

RNA 干扰: 双链 RNA 引起的基因沉默机制

——2006 年诺贝尔生理学或医学奖成果简介

RNA Interference: Gene Silencing by Double-Stranded RNA ——An Introduction to the Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006

王秀杰/WANG Xiu-Jie

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101

Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100101, China

[摘要] RNA 干扰现象是指一种由双链 RNA 分子引起的基因沉默现象, 在动植物中普遍存在。RNA 干扰不仅在生物的抗病毒反应、抑制转座子活性以及其他许多重要生理活动的调节方面发挥至关重要的作用, 而且在基因功能研究和疾病治疗方面也具有广阔的应用前景。鉴于上述原因, 2 名美国科学家——Andrew Z. Fire 和 Craig C. Mello, 因发现 RNA 干扰现象而获得了 2006 年的诺贝尔生理学或医学奖。

[关键词] 诺贝尔生理学或医学奖; RNA 干扰; siRNA; 基因沉默; 基因治疗

[中图分类号] Q527, Q522

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)12-0005-04

Abstract: RNA interference (RNAi) refers to the gene silencing phenomenon induced by double-stranded RNAs. The RNAi mechanism is well conserved from plants to animals. It plays important roles in many important biological processes, such as antisense response, transposon repression and development regulation. RNA interference is also an important tool for gene function study and gene therapy. Due to the importance of RNA interference, two American scientists, Andrew Z. Fire and Craig C. Mello, were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine of 2006 for their contribution in the discovery of RNA interference.

Key Words: Nobel prize in physiology or medicine; RNA interference; siRNA; gene silencing; gene therapy

CLC Numbers: Q527, Q522

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)12-0005-04

1 引言

举世瞩目的 2006 年诺贝尔生理学或医学奖, 于 2006 年 10 月 2 日由诺贝尔奖评审委员会授予了 2 位美国科学家 Andrew A. Fire 和 Craig C. Mello (图 1), 以表彰他们发现了真核生物中的 RNA 干扰 (RNA interference) 现象。

现为美国斯坦福大学教授的 Andrew Fire 出生于 1959 年。19 岁就获得斯坦福大学学士学位的 Fire 于麻省理工大学获得博士学位后, 加入了当时位于英国剑桥大学 Sydney Brenner 教授领导的研究组做博士后。Sydney Brenner 于 2002 年获得了诺贝尔生理学或医学奖。Fire 于 1986 年开始转入美国 Carnegie 研究所工作, 并在那里开始了关于 RNA 干扰的研究。从 2003 年开始, Fire 又回到自己的母校——斯坦福大学, 现任遗传系和病理系的教授。Craig Mello 出生于 1960 年。他于 1982 年获得美国 Brown 大

学学士学位, 1990 年获得哈佛大学的博士学位。随后, Mello 在 Fred Hutchinson 癌症研究中心 James Priess 教授的研究组从事了一段博士后研究, 并于 1994 年加入 Massachusetts 大学医学院, 现为 Massachusetts 大学医学院分子医学系教授。

Fire 和 Mello 获奖的主要原因是他们于 1998 年发现了 RNA 干扰现象, 即双链 RNA 可以引起体内具有相应序列的 mRNA 降解, 从而导致基因沉默^[1]。通过 RNA 干扰机制引起的基因沉默现象在动植物中普遍存在, 并且大多具有至关重要的功能。同时, RNA 干扰技术在基因功能研究、基因工程和疾病治疗中的作用也日趋显著。鉴于上述原因, Andrew Fire 和 Craig Mello 在发现 RNA 干扰现象仅 8 年后即获得了诺贝尔奖, 这在诺贝尔生理学或医学奖的历史上还是比较罕见的, 连获奖者本人都觉得十分意外。

收稿日期: 2006-11-16

作者简介: 王秀杰, 女, 北京朝阳区大屯路 15 号中国科学院遗传与发育生物学研究所, 研究员, 主要从事非编码 RNA 方面的生物信息学研究; E-mail: xjwang@genetics.ac.cn



图1 2006年诺贝尔生理学或医学奖获得者
Andrew A Fire 博士(左)和 Craig C Mello 博士(右)^[2]
Fig. 1 Dr. Andrew A Fire (left) and Dr. Craig C Mello (right)^[2]
(from Nobel Prize in Physiology or Medicine press release 2006)

