
上海巴斯德所等利用RNA编辑策略实现对逆转录转座子的编辑干预

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/9699.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！

5月19日，Cell

Discovery

在线发表了中国科学院上海巴斯德研究所研究员郝沛利用RNA编辑策略、编辑干预逆转录转座子的合作研究论文：Interfering with retrotransposition by two types of CRISPR effectors: Cas12a and Cas13a

。该研究利用逆转录病毒/逆转录转座子生命周期中具有DNA和RNA两个不同阶段的特性，首次采用RNA编辑的策略，实现了对逆转录转座子Tf1（类似于逆转录病毒的模式生物）的编辑干预。同时，该工作还第一次采用CRISPR-Cas12a对逆转录病原体的DNA阶段进行编辑，达到了100%的编辑干预效率。

该研究开拓了对逆转录病原体（包括外源的逆转录病毒、内源性逆转录病毒和逆转录转座子）进行编辑干预的新思路。为RNA编辑和DNA编辑技术应用于逆转录病毒感染阻断、器官移植中的内源逆转录病毒失活和种质资源培育中的逆转录转座子抑制，提供了新的技术策略和并建立了系统参数。

近年来，CRISPR系统开始发展成为对抗逆转录病原体（包括外源的逆转录病毒、内源性逆转录病毒和逆转录转座子）非常有前途的重要技术。外源和内源性的逆转录病毒是引发人体疾病的严重起因，也是器官移植（同种和异种器官移植术）中重大的风险因素。导致疾病的著名外源和内源性逆转录病毒包括HIV-1、HTLV-1、HERV-K等。前期科学家尝试用CRISPR-Cas9编辑消除人体内的HIV-1，抑制作为器官移植供体的猪体内内源性逆转录病毒（ERVs），和消除水稻育种中逆转录转座子Tos17的干扰，取得了一定的进展。

虽然近年来发现的、专门靶向编辑RNA的CRISPR第VI亚型Cas13，为对逆转录病原体的编辑干预，提供了新的可能性和技术策略。由于逆转录病毒/逆转录转座子生命周期中具有DNA和RNA两个不同阶段的特性，理论上RNA编辑的方法可以通过编辑RNA中间体，有效干预和对抗逆转录病原体，但这一技术策略迄今为止尚没有被探索过。另外，近年来发现与CRISPR-Cas9类似、作用于DNA的CRISPR第V亚型Cas12a，具有一些优秀特性，包括对PAM区的不同要求、自处理产生crRNA的能力和更高的靶向效率。但到目前为止尚没有Cas12a应用于编辑干预逆转录病原体的报道。本研究在以下几个方面取得了新的进展：

构建了Tf1逆转录转座的报告系统。为了应用RNA编辑（利用Cas13a）的技术策略和Cas12对逆转录病原体编辑干预，郝沛课题组与合作者首先构建了Tf1逆转录转座的报告系统。他们在Tf1的NE

O基因中引入了反向的内含子（构建多达4种不同的内含子序列），这样Tf1转录剪接后新形成的Tf1产物将不具有这些引入的内含子。然后通过设计crRNA，在实验中特异性靶向这些新形成的不包含内含子的Tf1产物。

