

◆ 专论:几丁质农药(特约稿) ◆

靶向几丁质生物学过程的RNA农药研究进展

张馨元¹, 于鑫蕊¹, 程思恒¹, 冯梓睿¹, 张正¹, 张熙悦¹, 杨青^{2,3}, 杨君^{1*}

(1. 大连理工大学生物工程学院 辽宁大连 116024 2. 中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室 北京 100193 3. 中国农业科学院农业基因组研究所 农业农村部基因组分析实验室 广东深圳 518120)

摘要:基于RNA干扰原理开发的RNA农药具有高效、高特异性和环境友好等特点,成为引领新一代农业病虫害精准防控的重要方向。RNA农药设计主要基于序列信息匹配,存在脱靶效应对非靶标生物及田间有益生物潜在不良影响,因此绿色防控靶标导向的RNA农药设计具有重要意义。几丁质是害虫和病原真菌的关键组分,但在脊椎动物和植物中不存在,因此其生物过程中关键基因为RNA农药设计提供了理想的分子靶标。本文系统介绍了靶向合成、水解与修饰的几丁质生物学过程的RNA干扰研究进展,旨在为推动RNA农药在农业绿色可持续发展中的实际应用提供思路。

关键词:RNA 农药;几丁质合成;几丁质水解;几丁质修饰

中图分类号:TQ 450 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2025.04.002

Research progress of RNA pesticides targeting chitin biological process

ZHANG Xinyuan¹, YU Xinrui¹, CHENG Siheng¹, FENG Zirui¹, ZHANG Zheng¹, ZHANG Xiyue¹, YANG Qing^{2,3}, YANG Jun^{1*}

(1. School of Bioengineering, Dalian University of Technology, Liaoning Dalian 116024, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. Genome Analysis Laboratory of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Agricultural Genomics Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Guangdong Shenzhen 518120, China)

Abstract: RNA pesticides, developed based on RNA interference (RNAi), offer advantages including high efficiency, high specificity, and environmental friendliness, making them a leading approach for the next generation of precision pest and disease control in agriculture. Currently, the design of RNA pesticides primarily relies on sequence base pairing, which carries risks of off-target effects and potential adverse impacts on non-target organisms and beneficial species in the field. Therefore, target-orientation design for green pest control is of significant importance. Chitin, a key structural component in pests and pathogenic fungi, is absent in vertebrates and plants, rendering the key genes involved in its biological process ideal molecular targets for RNA pesticide design. This article systematically reviewed recent advances in RNAi research targeting the synthesis, hydrolysis, and modification of chitin. The purpose was to offer insights to advance the practical application of RNA pesticides towards green and sustainable agricultural development.

Key words: RNA pesticide; chitin synthesis; chitin hydrolysis; chitin modification

RNA农药因其具有靶点丰富、特异性高、可灵活设计、易降解等特点,被列为“第三次农药革命”的核心方向,在农业病虫害管理和除草等领域中展现出了巨大的潜力,目前已有多款RNA农药进入商

品化阶段^[1]。美国《科学》杂志将“RNA杀虫剂应用于田间”评选为2024年度十大科学突破之一。我国农业农村部也在《全国农业科技创新重点领域(2024—2028年)》中明确指出RNA生物农药作为重

收稿日期:2025-06-23

基金项目:国家重点研发计划(2022YFD1700203)

作者简介:张馨元,博士研究生。研究方向:RNA农药。E-mail: zhangxinyuan@mail.dlut.edu.cn

通信作者:杨君,教授。研究方向:RNA农药。E-mail: junyang@dlut.edu.cn

点发展方向。RNA干扰(RNAi)技术是RNA农药的主要作用机制。通过将双链RNA(dsRNA)递送至目标细胞,dsRNA被细胞内的Dicer酶切割为包含21~23个核苷酸的小干扰RNA(siRNA),siRNA随后被整合至RNA诱导沉默复合体(RISC)中,通过碱基互补配对识别靶标mRNA,切割靶标mRNA或抑制其翻译^[2]。RNA农药设计主要基于序列信息匹配,但一定程度上存在脱靶效应和对非靶标生物及田间有益生物的不良影响,因此绿色防控靶标导向的RNA

农药设计具有重要意义。几丁质是节肢动物各组织及真菌细胞壁的重要结构成分,对生物体的生长发育和适应性至关重要^[3]。靶标几丁质生物过程相关基因能够精准干扰有害生物的生命周期,同时避免对非靶标生物及生态系统产生负面影响,因此成为了RNA农药的理想靶标^[3]。本文聚焦RNA农药的靶标选择、分子设计与合成、递送技术等方面的研究进展,分析了以几丁质生物学过程为RNA农药靶标的可能性及研究现状,并对其未来发展进行展望(图1)。

