



武汉大学

Wuhan University

# 第4讲 表观遗传学

## 4、组蛋白其它类型修饰





# (1) 组蛋白泛素化

组蛋白翻译后修饰的乙酰化、甲基化和磷酸化都是小化学基团翻译后的修饰，而泛素 (ubiquitin) 和泛素相关蛋白SUMO (small ubiquitin-mediated modifier / protein) 则是较大的多肽。

泛素是由76个氨基酸残基组成的一种高度保守的蛋白质

SUMO是97个氨基酸残基组成的一种小分子类泛素介导蛋白，它们的修饰可将组蛋白增大约三分之二。

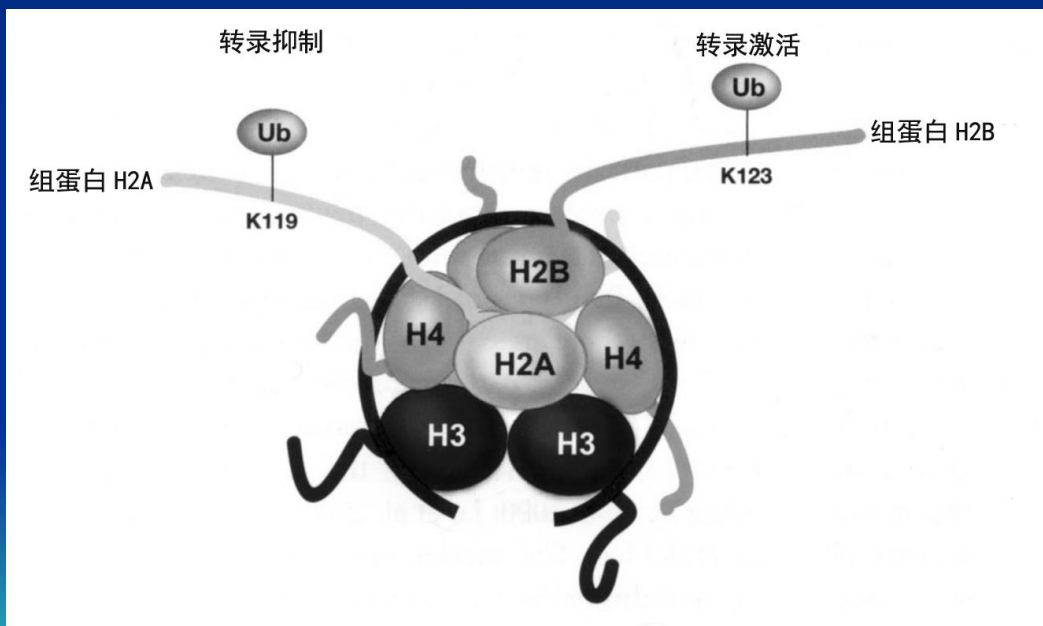
**蛋白质泛素化** (ubiquitinylation, Ub) 是多种酶共同参与的级联酶促反应过程。

染色质核心组蛋白泛素化修饰多属于单泛素化修饰，参与基因表达的染色质调控和DNA复制等过程。组蛋白H2AK119Ub和H2BK123Ub的单泛素化分别对基因转录起抑制作用和激活作用



# 其作用机制一般认为：

- ①组蛋白泛素化修饰改变了染色质结构使DNA暴露而激活转录；
- ②组蛋白泛素化修饰可以作为募集其它转录因子的信号激活或抑制转录；
- ③组蛋白泛素化修饰通过影响其它类型的共价修饰而调节基因转录。



H2AK119的泛素化和  
转录抑制相关。

H2BK123泛素化则相  
反，与转录激活有关



## (2) 组蛋白苏素化

组蛋白苏素化 (sumoylation, SUMO) 在序列上与泛素有18%相同, 而且具有相同的三维结构, 同样可以共价结合目的蛋白特定的赖氨酸残基。Sumo化是一种抑制性的HPTM, 只是Sumo化不促进蛋白质降解, 而是通过改变蛋白质功能而发挥作用, 参与转录因子在细胞内定位, 转录活性和异染色质结构的调节等。Sumo化机制与组蛋白泛素化Ub相似。SUMO修饰促进了基因组完整性和稳定性, 并参与基因转录调控, 但其主要作用是抑制基因转录, 其作用机制可能是:

- ①SUMO化直接封闭组蛋白上的赖氨酸位点, 而该位点既可能被乙酰化又可能被SUMO化;
- ②SUMO化的组蛋白进一步募集HDACs和HP1, 从而介导基因沉默。



### (3) 组蛋白生物素化

组蛋白生物素化 (biotinylation, bio) 修饰是通过生物素酰胺酶 (biotinidase) 或羧化全酶合成酶 (holocarboxylase synthetase) 催化, 利用生物胞素 (biocytin,  $\epsilon$ -N-生物素酰-L-赖氨酸) 作为底物、四种核心组蛋白都可以共价结合生物素 (biotin) 而被生物素化修饰, 其生物学功能参与细胞增殖、基因沉默和DNA损伤修复等过程。

## 七、非编码RNA与表观遗传调控

对RNA基因结构与功能研究揭示了RNA对染色质高级结构的影响和对基因表达的阻遏现象的本质认识，并为表观遗传学开展了一个崭新的RNA层次的调控作用。基因组中普遍存在的非编码RNA对转录后的mRNA的调控作用日益受到关注。

主要涉及：

- ①基因转录水平表达调控：如染色质重塑，DNA甲基化和核心组蛋白共价修饰等；
- ②基因转录后水平的调控：如ncRNA，包括RNAi和miRNA等。





## 1、非编码RNA

人类基因组： $3 \times 10^9$ bp, 其中**93%的DNA序列转录生成RNA**,

只有约**2%的DNA序列最终编码生成蛋白质**

在人类基因组转录序列中绝大多数为非编码转录物

即除了mRNA、tRNA、rRNA和核仁小RNA (snoRNA) 外的所有不编码蛋白质的RNA——统称为ncRNA (non-coding RNA)。

ncRNA主要来源于转录基因间序列和内含子序列。

## 2、ncRNA的种类与功能

ncRNAs可以分为：(1) 持家非编码RNA(House-keeping non-coding RNA)。持家ncRNA包含核糖体RNA(rRNA)、转移RNA(tRNA)、核小RNA(snRNA)和核仁小RNA(snoRNA)等，它们具有组成型表达。

(2) **调控非编码RNA**(regulatory non-coding RNA): 包含短链非编码ncRNA和长链非编码ncRNA (Long non-coding RNA, **lncRNA**)。

短链调节ncRNA一般长度在21-31 nt, 包括miRNA (microRNA)、siRNA (small interfering RNA)、piRNA (piwi-interacting RNA) 等。

一般lncRNA长度大于200 nt, 可分为同义lncRNA、反义lncRNA、内含子lncRNA等。还存在一部分的链长度在50至500nt之间的中链非编码RNA

调控基因表达的非编码RNA类型与功能见下表:





表 15-1 调控基因表达的非编码 RNA 类型与功能

英文简称	英文全称	结构特点	来源与位置	主要作用与功能
<b>miRNA</b>	mircoRNA	19~25 nt	基因间区域、外显子或内含子区域	抑制或降解 mRNA、参与组蛋白修饰, 转录后沉默
<b>endo-siRNA</b>	endogenous small interfering RNA	21~23 nt	由内源假基因、转座子的转录产物之间形成的双链结构剪接生成	抑制或降解靶 mRNA、抑制转座子的活性、参与组蛋白的修饰、与异染色质的形成有关
<b>piRNA</b>	PIWI-interacting RNA	24~32 nt	着丝粒和端粒周围的转座子或者重复序列区域	抑制转座子的活性、维持生殖细胞和干细胞的功能、调节端粒复合物和维持端粒长度
<b>pRNA</b>	promoter RNA	150~250 nt	rRNA 基因启动子区域	调节 rRNA 基因常染色质和异染色质之间的平衡
<b>ceRNA</b>	competitive endogenous RNA	含 miRNA 识别元件结构	假基因、结构基因区域	竞争性地与 miRNA 结合、屏蔽 miRNA
<b>circRNA</b>	circular RNA	单链环状	外显子区域、基因间隔区域	与 miRNA 结合, 调节 miRNA 的作用
<b>snoRNA</b>	small nucleolar RNA	60~200 nt、存在保守序列元件	内含子区域	介导 rRNA 的 2'-O-甲基化修饰、引导 rRNA 特殊位置的尿苷向假尿苷转换
<b>lncRNA</b>	long non-coding RNA	大于 200 nt	基因间区域, 外显子或内含子区域	X 染色体沉默、激活邻近基因的表达、促进特定基因的沉默
<b>NAT</b>	natural antisense transcript	与有功能的正义链完全或部分互补	结构基因区域	调节同源基因表达、pre-mRNA 的剪接





### 3、反义RNA (antisence RNA, asRNA)

asRNA是可与靶mRNA互补的单链RNA (single-stranded RNA, ssRNA)。一般情况下DNA双链只有一条链转录RNA，另一条链不转录，在DNA修复中起作用，但有时这条备份链也能转录出asRNA。不仅在细菌和植物中能产生asRNA，而高等哺乳动物中如人类基因组中至少近2000个基因具有与其匹配的asRNA。这些asRNA与其相应mRNA结合抑制基因活性表达。

例：反义RNA在Col E1的复制控制：

## Regulation of hybrid formation by RNAII

已知在col E1 DNA中由RNA聚合酶进行的引物转录区内有一DNA相反链编码一条108 nt 的RNAI,它与引物RNAII的5'末端互补，起始于原点上游445bp的位置，在靠近RNAII的起始位置（-555bp）位置终止（-553bp）。

