

# RNA 干涉现象的发现与研究进展

## ——2006 年诺贝尔生理学或医学奖简介

吴 涛 石宝晨 陈润生\*

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

**摘要** RNA 干涉现象以一种非常明确的方式抑制了基因表达, 对于基因表达的调控、病毒感染的防护、控制跳跃基因具有重要的意义. 它已被作为一种强大的“基因沉默”技术被用于全球的实验室, 而且, 会推动新的医疗技术的出现.

**关键词** RNAi, small RNA, RNA 基因, 基因沉默

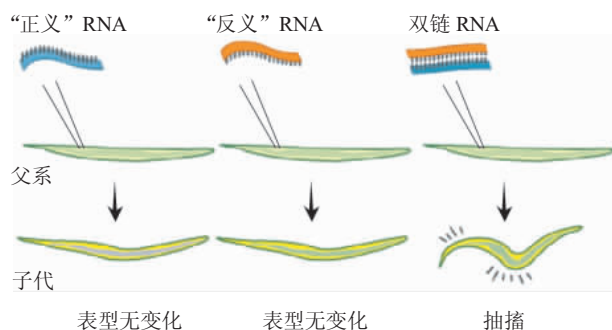
**学科分类号** Q7

2006年10月2日, 瑞典卡罗林斯卡医学院宣布, 将2006年诺贝尔生理学或医学奖授予两名美国科学家安德鲁·菲尔 (Andrew Z. Fire) 和克雷格·梅洛 (Craig C. Mello), 以表彰他们发现了RNA干涉(RNA interference, RNAi)现象. 卡罗林斯卡医学院在颁奖声明中称, 今年诺贝尔医学奖获得者发现了一种可以针对特定基因降解其 mRNA 的方式, 在这种 RNA 干涉现象中, 双链 RNA (double-stranded RNA) 以一种非常明确的方式抑制了基因表达. 植物、动物、人类都存在 RNA 干涉现象, RNA 干涉对于基因表达的调控、对病毒感染的防护、控制跳跃基因具有重要的意义. RNA 干涉已经作为一种强大的“基因沉默”技术而出现. 这项技术被用于全球的实验室来确定各种病症中哪些基因起主要作用. RNA 干涉作为研究基因运转机制的一种研究方法已被广泛应用于基础科学, 在不久的将来或许会产生全新的医疗方法.

### 1 RNA 干涉现象的发现

RNA 干涉(RNA interference, RNAi)是指内源性或外源性双链 RNA (dsRNA) 介导的细胞内 mRNA 发生特异性降解, 从而导致靶基因的表达沉默, 产生相应的功能表型缺失的现象. 1990 年, 为加深矮牵牛花(*petunias*)的紫色, Jorgensen 等引入了一个强启动子控制的色素基因. 可是结果与预期相反, 许多花瓣颜色并未加深, 反而呈杂色甚至白色. 这是由于转基因和同源的内源基因的表达都被抑制了, Jorgensen 把这个现象命名为共抑制

(cosuppression)<sup>[1]</sup>. 1995 年, 康奈尔大学的 Su Guo 在用反义 RNA(antisense RNA)阻断线虫基因表达的试验中发现, 反义 RNA(antisense RNA)和正义 RNA(sense RNA)都阻断了基因的表达<sup>[2]</sup>, 当时他们对这个结果感到十分困惑. 1998 年, Andrew Fire 等的研究证明, 在正义 RNA 阻断了基因表达的试验中, 真正起作用的是双链 RNA, 同时包含了正义链和反义链的双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA)阻断基因表达的效果要比单独注射正义链或者反义链强得多<sup>[3]</sup>(图 1); Fire 和 Mello 把他们的



**Fig. 1 The RNAi discovery experiment by Fire and Mello** <sup>[3]</sup>  
**图 1 Fire 和 Mello 发现 RNAi 的实验** <sup>[3]</sup>

带有肌肉蛋白编码信息的 RNA 被注射到线虫 (*C. elegans*) 体内. 单链 RNA 没有产生任何效果. 但当双链 RNA 注射之后, 线虫开始抽搐, 这是一种类似于携带有肌肉蛋白缺陷型基因的线虫所表现出的表型.

\* 通讯联系人. Tel: 010-64888543, E-mail: crs@sun5.ibp.ac.cn  
收稿日期: 2006-10-08, 接受日期: 2006-10-10

结果发表在 1998 年 2 月 19 日的《自然》杂志(Nature)上, 他们的发现澄清了此前一系列令人们感到困惑的实验现象, 并且揭示出了一种遗传信息流动的控制机制. 至此, RNAi 这套原先并不为人所知但在自然界中却一直存在的重要的基因表达调控机制渐渐地被揭开了其神秘的面纱, 为生命科学开拓了一片新的领域.

