

# 基于RNA干扰技术的基因治疗

黄天琦

北京化工大学生命科学与技术学院, 中国·北京 昌平 016040

**【摘要】**人类很多难以治愈的疾病都是由基因表达异常引起的,因此从致病基因的层面上对疾病进行防控治疗非常有必要。基因沉默现象作为一种机体自带的表达调控手段,自从在转基因植物中被发现,接着在线虫、果蝇及更高等的动物中被报道后便在动植物医学领域上得到了广泛的研究和运用,同时它也是现今分子生物学研究的热点之一。文章主要从基因沉默的定义、分类、产生的原理、国内外研究最新进展与其在动植物及人类医学应用等角度进行阐述,旨在为基因治疗的发展和进一步应用提供一些帮助。

**【关键词】**基因表达调控;基因沉默;RNA干扰;siRNA(Q786)

## 1 基因沉默原理及进展

### 1.1 基因沉默

基因表达是一个通过DNA的转录、翻译,产生在生物学上有特异性功能的蛋白质或RNA分子的过程。基因表达受到许多因子的调控,一般把这一调控的过程称为基因表达调控。基因沉默(gene silencing)是通过双链RNA诱导的识别和清除细胞中非正常RNA的一种基因表达调控的机制。基因沉默的直接结果是部分基因不表达或表达减少。从染色体的水平上来说,它可以近似地被看做是形成异染色质(折叠压缩程度高,处于聚缩状态的染色质)的过程。

在真核生物中,由于染色质存在于细胞核内,DNA的转录和翻译被核膜分别隔离在两个不同的区域,核内RNA的合成与转运,细胞质基质中RNA的剪接与加工等都能成为基因表达调控的对象。基因沉默正是对RNA的剪接与加工的过程。根据基因调控发生的先后次序,我们可以将基因沉默分为两类:即转录水平调控(transcriptional regulation)和转录后水平调控(post-transcriptional regulation)。转录水平的基因沉默是DNA水平基因调控的结果,主要是由转录的开始的DNA构型变化或导入基因中含有异染色质使得细胞中DNA不再发生转录所导致的。

### 1.2 RNAi技术

转录后水平的基因沉默是RNA水平基因调控的结果,它比转录水平调控的基因沉默应用更加广泛。特别是共抑制(cosuppression,也被叫做RNA干扰, RNA interference, RNAi)现象尤其受到生物学家们的热爱。转录后水平的基因沉默的特点是信使RNA只要合成就立刻被RNA介导降解或被相应的反义RNA或蛋白质封闭,最终没有了翻译蛋白质的能力。小干扰RNA(Small interfering RNA; siRNA)即短干扰RNA(short interfering RNA)也称沉默RNA(silencing RNA),是一个长度约为21-23nt的双链小分子RNA,也是介导降解mRNA从而使个体产生RNA沉默(RNAi)的主要参与者之一,它在调节基因的表达过程中带有专一性的方式。siRNA被发现后,国际上关于应用siRNA介导RNAi技术的研究取得了飞跃式的突破,这一技术不仅被美国《Science》评为2001年的十大科学研究进展之一,还在2002年十大科学研究进展中排在第一位。

## 2 RNAi在植物改良领域的应用

### 2.1 进展

RNAi技术在研究上的重大进展使它目前被大面积地应用于

植物改良育种、动物病虫害防治、基因功能的探索、肿瘤的临床治疗等众多领域。因为基因沉默现象最早发现于矮牵牛花这一植物种群中,所以RNAi技术在植物改良领域已经得到了颇为丰富的收获,研发出了众多具有优良性状的农作物。

在植物中, RNAi被发现是一种抵御病毒、转座子和重复基因组等核酸入侵的防御机制, siRNA在植物防御微生物或食草动物的危害中也具有重要作用<sup>[1]</sup>。此前,在植物品种改善方面,防治农作物病虫害主要依靠的是转基因技术这一新方向。但研究发现,如果大量种植转基因作物会导致人为“自然”选择的发生,反而使病虫害的抗性逐代积累,这促使着我们寻找另一种无污染且效率高的防治植物病毒和昆虫侵害的办法。因此, RNAi技术得到广泛研究后,常与转基因技术共同应用于生产实践,通过不同的载体形式或工作方法来研发农业优良产品。

### 2.2 独特优点

同时,与转基因技术相比, RNAi技术具有其独特的优点。例如,应用RNAi技术的过程中不会出现基因重复和染色体数目的异变现象,且RNAi技术几乎能够靶向任何基因,为物种提供抵抗大部分细菌的抗性,包括抗虫、抗病毒、抗真菌、抗线虫、抗寄生性杂草等特性。RNAi技术应用于植物品种改良能够有效杀灭害虫、降低培育成本、增加产率、减少环境的负担,有助于生产过程的可持续发展。

### 2.3 基因修饰

随着分子生物学的发展, RNAi技术还可以利用RNA介导的DNA甲基化技术(RdDM)对基因组进行表观遗传修饰,给植物改良和育种方面带来了更多的发展空间。而RNAi技术与合成生物学的共同作用可以实现针对植物某个具体发育过程的代谢调节更准确的控制,从而达到明确改良品种的目的。值得注意的是,虽然RNAi技术在生物安全性方面的研究已经取得了相当的成果,但其作用的相关机理仍未得到明确, RNAi技术在作物改良中的可能性等待着进一步的探索<sup>[2]</sup>。

