微生物所建立适用于多核工业菌株的基因编辑系统

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/10044.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

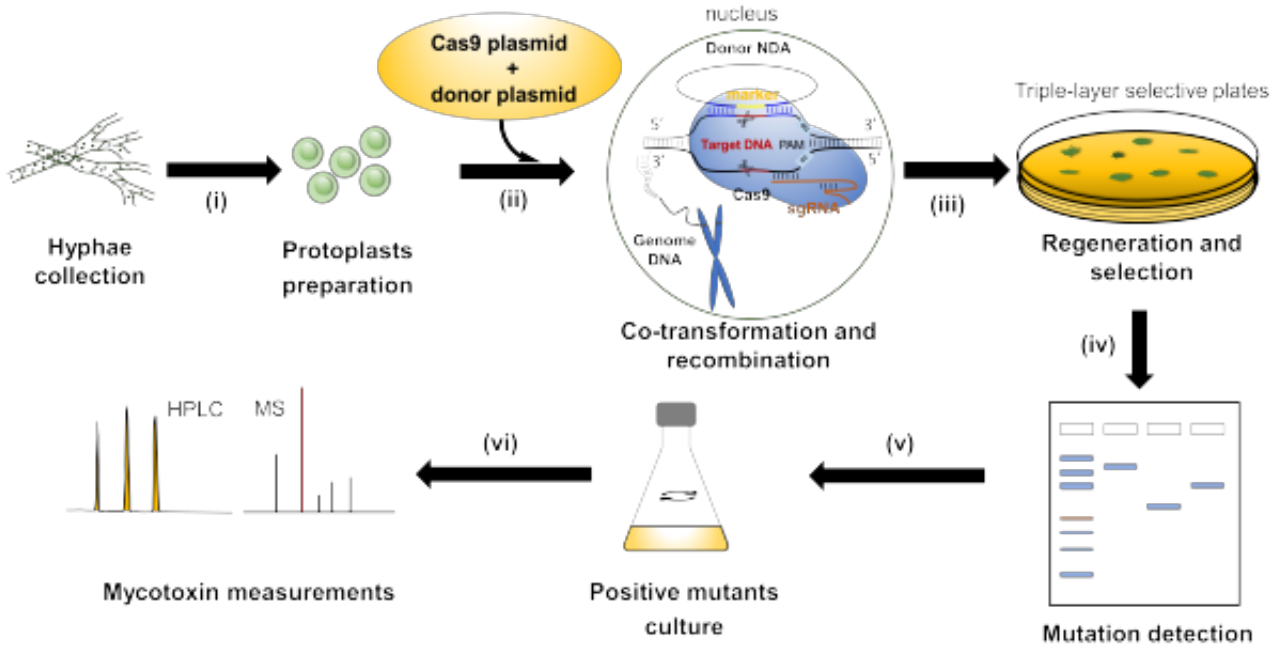
近日，中国科学院微生物研究所高书山课题组构建了一种适用于多核工业菌的基因编辑系统，可实现大片段DNA无痕删除，为我国微生物工业发酵菌株的遗传改造提供了一种新型高效基因编辑工具，相关成果以*A dual-plasmid CRISPR/Cas system for mycotoxin elimination in polykaryotic industrial fungi*为题发表在*ACS Synthetic Biology*上。通过该方法，高书山课题组在红曲红色素多核生产菌*Monascus purpureus*中实现了内毒素桔青霉素生物合成基因簇（15 kb）的无痕敲除。新菌株经过科隆公司的小罐发酵、中罐发酵以及大罐发酵等层层严格验证，发酵产品品质显著高于目前市场上同类产品，已应用于千吨级红曲红色素的工业生产，为企业取得了经济效益。

红曲红色素是中华民族宝贵的科学遗产，应用于食品业的着色，也可作为保健品缓解心脑血管和高血脂等相关疾病。但红曲红色素工业菌株可同时生产具有肾毒性和致癌性的桔青霉素；我国和欧盟、日本等均对产品中桔青霉素的含量做出限制性规定，我国标准为4 mg/kg。由于缺乏较好的遗传操作工具，目前相关生产企业通过改变发酵工艺、随机突变等手段，满足桔青霉素含量标准，造成企业生产能力的浪费；另一方面多数企业的红曲红产品因桔青霉素含量超标而出口受阻，降低了我国在该领域的国际竞争力。因此选育低产或不产生桔霉素的新红曲霉工业发酵菌株迫在眉睫。

相较于放线菌等原核生物，多核菌基因组更为庞大和复杂、在单一细胞内存在不同的细胞核，普通基因敲除方法难以实现目标基因的彻底敲除，目前尚未有高效的基因编辑方法应用于工业多核菌株。针对这一困境，研究人员构建了一种新的双质粒基因编辑系统：含密码子优化后的Cas9质粒和含有目的基因上下游同源臂的同源重组质粒。为了保证敲除效率，在Cas9质粒上引入了抗性基因和多核菌自主复制子。该方法成功实现桔青霉素生物合成基因簇（>15 kb）高效无痕删除。LC-MS检测结果表明，该方法得到的突变株经过10轮培养，仍未检测到桔青霉素，且红曲红色素产量比改造前提高了约5%。

微生物所助理研究员刘魏魏和博士后安春艳为论文共同第一作者，微生物所研究员高书山和美国莱斯大学化学与分子生物功能系助理教授高雪为共同通讯作者。该项目得到了国家重点研发计划、中科院战略性先导科技专项、国家自然科学基金以及中科院交叉创新平台等项目的支持。

论文链接



双质粒Cas系统的工作流程示意图

研究团队单位：微生物研究所

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发