
中国科学家开发高精度变形式碱基编辑系统

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/13796.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！

中国科学家开发高精度变形式碱基编辑系统。上海科技大学生命科学与技术学院陈佳教授，中科院上海营养与健康研究所杨力研究员，武汉大学医学研究院殷昊教授，上海科技大学免疫化学研究所杨贝教授课题组联合开发高精度变形式碱基编辑系统transformer Base Editor (tBE)，可在全基因组和全转录组范围内实现无脱靶且高效精准的碱基编辑。北京时间2021年5月10日，国际学术期刊《自然—细胞生物学》在线发表了这一研究成果。

由定位子CRISPR/Cas与效应子胞嘧啶脱氨酶APOBEC (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide) 结合构成的胞嘧啶碱基编辑器 (cytosine base editor, CBE)，可在靶向位点实现胞嘧啶 (C) 到胸腺嘧啶 (T) 的碱基转换，碱基编辑器可在多个物种中进行有效的碱基编辑，拥有巨大的临床应用潜力。根据ClinVar的统计数据显示，碱基编辑器理论上可以通过碱基转换纠正50%以上的人类致病性点突变。然而，由于sgRNA会引导碱基编辑器错误结合在与靶向位点序列相似的脱靶位点造成脱靶突变；且近期多项研究发现碱基编辑器会在全基因组和全转录组范围内引发非常严重的sgRNA非依赖性脱靶突变 (sgRNA-independent/single-stranded off-target, OTss)，并且这些突变随机分布于全基因组中。目前，仍然缺少有效预测和检测sgRNA非依赖性脱靶突变的方法，因此也极大地限制了碱基编辑系统的进一步发展及其在疾病治疗方面的运用。

在该项研究中，研究团队首先构建出了一种可以简便、快速地定量检测碱基编辑器中由APOBEC诱导发生在基因组中单链DNA区域的脱靶突变的方法—CESSCO，可以灵敏快捷地检测一部分全基因组范围内sgRNA/Cas9非依赖性的脱靶效应。接下来，通过筛选鉴定首次发现部分胞嘧啶脱氨酶的调节结构域具有胞嘧啶脱氨酶抑制作用，将其定义为胞嘧啶脱氨酶抑制 (deoxycytidine deaminase inhibitor, dCDI) 结构域。随后利用来源于小鼠的mA3dCDI和split-TEV系统构建了一种高精度变形式碱基编辑系统transformer Base Editor (tBE)，tBE可以在脱靶位置处保持锁定状态，而只有在靶向位点才能通过切除mA3dCDI结构域来解锁进行碱基编辑 (图1)，从而达到同时消除sgRNA非依赖性和依赖性脱靶效应 (sgRNA-dependent off-target, OTsg) 的目的。tBE消除了现有碱基编辑技术存在的gRNA依赖性、gRNA非依赖性全基因组水平的脱靶突变以及gRNA非依赖性全转录组水平的脱靶突变，全面解决了影响碱基编辑系统进行治疗性应用的脱靶问题，实现了高效率、高精度以及更具安全性的碱基编辑。

