

RNA 干涉在基因治疗中的应用

王 玮 朱焕章 薛京伦*

(复旦大学遗传所, 遗传工程国家重点实验室, 上海 200433)

摘要 RNA 干涉 (RNA interference, RNAi) 是一种可以在细胞内抑制特定基因表达的现象. 它由双链 RNA 产生, 可以特异性地降解具有相同或者相似序列的 RNA (包括 mRNA). 它是一种比反义技术更为有效的方法, 具有更高的特异性, 逐渐成为研究者关注的焦点. 人们已经开始探讨使 RNA 干涉成为一种比反义药物更为有效药物的可能性及其具体的实施方案, 但是也发现它在成为一种安全有效治疗手段之前还有很长的一段路要走. 将从 RNA 干涉的基本理论入手, 分析目前这项技术在治疗研究中的应用以及可能遇到的一些问题.

关键词 RNAi, 基因治疗, siRNA

学科分类号 Q344

1998 年线虫的基因组计划完成后, Fire 等^[1]首先报道了一种由双链 RNA 介导的可以特异性抑制基因表达的新技术——RNA 干涉 (RNA interference, RNAi). 在此之后的短短几年中, 这项技术便在全世界范围内得到广泛应用和深入研究, 在功能基因组研究等领域也发挥出了强大作用. 已经有大量的文献对这一技术进行了详细的报道^[2-9].

RNAi 在基因组功能分析领域已经得到了广泛的应用^[10-12], 并且随着 RNAi 对哺乳动物细胞内一系列基因表达水平的成功下调以及将 siRNA (short interference RNA) 导入细胞手段的改进 (包括对小鼠的体内转移), 人们已经开始关注 RNAi 作为一种基因治疗手段的潜力. RNAi 很可能在两个领域发挥治疗作用: 癌症和传染性疾病. 它也可能同时对其他疾病发挥作用, 包括一些显性遗传病. 本文从 RNAi 的特点入手, 对其在治疗领域中的应用进行初步分析, 扼要综述如下.

1 RNAi 的机制

RNAi 的机制目前还不十分清楚. 大概过程是首先将 500 ~ 1 000 碱基长度的双链 RNA (dsRNA) 降解成 21 ~ 25 个碱基长度的小片段, 这个过程是通过一种叫做 Dicer 的 RNA III 家族的核酸内切酶来完成的. dsRNA 与其他的一些成分共同形成 (RNA-induced silencing complex, RISC). 被 Dicer 切割成的小片段就在 dsRNA 的介导作用下将 RISC 指引到目标 mRNA 序列将其降解.

另外, 在大多数的哺乳动物体内, 细胞对外源

性的双链 RNA 都有非常敏感的反应, 而这主要是作为抗病毒反应的一部分. 因为许多病毒在它们复制的过程中产生双链 RNA.

研究人员已经发现人类 Dicer 同源体在哺乳动物细胞中具有同样的功能^[13]. 在没有 PKR 反应的细胞中, 例如胚胎细胞, 人类 Dicer 可以将双链 RNA 转变成为 RNAi, 但是没有证据表明, siRNA 可以作为哺乳动物细胞中基因沉默效应扩增和传播的引物, 因此外源性 siRNA 引发的 RNAi 在哺乳动物细胞中是暂时的. 这点不同于植物等^[4]. 对于典型的化学合成 siRNA, 在多数哺乳动物细胞中基因表达受抑制作用的峰值在转染后 48 ~ 72 h 出现, 但这依赖于所研究蛋白质的半衰期. 蛋白质水平通常在转染后的 5 ~ 7 天恢复到正常水平. 这种暂时效应看上去与细胞周期关系密切, 而与 siRNA 的降解关系不大^[14].

2 RNAi 的特点

RNAi 最大的特点就是可以特异性地抑制某种基因的表达. 它是通过介导一种高度特异性的相关 mRNA 降解来实现的. 在功能基因组研究当中, 研究者利用 RNAi 可以方便地将某种基因的表达水平明显下调, 从而快速高效地研究基因功能及其与其他基因之间的相互关系. 另外从治疗领域来看, 它有可能突破对传统药物主要以阻碍蛋白质功能来抑制失调的细胞过程和反应的思路, 从转录后水平入

* 通讯联系人.

