遗传发育所开发出可预测的精细下调目标基因蛋白表达的新方法

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/22284.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！

遗传发育所开发出可预测的精细
下调目标基因蛋白表达的新方法
。基因编辑技术在植物中的开发和应用，为分子设计育种带来了革命性的变化。基于基因编辑技术建立基因精细调控的方法对于精准设计育种至关重要。目前应用最广泛的基因表达调控方法如CRISPR-Cas、CRISPRi和RNAi等技术，只能实现对基因的完全敲除或将基因的表达抑制到不可预测的水平。利用CRISPR-Cas9技术对启动子区域进行编辑，可以在转录层面将基因的表达调控至不同的水平，并产生大量不可预测的数量性状变异。而这种方法将耗费大量精力用以筛选理想的突变体。因此，开发新的能够可预测地精细调控基因表达的方法可以拓展现有的基因表达调控工具箱，为作物遗传改良提供有力的技术支撑。

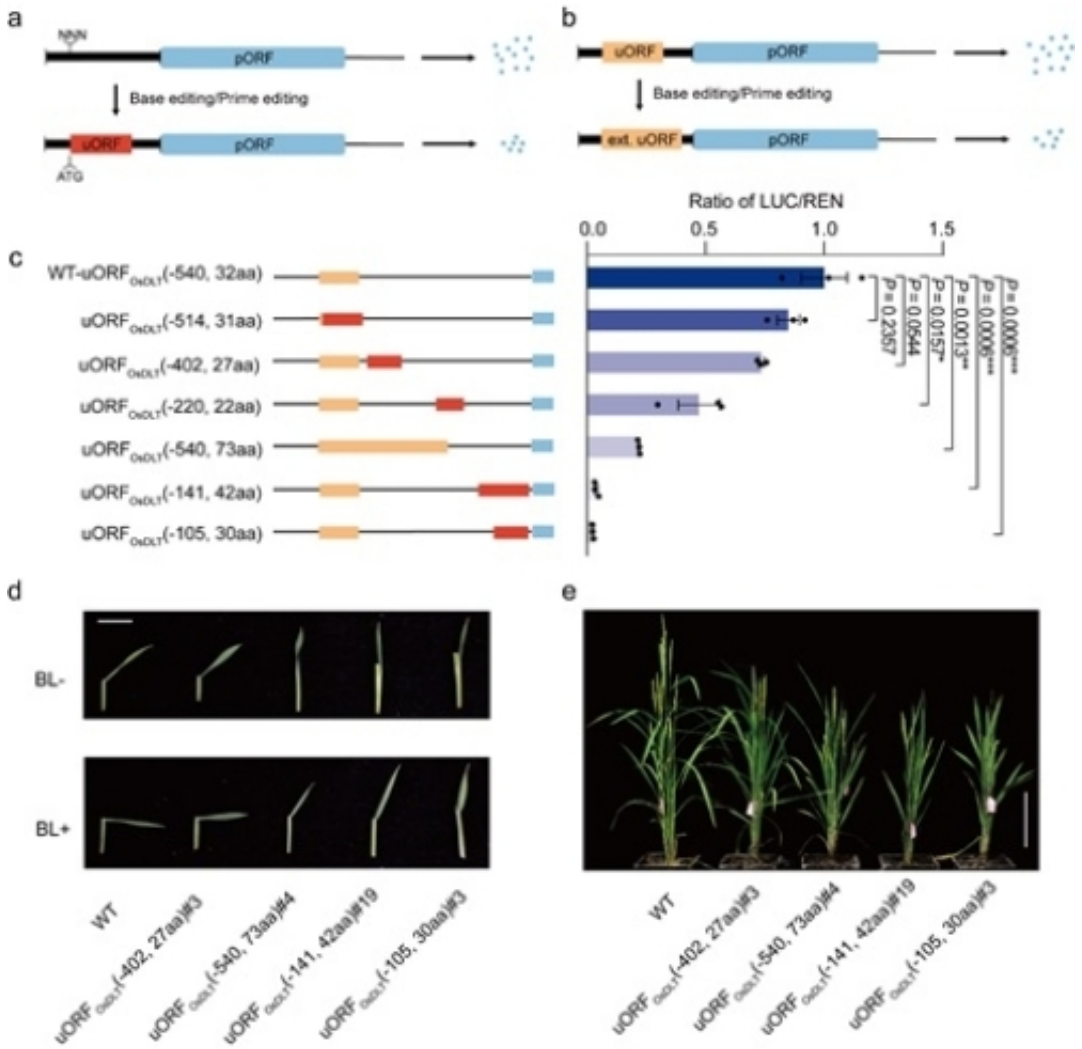
上游开放阅读框(upstream open reading frame，uORF)是真核生物mRNA上普遍存在的翻译调控元件，对基因主效开放阅读框(primary open reading frame，pORF)的翻译具有抑制作用。2018年，中国科学院遗传与发育生物学研究所高彩霞研究组率先利用CRISPR-Cas9技术对uORF进行编辑，建立了精细上调内源基因翻译的方法，并利用该方法培育出维生素C含量显著提高的生菜种质(Zhang et al., Nat. Biotechnol., 2018;Si et al., Nat. Protoc., 2020)。2020年，高彩霞研究组将这一技术应用于草莓的遗传改良，获得了梯度糖分的系列草莓新种质(Xing et al., Genome Biol., 2020)。近日，高彩霞研究组基于既往研究，进一步开发出能够可预测地精细下调目标基因蛋白表达的新方法。

