

文章编号: 1004-0374(2010)03-0216-08

RNA 在生物学的重要地位及其作为 常规治疗药物的研究进展

Sidney Altman

(美国耶鲁大学分子细胞和发育生物学系)

摘要: 20 多年来的研究发现, RNA 除了具有如 tRNA、rRNA 参与蛋白质生物合成的基本功能外, 细胞内还存在许多种类的 RNA, 它们执行着不同的功能, 在细胞内生物化学反应及机体发育调控过程中发挥着重要作用。正因为 RNA 功能多样性, 在体内、体外开展的众多实验表明, RNA 或其修饰形式可以抑制基因的表达。该文将探讨 RNA 在常规基因治疗中的研究。

关键词: 核糖核酸; 功能多样性; 核糖核酸酶 P; 基因治疗

中图分类号: Q52; Q814; R730.54 **文献标识码:** A

The central role of RNA in biology and as a general therapeutic agent

Sidney Altman

(Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology, Yale University, USA)

Abstract: The diverse roles of different RNA molecules discovered over the past 20 years show the importance in intracellular biochemistry and in the regulation of developmental events *in vivo*. These novel functions of RNA are in addition to the basic roles of tRNA and rRNA in protein synthesis. RNA, or modified versions thereof, can be shown to inhibit the expression of genes *in vitro* or *in vivo*. A new function of RNA in general gene therapy will be discussed.

Key words: RNA; diverse functions; RNase P; gene therapy

生命的起源是自然科学研究的永恒话题和难解之谜, 从人类有自我意识的那一天起就本能地开始了对这一重大问题的思考。根据中心法则的描述, 核酸(包括 DNA 和 RNA)是遗传信息的储存者和传递者, 而蛋白质则是遗传信息的体现者和功能执行者。遗传信息最终发挥功能需要蛋白质的催化作用, 而蛋白质又是由核酸编码的序列指导合成的, 核酸和蛋白质之间似乎是唇齿相依的关系。在生命起源中到底是先有核酸还是先有蛋白质, 这就形成了著名的“鸡与蛋”争论, 这一问题一直困扰着生命起源的研究。

自 20 世纪 80 年代以来, 研究发现, 在不同形式的生命体内存在各种各样的 RNA 分子, 它们发挥着不同的生物学功能。1981 年, 美国科罗拉多大

学的 Cech 等^[1]在研究四膜虫的 rRNA 前体拼接过程中发现, 此类拼接无需蛋白质酶参与, 它可自我催化完成。Cech 将具有催化功能的 RNA 称为核酶(ribozyme)。1984 年, 美国耶鲁大学的 Guerrier-Takada 和 Altman^[2]在研究 tRNA 加工成熟的过程中发现 RNase P 中的 M1 RNA 单独也有催化功能。Cech 和 Altman 两人因在核酶发现中的开创性贡献而共享 1989 年诺贝尔化学奖。这些新发现表明 RNA 也能发挥和蛋白质一样的酶催化功能, 它们似乎可以做任何我们想不到的事情。这不仅打破了传统观点中对 RNA 只参与蛋白质生物合成的认识, 关于“鸡与蛋”的争论也有了解决方案, 既不是先有鸡也不是先有蛋, 而是两者同时出现但是必须由同一种分子来承担不同角色, 这就是 RNA。在陆续发现不

同 RNA 具有催化性质的报道下, 1986 年, 哈佛大学教授 Gilbert^[3] 在 Nature 杂志发表的一篇评述中正式提出“RNA World (核糖核酸世界)”假说。

“RNA World”假说指出, 在地球上生命起源过程中存在一个假设的阶段, 在这一阶段, 生命是一个非常原始的自我复制系统, 完全由 RNA 分子组成。系统的信息由 RNA 储存, 一部分具有催化功能的 RNA 分子催化 RNA 分子自身信息的传递及自我复制保留。由于 RNA 的双重特性, 仅有 RNA 而不需要 DNA 和蛋白质的这样一个原始系统就足以存活下来, 在后来的进化过程中, 结构更加稳定的 DNA 分子取代了 RNA 分子储存遗传信息, 而催化功能则由催化能力更强的蛋白质取代, 逐渐形成了我们现在意义上的生命体系。事实上, 从化学角度来看, RNA 介于 DNA 与蛋白质之间, 结构的相对稳定性、与 DNA 相似的 4 种碱基排列多样性及互补配对使其具有储存信息的功能, 而其所具有的核糖 2' - 位羟基又决定了其在化学性质上较 DNA 更加活跃。RNA 研究领域日新月异的发现也为“RNA World”假说提供了大量的实验支持证据, RNA 的功能多样性让人们更倾向于接受生命起源于 RNA 的假说。

