
PANDA：脱氧核酶及肽核酸构建的新型基因工程工具

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/14525.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！

PANDA：脱氧核酶及肽核酸构建的新型基因工程工具。 近日，美国伊利诺伊大学厄巴纳-香槟分校的陆艺团队克服了脱氧核酶很难结合双链DNA并催化其水解的困难，并报道了首个利用脱氧核酶完成双链DNA切割的基因工程工具：PANDA（PNA-assisted double-stranded DNA nicking by DNAzymes）。2021年6月22日，该研究成果发表在J. Am. Chem. Soc.上，题为PNA-Assisted DNAzymes to Cleave Double-Stranded DNA for Genetic Engineering with High Sequence Fidelity。论文的通讯作者为美国伊利诺伊大学厄巴纳-香槟分校化学系教授陆艺，第一作者为伊利诺伊大学厄巴纳-香槟分校化学系博士研究生吕明宽。

在生物学中，大多数酶的化学本质为蛋白质，而一小部分酶的化学本质是RNA，称为核酶（ribozyme）。脱氧核酶（DNAzyme，又称deoxyribozyme或catalytic DNA）则是一类化学本质为短链DNA的酶。其特殊的DNA序列使其可以在三维空间内折叠为具有催化活性的结构，并催化一系列生物化学反应。与蛋白质或RNA构成的酶相比，脱氧核酶受益于其DNA化学结构，具有更高的稳定性，也更易于体外合成与扩增。同时，脱氧核酶仍可拥有和其他天然酶一样甚至更好的催化活性和特异性。因此，脱氧核酶在生物成像、检测和传感等生物化学领域有着重要的应用。

脱氧核酶本身由DNA构成，而其底物也可以是DNA。一些特定的脱氧核酶可以催化底物DNA在特定位置的磷酸二酯键水解，其催化水解产物的末端（3'-OH与5'-PO₄³⁻）与其他在基因工程中广泛应用的工具酶（例如限制酶及Cas9）产生的末端完全相同。然而，脱氧核酶在基因工程领域的应用却鲜有报道。其主要原因是脱氧核酶在结合DNA底物的过程中需要与底物形成碱基互补配对，而基因工程中目标底物DNA则多为双链DNA（double-stranded DNA）。在双链DNA中，所有碱基均已与其互补链碱基配对，因而脱氧核酶很难结合双链DNA并催化其水解。

陆艺团队在PANDA系统中引入了肽核酸（peptide nucleic acid，PNA）。由于肽核酸可以特异性地入侵双链DNA，解开其中的一小部分已配对双链并将其以单链DNA的形式暴露出来，脱氧核酶得以结合该单链区域并催化特定磷酸二酯键的水解。通过不同肽核酸和脱氧核酶的组合，该团队在质粒双链DNA上使用PANDA完成了高效、特异的单链切口（nick）或双链断裂（double-strand break，DSB）。值得注意的是，由于在PANDA系统中使用的脱氧核酶和肽核酸均具有序列特异性，PANDA整体对靶标序列的特异性在多数情况下可以达到单碱基级别。同时，由于肽核酸和脱氧核酶的分子量均远小于大多数蛋白质，PANDA有较大潜力在空间受限的环境中仍保持高活性。

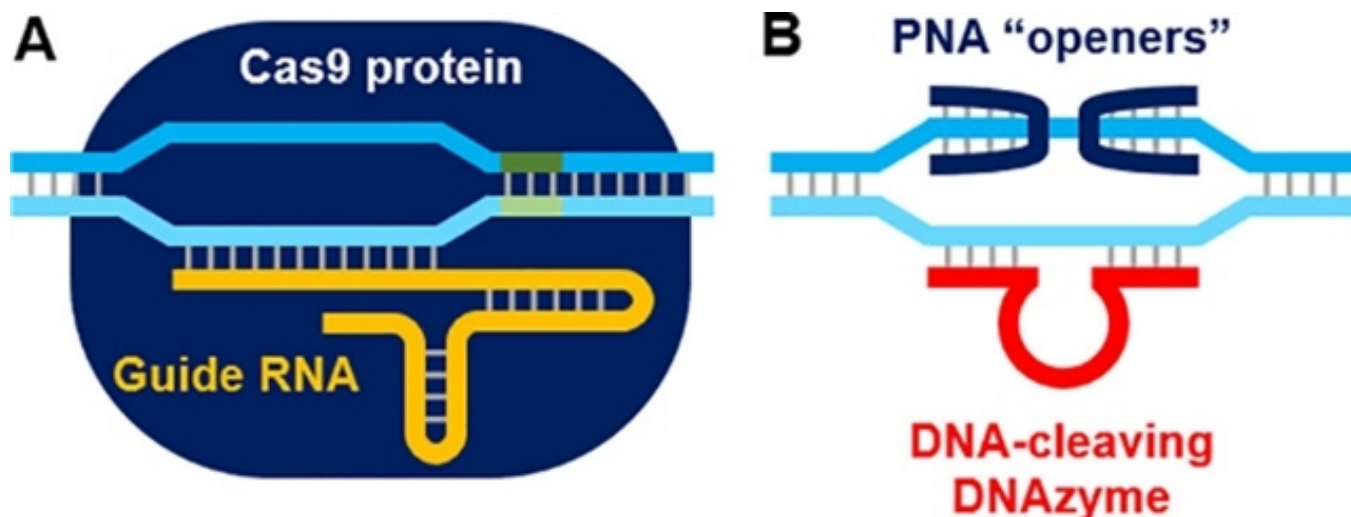


图1：基因工程工具CRISPR/Cas9（A）及PANDA（B）。图片来源：J. Am. Chem. Soc.

该团队在文章中证明了通过更改肽核酸与脱氧核酶结合臂（binding arm）的序列，PANDA的靶标序列可以被自定义。此外，作为概念验证，陆艺团队成功地将PANDA应用于重组DNA的构建。团队使用PANDA系统完全取代了限制酶对质粒进行切割，并在T4连接酶的帮助下在质粒上引入了一个外源DNA片段。由此证明了PANDA在基因工程领域的广泛应用前景。



图2：PANDA系统应用于构建重组DNA。图片来源：J. Am. Chem. Soc.

陆艺团队表示，PANDA是首个将脱氧核酶应用于基因工程中切割双链DNA的示例。基于脱氧核酶及肽核酸的上述优点，PANDA可以在未来继续发展成为更强有力的基因工程工具。特别地，团队将致力于使用PANDA在细胞中完成高效、低脱靶效应的基因编辑，使其成为继ZFN、TALEN及CRISPR/Cas之后又一基因编辑工具。（来源：科学网）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1021/jacs.1c03129>

特别声明：本文转载仅仅是出于传播信息的需要，并不意味着代表本网站观点或证实其内容的真实性；如其他媒体、网站或个人从本网站转载使用，须保留本网站注明的“来源”，并自负版权等法律责任；作者如果不希望被转载或者联系转载稿费事宜，请与我们联系。

作者：陆艺等 来源：《美国化学会志》

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