

中国科学家开发高精度变形式碱基编辑系统

科学网 2021/5/11

上海科技大学生命科学与技术学院陈佳教授,中科院上海营养与健康研究所杨力研究员,武汉大学医学研究院殷昊教授,上海科技大学免疫化学研究所杨贝教授课题组联合开发高精度变形式碱基编辑系统 transformer Base Editor (tBE), 可在全基因组和全转录组范围内实现无脱靶且高效精准的碱基编辑。北京时间 2021 年 5 月 10 日, 国际学术期刊《自然—细胞生物学》在线发表了这一研究成果。

由定位子 CRISPR/Cas 与效应子胞嘧啶脱氨酶 APOBEC (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide) 结合构成的胞嘧啶碱基编辑器 (cytosine base editor, CBE), 可在靶向位点实现胞嘧啶 (C) 到胸腺嘧啶 (T) 的碱基转换, 碱基编辑器可在多个物种中进行有效的碱基编辑, 拥有巨大的临床应用潜力。根据 ClinVar 的统计数据显示, 碱基编辑器理论上可以通过碱基转换纠正 50%以上的人类致病性点突变。然而, 由于 sgRNA 会引导碱基编辑器错误结合在与靶向位点序列相似的脱靶位点造成脱靶突变; 且近期多项研究发现碱基编辑器会在全基因组和全转录组范围内引发非常严重的 sgRNA 非依赖性脱靶突变 (sgRNA-independent/single-stranded off-target, OTss), 并且这些突变随机分布于全基因组中。目前, 仍然缺少有效预测和检测 sgRNA 非依赖性脱靶突变的方法, 因此也极大地限制了碱基编辑系统的进一步发展及其在疾病治疗方面的运用。

在该项研究中，研究团队首先构建出了一种可以简便、快速地定量检测碱基编辑器中由 APOBEC 诱导发生在基因组中单链 DNA 区域的脱靶突变的方法—CESSCO，可以灵敏快捷地检测一部分全基因组范围内 sgRNA/Cas9 非依赖性的脱靶效应。接下来，通过筛选鉴定首次发现部分胞嘧啶脱氨酶的调节结构域具有胞嘧啶脱氨酶抑制作用，将其定义为胞嘧啶脱氨酶抑制（deoxycytidine deaminase inhibitor, dCDI）结构域。随后利用来源于小鼠的 mA3dCDI 和 split-TEV 系统构建了一种高精度变形式碱基编辑系统 transformer Base Editor (tBE)，tBE 可以在脱靶位置处保持“锁定”状态，而只有在靶向位点才能通过切除 mA3dCDI 结构域来“解锁”进行碱基编辑（图 1），从而达到同时消除 sgRNA 非依赖性和依赖性脱靶效应（sgRNA-dependent off-target, OTsg）的目的。tBE 消除了现有碱基编辑技术存在的 gRNA 依赖性、gRNA 非依赖性全基因组水平的脱靶突变以及 gRNA 非依赖性全转录组水平的脱靶突变，全面解决了影响碱基编辑系统进行治疗性应用的脱靶问题，实现了高效率、高精度以及更具安全性的碱基编辑。

