

## RNAi 机器\*

刘默芳\*\* 蒋 帅 王恩多

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

**摘要** 小分子非编码 RNA, 以不同于蛋白质调控因子的全新方式, 通过 RNA 干扰(RNAi), 调控 mRNA 稳定性、蛋白质合成、染色质的组织和基因组的结构. 由于可方便地施加和释放控制, RNAi 已被广泛作为通过沉默作用研究基因功能的手段, 并正在被应用于一些重大疾病的诊治. 小分子 RNA 沉默作用的发挥依赖于一个由多种蛋白质因子组成的 RNAi 机器. 在过去的几年中, 对 RNAi 机器中重要蛋白质因子的结构功能, 及它们在小向导 RNA 指导下沉默基因表达的分子机制等方面的研究都取得了诸多突破性的进展.

**关键词** RNA 干扰, RNAi 机器, Argonaute, PIWI, 小 RNA

**学科分类号** Q71

20 世纪 90 年代末, 人们在植物和线虫中偶然发现了外源提供的长双链 RNA (dsRNA) 进入细胞后被加工成大小约为 21~25 个核苷酸的小 RNA, 它们专一地对具有相同序列的内源基因产生抑制作用, 这个现象被称为 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi), 那些小 RNA 则被称为小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)<sup>[1]</sup>. 从 21 世纪初开始, 在多种动植物的基因组中陆续发现了数量巨大的内源性小分子非编码 RNA, 包括 miRNA<sup>[2~5]</sup>, shRNA<sup>[6~8]</sup>, piRNA 和 rasiRNA<sup>[9~12]</sup> 等. 这些小 RNA 通过与 siRNA 类似的 RNA 干扰作用, 或称为 RNA 诱导基因沉默作用, 在细胞分裂和分化、个体生长发育和繁殖、遗传和表观遗传等几乎所有的重要生命活动中发挥重要作用. 对小分子非编码 RNA 的发现、作用机理及生物学功能的研究已成为当前生命科学的热点和迅速发展的生物学前沿. 本文中, 我们综述了 RNAi 的效应器——“RNAi 机器”中重要蛋白质的结构和功能, 并简要介绍了“RNAi 机器”研究的一些最新研究进展.

### 1 RNAi 效应模型

在 RNAi 过程中, 外源或内源小 dsRNA 中的一条链作为向导链 (如, 靶 mRNA 的反义链), 被装配到由多个蛋白质因子组成的 RNAi 机器中执行 RNAi 效应. Argonaute 是 RNAi 机器的关键蛋白质

成分, 最小的 RNAi 机器仅含有一个 Argonaute 家族蛋白质和一条向导小 RNA<sup>[13,14]</sup> (详见后第 3, 4 节). 根据向导小 RNA 的性质及调控基因表达的机制, 目前有 3 种 RNAi 效应模型: a. 靶 mRNA 降解模型. 在这一过程中, 向导小 RNA 整合进入一个被称为 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 的 RNAi 机器, 通过碱基配对, 向导 RNA 指导 RISC 结合到靶 mRNA 上, 然后 RISC 执行定点裁剪, 导致靶 mRNA 的降解和靶 mRNA 基因表达的沉默<sup>[14]</sup>. 这种方式最常用的是 siRNA 下调基因表达, 在多种植物 miRNA 及少数动物 miRNA 介导的基因沉默中发现. b. 靶 mRNA 翻译抑制模型. 在翻译抑制过程中, 执行 RNAi 效应的 RNAi 机器同样是 RISC, 也是通过碱基配对, 向导小 RNA 指导 RISC 结合到靶 mRNA 的 3' UTR, 导致靶 mRNA 的翻译抑制. 这种沉默方式最常见于哺乳动物 miRNA 介导的基因沉默. c. 在转录水平的沉默模型. 在这个模型中, RNAi 效应由一个被称为 RNA 诱导基因转录起始沉默复合物 (RNA-induced initiation of transcriptional gene

\* 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2005CB724603)和上海市科委浦江人才计划资助项目(06PJ14105).