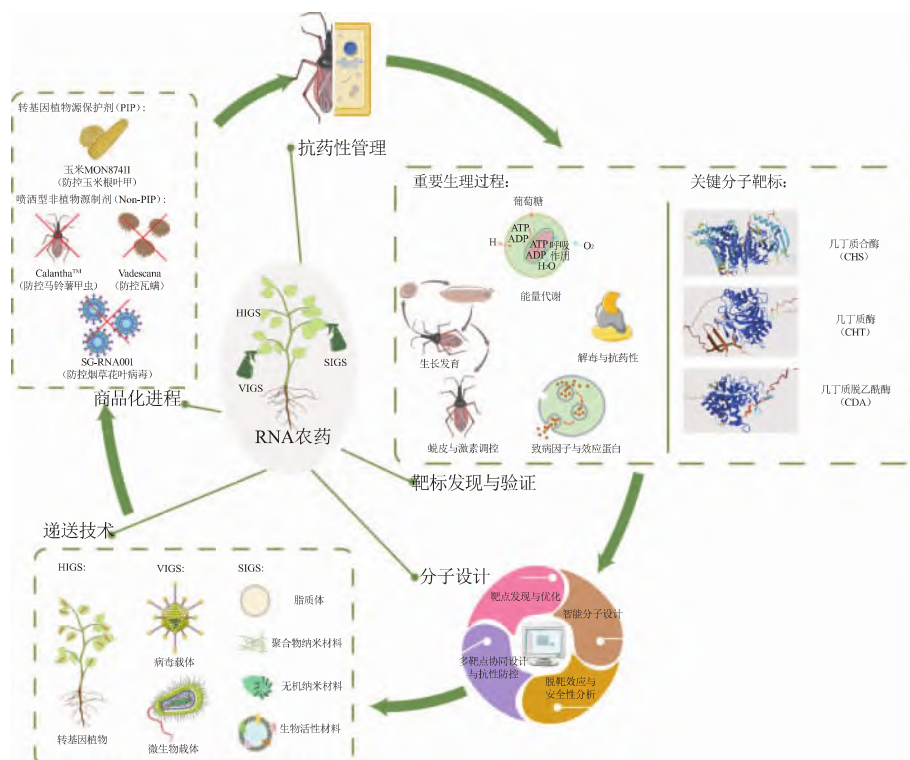


图1 靶向几丁质生物过程的RNA农药研究思路

1 RNA农药的靶标选择

传统农药靶点的研究中,受现有化学空间多样性及高通量筛选技术的限制,许多蛋白具有缺乏明确的配体结合口袋、非催化的蛋白-蛋白相互作用结合区域和蛋白晶体结构研究极少等特点,使其难以成为传统农药的靶点^[4]。而RNA农药的主要作用方式是基于碱基互补配对原则,能够攻克传统农药的“不可成药”靶点问题,使其拥有丰富的靶标选择。

目前, RNA农药靶标选择主要聚焦于调控病虫害重要功能基因,如生长发育、能量代谢、解毒与抗药性、蜕皮与激素调控,以及致病因子与效应蛋白等,通过抑制相关基因的表达实现精准防控^[1,5-8]。如抑制靶标 β -肌动蛋白、纤维素合成酶等生长发育相关的基因,使有害生物在幼年或细胞结构形成特定

阶段死亡^[5]。靶向V-ATPase亚基等能量代谢基因或相关通路基因则可引发有害生物肠道等相关功能的崩溃而死亡^[6]。靶向细胞色素P450等解毒与抗药性相关的基因能够沉默靶标生物的解毒代谢和应激刺激下表达的相关基因^[1]。靶向乙酰胆碱酯酶等蜕皮与激素调控基因能够抑制害虫幼虫蜕皮等生长发育过程^[1]。靶向毒力因子相关基因能够阻断病原菌的致病途径,从而提高作物产量^[7]。此外,还有研究通过参与病原菌内源RNAi通路,靶向Dicer酶基因,从而增强外源RNAi的沉默效率^[8]。

基于碱基互补配对原则的RNA农药设计具有灵活性,但同时也带来了新的挑战。在靶点选择时,靶标基因由于序列同源性存在一定的脱靶效应和安全风险,可能会对非靶标哺乳动物或有益生物造成干扰。如Mogren等^[9]从蜜蜂基因组中鉴定出101个

区域与杀虫剂dsRNA具有高度序列相似性。此外,大规模使用RNA产品将增加选择抗性等位基因的压力,从而导致抗药性。最新的研究揭示,含有DvSnf7 dsRNA的转基因玉米在实验室经过11代迭代后,西方玉米根虫对其抗性增加了130倍^[10]。另一项研究发现,通过叶面喷洒方式靶向柳叶甲虫幼虫Srp54k基因的dsRNA,种群在第7代后表现出超过4 110倍的抗性^[11]。虽然RNA农药能够通过抗性基因筛查实现快速的针对性、反抗性设计,甚至可以通过多靶设计靶向有害生物的多个基因或多个有害生物,以提升RNA农药的抗药性与广谱性。但是,绿色防控靶标导向的RNA农药设计始终是绿色防控的首选,通过平衡靶效强度与脱靶/非靶风险,

为RNA农药的精准化应用提供技术支撑。

2 靶向几丁质生物学过程的RNA干扰研究

几丁质(β -(1,4)-聚-*N*-乙酰葡萄糖胺)是自然界储量第二丰富的天然多糖,广泛分布于节肢动物(如昆虫、甲壳类)、真菌、线虫及部分原生生物中^[3]。在昆虫中,几丁质是外骨骼、气管系统和围食膜的核心组分,对蜕皮、形态形成及机械保护能够起到关键作用^[12];在真菌中,几丁质是细胞壁骨架的组成成分,能够维持菌体的形态及抗逆性^[3]。在生物体内,严格精细调控几丁质合成、水解与修饰的生物学过程对生长发育和免疫应答等生理途径至关重要。几丁质生物学过程见图2。

