级结构解旋, 参与核与细胞器 RNA 加工(如内含子剪接、rRNA 成熟), 调节生长发育及低温、干旱胁迫耐受性 Catalyze RNA secondary structure unwinding; participate in post-transcriptional RNA processing (e.g., intron splicing, mRNA maturation); regulate growth and development, as well as tolerance to cold and drought stress
RNA 分子伴侣 RNA molecular chaperone	结构多样, 部分属于 GR-RBP 或 DEAD-box 家族, 具有非特异性 RNA 结合能力 Structurally diverse; some belong to GR-RBP or DEAD-box families; exhibit nonspecific RNA-binding ability	通过纠正 RNA 错误折叠维持其功能, 在低温等胁迫下保护 RNA 稳定性, 促进叶绿体 RNA 代谢, 提高植物逆境适应能力 Maintaining RNA function by correcting misfolding, protecting RNA stability under stresses such as low temperature, promoting chloroplast RNA metabolism, and enhancing plant stress adaptability
YTH 蛋白 YT521-B homology domain-containing protein	含有保守的 YTH 结构域(约 140 个氨基酸), 与 RRM 具有结构上的相似性。能形成芳香族笼结构, 与 RNA 上的 m ⁶ A 甲基化修饰结合 Containing conserved YTH domain (approximately 140 amino acids); specifically binding to m ⁶ A methylation on RNA	通过识别表观转录修饰的 mRNA, 调控 RNA 代谢, 在生长发育(如叶片建成、根系发育、开花时间调控)及非生物胁迫响应(高温、盐胁迫、干旱等)中发挥关键作用 By recognizing epitranscriptomic modifications of mRNA, regulate RNA metabolism, maintain gene expression stability and homeostasis, and play key roles in plant adaptation under different environmental (heat, salt, drought, etc.) and biotic stress conditions

质、DNA 和 RNA 等高分子组成的相分离凝聚体。此外, 细胞质中的应激颗粒(stress granules, SG)和 RNA-蛋白质颗粒(RNA-protein granules)也都是通过相分离形成的, 它们在细胞应激响应和基因表达调控中发挥着重要作用。

RBP 的相分离在植物的 RNA 代谢中扮演着关键角色, 从 RNA 的合成到降解的各个阶段都伴随着相分离的发生。RBP 与其结合的 RNA 共同参与相分离, 形成动态的无膜凝聚体, 以实现 RNA 代谢的时空精确调控。RBP 的相分离动态受到蛋白质结构特征、翻译后修饰 (Post-Translational

Modifications, PTM)、环境信号及 RNA 修饰等多种因素的协同调控, 这些因素在时间和空间上相互影响, 形成了一个高度动态且精准的调控网络^[21]。

2.1 RBP 的蛋白结构特征对相分离的驱动作用

RBP 发生相分离的特性主要受其序列特征的调控, 特别是内在无序区域(Intrinsically disordered regions, IDR)和 RBD。IDR 通常是指缺乏固定三维结构的多肽链段, 这些区域高度灵活, 能够通过弱多价相互作用(生物分子之间通过多个较弱的非共价键同时发生的相互作用)参与相分离。IDR 通常表现出较低的序列复杂性和较高的特定氨基酸含量,

如精氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、酪氨酸和谷氨酸^[22-24]。在拟南芥中,约 30% 的蛋白质含有 IDR,这些 IDR 区域通过静电相互作用、阳离子- π -相互作用(阳离子与芳香环 π 电子云之间的非共价相互作用)、偶极-偶极相互作用(分子中电荷分布的不均匀性产生的电偶极矩相互作用)以及 π - π 堆积(芳香环的平面结构和 π 电子云之间的相互作用)等弱多价相互作用方式,促使蛋白质分子在细胞内聚集形成相分离的凝聚物^[25]。类朊蛋白域(Prion-like domain, PrLD)是一种典型的含有极性不带电氨基酸的 IDR,广泛参与凝聚物形成的分子机制。在拟南芥中,有 474 种蛋白质被预测含有 PrLD^[26]。PrLD 在结构和功能上类似于朊蛋白,被认为在介导 RBP 的相分离中发挥重要作用。

植物 RBP 蛋白的 RBD 结构域在相分离过程中也扮演着重要角色,常规的 RBP 具有一个或多个保守的 RBD 结构域,并通过这些结构域与 RNA 结合^[27,28]。一些 RBD 结构域,如 RRM、K 同源结构域(KH, K homology domain)、锌指(ZnF)域等,不仅能够特异性地识别和结合 RNA 分子,还能够独立或与 IDR 协同作用,触发相分离。例如,在拟南芥中,某些含有 RRM 结构域的 RBP 通过 RRM 与 IDR 的协同作用,增强了蛋白质之间的相互作用,从而促进相分离^[27]。在 RNA 存在的情况下,RBD 结构域还能够调控相分离的动态组装过程。通过与 RNA 分子相互作用,这些结构域可以影响凝聚体的大小、形态、稳定性以及内部组分的动态交换^[28]。在 RNA 代谢过程中,RBD 与 RNA 结合后可能改变凝聚体的理化性质,使其更适合 RNA 的加工和处理,从而确保 RNA 代谢的高效进行。

