

从同源重组到碱基编辑器 看基因编辑72变

DNA结合域和限制性内切酶的DNA切割域融合而成。它们能够识别并结合指定的位点,高效且精确地切断靶标DNA。因细胞天然具有的DNA修复能力可修复靶基因的断裂,研究人员能够对特定的基因组位点进行编辑。

TALEN技术是通过DNA识别模块将TALEN元件靶向特异性DNA位点并结合,然后在特定核酸酶作用下完成特定位点的剪切,并借助于细胞内固有的修复过程完成基因组编辑。

今生

魔法剪刀手CRISPR及碱基编辑器

CRISPR本是细菌防御病毒入侵的一种机制,2012年被科学家开发成为当今可高效、精确、程序化地修改细胞基因组的热门工具。

如果我们把病毒性感染视为一个定时炸弹,在它“爆炸”之前,细菌只有几分钟的时间来拆除这个炸弹。因此,许多细菌都有一种叫做CRISPR的适应性免疫系统,这个系统能够探测到病毒DNA并将其破坏。而Cas9蛋白能在向导RNA的介导下靶向切割病毒DNA。科学家们基于Cas9的这一功能,将其开发为一种基因操作技术,精确删除或插入特定的DNA片段。

CRISPR/Cas9技术之所以受到众多科学家的追捧,是因为它有一系列优点。“我们实验室就在用CRISPR/Cas9工具对基因的功能进行研究,它操作简便、成本低、周期大大缩短,在常规实验室就可以操作,可以在细胞水平也

可以在动植物水平操作,已被广泛应用于医学、农学、微生物学等研究领域。”孙绍光说道。

近年来,虽然CRISPR/Cas9基因编辑技术被全球科学家们广泛使用,但修复点突变一直是个未解的难题。为此,刘如谦团队开发出一种“碱基编辑器”,可以将细胞内DNA的一种碱基换成另一种碱基,达到精准编辑基因的目的。

在中学我们就知道,DNA的双螺旋结构由4种碱基组成:腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)与鸟嘌呤(G)。其中,A和T配对,C和G配对,组成了人类的遗传信息。问题是,胞嘧啶(C)容易发生脱氨突变,这样一来,C-G就变成了A-T组合。这种单碱基变异导致了数百种遗传性疾病,而碱基编辑器就可以把突变形成的A-T组合还原成C-G组合,为治愈这类遗传病找到了新的方向。

未来

在研究和应用中施展十八般武艺

基因编辑技术问世后,其应用领域就迅速扩大,包括开辟了分子生物学基础研究的新范畴,助推微生物、植物和动物的精准基因改造,以及基因治疗重大遗传性疾病。

基因编辑技术可以对动植物基因进行精准的定点修饰,这样不仅不影响动植物正常的生理功能,而且可以得到我们想要的动植物表现,譬如农作物高产、家畜瘦肉率更高等等,从而培育人类需要的优良品种。

在研究基因和疾病之间的关系时,科学家也可以通过基因编辑技术构建一些具有遗传性疾病的动物模型。“这对研究遗传性疾病具有重

大意义,这也是为什么大家从第一代就开始密切关注基因编辑技术的原因。”江苏佰龄全基因生物医学有限公司联合创始人胡昕华曾表示。

基因编辑技术最受关注的应用领域当属基因治疗和药物研发。传统的基因治疗是将正常的基因片段引入细胞中替代有缺陷的基因,但是这种方法难以精准定位,可能会产生很大的副作用。而基因编辑技术能够准确修正或切除基因,这对基因突变疾病来说,无疑是彻底根治的福音。药物研发领域,应用CRISPR的团队可以将定制定律法更快地推向市场,加速药物研发过程。

本报记者 陆成宽

基因编辑尤其是“基因魔剪”CRISPR的新闻报道几乎每天都可见到。仅在3月份,就有两篇引起广泛关注的重磅成果,其一,曾与张峰合作开创“基因魔剪”CRISPR的科技大牛刘如谦(David Liu),利用基因编辑技术研发出给细胞活动拍照的“细胞记录仪”(CAMERA)。正如黑匣子能记录事故发生时的飞机状态,警察的随身相机能还原现场,“细胞记录仪”能够记录细胞在光照、抗生素、病毒感染后的活动变化。

