

微生物及免疫學研究所專題討論摘要

講者: Tsu-Hau Lu (呂祖皜)

時間: 15:00-16:00, MAR. 30, 2022

評論者: Dr. Chun-Keung Yu (余俊強老師)

地點: Lecture room 601

標題: Engineered virus-like particles for efficient in vivo delivery of therapeutic proteins

作者: Samagya Banskota, Aditya Raguram, Susie Suh, Samuel W. Du, Jessie R. Davis, Elliot H. Choi, Xiao Wang, Sarah C. Nielsen, Gregory A. Newby, Peyton B. Randolph, Mark J. Osborn, Kiran Musunuru, Krzysztof Palczewski, and David R. Liu

期刊: *Cell* 185, 250–265 January 20, 2022

背景: 基因編輯技術一直是科學家們想用來根治基因疾病的方法，進而衍生出多種的應用方式。其中，單一鹼基編輯技術(Base-editing, BE)可以最小的基因修改來有效治療由單一個鹼基突變所造成的疾病。而迄今為止，最有效輸送此類工具的方式是透過病毒載體來輸送進體內。但又由於病毒載體輸送的缺陷，像是基因表現的調控，以及插入位置的不確定性，容易造成宿主細胞癌化，減少基因治療的應用。因此透過“類病毒載體(virus-like particle, VLP)”的輸送方式是一個新興的選擇。然而，現有的 VLP 所介導的編輯效率未能達到如病毒載體般的效果，且對體內治療功效有限，故本篇研究旨在探討並驗證 VLP 的設計方式及其可行性。

方法: 作者透過對 VLP 輸送系統或未經處理的細胞基因組 DNA 進行高通量測序比較，來研究不同設計的 VLP，在各種細胞系中的正確及錯誤的基因編輯效率。免疫印跡、蛋白質印跡和 qPCR 被用來確認 VLP 包裹的 BE 含量。細胞活力測定則用於檢查 BE-VLP 治療的不良後果。小鼠模型 C57BL/6J 以及 rd12 用於探索體內基因編輯。

結果: 作者從三方面著手改良 VLP，分別為包裝、釋放和輸送至目的地的能力，透過這篇研究的改良過程生產出第四代的 VLP，可以在幾種主要的小鼠和人類細胞類型中進行有效的鹼基編輯。而在細胞專一性的測試上，本篇也透過使用不同病毒的封套蛋白得到初步的成果。在體內，BE-VLPs 在對 63% 的肝臟編輯後成功降低了 78% 血清中 Pcsk9 (一種參與膽固醇穩態的治療相關基因) 的水平。此外，在遺傳性失明的小鼠模型中部分恢復視覺功能。而且透過 VLP 輸送的 BE 在體外/體內的錯誤編輯幾乎未被檢測到。

總結: 作者在本篇設計了新一代 VLPs 的開發和應用，能達到與現今輸送效率最佳的病毒載體的輸送方式並證明它們是有效和安全的輸送載體。

心得: 本篇研究提供了 VLP 的設計及改良方式，是以往未曾被提及了，可以做為日後載體設計的基礎，實驗結果也利用了多種不同的方式來證明，對載體的設計有興趣的話，是一篇可以學到很多的研究。

參考文獻:

1. Campbell, et al. (2019). Gsicle-mediated delivery of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complex for inactivating the HIV provirus. *Mol. Ther.* 27, 151–163
2. Doman, et al. (2020). Evaluation and minimization of Cas9-independent off-target DNA editing by cytosine base editors. *Nat. Biotechnol.* 38, 620–628