

生命奥义

LifeOmicS

2016年 11月刊 总第90期

基因组编辑



基因组编辑

实验可重复性：尊重你的细胞

氨基酸饮食能提高冰冻果蝇的生存率



无奇不有
生命世界

解读生命
走进科学



目录 CONTENTS

专题

基因组编辑

前言	01
一、基因组编辑	02
1. 概述	02
2. 三大工具	03
3. 基因组编辑4大问题	05
二、无限可能	07
1. 研究：生物学利器	07
2. 医疗：前景无限	11
3. 疾病：关上HIV的大门	14
4. 表观遗传学：解开DNA化学变化之谜	18
5. 农业：开辟新方向	22
三、观点荟萃	25
1. Tim Lu专访	25
2. 胚胎编辑需要严格审查	27
3. 与其争论，不如鼓励创新	29
四、其它基因组编辑工具简介	31

下一期（2016年12月刊）预告：纳米技术在肿瘤诊断和治疗中的最新进展

下一期《生命奥秘》专题是《纳米技术在肿瘤诊断和治疗中的最新进展》。该专题将介绍关于纳米颗粒在肿瘤诊疗领域取得的最新进展，包括纳米颗粒如何作为药物载体提高药物疗效；纳米颗粒本身如何作为诊疗试剂在光疗、基因治疗、热疗法和分子成像中发挥功能；以及如何基于纳米颗粒研发集诊断、靶向治疗和疗效监控于一体的整合系统，以用于肿瘤的诊断、治疗和进展监测。

热点

实验可重复性：尊重你的细胞	35
---------------------	----

百态

氨基酸饮食能提高冰冻果蝇的生存率	42
多睡真的能够长寿吗？ ——睡鼠的端粒复位与觉醒有关	44

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。
凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。
本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

专题

Worthy issues

基因组编辑

特约编辑：张洁，女，博士在读，研究方向：神经生物学

前言

近几年，随着CRISPR/Cas9等更快、更准、更简单的基因编辑技术的纷纷问世，基因组编辑迎来了黄金时代。一方面，它前途无限，在生物、医学、农业、生物合成、表观遗传学等领域都将大有可为；另一方面，其面临的技术、伦理等问题也值得深入探讨。

一、基因组编辑

1. 概述

自上世纪70年代以来，科学家一直希望通过“基因工程”改变DNA，以治愈疾病或创造“超人”。然而，现实是残酷的。直到最近几年，随着新技术的问世，科学家们才终于能够随心所欲地改变任意基因的任意位点。这些最先进的基因组编辑工具不仅方便好用，而且成本低廉。比如目前最常用的CRISPR-Cas9质粒，其成本就在65美元以下。要想获得这种质粒，你可以网购，快递交付，收到后基本不需要专业培训，就能直接上手。

基于以上原因，这些基因组编辑极易普及。现在不仅生物学家在使用它，农业科学家、传染病学家和合成生物学家也在用它。而表观遗传学家则巧妙地调整了基因编辑工具，用其

来操控研究对象。大批生物技术公司也纷纷崛起，立志在基于基因组编辑的治疗领域大赚一笔。然而尽管部分疾病采用基因编辑疗法，效果显著，但并不是所有疾病都如此。目前效果最突出的是使用基因编辑，阻断HIV病毒侵袭免疫细胞。

正因为基因组编辑领域如此热门，学界才迫切需要对其进行深入而全面的研讨。为此，2015年12月，来自中、英、美三个科研强国的科研人员就是否应该对人类生殖细胞进行编辑举办了人类基因编辑国际峰会。这些基因编辑相关领域的领军人物全面讨论了基因编辑的风险和机遇。本专题整理了该峰会的主要思想和观点。

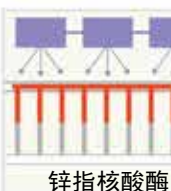
2. 三大工具

基因编辑使用酶来靶向剪切DNA序列，借助于细胞内固有的修复机制来完成修复。有了这类技术，科学家们能以前所未有的精准度破坏或修饰基因。

FokI

靶向识别DNA的蛋白中融合了FokI（一种来源于海床黄杆菌（*Flavobacterium okeanokoites*）的限制性内切酶）。

ZFNs 锌指核酸酶



一个锌指核酸酶（紫色）能识别3个碱基。通常来说，3-6个锌指核酸酶结合在一起，产生一个能识别9-18个核酸的DNA结合域。

TALENs 转录激活样效应因子核酸酶



单个TAL效应器中的一对氨基酸（红或紫色）能识别一个DNA碱基，多个TAL效应器结合在一起，能识别长达40个核酸的DNA序列。

FokI

锌指核酸酶或TAL效应器

ZFN或TALEN的基本形式相同：一系列工程化的蛋白，能识别与FokI结合的特定序列（红色），并剪切其临近DNA位点。

Cas9

2012年问世的一项技术，使用Cas9作为DNA剪切酶。Cas9的大小为FokI的2.5倍。

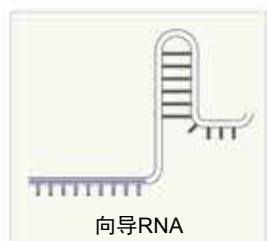
Cas9

锌指核酸酶或TAL效应器

FokI

切割双链或双螺旋需要两个FokI酶。这些酶与锌指核酸酶或转录激活样效应因子核酸酶融合在一起。

CRISPR-CAS9



向导RNA

向导RNA（紫色）与靶DNA序列有互补的片段，把Cas9导向到正确位置。向导RNA分子能识别22-23个碱基长的序列。

仅仅一个Cas9分子就足以剪切DNA的两条链。

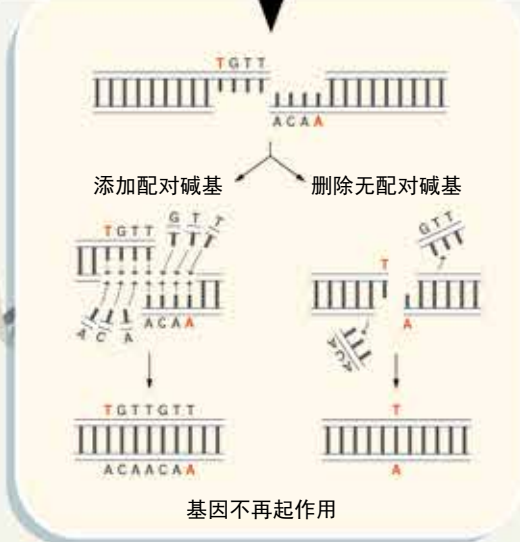
Cas9

双链断裂

这三大基因编辑工具（ZFN、TALENs和CRISPR-Cas9）都会对DNA特定位置造成双链断裂，然后借助细胞固有的修复机制修复，从而实现基因敲除或基因嵌入。

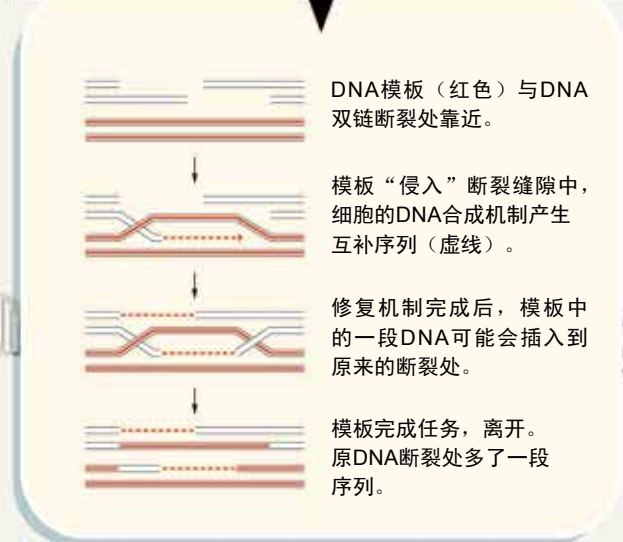
非同源末端连接基因敲除

DNA的修复机制极易出错——要么删除一个碱基要么插入一个碱基。这样修复后，该基因就不再转录。



同源重组基因敲入

一个DNA模板或“同源序列”和DNA剪切酶结合，一起进入细胞，激活DNA修复机制，以此实现基因敲入或基因改变。



合法问题

现在各国都在考虑如何监管人类生殖细胞基因编辑的问题。截至12月的人类基因编辑国际峰会，至少有29个国家明令禁止编辑生殖细胞基因。



流行程度

CRISPR-Cas9是三大工具中最新的一个，但应用非常普遍。根据Addgene的客户数据（一个位于麻省的非盈利质粒库，为83个国家配送CRISPR-Cas9试剂），CRISPR-Cas9的主要用户为美国研究者。



3. 基因组编辑4大问题



尽管基因组编辑技术非常流行，但关于它，研究者们还存在大量疑虑。下面我们将介绍基因组编辑的4大问题。

问题	为什么重要	我们已知的	下一步
基因组编辑的脱靶效应能减少到什么程度？	如果基因组中存在与目标DNA序列相同或相似的序列，那么就会产生意外的编辑，也就是脱靶效应。脱靶效应不利于实验的展开，还可能在临床应用中造成副作用。	三种基因组编辑技术的脱靶效应发生频率不同。 TALEN 使用的靶向序列最长，因此脱靶效应概率最低。	CRISPR-Cas9 可以通过调节向导RNA和Cas9的结构来增加特异性。同时，还可以采用生物信息学的方法，预测最可能发生的脱靶位点及其可能的影响。
哪些疾病适合采用基因组编辑来治疗？	能通过基因组编辑治疗的疾病越多，该技术减轻疾病负担的能力越强。	基因组编辑在抗击HIV病毒感染方面取得了一定的成功，这提示基因组编辑可能也能帮助防治其它非遗传性疾病。在某些单基因疾病模型中基因组编辑也起到了喜人的效果。	为了扩大基因组编辑治疗疾病的范围，研究人员需要更好地递送基因编辑体系的技术。 CRISPR-Cas9 太大，无法以腺病毒作为载体。其它细菌的 CRISPR 系统可能比较小，便于递送。

(续下表)

（接上表）

问题	为什么重要	我们已知的	下一步
基因组编辑的表型效应能否准确预测？	为了成功实施基因组编辑，研究人员需要确定DNA或其包装的编辑对细胞理化性质的影响。	一些经批准的药物（不包含基因编辑）通过对DNA进行化学修饰，或者通过改变DNA的包装，而不改变DNA的碱基顺序来治疗癫痫和某些癌症等疾病。但大家都不知道具体造成了哪些改变。	研究人员已经改进了基因组编辑工具，使其产生表观遗传变化。通过研究精确编辑引起的变化，研究者们希望解答表观遗传学对基因乃至表型的影响。
我们应该编辑人的生殖细胞吗？	对生殖细胞进行编辑，产生可遗传的改变，这样可防止遗传疾病一代代传下去。但如果我们还没有充分理解人类基因表达，“永久性”的变化是有风险的。此外，还有滥用的风险。	为对失活的人类胚胎进行基因组编辑提供了理论证据，但失败率仍然很高。如果可存活的胚胎编辑成功，那么将其接种至母体子宫，使其生长就很简单了。	科学家需要和政府联手，并邀请知情的公众参与讨论以制定严格的研究规范和临床程序的指导方针。同时，必须建立完善的监管体系，以确保这些方针落实到位。



资讯 · 频道

www.LifeOmics.com

二、无限可能

1. 研究：生物学利器



从左到右分别是推特网的前首席执行官Dick Costolo，CRISPR-Cas9的两位发明人Emmanuelle Charpentier和Jennifer Doudna，以及好莱坞女星Cameron Diaz。图为Emmanuelle Charpentier和Jennifer Doudna获得2015年生命科学突破奖。

现在，科学家们已能使用几种工具来修饰活体的基因组。其中CRISPR-Cas9使科学研究发生了革命性的变化，它的两位发明者也因此声名鹊起。

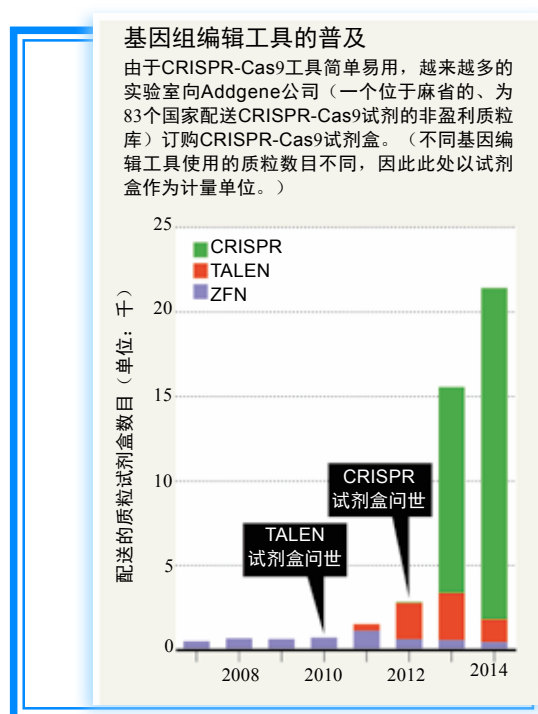
Emmanuelle Charpentier起初对CRISPR-Cas9的期待没那么高。她本来设想的是，利用该技术帮酸奶制造商制造能稳定传代的抗病毒酸奶菌株。但随着对CRISPR-Cas9工具理解的加深，她的想法发生了巨大变化。2012年，她作为共同作者，发表了一篇论文，把CRISPR-Cas9作为精准基因编辑工具介绍给了全世界。她的同事最先使用了这一技术。然后一场CRISPR-Cas9热侵袭全球，现在各国研究者都在争相使用这一技术。Charpentier是马克斯普朗克传染病生物

