



位置: 首页 > 新闻动态 > 科研进展

搜索

高彩霞研究组建立植物基因组引导编辑技术体系“Plant Prime Editing”

基因组编辑技术可以定向修饰植物基因组，从而大大加速植物育种的进程，是实现作物精准育种的重要技术突破。然而，作物的许多重要农艺性状是由基因组中的单个或少数核苷酸的改变或突变造成的。基于CRISPR/Cas系统的基因组编辑，可利用外源修复模板通过同源重组介导的修复方式（HDR）实现目标基因特定核苷酸的改变。目前，同源重组在植物中的效率非常低，很难以此方式实现高效、稳定的植物基因组的精准编辑。CRISPR系统所衍生的胞嘧啶脱氨酶和腺嘌呤脱氨酶，可以分别在基因组靶位点实现C:G>T:A或A:T>G:C的碱基替换。然而，碱基编辑技术还不能实现其它类型的碱基替换(C:G>A:T和A:T>C:G)及碱基转换(C:G>G:C和A:T>T:A)，更不能实现片段的精准插入和删除。因此，植物育种和基因功能研究迫切需要可以高效、精准实现任意碱基替换、增添或删除的基因组定向编辑技术体系。

哈佛大学David R. Liu教授研究团队在哺乳动物中开发了全新的基因组引导编辑（Prime Editing）系统。该系统由nCas9（H840A）融合逆转录酶（RT）和pegRNA（prime editing guide RNA）两部分组成。pegRNA通过在sgRNA骨架的3'端引入PBS序列（Primer binding site）结合到nCas9断裂的非靶标链上，逆转录酶根据其携带的RT模板转录出相应的含有目的突变的单链DNA。细胞进一步通过DNA损伤修复把目的突变引入基因组。此外，在Cas9非靶标链上引入能在产生缺刻的nicking sgRNA，有助于提升引导编辑的效率。近日，中国科学院遗传与发育生物学研究所高彩霞研究组与David R. Liu研究组合作成功建立并优化了适用于植物的引导编辑系统（Plant Prime Editing, PPE），并在重要农作物水稻和小麦基因组中实现精确的碱基替换、增添或删除。

研究人员首先通过PPE系统在水稻和小麦原生质体中实现了16个内源位点的精准编辑，包括12种类型的单碱基替换、多碱基替换、小片段的精准插入和删除，编辑效率最高可达19.2%。进一步研究发现，该系统的编辑效率受到PBS和/或RT模板长度以及nicking sgRNA位置的影响。研究人员对PPE系统进行了一系列的优化，发现37°C条件下培养可以显著提升该系统的编辑效率(1.6倍)，通过引入核酶对pegRNA进行自加工，也可以在部分位点提高编辑效率。此外，来源于植物花椰菜花叶病毒和大肠杆菌retron系统的逆转录酶可以与nCas9融合在植物中实现精准引导编辑。最后，研究人员通过PPE成功获得了单碱基突变、多碱基突变及精准删除的水稻突变体植株，效率最高可达21.8%，这些突变均难以通过现有的基因编辑系统实现。虽然Plant Prime Editing系统在部分位点上C:G>T:A或A:T>G:C的效率低于单碱基编辑系统，但是该系统可以实现所有类型的碱基置换，以及碱基增加和删除。PPE极大地扩展了植物基因组编辑范畴，为植物基因组功能解析及实现作物精准育种提供了重要技术支撑。

研究成果于2020年3月16日在线发表于Nature Biotechnology杂志（DOI:10.1038/s41587-020-0455-x）。中科院遗传发育所高彩霞研究组博士生林秋鹏、博士后宗媛以及博士生薛桦销为该论文的共同第一作者，高彩霞研究员为本文的通讯作者。高彩霞研究组的研究得到国家自然科学基金、中国科学院战略性先导科技专项、国家重点研发计划的资助。

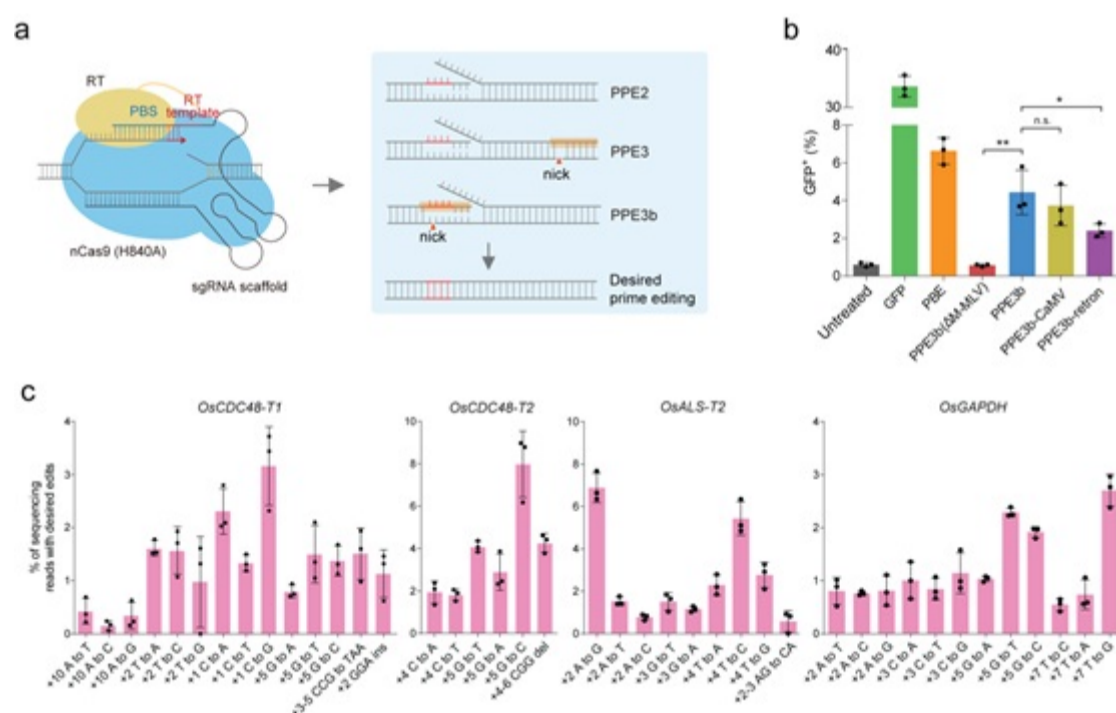


图: 植物基因组引导编辑系统（PPE）可精准编辑植物基因组。(a) PPE编辑系统工作原理示意图。(b) 荧光报告系统比较不同PPE编辑系统工作效率。(c) PPE编辑系统可在多个内源位点上产生12种类型的单碱基替换，以及多碱基变换和小片段增删。