2 RNA 干扰现象的发现

许多伟大科学成果的灵感或最初发现都是从意外得到的实验结果中获得的, RNA 干扰现象的发现即是这样一个例子。RNA 干扰现象最早是在 1990 年由 Jorgensen 研究组意外发现的^[3]。矮牵牛花花瓣的深紫色是由花青素决定的。为了研究植物类黄酮(flavonoid)合成的关键酶——查尔酮合成酶(chalcone synthase), 是否决定花青素的合成速度, Jorgensen 和其研究组的成员在矮牵牛花中过量表达查尔酮合成酶, 以期得到颜色更深的矮牵牛花。但是, 他们却意外地得到了具有白色和白紫杂色的矮牵牛花, 并且在过量表达查尔酮合成酶的矮牵牛花中, 查尔酮合成酶的浓度比正常矮牵牛花中的浓度低 50 多倍。这种现象让 Jorgensen 等人推测, 外源转入的编码查尔酮合成酶的基因同时也抑制了矮牵牛花中内源查尔酮合成酶基因的表达(图 2)。

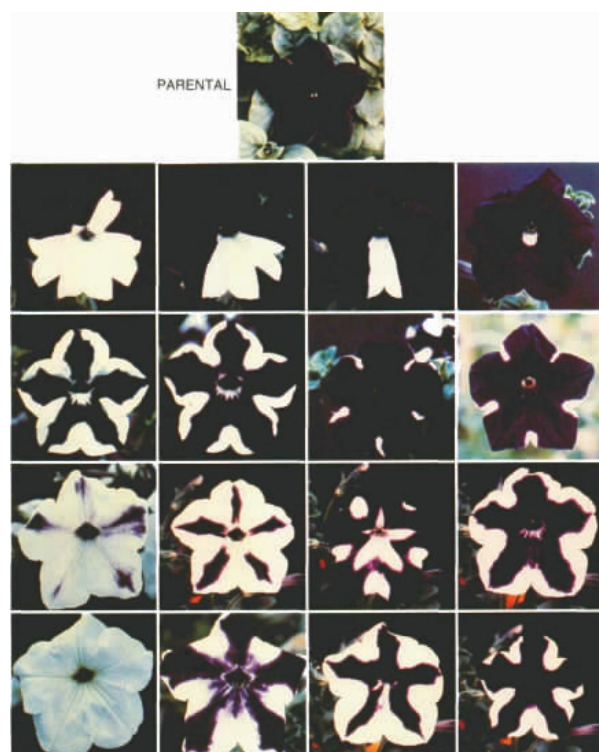


图2 在转基因矮牵牛花中观察到的 RNA 干扰现象
Fig. 2 The RNA interference phenomena observed
in transgenic petunias

1992 年, Romano 和 Macino 也在粗糙链孢霉(*Neurospora crassa*)中发现, 外源导入的基因可以抑制具有同源序列的内源基因的表达^[4]。动物中的 RNA 干扰现象是由 Guo 和 Kemphues 于 1995 年在线虫中最先发现的^[5]。因为反义 RNA 可以和内源的 mRNA 结合形成双链 RNA 分子而被降解, Guo 和 Kemphues 试图用反义 RNA 的方法来研究线虫内源基因 *par-1* 的功能, 但他们却意外地发现作为正对照的导入正义 RNA 的线虫体内, *par-1* mRNA 也同样被降解了。这种现象让生物学家们困惑不解, 并且开始思考是否还存在其他调控机理。

1998 年, Fire 和 Mello 通过一系列设计精巧的实验, 证明双链 RNA 是引起上述基因沉默现象的根源(图 3)。他们认为, 以往观察到的外源导入的正义 RNA 引起内源 RNA 降解的现象是因为制备单链正义 RNA 的过程中混入了双链 RNA 而造成的, 并且证明外源导入的单链正义 RNA 只有在反义 RNA 存在的条件下才能引起 RNA 降解。Fire 和 Mello 的这一发现发表在 1998 年 2 月 19 日的 *Nature* 杂志上^[1]。在这篇文章中, Fire 和 Mello 首次将这种双链 RNA 引起的基因沉默现象称为 RNA 干扰。RNA 干扰现象的发现不仅解释了许多在转基因试验中出乎意料甚至自相矛盾的结果, 而且首次揭示了一种由 RNA 介导的全新的基因表达调控机制。更为重要的是, RNA 干扰技术的发现及其普遍应用引起了生命科学研究和基因治疗等领域的一系列变革, 极大地推动了上述两个领域的发展。这也是 RNA 干扰获得 2006 年诺贝尔生理学或医学奖的主要原因之一。

