



54	植物	タバコ、コメ	CRISPR/Cas9	?	Sci. Rep.	Efficient targeted mutagenesis of rice and tobacco genomes using Cpf1 from <i>Francisella novicida</i> .	2016	6, 38169.	Francisella novicidaに由来するCpf1 (FnCpf1)が植物のゲノム編集に利用できるかをタバコとコメにおいて評価した。FnCpf1とcrRNAを発現するトランスジェニック植物ではターゲティングによる変異が起きた。欠失が一番頻繁に起きる変異だった。FnCpf1は植物のゲノム工学に利用できる。	[Endo A et al.] Plant Genome Engineering Research Unit Institute of Agrobiological Sciences Tsukuba 日本
55	植物	トウモロコシ	CRISPR/Cas9	liguleless1 (LIG), acetolactate synthase (ALS2), 2つの雄の妊性遺伝子 (MS26 and MS45)	Nat. Commun.	Genome editing in maize directed by CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein complexes.	2016	7, 13274.	予め結合させておいたCRISPR-Cas9リボヌクレオプロテインをトウモロコシの胚の細胞へ導入して、変異を含み編集された対立遺伝子を有する植物を再生したことを我々は報告する。この導入方法を使って、トウモロコシにおいてDNAと選択マーカーを利用しない変異導入と変異を持つ対立遺伝子を有する植物を高頻度で再生できることも証明する。この方法は広範な種類の穀物において育種を加速するための新しい機会を作る。	[Svitashev S et al.] Trait Enabling Technologies, DuPont Pioneer, Johnston 米国
56	植物	コムギ	CRISPR/Cas9	TaGASR7の3つの相同遺伝子 (TaGASR7-A1, -B1, -D1)	Nat. Commun.	Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA.	2016	7, 12617.	DNAまたはRNAとして導入したCRISPR/Cas9を一過的に発現するカラスの細胞から植物を再生する2つの単純で効率的なゲノム編集の方法を我々は報告する。この一過性の発現に基づくゲノム編集システムはT0世代で外来遺伝子を含まずホモ接合性的小麦変異体を作ることにおいてとても効率的で特異的である。私たちのプロトコルを6倍体のパン小麦と4倍体のデュラム小麦において証明して、検出できる外来遺伝子を含まずに変異体を作成できることを示す。我々の方法は他の植物種にも応用できるかもしれない。したがって、この方法は基礎と応用の植物ゲノム工学の研究を加速する潜在能力を提供する。	[Zhang Y et al.] State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 中国
57	植物	リンゴ	CRISPR/Cas9	phytoene desaturase	Sci. Rep.	Efficient genome editing in apple using a CRISPR/Cas9 system	2016	6, 31481.	果樹でのゲノム編集はまだ確立されていない。本研究では、CRISPR/Cas9システムを使ってリンゴの内在性phytoene desaturase (PDS) 遺伝子にターゲティングによる変異を導入した。4つのgRNAを設計してCas9とは別にリンゴを安定的に形質転換した。1つのgRNAでは、鮮やかで部分的なアルビノの表現型が再生した植物の31.8%で現れて、PDSの2つの対立遺伝子に変異が入っていることをDNAシーケンシングによって確認した。18 bpのgRNAを使ってもターゲティングによる変異を導入できた。リンゴにおいてゲノム編集ができることを証明した。	[Nishitani C et al.] NARO Institute of Fruit Tree and Tea Science Tsukuba 日本
58	植物	ケシ	CRISPR/Cas9	4'OMT2	Sci. Rep.	Manipulating the Biosynthesis of Bioactive Compound Alkaloids for Next-Generation Metabolic Engineering in Opium Poppy Using CRISPR-Cas 9 Genome Editing Technology.	2016	6: 30910	ケシにおいてCRISPR/Cas9システムを使ってNH <sub>2</sub> EJによってベンジルイソキノリンアルカロイド (BIA) の生合成を制御する遺伝子4'OMT2をノックアウトした。BIA (例えば、モルヒネ、テバイン) の生合成はトランスジェニック植物において大きく減少しており、4'OMT2は効率良くノックアウトされたことを示唆する。ゲノム編集をした植物においてのみ新規の同定されていないアルカロイドが見られた。医薬品用で芳香植物においてCRISPR/Cas9システムが適用できることを初めて示した。	[Alagoz Y et al.] Department of Biology, Faculty of Science, Çankırı Karatekin University トルコ
59	植物	ベンサミアナタバコ	TALEN	ALS2	U.S. Pat. Appl. Publ.	Agrobacterium-mediated plant genome modification without integration of T-DNA	2016	US 20160222395 A1	T-DNAの挿入を伴わないアグロバクテリウムを使った植物のゲノムの修飾を記載する。ベンサミアナタバコのALS2遺伝子においてTALENを使って変異を導入する方法を作った。	[Stoddard T et al.] Collectis フランス
