

## 赋予亨廷顿病一只“手”？两个研究团队报道了锌指结构药物在细胞和老鼠实验中的成功。

在亨廷顿病的细胞和小鼠模型中应用锌指药物，成功的降低的有害蛋白的产生



Professor Ed Wild撰写

2012年11月25日

Dr Jeff Carroll编辑

Jianfang Chen译制

最早发布于2012年11月01日

**H**D治疗中非常有前景的一种治疗措施是，设计一种能告诉细胞减少有害的突变亨廷顿蛋白生成的药物。迄今，大多数致力于降低亨廷顿蛋白生成的研究主要集中在信使RNA，而不是信使RNA的来源——DNA。现在，两个独立的研究小组在HD小鼠实验中获得成功，推动了直接作用于HD基因的“锌指”药物的发展。如今，处于这项技术的早期，试问：我们了解了什么？我们又将面临哪些挑战？

由Shang Hui Fang和Yang Liang翻译。

锌指结构到底是什么？



*锌指可以与我们希望的任何DNA序列结合。尽管它们并不像机器人的手。*

锌是一种有光泽的金属，可见于银币、电池和白色颜料。但锌在人体有一个有趣的用途—研究者希望能用它治疗HD。事实证明，锌对人体是非常重要的，它可以使细胞调控我们DNA中不同基因的活性水平。

我们的基因就是一组由化学"字母"A, C, G, T组成的指令集（或碱基序列）。每一个基因有不同的碱基序列，细胞基于每个基因特定的碱基序列而利用含锌蛋白帮助调控单个基因。

当 $Zn^{2+}$ 与基因调控蛋白结合时，就形成了"锌指蛋白"-之所以这样命名，是因为锌指蛋白可以插入两条DNA链之间紧密的大沟里并接触到DNA序列。

一个"锌指"结构可以结合任意三个碱基，这取决于锌指蛋白中锌和蛋白的位置排列及组成。因此，有些"锌指"蛋白可以与碱基序列"ATG"结合，而有些与"CAG"结合。

令人兴奋的是单个的"锌指"结构可以结合起来。如果将两个"锌指"结构结合起来，我们将得到一个能够结合6个碱基"ATG-CAG"的分子。

## 设计师

经过数十年的解码和了解DNA和基因的运作方式，如今科学家可以设计并合成能够结合任何DNA序列的锌指结构。

另外，这些合成的锌指结构分子可以与其他药物整合，以产生多用途的DNA结合工具，可以用于粘附、剪切、拼接、阻断。

因为亨廷顿病是由于一个单个错误基因导致，所以它是一个不错的选择用于锌指结构药物研究。

亨廷顿病发生于一个人出现产生亨廷顿蛋白的基因拼写错误。当一个人在亨廷顿基因起始处有过多的CAGs重复序列时就将产生有害突变形式的蛋白。

## 在源头上阻碍亨廷顿基因

两个研究小组—一组是来自西班牙 巴塞罗那的学术团体，另一组来自于加利福利亚洲的生物技术公司（Sangamo），宣布了应用"锌指"结构药物作用于HD基因的成功实验。

西班牙小组将其结果发表于PNAS杂志，Sangamo公司在近期于新奥尔良召开的神经科学协会会议上报告了其研究结果，HDBuzz也参加了此次会议。

两个研究小组都设计了粘附于huntingtin基因"CAG重复序列带"的锌指结构分子，从而让细胞不要阅读该突变的huntingtin基因。

锌指结构的选择，是基于其能与尽可能多的有害CAG长重复序列重叠，而不与正常长度的CAG重复序列重叠。西班牙小组将此称为"分子卷尺测量"方法。

经过稍微的化学修饰，两个小组在培养皿的细胞中测试了他们最佳候选锌指结构。

“一旦锌指瞄准了一段DNA序列，很多令人兴奋的事情在理论上变为了可能。”

## 载入病毒

不幸的是，科学家不能仅仅设计和合成一个锌指结构的药物并将其注射入一个细胞，或者粘附于一个药丸。作为蛋白质，锌指蛋白药物大、复杂且易损坏。若以片剂口服，该药物可被消化系统降解。

若注射入血，该药物不能到达大脑，更不要说到达我们的神经元的细胞核以发挥其作用。

为解决这个问题，研究者可以用病毒作为载体将其载入细胞核。

选定需要的锌指蛋白后，设计出细胞产生该种特定蛋白的DNA序列是相当简单直接的。这个DNA序列可以整合入腺相关病毒（AVV）而转载入细胞，AVV是一种无害的且擅长感染细胞的一种病毒。

当该病毒遇到合适的细胞后，就将其携带的DNA注入细胞内，将该细胞转化为可以产生锌指蛋白的工厂！

### 细胞实验

西班牙小组在数种不同类型的基因工程细胞以及HD患者的皮肤培养细胞中，筛选出了锌指结构。Sangamo研究小组也用了HD患者的细胞和来自HD模型小鼠的脑细胞。

两个研究小组发现的锌指蛋白药物都降低了含有长CAG重复序列的基因的活性。

### 脱靶效应

我们可能面临一个困难。亨廷顿基因不是唯一一个含有长CAG重复序列的基因，所以作用于CAG重复序列带的药物也将关闭其它含有长CAG重复序列的基因，这样将会弊大于利。

