



科研进展

新闻头条

要闻

科研进展

学术活动

工作动态

科普知识

党群园地

媒体聚焦

通知公告

招生招聘

科研进展

当前位置: 首页» 科研进展

作物有害生物功能基因组研究创新团队建立新型水稻基因组编辑工具箱-CRISPR/ Sc++ 系统

文章来源: 作物有害生物功能基因组研究创新团队 作者: 周焕斌 点击数: 310 次 发布时间: 2021-08-27

近日, 中国农业科学院植物保护研究所作物有害生物功能基因组研究创新团队在国际知名学术期刊《植物学报 (Journal of Integrative Plant Biology) 》在线发表了题为“CRISPR/Sc++ system-mediated genome modification in rice”的研究论文。该论文报道了新型的CRISPR/ Sc++系统在水稻基因组编辑中的应用, Sc++突变体可突破野生型ScCas9的位点依赖性, 高效识别NNG PAN完成靶基因的编辑, 拓宽了水稻基因组编辑的应用范围。

CRISPR/Cas9系统已成为基因组精准修饰的有效工具, 有效促进了水稻功能基因组学研究和分子育种进程。然而Cas蛋白需识别特定的PAM序列, 对基因编辑靶点具有选择性, 因此扩展Cas9的识别范围是当前对CRISPR/Cas9系统 (尤其是碱基编辑系统) 优化改良的重要方向。利用不同物种Cas9蛋白及其突变体等可在一定程度上扩宽CRISPR工具的打靶范围。例如, 应用最广泛的化脓性链球菌Cas9 (SpCas9)识别DNA靶点下游保守的NGG PAM序列。而SpCas9的突变体, 如SpCas9-NG、xCas9、SpG、SpRY等 (Ren et al., 2019; Xu et al., 2021) , 这些蛋白经改造后也具有不同或更为灵活的PAM兼容性, 在一定程度拓宽了基因组编辑工具的靶向范围。因此, 开发识别PAM灵活和编辑效率高的Cas蛋白, 对于拓展CRISPR/Cas9系统的应用范围具有重要的意义。

该研究通过对ScCas9蛋白进行优化, 利用获得的突变体Sc++对水稻碱基编辑工具进行了优化升级。与ScCas9相比, Sc++核酸酶具有更广泛和高效的编辑能力, 在NNG (NAG、NGG、NCG和NTG) PAM处均具有很好的编辑效率。基于Sc++和高效的胞嘧啶脱氨

[服务专区](#)

[OA系统](#)

[农科院邮箱](#)

[植保所邮箱](#)

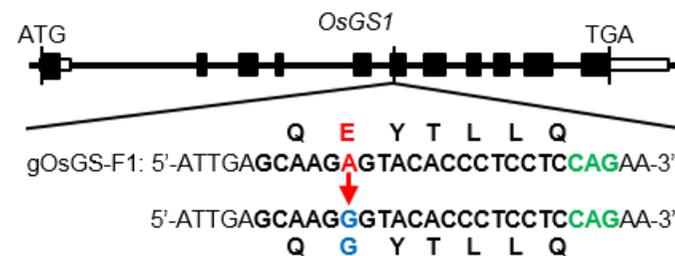
[科研信息平台](#)

[物资采购平台](#)

酶hAID* Δ 和腺嘌呤脱氨酶TadA9, 该团队开发了水稻胞嘧啶碱基编辑器rBE71和腺嘌呤碱基编辑器rBE73b。对转基因水稻的检测显示, rBE71和rBE73b均能通过识别NGG、NAG、NCG等PAM完成碱基编辑, 效率分别高达39.13%和95.74%, 还产生了除草剂抗性基因OsGS1的新等位基因。CRISPR/ Sc++系统有效地扩展了水稻基因组编辑工具应用范围, 为后续基因组编辑衍生工具开发、水稻功能基因组学研究和分子设计育种提供了有力的理论指导和技术支撑。

中国农业科学院植物保护研究所科研助理马桂根硕士和博士生旷永洁为论文共同第一作者, 周焕斌研究员为通讯作者, 团队多名成员共同合作完成。该研究得到了中国国家自然科学基金和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项的项目支持。

PAM seq	Gene	Target site	Nuclease	Mutation efficiency	Mono-allelic mutation	Bi-allelic mutation
NAG	OsMPK15	TGAGAAAGTTGCTATCAAG AAG	Sc++	2/36 (5.56%)	2	0
			ScCas9	0/23 (0.00%) ^a	0	0
	OsMPK14	ATCAACAGCAGCTCCACCT GAG	Sc++	31/42 (73.81%)	27	4
			ScCas9	14/17 (82.35%) ^a	11	3
OsMPK15			Sc++	20/42 (47.62%)	15	5
			ScCas9	10/20 (50.00%) ^a	5	5
NGG	OsMPK17	CC ACCCGCATCCTTAGGGAGAT	Sc++	4/42 (9.52%)	4	0
			ScCas9	0/48 (0.00%) ^a	0	0
OsCPK6		TGGGCAACTACTACTCGTG CGG	Sc++	20/39 (51.28%)	15	5
			ScCas9	47/48 (97.92%) ^a	32	15
NCG	OsCPK5	CGT CACGCTTAGATCCAAGTAC	Sc++	1/28 (3.57%)	1	0
			ScCas9	0/16 (0.00%) ^a	0	0
OsCPK6		GGCAACTACTACTCGTGCG GCG	Sc++	23/39 (58.97%)	21	2
			ScCas9	14/30 (46.67%) ^a	14	0
NTG	OsMPK9	GATCCAAAGGACCGTCCA ACTG	Sc++	8/42 (19.05%)	8	0
			ScCas9	4/56 (7.14%) ^a	4	0
OsCPK8		CAG GTACGCGTGCAAGTCGATA	Sc++	0/43 (0.00%)	0	0
			ScCas9	0/48 (0.00%) ^a	0	0



rBE73b-gOsGS1-F1 PAM: NAG

5'-**GCAAGAGUACACCCUCCUC**-3'

5'-TATTGAG**CAAGAGTACACCCCTCCTCAG**CAGAAG-3' WT

5'-TATTGAG**CGAGGGTGCACCCCTCCTCAG**CAGAAG-3' A>G 10.00%

5'-TATTGAG**CGGGGGTGC**CCCTCCTC**CAG**CAGAAG-3' A>G 2.50%

5'-TATTGAG**CGGGGGTGCACCCCTCCTCAG**CAGAAG-3' A>G 10.00%

论文链接: <https://doi.org/10.1111/jipb.13166>

[打印页面](#)

[关闭页面](#)

[网站地图](#)

[设为首页](#)

[加入收藏](#)

[联系我们](#)

地址: 北京市海淀区圆明园西路2号南2门

邮编: 100193

中国农业科学院植物保护研究所版权所有

京ICP备05034986号-1

京公网安备 11010802025499 号

技术支持: 中国农业科学院农业信息研究所