Tel: 021-65642424, E-mail: hzzhu@fudan.edu.cn

收稿日期: 2004-01-05, 接受日期: 2004-02-28

手, 高效地攻击编码 RNA 的转录产物, 从而起到治疗的作用. 同催化性 RNA 或者反义寡核苷酸技术相比较, RNAi 表现出了更高的特异性和可控性. 前两种技术由于合适的靶序列极度缺少以及在体内应用的困难而受到了很大限制.

3 RNAi 作为治疗手段

3.1 RNAi 与癌症

RNAi 有可能在三个方面影响癌症研究. 首先, 人们已经越来越清楚转录后基因沉默 (post-transcriptional gene silencing, PTGS) 机制的破坏会直接影响到肿瘤的发展. 例如, 人们发现^[6]两种 miRNA, miR15 和 miR16 在慢性淋巴性白血病中经常缺失或者表达下调, 证明它们可能在控制一到两个肿瘤抑制基因的表达方面起到重要作用.

其次, RNAi 已经被用来辅助研究那些与肿瘤发生、发展、治疗期间的反应和扩散等方面相关基因的功能, 而且这样的基因也变得越来越. 这样的工作不仅增加了我们对肿瘤发生发展机制的了解, 而且也有助于我们鉴定新的有效治疗靶点 (表 1).

表 1 RNAi 作用的癌症相关基因靶点^[14]

Table 1 Cancer-associated genes targeted by RNAi^[14]

基因靶标	癌症相关过程
DP97 Dead box RNA helicase	转录失控
DNMT1	超甲基化
FLIP	细胞凋亡
538PI	DNA 损伤检查
Human papillomavirus type 16 E5 和 E7	病毒原癌蛋白
Fortilin 和 MCI1P	细胞凋亡
DIP13 α	肿瘤抑制
MBD2	超甲基化
P21 ^{Cip1/waf1}	细胞周期调控
KLF4	细胞周期调控
tpt1/TCTP	肿瘤反转
SPK1 和 SPK2	细胞增殖
P300	肿瘤生长
PLK1	细胞周期调控
c-raf 和 bcl-2	药物抗性和细胞凋亡
bcr-abl	原癌蛋白
Trp53	肿瘤抑制/凋亡
k-ras	原癌蛋白
ErbB1	原癌蛋白
VEGF	血管生成
BAG-1	细胞凋亡
MDR1	多重药物抗性

最后, siRNA 本身有可能成为一种具有治疗效果的药物. 例如, 两个研究小组已经将 RNAi 应用于对癌蛋白 BCR-ABL 融合的下调^[10,15]. Wilda 等^[15]研究发现, 骨髓白血病 K562 细胞中的 bcr-abl 被序列特异性 siRNA 下调表达水平之后, 产生了与使用 imatinib 之后类似的细胞凋亡水平. Brummelkamp 等^[16]研究出了一种针对原癌基因 k-ras 等位基因的 siRNA. Zhang 等^[17]利用表达 shRNA 的质粒将三种不同的 VEGF 作为靶位点. 虽然基因沉默的程度是相对较低的, 但是也有相当于正常 RNA 水平 20% ~ 50% 的特异性下调作用.

3.2 RNAi 和传染性疾

对于植物而言, PTGS 是一种抗病毒的有效措施. 几个研究小组已经发现 RNAi 可以用来阻遏传染或者抑制许多与人类疾病相关的 RNA 病毒复制, 包括人类免疫缺陷病毒-1 (HIV-1) 以及丙型肝炎病毒 (HCV) (表 2).

表 2 RNAi 在病毒感染和复制中的抑制作用^[14]

Table 2 Inhibition of virus infection or replication by RNAi^[14]

病毒	目标序列位点
HIV-1	Rev
HIV-1	gag 和 3'LTR
HIV-1	gag 和 env
HIV-1	LTR, vif, nef
HIV-1	tat 和 rev
HIV-1	CD4, gag, gfp
HIV-1	CXCR4 和 CCR5
HIV-1	CCR5
Hepatitis C	NS3 和 NS5
Hepatitis C	5' core, NS 4B
Hepatitis C	NS3, NS5B
Hepatitis C	5' UTR
Hepatitis C	NS5B
Poliovirus	Capsid 和 P3
RSV	F 和 P
Influenza virus	NP, PA, PB, M 和 NS
Gammaherpes virus	Rta, ORF45
Dengue	prM
Dengue	PrM, E, NS1, NS4

