

喻学锋研究员团队提出 CRISPR 等温扩增 基因检测技术

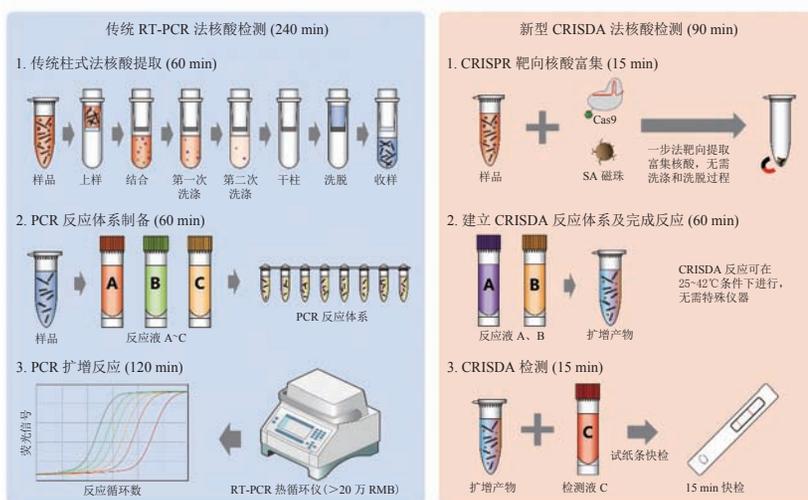
中国科学院深圳先进技术研究院材料界面研究中心喻学锋研究员团队主导的研究在核酸超敏检测技术取得进展。相应成果为“Zhou WH, Hu L, Ying LM, et al. A CRISPR-Cas9-triggered strand displacement amplification method for ultrasensitive DNA detection [J]. Nature Communications, 2018, 9: 5012 (一种应用于核酸超敏检测的 CRISPR-Cas9 链取代扩增技术)”。

核酸分子检测已在精准医疗、食品安全检测和公共安全监控等领域广泛地使用，但由于检测过程操作复杂、仪器昂贵并涉及多重变温过程，部分技术的应用范围仍受限。比如，基于聚合酶链反应(PCR)技术的核酸检测技术目前仅在专业检测机构广泛使用，而尚未能在基层检测和家庭检测中使用。为克服 PCR 技术需多重变温的缺点，研究人员提出一种等温扩增技术(一类不依赖变温的检测技术)。但该技术在灵敏度、特异性和抗干扰度等方面均还存在一定程度的内在缺陷，且相应核心专利均为国外公司拥有。为开发出一种性能更优异，且具有完全自主知识产权的新核酸等温扩增检测技术，该研究创新性地提出利用 CRISPR 系统效应蛋白 Cas9 在与靶核酸分子结合过程中独特的构象变化，作为链取代等温扩增反应的开关，高效启动针对靶核酸分子的指数倍扩增(简称“CRISDA 技术”)。

结果显示，与传统技术相比，CRISDA 技术具有灵敏度高、特异性强和普适性极强的优点。首先，该技术具有良好的抗干扰性，可在复杂背景条件下灵敏地

对 aM(10^{-18} M)浓度的靶核酸分子进行高效扩增检测。其次，通过在机理上的特殊优化，该技术可以很好地规避传统 CRISPR 基因编辑技术中普遍存在的脱靶效应，可对极低浓度的靶核酸分子进行单核苷酸多态性(SNP)检测。最后，在不同靶位点的检测反应中，只需设计简单的扩增引物且无需优化，即可对新位点的检测反应体系进行快速开发。此外，该技术从室温到 42 °C 时均能达到良好的扩增检测效果，实现完全等温检测，满足对新靶点的检测需求。

该团队研发的 CRISDA 技术具有极高的灵敏度、特异性、抗干扰性和普适性，且整个检测过程无需变温，仅需两步即完成反应，非常适用于自动化检测平台。该团队正努力将这一技术与微流控技术和试纸条技术相结合，进而实现核酸检测的便携化和家庭化。未来，该团队计划基于 CRISDA 技术，开发出与名片一样大小的一次性微流控生物芯片，服务于遗传病筛查、流行病诊断、食品安全和公共安全等领域，充分满足从现场检测到家庭检测的市场需求。



传统 PCR 技术与 CRISDA 检测技术对比