
超高活性胞嘧啶碱基编辑器开发成功

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/9585.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！

超高活性胞嘧啶碱基编辑器开发成功。

5月11日，华东师范大学生命科学学院李大力课题组在《自然—细胞生物学》上发表论文，介绍了最近开发的超高活性胞嘧啶碱基编辑器（hyCBE）。该碱基编辑新工具的开发，有望为基因治疗提供自主研发的新工具，提升遗传疾病基因疗法精准性和长效性。

据 ClinVar 数据显示，人类的遗传病中58%是由于单个碱基突变引起的。虽然Cas9激活的同源重组可以实现对突变位点的精确修正，但效率非常低（0.1%~5%），严重阻碍了其应用。

而通过将胞嘧啶脱氨酶与nickase Cas9（D10A）融合而成的胞嘧啶碱基编辑器BE3（CBE），在不引入DNA双链断裂同时也不需要重组修复模板的情况下，对编辑窗口（距离PAM远端起第4-7位）内的胞嘧啶脱氨，实现C>T的碱基转换，具有更加安全、高效、精准的特点，在基因治疗、农作物遗传育种、药物筛选等领域展示了广泛的应用前景。

自CBE被发明以来，多种策略对其进行了优化改进，虽然这些方法一定程度上提高了CBE的活性，但是对于编辑窗口的影响不大，特别是更靠近PAM序列的碱基仍然很难被编辑到。因此，是否有新的策略可以提高编辑活性而又能扩增靶向碱基的范围，一直是碱基编辑器优化的难点。

CBE主要是以单链DNA（ssDNA）为底物，如果增强脱氨酶与ssDNA的结合能力，是否能增加脱氨酶作用时间而增强活性呢？研究团队将10个非序列特异性的ssDNA结合结构域（ssDBD）与CBE进行融合，通过筛选，发现将Rad51蛋白的ssDBD融合到APOBEC1与Cas9n之间能显著提高碱基编辑活性，同时编辑窗口也大幅增加。通过10个靶点的分析，研究人员发现，在编辑窗口C4—C8中，hyBE4max比BE4max活性提高了1.5~2倍，而在C9—C15这些更靠近PAM的碱基中，活性最多提高了18倍。

为了验证融合ssDBD的策略是否具有通用性，研究人员用类似的方法改造A3A—BE4max和特异性识别TC motif中C碱基的eA3A—BE4max，获得了hyA3A—BE4max和hyeA3A—BE4max。大量实验证明，相比A3A—BE4max，hyA3A—BE4max活性在C3—C11位点提高了1.2~2倍，C12—C17位点活性提高3~4倍，通过小鼠胚胎显微注射也进一步证明其编辑更靠近PAM序列的碱基的独特优势。与eA3A—BE4max相比，hyeA3A—BE4max仍然能非常特异性地靶向TC motif中的C，编辑窗口由C4—9拓展为C4—15，活性最高提高了257倍，而在小鼠胚胎中C13位的编辑活性也提高了近60倍，F0代小鼠获得DMD纯合点突变的效率达到40%。

论文进一步验证了hyCBEs特别是hyeA3A没有检测到DNA或者RNA层面的脱靶，具有非常高的精准性。

最后，通过比较多种CBE在编辑胎儿血红蛋白（HBG1/2）启动子—117位点的能力发现，hyeA3A能在红细胞前体细胞系中精确催化—117G>A的转换，而与周围同时发生碱基突变的细胞相比，具有更高的HBG表达水平，展示了hyeA3A—BE4max对于精准治疗—血红蛋白病的巨大潜力。

该工作开发了能提高编辑活性拓宽靶点范围的一些列新的CBE，为基础研究与基因治疗提供了新的优化工具。

该研究得到了科技部重点研发计划、国家自然科学基金以及上海市教委重大项目等经费的支持。（来源：中国科学报黄辛）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41556-020-0518-8>

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：李大力等 来源：《自然—细胞生物学》

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](http://www.iikx.com)转发