



2024年第21期总373期

## 农业生物技术专题

### 本期导读

#### ▶ 学术文献

1. 美国西雅图大学等合作发表三维基因组单细胞多组学新技术
2. 南京大学开发仿生纳米粒子特异性干扰肿瘤代谢
3. 德国分子生物学研究所开发BreakTag技术揭示DNA断裂特征
4. 英国约翰英纳斯中心等开发基于自动机器学习的预测平台
5. 清华大学等合作结合计算生物学和合成生物学设计了一种基于全局代谢流模拟计算的基因自主震荡性沉默策略

中国农业科学院农业信息研究所

联系人：周诚昊；顾亮亮

联系电话：010-82109850

邮箱：[agri@ckcest.cn](mailto:agri@ckcest.cn)

2024年5月20日

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统：<http://agri.nais.net.cn/>

## 学术文献

### 1. 美国西雅图大学等合作发表三维基因组单细胞多组学新技术

**简介:** 2024年5月14日, 美国西雅图华盛顿大学的段治军实验室和美国卡内基梅隆大学计算机学院的马坚实实验室(第一作者为卡内基梅隆大学博士研究生周天茗)在 Nature Genetics 发表了题为 GAGE-seq concurrently profiles multiscale 3D genome organization and gene expression in single cells 的长文。文章详细介绍了名为 GAGE-seq 的新技术。GAGE-seq 是一种高通量、高质量的单细胞多组学测序法, 能够同时测量单个细胞中的三维基因组结构和转录组。该方法通过利用组合条形编码策略, 相较于其他技术, 提供了更高的通量和效率, 同时确保了数据的高质量。此外, 利用 GAGE-seq, 作者们专门开发了一整套计算分析框架来阐明多尺度三维基因组特征与细胞类型特异性基因表达及其相互联系。本文将 GAGE-seq 应用于小鼠大脑皮层和人类骨髓 CD34+ 细胞, 揭示了三维基因组特征与细胞类型特异性基因表达之间的复杂关系, 以及调控元件与目标基因之间的联系。此外, 通过将 GAGE-seq 与空间转录组 MERFISH 数据整合, 作者们揭示了小鼠大脑皮层中的三维基因组空间上的异质性。研究团队还将 GAGE-seq 与单细胞 Paired-seq (同时测量RNA和开放染色质区域的数据) 整合, 进一步展示了 GAGE-seq 在分析调控元件及其目标基因关联中的优势。另外, 在人类骨髓细胞分化的应用中显示, 三维基因组结构与基因表达之间存在不协调的动态变化, 突显了单细胞层面复杂的相互作用。这些发现强调了在不同细胞状态和生物学过程中, 理解三维基因组和基因表达动态变化的重要性。总之, GAGE-seq 及其分析工具的开发将极大地扩展了当前单细胞表观遗传学的技术能力, 为探索三维基因组在各种组织发育和疾病中的作用提供了新的方法, 从而更全面的理解基因组结构、细胞功能及其时空变化。