RNAI在所有质粒中抑制RNAII引物合成，这样RNAI是Col E1 DNA复制的反式作用调节物（Trans-acting regulator）。



象RNAI这样的RNA分子其功能由于完全与另一在相同区域内编码的RNA互补，称为antisense RNA(反义RNA: RNA that is complementary to the pre-mRNA or mRNA produced from a gene;反义RNA与mRNA互补，可与其形成双螺旋结构阻断蛋白质的合成；与靶核酸(如mRNA或有义DNA)链互补的RNA分子，可抑制靶核酸的功能。 )。

RNAI与RNAII形成复合物阻碍RNAII折叠成与模板杂交所要求的构型。

RNAI由3个茎环结构 (stem-and-loop structure) 和一条单链的5' 末端组成，与RNAII中相应的结构对应

RNA之间的配对有三步：

1. 开始loop-loop 相互作用
  2. RNA I的5' 末端与 RNA II配对
  3. RNA I配对从5' 端至3' 端扩展，产生一个稳定的碱基配对的dsRNA.
- 可见：RNA I明显地影响 RNA II的二级结构，甚至在相距很远的配对。

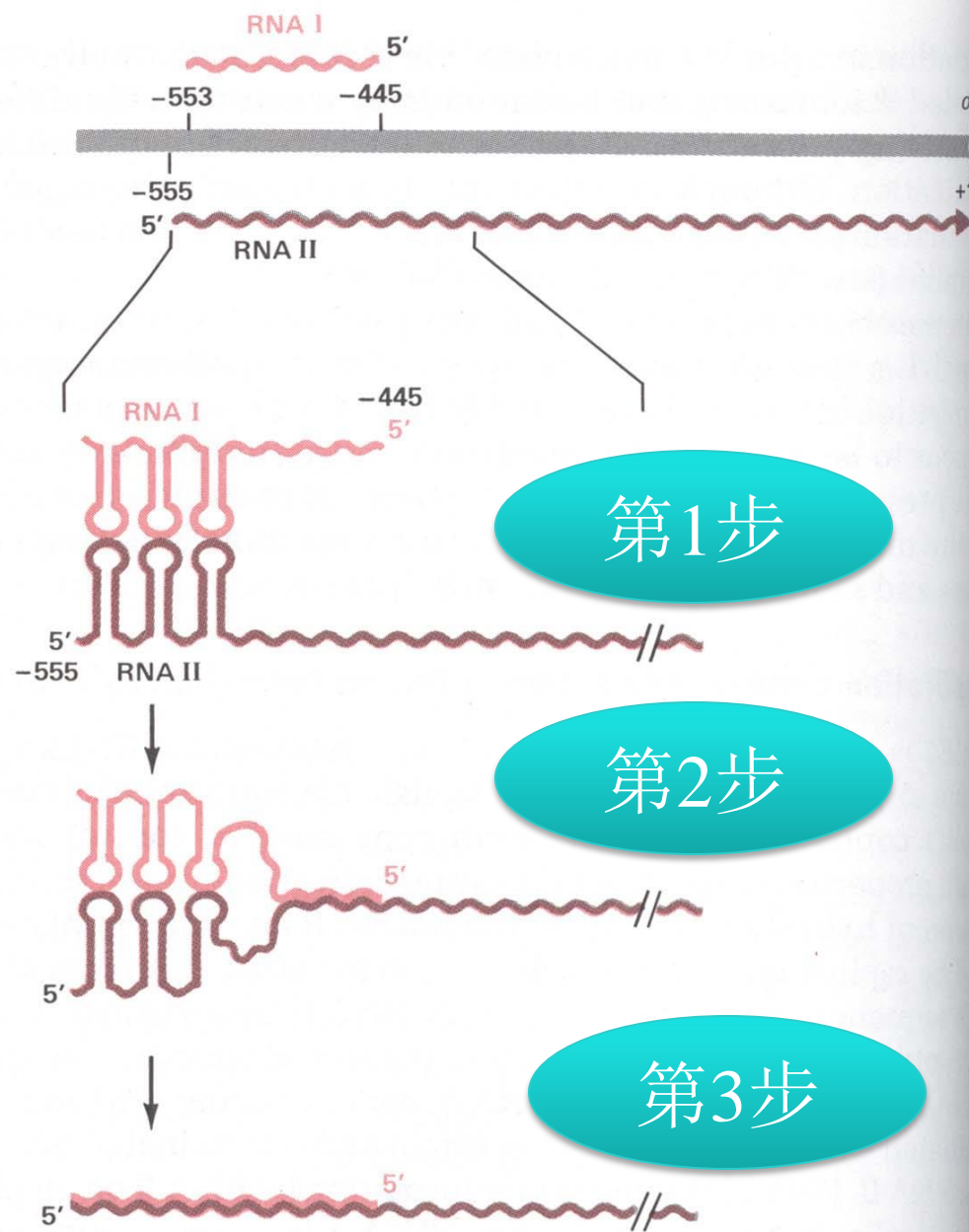


Figure 18-4

Stages in pairing of RNA I and RNA II. (Modified from a figure provided by Dr J-I Tomizawa)



- 因此RNA II 的折叠状态对它与模板DNA的杂交的能力是关键性的，而RNA I 破坏RNA II 的折叠结构，阻止RNA-DNA杂交的形成，而这样不能为RNase H 所识别，通常RNase H 只识别DNA-RNA杂合双链，而不识别RNA的二级结构，于是RNA II 的转录继续进行，不能在复制原点区域产生引物。
- 由RNA I 形成的阻碍仅仅出现在当RNA II 为100至360nt长的时候，一旦RNA(II)-DNA杂交形成，RNA I 不会进一步产生作用。这样RNA I -RNA II 形成的频率对调控是关键性的。





## 4、微小RNA (microRNA, miRNA)

miRNA是由内源性发夹 (hairpin) 结构转录产物衍生而来的ssRNA, 是一类小分子ncRNA, 在各类高等生物中至少存在200种以上的miRNA, 在人类基因组中已发现1 500余个miRNA, 约占基因组1%, miRNA是最大的基因家族之一。miRNA作为引导性分子通过碱基配对与靶mRNA结合, 从而在转录后水平引起靶mRNA的剪切或是翻译后的抑制 (post-translational suppression), 对细胞增殖、分化、发育、凋亡和器官形成等生命过程的调节发挥关键作用。一种miRNA可以结合并调节多种不同的mRNA靶分子, 或几种不同的miRNA结合并协同调节一类靶mRNA。人类超过1/3的基因都可被miRNA所靶定。



## 5、小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA)

siRNA既存在内源性，但多为外源性，如病毒感染，转座子或人工插入双链RNA (double-stranded RNA, dsRNA) 诱导产生的。因此，siRNA具有独特的双链结构，长21-23nt，该序列与所作用的靶mRNA序列具有同源性。在Dicer作用下裂解成3'端带有两个突出碱基的21-23nt的siRNA，并与RNA诱导的基因沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 结合，由于RISC含有多种成分核酸酶，在ATP参与下，RISC内的siRNA解链为ssRNA，引导RISC寻找互补的mRNA，在内切酶作用下降解mRNA，从而沉默相应基因表达。



## 6、内含子 (intron)

内含子广泛分布于真核生物基因组中，前体mRNA的内含子可能由自我剪切II型内含子进化而来，它们不仅具有相似的剪切机制，还具有可移动和转座的功能。内含子可调节真核生物mRNA的选择性剪接，剪接后可产生有功能活性RNA，并可形成发夹状的miRNA、以及circRNA而调节其它基因活性。



# 八、RNA干扰转录后基因沉默

## 1、RNA干扰的发现与作用

1990年，Arizona University, Rich Jorgensen小组，**转查耳酮合成酶（chalcone synthase）基因**以加深矮牵牛花的紫色。

结果→转基因的植株一些花瓣颜色并未加深，反而呈杂色甚至白色→不仅没有新基因的表达，反而使原有的色素基因的表达也受到了抑制，他们将这种现象称为“共抑制”（co-suppression）。



## 植物中的共抑制现象被重新认识

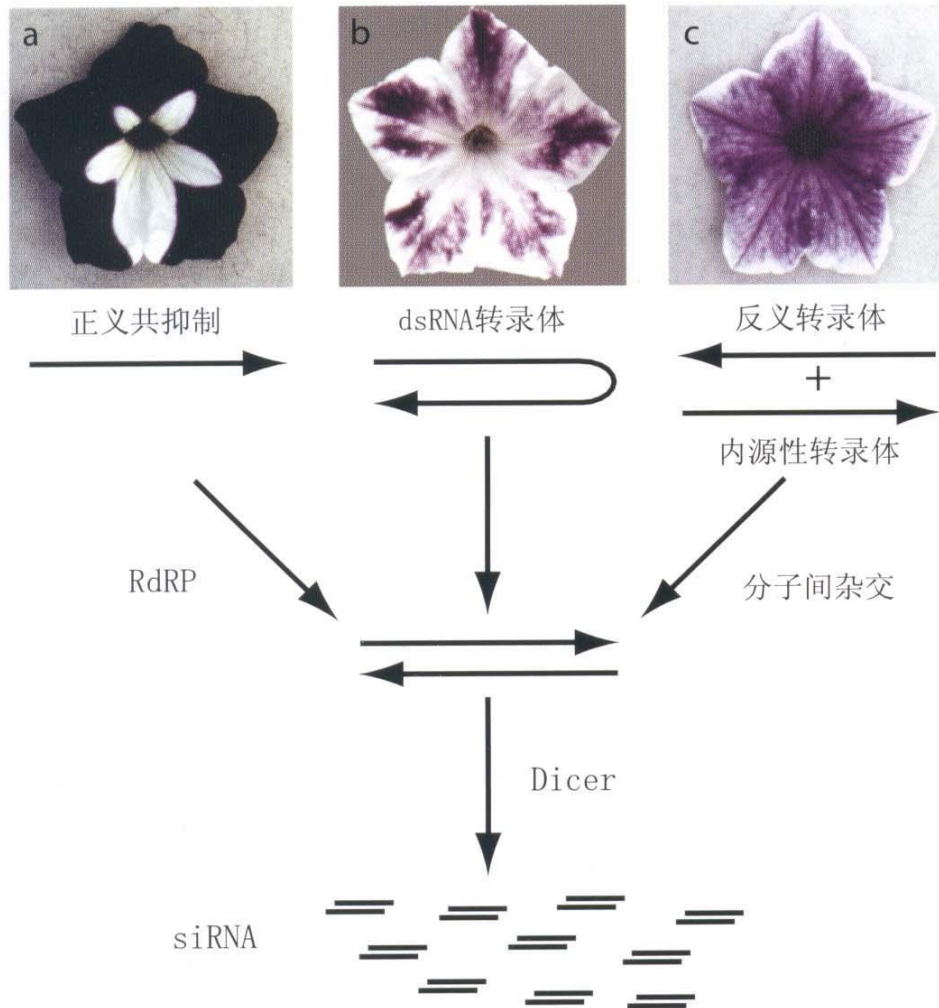


图1-1 矮牵牛花中dsRNA介导查耳酮合成酶基因沉默模式  
(a) 正义过量表达转化基因；(b) 反向重复转化基因；(c) 反义转化基因  
(a和c经允许摘自文献Que等, 1998 © Blackwell Science)

