

基因编辑技术研究进展与挑战^{*}

陈云伟^{1,2} 陶 诚³ 周海晨⁴ 张志强^{*,1,2}

(1. 中国科学院成都文献情报中心科学计量与科技评价研究中心, 成都 610041;

2. 中国科学院大学经济与管理学院图书情报与档案管理系, 北京 100190;

3. 中国科学院发展规划局, 北京 100864; 4. 南京农业大学信息管理学院, 南京 210095)

摘 要: 基因编辑技术是指对基因进行修饰而获得新的特征或功能的技术, 当前研究最多的是始于 2012 年的第三代 CRISPR/Cas9 基因编辑系统及相关技术, 其他近几年新兴起来的基因编辑系统包括单碱基基因编辑技术、引导编辑技术、RNA 编辑技术等。基因编辑技术近年来蓬勃发展, 技术本身得以不断改进, 新成果加速涌现。基因编辑系统已在疾病治疗、作物育种、工业微生物设计、病毒核酸检测等领域开展了大量的应用研究, 展现出良好的应用前景, 特别是用于癌症、心脑血管疾病、遗传性疾病的治理方面引起极大关注。美国是全球基因编辑论文产出最多、处于合作网络中心的国家, 中国位居第二, 中美两国合作最为紧密。论文数最多的前 10 家机构中, 有 6 家来自美国, 哈佛大学全球第一, 中国科学院位居全球第二。尽管基因编辑技术研究与应用快速发展, 但是基因编辑技术仍然面临脱靶、伦理和安全性等争议与挑战。本文最后为我国发展基因编辑技术提出了 4 点建议: 第一, 强化规划引领, 高度重视加强基因编辑基础理论与方法研究; 第二, 强化规范监管, 科学引导重视基因编辑应用; 第三, 强化伦理规范研究, 完善基因编辑监管法律政策体系; 第四, 大力支持作物基因编辑产品研发。

关键词: 基因编辑; CRISPR/Cas; 疾病; 作物育种; 癌症

DOI: 10.16507/j.issn.1006-6055.2021.01.002

Progress and Challenges of Gene Editing^{*}

CHEN Yunwei^{1,2} TAO Cheng³ ZHOU Haichen⁴ ZHANG Zhiqiang^{*,1,2}

(1. Scientometrics & Evaluation Research Center (SERC), Chengdu Library and Information Center,

Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China; 2. Department of Library, Information and

Archives Management, School of Economics and Management, University of Chinese Academy of

Sciences, Beijing 100190, China; 3. Bureau of Development Planning, Chinese Academy of Sciences,

Beijing 100864, China; 4. College of Information Management, Nanjing Agricultural

University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Gene editing refers to the technology that modifies genes to obtain new features or functions. The third-generation CRISPR/Cas9 gene editing system and related technologies that began in 2012 are currently the most researched. Other gene editing systems that have emerged in recent years include Base Editors, Prime Editors, RNA editing, etc. Gene editing has thrived in recent years, which lead to continuous improvement. The gene editing system has been carried out in applied re-

^{*} 中国科学院战略研究与决策支持系统建设专项项目“主要领域规划状态监测与分析”(GHJ-ZLZX-2020-31-1), 中国科学院政策研究课题“国际科技态势发展研究”(ZYS-2020-03)

^{**} E-mail: zhangzq@clas.ac.cn

search of diseases treatments, crop breeding, industrial microbial design, viral nucleic acid detection, etc. It shows promising prospects, especially for cancer treatment, cardiovascular and cerebrovascular diseases, and genetic diseases. The United States is the country with the largest output of gene editing papers in the world and is at the center of the cooperation network. China (ranking second) and the United States have the closest cooperation. Of the top 10 institutions with the most papers, six are from the United States. Harvard University ranks first globally, and the Chinese Academy of Sciences ranks second in the world. Despite the rapid development of gene editing research and application, gene editing technology still faces controversies and challenges such as off-target, ethical, and safety issues. This article finally puts forward four suggestions for the development of gene editing in China: First, strengthen planning and guidance, and attach great importance to enhancing fundamental theories and methods of gene editing. Second, strengthen supervision and guide the application of gene editing. Third, strengthen the study of ethical norms and improve gene editing supervision's legal and policy system. Fourth, support the research and development of crop gene editing products.

Keywords: Gene Editing; CRISPR/Cas9; Diseases; Crop breeding; Cancer

基因编辑技术是指对基因进行靶向修饰(敲除、插入、替换等)而获得新的特征或功能的技术,自 2012 年 CRISPR/Cas 被用作基因编辑工具以来,基因编辑技术在全球范围呈现出蓬勃发展的态势。几年来研究人员不断对 CRISPR/Cas 系统进行优化和扩展,新技术、新成果、新应用层出不穷,并在生物技术产品开发、医疗、农业、能源、材料与环境等领域不断拓展应用,为人体细胞或组织及其他生命体的遗传改造提供了前所未有的有力工具,应用前景广阔。2020 年 10 月 7 日,瑞典皇家科学院将 2020 年诺贝尔化学奖授予在基因编辑技术方面做出卓越贡献的法国科学家埃曼纽尔·卡彭蒂耶(Emmanuelle Charpentier)和美国科学家詹妮弗·杜德纳(Jennifer A. Doudna)。她们的成果从 2012 年率先发表到 2020 年获得诺奖,仅用了 8 年的时间,远低于过去诺贝尔科学奖平均 20 年左右的获奖时滞,凸显出基因编辑技术的重要价值、强劲的发展势头及应用前景,为一些复杂疾病的治疗提供潜力,为合成生物学提供工具;另一方面,这项技术仍然面临脱靶、免疫原性、副作用、生物选择性等不确定性所带来的风险,针对人体的基因编辑操作也带来了伦理道德与生物安全等争议。如何支持基因编辑技术的研发与应用并进行有效监管,是国际生命科学界面临的伦

理挑战,也是摆在我国科技管理部门面前的一项重要任务。

本文重点梳理基因编辑技术的关键进展,结合文献计量分析,揭示研发格局,并着重对国内外代表性科研机构进行比较,以期为我国出台促进基因编辑这一重要技术的发展政策和举措提供参考借鉴。

1 CRISPR 技术掀起基因编辑研发热潮

1.1 新研究进展层出不穷

截至 2020 年 10 月,基因编辑技术可分为三代:第一代是“锌指核酸酶”技术(ZFNs)^[1,2];第二代是“类转录激活因子效应物核酸酶”(TALENs);第三代是 CRISPR/Cas 系统,始于 2012 年两位诺奖得主的工作^[3]。此外,2016 年的单碱基基因编辑技术(Base Editor, BE,有研究组将其称为 3.5 代或第四代基因编辑技术)和 2019 年引导编辑技术(Prime Editors, PE)的问世更是将基因编辑技术推向了新高潮。

以 Web of Science 中 SCI-EXPANDED 数据库作为数据源,共检索到 1985—2019 年全球有关基因编辑技术的 WOS 论文 30168 篇,其中大部分论文发表于 2012 年以后(图 1);2016—2019 年

