
遗传发育所建立植物基因组高效C-T单碱基编辑新系统

作者：writer 来源：中国科学院

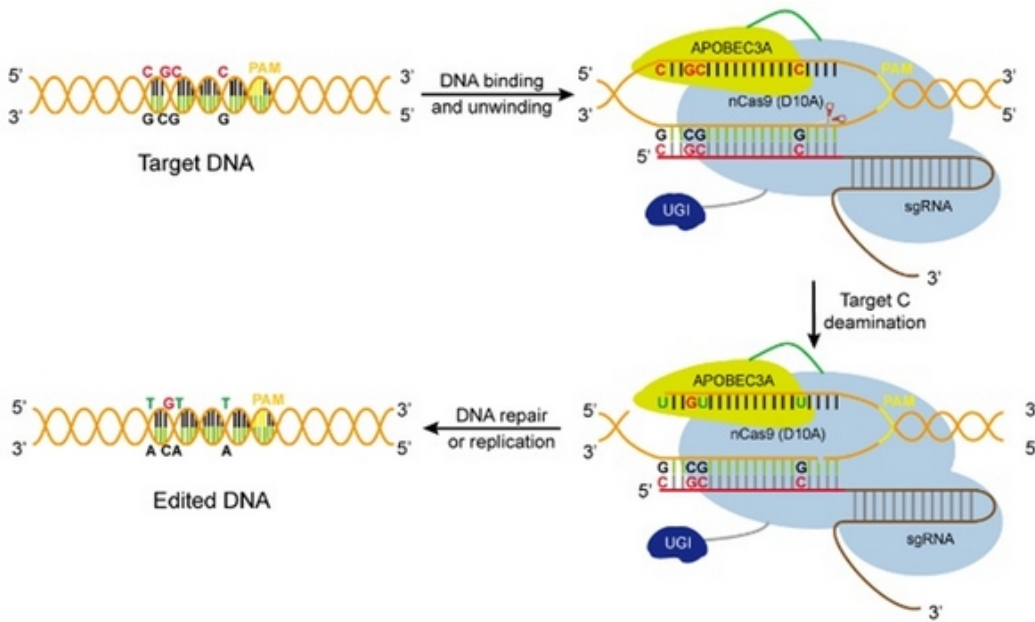
本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/2384.html>

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！

单碱基编辑技术(Base editor)是基于CRISPR系统的新型靶基因定点修饰技术，在不产生DNA双链断裂的情况下，利用胞嘧啶脱氨酶或人工进化的腺嘌呤脱氨酶对靶位点进行精准的单碱基编辑，从而实现C-T或A-G的替换。目前，基于融合大鼠胞嘧啶脱氨酶APOBEC1的BE3介导的C-T碱基编辑技术已广泛应用在植物中，但该系统仍然存在一定的缺陷，如编辑效率低、编辑的活性窗口相对狭窄以及对GC序列的编辑效率明显降低甚至没有编辑活性等，这些弊端限制了单碱基编辑系统在植物中进行精准和多样化突变的应用。

中国科学院遗传与发育生物学研究所高彩霞研究组前期将BE3应用于植物基因组单碱基编辑中(命名为PBE系统)(Zong et al, Nat. Biotechnol, 2017)。该研究在前期研究基础上利用Cas9变体(nCas9-D10A)融合人类胞嘧啶脱氨酶APOBEC3A (A3A)和尿嘧啶糖基化酶(UGI)，构成新的单碱基编辑系统A3A-PBE，成功在小麦、水稻及马铃薯中实现比PBE更加高效的C-T单碱基编辑。原生质体报告系统以及对小麦和水稻的10个内源基因靶点编辑结果表明，A3A-PBE编辑效率最高可达36.9%，平均C-T编辑效率为13.1%，比PBE的效率约高13倍；且此编辑系统脱氨化的窗口可覆盖靶序列的17个核苷酸，相比PBE增加了10个核苷酸的活性窗口。更重要的是，A3A-PBE的编辑不受GC序列的影响，依然有着高效的编辑活性，效率可高达42.1%。利用此技术体系，通过基因枪瞬时转化对小麦抗除草剂基因TaALS和对单倍体诱导基因TaMTL进行编辑，效率分别达到22.5%和16.7%，且TaALS突变体对除草剂表现出显著的抗性；通过农杆菌转化法在水稻中的编辑效率高达82.9%。此外，A3A-PBE可对马铃薯内源基因进行高效编辑，效果明显优于PBE，且通过原生质体再生获得了6.5%编辑效率的马铃薯突变植株。A3A-PBE碱基编辑系统具有高效、宽脱氨化窗口及对靶标C上文无序列偏好性等优势，可拓宽植物单碱基编辑的范围。该体系的建立对实现植物基因组大规模体内饱和突变，研究植物基因功能及基因调控元件作用等具有重要的技术支撑意义。

该研究成果于10月1日在线发表在《自然-生物技术》杂志上(Nature Biotechnology, DOI: 10.1038/nbt.4261)。高彩霞研究组的博士生宗媛和宋倩娜为该论文的共同第一作者。相关研究得到国家自然科学基金委、转基因专项以及中科院的资助。



A3A-PBE单碱基编辑系统工作原理示意图

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](https://www.iikx.com)转发