\*\* 通讯联系人. Tel: 021-54921242, Fax: 021-54921011

E-mail: mfliu@sibs.ac.cn

收稿日期: 2007-02-06, 接受日期: 2007-05-17

silencing, RITS) 的 RNAi 机器行使. RITS 通过介导组蛋白甲基化修饰和异染色质形成, 抑制基因转录起始, 从而在转录水平沉默基因表达. 在植物中最早观察到这种沉默方式, 后来在裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 和果蝇中得到证明<sup>[7,8,15]</sup>.

## 2 RNAi 机器 (RNAi machinery)

小分子 RNA 作用的发挥必需依靠一个由多种蛋白质因子组成的 RNAi 机器. 当前对 RNAi 机器的认识主要来自对 RISC 和 RITS 的研究, 但随着新的小分子 RNA 的发现及其诱导基因沉默机制的鉴定, 将可能出现更多类型的 RNAi 机器.

最初, 人们用提取果蝇抽提物的序列特异性核酸酶的方法来分离纯化 RISC<sup>[16]</sup>. 结合蛋白质测序, 在 RISC 中先后发现了 Argonaute2 (DmAgo2)、Vasa 内含子基因(VIG)、脆弱 X 蛋白的果蝇同源物 (DmFXR) 和 Tudor-SN 等几个蛋白质组分<sup>[17~19]</sup>. 报道的 RISC 分子质量介于 140~500 ku 之间, 最小的 RISC 仅含有 Ago2 这一种蛋白质成分, 而大分子质量的 RISC, 除了 Ago2 外, 还含有其他因子, 如 VIG、DmFXR 和 Tudor-SN 等<sup>[16,20~22]</sup>. 因这些成分不为 RISC 的核酸酶活性所必需, 它们可能具有其他作用, 如 RISC 周转、RISC 的亚细胞定位等. 随后, 又在 RITS 复合物中发现了 Argonaute1、Chp1 和 Tas3 等蛋白质成分<sup>[8,15]</sup>. 在 RNAi 机器的所有蛋白质组分中, Argonaute 蛋白最令人感兴趣, 因为它们不仅存在于从不同物种纯化的 RISC 中, 而且也是 RITS 介导转录水平基因沉默的必需组分<sup>[23]</sup>.

在多种物种 Argonaute 晶体结构中都发现有类似 RNase H 的折叠<sup>[24~26]</sup>. RNase H 是一个依赖  $Mg^{2+}$  的核酸酶, 它切割 DNA-RNA 杂合体, 生成 5' 带羟基、3' 带磷酸基的 RNA 片段<sup>[27]</sup>. 虽然 RISC 切割的是 RNA-RNA 杂合体, 但它的产物与典型的 RNase H 产物类似, 并且 RISC 的切割活性同样依赖二价阳离子<sup>[28,29]</sup>. 这些证据暗示 Argonaute 的类似 RNase H 折叠可能是 RISC 的催化中心, Argonaute 蛋白可能是 RNAi 机器的核心. 体外实验进一步证明, 细菌表达的人源 Argonaute 2 (HsAgo2) 和一个小 RNA 就足以在体外重组 RISC 的切割活性<sup>[14]</sup>. 此外, 突变根据火球菌属 (*Pyrococcus furiosus*) Argonaute (PfAgo) 晶体结构推导的 HsAgo2 催化活性氨基酸残基, 取消了 RISC 的活性<sup>[14,21]</sup>. 这些结果充分表明了 HsAgo2 是 RISC 的催化活性中心, 是

RISC 中负责裁剪 mRNA 的核酸酶. 然而, 并不是所有的 Argonaute 蛋白都具有切割靶 RNA 的能力, 切割活性必需一个保守的 Asp-Asp-His 结构模体的存在, 但这还不是充分条件<sup>[13]</sup>. 如, 对人的 4 个 Argonaute 同源物研究发现, 似乎只有 HsAgo2 能在 RISC 中裁剪靶 mRNA, 而同样具有 Asp-Asp-His 保守模体的 HsAgo3 则无核酸酶活性<sup>[20,21]</sup>.