2.2 RBPs 的蛋白质翻译后修饰(PTM)对相分离的调节

蛋白质翻译后修饰(PTM)在植物 RBP 相分离的调节中同样发挥着关键且多样的作用。PTM 通过改变 RBP 的化学性质和互作特性,精细调控相分离过程,从而影响植物的生长发育和对环境的适应能力。

磷酸化是最常见的 PTM 之一,在某些情况下可以促进 RBP 的相分离。例如,在拟南芥中,受体激酶 FERONIA(FER)将 GRP7 蛋白的 IDR 特定位点进行磷酸化,这种磷酸化修饰引入了带负电荷的磷酸基团,改变了 GRP7 蛋白的电荷分布和理化性质。由于相分离过程对蛋白质分子间的静电屏蔽和电荷分布变化高度敏感,因此,磷酸化后的 GRP7 蛋白更容易发生相分离,从而形成 SG^[29,30]。这一现象表明,磷酸化可以作为相分离的触发因素,参与植物

对环境胁迫的应答过程。此外,磷酸化也可能通过破坏蛋白质分子之间的相互作用或产生静电排斥来抑制相分离,在人类细胞中已有这类报道^[31],但在植物中尚未发现类似的情况。

除了磷酸化之外,其他 PTM 如甲基化、泛素化和 SUMO 化等也在调节 RBP 的相分离行为中发挥重要作用。这些修饰通过改变氨基酸的理化性质来影响蛋白质分子之间的相互作用,进而调控相分离的行为。在人类和动物中,已有研究揭示这些 PTM 对相分离的影响。在植物中,尽管对这些 PTM 之间协同作用的研究较少,但推测类似的调控机制同样存在。不同的 PTM 可能在不同的生理条件或时间点上发挥作用,以确保 RBP 在细胞内对环境信号的响应和相分离的调控精确无误,最终帮助植物应对各种内外环境的变化。

2.3 多因素共同协作调控相分离

环境信号作为触发相分离的核心调节因子,感知外界变化(如温度波动、光周期、渗透压变化及水分胁迫),激活细胞内特定信号通路,进而影响 RBP 的表达水平、亚细胞定位及蛋白质间的相互作用。这一过程通常伴随 PTM 的发生,通过磷酸化、泛素化等多种修饰改变 RBP 的电荷状态、亲水疏水性及三维结构,从而动态调节 RBP 的相分离行为^[21,22,24]。同时,RNA 修饰(如 m⁶A 和 m¹A 修饰)提供额外的结合位点,促进 RNA 与 RBP 的多价相互作用,增强相分离的稳定性和可调控性。RNA 修饰不仅可以作为响应环境信号的调节工具,还能与 PTM 形成协同效应,共同塑造相分离的生物学功能^[17,21]。此外,RNA 本身的参与在 RBP 相分离中既是调控核心,也是重要的功能模块。RNA 不仅为液滴聚集提供额外的多价位点,还通过调节自身的浓度、序列特异性及修饰状态来控制相分离的规模、稳定性和功能。尤其是在植物细胞中,不同类型的 RNA 能够介导液滴的特异性聚集,从而实现特定的生物学功能,如调节基因表达、RNA 稳定性及翻译效率^[21]。这些因素相互协同、紧密串联,共同构成一个动态调控网络,使得 RBP 的相分离行为能够在植物的不同发育阶段和多种胁迫条件下快速响应和调整,从而促进植物的生长发育、提升抗逆性及环境适应能力。

3 植物中发生相分离的 RBP 及其功能研究

植物中存在大量参与相分离的 RBP,方晓峰团队发现在拟南芥、绿藻、苔藓、水稻、普通小麦、

表 2 植物中产生相分离的 RNA 结合蛋白

Table 2. RNA-binding proteins that undergo phase separation in plants.

生物学过程 Biological process	名称 Name	基因号 Gene ID	RNA 结合域 RBD	RNA 代谢类型 RNA metabolism type	物种 Species	参考文献 Reference
开花时间 Flowering time	SR45	AT1G16610	RRM	RNA 剪接 RNA splicing	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[33]
	HRLP	AT2G44710	RRM	RNA 剪接 RNA splicing	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[33]
	UBA2C	AT3G15010	RRM	转录 Transcription	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[34]
	FCA	AT4G16280	RRM	聚腺苷酸化 Polyadenylation	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[35]
	SSF	AT2G47310	RRM	转录 Transcription	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[36]
	CPSF30L	AT1G30460	YTH	聚腺苷酸化 Polyadenylation	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[37]
	EHD6	OS02G0517531	RRM	mRNA 隔离 mRNA sequestration	水稻 Rice	[38]
	YTH07	OS04G0608800	YTH	mRNA 隔离 mRNA sequestration	水稻 Rice	[38]
叶片发育 Leaf development	SERRATE	AT2G27100	ZnF C2H2	miRNA 加工 miRNA processing	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[39]
芳香物质形成 Aroma formation	SIYTH2	SOLYC01G028860	YTH	转录抑制 Transcriptional repression	番茄 Tomato	[40]
高温胁迫应答 Heat stress response	RBGD2/4	AT2G33410/ AT2G33410	RRM	mRNA 转运 mRNA transport	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[41]
	AGO1	AT1G48410	PAZ PIWI	miRNA 的保护 miRNA protection	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[42]
	GRP7	AT2G21660	RRM	转录 Transcription	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[43]
渗透压胁迫应答 Osmotic stress response	DCP5	AT1G26110	nil	mRNA 隔离 mRNA sequestration	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[44]
盐胁迫应答 Salt stress response	ECT8	AT1G79270	YTH	mRNA 降解 mRNA degradation	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[45]
干旱胁迫应答 Drought stress response	DRG9	OS09G0421700	ZnF	mRNA 隔离 mRNA sequestration	水稻 Rice	[46]
	SiYTH1	Seita.9G534000	YTH	转录 Transcription	小米 Foxtail millet	[47]
植物免疫应答 Plant immune response	RH6/8/12/20	AT2G45810/ AT3G61240/ AT4G00660/ AT1G55150	DEAD RRM	miRNA 加工 miRNA processing	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[48, 49]
	ECT1	AT3G03950	YTH	mRNA 隔离 mRNA sequestration	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	[50]

