

# Dicer 结构和功能研究进展

彭杰军<sup>1,2</sup>, 燕飞<sup>2</sup>, 陈海如<sup>1</sup>, 陈剑平<sup>2</sup>

1. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201;

2. 浙江省农业科学院病毒学与生物技术研究所, 杭州 310021

**摘要:** Dicer 蛋白是 RNA 干扰机制的关键组分, 负责 siRNA 和 miRNA 的产生。它主要由 RNA 解旋酶结构域、PAZ 结构域、RNaseIII 结构域和双链 RNA 结合结构域构成。Dicer 的结构特点决定了它所产生的小 RNA 的结构特点。不同生物体具有不同数量的 Dicer, 各 Dicer 既有功能上各自独立的特点, 同时又有功能的冗余和交叉, 而在进化过程中, Dicer 的数量逐渐减少, 功能却逐步整合从而表现出多功能的特点。对 Dicer 结构和功能进行深入研究, 有助于了解 Dicer 乃至整个 RNAi 及相关途径的作用机制, 也有助于揭示它们在进化过程中所表现出的规律和特点。文章对上述 Dicer 结构及功能特点作简要综述。

**关键字:** Dicer; RNA 干扰; microRNA; 进化

## Progress of studies on Dicer structure and function

PENG Jie-Jun<sup>1,2</sup>, YAN Fei<sup>2</sup>, CHEN Hai-Ru<sup>1</sup>, CHEN Jian-Ping<sup>2</sup>

1. *Plant Protection College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;*

2. *Institute of Virology and Biotechnology, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou 310021, China*

**Abstract:** Dicer is responsible for producing small interfering RNA and microRNA as an essential component of RNA interference. The character of these small RNAs is determined by the structure of Dicer protein, which contains RNA HELICs, PAZ, RNase III and dsRNA binding domain. Different organisms have different numbers of Dicers with distinct but redundant functions. Evolutionally, the amount of Dicer in organism decreases, but its functions become multiple and extremely important. Studies on structure and function of Dicer will improve our understanding of the mechanism, as well as the evolutionary rule and character, of RNAi and relative pathways. Here, we review the structural and functional character of Dicer.

**Keywords:** Dicer; RNA interference; microRNA; evolution

收稿日期: 2008-04-11; 修回日期: 2008-06-15

**基金项目:** 国家自然科学基金(编号: 30771402)和浙江省自然科学基金(编号: Y307169)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30771402) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. Y307169)]

**作者简介:** 彭杰军(1982-), 男, 湖南人, 硕士研究生, 专业方向: 植物病理学。E-mail: pengjiejun@yeah.net

**通讯作者:** 陈剑平(1963-), 男, 浙江人, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 植物病毒学。E-mail: jpchen2001@hznc.com

RNA干扰 (RNA interference, RNAi) 是真核生物体内在转录后水平调控基因表达的机制。Dicer、R2D2、RdRp和Argonaute等多种蛋白及其蛋白复合体是构成RNAi途径的关键组分, 正是它们合理有序地分工、合作保证了RNAi顺利完成调控基因表达的功能<sup>[1]</sup>。其中, Dicer是在RNAi起始阶段产生RNAi标志性组分——小干扰RNA(Small interfering RNA, siRNA)和另一种调控基因表达的非编码小RNA——microRNA (miRNA) 的重要蛋白。随着对RNAi机制研究的深入, 进一步揭示参与其中的各蛋白组分的结构、功能, 以及该功能在进化过程中的分化等, 将成为RNAi机制研究的重点内容之一。本文就目前对在Dicer结构和功能研究方面所取得的进展作简要综述。

