Nature：利用CRISPR让一个靶基因在一天之内经历整个进化过程

作者：writer 来源：本站

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/1356.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！

2018年8月8日讯，生命是极其多样化的。通过服用抗生素来阻止感染或使用酵母酿造啤酒，我们正在使用通过自然进化产生的有用产品和过程。但是，当我们想要的性状在自然界中无法找到时会发生什么?在一项新的研究中，来自美国加州大学伯克利分校创新基因组学研究所的研究人员开发出一种利用进化力量的变革型新方法。

相关研究结果于2018年8月1日在线发表在Nature期刊上，论文标题为CRISPR-guided DNA polymerases enable diversification of all nucleotides in a tunable window。论文通信作者为加州大学伯克利分校创新基因组学研究所的David Schaffer和John Dueber，论文第一作者为在Schaffer实验室和Dueber实验室从事科研的博士生Shakked Halperin。这些研究人员描述了CRISPR的另一个创造性应用：一种促进细胞内特定基因进化的平台。他们创造性的新系统EvolvR让科学家们能够在他们选择的基因中重组DNA碱基，直到找到恰到好处的变异。这种技术开辟了无数的可能性，如通过改造构建出高效地将废物转化为生物燃料的酵母，或开发新的人类疗法。

并不是毫无意义 想象一只猴子坐在键盘上。如果给予无限的时间随机地按键，这只猴子几乎肯定会输入威廉·莎士比亚的全部作品。至少，这是根据无限猴子定理(infinite monkey theorem)得出的结论。

DNA的自然变异类似于这一过程---随着时间的推移，不同有机体的基因组中都会出现随机变化。理论上，在无限长的时间内，DNA碱基的每一种可能的变异都将存在。然而，在实际的人类时间线上，仅很小一部分可能的变化将会出现。如今想象一下，我们能够告诉这只猴子仅重写莎士比亚悲剧《麦克白》的特定页面。在这个这个狭小的页面窗口的限制下，这只猴子会非常快地输出这些页面中的文本的每个可能的变化。这就是EvolvR让科学家们所做的事情。他们仅想要获得单个基因的新版本，因此重写整个基因组是不切实际的，并且可能对活细胞是有害的。通过每次仅对一个基因进行干扰，就有可能对大量的变异进行取样。

轻击进化(evolve)开关 EvolvR让科学家们在实验室中仅在一天内让一个基因经历整个进化过程。该系统基于可编程的DNA切割蛋白Cas9，这就使得EvolvR成为CRISPR工具箱中的一种最新的独创性工具。这些研究人员将Cas9结合到一种被称作DNA聚合酶的酶上。Cas9经编程后在有机体的DNA中找到特定的靶序列。EvolvR使用Cas9的一种特殊切口(nicking)版本，仅切割两条DNA链中的一条。Cas9在一条DNA链上产生一个切口，这就指示DNA聚合酶移除这条链并用新的DNA替换它。DNA聚合酶会产生错误，构建出与原始DNA序列不同的DNA序列，就像键盘上的猴子按

键一样。 鉴于多样性就是人们想要的目标，DNA聚合酶产生的打字错误是一件好事。

科学家们能够利用EvolvR故意地产生随机突变，从而构建出数百万种不同的序列组合，并且可能至少发现一种具有他们想要的效果的序列组合。 定向进化技术不断发展 这种方法是实现生物系统多样化的一种全新方式，打开了与早期策略相结合的大门。其他方法依赖于迫使大量的随机化DNA片段文库进入细胞。这是耗时且昂贵的，并且并非所有细胞都容易摄入外部DNA。EvolvR解决了以前方法中的这些缺点和其他的几个缺点。

Dueber指出，它不像许多其他技术那样需要双链DNA断裂。双链断裂对许多细胞都是有害的。它也不需要复杂的DNA修复通路，这是因为许多让人们感兴趣的有机体都没有这些复杂的DNA修复通路。 因此，这种工具应当可以在任何物种中使用，而且测试这个想法是这些研究人员马上就要实施的后续步骤之一。虽然它的试验场是在细菌中，但在人类或植物细胞等真核生物中使用时，这种多功能平台将会变得更加强大。Schaffer说，EvolvR有巨大的潜力作为一种独立于物种的定向进化工具。它已经可以在长大约十几个到几百个碱基对的DNA区域中进行单个突变或组合突变。

Dueber补充道，我们有兴趣构建出一个适用的EvolvR工具包。我们设想的系统具有更高的突变率或更大影响的窗口。有很多想法可供尝试。

Halperin指出了这种系统的另一个关键优势。

早期在实验室中产生性状的方法包括几轮劳动密集型的多样化和选择操作。在以前的定向进化实验中，我们没有借鉴大自然所做的事情。鉴于我们的工具能够不断为靶基因提供多样性，我们能够不断地富集越来远好的性状，这更接近于自然进化过程。只要研究人员想要开展多长时间，那么基于EvolvR开展的实验就可以持续多长时间，这会一遍又一遍地改变靶基因的序列并创造更多的成功机会。 有太多的可能性去想象，而且这些研究人员希望其他科学家们能够使用EvolvR。Halperin说，我们很高兴其他人与我们一起使用这个工具并改进它。Schaffer渴望运用这种工具，以加速用于人类治疗应用(从新药到新药递送技术)的生物分子开发。 让这些研究人员特别兴奋的是将EvolvR与另一种最受欢迎的CRISPR工具---高通量CRISPR筛选---相结合。这种强大的技术组合可以让他们在一次实验中给数千个不同的基因提供多样化，这潜在地创造出全新的功能，而不仅仅是开启和关闭基因。

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