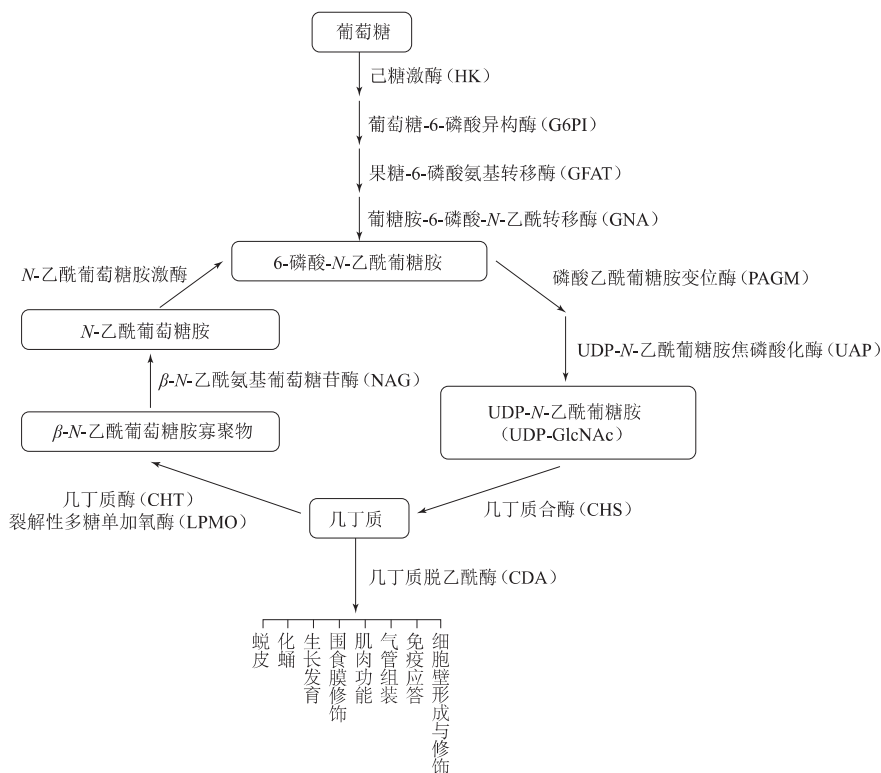


图2 几丁质生物学过程

2.1 靶向合成过程:几丁质合酶(CHS)

几丁质不存在于植物和脊椎动物中,因此参与几丁质合成过程的关键酶——几丁质合酶(chitin synthase, CHS, EC 2.4.1.16)是高效、安全、生态友好的农药靶标^[3]。

CHS为跨膜糖基转移酶,它作为几丁质生物合成的核心催化酶,参与昆虫的表皮、气管和围食膜的合成与病原真菌的菌丝生长和致病性等多种生理过程(见表1)^[12]。如对蚜虫类害虫若虫期的CHS基因靶向沉默,蚜虫的死亡率超过40%,且其繁殖能力

显著降低^[13]。对欧洲玉米螟幼虫中肠特异性CHS2的靶向沉默显著降低了昆虫围食膜中几丁质的含量,并抑制了幼虫生长^[14]。针对黄野螟幼虫至蛹时期的dsRNA,通过抑制CHSB的基因表达,黄野螟的存活率仅为43.33%,且伴有异常表型^[15]。在真菌中,靶向抑制灰霉病菌CHS基因的表达,降低了病原菌的侵染能力,有效降低了55.5%~86.7%的植物病害严重程度^[16]。通过对黑曲霉菌的CHSA基因沉默,抑制了病原菌繁殖,导致分生孢子严重缺陷,并阻碍隔膜等细胞结构的生成^[17]。传统观点认为,卵菌(如大豆疫

霉、辣椒疫霉和致病疫霉)不含几丁质,但近年的研究发现,其基因组中也存在功能性几丁质合酶的基因^[3,18]。通过与真菌CHS基因比较,发现致病疫霉菌基因组中存在CHS的关键功能域,如QRXRW基序、DXD金属离子结合位点和跨膜结构域等,但其进化路径独立于真菌,表明可能是通过早期基因复制演化而来^[18]。Cheng等^[19]研究发现,几丁质存在于辣椒

疫霉和大豆疫霉的游动孢子和释放孢子囊中,敲除相关基因会影响两者的生长、繁殖和致病性。尼克霉素Z处理致病疫霉会显著影响其菌丝生长,表明CHS可能参与了细胞壁的动态合成^[20]。因此,靶向CHS的RNAi策略可有效破坏几丁质的合成稳态,严重影响有害生物的生长、繁殖、侵染能力等,为害虫与病原真菌防控提供新思路。