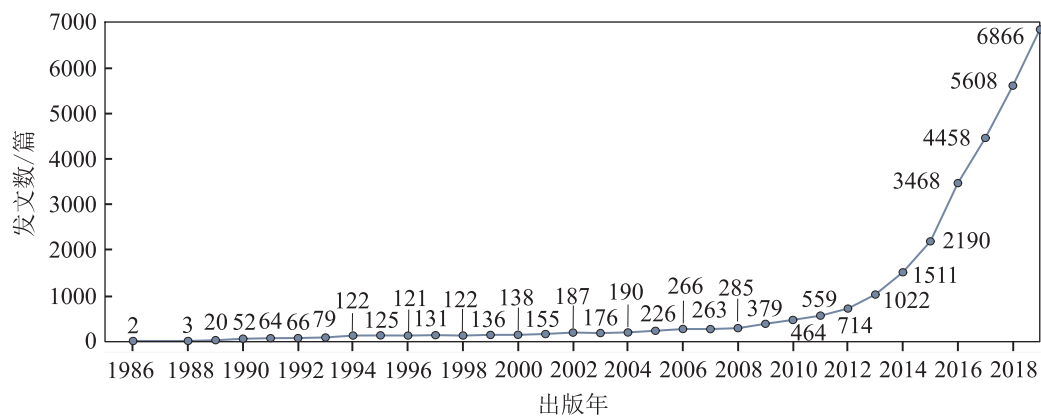


图 1 基因编辑 SCI 论文数年度发展趋势

Fig. 1 Trends in Gene Editing SCI Papers

间 2 万篇,占过去全部论文总数近 70%。数据采集时间为 2020 年 6 月。基于文献^[4]并适当完善确定检索策略:TS=(((Genome OR Gene OR Genetic OR DNA OR RNA) NEAR/2 Editing) OR "base editing" OR Meganuclease* OR "Homing Endonuclease*" OR "Zinc Finger Nuclease*" OR ZFN* OR (Transcription* Activator* Like Effector Nuclease*) OR ((Genome OR Gene OR Genetic OR DNA OR RNA) AND (TALEN* OR (TALE* AND "Transcription Activator*")))) OR "Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat*" OR CRISPR*) AND PY = 1985 – 2019。数据清洗和统计分析工具:使用 Tableau 2019 软件开展论文统计分析、利用 VOSviewer1.6 对科研机构进行合作网络分析。

2012 年以后,绝大多数基因编辑论文都是基于 CRISPR/Cas9 系统的研究成果(图 2)。CRISPR/Cas9 最早在 2012 年开始被两位诺奖得主率先用作基因编辑系统^[3],该论文在 WOS 平台截至 2020 年 10 月 12 日已被引用 5555 次。2013 年被成功用于哺乳动物真核细胞后,由于大大简化了基因编辑操作,从此正式开启了基因编辑的研发热潮,代表性的工作来自麻省理工学院

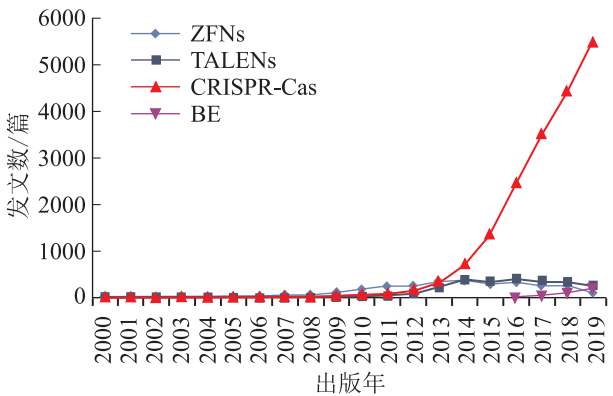


图 2 基因编辑技术论文数量发展趋势图

张锋^[5]、哈佛大学 George Church^[6]等团队。2013 年,中科院遗传与发育所高彩霞团队率先利用基因编辑系统 CRISPR/Cas 对水稻和小麦的多个基因进行编辑,并且获得了世界上第一株 CRISPR 编辑的植物^[7]。

与此同时,CRISPR/Cas 的新系统不断被发掘,基因编辑技术也在不断改进和衍化,具有代表性的改进包括:张锋团队在 2015 年提出 CRISPR/Cas12a 系统,其优点在于体积小、基因插入和替代更容易,脱靶率更低^[8]。但是 CRISPR/Cas12a 对温度有更为苛刻的要求,低温条件下效率下降。中科院动物研究所李伟团队在 2018 年率先发现了 CRISPR/Cas12b^[9],张锋团队也在 2019 年发布了相关研究成果^[10],其特点是显著

提高靶向范围,极大地降低了脱靶效应,尺寸更小,稳定性和特异性更高,更适用于临床基因治疗。

哈佛大学 David R. Liu 研究组在 2016 年率先提出单碱基基因编辑技术 BE3^[11],其不引起双链 DNA 断裂,也是建立在 CRISPR/Cas 系统基础之上一种基于脱氨酶与 CRISPR/Cas9 系统融合的技术。他们直接将胞嘧啶 C 转变为尿嘧啶 U,再通过 DNA 复制实现胞嘧啶 C 到胸腺嘧啶 T 或鸟嘌呤 G 到腺嘌呤 A 的转换,属于胞嘧啶碱基编辑技术 CBE。该团队 2017 年又实现了 A·T 到 G·C 的转换,即腺嘌呤碱基编辑技术 ABE,提升了编辑效率,用于纠正与疾病相关的点突变,可为治疗多种遗传疾病提供编辑工具^[12]。除了 David R. Liu 研究组,开展单碱基基因编辑系统研究的代表性研究工作还包括:日本神户大学 Akihiko Kondo 课题组^[13]2016 年开发了 dCas9-PmCDA1-UGI 和 Cas9n-PmCDA1-UGI 系统;上海交通大学的常兴课题组 2016 年^[14]开发了 dCas9-AIDx 碱基编辑系统并用于肿瘤疾病治疗研究;韩国首尔国立大学 Jin-Soo Kim 课题组在 2019 年发现 ABE 还可在特定编辑窗口和序列中将胞嘧啶转换为鸟嘌呤或胸腺嘧啶,可用于特定的胞嘧啶编辑^[15];David R. Liu 研究组在 2019 年对 CBE 加以改进,提出了一种称为 BE-PACE 的技术,可用于高效开发碱基编辑器^[16]。中科院脑智卓越中心杨辉团队与高彩霞团队在 2019 年 3 月各发表研究论文,首次发现单碱基编辑系统存在严重脱靶效应^[17,18]。2020 年高彩霞团队开发出新型高精度、高编辑活性的胞嘧啶碱基编辑工具,为基因治疗和植物分子设计育种提供了强有力的工具支撑^[19]。

与此同时,新技术也不断涌现。哈佛大学

David Liu 团队在 2019 年 10 月开发出了全新的精准基因编辑工具——引导编辑技术 PE,无需额外的 DNA 模板便可有效实现所有 12 种单碱基的自由转换,而且还能有效实现多碱基的精准插入与删除,为在植物中进行碱基自由编辑提供了新的方向和思路^[20]。国内多个团队围绕引导编辑技术开展了优化研究,例如,高彩霞团队在 2020 年 5 月开发出用于水稻和小麦的植物基因组引导编辑技术^[21],在植物育种和功能基因组学研究方面具有重大潜力。

2020 年 David Liu 团队又进一步开发出了线粒体基因编辑技术,能够对与疾病相关的线粒体 DNA 突变进行建模,从而更好地理解与癌症、衰老等相关的基因变化^[22]。

最近几年,RNA 编辑技术也获得了高度关注。RNA 编辑系统的最大优势在于其不会改变 DNA 信息,减少了遗传安全和伦理问题,安全性更高,通过修复 RNA 来阻断 DNA 的错误信息的表达,而且具备在所有细胞中修复蛋白质功能的潜力,将为基础研究和临床治疗提供一个新的工具,为治疗多种疾病提供了可能。张锋团队先后在 2016 年^[23]、2017 年^[24]和 2018 年^[25]发现了 RNA 编辑技术,依次命名为 Cas13a、Cas13b、Cas13c 和 Cas13d。目前有关 RNA 编辑技术的研究相对较少。

综合分析可以发现,基因编辑技术的进步主要体现在:1)效率提高;2)靶向性增强;3)对细胞的扰动降低。在可以预见的未来,基因编辑技术仍将在这三个方向上进一步优化和发展。此外,随着基因编辑技术的不断进步,以及其与合成生物学、蛋白质机器等领域的研究成果的结合有望可以实现基因组的高通量、自动化编辑。