**来源:** Nature Genetics

**发布日期:**2024-05-14

**全文链接:**

<http://agri.nais.net.cn/file1/M00/10/41/Csgk0EHZMQ-AQtrnAEW3EwnVs1o858.pdf>

### 2. 南京大学开发仿生纳米粒子特异性干扰肿瘤代谢

**简介:** 2024年5月13日, 南京大学胡一桥团队在Nature Nanotechnology 在线发表题为“Nanoparticles for inducing Gaucher disease-like damage in cancer cells”的研究论文, 该研究开发了一种纳米颗粒(AbCholB)来模拟天然脂蛋白携带的胆固醇, 并在癌细胞中启动戈谢病样损伤。AbCholB由苯硼酸修饰的胆固醇(CholB)和白蛋白组成。癌细胞将纳米颗粒吸收到溶酶体中, 在溶酶体中, CholB与葡萄糖反应并产生一种胆固醇-葡萄糖苷样结构, 这种结构抵抗降解并聚集成微尺度晶体, 以葡萄糖依赖的方式引起戈谢病样损伤。此外, mTOR的营养感知功能被抑制。正常细胞与癌细胞相比, 竞争营养物质的能力较差, 因此可以避免严重的损伤。这项工作提供了一种生物启发的策略, 通过利用癌细胞的营养贪婪来选择性地阻止癌细胞的代谢作用。缺乏营养是导致癌症转移的主要因素。为了满足快速增殖的需求, 肿瘤细胞对其代谢状态进行了重新编程, 以获得更多的营养并加速分解代谢。几十年来, 营养饥饿一直被认为是对抗癌症的关键治疗策略, 例如, 通过降低循环葡萄糖和脂质, 或通过抗血管生成关闭营养供应。然而, 很少有临床试验证明对患者有益。营养剥夺主要对正常细胞而不是癌细胞造成损害, 因为癌细胞具有强大的营养获取能力。高达80%的患者普遍营养不良, 几乎一半的患者出现恶病质, 这是

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统:<http://agri.nais.net.cn/>

由营养缺乏引起的，直接导致至少20%的癌症死亡。特别的是，营养缺乏驱动癌细胞突变，增强它们对葡萄糖和脂质的捕食和代谢能力。结果表明，癌细胞变得更具攻击性。与癌细胞的快速营养消耗相比，葡萄糖和脂质利用的减速是戈谢病(GD)细胞的最显著特征，戈谢病是最常见的遗传性溶酶体储存障碍，由溶酶体酶葡糖苷酶(GBA)突变引起。由于GBA水解活性的降低，糖基化底物葡萄糖基 $\beta$ -D-胆固醇(GlcChol)在溶酶体中积累并造成严重损伤，导致GD细胞代谢受阻。葡萄糖是由胆固醇和葡萄糖之间的糖基化作用产生的。因此，当提供更多的葡萄糖和脂质时，代谢抑制会更严重这就提出了一个有趣的问题：癌细胞是否会因为需要更多的葡萄糖和脂质而诱导类似于葡萄糖的积累来延缓它们的增殖？这项工作提出了一种独特的策略，通过启动基于癌细胞营养贪婪的另一种代谢紊乱来抑制肿瘤，并开发了一种纳米颗粒(AbCholB)来执行这一策略。与营养饥饿相反，癌细胞积极吸收AbCholB作为一种脂质营养素。CholB通过苯硼酸基团与细胞内葡萄糖相互作用，产生一种类似于葡萄糖的结构，即GlcCholB，这种结构难以分解代谢，因此在细胞内积累，造成类似GD的储存损伤。营养储存特征进一步阻断mTOR的募集，从而持续中断其激活。癌细胞失去了生存和增殖的营养感知工具，最终导致代谢功能障碍和细胞死亡。重要的是，GlcCholB的形成和积累取决于细胞的营养获取能力。换句话说，正常细胞因其弱竞争的营养吸收能力而不会受到损害。因此，这种受生物启发的纳米颗粒可能为肿瘤代谢干扰提供一个独特的视角。

来源：Nature Nanotechnology

发布日期:2024-05-13

全文链接:

