基因编辑2.0升级版赋予更强个性化修改能力

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/17782.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！

基因编辑2.0升级版赋予更强个性化修改能力。

近日，中国科学院遗传与发育生物学研究所（以下简称遗传发育所）高彩霞研究组与合作者，在植物中成功建立了一种更高效、广适的新型基因组引导编辑系统——增强型植物引导编辑器（ePPE），有助进一步提高基因组编辑技术在内源基因上进行精准编辑的效率。研究人员还利用该系统创制了抗除草剂的水稻新材料。相关结果3月24日在线发表于《自然—生物技术》。

这项工作论证充分且十分有趣。一位审稿人写道，引导编辑提供了对基因组进行定制化更改的能力，克服了碱基编辑器有限的替代能力。作者描述的引导编辑器可在植物基因组上将引导编辑效率提高数倍。

2.0时代的引导编辑

在农业领域，基因组编辑技术可以更方便、快捷、精准地进行作物育种和改良。通过基因组编辑可以不添加任何外源性的基因，实现对基因组自身序列的修改，大大节省了时间和工作量。

事实上，基因组编辑技术从2012年诞生至今，经过10年的发展已经不仅仅是一把剪刀的概念。论文通讯作者、遗传发育所研究员高彩霞在接受《中国科学报》采访时介绍，进化至2.0时代的碱基编辑和引导编辑还可以是一块橡皮或一支铅笔。

如果一个序列有点多，你可以把它剪掉；如果组成DNA的四个字母ATCG有一个错了，你可以像用一个‘橡皮擦’把它擦掉，然后用‘铅笔’写入正确字母，而‘铅笔’、‘橡皮擦’是不留在细胞里的。她比喻说。

更具体地说，引导编辑系统（PE）是一种能够在基因组的靶位点处实现任意碱基替换和小片段精准删除、插入的新型基因组编辑工具，也是基因组编辑领域的重大变革。

2020年，高彩霞团队率先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（PPE），开发了植物引导编辑向导RNA（pegRNA）设计网站——PlantPegDesigner，极大提高了引导编辑效率并简化了植物pegRNA的设计流程。他们还通过全基因组重测序发现PPE系统在全基因组水平上具有很高的特异性。这些研究为引导编辑系统在植物领域的应用奠定了良好的基础。

尽管如此，引导编辑系统目前在植物中的编辑效率仍不够高，且有很大的靶点依赖性。也就是说在一些内源靶位点上，现有的引导编辑系统效率仍然很低，尤其是针对一些较长片段的删除、插入这种复杂的编辑类型。论文第一作者、高彩霞课题组博士生刘怡静向《中国科学报》解释。

这些短板严重限制了引导编辑在植物中的广泛应用。因此，如何优化引导编辑系统突破现有的限制，提升引导编辑技术的高效性、广适性是一个研究重点。

寻找更高效突破点

万事开头难。如何去优化引导编辑系统，实现更高效、广适的编辑呢？这是合作团队一直思考的问题。为此，他们先后构思尝试了多种不同策略，最终通过对蛋白的理性设计获得了能够稳定提高效率的ePPE的版本。

不同于大多数已报道的通过优化pegRNA提高引导编辑效率的思路，新型引导编辑系统ePPE侧重于对引导编辑系统的蛋白组分进行改造。通过对不同策略构建的多种引导编辑系统进行筛选，研究人员发现删除引导编辑系统中逆转录酶M-MLV
RT（依赖RNA的DNA聚合酶）的RNA核酸酶H（RNase H）结构域或在M-MLV RT
的N端融合病毒核衣壳蛋白（NC），可分别将PPE的编辑效率提高2.0倍和3.2倍。

究其原因，他们推测，RNase H结构域的去除稳定了sgRNA-DNA和nCas9-RT-pegRNA复合体中的RNA-DNA异源双链结构，NC蛋白通过其核酸退火活性在逆转录过程中辅助MLV-RT发挥功能。

研究人员进一步地通过整合以上两种优化策略，开发出了升级版新型引导编辑器ePPE。相比于PPE，ePPE在碱基替换、小片段插入、删除以及较大片段的插入和删除等多种编辑类型下编辑效率平均可提高5.8倍，且不增加脱靶及副产物的发生。

ePPE作为一个更高效、广适的引导编辑器，可以算作是一支流畅合格的‘铅笔’，一块干净好用的‘橡皮’了。刘怡静表示。

对此，另一位审稿人也表示：这项研究在植物基因组编辑领域做出了及时而重要的贡献。

种质创新小试牛刀

除了高效和广适性，合作团队通过进一步研究发现，当把新型引导编辑器ePPE与该课题组此前报道的dual-pegRNA策略和哈佛大学、博德研究所教授刘如谦实验室研发的epegRNA策略相结合时，可进一步提高引导编辑系统在内源基因上进行精准编辑的效率。