为了阻遏感染性病毒的传染, 许多研究小组将一些已知的受体蛋白作为靶点, 例如 T 细胞上的 CD4, CXCR4 或者 CCR5, 来对 HIV 进行阻遏. 由于在将寄主基因作为靶位点的过程中, 人们还不清楚在病毒基因组范围内究竟哪些序列可能是 siRNA 的最佳作用位点, 但是通过对 HIV-1 和 HCV 的研究表明, 许多不同的序列可以作为 RNAi 作用的位

点。一个必需阐明的关键问题是病毒是否可以直接抑制 RNAi 的寄主反应, 病毒表达的蛋白质可以抑制 PTGS。RNAi 也可以用来抑制被病毒感染之后失调的细胞活性。例如, Song 等^[18]证明了 Fas 基因表达的抑制作用使小鼠肝细胞免受诱发性肝炎的损伤, 这样的策略不但使小鼠肝脏免受病毒感染后遗症的影响, 而且也避免了其他形式对肝脏的伤害作用。

研究者已经发现 HIV-1 的体外基因表达会受到病毒特异性人工合成或者通过载体表达 siRNA 的抑制, 这些 siRNA 是针对与病毒复制相关的早期或者晚期基因的。其中 Tat 蛋白就是病毒复制过程中的一种重要因子, 它在有效的病毒转录发生之前必须得以表达, 利用 RNAi 对其进行特异性抑制会使其他转录产物更加容易地被抑制。通过 RNAi 可以阻止病毒整合在寄主的染色体上面, 但是这个过程是越早越好, 当病毒已经整合而开始大量复制的时候, RNAi 也就无能为力了。病毒 mRNA 对 siRNA 介导的基因沉默是高度易感的, 但是包被在病毒外壳内的基因组 RNA 就正好相反了。另外的一些研究者开始关注 HIV-1 感染过程中的一些辅助因素, 考虑将它们作为新的 RNAi 作用位点, 其中包括一些受体蛋白和辅助受体蛋白以及一些转录因子。通过对这些因子的研究可以得知这些分子在 HIV-1 感染过程中的不同作用。设计 siRNA 抑制肿瘤抑制基因 101 (TSG101) 的表达, 发现它在 HIV-1 病毒出蕾的过程中发挥关键作用。已被广泛研究的 CC 趋化因子受体 5 (CCR5) 也是潜在的抗病毒靶位点, 目前人们正在研究 CCR5 的小分子抑制剂。

在上述研究中使用的 siRNA 转运系统主要有以下几种。首先是人工化学合成的 siRNA, 它可以通过多种不同的方法转入细胞内部。它们表现出了惊人的稳定性, 可以持续表达很多天。但是这样的 siRNA 的设计问题却是令众多研究者困惑的——究竟如何设计才会最有效地抑制特定基因的表达? 研究表明, mRNA 的结构会影响靶 RNA 对 siRNA 的敏感性。另外, siRNA 究竟是如何进入细胞的, 还是一个未知数。其次, 利用质粒载体表达 siRNA 也是一种被广泛使用的方法。这时要用 RNA 聚合酶 III 启动子 U6 或者 H1。为了显示特定基因被抑制的效果, 研究者设计了结合有绿色荧光蛋白 (GFP) 的融合蛋白表达载体。还有一些研究者利用慢病毒载体表达 siRNA, 这个方法的优点就是

慢病毒可以感染非分裂细胞, 诸如神经元细胞等。

但是 HIV-1 病毒在反转录过程中的不忠实性导致了感染患者体内不断更新的 RNA 序列变化, 帮助病毒成功地逃脱了寄主免疫系统的监视作用和抗反转录制剂的抑制作用。这给 RNAi 在 HIV 治疗中的应用带来了一定的困难^[19]。