1 多姿多彩的 RNA 世界

早在 20 世纪 40 年代, 一批生物化学家就细胞内 RNA 的含量进行测定实验表明, 为生长和分泌而旺盛进行蛋白质生物合成的细胞中 RNA 含量特别丰富, 意味着 RNA 可能参与蛋白质的生物合成。接下来的研究中, 从细胞匀浆超速离心的上清液中分离出可溶性的转移 RNA (tRNA), 用差速离心的方法将核糖体沉降继而从中分离出核糖体 RNA (rRNA), 至 1961 年用放射性同位素脉冲标记的方法, 从感染噬菌体或未感染的大肠杆菌细胞中分离出信使 RNA (mRNA)。实验表明, 这三类 RNA 共同控制着蛋白质的生物合成, 其中 mRNA 占细胞总 RNA 的 3%~5%, 作为信使携带 DNA 的遗传信息并起蛋白质合成的模板作用; tRNA 占细胞总 RNA 的 15%, 作为转换器携带氨基酸并起解码作用; rRNA 约占细胞总 RNA 的 80%, 作为装配者是核糖体蛋白质合成工厂的组成元件, 这是早期关于 RNA 基本生物学功能的认识。

进入 20 世纪 80 年代, RNA 的研究取得了突破性的进展, 尤其是“RNA World”假说的提出极大地推动了该领域的发展。“RNA World”假说的提出符合科学理论的一个发展规律, 即一个普遍性的

假设是建立在某一个现象的一些特殊案例基础之上的。尽管当时实验仅仅证实 RNA 能够切割或连接磷酸二酯键, 但“RNA World”的假说激励了一大批科学工作者, 并在 20 世纪 80 年代中后期及 90 年代形成了强大的研究热潮, 揭示了 RNA 各种各样的新功能, 使人们认识到 RNA 不仅仅是遗传信息从 DNA 到蛋白质的传递体, 它们在细胞的生化反应和机体的发育调控过程中都扮演着重要的角色, 与此同时发展出了一系列对分子生物学研究具有普遍意义的新概念和新方法。

1.1 RNA 功能多样性

自从“RNA World”假说提出后, 陆续的研究为该假说提供了大量的实验证据支持。首先是 RNA 病毒中的 RNA 是遗传信息的储存者和传递者的发现确认了 RNA 具有储存信息的功能。众所周知, 核糖体由 rRNA 和多种蛋白质组成, 过去一直认为核糖体蛋白质催化了肽键的形成, 而 rRNA 在核糖体中只是起着骨架和支撑作用。1992 年, Noller 等^[4]发现将蛋白质成分去除后剩余的 rRNA 组分具有一定的核酶活性, 能够催化肽键的形成, 揭示出在核糖体中真正发挥催化作用的是 RNA, 蛋白质则是起骨架及支撑作用的。

这些零散的关于 RNA 催化功能的证据仅局限于磷脂键的连接和断裂, 试管内进化系统 (SELEX) 的出现则极大地扩展了 RNA 发挥功能的范围。SELEX 在 1995 年被哈佛大学的 Szostak 开发并应用^[5], 这是一种大规模的筛选技术, 把随机化学合成的 DNA 转录为 RNA 后, 设置一个目标对这些 RNA 进行筛选, 筛选出的 RNA 分子再反转录为环状 DNA 分子, 并经多聚酶链式反应系统扩增 DNA, 通过这种途径的连续筛选即可筛选出具有特定功能的 RNA 分子, 如催化烷基化、氨基化的核酶 (表 1)。这一系统首先证明了 RNA 在环境压力下的快速进化能力, 极大

表 1 SELEX 系统筛选出的 RNA 新功能

SELEX 体外进化系统筛选出的 RNA 新功能
催化磷酸酯键断裂和连接
肽段转移酶
分子适体 (+ / - 催化功能)
催化烷基化、磷酸化、氨酰化
结合磷脂质
辅酶
催化自我加帽反应
催化 RNA 自身复制
催化嘧啶碱基的合成 ^[6]

地加速了RNA新功能的发现历程。尽管体外体内实验揭示了RNA的许多新功能,但这些功能在长期的进化过程中是否都保留下来还有待进一步的证实。

RNA新功能机理的研究表明,核酶的催化功能完全依赖于2'-位羟基,这就极大地限制了核酶催化功能的多样性及催化效率。通过扩展RNA的功能基团来扩展RNA的功能,在此设想下出现了与配体配位的分子适体(Aptamers)的概念。此外,通过对RNA的碱基修饰以及RNA与多肽相耦合的复合分子体系也可能扩展核酶的功能。因此,这方面的研究极大地丰富了RNA世界的功能多样性。