## 1 Dicer 蛋白的结构

Dicer是RNaseIII家族成员, 在进化上高度保守。序列分析表明, 各物种的Dicer都具有相似的结构域。其中, Dicer的N端是1个RNA解旋酶结构域, 随后是1个PAZ结构域, 在C末端是2个RNaseIII结构域和1个双链RNA结合结构域 (Double-stranded RNA binding domain, dsRBD) (图1)<sup>[2]</sup>。RNA解旋酶结构域序列在Dicer家族成员中高度保守, 由350~400个氨基酸残基构成。该结构域的N末端和C末端是它的核心组分, 在 N末端有与ATP结合有关的motifs Q、I和II, 与ATP水解有关的motif III, 以及与RNA结合有关的motifs Ia、Ib; 在C末端有RNA结合相关亚基motifs IV、V和VI。RNA解旋酶结构域通过这些亚基利用ATP提供的能量完成解旋功能<sup>[3]</sup>。紧随其后的是PAZ结构域, 它具有一个大的延伸环, 此环在Dicer序列中保守, 能够促使其对RNA的识别<sup>[2]</sup>。PAZ结构域和RNaseIII结构域之间通过一个长的 $\alpha$ 螺旋相连, 而且这个连接螺旋被一个N末端保守蛋白环绕, 形成一个由反平行的 $\beta$ -折叠和3个 $\alpha$ -螺旋组成的platform结构域, 在platform结构域两端各有一个起铰链作用的多肽链hinge1、hinge2分别连接PAZ结构域和RNaseIIIa结构域。其中, hinge1具有一个Pro-266的扭结, 可以使PAZ结构域移动5Å的距离, 而hinge2与hinge1不同, 不具有扭结, 但是它可以使RNaseIII结构域沿Dicer分子的长轴方向旋转5度。因此, Dicer可以通过调节platform、hinge1和hinge2来适应不同形状的底物, 达到切割不同底物的目的<sup>[4]</sup>。



图1 Dicer蛋白结构域模式图

Fig. 1 Domains of Dicer protein

位于Dicer C端的是2个RNaseIII结构域和1个dsRBD。Dicer能够作为一种分子标尺准确地将双链RNA(Double-stranded RNA, dsRNA)切割成21~25nt的siRNA完全归功于RNaseIII结构域。每一个RNaseIII结构域具有2个活性中心，每个活性中心都具有切割磷酸二酯键的活性，可将dsRNA切割成3'末端突出2个核苷酸的小RNA，这是RNaseIII产物的典型特征<sup>[5]</sup>。虽然Dicer含有2个RNaseIII结构域、拥有4个切割活性中心，但在其执行切割功能时每个RNaseIII结构域却只提供了1个活性中心<sup>[5]</sup>。这2个具有活性的活性中心相距65Å，恰恰相当于25 bp RNA的长度，这样的结构特点保证了Dicer特异产生21~25 bp长度的小RNA，并通过微调两个RNaseIII结构域的距离来改变切割产物的长短<sup>[6]</sup>。Dicer的C末端是dsRBD，由大约70个氨基酸构成，以 $\alpha\beta\beta\alpha$ 形式存在，其中 $\alpha$ 螺旋反向平行地紧靠在 $\beta$ 折叠的一侧<sup>[7]</sup>。dsRBD与dsRNA相互作用时，跨越的宽度是16 bp，刚好是 $\alpha$ 型dsRNA一侧的两个相邻小沟和一个大沟的距离<sup>[8]</sup>，而它们相互作用的这段区域又可以细分为3个小的区域。第一区域(Region 1)：dsRBD的N末端 $\alpha$ 螺旋在RNA第一个小沟处与4个2'-OH与RNA的5个核苷酸相连；第二区域(Region 2)：dsRBD的 $\beta 1$ 和 $\beta 2$ 之间的一个茎环在RNA的第二个小沟处通过2'-OH与RNA 2-5个核苷酸相连；第三区域(Region 3)：dsRBD的C末端 $\alpha$ 螺旋穿过RNA的大沟并与RNA中的磷酸二酯键相连<sup>[9]</sup>。

## 2 Dicer 的种类及功能

Dicer首先在动物中发现，在植物中称为Dicer-like protein (DCL)。研究表明，不同的生物体拥有Dicer或DCL的数量不同，线虫和哺乳动物（包括人和小鼠）中只存在1种Dicer，果蝇中存在2种Dicer，植物中至少存在4种DCL，如拟南芥有4种、毛白杨有5种、水稻有6种等<sup>[10]</sup>。尽管这些Dicer或DCL具有相似的结构，但是它们可能在RNAi相关的不同途径发挥各自独特的功能。为了更清晰地描述各Dicer或DCL在生物体内发挥的作用，我们对具有不同Dicer或DCL数量的物种分别阐述。

### 2.1 拟南芥中 DCL 的功能

植物体内至少存在4种DCL，其中在拟南芥突变体上的研究最为深入<sup>[11]</sup>。研究表明，在拟南芥*dcl1-7*突变体（在RNA解旋结构域中有1个氨基酸的置换）和*dcl1-9*突变体（在第2个dsRNA结合结构域中有1个T-DNA的插入）中，miRNA前体(Precursor microRNA, pre-miRNA)和miRNA都处于一个较低水平，由此推测，miRNA的产生可能与DCL1有关<sup>[10]</sup>。随后在miRNA细胞定位上的研究支持了这一结论，Fujioka等<sup>[12]</sup>利用双分子荧光互补技术和荧光共