1.2 应用前景广阔

基因编辑技术已展现出巨大的应用潜力,包

括:生物技术产品研发与科研服务,疾病筛查、诊断、药物研发等,农业作物育种,能源与材料开发、环境等领域。其中最引人关注的应用是用于癌症、心血管疾病、遗传性疾病等的治疗。

1.2.1 疾病治疗

从技术手段角度,基因编辑技术用于疾病治疗的手段包括编辑胚胎、编辑干细胞和编辑成体细胞。早在 2013 年,中科院原上海生科院李劲松团队就利用 CRISPR/Cas9 技术在小鼠受精卵中纠正了小鼠白内障显性基因突变^[26],完成了遗传疾病的校正性治疗实验研究。中山大学黄军就团队在 2015 年首次成功修改人类胚胎的 DNA,为治疗地中海贫血症这一遗传疾病提供了可能^[27]。干细胞基因编辑通常是将病人的干细胞在体外编辑后再输回病人体内,进而用于治疗如 β 珠蛋白生成障碍性贫血^[28]等疾病。体细胞编辑也可用于治疗特定疾病,如酪氨酸血症^[29]、乙肝^[30]等。

从动物模型角度,目前用于人类疾病研究的基因编辑动物模型主要有小鼠、大鼠为代表的啮齿类动物模型,以猪为代表的大动物模型^[31],以及食蟹猴、猕猴等灵长类动物模型。2018 年,暨南大学李晓江团队、中科院广州生物医药与健康研究院赖良学团队和美国埃默里大学李世华团队等联合首次利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术培育出世界首例亨廷顿舞蹈病基因敲入猪,作为准确模拟神经退行性疾病的动物模型^[32]。2018 年,中科院脑科学与智能技术卓越创新中心杨辉团队和孙强团队^[33]、昆明理工大学季维智院士团队、上海科技大学黄行许团队与南京医科大学郭雪江团队^[34],同时报道了世界上首次获得的基因敲入的食蟹猴。

从疾病类型角度,当前基因编辑技术在疾病

诊疗中的应用主要包括癌症、心血管疾病(如冠状动脉疾病^[35])、遗传性疾病(如血友病^[36,37])、神经退行性疾病^[32]、艾滋病和白血病^[38]、染色体疾病(如唐氏综合征^[39,40])等的治疗。癌症治疗是基因编辑技术在疾病治疗领域的首要应用对象,主要构建用于癌基因、药物靶标和肿瘤抗性临床前验证的疾病模型^[41]。例如,张锋团队早在 2014 年就成功利用 CRISPR/Cas9 技术构建了模拟癌症突变的小鼠模型^[42];2016 年,四川大学华西医院卢铀团队正式启动了全球首例用于人体的基因编辑技术试验,用于治疗肺癌^[43],2020 年 4 月公布的研究结果显示 CRISPR-Cas9 基因编辑的 T 细胞的临床应用通常安全、可行^[44]。宾夕法尼亚大学 Stadtmauer 等 2020 年首次在人类 I 期临床试验中通过测试 3 名难治性癌症患者进行初步试验表明,使用 CRISPR-Cas9 进行多重人类基因组工程改造 T 细胞是安全可行的,对 Cas9 的预先存在的免疫反应似乎并未为实施这一有前途的技术带来障碍,通过对人类 T 细胞进行高效的 DNA 修饰,为增强癌症治疗效果带来了巨大的希望^[45]。美国麻省理工 Broad 研究所和哈佛大学将 CRISPR/Cas9 和 CRISPR/Cas12a 靶向特定心血管靶点的技术许可给 Verve Therapeutics 公司,该公司将利用基因编辑技术开发降低患冠状动脉疾病风险的创新疗法^[35]。日本自治医科大学 Ohmori 等在 2017 年利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术成功治疗了实验鼠的血友病^[38]。2019 年,北京大学-清华大学生命科学联合中心邓宏魁团队、解放军总医院第五医学中心陈虎团队及首都医科大学附属北京佑安医院吴昊团队合作首次利用 CRISPR/Cas9 技术对人造血干细胞进行基因编辑,并在动物模型中实现重建造血系统,产生了抵御艾滋病和白血病的能力^[38]。利用基因

编辑技术有望从染色体水平上使异常的三倍体细胞(21 号染色体)恢复至正常的二倍体细胞,进而实现治疗唐氏综合征^[39]。2017 年,杨辉团队和北京大学-清华大学生命科学联合中心胡家志团队通过 CRISPR/Cas9-SgRNA 靶向染色体上的重复序列对小鼠胚胎进行染色体编辑,成功将染色体删除^[40],该研究为删除唐氏综合征患者多余的 1 条 21 号染色体提供了可能,不过还需要解决靶向特异性的问题。

需要指出的是,基因编辑技术在疾病治疗领域虽然开展的研究最多,但大部分工作尚处于动物实验阶段,受限于基因编辑技术本身还待解决的脱靶、安全性等关键问题,疾病治疗临床研究还在初期阶段。

1.2.2 作物育种

基因编辑技术已经用于小麦、水稻、玉米、大豆、拟南芥、西红柿、烟草、马铃薯的基因功能和性状改良等育种研究中,其优势在于可筛选优势性状、设计和改造品种、提高产量和品质等^[46,47]。重要进展主要有水稻无融合生殖、单倍体育种、抗白粉病小麦等等。例如,高彩霞团队利用基因编辑技术首次在六倍体小麦中对 MLO 基因的 3 个拷贝同时制造突变,使小麦对白粉病具有了广谱抗性^[48],该成果入选《麻省理工科技评论》2016 年十大技术突破;中国水稻研究所王克剑团队在 2019 年利用基因编辑技术在杂交水稻中建立了水稻无融合生殖体系,得到了杂交稻的克隆种子^[49]等;美国密苏里大学和德国马普植物育种研究所的两个课题组同期通过修饰水稻中多个 Os-SWEET 基因启动子培育了广谱抗白叶枯病水稻^[50-52];中国水稻研究所钱前团队在 2020 年利用 CRISPR/Cas9 技术创制出茎秆变粗而且抗折力增强的水稻新种质^[53]。美国明尼苏达大学和西班牙

国家研究理事会可持续农业研究所(IAS-CSIC)的科学家利用 CRISPR/Cas9 技术抑制小麦醇溶蛋白的表达,培育出了非转基因的低麸小麦^[54];美国科迪华农业技术公司 2020 年宣布利用 CRISPR/Cas9 技术创制出高产糯玉米品种,且已经过三年田间试验验证了产量的提升^[55];中科院遗传与发育生物学研究所高彩霞团队和许操团队合作在 2018 年利用 CRISPR/Cas9 技术对天然耐盐碱和抗细菌疮痂病的野生番茄进行了人工驯化,在保留其对盐碱和疮痂病天然抗性的前提下,将产量和品质性状精准地导入了野生番茄^[56]。这些研究表明,基因编辑技术在保障和改良禾谷类粮食作物产量品质中具有重大的应用前景。

1.2.3 工业微生物设计

基因编辑技术为工业微生物的改造与模式微生物设计提供了高效的工具,为生物燃料、化学品、新材料、医药产品、环境修复微生物等研发提供了新的选择。2015 年,丹麦技术大学 Jochen Forster 团队就利用 CRISPR/Cas9 技术对单倍体酵母菌株和二倍体酵母菌株两类重要工业酵母的基因完成了高效编辑^[57];加州大学伯克利分校 Keasling 团队在 2018 年利用 CRISPR/Cas9 技术对酿酒酵母进行改造,使用改造后的酿酒酵母生产的啤酒酒花风味更浓烈^[58]。中科院微生物研究所温廷益团队在 2018 年发展了一种 CRISPR/Cas9 辅助多重基因组编辑方法,包括多重基因敲除、多位点和多拷贝整合方法,为酵母的基因工程和合成生物学研究提供了一个有效的工具^[59]。