玉米、大白菜和番茄等植物中均存在潜在的相分离蛋白且其中 RBP(包含至少一个已知 RNA 结合结构域)的占比因物种而异,从苔藓的 10%到普通小麦的 27%不等^[21, 32]。RBP 通过相分离机制在植物的多种生理过程中发挥关键作用,包括开花时间、叶片发育、芳香物质形成、逆境响应等(表 2)^[33-50]。

3.1 植物 RBP 相分离与开花时间调控

植物从营养生长到生殖生长的转变,受到多种内外因素的精微调控。在这一过程中, RBP 通过相分离形成特异的分子结构,从而参与调控关键开花基因的表达,精确调节开花时间。

在拟南芥中, *FLC*(*FLOWERING LOCUS C*)是一个关键的开花抑制基因,其表达水平直接决定植物

的开花时间。HRLP(hnRNP R-like protein)作为一种关键的 RBP,通过与剪接因子 SR45(SER-RICH 45)协同作用,形成具有液滴性质的核内凝聚体,抑制 *FLC* 的共转录剪接,进而降低 *FLC* 的表达。当 *FLC* 表达降低时,开花促进信号被激活,推动植物从营养生长向生殖生长转变。HRLP 通过相分离机制精确调控 *FLC* 的表达,以确保植物在合适的环境条件下开花,提高生存竞争力^[33]。

UBA2c(UBP1-associated protein 2c)是拟南芥中另一种调控开花时间的重要 RBP,包含两个 RRM 和一个类朊蛋白域(PrLD)。纯化的 UBA2c 及其 PrLD 在体外能够形成核斑点,且 UBA2c-GFP 的 FRAP(Fluorescence Recovery After Photobleaching)

实验表明其形成的凝聚体具有凝胶状特性。在体内, UBA2c 形成多个核斑点, RRM 或 PrLD 的突变会破坏这些核斑点的形成, 说明 RRM 和 PrLD 对核斑点的形成至关重要。UBA2c 可能通过相分离与染色质或其他调控因子互作, 促进开花抑制基因 *FLM* (*FLOWERING LOCUS M*) 的转录, 从而抑制早花现象^[34]。

FLL2(FCA Like Flowering Locus Protein 2)也是影响拟南芥开花时间的关键 RBP, 其突变体 *sof78* 表现出显著的开花延迟表型^[35]。FLL2 与拟南芥 RNA 结合蛋白 FCA 共定位且相互作用, FLL2 可促进 FCA 相分离, 影响 FCA 核体数量和大小。FCA 参与转录本近端多聚腺苷酸化, 并与 RNA 的 3'端加工因子共定位, 以调节开花相关基因的表达, 实现开花时间的精细控制。

此外, P-body(Processing Body)成分 DCP5 (DECAPPING5)以及 RNA 结合蛋白 SSF(SISTER OF FCA)也参与了开花时间的调控^[36]。DCP5 和 SSF 通过 PrDs 发生相分离, 形成特定的分子复合体, 在 *FLC* 的转录调控中发挥重要作用, 影响拟南芥的开花时间。

CPSF30-L(Cleavage and polyadenylation specificity factor 30-large)是拟南芥 m⁶A 的读取蛋白(reader), 该蛋白质包含一个 YTH 结构域, 能够识别并结合 mRNA 上的 m⁶A 修饰, 其 m⁶A 结合功能在开花转变和脱落酸(ABA)响应中至关重要^[37]。CPSF30-L 通过与特定 m⁶A 修饰位点结合, 增强液滴状核内凝聚体形成, 识别 m⁶A 修饰的远上游元件, 从而调控多聚腺苷酸化位点的选择。CPSF30-L 缺失会导致 3'非翻译区延长, 加速 mRNA 降解, 进而引起晚花和 ABA 超敏反应。在水稻中, YTH07 同样作为含 YTH 结构域的 m⁶A 阅读蛋白, 可与 EHD6(EARLY HEADING DATE6)互作, 共同结合 CONSTANS 样蛋白家族成员 OsCOL4 (CONSTANS-like 4)mRNA 上的 m⁶A 修饰。EHD6 含有 PrLD 结构域, 能够在细胞质中形成类似 RNP 颗粒的凝聚物, 且其凝聚不依赖于应激刺激。EHD6 通过相分离机制将 YTH07 招募至 RNP 颗粒中, 使 OsCOL4 mRNA 隔离, 抑制其翻译并降低 OsCOL4 蛋白的积累。由于 OsCOL4 是开花抑制因子, 其蛋白浓度的降低促进 *Ehd1* (*EARLY HEADING DATE1*)及其下游成花素基因的表达, 从而促进水稻开花^[38]。

