



西北农林科技大学
NORTHWEST A&F UNIVERSITY

西北农林科技大学2023级农学院

Bridge RNA：架起基因组精 准重组的桥梁

答辩人：和一晗 齐妙 赵博文 李刘子文 许雅琳



诚 朴 勇 毅

目录

CONTENTS



绪论

工作原理



研究思路解析

颠覆性优势



系统总结



Part 1

绪论

- 1-1 已有基因编辑技术的原理与不足
- 1-2 我们为何要关注Bridge RNA
- 1-3 Bridge RNA的背景概况
- 1-4 Bridge RNA的基本研究现状

已有基因编辑技术的原理与不足



技术简称	ZFN	TALEN	CRISPR-Cas9
识别机制	蛋白质-DNA识别		RNA-DNA识别
不足与局限	设计复杂 易脱靶 通用性低	递送困难 构建繁琐 成本偏高	结果不可控 具有脱靶风险 准确性差
共同瓶颈	均依赖于 制造DNA双链断裂并修复，过程不可控，无法进行精准编辑		

我们为何要关注Bridge RNA



西北农林科技大学
NORTHWEST A&F UNIVERSITY

研究意义

理论意义

可以直接在**指定位置**插入、删除或重排**大段基因序列**，过程精细结果可控

技术意义

实现**可预测**的精准大片段编辑，便于插入全长基因或调控元件
可避免由**DNA双链断裂**引发的染色体缺失、异位等**副作用**，安全性更高
理论上能够实现DNA片段的**精准剪切和粘贴**，为**基因组功能研究**提供了前所未有的操控能力

行业与哲学意义

可能催生专注于**精准基因插入、染色体工程**的新一轮创业与投资热潮
其**完全可编程**的RNA引导机制，可能使复杂的**基因组重组**变得**简便易操作**
高效、精准的大型DNA重组能力，将促使**科学界与社会**提前**思考规划**关于**基因组设计**的新边界

Bridge RNA的背景概况



西北农林科技大学
NORTHWEST A&F UNIVERSITY



Patrick D. Hsu



团队成员合影

Bridge RNA是由美国Arc研究所与加州大学伯克利分校的Patrick Hsu（徐浩立）博士团队于2024年6月在期刊《自然》上首次报道。团队对一种名为IS110的细菌“跳跃基因”进行了深入研究，从中提炼出一种天然机制，并成功改造为**两端可独立编程**的通用系统。后续研究登上《科学》杂志，成功将该系统应用于人类细胞，实现了对**长达100万个碱基对的大型DNA片段**进行精准插入、删除或重排等操作，标志着其从原理验证迈入实际应用探索阶段。