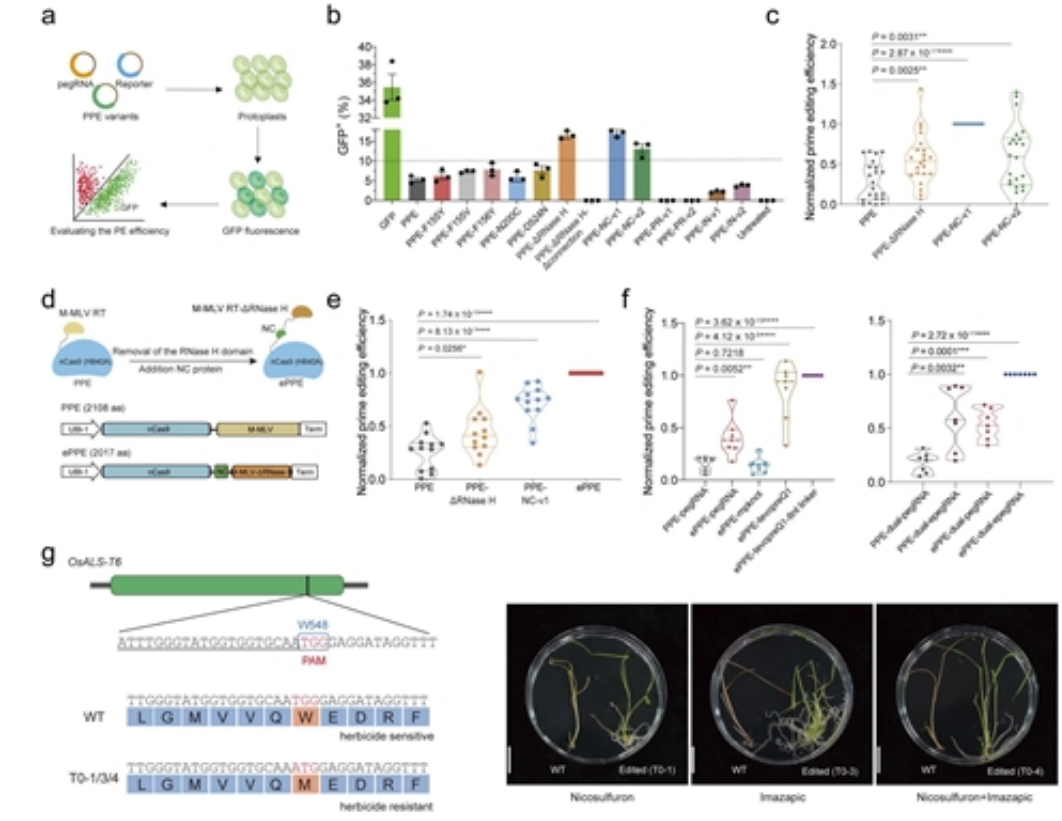
这些特性在很大程度上拓展了其应用范围。基于此，研究人员利用ePPE系统成功创制了对两种除草剂（甲咪唑烟酸和烟嘧磺隆）具备抗性的水稻新材料。

刘怡静介绍，乙酰乳酸核酶（OsALS）基因是支链氨基酸合成途径中的第一个酶，诸如磺酰脲类、咪唑啉酮、三唑嘧啶等除草剂都是该酶的抑制剂，通过抑制支链氨基酸的合成导致植物死亡，从而除去很多杂草。同时，这类除草剂对哺乳动物毒性非常小，应用价值很高。

通过在ALS基因的特定位置上产生单个氨基酸的突变，可以获得抗性酶，赋予植物这一类除草剂抗性。她表示，研究团队选择了Trp548Met突变作为目标靶点，该位点突变虽然可通过传统诱变的方法获得，但耗时耗力，需要巨大的工作量。而使用基因编辑方法不存在像诱变产生的其他有害突变，没有脱靶，也无需回交，突变体植株可快速投入应用生产。

研究人员在这一位点将编码色氨酸的TGG密码子修改为编码甲硫氨酸的密码子ATG，通过铅笔+橡皮擦，同时实现T到A和G到T的突变。据介绍，这是目前引导编辑外的其他编辑工具所不能实现的。最终他们以高出原始引导编辑器PPE 5.6倍的效率成功获得了抗除草剂的水稻新材料，并且

在甲咪唑烟酸和烟嘧磺隆两种除草剂的筛选下有非常好的抗性表型。



植物高效新型引导编辑器ePPE的建立及应用。a-b，原生质体报告系统筛选候选植物引导编辑系统。c，基于删除RNase H结构域和融合NC蛋白两种策略构建的引导编辑器与PPE编辑效率对比。d, ePPE示意图。e，四种不同引导编辑器编辑效率对比。f，ePPE与已报道pegRNA优化策略结合的编辑效率对比。g，ALS-W548M水稻突变体在不同除草剂处理下的表型。 作者供图

我国虽然在动植物基因编辑技术研发和应用上居于世界前列，但原始专利严重缺位，核心专利及底层技术大多被美国为首的西方国家垄断，产业安全面临严重挑战，加快推动基因组编辑基础研究是国家发展和战略布局的迫切需求。论文共同通讯作者、遗传发育所研究员曹晓风院士在接受《中国科学报》采访时曾说。

而新系统的开发有望推动引导编辑在农业育种、作物改良等方面的应用。我们也期待有更加流畅的‘彩笔’不仅可以实现更长片段的精准改写，也可以精致的绘制改写基因组上的修饰，画出‘

彩色’的基因组信息。刘怡静说。(来源：中国科学报冯丽妃)

相关论文信息：https://doi.org/10.1038/s41587-022-01254-w

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