



CRISPR/Cas9 技术在中药现代化中的探索*

王淑贤 郭飞飞 马广强**

(江西中医药大学中医学院, 南昌 330004)

摘要 CRISPR/Cas9 免疫系统是一种广泛分布于细菌和古细菌, 基于序列特异性的内源性免疫应答系统, 主要用于抵御外源的噬菌体、病毒或质粒。CRISPR/Cas9 系统因其卓越的修饰能力, 已发展为目的基因组工程系统中应用研究最灵活高效的技术。在 CRISPR/Cas9 系统中, Cas9 蛋白在 gRNA 的引导下, 能够特异性识别目标 DNA 片段并诱导双链断裂。CRISPR/Cas9 技术因其在特异性、灵活性及可操作性方面的显著优势, 在医药领域拥有广阔发展前景, 成为构建精确疾病模型以阐明中药复杂作用机制、促进中药改良、鉴定识别中药种质、把控中药质量和创新生产的强大工具。大量 CRISPR 数据同时也驱动了人工智能构建虚拟疾病模型进行药物筛选、赋能中药有效成分的发现与减毒增效, 这正好满足了精准医疗的迫切需求, 促进中药现代化转化进程。本文首先对 CRISPR/Cas9 系统的发展脉络、结构基础和运作方式进行回溯与阐释, 继而系统概述精准医学与中药发展相关的研究现状。在精准医疗快速发展背景下, 本文重点论述 CRISPR/Cas9 基因编辑技术如何赋能中药作用机理的深入解析, 并进一步阐述其在推动中药现代化进程中的具体应用。最后本文展望了 CRISPR 技术与人工智能相融合的发展图景: 从驱动药物筛选, 到赋能中药有效成分发现, 再到中药减毒增效模型的构建, 多维合力为中药现代化开辟新世纪。

关键词 CRISPR/Cas9, 基因编辑, 精准医疗, 中药, 人工智能药物筛选

中图分类号 R28, R96, Q78

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0505

CSTR: 32369.14.pibb.20250505

CRISPR/Cas9 系统 (CRISPR/Cas9 systems) 最初被鉴定为细菌抵御病毒或质粒演化出的一种内源性免疫机制。这一系统在原核微生物中广泛分布, 基因组谱系分析证实高达 90% 的基因组已知古细菌和约 40% 的已测序细菌都存在这套机制。规律成簇的间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR) 是由独特的间隔序列分隔的重复 DNA 序列。Cas9 (CRISPR-associated protein 9) 是 CRISPR 系统中的核心效应器, 在引导 RNA (guide RNA, gRNA) 的引导下, 可识别特异性 DNA 位点并诱导双链断裂。CRISPR/Cas9 系统能够对全基因组进行鉴定, 对特异性 DNA 序列定向修饰, 通过诱导双链 DNA 断裂, 实现对靶基因的删除、嵌入或置换等精准操作。

中药复方“多组分、多靶点”的整体性作用机制, 制约了中药的现代化发展。CRISPR/Cas9 基因编辑技术通过构建精准疾病模型、了解疾病机理等

方式将中药的整体性疗效转化为可验证的分子通路图谱, 从而推动中药研究从经验总结向机制阐释跨越。然而, 如何应对数据质量、算法偏见与模型可解释性等方面的挑战, 仍是当前亟待解决的问题。现代种植模式、化肥农药的滥用、生长环境改变导致中药品质严重下降; 中药的鉴别主要依赖主观经验, 而中药成分复杂, 质量参差不齐, 难以鉴别。CRISPR/Cas9 技术有利于揭示基因与功能的关系, 通过调控关键基因有效提升有效成分含量; 对中药进行基因水平的鉴别和品质评价, 利用微生物细胞工厂生产复杂中药成分, 有利于实现中药标准精准

* 国家自然科学基金 (81960808), 江西省自然科学基金 (20224BAB206029, 20224BAB216001), 江西中医药大学博士研究启动基金 (020BSZR012), 江西中医药大学校级科技创新团队发展计划 (CXTD22013) 和江西中医药大学中西医结合一级学科 (江西省双一流学科) (zxxylyk20220103) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 18770050616, E-mail: maguangqiang@163.com

收稿日期: 2025-11-13, 接受日期: 2026-03-06

化的智慧种植与生产,推动中药走向标准化、现代化和国际化。当前人工智能(artificial intelligence, AI)用于优化CRISPR系统的多个环节,利用高质量CRISPR数据训练AI模型,以构建“虚拟患者”进行高通量虚拟筛选,从而实现数据智能驱动靶点发现和药物研发,促进中药有效成分发现与减毒增效研究,用科学语言破解中药多成分、多靶点复杂系统之谜。

CRISPR/Cas9技术凭借其高效、精准与灵活的综合优势,已赋能工农业、生物制药、中医药等诸多行业。随着科技的进步,CRISPR数据与多组学整合驱动AI生成模拟疾病模型筛选药物的体系显示出远大前景,CRISPR/Cas9技术正成为精准修饰生物体基因组的一项关键推动力。本文遵循从机制到应用的路径,现有研究已利用CRISPR/Cas9构建疾病模型以揭示中药作用机理,并在此基础上筛选与验证中药活性成分,通过精准改良、鉴评和创新生产药用植物种质来保障其稳定供给;同时,CRISPR驱动AI技术被应用于促进药物筛选与减毒增效,从而连通精准医学与中药现代化。

1 CRISPR/Cas9技术

CRISPR/Cas9免疫系统是细菌为抵御异己成分而进化出的一种获得性免疫机制。CRISPR感应到外源物质侵入时,可识别并贮存一段外源目标序列在体内,再次受到入侵时可及时鉴别并使外源DNA双链断裂以保护原核生物自身安全。该系统通过捕捉外来入侵者特定的DNA片段序列,归档至宿主基因组的CRISPR位点中,获得可遗传免疫记忆和精准防御。

1.1 CRISPR/Cas9系统的发现

CRISPR/Cas9系统自发现以来,仅经过不到半个世纪的时间,便从起步走向了蓬勃发展(图1)。

CRISPR系统最早可追溯至20世纪80年代,日本研究团队发现大肠杆菌基因组存在一个被间隔序列(spacer)隔开的重复序列^[1]。2011年,Deltcheva等^[2]揭示脓性链球菌存在单链引导RNA(single guide RNA, sgRNA)成熟路径和CRISPR激活路径。2015年,中国学者使用CRISPR/Cas9工具,首创修饰人胚胎中β珠蛋白生成障碍性贫血相关基因的方法,在为遗传病治疗带来解决方案的同时也引发了伦理道德讨论^[3]。2017年,Jain等^[4]利用CRISPR/Cas9技术敲低小鼠肌纤维蛋白基因(myocilin, MYOC),发现降眼压的同时可防止青光眼损伤。2019年,Huck等^[5]使用CRISPR/Cas9技术在毛发桔梗中进行基因修饰,为该物种的规模化生产开辟了新道路。2020年,为表彰第三代基因编辑工具CRISPR/Cas9的问世,欧美学者埃马纽埃尔·卡彭蒂耶与詹妮弗·杜德纳荣获诺贝尔化学奖^[6]。近年来,不仅在生物医学领域,CRISPR/Cas9在医药领域应用优势也越来越广泛。2021年,中国科学家首次通过CRISPR/Cas9技术破坏颠茄莨菪碱6β-羟化酶(atropa belladonna hyoscyamine 6β-hydroxylase, *AbH6H*)基因,获得了高莨菪碱含量且不含衍生物的颠茄植株,为低成本生产莨菪碱提供了新途径^[7]。2024年Zhang等^[8]用CRISPR/Cas9编辑的肝细胞成功治疗了肝移植后出现酪氨酸血症的小鼠。2025年Pei等^[9]借助CRISPR/Cas9应用于透骨草,确认了透骨草细胞色素P450 81Q38酶(*Phryma leptostachya* CYP81Q38, PICYP81Q38)在木质素生物合成途径中的重要作用。

从此,CRISPR/Cas9基因编辑技术从一个基础研究工具,迅速成为推动农业、工业、生物医学和中药学发展的重要手段,展现出巨大潜力和发展前景^[10]。

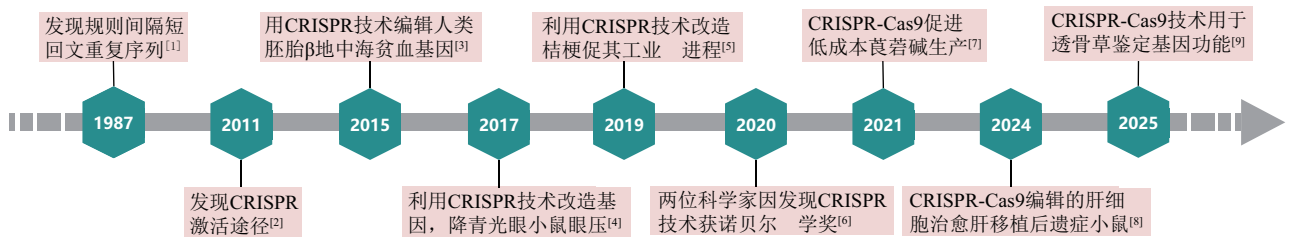


Fig. 1 Chronology of CRISPR technology development
图1 CRISPR技术发展史

1.2 CRISPR/Cas9系统组成及作用机制

CRISPR/Cas9 系统包括两大核心元件：CRISPR 位点和 Cas 基因（图2）。CRISPR 基因座来源于整合到宿主基因组中的外源 DNA 序列。Cas 基因负责编码效应蛋白，与 CRISPR 位置相邻且协

