

翻转课堂第3期：优秀案例



西北农林科技大学
NORTHWEST A&F UNIVERSITY

鹊桥天工 桥联万物之bridge RNA

答辩人：苏晴 杨稻男 张馨予 王卓 江立行

指导老师：徐坤副教授

诚朴勇毅

目录

CONTENTS



桥链核酸
焕新赋能

游刃有余
举重若轻



筑桥引路
改写天书



继往开来
桥接未来



破茧旧术
织锦新桥





过渡页

Part 1

破茧旧术
织锦新桥

破茧旧术，织锦新桥

ZFN

1996 | 锌指核酸酶

最早的可编程基因编辑工具，但设计复杂、成本高。

TALEN

转录激活样效应子核酸酶

比ZFN更灵活易设计，但仍依赖蛋白工程。

CRISPR-
Cas9

CRISPR-Cas9

革命性突破，依靠RNA引导，简单高效，但依赖DNA断裂与修复。

Prime
Editing

先导编辑

可实现精准点突变与小片段编辑，但仍基于Cas9系统。

当前挑战

- 1、依赖DNA双链断裂
- 2、依赖寄主修复机制
- 3、难以实现精准、大片段、无痕迹的插入

- 发表 Bridge RNA--桥接 RNA--基因编辑的原始论文



第一作者：Matthew Durrant
加州大学伯克利分校

Article

Bridge RNAs direct programmable recombination of target and donor DNA

<https://doi.org/10.1038/s41586-024-07552-4>

Received: 7 September 2023

Accepted: 9 May 2024

Published online: 26 June 2024

Matthew G. Durrant^{1,2,11}, Nicholas T. Perry^{1,2,3,11}, James J. Pai¹, Aditya R. Jangid^{1,2},
Januka S. Athukoralage¹, Masahiro Hiraizumi⁴, John P. McSpedon¹, April Pawluk¹,
Hiroshi Nishimasu^{4,5,6,7,8}, Silvana Konermann^{1,9} & Patrick D. Hsu^{1,2,10}✉

《桥接 RNA 直接对靶标 DNA 和供体 DNA 进行可编程重组》

Bridge RNA的登场

2024年
《自然》杂志重磅发表

自然状态（亿万年前至今）
IS110 转座子在细菌中自然
进化
功能：利用自身编码的
RNA实现精准的自体迁移

科学发现（关键研究）
科学家解析其三维结构，揭
示其“双RNA桥接”核心
机制



工程化改造（技术突破）
将两个RNA模块解耦并重新
编程

- Target-binding RNA: 可修
改以靶向任意基因组位置
 - Donor-binding RNA: 可
连接任意外源供体DNA
- 结果：从一个自私的“跳跃基
因”变为通用的“基因编辑器”

范式的根本转变

从“切割-修复”到“桥接-插入”

核心能力的跨越

实现精准、安全的
“大片段基因书写”



