

文章编号: 1004-0374(2010)04-0331-07

小RNAs在沉默转座因子中的作用

谢兆辉

(德州学院生物系, 德州 253023)

摘要: 在很多生物基因组中都存在DNA成分的转座序列, 它们能够转座到基因组的很多位点, 对基因组造成很大的危害, 如破坏编码基因、改变基因表达的调节网络、使染色体断裂或造成大范围基因重排等。真核生物已经进化出了多种机制来控制这些寄生核酸序列造成的损伤, 以维持基因组完整性。虽然这些机制在不同生物中有些差异, 但其中一种主要的机制是通过小RNAs介导的, 这些小RNAs包括小干扰RNAs、piwi相互作用的小RNAs、微小RNAs、扫描RNAs和21U-RNAs等。这些小RNAs可以通过DNA水平剪切转座序列, 或在转录和(或)转录后水平沉默转座成分。该文就这些小RNAs沉默转座成分的机制和功能做一论述。

关键词: 转座成分; 小干扰RNAs; piwi相互作用的小RNAs; 微小RNAs; 扫描RNAs; 21U-RNAs
中图分类号: Q522.2; Q78 **文献标识码:** A

The role of small RNAs in silencing transposable elements

XIE Zhao-hui

(Department of Biology, Dezhou University, Dezhou 253023, China)

Abstract: Transposable elements (TEs) are DNA elements found in the genomes of various organisms. However, due to their ability to transpose into virtually any locus, TEs have the ability to generate deleterious damages in the host genome, such as disrupting protein-coding genes, altering transcriptional regulatory networks and causing chromosomal breakage or large-scale genomic rearrangement. Eukaryotes has evolved multiple silencing mechanisms as a defense strategy against these parasitic nucleic acids to protect genomic integrity. Although the strategies used in different organisms vary in their details, a major system that controls the activity of TEs, is mediated by small RNAs, including siRNAs, piRNAs, miRNAs, scanRNAs and 21U-RNAs. These small RNAs can tame TEs through eliminating TE sequences or silencing them in transcriptional and/or post-transcriptional level. The functions and the mechanisms of these small RNAs in the ongoing struggle against TEs, were discussed in the following review.

Key words: transposable element; siRNA; piRNA; miRNA; scanRNAs; 21U-RNAs

基因组可以产生多种小RNAs, 如微小RNAs (miRNAs)、与Piwi蛋白相互作用的RNAs (piRNAs) 和小干扰RNAs (siRNAs)。其中siRNAs又可分为反式作用siRNAs (ta-siRNAs)、天然反义转录siRNAs (nat-siRNA)、异染色质siRNAs (hc-siRNAs)、长小片段干扰RNAs (lsiRNAs)等很多亚类。除此之外, 其他生物中还发现了一些独特的小RNAs, 如线虫的21U-RNAs和纤毛虫类的扫描RNAs (scanRNAs, scnRNAs)。这些小RNAs的产生和作用机制通常包

括三个过程: (1) 形成小RNAs前体。这些前体可以是单链RNAs、双链RNAs (dsRNAs) 或发夹结构RNAs (hpRNAs)。(2) 小RNAs前体剪切成小RNAs。这个过程一类依赖Dicer, 另一类不依赖Dicer。(3) 小RNAs招募Argonaute (Ago)类蛋白形成复合体, 发

收稿日期: 2009-10-13; 修回日期: 2009-11-11

基金项目: 山东省自然科学基金项目(Y2008D36)

通讯作者: Email: xiezh6823@163.com

挥调节基因表达作用。这些小RNAs的功能几乎涉及所有的生命活动过程：如细胞的分化和死亡、生物的发育和代谢调节、胁迫反应、沉默转座因子(transposable elements, TEs)和抗病毒等。而蛇或蜂中小RNAs还可以作为攻击或捕食的武器^[1]。TEs几乎存在于所有生物，但其丰度差异很大，酿酒酵母基因组中TEs只有3%，人类和玉米的TEs则分别占到基因组的50%和80%。很多基因组还可以容许少量TEs的表达，像一些长散布重复元件-1(LINE-1)和短散布元件序列(SINE)，但大多数TEs的活性受到严格的调控。小RNAs在沉默TEs方面具有重要的作用，它们可以在多个水平沉默TEs，如DNA水平指导TEs序列的切除，转录水平抑制其转录，转录后水平剪切其转录物或抑制其翻译等。本文就小RNAs沉默TEs的作用和机制做一概述。