Rich Jorgensen和同事将一个能产生色素的基因置于一个强启动子后，导入矮脚牵牛

(*petunias*) 中，试图加深花朵的紫颜色，结果没看到期待中的深紫色花朵，多数花成了花斑的甚至白的。

Jorgensen将将这种现象命名为共（协同）抑制"cosuppression"，因为导入的基因和其相似的内源基因同时都被抑制。





首次发现dsRNA能够导致基因沉默的线索来源于对线虫*C. elegans*的研究。

1995年，Cornell University，Guo和Kempheus等利用反义RNA技术特异性地阻断线虫中的par-1基因表达时，同时在对照实验中给线虫注射正义RNA以期观察到基因表达的增强，结果却发现了一个意想不到的现象，二者都同样地切断了par-1基因的表达途径。该研究小组一直没能给这个意外以合理解释。



Par-1是胚胎极性相关的看家基因，阻抑结果是胚胎致死





1998年，华盛顿卡耐基研究院的Andrew Fire和马萨诸塞大学癌症中心的Craig Mello首次将dsRNA——正义链和反义链的混合物注入线虫，结果表现出比单独注射正义链或者反义链都要强得多的基因Silencing。证明上述现象属于转录后水平的基因沉默。他们发现Su Guo博士遇到的正义RNA抑制基因表达的现象，以及过去的反义RNA技术对基因表达的阻断，都是由于体外转录所得RNA中污染了微量双链RNA（dsRNA）而引起。

■ 而一旦混入dsRNA，其阻抑效应比仅仅任一单链RNA强十倍以上，纯化的dsRNA则可产生更强的基因阻抑效应。



- 实际上每个细胞只要很少几个分子的dsRNA已经足够完全阻断同源基因的表达。后来的实验表明在线虫消化道中注入双链RNA不单可以阻断整个线虫的同源基因表达，还会导致其第一代子代的同源基因沉默。他们将这种现象称为RNA干扰（RNA interference, 简称RNAi,）
- 当他们将体外转录得到的
  - 单链RNA → 纯化 → 注射线虫 → 基因抑制效应变得十分微弱
  - 双链RNA → 纯化 → 注射线虫 → 能够高效特异性阻断相应基因的表达，其抑制基因表达的效率比纯化后的反义RNA至少高2个数量级。

该小组将这一现象称为RNA干扰

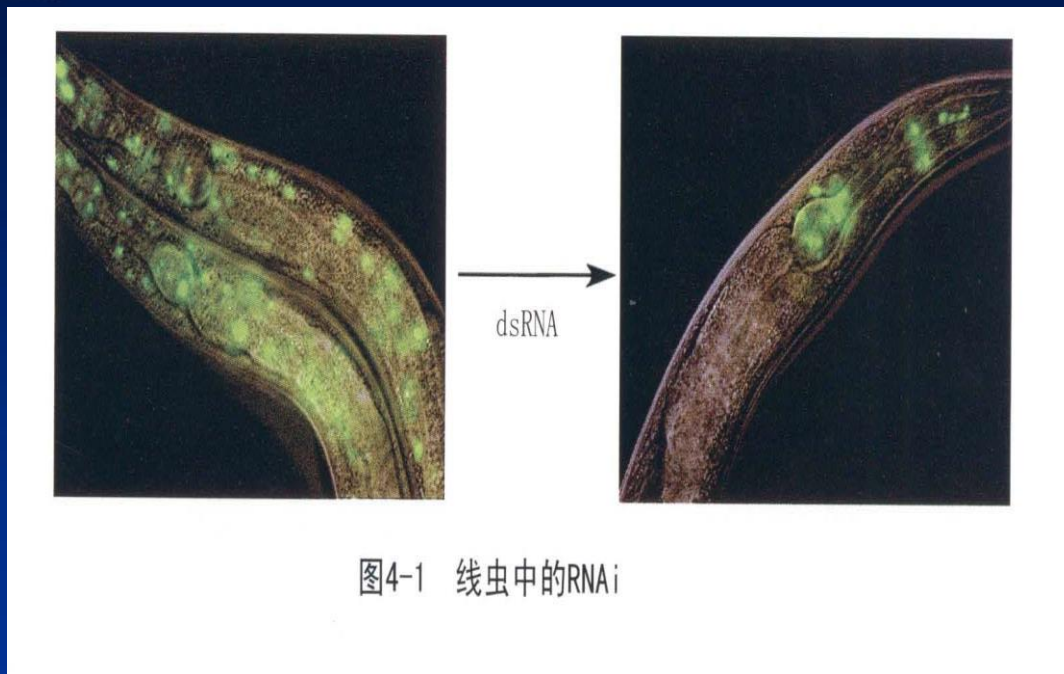


图4-1 线虫中的RNAi

以后，在线虫中发现其详细的作用机理，并且证明从真菌、果蝇、到高等动植物均存在类似的机理。RNA 干扰的发现以及机理研究，2005年被Science杂志评为十大科技进展之一，2006年Fire和Mello因此获得诺贝尔生理学或医学奖。



RNAi潜在的作用促使Fire和Timmons继续实验，将能够表达与*C. elegans* *unc-22*基因同源的dsRNA的细菌喂食线虫，结果线虫表现出类似*unc-22* 缺陷的表型。后继的实验表明将线虫浸入dsRNA中同样可以诱导基因沉默——这种技术使得大规模筛选线虫RNAi诱导的功能缺失突变体成为可能，并引发后继的大量针对这种模式生物基因敲除的研究。

**果蝇中的RNAi：** 在果蝇的研究中同样发现RNAi

(1) 采用能生产dsRNA的酵母喂食果蝇的实验以失败告终；

(2) 但是通过显微注射或者通过基因枪将dsRNA注入果蝇胚胎中、或者将带有反向重复序列的DNA导入果蝇中能够引发基因沉默。在过去的几年中RNAi技术在果蝇的研究中成为一种反向遗传工具，用于鉴定功能缺失表型。





通过显微注射  
 或者通过基因枪将  
 dsRNA注入果蝇胚  
 胎中、或者将带有  
 反向重复序列的  
 DNA导入果蝇中能  
 够引发基因沉默

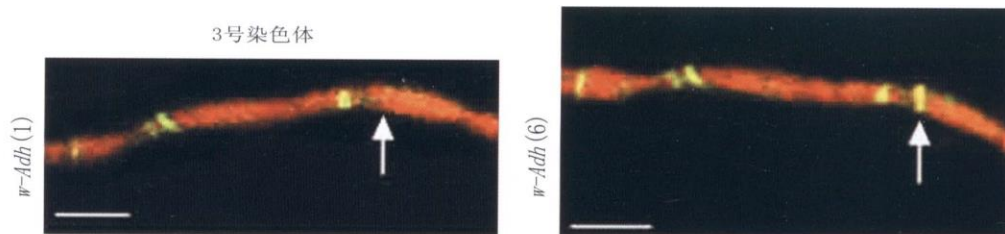


图2-2 沉默转基因上聚合梳复合物的积聚

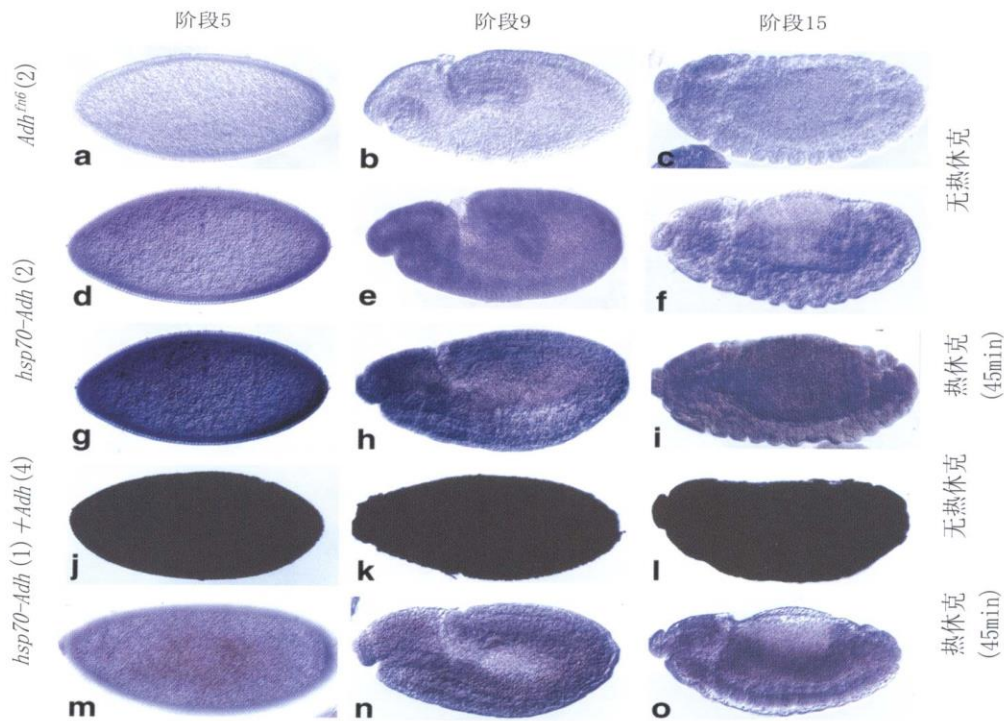


图2-3 早期胚胎中Adh 转基因转录后基因沉默 (PTGS) 阈



## 注射的RNAi如何引发基因沉默？

在过去的数年中多个研究小组进行了不懈的努力。Baulcombe和Hamilton首先在发生协同抑制的植物中鉴定了一些在没有发生基因沉默的植物中并不存在的大约25个碱基大小的RNA，这些RNA分别与沉默基因的正义和反义链互补。这成为揭示RNAi秘密的第一条关键线索。