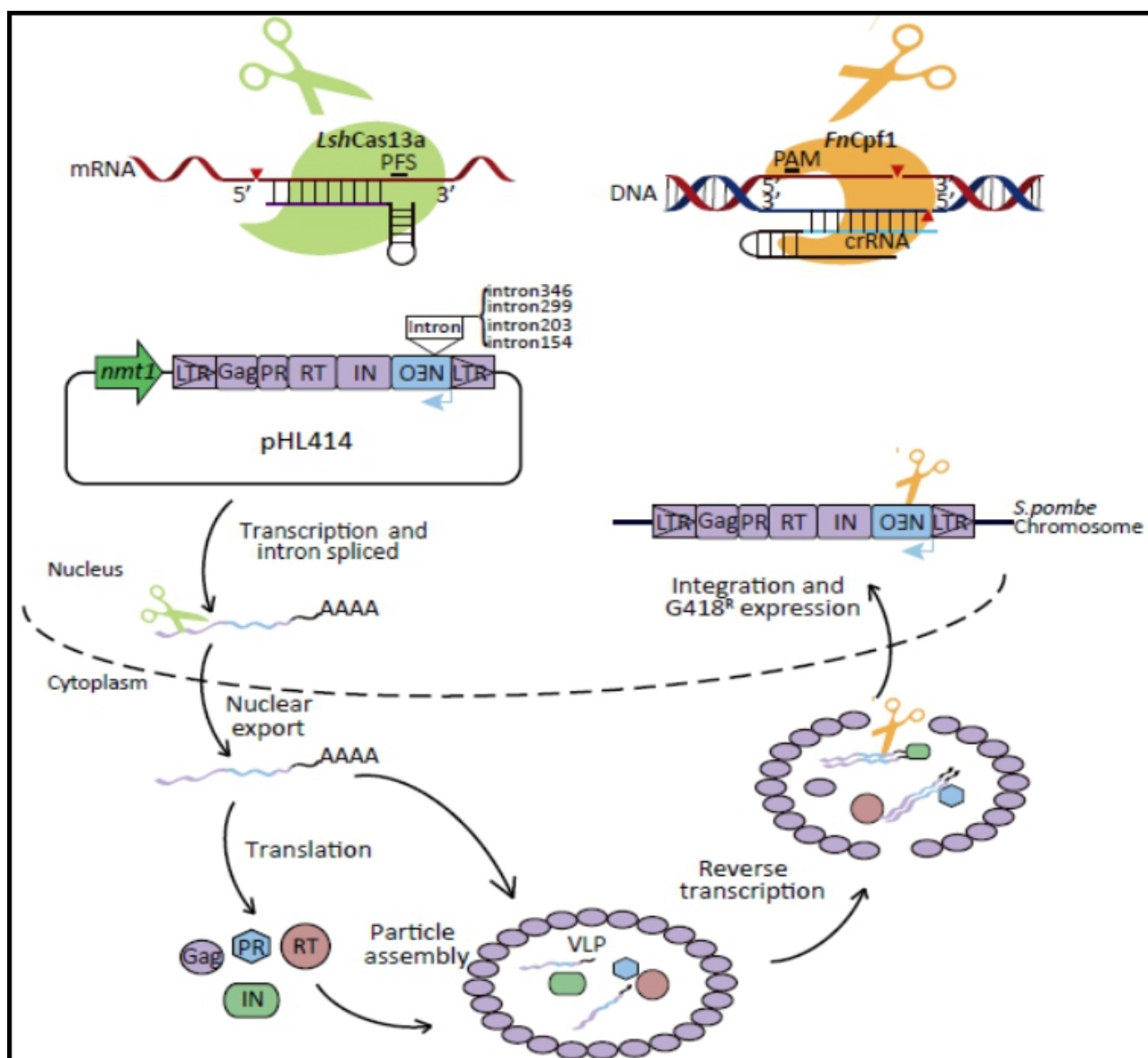
首次证明RNA编辑显著干预抑制Tf1逆转录转座活性。郝沛课题组与合作者设计了Cas13靶向Tf1中间转录本的两个特异位点和随机对照的实验，获得了对Tf1转座活性的16%和60%的显著编辑抑制效果。这些结果第一次证明了RNA编辑是对逆转录病原体有效的干预策略。更进一步，对比Cas13a与靶标结合被激活后（由于其乱切割活性）导致原核宿主细胞生长停滞的现象，研究者没有观察到Tf1在真核宿主中激活导致细胞停止生长的现象。这暗示了RNA编辑技术在真核宿主的安全性，也表明Cas13a在真核细胞与细菌细胞中的作用机制有所不同。

第一次采用CRISPR-Cas12a实现对逆转录病原体DNA阶段进行编辑干预。通过设计Cas12a靶向Tf1逆转录本的多个特异位点（5个crRNA设计）和随机对照的实验，发现Cas12a对Tf1逆转录转座的显著编辑抑制作用（达到90%）——虽然仍有残余的Tf1转座发生。研究者猜测残余的转座活性，是由于Tf1中间产物被VLP包装保护的结果。所以更进一步，通过延长crRNA的表达时间，最终完全消除了残余转座活性，达到了100%的编辑干预效率。

这些研究成果，开拓了对逆转录病毒/逆转录转座子进行编辑干预的新思路和新方法。比较了RNA编辑和DNA编辑的不同作用机制，完成了两类机制对逆转录病原体复制和转座的编辑干预效果的定量分析，为新技术策略发展建立了基础并提供了系统参数。

该项研究工作由中科院上海巴斯德所研究员郝沛与中科院分子植物卓越创新中心合成生物学重点实验室研究员李轩、美国密歇根大学教授王红兵（Hongbing Wang）合作完成。张牛冰和荆新云为共同第一作者。相关工作得到国家重点研发计划、中科院战略先导项目和自然科学基金项目的支持。

[文章链接](#)



上海巴斯德所等利用RNA编辑策略实现对逆转录转座子的编辑干预

研究团队单位：上海巴斯德研究所

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