
全新CRISPRCas9基因敲入系统助力肝癌建模 Genome Medicine

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/4849.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！

全新CRISPRCas9基因敲入系统助力肝癌建模 Genome Medicine。最近发表在开放获取期刊Genome Medicine 上的一项研究，报道了一种建立肝癌小鼠模型的新方法，即利用CRISPR/Cas9系统快速将癌症相关基因敲入小鼠的DNA中。

研究的通讯作者、麻省大学医学院RNA疗法研究所的王文说：为了更好地理解肿瘤生物学、开展临床前研究以及为病人找到潜在的治疗策略，我们需要有效的肿瘤模型。现有用来敲入致癌基因以建立癌症模型的方法或效率很低，或难以控制敲入位置和敲入的拷贝数。CRISPR/Cas9使得在基因组特定位置——我们将这种位置称为目标基因座——插入大片段DNA成为可能，并且可应用于实验室的人类细胞以及小鼠中。我们研发出了一个新的系统——CRISPR-SONIC，可以在肝癌小鼠模型中灵活进行基因敲入，且准确率很高。



为了解决癌症建模的现存问题、满足快速有效建立动物模型的需求，牟海伟、Deniz Ozata和Jordan L. Smith研发了这一新系统，利用CRISPR/Cas9基因编辑系统将致癌基因插入活小鼠的基因组。CRISPR/Cas9系统由一段向导RNA和Cas9酶组成。向导RNA是一种核苷酸短序列，它会附着到基因组中一个特定的目标DNA序列上。由于向导RNA同时也与Cas9酶相连接，它可以将Cas9导向目标DNA序列。然后Cas9会对DNA进行剪切，移除单个核苷酸/整个基因，或在DNA修复过程中插入核苷酸/整个基因。

作者在本研究中使用了具有2个向导RNA的CRISPR/Cas9，进行了一个三步骤的操作。首先，其中一个向导RNA和Cas9酶一起对目标DNA位置进行切割。第二步，另一个向导RNA和Cas9会对一个DNA环(即质粒供体)进行切割，第三步则是将已经被切割成线状的质粒环插入目标位置。

为了验证这一方法，作者利用这种方法将一个绿色荧光蛋白(GFP)基因插入了实验室培养的小鼠细胞中。这个基因在成功进入细胞DNA后，会产生一种在激光下可见的绿色荧光蛋白，从而表明基因成功插入并被表达。在实验室细胞中成功检验后，作者们在小鼠里测试了这种方法。

Deniz Ozata说：我们观察到在使用了CRISPR-SONIC后，我们的样本中约有10%的肝脏细胞成功带上了GFP。这相对于之前那些方法大约0.5%的敲入效率来说，是一个巨大的提升。

随后作者们对CRISPR-SONIC系统(包括向导RNA、Cas9酶以及一个致癌基因质粒)进行了测试，检验它是否可以用来为肝癌中发病率第二的肝内胆管癌进行小鼠建模。

牟海伟说：导致这种癌症的最常见基因突变发生在抑癌基因TP53(所有病例中约占26-44%)和致癌基因KRAS(所有病例中约占16-18%)中。过往研究显示如果这两个突变一起发生，可以在小鼠模

型中引发肝内胆管癌。我们用CRISPR-SONIC敲入了KRAS，同时加入另一个向导RNA敲除了抑癌基因TP53。这在癌症建模中非常重要，因为在p53存在的情况下KRAS无法导致肿瘤的形成。

将CRISPR-SONIC注射进小鼠一个月后，作者观察到小鼠肝脏中形成了肿瘤。对照组小鼠在注射了向导RNA、Cas9和一段发光DNA片段(而非致癌基因)之后，并未罹患肿瘤。

Jordan L. Smith说：我们用RAS致癌基因检测了我们的方法，但我们认为任何致癌基因片段都可以用这种方法定制癌症模型。我们展示了如何利用CRISPR-SONIC建立肝癌模型，但这种方法亦有应用到其他组织和器官的潜力。

作者还展示了这种方法亦可用于建立生物发光癌症模型，这种模型可以让研究者们实时监测癌细胞的生长和癌症发展。

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