3.3 RNAi 和遗传病等其他疾病

一些遗传疾病由于在基因编码区里较高频率的三核苷酸重复, 导致翻译之后的突变蛋白具有阻遏正常细胞生理生化活性的毒性作用而诱发细胞凋亡。大多数这种被叫做多聚谷氨酰盐紊 (polyQ) 的疾病其临床症状是神经退行性病。到目前为止, 两项研究成果已经开始应用 RNAi 将三核苷酸重复水平进行下调^[20,21]。通过使用合成 RNA 或者腺病毒载体表达的 shRNA, 人们发现在体外 poly Q 介导的蛋白质降解 (它是常用的含有 poly Q 细胞以及这些死亡细胞的标记) 可以通过 RNAi 在 293T 细胞和 PC12 神经元细胞中显著减少。RNAi 作为针对显性遗传病的一项新治疗方法, 其关键优势在于它的特异性, 因此它有可能被用来特异抑制突变了转录产物, 这一设想的前提是单碱基配对多态性或突变, 可以通过突变体和正常转录产物之间的差别加以发现。爱荷华大学的 Miller 等^[22]利用人工合成的 siRNA, 以多聚谷氨酰胺神经退行性病变为模型, 根据 SNP 选择性沉默突变基因, 设计合适的靶位点, 成功地实现了对显性遗传病等位基因的特异性抑制作用, 而不影响到野生型等位基因的正常表达, 从而起到了治疗疾病的效果。起初, 研究人员曾尝试将小 RNA 干扰分子靶向突变基因的重复扩张部分来沉默 MJD 的突变基因, 但没有成功。因此研究人员将焦点集中到一个单碱基序列差异上, 也就是所谓的单核苷酸多态性 (SNP), 约有 70% 的 Machado-Joseph 病突变基因其突变序列的旁侧都出现这个 SNP。这个方法已经可以直接作用于发生了单碱基突变的等位基因。另外新的运载系统的发展也会进一步完善这个方法, 并应用在其他显性遗传病治疗中。

到现在为止, 大多数的实验证明了 RNAi 直接对疾病过程加以调控的能力, 还有许多其他的病例可以通过 RNAi 来抑制在许多过程中具有关键作用的蛋白质, 例如自身免疫、炎症反应和凝集反应等。

4 动物水平的体内 RNAi

在认识 RNAi 作为一种治疗手段过程中, 重要

的是研究发现这个机制是否可以在生物体内整体水平上被诱发。最近的研究表明确实存在这样的可能性^[18,23,24]，其中一个研究是利用尾静脉高压注射法将表达质粒和 siRNA 共转染，或者单独将 siRNA 注射入小鼠体内。这个方法主要是利用肝脏来摄取核酸，但是其他器官诸如脾脏、肾脏、肺和胰脏也可以通过这个方法得到转染，但通常是在一个较低的水平上。无论是通过一个质粒和 siRNA 共转染还是通过 siRNA 单独转染来针对某个稳定表达的转基因，序列特异性基因沉默都会在所有研究小鼠的组织中被发现，最高达到了 80% 的抑制水平^[25]。siRNA 的体内转移还可以通过腺病毒载体得以实现，这种情况下是以小鼠大脑作为靶器官的。另外一个证明 RNAi 在体内应用可行的证据，是从胚胎干细胞衍生的转基因小鼠可以 shRNA 的形式表达 siRNA，或是通过一个质粒载体、反转录病毒载体或者慢病毒载体。这些小鼠具有与以传统同源重组方法获得的转基因小鼠相似的特性。使用以 RNAi 为基础的转基因方法，生产出具有空间或者时间特异性抑制某种基因表达作用的动物，已经变得容易多了，这种方法是通过组织特异性或诱导性启动子来表达 siRNA 而得以实现的。最近的报道给出了一个证明体内 RNAi 具有弹性 (flexibility) 的例子，造血干细胞中的 p53 基因在使用不同的 shRNA 之后被不同程度地下调^[23]。将表达于造血干细胞中的 shRNA 导入淋巴瘤易感性转基因受体小鼠体内之后，表现出了依赖于 p53 表达水平的不同表型。

5 RNAi 在治疗性研究中的问题

RNAi 作为一种强有力的基因组分析工具应用于全世界各地的实验室，而且人们已经开始关注它是否可能作为一种极具潜力的特异性的治疗性药物而应用于临床。但是研究者在深入研究的过程中也逐渐发现了要真正实现这一步还需要付出相当大的努力，人们甚至还没有完全弄清楚 RNAi 的机制和其他相关作用方式。离真正的临床应用，RNAi 还有一段很长的路要走。