另一重大成果来自于中国科学家。上海科技大学与中科院马普计算生物学研究所的研究人员在19日出版的《自然·生物技术》发表论文称,他们开发出一系列基于CRISPR/Cpf1(Cas12a)的新型碱基编辑器(dCpf1-BE),理论上可对数百种引起人类疾病的基因突变进行定点矫正,因此拥有巨大的临床应用潜力。

近年来,CRISPR基因编辑技术甚至还曾两次入选《科学》杂志年度十大科学突破榜单,基因编辑一词一时成为大众耳熟能详的科技名词,但它源自哪里,何时流行,为何拥有令人惊异的十八般武艺?大多数人并不“能详”其一二。

前世

基因序列定点敲除或敲入

自1953年美国生物学家詹姆斯·沃森和英国生物学家克里克发现DNA双螺旋结构以来,人们一直在积极探索高效便捷的基因编辑技术。到目前为止,基因编辑技术的发展已经到了第三代。

“基因编辑技术是一种可以对基因组或转录产物进行精确修饰的技术,可完成基因定点突变、片段的敲除或敲入等。”河北医科大学医学与健康研究院心血管研究中心学术带头人(PI)、基础医学院生物化学与分子生物学教研室孙绍光教授告诉科技日报记者。

20世纪80年代,基于小鼠胚胎干细胞及DNA同源重组技术的发展而催生的基因打靶

技术,使生命科学研究发生了革命性改变。凭借该技术,科学家可以对小鼠等的基因序列进行定点敲除或敲入。第一代基因编辑技术横空出世。

所谓同源重组是在非姐妹染色体之间或同一染色体上含有同源序列的DNA分子之间或分子内进行的重新组合。其中,基因敲除是把基因组中原有的删除;基因敲入则是将原本不存在的基因整合进基因组中。虽然科学家曾经凭借该技术获得了诺贝尔医学奖,但是它存在一定的局限性。“它存在编辑效率低、操作难度大、周期长、花费大、应用范围受限等缺点。”孙绍光说道。

而俄亥俄州克利夫兰市的阿胡嘉生育中心也在3月4日早上发现同样事故,液氮问题导致储存柜上部的温度升高。据最新消息,胡嘉生育中心事故大概导致2000多个卵子和胚胎或已失去活性,多达700多名客户受到影响。

对此,麦克唐纳德女子医院及彩虹婴童医院的院长柏蒂·狄庞贝说:“毁灭性的,这是彻底毁灭性的伤害。”

负责人在进行常规检查时,发现4号储存柜中的液氮水平降得太低。液氮不够,就会导致温度上升,对冷冻储存的卵子和胚胎组织造成损害。虽然实验室负责人立即转移了其中的卵子和胚胎,但损害已不可逆转。

据最新消息,至少400名病患已经接到院方的电话和电邮通知,影响波及500名客户。诊所发言人指出,发生故障的4号储存柜里存放着几千个冷冻卵子和胚胎,占该诊所总储量的15%。诊所已邀请了多学科专家,展开彻底调查。

而俄亥俄州克利夫兰市的阿胡嘉生育中心也在3月4日早上发现同样事故,液氮问题导致储存柜上部的温度升高。据最新消息,胡嘉生育中心事故大概导致2000多个卵子和胚胎或已失去活性,多达700多名客户受到影响。

对此,麦克唐纳德女子医院及彩虹婴童医院的院长柏蒂·狄庞贝说:“毁灭性的,这是彻底毁灭性的伤害。”

补救措施有限,尚不清楚是否人为

“这两家生殖医学中心均为历史相对较长并在业内非常优秀的机构。”孟励说。

“搞清楚两起意外的原因和后果,吸取经验

第二代

借助核酸内切酶进行特定位置剪切

为克服第一代基因编辑技术效率低、操作难等一系列局限,上世纪90年代,科学家又开发出依靠核酸内切酶的第二代基因编辑技术,

其中锌指核酸酶(ZFN)和转录激活因子样效应因子核酸酶(TALEN)是最主流代表。ZFN是人工改造的限制性内切酶,由锌指

把冻卵当后悔药 你还敢信吗

热点追踪

本报记者 马爱平

就在本月,美国两家生育中心一周内突发两起冷冻卵子库设备故障。

“这两起突发事故增加了人们对冻卵这一技术的忧虑,且有可能撼动民众对辅助生殖技术的信心,其更深层、后续的影响尚难以评估。”26日,身兼美国多家生殖医学中心实验室主任的孟励博士告诉科技日报记者。