对于最近新发现的 rasiRNA 和 piRNA 的 RNAi 机器, 其组成和功能都还知之甚少. 然而, 已有的证据表明, Argonaute 似乎并不是这类 RNAi 机器的功能蛋白质成分, 推测另一类 Argonaute 家族——PIWI 亚家族蛋白质可能与这类小 RNA 介导的基因沉默相关<sup>[9~12]</sup>. 这类小 RNA 的功能及诱导基因沉默的分子机制都有待于进一步的研究.

## 3 Argonaute 的结构和功能

Argonaute 蛋白质主要由 N 端、PAZ 结构域、中间结构域和 PIWI 结构域组成. 通过蛋白质结晶和 NMR, 首先解出了果蝇 Argonaute 的 PAZ 结构, 发现 PAZ 结构域有一个不规范的 OB 折叠, 可能参与结合核酸<sup>[30]</sup>. 随后, 分别用生化方法及 PAZ-核酸共结晶手段证实了 PAZ 确实结合核酸. 发现 PAZ 识别单链 siRNA 的 3' 端, 结合与序列有关<sup>[31,32]</sup>. 通过火球菌属 PfAgo 全长晶体结构建立了其他 3 个结构域的功能及 Argonaute 的作用模型<sup>[24]</sup>. 如前面提到的类似 RNase H 折叠, 被确证位于 PIWI 结构域. 值得注意的是, 除了这个保守的二级结构折叠外, 在 PfAgo 中还发现在 RNase H 家族酶活性中心的 2 个保守 Asp 残基及邻近的保守  $\beta$  折叠. PfAgo 的中间结构域与 lac 基因抑制蛋白的糖结合结构域有同源性. lac 基因抑制蛋白质有 2 个这样的糖结合结构域, 用于包裹一个单乳糖分子. 在 PfAgo 中, N 端、中间结构域和 PIWI 结构域共同形成月牙形盆地状结构, 一条“手臂”将 PAZ 结构域支撑在“盆地”上方<sup>[24,26]</sup>. 这种结构就形成了一个带正电荷的沟, 它可能用于结合核酸. 大沟由 PAZ 和月牙形“盆地”结构形成, 小沟由 N 端和 PIWI 结构域形成. 模拟 PAZ 从 3' 识别 siRNA 并结合靶 RNA, 证明大沟能容纳双链, 并将容易断裂的磷酸二酯键正对着催化位点.

## 4 Argonaute 家族

根据与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) Argonaute 1

(AtAgo1)或果蝇 PIWI 蛋白(DmPIWI)的相似性, Carmell 等<sup>[33]</sup>将 Argonaute 家族蛋白质分为 Ago 和 PIWI 2 个亚家族. 最近, Yigit 等<sup>[34]</sup>对人、拟南芥、

秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)、*C. briggsae* 线虫、果蝇和裂殖酵母等的 Argonaute 进行了比较分析, 提出了第三个亚家族——又称第三组 Argonaute (图 1).