后来在果蝇细胞中的实验进一步揭示这个秘密。在一系列著名的实验中，Zamore和同事发现注入果蝇细胞的dsRNA被切割为21—23碱基长短的RNA片段，他们同时发现：与dsRNA同源的内源基因的mRNA，只在和dsRNA对应的部位被切割成为21—23核苷酸长的片断。很快，RNAi的机制越来越清楚了。



## RNAi广泛存在于各类生物中，其作用过程是：

### ①小干扰RNA（small interference RNA, siRNA）或微小RNA（micro RNA, miRNA）形成阶段：

由Drosha和Dicer（Der）酶作用下逐步催化。Dicer是III型RNA酶家族中一种特异性识别dsRNA的核酸内切酶，具有一个dsRNA结合区，一个与Argonate家族同源的PAZ结构域，两个III型RNA酶活性催化区域和RNA解旋酶活性区。外源或内源dsRNA与Dicer结合后先将dsRNA解旋，再将其裂解为21-23nt的siRNA。miRNA形成过程是新生的microRNA转录本（primary-miRNA），首先被核内的Drosha加工成大约70nt的miRNA前体，然后通过核输出蛋白5（exportin 5）转运到细胞质并被Dicer加工成miRNA-miRNA双链



## ②RNA诱导沉默复合物（RNA induced silencing complex, RISC）形成阶段：

siRNA与一些RNAi特异性酶，如Ago-2等和相关因子共同组成siRISC。RISC是多成分核酸酶、含有内切核酸酶、外切核酸酶和解旋核酸酶活性。miRISC与siRISC是两种不同的复合物，它们的生物合成、成熟和随后的装配均不相同，因而它们的RISC也具有一些不同的功能；

## ③RNAi的效应阶段：

RISC在ATP供能作用下，解旋酶将siRNA或miRNA双链打开而被激活、激活的RISC卸下正义链，反义链仍结在RISC上，并引导其与同源靶mRNA结合，



在核酸内切酶的作用下切割靶mRNA，使mRNA降解，从而抑制该基因的PTGS。其中一些与靶mRNA不完全匹配的miRNA则抑制翻译。总之，miRNA参与组成miRNA-蛋白质复合物（miRNA-protein complex, miRNP），随后也与siRISC一样通过切割mRNA抑制基因表达，同时miRNP还可与靶mRNA配对而在翻译水平上抑制目的蛋白的合成；

**④RNAi的扩增阶段**：在植物、线虫和果蝇等生物中存在一种RNAi扩增机制，在这些生物中，siRNA不仅是RNAi的直接效应物，它还可以作为引物在RNA指导的RNA聚合酶（RNA-directed RNA polymerase, **RdRP**）的作用下扩增siRNA，这些新生的siRNA亚群也称二级siRNA，而这些二级siRNA又能继续作用于靶mRNA令其降解。显然，该扩增机制赋予了RNAi高效性和持久性，小剂量dsRNA就能诱发强烈的基因沉默效应。同时在一些低等生物中，RNAi还具有系统性，即RNAi可在不同细胞之间传播或者从亲代细胞传递给子代细胞。



## 2、siRNA与miRNA之间的关系

一系列重要差别：①**siRNA**多为外源性，如病毒感染、转座子或人工插入dsRNA之后诱导产生，其直接来源是长链dsRNA，通过Dicer加工后形成siRNA双链，3'端有两个非配对碱基，通常为UU。**miRNA**为内源性，来源于发育相关调节基因，有固定的基因座位，为机体正常调控机制，它是转录产物发夹状前体分子pre-miRNA的一条臂，是ssRNA分子。

②**siRNA**发生于细胞质，在RISC中的效应分子是单链siRNA的引导链，其作用方式是多为剪切靶mRNA，而且可作用于mRNA的任何部位而降解mRNA，影响mRNA的稳定性。**miRNA**发生是在细胞核中，然后通过Exportin 5转运到细胞质，在RISC中的效应分子为miRNA分子自身，作用方式多为抑制靶mRNA的翻译，当然与靶mRNA完全互补的miRNA也可降解靶mRNA。总之，它是在RNA代谢的各个层面进行调控





- ③ siRNA和miRNA均可与RISC结合，但随后采取不同路线使基因沉默。siRNA的反义链与其靶mRNA形成连续性杂交，然后剪切靶mRNA。而miRNA的反义链与靶mRNA的3'端非翻译区形成一种特异性的间断杂交，从而在翻译水平上抑制目的蛋白的合成。
- ④ siRNA的干扰作用多为完全互补性、高效性，其重要生物意义是生物抵抗外来核酸片断入侵的一种方式，原始活性为抑制转座子活性和病毒感染。miRNA的互补性多为不完全、存在错配现象，具有高度保守性、组织特异性和发育阶段特异性、参与调节生命活动的多个层次，包括细胞生长、发育、分化和凋亡等过程。





武汉大学

Wuhan University

# RNA interference

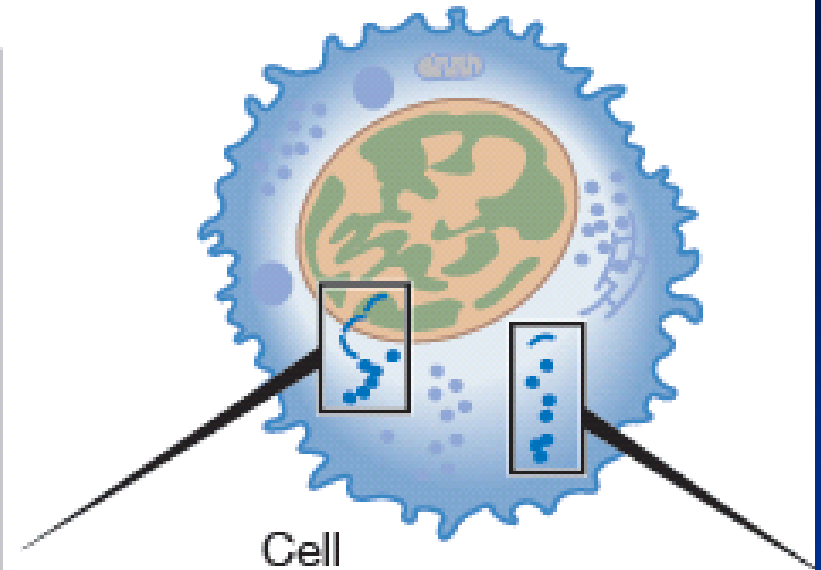
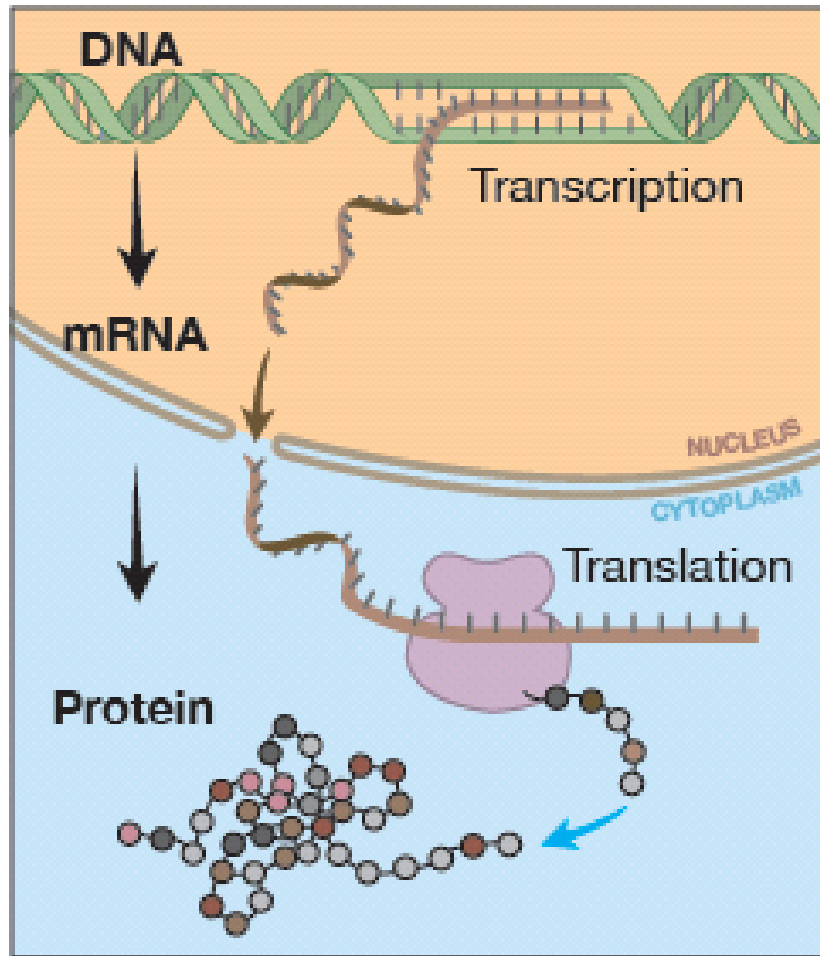
— gene silencing by double-stranded RNA

