

靶向 RNA 碱基编辑：技术演进、治疗应用及未来方向

关志宏 王刚 (通讯作者)

广州大学生命科学学院精准基因编辑工程中心，广东广州，510006；

摘要：RNA 碱基编辑技术作为校正疾病相关点突变的革命性工具，通过靶向系统引导效应蛋白实现 RNA 碱基的精准修饰，近年在效率与特异性上取得突破性进展。本文系统阐述 RNA 编辑系统的核心组成模块，重点综述尿苷到假尿苷 ($U \rightarrow \Psi$)、腺苷到 N6-甲基腺苷 ($A \rightarrow m6A$) 及 N6-甲基腺苷到腺苷 ($m6A \rightarrow A$) 编辑器的作用机制与研究进展，简要介绍递送策略，结合现状分析技术瓶颈并展望未来方向，为其临床转化提供参考。

关键词：RNA 编辑；点突变；碱基修饰；靶向治疗；表观转录组

DOI：10.69979/3029-2808.26.02.060

引言

2012 年 Cas9 技术问世后，DNA 编辑技术广泛应用于基因组改造，其中 DNA 碱基编辑器以单碱基分辨率修饰能力，为修复占致病性突变 58% 的点突变提供新可能。但其通过脱氨酶与 Cas9 协同实现碱基转换，基因组永久性改变易引发脱靶突变与伦理争议，严重限制临床应用。

RNA 碱基编辑是后生动物天然分子机制，核心功能之一为修饰内源性 RNA 以逃避免疫监视。与 DNA 编辑相比，其依托 RNA 天然降解机制，编辑效应具有可逆性与剂量可控性，可自然消除错误修饰，规避永久性基因改变的安全风险；相较于 siRNA 等传统 RNA 疗法依赖转录本敲低、适用表型有限的缺陷，RNA 碱基编辑通过单核苷酸精准修饰，为单基因遗传病及复杂疾病治疗开辟新路径。

RNA 碱基编辑器核心架构含 RNA 靶向系统与效应蛋白：靶向系统负责精准定位编辑位点，功能缺失易导致脱靶；效应蛋白多为 RNA 修饰酶，催化特定碱基转换。本文梳理核心组件，重点介绍 $A \rightarrow I$ 、 $C \rightarrow U$ 、 $U \rightarrow \Psi$ 及 $A \rightarrow m6A/m6A \rightarrow A$ 等可编程编辑器的机制与进展，探讨递送策略及临床应用前景。

1 $U \rightarrow \Psi$ RNA 碱基编辑器：抑制无义突变的新型治疗工具

假尿苷 (Ψ) 是最广泛的 RNA 修饰类型，分布于 rRNA、tRNA、snRNA 及 mRNA 中，被誉为表观转录组调控的“第五核苷酸”。其生物合成分两类途径：RNA 依赖性途径由 H/ACA 盒 snoRNA 引导，介导非编码 RNA 位点特异性假尿苷化；RNA 非依赖性途径由修饰酶直接识别

tRNA 的 TΨC 环等基序，无需引导 RNA 即可催化生成。假尿苷修饰在物种间高度保守，与癌症、线粒体疾病及免疫调控密切相关，其维持 RNA 结构稳定与调控免疫反应的双重作用，凸显其在细胞稳态与疾病发展中的重要性。

角蛋白假尿苷合酶 1 (DKC1) 是 $U \rightarrow \Psi$ 编辑的关键效应蛋白，人类细胞中已鉴定出两种活性亚型 (DKC1-亚型 1 和 3)，差异源于选择性剪接。DKC1-亚型 1 含双端核定位信号 (NLS)，主要定位于核仁；亚型 3 缺失 C 端 NLS，同时分布于细胞质，亚细胞定位差异为其修饰不同 RNA 分子提供结构基础。

单核苷酸点突变引发的疾病中，20% 为无义突变，其通过引入终止密码子 (PTC) 使 mRNA 经无义介导的衰变 (NMD) 途径降解，导致功能蛋白合成受阻。Yitao Yu 等早期研究证实，RNA 引导的 PTC 位点 $U \rightarrow \Psi$ 编辑可抑制 NMD 激活，促进核糖体通读，在酵母细胞中实现全长功能蛋白表达，表明假尿苷化可使 PTC 丧失终止功能^[1]。