设计育种的新引擎

为“模块化”叠加优异
性状提供可能

迈向基因组编写时代

预示从“选择变异”到
“直接编写”育种的未来

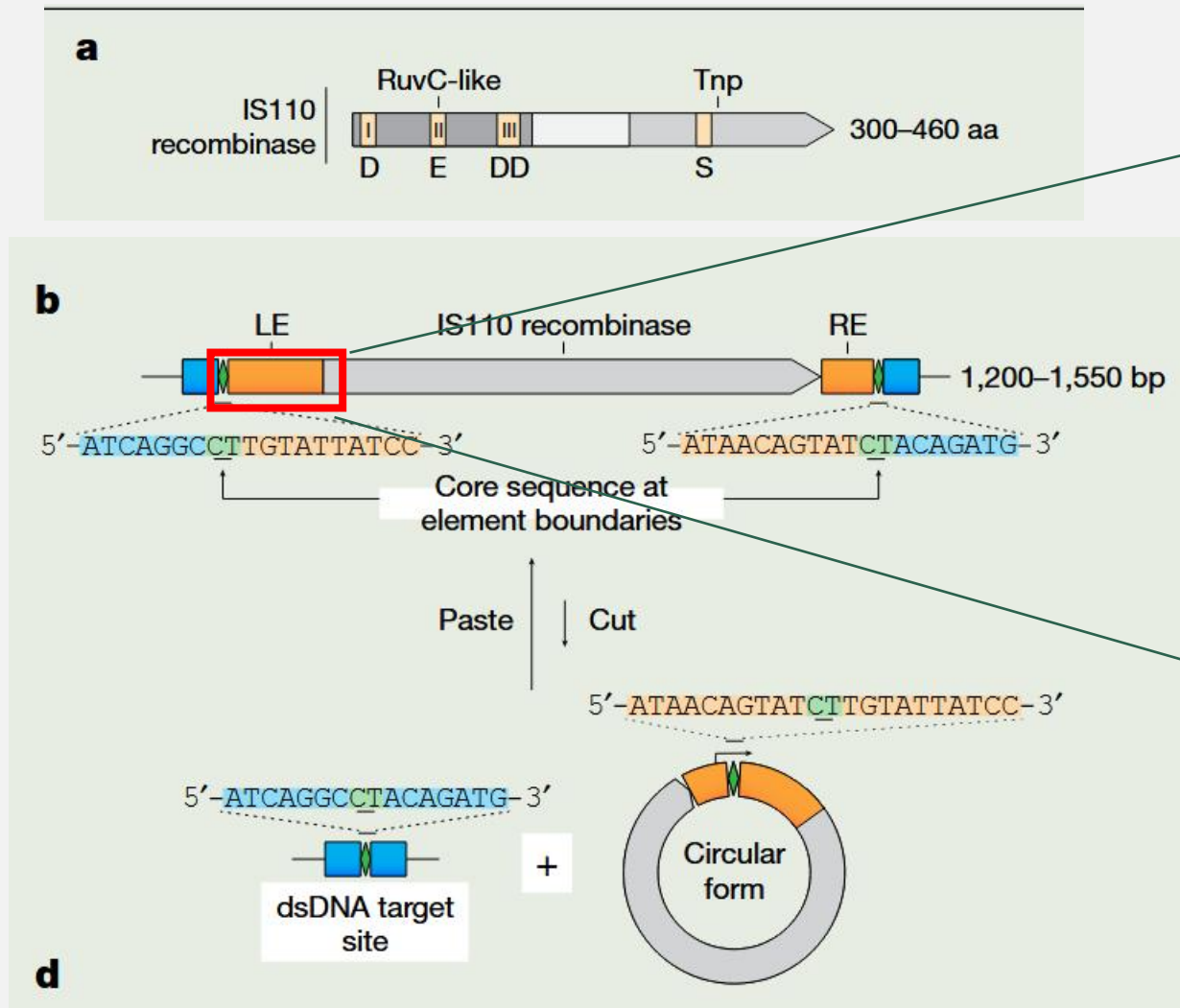


过渡页

Part 2

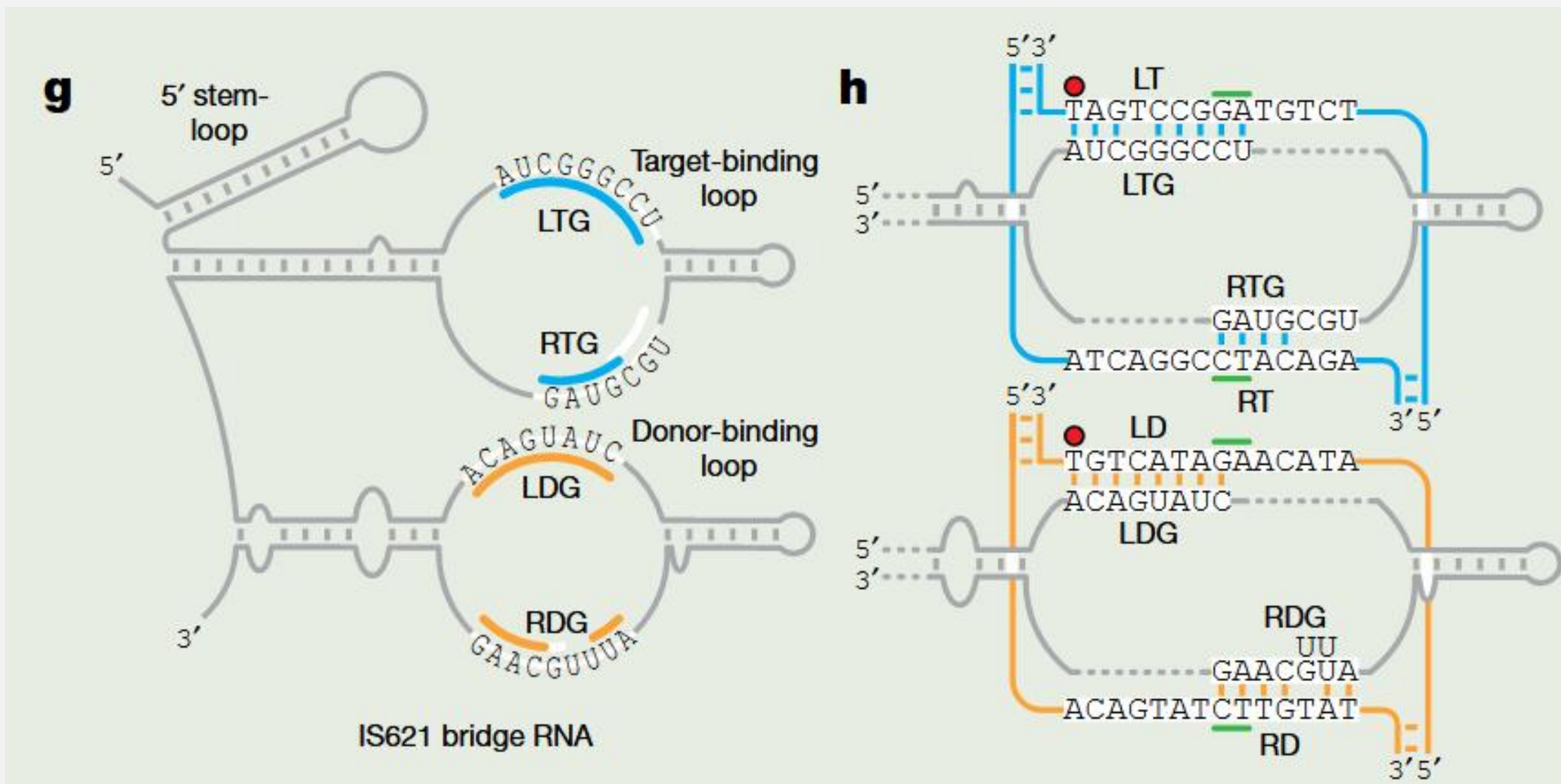
游刃有余
举重若轻

IS110重组元件使用过程中的特殊RNA

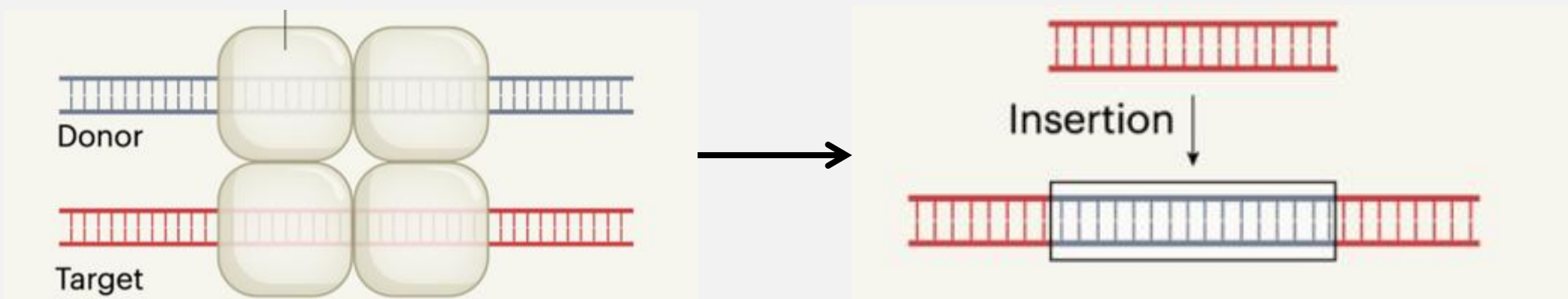
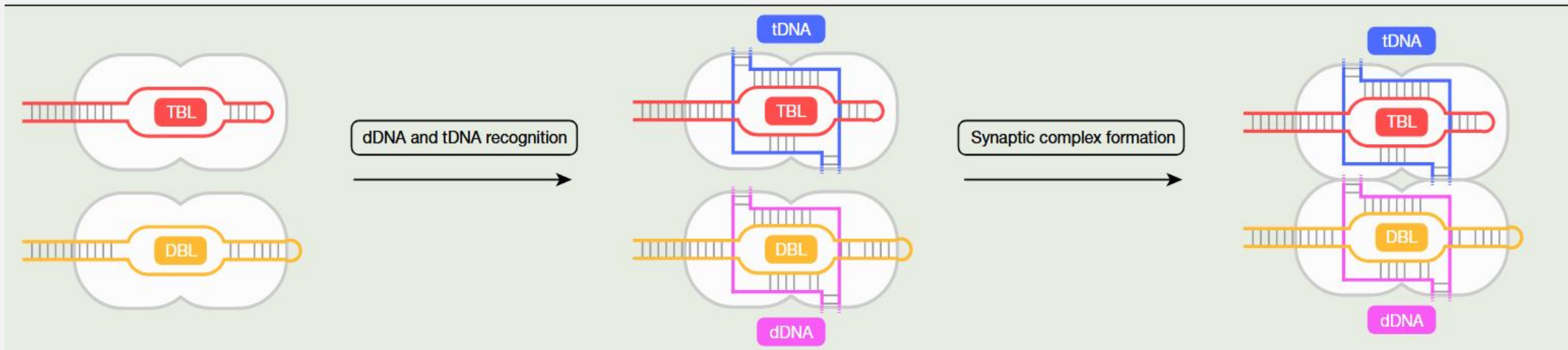


