

· 综 述 ·

# 基于原子力显微镜的单分子探测技术及其在医学研究中的应用\*

陈建敏, 杨 拯, 何彦芳 综述, 张 晓<sup>△</sup> 审校

(成都医学院基础医学院基础医学实验教学中心, 四川成都 610083)

关键词: 原子力显微镜; 单分子识别; 探针功能化; 力谱

中图分类号: R329.25

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)14-1911-04

随着生命科学和医学研究进入后基因组时代,越来越多的研究人员开始关注如何直接探测生物分子的结构和功能。基因组和蛋白质组的研究方法为科研工作者提供了有关蛋白质序列、表达方式和相互作用的大量数据。尽管这些信息很重要,但它们不足以使科研工作者了解复杂的生命过程。要阐明生命过程,包括各种病理过程的分子机制,还需要了解细胞中各种生物分子的时空分布、结构和相互作用的动态过程等问题。

如何探测生物分子在生理条件下的活动规律呢? 原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)为这一领域开辟了广阔的前景。1986年 Binning 及其合作者在扫描隧道显微镜(scanning tunneling microscope, STM)的基础上发明了 AFM,其卓越的高分辨率(0.5~1 nm)和能保持样品生理状态的制样方法,使研究人员能在生理条件下直接观察到高分辨率的生物样品表面结构<sup>[1]</sup>。越来越多的研究表明,AFM 在医学研究中具有突出的优势<sup>[2]</sup>。近年来,AFM 在提高分辨率、探针制作、探针功能化、样品制备和图像数据分析等方面取得了突飞猛进的发展<sup>[3-9]</sup>。这些技术进步实现了在生理条件下直接观测生物单分子和在纳米尺度上直接操作生物单分子<sup>[1-2]</sup>。特别是以功能化探针为基础的黏附力成像和动态识别成像将 AFM 具备的力谱测定和高分辨率成像能力与单分子间识别的特异性有机结合,实现了生物样品表面单分子定位、基于单分子识别的成像和样品组分探测。更为突出的是动态识别成像技术,它减轻了探针对样品的改变,能在生理条件下获得纳米级形貌图像的同时实现对特异蛋白分子的识别和精确定位。

本文主要介绍近年来基于 AFM 的单分子探测技术的发展和进步及其在医学研究中的应用,评述 AFM 在医学研究中的应用所面临的技术挑战和可能的应用前景。

## 1 探针功能化(tip functionlization)

探针功能化是指通过化学或生物方法将各种生物分子固定在 AFM 的探针上。探针功能化使 AFM 在力学测定功能之上又具备了分子识别能力,成为探测生物分子相互作用的有力工具。1994年,Florin 和 Lee 开始应用功能化的探针研究受体-配体间的单分子作用力<sup>[1,10-11]</sup>。此后,应用 AFM 研究单分子识别的技术受到越来越多的关注。作为 AFM 单分子探测的关键因素——AFM 探针功能化的方法也在不断发展。

目前,AFM 探针功能化的方法主要有 2 种:(1)直接连接法,即生物分子通过共价键或静电作用等直接连接于 AFM 探针上;(2)桥连法,即以线性分子为连接体(cross-linker)将生物分子连接于 AFM 探针上。

**1.1 直接连接法** 早期的直接连接法是利用牛血清(bovine serum albumin, BSA)的非特异性物理吸附作用将生物分子连接到 AFM 探针上。Florin 和 Lee 在此领域做了一些开创性的工作。他们利用生物素化的牛血清(biotinylated bovine serum albumin, BBSA)实现了 AFM 探针的功能化。在此基础上,人们发展了 BBSA 介导的探针功能化方法,即将吸附在探针上的 BBSA 蛋白质层与抗生物素或链霉亲和素反应,使探针上形成可连接各种生物素化分子的功能化基质,再将各种生物素化的分子连接到探针上<sup>[10]</sup>。但是,这种探针功能化方法常出现数据分析困难和不能测定较强分子间作用力的问题。所以,BSA 介导的生物素-抗生物素探针功能化系统现在已经较少使用。后来,人们发展了利用硫醇与金粒子的化学吸附作用(chemisorption)将带有硫醇基团的蛋白质、寡核苷酸和碳水化合物直接吸附于探针表面的方法<sup>[10,12]</sup>。