亨廷顿基因的一个特点将有助于避免这些“脱靶效应”。亨廷顿基因上的CAG重复序列与该基因上的转录起点非常靠近，所以锌指蛋白在此位点的作用将会是最强的。

两组研究都采取了措施来观察其他基因是否也受到了锌指结构药物的影响，得到的结果是令人放心的。相比于对于突变的亨廷顿基因产生的理想效应，其它任何效应都是较小的。

### 引入小鼠

西班牙小组将研究深入，在HD小鼠模型中测试了其最佳候选的锌指结构。

他们将装载有锌指结构DNA序列的腺病毒颗粒，一次性注射入小鼠大脑。



锌指和传统的瞄准RNA的基因沉默之间的不同。锌指通过与DNA结合而阻止RNA。而沉默技术，比如RNA干扰或者反义寡核苷酸技术，通过与RNA结合而防止蛋白合成。

在靠近注射部位的大脑内，突变的亨廷顿基因活性降低了大约50%。突变的亨廷顿蛋白也减少了约40%。没有出现如体重下降这些副作用，但该研究太小，不足以发现该锌指结构是否能改善临床症状。

这是否是一种基因沉默呢？

如果您阅读锌指结构技术到这里，使您想起了基因沉默或其它"减少亨廷顿蛋白"方法以治疗HD，给自己一个"金星"。这些研究小组所做的基本上是"基因沉寂"，只不过他们直接作用于DNA，而不是信使分子（即RNA）。

至今，大多数致力于降低亨廷顿基因产物的努力集中在RNA信使分子，因为设计RNA靶向的药物比设计DNA靶向的药物更容易。RNA以单链的形式漂浮在细胞内，然而DNA是隐藏在细胞核内的。而且，RNA沉默的药物已出现较长时间了，而且有些不需要装载于病毒颗粒内。

基于RNA的基因沉默药物至今是成功的，为什么要去挑战作用于亨廷顿基因的DNA沉默药物呢？特别是还要面临病毒颗粒、蛋白结构的药物大且易被破坏的问题。这确实是一个合理的问题，这里主要有三个解释。

首先，我们需了解HD疾病的根源。我们都知道HD患者得病的最终原因是亨廷顿基因突变。锌指结构作用于DNA意味着是针对已知的病因。然而针对RNA则是去除了产生突变蛋白中的一个步骤。锌指蛋白的支持者认为，克服开发DNA靶向药物中遇到的困难是值得尝试的，因为最终获得的结果可能更安全、更有效。

第二个回答是关于RNA。传统上，生物学家假定RNA是不会直接产生有害或有益的作用—RNA仅仅携带着信息和被细胞工厂解读。然而我们知道，RNA的作用不止这些，有数种遗传病就是由于RNA直接对细胞的有毒害作用所致，而不是简单的携带有害信息。

每一个人都赞同突变的亨廷顿蛋白是HD的主要致病原因，然而，一些研究者认为亨廷顿RNA可能是另一种危害来源，虽然也有些人不赞同此观点。但是，如果RNA是有害的，那么相对于生成后再除去它，防止其产生可能更为理想。

最后一个原因是关于沉默以外的。锌指结构的意义比单纯地降低基因活性的意义更大。一旦一个锌指结构可以针对某特定DNA序列，那么将有许多令人兴奋的事在理论上是可能的。

试想许多年后，锌指结构可以指导分子剪断和拼接突变的HD基因，从而删去不需要的CAG重复序列，那将是可能的。这就是基因组编辑，也是Sangamo和其它研究小组感兴趣的。

优点和缺点

大多数HD研究者认为锌指结构作为治疗HD的一种方法是"pretty cool(相当好)"的。我们倾向于同意。从DNA水平与HD作斗争，绝对是我们应该努力的，我们很高兴这样的研究进展在短时间内被两个研究小组报道。

需注意的是，这些技术尚在药物研发的早期阶段，需较长时间达到成熟，像基因组编辑类的技术可能需要数十载才能成熟到用于HD患者。

与此同时，HD的研究者仍应高兴于全世界致力于通过RNA降低hungtingtin水平而做出的不断努力。这些技术不断在深入，不久应进入临床试验。

---

这篇文章的作者Carroll博士，之前承担了以RNA为靶子的亨廷顿基因沉默的研究，并且被命名了一项专利。这篇文章并没有包括他的研究内容和他的著作。他编辑这篇文章时秉承了科学的严谨性，并没有改变其内容和平衡。 想了解更多关于本站公开制度的信息，请看常见问题解答。

---

---

HDBuzz2011-2021. HDBuzz内容在创作共享许可证下免费共享。

HDBuzz不提供医疗建议。 了解更多请访问[hdbuzz.net](http://hdbuzz.net)

于2021年4月02日打印 — 从<https://zh.hdbuzz.net/103>下载

此文还没有被翻译，它是以原文发表的语言刊登的，我们正在尽快翻译所有内容。