## 2 RNA 干扰现象的分子机理

对 RNA 干扰机制的研究发现: dsRNA 一旦进入细胞内, 就会被一个称为 Dicer 的特定的酶切割成为 21~23 核苷酸长的小分子干涉 RNA (small interfering RNA, siRNA), Dicer 酶属于 RNase III 家族, 它能特异识别双链 RNA, 以 ATP 依赖的方式切割由外源导入或者由转基因、病毒感染等各种方式引入的双链 RNA, 切割产生的 siRNA 片段与一

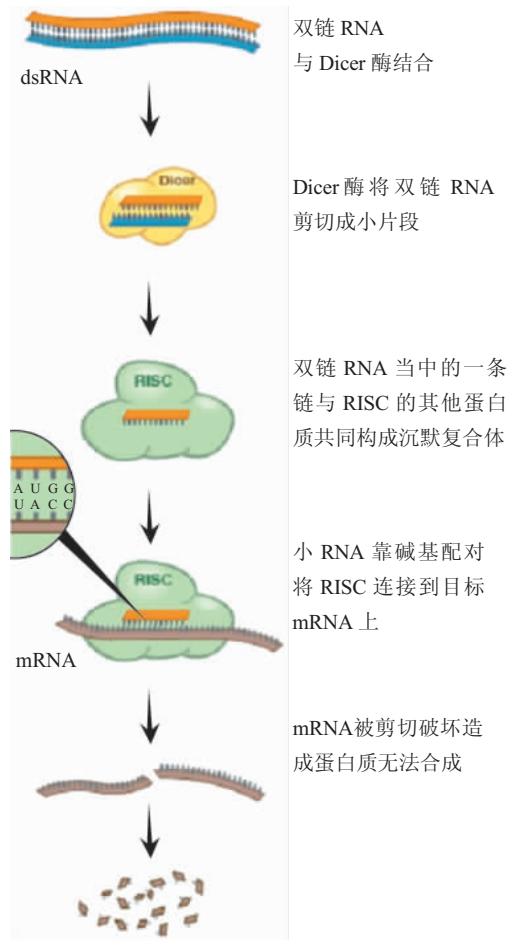


Fig. 2 The RNAi mechanism <sup>[7]</sup>  
图 2 RNAi 的分子机制 <sup>[7]</sup>

RNAi 是一种极为重要的基因表达调控机制. 双链 RNA 被 Dicer 酶剪切成小片段, 然后, 双链片段之一与沉默复合体 RISC 结合, 导引 RISC, 以碱基配对方式找到目标 mRNA, 结合之, 将 mRNA 剪切破坏, 达到沉默基因的效果.

系列酶结合组成诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC), 激活的 RISC 通过碱基配对结合到与 siRNA 同源的 mRNA 转录本上, 并在距离 siRNA 3'端一定的位置上切割该 mRNA, 从而使与此 mRNA 相应的特定基因(target gene)表现为转录沉默状态(图 2).

## 3 RNA 干扰现象的深入研究与拓展

继线虫之后, 在果蝇中也发现了 RNA 干扰. 现大量研究已表明, RNA 干扰广泛存在于从真菌到植物、从无脊椎动物到哺乳动物的多种生物当中, 甚至也存在于低等的原核生物中. 从遗传学、分子生物学和生物化学角度进行的研究也指出转录后基因沉默(PTGS)和 RNA 干扰可能在生命进化的早期就存在. 有人提出转录后基因沉默可能是进化过程中一种抵御转座子或 RNA 病毒的防御机制, 是生物使用的一种古老的抗病毒策略, 可能在植物和动物分化之前就已经出现.

不仅外源的 dsRNA 可以引起 RNA 干扰, 20 世纪 90 年代美国 Dartmouth 医学院 Victor Ambros 小组的研究结果表明, 其实这样的 RNA 就存在于生物体自身当中. 他们以线虫为对象用基因打靶技术研究了某些基因对发育过程的影响. 他们找到了一个对发育有明显干扰作用的基因. 通常线虫要通过四个幼虫阶段才能成熟, 这个基因的突变使其只停留在第一阶段. 令人们惊奇的是这个基因并不编码任何蛋白质, 而是编码一个小 RNA<sup>[8]</sup>. 此后的研究证明, 这样的小 RNA 基因在果蝇、软体动物、鱼类以及人体中都存在. 有研究报道在大肠杆菌中已经发现几十个小 RNA 的基因, 在老鼠的脑组织中发现了 200 多个小 RNA 基因. 现在科学家们正系统地在各种生物中寻找更多的小 RNA 基因.