一、当前技术能力

编辑范式上：能同时识别并连接**目标位点与供体DNA**，指导重组酶实现**无断裂**的直接重组

编辑效率上：在人类细胞中的初步实验中显示，其**DNA插入效率**约为20%，**靶向特异性**可以达到82%

操作尺度上：已证实能精确操作**从数百到上百万个碱基对**的DNA片段

二、面临的主要挑战

系统需要优化：在人类细胞中的**编辑效率和特异性**仍需大幅提升，以满足治疗要求

存在递送难题：如何将**尺寸较大的** 重组酶 和 Bridge RNA **安全、高效地**递送至人体特定细胞或组织，是**走向临床应用**的最大瓶颈之一

安全性有待验证：其**长期安全性**与**潜在脱靶效应**需要在更多**细胞模型**和**体内环境**中进行全面评估

三、未来研究方向

工具优化上：**工程化改造** 重组酶 与 Bridge RNA，以提高其**活性、特异性和可编程范围**

递送方案上：开发**新型递送技术**（如病毒载体等）

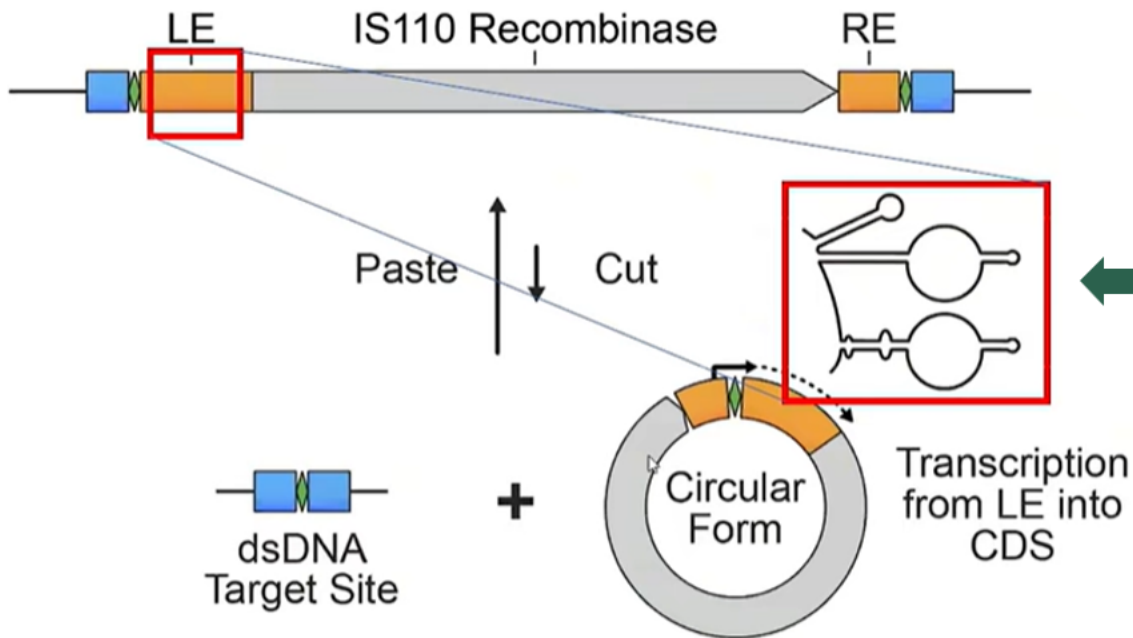
应用拓展上：计划在**干细胞等更具治疗潜力**的细胞类型中进行测试，并探索在**遗传病**等领域的应用