同作用，共同构成 CRISPR/Cas9 基因座。目前已鉴定出的 Cas 蛋白包括但不限于从 Cas1 到 Cas14 的多种功能亚型^[11-13]。目前应用最广泛的 CRISPR/Cas 系统是 CRISPR/Cas9 系统，它是理想的基因编辑工具。

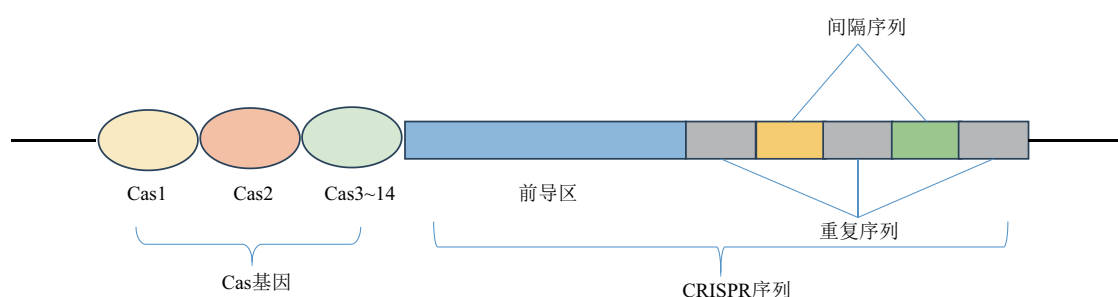


Fig. 2 Composition of the CRISPR/Cas9 system

图2 CRISPR/Cas9系统组成

Cas表示CRISPR关联蛋白，由Cas1~14蛋白组成。CRISPR表示成簇的规则间隔短回文重复序列^[11-13]。

CRISPR/Cas9 系统的编辑机制包括靶向定位、行使切割与诱导修复（图3）。识别阶段：原核生物捕捉到外源物质并识别切断一段靠近原型间隔子相邻基序（protospacer adjacent motif, PAM）的特异性 DNA 序列，整合成新的间隔序列到前导序列的 5'端^[14]。表达阶段：当外源 DNA 再次侵入时，

CRISPR 序列的前体 CRISPR RNA（precursor CRISPR RNA, pre-crRNA）经过转录、切割转化出成熟的 crRNA^[15]。干扰阶段：特定 Cas9 蛋白、反式激活 crRNA 和成熟的向导 RNA 形成蛋白质-效应复合体，在 NGG（N 代表任意碱基，GG 为两个鸟嘌呤）PAM 结合位点 3'端裂解外源体^[16]。最终

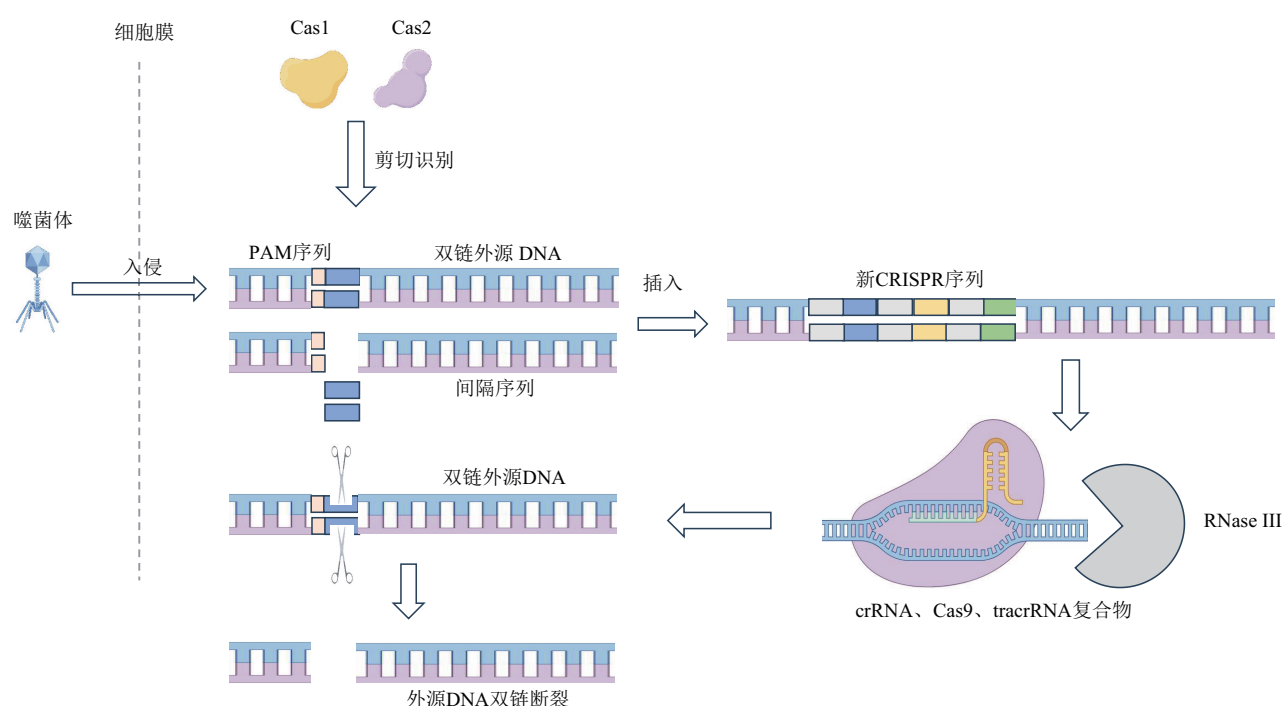


Fig. 3 Mechanism of action diagram for CRISPR/Cas9 technology

图3 CRISPR/Cas9技术作用机制图

Cas1、Cas2、Cas9表示Cas蛋白。PAM表示原间隔序列毗邻基序。CRISPR表示成簇的规则间隔短回文重复序列。RNase III表示核糖核酸酶 III。crRNA表示CRISPR RNA，即向导CRISPR RNA。tracrRNA表示反式激活crRNA^[14-16]。

通过两种方式来启动内源性修复机制: 非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 和同源定向修复机制 (homology-directed repair, HDR)。

CRISPR/Cas9系统的问世, 被视为基因编辑技术演进过程中的关键转折点。不同于早先的锌指核酸酶技术 (zinc finger nuclease, ZFN) 或转录激活因子样效应物核酸酶技术 (transcription activator-like effector nuclease, TALEN), 后者往往依赖于复杂的蛋白质结构与筛选, CRISPR系统巧妙地绕过了这一难题。其工作原理基于定制gRNA的引导, 能实现对DNA特定区域的识别与切割。这不仅显著简化了操作流程, 降低了实验门槛, 还拓宽了应用边界, 让大规模基因筛选及多位点同步干预成为现实, 为现代分子生物学研究注入了新的活力^[17]。

尽管如此, 这一技术在实际应用中仍存在亟待完善之处。例如, 如何避免非目标区域的误剪切、如何突破PAM序列对靶点选择的制约, 以及如何确保编辑工具在体内环境下的安全高效递送, 均是当前研究关注的重点^[18]。不过, 凭借其操作的便捷性与功能的强大性, CRISPR/Cas9在生命科学领域依然不可或缺。目前, 学界正致力于开发高精度Cas酶、挖掘识别新型PAM序列的酶类 (如Cas12a), 并探索新一代编辑方案, 以期在精确性和适用性上实现进一步提升^[19]。

2 CRISPR/Cas9: 连接精准医学与中药现代化研究的分子桥梁

CRISPR/Cas9技术是一把强大多效的“分子外科手术刀”, 已在多种生物体广泛应用, 如植物^[20-22]、微生物^[23-25]和动物^[26-28]。在精准医学领域, CRISPR/Cas9也发挥着重要作用。精准医疗通过发现生物标记物, 推动个性化治疗。这种个性化医治理念与中医药“辨证论治”的个体化理念高度契合, 但中药复方多靶点、整体性的特点使得其现代科学阐释面临挑战^[29]。CRISPR/Cas9可靶向敲除成体动物器官中的特定基因, 用于精准快速地理解疾病特质性, 能更好地揭示疾病的发病机理, 有望找到中药新的治疗干预靶点。

此基因编辑技术已被应用于诸多疾病治疗, 其范围涵盖癌症^[30]、自身免疫性疾病^[31]、眼科疾病^[32]、心血管疾病^[33]、传染性疾病^[34]、病毒性疾

病及遗传性疾病^[35-36]等。例如CRISPR/Cas9精准基因医学疗法Casgevy (exagamglogene autotemcel, exa-cel) 在美国食品药品监督管理局 (FDA) 获批, 是针对镰状细胞病 (sickle cell disease, SCD) 这一遗传性血液病的治疗性干预, 应用该方法显著提高了SCD患者的生活质量^[37-38]。此外CRISPR/Cas9在了解疾病机理方面有着巨大优势。相较于以往单基因编辑方法, CRISPR/Cas9技术能同时操控多个基因, 可用于了解复杂基因相互作用关系, 贴近人类实际情况^[39], 为临床尤其是疑难杂症的诊治提供新思路。例如, 研究者利用此技术诱导斑马鱼泛素样修饰剂激活酶1 (ubiquitin-like modifier activating enzyme 1, UBA1) 基因突变, 观察其引发的全身炎症, 借此探讨基因与功能的关系, 为阐明疾病机制及寻求治疗方案提供了重要的理论依据。CRISPR/Cas9技术在更多动物和细胞中的实验应用如表1所示。这些实验能有效识别与疾病相关的重要靶点, 从而实现对症下药。