表 1 以几丁质生物学过程为靶标的 RNA 农药研究进展

靶标	物种	分类	有害生物	基因沉默效果
CHS	昆虫 ^[13-15]	半翅目(Hemiptera)	桃蚜、棉蚜、柑橘木虱	抑制幼虫到成虫的发育,并显著降低其繁殖能力
		鳞翅目(Lepidoptera)	欧洲玉米螟、黄野螟、马铃薯块茎蛾	
		双翅目(Diptera)	白纹伊蚊	
	真菌 ^[16-17]	肉座菌目(Hypocreales)	禾谷镰孢菌	阻碍真菌细胞壁和隔膜等细胞结构的生成
		散囊菌目(Eurotiales)	黑曲霉菌	
		核菌纲(Pyrenomycetes)	灰霉病菌	
CHT	昆虫 ^[21-22]	鳞翅目(Lepidoptera)	水稻二化螟、小地老虎、小菜蛾、黏虫、美国白蛾、秋黏虫、棉铃虫	阻碍昆虫蜕皮、化蛹和羽化等正常生理活动
		半翅目(Hemiptera)	柑橘木虱	
		鞘翅目(Coleoptera)	赤拟谷盗、松墨天牛	
		双翅目(Diptera)	黑腹果蝇	
	真菌 ^[23-24]	子囊菌门(Ascomycota)	稻瘟病菌	影响病原菌菌丝的生长、产孢以及侵染致病能力
		白粉菌目(Erysiphales)	葫芦科白粉菌	
CDA	昆虫 ^[25-27]	鳞翅目(Lepidoptera)	美国白蛾、番茄潜叶蛾、黄野螟	阻碍昆虫蜕皮、羽化等生理功能,导致微管发育中止、半粘附连接丧失和肌腱细胞形态异常,成虫的肢体运动受损
		鞘翅目(Coleoptera)	赤拟谷盗、药材甲	
	真菌 ^[28]	白粉菌目(Erysiphales)	葫芦科白粉菌、禾本科布氏白粉菌	阻断真菌触发免疫反应和细胞壁结构生成等生理活动

2.2 靶向水解过程:几丁质酶(CHT)

几丁质酶(chitinase, CHT, EC 3.2.1.14)是糖苷水解酶,采用底物辅助催化机制,将几丁质水解为β-N-乙酰葡萄糖胺寡聚物(图2)^[3]。CHT结构通常包含催化结构域(水解几丁质链)、几丁质结合结构域(CBM,增强底物亲和力),部分还包含信号肽或延伸结构域。昆虫中的CHT主要有3种:CHTII作为“先锋酶”,它能够破坏几丁质的致密结构,并辅助其他酶作用;CHTI、CHI-h与CHTIV能够协同降解表皮几丁质,形成高效的水解途径。而真菌中的CHT主要参与细胞壁重塑与生长、营养与寄生、防御信号激发等多种生理过程。如针对水稻二化螟幼虫的CHTI、CHTIII和CHTIV基因沉默,使其蜕皮受阻,死亡率达75%^[21]。针对赤拟谷盗多生长阶段的CHT靶向沉默,能影响害虫的生长发育,阻碍其孵化、蜕皮和化羽等过程^[22]。分别对稻瘟病菌的15个CHT家族基因靶向沉默,会影响病原菌的菌丝生长、产孢以及侵染致病能力^[23]。对葫芦白粉病中具有几丁质酶

活性的EWCAs(effectors with chitinase activity)家族靶向沉默,可激活植物对病原菌的免疫反应^[24]。

与几丁质合酶不同,几丁质酶广泛分布于微生物、昆虫、植物、脊椎动物及病毒中,在自然界的碳、氮素循环,微生物侵染,机体免疫,生物防御等方面发挥作用^[29]。几丁质酶分布和功能的多样性表明其在病虫害综合防控中可能发挥更为广泛的作用,如利用其生理功能重要的特性作为RNAi农药开发的靶标,而利用其跨界生物防御的特性则可以开发为mRNA药物。此外,几丁质的降解并非仅由几丁质酶参与。研究发现,裂解性多糖单加氧酶(LPMO)能够将几丁质的C1位置氧化,辅助CHT将几丁质水解为β-N-乙酰葡萄糖胺寡聚物,提高几丁质酶对几丁质的降解效率,参与宿主细胞壁的穿透与侵染过程^[30]。由此可见,几丁质水解是一个复杂的生物过程,需要多种酶协同参与,为RNA药物设计提供了多样性的靶标来源。几丁质酶的作用及序列同源性见表2。

表 2 不同来源的几丁质酶的作用及序列同源性

几丁质酶来源	宿主类型	几丁质酶作用	序列同源性
真菌 ^[29-30]	植物	干扰植物免疫 ,促进病原菌生长	功能相似酶的序列同源性高 ,GH18催化域保守 ,但功能差异酶同源性较低
	脊椎动物	促进菌丝伸长 ,降解肺组织	
	昆虫	降解昆虫角质层 ,促进菌丝侵入 ,增强病原菌毒力	
	线虫	帮助降解卵壳	
细菌 ^[29]	真菌	降解破坏真菌体内几丁质 ,影响其生长发育及致病能力	同属内序列同源性高 ,但跨属相似性较低
	脊椎动物	促进定植和侵入细胞 ,与宿主糖蛋白互作 ,抑制宿主先天免疫	
	植物	作为植物共生菌 ,协助抵抗病原菌侵染或帮助植物根际促生	
昆虫 ^[21-22]		降解旧表皮几丁质层 ,协助蜕皮 ;更新围食膜 ,保护中肠并辅助营养吸收	具有典型的桶状催化结构域 ,含保守的活性位点 ,不同目同源性较低
植物 ^[31]		降解真菌细胞壁几丁质 ,激活植物免疫反应 ,抑制病原菌侵染	GH19家族结合域和催化域较保守
脊椎动物 ^[32]		降解体内几丁质成分 ,消化甲壳类食物 ,参与抗病原菌侵染	含有保守催化域
病毒 ^[29]	昆虫	破坏昆虫围食膜、昆虫液化、与病毒蛋白酶协同作用 ,促进病毒释放	科内序列同源性高 ,催化位点较为保守 ,含特有的ER滞留基序

2.3 靶向修饰过程:几丁质脱乙酰酶(CDA)