1.2.4 病毒核酸检测

2018 年,科学家首次证明了基于 CRISPR 的基因编辑技术在病毒核酸检测方面的重大应用潜力,两项代表性工作都来自麻省理工学院张锋

团队,一项是利用 CRISPR/Cas12a 系统可以准确地识别人源样本中不同类型的 HPV 病毒^[60];一项是利用基于 CRISPR/Cas13a 的 SHERLOCK 系统检测人源样本中的寨卡病毒,登革热病毒以及其他有害细菌^[61]。在 2020 年该团队又开发出了利用基于 CRISPR/Cas13 的 SHERLOCK 系统快速检测新型冠状病毒。

除上面归纳的主要新应用外,随着基因编辑研究的爆发式发展,新应用也不断拓展。例如,哈佛大学医学院 Pier Paolo Pandolfi 团队在 2020 年利用 CRISPR/Cas13d 基因编辑技术清除新型冠状病毒且可以有效应对病毒可能出现的变异,具备治疗和预防包括新冠肺炎在内的多种 RNA 病毒感染疾病的潜力^[62]。加州大学圣地亚哥分

校 Omar Akbari 团队通过利用 CRISPR 基因编辑技术精确地同时破坏果蝇模型雌性生存能力和雄性繁殖能力关键基因,进而实现精确遗传控制害虫的目标^[63]。中科院上海分子植物科学卓越创新中心谭安江团队借助基因编辑技术用基因定点替换的方法在家蚕丝腺和蚕茧中大量表达蜘蛛丝蛋白^[64]。

2 全球基因编辑研发格局

从国家/地区发文量(图 3)以及主要国家/地区间的合作网络(图 4)来看,中美两国在基因编辑领域保持最紧密的合作,处于全球引领地位。美国的基因编辑论文数量遥遥领先,占全球发文总量的 46.7%,且处于合作网络的中心;中国发

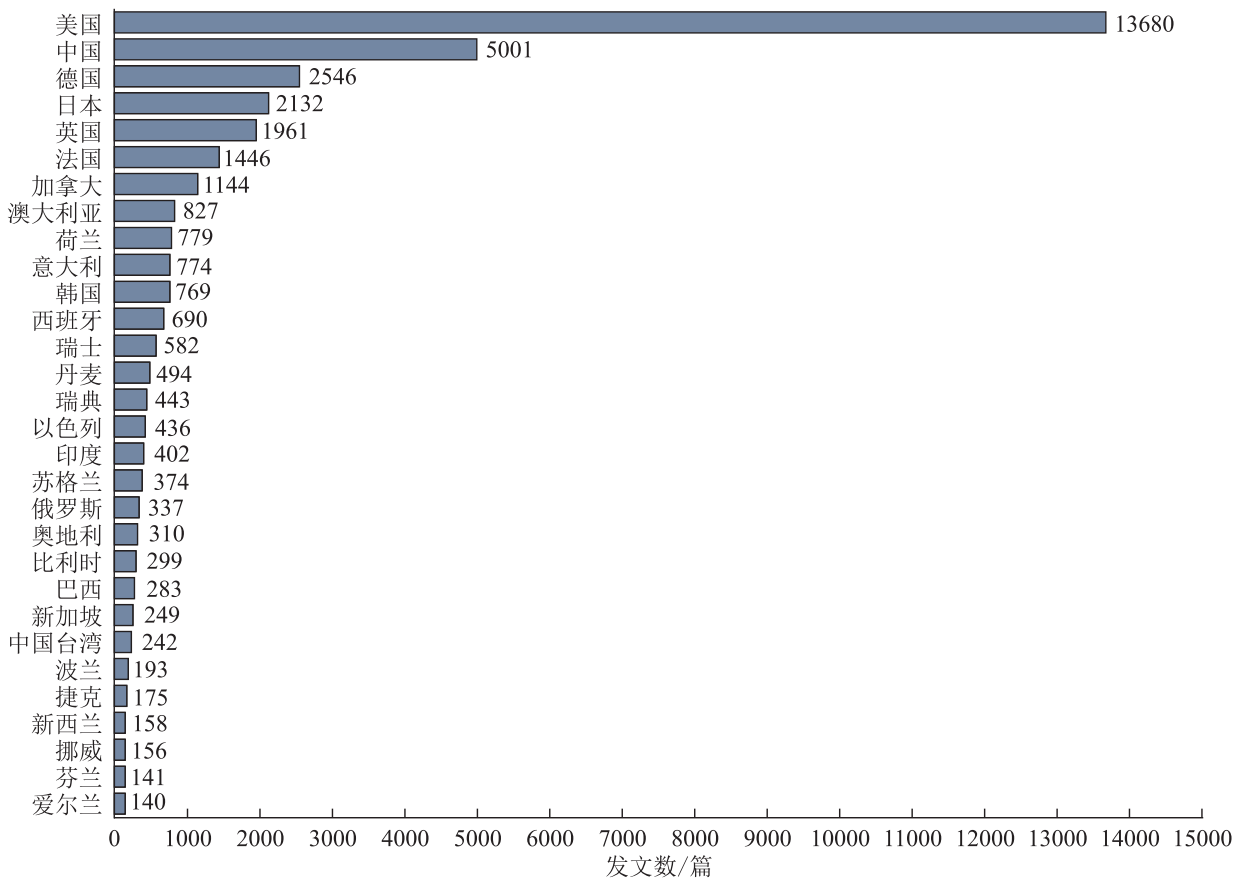


图 3 基因编辑 SCI 发文数前 30 国家/地区

Fig.3 Number of Gene Editing SCI Papers in the Top 30 Countries or Regions



图 4 基因编辑 SCI 发文数前 20 国家或地区合作网络(合作频次≥10)

Fig.4 Collaboration Network of the Top20 Countries or Regions for Gene Editing SCI Papers (Frequency ≥10)

表了超过 5000 篇论文,排名第二,与英国、德国、日本、澳大利亚等国家具有较多合作关系。排名 3~7 位的是德国、日本、英国、法国、加拿大,论文数量均在 1000 篇以上。

3 代表性机构竞争力比较

在论文数最多的前 10 机构中,美国 6 家,分别是哈佛大学、霍华德休斯医学研究所、麻省理工学院、美国国立卫生研究院、斯坦福大学、加州大学伯克利分校;法国 2 家;中国、德国各 1 家。其中,哈佛大学以 1417 篇论文数位居全球第一,中国科学院以 1077 篇位列全球第二(表 1)。

表 1 基因编辑 SCI 论文数前 10 机构

Tab.1 Top 10 Institutions for Number of Gene Editing SCI Papers

机构	发文数/篇
哈佛大学	1417
中国科学院	1077
霍华德休斯医学研究所	750
麻省理工学院	719
美国国立卫生研究院	693
法国国家科研中心	681
斯坦福大学	565
法国国家健康与医学研究院	493
加州大学伯克利分校	464
德国赫姆霍兹联合会	459

综合考虑机构发文量与机构所属国家/地区,本文选取哈佛大学、中国科学院、法国国家科学研究中心以及德国赫姆霍兹联合会(简称四机构)进行比较研究,观察各机构在发展态势、研究影响力、科研合作关系、基金来源、研究主题等方面的异同。

3.1 发展态势

四机构发展趋势(图 5)与总体发文趋势(图 1)一致,但在发文量与增长速度方面不尽相同。在 2012 年以前的前两代基因编辑技术研发期间,法国国家科学研究中心贡献了超过 47% 的研究成果。随着第三代基因编辑技术研究进入爆发阶段(2013—2019 年),哈佛大学(163 篇/年)与