1 siRNAs 沉默TEs的作用

1.1 酵母siRNAs沉默TEs作用

酵母主要通过siRNAs指导染色质组蛋白甲基化，并引发异染色质形成沉默TEs，这个过程需要RNA诱导的转录沉默复合体(RNA-induced transcriptional silencing, RITS)和RNA聚合酶(RDRP)复合体(RDRC)。在细胞分裂的S期，RNA聚合酶II(PolII)的原始转录物被RITS剪切后，由RDRC复制成dsRNAs，并被Dicer-1剪切成siRNAs。siRNAs和相关蛋白质组装新的RITS，剪切PolII转录物并招募甲基转移酶Clr4等，使组蛋白H3的9位赖氨酸甲基化(H3K9me)，后RDRC掺入进入下一轮循环^[2, 3]。H3K9me是染色质异染色质化的一个重要特点，在真菌、植物和动物中非常保守。除此之外，酵母siRNAs也可能由双向转录形成的dsRNAs或hpRNAs剪切而来。

1.2 植物siRNAs沉默TEs作用

植物siRNAs不仅指导组蛋白甲基化，而且也指导DNA甲基化，从而引发异染色质形成沉默TEs。拟南芥siRNAs可能引发了其大约30%的胞嘧啶甲基化，尤其在TEs序列^[4]。siRNAs指导甲基化的过程需要植物特有的一种RNA聚合酶——RNA聚合酶IV(PolIV)，PolIV有两种活性形式：PolIVa和PolIVb(有时称为PolIV或PolV)，主要区别在它们的最大亚基NRPD1a和NRPD1b。编码PolIVa和PolIVb部分亚基的基因与PolII的部分亚基基因是旁系同源基因或相同，说明这三种酶属同一类。而前者在进

化过程中获得了特殊的功能，可以形成siRNAs沉默TEs或沉默其他重复序列^[5]。NRPD1a和NRPD1b与PolII、PolIII和PolIII在活性中心附近的结构差异很大，使它们可以利用异常的模版，如dsRNAs。PolIVa和PolIVb结合镁离子的结构域没有变化，因为这个结构域对siRNAs合成、siRNAs指导DNA甲基化和沉默转座子都具有重要作用^[6]。

植物中与TEs、5S rDNA和着丝粒重复序列有关的siRNAs，常被称为hc-siRNAs，或重复相关的小干扰RNAs(ra-siRNAs)，其作用机制是：PolIII或PolIVa转录的异常RNAs被AGO4剪切，其中一个片段由RDR2或者PolIVa复制成dsRNAs，异常的RNAs有时也可以不经剪切直接被转录成dsRNAs。以后dsRNAs被DCL3剪切成24nt-siRNAs，并和AGO4及NRPD1b形成复合物进入核质，再结合NRPD2a、DRM2和DRD1，对靶位点的胞嘧啶进行甲基化。这个过程中PolIVa还可以利用dsRNAs为模板，合成新RNAs，使siRNAs的产生形成一个回路并放大^[7, 8]。另外，PolIVa的转录模板可以是甲基化的DNA，也可以是靶位点正在转录的RNA^[9, 10]。siRNAs还可以由双向转录形成的dsRNAs，或hpRNAs剪切形成^[4]，如玉米*MuDR* TIR类转座子的沉默，就是hpRNAs产生的siRNAs导致^[11]。有些siRNAs积累并不需要PolIVb，但它们在沉默TEs中相互合作^[12]。植物siRNAs不仅指导甲基化，而且也可以指导脱甲基化，需要两种PolIV的异构体，揭示PolIVb产生siRNAs的作用与染色质修饰的作用相比是次要的^[13]。最近，在拟南芥中又发现了一种新组分——RDM2，它可以与NRPD1a和NRPD1b组成复合体，引发植物染色体甲基化，推测这是植物siRNAs指导DNA甲基化的一种新机制^[14]。

1.3 果蝇和哺乳动物内源siRNAs(endo-siRNAs)沉默TEs的作用

由于siRNAs合成往往需要RDRP，而RDRP只存在于植物、真菌和少数动物，大部分动物缺乏这种酶，所以siRNAs在动物中发现较晚，只是近来才发现。虽然很多动物没有RDRP，但可以通过TEs的双向转录、hpRNAs或天然反义转录(natural antisense transcripts, NATs)产生endo-siRNAs，并在果蝇的体细胞和生殖细胞^[15, 16]及小鼠的卵母细胞和胚胎干细胞^[17]中都发现了endo-siRNAs。endo-siRNAs的合成过程需要Dcr-2和AGO2，因为很多endo-siRNAs来源于TEs，如来自果蝇长末端重复(long