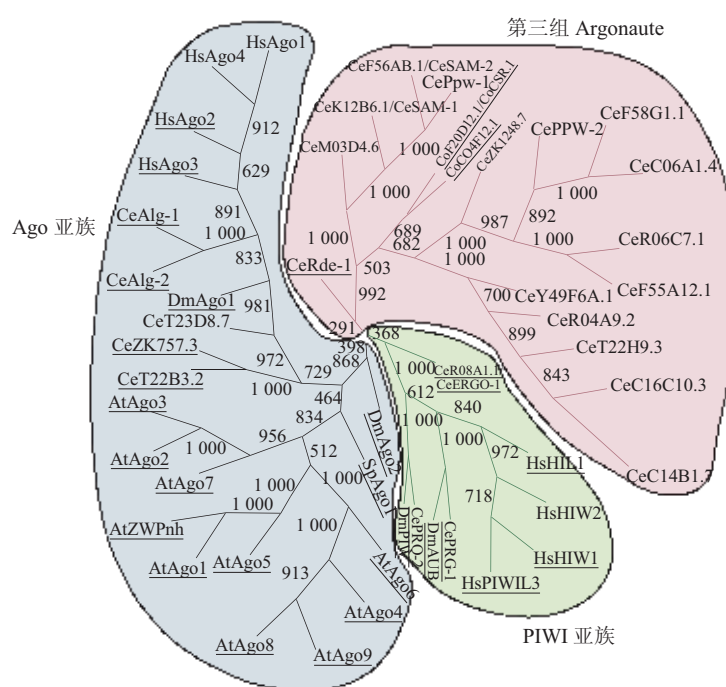


Fig. 1 The three clades of the Argonautes

图 1 Argonaute 家族的 3 个亚族进化图

利用 ClustalW(version 1.83; <http://www.ebi.ac.uk/clustalw>)进行多序列类比, 利用 Phylip (version 3.65; <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>)进行 Bootstrap 方法分析、蛋白质起源距离计算(利用 Dayhoff PAM 距离)和进化树建立. 在每个交叉处标出了 Bootstrap 值. 有下划线的 Argonaute 具有完整的催化模体和 / 或检测到核酸酶活性.

目前已证明 Ago 亚家族成员是一些 RNAi 机器的核心组成, 它们协同小分子调控 RNA, 序列特异性地在转录、转录后和翻译水平全方位地控制基因表达.

PIWI 亚家族蛋白质的功能主要与生殖特异性事件相关, 如生殖干细胞维持和减数分裂等, 并在干细胞自我更新中发挥作用. DmPIWI 和 DmAub (果蝇 PIWI 亚家族蛋白质)在果蝇的生殖系(germline)细胞中表达, 突变其中之一则导致精子细胞不正常发育, 小鼠的 PIWI 蛋白——MmMILI 和 MmMIWI 在精祖细胞中表达, 敲除 2 种基因中的任何一种会导致精子形成的缺陷及无精症<sup>[35~37]</sup>. 此外, 人源 PIWI 蛋白——HIWI 的高表达不仅与精祖细胞瘤有关, 而且还与胃癌、软组织瘤等有关<sup>[38~40]</sup>. 最近的研究发现, PIWI 亚家族蛋白质与一

类在生殖系细胞专一表达的小 RNA——piRNA 和 rasiRNA 相互作用<sup>[9~12]</sup>, 例如, 来源于斑马鱼的 PIWI 成员——ZIWI 与约 29 nt 的 piRNA 相互作用, 对生殖系细胞的维持及生殖系细胞转座子的沉默具有重要作用<sup>[41]</sup>, 而小鼠的 PIWI 成员 MIWI2 是精子发生和转座子抑制所必需<sup>[42]</sup>. 值得注意的是, 从大鼠睾丸中分离的含 RIWI (大鼠 PIWI 同源物)的 piRNA 复合物中可检测到核酸酶活性, 而且 RIWI 确实也具有催化活性保守的 Asp-Asp-His 结构模体<sup>[12]</sup>, 这些证据暗示 PIWI 亚家族蛋白质可能是这类 RNAi 机器的核心及活性“切割子”. 然而, 这类 RNA 似乎不与 mRNA 互补, 因而可能不直接参与调控蛋白质的翻译. 这类 RNA 和 PIWI 亚家族蛋白质相互作用的模型, 以及它们的“切割子”活性, 都有待于进一步研究.