振能量转移技术检测出DCL1主要存在于产生miRNA的细胞核中，而且用MS2-tagged 的方法也发现miRNA初级转录物（primary miRNA, pri-miRNA）与DCL1相结合。这些研究证据充分证明了DCL1与miRNA的产生有关。

拟南芥的DCL2主要切割病毒来源dsRNA产生22nt的siRNA，从而起到对病毒的抵抗作用<sup>[13,14]</sup>。除此之外，Mlotshwa等<sup>[14]</sup>研究表明，DCL2还可能在转基因诱导沉默的细胞间扩散过程中起作用。他们发现，在*dcl2*的突变体中转基因诱导的沉默受到了阻断，并且RdRp（RNA-dependent RNA polymerase）依赖的siRNA的积累减少，但是pri-siRNA（Primary short interfering RNAs）介导的沉默没有受到影响<sup>[15]</sup>。这就证明DCL2与siRNA的产生有关，而且在传递转基因诱导的沉默、增强沉默信号方面具有不可或缺的作用。

与DCL1、DCL2产生的小RNA不同，DCL3的切割产物是24nt siRNA<sup>[16]</sup>，而且DCL3的主要切割目标是高度重复序列<sup>[17]</sup>，DCL3产生的siRNA参与到具有重复序列DNA的甲基化和染色体修饰过程<sup>[18]</sup>。在确定拟南芥DCL4功能的过程中发现，在*dcl4*的突变体中，21nt ta-siRNA（Trans-acting siRNA）的积累减少，并且ta-siRNA的靶转录本水平也大幅上升<sup>[19]</sup>，同时Howell等使用专业的测序技术和计算手段，利用已知的拟南芥基因组中的ta-siRNA、ta-siRNA-like位点分析野生型和沉默缺陷型突变体后发现，ta-siRNA表现出对DCL4的依赖，因此可以推断，DCL4与21nt ta-siRNA的产生有关<sup>[20,21]</sup>。此外，Du等<sup>[22]</sup>发现DCL4能够识别黄瓜花叶病毒的卫星RNA形成的二级结构，并切割产生siRNA，这就说明DCL4对于可形成二级结构的单链RNA可能表现出切割作用。

尽管各DCL具有各自独立的功能特点，然而近期的研究表明，各DCL之间存在功能的冗余与交叉。比如DCL1也可能参与siRNA的产生<sup>[23,24]</sup>，DCL4产生的小RNA可以起到抵抗病毒的作用，成为拟南芥中Dicer抵抗病毒的第一道防线<sup>[25]</sup>，但当它活性降低或被病毒抑制时，DCL2就可代替DCL4发挥功能<sup>[23]</sup>，成为Dicer抵抗病毒的第二道防线；并且在DCL4缺失时，RDR6依赖的siRNA就可转而通过DCL2、DCL3产生；在DCL3缺失时，RDR2依赖的siRNA就由DCL2、DCL4产生<sup>[14]</sup>。所以，在具有多种Dicer的生物体内，由于Dicer之间既有功能的独立，又有功能的交叉，这样当一种Dicer的功能发生异常时，生物体仍能通过其他Dicer的调节来保证自身生物学功能的正常进行，抵抗外来不利因素的影响。

## 2.2 水稻中Dicer的功能

水稻是重要的粮食作物，也是研究单子叶植物的模式物种，随着对拟南芥DCL研究的日益深入，人们对水稻DCL的研究也取得一定进展。有报道指出水稻具有6个DCL蛋白，

OsDCL1、OsDCL2a、OsDCL2b、OsDCL3a、OsDCL3b和OsDCL4<sup>[10]</sup>。基因敲除是研究基因功能最直接的方法，Liu等通过转入反向重复结构获得OsDCL1、OsDCL4 功能分别缺失的水稻转化体，深入研究发现，miRNA数量在*dcl1* 缺失突变体中急剧减少，而在*dcl4* 突变体中没有明显变化，表明OsDCL1 对于水稻miRNA的产生有重要作用<sup>[26,27]</sup>。检测来源于反向重复结构的siRNA数量变化发现，在*dcl1* 突变体中，siRNA数量没有明显变化，但在*dcl4* 突变体中，来源于此结构的 21 nt siRNA几乎完全消失，表明OsDCL4 对于这种siRNA的产生有重要作用。除此之外，OsDCL4 还负责产生内源 21 nt TRANS-ACTING siRNA的产生，这些 ta-siRNA调控了内源众多关键基因的表达，表明OsDCL1 通过产生miRNA对植物体生长发育发挥作用，OsDCL4 通过产生 21 nt ta-siRNA对于植物体生长发育起到重要的调控作用<sup>[26,27]</sup>。对于其他OsDCLs，目前了解得还不多，相信随着研究的深入，我们对于各OsDCLs功能及其相互之间的联系会有更清晰地了解。