a, IS110重组酶蛋白序列的示意图;
b, IS110元件的结构和生命周期的示意图。

Bridge RNA的特异性序列

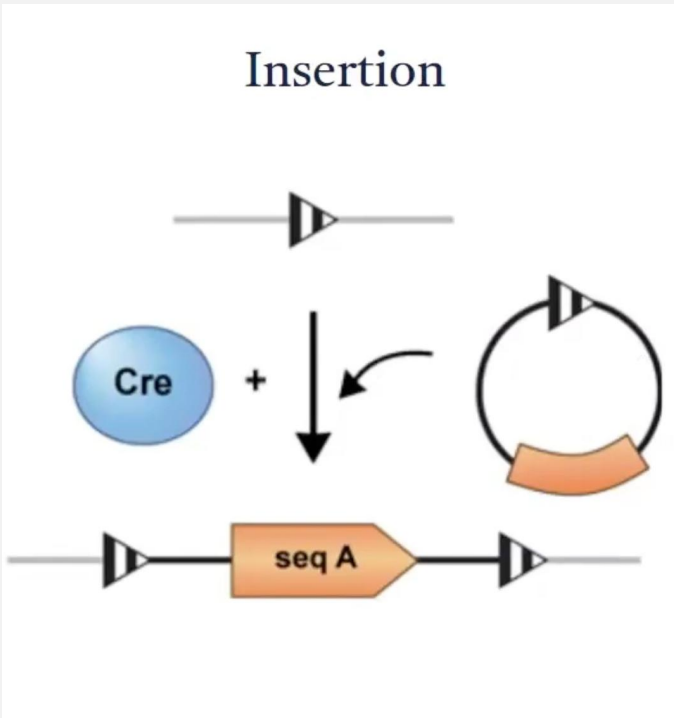


IS110 重组酶从供体切下片段，插入到靶标序列中去

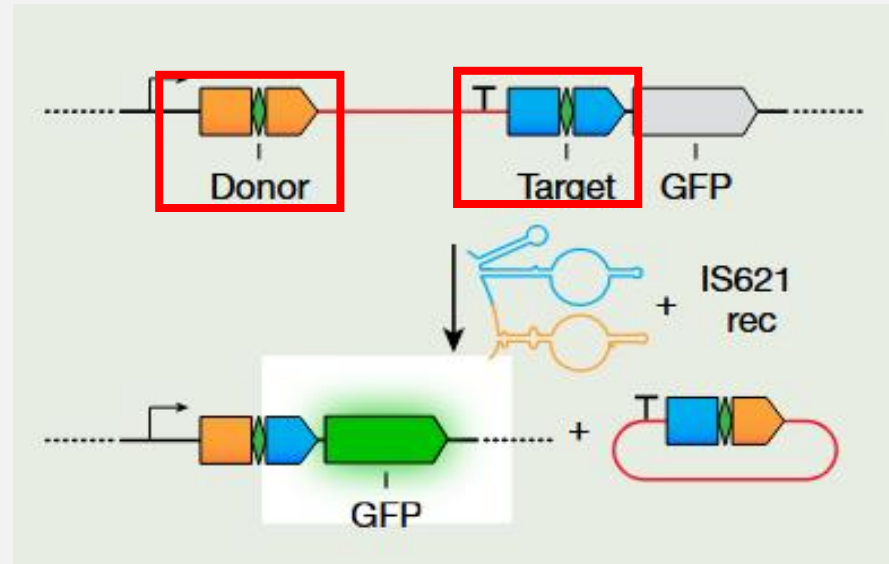


说明Bridge RNA 可以用于做大片段“插入、切除、颠倒”

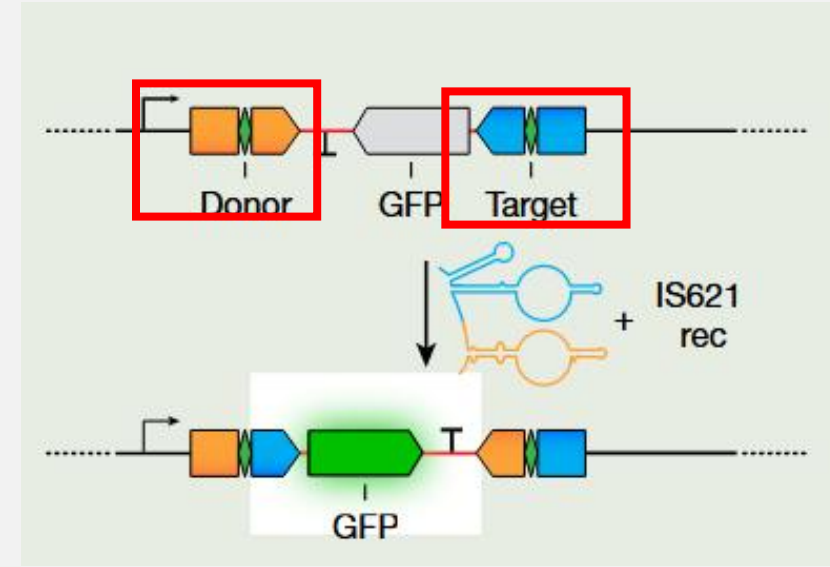
Insertion



Excision



Inversion



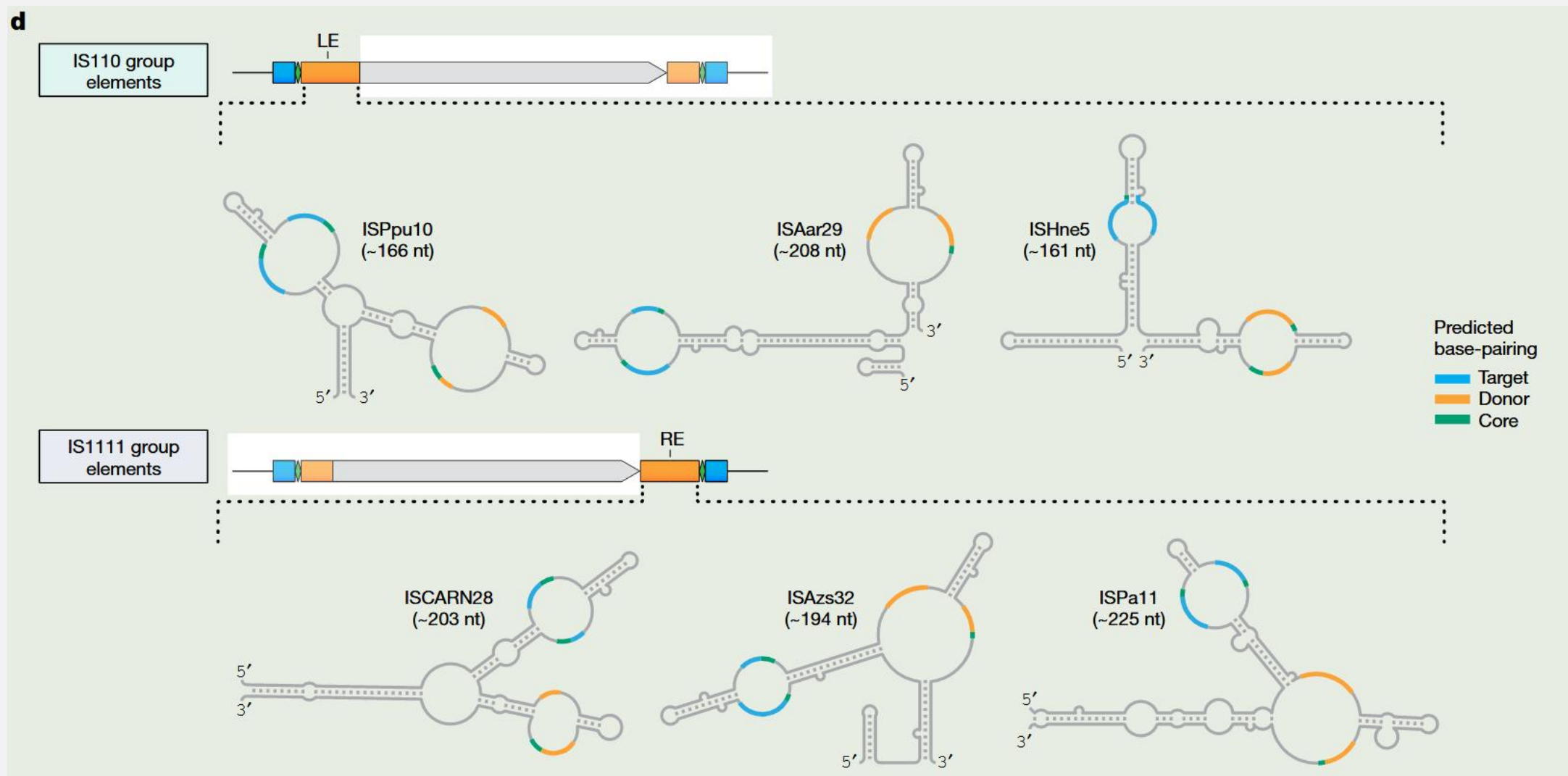
【【陈巍学基因】131: Bridge RNA 做基因编辑】

https://www.bilibili.com/video/BV1zVsUeREY3?vd_source=29c2f11b1845c6055da8c4a6f8cf08e7