第三个亚家族是蠕虫特有的, 主要由非核酸酶活性的 Argonaute 组成. 所有物种的 Ago 亚家族和 PIWI 亚家族都含有高比例的潜在核酸酶组分, 而蠕虫进化了一大群非核酸酶的 Argonaute. 对 *C. briggsae* 线虫的 21 个 Argonaute 分析发现, 这类线虫拥有第三个亚家族 Argonaute, 说明第三个亚家族在秀丽隐杆线虫 - *C. briggsae* 线虫分开之前就进化出来了. 用遗传学方法鉴定的与 RNAi 相关的第一个 Argonaute 家族成员——蛋白质 CeRde-1, 就是第三亚家族成员, 该研究发现线虫的 CeRde-1 突变子抗 dsRNA 介导的 RNAi<sup>[43]</sup>. 在 RNAi 过程中, CeRde-1 结合由 Dicer 加工外源 dsRNA 生成的初级 siRNA, 然后 CeRde-1-siRNA 复合物靶向 mRNA, 招募依赖 RNA 的 RNA 聚合酶, 合成 dsRNA, 生成的 dsRNA 再次成为 Dicer 的底物, 导致二级 siRNA 的生成, 这些二级 siRNA 整合到第三组 Argonaute 中, 进一步扩大靶基因的沉默<sup>[44]</sup>. 此外, 这个亚家族的另外两个蛋白质, CePpw-1 和 CePpw-2, 可能在线虫的生殖系细胞中参与 RNAi<sup>[44,45]</sup>. 用遗传学方法对线虫 Argonaute 进行全面研究, 发现各种 Argonaute 依次发挥作用, 并确定了几种 Argonaute 的功能, 包括那些蠕虫特有的第三亚家族 Argonaute. 在蠕虫中, 要使 RNAi 效应同时在生殖系细胞和体细胞中丧失, 需要同时突变 6 个 Argonaute: CePpw-1, CeK12B6.1/ CeSam-1, CeF58G1.1/ CeSam-2, CeF58G1.1, CeC06A1.4 和 CeM03D4.6<sup>[34]</sup>. 这 6 个蛋白质都是第三个亚家族成员. 由于大多数第三个亚家族成员都不具有核酸酶活性, 它们参与的两级基因沉默可能是通过抑制翻译进行的.

## 5 结语和展望

虽然我们已经知道了一些 RNAi 机器的组成, 并证明 Argonaute 家族蛋白质是这些 RNAi 机器中的关键成分, 但对那些新的小 RNA, 如 piRNA 和 rasiRNA 等 RNAi 机器的蛋白质组成及作用模式都还有待于鉴定和确认. 此外, 我们还不清楚, 除了必需的催化氨基酸残基外, 还有哪些因素决定 Argonaute 成为一个活性核酸酶? 是哪些因素决定一个特定的小 RNA 导致靶 RNA 的降解, 还是引发抑制靶 RNA 的翻译? Argonaute 家族蛋白质的多样化是否与它们偶联不同的小 RNA 相关? 是蛋白质构象受靶向底物的调节, 还是蛋白质构象决定靶标的选择? 进一步的生物化学和结构生物学研究将

逐步解决这些问题.

## 参考文献

- 1 Fire A, Xu S, Montgomery M K, *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, **391** (6669): 806~811
- 2 Lau N C, Lim L P, Weinstein E G, *et al.* An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 2001, **294** (5543): 858~862
- 3 Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, *et al.* Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 2001, **294** (5543): 853~858
- 4 Ambros V. microRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell*, 2001, **107** (7): 823~826
- 5 Reinhart B J, Weinstein E G, Rhoades M W, *et al.* MicroRNAs in plants. *Genes Dev*, 2002, **16** (13): 1616~1626
- 6 Reinhart B J, Bartel D P. Small RNAs correspond to centromere heterochromatic repeats. *Science*, 2002, **297** (5588): 1831
- 7 Valpe T A, Kidner C, Hall I M, *et al.* Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science*, 2002, **297** (5588): 1833~1837
- 8 Motamedi M R, Verdel A, Colmenares S U, *et al.* Two RNAi complexes, RITS and RDRC, physically interact and localize to noncoding centromeric RNAs. *Cell*, 2004, **119** (6): 789~802
- 9 Vagin V V, Sigova A, Li C, *et al.* A distinct small RNA pathway silences selfish genetic elements in the germline. *Science*, 2006, **313** (5785): 320~324
- 10 Girard A, Sachidanandam R, Hannon G J, *et al.* A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. *Nature*, 2006, **442** (7099): 199~202
- 11 Aravin A, Gaidatzis D, Pfeffer S, *et al.* A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes. *Nature*, 2006, **442** (7099): 203~207
- 12 Lau N C, Seto A G, Kim J, *et al.* Characterization of the piRNA complex from rat testes. *Science*, 2006, **313** (5785): 363~367
- 13 Tolia N H, Joshua-Tor L. Slicer and the Argonautes. *Nature Chemical Biology*, 2007, **3** (1): 36~43
- 14 Rivas F V, Tolia N H, Song J J, *et al.* Purified Argonaute2 and an siRNA form recombinant human RISC. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, **12** (4): 340~349
- 15 Verdel A, Jia S, Sugiyama T, *et al.* RNAi-mediated targeting of heterochromatin by the RITS complex. *Science*, 2004, **303** (5658): 672~676
- 16 Hammond S M, Boettcher S, Caudy A A, *et al.* Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi. *Science*, 2001, **293** (5532): 1146~1150
- 17 Caudy A A, Ketting R F, Hammond S M, *et al.* A micrococcal nuclease homologue in RNAi effector complexes. *Nature*, 2003, **425** (6956): 411~414
- 18 Caudy A A, Myers M, Hannon G J, *et al.* Fragile X-related protein and VIG associate with the RNA interference machinery. *Genes Dev*, **16** (19): 2491~2496