### 2.3 果蝇中Dicer的功能

研究表明，果蝇具有两种Dicer，Dicer-1（Dcr-1）和Dicer-2（Dcr-2）<sup>[28]</sup>。Dcr-1通过切割pre-miRNA产生22nt的miRNA来调节内源基因的表达。Liu等发现，除了Dcr-1以外，dsRNA结合结构域蛋白Loquacious（Loqs）也是miRNA的成熟过程中所必须的。在*loqs*突变体中，pre-miRNA的积累没有受到影响，但是miRNA的产生出现了异常，有的还表现出明显的减少<sup>[29]</sup>。在*loqs/Dcr-1*突变体提取物中，miRISC的装配受阻，而加入重组的Dcr-1后就pre-miRNA复合体明显减少，在*Dcr-1*突变体提取物中也有同样现象。所以，Dcr-1与miRNA的切割和miRISC的装配有关，而Loqs则与miRNA的成熟有着密切的关系<sup>[30]</sup>。Dcr-1产生的miRNA所调节的基因参与了果蝇正常生命活动，Jin等<sup>[31]</sup>在对果蝇卵巢细胞研究中发现，Dcr-1突变体干细胞在发育早期便死亡，只有在Dcr-1存在的情况下才能保证两种类型的干细胞（生殖干细胞，GSCs和成体干细胞，SSCs）的正常产生，这从另外一个方面证实了Dcr-1与miRNA的产生有关。

研究表明，果蝇的Dcr-2是机体抵抗病毒侵染所必须的，Dcr-2功能缺失的果蝇表现出对兽棚病毒（*Flock house virus*, FHV）、果蝇C病毒（*Drosophila C virus*, DCV）和辛德毕斯病毒（*Sindbis virus*, SV）病毒侵染敏感性的增强<sup>[31,32]</sup>。需要指出的是，Dcr-2虽然可以切割dsRNA成为siRNA，但是siRNA用于介导RNAi，还需要与R2D2形成Dcr-2/R2D2复合体（R2D2的dsRNA结合域与siRNA结合并促进siRISC的装配）后才能将siRNA送入RNAi途径。Kalidas等提供的证据支持了这一观点，在*r2d2*突变体中加入dsRNA，能够检测到siRNA，但是siRNA

不能装配到siRISC上，这时如果再转入R2D2基因，siRNA与siRISC结合的能力又恢复正常，而在dcr-2突变体的提取物中加入dsRNA，没有发生siRNA的产生，并且在dcr-2突变体中检测不到R2D2，由此可见Dcr-2能切割dsRNA成为siRNA，同时还能影响R2D2的稳定性，而R2D2可以指导siRNA装配到siRISC上，所以R2D2，Dcr-2都是siRNA装配到siRISC所必须的<sup>[32,34]</sup>。

#### 2.4 人和小鼠 Dicer 的功能

哺乳动物中只存在一种Dicer，它同时负责miRNA和 siRNA 的产生。其中，miRNA的产生过程首先是pri-miRNA在细胞核内被Drosha-DGCR8 复合体切割成 60~70nt的pre-miRNA，然后再被细胞质中的Dicer-TRBP复合体切割成为 20~22nt的成熟miRNAs，进而调节基因表达。有报道显示miRNA可以调节大约 30%的内源基因的表达<sup>[35~37]</sup>，其中有许多涉及到生物体的生命活动的调节，如生物体的生长发育，细胞的死亡和分化等<sup>[38]</sup>。在生长发育方面，Dicer通过产生miRNA来调节与血管形成有关基因如let-7 family、mir-27b的表达来调控生物体血管的形成，而且在缺乏Dicer的胚胎干细胞在发育早期便发生了死亡的现象也就进一步证明Dicer在保证生物体的正常生长发育中不可或缺<sup>[38~42]</sup>。在调节细胞方面，Dicer可以影响细胞的分化，Barbato等<sup>[43]</sup>发现，在体外培养的小脑颗粒神经元有丝分裂后期分化成神经元和神经胶质细胞的过程中，Dicer表现出优先分配到与细胞分化有关的高尔基体网状结构区域，并在成熟和生长阶段不断地调整分布。Dicer除了影响细胞分化以外还在调节细胞数量方面起着很重要的作用，这可能是通过调节细胞异染色质和着丝粒的形成来完成的，如小雌鼠缺失Dicer的卵母细胞在减数分裂过程中的停滞、无序的纺锤体的出现、染色体配对的缺失，以及在人类无Dicer细胞中，异染色质形成的异常都是很好的证明，加上Chiose等发现的Dicer在高癌变区域与正常表达水平相比表现出的下调和一小部分癌细胞出现了删除Dicer位点而使Dicer缺失的现象，从另外一个方面证明Dicer具有控制细胞数量和细胞凋亡的功能<sup>[44~47]</sup>。