60	植物	コムギ	CRISPR/Cas9, TALEN, ZFN	?	PCT Int. Appl.	Transient expression of site-specific nuclease genes in plant tissues for targeted mutagenesis.	2016	WO 2016116032 A1 20160728.	植物の細胞または組織で部位特異的なヌクレアーゼの遺伝子を一過的に発現させることによって部位特異的な変異を導入する方法を記載する。この方法はCRISPR/Cas9, TALEN, ZFNを使ってよい。小麦のプロトプラストへCRISPR/Cas9システムの成分を導入するために小麦U6およびUbi遺伝子のプロモーターを含んだ先行技術の発現ベクターを使った。	[Gao C et al.] Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences 中国
61	植物	コムギ、コメ	CRISPR/Cas9	Ms26	PCT Int. Appl.	Restoration of male fertility in wheat.	2016	WO 2016100309 A1	多重ゲノムの雄性対立遺伝子の相互作用のために倍体の種において雄性的な操作は注意が必要である。雄性的な野生型Ms26または外来遺伝子の十分な発現によって回復するかもしれない。その遺伝子はコムギまたは他の種に対して野生型であっても、野生型と外来の対立遺伝子の組み合わせでもよい。コムギまたはコメのMs26に変異を導入するためにCRISPR/Cas9の技術を使ってよい。	[Cigan A et al.] Pioneer Hi-Bred International Inc. 米国
62	植物	?	CRISPR/Cas9, TALEN, ZFN	?	Curr. Genomics	Genomics Approaches for Improving Salinity Stress Tolerance in Crop Plants.	2016	17(4), 343-357.	塩分は世界的に穀物の生産を減らしている主要な因子の1つである。塩分への植物の反応はとも複雑で、多くの遺伝子を含む。ゲノムが過去10年に大きく進歩して、穀物の改良に必要な知識が得られるようになった。新しい技術を使ってストレスに耐性な穀物を作ることができて、CRISPR/Cas9, TALEN, ZFNといったゲノム編集も利用できる。	[Nongpiur RC et al.] Stress Physiology and Molecular Biology Laboratory, School of Life Sciences, Jawaharlal Nehru University, New Delhi インド
63	植物	コメ	CRISPR/Cas9	MIRNA393b	Faming Zhuanni Shengqing	Gene editing method for knocking out rice MIRNA393b stem-loop sequence by using CRISPR-Cas9 system.	2016	CN 105647962 A 20	本発明はトランスジェニックコメを構築することに関連しており、MIRNA393b stem-loop配列をCRISPR/Cas9システムによってノックアウトするための遺伝子編集の方法を提供する。変異型の植物は大量の種子を得るために使えて、COMIRNA393b遺伝子の機能を研究するための理想的な材料になる。	[Bian H et al.] Zhejiang University 中国
64	植物	ベチュニア	CRISPR/Cas9	nitrate reductase	Plant Cell Rep.	Site-directed mutagenesis in Petunia × hybrida protoplast system using direct delivery of purified recombinant Cas9 ribonucleoproteins	2016	35(7):1535-44	ベチュニアを材料として、プロトプラストに精製した組換えCas9タンパク質及び標的(nitrogen reductase, NR)特異的なsgRNAを導入した。RGEN RNPの一過的導入ののち、T7E1アッセイによって標的部位の変異を検出し、標的部位に対する塩基配列解析で確認を行った。T7E1アッセイの結果、NR1,2,4,6の4部位で2.4-21%の頻度で変異が生じ、平均変異導入率は14.9±2.2%であった。変異導入を行ったプロトプラストに対する塩基配列解析では、5.3-17.8%、平均11.5±2%の頻度で変異が確認された。また、欠損と挿入の割合は63:37であった。RGEN RNPのプロトプラスト細胞への直接導入は植物での標的変異導入、ゲノム編集に有用であることが示された。	[Subburaj S et al.] Department of Horticultural Science, Chungnam National University 韓国
65	植物	ダイズ	CRISPR/Cas9, TALEN	GmPDS11, GmPDS18	J. Biotechnol.	Efficient targeted mutagenesis in soybean by TALENs and CRISPR/Cas9.	2016	217:90-7.	大豆のGmPDS11およびGmPDS18遺伝子を標的として、TALENおよびCRISPR/Cas9による遺伝子編集を行い、その効率を比較した。その結果、大豆毛根における一遺伝子破壊の効率はTALENでは17.5-21.1%、AtU6-26プロモーター-CRISPR/Cas9では11.7-18.1%、GmU6-16g-1プロモーターでは43.4-48.1%であった。また、2遺伝子破壊の場合では、TALENでは6.25%、CRISPR/Cas9では、AtU6-26プロモーターでは12.5%、GmU6-16g-1プロモーターでは43.4-48.1%と複数遺伝子の同時編集ではCRISPR/Cas9の方が優位であることを示した。また、PDの破壊によって、アルビノや矮性変異が子葉節において認められた。	[Du H et al.] National Center for Soybean Improvement, National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University 中国