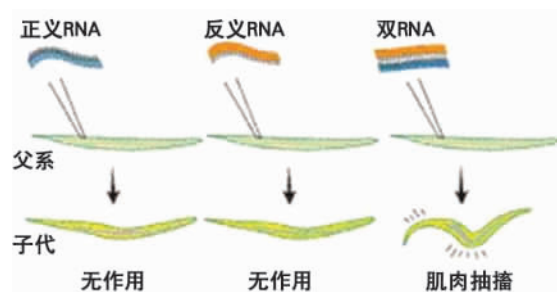


图3 Fire 和 Mello 证明双链 RNA 是引起
RNA 干扰现象的原因^[2]

Fig. 3 Fire and Mello proved that double-stranded RNA is
the cause factor of RNA interference^[2]

3 siRNA 及其在 RNA 干扰中的作用

双链 RNA 在线虫中引起的 RNA 干扰现象不仅可以从双链 RNA 的注射部位传递到线虫的身体各处, 而且还可以从线虫的父代传给子代。这些现象让科学家们猜测, RNA 干扰作用可能是由一类较稳定的中介介质来实现的。著名的植物病毒学家 David Baulcombe 的研究组最先在植物中证明, 双链 RNA 复合体首先被降解成大约 25 nt 左右的小 RNA 分子^[6-7](图 4)。这些小 RNA 分子可以通过序列互补与相应的 mRNA 结合, 从而引起 mRNA 的降解。之后, 其他研究组也在果蝇中证明, 长度为 21~23 nt 的小 RNA 分子是引起 RNA 干扰现象的直接原因^[8-9]。这些由双链 RNA 产生的小 RNA 分子被称为干扰 RNA (siRNA)。

RNA 干扰途径中一个非常重要的酶是 Dicer^[10]。Dicer 属于 RNaseIII 核酶家族的成员, 它可以特异性地与双链 RNA 结合并将其剪切成 21~23 nt 作用的小分子 RNA 片段。双链的小分子 RNA 片段随后与 RNA 引起的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 结合, 解旋成单链, 并在 RISC 的介导下与具有互补序列的 mRNA 结合, 从而引起 mRNA 的降解^[11]。

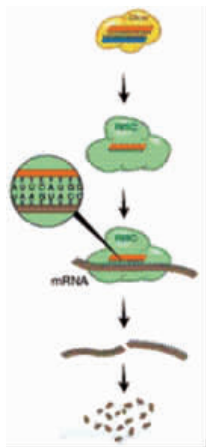


图 4 RNA 干扰现象的机理^[2]
Fig. 4 The mechanism of RNA interference^[2]

4 RNA 干扰在抗病毒及基因表达调控中的作用

RNA 干扰是一种被动植物，尤其是低等生物普遍使用的抗病毒机制。病毒自身基因组所包含的，或在病毒复制过程中产生的双链 RNA 分子可以被 Dicer 识别，进而激活宿主体内的 RNA 干扰机制，从而引起病毒 RNA 的降解。为抵抗宿主的 RNA 干扰机制，许多病毒可以产生抑制宿主 RNA 干扰途径的蛋白，以保护病毒基因在宿主体内的顺利复制。已经发现的可以抑制宿主 RNA 干扰的病毒蛋白包括：potyviruses 编码的 HC-PRO 蛋白、Potato Virus X 编码的 Cmv2b 蛋白和 flock house virus 编码的 B2 蛋白等^[12]。

转座子是在真核生物中普遍存在的、可以在基因组内移动和复制的 DNA 片段。由于转座子的插入，可能使基因或其调节区的结构遭到破坏，从而对生物体产生重要的影响。因此，转座子的活性通常是被抑制的。RNA 干扰就是一种抑制转座子活性的重要方式。许多转座子以逆转座的方式在基因组内扩增。在逆转座的过程中，转座子首先产生双链 RNA 分子，然后再通过逆转录形成双链 DNA 并插入基因组中。这些双链 RNA 分子可以被 Dicer 识别并被降解。

除干扰 RNA (siRNA) 外，真核生物体内还存在另一类可以引起 RNA 干扰现象的小分子 RNA (microRNA)。microRNA 多为 20 ~ 22 nt 长，前体具有类似发夹形的茎环结构，microRNA 就是从茎环结构的双链区产生的^[13]。microRNA 与 siRNA 具有许多共同的特点，如都是由双链 RNA 区域产生的，均需要 Dicer 和 RISC 复合体的参与、均通过序列互补的方式与 mRNA 结合从而引起 mRNA 的降解或抑制其翻译等。目前公认的 microRNA 与 siRNA 的区别主要在于它们起源上的不同。siRNA 是由双链 RNA