<http://agri.nais.net.cn/file1/M00/03/6E/Csgk0WZJ5HqAKATqARiMxAueCg4285.pdf>

### 3. 德国分子生物学研究所开发BreakTag技术揭示DNA断裂特征

**简介:** 2024年5月13日，Nature Biotechnology在线发表了德国分子生物学研究所Vassilis Roukos、Petra Beli团队合作的研究成果：‘Linking CRISPR-Cas9 double-strand break profiles to gene editing precision with BreakTag’，本文介绍了一种名为BreakTag的新方法，用于全面分析CRISPR-Cas9诱导的DNA双链断裂(DSB)及其末端结构，以探究Cas9切割位点的决定因素。研究发现大约35%的SpCas9 DSB是错位的，这种错位切割与精确的、模板化的单碱基插入密切相关，从而展示了一种基于切割结构的gRNA设计策略，可以用于纠正临床相关的致病性单碱基缺失。BreakTag方法简介高效末端修复与加A尾：首先对Cas9处理后的基因组DNA进行末端修复和加A尾处理，准备进行接头连接。接头连接：将带有独特分子标识符(UMI)和样本条形码的接头连接到修复后的DNA末端。Tn5转座酶标签化：使用Tn5转座酶对连接了接头的DNA片段进行标签化，生成适合测序的片段。PCR扩增：对标签化的DNA片段进行PCR扩增，富集DSB片段并生成适合测序的文库。数据处理与分析：使用BreakInspector管道分析BreakTag数据，识别和计数Cas9诱导的DSB。BreakTag表征Cas9切割特性。研究团队设计并合成了约3500个sgRNA，这些sgRNA目标包括超过150000个内源性位点。利用SpCas9和多种工程化Cas9变体(如HiFiCas9、xCas9等)对这些目标位点进行基因编辑，诱导DNA双链断裂。实验结果表明，钝端(blunt ends)占61.57%；错位端(staggered ends)占35.04%。图2显示了所有目标位点(on-target和off-target)以及NGG PAM位点的钝端和错位端的分布。错配的存在显著增加了错位切割的比例。随着错配数的增加，钝端率下降，这表明部分互补的DNA和gRNA序列更容易产生错位切割。研究发现，Protospacer的特定位置的碱基

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统:<http://agri.nais.net.cn/>

组成对错位切割有显著影响。以上表明，部分互补的DNA和gRNA序列会影响Cas9的切割模式，偏向于产生错位的DSB。不同的Cas9变体在切割结构上表现出显著差异。例如，HiFiCas9和xCas9变体显示出更高的错位切割倾向。这表明，通过对Cas9蛋白的工程化改造，可以调控其切割模式，从而影响基因编辑的结果。

来源: Nature Biotechnology

发布日期:2024-05-13

全文链接:

<http://agri.nais.net.cn/file1/M00/03/6E/Csgk0WZJ4mmAEbgAAQsQFF4posE847.pdf>

#### 4. 英国约翰英纳斯中心等开发基于自动机器学习的预测平台

**简介:** 2024年4月27日，英国约翰英纳斯中心 (John Innes Centre, JIC) 丁一惊团队联合伦敦大学学院药学院Zoe Waller团队与埃克塞特大学计算机学院李珂团队在Nucleic Acids Research发表题目为“iM-Seeker: a webserver for DNA i-motifs prediction and scoring via automated machine learning”的论文。“iM-Seeker”的新型在线服务器，它是一个用于DNA i-基序 (i-motifs) 预测和评分的计算平台。i-基序是一种在富含胞嘧啶的序列中，在酸性条件下形成的非典型DNA结构，对基因表达调控和端粒生物学等生物过程具有重要影响。尽管i-基序在生物学上具有重要意义，但目前用于预测i-基序形成序列的软件有限。iM-Seeker利用自动化机器学习 (AutoML) 技术，能够识别DNA片段或整个基因组中的潜在i-基序，并根据胞嘧啶片段数量、环长度和序列组成等参数为每个预测的i-基序计算稳定性分数。此外，该服务器还允许用户通过自动化机器学习方法微调最佳的i-基序评分模型，整合用户提供的实验数据和定制特征。文章详细描述了iM-Seeker服务器的材料和方法，包括服务器的全栈设计、自动化机器学习工具的开发，以及i-基序预测和AutoML功能的实现。服务器的前端和后端架构使用了多种技术和数据库，确保了数据的隐私和安全性。iM-Seeker的主要功能包括：iM-Seeker预测：允许用户输入DNA序列，预测潜在的i-基序，并使用默认的机器学习模型进行评分。iM-Seeker AutoML：用户可以使用自己的i-基序生物物理数据通过自动化机器学习训练定制的预测模型。文章还讨论了iM-Seeker在不同物种中的i-基序密度分析，以及与其他功能的集成，如下载页面提供的资源和帮助部分提供的详细用户指南。最后，文章强调了iM-Seeker在推动基因组科学研究方面的潜力，特别是在i-基序研究领域，它提供了一个先进、可定制的方法来预测和评估这些重要的非典型核酸结构。iM-Seeker服务器对所有用户免费开放，可通过 <https://im-seeker.org> 访问。

