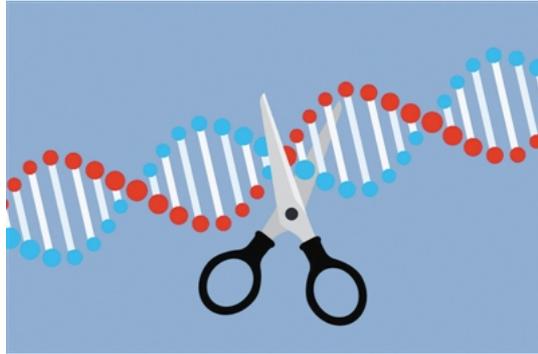




剪掉“坏基因”，“上帝的手术刀”难免失手

发布时间：2019-04-02 10:56:36 分享到：



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GOT1的技术受到广泛关注，这项刊载在《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更容易接受，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



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。

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。

“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。

伦理问题如何避免尚存疑问

但是，业内专家对此还存有疑虑，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，而且要非常严格。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。”

来源：科技日报

[联系我们](#) | [人才招聘](#)

© 版权所有 中国实验动物学会 京ICP备14047746号 京公网安备11010502026480

地址：北京市朝阳区潘家园南里5号（100021） 电话：010-67776816 传真：010-67781534 E-mail: calas@cast.org.cn

技术支持：山东瘦课网教育科技股份有限公司

关注我们