直接法程序简单,但是,可能出现多位点连接和多键同时断裂等问题,更重要的是探针上的分子空间活动度较小,不利于其与样品的相互作用。

**1.2 桥连法** 桥连法即是对探针功能化方法的进一步发展。桥连法的一般步骤,将一个可伸缩的线性分子连接于探针,再将需固定的分子连接于线性分子,这种方法使被连接的分子具有一定的空间自由度<sup>[13]</sup>。1996年, Hinterdorfer 首次报道了利用 AFM 研究抗原-抗体单分子间作用的实验工作。他采用聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)衍生物作为连接体,测定了人血清清蛋白(human serum albumin, HSA)和 HSA 抗体间的解离力。利用 PEG 衍生物形成的弹性连接使探针上的 HAS 抗体具有 6 nm 的活动伸展范围,研究表明,这种桥连法非常适合测定分子识别过程的动力学过程和进行细胞膜表面的分子成像<sup>[2,9]</sup>。现在,最常用的连接体就是 PEG 衍生物。它们一般具有不同的功能末端,例如,一个具氨基反应活性的 N-羟基琥珀酰胺(N-hydroxysuccinimide, NHS)末端和一个能与硫醇共价结合的 2-吡啶二硫基丙基或乙烯基砜末端。在进行探针功能化时,连接体的氨基反应活性末端与探针表面的氨基末端连接,而具有硫醇反应活性的另一端与蛋白质或其他生物分子的硫醇基通过二硫键相连<sup>[10]</sup>。长链硫醇也可以作为连接体。有研究报道,具有羧基末端的烷硫醇可在金包被的探针上形成自装配的单分子层(self-assembled monolayers, SAMs)。利用 SAMs 还可以实现生物分子定位连接,例如,次氨基三乙酸镍-组氨酸(nickel nitrilotriacetate-histidine, Ni-NAT-His)定位系统。将组氨酸标记(histidine-tags)定位插入待连接的蛋白,该蛋白即可通过组氨酸标记连接于 AFM 探针上具 NTA

\* 基金项目:四川省科技厅应用基础研究资助项目“脊髓损伤修复组织工程新型支架研究”(06Z004)。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: Zhangxiaoli1985007@yahoo.com.cn。

末端的烷硫醇上。由于组氨酸插入位点可通过基因工程技术控制,所以,利用 Ni-NAT-His 定位系统可实现蛋白质与探针的定位连接。Verbelen 等<sup>[14]</sup>采用此连接方法分别测定了肝素结合血凝黏附素 C-末端与 N-末端及 C-末端之间的作用力。

桥连法是一种适合单分子识别研究的探针功能化方法。其最大的优点是使连接的生物分子具有更大的自由度,为分子识别提供了良好的作用空间,特别适合于研究空间结构专一性高的分子识别事件。其次,通过稀释连接体分子或控制探针表面修饰基团的密度可降低连接体分子在 AFM 探针表面的密度,确保探针分子与待测分子发生单分子识别。最后,利用连接体可实现蛋白质定向连接,暴露探针分子的特定基团,提高单分子识别的准确性,减少非特异性作用的干扰。Chen 等<sup>[6]</sup>最近报道了以 PEG 衍生物为连接体的 AFM 探针功能化方法进行 AFM 识别成像 (AFM recognition imaging) 的工作,实现了对蓖麻毒素 fg/mL 级的探测灵敏度,超过目前所有的探测技术。