terminal repeat, LTR)反转录元件,揭示endo-siRNAs具有沉默TEs的功能^[18]。这种功能在果蝇体细胞中由endo-siRNAs承担,而生殖细胞中可能由endo-siRNAs和piRNAs共同承担。小鼠的卵母细胞含有丰富的endo-siRNAs,piRNAs看起来好像是可有可无的,如MT转座子就主要受到endo-siRNAs的调节,因为没有发现与其同源的piRNAs。Dicer突变时,MT表达上调;而piwi突变也没有发现MT的表达变化^[19]。另外,果蝇endo-siRNAs途径中的Dcr-2和AGO2突变,Stalker4和F因子两种转座子的表达是对照的3倍^[20]。有一些endo-siRNAs来自piRNAs的基因位点,像果蝇卵巢中Mdg-1和Stalker4 LTR反转录转座子^[20],说明这些位点可以产生两种沉默TEs的小RNAs。但也有些TEs只是一种小RNAs的靶标,像有些LTR反转录转座子,仅仅为endo-siRNAs的目标,这说明endo-siRNAs或piRNAs有时对目标基因具有选择性。endo-siRNAs也可以由hpRNAs形成,但形成endo-siRNAs的hpRNAs,比形成miRNAs的hpRNAs茎环结构更长。这揭示TEs能够产生三种内源小RNAs:miRNAs、endo-siRNAs和piRNAs。TEs的单链转录物,可以形成piRNAs;如果这种单链转录物具有发夹结构,茎环部较长时可以形成endo-siRNAs,茎环部较短时形成miRNAs;最后,TEs还可以双向转录形成dsRNAs,再形成endo-siRNAs。从TEs能够产生多种内源小RNAs方面考虑,我们可以感知TEs的转座可能对基因组稳定性具有很大的压力。AGO2-endo-siRNAs复合物具有核酸酶活性^[21, 22],使人容易理解endo-siRNAs可以通过剪切TEs的转录物来抑制转座子活性。其他小siRNAs沉默TEs的机制多为指导DNA或组蛋白修饰而导致异染色质形成,但现在还没有实验发现endo-siRNAs具有这种功能。

1.4 脉孢菌siRNAs沉默TEs的作用

脉孢菌可以通过三种方式沉默TEs:压制(quelling)、重复序列诱导的点突变(repeat-induced point mutation, RIP)和非配对DNA介导的减数分裂沉默(meiotic silencing by unpaired DNA, MSUD)。这些导致脉孢菌中几乎找不到活跃的TEs。压制可由转基因引发:导入的基因由pol II转录产生单链RNAs,被QDE-1(只在脉孢菌营养期细胞中表达)形成dsRNAs,再被DCL-1或DCL-2剪切成siRNAs,并组装RNA诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC),剪切TEs转录物^[23]。脉孢菌

自然状态下也可产生siRNAs,沉默*Tad*转座子^[24],或维持核糖体rRNA基因的完整性^[25]。压制这种RNA沉默现象目前已在多种真菌中被发现,包括子囊菌、担子菌和接合菌,甚至于卵菌^[26]。RIP是真菌一种特异沉默TEs的机制,最早在脉孢菌中发现,以后又在稻瘟病菌、柄孢霉、油菜黑胫病菌发现。RIP发生在配对和减数分裂之间的双核期,TEs的重复序列配对后,被甲基化酶识别并甲基化,后脱氨基使碱基C转化为T,可在转录水平抑制TEs的表达^[27]。全基因组分析表明,粗糙脉孢菌基因组的甲基化绝大多数与RIP有关,在发生RIP的序列中,80%以上的胞嘧啶被甲基化。MSUD发生在减数分裂期,未配对的DNA序列转录产生异常的RNAs,被SAD-1合成dsRNAs,再被DCL剪切成siRNAs,组装成RISC,剪切siRNAs同源序列^[28]。与植物或酵母的RDRP位于细胞质不同,脉孢菌SAD-1位于核周腔内,这有利于防止异常mRNA进入细胞质参与翻译,也有利于siRNAs快速合成并参与沉默过程。近来脉孢菌中又发现了一种SAD(SAD-2),能够招募SAD-1正确定位在核周腔内^[29]。可以看出脉孢菌中,压制中的siRNAs在营养阶段表达,MSUD中的siRNAs在有性生殖阶段表达,与真核生物endo-siRNAs和piRNAs分别在体细胞或生殖细胞中表达相似。

有性生殖可以增加遗传的变异性,提高生物对多变环境的适应能力,但两个基因组的重组,又有利于TEs的扩散,使基因组不稳定,像果蝇中的杂种劣育。有性生殖两个基因组的结合,还有利于基因组扫描并清除TEs,所以在减数分裂是基因组沉默TEs重要的一环,但最近发现四孢脉孢菌缺乏MSUD,也许MSUD对有些脉孢菌基因组沉默TEs并不是必需的^[30]。