学研究所（Max Planck Institute for Infection Biology）的细菌生物学家，她表示她突然意识到，学界一直都迫切需要这种简单易用的基因编辑工具。这也说明，现有的基因编辑技术没有那么好用。正是这篇论文让Charpentier和其共同作者、加州大学的Jennifer Doudna成为了学术明星，获得了2015年度生命科学突破奖。

当Charpentier和Doudna发表这篇论文时，学界已有数种工具可以编辑活细胞的基因组，主要的两种是锌指核酸酶（zinc-finger

nucleases, ZFNs) 和转录激活样效应因子核酸酶 (transcription activator-like effector nucleases, TALENs)。CRISPR-Cas9比这两种都要好用, 不需要太多专业培训就能很快上手。犹他大学 (University of Utah) 的基因

组编辑工具研发者Dana Carroll表示, 越来越多的实验室都已开始编辑DNA, 很多原来使用ZFN和TALEN的研究者都开始启用这一新平台。



这三种基因组编辑工具的工作原理非常相似: 它们都包含可直接切割任意位点DNA的可编程核酸酶和靶向分子; 三个平台中的细胞都会很快启动双链断裂修复机制。不过修复机制分为两种: 非同源末端连接和同源重组。在非同源末端链接中, 如果没有外来机制影响细胞的固有修复机制, 细胞会随机删除或增加核酸, 这往往能阻断基因的活力, 有效地沉默基因。同源重组修复相对复杂: 细胞复制与DNA剪切系统一起进入细胞的DNA模板, 插入一段新的基因, 或改变原有基因。

相比于传统工具, 新的基因编辑工具不仅在研究上有诸多优势, 在基于基因修饰的治疗上也前景无限。例如, 经典的基因疗法是使用载体 (如病毒) 在有缺陷的基因中随机插入

一段健康的基因, 以期无论新基因插入的位置在哪里, 它都能正确执行功能。相比之下, 基因组编辑则选择原位纠正缺陷基因。因为对基因的地理影响极小, 因此不必担心这一修饰会影响其它基因。位于加州里士满的Sangamo生物科学公司的资深基因编辑科学家Fyodor Urnov 总结道, “这就像是车胎爆了, 你选择直接修复这个瘪了的轮胎, 而不是换上第五个车胎一样。”

在许多情况下, 基因组编辑比另一种治疗工具——RNA干扰 (RNAi) 更有优势。RNAi通过选择性破坏RNA分子来改变缺陷DNA的转录产物; 而基因组编辑则是永久性地改变了缺陷基因的产物。RNAi则仅在信使RNA破坏剂存在的情况下, 才能改变缺陷基因的产物。



1.1 CRISPR-Cas9问世前

约翰普金斯大学（Johns Hopkins University）化学家Srinivasan Chandrasegaran的工作开启了基因组编辑的新时代。在上世纪90年代末，Chandrasegaran就试图操控细菌中能剪切DNA的酶。他意识到，最好的方法是用既包含DNA识别，又包含DNA剪切的酶体系。在这个体系中识别域和切割域相互独立，识别域用于识别特定序列，定位后，切割域对相应位点进行切割。后来他从海床黄杆菌（*Flavobacterium okeanokoites*）中发现了符合这一条件的酶FokI。Chandrasegaran把该酶的切割域和锌指蛋白融合起来。锌指蛋白的几个氨基酸能识别特定的三个碱基。通过多个锌指连接起来，就可以识别更长的序列。

Carroll是最初认识到Chandrasegaran成果重要性的几个人之一。这少数的几个人证实了ZFN可对活细胞（青蛙卵）的DNA进行编辑。Carroll则进一步证实了ZFN也能对完整生物个体（果蝇）进行DNA编辑。2005年，Urnov等人首次证实了ZFN可对人类细胞DNA进行基因编辑。

尽管ZFN非常有效，但它的操作非常复

杂。Carroll指出，实际上很难用一种可靠的方法来合成能靶向新目标的锌指蛋白。而且FokI只能切断DNA双螺旋链中的一条。如果想切割双链，不仅要合成靶向目标基因的锌指蛋白，还要合成目标基因互补序列的锌指蛋白。更糟糕的是，当锌指蛋白连在一起时，它们有时会互相影响。

TALEN技术于2010年问世，由两组植物病理学家提出。一组以现在就职于康奈尔大学（Cornell University）的Adam Bogdanove为首，另一组以现在就职于德国哈勒-维腾贝格大学（Martin Luther University）的Ulla Bonas为首。这两组研究人员相互独立地探索了TAL效应器蛋白质是如何识别DNA的。

TAL效应器是由植物致病菌黄单胞菌属分泌的蛋白，作用是激活植物体内促进细菌感染的基因。两组研究人员发现，TAL效应器中的一个特殊部分能把蛋白靶向到特定DNA序列，该结构中一对氨基酸能识别一个核酸。改变这些氨基酸的顺序后，TAL效应器继而靶向基因组的其它部分。换句话说，这些蛋白可能替代锌指蛋白，与FokI结合，形成具有基因组编辑能力的TALEN工具。



1.2 CRISPR时代来临

与ZFN和TALEN不同，CRISPR-Cas9体系不包含FokI。相反，它使用Cas9酶来切割DNA，并且能同时切割DNA的双链。而且CRISPR-Cas9体系不使用蛋白，而是用导向RNA分子来识别特定序列（利用RNA和DNA链的碱基互补配对）。

CRISPR-CAS系统是广泛存在于细菌中的自适应免疫系统。这也是为什么Charpentier希望利用该体系增强酸奶细菌的抗病毒性的原因。CRISPR，全称是clustered regularly interspaced short palindromic repeats，即成簇的规律性间隔的短回文重复

序列，指的是细菌把来自外来入侵病毒的小片段基因序列存储在自己的基因库中，从而方便以后对这类基因进行清除。CRISPR这一名词最初于2002年出现，尽管早在1987年就有科学家发现了CRISPR这一现象。

Charpentier等人在研究化脓性链球菌致病菌株（*Streptococcus pyogenes*，人类皮肤菌群中的组分）时，解析了最简单的CRISPR机制细节，包括Cas9如何与病毒基因库互动的机制。他们发现，当面临入侵病毒时，Cas9会参考CRISPR系统，生成两个RNA分子。其中一条RNA是反式激活CRISPR RNA（tracrRNA），能改变Cas9的形态，为切割DNA做准备；另一条是CRISPR RNA（crRNA），能靶向切割序列。该团队与Doudna团队的合作成果证实，这两条RNA都是Cas9靶向切割入侵病毒基因组所必需的。他们还证明，当两条RNA融合成一条时，CRISPR系统仍能工作。据此，他们合成了单条向导RNA，将Cas9靶向到待切割位点。

今天，当研究者想要使用CRISPR-Cas9编辑一个基因组时，他或她可以设计一个向导RNA，通过邮件找公司合成和交付给他们。因此，CRISPR-Cas9比其它基因组编辑工具更快、更简单，也更便宜。

抛开这些优势，三大技术还各有不同的优点。CRISPR-Cas9是唯一一项使用多个向导RNA分子和一个Cas9分子就能同时编辑多个DNA位点的技术。TALEN的DNA识别域最长，因此往往脱靶效应最小——当基因组的多个部分与靶序列有相同或相似的核苷酸序列时，就会被切割。ZFN比较小（是TALEN大小的三分之一，远小于从化脓性链球菌中提出的Cas9——最常使用的Cas9），因此是唯一一个可以融入腺相关病毒——基因组编辑治疗最有前途的载体——的基因组编辑工具。

还有一个因素会影响技术的选择。ZFN和TALEN的知识产权归属非常明确，而CRISPR-Cas9的知识产权归属则相对不清

晰。这对技术的商业化非常重要。哈佛医学院（Harvard Medical School）的病理学家Keith Joung表示，公司最关心的一个问题就是知识产权。Joung研究开发了基因组编辑技术，并将其应用于医学研究。基于生物工程家张锋的研究，CRISPR-Cas9运用在哺乳动物细胞上的关键专利被授予麻省理工——哈佛Broad研究所，保护开始时间是2014年4月。张锋在Broad研究所的团队和哈佛大学遗传学家George Church的团队在2013年，首次证实了CRISPR-Cas9系统可在人类细胞上运用。Broad研究所快速跟踪其专利申请，竟然在加利福尼亚大学（University of California）2012年初提出的专利申请前拿到了专利批准。后者是基于Charpentier和Doudna的研究，目前仍在验证中。对于CRISPR专利授予Broad研究所这一事件，加利福尼亚大学（University of California）发起了申诉，要求专利局重新审核专利归属，毕竟Charpentier和Doudna在2012年就发表了CRISPR的论文。

CRISPR专利之争硝烟弥漫，但没有人有时间坐下来等待裁决。Broad研究所和加州大学均在向世界各地的公司颁发许可证。同时，创新技术不断涌现。2015年9月，张锋的团队提出了一种新的CRISPR系统，可以完全不使用Cas9，而是使用另一种酶Cpf1来剪切DNA。这种差异是否能最终明确知识产权归属，仍不得而知。但把Cas9融入腺相关病毒载体的难度非常大，因为Cpf1需要的向导RNA很小，由此相对于Cas9，Cpf1更具优势。虽然Cpf1是第二个能用于CRISPR系统的DNA剪切酶，但似乎有一大波新的DNA剪切酶即将问世。2015年10月底，张锋团队发表了三大基因编辑工具的技术细节。他们的初步分析提示，新的DNA剪切酶与Cas9和Cpf1在性质上完全不同。对此，Charpentier回应称，“我只能说，RNA重编程酶的原理是一样的。”

2. 医疗：前景无限



“泡泡男孩” David Vetter患有重症联合免疫缺陷（severe combined immunodeficiency, SCID），没有抵抗细菌和病毒的能力。为此，他一直都生活在隔离无菌的泡泡里。

首批基于基因组编辑治疗的疾病是单基因病，但多个因素表明，基因组编辑也可能用于治疗其它疾病。

2013年年底，Hans Clevers从两个囊肿性纤维化病（一种患者肺部存有大量浓稠的粘液，累及肠道等多个器官的遗传性疾病）患儿体内分离出了肠道干细胞。他用这些干细胞培育出肠道组织，称之为“微肠道”，并向其转入了囊肿性纤维化病致病基因对应的健康基因。这是首次尝试使用CRISPR-Cas9修复人类器官的研究之一。结果令人印象深刻：在Clevers尝试的微肠道中，大约有一半的缺陷基因获得纠正。

荷兰乌得勒支胡布勒支研究所（Hubrecht Institute）的分子遗传学家Clevers对这一成功非常惊讶。他表示，没想到CRISPR这么有效。除了PCR外，他再也没见到这么简单却又这么有效的工具了。PCR

聚合酶链反应是一种有效的将DNA复制的方法，是遗传学家必不可少的工具。

Clevers的研究再次证实了CRISPR-Cas9不仅仅是基础科学的利器，也是医学突破的基础。CRISPR的热潮正如火如荼，科学家们正在测试其治疗重症联合免疫缺陷和肌肉萎缩症等一系列疾病中的潜力。许多科学家预测，CRISPR在医学中的应用将迅速超过其它基因组编辑工具，如TALEN和ZFN，因为CRISPR-Cas9更简单有效。

目前的共识是，单基因疾病——那些只涉及一个基因的疾病——较容易被CRISPR攻克。但即使是最狂热的基因组编辑爱好者都认为这种说法过于乐观。“离实现这一目标还有很长一段距离。”哈佛大学（Harvard

University) 干细胞生物学家，兼CRISPR医疗公司（总部在马萨诸塞州剑桥的一家研发CRISPR-Cas9治疗手段的生物科技公司）创始人之一的Chad Cowan这样说道。

特定疾病中基因组编辑是否是一种可行的治疗手段由多个因素决定。主要的困难——

决定哪些疾病是可行的治疗目标——是递送治疗，这高度依赖治疗手段到达靶细胞或靶器官的能力。为此，研究者们需要考虑疾病的多种特点。例如，要编辑多大比例的细胞才能起效；治疗是否需要删除、引入或矫正基因等。



2.1 删除问题基因

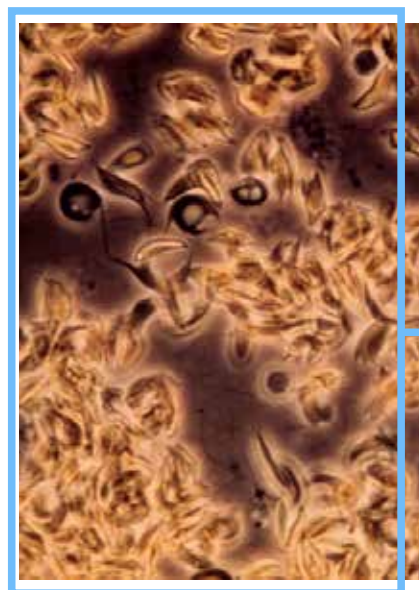
递送治疗的困难是如此之大，以至于研究人员正在努力绕过这个问题，而不是克服它。其一个策略是提取细胞，并对提取的细胞进行基因组编辑，以确定它们不存在“脱靶效应”，最后把这些细胞放回体内，让其行使正常细胞的功能。这种疗法在包括艾滋病和镰刀形细胞贫血病等血液和骨髓疾病上尤其有潜力。

