

---

# 生物物理所在CRISPR-Cas12a系统R-loop复合体形成机制方面取得进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/8028.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！**

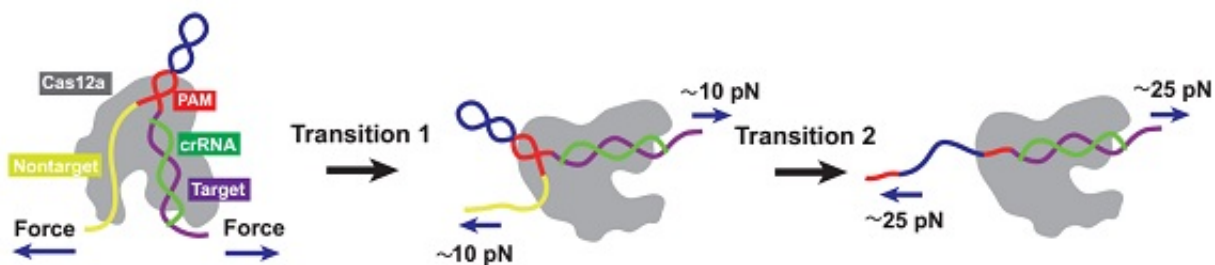
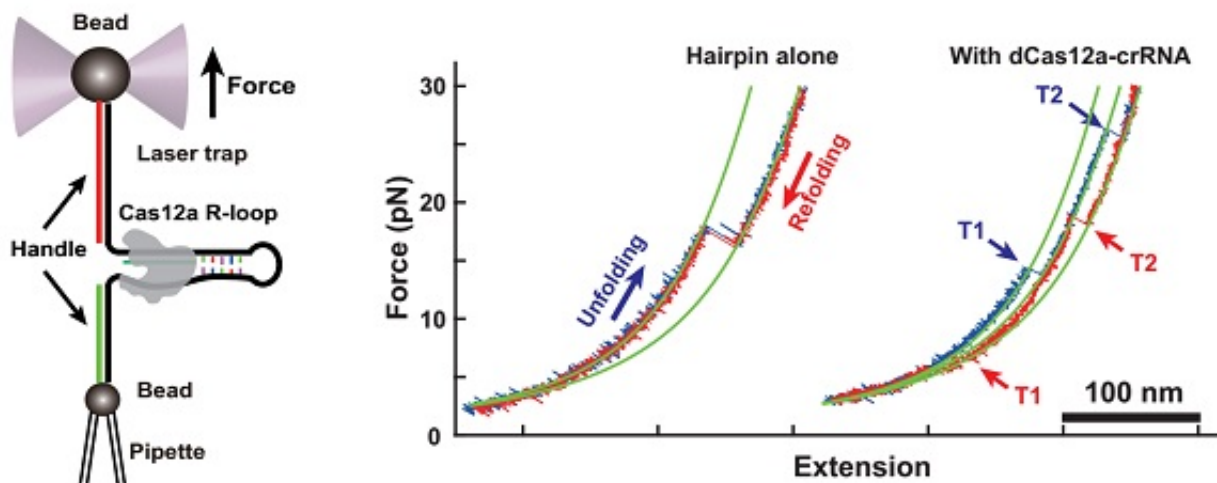
2020年1月14日，Chemical Communications杂志在线发表了中国科学院生物物理研究所娄继忠课题组关于CRISPR-Cas12a系统R-loop复合体的分子机制的最新研究成果，题为Direct Observation of the Formation of CRISPR-Cas12a R-loop Complex at the Single-Molecule Level。

CRISPR-Cas12a系统属于Type Ⅱ型CRISPR系统。该系统具有许多与Cas9系统不同的特性：首先，Cas12a只需要crRNA即可对靶DNA进行识别与切割，不需要tracrRNA的参与，因而系统更加简单；其次，与Cas9蛋白不同，Cas12a识别的PAM序列为富胸腺嘧啶（T）序列，可以扩展CRISPR的编辑范围；另外，Cas12a切割靶DNA产生粘性末端，更加有利于目的基因的插入；一系列研究还发现，Cas12a在具有相近的编辑效率前提下，具有比Cas9更低的脱靶率。

在本项研究中，娄继忠课题组利用自主搭建的高分辨光镊仪器，并结合生物化学、单分子荧光等手段对氨基酸球菌属Cas12a (*Acidaminococcus* sp. Cas12a, AsCas12a) 蛋白R-loop复合体的形成及结构稳定性进行了较为系统的研究。研究发现，当crRNA和靶DNA的碱基配对长度达到18bp时，R-loop结构达到一种稳定的检查点状态，此时Cas12a采取一种活性构象为随后靶DNA的切割做准备。一旦稳定的R-loop结构形成，Cas12a会率先对非目标链进行切割，由于非目标链与Cas12a的结合相对松散，因此它会很容易地从Cas12a酶切中心释放出来，随后闲置的RuvC活性中心又会和目标链结合并进行切割。由于受到Cas12a保护的RNA-DNA杂合双链的长度被限制在20bp，20bp外的DNA目标链呈现为单链形式，因此很容易与Cas12a的酶切中心结合。在这一过程中，Cas12a的Nuc结构域通过与非目标DNA的结合，抑制靶DNA双链的再退火从而稳定形成R-loop结构。

研究员娄继忠与副研究员宋广涛为论文的共同通讯作者，博士生崔洋为论文的第一作者。哈尔滨工业大学教授王雷课题组在光镊仪器搭建及电路调试方面提供了帮助。该项研究得到国家自然科学基金（项目编号：31771015，11672317）的资助。

[文章链接](#)



生物物理所在CRISPR-Cas12a系统R-loop复合体形成机制方面取得进展

研究团队单位：生物物理研究所

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