Part 2

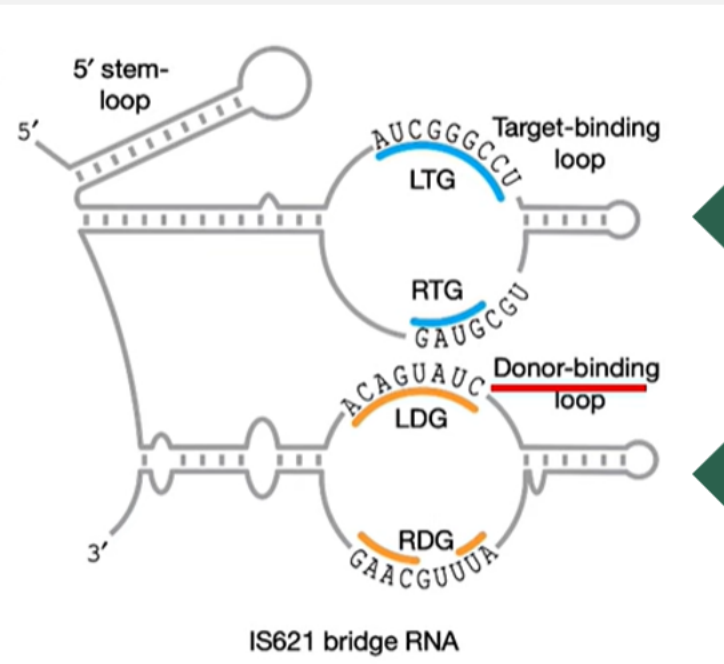
Bridge RNA的 工作原理

1. “智能分子桥”的独特结构



Bridge RNA

1.“智能分子桥”的独特结构



负责“找目标”：靶向定位到目标DNA的位置

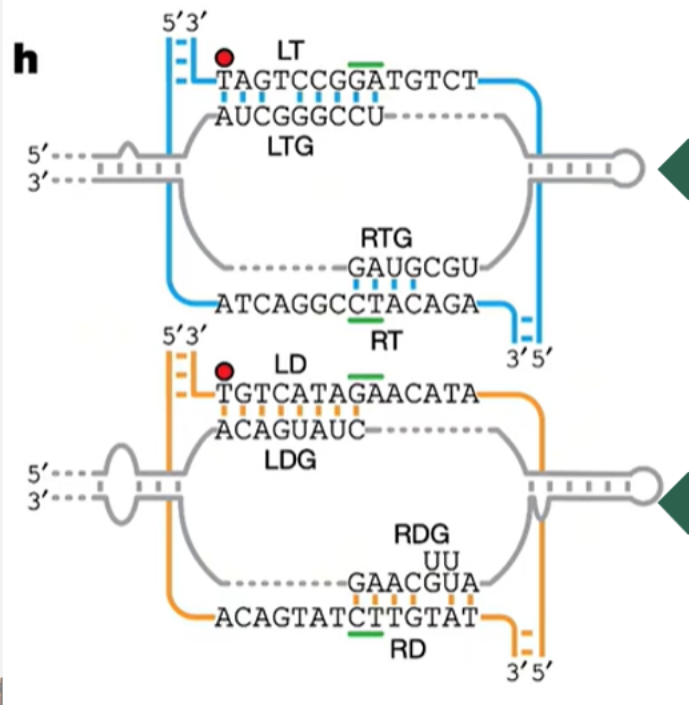
负责“带货物”：结合要插入的新DNA片段

得益于其‘靶向-供体’的双环结构，它能同时定位目标和携带货物。



2.“架桥”的工作流程

Step1: 识别



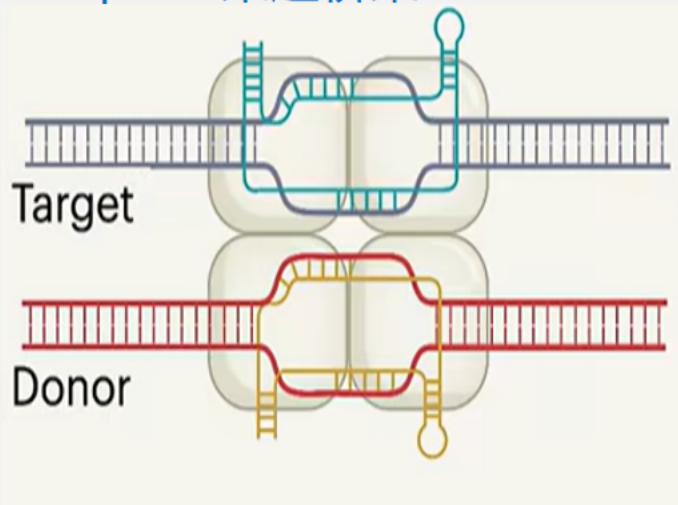
‘靶向RNA环’会找到基因组上的目标位点并停靠上去

它的‘供体RNA环’会抓住那个要插入的‘新DNA货物’



2.“架桥”的工作流程

Step2: “架起桥梁”



Bridge RNA分子本身会发生构象变化，将‘目标DNA位点’和‘新DNA货物’拉紧并对齐

Step3: 精准“焊接”



重组酶会在桥的连接处进行精准操作，在不切断DNA双链的情况下，直接将新的DNA片段‘焊接’到目标位置。



RNA-programmed targeting

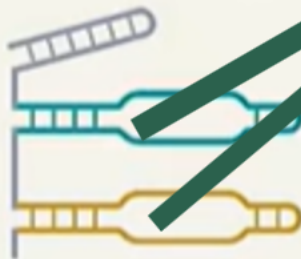
bridge RNA如何广泛应用呢?

Bridge
recombinase



+

Bridge RNA



“可编程”

通过改变茎环上的序列，就可以按设计需求，调整靶标位置和插入供体序列

Target-binding loop

Donor-binding loop

重组酶是如何到达现场?