## 2 分子间作用力的测定及其动力学分析

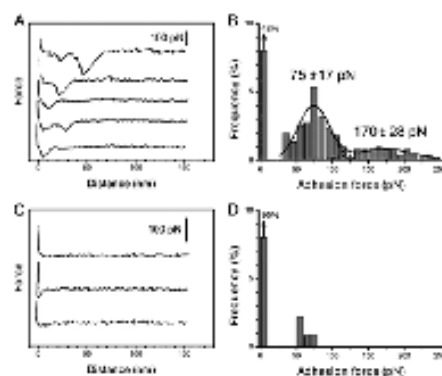
越来越多的研究表明,分子间的机械力在生命过程中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。AFM 力谱技术 (force spectroscopy) 可在生理条件下进行单分子水平的作用力谱分析,实现单分子间作用力及其动态变化的实时测定。更值得注意的是,AFM 是目前唯一能在纳米尺度上进行生物膜表面单分子作用力学测定的仪器<sup>[10,15]</sup>。

AFM 测定分子间作用力的基本策略是多次测量分子间的作用力并绘制作用力曲线,再通过统计分析计算分子间作用力。作用力曲线的测定方法是使功能化 AFM 探针与样品不断接近,再以一定速率退回,并记录这一过程中探针与样品间的作用力,以作用力对探针与样品间的垂直位移绘制坐标图即得到作用力-距离曲线 (force-distance curves)。若样品中存在探针分子的配体分子,在探针与样品接近时,两者可形成受体-配体结合体,当探针慢慢拉回时,分子间将产生机械张力,当张力达到极限时引发分子间结合状态的转换,如配体-受体分离、蛋白质去折叠、核酸链解开等。此时,探针受到的作用力发生快速变化,在作用力-距离曲线上表现为作用力跳跃 (force jump)。图 1A 为细胞溶菌酶结构域 (lysin motif, LysM) 与肽聚糖的作用力曲线。接下来需要证明的是,作用力跳跃与受体-配体结合体解离的相关性。阻滞实验 (blocking experiment) 是常用的方法。如图 1C,将 LysM 探针在肽聚糖溶液中孵育 30 min 后进行探针与肽聚糖的作用力测定。很明显,曲线上的作用力跳跃部分消失,说明图 1A 实验中的作用力跳跃与 LysM 和肽聚糖特异性相互作用相关联。常规的 AFM 力谱分析实验需要记录数百条作用力曲线,再将所得数据绘制成概率密度函数曲线或作用力柱状图 (force histogram) (图 1B),以了解所测分子间作用力数值的统计分布情况。概率最大值对应的作用力数值即是在该条件下此分子结合体解离力 (unbinding force) 的最大可能值。

Florin、Lee 和 Moy 等是最早开展分子间作用力测定的科学家<sup>[1,10,17]</sup>。随着数据采集分析技术的发展和探针、样品制备方法的改进,迄今为止,科学家们已利用 AFM 力谱分析实验测定了许多重要生物分子之间的单分子作用力,包括生物素/抗生物素和链霉亲和素,抗原/抗体<sup>[18]</sup>,DNA<sup>[19]</sup>,病原体黏附分子<sup>[20]</sup>等。

需要特别指出的是,以某一恒定速率拉回探针时测定的分子间解离力只是一个连续的分子间作用力谱中的一点。理论

推导和实验结果均表明,分子间解离力受测定时的负载率 (loading rate) 影响<sup>[10]</sup>。负载率是指,施加于被测物体的作用力 (F) 的时间变化率。实际上,为了了解分子间相互作用的动力学过程,实验者需要分别测定不同负载率下的分子间解离力,并进行动态力谱学 (dynamic force spectroscopy) 分析。动态力谱学是通过构建解离力与负载率的函数关系,分析解离过程的动力学参数,如能量势垒的步长 (length scale)、解离常数 (Koff) 等,从而了解分子相互作用过程的能量景观的形态。此外,探针与样品的作用时间 (interaction time) 也影响解离力的测定值。利用解离力与作用时间的数值关系,可以估算所研究分子间的结合常数 ( $K_m$ ) 和解离平衡常数 ( $K_D$ )。这些参数表征分子间相互作用的动力学过程,是全面阐明分子机制的必要资料<sup>[16-17]</sup>。