2 动物piRNAs沉默TEs的作用

2.1 动物piRNAs的生物合成

piRNAs于2006年在小鼠睾丸中发现,长26~31 nt,5'端具有尿嘧啶(U)偏向性,可以结合Piwi蛋白,故被命名为piRNAs。由于果蝇和斑马鱼中发现的rasiRNAs也结合Piwi蛋白,亦被划为piRNAs,目前piRNAs多在动物中发现。

果蝇Piwi蛋白家族包括三个成员:Piwi、Aub和Ago3,其中Ago3偏好结合正义链piRNAs;Piwi和Aub偏好结合反义链piRNAs。piRNAs可以通过

“乒乓机制”合成：正义链转录物被 Piwi/Aub-piRNAs 剪切，剪切片段结合 Ago3，形成 Ago3-piRNAs 复合物，识别并剪切反义链转录物，剪切片段再和 Piwi/Aub 结合，形成 Piwi/Aub-piRNAs 复合物，剪切正义链的转录物，完成 piRNA 合成的一个循环^[31]。最近发现 piRNAs 合成过程可能在类核周体(nuage)中，正义链 piRNAs 前体转运到 nuage，被 Aub-piRNAs 剪切，沉默 TE s，并形成正义链 piRNAs 前体，后者结合 Ago3 并被加工成成熟 piRNAs，剪切反义链转录物，产生与 Piwi 和 Aub 结合的 piRNAs 前体，以后成熟的 Aub-piRNAs 留在 nuage 中继续参与 piRNAs 的合成和有义链剪切，而 Piwi-piRNAs 进入细胞核参与异染色质形成和转录水平基因沉默等^[32]。果蝇 X 染色体上 *flamenco* 区域是产生 piRNAs 的热点，*flamenco*-piRNAs 可以沉默 *gypsy*、*ZAM* 和 *Idefix* 等反转录转座子，但只发现了 Piwi-piRNAs，没有发现 Ago3-piRNAs^[33]。果蝇睾丸细胞 Y 染色体上 *su (ste)* 序列产生的 piRNAs 特异结合 Aub，剪切 X 染色体上 *stellate* 转座子的 mRNA^[34]，也没发现 Ago3-piRNAs，推测有的 piRNAs 合成过程不形成“乒乓机制”。

小鼠中也有二种 Piwi 蛋白：mili 和 miwi2。其中 mili 偏向结合有义链 piRNAs；miwi2 偏向结合反义链 piRNAs，可能也能够通过“乒乓机制”合成 piRNAs。哺乳动物的 piRNAs 可以分为两类：前粗线期 piRNAs 和粗线期 piRNAs。前粗线期 piRNAs 在减数分裂以前的生殖细胞中发现，来自基因组重复序列或 TE s；粗线期 piRNAs，大约在减数分裂的粗线期出现，在精子分化过程中逐渐消失，链的偏向性较高。

2.2 piRNAs 沉默 TE s 的作用

在很多生物中 piRNAs 就像精细组装的免疫系统，可以识别并沉默 TE s。果蝇有两个主要的 piRNAs 簇，一个是 X-TAS 位点，可以沉默 P 因子；另一个是 X 染色体着丝粒附近的 *flamenco* 位点，可以沉默 *gypsy* 家族中一些 LTR 反转座子，包括 *gypsy* 反转座子^[35]。哺乳动物 *mili* 和 *miwi2* 突变，会造成反转录转座子 LINE-1 和 IAP 表达加强^[36]。piRNAs 抑制 TE s 的功能在生殖干细胞维持和精子发生过程中具有非常重要的作用：果蝇 *piwi* 突变，会导致成年果蝇生殖干细胞丧失且不育；*aub* 突变的雄性果蝇不育，雌性果蝇的卵子形态异常。果蝇杂交劣育还说明 piRNAs 及相关蛋白质可以从母体传给后代，抑制

TE s^[37]。有趣的是小鼠的卵母细胞同时可以产生 piRNAs 和 endo-siRNAs，共同抑制转座子活性，而小鼠的睾丸中只表达 piRNAs，所以 *piwi* 基因突变的雄性小鼠，转座子活性提高，睾丸缺失且育性丧失；而雌性卵巢的发育和功能正常。piRNAs 的保守性较差，如啮齿目 piRNAs 簇中，很多是其与灵长类分化之后产生的。piRNA 簇也是啮齿目基因家族中扩增最快的，且在进化过程中 piRNA 簇一个也没有丢失，推测这是哺乳动物日益增加的 TE s 对 piRNA 簇的正选择导致^[38]。