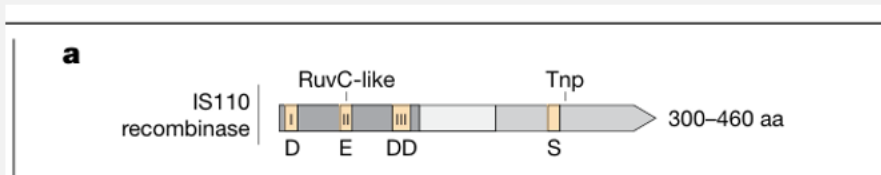
预组装模型 and 协同招募模型



Part **3**

Bridge RNA 研究思路解析

一、研究起点：IS110的神秘靶向能力



现象

IS110能精准“剪切-粘贴”自身到基因组特定位点

疑问

如何实现高特异性靶向？传统蛋白识别机制无法解释。

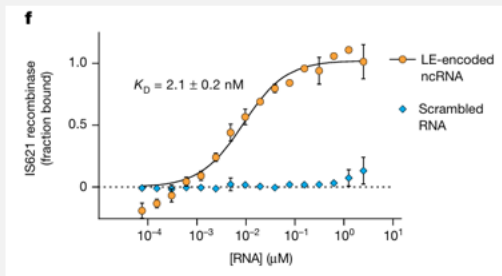
猜想

是否存在RNA介导的识别机制？

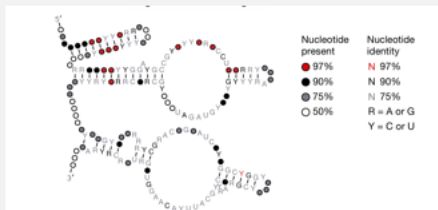
发现：非编码RNA的桥梁作用

实验1 RNA-seq分析 → 发现IS110转录出一种结构化ncRNA

实验2 MST结合实验 → 证明ncRNA与IS110编码的重组酶高亲和力结合



命名依据 能同时桥接“靶点DNA”与“供体DNA” → Bridge RNA



三、验证：Bridge RNA是重组的必要条件

- 结构特征：Bridge RNA 含有两个内部环：
- 靶点结合环 → 识别基因组靶点序列
- 供体结合环 → 识别 IS110 自身序列

实验设计

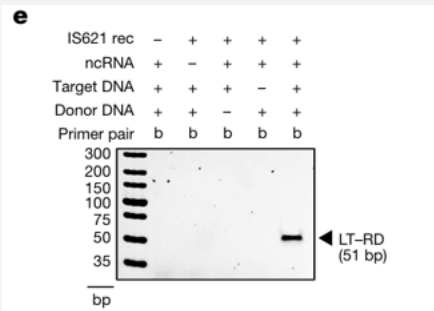
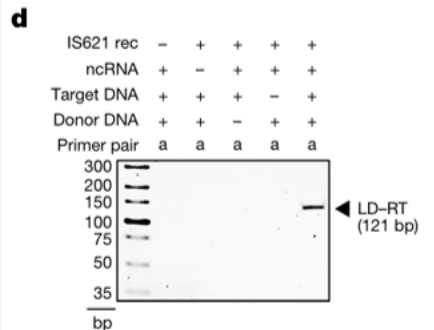
体外重组系统

关键发现

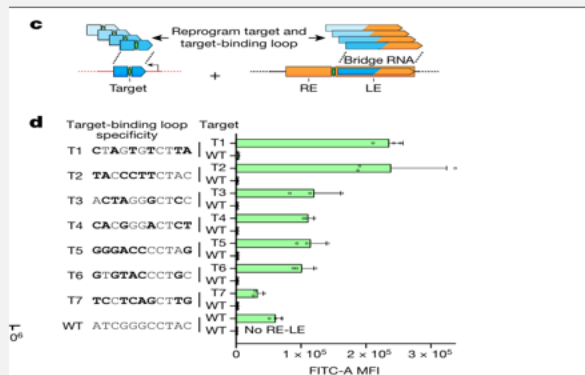
只有当Bridge RNA + 重组酶 + 靶点DNA + 供体DNA 四者俱全时，重组才会发生