精准医疗强调基于分子机制的个性化治疗, 而中药因其化学成分复杂、作用靶点多元, 其作用机制难以完全阐明, 这成为中药个性化应用的瓶颈。CRISPR/Cas9基因编辑技术的出现, 为破解这一难题提供了关键工具: 它能够将传统的中药经验描述, 拆解为可验证的分子证据, 从而科学阐释中药的复杂作用机制。这项技术提供了一个科学平台, 用于筛选和验证中药的活性成分, 并通过构建模拟中医证候或某些病理状况的类似人类疾病模型来揭示临床应用中的中药复方配方原理。例如Shen等^[40]通过使用CRISPR/Cas9技术敲除复方苦参注射液作用的8个关键基因, 验证了其通过多靶点和多途径协同作用的抗肿瘤作用机制, 这为分析中药配方的复杂系统提供了参考。全基因组范围的CRISPR筛选更像一张网, 能系统地捕捞那些被中药干预所牵动的关键基因和信号节点, 把传统方剂的整体疗效, 逐步还原成一张清晰的分子网络^[29, 40]。CRISPR-Cas9技术为连接传统中药经验与现代分子生物学研究提供了有效工具。该技术不仅能够精确解析中药的作用机制, 还可完善其疗效评价体系, 并从源头保障中药材的质量。这些探索, 正推动着中药研究慢慢走出单纯依赖经验的范畴, 向更注重机制解析的现代化方向发展^[29, 41]。

Table 1 Applications of CRISPR/Cas9 in experimental models
表1 CRISPR/Cas9在实验模型中的应用

属性	模型	研究领域	CRISPR/Cas9修饰	用途	文献
动物	果蝇	PD	敲低果蝇 <i>NUS1</i> 直系同源基因 <i>tango14</i>	研究 <i>tango14</i> 与PD关系	[42]
	斑马鱼	全身炎症模型	诱导 <i>UBA1</i> 体细胞突变	探讨 <i>UBA1</i> 突变体细胞与自身炎症性疾病关系	[43]
	小鼠	CS	诱导 <i>Fgfr2</i> 点突变	促进颅骨缝合和治疗研究	[44]
	猪	AD	敲除致病基因 <i>SORL1</i>	探讨 <i>SORL1</i> 单倍体功能不全与AD因果关系	[45]
	猕猴	A-T	<i>ATM</i> 基因突变	探讨A-T发病机制和治疗策略	[46]
细胞	CD34 ⁺ 造血干细胞和祖细胞	DBA	敲除 <i>RPS19</i> 基因	便于研究骨髓衰竭机制	[47]
	肌成纤维细胞系	HCC	敲除 <i>ITGA5</i>	<i>ITGA5</i> 的阻断有利于增强HCC疗效	[48]
	肌源性祖细胞	DMD	纠正DMD肌源性祖细胞中肌营养不良蛋白突变	恢复体内肌营养不良蛋白的表达	[49]
	永生化细胞	AML	敲除 <i>Clec12a</i>	<i>Clec12a</i> 可作为治疗AML的潜在靶点	[50]

PD: 帕金森病 (Parkinson's disease); CS: 颅面骨发育不全综合征 (Crouzon syndrome); AD: 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease); A-T: 共济失调-毛细血管扩张症 (ataxia-telangiectasia); DBA: 先天性纯红细胞再生障碍性贫血 (Diamond-Blackfan anemia); HCC: 肝癌 (hepatocellular carcinoma); DMD: 杜氏肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy); AML: 急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia); NUS1: NUS1脱氢酶/异构酶 (NUS1 dehydrololichyl diphosphate synthase); tango14: 果蝇tango14基因 (*Drosophila tango14*), NUS1的直系同源基因; UBA1: 泛素样修饰剂激活酶1 (ubiquitin-like modifier activating enzyme 1); Fgfr2: 成纤维细胞生长因子受体2 (fibroblast growth factor receptor 2); SORL1: 分拣蛋白相关受体1 (sortilin-related receptor 1); ATM: 共济失调-毛细血管扩张突变蛋白 (ataxia-telangiectasia mutated protein); RPS19: 核糖体蛋白S19 (ribosomal protein S19); ITGA5: 整合素 $\alpha 5$ (integrin $\alpha 5$); Clec12a: C型凝集素结构域家族12成员A (C-type lectin domain family 12 member A)。

3 CRISPR/Cas9技术在中药研究中的应用

利用CRISPR/Cas9技术,从理解疾病机制到开发高效稳定的治疗资源,这形成了一个从基础到应用的完整闭环。中药有着几千年历史,有效调控机体微生态且高效环保,在现代疾病治疗中有着良好疗效。很多从自然界提炼出来的中药组分也有着卓越的治疗潜力,如丹参酮、姜黄素、麻黄碱、白藜芦醇、人参皂苷、小檗碱、银杏黄酮、槲皮素等^[51-54]。在药用植物遗传改良方面,CRISPR/Cas9技术可直接编辑活性成分生物合成的关键基因,从而显著提升目标成分产量。全基因组CRISPR筛选已成为强大工具,能系统鉴定中药活性成分的关键作用靶点与通路、把控中药质量,从而在分子层面阐明其药效基础。CRISPR技术有望被用于优化酵母或大肠杆菌的代谢途径,以大规模、可持续地生产中药成分。CRISPR/Cas9通过从源头上改良药材、鉴评中药种质及创新生产模式,正在推动中药研究从传统经验模式向精准可控的现代化模式深刻转型,中药学研究已经进入遗传时代^[55-56]。

3.1 CRISPR/Cas9技术改进中药品种

CRISPR/Cas9技术可加速培育优质中药材。中药的质量直接关系到疗效,当前我国中药材多为人工栽培,盲目选择种植基地、大面积连作、化肥农药激素的滥用,造成了中药材种质退化、有害物质含量增加及质量下降。利用CRISPR/Cas9技术对药用植物品种的核心基因进行功能筛选,通过鉴定出药物合成或疾病抗性的核心基因,使用CRISPR/Cas9基因编辑工具改进中药优良性状、提高临床疗效,是中药基础研究的重要方向。采用CRISPR/Cas9技术强化中药材中胁迫抗性、病虫害抗性相关基因的表达,可减少杀虫剂、肥料和生长激素的施用,降低中药材有害成分的积累,推动中药“绿色化”生产^[57]。CRISPR/Cas9技术为传统中药研究提供了关键的技术支撑,推动了其在反向遗传学、功能结构解析、基因组学及生物信息学等领域的纵深发展。同时CRISPR/Cas9技术也可以实现对关键基因的过表达、低表达和抑制某些特定基因,建立优良中药材的精准育种技术体系。CRISPR/Cas9对中药种质创新育种、提高中药临床疗效和可持续发展具有重要意义,同时也为揭示中药活性

物质生物合成途径及其代谢调控网络的结构基础提供了重要的基因资源^[58]。

药材的道地性是中药的根本。在运用CRISPR/Cas9技术开展药用植物种质资源选育创新的基础上,还应该为中药材选择适宜种植环境、应用绿色分子标记辅助育种技术、建立优质中药材标准化生产链、构建国家中药材遗传信息数据库。应在保证药效前提下,解决种质创新与良种应用的问题,并进一步研发抗逆能力强、高产优质的实用型种质资源,驱动中药材生产标准安全化、数字网络化及智能化协同并进,实现中药材的绿色可持续发展^[59]。当前,国内已实现逾万种中药的DNA检测,陈士林院士课题组发起的“本草基因组计划”,更是将全国药用植物遗传信息库加以完善,为CRISPR/Cas9工具在中药的创新性应用奠定了坚实基础^[60]。CRISPR/Cas9工具在中药优化、中药种质筛选中扮演着关键角色。例如,青蒿素是抗疟一线药物,研究人员利用CRISPR/Cas9敲除*gal80*基因,将代谢流更多地导向青蒿素的前体——青蒿酸,从而显著提高了青蒿素的含量^[61]。研究人员也利用CRISPR/Cas9对人参^[51]、地黄^[62]、紫草^[63]、铁皮

石斛^[64]、灵芝^[65]、丹参^[52]等药用植物进行了改良(表2)。

尽管CRISPR/Cas9技术为中药的进步带来了光明的前景,但其实际应用仍然面临多重限制。中药基因组信息不完整,药效的发挥通常是多个基因协同调控的,这就导致难以确定目标靶点也使得编辑效率低下。许多药用植物的道地性受种质遗传与水土气候的影响,非人为因素可加以干预。目前世界尚未形成对于基因编辑产物的统一管理,对于中药材这种特殊品类尚缺乏完善的审查监管和质量控制标准,这限制了相关技术成果向产业化应用的转化进程。中药是纯天然的,基因编辑作物通常被认为接受度有限,相关的生态安全与长期健康影响,仍有待进一步的伦理探讨与实验数据予以阐明。此外,高昂的科研成本使广大中药材种植户及推广企业受限于相关领域的技术准入门槛。所有这些都给技术普惠带来挑战,为了推动CRISPR/Cas9技术在中药学领域的应用,解决相关科学难题的同时,有必要建立一个兼顾创新安全与公众信任的管理体系,从而有效实现该技术的潜在价值^[66]。

Table 2 Applications of CRISPR/Cas9 in traditional Chinese medicine
表2 CRISPR/Cas9在中药中的应用

