

亮点 | 正序生物科学创始人团队在 *CRISPR Journal* 发表
导向编辑系统脱靶效应检测的论文

正序生物 2022/4/7

2022年3月14日，国际学术期刊 *CRISPR Journal* 在线发表了正序生物科学创始人团队与合作者创建的一种可以在细胞水平检测并分析导向编辑 (Prime Editing, PE) 系统在全基因组和全转录组范围内脱靶效应方法的研究成果 “Genomic and Transcriptomic Analyses of Prime Editing Guide RNA-Independent Off-Target Effects by Prime Editors” ([原文链接](#))。

The CRISPR Journal
Volume 5, Number 2, 2022
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/crispr.2021.0080



The
CRISPR
Journal

RESEARCH ARTICLE

Genomic and Transcriptomic Analyses of Prime Editing Guide RNA-Independent Off-Target Effects by Prime Editors

Runze Gao,^{1,2,3,†} Zhi-Can Fu,^{4,†} Xiangyang Li,^{1,3,†} Ying Wang,^{4,†} Jia Wei,⁴ Guangye Li,^{1,2,3} Lijie Wang,^{1,2} Jing Wu,^{1,2} Xingxu Huang,^{1,*} Li Yang,^{4,†,*} and Jia Chen^{1,2,*}

Correctseq
正序生物

该项研究成果由正序生物科学创始人陈佳教授、杨力教授以及上海科技大学黄行许教授团队合作完成，首次证实了 PE3 系统的逆转录酶在哺乳动物细胞中开展多种类型编辑过程中的高度特异性，论文第一作者高润泽博士已于近期全职加入正序生物。

脱靶问题长期困扰着基因编辑领域的发展和应用。2019 年开发的新型 PE 系统大大扩展

了基因编辑的应用范围，尤其在基因治疗领域有着广阔的应用前景，因此其安全性的问题也备受关注。目前，已有研究报道 PE 系统在进行目的编辑时会产生低效率的 pegRNA 依赖性脱靶 (Anzalone et al, *Nature* 2020) ，并且证实可以通过使用具有高靶向特异性和高保真性的工程化 Cas9 变体来减少该脱靶突变，因此人们更关注 PE 系统是否会产生 pegRNA 非依赖性脱靶突变：一种更为严重、与 pegRNA 序列无关并难以预测突变位点的脱靶效应。正序生物科学创始人团队长期从事基因编辑和基因治疗领域的研究，也首次在哺乳动物细胞中对 PE 系统的编辑特异性进行了全面的检测和分析。

研究人员首先建立了一种在哺乳动物细胞中检测基因编辑系统是否存在脱靶突变的方法，通过在 293FT 细胞中敲除内源性 APOBEC3 (Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalytic polypeptide-like type 3) 基因构建了一种背景突变数量极低的单克隆细胞系 293FTA3^{-/-}，并在该细胞系中分别检测 PE3、hA3A-BE3 以及 Cas9 在相同位点编辑过的单克隆细胞中的突变数量，通过全基因组和转录组测序的方法探究 PE3 的编辑特异性 (图 1A) 。同时，研究人员结合基因组和转录组数据对 PE3 在进行精确靶向编辑时，其编辑过细胞的端粒完整性、内源性逆转录作用元件的活性、可变剪接事件的发生以及基因表达的模式变是否会受到影响，全面分析了 PE3 在细胞中进行编辑时可能存在的脱靶问题。结果表明，PE 在靶位点处介导高效编辑的同时 (图 1B) ，并未在全基因组 (图 1C) 和全转录组 (图 1D) 范围内检测到 PE3 产生的 pegRNA 非依赖性的脱靶效应，证明了 PE3 系统的高精确性和高特异性 (Gao et al, *CRISPR J* 2022) 。这些结果为利用 PE3 开展高精度的基因编辑应用提供了理论基础，同时也为检测基因编辑系统是否存在脱靶突变提供了新方法和新思路。