2002 年小 RNA 研究取得了一系列的进展. Zernicka - Coetz 等用双链 RNA 注射小鼠受精卵和着床前的胚胎, 结果发现导入的双链 RNA 可以特异性地抑制 C-mos, E-cadherin 和 GFP 基因的表达. 同年, Judy Lieberman 和 Premlata Shankar 首先向公众宣布了在动物中利用 RNAi 技术治疗疾病的研究进展. 另外, 几组科学家研究了酵母和四膜虫这两种生物体中的 RNA 干扰现象, 他们发现小 RNA 对染色体的形状有着极大的控制作用, 即小 RNA 能够永久性关闭或删除一部分 DNA(其机制尚不明确), 而不只是简单地使 DNA 暂时沉默. 冷泉港实验室的 Shiv Grewal、Robert Martienssen 等

发现缺失小 RNA 的裂殖酵母细胞不能在中心粒正确形成异染色质, 从而破坏了正常的细胞分裂. 弗吉尼亚大学的 David Allis 等和罗切斯特大学的 Martin Gorovsky 等也发现, 小 RNA 能引发四膜虫 (*Tetrahymena*) 细胞分裂期间的 DNA 缺失或序列重组<sup>[9]</sup>. 各种小 RNA 功能探测的研究陆续展开, 目前, 科学家们正试图确定各种小 RNA 的功能, 将它们进行系统的分类, 并探索其在进化上的保守性及在各个物种当中的特异性.

#### 4 RNA 干涉现象的应用前景

小 RNA 和 RNA 干涉的研究具有广泛的应用前景. 首先 RNAi 是一项快速、高效、便于操作的使靶基因失活的技术, 相对于基因敲除技术, 有其独特的优势. 随着各种模式生物基因组计划的完成, 生物学家们已经可以方便的从数据库中获得全基因组序列, 从而找到感兴趣的靶基因序列, 设计出 dsRNA 使该基因沉默. 这是研究疾病机理和鉴定候选药靶的关键步骤, 也为将来可控地打开或者关闭某一特定基因这一目标奠定了基础. 现在已经有两个研究小组使用 RNAi 技术分别对两条线虫染色体上的全部基因进行大规模的功能研究, 而且利用该技术对线虫全基因组的研究也在展开. RNA 干涉也为疾病的治疗提出了新的观念, 开辟了新的途径. RNA 干涉理论上能削减肝炎病毒感染过程中所需的蛋白质, 从而达到减少病毒数量的目的; 也可以用来减少某些遗传疾病的不正常基因的蛋白质制造量, 以治疗该疾病. 例如, 多谷胺酸聚合疾病, 包括脊髓小脑运动失调症和亨廷顿氏症. 甚至可以通过抑制病毒或 HIV 自身的信使 RNA 来抵抗病毒感染, 从而为艾滋病以及恶性肿瘤的治疗带来了新的希望<sup>[9]</sup>.

#### 5 展 望

《科学》周刊 (Science) 2001, 2002, 2003, 2004 年连续四年将“非编码 RNA”等评选为该年度全球科学十大进展, 而 2002 年更将其作为进展的第一位, 2006 年诺贝尔生理或医学奖更是授予了 RNAi 现象的两位发现者, 这些都表明 small RNA 的研究已引起国际上的广泛关注, 并且引领着生命及医学领域前沿课题的研究. 小 RNA 的出现以及 RNA 干涉现象的发现重新唤起了科学家们对“RNA 世界”的重视及对“生命起源于 RNA 分子”这一命题的兴趣. 基因组当中的 RNA 基因好比宇宙学中的暗物质, 针对 RNA 基因的研究将为基因组学和生命科学带来革命性的贡献.

#### 参 考 文 献

- 1 Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell*, 1990, **2**: 279~289
- 2 Guo S, Kemphues K. par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. *Cell*, 1995, **81**: 611~620
- 3 Fire A, Xu S, Mello C C, *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, **39**: 806~811
- 4 Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, **431**: 350~355
- 5 Mochizuki K, Fine N A, Gorovsky M A, *et al.* Analysis of a piwi-related gene implicates small RNAs in genome rearrangement in tetrahymena. *Cell*, 2002, **110** (6): 689~699
- 6 Slack F J, Esquela-Kerscher A. Oncomirs — microRNAs with a role in cancer. *Nature Rev Cancer*, 2006, **6**: 259~269
- 7 The Nobel Committee for Physiology or Medicine Illustration: Annika Röhl. RNA interference-gene silencing by double-strand RNA. [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2006/press.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2006/press.html), 2006-10-07

### The Discovery and Progress of RNA Interference: a Brief Introduction to The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006

Wu Tao, Shi Bao-Chen, Chen Run-Sheng\*

(Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract** RNA interference is a very important mechanism for the regulation of gene expression, participates in defense against viral infections, and keeps jumping genes under control. RNA interference has been taken as a powerful “gene silence” method widely used in basic science to study the function of genes, and it may lead to novel therapies in the future.

**Key words** RNAi, small RNA, RNA gene, gene silence

\*Corresponding author. Tel: 86-10-64888543, E-mail: crs@sun5.ibp.ac.cn

Received: October 8, 2006 Accepted: October 10, 2006