中药	成分	功效	CRISPR/Cas9修饰	研究贡献	文献
人参	人参皂苷	抗癌	敲低 <i>CYP716A53v2</i>	提高人参皂苷Rg ₃ 积累	[51]
地黄	花青素	抗氧化	敲除 <i>RcMYB3</i>	<i>RcMYB3</i> 影响地黄中花青素合成	[62]
紫草	吡咯里西啶生物碱	抗炎镇痛	敲除 <i>HSS</i> 编码基因	敲除 <i>HSS</i> 可降低合成紫草中有毒吡咯里西啶生物碱	[63]
铁皮石斛	抗性研究	滋阴	敲除 <i>DoALA4-DoALA6</i>	<i>DoALA4-DoALA6</i> 有利于铁皮石斛蜡质合成及抗旱	[64]
灵芝	灵芝酸	抗肿瘤和抗转移活性	编辑 <i>cyp515018</i>	<i>cyp515018</i> 破坏降低灵芝酸成分积累	[65]
丹参	酚酸和丹参酮	活血化痰	编辑 <i>MYB28</i> 、 <i>MYB36</i> 、 <i>MYB39</i> 、 <i>MYB100</i> 、 <i>bZIP1</i> 、 <i>bZIP2</i> 和 <i>MYB98</i>	为提高杂合转化药用成分提供新思路	[52]

CYP716A53v2: 原人参二醇-6-羟化酶 (protopanaxadiol 6-hydroxylase); RcMYB3: 地黄MYB3转录因子 (Rehmannia glutinosa MYB3); HSS: 高精胺合酶 (homospermidine synthase); DoALA4-DoALA6: 铁皮石斛ALA4和ALA6基因 (Dendrobium officinale ALA4 and ALA6); cyp515018: 细胞色素P450 515018 (cytochrome P450 515018); MYB28: MYB28转录因子 (MYB28 transcription factor); MYB36: MYB36转录因子 (MYB36 transcription factor); MYB39: MYB39转录因子 (MYB39 transcription factor); MYB100: MYB100转录因子 (MYB100 transcription factor); bZIP1: 碱性亮氨酸拉链转录因子1 (basic leucine zipper transcription factor 1); bZIP2: 碱性亮氨酸拉链转录因子2 (basic leucine zipper transcription factor 2); MYB98: MYB98转录因子 (MYB98 transcription factor); Rg3: 人参皂苷Rg3 (Ginsenoside Rg3)。

3.2 CRISPR/Cas9促进中药高质量发展

CRISPR/Cas9工具有望促进中药种质的精准鉴定、质量把控和创新生产。我国中药资源丰富,是生物医药创新最大的基因宝库之一,但来源复杂,质量不一,且其分子生物基础研究薄弱。中草药的

品种、纯度和品质主要通过源植(动)物、性状、显微、理化以及传统生物学方法鉴定,但目前还存在一定的局限性。通过锁定物种特异性或道地性相关的关键DNA片段,可建立基于基因型的分子鉴定工具。通过操控活性成分生物合成通路中的限速

酶基因,揭示药效成分积累如何受遗传调控、表型与药效的内在关联,甚至可以构建生物合成中药化学成分细胞工厂。这些应用正在推动中药质量控制从终端检验向源头设计延伸,为实现药材真实性鉴别、品质形成机制解析以及优良种质创制提供共同的技术底座^[67]。

3.2.1 精准鉴评:CRISPR/Cas9助力中药种质鉴定与品质溯源

中药资源是生物医药创新的重要基因宝库,但由于来源复杂、近缘物种及混伪品众多,传统基于形态、显微及理化特性的鉴定方法存在一定局限性^[67]。CRISPR/Cas9技术的出现,为实现从“形态鉴别”到“基因鉴别”的跃升提供了全新的分子工具。

在精确识别方面,CRISPR/Cas9的应用超越了传统的基因测序。这项技术不仅可以用于分析基因序列,还可以通过功能筛选来识别与物种特异性或道地性相关的关键DNA片段。对于存在产地混用或形态相似的不同药用部位,利用CRISPR/Cas9系统中gRNA介导的特异性识别能力,可针对其基因组差异位点实现药材真伪与优劣的快速、精准鉴定。特征基因型作为中药的分子身份证可用于快速检测,CRISPR/Cas9利用这一特点可以从根本上解决密切相关的物种或外观和微观特征相似的不同药用部件之间的混淆问题,将中药真伪鉴别从模糊的经验判断提升到精确可量化的新维度^[68-69]。

在质量控制方面,CRISPR/Cas9技术的核心价值在于将基因水平的特征和药理成分联系起来。利用CRISPR/Cas9技术构建模型生物体,系统性筛选调控活性成分合成的相关基因。通过检测基因敲除后目标产物合成是否受阻或产量是否显著下降,可反向推导该合成途径中的关键限速酶。药物靶基因的高效编辑让药材代谢流朝着我们想要的方向积累成分,稳定地增加目标成分的含量或减少种质水平上有毒和有害成分的积累,从而揭示疗效、表型和药理成分积累之间的相关性,并创新地开发稳定的最佳等效种质。黄璐琦院士团队^[70]通过高效的CRISPR/Cas9基因编辑系统构建了丹参bh2-7的纯合系,为分析丹参酮、丹酚酸类成分的生物合成和代谢奠定了坚实的基础。由此可知,针对性敲除转录调节因子可以定向调节药理成分的流向。Hsu等^[52]通过CRISPR/Cas9敲除丹参碱性亮氨酸拉链转录因子1(salvia miltiorrhiza basic leucine zipper transcription factor 1, SmbZIP1)等负调节剂可以

产生丹参酮类化合物含量更高的编辑植株。此外,张利教授团队^[41]开发的药用植物MediPlant-NEPE系统通过编辑丹参MYB转录因子36(salvia miltiorrhiza MYB transcription factor 36, SmMYB36)和丹参TCP15转录因子(salvia miltiorrhiza TCP15 transcription factor, SmTCP15)创造了具有花青素含量梯度变化的新丹参植株,并通过编辑金荞麦的尿苷二磷酸-葡萄糖:类黄酮3-O-糖基转移酶3蛋白(UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase 3, FdUGFT3),使芦丁含量增加了2.75倍。这些研究印证了基因、化学成分、药材表观性状这三者之间,确实有一条可以人为干预的链条。所以CRISPR/Cas9带来的不只是编辑技术本身,更是一种质量控制思路的迁移,把检验关口往前推,从最终成品的理化测试,逐步转向育种阶段就有意识地进行基因设计。如此,药材批次间在增效减毒与质量稳定性方面的表现,将由不可控因素转变为可预测、可设计的技术结果^[71]。

3.2.2 生物合成:CRISPR/Cas9推动中药活性成分代谢工程与异源生产

中药活性成分通常含量低、结构复杂,传统提取方式面临资源短缺、环境制约等挑战。利用CRISPR/Cas9技术进行代谢通路精准编辑,无论是直接改良药用植物种质,还是构建微生物细胞工厂实现异源合成,均为解决上述问题开辟了全新路径^[72]。

在药用植物原位改良方面,CRISPR/Cas9已成为解析和操控活性成分生物合成通路的利器。针对丹参中丹参酮类化合物的合成调控,上海交通大学研究团队首次报道了利用CRISPR/Cas9介导的上游开放阅读框编辑技术成功将翻译水平的调控转化为代谢产物的提升,纯合突变体株系的丹参酮积累量较对照提高了1.19~1.81倍^[73]。这一策略在不改变核心基因转录水平的前提下实现了代谢流的精准放大,为药用植物代谢工程提供了新的技术支撑。在代谢通路的多基因协同调控方面,有研究建立了内源启动子驱动的tRNA-gRNA多重CRISPR/Cas9敲除系统,在丹参植株中实现了单靶点>90%、双靶点>70%、三靶点>60%的编辑效率。通过竞争分支途径基因的双敲除成功增强了丹参酮的积累,同时揭示了茉莉酸作为发育调控与代谢整合因子的双重作用^[39]。

在微生物细胞工厂构建领域,CRISPR/Cas9技术凭借其高效精准且可多基因协同编辑的能力,可

改造微生物为生产中药成分的细胞工厂。该技术的应用主要体现在3个方面:通过系统性敲除竞争途径基因减少前体分流、整合优化植物来源的异源合成模块以提高通路适配性,并对限速酶进行动态调控以维持代谢流平衡。有研究在酿酒酵母中利用CRISPR技术抑制羊毛甾醇合酶,在避免致死效应的同时使原人参二醇产量提高了14.4倍^[74]。这些策略已成功应用在青蒿素^[75-77]、紫杉醇^[78-79]和大麻素^[80-82]等高价值中药的微生物合成研究中,推动了生物合成中药活性成分向产业化方向演进,也为实现中药资源的绿色、可持续开发奠定了技术基础。

将CRISPR/Cas9技术运用到中药领域,有利于针对不同药材筛选培育出功能型优良种质,深度研发名贵中药资源,为构建可溯源、精准化的中药质量保障体系奠定了核心技术基础,从而极大地推动中药现代化、种质创新与良种应用^[66]。

尽管CRISPR/Cas9技术为中药现代化提供了新工具,但其产业化仍面临多重制约。多数药用植物为非模式生物,存在细胞壁屏障、多倍体遗传及植株再生体系不成熟等问题;基因组信息匮乏导致靶点基因挖掘困难,sgRNA设计及组件递送效率亦受限;编辑效率低与脱靶风险并存,使得获得稳定可育的编辑植株困难,长期安全性存疑;目前成果多限于毛状根或悬浮细胞体系,难以规模化培养^[29]。此外,编辑药材的道地性身份引发伦理争议,全球缺乏针对性法规与安全标准,产业化路径不明,加之公众疑虑与高昂成本,制约了其在特色中药材领域的经济可行性^[83]。