归纳起来, RNA的主要功能体现在以下两大方面。第一, 具有重要的催化功能, 这类RNA称为catalytic RNA(表2)。20世纪80年代初由Cech和Altman首先发现RNA具有催化功能, 随后陆续发现一些植物类病毒(Viroid)、拟病毒(Virusoid)等在复制过程中能够自我切割和环化。进一步深入的研究表明, 自然界存在多种核酶催化方式, 且它们通常与蛋白质结合形成核糖核蛋白复合体。第二, 虽不具有催化功能, 但对基因表达和细胞功能具有重要调节作用, 这类RNA称为non-catalytic RNA(表3)。如Phage 29 nucleocapsid RNA帮助噬菌体正确有效

装配^[7]。较早的研究发现RNA在个体发育中起着重要的调节作用, X染色体的沉默和维持由Xist RNA介导, 它是从失活的X染色体唯一表达的Xist基因的非编码RNA产生的^[8]。早期还发现miRNA通过结合mRNA的5'或3'非编码区来调控基因的表达。值得一提的是, 细胞应激反应涉及一系列细胞功能和基因表达的调节。细菌在冷热刺激、酸碱刺激、氧压力等诱导下生成一种稳定的小RNA, 它们通过阻遏或激活其他多种基因的表达以应对外界压力^[9,10]。Altman教授认为, 是某种共同的自然原因推动了真核和原核中非编码RNA的增殖, 那么细菌在压力选择下进化出的RNA相关功能是否能与真核生物的进化相等同, 究竟哪一方的原因才能被称之为自然选择压力? 关于RNA进化的研究还有待更深入的探索。在non-catalytic RNAs中, miRNA、siRNA、ncRNA可以归入调控RNA(regulator RNA), 它们在细胞功能中的活动吸引了研究者的广泛兴趣, 众多的研究成果也表明它们确实在细胞的生命活动中发挥着重要的生理作用, 但许多功能的机制还不是很清楚, 对它们的进一步研究将使RNA舞台大放异彩。

1.2 RNase P的研究进展

20世纪80年代初, Altman教授首先发现大肠杆菌RNase P的亚单位之一M1 RNA具有催化功能。RNase P酶的全部纯化是一项非常困难的工作, 在这一过程中Altman实验室注意到有一个RNA与蛋白质一起纯化出来, 接着他们采取了与Avery、Macleod和McCarty用来证明DNA是细菌性转换变异所必需成分同样的策略, 证明了这个RNA分子对酶的功能是必需的, 而蛋白质组分不具有催化功能, 只起着骨架支撑作用^[2]。

RNase P是tRNA加工过程中的5'端成熟酶, 由蛋白质和RNA分子共同组成, 具有核酸内切酶活性, 通过切割前体tRNA起始端的一个磷酸二酯键从而生成成熟的tRNA 5'端。Altman教授的研究结果显示, 在某些条件下(提高Mg²⁺浓度或加入多胺类物质), M1 RNA单独也能切断tRNA前体的5'序列^[2]。RNase P研究的一个饶有魅力的方面在于其亚基的化学组成、结构和酶的催化机理在真核和原核之间存在巨大差异。综合众多的研究结果可以发现, 从原核、古菌到真核生物中RNase P普遍存在, 都包含一条且仅此一条RNA链, 它们的二级结构虽然差异较大(图1), 但都被发现具有切割磷

表2 Catalytic RNA及其功能

催化作用的RNA	功能
核糖核酸酶 P 的RNA 亚基	核酸内切酶
I类和 II类内含子	自我剪接
植物类病毒和拟病毒	自我切割和连接
丁型肝炎病毒RNA 亚单位	自我切割和连接
真菌病毒RNA 亚单位	自我切割
核糖体RNA	翻译
剪接体RNA	剪接

表3 Non-catalytic RNA及其功能

不具催化功能的RNA	功能
信使RNA	翻译
转移RNA	翻译
转移信使RNA	翻译
RNA引物	DNA复制
噬菌体的装配RNA	噬菌体DNA包装
引导RNA	RNA编校
100~200种细菌RNAs	应激反应
X染色体沉默RNA	染色体沉默
非编码RNA	基因表达调控
微小RNA	发育调控、基因表达调控