3.2 植物 RBP 相分离与叶发育

SERRATE(SE)蛋白是一类 C2H2 型锌指蛋白, 在相分离凝聚体 D 小体(Dicing bodies, D-bodies)的

形成中起关键作用。SE 蛋白具有 IDR, 可在体外形成液滴, 并促使 DCL1(Dicer-like 1)、HYL1(HY PONASTIC LEAVES1)等蛋白进入这些液滴中。在体内, SE 蛋白的 IDR 突变会阻止 D-bodies 的形成, 并且这种突变蛋白无法弥补在 SE 功能缺失突变体中观察到的生长速率降低和叶片锯齿状表型^[39]。

3.3 植物 RBP 相分离调控果实芳香品质

SIYTH2 是番茄中一种重要的 YTH 蛋白, 在调控番茄芳香品质方面发挥关键作用。SIYTH2 通过相分离促进 RNA-蛋白质凝聚体的形成, 隔离挥发性物质合成相关基因 *SIHPL* (*hydroperoxide lyase*)和 *SICCD1B* (*carotenoid cleavage dioxygenase1B*) 的 mRNA 并抑制这些基因的翻译。敲除 *SIYTH2* 可加速 *SIHPL* 和 *SICCD1B* 的翻译, 增加香气相关挥发性物质的产量, 提升果实芳香品质, 而不影响果实的成熟和硬度, 这为改善番茄果实风味提供了潜在策略^[40]。

3.4 植物 RBP 相分离与高温胁迫

RBGD2(RNA-binding glycine-rich group D 2)和 RBGD4 是拟南芥中两个热响应 RBP。它们包含 RNA 识别结构域(RRM)和低复杂度结构域(low complexity domain, LCD), LCD 区域中的酪氨酸残基阵列(tyrosine residue array, TRA)在高温胁迫下驱动相分离, 形成热诱导的 SG。TRA 突变会抑制相分离, 破坏 RBGD2 和 RBGD4 在 SG 中的凝聚能力, 并削弱其对高温胁迫的保护作用。高温下, RBGD2 和 RBGD4 的互作网络扩展, 与更多应激相关蛋白和热响应 mRNA 相互作用, 从而全面增强植物在高温下的生存能力^[41]。

拟南芥 ARGONAUTE1(AGO1)是 miRNA (microRNA)和 siRNA (small interfering RNA)介导基因沉默的核心蛋白, 通常定位于粗面内质网。热应激促使 AGO1 在细胞质凝聚体中积累, 并与 siRNA 小体及 SG 组分共定位。AGO1 的 N 端 Poly-Q 结构域含朊病毒样结构域, 可引发相分离。热应激仅轻微影响 siRNA 组成、AGO1 与 miRNA 的结合及靶标切割活性, 表明凝聚体形成可能通过隔离 AGO1 以保护其功能, 而非直接调控其在应激中的基因表达重编程作用^[42]。

GRP7(Glycine-rich RNA-binding protein 7)是拟南芥中一种甘氨酸富集的 RNA 结合蛋白。在高温胁迫下, GRP7 迅速形成细胞质内凝聚体, 这一过程可被低温逆转。细胞生物学和生化检测证实 GRP7 在体内外均可发生相分离。在细胞质中, GRP7 的相分离机制有助于 SG 的形成, 并通过招

募 eIF4E1(eukaryotic initiation factor 4E)、CSP1(Cold Shock Protein1)和 CSP3 抑制其翻译,从而减少高温胁迫对植物的不利影响^[43]。

3.5 植物 RBP 相分离与渗透压胁迫

P-body 成分 DCP5 在拟南芥的渗透胁迫响应中起到关键作用。最新研究表明,DCP5 多数区域属于 IDR,其中一段 IDR 具有分子内拥挤感受器(intracellular crowding sensor, ICS)功能。在等渗环境中,DCP5 均匀分散于细胞质;当处于高渗环境时,细胞失水收缩,分子拥挤程度增加,ICS 通过构象变化介导相分离,迅速且可逆地形成凝聚体,从而感知和响应高渗胁迫^[44]。

3.6 植物 RBP 相分离与盐胁迫

ECT8(Evolutionarily conserved C-terminal region 8)是拟南芥中另一个 YTH 蛋白成员。盐胁迫下,ECT8 转录及表达水平显著升高,其与 m⁶A 修饰的 mRNA 结合能力增强。ECT8 与 DCP5 直接相互作用且共定位,可能通过相分离机制将修饰的 mRNA 引入加工体中,加速包括盐胁迫响应负调控因子 mRNA 在内的降解过程,从而增强植物对盐胁迫的耐受性,维持转录组稳态,在植物适应盐胁迫环境中扮演着至关重要的角色^[45]。