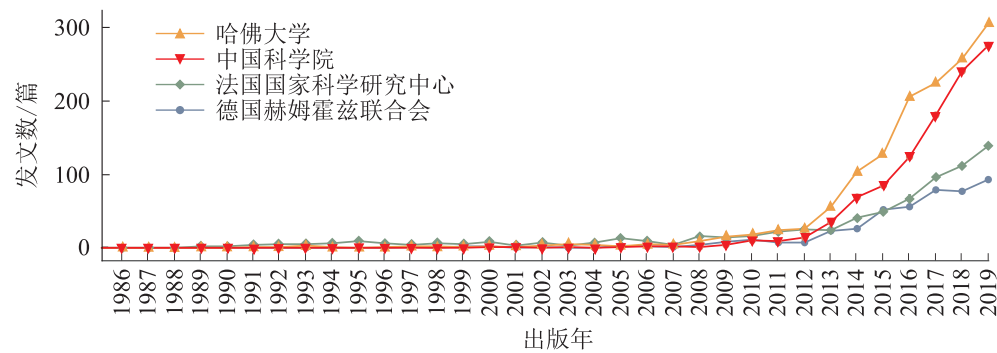


图 5 四机构年度发文数发展趋势

Fig.5 Trends in the Numbers of Publications from Four Research Institutions

中国科学院(125 篇/年)后来居上,且领先优势愈发突出。德国赫姆霍兹联合会则长期处于缓慢增长阶段,与其余三机构尚有较大差距。中国科学院的论文总量与哈佛大学仍存在差距,但近几年增势强劲,差距不断缩小。

3.2 科研影响力

在各被引频次区间(图 6),哈佛大学均具有明显优势,高被引区间(100~200、200 以上)发文数是其余机构的 2.65~16 倍。George Church、David R. Liu 等领军学者都来自哈佛大学。与哈佛大学相比,中国科学院在高被引频次区间(被引频次 100 次以上)的论文相对比较少,但在各被引频次区间的论文数均高于法国国家科学研究中心和德国赫姆霍兹联合会。

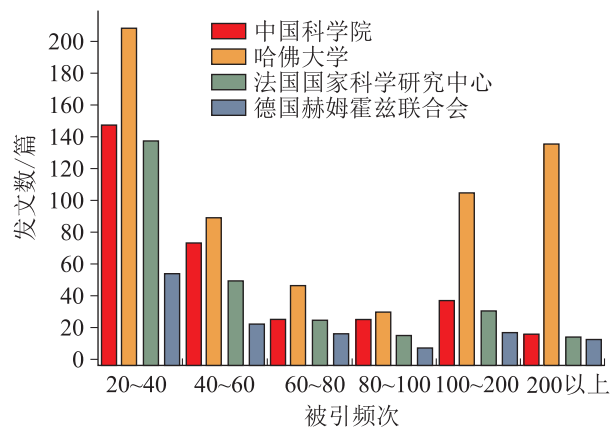


图 6 四机构 SCI 论文被引频次分布

Fig.6 Citation Frequency Distribution of SCI Papers from Four Research Institutions

哈佛大学在发文数第一的情况下仍然保持了最高的论文篇均被引频次与 H 指数(表 2);中国科学院 H 指数与发文数排名一致(排名第二),但篇均被引频次为四机构中最低水平。同时,四机构均拥有高被引论文(引用数领域前 1%),但只有哈佛大学与中国科学院拥有热点论文(近两年引用数领域前 0.1%)。数据表明,中国科学院与哈佛大学在基因编辑研究领域的论文质量在

世界范围内处于较高水平,具有较高学术影响力,在行业内优势比较突出,优于其他 2 个科研机构。但中科院与哈佛大学的学术影响力相比仍有差距,具体表现为论文质量参差不齐,高被引论文较少且整体被引频次偏低。

表 2 四机构篇均被引次数与 H 指数对比

Tab.2 The Number of Average Citations and the H-index from Four Research Institutions

机构	篇均被引频次	H 指数	高被引论文数	热点论文数
中国科学院	27.38	82	69	5
哈佛大学	84.47	165	196	10
法国国家科学研究中心	33.29	76	23	0
德国赫姆霍兹联合会	39.60	63	34	0

3.3 研究主题

通过基于关键词的论文研究主题抽取分析发现(图 7),各机构研究范围都十分广泛,且高度重合,其中热点词汇反映了以下几个主题:基因编辑采用的主流技术(CRISPR/Cas9、锌指核酸酶、核酸酶等),基因工程包含的主要内容(基因敲除、双链断裂、同源重组、修复等),实验涉及的对象及物质(老鼠、斑马鱼、DNA、RNA)以及特定研究主题(特异性免疫、基因表达等)。

3.4 国际资助

比较四机构的主要资助来源(表 3)发现,各机构的基金资助主要都来自于本国,体现出各国对基因编辑研究的重视程度。同时,在欧美国家跨国资助更为频繁,如法国国家科学研究中心的第三大资助机构为美国国立卫生研究院,德国赫姆霍兹联合会的第三大资助机构为欧洲研究理事会。