CRISPR/Cas9技术在中药领域的应用要走向成熟,需从技术、平台、制度和公众等多个层面协同发力。一方面,需要借助基因组与多组学技术了解药用植物基因功能,开发适配于植物体系的精准编辑器以及高效递送方法。另一方面,需建立健全多种药用植物的遗传转化与高效再生平台,以真正实现从细胞到整株水平的编辑跨越。与此同时,针对中药材道地性和多基因编辑的特殊性,也需要制定专门的安全标准和标识规范,将研发机构、评价体系、监管部门和生产企业统一起来,并加强公众对中药的认知,积极沟通,将技术逻辑进行通俗化阐释,以促进公众对研究的理解与认同。唯有通过科学技术、管理体系和社会层面的接纳,才能真正把工具的潜力转化成产业升级的动力^[84]。

4 未来展望

近年来,人工智能AI的快速演进正深刻改变生命科学研究轨迹。结构生物学AI模型AlphaFold2的出现实现了蛋白质折叠精度超过99%的突破,大大缩短前期实验时间并因此获得2024年诺贝尔生理学或医学奖,这意味着AI在理解生命分子机制上,已经从辅助角色转变为核心角色^[85]。与此同时,AI在药物设计与筛选领域也展现出显著优势,能够通过深度学习与分子模拟等方式大幅降低药物研发成本与周期以及赋能中药有效成分的发现与减毒增效。

4.1 CRISPR驱动的AI药物筛选

随着AI在各个领域的成功应用和CRISPR/Cas9技术的普及,AI和基因编辑技术的整合正在推动药物开发进入一种新模式。大规模CRISPR扰动实验,如Norman等^[86]和Replogle等^[87]的单细胞扰动序列数据,以及DepMap数据库^[88]提供的基因编辑细胞生存数据,构成了训练AI模型的高维生物特征基础。这些数据系统地描述了基因敲除、敲低或过度表达等扰动下细胞的全面反应轨迹,使AI能够在药物实验前实现计算机模拟筛选和表型预测。

在AI模型层面,已有多项代表性算法展现出对基因编辑后表型预测的强大能力。例如:
a. GEARS模型(2023)^[89],基于图神经网络框架,将基因间互作网络与Perturb-seq扰动表达数据整合,实现了对多基因编辑组合效应的高精度预测;
b. CellFlow模型(2024)^[90],引入流形学习与动态特征迁移算法,能够模拟细胞在扰动后的转录轨迹变化,支持药物诱导下的表型动态预测;
c. STATE模型(2024)^[91],采用状态转移矩阵描述细胞在基因扰动下的状态空间分布,具有较强的泛化能力,可预测未见扰动下的细胞响应;
d. Arc Institute虚拟细胞挑战赛(2025)^[92],在不同物种细胞系中表现出优秀的跨域迁移能力,使“虚拟细胞”成为下一代药物设计和筛选的核心平台,进一步促进未知基因敲除下人工智能模型的可靠预测能力。

在此框架下,CRISPR数据驱动的AI药物筛选流程逐步成形:基因扰动实验(CRISPR数据集)→多组学信息整合→AI模型预测(虚拟细胞模拟)→药物靶点聚焦与组合方案预测→实验验证反馈优化(图4)。

该系统的建立有望在药物开发的早期阶段实现

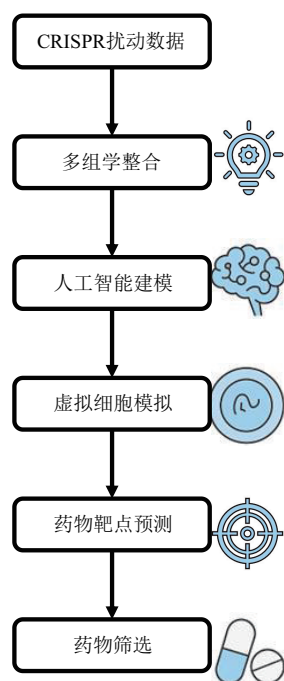


Fig. 4 Flowchart of CRISPR data-driven AI drug screening

图4 CRISPR数据驱动AI药物筛选流程图

计算机模拟筛选,这有利于在药物研发阶段省略很多筛选工作,意味着实验成本的节省和失败率的下降。未来模型的进化空间还很大,随着生成式AI、AlphaFold2再加上转录组、蛋白质组和代谢组这些多模态数据的持续汇入,AI对复杂生物系统的理解会越来越深,不仅能解释表型功能,甚至有可能提前预判基因功能以及药物组合引起的疾病变化。CRISPR数据驱动AI药物筛选不仅能够促进精准医疗个性化服务,或许也能将中药“君臣佐使”配伍理论从经验描述转化为分子层面的科学阐释。

4.2 CRISPR驱动的AI赋能中药现代化

在中药的现代化中,AI是实现中药减毒增效的好帮手。中药尤其是中药复方化学组分多且成分复杂,在研究疗效和毒性之间的平衡关系时,传统方法常常效率低且机制不明确。人工智能技术通过整合多组学数据和智能算法,有利于系统分析中药作用的规律和精确干预的靶点。

CRISPR驱动的AI促进中药有效成分智能发现。中药有效成分发现已从传统的分离活性导向,转向基于大数据与AI预测的“计算优先”模式。一方面,利用生成式AI如生成对抗网络(generative adversarial networks, GANs)、变分自

编码器(variational autoencoders, VAEs)可学习已知活性成分的化学空间分布,设计或优化具有特定药理活性的类中药新颖分子结构,直接扩充候选化合物库^[93]。另一方面,结合高精度蛋白质结构预测如AlphaFold2与分子对接的虚拟筛选技术,能对中药化学成分数据库如TCMSP、TCM@Taiwan进行大规模、低成本的功能性筛选,快速锁定针对特定疾病靶点如与肿瘤、炎症密切相关的关键蛋白质的潜在活性化合物^[94]。更有突破性的是,利用CRISPR筛选数据如DepMap中基因必需性与细胞生存力数据训练AI模型,可预测中药成分在特定基因背景下的敏感性或合成致死效应,从而发现针对特定患者亚群或耐药机制的精准候选成分^[95]。

CRISPR驱动的AI促进中药减毒增效机制的分析和设计。中药的减毒和增效受控于生物代谢流多个靶点的此消彼长,通过整合多组学数据和药效学/毒性表型已了解基因与表型的关系,CRISPR驱动的AI可以构建和预测模型。例如图神经网络(graph neural network, GNN)构建的“组分-目标-途径-毒性效应”多级网络,可以量化单体药和中药复方在药效通路和毒性通路上的行动轨迹,将模糊的治疗窗口变成一个可计算出来的区间^[96]。此外,结合虚拟细胞模型,CRISPR驱动的AI可以在中药的干预下模拟细胞内转录组和代谢组随时间变化的轨迹。通过使用从CRISPR扰动实验中获得的基因功能数据进行反馈,该模型不仅可以推断出发挥疗效的关键目标组分,还可以知道哪个靶点在起效,又是哪条敏感通路在惹祸,为随后的化学结构修饰或中药复方优化提供精确的调整方向^[97]。例如,在肝毒性测试上,通过深度学习模型来分析中药成分处理的肝细胞转录组,可识别出几个与氧化应激和脂质代谢相关的基因网络,并证实调控这些基因网络确实能降毒^[98]。

中药研发未来有望走向可设计和可预测。生成式AI尝试设计性质稳定的候选分子,虚拟细胞计算模拟这些分子进入人体后的变化,临床数据反馈AI模型,三者合一可以极大促进中药现代化研发进程。CRISPR驱动的AI不仅可以加速从“中药资源”向“候选成分”的转变、促进中药有效成分发现,还可以深入分析和积极设计“提高疗效、降低毒性”的优化方案,推演出起效组分、毒性来源部位、增效启动通路、毒性回避通路以及计算出是否修饰分子结构抑或调整复方比例,这为揭示中药

的药效物质基础及其生物学内涵,并推动中药功能的创新性开发奠定了关键技术基础^[99]。

5 总 结

CRISPR/Cas9作为现代生物医学的尖端工具,与源远流长的中医药体系相结合,帮助中医药用现代科学的语言,讲述自己古老而精彩的故事。作为“分子手术刀”,CRISPR/Cas9工具通过引导gRNA识别特定DNA序列并诱导双链断裂,实现基因的精准编辑。该技术广泛应用于医学领域,能够通过全基因组扫描验证基因功能,为精准医疗提供个性化治疗方法的同时也促进了中药作用机制的解析^[100]。CRISPR/Cas9技术在中药现代化研究中也具有广阔前景,通过精准编辑基因,能够加速优质中药材的培育,改善中药的质量和疗效,促进中药物质鉴定和质量把控,推动中药的绿色化创新生产,为中药现代化提供了重要支持。同时CRISPR驱动的AI药物筛选流程通过整合多组学数据与基因扰动实验,构建虚拟细胞模型以预测细胞在不同基因调控下的表型变化。AI模型如GEARS、CellFlow和STATE等展现出对基因编辑后表型预测的强大能力,有望在药物研发早期阶段实现计算机模拟筛选,降低实验成本与失败率。将CRISPR驱动的AI融入中药有效成分发现与减毒增效的作用机制解析,正推动中药研究从经验驱动迈向数据驱动与模型驱动的计算新模式,也为实现精准科学可控的现代中药研发注入了核心动力。目前已有改进版的先导编辑(prime editing)、碱基编辑(base editing)和CRISPR激活/干扰系统(CRISPR activation/interference, CRISPRa/i)来弥补CRISPR/Cas9的不足,然而这些应用尚处于初始开发期,要提高其普惠性,许多挑战亟待解决,包括技术的脱靶风险,组分的高效传递,合适运载工具的研制,国家中药遗传数据库特别是珍稀中药基因资源库不健全,基因修饰后中药质效关系未明确,科普宣传与监督管理不到位,编辑人体基因引起的道德问题等^[101]。21世纪中医药发展已经成为国家重要战略的一部分,CRISPR/Cas9工具在中医药领域的深度融合,不仅为精准医疗提供了新策略,也有望推进传统中药的现代化转型及在全球范围内的应用^[102]。