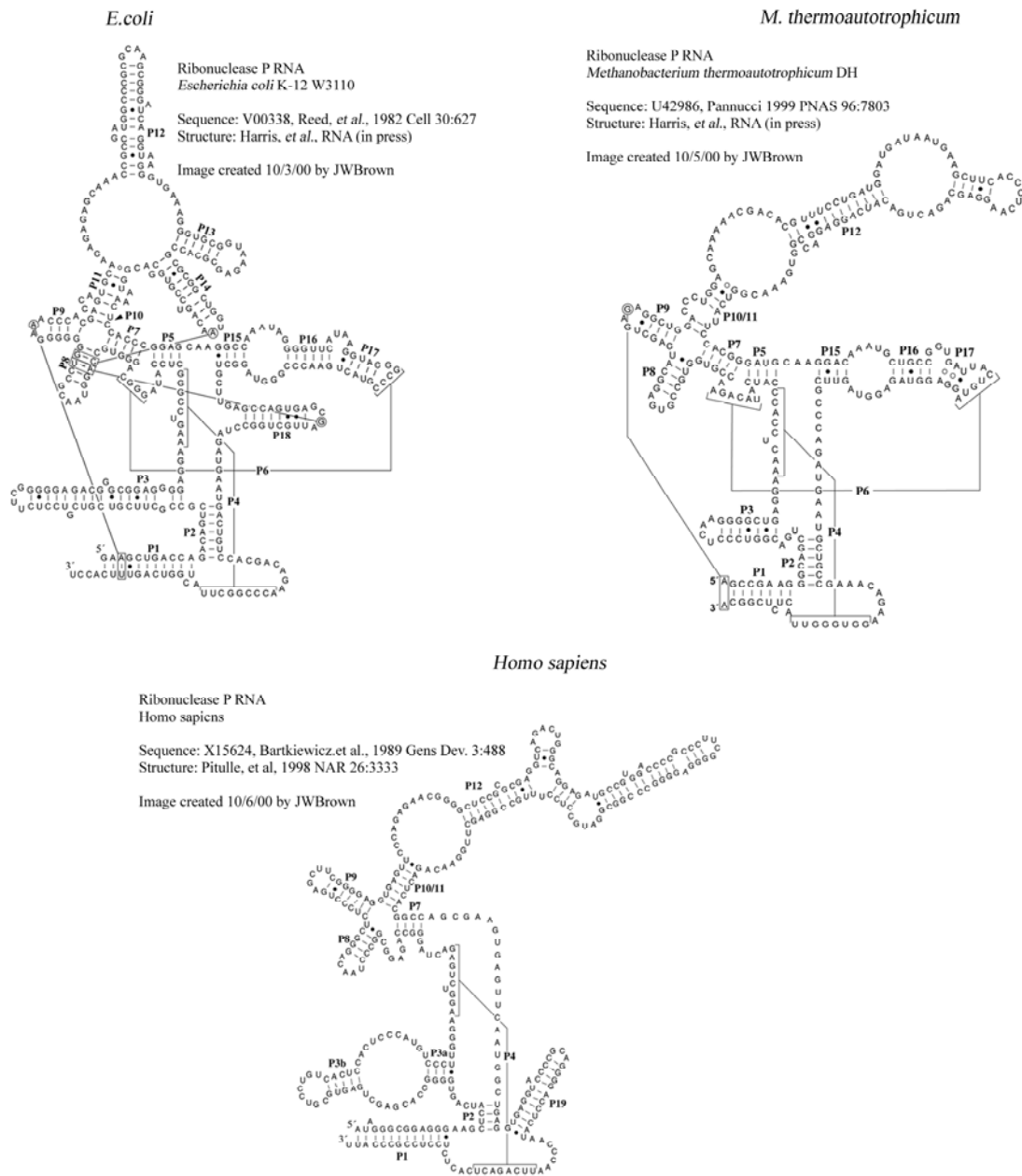


图1 RNase P 中RNA的二级结构

(更多RNase P RNA序列及结构可搜索Ribonuclease P database www.mbio.ncsu.edu/RNaseP/home.html)

酸酯键的功能，只是催化的速率依次降低，尤其是真核催化速率比原核要低5~6个数量级(图2)。而蛋白质亚基的数量则不一，原核只包含1条多肽链(C5 cofactor)，古菌中至少有4条多肽链，真核至少有10条^[11-13]。RNase P中的RNA功能在三界具有保守性，蛋白质亚基的数量却相去甚远，这些蛋白质分子在RNase P中究竟发挥着怎样的作用，在原核和真核细胞中的作用是不是一样，人们围绕着蛋白质亚基也开展了广泛的研究工作，结果表明，RNase P的蛋白质组分不仅起着骨架支撑作用，它对RNA

高级结构的稳定^[14]、前体 tRNA 的底物特异性、亲和性^[15, 16]以及维持核酶的催化活性中心^[17]都有重要的

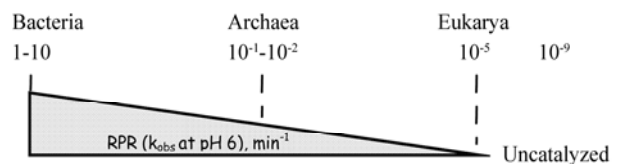


图2 RNase P的RNA组分的催化速率(k_{obs}: 表观催化速率)

作用,但这些特异性的功能还没有得到很好的阐述,都有待深入地研究。Reiner 等^[18]研究显示, RNase P 参与 RNA 聚合酶 III 的转录调控,这意味着 tRNA 的转录和早期加工是一个 RNase P 协调的过程。

2 RNA 应用于基因治疗的研究进展

过去 20 多年不断的新发现改变了人们对 RNA 的认识,它从人们眼中最初简单的、线性的、功能单一的分子形象逐渐演变成今天种类繁多、结构复杂、功能多样的大家族。RNA 在生命活动过程中发挥的广泛调节作用赋予了它新的应用研究价值和