uORF的长度及uORF与pORF之间的距离等多种因素均影响uORF对pORF翻译的抑制能力。因此，研究设想可通过以下两种策略抑制目标基因的翻译：一是在目标基因的5’非翻译区(5 untranslated region, 5’UTR)从头产生新的uORF;二是原位突变内源uORF的终止密码子以延伸其表达框长度。原生质体瞬时系统的结果表明，这两种策略可以有效地将pORF的翻译抑制到不同的水平，且对其mRNA的表达量几乎没有影响。此后，研究利用碱基编辑和引导编辑系统获得了含有新创制uORF或内源uORF被延伸的水稻突变体植株，通过对突变体植株的蛋白表达水平和表型进行检测，发现突变体中引入的uORF变体对目标蛋白表达和表型的影响与瞬时系统结果一致。

为了实现对目标基因的表达进行连续的梯度下调，本研究结合以上两种策略，分别在水稻的OsTCP19、OsTB1和OsDLT基因的5’UTR区域设计了一系列具有不同抑制能力的uORFs，瞬时系统的结果表明pORF的翻译水平被梯度地抑制到了原始水平的2.5-84.9%，实现了对基因的梯度敲降。OsDLT基因编码GRAS蛋白家族成员，参与水稻油菜素内酯信号转导途径，调控水稻株高、分

蘖数、种子大小等多个重要农艺性状。该研究以OsDLT基因为靶标，通过编辑OsDLT基因的5’UTR，获得了一组具有不同叶夹角、株高和分蘖数的突变体，且突变体的表型变化趋势与瞬时系统预测结果一致。

该研究通过对uORF进行设计，开发了一种普适的能够可预测地精细下调基因表达的新方法，为未来的分子设计育种提供了重要的技术手段。3月9日，相关研究成果在线发表在Nature Biotechnology上(DOI：10.1038/s41587-023-01707-w)。研究工作得到国家重点研发计划、中科院、农业农村部等的支持。



通过编辑uORF培育具有目标性状的水稻植株。(a、b)从头创制新的uORFs(a)或延伸内源uORFs(b)抑制目标基因的蛋白表达;(c)通过产生一系列具有不同抑制能力的uORFs梯度下调基因的表达;(d、e)含有uORFs变体的突变体对油菜素内酯的敏感性(d)和植株表型(e)。

研究团队单位：遗传与发育生物学研究所

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