研究开发出植物高效精准大片段DNA操纵及染色体编辑技术

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/31366.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！

研究开发出植物高效精准大片段DNA操纵及染色体编辑技术。

基因组结构变异（SV）是植物遗传多样性的重要来源，也是基因组进化和优异农艺性状形成的重要驱动力。因此，探究如何高效精准地操纵植物基因组结构变异对植物性状改良和农业生物育种具有重要意义。目前，基于CRISPR/Cas的基因组编辑技术在植物性状改良中得到广泛应用。而这些技术的编辑尺度大部分情况下局限于少数几个核苷酸的替换、删除和插入。尽管CRISPR/Cas9结合双sgRNAs能够在植物中实现基因组大片段DNA的删除和倒位等操纵，但效率较低。同时，由于该策略依赖于DNA双链断裂（DSBs）产生，编辑产物常常引入较多非预期的编辑，甚至导致复杂的染色体重排。因此，开发不依赖于DSBs、高效且精准的植物大片段DNA和染色体操纵技术，对植物遗传改良具有重要意义，是植物染色体工程和生物育种技术创新的迫切需求。

近日，中国科学院遗传与发育生物学研究所王延鹏研究组与中国农业大学小麦研究中心科研人员合作，开发了高效且精准的植物基因组大片段DNA操纵技术——DualPE。DualPE能够在单子叶植物普通小麦以及双子叶植物本氏烟草和番茄中高效实现kb至Mb级的染色体片段精准无缝的删除、替换和倒位。DualPE具体开发思路为利用植物高效引导编辑系统，在目标编辑的染色体片段的两端以PAM-in形式创制一对反向的3′ DNA flaps。通过对上述两个3′ DNA flaps的序列和配对方式进行操纵，诱导细胞内的DNA修复方式发生相应改变，实现了染色体片段的精准无缝删除、替换和倒位。

进一步，针对双子叶植物在精准基因组编辑技术，尤其是大片段精准编辑工具开发方面的不足，该研究探讨了DualPE系统在双子叶植物中的编辑潜力。研究改造了适用于双子叶植物本氏烟草和番茄的引导编辑载体，分别使用2×35S和EF1α启动子来驱动ePPEplus蛋白的表达。进一步，实验验证发现，DualPE在本氏烟草叶片基因组中能够实现长达134.7kb的删除、1.6kb的删除、66bp的替换以及20.1kb的倒位。番茄原生质体和遗传转化结果表明，DualPE系统可以实现番茄基因组725bp-10kb的大片段删除、替换和倒位，效率达72.7%，并在T0代可获得高达27.3%的纯合精准大片段编辑突变体。

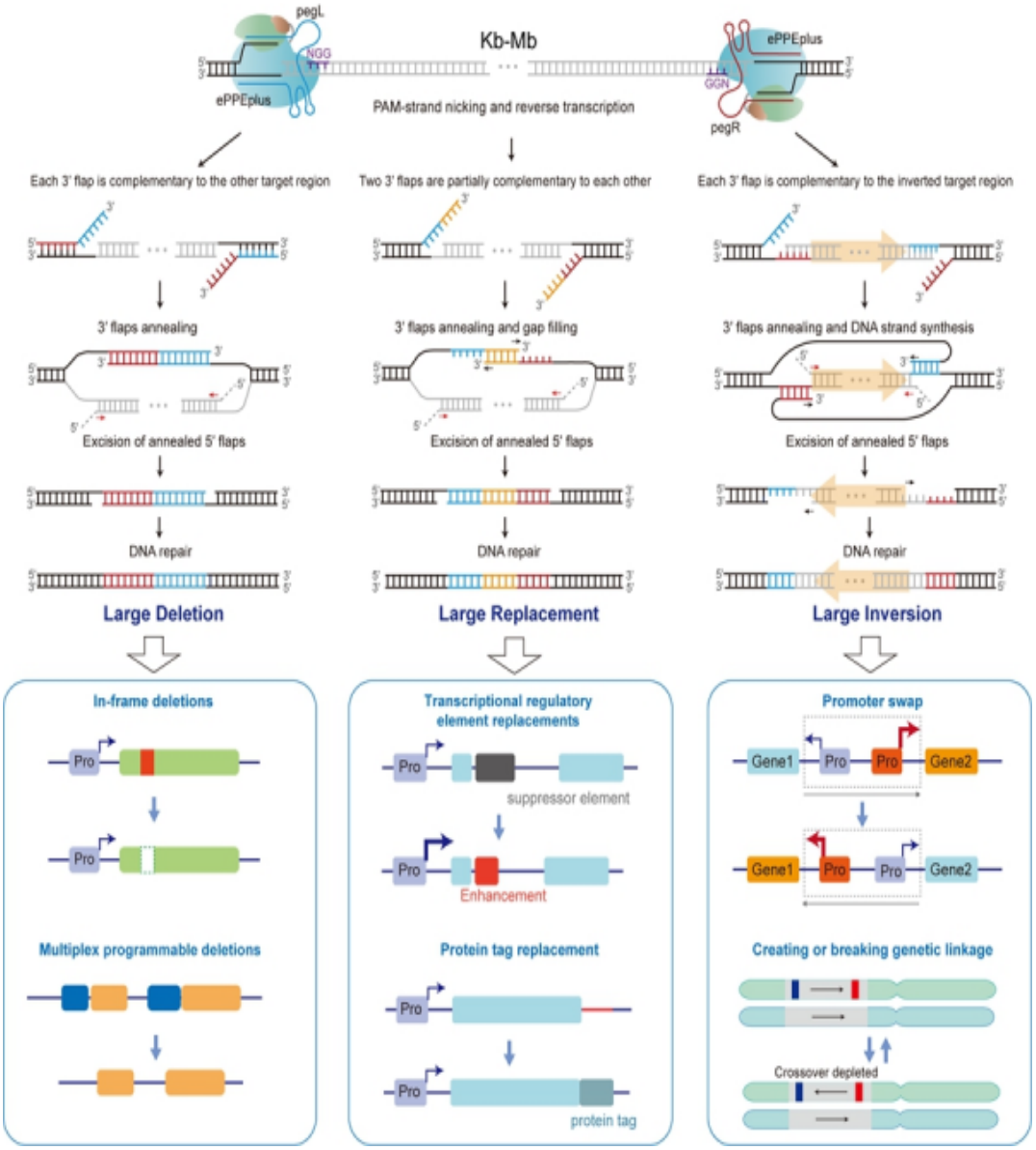
DualPE在单子叶植物小麦中表现出色，能够高效实现双子叶植物大片段DNA精准编辑，有望成为单双子叶植物染色体编辑的重要技术。

该研究开发了高效精准的植物大片段DNA操纵和染色体编辑技术，拓展了植物精准基因组编辑的尺度，为复杂染色体结构变异的创制提供了新策略。同时，这一成果为生物育种技术创新、植

物合成生物学研究、植物新性状乃至新型植物创制提供了技术支撑。

为方便用户简单、快速使用这一技术，科研人员开发了网页版设计工具DualPE-Finder（http://wheat.cau.edu.cn/DualPE_Finder/），以提供DualPE介导的大片段DNA编辑策略设计方案。

1月13日，相关研究成果以*Precise deletion, replacement, and inversion of large DNA fragments in plants using dual prime editing*为题，在线发表在《自然-植物》（*Nature Plants*）上。研究工作得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、农业农村部重大专项等的支持。



DualPE介导的植物染色体片段的无缝删除、替换和倒位

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