基于此，Chenqi Yi 等人开发 RESTART 系统，利用 H/ACA 盒 snoRNP 机制实现 $U \rightarrow \Psi$ 精准编辑。通过改造 snoRNA 发夹结构构建靶向 PTC 的引导 snoRNA (gsnoRNA)，筛选优化获得 RESTARTv1，展现 PTC 通读活性；后续发现 DKC1-亚型 3 过表达可提升效率，进而开发 RESTARTv2，在多细胞系、原代细胞中实现位点特异性假尿苷化，脱靶率极低。2024 年，该团队通过引入近同源 tRNA 优化获得 RESTARTv3，编辑效率提升 5 倍，在囊性纤维化和 Hurler 综合征细胞模型中成功实现 PTC 通读与功能蛋白恢复^[2]。

Yitao Yu 等人则采用另一策略，将 gRNA 基因插入 β -珠蛋白基因内含子，在 CFTR 和 IDUA 疾病模型中实

现持久 U→Ψ 编辑、无义抑制及功能蛋白恢复,证实人工 gRNA 内含子的有效性^[3]。U→Ψ 编辑器不改变 RNA 序列,通过 PTC 通读调控遗传密码解读,既为单个Ψ修饰功能研究提供工具,也为无义突变疾病治疗开辟新路径。

2 A-to-m6A 和 m6A-to-A 碱基编辑器: 表观转录组的精准调控工具

N6-甲基腺嘌呤 (m6A) 是真核 mRNA 最常见的内部修饰,由 METTL3-METTL14 复合物催化生成,可被 FTO 或 ALKBH5 去甲基化酶逆转,属于动态可逆表观遗传修饰^[4]。m6A 参与 mRNA 剪接、翻译调控、稳定性维持及二级结构重塑,但长期受限于特异性编辑工具,其生物学功能研究难以深入。A-to-m6A 和 m6A-to-A 编辑器的开发,不仅为解析特定 m6A 位点功能提供工具,也为表观转录组调控治疗奠定基础。

A→m6A 编辑核心为 METTL3-METTL14 异二聚体 (18 4kDa),其中 METTL3 负责将 SAM 的甲基转移至 RNA 基序 Pu(G>A)m6AC(A/C/U) 中的腺嘌呤, METTL14 则负责结合底物 RNA 并维持复合物稳定。ALKBH5 作为 Fe(II)/α-酮戊二酸依赖性双加氧酶,可催化 m6A 去甲基化 (m6A →A),是该方向的关键效应蛋白。当前两类编辑器均基于 CRISPR 系统的 RNA 靶向特性,通过效应蛋白与 Cas 蛋白融合,实现 sgRNA 引导的位点特异性编辑。

2019 年,钱淑冰等人首次报道可编程 A-to-m6A 和 m6A-to-A 编辑器: dCas9 与 METTL3-METTL14 融合可实现 RNA UTR 区域特异性 m6A 修饰; dCas9 与 FTO/ALKBH5 融合则可精准去甲基化。研究证实,5' UTR 单个 m6A 位点可启动非经典翻译,3' UTR 甲基化调控 mRNA 降解,为基因表达调控提供新手段。David R. Liu 等人通过 dCas13 与 m6A 修饰酶偶联开发 TRM 系统,可在细胞质和细胞核内源性转录本上定点安装 m6A,拓展了应用范围。

m6A 去甲基化工具方面,基于 SunTag 信号放大系统开发的 TRADES 系统,通过 dCas13b 与 SunTag 组合招募多个去甲基化酶,实现高效位点特异性去甲基化,且脱靶率极低,更适合靶向难区分的 m6A 位点^[5,6]。Hongshe ng Wang 等人开发的 dm6ACRISPR 系统,通过 dPspCas13 b 与 ALKBH5 融合,实现 mRNA 特异性 m6A 去甲基化^[7]; Nan Cao 等人的 TRME 系统则成功实现人胚胎干细胞中 m6A-to-A 编辑,为干细胞命运调控提供新工具^[8]。

近期,光遗传学控制的 CRISPR-dCas13 系统实现 m6A 编辑的精确可逆调控。该系统基于红/远红光诱导的

异二聚化蛋白对,集成 dCas13 和 sgRNA 支架,红光可募集 METTL3 提升 m6A 水平,远红光可募集 FTO 去除 m6 A,可实现多周期 m6A 生成/擦除循环,脱靶效应极低,模块化设计可适配其他 RNA 修饰,兼具科研与治疗价值^[9]。