结论

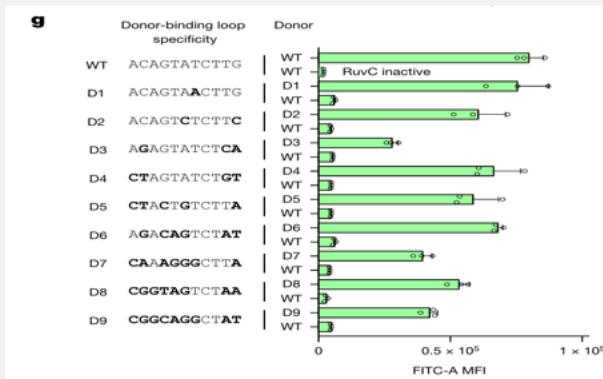
Bridge RNA是序列特异性重组的决定因子



四、突破：Bridge RNA是可编程的



只有当Bridge RNA的靶点结合环序列与目标DNA的靶点序列完美匹配时（例如T5配T5），重组才会高效发生，产生强烈的荧光信号。



只有‘新供体’配‘专门为它设计的新供体结合环’时（比如D1配D1，D6配D6），才会产生强烈的荧光信号，代表重组高效发生。

模块化设计：两个结合环可独立替换

实验3：替换靶点结合环 → 重定向插入新基因组位点

实验4：替换供体结合环 → 识别新供体序列

结论：双环独立可编程，实现灵活靶向

五、拓展：实现插入、切除、倒位

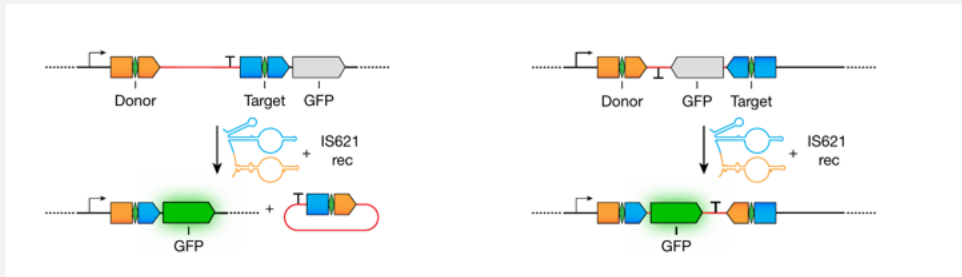
实验5：通过调整靶点与供体的相对方向与位置，实现

01 插入（靶点与供体异位）

02 切除（同向重复靶点）

03 倒位（反向重复靶点）

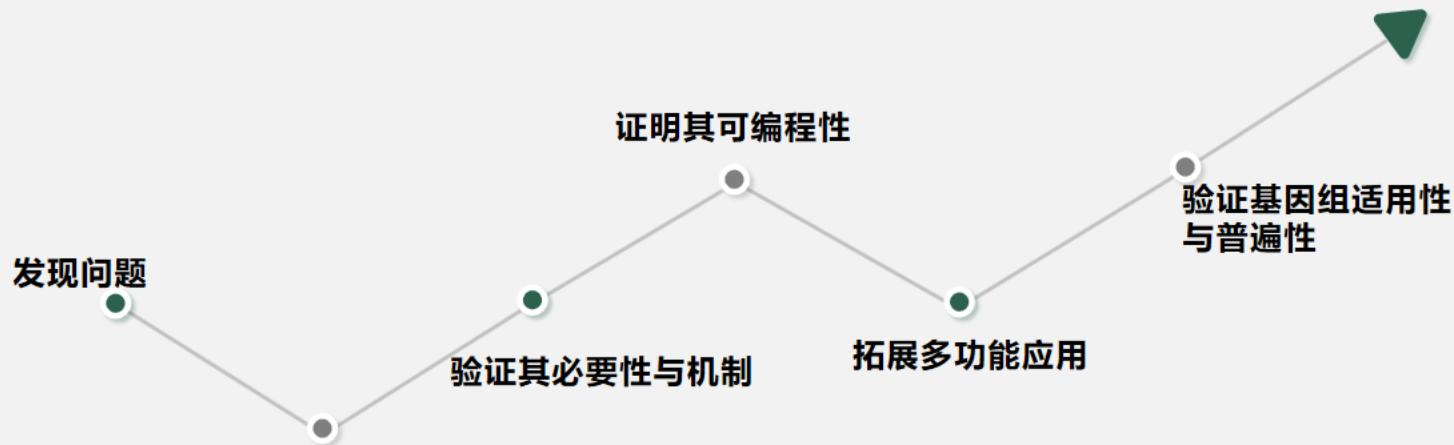
04 结论：单系统实现多重基因组操作



切除

倒位