已有团队在研究CRISPR-Cas9疗法在镰状细胞贫血病上的运用。该疾病的一个让人头疼的症状是畸形血细胞堵塞血管。研究人员希望，基因编辑即使不能起到治愈作用，至少能够改善这一症状。他们的目标基因是 *BCL11A*，该基因使红细胞产生成人而非胎儿形式的血红蛋白。而胎儿血红蛋白不形成长链，可以有效减少红细胞造成的血管堵塞。Broad研究所的张锋等研究人员最近发现，使用CRISPR-Cas9剪切控制*BCL11A*表达的基因组区域，能有效促进胎儿血红蛋白的产生。

即使在单基因疾病中，镰状细胞贫血病也属于较易攻克的目标——因为不存在递送问题。血液的病毒疾病也可以采用类似的策略。Cowan等人已经成功地利用CRISPR-Cas9沉默了一半接受治疗的细胞的*CCR5*基因。这在艾滋防治中亦具有重要意义，因为HIV病毒是利用*CCR5*受体进入细胞的。Cowan表示，对

骨髓细胞进行这种治疗，能有效地让人体产生对HIV的免疫。

“沉默一个致病基因比矫正一个基因容易得多。”麻省大学医学院（University of Massachusetts Medical School）的生物学家兼Intellia Therapeutics公司（也是一家以发展CRISPR-Cas9基础治疗的医疗公司）共同创始人之一Erik Sontheimer这样说道。杜克大学（Duke University）的分子遗传学家Bryan Cullen补充道，很多疾病无法通过简单的基因敲除来治疗。



镰刀状细胞贫血病患者体内的血细胞有畸形。

那些由一个健康基因和一个突变基因导致的疾病最适合使用CRISPR-Cas9来治疗。加州大学戴维斯分校（University of California, Davis）的基因组研究人员David Segal指出，在这种情况下，沉默突变基因能让健康的基因正常工作。Segal认为，亨廷顿氏病这种由单基因突变引起的神经退行性疾病也可能可以从CRISPR-Cas9疗法中受益。唯一的问题——一个非常重要的问题——是需要接受基因编辑的细胞不易获得，因为这些细胞存在于脑内，难以取出体外。

眼睛的疾病也适合使用CRISPR-Cas9治疗。英国阿尔斯特大学（Ulster University）

的分子生物学家 Tara Moore正在使用这种策略治疗Meesmann角膜上皮营养不良症（一种导致角膜囊肿，并引起视力模糊的遗传性疾病）。她已经成功地利用CRISPR-Cas9找到，并沉默了致病突变，以此保留了角膜产生干细胞中的健康基因。她估计，分散于4个基因里的76个能引起角膜疾病的突变中，大概有三分之一的突变会对这种治疗方法起响应，而角膜营养不良（Meesmann）的突变就是其中之一。她表示，眼部治疗很容易递送，而且眼睛的涉及范围较小，需要进行基因编辑的细胞也不多，此外，监控治疗效果也非常方便。



2.2 插入健康基因

另一种治疗策略是插入一个健康基因，但这需要递送一个基因模板到待编辑基因处。这个策略已在肝脏上实现，用于治疗I型酪氨酸血症。该疾病患者的FAH基因存在缺陷，因此分解氨基酸酪氨酸的能力下降，从而导致肝脏损伤。去年，麻省理工学院（Massachusetts Institute of Technology）的研究者使用CRISPR-Cas9在实验小鼠的肝细胞中插入一个健康的FAH基因。250个肝脏细胞中，只有一个能表达正常基因，但这足以减轻肝损伤。

那些仅需修饰极小部分细胞的基因，就足以缓解病情的疾病是第一批使用CRISPR-Cas9治疗的疾病。与I型酪氨酸血症一样，SCID也属于此类，除此之外，它还具有递送优势：一旦经过矫正的细胞被放回体内，这些细胞就开始迅速增殖。相比而言，大多数癌症可能需要编辑所有疾病相关基因才能阻止其复发。其它编辑一小部分细胞的基因就能改善病情的疾病包括：糖原贮积病和鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症（一种使患者血氨增加的遗传性疾病）。但研究人员对鸟氨酸氨甲酰基转移酶缺

乏症的尝试还在犹豫不决——1999年，针对鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症的基因治疗试验因一位病人死亡而被叫停。

和CRISPR-Cas9相比，其它基因编辑工具——TALEN和ZFN在完成修饰基因的任务上都有些力不从心，特别是在需要实现基因正常表达水平的情况下。TALEN和ZFN容易造成基因过表达，而基因过表达有时会增加癌症风险。Cowan指出，在这方面，相比于其它基因编辑技术，CRISPR-Cas具有显著优势。

但CRISPR-Cas9并不总是最适合的基因组编辑工具。例如，当对工具大小有要求时，ZFN就具有明显优势。腺相关病毒载体——很有前途的输送系统，尤其适合输送药物到肝脏——可装载一个ZFN工具和基因模板，有时却难以装载更大的基因组编辑工具，如TALEN和CRISPR-Cas9。此外，CRISPR-Cas9的识别序列较短，所以遗传特异性较差。这对于编辑大的、复杂的基因组是个非常棘手的问题。因此研究者们一直致力于减少脱靶效应。

基因组编辑者们最终希望能治疗具有各种复杂性基因和能够侵袭所有器官的疾病。但目前，即使是最接近批准的疗法仍然对这个目标只能望其项背。**Cowan**表示，花五年来实现这一目标尽管有些困难，但不是不可能。

这同样不能阻止研究者的梦想。例如，**Segal**建议，对于基因组编辑治疗来说，大脑是最难实现递送的器官。但他也知道针对大脑还有许多单基因神经疾病，如**Angelman**综合征、亨廷顿病和**Prader-Willi**综合征等。

在短期内，CRISPR-Cas9治疗研究将主

要集中于眼部、血液和肝脏疾病，这些都是最容易靶向的器官。自从在囊性纤维化病的研究获得早期成功后，**Clevers**便开始研究肝脏疾病的治疗，这主要是因为目前移植干细胞到肝脏——这是很多基因组编辑治疗关键的一步——的技术比移植干细胞到肺部的技术更成熟。

Cullen也有同样的想法，他敢打赌，CRISPR-Cas9治疗首先攻克疾病肯定是肝脏疾病。因为肝脏在代谢中起主要作用，好的、坏的东西都会到这里。

3. 疾病：关上HIV的大门



通过编辑免疫细胞的DNA，可以阻止HIV病毒进入细胞。

虽然还没有完成临床试验，但是基因组编辑技术已经在抗击全球重要疾病方面表现出了非凡的潜力。

十年前，宾夕法尼亚大学（University of Pennsylvania）的微生物学家Jim Riley得知Sangamo生物科学公司的科学家们想利用基因组编辑技术来治疗HIV时，他对这个想法的可行性充满怀疑。“我觉得他们疯了，”Riley回忆道。“我认为要实现疗效，DNA编辑要有非常高的效率，而这是不可能实现的。”

Sangamo公司的研究者们想法的确有些异想天开。他们不是要单纯地控制HIV/ADIS的症状，而是要直接修改HIV阳性的成年人的基因，以消除他们对病毒的敏感性。HIV进入免疫细胞（包括辅助性T细胞和巨噬细胞）的一个主要手段是附着在细胞表面的C-C趋化因子5型受体（C-C chemokine receptor type 5, CCR5）上。一小部分人——大约10%的欧洲血统人口——的CCR5基因中

丢失了一段包含32个核酸的序列，因此突变产生的受体不能和病毒结合。这意味着，这种突变的纯合子个体，基本上不会感染最具传染性的HIV。

为了复制这一特质，Sangamo公司的科学家们与美国的学术研究人员密切合作，其中包括Riley在宾夕法尼亚大学的团队。该项目使用的是最成熟的基因组工程技术之一——锌指核酸酶（ZFN）技术。Sangamo公司的产品SB-728，包含一组经基因工程修饰的、与CCR5基因内特定位点结合的锌指核酸酶。这些锌指蛋白与一种可以切割DNA的核酸酶结合在一起。2008年，Riley等人发现SB-728能高效特异性地剪去体外培养的人源T细胞中的CCR5基因中的部分核酸。

这些发现描绘了一幅美好蓝图：用基因编辑来防治AIDS。



3.1 有例可循

事实上，医学史上有先例表明，这种方法将对HIV有效。在上世纪90年代，美国学生Timothy Ray Brown在德国柏林求学时，不幸感染了HIV。大约十年后，他患上了急性髓系白血病（acute myeloid leukaemia）。在经过最初的两个疗程的化疗之后，他的肾脏出现衰竭，情况变得更糟了。因此，医生停用了抗逆转录病毒药物，这意味着他体内的HIV数量开始攀升。然而，令人惊奇的是，白血病和HIV的奇特组合挽救了Brown的生命。

2007年，Brown在柏林一所大型教学医院接受了干细胞移植。移植的血液干细胞是经过精心挑选配对的。通常情况下，医生只需验证捐助人和受助人的组织相容性抗原匹配度，而

移植血液干细胞只需检查人类白细胞抗原是否匹配。但针对Brown的情况，医生还筛选出了潜在的CCR5基因突变纯合子捐赠者。放射治疗后，Brown接受移植的血液干细胞及其分化形成的T细胞都对HIV免疫。经过几轮治疗，Brown的症状很快得到缓解，T细胞水平也逐渐上升。同时，虽然他仍然携带HIV病毒，但却再也不需要使用抗逆转录病毒药物了。

Brown的恢复大大增强了研究人员以CCR5作为基因组编辑目标的信心。“敲除之后，没有害处，反而有好处的基因非常少。”洛杉矶南加州大学（University of Southern California）基因治疗和传染病专家Paula Cannon这样说道。



3.2 临床试验

SB-728复制CCR5突变初获成功，再加上Brown的故事，研究人员对SB-728的临床试验非常乐观。2011-2013年间，宾夕法尼亚大学（University of Pennsylvania）的研究人员，包括免疫治疗学家Carl June和HIV专家Pablo Tebas使用SB-728修改了来自12名HIV阳性志愿者的辅助性T细胞的基因组（HIV病毒攻击的主要目标）。继而研究人员培养了这些细胞，并将它们移植回捐赠者体内。所有患者的T细胞数量都有所增加，每个病人都形成了一个虽小，却稳定携带CCR5基因修饰的免疫细胞亚群。随后患者停用抗逆转录病毒药物，以观察单独使用基因编辑是否有

效。一些患者的病毒载量瞬间减少。“我们从中学到的一个经验是，工程化的细胞进入患者体内后，维持的时间比我们预想的要久得多。” Cannon说到，而他并没有直接参与这项研究。

下一个挑战是如何使这种免疫保护更有效、更持久。一种方法是产生一个更大群体的ZFN修饰T细胞。因此，在一项单独的研究中，三名患者在移植前接受了轻度的化疗，以在移植手术前减少他们体内的免疫细胞数。除了编辑辅助性T细胞外，研究人员还使用了SB-728修饰杀手T细胞——另一种会被HIV感染破坏的免疫细胞。



接受HIV免疫的血细胞移植后，Timothy Ray Brown体内已经完全没有HIV病毒了。

“我们通过为移植的免疫细胞创造生存空间，并利用人体内固有的稳态因素，维持T细胞水平，从而增加基因编辑的细胞生存概率，延长免疫保护持续时间。” Riley解释道。这三例患者中，两个患者的病毒载量出现大幅下降，一年内他们都不需要再服用抗逆转录病毒药物。

然而，携带CCR5基因修饰的免疫细胞的比例达到多大时，才能有效对抗HIV病毒并不明确。最近的试验中，约有5%的循环T细胞成功得到了编辑，但Cannon指出，组织中也存在着隐藏的T细胞群体，因此循环T细胞的数目其实小于实际的总T细胞数。据西雅图弗莱德哈钦森癌症研究中心（Fred Hutchinson

Cancer Research Center) 的基因疗法研究员Hans-Peter Kiem表示, 要修饰所有的T细胞简直太难了, 但可能只要修饰一小部分的细胞就足以治疗疾病。Kiem的小组使用灵长类动物模型来研究基因组编辑免疫细胞的临床潜

力。“如果我们修饰约20%的免疫细胞, 针对HIV的免疫响应会强很多。” Kiem在2013年一项测试何种程度的转基因干细胞能有效预防猪长尾猕猴感染艾滋病毒的研究中, 这样说到。



3.3 展望未来

Kiem认为, 建立抗HIV病毒的关键因素是移植的细胞对环境的适应程度。他和Cannon各自独立探索如果将SB-728应用于造血干细胞——各种血液和免疫细胞亚型的共同前体——而不是少数几种完全发育的免疫细胞, 效果是否会更好。“然后我们就可以治疗被HIV侵染的T细胞、单核细胞、巨噬细胞和其它类型的细胞了。” Kiem解释道。

然而, 干细胞比T细胞更难培养、更难编辑, 而且必须仔细维护, 以确保他们保留干性。另外, 使用干细胞还意味着更严重的副作用——干细胞移植前, 病人需要接受较强度度的化疗, 为干细胞移植打基础。“化疗会杀死一些骨髓中的干细胞, 为基因编辑的干细胞提供生存空间。但这样做危害很大。” Cannon提醒道。这种策略起效较慢: 干细胞需要半年到一年的时间来充分补充成熟的T细胞群体。Cannon参与了一个新推出的临床试验, 该试验旨在探讨移植到这12位HIV患者体内的细胞如何移入骨髓, 以及这些细胞能产生多少抵御HIV的免疫细胞。

过去十年, 自Sangamo公司开始研究SB-728后, 针对HIV的治疗有了极大改变。最初接受治疗时, 许多患者使用抗逆转录病毒药物抑制HIV病毒增殖。然而, 少数病人对这类药

物无响应。

Sangamo公司的首席医疗官Dale Ando认为, 最好能一次性治愈疾病, 而不必服用终身药物。他指出, 抗逆转录病毒疗法对大脑和心脏有明显影响, 而且会增加患癌症以及慢性炎症的风险。相比较而言, 除开化疗的副作用, SB-728尚无任何严重的副作用。到目前为止, 所有SB-728的相关数据暂时缓解了学界对ZFN的担忧——脱靶效应错误修饰了基因组的其它位点, 这可能致癌。

也许更重要的是, 这些针对HIV病毒的研究有助于为未来基因组编辑治疗方案铺平监管路径。Ando认为, 他们已经多次讨论过T细胞、干细胞和体内的基因组编辑, 所以FDA应该对这类疗法比较安心。许多人认为, 随着另一个基因组编辑技术CRISPR-Cas9成为主流工具, FDA将提高对CRISPR-Cas9“疗法的”接受程度。

从Cannon的角度来看, SB-728的快速研发, 很大程度上得益于病人群体, 因为他们具有极高的政治活跃度, 并迫切期待新疗法。SB-728因此能够这么快走进临床。她指出, 可以说, 是病人加快了整个研发流程。Cannon等人希望, 其它疾病也能从这种活跃中获益。

4.