虽然小鼠和果蝇 piRNAs 一样可以抑制转座子活性，但小鼠 *Miwi2* 和 *Mili* 功能缺失伴随 DNA 甲基化降低，说明小鼠还可以通过 DNA 甲基化方式沉默 TE s^[39]。进一步研究发现，小鼠 *Miwi2* 和 *Mili* 主要影响 TE s 的从头甲基化。胚胎、幼鼠和成年鼠中的 piRNAs，在组成和序列上都有一定的差别^[36]。小鼠中甲基转移酶 DNMT1 可以维持 DNA 甲基化状态，DNMT3 催化 DNA 从头甲基化，DNMT3L 可以激活 DNA 甲基转移酶，参与反转座子 IAP 的甲基化沉默，*DNMT3L* 突变会导致生殖细胞中转座子的从头甲基化缺失，表达提高^[40]。piRNAs 沉默 TE s 的作用也可以发生在转录后水平，果蝇睾丸中 Y 染色体 *Su (Ste)* 产生的 piRNAs，可以在核内和胞质沉默 *Stellate*，胞质中 piRNAs 能够降解目标基因的转录物^[41]。曾经观测到一些 piRNAs 与多聚核糖体紧密联系，推测 piRNAs 也可以通过抑制翻译的方式发挥作用^[42]。

基因组中 piRNAs 簇的存在及其乒乓合成机制揭示了细胞一种完美沉默 TE s 的途径。首先，piRNAs 簇的存在使 TE s 一旦转座到 piRNAs 簇中，它们的转座活性就会受到控制，如果蝇 p 因子转座到 X-TAS 位点；其次，piRNAs 的乒乓合成方式，形成了一个放大的循环回路，一旦循环引发就有可能延续并放大。果蝇 piRNAs 的乒乓合成方式在动物中应该具有一定的保守性，因为这种机制在斑马鱼^[43]和小鼠^[44]也存在，这种双向转录物分别被加工成 piRNAs 方式体现了一种完美的小 RNA s 倍增方式。

3 miRNAs 沉默 TE s 的作用

miRNAs 由 siRNAs 进化而来，推测会保留 siRNAs 沉默 TE s 的功能，哺乳动物、水稻和拟南芥 TE s-miRNAs 的发现印证了这种观点^[46]。实验研究了人类 452 个 miRNAs 基因，其中 55 个起源于 TE s，而且计算机分析揭示，还有 87 个 miRNAs 可

能也起源于TEs^[46]。另外,TEs也可以形成miRNAs,人类miR-548就来自于*Made1* TEs,生物信息学揭示人类3 500多个基因上有其靶位点。大肠癌细胞miR-548表达加强,可以沉默*Made1* TEs,降低*Made1* mRNA丰度^[46]。一些miRNAs中含有TEs序列,人类20%的miRNAs与TEs具有相同序列,尤其与保守的*Alu*序列互补,推定其靶标可能为TEs,这也说明miRNAs具有沉默TEs的功能^[47]。TEs进化较快,研究发现TEs-miRNAs的保守性也比较低,这与它们沉默TEs的功能一致^[48]。

4 ScanRNAs 沉默TEs的作用

原生动物的纤毛虫类有一个具生殖作用的小核和一个体细胞性质的大核。在有性发育阶段,大核要经历广泛的DNA重排和剪切,剪切片段主要来自转座子。scanRNAs在DNA重排和剪切过程中起着关键作用,它们可以利用母本大核的非编码序列通过碱基配对方式扫描新大核基因组^[49]。scanRNAs最早在四膜虫中发现^[50,51],近来发现草履虫中也存在^[52]。四膜虫的scanRNAs,大小26~30 nt,合成过程需要Dicer,可与ncRNAs组装成一个含组蛋白甲基转移酶的复合物,诱导H3K9/K27甲基化。甲基化的H3K9/K27吸引染色体蛋白dd1p,导致异染色质化,最后该序列被核酸酶切除^[53]。草履虫减数分裂早期也可以产生scanRNAs,它们的产生与Dc12和Dc13有关,作用机制和四膜虫一样,说明scanRNAs途径在这两种纤毛虫中是保守的^[54]。由于scanRNAs与PIWI亚族中的TWI1结合,调节组蛋白H3K9的甲基化,推测scanRNAs可能是四膜虫中的piRNAs。

