
科学家开发出超大片段DNA精准无痕编辑新方法

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/34770.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！

科学家开发出超大片段DNA精准无痕编辑新方法

基因组编辑技术作为生命科学领域的一项重要突破，为基础研究和应用开发提供了技术支撑。以CRISPR及其衍生技术为代表的编辑系统通过可编程的向导RNA引导Cas9等核酸酶靶向基因组特定位点，被广泛应用于特定碱基和短片段DNA的精准编辑。但是，大片段DNA编辑至今仍面临挑战，对数千乃至数百万碱基的精准操纵更是领域的核心难题。突破该技术壁垒，将为实现大尺度基因组操纵提供关键支撑——包括基因关键区域的替换与修复、功能基因序列的完整插入、基因簇的删减或重定位以及人工构建基因组结构变异等。这不仅可以推动遗传操纵技术革新，更将成为疾病治疗与作物改良技术瓶颈的突破口。理想的大片段DNA编辑工具可以同时支持染色体水平的多种编辑类型，包括精准插入、替换、删除、倒位与易位等。然而，现有工具在编辑效率、尺度、精准性及类型多样性等方面存在不足。

近日，中国科学院遗传与发育生物学研究所高彩霞团队报道了新型可编程的染色体水平大片段DNA精准操纵技术PCE。这一技术在动植物中实现了从千碱基到兆碱基级别DNA的多种类型且精准无痕的编辑，提升了真核生物基因组的操纵尺度和能力。

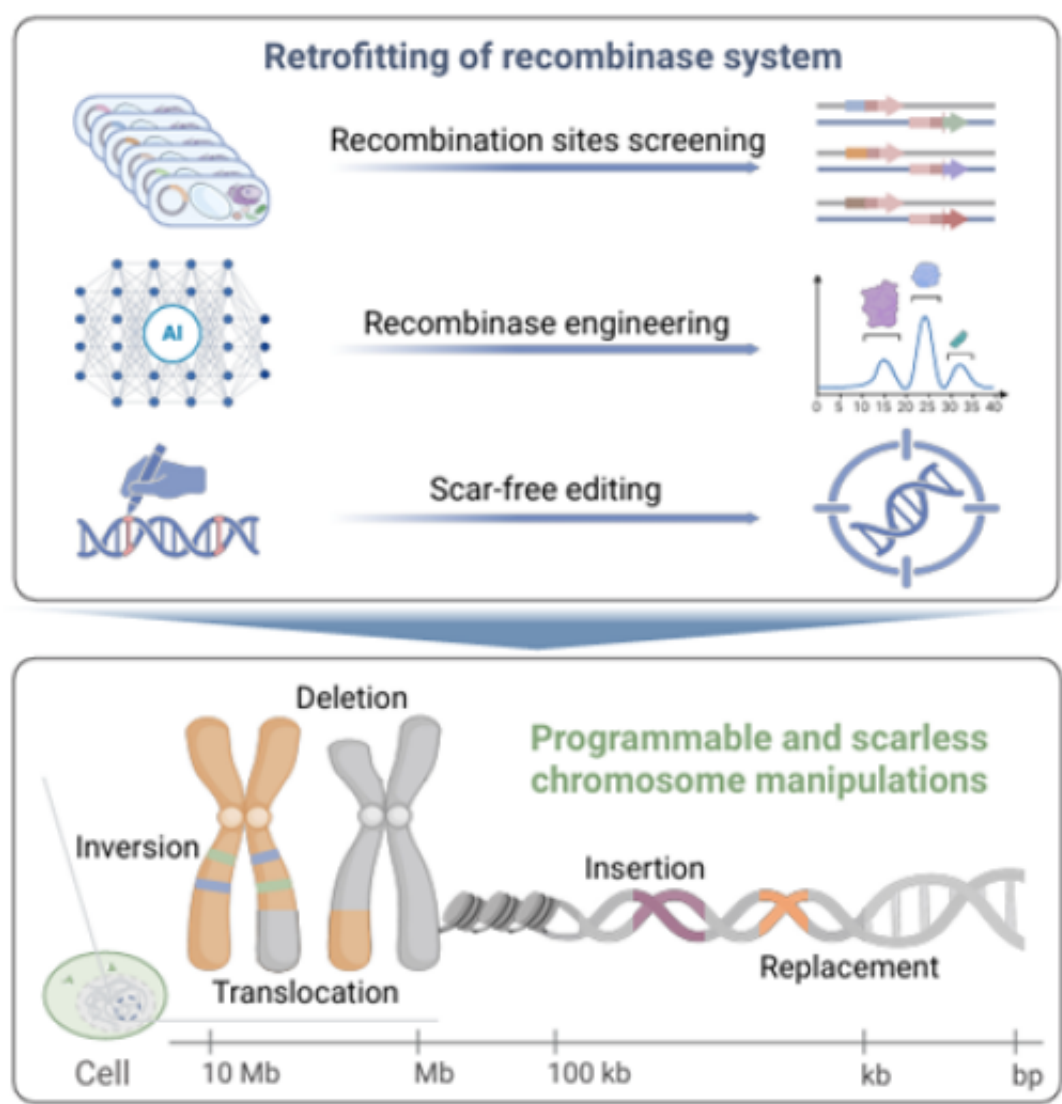
位点特异性重组酶Cre-Lox系统具有染色体水平DNA操纵潜力，但其应用受到三个关键问题制约：Lox位点固有的对称性导致重组反应可逆，不利于目的编辑发生；Cre酶作为四聚体工作，提升其活性的工程改造难度高；重组后特异性位点残留，影响编辑的精准性。为突破上述限制，研发团队构建了系统性技术路径。团队开发出高通量重组位点快速改造平台，并提出不对称Lox位点设计原则，创制新型Lox变体，其可逆性重组活性降低至接近阴性对照水平，同时保持其原有的高效正向重组能力。进一步，基于团队此前自主开发的融合蛋白通用逆折叠模型、结构与进化约束信息的蛋白定向进化平台AiCE，实现对Cre蛋白多聚化界面的精准优化，获得重组效率提升至3.5倍的工程化Cre蛋白变体。团队创建并优化了重组酶的无痕编辑策略Re-pegRNA，利用引导编辑器的高效编辑特性，通过设计特异性pegRNA对重组后残留的Lox位点进行“重引导编辑”，将其精准替换为原有基因组序列。