表观遗传学： 解开DNA化学变化之谜



表观遗传学家正在通过基因组编辑技术来解决一直困扰着人们的核心问题——表观遗传学重要吗？

2月18日，90多个实验室联合发表了一份具有里程碑意义的DNA化学变化目录，这些化学变化能影响基因是否以及如何表达。它是美国国立卫生研究院（National Institutes of Health）赞助的表观基因组学路线图项目（Roadmap Epigenomics Project）的成果。该项目旨在全面解析127种人体组织和细胞类型中的表观遗传“密码”。这个总耗资为1.54亿美元的项目被认为是确定表观遗传学如何影响人类健康和疾病的关键一步。除开这份具有里程碑意义的目录外，该项目的另一个重要意义是解决了一个生物学核心问题：为什么基因指令相同的细胞行使的功能不同？角色不同？

目前表观遗传密码到底是什么，以及它是如何产生的，都不明确。北卡罗来纳州杜克大学（Duke University）的生物医学工程师Charles Gersbach表示，毫不夸张地说，人们对表观遗传密码的作用机制了解甚少。表观

遗传标记非常多，人们却不知道这些标记的作用，甚至不知道这些标记是否必要。

经过多年的研究，Gersbach等生物学家现在有了新技术来研究这个问题——利用基因组编辑技术，他们能够精确而简便地研究表观遗传对基因表达的控制。通过这项技术研究人员可以任意添加或删除表观遗传标记，定向追踪那些在基因表达调控中作用未知的RNA和蛋白质。研究者们还希望使用基因编辑技术来解决一个关键的、一直困扰着表观遗传学领域的问题：表观遗传学变化能改变基因表达吗？或者基因表达的变化能改变表观遗传标记吗？

“这是一个非常基本的问题，我们必须解决它。”伦敦帝国理工学院（Imperial College London）的癌症研究人员Luca Magnani甚至认为，答案关系到表观遗传学领域的生死——要么死，要么大热。



4.1 困难重重

表观遗传编码是几十种不同的化学变化，这些化学变化修饰DNA和组蛋白——和DNA一起组成染色体的蛋白，从而为基因组提供稳定性和简单性，而且可以稳定地遗传。但表观遗传标记并不是一成不变的，它们是动态的。具体表现为，每个细胞的表观遗传编码都有所不同，而且会受到年龄、发育阶段和环境的影响。Gersbach 指出，表观遗传学领域面临的最大挑战之一是确定所观察到的表观遗传标记是否只存在于某个特定基因、细胞、培养条件、一周中的某一天或一月中的某一天。”

解决这个复杂问题可以带来诸多好处，并不仅限于基础研究领域。例如，当科学家们改变表观遗传网络时，他们可以诱导干细胞形成新的细胞类型——或许在未来，可以利用这种技术来治疗疾病。同时，杜克大学（Duke University）的基因组学研究人员 Tim Reddy 指出，基因组研究表明细胞核中的所有表观遗传标记在糖尿病、精神分裂等复杂疾病中起重要作用。他补充道：“在很多情况下，并不是

一个基因突变影响蛋白序列，而是基因调控的变化在影响蛋白序列。”靶向并调控这些调控元件，或许能成为治疗复杂疾病的新疗法。

在美国和欧洲等地，修饰表观遗传学组的药物已经上市。一些药物抑制组蛋白乙酰化酶或去乙酰化酶可以治疗癫痫、癌症等多种疾病；而其它药物则通过阻断去甲基化酶来治疗癌症。

但从科学的角度来看，这类药物的一个问题到底是到底改变了哪个或哪些表观遗传标记。这些药物对整个基因组都起作用，而不是靶向特定位点，因此不大可能检测其对单个、甚至某个区域的表观遗传标记的影响。有些学者甚至认为，人体对这些广谱药物（包括组蛋白去乙酰化酶HDAC的抑制剂）副作用的耐受性很好，这意味着一些表观遗传学标记没那么重要。Gersbach 指出，这简直是无稽之谈，难道就因为服用HDAC抑制剂后副作用不明显，你就说它不重要？



4.2 初现曙光

基因组编辑技术的DNA切割酶为表观遗传学家指明了一条新的前进道路，因为研究人员可以使用这些酶聚焦DNA的单个区域。在CRISPR-Cas9系统得到广泛应用前，研究人员通过改变FokI酶——锌指核酸酶（ZFN）体系和转录激活因子样效应核酸酶（TALEN）体系中使用的DNA切割酶——来靶向表观遗传学组。第一步是使FokI失活，使其不再具有DNA切割能力，同时不改变ZFN和TALEN对目标序列的靶向能力。第二步，融合失活的FokI与另一种能添加或去除表观遗传标记的

酶。最后产生的体系既能靶向特定基因序列，又能改变该处表观遗传标记。

但ZFN和TALEN体系操作复杂，研究也因此进展缓慢。同时，德国斯图加特大学（University of Stuttgart）的生物化学家兼表观遗传学家Tomasz Jurkowski 指出，ZFN很容易造成脱靶效应，改变了目标之外的表观遗传标记。他表示，你无法得出确切结论——因为你看到的现象可能是脱靶效应带来的副作用。

今年早些时候，有文章指出，CRISPR-

Cas9也能用于表观遗传学领域，且可操作性更高，脱靶效应小。麻省大学医学院的免疫学家René Maehr等人把组蛋白去甲基化酶与失活的Cas9酶结合起来，然后将其靶向到特定基因，增加其表达，结果是基因“增强子”功能图谱。图谱中，研究者们解析了这些“增强子”的作用、作用强度和在基因组中的分布。

同时，Gersbach、Reddy等人把失活的Cas9酶和乙酰转移酶（一种使组蛋白乙酰化，从而激活基因的酶）融合起来。Reddy指出，增强子区域的组蛋白乙酰化后，靶基因的表达上升幅度让人惊讶，毕竟DNA标记是基

因激活的原因还是结果始终不明确。由此，Reddy认为，组蛋白的乙酰化可能是基因激活的直接原因。

但这一结果是否适用于其它表观遗传标记还需大量类似的研究。有可能一些标记能调控基因表达，而其它标记可能只是基因表达变化的结果。西雅图的弗莱德哈钦森癌症研究中心（Fred Hutchinson Cancer Center）的遗传学家Steven Henikoff 对此表示，直接分类非常难。有些标记仅在少数情况下，才会对基因表达产生较大的影响。



4.3 光明未来

幸运的是，现在科学家们有了精准的工具来一一解析。CRISPR-Cas9系统的简单性和通用性意味着研究者们有机会开展大规模研究项目，逐个解析表观遗传标记的功能。Reddy指出，如果我们想靶向某个基因组区域，以后5美金就能靶向。以后我们需要做的就是，针对不同的表观遗传标记，重复类似的套路。

但Gersbach提醒说，未来并不是一片坦途，仍然会有技术障碍。例如，能添加或删除表观遗传标记的酶在与失活的FokI融合时，有时会失活。此外，荷兰格罗宁根大学（University of Groningen）的表观遗传学家Marianne Rots 表示，Cas9是相对较大的蛋白质。因此，它很难接近缠绕非常紧密的DNA序列。

尽管如此，一系列雄心勃勃的项目蓄势待发。英国阿拉巴马大学（University of Alabama）的神经科学家Jeremy Day利用CRISPR-Cas9研究上瘾后大脑内发生的持久性表观遗传学变化。他计划使用最近问世的光激活CRISPR-Cas9系统，准确控制增加或删除特定表观遗传标记的位置和时间。对于Day

来说，这意味着脑内成瘾的表观遗传标志可以逆转，同时不影响患者对其他刺激物感到愉快的能力。“治疗上瘾，不能让患者失去感受愉快的能力，”他说。“利用这些特异性工具，我们能找到上瘾保持持久性的表观遗传标记。”更广泛地说，对于表观遗传学领域，这种光激活技术能掀起领域内的一场革命。Day还解释说，“这将大大推动我们对表观遗传标记的基本生物学的理解：它们能持续多久？需要多少表观遗传变化才能影响基因？”

虽然CRISPR-Cas9在表观遗传学的治疗应用仍遥遥无期，但该领域的迅猛扩大远超预期。例如，2012年，就在一大堆论文指出CRISPR-Cas9可编辑人类细胞之前，Jurkowski创立了自己的实验室。与许多研究者一样，Jurkowski 于2014年开始使用CRISPR技术，不到两年便两次赢得了领域竞争。为保持领先地位，Jurkowski不得不大步前进——这是进入快车道代价。他表示，表观遗传学正处于革命的边缘，这仅仅是开始。再过一段时间，它将发展成为一个全新的领域。

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

职位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

1. 具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
2. 具备良好的生命科学前沿触觉；
3. 具备较高的外文文献翻译、编译水平；
4. 具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
5. 具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

5. 农业：开辟新方向

爱丁堡大学罗斯林研究所（University of Edinburgh's Roslin Institute）为使猪能免疫非洲猪瘟病毒，对饲养的猪进行了单碱基层次的基因编辑。



与传统的遗传工程技术相比，基因组编辑技术可以对DNA进行更为细微的修改。对于农业来说，后者可能更受大众和监管机构的认可。

2015年春季，首个基因组编辑作物——一种抗除草剂的油菜在美国广泛种植。虽然这种油菜的DNA经过了分子生物学家们的编辑，但创造它的公司Cibus明确把它作为非转基因作物销售。该公司的理由是，这种油菜的基因只发生了几个核苷酸的改变，没有插入异源基因。

各国政府如何监管基因组编辑的农业产品对农业有非常大的影响。这些监管政策将影响到研发的农作物和动物产品的种类。美国监管机构认为，Cibus公司的油菜是属于突变作物，而非转基因作物。这让Cibus公司松了一口气。因为转基因作物在美国获得批准，需要费时五年以上，耗资数千万美元。欧洲的监管更为严格，欧盟委员会尚未公布其对基因组编辑农产品的法律条例。一些政治团体正在游说

要求严格的监管，这让研究人员非常沮丧。

“如果欧盟监管基因组编辑作物和监管转基因生物一样严格，那么除了极少数以提高主要作物的利润为主营的生物技术公司能存活外，其他从事基因组编辑作物研发的公司必将无路可走。”英国哈普顿洛桑研究所（Rothamsted Research）的高级研究科学家Huw Jones这样说道。Jones目前在研发小麦的基因组编辑。

然而，基因组编辑在全球农业和疾病媒介（见文末“基因驱动——狙击蚊子”）的应用潜力是巨大的。但是，它面临的挑战也很多。根据联合国的预测，到2050年，世界人口将从现在的73亿狂飙到97亿。粮食产量需要提升，可用于灌溉的水量减少，大部分可耕种面积早已被利用。此外，气候变化——高温、干

旱和洪水，以及农业害虫和疾病的增加，都对粮食产量的提高造成了巨大威胁。毫无疑问，

粮食安全占据着国际政治议程的首要地位。



5.1 新希望

为了满足日益增长的粮食需求，研究者们一直使用传统杂交技术和基因修饰技术来提高粮食产量。加州大学（University of California）戴维斯分校的植物病理学家 Pamela Ronald 分辩道，基因编辑与这二者不同。基因工程简单粗暴，常常需要把完全不同的一种生物的一大段DNA插入到目标作物中，而且根本不管这段基因的插入点在哪里。而传统的杂交技术，耗时长，且无法产生目标特质以外的特质。

与这二者相比，基因组编辑更精准更快速，研究者可以在任意位点编辑基因。“你可以改变单对碱基，你也可以精确地删除一个基因，” Ronald 说。速度快是因为基因编辑可以直接把现有基因改变成需要基因，而杂交技术需要多次杂交才能实现。只出现在野生群或相近物种的性状，例如抗某种病毒的特性，可以通过基因编辑，让目标作物也获得这种性状。“使用基因组编辑，你能在任意位点得到任何你想要的基因型。” 苏格兰罗斯林研究所（Roslin Institute）的动物生物技术专家 Bruce Whitelaw 这样说到。