首先，RNAi 是不同于基因敲除技术的。RNAi 可以非常有效地将某种特定基因的表达水平进行下调。但是并没有将这个基因的表达永远消除。RNAi 作用有一定的时效性和特异性。目前，一些可能应用于治疗的实验方案都不可避免地面临着 RNAi 作用时间等一些影响其持续作用的困难。哺

乳动物不同于植物和真菌，不能产生系统性的甚至是可以遗传的 RNAi 现象^[4]。

在哺乳动物细胞中由 siRNA 介导的抑制作用程度通常是比较高的 ($\geq 50\%$ 的 RNA 和蛋白质水平的抑制)，但是很少出现 100% 的情况，因此这种基因表达的抑制作用通常意味着表达水平的降低而不是完全消失。大多数 siRNA 可以介导一定程度的基因沉默。对于某个基因中的一些序列而言，很多不同的 siRNA 都是有效的，但它们的效果是有差异的。目前还不清楚究竟是什么样的特定因素决定了一个既定的 siRNA 效率，因此为什么一些序列会比其他序列更适宜于作为靶序列还是未知的。于是出现了一些经过化学修饰的 siRNA，它们对于反义链的修改比对正义链的修改在基因表达下调的水平上效果要强许多。这些发现与线虫中 siRNA 双链功能不对称性数据是一致的。研究人员在果蝇中发现，碱基错配会严重影响 siRNA 对基因表达水平的抑制，这一现象在哺乳动物中也得到了证实。RNAi 虽然被认为是一种效果显著、特异性强的方法，但将其应用于治疗过程时，必须考虑更为严格的选择性抑制。研究者设计的针对某一特定基因的 siRNA 很可能也针对另一亲缘关系较近的基因家族的一部分，因此它可能因含有近似的同源序列而失去了针对靶序列的特异性。到目前为止，只有少数的研究关注过在哺乳动物细胞基因表达中 RNAi 与反义抑制之间的比较。但是实验数据表明至少 siRNA 和标准的反义寡核苷酸一样有效。

其次，双链 RNA 的转移手段需要改进。研究者发现，利用 RNAi 作为治疗手段，存在着与其他基因治疗手段相同的问题，即如何选择和设计最为安全有效的载体，从而使 siRNA 得以高效地持续作用于特异序列位点。最先使用的是人工化学合成的 siRNA，它也被广泛使用，但是它相对短暂的表达严重影响了其在治疗领域中的应用前景。后来利用 RNAase III 家族的启动子 U6 和 H1，可以将 siRNA 表达框架构建于合适的质粒载体中而发挥作用，但是却限制了不同种 siRNA 的广泛应用，推广的空间很小。又有研究者将长的双链 RNA 构建于质粒载体中，使之产生大量不同的 siRNA，其中的某种 siRNA 必定起到特异的抑制作用。而且这个方法与前述方法有近乎一样的效果。但是这种方法的缺点是显而易见的，它增加了非特异作用的风险。研究者正对此进行深入的研究。

最近发现^[25]，siRNA 可以导致哺乳动物体内

干扰素途径的激活, 这给治疗性研究敲响了警钟. RNAi 可能比我们想象的更为复杂. 人们原来只是关注 RNAi 的特异性却忽略了它可能带来的一些非特异性效果. Sledz 等指出, siRNA 导致了干扰素介导的 Jak-Stat 途径激活, 同时引起了一些干扰素介导基因表达的上调作用. 这是由于 siRNA 在体内介导 PKR 反应引起的. 另外, 作者利用介导干扰素反应中特殊组分缺失的细胞系研究发现, RNAi 本身是独立于干扰素途径的.

还有许多未知因素影响着 RNAi 作为一种治疗手段应用于临床, 研究者还有许多工作要做.