## RNAi 机理





# 1. The central dogma

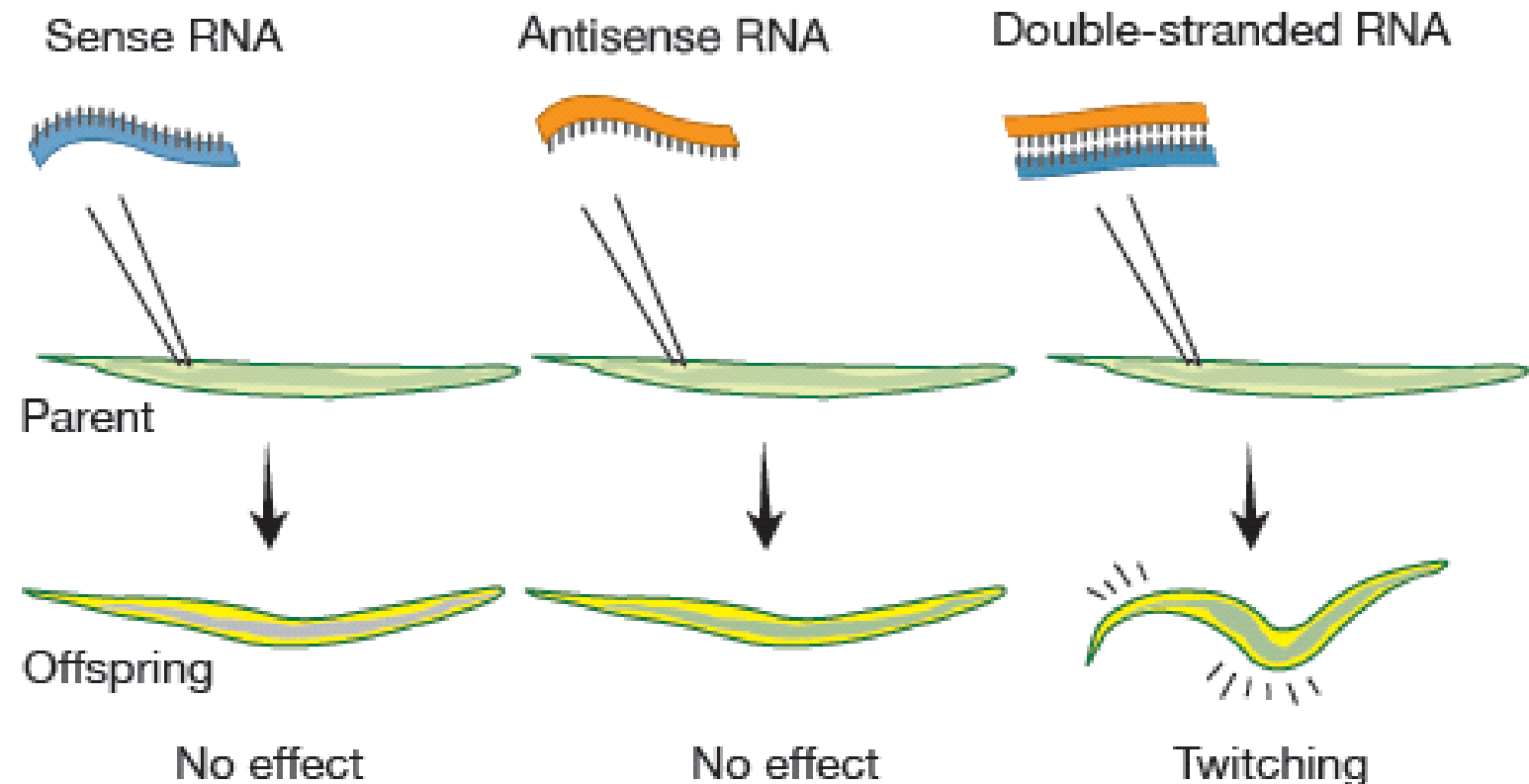


Our genome operates by sending information from double-stranded DNA in the nucleus, via single-stranded mRNA, to guide the synthesis of proteins in the cytoplasm.



## 2. The experiment

RNA carrying the code for a muscle protein is injected into the worm *C. elegans*. Single-stranded RNA has no effect. But when double-stranded RNA is injected, the worm starts twitching in a similar way to worms carrying a defective gene for the muscle protein.





### 3. The RNAi mechanism

RNA interference (RNAi) is an important biological mechanism in the regulation of gene expression.

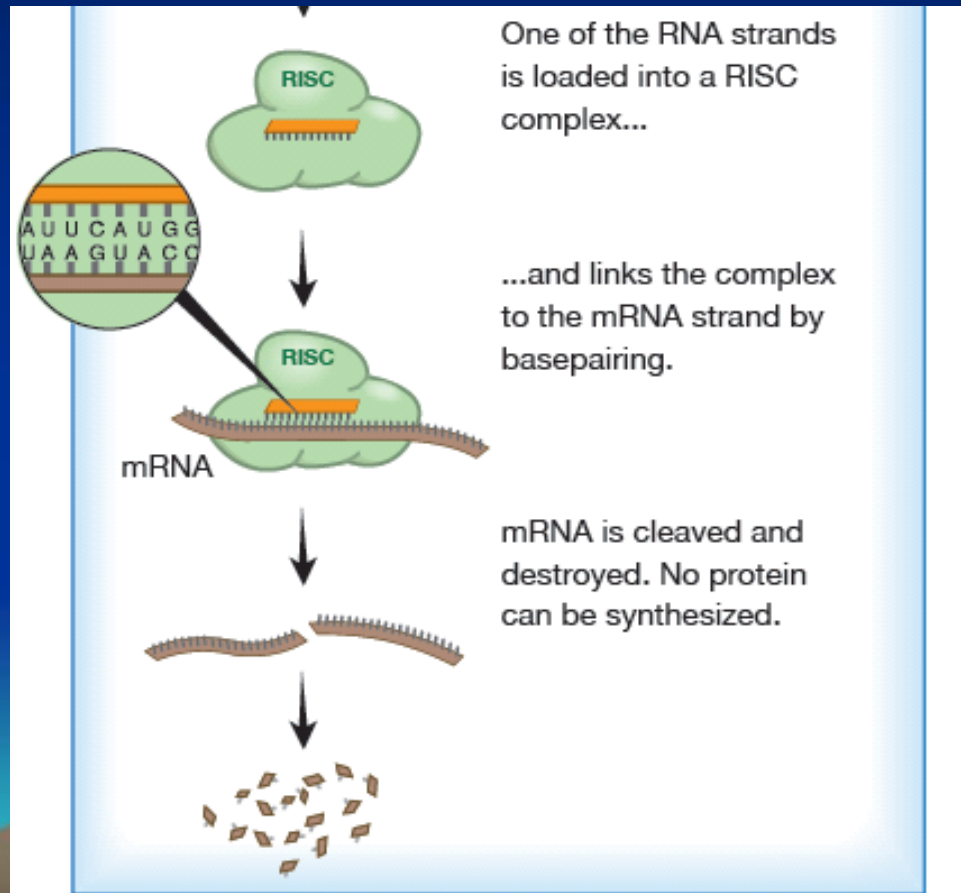


dsRNA

Double-stranded RNA (dsRNA) binds to the protein Dicer ...



... which cleaves dsRNA into smaller fragments.



One of the RNA strands is loaded into a RISC complex...

...and links the complex to the mRNA strand by basepairing.

mRNA is cleaved and destroyed. No protein can be synthesized.

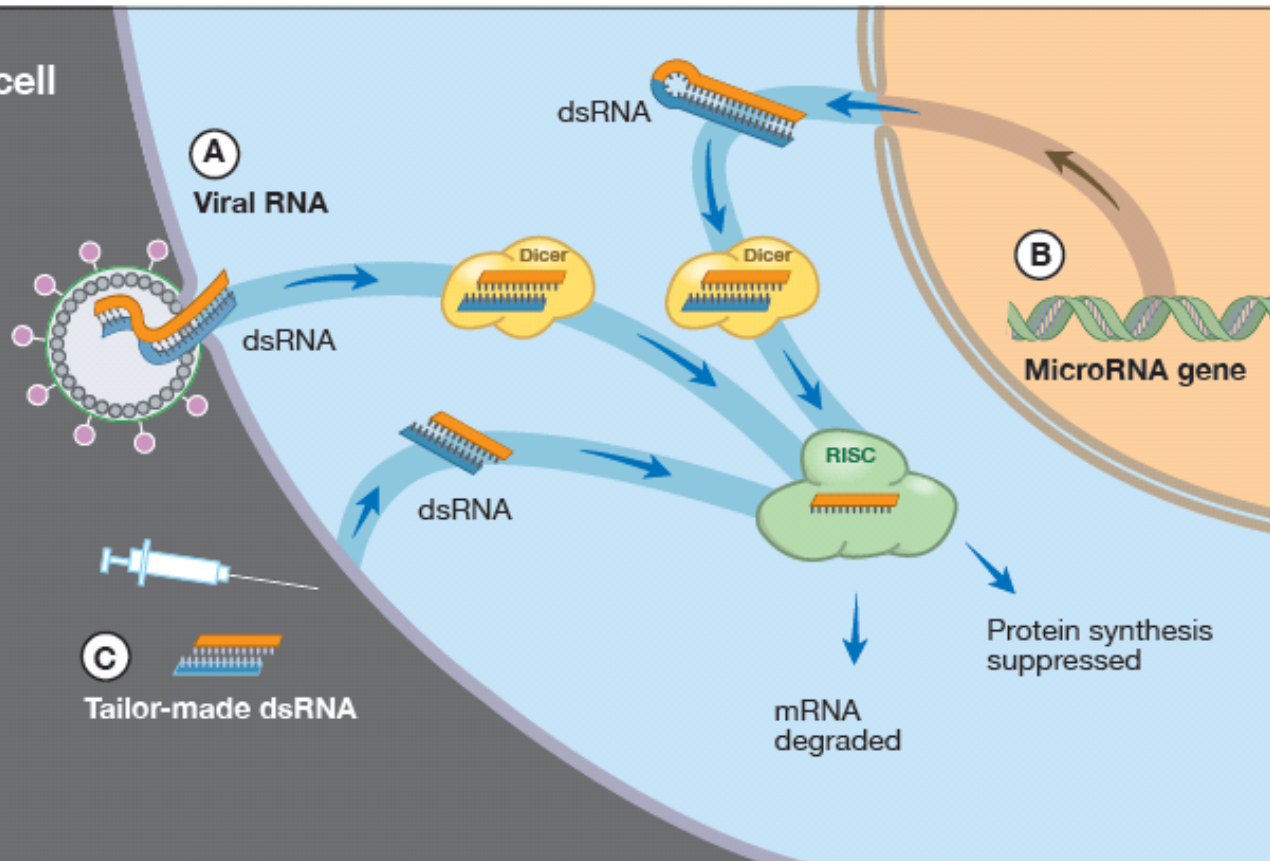


#### 4. Several processes in the cell use RNAi

A. When an RNA virus infects the cell, it injects its genome consisting of double-stranded RNA. RNA interference destroys the viral RNA, preventing the formation of new viruses.