4 讨论与展望

4.1 问题与争议

基因编辑技术的临床前验证研究多是在动

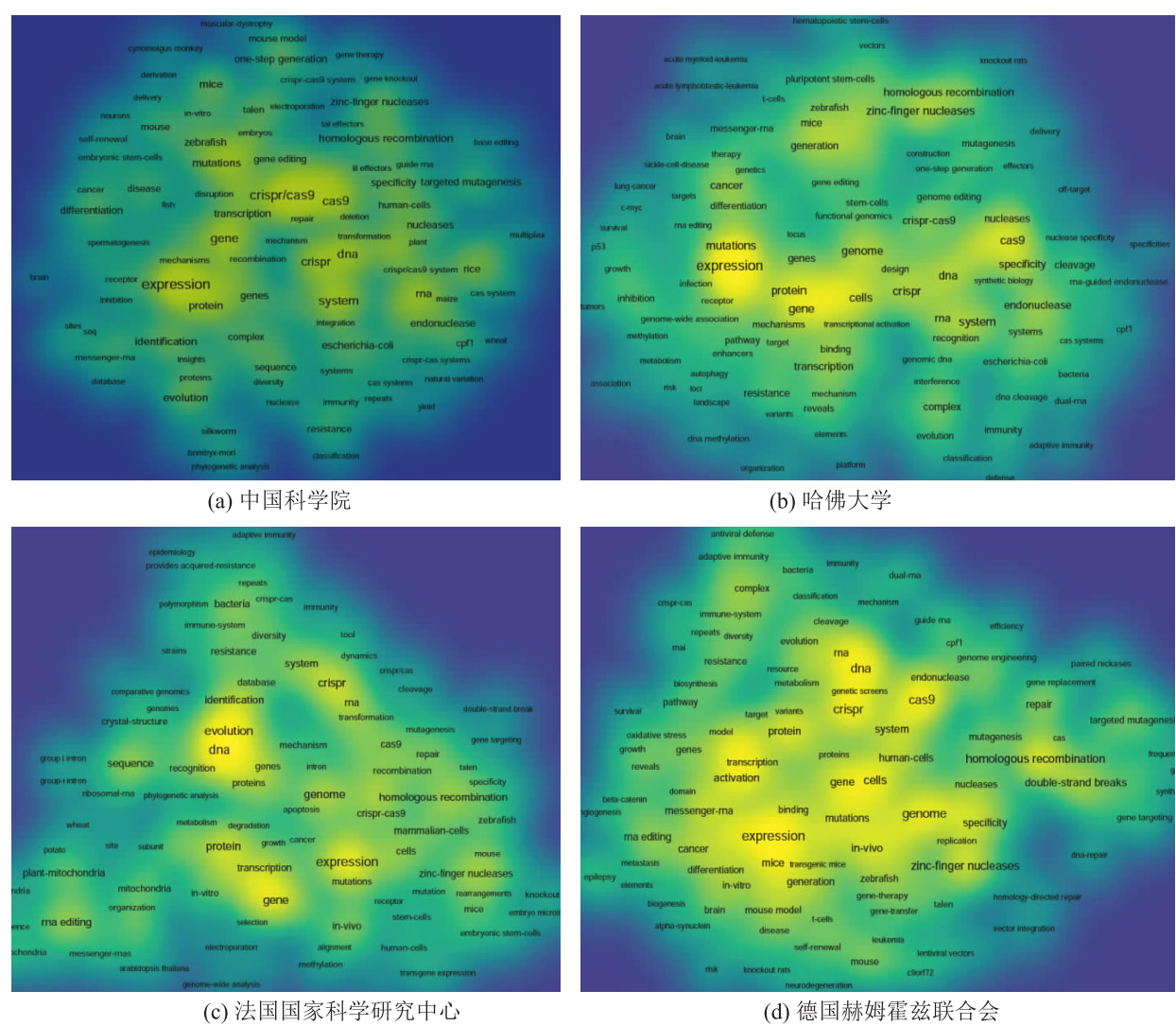


图 7 四机构的科研主题分析

Fig. 7 Analysis of Research Subjects from Four Research Institutions

表 3 四机构的前 3 资助机构统计

Tab. 3 Statistics of the Top 3 Funding Agencies from Four Research Institutes

科研机构	资助机构	篇数
中国科学院	国家自然科学基金委	745
	中国科学院	343
	国家基础研究计划	208
哈佛大学	美国卫生与人类服务部	875
	美国国立卫生研究院	874
	美国国家科学基金会	145
法国国家科学研究中心	法国研究总署	202
	法国国家科学研究中心	93
	美国国立卫生研究院	67
德国赫姆霍兹联合会	德国研究基金会	149
	联邦教育研究部	61
	欧洲研究理事会	56

物模型进行基因治疗,真正用于临床治疗还需要克服脱靶、效率和安全性问题。这些亟待解决的问题也为基因编辑技术的发展带来了诸多争议。

1)脱靶问题。脱靶问题成为限制基因编辑技术走向临床应用的最大瓶颈。任何一个基因的变化,哪怕仅仅是一个碱基的改变,都可能带来功能的变异或导致疾病。因此,开发安全高效的基因编辑工具仍然是该领域的研究重点。

2)伦理问题。基因编辑技术在为人类各种疑难和重大疾病治疗带来潜在的革命性影响的

同时,也蕴含着威胁人类基因谱系安全与侵犯个人权利的伦理风险。如果基因编辑技术将人的遗传物质进行了永久性的改变,在当前的科学认知情况下,尚无法判断将来对人类后代产生的潜在影响。

3) **基因污染**。随着基因编辑技术的不断进步,其应用领域将不可避免地由修复突变基因向增强原有基因功能扩展。这样的新基因引入在整个生物界的扩散速度如何控制及其对于整个生物界的影响是难以评估的也是难以控制的。

4) **物种保护**。对动物的基因编辑操作,有可能导致动物进化方向发生永久性的不可逆转折。主张者支持通过基因编辑技术再造已经灭绝的动物,或保护濒危动物;而反对者则担心操纵自然可能会带来更多的伤害,可能会创造出威胁人类生存的“新”物种。

5) **生物安全**。基因编辑技术很容易被掌握生物技术专业知识的生物黑客非法利用,在缺乏严格监管的情况下,会带来极大的生物安全风险。基因编辑技术还存在被恶性用于编辑各类病原菌从而人工创造出危害性未知的生物武器,对人类社会带来极大的安全挑战。

4.2 发展展望

尽管基因编辑技术的发展还面临上述风险与争议,但其在疾病治疗、作物育种、工业微生物设计等领域展现出的巨大应用潜力和实用价值仍引起极大关注。2020 年诺贝尔化学奖的颁发,也是对基因编辑技术重要价值的肯定。国际上的普遍态度是在相关监管规范和法规的约束前提下谨慎开展相关基础研究与应用研发工作,既要持续地支持基因编辑技术研发,促进技术进步和优化,也要进行严格有效监管,保护该技术的发展。

以下提出我国大力支持基因编辑技术发展的几点建议。

1) **强化规划引领,高度重视加强基因编辑基础理论与方法研究**。基因编辑技术是生命科学领域的颠覆性技术方向,技术本身还需在准确率等方面不断改进和完善。唯有加强基因编辑技术前沿方向研究,占领技术制高点,才能为国家生物安全、人口安全保障提供基础保障。要重点开发新的基因编辑工具,克服脱靶、效率、免疫原性和安全性等问题,排除导致细胞和组织病变、癌变等潜在风险。

虽然基因编辑技术原创不在我国,但我国在该技术的优化以及应用上走在全球前列。我国在基因编辑研究方面与国际同行几乎共同起跑,当前在研究成果与影响力方面总体处于并跑和局部领跑地位,涌现出了多个国际顶尖团队和多项国际领先成果,如:首株基因编辑植物,率先发现单碱基编辑系统脱靶现象,首次开展白内障、亨廷顿舞蹈病等基因编辑研究,以及抗白粉病小麦、基因编辑猴等等。我国已经具备了在基因编辑相关应用领域突破重大科技前沿问题、抢占全球竞争引领地位的基础和实力,务必及时、定向向重点团队加大支持力度。

2) **强化规范监管,科学引导重视基因编辑应用**。基因编辑技术在应用方面,尤其是在医学应用方面,现在还处于初期阶段,未来应用潜力与潜在价值尚无法估量。不过可以预见的是,随着人们对生命基础知识认识的不断加深、基因编辑技术本身的不断改进、以及监管框架的日益完善,基因编辑技术或将对生物医药、疾病诊疗、作物育种、生物制造等广泛领域带来革命性的影响。我国在基因编辑技术的优化以及应用、特别是在植物基因组编辑领域已走在世界前列,在动

物及医学方面也有很多工作走在世界最前沿。建议我国在不断规范监管体系的情况下,要加大对基因编辑领域应用研究的引导和支持力度,应对未来基因编辑技术在生物经济社会中广泛应用及关键支撑作用,占领未来相关生物医药科技产业制高点,摆脱核心生物医药技术、疗法和药物受制于人的局面,支撑科技强国建设。

对基因编辑技术的监管应当与对人类遗传资源的管理(如:《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》)密切衔接,尤其应当禁止我国人类遗传资源通过不同渠道流入境外;对基因编辑技术的监管还应当与对病原微生物相关遗传信息的管理结合起来,尤其应当禁止病原微生物相关遗传信息的不当扩散。

3) 强化伦理规范研究,完善基因编辑监管法律政策体系。新技术发展的颠覆性要求科技治理体系和治理能力现代化。建议我国需要全面审视生物科技安全治理状况,加强生物安全立法研究,完善生物安全管控机制,明确支持研究边界框架下的基因编辑基础研究与应用研究,确保生物安全和科技创新之间的适度平衡。加强基因编辑技术发展有关监管与立法,规范基因编辑技术应用的伦理行为。对我国而言,特别需要重视对众多科研团队的监管,支持在符合当前政策和法律的前提下开展相关应用研究,避免产生生物安全和伦理事件及重大舆情,以免给我国基因编辑研究带来负面影响,阻碍向世界科技前沿迈进的步伐。

4) 大力支持作物基因编辑产品研发。首先,动物基因编辑存在基因脱靶风险,但是脱靶效应并不是基因编辑作物的障碍。植物研究的一大特点在于其最终使用的是后代材料,意味着即使当代有脱靶,在数量充足的后代分离中可以把脱

靶位点分离出去,找到没有脱靶的材料。从这个角度讲,“脱靶”并不是那么重要,有时候甚至有研究需要利用“脱靶”这一特点获得更多的突变体。其次,与转基因作物相比,基因编辑作物并没有导入外源抗性基因,具有更高的生物安全性。基因编辑作物多数情况下是模拟一些天然突变体,如因一个基因发生突变带来的东北大米稻花香,研究人员可以在其他水稻品种里模拟这个天然突变,把相同的基因定点敲除,而且完全不留下任何外源基因,和天然突变体情况一样。因此,基因编辑技术将可能比转基因技术走得更远,对于植物、农作物、畜牧业产品,也可能进行相当的改造,会产生很大的经济价值。目前亟需制定相关政策,许可一些基因编辑作物的设计。第三,我国在植物基因编辑研究走在世界前列,超过一半的专利及文章来自我国。全国约有 20 个专门从事作物基因编辑研究团队,最近几年涌现出大量国际前沿成果。特别是中国科学院等机构拥有从事作物基因编辑研究的国际领先团队,在某些方面也取得了国际领先或引领性成果。例如,第一株基因编辑植物、抗白粉病小麦等。我国已经具备了在作物基因编辑领域占据世界领先地位、引领创新前沿方向的基础和条件,亟需进一步加大经费支持力度,配套更加积极主动的政策。