参 考 文 献

[1] Ishino Y, Shinagawa H, Makino K, et al. Nucleotide sequence of

the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol*, 1987, **169**(12): 5429-5433

[2] Deltcheva E, Chylinski K, Sharma C M, et al. CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. *Nature*, 2011, **471**(7340): 602-607

[3] Liang P, Xu Y, Zhang X, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human trippronuclear zygotes. *Protein Cell*, 2015, **6**(5): 363-372

[4] Jain A, Zode G, Kasetti R B, et al. CRISPR-Cas9-based treatment of myocilin-associated glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(42): 11199-11204

[5] Huck S, Bock J, Girardello J, et al. Marker-free genome editing in *Ustilago trichophora* with the CRISPR-Cas9 technology. *RNA Biol*, 2019, **16**(4): 397-403

[6] Li Z Q, Li C H. CRISPR/Cas9 from bench to bedside: what clinicians need to know before application?. *Mil Med Res*, 2020, **7**(1): 61

[7] Zeng L, Zhang Q, Jiang C, et al. Development of *Atropa belladonna* L. plants with high-yield hyoscyamine and without its derivatives using the CRISPR/Cas9 system. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(4): 1731

[8] Zhang K, Wan P, Wang L, et al. Efficient expansion and CRISPR-Cas9-mediated gene correction of patient-derived hepatocytes for treatment of inherited liver diseases. *Cell Stem Cell*, 2024, **31**(8): 1187-1202.e8

[9] Pei Y, Cao W, Kong X, et al. CRISPR/Cas9-mediated efficient PICYP81Q38 mutagenesis in *Phryma leptostachya*. *Planta*, 2025, **261**(4): 73

[10] Eş I, Gavahian M, Marti-Quijal F J, et al. The application of the CRISPR-Cas9 genome editing machinery in food and agricultural science: current status, future perspectives, and associated challenges. *Biotechnol Adv*, 2019, **37**(3): 410-421

[11] Zhu Q, Zhao X, Zhang Y, et al. Single cell multi-omics reveal intra-cell-line heterogeneity across human cancer cell lines. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 8170

[12] Makarova K S, Haft D H, Barrangou R, et al. Evolution and classification of the CRISPR-cas systems. *Nat Rev Microbiol*, 2011, **9**(6): 467-477

[13] Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 2012, **337**(6096): 816-821

[14] Beloglazova N, Brown G, Zimmerman M D, et al. A novel family of sequence-specific endoribonucleases associated with the clustered regularly interspaced short palindromic repeats. *J Biol Chem*, 2008, **283**(29): 20361-20371

[15] Pougach K, Semenova E, Bogdanova E, et al. Transcription, processing and function of CRISPR cassettes in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2010, **77**(6): 1367-1379

[16] Barrangou R. RNA-mediated programmable DNA cleavage. *Nat Biotechnol*, 2012, **30**(9): 836-838

[17] Doudna J A. The promise and challenge of therapeutic genome

- editing. *Nature*, 2020, **578**(7794): 229-236
- [18] Wang D, Zhang F, Gao G. CRISPR-based therapeutic genome editing: strategies and *in vivo* delivery by AAV vectors. *Cell*, 2020, **181**(1): 136-150
- [19] Walton R T, Christie K A, Whittaker M N, *et al.* Unconstrained genome targeting with near-PAMless engineered CRISPR-Cas9 variants. *Science*, 2020, **368**(6488): 290-296
- [20] Chen Y, Hua X, Li S, *et al.* Aromatic compound 2-acetyl-1-pyrroline coordinates nitrogen assimilation and methane mitigation in fragrant rice. *Curr Biol*, 2024, **34**(15): 3429-3438.e4
- [21] Xin H, Strickland L W, Hamilton J P, *et al.* Jan and mini-Jan, a model system for potato functional genomics. *Plant Biotechnol J*, 2025, **23**(4): 1243-1256
- [22] Soulard C, Monfort M, Pillot J P, *et al.* Efficient and heritable gene editing through CRISPR-Cas9 in *Pisum sativum*. *Plant Biotechnol J*, 2025, **23**(8): 3398-3400
- [23] Dong Y, Miao R, Feng R, *et al.* Edible and medicinal fungi breeding techniques, a review: current status and future prospects. *Curr Res Food Sci*, 2022, **5**: 2070-2080
- [24] Hou Z, Yi Q, Wu M, *et al.* Assessment and mitigation of CRISPR-Cas9-induced nontargeted translocations. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, **12**(21): e2414415
- [25] Abedin M M, Chourasia R, Phukon L C, *et al.* Lactic acid bacteria in the functional food industry: biotechnological properties and potential applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2024, **64**(29): 10730-10748
- [26] Nadarajapillai K, Jung S, Sellathurai S, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated knockout of *tnf- α 1* in zebrafish reduces disease resistance after *Edwardsiella piscicida* bacterial infection. *Fish Shellfish Immunol*, 2024, **144**: 109249
- [27] Richard C, Allais-Bonnet A, André M, *et al.* CRISPR-Cas9 gene-editing to assess the role of RF-amide-related peptide 3 in ovine seasonal breeding. *Animal*, 2025, **19**(5): 101508
- [28] Kashima H, Fischer A, Veronese-Paniagua D A, *et al.* A novel CRISPR/Cas9-mediated mouse model of colon carcinogenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2024, **18**(5): 101390
- [29] Gao H, Pei X, Song X, *et al.* Application and development of CRISPR technology in the secondary metabolic pathway of the active ingredients of phytopharmaceuticals. *Front Plant Sci*, 2024, **15**: 1477894
- [30] Lou E, Choudhry M S, Starr T K, *et al.* Targeting the intracellular immune checkpoint CISH with CRISPR-Cas9-edited T cells in patients with metastatic colorectal cancer: a first-in-human, single-centre, phase I trial. *Lancet Oncol*, 2025, **26**(5): 559-570
- [31] Ding J, Frantzeskos A, Orozco G. Functional interrogation of autoimmune disease genetics using CRISPR/Cas9 technologies and massively parallel reporter assays. *Semin Immunopathol*, 2022, **44**(1): 137-147
- [32] Pierce E A, Aleman T S, Jayasundera K T, *et al.* Gene editing for *CEP290*-associated retinal degeneration. *N Engl J Med*, 2024, **390**(21): 1972-1984
- [33] Ye L, Liu J, Lei W, *et al.* Disruption of cTnT-mediated sarcomere-mitochondrial communication results in dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 2025, **152**(6): 397-415
- [34] Engstler M, Beneke T. Gene editing and scalable functional genomic screening in *Leishmania* species using the CRISPR/Cas9 cytosine base editor toolbox LeishBASEedit. *eLife*, 2023, **12**: e85605
- [35] Nahmad A D, Lazzarotto C R, Zelikson N, *et al.* *In vivo* engineered B cells secrete high titers of broadly neutralizing anti-HIV antibodies in mice. *Nat Biotechnol*, 2022, **40**(8): 1241-1249
- [36] Adams D, Algalarrondo V, Echaniz-Laguna A. Hereditary transthyretin amyloidosis in the era of RNA interference, antisense oligonucleotide, and CRISPR-Cas9 treatments. *Blood*, 2023, **142**(19): 1600-1612
- [37] Singh A, Irfan H, Fatima E, *et al.* Revolutionary breakthrough: FDA approves CASGEVY the first CRISPR/Cas9 gene therapy for sickle cell disease. *Ann Med Surg (Lond)*, 2024, **86**(8): 4555-4559
- [38] Mitra S, Anand U, Ghorai M, *et al.* Genome editing technologies, mechanisms and improved production of therapeutic phytochemicals: opportunities and prospects. *Biotechnol Bioeng*, 2023, **120**(1): 82-94
- [39] Zheng H, Yao Q, Liu Q, *et al.* Efficient tanshinone metabolic engineering in *Salvia miltiorrhiza* through modified multiplex CRISPR/Cas9 system. *Chem Eng J*, 2025, **523**: 168709
- [40] Shen H, Nourmohammadi S, Zhou Y, *et al.* Validating the target functions and synergistic multi-target, multi-pathway action mode of compound Kushen injection using CRISPR/CAS. *bioRxiv*, 2024. DOI:10.1101/2024.05.03.592304
- [41] Yu H, Feng X, Zheng X, *et al.* Enhancing metabolic engineering in medicinal plants through prime editing. *Plant Biotechnol J*, 2026. DOI: 10.1111/pbi.70532
- [42] Xue J, Zhu Y, Wei L, *et al.* Loss of *Drosophila* NUS1 results in cholesterol accumulation and Parkinson's disease-related neurodegeneration. *FASEB J*, 2022, **36**(7): e22411
- [43] Beck D B, Ferrada M A, Sikora K A, *et al.* Somatic mutations in *UBA1* and severe adult-onset autoinflammatory disease. *N Engl J Med*, 2020, **383**(27): 2628-2638
- [44] Yue Y Y, Lai C Z, Guo X S, *et al.* New CRISPR/Cas9-based *Fgfr2*^{C361Y/+} mouse model of Crouzon syndrome exhibits skull and behavioral abnormalities. *J Mol Med (Berl)*, 2024, **102**(10): 1255-1266
- [45] Andersen O M, Bøgh N, Landau A M, *et al.* A genetically modified minipig model for Alzheimer's disease with SORL1 haploinsufficiency. *Cell Rep Med*, 2022, **3**(9): 100740
- [46] Xu K, Zhang Y, Chen Y, *et al.* ATM deficiency drives phenotypic diversity and Purkinje cell degeneration in a macaque model of ataxia-telangiectasia. *Cell Rep Med*, 2025, **6**(9): 102355
- [47] Bhoopalan S V, Yen J S, Mayuranathan T, *et al.* An RPS19-edited model for Diamond-Blackfan anemia reveals TP53-dependent impairment of hematopoietic stem cell activity. *JCI Insight*, 2023, **8**(1): e161810
- [48] Xiao Y, Tao P, Zhang K, *et al.* Myofibroblast-derived extracellular