【大片段基因敲入工具整理（排名不分先后，全随机）】

<https://www.bilibili.com/opus/955801240401346567>

说明多彩多样的Bridge RNA





过渡页

Part 3

筑桥引路
改写天书

“先破后立”的

CRISPR

“断筋”
制造DNA
依赖细胞



NA,
合”

CRISPR之“限”

擅长范围：精准编辑的最佳范围通常在1到100个碱基对 (bp) 内，适用于点突变或小片段的修复。

固有瓶颈：进行大片段 (>100 bp) 的精准插入或替换效率极低。

根本原因：其依赖的细胞内源修复机制（如同源定向修复，HDR）在应对长片段供体时效率急剧下降，且易引入错误。



Bridge RNA编辑之“广”

已验证能力：2024年《自然》的研究中，使用该桥RNA系统，成功实现了将4.85 kb的质粒DNA精准插入大肠杆菌基因组，并证实了其可编程的靶向能力。

核心机制：其“桥接-重组”机制不依赖细胞的低效修复路径，而是通过重组酶直接执行，编辑效率与片段长度的相关性更小。

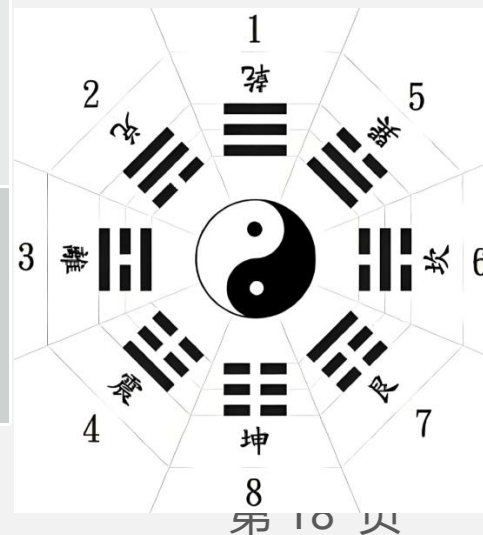
应用意义：这使整段致病基因的替换、大型调控序列的删除或倒位等以往难以实现的复杂编辑成为可能。

Bridge RNAs direct programmable recombination of target and donor DNA.
<https://escholarship.org/uc/item/7zc5p3zt>

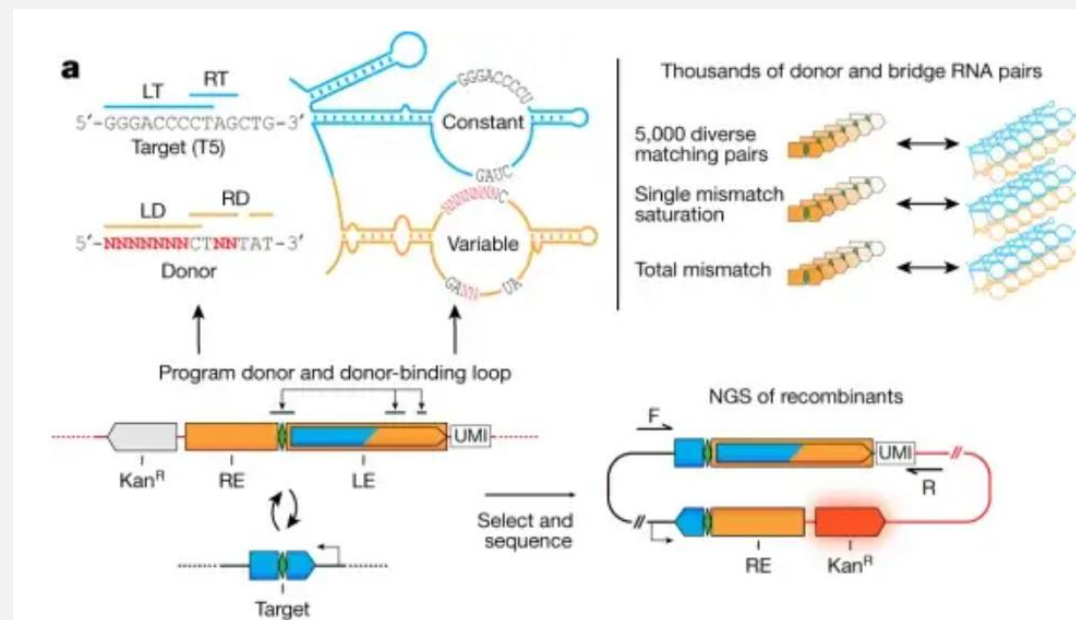
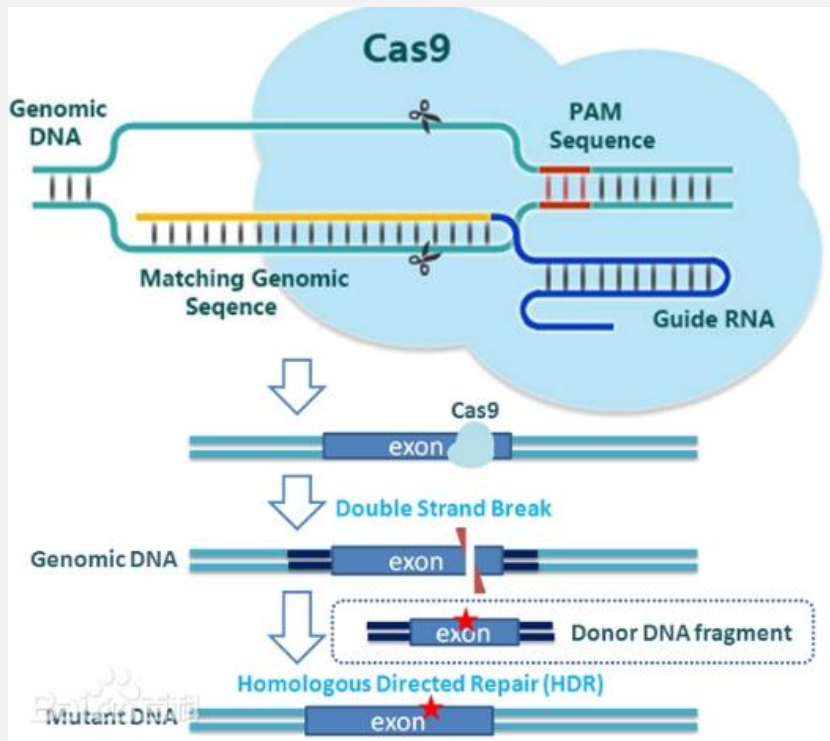
阴阳为器，八卦成列

