

【小鼠大学问】基因敲除真把整个基因敲掉么

一般我们把基因分成两类：

- 编码蛋白的基因
- 不编码蛋白的基因

这两类基因的[敲除方式](#)有着很大的区别

编码蛋白的基因

这些基因的功能主要是通过编码区中的三联体密码所编码的蛋白来实现的。基因敲除的最终目的是让这个基因蛋白产物不能发挥功能，或者蛋白不能表达。

- 整个编码区统统删掉

所有的密码都没了，当然就不能翻译出蛋白啦！对于目的基因的敲除来说，这当然是最彻底的一种方法，不过大多数情况下，这个方案很难实现。原因有下面几个：

1) 编码区跨度大。虽然CRISPR技术能够大片段地剪掉DNA序列，实现大跨度的全身性基因敲除；但对于条件性基因敲除来说，如果两个loxP位点之间距离过大，仍会导致不仅构建模型的难度大、重组率低，而且可能影响flox小鼠的最终使用效果，即Cre-loxP的重组效率。

2) 可能有其它基因存在于内含子中，这样的敲除相当于敲除了两个甚至多个基因，最终小鼠的表型就会是多个基因共同缺失的结果了。

- 仅仅删掉“一小部分”

1) 删掉一个或几个外显子，被删掉的外显子长度不是3的整数倍。这样的话，三联体密码就会发生错位，导致移码突变或提前终止。可能会使蛋白不能被翻译出来，也可能产生一个突变的蛋白产物。这也是最为常见的基因敲除策略。通常，删掉的外显子越靠前，对功能蛋白的破坏就越彻底。所以，尽量选择靠前的外显子作为基因的敲除区域。

2) 删掉编码功能结构域的部分。这样，即使没能发生移码，最终翻译出来的也会是缺失功能域的一个次品，也可以达到使蛋白功能缺失的目的。

3) 删掉启动子。如果1和2都不能作为敲除区域的话，可以考虑敲除启动子区域使基因失活。

所以，基因敲除并不是非要把整个基因都删掉，大多数情况我们只需要敲掉基因的一小部分，让这个基因不能编码正常的功能蛋白，也就达到了基因敲除的目的。

不编码蛋白的基因

对于要敲除像lncRNA、microRNA这些不编码蛋白的基因，最彻底的方法还是整个lncRNA区段或大部分片段序列的删除。

但是，很多lncRNA可能是与某个蛋白编码基因反向重叠或部分反向重叠的，这时候敲掉整个lncRNA序列就不合适了，可以考虑以下几种方式：

- 1) 删除一小部分功能区域，前提是已知这部分可能是特定的功能区。
- 2) 删除启动子区域，如果lncRNA启动子区域不跟其它基因重叠。
- 3) 通过CRISPR技术插入RNA不稳定信号（比如polyA信号、miRNA结合位点、RNase P识别位点、自剪切酶等）的方式，来进行lncRNA的敲低。

所以，针对这些不编码蛋白的基因，考虑本身结构的特殊性，需要我们面对不同基因时选择不同的敲除方式。