5 21U-RNAs 沉默TEs的作用

21U-RNAs长为21 nt,5'端具有U偏爱性,前体为单链RNAs,来源于线虫第IV染色体,通常单独转录,大部分与基因间序列或内含子对应。21U-RNAs最大的特点是其基因上游存在两个重要的基元,虽然21U-RNAs不具有保守性,但这两个基元高度保守^[55]。21U-RNAs与piRNAs有很多相同的特点:2'或3'氧一般都被修饰,5'端多为U;形成过程不依赖Dicer。另外,21U-RNAs与线虫Piwi家族成员PRG-1相互作用,PRG-1只在线虫生殖细胞中表达,揭示21U-RNAs可能是线虫piRNAs。在鉴定的21U-RNAs中,只发现其中一个21U-RNAs的靶标是Tc3转座子,其他还没有鉴定出其在基因组

的靶标。21U-RNAs可以通过改变染色质结构沉默转座子,与温度相关的生殖力维持相关^[56]。实验发现Tc3转座子的正义链21U-RNAs对反义链siRNAs的合成是必要的。它在Tc3沉默途径上游的起作用,能够激活RDRP利用Tc3反义链转录物为模板,放大合成次级siRNAs。以后正义链转录物成为反义链siRNAs的目标,并且充当下个循环的模板,21U-RNAs和siRNAs形成的扩增循环使Tc3-siRNAs保持高水平^[55]。这种方式将piRNAs和siRNAs紧密联系起来,可能并不只限于Tc3转座子。果蝇或小鼠的某些位点也可以同时产生piRNAs和siRNAs,也许很多小RNAs看似独立的作用途径是紧密联系的。piRNAs、21U-RNAs和scanRNAs都在发育的某个阶段出现与生殖细胞有关,且都与Piwi亚家族蛋白结合,并往往可以通过表观遗传的方式沉默转座子,揭示与生殖有关的小RNAs可能具有古老的起源。但scanRNAs与piRNAs和线虫21U-RNAs合成方式不同,表明PIWI和piRNAs作用机制进化出了多种方式。

6 结语

小RNAs分子小,合成迅速,表明小RNAs途径是生物一种完美免疫TEs的方式。但其中一些机制需要进一步研究:首先,这种免疫反应是如何识别和引发的。siRNAs多个沉默TEs途径中会出现dsRNAs,推测dsRNAs可能在引发TEs沉默中具有重要作用。但piRNAs和21U-RNAs途径中却并没有出现dsRNAs:因为现在还没有发现植物特有的Pol IV转录基本RNAs的功能,是否植物Pol IV的产生是由于植物往往有更多的TEs。其次,小RNAs的倍增效应,基于TEs的特点,这种效应可能是非常重要的。piRNAs可以通过“乒乓机制”倍增,siRNAs可以通过RDRP或Pol IV倍增。其中RDRP有两种方式倍增siRNAs:合成siRNAs前体dsRNAs或者直接合成siRNAs,后者无疑是最经济和有效的,但现在生物中未发现得很少。再次,生物为什么进化了分别与体细胞和生殖细胞联系的两套沉默TEs的机制。siRNAs主要在体细胞,而piRNAs、21U-RNAs和scanRNAs则与生殖细胞有关。沉默TEs的方式有多种,脉孢菌和纤毛虫类可以剪切去除基因组中的TEs,这好像是最直接有效的方式,但哺乳动物和植物主要通过异染色质化沉默TEs,这说明曾被认为是“垃圾DNA”的TEs一定具有某些的功能。相信随着研究的深入,上述问题会被完美解决。

[参 考 文 献]