66	植物	トマト	CRISPR/Cas9	?	J. Vis. Exp.	High-throughput CRISPR Vector Construction and Characterization of DNA Modifications by Generation of Tomato Hairy Roots.	2016	(110). doi: 10.3791	CRISPR/Cas9技術を使うベクターは作成に多くの段階が必要で数日かかる。ここに示した方法は、DNAの集合に基づき、1回のクローニング反応によって完全な機能を有するCRISPRベクターが作成できる。CRISPRベクターをトマト毛根に形質転換して、標的DNAを修飾したトランスジェニック体を作成した。	[Jacobs TB et al.] Institute for Plant Research, Cornell University 米国
67	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	14個の遺伝子座	PLoS One	Genome-wide assessment of efficiency and specificity in CRISPR/Cas9 mediated multiple site targeting in Arabidopsis.	2016	11(9), e0162169/1-e0162169/11.	Cas9を使って大きな遺伝子ファミリーに対して同時にマルチプレックスで変異を導入することは農業と植物科学全体に革命をもたらす可能性がある。本研究では、アラビドプシスの141の遺伝子座を同時にターゲティングした植物を集めたものについてディープシーケンシングを行った。そして、マルチプレックスのターゲティングは標的部位に対して高度に特異的であり、オフターゲット切断は検出されないことを証明する。また、染色体の転座はほとんど起きない。	[Peterson BA et al.] Department of Biology, University of North Carolina at Chapel Hill 米国
68	植物	?	CRISPR/Cas9	OsGSTU37	Faming Zhuanni Shengqing	Rice cadmium-resistant gene GSTU37 and its application	2016	CN 105755021 A 20160713.	本発明は、グルタチオンS-トランスフェラーゼをコードするコメのカドミウム耐性遺伝子GSTU37のタンパク質とヌクレオチド配列を開示する。この遺伝子を利用して植物のカドミウム耐性を改良する方法を提供する。また、CRISPR/Cas9の遺伝子編集の技術を利用してOsGSTU37をノックアウトする方法を提供する。	[Qin R et al.] Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences 中国
69	植物	コメ	CRISPR/Cas9	PDS3, YSA, DEP1	Mol. Plant	A Single Transcript CRISPR-Cas9 System for Efficient Genome Editing in Plants.	2016	9(7), 1088-1091.	多くの場合にCas9はPol IIプロモーターによって、sgRNAはPol IIIプロモーターによって制御されるが、問題がある。本研究ではCas9とsgRNAの両方をPol IIプロモーターによって制御する方法を試した。Cas9, sgRNA, 自己分解するリボザイムを単一の転写単位として植物において共発現させることを試した。シスに作用するリボザイムによってmRNAは切断されてCas9とsgRNAは分離する。Cas9 mRNAは翻訳されてsgRNAと機能的な複合体を作る。	[Tang X et al.] Department of Biotechnology, School of Life Sciences and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 中国
70	植物	タバコ	CRISPR/Cas9	gfp (model target)	bioRxiv	RNA-guided endonuclease-driven mutagenesis in tobacco followed by efficient fixation of mutated sequences in doubled haploid plants.	2016	42291/1-42291/23.	胚を形成する花粉の培養からの再生は、部位特異的な変異導入に続いて多くの遺伝的に固定された変異体を迅速に作成するための便利な方法を提供する。有性生殖では伝達されない誘導した変異を体細胞の組織からの栄養植物再生によって回収できる。	[Schedel S et al.] Plant Reproductive Biology Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben ドイツ
71	植物	コメ	CRISPR/Cas9	?	Sci. Rep.	Selection of highly efficient sgRNAs for CRISPR/Cas9-based plant genome editing.	2016	21451	植物においてsgRNAの効率を評価する方法がない。sgRNAのヌクレオチド配列と二次構造に基づいて、効率的なsgRNAを設計する基準を設けた。多くのsgRNAカセットの組み立てを促進するために、植物においてマルチプレックスの編集のためにCRISPR/Cas9-sgRNAシステムを迅速に構築するための新しい戦略も作った。この発現ベクターを使ってコメのゲノム編集を行うと、標的部位の82%に変異が見出された。	[Liang G et al.] Key Laboratory of Tropical Plant Resources and Sustainable Use, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Kunming 中国