几丁质脱乙酰酶 (chitin deacetylase ,CDA ,EC 3.5.1.41)属于糖酯酶4家族(CE4) ,是一种金属酶 ,依赖锌离子激活。CDA的催化机制是通过水解几丁质中N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)的乙酰基 ,将其转化为氨基葡萄糖(GlcN) ,从而参与不同的生理活动(图2)。真菌中CDA通过几丁质乙酰化参与细胞壁的形成与修饰 ,还能够影响真菌的免疫应答 ,帮助病原体逃逸植物识别 ;昆虫体内CDA则参与蜕皮化蛹、生长发育、围食膜修饰等多个过程。目前 ,已有研究通过RNAi靶向沉默CDA基因 ,影响昆虫和真菌的正常生长。如对赤拟谷盗成虫的CDA基因沉默 ,发现其会导致微管发育中止、半粘附连接丧失和肌腱细胞形态异常 ,从而影响成虫的肢体运动^[33]。抑制甲虫类害虫的CDA表达 ,阻碍幼虫至蛹过渡期间蜕皮等生长发育 ,导致72%的死亡率^[25]。在蛾类害虫的CDA抑制中 ,分别对其幼虫和蛹-成虫期的过渡阶段进行基因沉默 ,都能够阻碍其生长发育 ,达到防控害虫的目的^[26]。对幼虫期的黄野螟CDA基因抑制表达 ,最高致死率可达93.3%^[27]。而在真菌中 ,通过抑制白粉菌的CDA表达 ,阻断真菌触发免疫反应^[28]。这些研究突显出CDA作为RNA农药靶标的潜力。

3 RNA农药研发与应用现状及挑战

靶标发现是RNA生物农药研发的起点 ,但从实验室到田间 ,还需要经过dsRNA药物设计、dsRNA递送等关键环节。其中 ,dsRNA药物设计关乎药效与安全性 ;而dsRNA的稳定递送则是保障dsRNA在复杂的大田环境中不被降解 ,促进商业化落地的关键。

3.1 RNA农药的分子设计

高效且安全的双链RNA(dsRNA)分子设计是RNA农药设计的核心。一般情况下 ,dsRNA分子主要包括2种类型 ,即小干扰RNA(small interfering RNA ,siRNA)和短发卡RNA(short hairpin RNA ,shRNA)。siRNA是一类20~25个核苷酸长度的双链RNA分子 ,shRNA是一段具有特殊发卡环结构的RNA序列。RNA农药设计的流程首先是靶标基因的序列分析 ,然后根据靶基因合成siRNA ,或者构建shRNA质粒表达载体 ,通过体外转录或者细胞内转录生成shRNA ,再利用细胞内的Dicer酶 ,生成相应的siRNA(图3)。

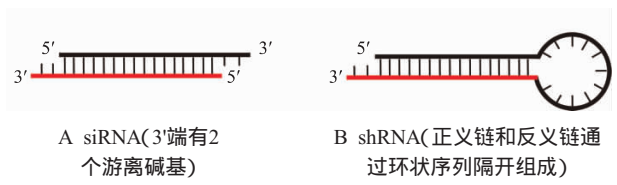


图 3 siRNA 和 shRNA 结构

然而 ,基于靶标基因序列分析的分子设计由于缺乏全面的转录组水平数据比对和RNA二级结构的评估 ,容易导致靶标筛选效率低且易产生脱靶效应 ,从而限制了RNA生物农药的创制和应用。因此 ,整合多组学数据 ,增加靶标筛选阶段数据分析的广度和深度具有重要意义。AI技术为数据驱动的RNA农药分子设计提供了重要工具 ,将大幅提高RNA农药的开发效率。西南大学开发的dsRNAEngineer平台能够通过AI算法进行多物种基因库智能比对 ,还能够对跨物种的基因相似度进行检测 ,对靶标的发现优化以及脱靶效应与安全性进行更为全面的分

析,从而筛选出高度保守的靶点^[34]。硅羿科技的AI算法平台能够利用动态规划算法,将多个靶向片段串联为长链dsRNA,提高对病虫害的防控效果并降低药物的抗性风险^[35]。此外, RNA二级结构预测工具开发近来受到高度关注,如最近发布的SANDSTORM(sequence AND structure-informed RNA modeling)模型,能够融合RNA分子的序列与结构信息,预测多类RNA的功能活性^[36]。显然, AI技术已贯穿RNA药物分子设计的全链条,从靶点发现优化、智能分子设计,到安全性与抗药性的评估, AI技术将进一步驱动RNA农药的快速发展,推动农业进入“基因精准调控”的新纪元。

3.2 RNA农药的递送技术

在复杂的大田环境中或存在核酸酶的情况下, dsRNA极易发生降解。因此, dsRNA的稳定递送对于RNA农药田间应用非常关键。RNA农药根据递送方式的不同,分为宿主诱导基因沉默(host-induced gene silencing, HIGS)、病毒诱导基因沉默(virus/bacterium-mediated gene silencing, VIGS)和喷雾诱导基因沉默(spraying-induced gene silencing, SIGS)^[4]。

HIGS通过转基因技术在植物体内表达靶标病虫害关键基因的dsRNA。当害虫或病原体取食或侵染植物时,摄入核酸农药,触发其自身的RNAi通路,导致靶基因沉默,从而抑制其生长或致病能力^[4]。如转基因玉米MON87411能够表达dsRNA,从而对玉米根虫进行防治^[10]。HIGS植物能够持续生产dsRNA,提供持久的抗病害作用,但其研发周期长,对转基因作物的生物安全评估以及dsRNA在胃肠道的稳定性等挑战制约其发展。