而作为Dicer的另一种产物——siRNA，与miRNA的产生不同，它是由Dicer与dsRNA结合蛋白TRBP（Trans-activating region-binding protein），PACT（Protected Areas Conservation Trust）结合形成三重复合体来切割dsRNA而产生的<sup>[48]</sup>。它的作用也与其他生物的功能相似，主要是参与生物体抗病毒的防御体系，如抵抗人体缺陷免疫病毒（*Human immunodeficiency virus*, HIV），甲型流感病毒（*Influenza A virus*, IAV）等<sup>[49,50]</sup>。在哺乳动物特别是人类的siRNA研究中，主要还是利用siRNA的特异识别mRNA并将其切割降解的特性来研究与人类疾病控制相关基因的功能，如IGF1R（Insulin-like growth factor 1 receptor）、beta-Catenin、MDM2

(Murine double minute 2)等<sup>[51-53]</sup>。所以，在哺乳动物的研究过程中，siRNA介导的RNAi成为了功能基因研究的一个有利工具，为我们认识人类基因功能、抵抗病毒侵染提供了理论和技术基础<sup>[54]</sup>。

### 3 结语

Dicer在RNAi及相关途径中起重要作用，一方面可以切割外源dsRNA成为siRNA来介导RNAi对外来核酸的抗性，另一方面可以加工内源序列成miRNA来调节体内基因表达，保证生物体的正常生长发育。从目前的研究来看，植物体Dicer功能的研究主要集中在siRNA的产生及功能方面，而在miRNA的产生及功能研究方面相对于动物体Dicer研究并不多，这可能是由于植物中miRNA靶基因表型不够明显，同时植物体内有多个Dicer或Dicer-like蛋白介导RNAi，它们之间又有功能的交叉，所以很难确定Dicer产生miRNA的具体功能。同时，大多数植物Dicer表现出对外源dsRNA的拮抗作用，这种现象也可能与植物不具有动物一样的基于抗原—抗体和淋巴细胞的免疫防御体系有关，植物为了抵抗外来的病毒等不利因素的入侵除了自身的细胞壁等物理防御以外只能通过过敏反应和RNAi来完成，而对于动物来说Dicer的主要作用应该是对内源基因表达进行控制，而抵抗病毒的工作大多由先天性免疫系统来完成<sup>[55]</sup>。

正因为 Dicer 的功能涉及到多种起调控作用的小 RNA 分子的产生，也就注定了 Dicer 对于植物体生长发育、抗生物、非生物胁迫起到至关重要的作用。在功能基因研究的初始阶段，可以通过基因敲除、观测基因“有”或“无”时的表型来确定基因功能。然而随着研究的深入，针对一些细节问题，如 Dicer 基因表达“多”或“少”时所表现的渐进表型开展研究，就会了解更多的 Dicer 功能特点。这对于研究生物胁迫条件下 Dicer 的功能尤其重要，因为在病原物-寄主互作过程中病原物的剂量对于寄主的最终表型有直接关系，这种相互关系最终表现为寄主对病原物的抗感程度。在这个过程中是否有抗逆相关的 Dicer 功能的参与，参与过程中 Dicer 是否会针对病原物的多少来调整功能的强度，这都是目前未知的内容。开展这些工作不但为病原物-寄主互作研究提供了新的切入点，也为 Dicer 功能研究拓展了新的研究方向。

另外，从进化的角度看<sup>[10]</sup>，Dicer的数量随着进化逐渐减少，而各Dicer的功能却逐步整合，直到最后只留存一种担负多种功能的Dicer。因此相对于植物体，动物对Dicer的依赖性更强，Dicer的缺失会影响到动物体的正常生长甚至导致死亡，而在植物体因为多个Dicer

的存在, 并且相互的功能有交叉, 所以在一种Dicer缺失时, 其他的Dicer可以部分补充缺失Dicer的功能, 因此植物体内Dicer的缺失主要表现为对病毒抗性的降低和生长的延缓。这一方面体现了Dicer在进化过程中产生小RNA、进而实施功能的机制是保守的, 另一方面也表明了Dicer在进化过程中逐步将相关功能整合为一体, 从而表现出多功能化的特点。由此可见, 对Dicer进行深入研究不但可以从细微处了解Dicer的功能, 进而了解RNAi及相关途径的作用机理, 同时也有助于了解Dicer乃至整个RNAi及相关途径在进化过程中所体现的规律和特点。