- vesicles facilitate cancer stemness of hepatocellular carcinoma *via* transferring ITGA5 to tumor cells. *Mol Cancer*, 2024, **23**(1): 262
- [49] Domenig S A, Bundschuh N, Lenardić A, *et al.* CRISPR/Cas9 editing of directly reprogrammed myogenic progenitors restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy. *Stem Cell Reports*, 2022, **17**(2): 321-336
- [50] Mohanty S, Charles Cano F, Gabdoulline R, *et al.* Clec12a is required for the pathogenesis of NUP98::NSD1 AML. *Blood Adv*, 2025, **9**(15): 3887-3899
- [51] Yao L, Zhang H, Liu Y, *et al.* Engineering of triterpene metabolism and overexpression of the lignin biosynthesis gene PAL promotes ginsenoside Rg₃ accumulation in ginseng plant chassis. *J Integr Plant Biol*, 2022, **64**(9): 1739-1754
- [52] Hsu C T, Chiu C C, Hsiao P Y, *et al.* Transgene-free CRISPR/Cas9-mediated gene editing through protoplast-to-plant regeneration enhances active compounds in *Salvia miltiorrhiza*. *Plant Biotechnol J*, 2024, **22**(6): 1549-1551
- [53] Benslimane Y, Bertomeu T, Coulombe-Huntington J, *et al.* Genome-wide screens reveal that resveratrol induces replicative stress in human cells. *Mol Cell*, 2020, **79**(5): 846-856.e8
- [54] Rainha J, Rodrigues J L, Rodrigues L R. *De novo* biosynthesis of curcumin in *Saccharomyces cerevisiae*. *ACS Synth Biol*, 2024, **13**(6): 1727-1736
- [55] Xu X H, Li T, Fong C M, *et al.* Saponins from Chinese medicines as anticancer agents. *Molecules*, 2016, **21**(10): 1326
- [56] Ke G, Zhang J, Gao W, *et al.* Application of advanced technology in traditional Chinese medicine for cancer therapy. *Front Pharmacol*, 2022, **13**: 1038063
- [57] Fan S, Zhang Z, Song Y, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of GmTCP19L increasing susceptibility to *Phytophthora sojae* in soybean. *PLoS One*, 2022, **17**(6): e0267502
- [58] Wan H F, Han W J, Zhou L, *et al.* New advances of CRISPR/Cas9 technique and its application in disease treatment and medicinal plants research. *Curr Pharm Biotechnol*, 2022, **23**(14): 1678-1690
- [59] Bhatta B P, Malla S. Improving horticultural crops *via* CRISPR/Cas9: current successes and prospects. *Plants (Basel)*, 2020, **9**(10): 1360
- [60] Chen S, Yin X, Han J, *et al.* DNA barcoding in herbal medicine: retrospective and prospective. *J Pharm Anal*, 2023, **13**(5): 431-441
- [61] Ai L, Guo W, Chen W, *et al.* The gal80 deletion by CRISPR-Cas9 in engineered *Saccharomyces cerevisiae* produces artemisinin acid without galactose induction. *Curr Microbiol*, 2019, **76**(11): 1313-1319
- [62] Zuo X, Miao C, Li M, *et al.* Purple Rehmannia: investigation of the activation of R2R3-MYB transcription factors involved in anthocyanin biosynthesis. *Physiol Plant*, 2023, **175**(3): e13920
- [63] Zakaria M M, Schemmerling B, Ober D. CRISPR/Cas9-mediated genome editing in comfrey (*Symphytum officinale*) hairy roots results in the complete eradication of pyrrolizidine alkaloids. *Molecules*, 2021, **26**(6): 1498
- [64] Li Y, Yang J, Zhang Q, *et al.* CRISPR-Cas9 mediated gene editing platform through callus-to-plant regeneration and functional analysis of DoALA4—DoALA6 in dendrobium officinale. *Plant Cell Environ*, 2025, **48**(5): 2923-2936
- [65] Wang P A, Xiao H, Zhong J J. CRISPR-Cas9 assisted functional gene editing in the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, **104**(4): 1661-1671
- [66] Dey A. CRISPR/Cas genome editing to optimize pharmacologically active plant natural products. *Pharmacol Res*, 2021, **164**: 105359
- [67] Liu S H, Chuang W C, Lam W, *et al.* Safety surveillance of traditional Chinese medicine: current and future. *Drug Saf*, 2015, **38**(2): 117-128
- [68] Chen K, Wang Y, Zhang R, *et al.* CRISPR/cas genome editing and precision plant breeding in agriculture. *Annu Rev Plant Biol*, 2019, **70**: 667-697
- [69] Chen S. Advances of studies on new technology and method for identifying traditional Chinese medicinal materials. *China J Chin Mater Med*, 2012, **37**(8): 1043-1055
- [70] Tian M, Luo L, Jin B, *et al.* Highly efficient Agrobacterium rhizogenes-mediated gene editing system in *Salvia miltiorrhiza* inbred line Bh2-7. *Plant Biotechnol J*, 2025, **23**(6): 2406-2417
- [71] Sun M, Wang S, Jing Y, *et al.* Application of delayed luminescence measurements for the identification of herbal materials: a step toward rapid quality control. *Chin Med*, 2019, **14**: 47
- [72] Guo C, Xu S, Guo X. Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in medicinal plants: from genomic insights to biotechnological applications. *Curr Issues Mol Biol*, 2025, **47**(9): 723
- [73] Shao J, Peng B, Zheng H, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated uORF engineering enhances tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza*. *Hortic Res*, 2026, **13**(1): uhaf249
- [74] Lim S H, Baek J I, Jeon B M, *et al.* CRISPRi-guided metabolic flux engineering for enhanced protopanaxadiol production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(21): 11836
- [75] Guo Z, Zhou Y, Li J, *et al.* Dihydroartemisinic acid dehydrogenase-mediated alternative route for artemisinin biosynthesis. *Nat Commun*, 2025, **16**(1): 3888
- [76] Malhotra K, Subramaniam M, Rawat K, *et al.* Compartmentalized metabolic engineering for artemisinin biosynthesis and effective malaria treatment by oral delivery of plant cells. *Mol Plant*, 2016, **9**(11): 1464-1477
- [77] Paddon C J, Westfall P J, Pitera D J, *et al.* High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. *Nature*, 2013, **496**(7446): 528-532
- [78] Shi J, Zhang C, Deng R, *et al.* The biosynthesis and diversity of taxanes: from pathway elucidation to engineering and synthetic biology. *Plant Commun*, 2025, **6**(10): 101460
- [79] Wang T, Li L, Zhuang W, *et al.* Recent research progress in taxol biosynthetic pathway and acylation reactions mediated by *Taxus* acyltransferases. *Molecules*, 2021, **26**(10): 2855
- [80] Luo X, Reiter M A, d'Espaux L, *et al.* Complete biosynthesis of cannabinoids and their unnatural analogues in yeast. *Nature*, 2019, **567**(7746): 123-126

