

---

# 研究开发新型精准单碱基编辑工具

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/10491.html>

*本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！*

**研究开发新型精准单碱基编辑工具。**7月15日，《科学进展》在线发表了美国莱斯大学高雪研究组与中国农业科学院深圳农业基因所左二伟研究组合作开发的新型精准单碱基编辑工具，将使连续胞嘧啶（C）区域的精准碱基编辑成为可能。

胞嘧啶碱基编辑器（CBE）由胞嘧啶脱氨酶和nCas9蛋白融合组成。其中，经典的胞嘧啶碱基编辑器BE4max CBE是由鼠源脱氨酶APOBEC1、nCas9蛋白和两个尿嘧啶糖基化酶抑制剂构成。该项研究基于结构生物学改造了一类人源脱氨酶A3G，并用其替代BE4max CBE中的鼠源脱氨酶，使A3G-CBE能够最大程度地只编辑靶向碱基C而不影响与其紧邻无关的C。

## 单碱基编辑面临精度挑战

左二伟告诉《中国科学报》，与传统基因编辑策略相比，基于CRISPR/Cas9系统的DNA单碱基编辑技术不会产生DNA双链断裂，因此避免了由易错DNA修复通路所引入的随机序列插入和删除（Indels），从而极大地提高了编辑效率和产物纯度，为基因编辑应用在遗传疾病的基础研究和治疗带来了曙光。

胞嘧啶碱基编辑器能够在靶基因座上高效地进行胞嘧啶到胸腺嘧啶（C-to-T）的转换，并已经被用于相关疾病动物模型治疗研究，例如纠正由地中海贫血症。

但是，单碱基编辑仍然面临精度挑战。左二伟举例说，当靶向碱基C紧邻的碱基也是C时，目前的CBE碱基编辑器很难区分它们。因为两个相邻的碱基C往往都会被编辑，从而无法达到精准纠正相关疾病的目的。这为使用CBE编辑器研究和治疗此类遗传疾病带来了很大困难。

## 改造脱氨酶

高雪介绍，之前研究表明，野生型的人源脱氨酶A3G主要对DNA单链5'-CCC-3'基因组序列中的第三个C产生脱氨基作用，即由C编辑为T。因此，这种选择性有很大潜力被用于连续C区域的精确碱基编辑。

他们首先通过密码子优化，将野生型的A3G用于替换BE4max中的鼠源脱氨酶APOBEC1，构建出A3G-BE 2.1。

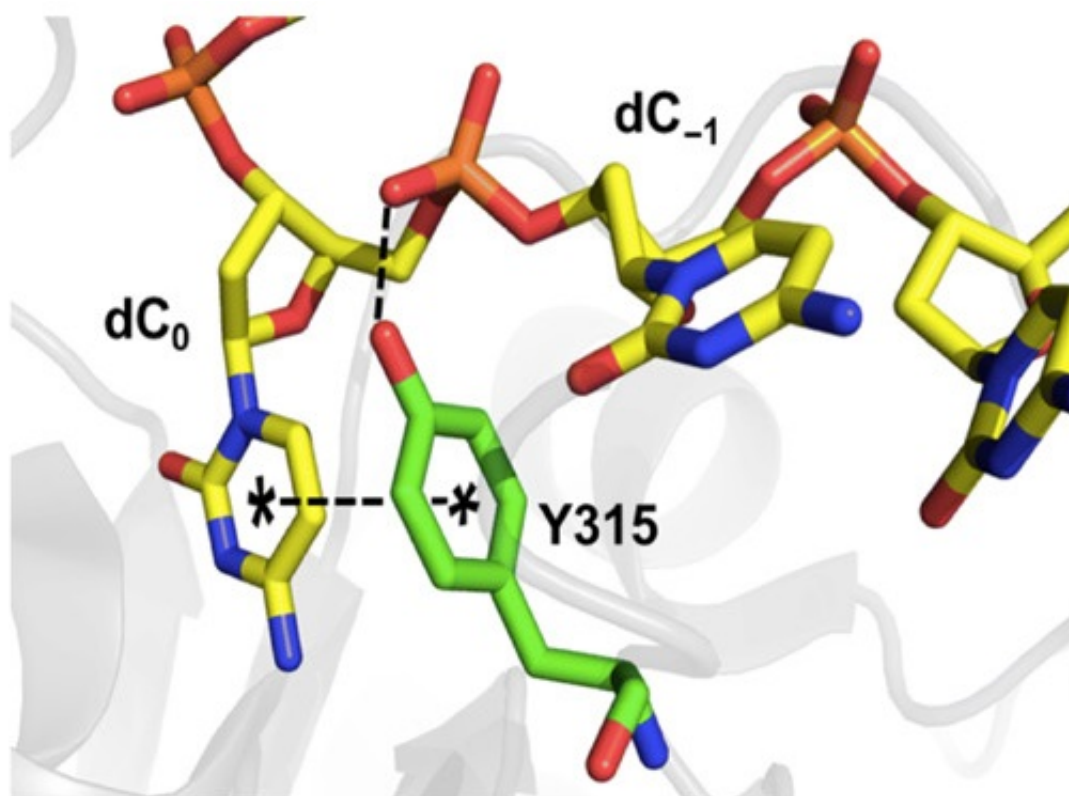
因为A3G的N-端结构域会导致A3G单体的聚集，并阻止A3G的脱氨活性；而A3G的C端结构域本

