

剪掉“坏基因” “上帝的手术刀”难免失手

■ 解码基因编辑

本报记者 张晔

或许你正不幸被某种单基因遗传疾病折磨,比如血友病、白化病等。有一天,医生告诉你,可以用基因编辑技术“剪去”那个令你承受病痛的“坏基因”,是不是会心存感谢?

别急别急,基因编辑这个被称为“上帝的手术刀”的神奇技术,居然也有失手的时候,这时我们该如何面对呢……

近日,一种被命名为GOTI的技术受到广泛关注,这项刊登在《科学》杂志的成果,由中国科学院神经科学研究所与国内外研究机构的研究者们合作开发,能够准确、灵敏地检测到基因编辑方法是否会产生脱靶效应(指错误地编辑了不该编辑的地方)。

那么,科学家是如何检测基因编辑脱靶的?检测脱靶为什么这么难?检测脱靶技术未来如何发展?江苏南通大学刘东教授向科技日报记者作了详细解释。

对比测序检测脱靶操作难

基因编辑技术就是指能够对目标基因进行“编辑”,比如对特定DNA片段的敲除、敲入等。而CRISPR/Cas9技术自问世以来,因为有着无可比拟的优势,使科学家可以更加便捷地在细胞上进行“删除”“复制”“粘贴”。

随着人类的基因编辑能力越来越强,渐渐的,忧虑也随之而来,基因编辑会不会失手造出绿巨人那样的怪物?

这样的可能并非不存在。因为,CRISPR等基因编辑工具再强大,也难以避免“脱靶”效应。

如果是拿植物或斑马鱼、小鼠等实验动物来作试验,那么即使出错后果也较容易接受,甚至是舍弃重来。但如果用在人类胚胎编辑中,即使是极小概率的“脱靶”也能造成很大的问题,因为你不能把一个胚胎或者活人舍弃重新再做试验。

所以,检测基因编辑工具是否脱靶,就成为科学界必须攻克的一项课题。

“传统的检测方法,简单的说,就是测序和分析。”刘东介绍说,在此之前,人们推出过多

种检测脱靶的方案。以前的那些方法不适合在体检测单核苷酸的差异。

他以文本编辑打比方说:“我们在编辑一段文本时删除一个字,该怎么确定删除的那个字跟预想的一样呢?理想情况下,需要跟一个原始的文档去比较。”

那么同理,在基因编辑中,科学家将样本细胞分成两份,一份做基因编辑,一份不做,最后再测定两组基因序列,除了目标基因的变化外,其他的基因理论上应该是相同的,如果出现差异就可能是基因编辑脱靶导致的。

“但是生命不一样,由于单核苷酸多态性,我们找不到原始样本进行比较,这也是生物多样性的特点。”刘东说。

另外,在基因测序时需要大量样本,必须将样本细胞进行体外扩增,也就是大量复制。而在扩增过程中,又会带来DNA突变的概率,这就是所谓的“扩增噪音”,这样一来就难分辨脱靶与突变。

所以,检测基因编辑是否脱靶,在理论上是可行的,但在实践中很难操作。

说的实验室中培育的人造肉,是动物源人造肉。

基于动物干细胞的人造肉,是最近几年才证明可以成功进行培育的。黄仕强教授是中国科学院动物研究所干细胞再生与代谢研究组组长,专门研究肌肉干细胞与再生的代谢调控,他接受科技日报记者采访时介绍,2013年荷兰的马克·波斯特(Mark Post)教授向全世界媒体和美食家展示了人造汉堡,从此掀起在实验室中培育人造肉的热潮。

据报道,微软创始人比尔·盖茨和维珍集团创始人理查德·布兰森都已投资了人造肉创业企业。2018年12月,以色列研究团队宣称在实验室中培育出牛肉。

黄仕强介绍,目前动物源人造肉均由动物的肌肉干细胞培育而成。这些肌肉干细胞有多种来源,有些来自原代的动物肌肉,有些来自胚胎

新“裁判”为何能明察秋毫

尽管以CRISPR/Cas9等为代表的新一代基因编辑以精确著称,但是,每一次基因编辑操作本质上是成千上万的基因编辑工具分子对细胞做了多次编辑,脱靶无法避免但概率又很低,这就导致极其微弱的脱靶信号会淹没在强大的背景噪音中。

如何去除背景噪音,就是科学家要做的事,而中科院神经所的杨辉实验室的方法很新颖。

这种名叫“GOTI”的脱靶检测技术是利用小鼠胚胎做实验。研究者在小鼠受精卵分裂到二细胞期的时候,编辑一个卵裂球,并使用红色荧光蛋白将其标记。小鼠胚胎发育到14.5天时,将整个小鼠胚胎消化成为单细胞,利用流式细胞分选技术基于红色荧光蛋白,分选出基因编辑细胞和没有基因编辑的细胞,再进行全基因组测序比较两组差异。