72	植物	?	CRISPR/Cas9	EPSPS	PCT Int. Appl.	Methods for producing plants resistant to glyphosate herbicides using guide RNA/Cas9 endonuclease systems in generating EPSPS gene mutants.	2016	WO 2016007347 A1 20160114.	本発明はグリホサフェートなどのホスホメチルグリシニドファミリーの除草剤に耐性な変異植物の生産を含む。本発明は細胞のEPSPSヌクレオチド配列を編集するための化合物と方法を提供する。本方法はCas9とsgRNAを利用する。	[Djukanovic V et al.] E. I. du Pont de Nemours and Company 米国
73	植物	タバコ	CRISPR/Cas9	gfp (model target)	Front. Plant Sci.	RNA-Guided Cas9-Induced Mutagenesis in Tobacco Followed by Efficient Genetic Fixation in Doubled Haploid Plants.	2016	7, 1995.	タバコの種ではCas9によって誘導された変異の遺伝は証明されていない。In vitroで培養された胚を形成する花粉からの再生によってホモ接合体の変異体が発現し、有性生殖よりも効率良く生産された。胚を形成する花粉の培養は、部位特異的な変異誘導の後で遺伝的に固定した変異体を多数迅速に得るための便利な方法である。	[Schedel S et al.] Plant Reproductive Biology, Physiology and Cell Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben ドイツ
74	植物	コメ	CRISPR/Cas9, TALEN	?	Methods Mol. Biol.	Targeted Mutagenesis in Rice Using TALENs and the CRISPR/Cas9 System.	2016	1469, 123-35.	コメを含むいくつかの植物種では培養細胞へ配列特異的なヌクレアーゼの発現コンストラクトをアグロバクテリウムを使って導入することがターゲティングによる変異導入のための現実的な手段である。好ましい変異を持った再生植物を得るためには高頻度に変異を起こす細胞系列を同定することが重要である。	[Endo M et al.] Plant Genome Engineering Research Unit, Agroinformatics Research Center, National Institute of Agrobiological Sciences 日本
75	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	?	Methods Mol. Biol.	CRISPR/Cas-Mediated Site-Specific Mutagenesis in Arabidopsis thaliana Using Cas9 Nucleases and Paired Nickases.	2016	1469, 111-22.	Cas9ヌクレアーゼを応用してアラビドプシスにおいて遺伝子ターゲティングの変異を誘導することを述べる。これは他の植物種においても使えるかもしれない。オフターゲット活性の懸念に取り組むために、一対のCas9 nickaseを使って安定な変異体を作ることも述べる。	[Schiml S et al.] Botanical Institute II Karlsruhe Institute of Technology Karlsruhe ドイツ

76	植物	単子葉、双子葉	CRISPR/Cas9	?	Curr. Protoc. Mol. Biol.	CRISPR/Cas9-Based Multiplex Genome Editing in Monocot and Dicot Plants.	2016	115, 31.6.1-31.6.2	CRISPR/Cas9ベクターシステムを使って単子葉、双子葉植物において高度に効率的なマルチプレックスのゲノムターゲティングの手順を示す。ゴールデンゲイトライゲーションを使う1回のクローニングによって多くのsgRNA発現カセットを含むバイナリーコンストラクトの構築を強調する。直接的なサンガーシーケンシングとそれに続くウェーブに基づく道具であるDSDecodeを使って2対立遺伝子のまたはヘテロ接合体の変異を含む重ね合わせられたシーケンシングのクロマトグラムの解釈によって、トランスジェニック植物のターゲティングによる変異の遺伝子型解析も記述する。	[Ma X et al.] State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Guangzhou 中国
77	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	ABP1	Plant Physiol.	An Effective Strategy for Reliably Isolating Heritable and Cas9-Free Arabidopsis Mutants Generated by CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing.	2016	171(3), 1794-800.	Cas9を含まないT2種子の簡単に視覚的なスクリーニングを示す。これによって、T2世代においてCas9を含まないアラビドプシスの変異体を迅速に得ることができ、標的領域の近くで変異を持つ多くのT1植物を得たが、その中の一部のT2世代ではCas9を含まないabp1変異をもたらした。Cas9を含まない変異体のabp1対立遺伝子はすべて安定で遺伝した。	[Gao X et al.] Section of Cell and Developmental Biology, University of California San Diego 他 米国、中国