在罗斯林研究所的一个猪圈里，猪悠闲地转着圈儿，殊不知它们证实了 Whitelaw 的观点。研究者们对猪的受精卵进行了基因编辑，修饰了免疫系统相关基因 *RELA*。*RELA* 被认为是非洲猪热病病毒感染后，引发致命过度免疫反应的关键。疣猪（和家猪属同一家族）对猪热病病毒免疫，Whitelaw 等人由此获得灵感。对比发现，家猪和疣猪的 *RELA* 蛋白，都含有 500 多个氨基酸，其中仅有 3 个氨基酸不同。Whitelaw 等人最开始使用 ZFN 和 TALEN 基因编辑技术，后来改用 CRISPR-Cas9，希

望将家猪的 *RELA* 基因改变成疣猪的 *RELA* 基因。接受过基因编辑的猪很快就会暴露于非洲猪热病的病原体——目前既没有相应的疫苗，也没有相应的治疗。如果猪能安然无恙地度过，那么 Whitelaw 等人就已经找到一种方法来保护农民，尤其是在撒哈拉以南非洲和东欧等猪热病难以根除的地区的农民，免受灾难性的损失。

Whitelaw 的猪项目将大大造福于贫穷的农民——这在基因编辑研究中非常罕见。严格的监管和后期昂贵的上市许可流程，意味着家畜的基因组编辑更偏向于一些更高利润的领域，如阻断 *MSTN* 基因——一个限制肌肉生长的基因，从而增加猪、牛、羊的肌肉质量。

同样，毫无疑问首个基因编辑作物——Cibus 公司的油菜，也很有市场。Cibus 选择使用基因编辑，让农民可以在地里自由地喷洒除草剂，而不是增加油菜中维生素的含量，避免营养不良。背后的考虑也是收益问题。Jones 指出，基因组编辑将如何用于植物育种，取决于监管制度。这个说法一点都不极端。

欧洲委员会就如何监管基因组编辑作物问题一直犹豫不决。早在 2007 年，这个议题就被提上日程。委员会通常认为，如果有机体基因以自然无法发生的方式发生变化，那么这种作物就是转基因作物。但例外的是，欧洲委员会并没有把经过辐射和化学药物诱导发生基因突变的作物列为转基因作物。Jones 非常希望也能不把基因组编辑列为转基因一类。他认为，把基因编辑作物归类为转基因作物，是不公平的。这几乎是粉笔和奶酪的差别。

基因驱动——狙击蚊子



长久以来，蚊子一直是世界上最致命的动物。按蚊属通过传播疟疾寄生虫，每年造成数十万人死亡。编辑按蚊的基因组——以及那些传播黄热病和登革热等病毒感染的伊蚊——开辟了新的研究领域，并带来控制蚊虫的新方法。

法国国家科学研究中心（France's National Centre for Scientific Research）的Eric Marois参与了一项使用TALEN阻断*TEPI*基因（帮助按蚊抵抗疟疾寄生虫感染的基因）的研究。研究人员发现，没有*TEPI*的保护作用时，撒哈拉以南的非洲蚊子对疟疾寄生虫非常敏感。听起来，这好像并不是科研上的重大进步，但这项研究解释了按蚊是疟疾寄生虫最常见载体的遗传原因，并可能引发新的疟疾控制策略。这些策略可能涉及也可能不涉及基因编辑。

伊蚊的研究更易在实验室进行，成果也更突出。几个团队采用ZFN和TALEN技术，编辑了伊蚊的基因组。洛克菲勒大学（Rockefeller University）的蚊子专家Ben Matthews则使用CRISPR-Cas9技术——因为它是最便宜和最方便的工具。他使用的技术更简单，因此更易被其他传染疾病研究者借鉴。Matthews的论文指出，CRISPR-Cas9能够删除目标基因的特定部分，造成可遗传的基因突变，也能在特定的位置插入一个全基因。

但这一切都发生在实验室里。然而把基因组编辑的动物放回野外，使其繁衍，进而使编辑的基因突变在整个群体中传播，则是个大难题。研究人员必须仔细挑选目标位点，因为实验表明，与对照组相比，看似有利的遗传操作能减少蚊子的生存和繁殖能力。另一个问题是，如果基因编辑能成功地使昆虫对病原体免疫，那么这对病原体本身也形成了一种巨大的选择性压力，进而将促使病原体发生进化，对抗这种免疫。最终的结果将是更难控制这种病原体的传播。

为了克服这些问题，科学家们已经提出了一些统称为基因驱动的方法——人为地控制基因修饰的基因，使其稳定传播。在正常的遗传过程中，杂合体的后代携带基因突变的概率是50%。但基因驱动系统会切割配对染色体上的等位基因，在修复过程中，突变复制到配对染色体的拷贝上，以致所有后代都会携带该突变。2011年，伦敦帝国理工大学（Imperial College London）的研究者们发现，归巢内切酶基因可能可以作为按蚊的基因驱动关键酶。2015年，加州大学（University of California）的研究者们使用CRISPR-Cas9产生了突变链式反应——使一种杂合突变转变成纯合突变，令一对染色体上的两个拷贝都发生突变。

很多研究者担忧的是，把这些携带“基因驱动”的动物放回野外，会对生态环境造成危害。这些基因修饰能够阻断传播疾病的蚊虫的繁殖，同时也可能打乱食物网络中的一环，使食物网的上一环失控增长。如何影响害虫增殖，又不严重影响生态是个难解之题，甚至是无解之题。



三、观点荟萃

1. Tim Lu专访



Tim Lu是麻省理工学院的合成生物学家。他将生物工程与电子技术和计算机科学相结合，创造出能合成包含微小半导体——量子点的结构蛋白的细菌。在这里，他向我们解释了基因组编辑技术如何推动他的研究，及其在治疗疾病中的作用。

Q: 在合成生物学中，你们如何使用基因组编辑？

A: 简单地说，新的编辑技术使我们能够非常有效地进行基因编辑。合成生物学的主要目标之一是重组DNA，在活细胞内实现新的功能。过去修饰DNA是一件费时费力的事情，但现在不一样了。我们需要花很多时间，在实现产品设计改进、然后再实现、再改进的过程上，所以实现-改进的周期越短，取得成果的时间越短。新的基因组编辑工具，让我们可以进行DNA修饰的细胞类型大大增加，包括动植物和细菌细胞，应用范围也相应扩大。

Q: 你的研究是否有临床应用？

A: 有的。我们的目标是赋予细胞基本的计算能力。我们希望，细胞能够感知所在环境，并根据检测到的信号做出响应。我们希望通过此创造出新的诊断和治疗手段。现在你去看医生，得到诊断，然后服用药片，吞下药物的时候，你根本无法控制会发生什么反应。但是，如果你吞下一些可以感知疾病指数，并在发病前就产生治疗响应的药物呢？

Q: 那听起来很不可思议。能介绍一下这些疾病感知药物的具体机制吗？

A: 我们的想法是，通过基因编辑，把生物体变成记录肠道内复杂环境的传感器。换句话说，创造能告诉你炎症等疾病迹象的细菌。你吃下这些细菌，它们从粪便中被排出后，能提示肠道的情况。**DNA**编辑之后，细菌不仅能感知环境，而且还能够产生某种治疗分子，这样它们就可以在需要的地方递送药物。

Q: 你认为，未来基因编辑的细菌会不会成为人类肠道菌群的一部分？

A: 未来基因编辑的细菌的首要任务可能是帮助我们理解肠道菌群到底如何影响人类的健康和疾病的。目前的微生物研究主要是调查。研究人员取得粪便样本，对其中的细菌进行测序，确定其中的细菌种类。然后，他们据此提出一些有趣的假设，把某些特定的细菌与特定疾病联系起来。但是这些研究缺乏对这些微生物的实际功能的理解。例如，某种微生物只占肠道微生物的0.5%，但它有一些非常重要的功能。这类研究就无法探讨这类问题。

在我的实验室，我们在靶向性的抗菌药物上做了很多工作。例如，我们修饰了一种噬菌体的侵入细菌的病毒，这些病毒可以杀伤特定种类的细菌，或向细菌递送遗传信息。如果你把宿主体内菌群中的某种细菌完全消灭，你能更好地了解各个细菌种类的功能。

Q: 你认为噬菌体会成为广泛使用的治疗方法吗？

A: 很多人对此有兴趣，因为抗生素抵抗已经成为了不可忽视的大问题。噬菌体是一种替代方案，但存在监管问题。在一些东欧国家，噬菌体产品是非处方药物，但很多可用的产品并没有经过严格的临床试验。

你经常需要将不同类型的噬菌体混合成“鸡尾酒”，从而靶向特定细菌种类。如果你通过编辑野生噬菌体的基因来得到“鸡尾酒”，你会发现这些噬菌体属于多个基因组不同的家族。关键的监管问题是，你需要确保治疗中使用的每个噬菌体的变型是明确的，因为不同变型的噬菌体对人体的影响不同。我们使用合成生物学技术，创造一致性程度更高的噬菌体“鸡尾酒”。这些噬菌体就像抗体一样，有一个共同的支架，但针对不同的细菌，产生不同的结构。

Q: 你对这些新的基因组编辑技术有什么顾虑吗？

A: 现在流行在车库里开商店。现在也有社区实验室，允许任何人进入并接受培训。以前，你需要成为锌指核酸酶方面的专家才能编辑**DNA**，但现在**CRISPR-CAS**系统的操作非常简易，任何人接受培训后都可以上手。一方面，这会引入大量的人才和想法；但另一方面它也会带来新的监管问题。生物工程的民主化是必然的。我们必须评估风险和收益，适应和利用这一趋势。



2. 胚胎编辑需要严格审查



Jennifer Doudna指出，基因编辑带来了许多机会，但人类生殖细胞编辑引发了伦理争议。

现代分子生物学从20世纪70年代开始兴起，当时研究人员意识到，他们可以使用源自细菌的酶——细菌在进化过程中演化出来的抵御病原体的蛋白——来编辑其它生物的基因。这一突破引发了学界关于“重组基因”技术的安全性和伦理的讨论，并强调了通过保持科学界的透明度对获得公众信任的重要性。40年后，我们对这个技术进行了革命式的改进：**CRISPR-Cas9**。该系统大大降低了基因工程的难度，吸引了众多利益相关者。这一技术革新又一次引发了一个基本的问题：如何适当利用强大的技术工具，尤其是涉及人类生殖细胞编辑时。至少有一点是明确的——在目前阶段，我们还不知道这个技术的潜能和局限，对其创造可遗传的突变的影响也完全未知。

为应对这些基本伦理问题，美国国家科学院（**US National Academy of Sciences**）、美国国家医学院（**US National Academy of Medicine**）、英国皇家学会（**UK Royal Society**）和中国科学院（**Chinese Academy**

of Sciences）在2015年12月共同举行国际首脑会议，商讨基因组编辑的科学和社会影响。讨论范围包括临床、农业和环境领域的应用，但焦点是人类生殖细胞编辑。这是因为人类生殖细胞基因编辑能消除遗传疾病，并最终改变进化的进程。

使用方便、廉价有效的基因组编辑方法的迅速发展和快速推广彻底改变了生物学领域。**CRISPR-Cas9**系统的简单性使研究人员和学生可以对基因组进行精确的修饰，从而可以完成很多以前难以实施或无法开展的实验。例如，**CRISPR-Cas9**可以在动物模型上精确复制人类疾病的遗传基础，帮助研究者深入了解复杂疾病的发病机制。**Cas9**酶也可用于精确地改变表观遗传标记，而不改变**DNA**，以此调控基因的表达。此外，该技术还可方便地纠正各种动物、由干细胞产生的组织的基因缺陷。这一策略将最终用于治疗人类疾病上。

当基因组的变化发生在高度分化的非生殖细胞中时，这些基因编辑只会对接受该治疗

的个体产生影响，而不会遗传给后代。但是，如果对生殖细胞，如发育成卵子或精子或胚胎进行编辑，这些基因编辑会遗传给后代。我们知道，CRISPR-Cas9技术对非生殖细胞和生殖细胞、灵长类动物和人类的胚胎都起作用。2015年5月由中国广东广州中山大学的研究人员出版的人类胚胎编辑实验（P. Liang *et al. Protein Cell* 6, 363-372; 2015）一定程度上促成了同年12月会议的举办。尽管这些实验是在胚胎不能发育成婴儿的情况下进行的，但是这项研究强调了这一事实，这是一种可能对人类基因组的永久性改变有深远影响的技术。

关于使用人体生殖细胞基因工程，众说纷纭。一些科学家赞成该技术快速发展，而其他人员则建议在近年禁止使用该技术进行人类生殖细胞基因编辑。在我看来，全面禁止会阻碍新疗法的发展。同时，全面禁止非常不可行，毕竟CRISPR-Cas9极易获得，使用方便。相反，在中间地带达成协议非常可取。此外，12月的会议上还会解决基因编辑在非人类系统中具有潜在危害的应用，例如改变昆虫种群的基因。