A. PBS 溶液中测定的 LysM 探针与肽聚糖表面作用力曲线; B. LysM-肽聚糖黏附力柱状图 ( $n=750$ ); C 和 D 加入游离肽聚糖后的对照实验 ( $n=250$ )<sup>[16]</sup>。

图 1 LysM-肽聚糖作用力谱分析图

## 3 原位探测分子识别事件

随着 AFM 在医学和生命科学研究中的应用不断深入,如何应用 AFM 实现单分子原位识别成为引人入胜的研究课题。同时,越来越多的实验表明,细胞膜上的纳米机器 (nanomachine) 是许多重要生命过程的执行者,它们参与了信号转导、细胞识别、细胞黏附、病原体侵入和质膜运输等过程<sup>[7]</sup>。对这些问题的深入研究需要发展纳米级的识别成像技术。黏附力成像和动态识别成像即是近 10 年发展起来的 AFM 识别成像技术。

**3.1 黏附力成像 (adhesion force mapping)** 如前所述,AFM 灵敏的力学探测能力被直接用于测定分子间的作用力。但是,科学家们希望能从 AFM 测定的力学数据中提取更多的信息。于是,研究人员利用黏附力数据绘制样品表面形貌,提出了一种新的成像模式——黏附力成像 (adhesion force mapping)。然而,早期的黏附力成像技术是通过分析样品与普通探针的黏附力而生成图像,故无法避免非特异性相互作用对成像的影响,所得图像分辨率不高,更无法实现分子识别成像。1997 年, Ludwig 等发表了采用生物素功能化的探针对链霉抗生物素表面进行黏附力成像的技术方法。实验证明了基于单分子识别的黏附力成像技术的可行性。人们也利用 AFM 绘制了各类细胞表面的黏附力图 (adhesion map),包括红细胞、破骨细胞、内皮细胞、细菌细胞壁<sup>[10]</sup>和肿瘤细胞<sup>[21]</sup>。

现在,黏附力成像的实验方法已较成熟,常规的步骤是,在力-体积成像模式 (force-volume mode) 下,利用功能化的探针扫描样品并记录每个像素点的力-距离曲线,根据力-距离曲线

计算每个像素点与探针分子间的黏附力,然后根据黏附力数值以不同灰度显示各像素点,形成黏附力图(adhesion force maps)。由于各位点的灰度反映了其与功能化探针间的黏附力,从而可提供样品表面某种分子的定位信息。

尽管黏附力成像可在纳米尺度下原位探测特定分子的分布,并定量显示样品表面与探针分子间的黏附力,但仍不能获得单分子水平的样品表面形貌信息。因此,图像的分辨率是该技术的不足。此外,成像时间也是黏附力成像的一大局限,现在记录一张黏附力图的时间大约为 2~15 min<sup>[1]</sup>,这一时间尺度比各种生理活动过程大很多,所以,难以实时记录各种生理过程的分子动态变化。

**3.2 动态识别成像(dynamic recognition force mapping)** 动态识别成像弥补了黏附力成像的不足。此模式能够以标准的 AFM 成像速度(512×512 像素,8 min)在记录样品表面形貌的同时获得单分子定位信息。Hinterdorfer 等<sup>[10]</sup> 是此领域的开拓者,他们在 1996 年报道了利用 AFM 探测样品表面抗原位点的实验技术,并预见该技术将迎来利用分子成像探测生物表面形貌的技术飞跃。实际上,此时 Hinterdorfer 和他的同事已经开始研究能够同时获取单分子级分辨率的样品表面形貌图像和分子识别位点的 AFM 技术。2004 年,他们发表了其研究成果——表面形貌与分子识别同时成像(simultaneous topography and recognition imaging, TREC)技术,即动态识别成像(dynamic recognition force mapping)<sup>[9,22]</sup>。

