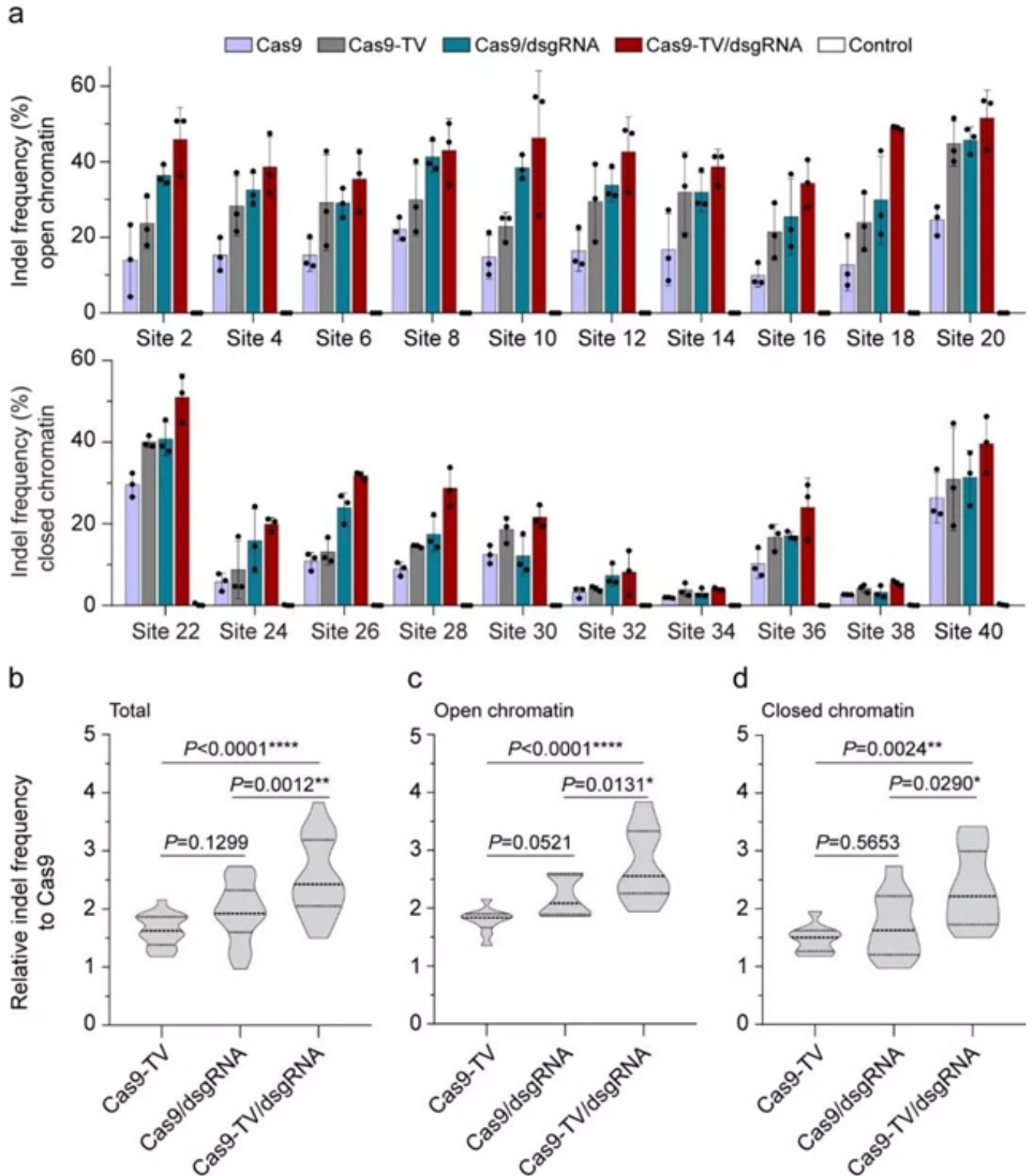

增强染色质的开放性提高Cas9体内编辑效率 Genome Biology

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/6271.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！

增强染色质的开放性提高Cas9体内编辑效率 Genome Biology。近期发表在Genome Biology上的一项研究首次在植物中实验证明了染色质的开放性与Cas9的编辑效率正相关。更重要的是，该研究通过Cas9-TV/dsgRNA策略提高染色质开放性增强体内Cas9编辑效率，为提高体内Cas9编辑效率提供了一种新方法，特别对位于染色质紧密区域基因的编辑具有重要意义。