六、研究思路全链条总结



*Bridge RNA*系统为基因编辑提供了无需切割、可编程、多功能的全新范式



Part **4**

Bridge RNA的 颠覆性优势

一

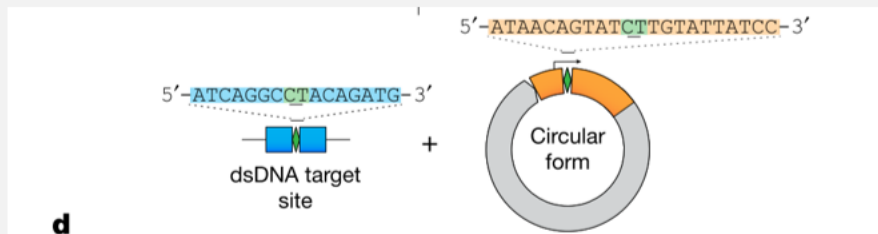
双特异性结合，介导精准重组：

含两个独立结合环，可分别与靶标DNA和供体DNA碱基配对，形成分子桥，高效介导两者重组。

二

无切割重组，安全性高：

不产生DNA双链断裂，规避染色体易位、细胞凋亡等风险；仅需递送RNA，无需复杂载体，免疫原性极低。

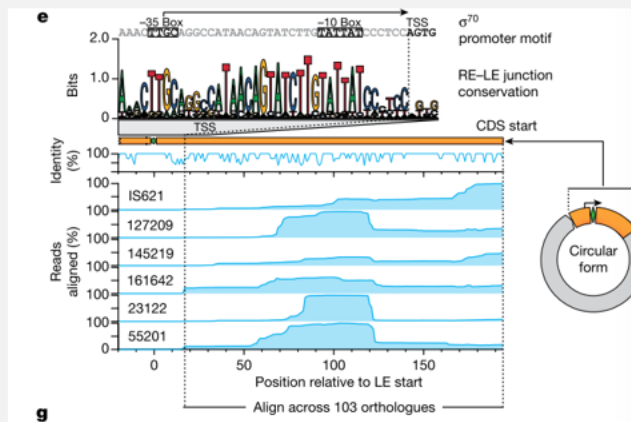
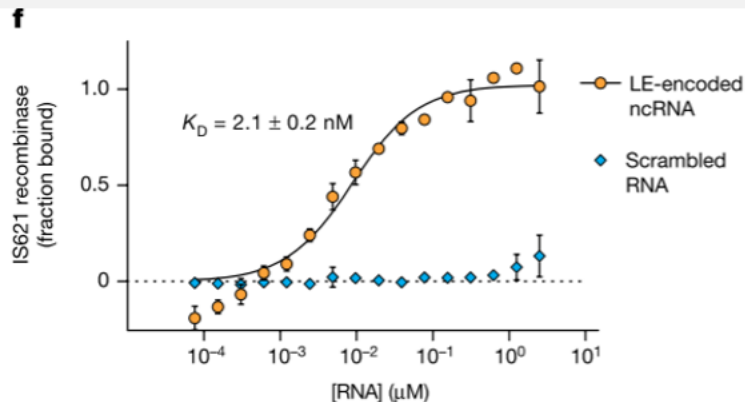


d



特异性强，脱靶率低：

对错配容忍度低，核心序列高度偏好；延长RTG（右靶标向导）可将靶向特异性从平均69.4%提升至84.9%，减少脱靶位点。



四

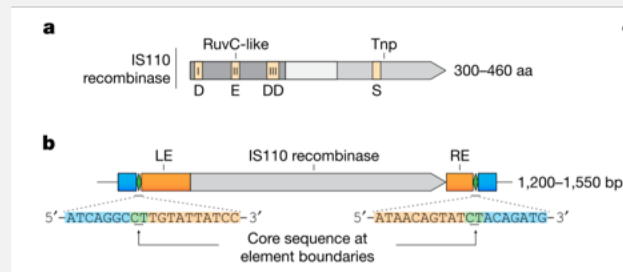
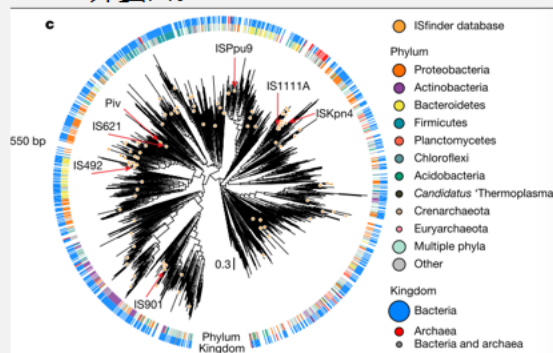
跨家族/物种适配，适用范围广：