VIGS是利用病毒或工程微生物作为载体,在侵染宿主时递送RNA药物至靶标基因^[2]。由于病毒和微生物的侵染机制,使其能够突破生物屏障,实现高效递送。如利用昆虫单链RNA病毒装载靶标黑腹果蝇的dsRNA,提升昆虫吸收dsRNA的能力^[37]。但目前VIGS面临病毒和微生物在环境中的释放风险以及载体构建复杂度高等挑战。

SIGS属于非转基因策略,它通过喷洒含dsRNA的制剂到植物表面,害虫或病原体直接吸收dsRNA,从而诱导基因沉默。SIGS研发周期短,且规避了转基因生物安全风险,但目前面临裸露的dsRNA在环境中易被降解(RNase、紫外线、高温)且难以突破生物屏障(如昆虫体壁、植物细胞壁或病原菌细胞壁)等挑战。因此,解决上述挑战成为RNA农药SIGS策略实用化的关键技术之一。近年来,纳米材料作为

新兴的药物递送载体,在核酸农药纳米递送系统的开发中得到了广泛的关注。常用于农药领域的载体有聚合物纳米材料、无机纳米材料、脂质体和生物活性材料^[38-40]。聚合物纳米材料具有易合成、结构多样等特点,如利用阳离子星形聚合物(star polycation, SPc)装载dsRNA,与农药苦参碱联用,实现对桃蚜的有效防治^[38]。无机纳米材料,如二氧化硅、碳纳米管等,能通过表面修饰携带dsRNA,利用小尺寸效应穿透生物屏障。如利用BioClay™(层状双氢氧化物或黏土颗粒)递送dsRNA能够延长对番茄灰霉病菌的防治时间^[39]。聚乙二醇异丙酯功能化的碳点纳米颗粒可以通过网格蛋白介导的内吞作用高效促进dsRNA在植物和疫霉细胞的内化吸收^[5]。脂质体具有良好的生物相容性以及递送亲水和亲脂性药物的能力,生物活性材料能够利用天然生物结构实现靶向递送。如将非磷脂阳离子脂质体与植物细胞膜融合,递送靶向致病疫霉致病基因的dsRNA,与非磷脂阳离子脂质体相比,该载体能够更有效地防治番茄晚疫病^[40]。纳米材料在RNA农药领域显著提升了环境稳定性与递送效率,递送技术的优化将推动RNA农药成为绿色农业的核心支柱。

4 结论与展望

RNA药物正推动植保领域进入新纪元,2023年全球RNA生物农药市场规模大约为1.16亿美元,预计2030年将达到2.09亿美元。目前,已有多款RNA农药进入商业化。如拜耳公司研制的表达dsDvSnf7的双链RNA玉米MON87411是国际上首例转基因植物源保护剂(plant-incorporated protectants, PIP)^[10]; Green Light Biosciences公司研制的Calantha™是全球首款喷洒型非植物源制剂(non plant-incorporated protectant, Non-PIP)^[41]。2025年,该公司研发的第2款RNA杀虫剂Vadescana已进入EPA登记公示评议期^[42]。上海硅羿科技公司研制的SG-RNA001为国内首个进入田间试验的RNA农药^[43]。而随着RNA农药商业化进程的加快,对RNA生物农药的监管也日益受到关注。经济合作与发展组织(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)于2020年在线正式发表“关于喷洒或外部施用dsRNA杀虫剂的环境风险评估的考虑”,就RNA农药的环境稳定性、对非靶物种的影响和对人类健康的潜在影响等方面进行了讨论^[44]。美国环境保护署(United States Environmental Protection Agency, US EPA)、欧

洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)和我国农业农村部(Ministry of Agriculture and Rural Affairs, MARA)在审批RNA农药时,也将重点评估RNA药物对非靶标生物的安全风险^[45]。

可见, RNA农药虽然具有特异性强、生态安全性高、易解决抗性等优点,但绿色安全发展仍是其研发首要关注的问题。以有害生物特有的几丁质生物过程关键基因为靶标的RNA农药开发具有重要价值。作为昆虫与病原真菌生存发育的关键调控节点,几丁质代谢网络为RNA农药提供了精准的分子靶点,通过靶向合成途径的几丁质合酶(CHS),可有效破坏靶标生物的结构完整性;干预水解途径的几丁质酶(CHO),则能阻断其能量代谢与发育;而干预修饰途径的几丁质脱乙酰酶(CDA),则可能增强宿主免疫识别并抑制病原逃逸。此外,近年来小激活RNA(saRNA)、microRNA(miRNA)、mRNA等新型RNA药物在基因沉默和基因表达调控领域展现出广谱性和高效性的特点,为农业病虫害防控提供了广阔的思路。随着靶标发现与药物设计技术不断完善、递送技术不断更新、生产成本进一步优化,多样化的RNA药物有望成为化学农药的主流替代品,推动农业病虫害防控向精准高效、零残留的绿色模式转型。