致谢 本文撰写过程中得到高彩霞(中国科学院遗传与发育生物学研究所)、王佳伟(中国科学院分子植物科学卓越创新中心)、许璟(中国科学院分子植物科学卓越创新中心)、郑辉(中国科学院广州生物医药与健康研究院)、赖良学(中国科学院广州生物医药与健康研究院)等专家的指导,特此致谢。

参考文献

- [1] BIBIKOVA M, CARROLL D, SEGAL D, et al. Stimulation of Homologous Recombination through Targeted Cleavage by Chimeric Nucleases[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(1): 289-297.
- [2] CHANDRASEGARAN S, CARROLL D. Origins of Programmable Nucleases for Genome Engineering[J]. *J Mol Biol*, 2016, 428(5): 963-989.
- [3] JINEK M, CHYLINSKI K, FONFARA I, et al. A Programmable Dual-RNA-guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity[J]. *Science*, 2012, 337(6096): 816-821.
- [4] HUANG Y, PORTER A, ZHANG Y, et al. Collaborative Networks in Gene Editing[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(10): 1107-1109.
- [5] CONG L, RAN F A, COX D, et al. Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 819-823.
- [6] MALI P, YANG L, ESVELT K M, et al. RNA-guided Human Genome Engineering Via Cas9[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 823-826.
- [7] SHAN Q, WANG Y, LI J, et al. Targeted Genome Modification of Crop Plants Using a CRISPR-Cas System[J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 686-688.
- [8] ZETSCHE B, GOOTENBERG J S, ABUDAYYEH O O, et al. Cpf1 is a Single RNA-guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR/Cas System[J]. *Cell*, 2015, 163(3): 759-771.
- [9] TENG F, CUI T T, FENG G H, et al. Repurposing CRISPR/Cas12b for Mammalian Genome Engineering[J]. *Cell Discovery*, 2018, 4: 63.
- [10] STRECKER J, JONES S, KOOPAL B, et al. Engineering of CRISPR/Cas12b for Human Genome[J]. *Nature communication*, 2019, 10: 212.
- [11] KOMOR A C, KIM Y B, PACKER M S, et al. Programmable Editing of a Target Base in Genomic DNA without Double-stranded DNA Cleavage[J]. *Nature*, 2016, 533(7603): 420-424.
- [12] GAUDELLI N M, KOMOR A C, REES H A, et al. Programmable base Editing of A to T to G to C in Genomic DNA without DNA Cleavage[J]. *Nature*, 2017, 551(7681): 464-471.
- [13] NISHIDA K, ARAZOE T, YACHIE N, et al. Targeted Nucleotide Editing Using Hybrid Prokaryotic and Vertebrate Adaptive Immune Systems[J]. *Science*, 2016, 353(6305): aaf8729.
- [14] MA Y, ZHANG J, YIN W, et al. Targeted AID-mediated Mutagenesis (TAM) Enables Efficient Genomic Diversification in Mammalian Cells[J]. *Nature methods*, 2016, 13(12): 1029-1035.
- [15] KIM H S, JEONG Y K, HUR J K, et al. Adenine Base Editors Catalyze Cytosine Conversions in Human Cells[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(10): 1145-1148.
- [16] THURONYI B W, KOBLAN L W, LEVY J M, et al. Continuous Evolution of Base Editors with Expanded Target Compatibility and Improved Activity[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(9): 1070-1079.
- [17] ZUO Y, SUN Y, WEI W, et al. Cytosine Base Editor Generates Substantial Off-target Single Nucleotide Variants in Mouse Embryos[J]. *Science*, 2019, 364(6437): 289-292.
- [18] JIN S, ZONG Y, GAO Q, et al. Cytosine, but not Adenine, Base Editors Induce Genome-wide Off-target Mutations in Rice[J]. *Science*, 2019, 364(6437): 292-295.
- [19] JIN S, FEI H Y, ZHU Z X, et al. Rationally Designed APOBEC3B Cytosine Base Editors with Improved Specificity[J]. *Molecular Cell*, 2020, 79(5): 728-740.
- [20] ANZALONE A V, RANDOLPH P B, DAVIS J R,

- et al. Search-and-replace Genome Editing without Double-strand Breaks or Donor DNA[J]. Nature, 2019, 576(7785):149-157.
- [21] LIN Q P, ZONG Y, XUE C X, et al. Prime Genome Editing in Rice and Wheat[J]. Nat Biotechnol, 2020, 38(5):582-585.
- [22] MOK B Y, de MORAES M H, ZENG J, et al. A bacterial Cytidine Deaminase Toxin Enables CRISPR-free Mitochondrial Base Editing[J]. Nature, 2020, 583(7817):631-637.
- [23] ABUDAYYEH O O, GOOTENBERG J S, KONERMAN S, et al. C2c2 is a Single-component Programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR Effector[J]. Science, 2016, 353(6299):aaf5573.
- [24] SMARGON A A, COX D B T, PYZOCHAN K, et al. Cas13b is a Type VI-B CRISPR/associated RNA-guided RNase Differentially Regulated by Accessory Proteins Csx27 and Csx28[J]. Mol Cell, 2017, 65(4):618-630.
- [25] YAN W X, CHONG S R, ZHANG H B, et al. Cas13d is a Compact RNA-targeting Type VI CRISPR Effector Positively Modulated by a WYL-domain-containing Accessory Protein[J]. Mol Cell, 2018, 70(2):327-339.
- [26] WU Y X, LIANG D, WANG Y H, et al. Correction of a Genetic Disease in Mouse via Use of CRISPR/Cas9[J]. Cell stem cell, 2013, 13(6):659-662.
- [27] LIANG P, XU Y, ZHANG X, et al. CRISPR/Cas9-mediated Gene Editing in Human Triprenuclear Zygotes[J]. Protein & cell, 2015, 6(5):363-372.
- [28] XIE F, YE L, CHANG J C, et al. Seamless Gene Correction of β -thalassemia Mutations in Patient-specific iPSCs Using CRISPR/Cas9 and PiggyBac[J]. Genome research, 2014, 24(9):1526-1533.
- [29] YIN H, XUE W, CHEN S D, et al. Genome Editing with Cas9 in Adult Mice Corrects a Disease Mutation and Phenotype[J]. Nature biotechnology, 2014, 32(6):551-553.
- [30] LIN S R, YANG H C, KUO Y T, et al. The CRISPR/Cas9 System Facilitates Clearance of the Intrahepatic HBV Templates in Vivo. Molecular Therapy[J]. Nucleic Acids, 2014, 3(8):e186.
- [31] 马宝霞, 沈文璐, 王旭, 等. 基因编辑动物模型在人类疾病研究中的应用[J]. 生物工程学报, 2020, 36(5):849-860.
- MA Baoxia, SHEN Wenlu, WANG Xu, et al. Gene Edited Animal Models Applied in Human Disease Research[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(5):849-860.
- [32] YAN S, TU Z C, LIU Z M, et al. A Huntingtin Knockin Pig Model Recapitulates Features of Selective Neurodegeneration in Huntington's Disease[J]. Cell, 2018, 173(4):989-1002.
- [33] YAO X, LIU Z, WANG X. et al. Generation of Knock-in Cynomolgus Monkey via CRISPR/Cas9 Editing[J]. Cell Res, 2018, 28:379-382.
- [34] CUI Y, NIU Y, ZHOU J. et al. Generation of a Precise Oct4-hrGFP Knockin Cynomolgus Monkey Model via CRISPR/Cas9-assisted Homologous Recombination[J]. Cell Res, 2018, 28:383-386.
- [35] Broad Institute. Broad Institute, Harvard Extend CRISPR Human Therapeutics License to Verve Therapeutics. [EB/OL]. (2020-05-07). <https://www.broadinstitute.org/news/broad-institute-harvard-extend-crispr-human-therapeutics-license-verve-therapeutics>.
- [36] OHMORI T, NAGAO Y, MIZUKAMI H. et al. CRISPR/Cas9-mediated Genome Editing via Postnatal Administration of AAV Vector Cures Haemophilia B Mice[J]. Sci Rep, 2017, 7:4159.