身足以脱氨。为了提高编辑效率，他们进一步构建了只保留C端结构域的A3G-BE 4.4。

高雪介绍，在细胞中的测试结果显示，A3G-BE 2.1和A3G-BE 4.4均可有效地区分连续C区域中的靶向C和无关C，而BE4 max则无选择性地两个连续的C全部编辑。

为了进一步提高A3G-BE的编辑效率，他们通过分析A3G的C端结构域中的关键氨基酸，设计了三组突变，分别用于加强脱氨催化活性，增加ssDNA结合亲和力，提高蛋白质溶解度。

而为了保留A3G的高选择性，研究者同时又引入Y315F来提升非特异性DNA结合，从而最终优化得到了A3G-BE 5.13和A3G-BE 5.14。其中，A3G-BE5.13的碱基编辑活性稍高，A3G-BE5.14的选择性稍高。两种新CBE可以在不同情形的多C编辑中互补。左二伟说。



Y315（绿色）与ssDNA相互作用的放大视图。DNA主链5'磷酸基与Tyr315羟基之间的氢键，以及它们之间的相互作用靶胞苷（dC0）和Y315的环用虚线表示。左二伟供图

准确性安全性俱佳

为了验证改造后的A3G-BE，他们将A3G-BE 4.4、A3G-BE 5.13和A3G-BE 5.14用于在细胞系中构建疾病模型和校正单碱基突变疾病，并与BE4max相比较。

---

左二伟介绍，结果显示，改造后三种A3G-CBE能够选择性地对5'-CC-3'序列中第二个C而非第一个C进行编辑，明显区分了靶向C和无关C，并生成了高占比的目标基因型，而BE4max则无法产生理想的靶向C编辑结果。

值得注意的是，A3G-BE5.14在生成转甲状腺素模型淀粉样变的疾病模型的效率比BE4max高613倍，更突出了其精确性的优势。

而在疾病模型的测试中，A3G-BE4.4以大于50%的靶向C编辑效率高效校正了导致全羧化酶合成酶缺乏症的单碱基突变，并且没有对邻近无关的C产生编辑。其产生理想校正基因型的能力比BE4max高6496倍。

与BE4max CBE相比，A3G-CBE在纠正相关单碱基突变疾病的能力提高得非常显著。高雪说。

为了研究A3G-CBE的安全性，他们还通过RNA测序和全基因组测序进行脱靶编辑的表征。结果显示，靶向编辑活性较高的A3G-BE 5.13与对照nCas9的脱靶水平相当，没有显著脱靶效应。

这些结果进一步证明，A3G-CBEs具有很高的应用价值，有很大希望被用于单碱基突变遗传疾病的体内治疗研究。这项研究进一步加快了精准碱基编辑迈向临床应用的步伐。（来源：中国科学报 李晨）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1126/sciadv.aba1773>

版权声明：凡本网注明来源：中国科学报、科学网、科学新闻杂志的所有作品，网站转载，请在正文上方注明来源和作者，且不得对内容作实质性改动；微信公众号、头条号等新媒体平台，转载请联系授权。邮箱：shouquan@stimes.cn。

作者：左二伟等 来源：《科学进展》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发