来源: Nucleic Acids Research

发布日期:2024-04-27

全文链接:

<http://agri.nais.net.cn/file1/M00/03/6E/Csgk0WZJ4z6AX6kLABtJVy6tdGc279.pdf>

#### 5. 清华大学等合作结合计算生物学和合成生物学设计了一种基于全局代谢流模拟计算的基因自主震荡性沉默策略

**简介:** 2024年4月20日，清华大学化工系李春教授、北京理工大学化学与化工学院生物化工研究所胡冰副研究员团队在Metabolic Engineering上发表题为“Self-controlled in silico gene knockdown strategies to enhance the sustainable production of heterologous terpenoid by *Saccharomyces cerevisiae*”的研究论文，团队采用一种创新的策略，通过结

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统:<http://agri.nais.net.cn/>

合计算生物学和合成生物学的方法,设计了一种基于全局代谢流模拟计算的基因自主震荡性沉默策略,并将该策略应用于产五环三萜类化合物——齐墩果酸(oleanolic acid, OA)的酿酒酵母菌株*S. cerevisiae* OA07,使其OA产量和稳定性进一步显著提升。文章中,作者首先利用经过针对性优化的酿酒酵母GEM——Yeast8-OA,以及双层线性规划算法——OptKnock预测了可强化OA产率的7组基因敲除策略K1~K7。然后,针对这7组方案,构建了7个改造菌株EK1~EK7,分批发酵实验显示EK3(OA07&Delta;fol3)、EK5(OA07&Delta;abz2)和EK6(OA07&Delta;pha2)的OA生产能力较出发菌株OA07有显著提升,但它们在流加培养实验中,则丧失了OA提产的能力。上述结果证实了基于OptKnock的刚性敲除策略可能导致了细胞生长代谢调控能力受限,从而不利于底盘细胞可持续地高产PNPs的推测。为解决基于OptKnock的敲除策略“刚性”太强的问题,作者利用合成生物学基因线路设计思路优化了OptKnock输出策略:即在OptKnock算出的基因靶点fol3/abz2/pha2下游引入了一个由酵母内源代谢物丙二酰辅酶A(Malonyl-CoA)诱导的负反馈回路,同时在丙二酰辅酶A合成代谢所需的功能基因acc1下游也引入了该反义转录系统,从而实现了fol3/abz2/pha2的表达随胞内丙二酰辅酶A含量的震荡而周期性减弱。基于该策略,作者从菌株*S. cerevisiae* OA07出发,得到了能够自主调节基因表达的菌株R\_3A、R\_5A和R\_6A。由于丙二酰辅酶A是酵母细胞生长所需脂肪酸合成代谢的重要前体化合物,因此,作者通过基于丙二酰辅酶A的调控回路实现了细胞生长和OA生产的平衡。发酵实验证实,在长期连续培养过程中,菌株R\_3A、R\_5A和R\_6A的OA生产稳定性和效率均得到显著提高。最终,在发酵罐规模的连续培养中,菌株R\_3A可在96小时内使OA产量达到1.23±0.04 g·L<sup>-1</sup>,这是目前报道的最高水平。

来源: Metabolic Engineering

发布日期:2024-04-20

全文链接:

<http://agri.nais.net.cn/file1/M00/10/41/Csgk0EHZMjGAdsvZAFbYpsI4Wtc027.pdf>