
CRISPR助力植物的定向演化

作者：writer 来源：科学网

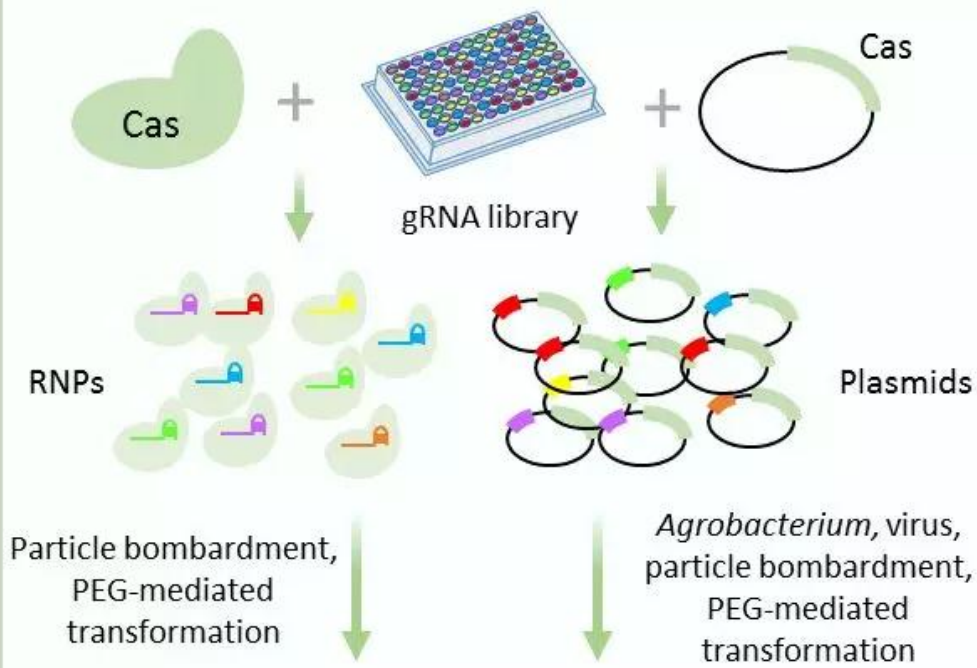
本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/5165.html>

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！

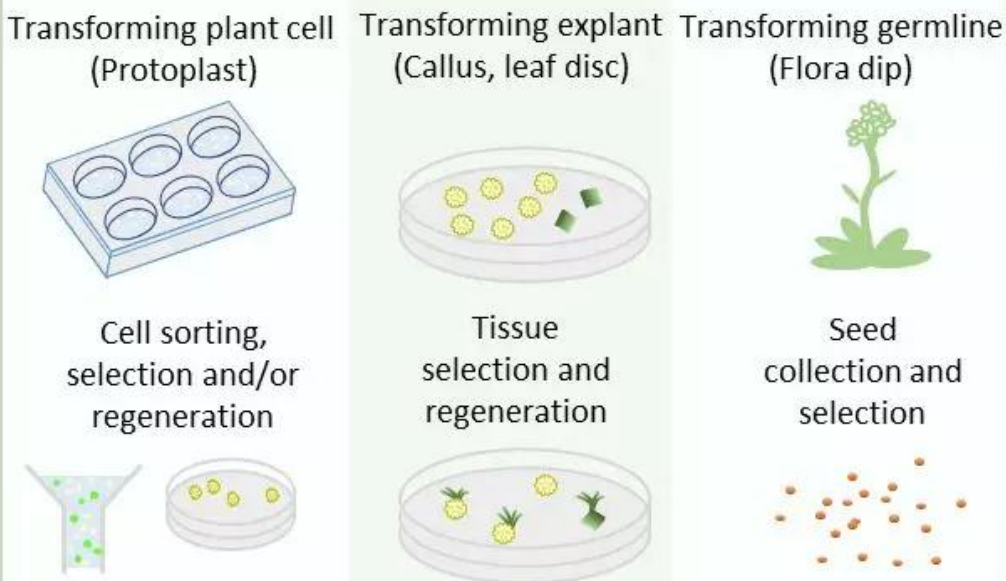
CRISPR助力植物的定向演化。2018年的诺贝尔化学奖颁给了弗朗西丝·阿诺德(Frances H. Arnold)，旨在奖励她在酶的定向演化研究中的先驱工作。该奖项的颁布同时也标注了定向演化在科学上的重要地位。定向演化在细菌和酵母这些模式生物中非常常见，人们也尝试在人类细胞、病毒或DNA载体系统中进行定向演化。与此同时，定向演化在植物研究领域也有着巨大的研究价值。首先是由于植物的超多能分化性(pluripotency)使这种策略的可行性大大提高;其次丰富的植物物种为人类提供大量的食物来源，使得定向演化存在潜在的经济学价值。