78	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	AGAMOUS第2イントロン	Plant methods	Efficient multiplex mutagenesis by RNA-guided Cas9 and its use in the characterization of regulatory elements in the AGAMOUS gene.	2016	12, 23.	アラビドプシスにおいて花の発達のための遺伝子AGAMOUSの第2イントロンの一部を欠失させると、スプライシングは変わらず、遺伝子の発現が40%減少した。このことは、この領域はAGAMOUS遺伝子発現のアクセッサーとして機能することを示す。我々が修飾したRNAに導かれるCas9システムは植物においてコード領域、非コード領域の機能解明のための融通のきく道具を提供する。	[Yan W et al.] Institute for Biochemistry and Biology, Potsdam University, Potsdam, ドイツ
79	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	IAA2	Yi Chuan	Rapid construction of multiple sgRNA vectors and knockout of the Arabidopsis IAA2 gene using the CRISPR/Cas9 genomic editing technology.	2016	38(8), 756-764	Cas9システムにおいて1つのsgRNAを使うよりも多くのsgRNAを使うと、遺伝子ノックアウトの効率が高くなり、より多くの生殖系列の変異体を得られた。我々はより迅速で効率的な方法を確認して、IAA2機能のさらなる研究のための5つの変異体を得た。	[Liu DY et al.] College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 中国
80	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	CBF1, 2, 3	Plant Signal Behav.	The broad roles of CBF genes: From development to abiotic stress.	2016	11(8):e1215794.	3つのCBF遺伝子は発達から非生物的なストレスまで広く役割を果たしている。CRISPR/Cas9技術を使ってアラビドプシスにおいてシングル、ダブル、トリプルcbf変異体を作った。Cbfrトリプル変異体は凍結ストレスに対して極端に感受性が高い。さらに、それは初期の発生と塩に対する耐性に欠陥がある。	[Zhao C et al.] Shanghai Center for Plant Stress Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 他 中国、米国
81	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	CBF1, 2, 3	New Phytol.	The cbfs triple mutants reveal the essential functions of CBFs in cold acclimation and allow the definition of CBF regulons in Arabidopsis.	2016	212(2):345-53.	本研究は、寒冷ストレス応答と寒冷順応におけるCBFの不可欠な機能とCBFのレギュロンとしての遺伝子群を明らかにした。また、本研究はCBF1に依存した寒冷シグナリングにおける成分の遺伝的解明のための材料を提供する。	[Jia Y et al.] State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 中国
82	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	CBF1, 2, 3	Plant Physiol.	Mutational Evidence for the Critical Role of CBF Transcription Factors in Cold Acclimation in Arabidopsis.	2016	171(4):2744-59.	アラビドプシスにおいて寒冷への順応におけるCBF転写因子の重要な役割を変異導入によって証明した。さらに、3つのCBF遺伝子は塩に対する耐性と菌の発生のために重要であることを明らかにした。	[Zhao C et al.] Shanghai Center for Plant Stress Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 他 中国、米国
83	植物	ブドウ	CRISPR/Cas9	ゲノム全体	BMC Plant Biol.	Identification of genomic sites for CRISPR/Cas9-based genome editing in the Vitis vinifera genome.	2016	16: 96	ブドウのゲノムには潜在的なCRISPR/Cas9の標的領域がたくさんある。これらの部位は染色体の中に広く分布しており、特に遺伝子のコード領域の中に多い。CRISPR/Cas9を利用したゲノム編集を促進するために、我々は公衆が利用できるブドウ-CRISPRデータベースを作成した。	[Wang Y et al.] Beijing Key Laboratory of Grape Science and Enology and Key Laboratory of Plant Resource, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 中国