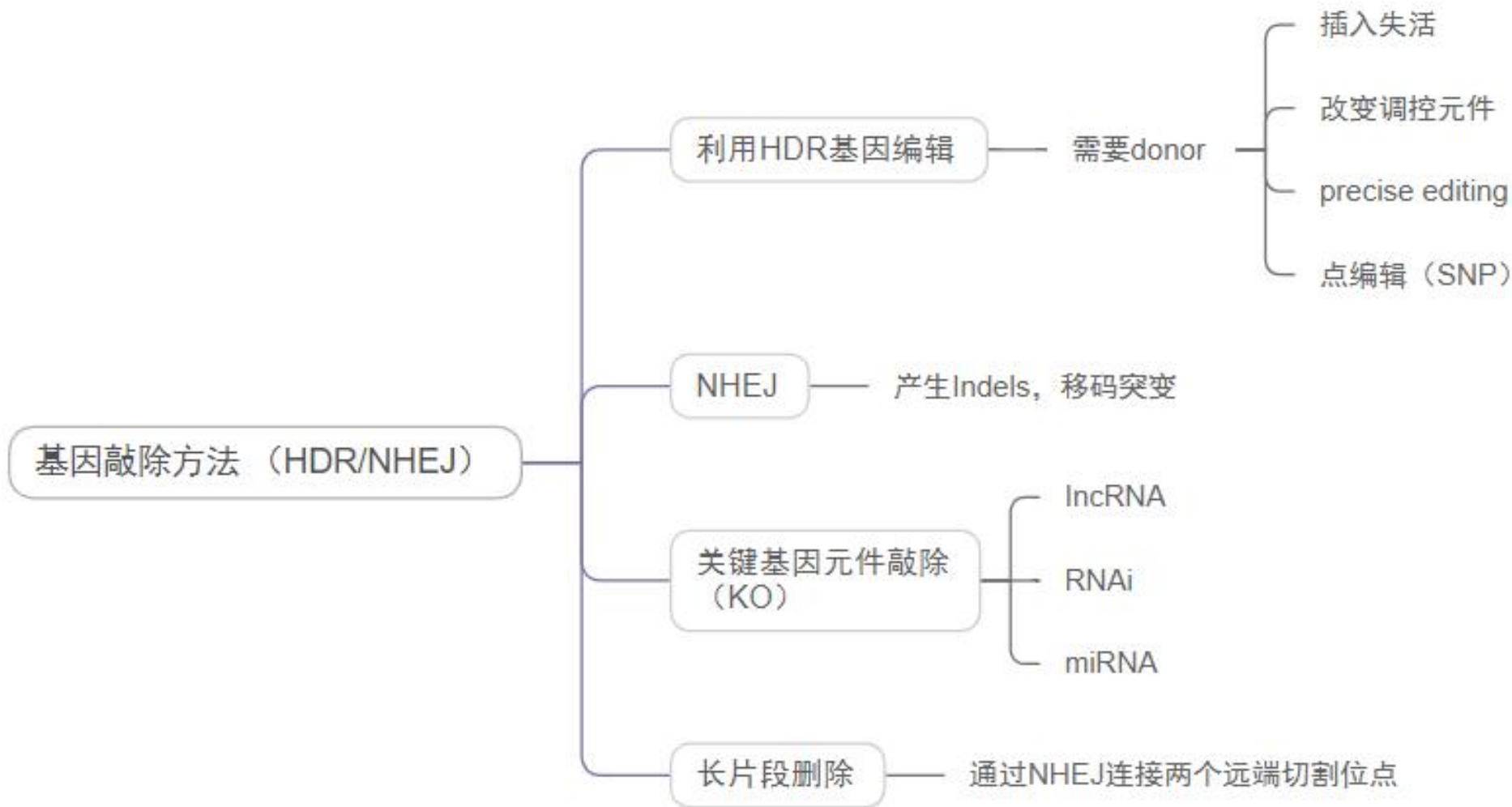


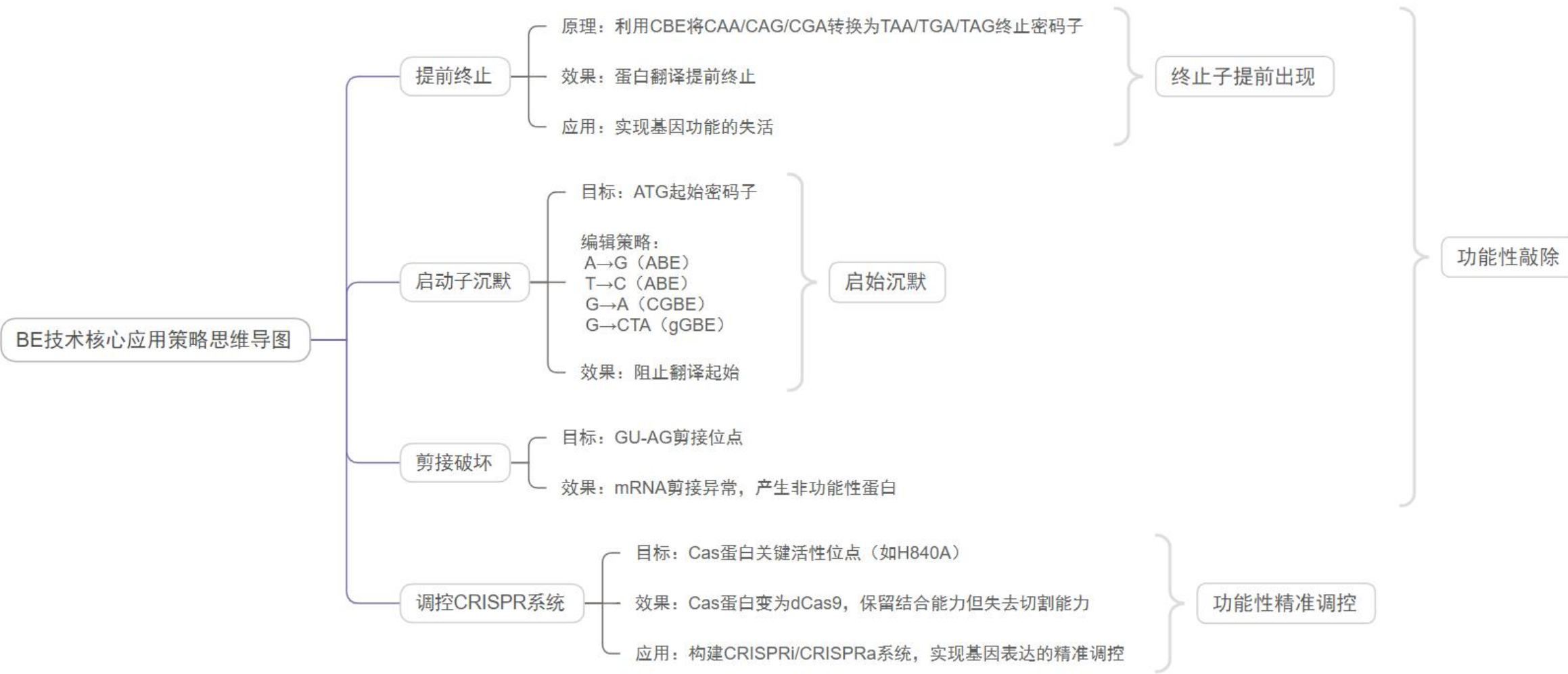
对比维度	CRISPR (sgRNA)	Bridge RNA
核心架构与功能	单链融合结构 (crRNA+tracrRNA) : → 5' 端识靶, 3' 端固定结合 Cas9 → 无供体识别模块	模块化指令 “桥RNA” 是一个功能解耦的结构, 包含两个独立可编程的环 (TBL和DBL), 分别专用于识别。
可编程性逻辑	靶点变更需整体替换 sgRNA (改识靶序列 + 保 Cas9 结合) 供体为外源独立提供, 无关联调控:	独立修改, 自由组合 可单独修改靶向环 (TBL) 以瞄准新位置, 或单独修改供体环 (DBL) 以携带新片段。
作用机制与灵活性	依赖 Cas9 切割 DNA + 细胞修复 (NHEJ/HDR); 大片段编辑 (倒位 / 插入) 复杂	无需 DNA 断裂, 直接介导重组; 天然支持多类型重排, 单步完成复杂编辑