近日在Genome Biology 上发表的来自Magdy M. Mahfouz 研究组(King Abdullah University)的概念验证型研究，为我们展示CRISPR基因编辑技术可以被用来助力水稻的定向演化。

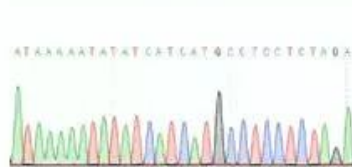
CRISPR library construction



Plant transformation



Genotyping and mutant characterization



Mutation analysis



Protein characterization



Phenotypic characterization

水稻OsSF3B1是一个真核细胞物种保守基因，并在生物的RNA剪接中起到非常重要的作用。在人类疾病中，SF3B1是肿瘤治疗的一个靶标，在农作物中，RNA剪接抑制剂是一种有效的除草剂。Mahfouz研究组率先设计针对OsSF3B1基因的15,000个sgRNA，从而使用CRISPR-Cas9技术产生了相应数量水稻愈伤组织库。经过RNA剪接抑制剂GEX1A的培育筛选，21株拥有GEX1A抗性的修复体产生了。进一步的研究发现抗性的产生主要源于OsSF3B1基因1-10个氨基酸的丢失。机制研究显示，突变体很可能随着这几个氨基酸的丢失而与RNA抑制剂产生了不一样的相互作用。由于这些氨基酸所在功能域可能对抗性有着特殊意义，研究组又针对HEAT重复域设计了愈伤组织库，定向演化效率大大升高。

这一研究对于农作物育种有着不一样的意义，为农业产出以及食物安全问题提供了一种新颖且具备可行性的方案。农作物育种的方向通常是提高或改变其除草剂抗性、光合作用、生物性与非生物性压力抗性等，而CRISPR辅助的定向演化方法为这些育种方向提供了新的平台。虽然目前看来，定向演化常被用来筛选蛋白质，表达调控的顺式作用元件也可以作为下一步的定向演化靶标。此外，将相关技术向动物个体的定向演化领域拓展也会是非常有趣的议题。

若想进一步提升演化效率，有很多策略可以用来提高筛选尺度：例如选择不同PAM结构、不同Cas9蛋白或是使用基于Cas12a、Cas12b的CRISPR系统。真核生物体内定向演化的未来充满了各种可能，而有了基因编辑系统的助力，前景将更加广阔。

摘要：

Increasing genetic diversity via directed evolution holds great promise to accelerate trait development and crop improvement. We developed a CRISPR/Cas-based directed evolution platform in plants to evolve the rice (*Oryza sativa*) SF3B1 spliceosomal protein for resistance to splicing inhibitors. SF3B1 mutant variants, termed SF3B1-GEX1A-Resistant (SGR), confer variable levels of resistance to splicing inhibitors. Studies of the structural basis of the splicing inhibitor binding to SGRs corroborate the resistance phenotype. This directed evolution platform can be used to interrogate and evolve the molecular functions of key biomolecules and to engineer crop traits for improved performance and adaptation under climate change conditions.

论文标题：CRISPR directed evolution of the spliceosome for resistance to splicing inhibitors

期刊：Genome Biology

作者：Haroon Butt, Ayman Eid, Afaq A. Momin, Jeremie Bazin, Martin Crespi, Stefan T. Arold and Magdy M. Mahfouz

数字识别码：10.1186/s13059-019-1680-9

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://iikx.com)转发