

---

# Metab Eng : 开发出基于CRISPR/Cas9的CasPER , 高效地对酶进行基因改造

作者 : writer 来源 : 本站

本文原地址 : <https://www.iikx.com/news/progress/1646.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27日讯，在一项新的研究中，来自丹麦技术大学、美国劳伦斯伯克利国家实验室、加州大学伯克利分校和中国科学院深圳先进技术研究院的研究人员开发出一种基于CRISPR/Cas9的方法，从而能够灵活地对必需的酶和非必需的酶进行基因改造。这有很多应用，包括开发产生基于生物的药物、食品添加剂、燃料和化妆品的方法。相关研究结果发表在2018年7月的Metabolic Engineering期刊上，论文标题为CasPER, a method for directed evolution in genomic contexts using mutagenesis and CRISPR/Cas9。

丹麦技术大学诺和诺德基金会生物可持续发展中心研究员Tadas Jakociunas说，当有生产菌株时，这将使得更容易对生物合成通路中的某些限制酶进行基因改造，提高它们的效率、特异性或多样性。人们将能够发现这个通路中的最好的酶变体，这会增加有价值的化合物的产量。

这种新开发的方法称为CasPER，并且是基于CRISPR/Cas9等现有技术构建出来的，其中，CRISPR/Cas9近年来已用于酵母中的基因组改造和重编程。然而，这种新的工具能够让科学家们通过整合更长的多样化片段来对酶或它们的活性结构域进行基因改造，从而提供了靶向特定基因组区域中的每个碱基的机会。在酵母中，CasPER能够以几乎100%的效率整合发生突变的DNA片段，甚至能够以多重的方式进行整合。

发现酶变体 通过对这种新方法进行深入分析，这些研究人员得出结论：与现存的CRISPR/Cas9方法之间的主要差别在于CasPER允许高效地和以多重的方式整合携带着多种突变的大片段DNA，从而产生具有数十万种酶变体的细胞库。尽管其他的CRISPR方法主要依赖于整合较短的序列而让DNA多样化，而且这需要多轮基因改造，但是CasPER显著拓宽了接受基因改造的DNA片段的长度。此外，它不需要任何额外的步骤，这使得更快和更有效地让酶多样化，从而产生更高产量的所需化学物。

## 筛选平台

比如，在引入CRISPR/Cas9之前，对酵母中的必需酶进行基因改造是一个相当缓慢的过程。如今，对酶进行更加高效和特异性的基因改造是可行的，这就允许它们将更多的底物转化为产物。Jakociunas说，构建用于产生有价值化合物的细胞工厂仍然是非常昂贵和耗时的，因此将所有这些资金和时间投入在基因改造上需要得到回报。你需要生产一定数量的产品以让它具有商业相关性，而且像CasPER这样的工具肯定有助于加速和放大这个过程。

作为这项研究的概念验证，这些研究人员靶向了甲羟戊酸途径(mevalonate pathway)中的几种必需

---

的酶。这种生物合成途径负责甾醇的产生，并且在大多数有机体中是必需的。从对人类的研究来看，它因是他汀类药物的靶标而广为人所知，其中他汀类药物是一类降胆固醇药物。这类药物通过抑制该途径中的一些步骤而发挥作用。

在一些细菌和真核生物中，该途径负责产生最大的一类化合物---类异戊二烯(isoprenoid)。为了证实CasPER的适用性和效率，他们靶向了甲羟戊酸途径中的两种必需酶，并且能够构建细胞工厂，从而将类胡萝卜素的产量增加了11倍。行业 and 学术界的巨大潜力在未来，CasPER能够广泛用于学术界 and 行业。尽管这种方法的主要应用是加速设计和优化细胞工厂，并降低这种设计和优化的成本，但是它也能够应用于需要DNA多样化的任何实验。Jakociunas说，你能够研究蛋白功能以便开发蛋白结构预测工具，以及研究蛋白与DNA、底物和其他分子之间的相互作用以便让启动子、终止子和增强子之类的调控元件多样化。

这种方法在酵母中得到验证，但是它也能够用于其他的具有高效的同源重组机制的有机体。

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