广阔的应用前景。

1990 年,Forster 和 Altman^[19]首先报道了利用 *E. coli* RNase P 的 M1 RNA 核酶特性设计寡核苷酸序列来抑制靶基因表达的研究成果,他们将这段寡核苷酸序列称之为外部引导序列(external guide sequence, EGS)。EGSs 长约 25~60 个核苷酸,与靶 mRNA 维持约 12 个核苷酸的互补中心,以重现前体 tRNA 接受茎结构(图 3A 和 3B),为保证切割高效性,维持前体 tRNA 3' 及 5' 序列也是必要的,尤其是 3' 末端 CCA 序列^[21]。由于 RNA 核酶内切酶识别的是加工部位的空间结构,因此 EGSs 通过与靶

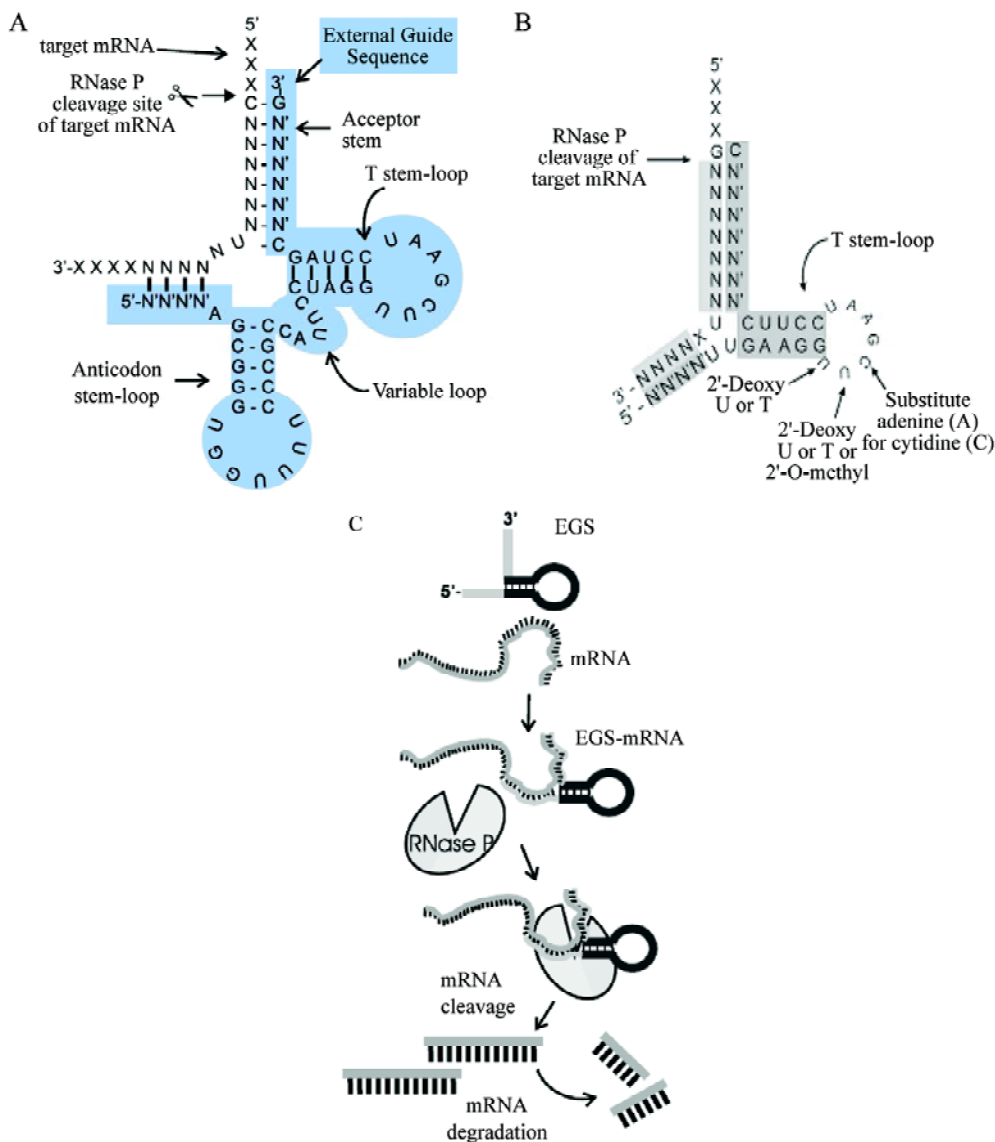


图 3 EGSs 靶向 mRNA 表达沉默的机制^[20]

A 以前体 tRNA 为结构基础设计的完整 EGSs, 浅蓝色背景显示;