图：Cas9融合人工合成的转录激活子和靶位点临近位置dsgRNA的结合提高Cas9体内基因组编辑效率

(a)在水稻原生质体中，Cas9、Cas9-TV、Cas9/dsgRNA和Cas9-TV/dsgRNA在20个靶位点的编辑效率；

(b) Cas9-TV、Cas9/dsgRNA和Cas9-TV/dsgRNA在20个测试位点的编辑效率相较Cas9而言显著提高;

(c) Cas9-TV、Cas9/dsgRNA和Cas9-TV/dsgRNA在染色质开放区域靶位点的编辑效率比Cas9明显提高;

(d) Cas9-TV、Cas9/dsgRNA和Cas9-TV/dsgRNA在染色质封闭区域靶位点的编辑效率比Cas9明显提高

基因组编辑技术是生命科学最新的革命性技术，尤其是CRISPR/Cas9系统以其简单、高效、低成本的特点在基础理论研究、基因治疗和农作物育种等领域得到了广泛的应用。然而，越来越多研究者在不同类型的真核细胞或个体中发现，CRISPR/Cas9在基因组不同位点的编辑效率有着巨大差异。在某些位点极低的编辑效率限制了CRISPR/Cas9在全基因组水平上的应用。因此，寻找这一问题背后的原因并提供解决方案将有助于扩大CRISPR/Cas9在不同物种中应用的广度和深度。

CRISPR/Cas9系统来源于原核生物，将其应用到真核细胞后面临的是完全不同的细胞环境。与原核细胞DNA不同，真核细胞的基因组DNA缠绕在组蛋白上，并进一步压缩形成高级的染色质结构。不同基因组位点的染色质状态极有可能影响CRISPR/Cas9系统的编辑效率。近年来的一些动物细胞系中研究表明染色质的开放性和Cas9编辑效率存在关联。最近，中国科学院微生物研究所和遗传与发育生物学研究所团队合作在植物细胞中深入研究了CRISPR/Cas9基因组编辑效率与染色质开放性的关系，并开发了一套通过增强染色质的开放性提高Cas9体内编辑效率的新方法。

研究者首先分析了41个水稻基因共70个sgRNA靶位点的基因编辑植株的indel频率，结合靶位点的染色质状态，发现靶向染色质开放区域的sgRNA编辑效率显著高于靶向染色质紧密区域的sgRNA编辑效率。进一步通过设计一系列靶向不同染色质区域的sgRNA，在水稻原生质体中验证了Cas9基因组编辑效率与染色质的开放性正相关。为了排除sgRNA序列组成对基因组编辑效率的影响，该研究还选取了数个可以靶向不同染色质状态位点的sgRNA，结果发现同一个sgRNA在染色质开放区域的编辑效率明显高于染色质紧密区域。这些结果表明，在水稻细胞中Cas9基因组编辑在染色质开放区域效率更高。

转录活跃的基因处于染色质开放的区域，转录激活子可以诱导染色质的开放。研究者将一个人工合成的转录激活子与Cas9融合，形成融合蛋白Cas9-TV。与Cas9相比，该融合蛋白的基因组编辑效率显著提高。dsgRNA(dead sgRNA)可以与基因组结合但不产生双链断裂，在靶位点附近引入dsRNA可能帮助Cas9-TV进一步提高染色质的开放性，研究者发现Cas9-TV/dsgRNA可将Cas9基因组编辑效率提高数倍。研究者也通过实验证明了Cas9-TV和dsgRNA都能够增强靶位点的染色质开放性，Cas9-TV结合dsgRNA可以更高地增强染色质的开放性。体内染色质状态都是处于动态变化之中，染色质的开放性是相对的。与之相对应，Cas9-TV和Cas9-TV/dsgRNA能够在染色质开放和紧密区域都能提高基因组编辑效率。此外，Cas9-TV和Cas9-TV/dsgRNA并没有增加Cas9的脱靶效应。

该研究首次在植物中实验证明了染色质的开放性与Cas9的编辑效率正相关。更重要的是，该研究通过Cas9-TV/dsgRNA策略提高染色质开放性增强体内Cas9编辑效率，为提高体内Cas9编辑效率提供了一种新方法，特别对位于染色质紧密区域基因的编辑具有重要意义。上述研究成果已于近日在Genome Biology 在线发表，题目为Modulating chromatin accessibility by transactivation and targeting proximal dsgRNAs enhances Cas9 editing efficiency in vivo。中国科学院微生物研究所植物基因组学国家重点实验室博士生刘关稳和助理研究员尹康权为共同第一作者，邱金龙研究员为论文的通讯作者。该研究受到农业部、科技部和中科院的经费资助。

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