

知識物件上傳表

計畫名稱：分散式生質廢棄物能源關鍵技術研發計畫(2/2)

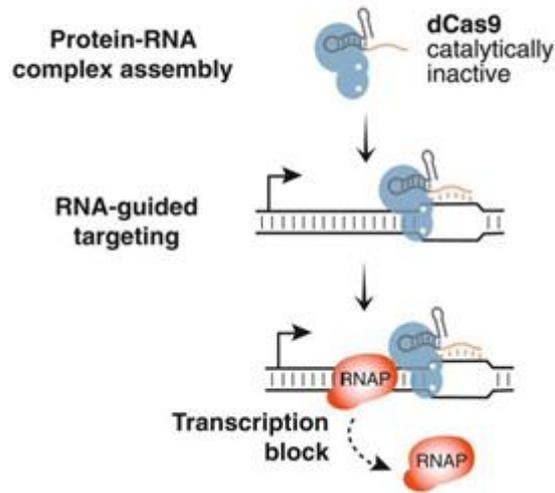
上傳主題：基因編輯--CRISPR/Cas9技術

提報機構：工業技術研究院 綠能與環境研究所

提報時間：107年9月3日

與計畫相關	<input checked="" type="checkbox"/> 1.是 <input type="checkbox"/> 2.否
國別	<input type="checkbox"/> 1.國內 <input checked="" type="checkbox"/> 2.國外：(歐美)
能源領域	<input type="checkbox"/> 1.政策與法規 <input type="checkbox"/> 2.環境衝擊與調適 <input type="checkbox"/> 3.經濟及產業 <input checked="" type="checkbox"/> 4.科技 <input type="checkbox"/> 5.統計資訊
能源業務	<input type="checkbox"/> 1.總體能源 <input type="checkbox"/> 2.化石能源... <input type="checkbox"/> 3.電力 <input type="checkbox"/> 4.核能 <input checked="" type="checkbox"/> 4.新及再生能源 <input type="checkbox"/> 5.節約能源
決策知識類別	<input type="checkbox"/> 1.建言(策略、政策、措施、法規) <input checked="" type="checkbox"/> 2.評析(先進技術或方法、策略、政策、措施、法規) <input type="checkbox"/> 3.標竿及統計數據：技術或方法、產業、市場等趨勢分析 <input type="checkbox"/> 4.其他：
重點摘述	CRISPR 干擾 (CRISPRi) 是一項基於傳統 CRISPR/Cas9 基因編輯系統的新型基因調控工具，其作用原理如下：缺失核酸內切酶活性的 Cas9 與單條導向 RNA 共表達時候，會產生一種 DNA 識別複合物，這種複合物能特異性干擾轉錄延伸、RNA 聚合酶結合、或轉錄因子結合。該技術可以通過兩條 sgRNA 的導入實現很強的基因沉默效果。在高通量研究基因沉默的實驗中可以選用穩定表達缺失核酸內切酶活性的 Cas9 的細胞系，只需要導入表達 sgRNA 的載體就可以得到較 RNAi 基因沉默效果更好的結果。
詳細說明	<p>基因組測序讓我們意識到，人類基因組只有一小部分被翻譯成蛋白質。其實我們基因組的80%會轉錄成 RNA，但這些轉錄本大多不生成蛋白質。近年來人們發現非編碼 RNA 往往與人類疾病有關，不過絕大多數非編碼 RNA 的功能還是未知的。</p> <p>CRISPR/Cas9 在這方面可以起到重要的作用。這一系統原本是細菌在漫長進化史中演化出的防禦機制，能根據引導 RNA 的指示，靶標並降解入侵者的遺傳物質。規律成簇的間隔短回文重複 CRISPR 與內切酶 Cas9 的組合，可以在引導 RNA 的指引下，靶標並切割入侵者的遺傳物質。2012 年研究者們利用這一特點，將 CRISPR 系統發展成了強大的基因組編輯工具。</p> <p>CRISPR/Cas9 很快迎來了進一步的改造。研究者們將 Cas9 帶到特定的基因組位點，通過起始或停止轉錄來調控靶基因的表達。CRISPR 激活 (CRISPRa) 和 CRISPR 抑制 (CRISPRi) 就是這樣的技術，它們特別適合分析非編碼 RNA 的具體功能。雖然越來越多的研究人員開始使用 CRISPRa 和 CRISPRi，但它們其實還剛出爐不久。</p>

CRISPRi 技術能抑制指定目標的轉錄，不論是編碼還是非編碼的 DNA 片段。CRISPRi 使用催化失活的 Cas9 (dCas9)，dCas9 能到達引導 RNA 指定的位點，但無力對 DNA 進行剪切。當 dCas9 結合到基因組的時候，會阻斷轉錄機器的結合，阻止這一過程的進行。



近年來透過 CRISPR-Cas 進行直接基因編輯的技術不斷演進，然而 Cas9 技術會造成一定的細胞毒性，因此其他的核酸內切酶如 Cas12a(Cpf1) 技術便開始發展。Cas12a 技術的方法可應用於聚藻 *Synechococcus sp.*，一種用於商業化可快速生長的藍綠菌，並且不適用常見的 Cas9 方法(因 Cas9 有細胞毒性)。藉由直接轉殖同源 DNA 模板到藻細胞以及 Cas12a 蛋白可以快速製造無標記的藻種，目前可成功將此方法應用於產生基因剔除、基因插入或是加入蛋白質標記(tags)。部份成功的同時進行雙基因編輯，利用 Cas12a 的特性來處理細胞本身的 gRNA。多重基因編輯成功與否主要受限於將多重 DNA 模板送入同一細胞的效率。*Synechococcus sp.* 的 CRISPR interference 干擾系統已被開發來與先前所發表的 Cas9 作為基礎的 CRISPRi 做比較。此系統可快速生成多株基改株並且調整基因的表現來快速的篩選代謝工程的策略。未來也可將此技術應用於產油微藻的基因改良上。

參考資料

1. Qi, Lei S., et al. "Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression." *Cell* 152.5 (2013): 1173-1183.
2. Dylan C. et al. "CRISPR-Cas12a for Genome Editing in *Synechococcus sp.* strain PCC7002" Society for Industrial Microbiology and Biotechnology 2018

註：1.請計畫執行單位上傳提供較具策略性的知識物件，不限計畫執行有關內容。
 2.請計畫執行單位每季更新與上傳一次，另有新增政策建議可隨時上傳。
 3.文字精要具體，量化數據盡量輔以圖表說明。