3.7 植物 RBP 相分离与干旱胁迫

DRG9(Drought resistance gene 9)是水稻中的双链 RNA(dsRNA)结合蛋白,在正常条件下弥散分布于细胞质,但在干旱胁迫下通过相分离形成 SG。其 N 端 IDR 及其中的 α -螺旋对相分离至关重要。DRG9 结合了包括 *OsNCED4*(9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase4)在内的应激相关基因 mRNA,在 SG 中保护其免受降解,增强其稳定性,促进 ABA 合成,从而提高水稻的抗旱性。同时,DRG9 突变影响其与 *OsNCED4* 的 mRNA 结合能力,进而影响水稻抗旱性^[46]。

在谷子中,SlYTH1 作为 m⁶A 识别蛋白,通过相分离在应对干旱胁迫中发挥关键作用。SlYTH1 含有 YTH 结构域,通常在细胞质中均匀分布,而在干旱胁迫下,其通过结合并稳定 *SlARDP*(ABA-responsive DRE-binding protein)和活性氧清除相关基因的 mRNA,正向调控谷子的抗旱能力。此外,研究还发现干旱胁迫诱导 SlYTH1 形成液滴状胞质凝聚体,并且其 m⁶A 结合活性有助于胞质凝聚体的形成^[47]。

3.8 植物 RBP 相分离与植物免疫

RNA 解旋酶 6(RNA Helicase 6, RH6)、RH8 和 RH12 属于 DEAD-box 解旋酶家族,它们定位于 D-

bodies,能够与其关键组分 SE 蛋白相互作用并促进其相分离,从而维持 D-bodies 的正常结构和功能。在芜菁花叶病毒感染期间,RH6/8/12 在细胞核内的积累减少,导致 D-bodies 数量下降,表明这些 RBP 通过相分离调控 D-bodies 的形成,帮助植物应对病毒感染^[48]。

RH20 也属于 DEAD-box 解旋酶家族,是大麦条纹花叶病毒(BSMV)编码的 γ b(一种病毒沉默抑制因子)的互作蛋白。它与 RNAi 途径中的 SGS3(suppressor of gene silencing 3)/RDR6(RNA-dependent RNA polymerase 6)互作且共定位,并可能促进后者相分离过程。这三者与 RNAi 介导的抗病病毒防御相关,RH20 借此增强病毒来源的 siRNA 积累,从而抵御病毒感染,展现出其在植物免疫中的重要调节作用^[49]。

ECT1 是水杨酸介导的植物胁迫响应中的 YTH 蛋白。ECT1 通过相分离在细胞质中形成生物分子凝聚体,调控 mRNA 的稳定性。在细菌感染时,ECT1 识别特定修饰的 mRNA,调节植物应激反应基因的表达,影响植物对胁迫的响应^[50]。

4 讨论与展望

4.1 未来的研究挑战

随着相分离在植物 RNA 结合蛋白(RBP)中的研究不断深入,我们逐渐认识到这一机制在植物生长发育、环境适应及逆境响应中的重要性。尽管已有大量研究揭示了 RBP 相分离的分子基础和功能意义,该领域仍然面临诸多挑战和未解之谜。未来的研究可以从以下几个方面进一步深入探索,以推动植物相分离研究的发展,并促进其在农业生产中的应用。

4.1.1 相分离的时空调控机制

目前,植物 RBP 的相分离已被广泛观察,但其如何在不同细胞类型、发育阶段及胁迫条件下被精准调控仍不清楚。例如特定激素或环境信号如何影响相分离的形成与解散以及不同 RBP 在同一细胞中的相分离行为是否存在协同或竞争作用。未来的研究可结合活细胞成像技术、高通量蛋白组学及单细胞测序技术等一系列新兴技术手段,解析相分离的动态变化及其调控网络。

4.1.2 RNA 修饰对相分离的影响

RNA 修饰(如 m⁶A、m⁵C)在植物 RBP 相分离中发挥重要作用,但具体机制仍待深入研究。例如不同修饰如何协同或拮抗相分离,RNA 修饰如何影响

RBP 与 RNA 的结合模式等。未来研究可结合 RNA 修饰测序(如 m⁶A 测序)和结构生物学方法,解析 RNA 修饰在相分离中的作用及其调控机制。

4.1.3 环境信号如何介导 RBP 相分离

植物需要快速响应环境变化,如温度波动、渗透压变化和光周期等,这些信号可能通过调节蛋白翻译后修饰(如磷酸化、泛素化)或 RNA 修饰来影响相分离。然而,不同信号如何通过特定通路调控 RBP 相分离仍不明确。未来研究需结合基因编辑、信号通路分析及蛋白互作组学,解析环境信号如何影响 RBP 相分离,以揭示植物适应环境变化的分子机制。