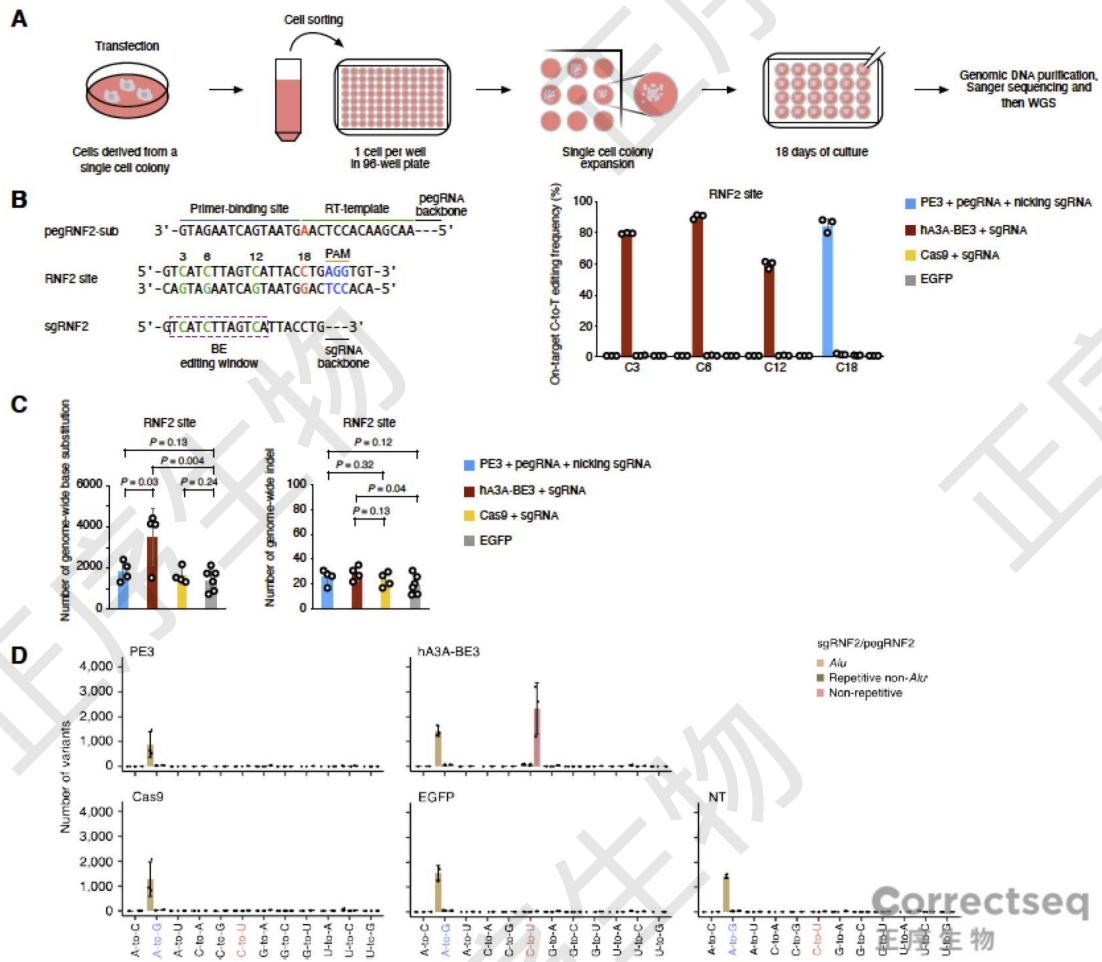


图 1: 全基因组和全转录组水平未检测到 PE3 存在 pegRNA 非依赖性脱靶突变

- A) 在细胞水平上通过检测编辑的单克隆细胞来分析 PE3 是否存在脱靶突变方法的模式图。
- B) PE3 在靶向位点的编辑效率。
- C) 全基因组范围内未检测到 PE3 存在脱靶突变。
- D) 全转录组范围内未检测到 PE3 存在脱靶突变。

正序生物是一家专注于生物科技创新和开发突破性疗法的高科技生物医药公司,拥有全球领先的碱基编辑系统,其技术专利和靶点专利覆盖全球 15 个国家和地区,针对不同类型疾病的研发管线也在顺利进行。同时,正序生物紧紧依托来自上海科技大学、复旦大学和武汉大学科学创始人团队科研进展,始终保持在基因编辑和治疗领域以及生物技术创新研究方面的前沿性,其研发平台和工艺转化实验室具有世界一流的研发能力,并努力推进碱基编辑系统以及导向编辑系统在内的相关前沿性技术在疾病治疗中的应用。

-完-

欲了解更多信息，请登录正序生物官网：

www.correctsequence.com

联系我们：

投资合作：IR@correctsequence.com

商务合作：BD@correctsequence.com

媒体垂询：PR@correctsequence.com



Website



WeChat