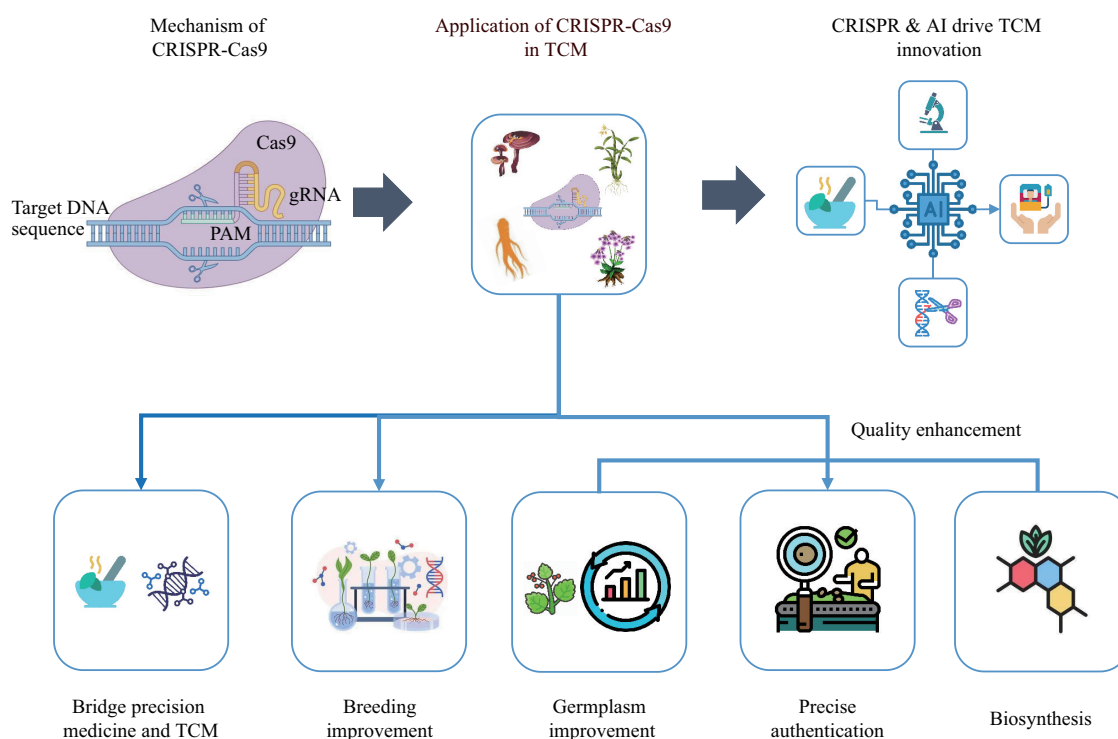
- [81] Thomas F, Schmidt C, Kayser O. Bioengineering studies and pathway modeling of the heterologous biosynthesis of tetrahydrocannabinolic acid in yeast. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, **104**(22): 9551-9563
- [82] Yan C, Okorafor I C, Johnson C W, *et al.* Microbial biosynthesis of rare cannabinoids. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2024, **52**: kuaf013
- [83] Wolter F, Puchta H. Knocking out consumer concerns and regulator's rules: efficient use of CRISPR/Cas ribonucleoprotein complexes for genome editing in cereals. *Genome Biol*, 2017, **18**(1): 43
- [84] Lau W, Sattely E S. Six enzymes from mayapple that complete the biosynthetic pathway to the etoposide aglycone. *Science*, 2015, **349**(6253): 1224-1228
- [85] Humphreys I R, Pei J, Baek M, *et al.* Computed structures of core eukaryotic protein complexes. *Science*, 2021, **374**(6573): eabm4805
- [86] Norman T M, Horlbeck M A, Replogle J M, *et al.* Exploring genetic interaction manifolds constructed from rich single-cell phenotypes. *Science*, 2019, **365**(6455): 786-793
- [87] Replogle J M, Norman T M, Xu A, *et al.* Combinatorial single-cell CRISPR screens by direct guide RNA capture and targeted sequencing. *Nat Biotechnol*, 2020, **38**(8): 954-961
- [88] Tsherniak A, Vazquez F, Montgomery P G, *et al.* Defining a cancer dependency map. *Cell*, 2017, **170**(3): 564-576.e16
- [89] Roohani Y, Huang K, Leskovec J. Predicting transcriptional outcomes of novel multigene perturbations with GEARS. *Nat Biotechnol*, 2024, **42**(6): 927-935
- [90] Klein D, Fleck J S, Bobrovskiy D, *et al.* CellFlow enables generative single-cell phenotype modeling with flow matching. *bioRxiv*, 2025. DOI: 10.1101/2025.04.11.648220
- [91] Adduri A K, Gautam D, Bevilacqua B, *et al.* Predicting cellular responses to perturbation across diverse contexts with State. *BioRxiv*, 2025. DOI: 10.1101/2025.06.26.661135
- [92] Roohani Y H, Hua T J, Tung P Y, *et al.* Virtual Cell Challenge: toward a Turing test for the virtual cell. *Cell*, 2025, **188**(13): 3370-3374
- [93] Sattarov B, Baskin I I, Horvath D, *et al.* *De novo* molecular design by combining deep autoencoder recurrent neural networks with generative topographic mapping. *J Chem Inf Model*, 2019, **59**(3): 1182-1196
- [94] Jumper J, Evans R, Pritzel A, *et al.* Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 2021, **596**(7873): 583-589
- [95] Iorio F, Knijnenburg T A, Vis D J, *et al.* A landscape of pharmacogenomic interactions in cancer. *Cell*, 2016, **166**(3): 740-754
- [96] Wan F, Hong L, Xiao A, *et al.* NeoDTI: neural integration of neighbor information from a heterogeneous network for discovering new drug-target interactions. *Bioinformatics*, 2019, **35**(1): 104-111
- [97] Stokes J M, Yang K, Swanson K, *et al.* A deep learning approach to antibiotic discovery. *Cell*, 2020, **180**(4): 688-702.e13
- [98] Mayr A, Klambauer G, Unterthiner T, *et al.* DeepTox: toxicity prediction using deep learning. *Front Environ Sci*, 2016, **3**: 80
- [99] Paul D, Sanap G, Shenoy S, *et al.* Artificial intelligence in drug discovery and development. *Drug Discov Today*, 2021, **26**(1): 80-93
- [100] Wang H, la Russa M, Qi L S. CRISPR/Cas9 in genome editing and beyond. *Annu Rev Biochem*, 2016, **85**: 227-264
- [101] Adli M. The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1911
- [102] Bhattacharjee G, Gohil N, Lam N L, *et al.* CRISPR-based diagnostics for detection of pathogens. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2021, **181**: 45-57

Exploring CRISPR/Cas9 Technology for The Modernization of Traditional Chinese Medicine*

WANG Shu-Xian, Guo Fei-Fei, MA Guang-Qiang**

(School of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Graphical abstract



Abstract The clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/associated protein 9 (CRISPR/Cas9) immune system is an adaptive immune system widely distributed in bacteria and archaea. It precisely defends against invasion by exogenous phages, viruses, and plasmids through sequence-specific endogenous immune response mechanisms. As the most prominent member of this family, the CRISPR/Cas9 system has evolved into the most widely applied, flexible, and efficient technical platform in the field of genome engineering

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81960808), Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (20224BAB206029, 20224BAB216001), Jiangxi University of Chinese Medicine Doctoral Research Start-up Fund (020BSZR012), Jiangxi University of Chinese Medicine Institutional Scientific and Technological Innovation Team Development Program (CXTD22013), and Jiangxi University of Chinese Medicine Integrated Traditional and Western Medicine First-Level Discipline (Jiangxi Province Double First-Class Discipline) (zxylxk20220103).

** Corresponding author.

Tel: 86-18770050616, E-mail: maguangqiang@163.com

Received: November 13, 2025 Accepted: March 6, 2026

due to its exceptional genome modification capabilities. Within the CRISPR/Cas9 system, the Cas9 protein, precisely guided by a single-stranded guide RNA (gRNA), can specifically recognize target DNA sequences and induce double-strand breaks. This activates the cell's DNA repair mechanisms, enabling gene knockout, knock-in, or modification. Demonstrating significant advantages in specificity, flexibility, and operability, CRISPR/Cas9 technology has shown immense potential in the medical field, opening new avenues for modernizing traditional Chinese medicine (TCM) research. On one hand, this technology can be used to construct precise disease models and tailor personalized treatment plans. It enables in-depth elucidation of the molecular mechanisms underlying the action targets and signaling pathways of TCM formulas and active components, thereby unraveling the scientific secrets of their complex mechanisms of action. On the other hand, it demonstrates powerful tool value in improving TCM germplasm resources, identifying and screening superior varieties, evaluating the controllability of TCM quality, and producing innovative drugs, providing technical support for the standardization and precision of TCM. Simultaneously, the high-throughput omics data generated by CRISPR technology is driving artificial intelligence (AI) to construct virtual disease models and drug prediction systems. This empowers the intelligent screening of effective TCM components, the precise prediction of potential targets, and the exploration of “reducing toxicity while enhancing efficacy” through formula combinations. This synergistic innovation between CRISPR and AI aligns perfectly with precision medicine's urgent demand for personalized, efficient drug development, injecting new momentum into the modernization and transformation of TCM. This paper first systematically reviews and explains the developmental trajectory, structural basis, and action mechanisms of the CRISPR/Cas9 system, tracing its scientific evolution from a bacterial immune system to a gene-editing tool. It then comprehensively outlines the current state of convergence between precision medicine concepts and modernization research in TCM, analyzing the synergistic points and potential spaces for their integration. Against the backdrop of rapid precision medicine advancement, this paper emphasizes how CRISPR/Cas9 gene editing technology empowers in-depth analysis of TCM mechanisms—including specific applications in disease model construction, therapeutic target validation, and multi-target network regulation studies. It further elaborates on its multidimensional practical contributions to modernizing TCM, spanning key domains such as germplasm resource innovation, bioactive compound biosynthesis, quality standardization control, and novel TCM drug development. Finally, this paper envisions the future landscape of deep integration between CRISPR technology and AI: from data-driven intelligent drug screening to high-throughput precision discovery of effective TCM components, and further to intelligent model construction based on “reducing toxicity while enhancing efficacy” mechanisms. The synergistic convergence of these multidimensional technologies will pioneer new scientific paradigms and translational pathways for TCM modernization, propelling TCM toward leapfrogging development in the era of precision medicine.

Key words CRISPR/Cas9, gene editing, precision medicine, traditional Chinese medicine, AI drug screening

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0505

CSTR: 32369.14.pibb.20250505