4.2 RBP 相分离研究在作物改良中的潜在应用

近年来我国乃至世界农业环境面临多种挑战,如极端天气事件频发、农业气候资源利用率降低、农作物种植带北移、病虫害加剧、外来有害生物入侵、农药抗药性问题及土壤退化和污染等。当前的研究已证实,RBP 的相分离机制与植物的基础抗性和生长习性等方面存在紧密联系。在这种背景下,基于 RBP 的相分离机制有望成为应对这些环境变化的重要解决方案。最近的一项研究开发了一种基于相分离机制的靶向蛋白降解技术(Targeted condensation-prone-protein degradation, TCD),通过遗传编码策略精准靶向内源蛋白,实现了对水稻生长发育及抗病性状的精确调控^[51]。这一方法提供了一种高效的工具,用于研究植物关键基因功能并优化农艺性状。未来的研究应进一步探索 RBP 相分离机制与作物重要农艺性状之间的联系,结合基因编辑等新兴技术,为优良作物品种的培育开辟新路径。例如,通过精准调控与开花时间相关的 RBP 相分离进程,可以促使作物花期与环境及生产需求更好匹配,规避因花期不当导致的产量损失,优化生殖生长过程,从而提升产量和品质。在抗逆性方面,挖掘参与胁迫响应的 RBP 及其相分离机制,有助于培育适应多种环境胁迫的作物品种。例如在干旱或高温等不利条件下,利用基因编辑技术精确调控 RBP 相分离过程,强化特定 RBP 的相分离能力,可以帮助作物在极端胁迫下更有效地维持细胞稳态,提升水分利用效率和渗透调节能力,增强耐旱性和耐热性,确保产量稳定性。通过对不同作物品种中 RBP 相分离相关基因多态性的分析,并结合田间试验,筛选出与优良农艺性状相关的自然变异,从而为分子标记辅助育种确定靶标,加速高产、优质、抗逆作物新品种的培育进程。

综上所述,植物 RBP 相分离的研究仍处于起步

阶段,未来需要多学科交叉研究,以揭示其分子机制,并推动其在作物改良中的应用。

参考文献:

- [1] Mitchell S F, Parker R. Principles and properties of eukaryotic mRNPs[J]. *Molecular Cell*, 2014, 54(4): 547-558.
- [2] Hentze M W, Castello A, Schwarzl T, Preiss T. A brave new world of RNA-binding proteins[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19(5): 327-341.
- [3] Lee K, Kang H. Emerging roles of RNA-binding proteins in plant growth, development, and stress responses[J]. *Molecules and Cells*, 2016, 39(3): 179-185.
- [4] Stoilov P, Rafalska I, Stamm S. YTH: A new domain in nuclear proteins[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2002, 27(10): 495-497.
- [5] Silverman I M, Li F, Gregory B D. Genomic era analyses of RNA secondary structure and RNA-binding proteins reveal their significance to post-transcriptional regulation in plants[J]. *Plant Science*, 2013, 205-206: 55-62.
- [6] Gerstberger S, Hafner M, Tuschl T. A census of human RNA-binding proteins[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2014, 15(12): 829-845.
- [7] Chen T, Cui P, Xiong L. The RNA-binding protein HOS5 and serine/arginine-rich proteins RS40 and RS41 participate in miRNA biogenesis in *Arabidopsis*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(17): 8283-8298.
- [8] Kalyna M, Simpson C G, Syed N H, Lewandowska D, Marquez Y, Kusenda B, Marshall J, Fuller J, Cardle L, McNicol J, Dinh H Q, Barta A, Brown J W S. Alternative splicing and nonsense-mediated decay modulate expression of important regulatory genes in *Arabidopsis*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(6): 2454-2469.
- [9] Kim J Y, Kim W Y, Kwak K J, Oh S H, Han Y S, Kang H. Glycine-rich RNA-binding proteins are functionally conserved in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* during cold adaptation process[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(9): 2317-2325.
- [10] Qin T, Zhao P, Sun J, Zhao Y, Zhang Y, Yang Q, Wang W, Chen Z, Mai T, Zou Y, Liu G, Hao W. Research progress of PPR proteins in RNA editing, stress response, plant growth and development[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 765580.
- [11] Li X, Sun M, Liu S, Teng Q, Li S, Jiang Y. Functions of PPR proteins in plant growth and development[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(20): 11274.
- [12] Lurin C, Andrés C, Aubourg S, Bellaoui M, Bitton F, Bruyère C, Caboche M, Debast C, Gualberto J, Hoffmann B, Lecharny A, Le Ret M, Martin-Magniette M L, Mireau