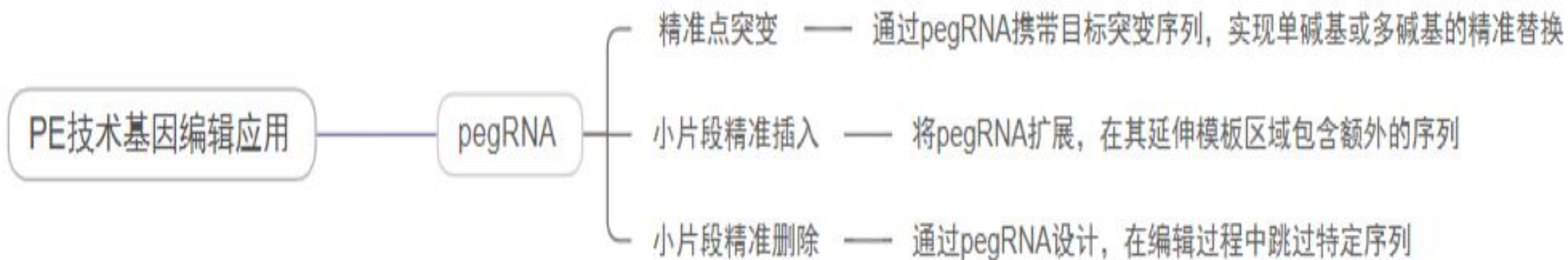


直观对比











过渡页

Part **4**

桥链核酸 焕新赋能

桥链核酸，焕新赋能



Science

RESEARCH ARTICLES

Cite as: N. T. Perry *et al.*, *Science*
10.1126/science.adz0276 (2025).

Megabase-scale human genome rearrangement with programmable bridge recombinases

Nicholas T. Perry^{1,2,3}, Liam J. Bartie^{1,2,3}, Dhruva Katrekar¹, Gabriel A. Gonzalez¹, Matthew G. Durrant¹, James J. Pai¹, Alison Fanton^{1,2,3}, Juliana Q. Martins^{1,4}, Masahiro Hiraizumi⁵, Chiara Ricci-Tam¹, Hiroshi Nishimasu^{5,6,7}, Silvana Konermann^{1,8*}, Patrick D. Hsu^{1,2,9*}

第一作者: Nicholas T. Perry
机构: Arc Institute
加州大学伯克利分校生物工程博士

通讯作者: Patrick D.
Hsu

标题中文翻译:
《可编程桥式重组酶实现人类基因组百万碱基级别重排》

Science

RESEARCH ARTICLES

Cite as: N. T. Perry *et al.*, *Science*
10.1126/science.adz0276 (2025).

Megabase-scale human genome rearrangement with programmable bridge recombinases

Nicholas T. Perry^{1,2,3}, Liam J. Bartie^{1,2,3}, Dhruva Katrekar¹, Gabriel A. Gonzalez¹, Matthew G. Durrant¹, James J. Pai¹, Alison Fanton^{1,2,3}, Juliana Q. Martins^{1,4}, Masahiro Hiraizumi⁵, Chiara Ricci-Tam¹, Hiroshi Nishimasu^{5,6,7}, Silvana Konermann^{1,8*}, Patrick D. Hsu^{1,2,9*}

¹Arc Institute, 3181 Porter Drive, Palo Alto, CA, USA. ²Department of Bioengineering, University of California, Berkeley, Berkeley, CA, USA. ³University of California, Berkeley - University of California, San Francisco Graduate Program in Bioengineering, Berkeley, CA, USA. ⁴Department of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley, Berkeley, CA, USA. ⁵Department of Chemistry and Biotechnology, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan. ⁶Structural Biology Division, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo, 4-6-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo, Japan. ⁷Inamori Research Institute for Science, 620 Suiginaya-cho, Shimogyo-ku, Kyoto, Japan. ⁸Department of Biochemistry, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA. ⁹Center for Computational Biology, University of California, Berkeley, Berkeley, CA, USA.

*Corresponding author. Email: patrick@arcinstitute.org (P.D.H.); silvana@arcinstitute.org (S.K.)

Bridge recombinases are naturally occurring RNA-guided DNA recombinases that we previously demonstrated can programmably insert, excise, and invert DNA in vitro and in *Escherichia coli*. In this study, we report the discovery and engineering of the bridge recombinase ortholog ISCro4 for universal rearrangements of the human genome. We defined strategies for the optimal application of bridge systems, leveraging mechanistic insights to improve their targeting specificity. Through rational engineering of the ISCro4 bridge RNA and deep mutational scanning of its recombinase, we achieved up to 20% insertion efficiency into the human genome and genome-wide specificity as high as 82%. We further demonstrated intrachromosomal inversion and excision, mobilizing up to 0.93 megabases of DNA. Lastly, we provided proof-of-concept for plasmid-based excision of disease-relevant gene regulatory regions or repeat expansions.