参考文献

- [1] HUANG Y, DAI Y, HUANG Z, et al. RNA-based biopesticides: pioneering precision solutions for sustainable aquaculture in China [J]. *Anim Res One Health*, 2025, 3: 165-176.
- [2] GUNTER M, THOMAS T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA[J]. *Nature*, 2004, 431(7006): 343-349.
- [3] CHEN W, CAO P, LIU Y, et al. Structural basis for directional chitin biosynthesis[J]. *Nature*, 2022, 610: 402-408.
- [4] ZHANG C, LIU Y, LI G, et al. Targeting the undruggables-the power of protein degraders[J]. *Sci Bull (Beijing)*, 2024, 69(11): 1776-1797.
- [5] WANG Z, LI Y, ZHANG B, et al. Functionalized carbon dot-delivered RNA nano fungicides as superior tools to control phytophthora pathogens through plant RDRP1 mediated spray-induced gene silencing[J]. *Adv Funct Mater*, 2023, 33: 2213143.
- [6] BAUM J A, BOGAERT T, CLINTON W, et al. Control of coleopteran insect pests through RNA interference[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(11): 1322-1326.
- [7] QIAO L, LAN C, CAPRIOTTI L, et al. Spray-induced gene silencing for disease control is dependent on the efficiency of pathogen RNA uptake[J]. *Plant Biotechnol J*, 2021, 19(9): 1756-1768.
- [8] WANG M, WEIBERG A, LIN F M, et al. Bidirectional cross-kingdom RNAi and fungal uptake of external RNAs confer plant protection[J]. *Nature Plants*, 2016, 2: 16151.
- [9] MOGREN C L, LUNDGREN J G. In silico identification of off-target pesticidal dsRNA binding in honey bees (*Apis mellifera*)[J]. *Peer J*, 2017, 5: e4131.
- [10] KHAJURIA C, IVASHUTA S, WIGGINS E, et al. Development and characterization of the first dsRNA-resistant insect population from western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte[J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(5): e0197059.
- [11] LIAO C, ZHANG M, ZHANG J. Characterization and potential mechanism of resistance to double-stranded RNA in willow leaf beetle, *Plagioderia versicolora*[J]. *J Pest Sci*, 2024, 97: 2217-2226.
- [12] DUAN Y, YANG Q. Molecular targets and their application examples for interrupting chitin biosynthesis[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2025, 36(4): 109905.
- [13] SHI B, HE H, ZHAO C, et al. Potential of virus-mediated RNAi of insect genes in plants to control aphids[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2025, 73(13): 7716-7724.
- [14] KHAJURIA C, BUSCHMAN L L, CHEN M S, et al. A gut-specific chitinase gene essential for regulation of chitin content of peritrophic matrix and growth of *Ostrinia nubilalis* larvae[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2010, 40(8): 621-629.
- [15] CHEN Q, SUN M, WANG H, et al. Characterization of chitin synthase b gene (HvChsb) and the effects on feeding behavior in *Heortia vitessoides* Moore[J]. *Insects*, 2023, 14: 608.
- [16] ANDRADE C M, TINOCO M L P, RIETH A F, et al. Host-induced gene silencing in the necrotrophic fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Plant Pathol*, 2016, 65: 626-632.
- [17] ZHU Y, LIU T, WANG Y, et al. CHSA, a class II chitin synthase, contributes to asexual conidiation, mycelial morphology, cell wall integrity, and the production of enzymes and organic acids in *Aspergillus niger*[J]. *J Fungi*, 2023, 9: 801.
- [18] HINKEL L, OSPINA-GIRALDO M D. Structural characterization of a putative chitin synthase gene in *Phytophthora* spp. and analysis of its transcriptional activity during pathogenesis on potato and soybean plants[J]. *Curr Genet*, 2017, 63(5): 909-921.
- [19] CHENG W, LIN M, QIU M, et al. Chitin synthase is involved in vegetative growth, asexual reproduction and pathogenesis of *Phytophthora capsici* and *Phytophthora sojae*[J]. *Environ Microbiol*, 2019, 21(12): 4537-4547.
- [20] KLINTER S, BULONE V, ARVESTAD L. Diversity and evolution of chitin synthases in oomycetes (Straminipila: Oomycota)[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2019, 139: 106558.
- [21] SU C, TU G, HUANG S, et al. Genome-wide analysis of chitinase genes and their varied functions in larval moult, pupation and eclosion in the rice striped stem borer, *Chilo suppressalis*[J]. *Insect Mol Biol*, 2016, 25(4): 401-412.
- [22] KIM M, NOH M Y, MUN S, et al. Functional importance of groups I and II chitinases, CHT5 and CHT10, in turnover of chitinous cuticle during embryo hatching and post-embryonic molting in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2024, 166: 104087.
- [23] 李培. 通过RNA干扰方法研究稻瘟病菌几丁质酶家族基因的功能[D]. 福州: 福建农林大学, 2014.
- [24] MART NEZ-CRUZ J S, ROMERO D, HIERREZUELO J S, et al. Effectors with chitinase activity (EWCAs), a family of conserved,