- H, Peeters N, Renou J P, Szurek B, Taconnat L, Small I. Genome-wide analysis of *Arabidopsis pentatricopeptide* repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis[J]. *The Plant Cell*, 2004, 16(8): 2089-2103.
- [13] Nawaz G, Kang H. Chloroplast- or mitochondria-targeted DEAD-box RNA helicases play essential roles in organellar RNA metabolism and abiotic stress responses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 871.
- [14] Li X, Li C, Zhu J, Zhong S, Zhu H, Zhang X. Functions and mechanisms of RNA helicases in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(7): 2295-2310.
- [15] Fusaro A F, Bocca S N, Ramos R L B, Barrôco R M, Magioli C, Jorge V C, Coutinho T C, Rangel-Lima C M, De Rycke R, Inzé D, Engler G, Sachetto-Martins G. AtGRP2, a cold-induced nucleo-cytoplasmic RNA-binding protein, has a role in flower and seed development[J]. *Planta*, 2007, 225(6): 1339-1351.
- [16] Cao S, Jiang L, Song S, Jing R, Xu G. AtGRP7 is involved in the regulation of abscisic acid and stress responses in *Arabidopsis*[J]. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 11(4): 526-535.
- [17] Ma W, Cui S, Lu Z, Yan X, Cai L, Lu Y, Cai K, Zhou H, Ma R, Zhou S, Wang X. YTH domain proteins play an essential role in rice growth and stress response[J]. *Plants*, 2022, 11(17): 2206.
- [18] Hyman A A, Simons K. Beyond oil and water-phase transitions in cells[J]. *Science*, 2012, 337(6098): 1047-1049.
- [19] Li P, Banjade S, Cheng H C, Kim S, Chen B, Guo L, Llaguno M, Hollingsworth J V, King D S, Banani S F, Russo P S, Jiang Q X, Nixon B T, Rosen M K. Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins[J]. *Nature*, 2012, 483(7389): 336-340.
- [20] Shin Y, Brangwynne C P. Liquid phase condensation in cell physiology and disease[J]. *Science*, 2017, 357(6357): eaaf4382.
- [21] Fan S, Zhang Y, Zhu S, Shen L. Plant RNA-binding proteins: Phase separation dynamics and functional mechanisms underlying plant development and stress responses[J]. *Molecular Plant*, 2024, 17(4): 531-551.
- [22] Brangwynne C P, Tompa P, Pappu R V. Polymer physics of intracellular phase transitions[J]. *Nature Physics*, 2015, 11(11): 899-904.
- [23] Wiedner H J, Giudice J. It's not just a phase: function and characteristics of RNA-binding proteins in phase separation[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2021, 28(6): 465-473.
- [24] Luo Y Y, Wu J J, Li Y M. Regulation of liquid-liquid phase separation with focus on post-translational modifications[J]. *Chemical Communications*, 2021, 57(98): 13275-13287.
- [25] Pietrosemoli N, García-Martín J A, Solano R, Pazos F. Genome-wide analysis of protein disorder in *Arabidopsis thaliana*: Implications for plant environmental adaptation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55524.
- [26] Chakrabortee S, Kayatekin C, Newby G A, Mendillo M L, Lancaster A, Lindquist S. Luminidependens (LD) is an *Arabidopsis* protein with prion behavior[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(21): 6065-6070.
- [27] Wang J, Choi J M, Holehouse A S, Lee H O, Zhang X, Jahnel M, Maharana S, Lemaître R, Pozniakovskiy A, Drechsel D, Poser I, Pappu R V, Alberti S, Hyman A A. A molecular grammar governing the driving forces for phase separation of prion-like RNA binding proteins[J]. *Cell*, 2018, 174(3): 688-699.e16.
- [28] Gotor N L, Armaos A, Calloni G, Torrent Burgas M, Vabulas R M, de Groot N S, Tartaglia G G. RNA-binding and prion domains: The Yin and Yang of phase separation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(17): 9491-9504.
- [29] Wang L, Yang T, Wang B, Lin Q, Zhu S, Li C, Ma Y, Tang J, Xing J, Li X, Liao H, Staiger D, Hu Z, Yu F. RALF1-*FERONIA* complex affects splicing dynamics to modulate stress responses and growth in plants[J]. *Science Advances*, 2020, 6(21): eaaz1622.
- [30] Xu X, Zheng C, Lu D, Song C P, Zhang L. Phase separation in plants: New insights into cellular compartmentalization[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, 63(11): 1835-1855.
- [31] Wang A, Conicella A E, Schmidt H B, Martin E W, Rhoads S N, Reeb A N, Nourse A, Ramirez Montero D, Ryan V H, Rohatgi R, Shewmaker F, Naik M T, Mittag T, Ayala Y M, Fawzi N L. A single N-terminal phosphomimic disrupts TDP-43 polymerization, phase separation, and RNA splicing[J]. *The EMBO Journal*, 2018, 37(5): e97452.
- [32] Zhang H, Peng F, He C, Liu Y, Deng H, Fang X. Large-scale identification of potential phase-separation proteins from plants using a cell-free system[J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(2): 310-313.
- [33] Zhang Y, Fan S, Hua C, Teo Z W N, Kiang J X, Shen L, Yu H. Phase separation of HRLP regulates flowering time in *Arabidopsis*[J]. *Science Advances*, 2022, 8(25): eabn5488.
- [34] Zhao N, Su X M, Liu Z W, Zhou J X, Su Y N, Cai X W, Chen L, Wu Z, He X J. The RNA recognition motif-containing protein UBA2c prevents early flowering by promoting transcription of the flowering repressor *FLM* in *Arabidopsis*[J]. *New Phytologist*, 2022, 233(2): 751-765.
- [35] Fang X, Wang L, Ishikawa R, Li Y, Fiedler M, Liu F, Calder G, Rowan B, Weigel D, Li P, Dean C. *Arabidopsis* FLL2 promotes liquid-liquid phase separation of polyadenylation complexes[J]. *Nature*, 2019, 569(7755): 265-269.