A-to-m6A/m6A-to-A 编辑器通过表观转录组修饰调控基因表达,不直接改变遗传密码,可精细编辑 m6A 位点,为解析其分子机制与病理意义提供可能,展现出显著治疗潜力与安全优势。

3 RNA 碱基编辑的挑战与展望

RNA 碱基编辑技术为功能基因组学研究、疾病治疗及合成生物学发展提供变革性工具,应用前景广阔,但当前仍面临诸多技术挑战,需多维度创新突破。

3.1 主要挑战

现有编辑器尚未实现经典碱基与修饰碱基的全谱系转换,性能差异显著: U→Ψ 和 A-to-m6A/m6A-to-A 编辑器脱靶率低,但编辑效率普遍偏低,限制临床应用。递送系统优化是临床转化的关键瓶颈,当前主要通过开发紧凑 Cas 蛋白变体减少封装限制,或在 LNP、腺相关病毒载体中掺入组织特异性配体以提升靶向性。此外, RNA 编辑的瞬时性虽具安全优势,但慢性病长期治疗可能引发累积风险与脱靶放大,需通过严格临床前评估验证安全性。

3.2 未来展望

未来 RNA 碱基编辑领域将聚焦多维创新,推动技术升级与临床转化:一是计算设计集成,利用深度学习预测 RNA 二级结构,优化 gRNA 特异性,降低脱靶风险并提升效率;二是酶工程突破,通过结构引导的蛋白进化改造,增强 RNA 识别灵活性与催化效率,拓展可编辑位点范围;三是时空控制系统,开发化学诱导或光控编辑器,实现亚细胞精度的剂量可滴定编辑,满足疾病治疗的时空特异性需求;四是表观转录组网络整合,通过系统级分析阐明 RNA 编辑与其他修饰的串扰机制,构建调控网络以挖掘治疗靶点。

随着多样化编辑器的持续开发,其基础研究与临床应用价值将显著提升。催化效率与靶向特异性的优化,有望使 RNA 编辑技术成为 CRISPR-Cas9 的有力替代方案,为人类疾病精准治疗带来新革命。

参考文献

- [1]Karijolich J, Yu Y T. Converting nonsense codons into sense codons by targeted pseudouridylation[J]. *Nature*, 2011, 474(7351): 395–398.
- [2]Luo N, Huang Q, Dong L, et al. Near-cognate tRNAs increase the efficiency and precision of pseudouridine-mediated readthrough of premature termination codons[J]. *Nature Biotechnology*, 2025, 43(1): 114–123.
- [3]Adachi H, Pan Y, He X, et al. Targeted pseudouridylation: an approach for suppressing nonsense mutations in disease genes[J]. *Molecular cell*, 2023, 83(4): 637–651. e9.
- [4]Zhao L Y, Song J, Liu Y, et al. Map** the epigenetic modifications of DNA and RNA[J]. *Protein & cell*, 2020, 11(11): 792–808.
- [5]Morita S, Noguchi H, Horii T, et al. Targeted DNA demethylation in vivo using dCas9-peptide repeat and scFv-TET1 catalytic domain fusions[J]. *Nature biotechnology*, 2016, 34(10): 1060–1065.
- [6]Tanenbaum M E, Gilbert L A, Qi L S, et al. A protein-tagging system for signal amplification in gene expression and fluorescence imaging[J]. *Cell*, 2014, 159(3): 635–646.
- [7]Li J, Chen Z, Chen F, et al. Targeted mRNA demethylation using an engineered dCas13b-ALKBH5 fusion protein[J]. *Nucleic acids research*, 2020, 48(10): 5684–5694.
- [8]Chen X, Zhao Q, Zhao Y L, et al. Targeted RNA N6-methyladenosine demethylation controls cell fate transition in human pluripotent stem cells[J]. *Advanced Science*, 2021, 8(11): 2003902.
- [9]Tang H, Han S, Jie Y, et al. Enhanced or reversible RNA N6-methyladenosine editing by red/far-red light induction[J]. *Nucleic Acids Research*, 2025, 53(5): gkaf181.

作者简介：关志宏(1999)，性别男，汉族，广东广州，研究生，研究方向基因编辑，学校：广州大学。

王刚(1983)，汉族，籍贯陕西洛川，学位博士研究生，职称讲师，研究方向基因编辑。

基金项目：国家自然科学基金项目(82271909)