随着公开讨论的进行，各国达成一致，采取5个准则，以确保基因编辑的正确使用。

一、安全性：全球科学家和临床医生需要采用标准的方法来衡量基因组编辑的效率和脱靶效应，从而便于研究人员比较和评价不同的实验结果对临床的指导意义；

二、交流：12月峰会将进一步促进基因编辑专家、生物伦理学家对人类基因组编辑的伦理、科学、社会和法律影响的科普；

三、纲要：要有各国决策者和科学家们的国际合作，确定一个共同的前进道路，提供明确的指导，来明确哪些符合，哪些不符合伦理；

四、监管：这种合作中，应该组织和应用适当地督，以评估科研中人类生殖细胞基因编辑的有效性和特异性。

五、谨慎：目前，不允许以创造基因组修饰人为目地使用基因编辑技术，部分原因是由于社会后果未知，同时也因为我们关于人类基因组的技术和知识还不能确保这样做的安全性。

12月首脑会议对中国、英国和美国领导全球讨论，是个重要机会。同时，也是基因编辑群体对40多年前的承诺——充分告知公众——的履行。

3. 与其争论，不如鼓励创新



George Church指出，基因编辑的讨论，与其强调老掉牙的风险问题，不如关注它带来的好处。

2015年12月1日-3日，来自多个科学院的成员们在华盛顿讨论人类生殖编辑的问题。因此，现在是鼓励公众了解关键问题的好时机，毕竟公众很可能还受含糊的措辞和过时的数据所困扰。这项技术将改变预防医学。我们不应该讨论禁止人类生殖细胞基因编辑的可能性，而是要讨论如何提高其安全性和有效性。再次，我希望纠正一些常见的误解。

在CRISPR-Cas9问世以前，科学家们并不具备改变人类生殖细胞基因的能力。旧的基因组编辑技术，如锌指核酸酶技术（ZFN）和转录激活因子样效应核酸酶（TALEN）也不具备这一能力。基因治疗最早发明于20世纪70年代。尽管CRISPR-Cas9也能作为替代手段，用于传统的基因治疗，但目前2200例基因治疗临床试验中，没有一例使用了该技术。但这些试验中，医生的确改变了成人和儿童的基因组。从技术层面来讲，并没有理由禁止基因治疗改变人类生殖细胞。目前接近80%的国家，包括美国和中国，都没有禁止这样的修饰。事实上，生殖细胞基因编辑，可以是对全

身的非生殖细胞应用基因治疗的副产物。另外容易为人所忽视的是，编辑胚胎细胞的基因，可能不会改变生殖细胞的基因。

至于很多人担忧的，人类生殖细胞编辑会造成永久性的、可遗传的变化，这一点更是无需担心。因为把有害的基因换成正常的基因并不会造成不可见的副作用，而且可能是可逆的。即使基因编辑难以逆转，与遗传疾病的风险相比，这点风险并没有那么严重。子女不需要继承父母因化疗、酗酒等突变源造成的基因突变，也不需要承担后代出现唐氏综合症等遗传疾病的风险。

我们已经知道，生殖细胞编辑不可能导致危险的、不可预测的突变。在最好的情况下，CRISPR-Cas9发生错误的概率是三百万亿碱基对中出现一对错误，而且利用新技术能进一步把脱靶效应降低到十分之一。也就是说，问题并不在于基因编辑的脱靶效应可能造成基因组某处的错误，而在于出现在特定基因中的错误，可能增加某个组织的癌症风险。鉴于人类基因组中约有1200个肿瘤抑制基因，平均每

个基因长度约为3000个碱基对，脱靶效应发生在其中某一个肿瘤抑制基因中的概率仅为整个基因组的百万分之一。改变一个生殖细胞的基因造成副作用的风险仅为改变10亿个体细胞的基因的十亿分之一。这是因为这十亿个体细胞各自独立增加了诱发癌症的风险。

同时，正因为其它防止遗传性疾病的方法存在问题，才有必要采用人类生殖细胞编辑技术。体外受精（试管婴儿）的产前基因诊断通常被作为是基因编辑的一种替代方式，但这对于纯合子突变携带者来说，并不能解决问题。基因的人口频率也不能解决这个问题，因为在世界上五分之一的人口中，近亲结婚是一个根深蒂固的社会趋势。

那些想禁止人类生殖细胞编辑的人们也应该考虑到这样的举措将无助于消除“优化人类”的伦理顾虑。一些研究试管婴儿的医生、甚至政府都计划这么干，更别提运动竞技中的兴奋剂了。这些雄心勃勃的个人和机构是不太

可能接受由不同观点持有者达成的一致协议的。

最后，禁止生殖细胞编辑的概念没有意义。目前，各国已经明确规定，除非技术在正确的动物试验中安全有效，否则该技术无法用于人类。接下来，开展人类试验，最后才能在普通人群中按照实验证实的条件来使用。禁止人类生殖细胞编辑可以阻碍最前沿的医学研究，而推动地下黑市和失控的医疗旅游采用这一技术，才是真正增加了风险和误用滥用的举措。相反，我们应当鼓励监管机构出台更高的安全性和疗效标准，而不是极度悲观地阻碍科学、医学的发展。

基因组编辑研究群体可以有效地鼓励研究人员追求技术创新，提高新工具的安全性和有效性。而且，随着人类生殖细胞基因编辑的讨论变得更为主流，我们应该学习如何向那些不熟悉这项技术的人们解释他们的担忧，从而清晰明确地阐明CRISPR-Cas9的利与弊。

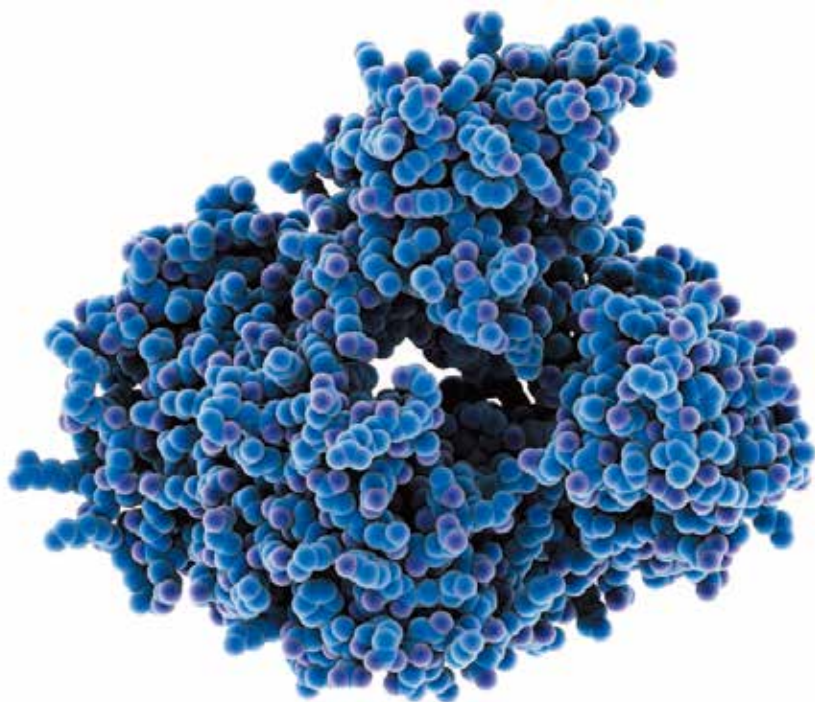
百态 · 频道

www.LifeOmics.com



四、其它基因组编辑工具简介

Argonaute蛋白
是最有可能取代
CRISPR-CAS9的
基因编辑系统。



CRISPR-Cas9让科学家们能随心所欲地改变基因组。由于具有简单、廉价、通用的优点，CRISPR-Cas9很快就席卷全球相关实验室，在医学和基础研究应用上发挥了重要的作用。

今年早些时候，大部分研究人员的关注点全都落在一种可能具有发展潜力的基因编

辑系统——NgAgo上。这暴露了研究者们对CRISPR-Cas9局限性的不满，并且强烈希望寻找可行的替代方法。事实上，NgAgo只是今年涌现的诸多基因编辑工具中的一个。这些工具中，一些是对CRISPR的改进；其它一些则是截然不同的基因编辑系统（表1）（更多信息请见：go.nature.com/2bbgxwb）。

表1 其它基因组编辑工具简介

名称	详细介绍
Mini-Cas9	从金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>) 中获得的一种迷你Cas9 (mini-Cas9) 非常细小, 以致可以被整合进基因治疗常用的病毒基因组里。目前已有两个研究小组在小鼠模型上利用这种mini-Cas9纠正了杜氏肌营养不良 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 的致病基因。
其它有潜力的酶	Cpf1有望成为一种有应用前景的Cas9替代品。它不仅比Cas9小、特异性高, 而且对序列的要求也与Cas9不同; 而C2c2则靶向RNA, 而非DNA——这对于研究RNA以及通过RNA基因组对抗病毒具有重要意义。
将失活的Cas-9与其它酶连接起来	有两个研究小组通过将Cas9与一种酶 (该酶能将一种DNA碱基转变为另一种DNA碱基) 连接在一起, 从而让Cas9失活。研究人员希望, 将失活的Cas9与其它酶连接在一起能实现不同的序列变化。
寻找合适的Argonaute蛋白	2016年5月, 中国研究人员韩春雨宣称他们无需向导RNA或一段特定的邻近基因组序列的辅助, 就能成功地利用Argonaute家族的一种蛋白——NgAgo来剪切特定位点的DNA (F. Gao <i>et al. Nature Biotechnol.</i> 34, 768–773; 2016)。截至本文定稿, 领域内的其它实验室仍然无法重复这些实验结果。不过人们仍旧相信, 其它Argonaute蛋白也许具有发展潜力。
编程某些酶	在一个大规模的细菌基因组编辑项目中, George Church的实验室并没有使用CRISPR, 而是采用一种名为lambda Red的系统。该系统无需向导RNA就能通过被编程来改变DNA序列。尽管该研究已开展了13年, lambda Red还是只能在细菌上发挥作用。Church和生物工程学家张锋指出, 他们正在致力于将整合酶和重组酶开发成基因编辑工具。张锋表示, 通过仔细研究酶的多样性, 他们可以得到更强大的基因组编辑工具库。这种探索的脚步不会停止。



原文检索:

- Amy Maxmen. (2015) THREE TECHNOLOGIES THAT CHANGED GENETICS. *Nature*, 528: S2-S3.
- WILL TAUXE. (2015) GENOME EDITING 4 BIG QUESTIONS. *Nature*, 528: S17.
- ZOË CORBYN. (2015) Biology's big hit. *Nature*, 528: S4-S5.
- VIRGINIA GEWIN. (2015) Expanding possibilities. *Nature*, 528: S10-S11.
- MICHAEL EISENSTEIN. (2015) Closing the door on HIV. *Nature*, 528: S8-S9.
- HEIDI LEDFORD. (2015) The genome unwrapped. *Nature*, 528: S12-S13.
- CLAIRE AINSWORTH. (2015) A new breed of edits. *Nature*, 528: S15-S16.
- WILL TAUXE. (2015) Q&A: Tim Lu Cocktail maker. *Nature*, 528: S14.
- Jennifer Doudna. (2015) Embryo editing needs scrutiny. *Nature*, 528: S6.
- George Church. (2015) Encourage the innovators. *Nature*, 528: S7.
- Heidi Ledford. (2016) BEYOND CRISPR: A guide to the many other ways to edit a genome. *Nature*, 536: 137.





完整的 基因组编辑解决方案

助你赢在起跑线上



产品	细胞类型	位点	启动子	筛选标记	规格	促销价
AAVS1 位点上稳定表达 Cas9 的人类单克隆细胞系	H1299	AAVS1	CMV	Puro	1 管, 每管 2×10^6 个细胞	¥6,460
	HEK293T	AAVS1	CBh	Puro		
	HeLa	AAVS1	CBh	Puro		
	A549	AAVS1	CBh	Hygro		
	HEK293T	AAVS1	CBh	Hygro		
	Neuro02a	RoSA26	Tet inducible	Hygro		
	Neuro02a	RoSA26	Tet inducible	Hygro		
	Neuro02a	RoSA26	CBh	Puro		
	Neuro02a	RoSA26	CBh	Neo		

产品	货号	规格	目录价	促销价
IndelCheck™ CRISPR/TALEN 插入缺失检测体系	IC001	50 个反应	¥1,100	¥935 (8.5 折)
	IC002	200 个反应	¥3,400	¥2,890 (8.5 折)
靶点 PCR 试剂盒	IC003	50 个反应	¥900	¥765 (8.5 折)
	IC004	200 个反应	¥2,600	¥2,210 (8.5 折)
T7 核酸内切酶 I 检测试剂盒	IC005	50 个反应	¥600	¥510 (8.5 折)
	IC006	200 个反应	¥1,800	¥1,530 (8.5 折)
人类 AAVS1 safe harbor 安全位点基因敲入试剂盒	SH-AVS-100 SH-AVS-200	Puro, 有供体载体	¥11,160	¥6,680 (6 折)
	SH-AVS-000 SH-AVS-002	无供体载体	¥9,560	¥5,730 (6 折)
小鼠 ROSA26 safe harbor 安全位点基因敲入试剂盒	SH-ROS-100 SH-ROS-200	Puro, 有供体载体	¥11,160	¥6,680 (6 折)
	SH-ROS-000 SH-ROS-002	无供体载体	¥9,560	¥5,730 (6 折)
AAVS1 或 ROSA26 的 TALEN 或 CRISPR 工具质粒	SH125 SH175 SH100 SH150	10µg 去内毒素。 500ng*/µL, 20µL	¥7,160	¥6,086 (8.5 折)
Cas9 safe harbor 敲入克隆	SH300,SH301 SH302,SH304 SH305,SH306 SH500,SH501 SH502,SH504	10µg 去内毒素。 500ng*/µL, 20µL	¥4,000	¥3,400 (8.5 折)

