



安捷伦案例研究

## 靶向序列捕获技术为基因疗法的安全性铺平道路

发现潜在的脱靶区域是确保新基因疗法安全性的第一步。靶向序列捕获技术有助于完成这一过程。

CRISPR 是一种快速且易用的基因编辑技术，是 21 世纪医学科学领域的重大发现之一，也是基因疗法发展的重要推动力。利用这项技术开发的多种基因疗法已获得 FDA 批准，研究人员也正在为许多其他遗传疾病开发基于 CRISPR 的实验性基因编辑疗法，其中就包括苯丙酮尿症 (PKU)。

人体所需的氨基酸可通过膳食中的蛋白质获得。正常情况下，身体会分解不需要的氨基酸，但 PKU 患者的苯丙氨酸羟化酶基因发生变异，导致他们无法分解苯丙氨酸。于是，苯丙氨酸会在体内积聚，进而引起神经系统并发症及其他症状。

PKU 患者通常需要通过终生限制饮食来控制苯丙氨酸摄入。如今研究人员正专注于利用基因编辑来纠正与该疾病相关的基因突变。苯丙氨酸羟化酶基因主要在肝脏中表达，这使其成为基因疗法的可行靶标。宾夕法尼亚大学医学研究助理教授 Xiao Wang 表示：“肝脏非常容易被靶向。如果能纠正肝脏中的这些变异，应该就能够挽救表型。”

任何新研发的基因疗法都需要经过全面严格的测试，而首要测试项目之一就是确保它不会引起不必要的脱靶效应。

## CRISPR 基因编辑及其脱靶效应

目前有多种基于 CRISPR 系统的基因编辑方法。传统的 CRISPR-Cas9 方法会产生靶向双链断裂，但这种方式并非总是理想之选。Wang 表示：“如果你的目标是破坏某个基因，这种方法效果非常好；但对于在体内高效纠正致病变异来说，它并不可行。”

因此，Wang 正专注于利用腺嘌呤碱基编辑器 (ABEs) 来开发 PKU 基因疗法<sup>[1]</sup>。该系统同样利用了 CRISPR 的靶向识别特性，但它并不依赖 Cas9 核酸酶功能产生双链断裂，而是通过一种酶将腺嘌呤碱基转化为鸟嘌呤碱基。这可以有效纠正部分与 PKU 相关的常见基因突变。不过，与任何其他基于 CRISPR 的系统一样，如果基因组的其他部分与靶标区域相似，腺嘌呤碱基编辑器也可能产生脱靶效应。

CRISPR 系统依靠向导 RNA 将 Cas 蛋白引导至靶标位置。Wang 解释道：“可以把它想象成类似 GPS 的装置，为编辑机器指明基因组中要去的位置。”但就像手机 GPS 偶尔会出现偏差一样，它也有可能出错。“如果无法做到 100% 准确，它就可能误入一个与正确位置极其相似的错误位置。”

检测脱靶效应的方法有多种，但并非每种方法都适用于所有 CRISPR 应用。例如，基于细胞的 GUIDE-Seq 方法能够发现双链断裂，却无法检测到不涉及双链断裂的编辑，比如由 ABEs 完成的编辑。因此，Wang 采用了另一种方法来寻找脱靶效应，即利用生物信息学工具，根据与靶位点的序列同源性筛选潜在的脱靶位点<sup>[2]</sup>。随后，用这些位点构建 DNA 寡核苷酸文库，并将这些寡核苷酸暴露于待测试的编辑系统之下。

这类基于生物信息学的候选位点筛选方法所用的参考序列，可以来自个体，也可以基于群体的多个基因组。在测试潜在的新基因疗法时，这有助于排除那些不受个体基因差异影响的常见脱靶位点。

最后通过 DNA 测序可以揭示哪些预测的脱靶位点被编辑系统所改变。

## 靶向序列捕获

对全基因组进行测序虽然可行，但这需要极高的覆盖度，以确保不遗漏任何编辑。安捷伦科技公司生物制药市场专家 Jason Fischer 表示：“这将非常昂贵，而且分析耗时很长。”

利用生物信息学预测以及后续对候选脱靶位点进行体外编辑，可以更轻松地聚焦基因组的这些区域。Fischer 表示：“后续，如果你对这些靶标进行富集，就能节省测序费用和分析时间。”

靶向序列捕获技术使用 DNA 或 RNA 探针来识别并结合感兴趣的基因区域。这些探针标记有生物素，因此可以用链霉亲和素磁珠选择性地捕获。Fischer 谈道：“DNA-RNA 双链体比 DNA-DNA 双链体具有更好的杂交特异性，也更加稳定，使得捕获效率更高。”这正是 Agilent SureSelect NGS 分析试剂盒选用 RNA 探针进行靶标选择的原因。

在靶向序列捕获的语境中，“靶标”是指感兴趣的 DNA 序列。因此，当谈到寻找潜在新基因疗法的脱靶效应时，需要富集的靶标就是 CRISPR 系统的预测脱靶区域。

并非所有脱靶编辑都会产生生物学效应，因此仍需开展更多测试。Wang 说道：“例如，你可以将该脱靶位点引入细胞系，看看编辑后它的增殖速度是否比原始细胞系更快。如果是这样，你就知道这可能会引发一些问题。”

识别脱靶效应是基因疗法早期开发过程中至关重要的安全性检查环节。在测序步骤中使用靶向序列捕获技术，可以为后续工作节省大量时间和精力。随着监管审批层面不断证实基因编辑技术的整体安全性，针对脱靶位点的优化测试流程将有助于为未来疗法的成功铺平道路。

了解关于 Agilent SureSelect 定制 DNA 靶向序列捕获探针的更多信息。

[www.agilent.com/ngs/ssel-custom-dna-probes](http://www.agilent.com/ngs/ssel-custom-dna-probes)

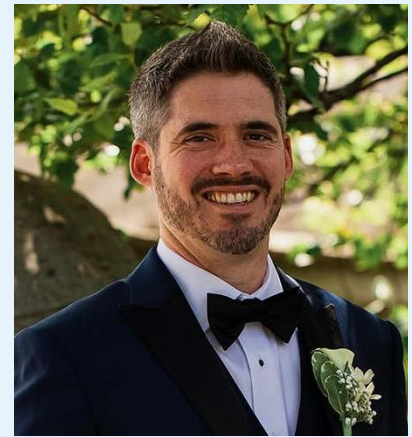
**nature**  
custom media

本文经 Nature Custom Media 许可转载。  
原文由 Nature Custom Media 代表安捷伦制作，并由安捷伦科技公司进行品牌重塑，用于教育和信息传播目的。

仅供科研使用。不用于临床诊断用途。  
PR7004-1160

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2026  
2026 年 3 月 25 日，中国出版  
5994-9108ZHCN



Jason Fischer

生物制药市场专家  
安捷伦科技公司  
美国

## 参考文献

1. Brooks, D. L.; et al. Human Genetics and Genomics Advances **2024**, 5, 100253.
2. Whittaker, M. N.; et al. Nature Biomedical Engineering. **2025**. <https://doi.org/10.1038/s41551-025-01545-y>

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