IS110家族85.7%的成员及IS1111家族93.0%的成员均编码桥RNA，可在大肠杆菌等原核生物中直接发挥作用。

五

结构紧凑，无需额外效应蛋白：

RNA长度仅150-250nt，搭配300-460aa的单一重组酶即可完成重组，无需融合额外蛋白。

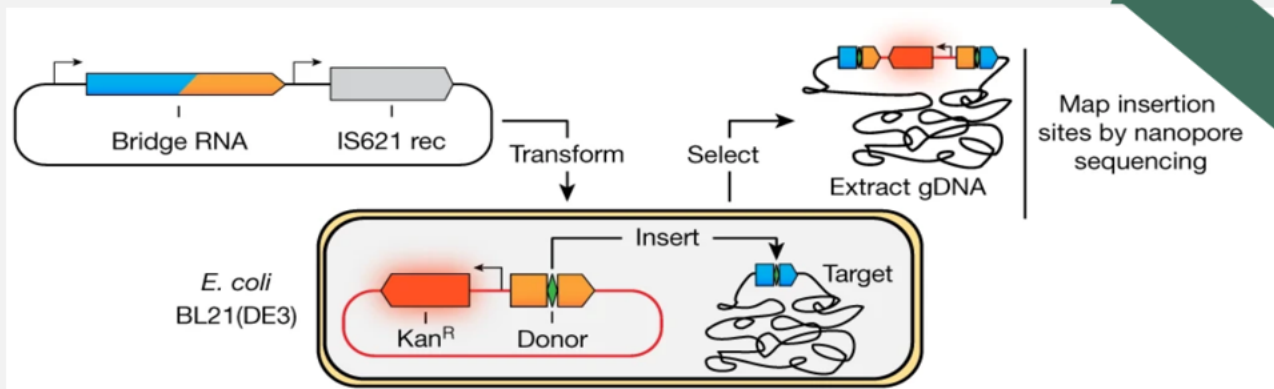




Part **5**

Bridge RNA 系统总结

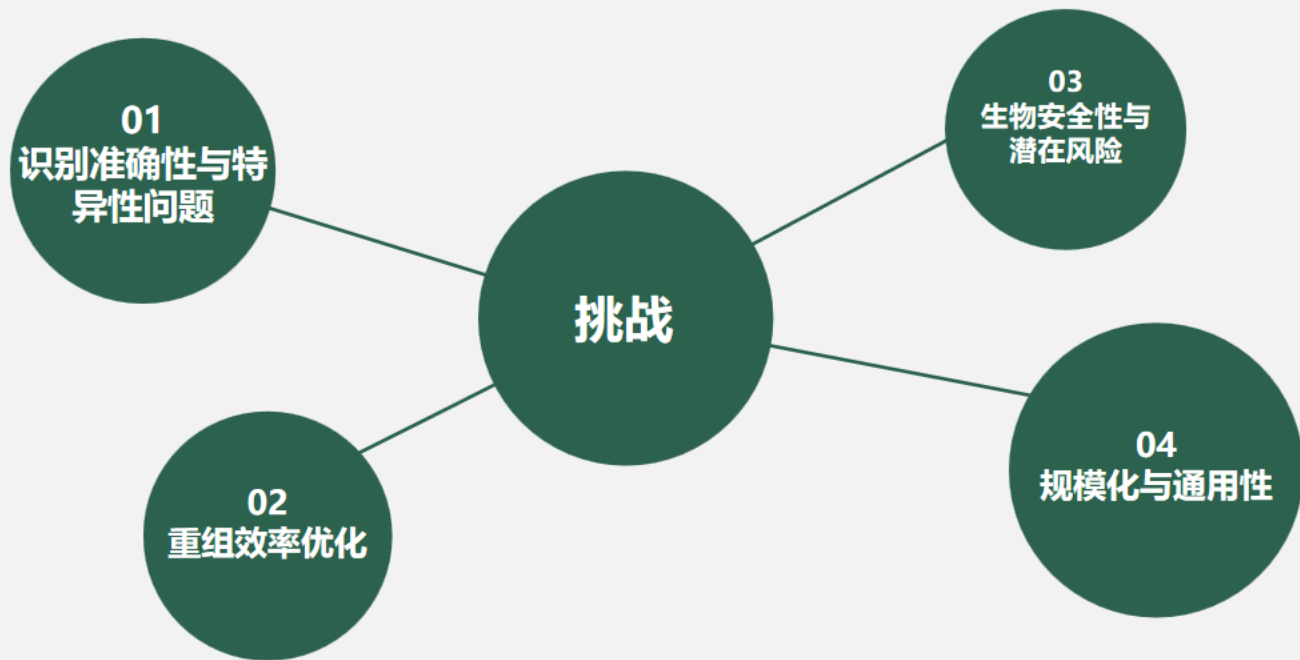
Bridge RNA通过其独特的“靶向-供体”双环结构与IS110重组酶协同作用，能够像一座智能分子桥梁，同时识别基因组靶点与供体DNA，实现精准、无断裂的重组。从根源上克服了传统编辑技术依赖DNA断裂与细胞修复、过程随机且效率受限的根本瓶颈，为我们提供了一种高度可控、可编程的“基因精准粘贴”新范式。



Bridge RNA面临的挑战



西北农林科技大学
NORTHWEST A&F UNIVERSITY



基因治疗

Bridge RNA能够实现对基因组的大规模重排，对于治疗由大片段基因缺失、重复或倒位等引起的遗传病具有重要意义。例如，对于镰状细胞贫血、弗里德赖希共济失调等疾病，可通过Bridge RNA精准删除或修复致病基因区域，为患者提供更有效的治疗方案。

