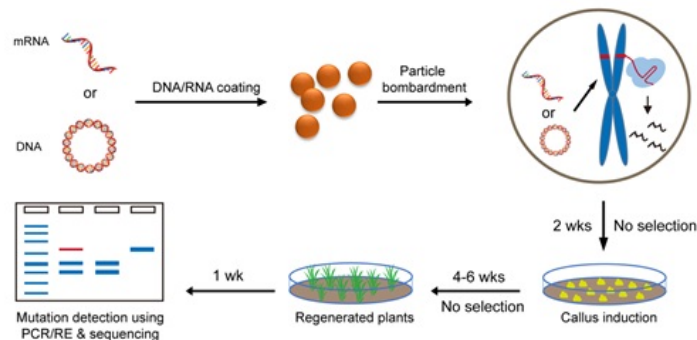




高彩霞研究组在植物基因组编辑方法研究中取得新进展

基因组编辑技术是最新发展起来的植物基因功能研究及定向育种的重要手段。在植物中实现基因组编辑的常规方法是将序列特异性核酸酶（如CRISPR/Cas9）的编码DNA转化植物细胞，稳定表达进而实现对目的基因的定点编辑。这种情况下，CRISPR载体整合在植物染色体中，需通过后代分离获得不含CRISPR/Cas9 DNA的植株。由于此过程涉及到转基因植物，因此生物安全性可能会受到一定的质疑；同时，CRISPR/Cas9 DNA的稳定表达会增加脱靶以及嵌合体发生的概率。此外，对于转化困难的植物基因型、物种和营养繁殖的植物，这种基于植物稳定遗传转化的基因组编辑技术路线就暴露其局限性。为了解决这些问题，中国科学院遗传与发育生物学研究所高彩霞研究组在植物中率先建立了基于CRISPR/Cas9瞬时表达的基因组编辑体系。该研究通过CRISPR/Cas9 DNA或RNA瞬时表达，对六倍体小麦及四倍体小麦的7个不同基因进行了定点敲除，突变效率为1.0%–9.5%，且在T0代得到了不含外源基因的小麦纯合敲除突变体。瞬时表达CRISPR/Cas9的基因组编辑技术体系与常规的基因组编辑技术体系的定向突变效率相似。对突变体植物中32个潜在脱靶位点进行分析，发现通过瞬时表达CRISPR/Cas9 DNA或CRISPR/Cas9 RNA获得的突变体中均未发生脱靶效应，证明这两种方法具有更高的特异性。通过瞬时表达CRISPR/Cas9基因组编辑技术体系获得的突变体稳定遗传，纯合突变体表现出相应的预期表型。

这一瞬时表达CRISPR/Cas9的基因组编辑技术体系的建立，将会大大提高基因组编辑在植物中的生物安全性并促进基因组编辑在植物中的应用。尤其是瞬时表达CRISPR/Cas9 RNA的方法，由于整个基因组编辑过程中不涉及外源DNA，将有助于生物安全植物基因组编辑育种的进程。该研究成果于2016年8月25日在线发表于Nature Communications杂志上（DOI: 10.1038/ncomms12617）。高彩霞研究组博士生张毅、梁振、宗媛为该论文的并列第一作者，相关研究得到基金委、中科院、农业部及科技部的资助。



瞬时表达CRISPR/Cas9 DNA或CRISPR/Cas9 RNA基因组编辑技术流程图

(转自http://www.genetics.ac.cn/xwzx/kjyz/201608/t20160826_4655503.html)