

# 葡萄基因编辑的魔法「剪刀」——CRISPR/Cas9

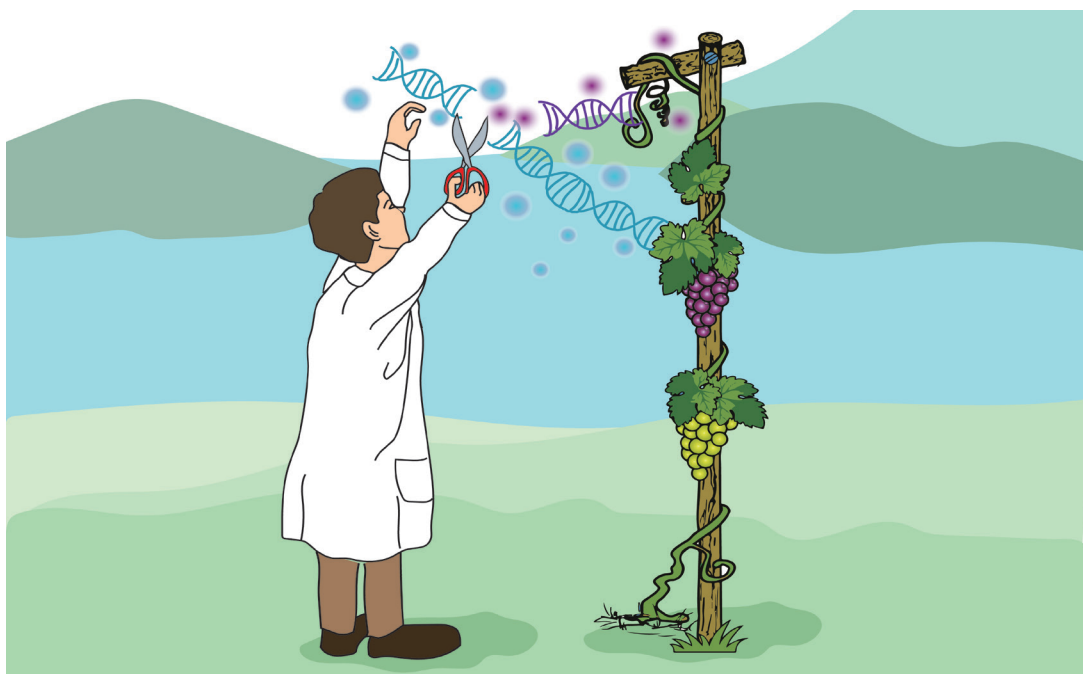
撰文  
段伟

基因编辑是近年来发展起来的对基因组进行精确修饰的一种技术,可实现特定DNA碱基或片段的敲除、外源DNA片段的敲入等,是农作物基因功能研究和遗传改良的重要辅助工具。它就像一把神奇的剪刀,可以根据育种需求精确地“裁剪”或“缝制”控制性状的基因。

目前,这把魔力“剪刀”主要有3种“剪法”技

术: 锌指核酸酶 (zinc-finger nuclease, ZFN)、转录激活子样效应因子核酸酶 (transcription activator-like effector nucleases, TALEN) 以及规律性间隔短回文序列重复簇 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins, CRISPR/Cas) 技术。当前备受瞩目的是2013年由美国两个实验室发明的CRISPR/Cas9基因定向编辑系统。CRISPR/Cas9技术只需设计和目标核酸互补配对的Guide RNA序列,利用这些靶点特异性的Guide RNA将Cas9核酸酶这把“剪刀”带到基因组上的特定靶位点进行DNA的切割。与之前发明的TALEN和ZFN技术相比,CRISPR/Cas9技术操作简单、效率高以及成本低,是目前广泛使用的新一代基因编辑技术。

传统葡萄育种是通过选择适宜的父母本进行杂交,人工筛选优良性状的子代。这种传统的育种方式耗时费力,尤其对于多年生葡萄来说,选育出一个优良品种是一个极其漫长的过程,且效率低。和其他生物一样,功能基因调控了葡萄形态、生长发育、产量、果实大小与品质、抗性等所有的表型,因此弄清葡萄的基因图谱及关键基因的功能,是实现基因编辑并获得研究者所期

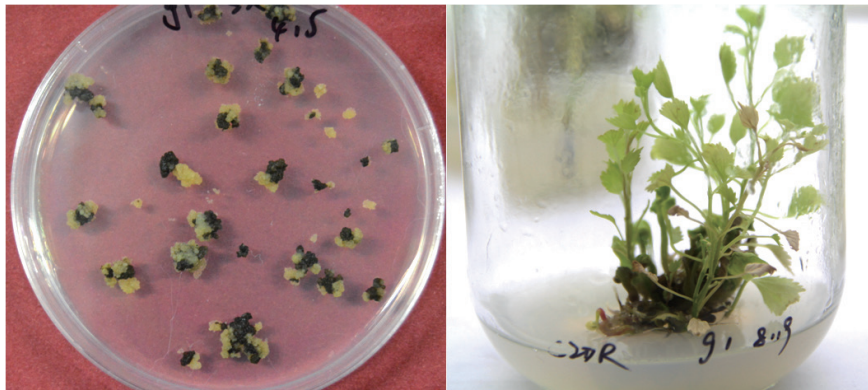


绘图 / Tianyi

待的表型性状植株的关键。2007年葡萄基因组测序工作完成,并获得了高质量基因组草图,为科研工作者利用基因编辑技术对葡萄进行基因编辑获得新品种打下了坚实的基础。

近年来,CRISPR/Cas9系统已成功用于水稻、小麦、大豆、玉米等农作物基因敲除,在柑橘、苹果等果树中也有成功应用。然而,该系统在葡萄中鲜有报道。2017年中国科学院植物研究所在国际上首次建立了对葡萄悬浮细胞CRISPR/Cas9基因编辑技术。利用CRISPR/Cas9对葡萄酒石酸合成的关键酶基因进行了敲除,成功降低了葡萄细胞中酒石酸的含量,证明了CRISPR/Cas9技术在葡萄中的可行性,对未来葡萄基因改良具有重要意义。

由于葡萄基因编辑中基因依赖型、再生效率等问题的限制,CRISPR/Cas9基因编辑技术还不能广泛在不同基因型的葡萄品种上应用并



利用CRISPR/Cas9对葡萄酒石酸合成的关键酶基因进行敲除后,获得的‘霞多丽’细胞和植株 供图/任冲

进行商业化推广。相信随着基因编辑的魔法剪刀手CRISPR/Cas9等新型基因编辑技术的迅猛发展,在葡萄学研究领域,可以实现定向育种,培育出高产、抗逆的葡萄新品种将会成为现实。

#### 作者简介

段伟,中国科学院植物研究所,博士,高级工程师,主要研究领域为葡萄遗传转化体系的建立。

(责编 桑新华)



宁夏栽培的‘北红’3年生植株结果状况 供图/李绍华