B. Synthesis of many proteins is controlled by genes encoding microRNA. After processing, microRNA prevents the translation of mRNA to protein.

C. In the research laboratory, dsRNA molecules are tailor-made to activate the RISC complex to degrade mRNA for a specific gene.







This amplification, coupled with RNAi spreading between cells (mechanism unknown), is thought to underlie germline transmission of RNAi in worms.



## Part 3: RNAi amplification

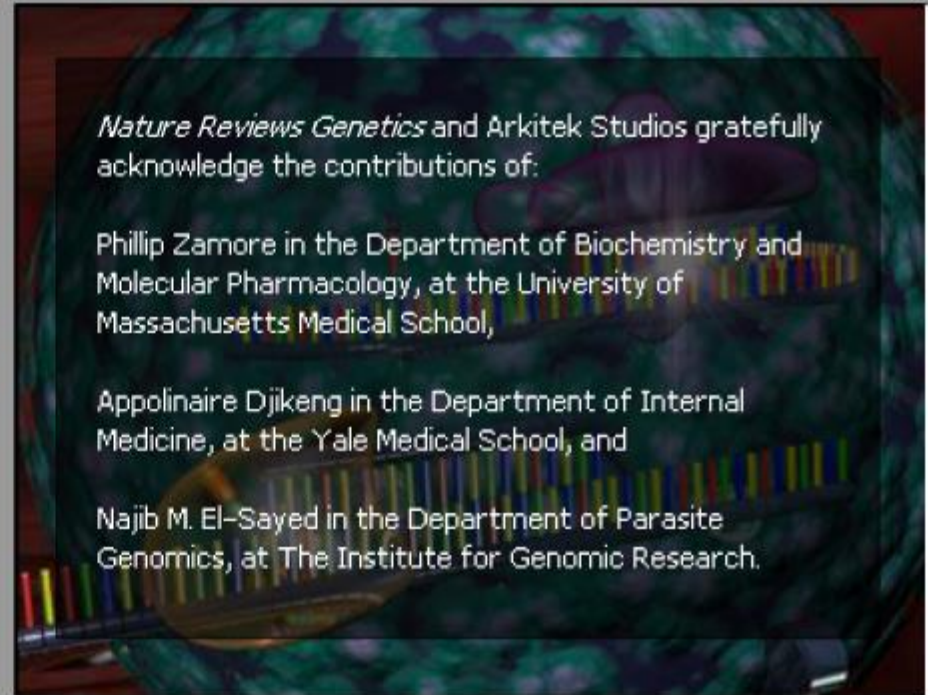


Glossary



Clear

Download



*Nature Reviews Genetics* and Arkitek Studios gratefully acknowledge the contributions of:

Phillip Zamore in the Department of Biochemistry and Molecular Pharmacology, at the University of Massachusetts Medical School,

Appolinaire Djikeng in the Department of Internal Medicine, at the Yale Medical School, and

Najib M. El-Sayed in the Department of Parasite Genomics, at The Institute for Genomic Research.

Copyright © 2003 Nature Publishing Group. Created by [Arkitek](#) for *Nature Reviews Genetics*

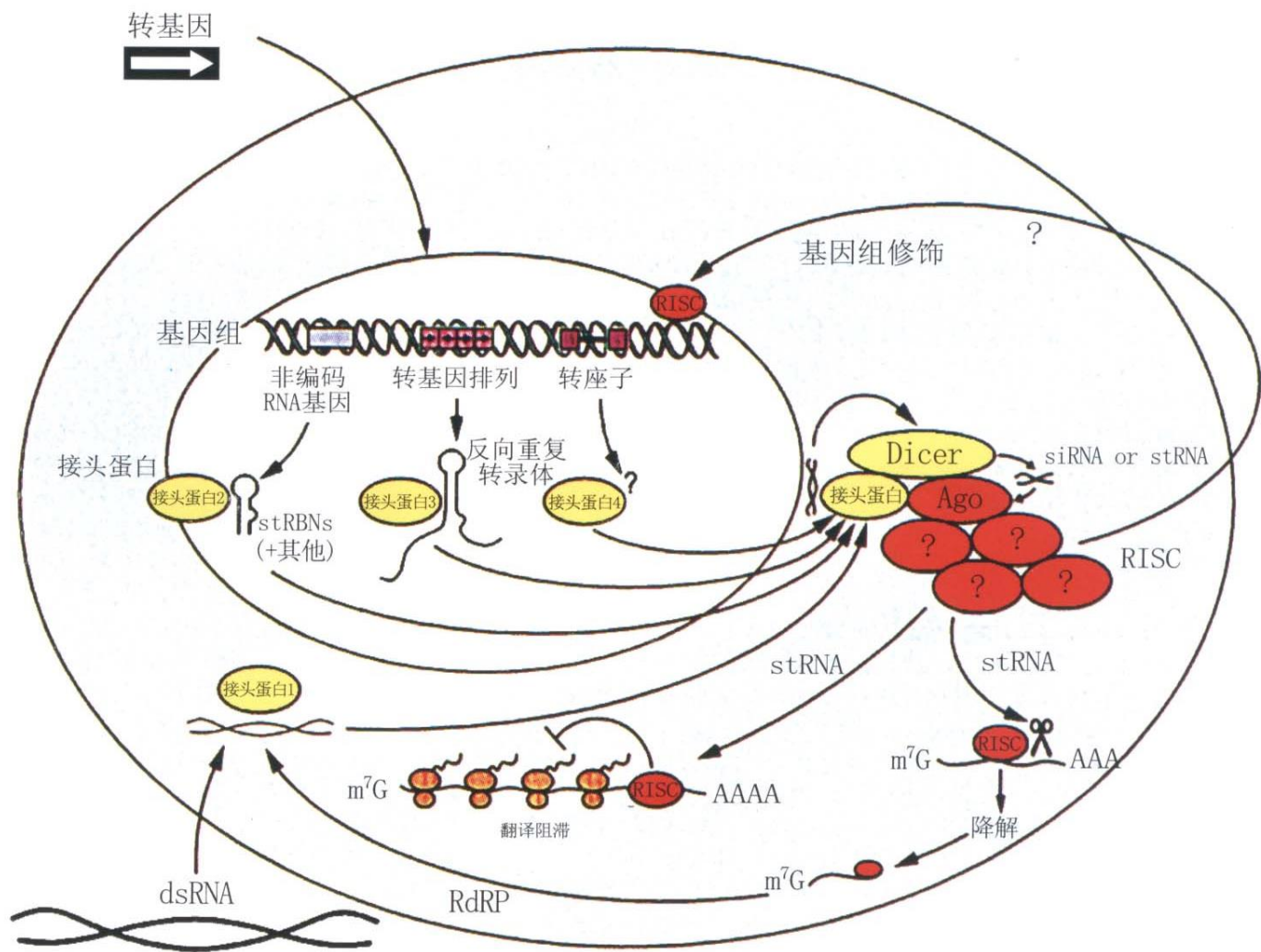
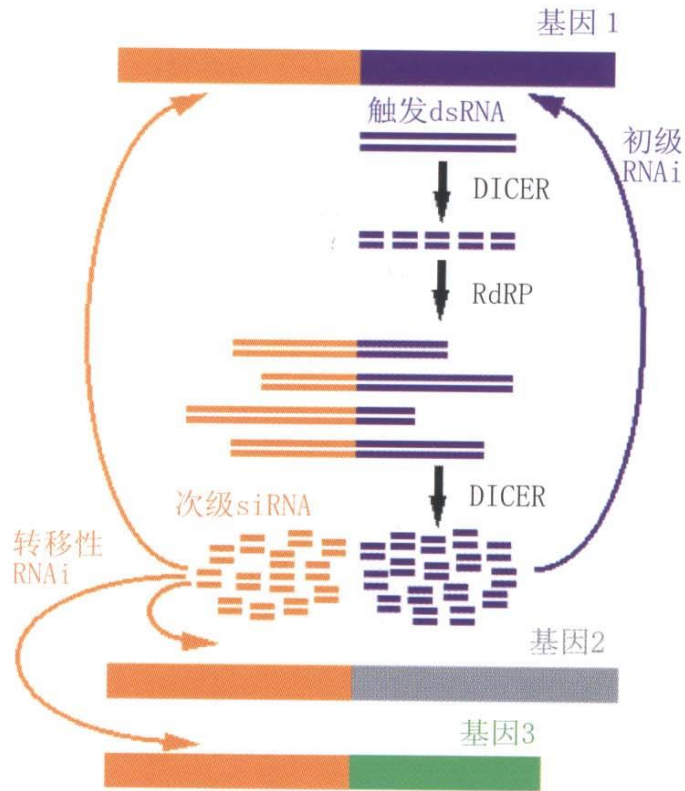
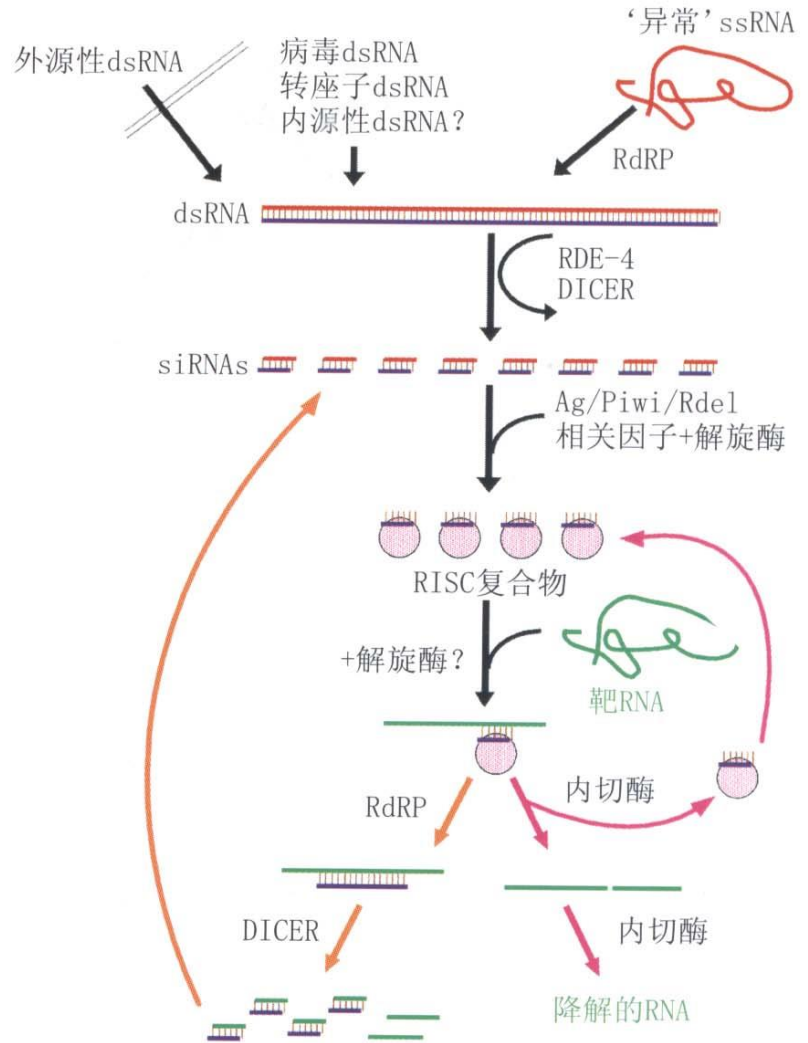