基因敲除

Genome-CRISP™ sgRNA 克隆

- 非慢病毒 sgRNA 克隆 ¥1000 起
- 慢病毒 sgRNA 克隆 ¥1200 起

Genome-CRISP™ Cas9 表达克隆

- Cas9 核酸酶表达克隆 ¥1000
- Cas9 D10A 切口酶表达克隆 ¥1000

sgRNA 慢病毒

- sgRNA 慢病毒包装服务 8.5 折
- 单个慢病毒滴度达到 $2 \times (10^6 - 10^7)$ TU。一条 ¥3400 元，一套三条 ¥7140。

Cas9 慢病毒

- 预制 Cas9 慢病毒颗粒 400 μ L 仅售 ¥5950

功能验证及敲除筛选

IndelCheck™ CRISPR/TALEN 插入缺失检测体系

—— 无需分离基因组，简化您的 CRISPR/TALEN 功能验证及基因敲除克隆筛选

- 靶点 PCR 试剂盒 ¥765
- T7 核酸内切酶 I 检测试剂盒 ¥510 起
- IndelCheck™ CRISPR/TALEN 插入缺失检测体系 ¥935 起

基因敲入

- 用于 HDR 介导的基因敲入等应用的载体，含不同启动子、筛选标记 / 报告基因及 Loxp 重组位点。¥3000 起

Safe Harbor 体系

- 人类和小鼠 safe harbor 安全位点基因敲入试剂盒 ¥5730 起
TALEN 或 CRISPR safe harbor 工具质粒 ¥6086
- 组成型或诱导型的 Cas9 safe harbor 敲入克隆 ¥3400
- 人类 Cas9 safe harbor 稳定表达细胞系 ¥6460

高通量敲除筛选

sgRNA 文库 ¥11900 起

7 个针对不同通路的预制人类 sgRNA 文库：

- 文库 sgRNA 克隆都是单独构建，经测序验证后再混合。
- 菌液、去内毒素质粒及慢病毒等多种产品规格可供选择。
- 适合进行高通量基因敲除筛选或综合致死性筛选，以进行药物靶标研究或基因功能研究。

GeneCopoeia, Inc.

Tel: 4006-020-200 020-32068595
Email: sales@igenebio.com
Web: www.genecopoeia.com
www.igenebio.com

精彩就在你身边
你“微”了吗？

“扫”我
码上有礼！



热点

Hot topics

实验可重复性：尊重你的细胞



细胞培养过程中发生的任何微小问题都会影响最终的试验结果。因此，科研人员必须鉴定细胞的行为和特性，同时也需要仔细对待培养细胞时用到的各种试验用品和试剂。



各种各样的遗传变异、不同批次的培养血清，乃至培养皿的形状不同，都有可能让细胞试验的结果无法重复。但科研人员们还是有办法来保证科学实验的可重复性的。

当Alastair Khodabukus想在他的新实验室里开展肌纤维改造研究时，发现了一些奇怪的现象，他观察到这些肌肉组织好像在震颤（convulsing）。多年以来，Khodabukus一直都在用同一个克隆（小鼠来源）来培育肌纤维组织，但是这一次的试验结果却和以往都不太一样。与之前在英国邓迪大学（Dundee, UK）培养的肌纤维组织相比，这些搬到美国加州大学戴维斯分校（University of California, Davis）后培养的肌纤维组织消耗了更多的葡萄糖（glucose）、肌蛋白含量更低、能够迅速松弛，而且更加不容易疲劳。Khodabukus认为，这种差异可能与美国的牛饲养方式有关（这会影响到培养细胞用到的牛血清的质量）。

绝大多数科研机构的实验室都会用胎牛血清（fetal bovine serum, FBS）来培养细胞。具体制备方法是将怀孕的母牛处死，待其血液凝固之后取上层析出物，即可得到FBS。FBS的成分会受到多种因素，比如牛的饮食、所处的地理位置、年龄、是否使用过激素或抗生素、胎儿的孕龄等的影响。在培养细胞时，科研人员会在培养液中加入大量的FBS，通常比例在5~15%之间。FBS的成分会影响培养细胞组织的增殖厚度，能够形成模拟细胞活化的人工自发现象（spontaneous artefacts），甚至还会影响细胞表面受体对某种配体物质的反应。目前在美国杜克大学（Duke University in Durham, North Carolina）开展博士后研究的Khodabukus认为，FBS就好像是一大块压在我们头顶的乌云，让我们分不清哪些是真的，哪些是假的。

然而血清还只是科研人员们在从事细胞培养工作时需要考虑的一个因素而已。去年美国国立卫生研究院（NIH）曾经举办过专门

讨论细胞培养和增殖问题的研讨会，吉利德科学公司（Gilead Sciences in Foster City, California）的肿瘤学家Richard Neve就在会上表达了他自己的忧虑。他表示，很多实验室都意识到了这个问题的严重性和复杂程度，这个问题已经成为了他们脑子里根深蒂固的一个观念。但是正确的态度应该是，只要经过周密的验证和计划，我们就应该对自己的试验充满信心。

首先，也是最基本的一点应该是确保细胞的遗传特性。科学杂志和资金支持者们现在已经要求科研人员在发表论文的同时发表声明，表明他们是否已经确定所使用的角膜或者皮肤组织细胞系并非来源于生长迅速的人类宫颈癌细胞系。但是细胞的行为也会受到细胞的密度、增殖速度、培养基、污染物，以及培养的时间等因素的影响。

毫无疑问，血清是细胞培养基里最常用的添加成分，也是一致性（consistent）最差的一种添加成分。人体血清里含有由各种细胞和组织产生的数千种不同的蛋白质，以及成千上万种小分子代谢产物，而且所有这些成分物质的浓度都各不相同。因此，为迅速生长的胎牛提供营养支持的FBS也是一样复杂的产品。

FBS不仅成分变异性高，而且与人体细胞所处的天然环境（人体内环境）有所不同。据美国新泽西州专门开发细胞培养用血清替代制品的Essential制药公司（Essential Pharmaceuticals in Ewing, New Jersey）的首席科学官Adam Elhofy介绍，人体内绝大多数细胞都不会直接接触人体血液，而是存在于组织间液（interstitial fluid）当中。血清里含有大量的激素、生长因子，以及各种信号分子，而且这些分子全都受到体内各个器官的严格调控。



无血清细胞培养

为了克服上述问题，很多试剂公司都开发了无血清的细胞培养基。那些从事生物处理应用（'bioprocessing' applications）研究的科研人员，比如制造蛋白质类生物药物或者疫苗的科研人员最讨厌的就是动物成分，所以他们也最欢迎无血清细胞培养基产品。从事干细胞研究的科研人员也非常需要无血清细胞培养基产品，因为干细胞对生长条件的要求非常苛刻，对哪怕一点微小的变动也都极为敏感。

还有很多科研人员开始关注细胞培养问题，这主要是因为大家对一致性的认识越来越高，以及对转化医学的热衷程度也越来越高。据MilliporeSigma公司的市场战略部总监Ken Yoon介绍，这一切变化都让越来越多的科研人员开始不再继续使用动物血清。在细胞培养试剂市场上，无血清的化学培养基也是增长最快的一个领域。

但是无血清细胞培养基还是不能完全取代血清。美国马里兰州国立通用医学研究院（US National Institute of General Medical Sciences in Bethesda, Maryland）的院长Jon Lorsch表示，每个人都认为，如果我们能够不用FBS，而用成分更加确定的试剂，那将是一项重大的进步。可问题在于，这种替换的可行性有多大，他们目前也不清楚这个问题的答案。

绝大多数无血清细胞培养基产品只适用于培养某一种特定的细胞，或者某一类非常相似的细胞。比如培养中国仓鼠卵巢细胞（Chinese hamster ovary cell，研究人员

常常用这种细胞进行蛋白表达，获取蛋白质类生物药物）这种上皮细胞就得使用某一种无血清细胞培养基，而培养其它血细胞就得使用另外的无血清细胞培养基。目前还没有一种适用于培养各种细胞的通用无血清细胞培养基产品（配方）。据美国加利福尼亚州ScienCell研究实验室（ScienCell Research Laboratories in Carlsbad, California）研发部的总裁Jennifer Welser-Alves介绍，很多直接取自活体组织的原代细胞（primary cell）是需要血清才能够在体外继续培养、生长的。他指出，你必须尽一切可能满足这些细胞的需要，让它们生长。有一些原代细胞只需要在培养基中添加2%的FBS，即便添加如此少量的FBS也有利于减少FBS带来的变异性。

美国的细胞培养基顾问Paul Price曾经开发过多种无血清培养基配方，他表示，虽然有这些无血清产品可供选择，但还是有很多科研人员不愿意花时间尝试这些产品，也不愿意冒风险尝试这些产品。据他介绍，自1980年以来，每一年都有人在说血清产品的末日要到了。可是三十多年过去了，血清产品到今天还是非常受欢迎的，因为使用血清可以培养所有种类的细胞，而且制备血清的技术也非常简单。然而细胞培养非常困难，科研人员们需要用移液器将细胞从一个培养皿转移到另外一个培养皿，细胞需要冻存和解冻复苏，需要用消化酶使细胞从培养皿上脱落下来，还需要很多其它的操作。所有这些操作对细胞来说都是伤害，而血清就是抚慰细胞的灵丹妙药。



血清之困

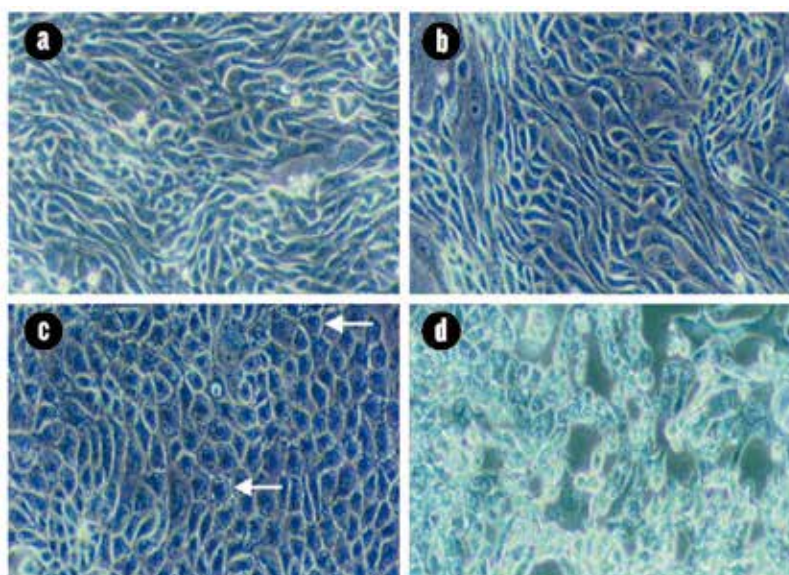
据Khodabukus介绍，目前市面上还没有培养骨骼肌细胞的商业化的培养基产品。他已经花了两年的时间来配制骨骼肌细胞培养基。他在培养基里添加了几十种生长因子和其它信号分子，可是每一次培养的肌细胞的表现都不太一样，这严重地妨碍了Khodabukus的研

究项目，以及合作者的工作。Khodabukus表示，他将用他的余生来解决这个问题。如果他们实验室能够用他们的培养基非常稳定地培养骨骼肌细胞，那么世界上的任何一间实验室也都应该能够使用他们的培养基来稳定地培养骨骼肌细胞。

牛血清成分的变异性

在不同批次的FBS产品间，生物活性成分的变异性是非常大的。下表列举了几种常见的生物活性物质的变异情况。

生物活性物质	浓度变动范围
内毒素 (Endotoxin)	0.356 ng/ml (0.008-10.0)
总蛋白	3.8 g/dl (3.2-7.0)
碱性磷酸酶 (Alkaline phosphatase)	255 mU/ml (111-352)
乳酸脱氢酶 (Lactic dehydrogenase)	864 mU/ml (260-1,215)
皮质醇 (Cortisol)	0.5 μ g/dl (<0.1-2.3)
胰岛素 (Insulin)	10 μ U/ml (6-14)
甲状旁腺激素 (Parathyroid hormone)	1,718 pg/ml (85-6,180)
黄体酮 (Progesterone)	8 ng/dl (<0.3-36)
睾酮 (Testosterone)	40 ng/dl (21-99)
前列腺素E (Prostaglandin E)	5.91 ng/ml (0.5-30.5)
甲状腺刺激激素 (TSH)	1.22 ng/ml (<0.2-4.5)
卵泡刺激素 (FSH)	9.5 ng/ml (<2-33.8)
生长激素 (Growth hormone)	39.0 ng/ml (18.7-51.6)
催乳激素 (Prolactin)	17.6 ng/ml (2.00-49.55)



在普通常规培养基里培养的上皮细胞（图a、b分别是生长6小时和48小时的情况）在有胆固醇（cholesterol）存在的情况下（如图c箭头所示）会变圆；如果加入了胆甾烷（cholestane），则会死亡（如图d所示）。

Keith Baar是Khodabukus之前在加州大学戴维斯分校（University of California, Davis）做博士后时的指导老师，他更相信常用的培养基配方。在Baar的实验室里有一台冰柜，是专门用来储存血清的。如果血清的培养效果变差了，他就会再定一批血清，而且一次至少会购买四个不同批次的血清，并对它们进行检测，希望从中找出细胞培养效果最好的那个批次，然后再购买100瓶同批次的血清产品。仅仅购买血清他们就花掉了2.5万美元的科研经费，但是这笔钱花的还是很值的，这样他们实验室不会再因为血清问题而每隔几个月就中断试验了。