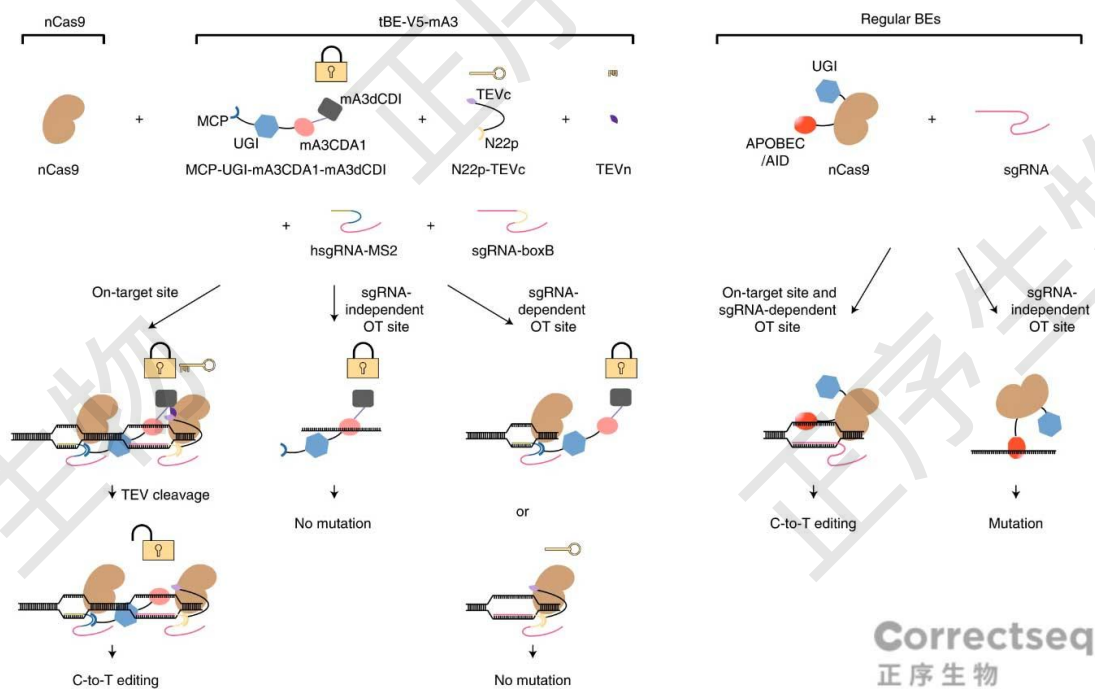


图 1: tBE-V5-mA3 系统在靶向位点进行编辑，不会产生 OTss 和 OTsg

腺相关病毒介导的递送途径已经被广泛应用,但是单个 AAV 载体的包装上限为 4.7 kb,而传统的 APOBEC-Cas9 融合构型碱基编辑系统已经远超这一包装上限。天然由两个载体组成的 tBE 系统打破了传统碱基编辑器 APOBEC-Cas9 的构型,并且两个载体的长度在单个 AAV 载体的包装上限之内,因此可以便利地被包装进双腺相关病毒 (Dual-AAV) 载体中来实现体内递送。联合研究团队将 tBE 系统递送至成年小鼠的肝脏中,显著降低了小鼠血清中 PCSK9 蛋白表达水平以及总胆固醇水平 (图 2),并且未在小鼠体内检测到脱靶效应。tBE 系统也提供了一个无脱靶的高效精准型碱基编辑器的构建范式,为临床治疗高胆固醇血症等遗传性疾病提供了新方法和新工具。

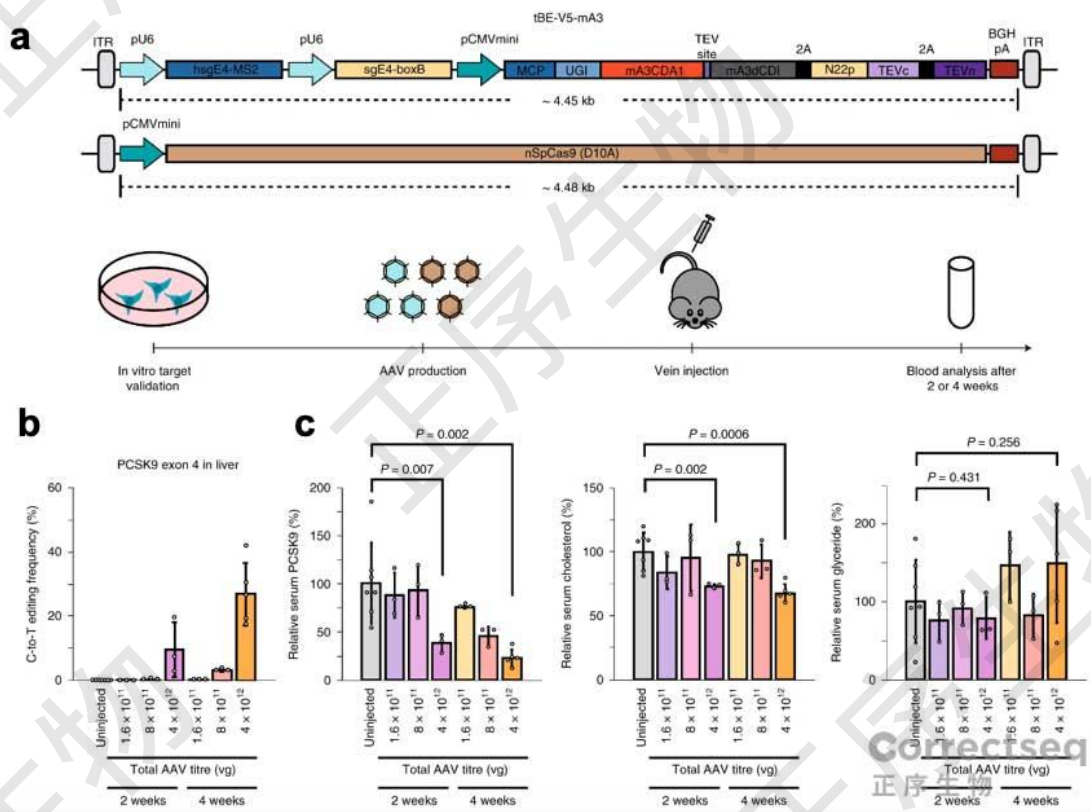


图 2: 双 AAV 递送实现 tBE *in vivo* 的碱基编辑

该论文中,陈佳研究组毕业生王丽洁博士、杨力研究组博士研究生薛尉、殷昊研究组博士后张红霞、陈佳研究组博士研究生高润泽和殷昊研究组博士研究生邱厚圆为共同第一作者,陈佳教授、杨力研究员、殷昊教授和杨贝教授为共同通讯作者。该项研究得到了科技部、国

家自然科学基金委和上科大科研启动基金的支持。(来源: 上海科技大学)

相关论文信息: <https://dx.doi.org/10.1038/s41556-021-00671-4>

-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