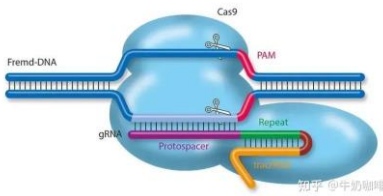


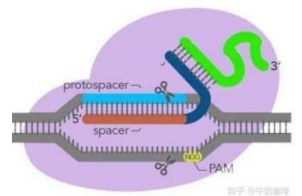
# CRISPR-Cas9 基因编辑技术

胡越 22301050302 临床医学（八年制）

## 一、技术的原理

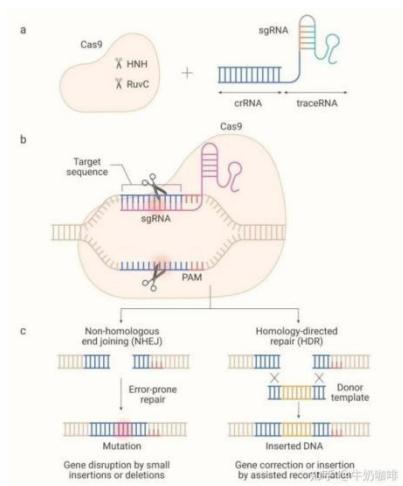


基因编辑的 CRISPR/Cas9 系统是在天然 CRISPR-Cas9 系统（SpCas9（以下简称 Cas9）、crRNA、tracrRNA）的基础上将 crRNA 和 tracrRNA 融合成一条 sgRNA (single-guide RNA) 以方便实验设计及提高 gRNA 稳定性。其中，crRNA 和 tracrRNA 通过局部碱基配对组成 gRNA (guide RNA)，gRNA 与 Cas9 蛋白结合后引导 Cas9 蛋白识别和切割目标 DNA 序列。PAM 基序是 Cas9 的识别位点，Cas9 的 PAM 基序为 5'-NGG。Cas9 在 PAM 基序上游第 3 个碱基处切割双链 DNA。



CRISPR-Cas9 的技术原理包括 gRNA 引导的 Cas9 靶向 DNA 切割和 DNA 修复两个基本过程。

首先，Cas9 蛋白特异性切割目标 DNA 序列，产生 DNA 双链断裂。Cas9 蛋白含有两个核酸酶结构域，可以分别切割 DNA 两条单链。CRISPR/Cas9 切割目标 DNA 后，产生双链断裂（DSB），DSB 是一切基于核酸内切酶的基因编辑的基础。



然后，细胞内的 DNA 修复系统修复双链断裂，在修复的过程中实现 DNA 序列的改变。DNA 修复机制分为两类：非同源性末端接合（NHEJ）和同源介导的修复（HDR）。

综上，CRISPR 技术主要是利用位点特异 Cas 核酸酶在基因组靶位点处引入 DNA 双链断裂，再经细胞自身的非同源末端连接（NHEJ）或同源重组修复（HDR）对双链断裂进行修复，最终实现目标基因敲除和碱基编辑等基因组遗传修饰。

## 二、技术应用的实例

CRISPR-Cas9 作为新一代的基因编辑技术，广泛应用于基因功能研究、模式动物构建、基因治疗、疾病预防等各领域。

在治疗基因疾病方面，CRISPR-Cas9 技术可以通过对患者的基因组进行编辑，有效地纠正病因基因的异常表达，从而达到治疗的效果。

该技术最早的应用实例在 2013 年 12 月，Wu 等人发表了一项利用 CRISPR/Cas9 在碱基缺失导致白内障的小鼠模型中治疗白内障的研究。结果表明，CRISPR/Cas9 可以修饰基因组来治疗遗传性疾病。

而在 2016 年 10 月，卢铀等人将 CRISPR/Cas9 基因编辑的 T 细胞回注到患者体内，这是世界上首个 CRISPR/Cas9 的人体实验。该项研究表明了基因编辑技术临床应用的可行性和安全性。

### 三、技术的优缺点

优点：只需要改变单链向导 RNA (sgRNA) 的 5' 端序列即可重编程 Cas9 的序列特异性，操作便捷；CRISPR/Cas9 合成简单、周期短、操作简单、效率高

缺点：CRISPR 技术存在风险：可能会导致脱靶效应，即编辑过程中可能会意外地改变基因组中非目标区域的 DNA 序列，可能会导致意料之外的后果，如基因突变或细胞毒性。同时 CRISPR 技术可能带来一些伦理和社会问题的担忧：是否应该修改人类胚胎的基因、是否会造成基因污染或生物安全风险、是否会加剧社会不平等或歧视等。总之对于 CRISPR 技术的长期安全性和有效性仍然不确定。

### 四、技术发展的趋势

近年来，科学家们关于 CRISPR-Cas9 技术的研究收获颇丰，该技术目前仍是进一步研究的热点之一。因为 CRISPR-Cas9 基因编辑技术可用其打靶精确而高效的优势，将其应用于人类基因治疗、新药开发等生物医学研究领域，针对目前人类所高发的重大疾病开辟新的治疗途径，帮助人们更深入地了解疾病的发病机制，为靶向治疗提供更多的方向，为临床上的个性化治疗提供方便。

而想要将这项科研成果转化为真正的临床治疗方法的最大挑战之一是关于 CRISPR 治疗的潜在风险的许多未知因素。科学家已经了解了 Cas9 的裂解机制，并开发了 Cas9 的几种变体使得脱靶效应降低而编辑效率不降低。因此，科学家们将继续深入研究疾病发生机制、开发更高效和更特异的递送载体以及改进 Cas9 变体，使其具有更广泛和更安全的适应性。

而现实中存在的伦理问题或许是另一方面的制约，对此，当未来技术更为成熟之后，人们对于使用基因编辑技术治病的接受程度有可能上升。