

---

# 分子植物卓越中心水稻基因打靶技术研究获进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/10306.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！**

中国科学院分子植物科学卓越创新中心研究员朱健康领衔的研究团队，在植物基因组编辑领域再次取得重要进展。研究人员采用修饰后的DNA片段作为供体，在水稻上建立了一种高效的片段靶向敲入和替换技术，高至50%的靶向敲入效率将极大地方便植物的研究和育种。7月6日，相关研究成果在线发表在Nature Biotechnology上。

近年来，CRISPR/Cas介导的植物基因组定点编辑技术在农作物基因功能研究和精准育种中发挥了重要作用，展现了广阔的发展潜力和应用前景。然而，CRISPR/Cas介导的植物基因组定点敲除技术只能在基因组特定位点产生随机插入和删除，精准的片段插入和替换的效率一直很低，限制了其在植物研究和育种上的应用。因此，迫切需要建立更高效的植物基因组片段插入和替换技术体系。

植物基因组编辑是朱健康研究组的重点研究领域，近年来获得了一系列的进展。作为该领域的难题，片段的靶向敲入和替换是科研人员的重要研究目标，并围绕这一目标努力。在建立了病毒介导的同源重组（HDR）和各类单碱基编辑技术等多种方法的同时，科研人员开始尝试在供体DNA片段上寻找突破点，以克服现有方法效率低、应用范围窄等缺陷。核酸修饰在人的RNAi疗法和核酸疫苗等医学领域有广泛的应用。朱健康研究组通过尝试，发现将供体片段同时进行硫代修饰和磷酸化修饰后，能增强CRISPR/Cas9引导的靶向敲入效率（图1）。研究团队先后在14个基因位点上靶向敲入了各类调控元件，包括翻译增强子、转录调控元件，甚至整个启动子，供体片段最长达2049bp。通过对1393株各类T0代基因编辑水稻植株的分析发现，该方法的敲入效率可高达47.3%，平均效率为25%。高效的敲入效率甚至可以同时在四个位点上实现多基因靶向敲入。可以预计，该技术的建立将使靶向敲入成为一项和靶向敲除一样的常规实验，并被各个植物研究和育种单位广泛应用。

在此基础上，朱健康研究团队又设计了一种片段精准替换的策略，称之为重复片段介导的同源重组（TR-HDR）方法。常规的HDR频率极其低下，研究人员在前期的实验中发现，基因组上串联重复片段间的HDR频率非常高。利用这一现象，通过将修饰的片段靶向敲入至目标位点后，人为制造这种串联重复结构，诱导TR-HDR去实现片段替换。采用该技术，在五个基因位点上实现了片段替换和原位的Flag标签蛋白的精准融合，效率最高达到了11.4%（图2）。这一技术突破将有助于植物学研究，并促进农作物定向遗传改良的进程。

朱健康是论文的通讯作者，副研究员陆钰明和博士生田益夫为论文的共同第一作者。研究工作得到中科院相关经费的资助。

[论文链接](#)

## Modified DNA Donor (ADHE)



Phosphorothioate linkage: Prevents degradation

5' Phosphorylation: Facilitates NHEJ

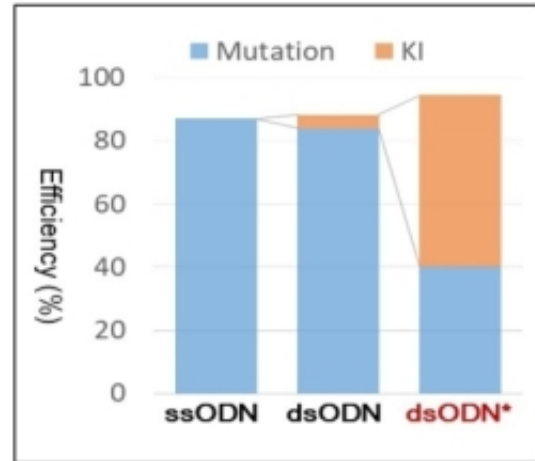
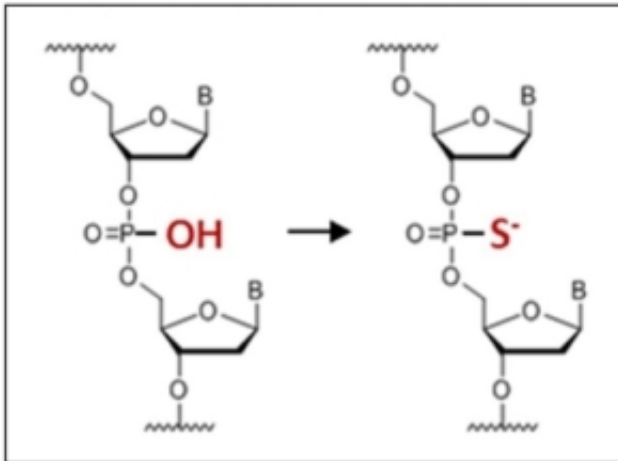


图1

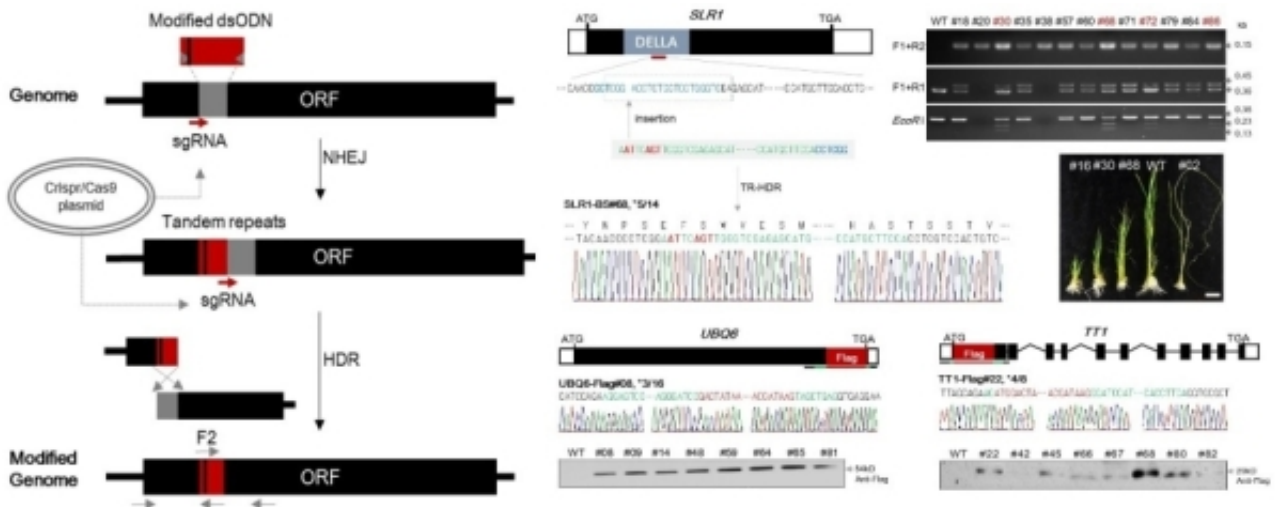


图2

研究团队单位：分子植物科学卓越创新中心

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](http://www.iikx.com)转发