## 3 RNAi在动物及人类治疗方面的应用

### 3.1 动物抗病虫

RNAi技术不仅能够应用于植物防病虫害领域,实际上科学工作者们也在进行着对动物抗病虫的研究,其中运用到的siRNA主要通过注射、浸泡或转染等手段导入到动物(尤其是水生动物)的细胞内。但在动物领域的研究过程中同样也存在着许多问题,如RNAi技术效率较低、会出现脱靶现象、安全性不能得到确定

等。对于脱靶,我们可以通过同一个基因选择多个靶位点,靶位点选择在不易突变的区域,用软件预测是否含有脱靶效应,选择合适的siRNA浓度,利用化学修饰或用特殊物质封装siRNA分子等方法来解决,但如何更大程度甚至完全消除安全性方面的副作用,还有待于进一步研究<sup>[9]</sup>。

### 3.2 重大疾病治疗

因为RNAi技术的应用可以专一高效地消除某一基因的表达,研究者在探索人类基因功能、传染性疾病及恶性肿瘤的治疗方法时同样也对RNAi技术加以重视。然而,肿瘤的产生和生长有着众多繁琐的步骤,肿瘤内部成分随着时间不断变化的性质也使得其难以得到精确测量,且肿瘤中存在的多重生理屏障会干扰外源基因的传递,导致siRNA在体内导入时存在稳定性差、内涵体逃逸能力弱以及RNA沉默效率低等问题<sup>[4]</sup>。此外,肿瘤的产生生长还伴随着频繁的基因突变,使用仅仅具有一种功能的小干扰RNA很难做到对肿瘤生长的彻底抑制。

因此,需要制造一个内含大量外部刺激因子,如离子、磁场、超声、光等用于设计多重刺激-响应型的纳米载体来增强对肿瘤生长过程的抑制效果。同时,对siRNA进行多级逐步导入,增加跨过肿瘤多重生理屏障的可能性。如上文所言,siRNA药物的在医药领域的应用前景极有可能由今后一段时间内能否在载体的研发问题上有所改进所决定。Chakraborty C等人的研究表明,RNAi技术可以调控几乎所有已知基因的表达,因此RNAi药物的应用范围非常广,可以靶向人类几乎所有重大疾病。<sup>[5]</sup>因此可以说,一旦siRNA药物的载体研发有所进展,以RNA沉默治疗的药物就会迅速出现在治疗恶性肿瘤以及诸多传染性等疾病等人类绝大多数难以治愈疾病的药物市场中。

### 4 基因沉默的最新发现

最近,研究人员们在利用简单的粟酒裂殖酵母细胞进行细胞分裂的研究时,发现缺乏RNAi的酵母细胞突变体不能够进入、维持或退出静止状态(即不处在分裂期的状态),且缺乏RNAi的酵母只有处在分裂状态时才能存活<sup>[6]</sup>。我们知道,细胞在想要停止分裂分化时,需要通过对基因的表观遗传修饰(不改变基因序列)

才能改变细胞状态,从而进入静止期。这一研究表明正是RNA沉默诱导产生了细胞特定基因的表观遗传修饰,使其得以退出分裂状态。而在没有RNA干扰机制或RNA干扰机制无法工作的静止细胞中,被正常RNA干扰机制沉默了的异染色质会出现活性,最终使细胞功能发生紊乱,导致细胞的不正常衰亡。

要知道在自然界中,99%的细胞都是处于静止状态的。因此控制着99%细胞稳定在静止期的基因沉默对细胞生物学及宏观生命体研究的重要性显而易见。随着对现代生物工程技术研究的不断进步,基因沉默技术作为一种未完全得到开发的基因表达调控技术,在不久的将来必然会迎来从实验室临床测试过渡到市场真正投放使用的阶段,其应用市场包括但不限于人体对病毒免疫机理的发现、传染病病原防控与恶性疾病治疗等方面。可以预见,基因沉默技术在充满未知与风险的后基因组时代将会拥有广阔的发展前景,它也将为动植物改良培育产业以及人类医学进步的历程上带来新的产业技术变革。

### 参考文献:

- [1]Eamens A,Wang MB,Smith NA,Waterhouse PM.RNA silencing in plants: yesterday,today,and tomorrow.Plant Physiol,2008,147(2):456—468.
- [2]黄春蒙,朱鹏宇,王智,王晨光,杜智欣,魏霜,张永江,付伟.基于RNAi技术的转基因植物研究进展[J].生物技术进展,2020,10(01):1-9.
- [3]宋华丽,孙效迎,孔祥会,李莉,裴超.RNA干扰技术在水产动物抗病毒和抗寄生虫研究中的应用研究进展[J].生物技术通报,2020,36(02):193-205.
- [4]黄林卓,蔡佩娥,尹东,许小丁.肿瘤微环境响应的纳米载体用于siRNA体内递送研究进展[J/OL].中国科学:生命科学:1-21[2020-09-18].
- [5]颜炳学,米玉倩,崔庆为,仝舟,Anoliefo Ijeoma Jane Francis,高山.RNA干扰药物——下一代治疗药物?[J].科学通报,2020,65(07):540-546.
- [6]Michael J.Gutbrod,Robert A.Martiensen.Conserved chromosomal functions of RNA interference.Science.2020,21(5):311-331.

### 作者简介:

黄天琦(2000.05—),女,汉族,浙江杭州,本科在读,北京化工大学,研究方向:微生物学与基因工程。