表 1 RNA 干扰技术在疾病治疗中的应用 Tab. 1 The application of RNA interference in gene therapy		
分类	疾病名称	目标基因
神经系统疾病	肌萎缩侧索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis)	SOD1
	脊髓小脑性共济失调 (Spinocerebellar ataxia)	Ataxin1
	Huntington 病 (Huntington's disease)	Huntington
	神经病变性疼痛 (Neuropathic pain)	P2X3 cation channel
眼部疾病	眼部感染 (Inflammation in eye)	TGFβ RII
	老年性黄斑部退行性病变 (AMD)	VEGF
	单纯疱疹性角膜基质炎 (Herpetic stromal keratitis)	VEGF/R
炎症	类风湿性关节炎 (Rheumatoid arthritis)	TNFα
细胞程序性凋亡	急性肝功能丧失 (Acute liver failure)	Fas, Caspase 8
	肝缺血 (Liver ischemia/reperfusion)	Caspase 8/3
	肾缺血 (Renal ischemia/reperfusion)	Fas
	肺缺血 (Lung ischemia/reperfusion)	Heme oxygenase1
代谢性疾病	肥胖症 (Obesity)	AGRP

产生的，而 microRNA 是由 1 条具有发夹形二级结构的 RNA 分子产生的。microRNA 在高等生物中普遍存在，并且具有重要的调控功能，如控制线虫不同生长时期的转换、控制动植物某些器官和组织的形成、调节植物抗逆境反应、影响肿瘤细胞形成等。随着对 microRNA 研究的不断深入，microRNA 的功能也将更多地被人们所了解。

5 RNA 干扰现象的应用

RNA 干扰现象的发现为研究基因功能提供了全新的方法。在 RNA 干扰现象被发现以前，基因敲除是在动物中通过缺失而研究基因功能时比较常用的方法。但基因敲除方法耗时长、工作量大，通常需要至少 1~2 年才可以获得一个基因敲除小鼠，而且成功率不是很高。RNA 干扰技术可以通过导入含有与目标基因互补序列的双链 RNA 分子的方法而引起目标基因转录本的降解，从而使得目标基因不能正常发挥功能。由于 RNA 干扰技术具有快速、简便、高效等特点，目前已经成为一种被广泛应用的研究基因功能的方法。

RNA 干扰技术在疾病治疗方面也有很多优势，如针对目标基因的特异性、作用的有效性和应用的灵活性等。目前，已经有一些公司和研究组开展了利用 RNA 干扰技术进行疾病治疗的研究^[14] (表 1)。在抗病毒治疗方面，针对 HIV 和乙肝病毒基因及宿主受体基因的 RNA 干扰研究已经取得了初步进展。针对帕金森病、Huntington 病、脆性 X 综合征等神经系统疾病，RNA 干扰疗法的研究也已初步应用。肿瘤治疗是人们对 RNA 干扰技术的应用抱以很大期望的领域，关于这方面的研究已经广泛展开，并且取得了一些令人鼓舞的成果。另外，

RNA 干扰技术在治疗眼部疾病、炎症和细胞程序性凋亡引起的疾病等方面，也有一定的应用。

6 展望

以 siRNA、microRNA 等为代表的具有调节功能的小分子 RNA 的发现，改变了长久以来人们对 RNA 功能的认识，证明 RNA 分子除作为遗传信息的载体和参与蛋白质合成外，还在基因表达调控网络中扮演非常重要的角色。但我们目前对 RNA 世界的了解还只是冰山一角。随着科学界对 RNA 研究的日益重视以及相关研究方法和手段的不断完善，我们对 RNA 世界的组成及功能的认识也将越来越深入。

尽管已经在基因功能研究和疾病治疗等方面表现出巨大的潜力，RNA 干扰技术中仍存在一些有待解决的问题，包括如何将 siRNA 准确有效地运输到目的组织或细胞中、如何克服 RNA 干扰过程中的非特异性、如何保证 siRNA 的稳定性等等。这些问题的解决将不仅提高 RNA 干扰技术在研究基因功能方面的作用，而且也将对其在疾病治疗中的普遍应用起到巨大的推动作用。

参考文献 (References)

[1] FIRE A, XU S, MONTGOMERY M K, KOSTAS S A, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded rna in caenorhabditis elegans[J]. Nature, 1998, 391:806-811.
[2] 2006 Nobel Prizes Press Release//[http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2006/]
[3] NAPOLI C, LEMIEUX C, JORGENSEN, R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible Co-Suppression of homologous