- [36] Wang W, Wang C, Wang Y, Ma J, Wang T, Tao Z, Liu P, Li S, Hu Y, Gu A, Wang H, Qiu C, Li P. The P-body component DECAPPING5 and the floral repressor SISTER OF FCA regulate *FLOWERING LOCUS C* transcription in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2023, 35(9): 3303-3324.
- [37] Song P, Yang J, Wang C, Lu Q, Shi L, Tayier S, Jia G. *Arabidopsis* N⁶-methyladenosine reader CPSF30-L recognizes FUE signals to control polyadenylation site choice in liquid-like nuclear bodies[J]. *Molecular Plant*, 2021, 14(4): 571-587.
- [38] Cui S, Song P, Wang C, Chen S, Hao B, Xu Z, Cai L, Chen X, Zhu S, Gan X, Dong H, Hu Y, Zhou L, Hou H, Tian Y, Liu X, Chen L, Liu S, Jiang L, Wang H, Jia G, Zhou S, Wan J. The RNA binding protein EHD6 recruits the m⁶A reader YTH07 and sequesters *OsCOL4* mRNA into phase-separated ribonucleoprotein condensates to promote rice flowering[J]. *Molecular Plant*, 2024, 17(6): 935-954.
- [39] Xie D, Chen M, Niu J, Wang L, Li Y, Fang X, Li P, Qi Y. Phase separation of SERRATE drives dicing body assembly and promotes miRNA processing in *Arabidopsis*[J]. *Nature Cell Biology*, 2021, 23(1): 32-39.
- [40] Bian H, Song P, Gao Y, Deng Z, Huang C, Yu L, Wang H, Ye B, Cai Z, Pan Y, Wang F, Liu J, Gao X, Chen K, Jia G, Klee H J, Zhang B. The m⁶A reader SIYTH2 negatively regulates tomato fruit aroma by impeding the translation process[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2024, 121(28): e2405100121.
- [41] Zhu S, Gu J, Yao J, Li Y, Zhang Z, Xia W, Wang Z, Gui X, Li L, Li D, Zhang H, Liu C. Liquid-liquid phase separation of RBGD2/4 is required for heat stress resistance in *Arabidopsis*[J]. *Developmental Cell*, 2022, 57(5): 583-597.e6.
- [42] Blagojevic A, Baldrich P, Schiaffini M, Lechner E, Baumberger N, Hammann P, Elmayan T, Garcia D, Vaucheret H, Meyers B C, Genschik P. Heat stress promotes *Arabidopsis* AGO1 phase separation and association with stress granule components[J]. *iScience*, 2024, 27(3): 109151.
- [43] Xu F, Wang L, Li Y, Shi J, Staiger D, Yu F. Phase separation of GRP7 facilitated by *FERONIA*-mediated phosphorylation inhibits mRNA translation to modulate plant temperature resilience[J]. *Molecular Plant*, 2024, 17(3): 460-477.
- [44] Wang Z, Yang Q, Zhang D, Lu Y, Wang Y, Pan Y, Qiu Y, Men Y, Yan W, Xiao Z, Sun R, Li W, Huang H, Guo H. A cytoplasmic osmosensing mechanism mediated by molecular crowding-sensitive DCP5[J]. *Science*, 2024, 386(6721): eadk9067.
- [45] Cai Z, Tang Q, Song P, Tian E, Yang J, Jia G. The m⁶A reader ECT8 is an abiotic stress sensor that accelerates mRNA decay in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2024, 36(8): 2908-2926.
- [46] Wang H, Ye T, Guo Z, Yao Y, Tu H, Wang P, Zhang Y, Wang Y, Li X, Li B, Xiong H, Lai X, Xiong L. Author Correction: A double-stranded RNA binding protein enhances drought resistance via protein phase separation in rice[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 4776.
- [47] Luo W, Tang Y, Li S, Zhang L, Liu Y, Zhang R, Diao X, Yu J. The m⁶A reader SiYTH1 enhances drought tolerance by affecting the messenger RNA stability of genes related to stomatal closure and reactive oxygen species scavenging in *Setaria italica*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2023, 65(12): 2569-2586.
- [48] Li Q, Liu N, Liu Q, Zheng X, Lu L, Gao W, Liu Y, Liu Y, Zhang S, Wang Q, Pan J, Chen C, Mi Y, Yang M, Cheng X, Ren G, Yuan Y W, Zhang X. DEAD-box helicases modulate dicing body formation in *Arabidopsis*[J]. *Science Advances*, 2021, 7(18): eabc6266.
- [49] Wen Z, Hu R, Pi Q, Zhang D, Duan J, Li Z, Li Q, Zhao X, Yang M, Zhao X, Liu D, Su Z, Li D, Zhang Y. DEAD-box RNA helicase RH20 positively regulates RNAi-based antiviral immunity in plants by associating with SGS3/RDR6 bodies[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22(12): 3295-3311.
- [50] Lee K P, Liu K, Kim E Y, Medina-Puche L, Dong H, Di M, Singh R M, Li M, Qi S, Meng Z, Cho J, Zhang H, Lozano-Duran R, Kim C. The m⁶A reader ECT1 drives mRNA sequestration to dampen salicylic acid-dependent stress responses in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2024, 36(3): 746-763.
- [51] Luo M, Zhu S, Dang H, Wen Q, Niu R, Long J, Wang Z, Tong Y, Ning Y, Yuan M, Xu G. Genetically-encoded targeted protein degradation technology to remove endogenous condensation-prone proteins and improve crop performance[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 1159.