- 19 Ishizuka A, Siomi M C, Siomi H. A *Drosophila* fragile X protein interacts with components of RNAi and ribosomal proteins. *Genes Dev*, **16** (19): 2497~2508
- 20 Liu J, Carmell M A, Rivas F V, *et al.* Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. *Science*, 2004, **305** (5689): 1437~1441
- 21 Meister G, Landthaler M, Patkaniowska A, *et al.* Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs. *Mol Cell*, 2004, **15** (2): 185~197
- 22 Meister G, Landthaler M, Peters L, *et al.* Identification of novel argonaute-associated proteins. *Curr Biol*, 2005, **15** (23): 2149~2155
- 23 Irvine D V, Zaratiegui M, Tolia N H, *et al.* Argonaute slicing is required for heterochromatic silencing and spreading. *Science*, 2006, **313** (5790): 1134~1137
- 24 Song J J, Smith S K, Hannon G J, *et al.* Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity. *Science*, 2004, **305** (5689): 1434~1437
- 25 Parker J S, Roe S M, Barford D. Crystal structure of a PIWI protein suggests mechanisms for siRNA recognition and slicer activity. *EMBO J*, 2004, **23** (24): 4727~4737
- 26 Yuan Y R, Pei Y, Ma J B, *et al.* Crystal structure of *A. aeolicus* argonaute, a site-specific DNA-guided endoribonuclease, provides insights into RISC-mediated mRNA cleavage. *Mol Cell*, 2005, **19** (3): 405~419
- 27 Wintersberger U. Ribonucleases H of retroviral and cellular origin. *Pharmacol. Ther*, 1990, **48** (2): 259~280
- 28 Martinez J, Tuschl T. RISC is a 5' phosphomonoester-producing RNA endonuclease. *Genes Dev*, 2004, **18** (9): 975~980
- 29 Schwarz D S, Tomari Y, Zamore P D. The RNA-induced silencing complex is a Mg<sup>2+</sup>-dependent endonuclease. *Curr Biol*, 2004, **14** (9): 787~791
- 30 Song J J, Liu J, Tolia N H, *et al.* The crystal structure of the Argonaute2 PAZ domain reveals an RNA binding motif in RNAi effector complexes. *Nat Struct Biol*, 2003, **10** (12): 1026~1032
- 31 Lingel A, Simon B, Izaurralde E, *et al.* Nucleic acid 3' -end recognition by the Argonaute2 PAZ domain. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, **11** (6): 576~577
- 32 Ma J B, Ye K, Patel D J. Structural basis for overhang-specific small interfering RNA recognition by the PAZ domain. *Nature*, 2004, **429** (6989): 318~322
- 33 Carmell M A, Xuan Z, Zhang M Q, *et al.* The Argonaute family: tentacles that reach into RNAi, developmental control, stem cell maintenance, and tumorigenesis. *Genes Dev*, 2002, **16** (21): 2733~2742
- 34 Yigit E, Batista P J, Bei Y, *et al.* Analysis of the *C. elegans* Argonaute family reveals that distinct Argonautes act sequentially during RNAi. *Cell*, 2006, **127** (4): 747~757
- 35 Cox D N, Chao A, Baker J, *et al.* A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. *Genes Dev*, **12** (23): 3715~3727
- 36 Deng W, Lin H. Miwi, a murine homolog of piwi, encodes a cytoplasmic protein essential for spermatogenesis. *Dev Cell*, 2002, **2** (6): 819~830