真核转录的分子基础

——2006 年诺贝尔化学奖成果简介

The Molecular Basis of Eukaryotic Transcription: An Introduction to the Nobel Prize in Chemistry 2006

姜 琳/JIANG Lin,殷勤伟/YIN Qin-wei

中国科学院生物物理研究所计算与系统生物学研究中心,北京 100101

Computational and Systems Biology Research Center, Institute of Biophysics, CAS, Beijing 100101, China

[摘要] 美国斯坦福大学医学院教授 Roger D.Kornberg 被授予 2006 年度诺贝尔化学奖,以表彰他在“真核转录的分子基础”研究领域所作出的杰出贡献。Kornberg 的贡献在于,其花费 10 年时间构建了体外酵母细胞转录体系,并将结晶学与生化知识相结合,描述了 RNA 聚合酶 II 及包括通用转录因子、调节器、DNA 和 RNA 在内的复合物结构图。此外,他还首先在分子水平上阐明了真核细胞中转录机制的全过程。现有的证据表明转录分子机制的研究对于各种疾病的治疗以及干细胞的分化调节均具有重大的实际意义。

[关键词] 诺贝尔化学奖;真核转录;RNA 聚合酶 II;调节器;酵母细胞转录体系

[中图分类号] O629.72,Q519

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)12-0008-04

Abstract: The Nobel Prize in Chemistry 2006 was awarded to Roger D. Kornberg for his fundamental study of the molecular basis of eukaryotic transcription. Roger D. Kornberg spent ten years in developing an in vitro yeast transcription system, and depicted pictures of RNA polymerase II and other complexes containing general transcription factors, Mediator, DNA and RNA by combining crystallography with biochemical knowledge. Furthermore, he firstly illustrated the whole process of how transcription works at a molecular level in a eukaryotic cell. Accumulative evidence demonstrates that the study of molecular mechanisms of eukaryotic transcription plays important roles in the treatment of diseases and the regulation of stem-cell development.

Key Words: Nobel Prize in Chemistry; eukaryotic transcription; RNA polymerase II; mediator; yeast transcription system

CLC Numbers: O 629.72, Q519

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)12-0008-04

1 引言

瑞典皇家科学院 10 月 4 日宣布,美国斯坦福大学医学院教授罗杰·科恩伯格

Roger D. Kornberg 因在“真核转录的分子基础”研究领域所作出的杰出贡献,而独自获得 2006 年度诺贝尔化学奖^[1-3]。

Roger D. Kornberg 现年 59 岁,1947 年出生于美国密苏里州圣路易市,在斯坦福大学获得博士学位,目前供职于该大学医

收稿日期:2006-11-19

作者简介:姜 琳,女,北京大屯路 15 号中国科学院生物物理研究所计算与系统生物学研究中心,研究生,主要研究方向为 RNA 组学
殷勤伟(通讯作者),男,北京大屯路 15 号中国科学院生物物理研究所,研究员,主要从事转录组学和小 RNA 的研究;E-mail:jqwyin@sun5.ibp.ac.cn

- genes in trans [J]. Plant Cell ,1990, (2): 279-289.
- [4] ROMANO N, MACINO G. Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences[J]. Mol Microbiol , 1992(6):3343-3353.
- [5] GUO S, KEMPHUES, K J. Par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed[J]. Cell ,1995, 81:611-620.
- [6] VOINNET O, BAULCOMBE D C. Systemic signalling in gene silencing [J]. Nature , 1997, 389:553.
- [7] HAMILTON A J, BAULCOMBE D C. A

- species of small antisense RNA in post-transcriptional gene silencing in plants[J]. Science, 1999, 286:950-952.
- [8] HAMMOND S M, BERNSTEIN E, BEACH D, et al. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells [J]. Nature, 2000, 404: 293-296.
- [9] ZAMORE P D, TUSCHL T, SHARP P A, et al. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals [J]. Cell ,2000, 101:25-33.
- [10] BERNSTEIN E, CAUDY A A, HAMMOND S M, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interfer-

- ence[J]. Nature, 2001, 409:363-366.
- [11] SEN G L, BLAU H M. A brief history of RNAi: the silence of the genes[J]. Faseb J, 2006, 20:1293-1299.
- [12] Li W X, Ding S W. Viral suppressors of RNA silencing [J]. Curr Opin Biotechnol , 2001(12):150-154.
- [13] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116:281-297.
- [14] Uprichard S L. The therapeutic potential of RNA interference [J]. FEBS Lett ,2005, 579:5996-6007.

(责任编辑 李慧政)