植物“基因剪刀”再度“锋利”

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/13227.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！

植物“基因剪刀”再度“锋利”。剪切、复制、粘贴，消除不需要的基因片段，换上想要的基因片段，这就是基因组编辑技术，它犹如一把基因剪刀，被科学家应用在各种动植物的基因修复与改造之中，为医学、健康、农业等方面带来了突破性的革命。

为了更精准地实现基因组编辑，近年来，科学家不断探索更多方法发展基因组编辑技术。

中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员高彩霞团队与李家洋院士团队合作开发了高效设计pegRNA以及提高植物引导编辑效率的新策略，为实现植物基因组功能解析和作物精准育种提供了强有力的技术支撑。相关研究成果于3月25日凌晨在线发表于《自然—生物技术》。

更精准的梦想

2019年10月，哈佛大学教授刘如谦（David Liu）团队开发了全新的基因组引导编辑技术（Prime Editing），该技术能够在基因组的靶位点处实现精准的片段插入、删除及碱基的任意替换，被称为是超越CRISPR的重大突破。

引导编辑系统由两部分构成：其一，是nCas9 (H840A)与工程化改造的逆转录酶（Reverse Transcriptase, RT）组成的融合蛋白；其二是包含PBS（Primer Binding Site）序列和RT模板（RT template）序列的pegRNA（Prime Editing Guide RNA）。

2020年，高彩霞团队扩展了引导编辑技术的应用，首次在水稻和小麦中成功建立并优化了适用于植物的引导编辑器（Plant Prime Editor, PPE），为实现农作物精准基因组编辑提供了技术支撑。

目前版本的引导编辑器在植物中的工作效率依旧偏低，需要进一步优化。高彩霞研究员告诉《中国科学报》，我们之前的研究发现植物的引导编辑效率很大程度上受到PBS序列和RT模板序列的影响，这暗示着，对pegRNA序列进行合理设计对提高引导编辑效率有很大帮助。

两种新策略

如何提升引导编辑效率并快速获取高效形式的pegRNA，是植物引导编辑技术亟需解决的问题。

一开始，研究人员设计实验筛选高效形式的pegRNA，并希望能找到一般性的规律，
然而，事与愿违。常规实验方法费时费力，限制了引导编辑技术在植物中的应用。

研究人员另辟新路。

由于引导编辑系统的PBS序列与非靶标链结合是起始逆转录过程的重要条件，而熔解温度（Melting Tempreture, Tm）决定了两条链结合的紧密程度，因此，他们推测PBS的Tm值很有可能对引导系统的编辑效率有重要影响。

为验证推测正确与否，研究人员在18个内源位点进行了测试，结果表明，当PBS的Tm值为30°C左右时，引导编辑效率在多数水稻内源位点上达到最高，并且随着温度的增高或降低均呈现递减的趋势。这也验证了他们的猜想。

研究人员还设想，对一个DNA位点的正链和负链都各设计一个pegRNA，利用DNA两条链之间存在反向互补序列，是否可能会同时启动细胞中的其它修复途径，共同提高引导编辑系统的编辑效率。

他们在15个水稻内源位点测试了该策略，结果表明，该策略与分别递送单个pegRNA的方法相比效率平均可以提升3.0倍。他们将该改进策略命名为双pegRNA策略。

另外，实验还表明，运用SpG变体可以进一步拓展双pegRNA策略的编辑范围。

建立新平台

国际同行专家给出了高度评价，鉴于引导编辑技术的迅猛发展，该工作将对基因组编辑领域内产生很大影响。

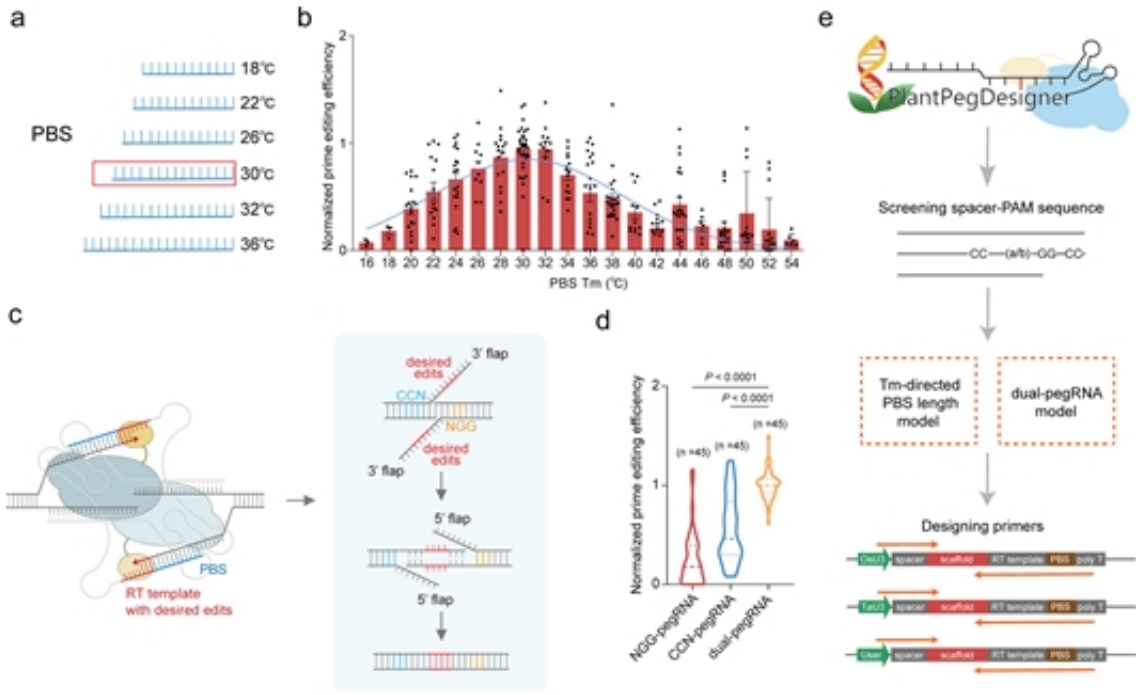
pegRNA的设计相对复杂，如何建立一个平台，帮助需要科研人员针对所需位点进行合理的设计，帮助他们构建高效的引导编辑策略，方便大家使用。在这方面李家洋老师团队非常有经验。高彩霞说。

为此，基于上述两个策略，研究人员开发了植物pegRNA设计网站PlantPegDesigner（http://www.plantgenomeediting.net/）。

该网站可以提供一系列的参数供使用者根据需要进行个性化选择，并可以推荐完整的pegRNA选择、设计与构建方案，方便使用者快速筛选高活性pegRNA。实验结果表明，与常规设计方案或其他pegRNA设计网站相比，该网站设计的pegRNA具有更高的编辑效率。

实现重要农作物精准基因组编辑对加快农作物遗传改良进程具有重要意义。下一步，研究团队将继续优化策略，提升网站平台，为作物品种改良等提供更高效精准的新工具。（来源：中国科学报韩扬眉）

相关论文信息：https://doi.org/10.1038/s41587-021-00868-w



图：植物高效引导编辑设计策略。（a,b）PBS的Tm值指导pegRNA设计的示意图及其对PPE在水稻中编辑效率的影响。（c,d）双pegRNA策略的示意图及其对PPE编辑效率的提升。（e）PlantPegDesigner在线设计网站的工作流程。（课题组供图）

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：高彩霞等 来源：《自然—生物技术》

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转发