美国科罗拉多大学（University of Colorado, Denver）的肿瘤生物学家Matthew Sikora认为，不对血清进行检测会给科研人员带来大麻烦。Sikora使用乳腺癌细胞系来研究“弱雌激素（weak oestrogens）”的作用。这些弱雌激素包括药物和双酚A（bisphenol A）等化学制品。Sikora会购买经过活性炭预处理，已去除了类固醇激素（steroid hormones）和其它油脂分子（greasy

molecules）的血清产品。他会检测这些血清，即用这些血清来处理有雌激素受体表达或者没有雌激素受体表达的细胞，如果血清里的雌激素被清除干净了，那么这两种细胞的生长速度就应该没有区别。

去年，Sikora等人就因为血清检测不合格，而使试验中断了半年之久。区分激素的成分也让了解抗癌药物的作用机制变得更加复杂。Sikora认为，血清之间尚未被我们发现的差异可能就是导致他们实验室与合作者实验室试验结果不一致的原因。

但是，即便科研人员对各批次血清都进行了检测，他们也不一定知道自己需要关注哪些问题。有一些实验室购买血清的目的就是让细胞能够最快速地生长，否则他们就应该有目的地对血清进行检测。Sikora还认为，科研人员应该详细介绍他们的血清检测方法，以便让同行们能够更好地重复他们的工作。

有一些细胞和试验对血清的作用更加敏感。经过数十年筛选的转化细胞（transformed cell lines）生命力旺盛，比其它更加接近天然组织的二倍体细胞或者原代细

胞更加稳定，不容易发生改变。

美国加利福尼亚州橘子郡儿童医院（Children's Hospital of Orange County in California）的细胞发育生物学家Mariella Simon认为，科研人员们必须非常细心。最理想的状态是，他们在一项研究工作当中只使用一种血清。如果更换血清（批次），也得保证没有发生任何改变，而且还应该储备一部分旧血清，以便在试验结果出现异常时再用回之前的旧血清。比如，我们在试验过程中经常会认为是某个试验操作（比如细胞转染）出现了问题，但实际上却可能是因为更换了另外一个批次的血清，所以细胞的分裂速度发生了改变。科研人员们还应该详细记录供应商提供的相关信息，比如该血清一共有多少批次等等。Simon提醒，你不能使用实验室其他同事的血清，那些血清可能已经存放了很久，或者可能只是贴着FBS的标签而已。

污染也是影响试验的常见因素。其中最常见的污染源就是支原体（*Mycoplasma*）。支原体这种微生物能够透过无菌滤器，而且对很多种抗生素都具有耐药性。支原体会消耗细胞的养分，破坏细胞的DNA和蛋白质合成作用。有人曾经对接近1万份取自啮齿类动物和灵长类动物的标本进行过分析，结果在10%以上的样品里都发现了专属于支原体的RNA序列。不过据美国弗吉尼亚州的非盈利细胞储

存机构——美国型培养大全组织（American Type Culture Collection）里专门负责标准化检测工作的Yvonne Reid介绍，传统的支原体检测需要好几个星期，而且有一些毒株还会被漏检，但是有了PCR技术之后，支原体检测的效率和准确性都得到了极大的改善。

为了避免血清污染问题，有一些科研人员选择了 γ 辐照（gamma irradiation）消毒手段。使用低剂量的 γ 辐照就能够杀死包括支原体在内的好几种常见的污染源。不过这里面也有一定的技巧，辐照的强度必须把握好，既要能够杀死病原体，还不能破坏血清里的生长蛋白和生物活性分子，以免破坏血清的促细胞生长能力。市面上有很多销售商都提供经 γ 辐照消毒过的血清产品，国际血清工业协会（International Serum Industry Association）也专门设立了一个组织，来阐述 γ 辐照消毒血清产品的功效。美国科罗拉多州RMC制药解决方案咨询公司（RMC Pharmaceutical Solutions in Longmont, Colorado）的细胞培养顾问Raymond Nims建议，所有选择 γ 辐照消毒血清产品的科研人员都应该先做一次细胞培养预试验，看看培养效果，而且即便血清是无菌的，也不能保证试验不会出问题，因为还有很多其它的渠道会污染试验，比如实验员的操作问题等。



其它影响因素

细胞所处的物理环境也会对细胞的生长带来非常大的影响。美国波士顿Wyss研究所（Wyss Institute in Boston, Massachusetts）的科研人员们发现，仅仅只是类似机械扭动一样的损伤，或者流体的改变，都有可能让细胞上原本具有重要功能的纤毛结构变得扁平（即纤毛结构受损、消失）。

实验室里常见的各种品牌的细胞培养瓶、培养皿都会向培养基中释放各种各样的化学物

质，从而让细胞代谢研究变得更加扑朔迷离。培养基中的各种人工添加成份也会通过我们预料不到的方式改变细胞的代谢反应，比如抗生素就会破坏细胞线粒体的活性；甚至是实验室里的玻璃冰箱门都有可能破坏试验结果，因为培养基中有很多化学分子都对光非常敏感。换一个培养皿，改变浸泡细胞的培养液的高度，也会改变细胞的行为。此外，细胞在某一种培养条件下的生长状态也并非都是一样的，其

中某一部分生长良好的亚克隆很快就会“脱颖而出”，成为优势克隆。这意味着，如果我们想重复之前的试验条件，实际上非常有可能失败。

在所有这些试验材料中，细胞本身的改变其实是最不重要的。据英国伦敦大学学院（University College London）的肿瘤研究者，同时也是细胞培养参考书《了解你的细胞》（Get to know your cells）一书的作者John Masters介绍，目前还没有一个快速、简便的方法能够判断出某种细胞是否适合于某个试验研究。最好的办法就是，看看再说。

美国销售细胞培养试剂的HyClone实验室公司（HyClone Laboratories）的前CEO（该公司已经被GE Healthcare Life Sciences公司收购）兼细胞培养顾问Leland Foster认为，受过相关培训的“专业人员”往往不够仔细，达不到试验操作的要求。他认为，有一个办法可以让实验室避免这些失误，那就是找一些专家常驻在实验室里。培养细胞就应该交给细胞培养专家来做，他们都能够看出细胞是在“微笑”，还是在“皱眉”，也会对血清和血清销售商提出非常专业、苛刻的问题和要求。

细胞在快速生长期，和相对静止稳定期的反应是不一样的。如果细胞培养的时间过长、传代过度（overpassaged），就会发生其它一些改变，影响其生殖能力。即便细胞系的遗传信息已经经过认证（这也是被大家广为接受和推荐的一种实验常规），但是细胞所处的生长状态、倍增次数、污染情况等关键信息也还是没有得到确认和记录。Reid认为，细胞认证并不仅仅只是对遗传信息进行确认。开展重复实验的科研人员不应该像个侦探一样——先

搞清楚上一次细胞处在哪个生长阶段，然后再开始重复实验。

目前正在制定细胞培养操作最佳指南的Reid认为，由于存在上述这么多未知的因素，所以科研人员们至少应该先花一周的时间，优化细胞的生长条件，在正式开始试验之前绘制出细胞的生长曲线。一份细胞生长曲线图能够告诉科研人员，在什么时候收集细胞样品是最合适的，在什么时候进行实验是最合适的，以及在什么时候又应该找细胞供应商重新购买一份新的细胞等。细胞生长曲线还能够提醒科研人员，是不是还遗漏了其它重要的变量信息。最重要的一点就是，科研人员必须时刻确保，他们使用的细胞在整个研究期间都是稳定的，没有发生变化的。Neve指出，根本就没有适用于所有人的试验。

美国马里兰州国家标准技术研究院（US National Institute of Standards and Technology in Gaithersburg, Maryland）的部门负责人Anne Plant认为，只有类似于好的显微镜图片，或者是基因表达数据等具体的试验数据，才能够帮助科研人员们认识到他们用于试验的细胞是否发生了改变。Plant希望能够找到定量的方法来评价细胞培养试验，以便对各个实验室里开展的细胞实验进行相互比较。Plant表示，其中最困难的评估项目就是如何判断细胞是健康的细胞。

Masters提醒道，那些不认为细胞是生物，没有好好照顾细胞的人更难得到试验结果。很多人在申请博士学位时都受到了严厉的批评，如果没能获得学位，他们多年的工作也都白费了。这就是因为他们在试验最开始的时候，没有做一个最简单的质量控制试验。



原文检索：

Monya Baker. (2016) REPRODUCIBILITY: RESPECT YOUR CELLS! *Nature*, 537: 433-435.

Eason/编译



百态

A amazing lives

氨基酸饮食能 提高冰冻果蝇的生存率



对很多人来说，小小的果蝇只不过是一种跟人类抢夺成熟果实的害虫；但在许多能够帮助科学家们回答各种基础生物学问题的强大分子工具被开发出来以后，这种原本叫人厌烦的昆虫已经成为很多生物学家们的知识源泉之一了。不过，来自捷克共和国昆虫研究所（Czech Republic's Institute of Entomology）的Vladimír Košťál指出，目前，科学家们想要像常规储存细胞和细菌那样，用冰冻的方法来储存已接受遗传修饰的果蝇，还不太可能。因此，当前的实验研究只能依赖于果蝇（*Drosophila flies*）的连续培养，而这个过程不仅非常枯燥无味、费用昂贵，而且还有风险。为了开发出一种可以将处于发育初期的果蝇保存下来的技术，Košťál等人设计了一个实验来冷冻果蝇的幼虫。具体的方法是洗净它们，然后将其包封在湿润的纤维素球体中，再加入冰晶，以使果蝇幼虫的体温下降至-5℃，并呈冰冻状态。接着，他们把幼虫解冻，同时监测它们的成长，直至成虫。结果，

Košťál等人发现，当缓慢冷冻果蝇幼虫时，它们的存活率从原本的0.7%显著上升至12.6%。最后，研究人员提出，如果在小虫的饮食中添加点什么，那么会不会进一步提高它们的存活率呢？

在冰冻果蝇幼虫之前，研究者们有计划地给它们喂食添加了氨基酸及其它胺类化合物的食物，并测试其生存率。结果令他们非常惊喜：成年果蝇的生存率得到了极大的提升：其中给予含25mg g⁻¹精氨酸饮食的幼虫，生存率达到50.6%；给予50mg g⁻¹脯氨酸饮食的幼虫，生存率达到42.1%。对此，研究小组进行了讨论，认为可能的机制是：这两种氨基酸能够保护果蝇的身体结构，阻止受损蛋白质和脂类在细胞内形成有害的聚合物。最后，研究小组对不同氨基酸影响冰冻幼虫的耐受性进行了乐观的评估，认为该研究终将促成相关技术的发展，使得研究人员能够在低温下长时间储存有价值的果蝇种系。



原文检索：

Koš tál, V., Korbelová, J., Poupardin, R., Moos, M. and Šimek, P. (2016) Arginine and proline applied as food additives stimulate high freeze tolerance in larvae of *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.* 219: 2358-2367.

文佳/编译



多睡真的能够长寿吗？

——睡鼠的端粒复位与觉醒有关



几乎每一种动物都有一个决定其寿命的时钟。每当一个细胞分裂时，保护染色体终端的帽子结构（被称为端粒）就会变短，而该结构的长度与动物的预期寿命相关。不过，这个时钟在一种小型哺乳动物——肥睡鼠（**edible dormouse**）——体内是如何起作用的，此前尚不清楚。

这种睡鼠比较特别，它的预期寿命比相似体型的哺乳动物长50%。我们知道，冬眠能够减缓细胞损伤，而这种小型啮齿动物每年用于冬眠的时间长达11.4个月。对此，奥地利兽医大学（**University of Veterinary Medicine**）的Franz Hoelzl等人十分好奇，希望进一步了解睡鼠长期昏睡的生活方式会对其端粒长度产生

什么影响。

Hoelzl等人首先监测了在维也纳森林中生活的睡鼠的体温（这是一种判断动物处于苏醒中抑或冬眠状态的良好指标），监测期长达12个月，并分别在开始和终止阶段中，小心地从它们的嘴里采集了一些细胞，用以测量端粒长度。然后，他们将睡鼠端粒酶的长度与其活动模式进行了对比，结果令人惊讶：在冬眠过程中，睡鼠的体温下降，但这与它们的端粒长度减少无相关性。反倒是睡鼠从冬眠中苏醒的觉醒率——会在冬眠季定期发生——是端粒缺失速率的最好指示剂。不过，睡鼠似乎能够在活动季节补偿这种端粒缺失，并延长端粒，当然咯，前提是食物充足。



原文检索：

Hoelzl, F., Cornils, J. S., Smith, S., Moodley, Y. and Ruf, T. (2016) Telomere dynamics in freeliving edible dormice (*Glis glis*): the impact of hibernation and food supply. *J. Exp. Biol.*, 219: 2469-2474.

文佳/编译



A group of people are standing on their shoulders to form a tall human pyramid. The pyramid consists of four layers: a base of several people, a second layer of three people, a third layer of two people, and a single person at the top. They are all looking upwards towards the sky. The background is a bright, cloudy sky with a sun or moon visible in the upper left corner. The overall image has a purple tint.

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广

请致电 (020) 32051255



www.LifeOmic.com
www.FIGOUTIC2.COM