图9-1 RNAi相关的基因沉默通路示意  
 (经 Cambridge University Press 同意, 引自Bernstein等, 2001a)



**图9-8 由次级siRNA产生的转移性RNAi**  
 由初级靶区域(绿色)上游延伸(橙色)dsRNA经RdRP产生的次级siRNA,能够促进与其同源的基因家族基因的转移性RNAi效应  
 (经Elsevier Science同意引自Nishikura等,2001)



**图9-9 RNAi的作用模型**  
 两种因素增强RNAi反应潜能。加载有RNA的RISC复合物(紫红色箭头所示)重新利用为反应提供催化组分, RdRP(橙色)介导的物理扩增对起始的触发RNA进行扩增(经Elsevier Science同意引自Sijen等,2001)



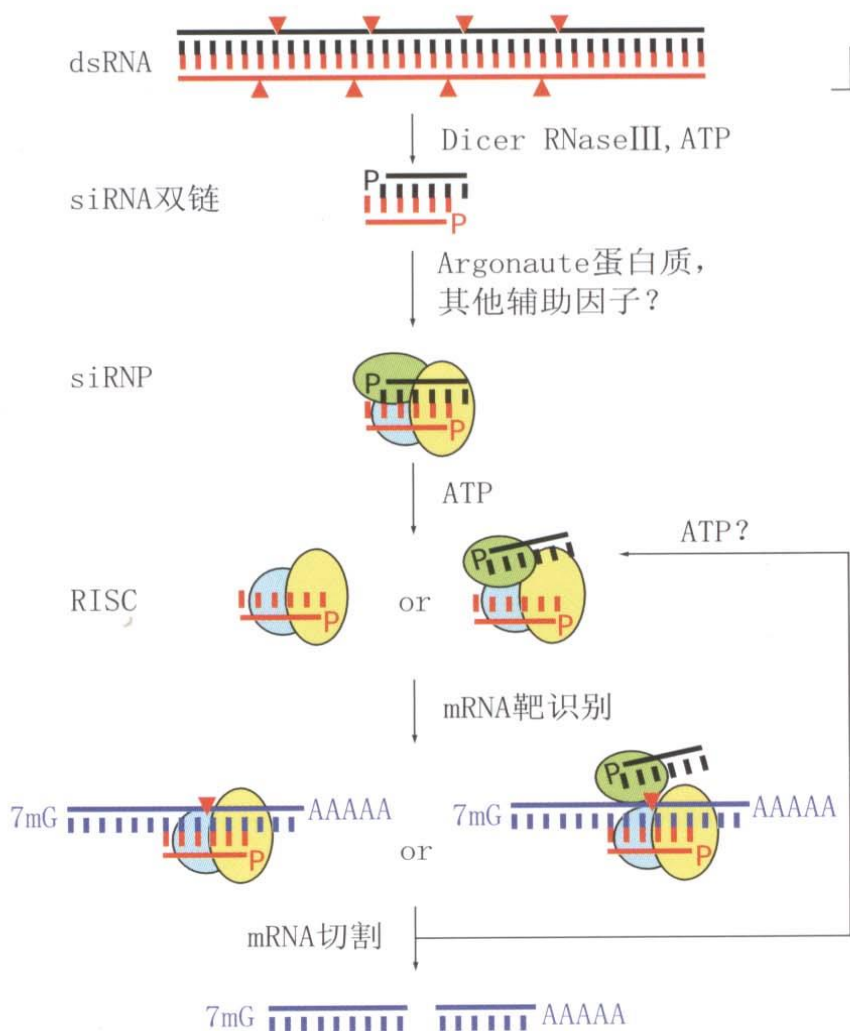


图13-1 RNA干扰模型

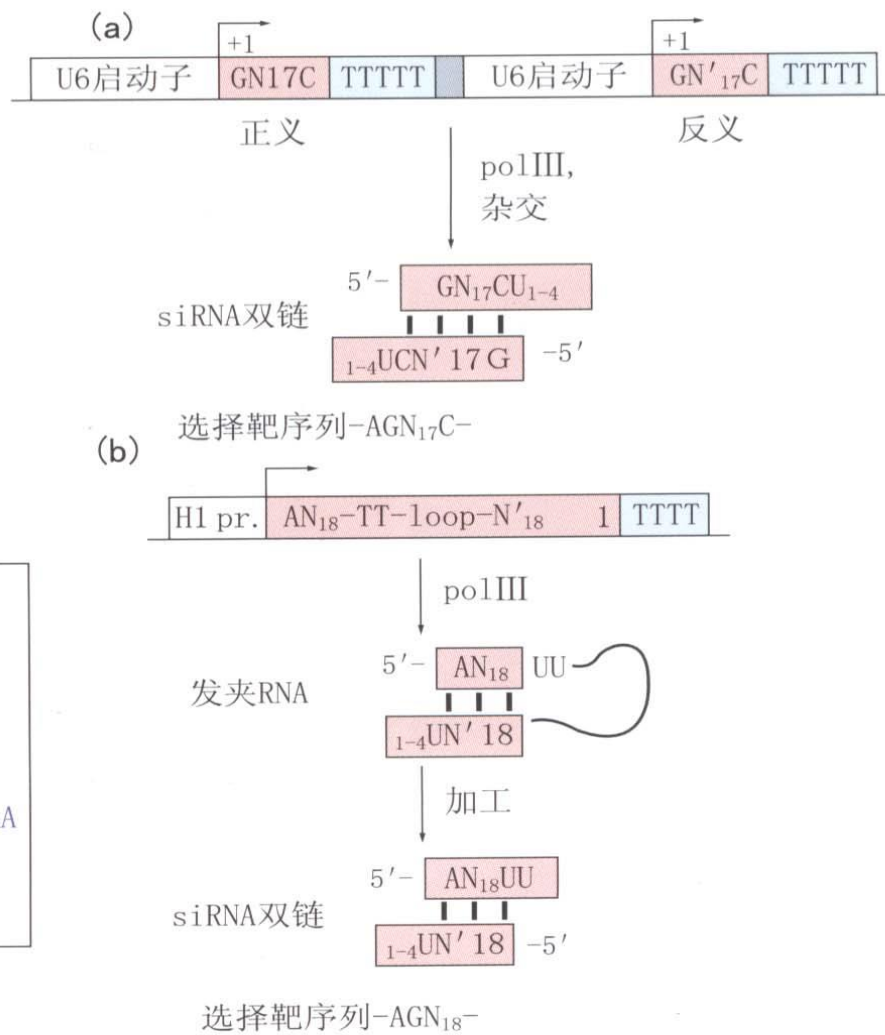


图13-3 内源性表达siRNA



**siRNA: short interfering RNA**  
小干扰RNA, 短干扰RNA,  
干涉性短RNA  
**microRNA: 微小RNA**

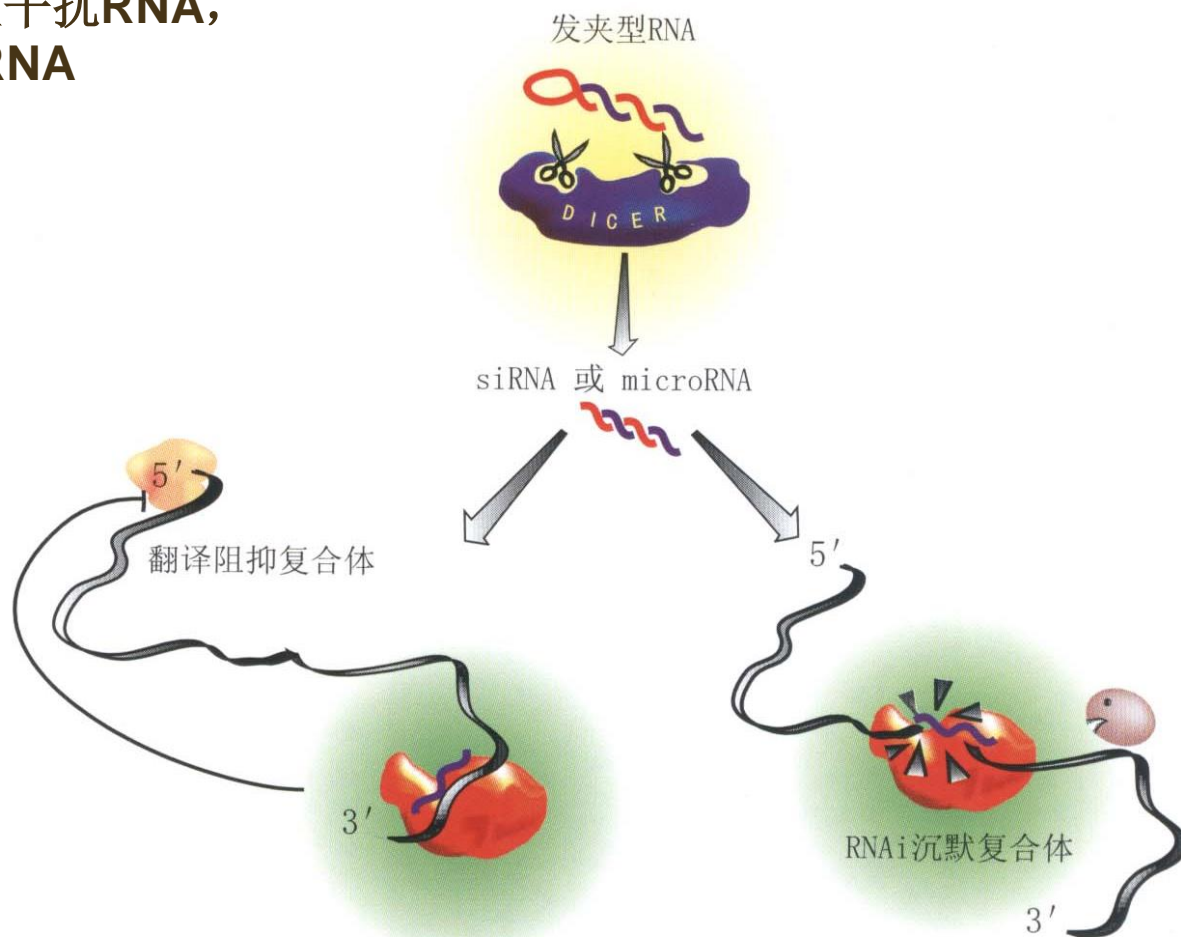


图6-4 miRNA 和沉默发夹 RNA 转基因的共同途径





- RNAi干扰现象具有以下几个重要的特征：
  - ①RNAi是转录后水平的基因沉默机制；
  - ②RNAi具有很高的特异性，只降解与之序列相应的单个内源基因的mRNA；
  - ③RNAi抑制基因表达具有很高的效率，表型可以达到缺失突变体表型的程度，而且相对很少量的dsRNA分子(数量远远少于内源mRNA的数量)就能完全抑制相应基因的表达，是以催化放大的方式进行的；
  - ④RNAi抑制基因表达的效应可以穿过细胞界限，在不同细胞间长距离传递和维持信号甚至传播至整个有机体以及可遗传等特点；



- ⑤ dsRNA不得短于21个碱基，并且长链dsRNA也在细胞内被Dicer酶切割为21 bp左右的siRNA，并由siRNA来介导mRNA切割。而且大于30 bp的dsRNA不能在哺乳动物中诱导特异的RNA干扰，而是细胞非特异性和全面的基因表达受抑和凋亡；
- ⑥ ATP依赖性：在去除ATP的样品中RNA干扰现象降低或消失显示RNA干扰是一个ATP依赖的过程。可能是Dicer和RISC的酶切反应必须由ATP提供能量。