### 参考文献 (References):

- [1] YAN Fei, CHENG Zhuo-Min. Progress of RNA interference mechanism. *Hereditas (Beijing)*, 2005, 27(1): 167-172.  
燕飞, 成卓敏. RNA 干扰机制研究进展. 遗传, 2005, 27(1): 167-172.
- [2] Macrae IJ, Zhou K, Li F, Repic A, Brooks AN, Cande WZ, Adams PD, Doudna JA. Structural basis for double-stranded RNA processing by Dicer. *Science*, 2006, 311(5758): 195-198.
- [3] Cordin O, Banroques J, Tanner NK, Linder P. The DEAD-box protein family of RNA helicases. *Gene*, 2006, 367: 17-37.
- [4] Macrae IJ, Li F, Zhou K, Cande WZ, Doudna JA. Structure of Dicer and mechanistic implications for RNAi. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2006, 71: 73-80.
- [5] Collins RE, Cheng X. Structural domains in RNAi. *FEBS Lett*, 2005, 579(26): 5841-5849.
- [6] Blaszczyk J, Tropea JE, Bubunencko M, Routzahn KM, Waugh DS, Court DL, Ji X. Crystallographic and modeling studies of RNase III suggest a mechanism for double-stranded RNA cleavage. *Structure*, 2001, 9(12): 1225-1236.
- [7] Hallegger M, Taschner A, Jantsch MF. RNA aptamers binding the double-stranded RNA-binding domain. *RNA*, 2006, 12(11): 1993-2004.
- [8] Wu H, Henras A, Chanfreau G, Feigon J. Structural basis for recognition of the AGNN tetraloop RNA fold by the double-stranded RNA-binding domain of Rnt1p RNase III. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(22): 8307-8312.
- [9] Ryter JM, Schultz SC. Molecular basis of double-stranded RNA-protein interactions: structure of a dsRNA-binding domain complexed with dsRNA. *EMBO J*, 1998, 17(24): 7505-7513.
- [10] Margis R, Fusaro AF, Smith NA, Curtin SJ, Watson JM, Finnegan EJ, Waterhouse PM. The evolution and diversification of Dicers in plants. *FEBS Lett*, 2006, 580(10): 2442-2450.
- [11] Kurihara Y, Watanabe Y. *Arabidopsis* micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(34): 12753-12758.
- [12] Fujioka Y, Utsumi M, Ohba Y, Watanabe Y. Location of a possible miRNA processing site in SmD3/SmB nuclear bodies in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48(9): 1243-1253.
- [13] Moissiard G, Parizotto EA, Himber C, Voinnet O. Transitivity in *Arabidopsis* can be primed, requires the redundant action of the antiviral Dicer-like 4 and Dicer-like 2, and is compromised by viral-encoded suppressor proteins. *RNA*, 2007, 13(8): 1268-1278.
- [14] Gascioli V, Mallory AC, Bartel DP, Vaucheret H. Partially redundant functions of *Arabidopsis* DICER-like enzymes and a role for DCL4 in producing trans-acting siRNAs. *Curr Biol*, 2005,