- [37] Bluebird Bio and Novo Nordisk Enter into Research Agreement to Develop in Vivo Genome Editing Candidates for Haemophilia and Other Severe Genetic Diseases [EB/OL]. (2019-10-09). <https://www.businesswire.com/news/home/20191009005185/en/bluebird-bio-Novo-Nordisk-Enter-Research-Agreement>.
- [38] XU L, WANG L, LIU Y L, et al. CRISPR/Edited Stem Cells in a Patient with HIV and Acute Lymphocytic Leukemia [J]. N Engl J Med, 2019, 381:1240-1247.
- [39] 杨茹清, 习海涛, 谷峰, 等. 利用基因组编辑技术治疗唐氏综合征探索性研究进展[J]. 浙江医学, 2019, 41(20):2246-2249.
- YANG Ruqing, XI Haitao, GU Feng, et al. Exploratory Research Progress of Down's Syndrome Treated by Genome Editing Technology[J]. Zhejiang Medical Journal, 2019, 41(20):2246-2249.
- [40] ZUO E, HUO X, YAO X, et al. CRISPR/Cas9-mediated Targeted Chromosome Elimination[J]. Genome Biol, 2017, 18(1):224-242.
- [41] 杨春艳, 王磊, 穆登彩, 等. 基因编辑技术在疾病治疗中的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2019, 39(11):87-95.
- YANG Chunyan, WANG Lei, MU Dengcai, et al. Advances of Gene Editing in Disease Treatment [J]. China Biotechnology, 2019, 39(11):87-95.
- [42] PLATT R J, CHEN S D, ZZHOU Y, et al. CRISPR/Cas9 Knockin Mice for Genome Editing and Cancer Modeling [J]. Cell, 2014, 159(2):440-455.
- [43] CYRANOSKI D. CRISPR Gene-editing Tested in a Person for the First Time [EB/OL]. (2016-11-15). <http://www.nature.com/news/crispr-gene-editing-tested-in-a-person-for-the-first-time-1>.
- 20988.
- [44] LU Y, XUE J X, DENG T, et al. Safety and Feasibility of CRISPR-edited T Cells in Patients with Refractory Non-small-cell Lung Cancer [J]. Nature Medicine, 2020, 26(5):1-9.
- [45] STADTMAUER E A, FRAIETTA J A, DAVIS M M, et al. CRISPR-engineered T cells in Patients with Refractory Cancer [J]. Science, 2020, 367(6481):aba7365.
- [46] 肖义军, 黄艳萍. 基因编辑技术在作物育种上的应用研究进展[J]. 生物学教学, 2019, 44(11):2-4.
- XIAO Yijun, HUANG Yanping. Application of Gene Editing Technology in Crop Breeding [J]. Biology Teaching, 2019, 44(11):2-4.
- [47] 王超凡, 张大健. 基因编辑技术在大豆种质资源研究中的利用[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(1):26-32.
- WANG Chaofan, ZHANG Dajian. Application of Gene Editing in Studies of Soybean Germplasm Resources [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(1):26-32.
- [48] WANG Y, CHENG X, SHAN Q, et al. Simultaneous Editing of Three Homoeoalleles in Hexaploid Bread Wheat Confers Heritable Resistance to Powdery Mildew [J]. Nat Biotechnol, 2014, 32:947-951.
- [49] WANG C, LIU Q, SHEN Y, et al. Clonal Seeds from Hybrid Rice by Simultaneous Genome Engineering of Meiosis and Fertilization Genes [J]. Nat Biotechnol, 2019, 37(3):283-286.
- [50] OLIVA R, JI C, ATIENZA-GRANDE G. et al. Broad-spectrum Resistance to Bacterial Blight in Rice Using Genome Editing [J]. Nat Biotechnol, 2019:37,1344-1350.
- [51] EOM J, LUO D, ATIENZA-GRANDE G. et al. Di-

- agnostic Kit for Rice Blight Resistance [J]. Nat Biotechnol, 2019, 37: 1372-1379.
- [52] VARSHNEY R K, GODWIN I D, MOHAPATRA T. et al. A SWEET Solution to Rice Blight [J]. Nat Biotechnol, 2019, 37: 1280-1282.
- [53] CUI Y T, HU X M, LIANG G H, et al. Production of Novel Beneficial Alleles of a Rice Yield-related QTL by CRISPR/Cas9 [J]. Plant Biotechnology Journal, 2020: 1-3.
- [54] SANCHEZ-LEON S, GIL-HUMANES J, OZUNA C V, et al. Low-gluten, Nontransgenic Wheat Engineered with CRISPR/Cas9 [J]. Plant Biotechnol J. 2018, 16(4): 902-910.
- [55] GAO H, GADLAGE M J, LAFITTE H R. et al. Superior Field Performance of Waxy Corn Engineered Using CRISPR-Cas9 [J]. Nat Biotechnol, 2020, 38(5): 579-581.
- [56] LI T, YANG X, YU Y. et al. Domestication of Wild Tomato is Accelerated by Genome Editing [J]. Nat Biotechnol, 2018, 36: 1160-1163.
- [57] STOVICEK V, BORODINA I, FORSTER J. CRISPR-Cas System Enables Fast and Simple Genome Editing of Industrial *Saccharomyces Cerevisiae*, Strains [J]. Metabolic Engineering Communications, 2015, 2: 13-22.
- [58] DENBY C M, LI R A, VU V T, et al. Industrial Brewing Yeast Engineered for the Production of Primary Flavor Determinants in Hopped Beer [J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 965.
- [59] WANG L, DENG A, ZHANG Y. et al. Efficient CRISPR-Cas9 Mediated Multiplex Genome Editing in Yeasts [J]. Biotechnol Biofuels, 2018, 11: 277.
- [60] GOOTENBERG J S, ABUDAYYEH O O, KELLNER M J, et al. Multiplexed and Portable Nucleic Acid Detection Platform with Cas13, Cas12a, and Csm6 [J]. Science, 2018, 360(6387): 439-444.
- [61] CHEN J S, MA E B, HARRINGTON L B, et al. CRISPR/Cas12a Target Binding Unleashes Indiscriminate Single-stranded DNase Activity [J]. Science, 2018, 360(6387): 436-439.
- [62] NGUYEN T M, ZHANG Y, PANDOLFI P P. Virus Against Virus: a Potential Treatment for 2019-nCoV (SARS-CoV-2) and Other RNA Viruses [J]. Cell Res, 2020, 30: 189-190.
- [63] KANDUL N P, LIU J, WU S L. et al. Transforming Insect Population Control with Precision Guided Sterile Males with Demonstration in Flies [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 1-12.
- [64] XU J, DONG Q L, YU Y, et al. Mass Spider Silk Production Through Targeted Gene Replacement in *Bombyx Mori* [J]. PNAS, 2018, 115(35): 8757-8762.

作者贡献说明

陈云伟: 文献检索, 论文撰写;

陶 诚: 框架设计, 论文修改;

周海晨: 数据分析;

张志强: 选题指导, 论文修改。