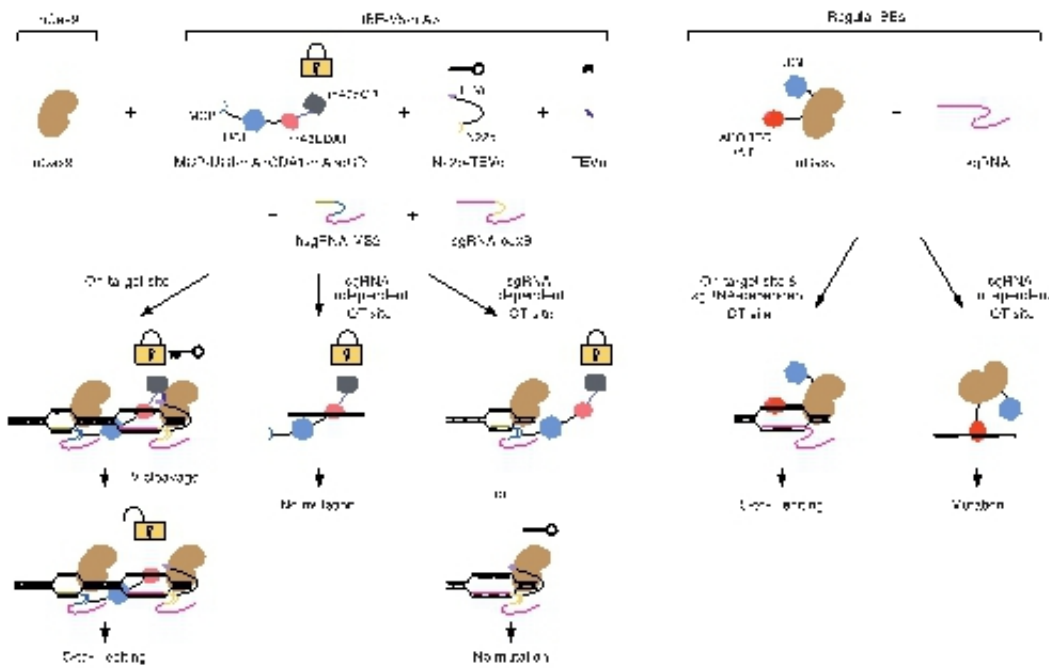


图1：tBE-V5 – mA3系统在靶向位点进行编辑，不会产生OTss和OTsg。

腺相关病毒介导的递送途径已经被广泛应用，但是单个AAV载体的包装上限为4.7 kb，而传统的APOBEC-Cas9融合构型碱基编辑系统已经远超这一包装上限。天然由两个载体组成的tBE系统打破了传统碱基编辑器APOBEC-Cas9的构型，并且两个载体的长度在单个AAV载体的包装上限之内，因此可以便利地被包装进双腺相关病毒（Dual-AAV）载体中来实现体内递送。联合研究团队将tBE系统递送至成年小鼠的肝脏中，显著降低了小鼠血清中PCSK9蛋白表达水平以及总胆固醇水平（图2），并且未在小鼠体内检测到脱靶效应。tBE系统也提供了一个无脱靶的高效精准型碱基编辑器的构建范式，为临床治疗高胆固醇血症等遗传性疾病提供了新方法和新工具。

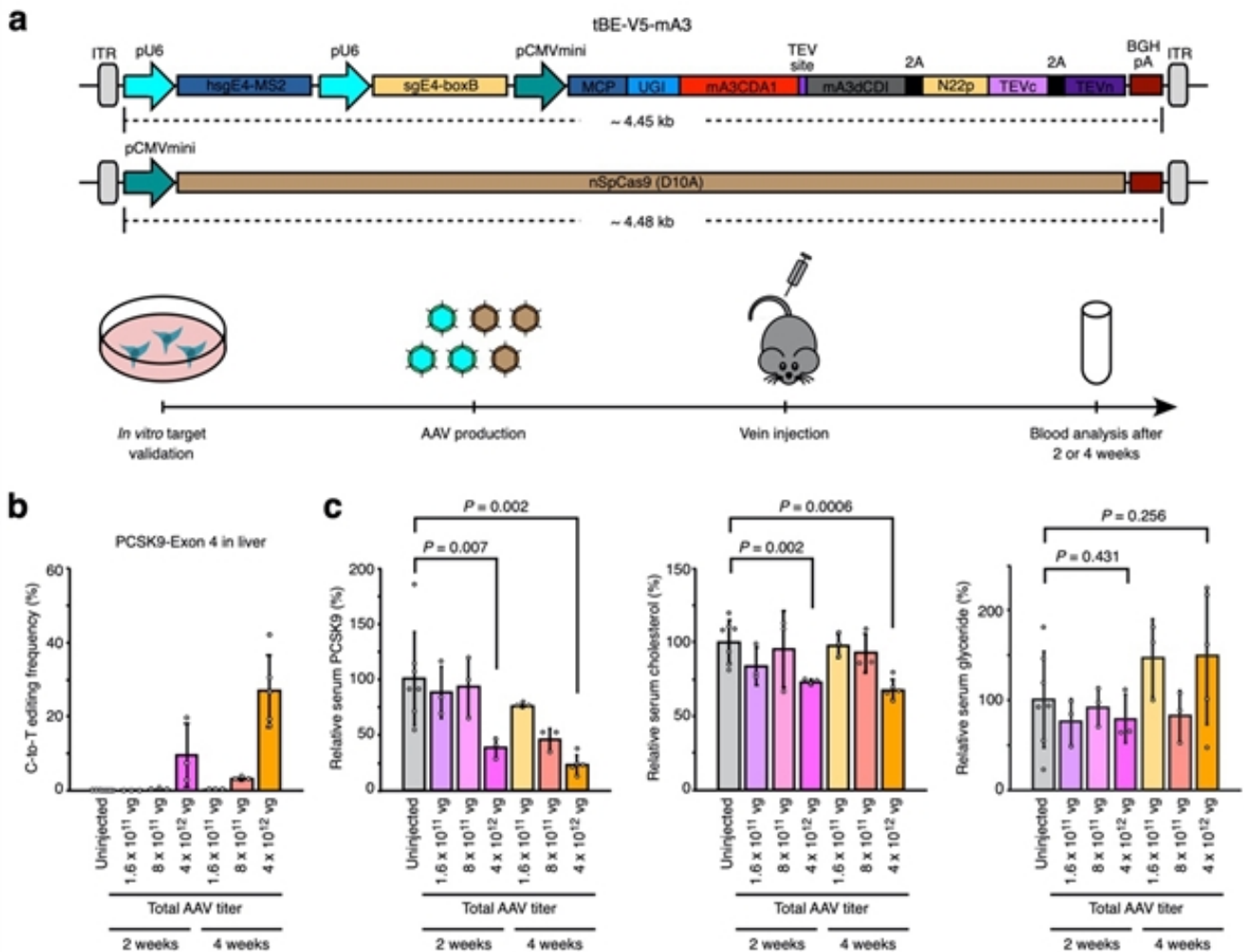


图2：双AAV递送实现tBE in vivo的碱基编辑。

该论文中，陈佳研究组毕业生王丽洁博士、杨力研究组博士研究生薛尉、殷昊研究组博士后张红霞、陈佳研究组博士研究生高润泽和殷昊研究组博士研究生邱厚圆为共同第一作者，陈佳教授、杨力研究员、殷昊教授和杨贝教授为共同通讯作者。该项研究得到了科技部、国家自然科学基金委和上科大科研启动基金的支持。（来源：上海科技大学）

相关论文信息：<https://dx.doi.org/10.1038/s41556-021-00671-4>

作者：陈佳等 来源：《自然—细胞生物学》

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](http://iikx.com)转发