- 15(16): 1494-1500.
- [15] Mlotshwa S, Pruss GJ, Peragine A, Endres MW, Li J, Chen X, Poethig RS, Bowman LH, Vance V. DICER-LIKE2 plays a primary role in transitive silencing of transgenes in *Arabidopsis*. *PLoS ONE*, 2008, 3(3): e1755.
- [16] Smith LM, Pontes O, Searle I, Yelina N, Yousafzai FK, Herr AJ, Pikaard CS, Baulcombe DC. An SNF2 protein associated with nuclear RNA silencing and the spread of a silencing signal between cells in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(5): 1507-1521.
- [17] Kasschau KD, Fahlgren N, Chapman EJ, Sullivan CM, Cumbie JS, Givan SA, Carrington JC. Genome-wide profiling and analysis of *Arabidopsis* siRNAs. *PLoS Biol*, 2007, 5(3): e57.
- [18] Pikaard CS. Cell biology of the *Arabidopsis* nuclear siRNA pathway for RNA-directed chromatin modification. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2006, 71: 473-480.
- [19] Xie Z, Allen E, Wilken A, Carrington JC. DICER-LIKE 4 functions in trans-acting small interfering RNA biogenesis and vegetative phase change in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(36): 12984-12989.
- [20] Howell MD, Fahlgren N, Chapman EJ, Cumbie JS, Sullivan CM, Givan SA, Kasschau KD, Carrington JC. Genome-wide analysis of the RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE6/DICER-LIKE4 pathway in *Arabidopsis* reveals dependency on miRNA- and tasiRNA-directed targeting. *Plant Cell*, 2007, 19(3): 926-942.
- [21] Jay C, Nemunaitis J, Chen P, Fulgham P, Tong AW. miRNA profiling for diagnosis and prognosis of human cancer. *DNA Cell Biol*, 2007, 26(5): 293-300.
- [22] Du QS, Duan CG, Zhang Z H, Fang YY, Fang RX, Xie Q, Guo HS. DCL4 targets *Cucumber mosaic virus* satellite RNA at novel secondary structures. *J Virol*, 2007, 81(17): 9142-9151.
- [23] Bouche N, Laressergues D, Gasciolli V, Vaucheret H. An antagonistic function for *Arabidopsis* DCL2 in development and a new function for DCL4 in generating viral siRNAs. *Embo J*, 2006, 25(14): 3347-3356.
- [24] Henderson IR, Zhang X, Lu C, Johnson L, Meyers BC, Green PJ, Jacobsen SE. Dissecting *Arabidopsis thaliana* DICER function in small RNA processing, gene silencing and DNA methylation patterning. *Nat Genet*, 2006, 38(6): 721-725.
- [25] Deleris A, Gallego-Bartolome J, Bao J, Kasschau KD, Carrington JC, Voinnet O. Hierarchical action and inhibition of plant Dicer-like proteins in antiviral defense. *Science*, 2006, 313(5783): 68-71.
- [26] Liu B, Li P, Li X, Liu C, Cao S, Chu C, Cao X. Loss of function of OsDCL1 affects microRNA accumulation and causes developmental defects in rice. *Plant Physiol*, 2005, 139(1): 296-305.
- [27] Liu B, Chen Z, Song X, Liu C, Cui X, Zhao X, Fang J, Xu W, Zhang H, Wang X, Chu C, Deng X, Xue Y, Cao X. *Oryza sativa* dicer-like4 reveals a key role for small interfering RNA silencing in plant development. *Plant Cell*, 2007, 19(9): 2705-2718.
- [28] Kim K, Lee YS, Harris D, Nakahara K, Carthew RW. The RNAi pathway initiated by Dicer-2 in *Drosophila*. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2006, 71: 39-44.
- [29] Liu X, Park JK, Jiang F, Liu Y, McKearin D, Liu Q. Dicer-1, but not Loquacious, is critical for assembly of miRNA-induced silencing complexes. *RNA*, 2007, 13(12): 2324-2429.
- [30] SONG Xue-Mei, YAN Fei, DU Li-Xin. Components and assembly of RNA-induced silencing complex. *Hereditas (Beijing)*, 2006, 28(6): 761-766.
- 宋雪梅, 燕飞, 杜立新. RNA诱导沉默复合体中的生物大分子及其装配. *遗传*, 2006, 28(6): 761-766.