- [1] Pereira TC, Lopes-Cendes I. RNAi-mediated gene silencing as a principle of action of venoms and poisons. *Med Hypotheses*, 2008, 70(6): 1179-81
- [2] Djupedal I, Ekwall K. Epigenetics: heterochromatin meets RNAi. *Cell Res*, 2009, 19(3): 282-95
- [3] Faehnle CR, Joshua-Tor L. Argonautes confront new small RNAs. *Curr Opin Chem Biol*, 2007, 11(5): 5569-77
- [4] Matzke M, Kanno T, Daxinger L, et al. RNA-mediated chromatin-based silencing in plants. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(3): 367-76
- [5] Ream TS, Haag JR, Wierzbicki AT, et al. Subunit compositions of the RNA-silencing enzymes Pol IV and Pol V reveal their origins as specialized forms of RNA polymerase II. *Mol Cell*, 2009, 33(2): 192-203
- [6] Haag JR, Pontes O, Pikaard CS. Metal A and metal B sites of nuclear RNA polymerases Pol IV and Pol V are required for siRNA-dependent DNA methylation and gene silencing. *PLoS ONE*, 2009, 4(1): e4110
- [7] Matzke M, Kanno T, Huettel B, et al. Targets of RNA-directed DNA methylation. *Curr Opin Plant Biol*, 2007, 10(5): 512-9
- [8] Eamens A, Wang MB, Smith NA, Waterhouse PM. RNA silencing in plants: yesterday, today, and tomorrow. *Plant Physiol*, 2008, 147(2): 456-68
- [9] Pontes O, Li CF, Nunes PC, et al. The *Arabidopsis* chromatin-modifying nuclear siRNA pathway involves a nucleolar RNA processing center. *Cell*, 2006, 126(1): 79-92
- [10] Huettel B, Kanno T, Daxinger L, et al. RNA-directed DNA methylation mediated by DRD1 and Pol IVb: a versatile pathway for transcriptional gene silencing in plants. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1769(5-6): 358-74
- [11] Slotkin RK, Freeling M, Lisch D. Heritable transposon silencing initiated by a naturally occurring transposon inverted duplication. *Nat Genet*, 2005, 37(6): 641-4
- [12] Wierzbicki AT, Haag JR, Pikaard CS. Noncoding transcription by RNA Polymerase Pol IVb/Pol V mediates transcriptional silencing of overlapping and adjacent genes. *Cell*, 2008, 135(4): 635-48
- [13] Mosher RA, Schwach F, Studholme D, et al. Pol IVb influences RNA-directed DNA methylation independently of its role in siRNA biogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(8): 3145-50
- [14] He XJ, Hsu YF, Pontes O, et al. NRPD4, a protein related to the RPB4 subunit of RNA polymerase II, is a component of RNA polymerases IV and V and is required for RNA-directed DNA methylation. *Genes Dev*, 2009, 23(3): 318-30
- [15] Kawamura Y, Saito K, Kin T, et al. *Drosophila* endogenous small RNAs bind to Argonaute 2 in somatic cells. *Nature*, 2008, 453(7196): 793-7
- [16] Okamura K, Chung WJ, Ruby JG, et al. The *Drosophila* hairpin RNA pathway generates endogenous short interfering RNAs. *Nature*, 2008, 453(7196): 803-6
- [17] Babiarz JE, Ruby JG, Wang Y, et al. Mouse ES cells express endogenous shRNAs, siRNAs, and other Microprocessor-independent, Dicer-dependent small RNAs. *Genes Dev*, 2008, 22(20): 2773-85
- [18] van Rij RP, Berezhikov E. Small RNAs and the control of transposons and viruses in *Drosophila*. *Trends Microbiol*, 2009, 17(4): 163-71
- [19] Murchison EP, Stein P, Xuan Z, et al. Critical roles for Dicer in the female germline. *Genes Dev*, 2007, 21(6): 682-93
- [20] Czech B, Malone CD, Zhou R, et al. An endogenous small interfering RNA pathway in *Drosophila*. *Nature*, 2008, 453(7196): 798-802
- [21] Siomi MC, Saito K, Siomi H. How selfish retrotransposons are silenced in *Drosophila* germline and somatic cells. *FEBS Lett*, 2008, 582(17): 2473-8
- [22] Nilsen TW. Endo-siRNAs: yet another layer of complexity in RNA silencing. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15(6): 546-8
- [23] Fulci V, Macino G. Quelling: post-transcriptional gene silencing guided by small RNAs in *Neurospora crassa*. *Curr Opin Microbiol*, 2007, 10(2): 199-203
- [24] Nolan T, Braccini L, Azzalin G, et al. The post-transcriptional gene silencing machinery functions independently of DNA methylation to repress a LINE1-like retrotransposon in *Neurospora crassa*. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(5): 1564-73
- [25] Cecere G, Cogoni C. Quelling targets the rDNA locus and functions in rDNA copy number control. *BMC Microbiol*, 2009, 9: 44
- [26] Nakayashiki H, Kadotani N, Mayama S. Evolution and diversification of RNA silencing proteins in fungi. *J Mol Evol*, 2006, 63(1): 127-35
- [27] Hane JK, Oliver RP. RIPCAL: a tool for alignment-based analysis of repeat-induced point mutations in fungal genomic sequences. *BMC Bioinformatics*. 2008, 9: 478
- [28] Kelly WG. Standing guard: Perinuclear localization of an RNA-dependent RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(7): 2007-8
- [29] Shiu PK, Zickler D, Raju NB, et al. SAD-2 is required for meiotic silencing by unpaired DNA and perinuclear localization of SAD-1 RNA-directed RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(7): 2243-8
- [30] Jacobson DJ, Raju NB, Freitag M. Evidence for the absence of meiotic silencing by unpaired DNA in *Neurospora tetrasperma*. *Fungal Genet Biol*, 2008, 45(3): 351-62
- [31] Hartig JV, Tomari Y, Förstemann K. piRNAs—the ancient hunters of genome invaders. *Genes Dev*, 2007, 21(14): 1707-13
- [32] Klattenhoff C, Theurkauf W. Biogenesis and germline functions of piRNAs. *Development*, 2008, 135(1): 3-9
- [33] Brennecke J, Aravin AA, Stark A, et al. Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*. *Cell*, 2007, 128(6): 1089-103
- [34] Vagin VV, Sigova A, Li C, Seitz H, et al. A distinct small RNA pathway silences selfish genetic elements in the germline. *Science*, 2006, 313(5785): 320-4
- [35] Malone CD, Hannon GJ. Small RNAs as guardians of the genome. *Cell*, 2009, 136(4): 656-68
- [36] Kuramochi-Miyagawa S, Watanabe T, Gotoh K, et al. DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes.