通过上述三项技术的集成优化，科研团队构建了PCE与RePCE两个可编程染色体编辑系统，可对不同Lox位点的插入位置和方向进行灵活编程，实现从kb到Mb尺度的大片段DNA精准无痕操纵。在动植物细胞中，研究人员利用这一系统实现了18.8 kb超大片段DNA的定点整合、5 kb序列的定向替换、12 Mb的染色体倒位、4 Mb的染色体删除及整条染色体的易位，并利用该技术创制了含315 kb精准倒位的抗除草剂水稻种质。

上述研究开发了新型染色体编辑系统PCE，在动植物中实现了跨越kb到Mb级别的多类型染色体精准操纵。这一工具不仅能够实现多基因叠加，而且可以通过操控基因组结构变异，为作物性状改良和遗传疾病治疗开辟新路径。该技术有望推动新型育种策略的发展，如通过操纵遗传连锁、调控重组频率实现育性控制、消除连锁累赘，释放野生种质资源中优异等位基因的育种潜力。同时，精准染色体编辑技术的突破将加速人工染色体构建，在合成生物学等新兴领域也颇有应用前景。

8月4日，相关研究成果以*Iterative recombinase technologies for efficient and precise genome engineering across kilobase to megabase scales*为题，在线发表在《细胞》（*Cell*）上。研究工作得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、农业农村部相关项目、中国科学院战略性先导科技专项等的支持。

[论文链接](#)



PCE系统的开发和精准染色体编辑概述

研究团队单位：遗传与发育生物学研究所

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