Downloaded from https://www.science.org at 1

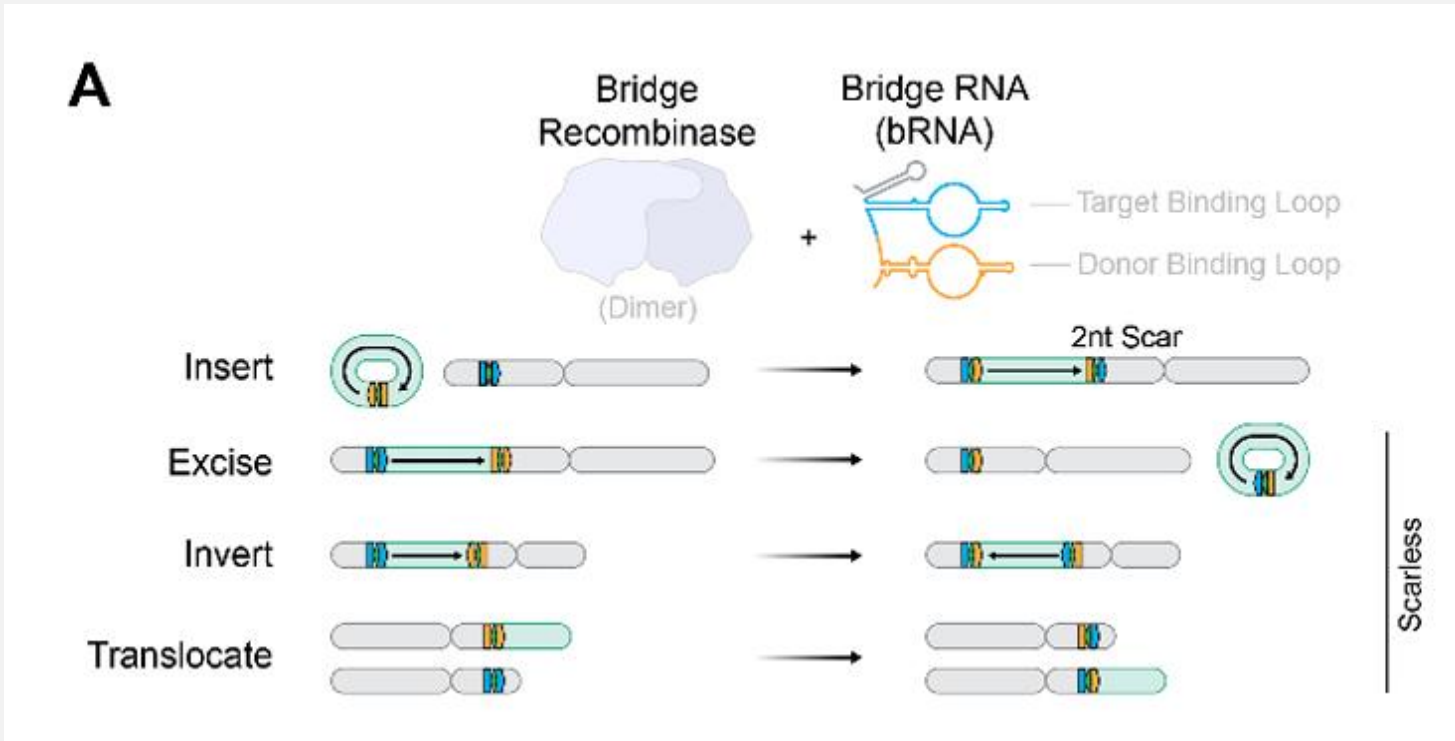
研究概述

利用Bridge RNA 实现人类基因组的大尺度可编程重组

要点

- 1、基因组结构变异在遗传疾病与表型调控中起关键作用
- 2、现有编辑工具难以实现 无需预装位点的 Mb 级 DNA 重排
- 3、本研究引入 Bridge RNA-recombinase 系统 Bridge RNA 作为双特异性引导元件：同时指定重组位置与重组对象
- 4、为人类基因组工程提供新的技术范式

桥链核酸，焕新赋能



Bridge RNA 在本研究中做什么？

利用Bridge RNA 实现**人类基因组的大尺度可编程重组**

正文要点

Bridge RNA 是：DNA 重排的“编程元件”
决定：
在哪里发生重组 (target)
与哪一段 DNA 发生重组 (donor 或第二靶点)
重组酶只是“执行者”

桥链核酸，焕新赋能



对比维度	CRISPER-Cas 技术	Bridge RNA技术	Bridge RNA的应用优势
DNA识别方式	单一gRNA识别一个DNA位点	Bridge RNA同时识别两个DNA位点	可同时指定重组位置和重组对象
编辑基本机制	DNA双链断裂+细胞修复	RNA引导DNA重组反应	不依赖细胞修复系统
编辑尺度	通常bp-kb级	Kb-Mb级	适合大尺度结构变异
是否依赖HDR	是（插入时）	否	在非分裂细胞中更有潜力
供体DNA控制	Donor不可编程	Donor由bridge RNA指定	更高的编辑逻辑自由度
结构变异类型	插入\删除为主	插入\倒位\切除	可处理复杂结构重排
适合研究的问题	单基因功能	结构变异、重复扩增	适合疾病模型研究

Bridge RNA让：“人类细胞应用”成为可能

由于 bridge RNA 能同时识别目标 DNA 与供体 DNA，该系统能够在不依赖双链断裂和细胞修复机制的情况下，实现 kb 至 Mb 级别的基因组结构重排。这一特性使其特别适用于研究复杂结构变异和重复序列相关疾病



Part **5**

**继往开来
桥接未来**

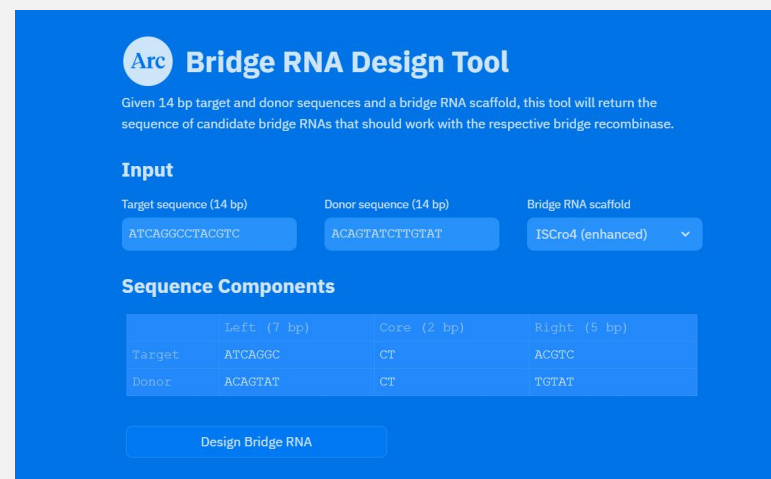
当前面临的“风浪”

- **工具开发**：急需用户友好的RNA设计软件和标准化实验方案。
- **效率优化**：在更复杂的真核基因组环境中，其效率和特异性有待验证与提升。
- **递送挑战**：如何将Bridge RNA系统高效递送至动植物细胞核。



Patrick D. Hsu Nicholas T. Perry

分子稳定性与活性	蛋白质与RNA工程
靶向精度与脱靶效应	特异性筛选与设计优化
大片段重组效率	复合物稳定性与辅助因子
递送与表达控制	单一RNA递送策略



<https://arcinstitute.org/tools/bridge>

当前面临的“风浪”



复合体复杂性	Bridge RNA系统需要将重组酶蛋白和RNA分子共同递送进入细胞核，形成一个功能复合体。
植物特有障碍	1.细胞壁屏障：坚硬的细胞壁是物理障碍 2.跨组织运输：如何让编辑系统在整株植物中有效递送是一个长期难题。
效率与特异性	递送后，需要在目标细胞/组织中有足够高的效率和特异性，才能实现可重复的编辑效果。

Article | [Open access](#) | Published: 26 June 2024

Structural mechanism of bridge RNA-guided recombination

Masahiro Hiraizumi, Nicholas T. Perry, Matthew G. Durrant, Teppei Soma, Naoto Nagahata, Sae Okazaki, Januka S. Athukoralage, Yukari Isayama, James J. Pai, April Pawluk, Silvana Konermann, Keitaro Yamashita, Patrick D. Hsu & Hiroshi Nishimasu

Nature 630, 994–1002 (2024) | [Cite this article](#)

Megabase-scale human genome rearrangement with programmable bridge recombinases

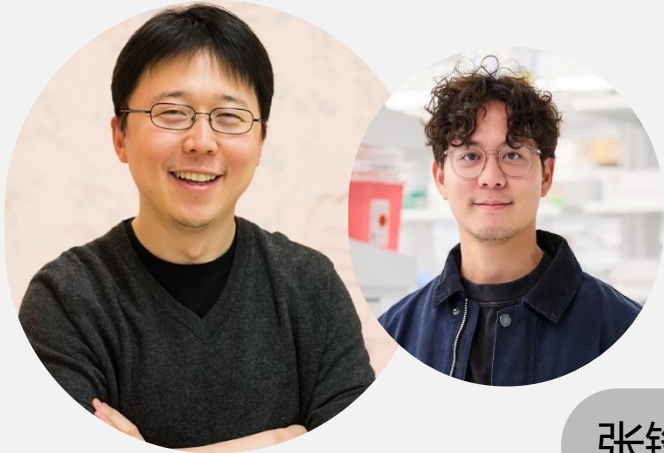
NICHOLAS T. PERRY, LIAM J. BARTIE, DHRUVA KATREKAR, GABRIEL A. GONZALEZ, MATTHEW G. DURRANT, JAMES J. PAI, ALISON FANTON, JULIANA Q. MARTINS, MASAHIRO HIRAIZUMI, [...], AND PATRICK D. HSU +3 authors [Authors Info & Affiliations](#)