关于事件的最新进展,美国北卡罗莱纳大学医学院药理学系博士后任金琪告诉记者,其中一家生育中心——阿胡嘉生育中心,已经接到几起法律起诉,但应该不会有工作人员被判刑,而会被要求重新为客户免费收集卵子并培养胚胎。阿胡嘉医院也表示,他们会退还受损用户的费用,免费为他们重新采卵,还为他们免除七年的储存费用。

液氮罐升温导致胚胎损伤

“在IVF(体外受精联合胚胎移植技术,又称试管婴儿)实验室发生这类事故,应该是首次。”孟励说。

3月4日,旧金山太平洋生育诊所的实验室

负责人在进行常规检查时,发现4号储存柜中的液氮水平降得太低。液氮不够,就会导致温度上升,对冷冻储存的卵子和胚胎组织造成损害。虽然实验室负责人立即转移了其中的卵子和胚胎,但损害已不可逆转。

据最新消息,至少400名病患已经接到院方的电话和电邮通知,影响波及500名客户。诊所发言人指出,发生故障的4号储存柜里存放着几千个冷冻卵子和胚胎,占该诊所总储量的15%。诊所已邀请了多学科专家,展开彻底调查。

而俄亥俄州克利夫兰市的阿胡嘉生育中心也在3月4日早上发现同样事故,液氮问题导致储存柜上部的温度升高。据最新消息,胡嘉生育中心事故大概导致2000多个卵子和胚胎或已失去活性,多达700多名客户受到影响。

对此,麦克唐纳德女子医院及彩虹婴童医院的院长柏蒂·狄庞贝说:“毁灭性的,这是彻底毁灭性的伤害。”

补救措施有限,尚不清楚是否人为

“这两家生殖医学中心均为历史相对较长并在业内非常优秀的机构。”孟励说。

“搞清楚两起意外的原因和后果,吸取经验

教训并进行补救,检查是否存在需要解决的风险,变得至关重要。毕竟,多少家庭拥有自己孩子的梦,可能就这被打碎了。”美国生殖医学学会政策推广及发展官西恩·提伯顿说。

中科院遗传与发育研究所生物医学研究中心高级工程师姜韬对记者解释,事故发生后,确实没有补救方法,因为非可控过程的融化会给冷冻中的卵子和胚胎带来不可逆损伤,无法正常使用了,只能放弃,并按规销毁。

对于事故原因,狄庞贝说:“我们并不知道为什么会这样,我们只知道液氮罐的温度升高已经超过了我们的预设限制了。”这些液氮罐装有多台监控器和传感器,如果温度有变化,应该立马就会报警,甚至它们可以被远程监控。

两家生育中心尚不知是机械故障还是人为失误造成。任金琪说:“目前不知道是什么原因引起这两次事故。液氮罐的液氮水平下降是实验室一个常见问题,现已有第三方检测服务,可利用感应器在线检测温度。一旦发现液氮温度上升,这些感应器可立刻给实验室安全人员报警。”

姜韬说,这是明显的管理事故,不是技术问题。“这个问题属于管理事故,只要严格保证冷冻中的卵子和胚胎处于液氮温度下,就不会有问题。除非是没有人员值守、警报失灵、液氮消耗

超过境界高度同时发生了。”姜韬推测。

胚胎或卵子冷冻,技术上已相当成熟可靠

“由于二者均为历史相对较长的中心,其冷冻保存样品会是多年诊疗中积累下来的胚胎或卵子。”孟励说,这是一项成熟的技术。

“卵子或胚胎冷冻是细胞冷冻技术中最复杂困难的,通常都是使用添加了细胞保护剂和渗透压调节剂的特殊培养基后,进行降温处理,在接近细胞内水的冻结点附近快速降温,确保冻结的水呈不寻常的玻璃态,防止形成冰晶破坏细胞中的微观结构。”姜韬说。