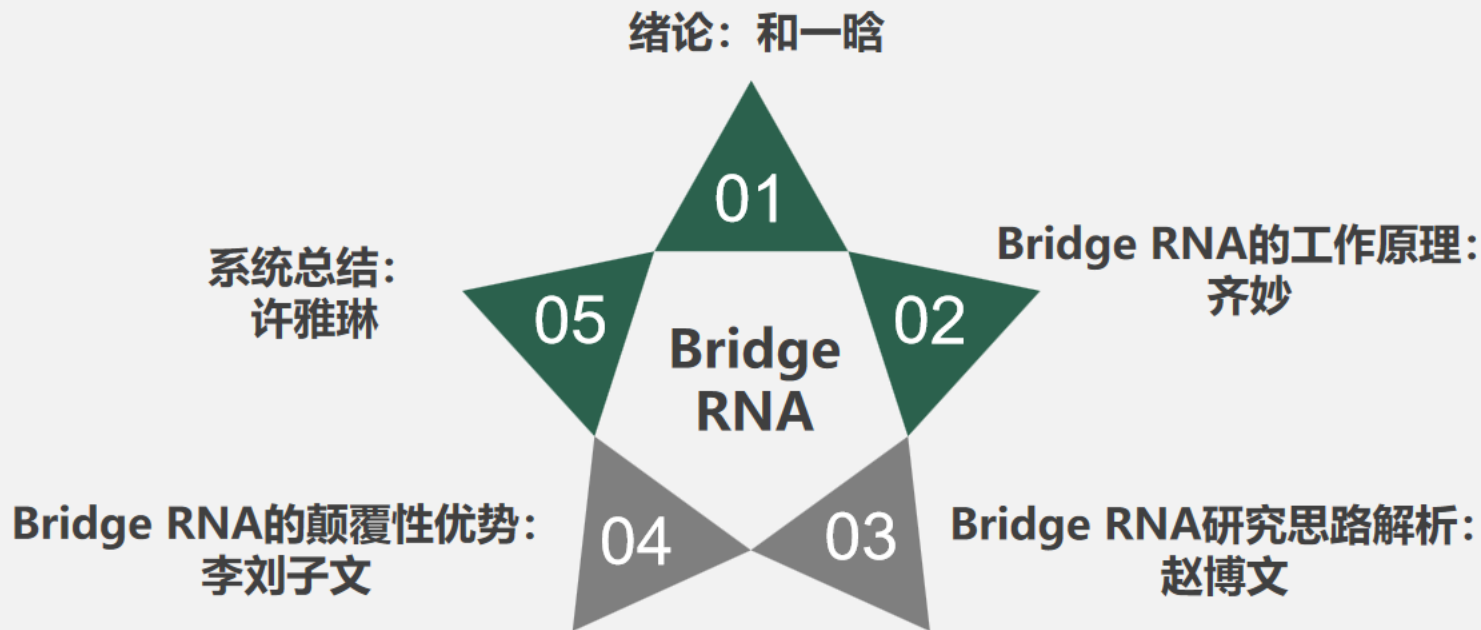
人工智能

随着人工智能技术的发展，Bridge RNA的设计和优化可以借助人工智能算法进行。人工智能可以通过分析大量的基因组数据和编辑结果，预测Bridge RNA的最佳序列和结构，提高编辑效率和特异性。

合成生物学

Bridge RNA可以用于构建人工基因回路、代谢途径和合成染色体等。通过精确控制基因组的重排，能够设计出具有特定功能的生物系统，如生产生物燃料、药物等。

- [1] Durrant, M. G., Perry, N. T., Pai, J. J., Jangid, A. R., Athukoralage, J. S., Hiraizumi, M., McSpedon, J. P., Pawluk, A., Nishimasu, H., Konermann, S. & Hsu, P. D. Bridge RNAs direct programmable recombination of target and donor DNA. *Nature* 630, 984–993 (2024). doi:10.1038/s41586-024-07552-4.
- [2] Hiraizumi, M., Perry, N. T., Durrant, M. G., Pai, J. J., Jangid, A. R., Athukoralage, J. S., McSpedon, J. P., Pawluk, A., Nishimasu, H., Konermann, S. & Hsu, P. D. Structural mechanism of bridge RNA-guided recombination. *Nature* 630, 994–1002 (2024). doi:10.1038/s41586-024-07570-2.
- [3] Ertl, H. Programmable DNA rearrangements using bridge RNAs. *Nature Reviews Genetics* 25, 599 (2024). doi:10.1038/s41576-024-00763-5.
- [4] Marchal, I. Bridge RNAs direct programmable DNA rearrangements. *Nature Biotechnology* 42, 2024.
- [5] Song, Y. RNA-guided recombination. *Nature Chemical Biology* 20, 941 (2024). doi:10.1038/s41589-024-01697-z.
- [6] Durrant, M. G., Perry, N. T., Pai, J. J. et al. Bridge RNAs direct modular and programmable recombination of target and donor DNA. *bioRxiv* (preprint) 2024.01.24.577089 (2024). doi:10.1101/2024.01.24.577089.





西北农林科技大学
NORTHWEST A&F UNIVERSITY

西北农林科技大学2023级

敬请老师批评指正！

答辩人：和一晗 齐妙 赵博文 李刘子文 许雅琳