动态识别成像时,功能化的探针在磁场驱动下以恒定的频率和振幅振动,同时扫描样品表面。探针的振动频率低于悬臂的共振频率,振幅很小,一般为 5~10 nm。实验表明<sup>[22]</sup>,在一定条件下,探针与样品表面的接触只影响探针振动的波谷值,使振幅的最小值发生偏移;探针上的配体与样品表面的受体结合只影响探针振动的波峰值,使振幅的最大值发生偏移。因此,样品的表面形貌信息仅包含在探针振幅的最小值中,而样品表面的受体分子将反映为振幅最大值的减小。2 种信息在时间和空间上相互独立、互不干扰。在数据处理时,同时包含样品表面形貌信息和分子识别信号的扫描信号通过特殊的电路(PicoTrec)处理分解为  $U_{min}$  和  $U_{max}$  两部分,其中  $U_{min}$  被输入 AFM 的反馈调节回路以获得样品的表面形貌信息, $U_{max}$  则被用于提供分子识别数据(图 2)。将两组数据在一张图片上输出即获得包含高分辨率样品表面形貌信息和分子定位信息的单分子识别图。

研究人员已应用此技术实现了组蛋白的  $H_3$ 、溶菌酶的动态识别成像<sup>[19,22]</sup>;更具有意义的是,获得了血管内皮细胞表面钙黏蛋白的分子识别图,解决了细胞生物学研究的一大难题,即活细胞表面实时定位单分子位点<sup>[13]</sup>。AFM 动态识别成像技术最重要的技术进步是能在监测样品分子组分变化的同时获取该区域形貌图像,开辟了应用 AFM 在生理条件下研究单分子结构-功能关系的广阔前景。

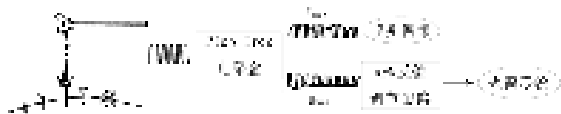


图 2 Trec 原理示意图

#### 4 挑战与展望

AFM 在医学与生命科学领域的应用优势已经得到广泛认可。近年来,AFM 技术取得了巨大进展。借助连接体,功能化探针所连接的分子具有更大的自由度,有效提高了探针识别的

灵敏度和准确性。在动态识别成像中,适当长度的桥连分子使分子识别事件“远离”样品表面,有助于分离识别信号与表面形貌信息,并避免了探针与样品的非特异性作用对识别信号的干扰<sup>[22]</sup>。AFM 力谱学研究的实验方法已经确立,而其在实验数据采集和分析方面的进步<sup>[8]</sup>使该技术能够更精确地探测分子间作用力及其动力学特性。尤为值得一提的是,AFM 黏附力成像和动态识别成像是目前唯一具备以纳米级分辨率在活细胞表面定位特异分子位点能力的技术。

然而,要充分发挥 AFM 的所有潜能,还有一些技术上的挑战需要解决。第一个问题就是扫描过程中探针对样品表面形貌的改变,尤其是一些比较柔软的样品,如活细胞。最常用的解决方式是对样品进行固定<sup>[7]</sup>。但是,固定将改变细胞膜的结构、力学特性和流动性,影响实验数据的可靠性。较为可行的方法是在探针制作、样品制备方法和成像条件等方面有所发展以解决探针扫描改变样品表面形貌的问题。另一个阻碍 AFM 在单分子研究中发挥技术优势的因素是成像时间过长。虽然动态识别成像技术在成像时间上已有很大提高(1~5 min)<sup>[10]</sup>,但是,相对于细胞中的动态过程,这一成像时间仍然过长。如何在不降低成像质量的前提下提高 AFM 成像速度?可以从提高设备性能、改良扫描模式和优化数据采集与分析等方面寻找突破。