- Genes Dev, 2008, 22(7): 908-17
- [37] Slotkin RK, Martienssen R. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(4): 272-85
- [38] Assis R, Kondrashov AS. Rapid repetitive element-mediated expansion of piRNA clusters in mammalian evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(17): 7079-82
- [39] Siomi H, Siomi MC. Interactions between transposable elements and Argonautes have (probably) been shaping the *Drosophila* genome throughout evolution. *Curr Opin Genet Dev*, 2008, 18(2): 181-7
- [40] Kato Y, Kaneda M, Hata K, et al. Role of the Dnmt3 family in *de novo* methylation of imprinted and repetitive sequences during male germ cell development in the mouse. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(19): 2272-80
- [41] Kotelnikov RN, Klenov MS, Rozovsky YM, et al. Peculiarities of piRNA-mediated post-transcriptional silencing of Stellate repeats in testes of *Drosophila melanogaster*. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(10): 3254-63
- [42] Grivna ST, Pyhtila B, Lin H. MIWI associates with translational machinery and PIWI-interacting RNAs (piRNAs) in regulating spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(36): 13415-20
- [43] Houwing S, Berezikov E, Ketting RF. Zili is required for germ cell differentiation and meiosis in zebrafish. *EMBO J*, 2008, 27(20): 2702-11
- [44] Aravin AA, Sachidanandam R, Bourc'his D, Schaefer C, Pezic D, Toth KF, Bestor T, Hannon GJ. A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to *de novo* DNA methylation in mice. *Mol Cell*, 2008, 31(6): 785-99
- [45] Piriyaopongsa J, Jordan IK. Dual coding of siRNAs and miRNAs by plant transposable elements. *RNA*, 2008, 14(5): 814-21
- [46] Feschotte C. Transposable elements and the evolution of regulatory networks. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(5): 397-405
- [47] Liu N, Okamura K, Tyler DM, et al. The evolution and functional diversification of animal microRNA genes. *Cell Res*, 2008, 18(10): 985-96
- [48] Shabalina SA, Koonin EV. Origins and evolution of eukaryotic RNA interference. *Trends Ecol Evol*, 2008, 23(10): 578-87
- [49] Mochizuki K, Gorovsky MA. A Dicer-like protein in *Tetrahymena* has distinct functions in genome rearrangement, chromosome segregation, and meiotic prophase. *Genes Dev*, 2005, 19(1): 77-89
- [50] Liu Y, Mochizuki K, Gorovsky MA. Histone H3 lysine 9 methylation is required for DNA elimination in developing macronuclei in *Tetrahymena*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(6): 1679-84
- [51] Taverna SD, Coyne RS, Allis CD. Methylation of histone h3 at lysine 9 targets programmed DNA elimination in *Tetrahymena*. *Cell*, 2002, 110(6): 701-11
- [52] Gratias A, Lepère G, Garnier O, Rosa S, et al. Developmentally programmed DNA splicing in *Paramecium* reveals short-distance crosstalk between DNA cleavage sites. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(10): 3244-51
- [53] Aronica L, Bednenko J, Noto T, et al. Study of an RNA helicase implicates small RNA-noncoding RNA interactions in programmed DNA elimination in *Tetrahymena*. *Genes Dev*, 2008, 22(16): 2228-41
- [54] Lepère G, Nowacki M, Serrano V, et al. Silencing-associated and meiosis-specific small RNA pathways in *Paramecium tetraurelia*. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(3): 903-15
- [55] Das PP, Bagijn MP, Goldstein LD, et al. Piwi and piRNAs act upstream of an endogenous siRNA pathway to suppress Tc3 transposon mobility in the *Caenorhabditis elegans* germline. *Mol Cell*, 2008, 31(1): 79-90
- [56] Batista PJ, Ruby JG, Claycomb JM, et al. PRG-1 and 21U-RNAs interact to form the piRNA complex required for fertility in *C. elegans*. *Mol Cell*, 2008, 31(1): 67-78