SCIENCE · 25 Sep 2025 · First Release · DOI:10.1126/science.adz0276

Bridge RNAs direct programmable recombination of target and donor DNA

[Durrant, Matthew G](#); [Perry, Nicholas T](#); [Pai, James J](#); [Jangid, Aditya R](#); [Athukoralage, Januka S](#); 等. > [Nature; London](#) Vol. 630, Iss. 8018, (Jun 27, 2024): 984-993,993A-993Q. DOI:10.1038/s41586-024-07552-4

光明的“航向”



张锋 Patrick D. Hsu

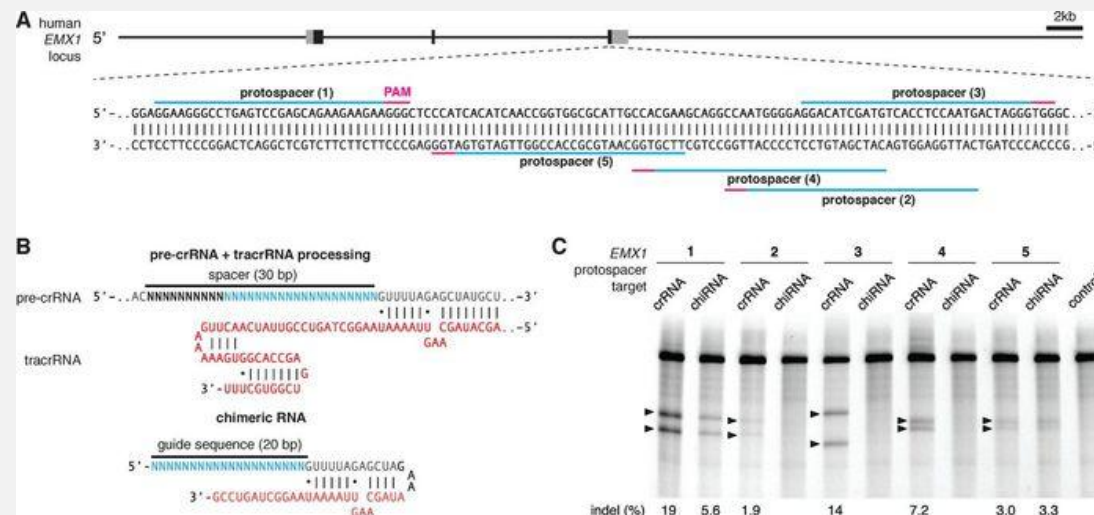
- 它代表了一类全新的可编程重组酶家族，有巨大工程化改造空间。
- 有望与CRISPR等现有技术互补融合，形成更强大的编辑工具箱。
- 最终目标：实现对基因组序列与结构的真正“书写式”编程，为生物学研究和生物制造开辟新纪元。

	CRISPR-Cas等核酸酶系统	Bridge RNA桥接重组酶系统
核心功能	分子剪刀：切割DNA。	分子针线：直接连接/重组DNA。
作用机制	制造DNA双链断裂(DSB)，依赖细胞自身(易错)修复。	无需切断DNA，直接催化两段DNA的位点特异性互换。
编辑逻辑	“破坏并希望正确修复”：结果高度不可控，易产生插入/缺失。	“精准剪切与粘贴”：过程与结果可程序化预测，实现无缝编辑。
编辑产物	高度依赖NHEJ/HDR通路，产物复杂。	理论上可实现精准、无痕的单一产物。
代表工具	Cas9 (切割器), Base Editor (修改器)	可编程重组酶 (书写器/重组器)

光明的“航向”

- 场景互补：CRISPR负责“破坏与标记”，Bridge RNA负责“重建与书写”
- 流程协同：串联 workflow，实现复杂编辑

- 从“修改错字”到“重写段落”
- 从“依赖修复”到“直接合成”
- 为研究和生物制造开辟新纪元



Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems, Volume: 339, Issue: 6121, Pages: 819-823, DOI: (10.1126/science.1231143)

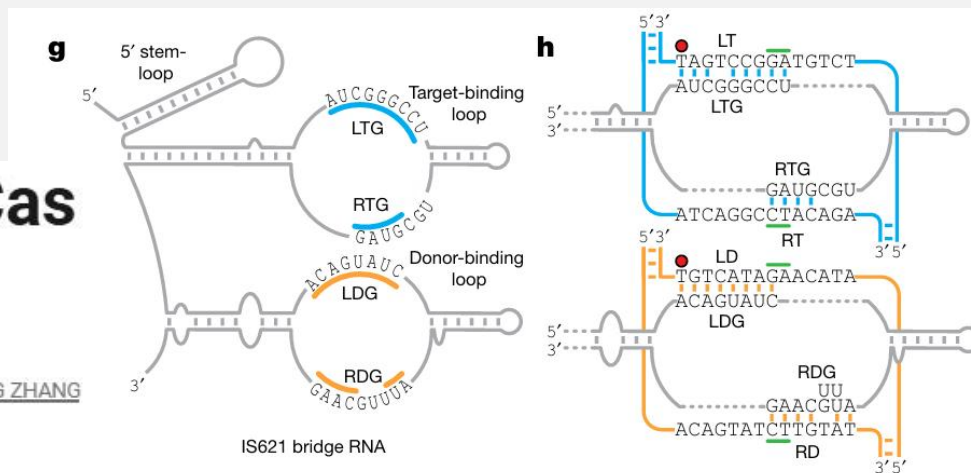
Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems

LE CONG, F. ANN RAN, DAVID COX, SHUALIANG LIN, ROBERT BARRETTO, NAOMI HABIB, PATRICK D. HSU, XUEBING WU, WENYAN JIANG, [...], AND FENG ZHANG

+1 authors

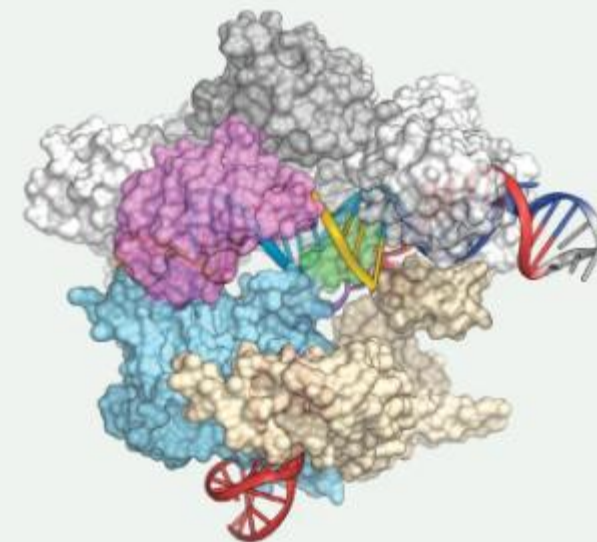
[Authors Info & Affiliations](#)

SCIENCE • 3 Jan 2013 • Vol 339, Issue 6121 • pp. 819-823 • DOI: 10.1126/science.1231143



IS621 bridge RNA

- Bridge RNA以其“筑桥”的智慧，绕开了传统编辑的“断裂”困局。
- 它正为我们“引路”，指向一个可精准、可编程、可复杂编辑的未来。
- 改写生命“天书”的征程刚刚开始，而Bridge RNA已为我们翻开了**范式革命的新篇章**。



BIOLOGICAL PROGRAMMING



西北农林科技大学
NORTHWEST A&F UNIVERSITY

演示完毕 感谢垂听!

答辩人：苏晴 杨稻男 张馨予 王卓 江立行

指导老师：徐坤副教授