6 结 论

短短 10 年中 RNAi 介导的 PTGS, 已经从一个在植物中被大家所关注的现象发展成一个在基因调控方面起关键作用的角色, 而且在新功能基因组时代它已经成为一个重要的工具. RNAi 作为一种高通量基因组学工具已经在线虫中获得了令人惊异的发展速度, 并且在果蝇和人类基因组中的应用也很快成为现实. 许多 RNAi 在发展中遇到的困难也与以前在基因治疗方法中遇到的困难一样, 成为其发展的瓶颈. 现在将核苷酸转运到特定组织和细胞已经成为关键的因素, 正如基因治疗在 10 多年中一直努力的方向一样, 通过载体系统保证正确、高效而低毒的基因表达水平是当前研究者需要克服的困难. 但是 RNAi 应该比以前用来进行基因表达下调作用的各种方法具有更多的优点, 而且正因为有了如此众多的可以诱发 RNAi 的转移和表达分子系统, 非常有必要对其潜力进行彻底的研究. 只有当人们比较详细地了解 RNAi 的机制之后, 才有可能将其成功地应用于治疗领域. 虽然这还是一个未知的过程, 但是特异性调控某种基因的表达还是吸引了众多研究者的注意, RNAi 终究会发挥它在治疗领域中的作用.

参 考 文 献

- 1 Montgomery M K, Xu S Q, Fire A. RNA as a target of double-stranded RNA-mediated genetic interference in *Caenorhabditis elegans*. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, **95** (26): 15502 ~ 15507
- 2 Opalinska J B, Gewirtz A M. Nucleic-acid therapeutics: basic principles and recent applications. Nature Reviews Drug Discovery, 2002, **1** (7): 503 ~ 514
- 3 McManus M T, Phillip. A sharp gene silencing in mammals by small interfering RNAs. Nature Reviews Genetics, 2002, **3**

- (10): 737 ~ 747
- 4 Shuey D J, McCallus D E, Giordano T. RNAi: gene-silencing in therapeutic intervention. Drug Discovery Today, DDT, 2002, **7** (20): 1040 ~ 1046
- 5 Kitabwalla M, Ruprecht R M. RNA interference—a new weapon against HIV and beyond. New Engl J Medicine, 2002, **347** (17): 1364 ~ 1367
- 6 Calin G A, Dumitru C D, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, **99**: 15524 ~ 15529
- 7 Cerutti H. RNA interference: traveling in the cell and gaining functions?. TRENDS Gene, 2003, **19** (1): 39 ~ 46
- 8 Yang S. Mammalian RNAi for the masses. TRENDS Gene, 2003, **19** (1): 9 ~ 12
- 9 Cottrell T R, Doering T L. Silence of the strands: RNA interference in eukaryotic pathogens. TRENDS Microbiology, 2003, **11** (1): 37 ~ 43
- 10 Scherr M, Battmer K, Winkler T, et al. Specific inhibition of bcr-abl gene expression by small interfering RNA. Blood, 2003, **101** (4): 1566 ~ 1569
- 11 Wu H, Hait W N, Yang J M. Small interfering RNA-induced suppression of MDR1 (P-glycoprotein) restores sensitivity to multidrug-resistant cancer cells. Cancer Res, 2003, **63** (7): 1515 ~ 1519
- 12 Hemann M T, Fridman J S, Zilfou J T, et al. An epiallelic series of p53 hypomorphs created by stable RNAi produced distinct tumor phenotypes *in vivo*. Nature, 2003, **33** (3): 396 ~ 400
- 13 Bernstein E, Caudy A A, Hammond S M, et al. Role for a dicer-like ribonuclease in the initiation step of RNA interference. Nature, 2001, **409** (6818): 363 ~ 366
- 14 Caplen N J. RNAi as a gene therapy approach. Expert Opin Biol Ther, 2003, **3** (4): 575 ~ 586
- 15 Wilda M, Fuchs U, Wossman W, et al. Killing of leukemic cells with a BCR/ABL fusion gene by RNA interference (RNAi). Oncogene, 2002, **21** (37): 5716 ~ 5724
- 16 Brummelkamp T R, Agami B R. Stable suppression of tumorigenicity by virus-mediated RNA interference. Cancer Cell, 2002, **2** (3): 243 ~ 247
- 17 Zhang L, Yang N, Mohamedhadley A, et al. Vector-based RNAi, a novel tool for isoform-specific knock-down of VEGF and anti-angiogenesis gene therapy of cancer. Biochem Biophys Res Commun, 2003, **303** (4): 1169 ~ 1178
- 18 Song E, Lee SK, Wang J, et al. RNA interference targeting Fas protects mice from fulminant hepatitis. Nature, 2003, **9** (3): 347 ~ 351
- 19 Stevenson M. Dissecting HIV-1 through RNA interference. Nature, 2003, **3** (11): 851 ~ 858
- 20 Aplen N J, Taylor J P, Statham V S, et al. Rescue of polyglutamine-mediated cytotoxicity by double-strand RNA-mediated RNA interference. Hum Mol Genet, 2002, **11** (2): 175 ~ 184
- 21 Xia H, Mao Q, Paulson H L, et al. siRNA mediated gene silencing *in vitro* and *in vivo*. Nature. Biotechnology, 2002, **20** (10): 1006 ~ 1010
- 22 Miller V M, Xia H, Ginger L, et al. Allele-specific silencing of dominant disease genes. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, **100** (12): 7195 ~ 7200
- 23 Hemann M T, Fridman J S, Zilfou J T, et al. An epiallelic series of p53 hypomorphs created by stable RNAi produced distinct tumor phenotypes *in vivo*. Nature, 2003, **33** (3): 396 ~ 400
- 24 Mccaffrey A P, Meuse L, Pham T T, et al. RNA interference in adult mice. Nature, 2002, **418** (6893): 38 ~ 39
- 25 Sledz C A, Holko M, de Veer M J, et al. Activation of the interferon system by short-interfering RNAs. Nature Cell Biology, 2003, **5** (9): 834 ~ 839