## 五、RNA干扰的生物学意义及应用

- 保护基因组不受外来RNA分子(如病毒RNA、转座子)破坏
- 病毒防御机制
- 可能导致病毒和它的寄主植株之间共同进化
- 新的Knock down技术:强大的功能基因组学工具
- 遗传育种工具
- 强大的药物开发工具
- 基因治疗手段:肿瘤、病毒感染性疾病、血液病及神经退行性疾病等





# RNA干扰的应用

## (1) RNAi技术在功能基因组中的应用

编码区RNAi和启动子区RNAi技术  
研究基因功能的新工具

## (2) RNAi技术在医学领域的应用

疾病的治疗

病毒性疾病、遗传性疾病的治疗、  
肿瘤病的治疗

## (3) RNAi技术在生物学各研究领域的应用





- 人们可以精心设计特异靶序列用于特定的基因沉默或基因家族的沉默，例如水稻和烟草中均建立了单个基因或多个基因同时沉默的技术；
- 为了大规模进行基因功能的研究，人们设计了高效克隆载体，如pHELLSGATE高通量基因沉默载体；
- 在拟南芥中已经提出采用RNAi技术实现全基因组的基因沉默计划。





- 大量实验研究证明，RNAi策略被认为是在水平导致基因沉默的有力工具。经过20多年的努力，大体上RNAi途径已被阐明，但仍然有一些问题：比如siRNA是如何分开的？为什么还能导致染色质变构及甲基化最终导致转录水平的沉默？



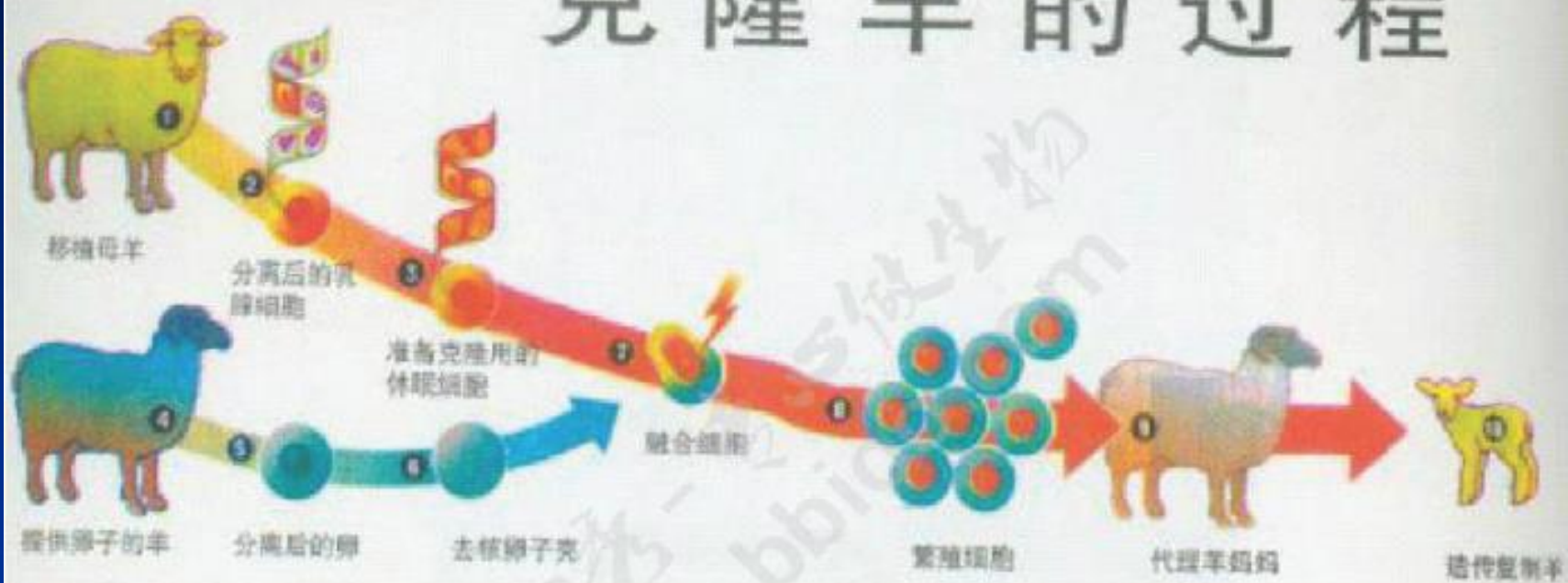
## (7) 基因表达的重新编程

- 已经完全分化的细胞，其基因组在特定的条件下经历表观遗传修饰重建而为胚胎发育中的基因表达重新编程（reprogramming）并赋予发育全能性，为胚胎发育和分化发出正确的指令。
- 胚胎发育中表观基因组重新编程的误差将会导致多种表观遗传缺陷性疾病



- DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA均参与基因表达重新编程的过程中。
- 真核细胞中存在着一个由RNA干扰、组蛋白结构修饰和DNA甲基化系统组成的一个表观遗传修饰网络，能动地调控着具有组织和细胞特异性的基因表达模式。机体的表观遗传模式的变化在整个发育过程中是高度有序的，也是严格受控的。

# 克隆羊的过程



“多莉”的诞生证明：一个来自成年的哺乳动物的高度分化的体细胞仍然保持发育成为完整个体的能力，也就是说细胞的分化并没有造成不可逆的遗传物质修饰。





武汉大学

Wuhan University

谢谢