伦理问题如何避免尚存疑问

但是,业内专家对此还有疑虑,这项技术用在实验动物上是可行的,用在人身上就存在伦理问题。

各国对基因编辑用于人类早就有多种伦理原则进行规范,其中的一个原则是,目前必须要有国家级的政府伦理机构批准,并且不能允许经过基因修改的婴儿出生,即便要用人的胚胎进行研究,也一般限于14天的胚胎,即胚胎发育到14天后必须销毁,不能发育成长为人。

而这项检测技术是需要让胚胎发育到较为成熟的阶段,在许多国家堕胎都是违法,更不用说等到胚胎发育成人形了。因此,专家们认为,这项技术打开了基因编辑检测的一扇新窗口,但是仍需要进一步完善。

“精准二字在生命科学里很难做到。因为从微观来看,生命的延续是基于弱作用力的一个动力学过程,基因发生变化就是一个概率问

“很难找到基因是完全相同的两只小鼠,但实验组和对照组来自同一个受精卵,理论上基因是完全一致的,这样进行对比,就能发现基因编辑是否脱靶了。”刘东告诉记者。

“这项技术的精妙之处在于,解决了样本少但精度又很高的问题。”刘东说,单个细胞中的DNA很少,并不足以做测序分析。但科学家对两细胞期的受精卵进行荧光标记,然后等它发育成一个胚胎,再“拆分”成足够多的单细胞进行测序,无需再做体外扩增,扩增噪音的问题迎刃而解。

使用该技术发现,CRISPR/Cas9衍生技术BE3单碱基编辑会产生大量脱靶突变,证实了以BE3为代表的部分基因编辑技术存在无法预测的脱靶风险。这一发现使得人们对原本认为“特别安全、几乎不会有脱靶”的单碱基突变技术进行重新审视。

题,想做到很精准,我认为理论上是不成立的。”刘东这样认为。

GOTI发现,单碱基编辑技术有脱靶问题,是不是应该放弃对该技术的研究?答案是否定的。很多人的遗传病是单碱基突变导致的。有数据表明,全球有7000种罕见病,其中80%是单基因遗传病,50%发生在儿童时期。

“比如我们正在做的耳聋疾病基因治疗实验,很多感音性耳聋是由单基因突变造成的,在小鼠上实验表明,修复单碱基突变的基因,听力就能恢复。”刘东说到。

刘东认为,未来基因编辑用于临床治疗时,必需制定行业标准,而且非常严格。但是,就像药物有副作用,外科手术可能失败,基因编辑脱靶的风险几乎无法避免,只要概率在可接受范围内,就是可行的。“也就是说,当希望大于风险,就会有人去做,甚至在没有选择时,我们不得不去做。”

■ 封面故事

主持人:本报记者 陆成宽

恢复T细胞抗肿瘤能力 调控乙酰辅酶A

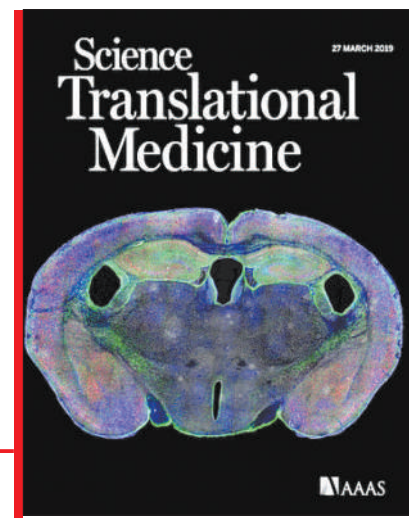
《科学》
2019.3.29



T淋巴细胞是一种可以摧毁肿瘤的免疫细胞,但一些肿瘤细胞已经发展出逃避其“杀戮”的技巧。美国国家癌症研究所肿瘤研究中心的休曼·沃德纳拉等研究人员发现,肿瘤微环境中的钾离子具有影响T细胞功能和干性的双重作用。钾的增加既会损害T细胞的新陈代谢和营养吸收,导致一种被称为自噬的饥饿状态,还会使T细胞保持干细胞样状态和分裂能力。而这些看似不同的过程与乙酰辅酶A的细胞分布有关,通过调控乙酰辅酶A,可以恢复T细胞消除小鼠肿瘤的能力。

能抑制神经退行性疾病 一种癌症药物

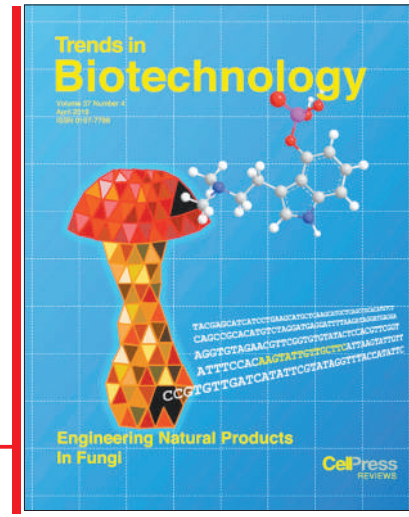
《科学·转化医学》
2019.3.27



Tau包涵体是许多神经退行性疾病的一个显著特征,被认为是一个潜在的治疗靶点。美国加州大学圣巴巴拉分校神经科学研究所的以色列·赫尔南德斯等研究人员,发现了一种以前未被识别的途径,可通过溶酶体让Tau蛋白清除。也就是通过抑制法尼基转移酶激活这一途径,可以阻止一种名叫“Rhes”的神经蛋白附着在细胞膜上。法尼基转移酶抑制剂已经被用于治疗癌症。研究人员利用Tau病变的小鼠模型,发现法尼基转移酶抑制剂能够防止Tau包涵体的形成,减少小胶质细胞增生和脑萎缩,并减轻行为异常。