- [31] Jin Z Xie T. Dcr-1 maintains *Drosophila* ovarian stem cells. *Curr Biol*, 2007, 17(6): 539-544.
- [32] Kalidas S, Sanders C, Ye X, Strauss T, Kuhn M, Liu Q, Smith DP. *Drosophila* R2D2 mediates follicle formation in somatic tissues through interactions with Dicer-1. *Mech Dev*, 2008 125(5-6):475-485.
- [33] Galiana-Arnoux D, Dostert C, Schneemann A, Hoffmann JA, Imler JL. Essential function in vivo for Dicer-2 in host defense against RNA viruses in *Drosophila*. *Nat Immunol*, 2006, 7(6): 590-597.
- [34] Liu X, Jiang F, Kalidas S, Smith D, Liu Q. Dicer-2 and R2D2 coordinately bind siRNA to promote assembly of the siRISC complexes. *RNA*, 2006, 12(8): 1514-1520.
- [35] Kawahara Y, Zinshteyn B, Chendrimada TP, Shiekhattar R, Nishikura K. RNA editing of the microRNA-151 precursor blocks cleavage by the Dicer-TRBP complex. *EMBO Rep*, 2007, 8(8): 763-769.
- [36] Chiosea S, Jelezcova E, Chandran U, Acquafondata M, McHale T, Sobol RW, Dhir R. Up-regulation of dicer, a component of the MicroRNA machinery, in prostate adenocarcinoma. *Am J Pathol*, 2006, 169(5): 1812-1820.
- [37] Asirvatham AJ, Gregorie CJ, Hu Z, Magner WJ, Tomasi TB. MicroRNA targets in immune genes and the Dicer/Argonaute and ARE machinery components. *Mol Immunol*, 2008, 45(7): 1995-2006.
- [38] Leuschner PJ Martinez J. In vitro analysis of microRNA processing using recombinant Dicer and cytoplasmic extracts of HeLa cells. *Methods*, 2007, 43(2): 105-109.
- [39] Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober JS, Sessa WC. Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells. *Circ Res*, 2007, 100(8): 1164-1173.
- [40] Yang WJ, Yang DD, Na S, Sandusky GE, Zhang Q, Zhao G. Dicer is required for embryonic angiogenesis during mouse development. *J Biol Chem*, 2005, 280(10): 9330-9335.
- [41] Kuehbacher A, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res*, 2007, 101(1): 59-68.
- [42] Murchison EP, Partridge JF, Tam OH, Cheloufi S, Hannon GJ. Characterization of Dicer-deficient murine embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(34): 12135-12140.
- [43] Barbato C, Ciotti MT, Serafino A, Calissano P, Cogoni C. Dicer expression and localization in post-mitotic neurons. *Brain Res*, 2007, 1175: 17-27.
- [44] Tang KF, Wang Y, Wang P, Chen M, Chen Y, Hu HD, Hu P, Wang B, Yang W, Ren H. Upregulation of PHLDA2 in Dicer knockdown HEK293 cells. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1770(5): 820-825.
- [45] Murchison EP, Stein P, Xuan Z, Pan H, Zhang MQ, Schultz RM, Hannon GJ. Critical roles for Dicer in the female germline. *Genes Dev*, 2007, 21(6): 682-693.
- [46] Fukagawa T, Nogami M, Yoshikawa M, Ikeno M, Okazaki T, Takami Y, Nakayama T, Oshimura M. Dicer is essential for formation of the heterochromatin structure in vertebrate cells. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(8): 784-791.
- [47] Chiosea S, Jelezcova E, Chandran U, Luo J, Mantha G, Sobol RW, Dacic S. Overexpression of Dicer in precursor lesions of lung adenocarcinoma. *Cancer Res*, 2007, 67(5): 2345-2350.
- [48] Kok KH, Ng MH, Ching YP, Jin DY. Human TRBP and PACT directly interact with each other and associate with dicer to facilitate the production of small interfering RNA. *J Biol Chem*, 2007, 282(24): 17649-17657.
- [49] Klase Z, Kale P, Winograd R, Gupta MV, Heydarian M, Berro R, McCaffrey T, Kashanchi F. HIV-1 TAR element is processed by Dicer to yield a viral micro-RNA involved in chromatin remodeling of the viral LTR. *BMC Mol Biol*, 2007, 8: 63.
- [50] Matskevich AA Moelling K. Dicer is involved in protection against influenza A virus infection. *J*

- Gen Virol*, 2007, 88(Pt 10): 2627-2635.
- [51] NIU Jian, QIAN Hai-Xin, LI Xiang-Nong, HAN Ze-Guang. Inhibitory effect of IGF1R siRNA on the growth of human liver cancer SMMC7721 cell xenograft in nude mice. *Chin J Cancer*, 2007, 26(7): 703-708.  
牛坚,钱海鑫,李向农,韩泽广.靶向IGF1R的siRNA抑制人肝癌细胞SMMC7721裸鼠移植瘤的实验研究. *癌症*, 2007, 26(7): 703-708.
- [52] Zeng G, Apte U, Cieply B, Singh S, Monga SP. siRNA-mediated beta-catenin knockdown in human hepatoma cells results in decreased growth and survival. *Neoplasia*, 2007, 9(11): 951-959.
- [53] Guo W, Ahmed KM, Hui Y, Guo G, Li JJ. siRNA-mediated MDM2 inhibition sensitizes human lung cancer A549 cells to radiation. *Int J Oncol*, 2007, 30(6): 1447-1452.
- [54] ZHANG Li-Sheng, CHEN Da-Yuan. RNA interference and its promising future. *Hereditas (Beijing)*, 2003, 25(3): 341-343.  
张利生, 陈大元. RNA干涉及其应用前景. *遗传*, 2003, 25(3): 341-343.
- [55] Waterhouse PM, Fusaro AF. Plant science. Viruses face a double defense by plant small RNAs. *Science*, 2006, 313(5783): 54-55.