B 精简后的 EGSs 只保留了前体 tRNA 的接受茎和 T 环结构, 其大小可缩减到 32 核苷酸, 且 T 环上核苷酸的核糖 2' 羟基经修饰后可以抵抗核酸酶的水解;

C EGS 靶向的 mRNA 降解机制

RNA 序列互补形成类似前体 tRNA 的结构, 从而可以招募内源 RNase P 在靶 RNA 序列上切割磷酸二酯键, 引起基因表达沉默(图 3C)。

以前体 tRNA 为结构模型, RNase P 催化机制为原理设计的 EGSs 吸引了许多 RNA 研究者的关注。人们围绕 EGSs 展开了遗传缺陷校正、致病基因表达沉默等基因表达调控方面的试验, 并得到一些成功的例子(表 4)。病原性细菌的耐药性一直是临床药物应用面临的一大难题, 而目前解决的主要策略是开发新的细菌敏感的药物以取代耐受性的药物, 这无疑是一项耗费又耗时的工程。但如果能够利用 EGSs 技术设计针对病原菌编码抗药性基因的 mRNA 的互补 EGS 序列, 抑制这些基因的表达, 从而消除病原菌耐药的特性达到治疗目的, 那这项工程量将大大缩减。事实上, Altman 等在 1997 年就开展了该项工作, 他们的研究表明 EGSs 在抑制基因表达上具有高效性, 通过提高 EGSs 与靶 mRNA 的比值还能增强细菌耐药性向药敏感性的转换^[22]。Altman 等最近的一项研究成果显示, 随机合成的 EGSs 对好几种细菌抗性基因(如 *gyrA* 和 *rnpA*) 的表达都有抑制作用, 因此可以用于广谱抗生素的开发^[23]。不同种属间编码相同功能的蛋白质其转录本 mRNA 序列存在一定差异, 而 EGSs 与靶 mRNA 之间要求高精度的序列配对, 利用这两点设计的 EGSs 将更具有针对性, 可以特异性抑制某一种属来源的基因表达而不影响到其他种属, 还可以在种属特异性的抗生素开发中发挥功效, 这方面的研究还在进一步的实验中。基于人类 RNase P 的 EGS 技术能在 mRNA 水平抑制病毒及肿瘤靶基因的

表达, 在抗肿瘤、抗病毒等基因治疗领域也呈现出广阔的应用前景^[24-26]。

RNA 在基因表达调控中的高特异性和强有力的发展势头叩开了它在分子生物学和药学领域的新天地。根据反义 RNA 原理设计的 MO^[27] (morpholino) 及其衍生物 PPMO^[28] (peptide-conjugated phosphorodiamidate morpholino oligomers) 是另一类具有开发价值的基因治疗药物。MO 是与靶 mRNA 序列互补的寡核苷酸片段, 通常结合靶 mRNA 的 5' 或 3' 非编码区, 干扰 mRNA 的翻译, 从而导致基因沉默。PPMO 与 MO 相比在寡核苷酸序列 5' 末端多了一段富含精氨酸的肽段, 该肽段通过一个二氨基磷酸基团连接子与 MO 共价结合, 不能被蛋白酶或核酸酶水解, 不仅在一定程度上解决了 MO 进入细胞及代谢过程中降解的问题, 还增加了 MO 与靶 RNA 间的亲和力, 提高了基因沉默效率。

RNAi 现象的发现推动了以 RNA 为核心的核酸合成化学在基础研究和临床应用中的发展。除此之外, 还有很多各式各样的寡核苷酸小分子化合物或其修饰形式^[29] 也被设计并在体外进行基因表达调控试验。

RNA 在基因表达调控过程中的应用遵守共同的 Watson-Crick 配对原则, 这也是所有小 RNA 分子设计的依据。它们在调控基因表达上机制的差异决定了各自应用的优劣和潜力^[30]。有研究专门比较了 EGS 和 siRNA 抑制基因表达的效率, 结果显示, EGSs 靶向的基因沉默在转染 24 h 后就有明显的表现, 而 siRNA 靶向的在 48~96 h 内才观察到相应的基因沉默^[31]。在所有小 RNA 分子中, EGS 作为基因治疗药物在基础研究和临床治疗等领域表现出了它的绝对优势: 首先, 内源性 RNase P 普遍存在于包括古菌在内的所有细胞体中, 且高表达; 其次, RNase P 切割具有极高的底物特异性, 不仅需要一级序列间的互补, 还需要高级结构的重构, 切割过程不可逆; 最后, 目前没有关于其细胞毒性的报道^[26]。但与其他基因治疗药物一样, EGSs 在临床应用中存在着靶向运输、稳定性等问题, 此外, EGSs 招募 RNase P 的能力及其切割效率也是临床应用中应该考虑的问题。靶向运输是制约像 EGSs、siRNA 等基因治疗药物开发的瓶颈问题, 一直都没有突破性的进展。在稳定性方面则取得了较大的进步, 对 RNA 中的核糖 2'-羟基进行修饰或是将 EGSs 序列偶联到 PPMO, 从而避免细胞内核酸内切酶的降