尽管仍有一些技术问题需要解决,但 AFM 无疑是目前在生理条件下进行单分子研究的有力工具。AFM 在研究一些基本生命科学问题中的成功应用展示了这一技术对医学研究的巨大价值。Bajpai 等<sup>[23]</sup>运用 AFM 单分子力谱技术证明癌细胞间黏附力下降是由于缺失  $\alpha$ -catenin 影响了 E-钙黏蛋白(E-cadherin)介导的细胞连接。成熟的功能化探针制备方法将提供新一代高灵敏度生物传感器的技术基础,可用于疾病的诊断和监测<sup>[24]</sup>。许多与疾病发生密切相关的细胞活动,如细胞信号转导、内吞作用、病原体侵入等,都涉及分子间的相互作用或功能复合体的组合与解离。如何在生理状态下捕捉这些“分子部件”的相互作用和动态变化是了解这些过程不可回避的技术问题。AFM 纳米级的分辨率、生理条件下的成像功能和单分子识别的能力,使它成为目前最有希望的研究工具。AFM 在医学研究中的应用将为阐明疾病的发病机制、筛选药物靶向位点、疾病诊断和制定治疗策略提供更丰富的研究资料。

#### 参考文献:

- [1] Dufrene YF, Hinterdorfer P. Recent progress in AFM molecular recognition studies [J]. Pflugers Arch, 2008, 456(1):237.
- [2] Parot P, Dufrene YF, Hinterdorfer P, et al. Past, present and future of atomic force microscopy in life sciences and medicine [J]. J Mol Recognit, 2007, 20(6):418.
- [3] Perez R, Garcia R, Schwarz U. High-resolution noncontact atomic force microscopy [J]. Nanotechnology, 2009, 20(26):260201.
- [4] Wang C, Itoh H, Sun J, et al. Characterizing atomic force microscopy tip shape in use [J]. J Nanosci Nanotechnol, 2009, 9(2):803.
- [5] Ebner A, Hinterdorfer P, Gruber HJ. Comparison of different aminofunctionalization strategies for attachment of single antibodies to AFM cantilevers [J]. Ultramicroscopy, 2007, 107(10-11):922.

