



利用基因组编辑定点敲除水稻*BADH2*基因创制香米新种质

完成人：高彩霞、单奇伟、陈坤玲等
完成单位：中国科学院遗传与发育生物学研究所

项目简介

香米是一种具有特殊芳香气味的优质稻种，培育高产优质的香米品种具有重要意义。香米中富含一种芳香化合物，2-乙酰基-1-吡咯啉（2AP）。研究表明*BADH2*是控制米香的决定基因，香稻中*BADH2*基因的自然变异导致2AP合成的前体化合物 γ -氨基丁酸醛（GABald）大量积累，进而转化成2AP（如图1a）。因此通过TALEN基因组编辑定向敲除普通水稻*BADH2*基因，改变其代谢途径，可以促使2AP在稻米中大量合成，从而开发一种新的香米育种方法。

我们设计了TALEN核酸酶，它可以准确识别并切断*BADH2*基因特定序列，利用细胞非同源末端连接（NHEJ）修复机制产生基因功能缺失突变。利用农杆菌介导的水稻转化方法，从T₀代中筛选出6个杂合的*badh2*水稻突变体。DNA测序发现在TALEN靶位点处含有1至12bp不等的核苷酸删除突变（图1b）。质谱色谱联用仪（GC-MS）测定的稻米2AP含量表明：纯合*badh2*突变株系稻米中均检测到较高的2AP，与阳性对照香米稻花香2AP浓度相当或略高；而在阴性对照日本晴中未检测到2AP（图1c）。这些突变体株系除了在*BADH2*基因位点删除了1bp外，与转基因受体材料日本晴完全相同。此外，我们在优良水稻品系LPK中也获得较高的突变效率，进一步证明这对TALEN在不同水稻品种中的广适性。

项目的意义在于证明TALEN技术在农作物品种定向改良中的重要作用。通过设计具有位点特异性的TALEN核酸酶，敲除作物中负调控产量、品质、抗逆性等重要基因，从而获得农艺性状极大改良的突变株，再分离筛选出不含转基因载体的后代。基因组编辑育种技术即克服了传统杂交育种周期长，工作量大，与不良性状连锁遗传等弊端；也削弱了转基因技术引发的生物安全性或转基因沉默等问题，代表未来农作物分子设计育种的新趋势。

获得专利

水稻基因*BADH2*的定点敲除系统及应用：ZL201210548714.7

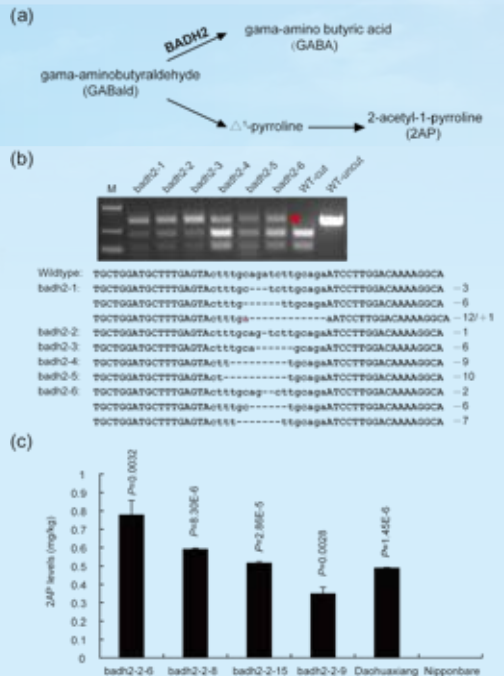


图1 TALEN技术敲除水稻*BADH2*基因创制香米新种质