表4 EGSs技术在不同物种中的应用

物种类型	EGS 指向靶标	抑制效率
鼠科、犬科	RNA 聚合酶	≤ 85%
流感病毒	核衣壳	≤ 85%
	RNA 聚合酶和核衣壳	≥ 95%
人	RNase P 蛋白质亚单位	~60%~80%
	核纤层蛋白 A/C	~60%~80%
疱疹病毒	胸苷激酶	≤ 85%
C 型流感病毒	蛋白酶	> 80%
	NMDA 受体	> 60%
大肠杆菌	β-半乳糖苷酶	≤ 60%
	碱性磷酸酶	≤ 60%
	RNase P 蛋白质亚单位	> 60%
	促旋酶	> 60%
	噬菌体 mRNA	~70%

解,一定程度上提高小分子 RNA 的稳定性^[29]。为了解决 EGSs 应用过程中切割效率的难题,人们想到将 M1 RNA 通过共价结合绑定在 EGS 序列的 5' 末端,以增强底物与核酶之间的分子碰撞几率,达到高效切割,这就是 M1GS RNA^[32]。但 M1GS RNA 要应用到临床必须解决一个巧妇难为无米之炊的难题,即与 M1 RNA 协同发挥作用的 C5 cofactor 在人的细胞中不存在,如何让 M1GS RNA 在人类疾病治疗中大显身手是目前一些研究者的关注点,让我们拭目以待。

现在很多临床应用的药物往往只能专一性针对某一种疾病,种种研究迹象表明,以 RNA 为基础开发的基因治疗药物将具有广泛的作用性,可以应用于许多类型的疾病,这似乎也符合 Altman 教授最初提出 EGSs 概念的初衷。

生命从低级走向高级的过程中,组成生命的分子元件也在随之进化。有的失去了原来的功能,有的获得了新的功能,有的在进化中丢失,有的在进化中发生扩增,这些复杂的演变形成了今天多姿多彩的 RNA 世界。这是一群个性飞扬的活动者,它们穿着由相同原料制成的服装,却有着不一样的造型;它们分布在生命世界的每一个角落,从细菌到哺乳动物,从胞浆到细胞核;它们是生命世界的小小警察,协助着遗传信息的准确传递,指挥着生命活动有条不紊地进行,调控着生命发育过程,这些多样性的功能赋予 RNA 在生命世界占据重要的地位。任何理论的研究只有与实践相结合才能实现它的价值, RNA 在常规基因治疗药物开发中的作用不可限量,从理论上讲,具细胞生物学调节功能的 RNA,如 miRNA、ncRNA 都有作为药物设计和治疗工具应用于临床的潜力,但这些要真正转化成临床上实际应用的治疗手段,还需要对它们作用的机制进行更清晰的解释,人类在 RNA 研究之路上还要不断开拓前进。

[参考文献]