- 37 Kuramochi-Miyagawa S, Kimura T, Ijiri T W, *et al.* Mili, a mammalian member of piwi family gene, is essential for spermatogenesis. *Development*, 2004, **131** (4): 839~849
- 38 Qiao D, Zeeman A M, Deng W, *et al.* Molecular characterization of hiwi, a human member of the piwi gene family whose overexpression is correlated to seminomas. *Oncogene*, 2002, **21** (25): 3988~3999
- 39 Liu X, Sun Y, Guo J, *et al.* Expression of hiwi gene in human gastric cancer was associated with proliferation of cancer cells. *Int J Cancer*, 2006, **118** (8): 1922~1929
- 40 Taubert H, Greither T, Kausha D, *et al.* Expression of the stem cell self-renewal gene Hiwi and risk of tumour-related death in patients with soft-tissue sarcoma. *Oncogene*, 2007, **26** (7): 1098~1100
- 41 Houwing S, Kamminga L M, Berezikov E, *et al.* A role for Piwi and piRNAs in germ cell maintenance and transposon silencing in Zebrafish. *Cell*, 2007, **129** (1): 69~82
- 42 Carmell M A, Girard A, van de Kant H J G, *et al.* MIWI2 is essential for spermatogenesis and repression of transposons in the mouse male germline. *Dev Cell*, 2007, **12** (4): 503~514
- 43 Tabara H, Sarkissian M, Kelly W G, *et al.* The *rde-1* gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans*. *Cell*, 1999, **99** (2): 123~132
- 44 Tijsterman M, Okihara K L, Thijssen K, *et al.* PPW-1, a PAZ/PIWI protein required for efficient germline RNAi, is defective in a natural isolate of *C. elegans*. *Curr Biol*, 2002, **12** (17): 1535~1540
- 45 Vastenhouw N L, Fischer S E, Robert V J, *et al.* A genome-wide screen identifies 27 genes involved in transposon silencing in *C. elegans*. *Curr Biol*, 2003, **13** (15): 1311~1316

## RNAi Machinery\*

LIU Mo-Fang\*\*, JIANG Shuai, WANG En-Duo

(State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology,  
Shanghai Institutes for Biological Sciences, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract** The small noncoding RNAs, unlike the canonical regulatory protein factors, regulate messenger RNA stability, protein synthesis, chromatin organization and genome structure by RNA interference. Owing to its apparent overarching control and ease of manipulation, RNAi has been extensively used as a tool for investigating gene function and is being exploited as a potential therapeutic tool through silencing. Small RNAs effect gene silencing through RNAi machinery — the effector complexes of RNAi, which contain multiple protein components. Here, a few impressive progresses in understanding the role of the key proteins in RNAi machinery through studies of their structure and function were reviewed.

**Key words** RNAi, RNAi machinery, Argonaute, PIWI, small RNA

---

\*This work was supported by grants from The National Basic Research Program of China (2005CB724603) and PUJIANG Program of The Committee of Shanghai Science and Technology(06PJ14105).

\*\*Corresponding author . Tel: 86-21-54921242, Fax: 86-21-54921011, E-mail: mfliu@sibs.ac.cn

Received: February 6, 2007 Accepted: May 17, 2007