- [6] Chen G, Ning X, Park B, et al. Simple, clickable protocol for atomic force microscopy tip modification and its application for trace ricin detection by recognition imaging[J]. *Langmuir*, 2009, 25(5):2860.
- [7] Muller DJ, Engel A. Strategies to prepare and characterize native membrane proteins and protein membranes by AFM[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2008, 13:338.
- [8] Dudko OK, Hummer G, Szabo A. Theory, analysis, and interpretation of single-molecule force spectroscopy experiments[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(41):15755.
- [9] Stroth C, Wang H, Bash R, et al. Single-molecule recognition imaging microscopy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(34):12503.
- [10] Hinterdorfer P, Dufrene YF. Detection and localization of single molecular recognition events using atomic force microscopy[J]. *Nat Methods*, 2006, 3(5):347.
- [11] Li G, Xi N, Wang DH. Probing membrane proteins using atomic force microscopy[J]. *J Cell Biochem*, 2006, 97(6):1191.
- [12] Dupres V, Verbelen C, Dufrene YF. Probing molecular recognition sites on biosurfaces using AFM[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(15):2393.
- [13] Chitchevlova LA, Waschke J, Wildling L, et al. Nano-scale dynamic recognition imaging on vascular endothelial cells [J]. *Biophys J*, 2007, 93(2):11.
- [14] Verbelen C, Raze D, Dewitte F, et al. Single-molecule force spectroscopy of mycobacterial adhesin-adhesin interactions [J]. *J Bacteriol*, 2007, 189(24):8801.
- [15] Muller DJ, Helenius J, Alsteens D, et al. Force probing surfaces of living cells to molecular resolution[J]. *Nat Chem Biol*, 2009, 5(6):383.
- [16] Andre G, Leenhouts K, Hols P, et al. Detection and localization of single LysM-peptidoglycan interactions [J]. *J Bacteriol*, 2008, 190(21):7079.
- [17] Lee CK, Wang YM, Huang LS, et al. Atomic force microscopy: determination of unbinding force, off rate and energy barrier for protein-ligand interaction[J]. *Micron*, 2007, 38(5):446.
- [18] Berquand A, Xia N, Castner DG, et al. Antigen binding forces of single antilysozyme Fv fragments explored by atomic force microscopy[J]. *Langmuir*, 2005, 21(12):5517.
- [19] Krasnoslobodtsev AV, Shlyakhtenko LS, Lyubchenko YL. Probing interactions within the synaptic DNA-SfiI complex by AFM force spectroscopy[J]. *J Mol Biol*, 2007, 365(5):1407.
- [20] Dupres V, Verbelen C, Raze D, et al. Force spectroscopy of the interaction between mycobacterial adhesins and heparan sulphate proteoglycan receptors [J]. *Chemphyschem*, 2009, 10(9-10):1672.
- [21] Gunning AP, Chambers S, Pin C, et al. Mapping specific adhesive interactions on living human intestinal epithelial cells with atomic force microscopy[J]. *FASEB J*, 2008, 22(7):2331.
- [22] Stroth CM, Ebner A, Geretschlager M, et al. Simultaneous topography and recognition imaging using force microscopy[J]. *Biophys J*, 2004, 87(3):1981.
- [23] Bajpai S, Feng Y, Krishnamurthy R, et al. Loss of alpha-catenin decreases the strength of single E-cadherin bonds between human cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(27):18252.
- [24] Pollheimer PD, Kastner M, Ebner A, et al. Receptor arrays for the selective and efficient capturing of viral particles[J]. *Bioconjug Chem*, 2009, 20(3):466.

(收稿日期:2009-08-28 修回日期:2009-12-20)

• 综 述 •

## RNA 干扰抗丙型肝炎病毒的研究进展

张国海<sup>1</sup>, 梁丽英<sup>1</sup>综述, 许瑞安<sup>1,2</sup>审校

(华侨大学:1. 分子药理学研究所, 泉州 362021; 2. 分子药物教育部工程研究中心, 泉州 362021)

**关键词:** 丙型肝炎病毒; siRNA; microRNA; RNA 干扰; 联合治疗

**中图分类号:** R963; R512.63

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-8348(2010)14-1914-04

丙型肝炎病毒(HCV)感染严重危害全人类健康,是主要的公共卫生问题之一。据估计全世界 HCV 阳性率为 3%,大约有 1.7 亿的感染者<sup>[1]</sup>。令人遗憾的是,到目前为止,市场上仍然没有安全、有效的疫苗或抗体来防止 HCV 感染。目前慢性 HCV 感染的标准疗法是联合使用聚乙二醇  $\alpha$ -干扰素和利巴韦林(ribavirin)。然而,这种标准疗法的成功却取决于病毒的基因型和治疗之初病毒的载量,仅有约 50%的患者会产生持续的病毒学应答,因而不能彻底根除病毒。此外,高昂的价格和严重的不良反应也限制了这种标准疗法的广泛使用。开

发新型的、更加安全有效的抗病毒治疗方法具有时空紧迫性和重要现实意义。

充分了解病毒感染、复制机理,以及在此过程中与宿主细胞相关因子的相互作用是开发新型治疗方法的先决条件,不但可以认识发病全过程,而且可以从中发现新的治疗靶点和途径。近年来在探索 HCV 病毒基因组学和病毒感染、复制机理方面取得了重大突破,研究表明基于 siRNA 和 microRNA 的干扰治疗有望成为抗病毒治疗的新型治疗方法。本文就 RNA 干扰在抗病毒治疗中取得的最新进展作一综述。