- [1] Cech TR, Zaugg AJ, Grabowski PJ. *In vitro* splicing of the ribosomal RNA precursor of *Tetrahymena*: involvement of a guanosine nucleotide in the excision of the intervening sequence. *Cell*, 1981, 27: 487-96
- [2] Guerrier-Takada C, Altman S. Catalytic activity of an RNA molecule prepared by transcription *in vitro*. *Science*, 1984, 223: 285-6
- [3] Gilbert W. Origin of life: the RNA world. *Nature*, 1986, 319: 618
- [4] Noller HF, Hoffarth V, Zimniak L. Unusual resistance of peptidyltransferaseto protein extraction procedures. *Science*, 1992, 256: 1416-9
- [5] Wilson C, Szostak JW. *In vitro* evolution of a self-alkylating ribozyme. *Nature*, 1995, 374: 777-82
- [6] Unrau PJ, Bartel DP. RNA-catalysed nucleotide synthesis. *Nature*, 1998, 395: 223-5
- [7] Lee CS, Guo P. *In vitro* assembly of infectious virions of double-stranded DNA phage phi 29 from cloned gene products and synthetic nucleic acids. *J Virol*, 1995, 69: 5018-23
- [8] Plath K, Mlynarczyk-Evans S, Nusinow DA, et al. Xist RNA and the mechanism of X chromosome. *Ann Rev Genet*, 2002, 36: 233-78
- [9] Dimple B. Regulation of bacterial oxidative stress genes. *Ann Rev Genet*, 1991, 25: 315-37
- [10] Wassarman KM. Small RNAs in bacteria. *Cell*, 2002, 109: 141-4
- [11] Guerrier-Takada C, Gardiner K, Marsh T, et al. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell*, 1983, 35: 849-57
- [12] Pannucci JA, Haas ES, Hall TA, et al. RNase P RNAs from some Archaea are catalytically active. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 7803-8
- [13] Kikovska E, Svěd SG, Kirsebom LA. Eukaryotic RNase P RNA mediates cleavage in the absence of protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 2062-7
- [14] Hsieh J, Andrews AJ, Fierke CA. Roles of protein subunits in RNA-protein complexes: lessons from ribonuclease P. *Biopolymers*, 2004, 73: 79-89
- [15] Niranjankumari S, Stams T, Crary SM, et al. Protein component of the ribozyme ribonuclease P alters substrate recognition by directly contacting precursor tRNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 15212-7
- [16] Kurz JC, Niranjankumari S, Fierke CA. Protein component of *Bacillus subtilis* RNase P specifically enhances the affinity for precursor-tRNA^{asp}. *Biochemistry*, 1998, 37: 2393-400
- [17] Leontis NB, Westhof E. Analysis of RNA motifs. *Curr Opin Struct Biol*, 2003, 13: 300-8
- [18] Reiner R, Ben-Asouli Y, Krilovetzky I, et al. A role for the catalytic ribonucleoprotein RNase P in RNA polymerase III transcription. *Genes Dev*, 2006, 20: 1621-35
- [19] Forster AC, Altman S. External guide sequences for an RNA enzyme. *Science*, 1990, 249: 783-6
- [20] Dreyfus DH, Tompkins SM, Fuleihan R, et al. Gene silencing in the therapy of influenza and other respiratory diseases: targeting to RNase P by use of external guide sequences (EGS). *Biologics*, 2007, 1: 425-32
- [21] Guerrier-Takada C, McClain WH, Altman S. Cleavage of tRNA precursors by the RNA subunit of *E. coli* ribonuclease P is influenced by 3' proximal CCA in the substrates. *Cell*, 1984, 38: 219-24
- [22] Guerrier-Takada C, Salavati R, Altman S. Phenotypic conversion of drug-resistant bacteria to drug sensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 8468-72
- [23] Shen N, Ko Jae-hyeong, Xiao GP, et al. Inactivation of expression of several genes in a variety of bacterial species by EGS technology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 8163-

- 8
- [24] Plehn-Dujowich D, Altman S. Effective inhibition of influenza virus production in cultured cells by external guide sequences and ribonuclease P. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 7327-32
- [25] Yukita M, Kitano M, Miyano-Kurosaki N, et al. RNA cleavage by a mammalian tRNA 3' processing endoribonuclease (3' tRNase) reduces HIV-1 expression. *Nucleic Acids Res Supp*, 2002, 2: 297-8
- [26] Kim K, Liu F. Inhibition of gene expression in human cells using RNase P derived ribozymes and external guide sequences. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1769: 603-12
- [27] Heasman J. Morpholino oligos: making sense of antisense? *Dev Biol*, 2002, 243: 209-14
- [28] Nelson MH, Stein DA, Kroeker AD, et al. Arginine-rich peptide conjugation to morpholino oligomers: effects on antisense activity and specificity. *Bioconjugate Chem*, 2005, 16: 959-66
- [29] Verma S, Eckstein F. Modified oligonucleotides: synthesis and strategy for users. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 99-134
- [30] Scherer LJ, Rossi JJ. Approaches for the sequence-specific knockdown of mRNA. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 1457-65
- [31] Zhang HF, Altman S. Inhibition of the expression of the human RNase P protein subunits Rpp21, Rpp25, Rpp29 by external guide sequences (EGSs) and siRNA. *J Mol Biol*, 2004, 342: 1077-83
- [32] Liu F, Altman S. Inhibition of viral gene expression by the catalytic RNA subunit of RNase P from *Escherichia coli*. *Genes Dev*, 1995, 9: 471-80
- (中国科学院上海生物化学和细胞生物学研究所
胡庆华 编译)

· 简讯 ·

2010 生命系统建模与仿真国际会议和 2010 可持续能源与环境中的智能计算国际会议通知

2010 生命系统建模与仿真国际会议 (LSMS 2010) 和 2010 可持续能源与环境中的智能计算国际会议 (ICSEE 2010) 将于 2010 年 9 月 17~20 日在中国无锡举行。LSMS-ICSEE 2010 是面向全世界生命系统建模与仿真、可持续能源与环境智能计算理论、方法和应用等相关研究领域科技人员和学者的国际学术会议。会议将以大会主题发言、分组讨论、专题研讨以及展板等多种形式来促进研究团体和学者之间的学术交流。会议论文将在 Springer 的 *Lecture Notes in Computer Science* 和 *Lecture Notes in Bioinformatics* 上出版 (EI 和 ISTP 收录), 同时, 部分高质量论文将被推荐到 SCI 期刊发表。

投稿、注册、版面等信息请浏览会议网站 <http://www.LSMS-ICSEE-2010.org>