RNAi as a Gene Therapy Approach

WANG Wei, ZHU Huan-Zhang, XUE Jing-Lun*

(Institute of Genetics, National Key Laboratory of Genetic Engineering, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract RNAi (RNA Interference) has been recently found as an innate cellular process activated when a double-strand RNA (dsRNA) molecule enters the cell causing the degradation of RNAs of identical or closely similar sequences, including mRNAs. It would suppress the expression of specific genes. It proves to be a more efficient tool than the antisense method with more specificity and now it is the focus of researchers all over the world. People are trying to find ways to make RNAi of an efficient clinical method but they also found that it is a long way to go before it becomes successful at last. To make an analysis of the problems and solutions during the process based on the fundamental knowledge that were already known are reviewed.

Key words RNAi, gene therapy, siRNA

* Corresponding author. Tel: 86-21-65642424, E-mail: hzzhu@fudan.edu.cn

Received: January 5, 2004 Accepted: February 28, 2004

科学出版社生命科学编辑部新书推介



张 今 编著

7-03-012639-4/Q.1360

定价: ¥38.00

2004年5月26日出版

酶定向分子进化旨在模拟突变、重组和选择的自然进化机制, 体外进化新酶. 定向分子进化实质上是达尔文进化论在分子水平上的延伸和应用, 是一新兴的技术科学领域. 本书较为全面地介绍了酶定向分子进化原理、策略、方法、应用以及发展趋势. 主要内容包括定向分子进化思想, 概念和原理; 定向分子进化的基本策略和方法; 定向分子进化的筛选/选择方法; 核酶和脱氧核酶定向分子进化; 酶定向分子进化; 外显子改组定向进化酶; 抗体酶定向分子进化; 蛋白质组、途径、病毒和细胞的定向进化.

本书可供从事生物化学、分子生物学、生物工程、化学和药学等相关专业的科研人员和教学工作者参考, 也适用于综合性大学、医学和农业院校相关学科的高年级本科生和研究生阅读.

张今教授撰写的《酶定向分子进化》一书对酶定向分子进化原理, 策略和方法, 现状和发展趋势进行了比较全面的介绍. 他在广泛收集国内外资料的基础上, 结合自己多年的实践体会, 使本书内容具有新颖性和实用性, 对读者颇有参考价值 and 启迪作用. 我相信《酶定向分子进化》一书的出版将会推动我国进化生物技术的发展.

——中国科学院院士孙曼霁

欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费). 邮购地址: 100717 北京东黄城根北街16号科学出版社 科学分社

联系人: 阮芯 联系电话: 010-64034622 (带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目, 010-64012501