- secreted fungal chitinases that suppress chitin-triggered immunity [J]. *Plant Cell*, 2021, 33(4): 1319-1340.
- [25] YANG W J, XU K K, YAN X, et al. Functional characterization of chitin deacetylase 1 gene disrupting larval-pupal transition in the drugstore beetle using RNA interference[J]. *Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol*, 2018, 219: 10-16.
- [26] ZHOU Y, ZHANG Y, XU K, et al. Chitin deacetylase 1 gene as an optimal rnai-based target for controlling the tomato leaf miner *Tuta absoluta*[J]. *Insects*, 2024, 15: 838.
- [27] WANG C Y, CHENG J, LYU Z H, et al. Chitin deacetylase 1 and 2 are indispensable for larval-pupal and pupal-adult molts in *Heortia vitessoides* (Lepidoptera: Crambidae)[J]. *Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol*, 2019, 237: 110325.
- [28] YANG Y, FAN P, LIU J, et al. *Thinopyrum intermedium* TiAP1 interacts with a chitin deacetylase from *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and increases the resistance to BGT in wheat [J]. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20(3): 454-467.
- [29] JEONG G J, KHAN F, TABASSUM N, et al. Chitinases as key virulence factors in microbial pathogens: understanding their role and potential as therapeutic targets[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 249: 126021.
- [30] 庄钰鑫, 刘慧泉, 许铭. 真菌几丁质酶研究进展[J]. *微生物学报*, 2024, 64 (11): 4022-4035.
- [31] XUAN C, FENG M, LI X, et al. Genome-wide Identification and expression analysis of chitinase genes in watermelon under abiotic stimuli and *Fusarium oxysporum* infection[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(1): 638.
- [32] DIAZ R E, ECKER A K, CORREY G J, et al. Structural characterization of ligand binding and pH-specific enzymatic activity of mouse acidic mammalian chitinase[J]. *Elife*, 2024, 12: 89918.
- [33] MUN S, NOH M Y, GEISBRECHT E R, et al. Chitin deacetylases are necessary for insect femur muscle attachment and mobility[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(24): e2120853119.
- [34] CHEN Y, SHI Y, WANG Z, et al. dsRNAEngineer: a web-based tool of comprehensive dsRNA design for pest control[J]. *Trends Biotechnol*, 2025, 43(4): 969-983.
- [35] HE L, ZHOU Y, MO Q, et al. Spray-induced gene silencing in phytopathogen: mechanisms, applications, and progress[J]. *Advanced Agrochem*, 2024, 3(4): 289-297.
- [36] RILEY A T, ROBSON J M, ULANOVA A, et al. Generative and predictive neural networks for the design of functional RNA molecules[J]. *Nat Commun*, 2025, 16: 4155.
- [37] TANING C N T, CHRISTIAENS O, LI X, et al. Engineered flock house virus for targeted gene suppression through RNAi in fruit flies (*Drosophila melanogaster*) in vitro and in vivo[J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 805.
- [38] LI M, MA Z, PENG M, et al. A gene and drug co-delivery application helps to solve the short life disadvantage of RNA drug [J]. *Nano Today*, 2022, 43: 101452.
- [39] NINO-SANCHEZ J, SAMBASIVAM P T, SAWYER A, et al. BioClay™ prolongs RNA interference-mediated crop protection against *Botrytis cinerea*[J]. *J Integr Plant Biol*, 2022, 64: 2187-2198.
- [40] ZHANG Z, LUO H, ZHANG X, et al. Extracellular vesicles mimetic design of membrane chimeric nanovesicles for dsRNA delivery in spray-induced gene silencing for crop protection [J]. *ACS Nano*, 2024, 18(47): 32468-32480.
- [41] TANING C N, ARPAIA S, CHRISTIAENS O, et al. RNA-based biocontrol compounds: current status and perspectives to reach the market[J]. *Pest Management Science*, 2020, 76(3): 841-845.
- [42] MCGRUDDY R A, SMEELE Z E, MANLEY B, et al. RNA interference as a next-generation control method for suppressing *Varroa destructor* reproduction in honey bee (*Apis mellifera*) hives [J]. *Pest Manag Sci*, 2024, 80: 4770-4778.
- [43] HE L, HUANG Y, TANG X. RNAi-based pest control: production, application and the fate of dsRNA[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 1080576.
- [44] OECD. Considerations for the environmental risk assessment of the application of sprayed or externally applied dsrna-based pesticides [R]. Paris: OECD, 2020.
- [45] DIETZ-PFEILSTETTER A, MENDELSON M, GATHMANN A, et al. Considerations and regulatory approaches in the USA and in the EU for dsRNA-based externally applied pesticides for plant protection[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 682387.

(编辑:顾林玲)

(上接第 12 页)

5046.

- [38] CHEN J, SHI D, JIANG Z, et al. Novel conjugated 5-alkenyl rhodanine tethered 1,4-benzodioxane derivatives as dual-chitinases inhibitors to hinder the growth of Asian corn borer[J]. *Medicinal Chemistry Research*, 2025, 34(4): 882-894.
- [39] SHI D, JI X, ZOU R, et al. Novel 5-alkenylthiothiazolidinone scaffold discovery as multi-chitinases inhibitors to arrest the molting of Asian corn borer[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2025, 1321: 140058.
- [40] JIANG Z, SHI D, FU H, et al. Discovery of multi-chitinase inhibitors cinnamyl thiazolidinone compounds as candidates for insect growth regulators via ligand-based optimization strategies [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 306: 141805.
- [41] AI Y, ZHANG Y, CHEN W, et al. Glycosyl structure guided design, synthesis and biological accessment of chitin degrading enzyme inhibitors with insecticidal activity[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2025, 1339: 142457.
- [42] CHEN W, QI C, ASHUTOSH K, et al. Structure-based virtual screening of highly potent inhibitors of the nematode chitinase *CeCht1*[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2021, 36(1): 1198-1204.
- [43] JIN X, SUN T, ZHANG X, et al. Structure-based virtual screening of natural products and optimization for the design and synthesis of novel *CeCht1* inhibitors as nematicide candidates[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(1): 244-254.

(编辑:顾林玲)