生物药物丰富来源 真菌天然产物

《生物技术》
2019.4



真菌是生物活性化合物的丰富来源,其中一些已被开发为基本药物和生命增强药物。基因组测序表明真菌有潜力产生比通常在实验室观察到的更多天然产物(NPs)。近年来,科学家们在真菌生物合成基因簇(BGCs)的鉴定、理解和工程研究方面取得了重大进展。德国汉诺威莱布尼茨大学生物分子药物研究和有机化学研究所的伊丽莎白·斯卡拉姆,简要介绍了利用体内和体外方法进行真菌天然产物生物合成的工程实例,并介绍了现有异源表达系统的范围和规模、组合生物合成的进展、真菌生物合成的基因簇调控研究进展以及这些新型生物合成酶作为生物催化剂的应用。

(本版图片除标注外来源于网络)

实验室里长出“人造肉”,你敢吃吗?

■ 第二看台

本报记者 刘园园

我们平时吃到的肉,都是在动物身上生长出来的。近几年,在实验室中培育人造肉,成为新的科研热点。

据英国广播公司(BBC)报道,英国巴斯大学的科研人员正在叶片上培育动物细胞,加入在实验室培育人造肉的行列。如果这一过程能够实现工业化规模生产,肉食爱好者将来就有可能吃不到不需要“杀生”的人造肉。

用干细胞培育人造肉

常见于素食餐厅的所谓人造肉,是用非动物源的豆类蛋白或菌类蛋白制作的。我们今天所

干细胞或多能干细胞。“不过,无论何种来源都离不开肌肉干细胞,因为只有肌肉干细胞能大量增殖,培育出大量的肌肉纤维细胞。”黄仕强说。

以培育人造牛肉为例。第一步可以对牛进行活检,从它身上获取活的肌肉组织;第二步是从牛的肌肉组织中分离出干细胞;第三步是把牛的干细胞放入生物反应器,增殖生产出肌纤维。培育一片薄薄的牛肉,需要大量的肌肉纤维细胞才行。

味道和口感有待提升

对于吃货来说,人造肉的口感和味道是最值得关心的。据BBC报道,巴斯大学的科学家尝试使用纯天然的草作为脚手架,在叶片上培育啮齿动物的细胞,目的是让培育出来的人造肉更为“天然”。

不过,他们培育出的最终产品将是纯肌肉组织,也就是碎瘦肉,而没有天然猪排或牛排那样的口感和质地。这意味着需要给人造肉加入脂肪细胞和其他细胞,来提升它们的口感。

“从口味的角度来看,有许多报道说人造肉吃起来还不像真的肉。大众是否能接受这种新味道,尚需时日验证。”黄仕强说,有些高度加工的肉类产品对于肉本身的要求相对没有那么高,更多是依赖调味,它们或许更容易用人造肉替代。

黄仕强告诉记者,要让人造肉逼真模仿天然肉的口感和美味,变得真正好吃,可能还需要肌肉细胞与成纤维细胞、脂肪细胞和血管细胞共同培养,而这需要复杂的培养体系和代谢条件。

“解决这些问题不仅对于培育人造肉很重要,对于再生医学和临床问题也极其重要。”黄仕强说。

大规模培育还需时日

还有一点不得不提:要让人造肉走进百姓家庭的厨房,需要实现大规模工业生产才行。

巴斯大学的科研人员就表示,他们现在正在尝试设计生物反应器,以及相关的生物反应程序,以经济、安全、高品质地大规模培育肌肉纤维细胞。

“理论上人造肉是比较安全的。因为它的培育环境是百分百可控的,既无菌也没污染。如果有细菌或污染,肌肉干细胞就很难增殖或存活。”黄仕强说。

不过经济成本就另当别论了。目前已面世的人造肉,价格都令人望而却步。2013年,荷兰研究团队推出的人造汉堡,成本高达25万欧元。去年年底以色列团队推出的人造牛肉,薄片一片就价值50美元。

“动物源人造肉的生产过程目前比较昂贵和复杂,因为培养基的成分十分复杂,成本很高,而且培养体系也不完善。”黄仕强说。

黄仕强告诉科技日报记者,当前人类大量生产肌肉干细胞和肌肉纤维细胞的能力仍然比较有限,还有多个重要的科学和技术难题尚未解决。其中包括肌肉干细胞所需和不需要的细胞因子与代谢物,可快速增殖的肌肉干细胞及其培养技术,可快速组装3D肌肉的制作技术等等。

想要吃到美味又便宜的人造肉,就耐心等待科学家们突破这些技术吧。



扫一扫
欢迎关注
生物圈1号
微信公众号