姜韬进一步解释,冷冻的细胞使用前,要进行复苏,此时又要严格控制升温过程,防止细胞内凝固水融化过程导致的渗透压改变和局部离子浓度过高等不利影响。

任金琪认为,液氮会不断蒸发,得及时补充储存罐里的液氮。只要能保证液氮量水平,这种活细胞保存方法已经很成熟,相当安全可靠。

“这些手段都是经过科学实验建立的,可以确保技术上的安全可靠。”姜韬说,“现在商业上采取的玻璃冷冻产品和技术基本由日本控制了,产品是专门的卵子胚胎保护液,原理相同,但配方保密,而且操作更简单。”

封面故事

肿瘤学主流舞台上 免疫疗法登上

《科学》
2018.3.23



被持续关注一个多世纪的癌症免疫疗法,直到今天才登上主流肿瘤学的中心舞台。这些新一代癌症免疫疗法的主要代表为,使用药物促进患者利用自身免疫细胞对抗癌症,以及利用基因工程帮助患者利用T淋巴细胞来识别和攻击肿瘤。本期封面照片暗示了为每位患者量身定做出个性化疗法的希望。免疫疗法的使用,正在让更多的癌症患者受益,但目前存在几大主要挑战:为什么只适用于小部分患者,如何更好地保证治疗的长期效果。越来越多的临床研究数据表明,肠道菌群在免疫治疗反应中起着决定性作用,有望使用联合免疫疗法改善治疗后的身体反应,或为真正的个性化医疗开辟新的道路。

心肌细胞分裂能力 组合因子恢复

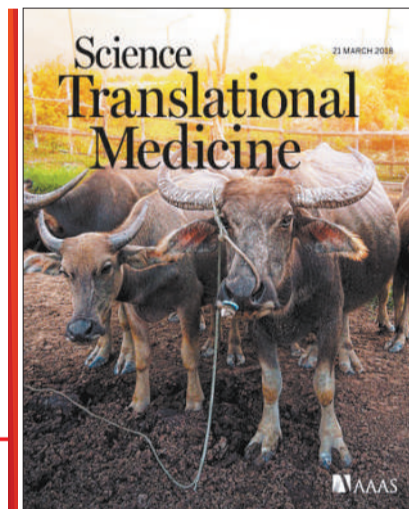
《细胞》
2018.3.22



人类疾病通常是由于体细胞无法重新进入细胞周期进行再生修复而造成。成人的心肌细胞经过有丝分裂后,已经退出细胞周期并且在心脏损伤后不能再生。而本期封面中,研究人员发现了细胞周期调控因子的组合因子,其能再次诱导成人心肌细胞产生稳定的细胞分裂。这些发现揭示了一种基因的离散组合,可以有效地释放在细胞中终止细胞周期的增殖潜能。实验表明,过度表达这些细胞调控因子组合,会诱导成人小鼠、大鼠和人类心肌细胞的细胞分裂,未来可将其用于治疗目的,增加心肌细胞的再生增殖潜力。封面插图中,一颗休眠的树枝象征着受损心脏,在再生的地方显示出了新的细胞分裂。

乙肝病毒免疫力越强 年龄越大对

《科学·转化医学》
2018.3.21



乙肝病毒(HBV)感染可导致肝硬化和癌症等严重并发症。长期研究已经证明,当暴露在乙肝病毒环境下,婴幼儿比成年人很容易被感染。

本期封面文章为这一结果提供了新的证据。科学家使用对HBV产生年龄依赖性的小鼠模型和患者的样本,研究了成人对乙肝病毒的有效免疫机制。结果发现,在肝脏免疫细胞中,OX40的配体表达会随着年龄增长而增加,这是控制病毒的关键。这些结果阐明了人体免疫反应存在某些年龄差异,同时在婴儿和慢性感染的成年人中增强OX40活性,可有效提高他们对HBV的免疫力。封面图片表示OX40通过犄角“征服”HBV。

(本栏目主持人:陆成宽)

(本版图片来源于网络)

扫一扫
欢迎关注
生物圈1号
微信公众号