84	植物	コメ	CRISPR/Cas9	OsROC5, OsDEP1	Plant Cell Rep.	Effective screen of CRISPR/Cas9-induced mutants in rice by single-strand conformation polymorphism.	2016	35(7):1545-54.	DNA一本鎖コンフォメーション多型 (SSCP) に基づく方法は、コメにおいてCRISPR/Cas9によって誘導される変異の遺伝型決定に有効であることを証明する。コメにおいてCRISPR/Cas9によって媒介されるターゲティングによる変異導入のためにSSCPの方法を適用することによって、OsROC5とOsDEP1の多くの変異体を同定することに成功した。	[Zheng X et al.] Department of Biotechnology, School of Life Sciences and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 中国
85	植物	アマ	CRISPR/Cas9、TALEN	EPSPS	Plant Physiol.	Oligonucleotide-Mediated Genome Editing Provides Precision and Function to Engineered Nucleases and Antibiotics in Plants.	2016	1. 170(4):1917-28	一本鎖オリゴヌクレオチド (ssODN) を利用して植物で正確なゲノム編集を行うための変異導入法を報告する。ssODNとCRISPR/Cas9の組み合わせを使ってEPSPS遺伝子を正確に編集して除草剤に耐性な亜麻を作った。	[Sauer N] et al.] Cibus, San Diego, California 米国
86	植物	トウモロコシ	CRISPR/Cas9	phytoene synthase gene (PSY1)	J. Genet. Genomics	Efficient Targeted Genome Modification in Maize Using CRISPR/Cas9 System.	2016	43(1):37-43	CRISPR/Cas9をトウモロコシのゲノム編集に適用した。10系統のカルスから取得した120個のseedlingから期待されたアルビノの形質を示す変異体を得られた。また、トウモロコシのヘテロロマーチン領域についても変異導入効率を検討した。セントロメア及びペリセントロメアの発現レベルの異なる12領域を選び、プロトプラストに対しCRISPR/Cas9を適用したところ、発現の有無に関わらず、ヘテロロマーチン領域は標的となることが示された。また、PAM配列に欠く場合や、ミスマッチが2塩基以上ある場合は、相異なる配列であってもoff-target活性は認められないことが判明した。以上のように、CRISPR/Cas9はトウモロコシにおいて、ユークロマチン、ヘテロロマーチンの両領域においてゲノム編集に適用可能であることが示された。	[Feng C et al.] State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences 他 中国、米国
87	植物	トウモロコシ	CRISPR/Cas9	phytoene synthase gene (PSY1)	J. Genet. Genomics	Efficiency and Inheritance of Targeted Mutagenesis in Maize Using CRISPR-Cas9.	2016	43(1):25-36	コメ最適化されたCas9及び、トウモロコシU6 snRNAプロモーター発現のsgRNAを用いたトウモロコシにおける標的ゲノム編集について検討した。プロトプラストアッセイでは90の遺伝子座において標的遺伝子変異が認められ、平均切断効率は10.67%であった。トウモロコシのPSY1遺伝子に対する安定ノックアウト変異体を得られた。生じた変異は後代に引き継がれた。さらに、計算上予測されたオフターゲット領域についてはオフターゲット活性は認められなかった。また、Cas9発現及び非発現系統でトランスクリプトーム解析を行った結果、顕著な差異は認められなかった。	[Zhu J et al.] State Key Laboratory of Agrobiotechnology and National Maize Improvement Center, Department of Plant Genetics and Breeding, China Agricultural University 中国
88	植物	ベチュニア	CRISPR/Cas9	phytoene desaturase (PDS), carotenoid biosynthesis	Sci. Rep.	Exploiting the CRISPR/Cas9 System for Targeted Genome Mutagenesis in Petunia.	2016	6:20315.	ベチュニアを材料として、phytoene desaturase(PDS)遺伝子のCRISPR/Cas9による編集を試みた。PDS遺伝子の2か所を標的とするsgRNAをデザインし、それぞれ単独または同時に発現させた。1か所を認識するsgRNAを導入した場合、バスタ耐性を示したT0世代の55.6%-87.5%がアルビノの形質を示した。また、2つの異なる部位を標的とするsgRNAを同時に導入した場合は、両者の間の約1 kbの領域が欠損した系統が得られた。また、Cas9とsgRNAの同時発現と比較すると変異導入効率は低下するが、はじめにCas9を組換えにより導入しておき、その組換え体にsgRNAを導入した場合も変異を誘導できることが示された。	[Zhang B et al.] Chongqing Engineering Research Centre for Floriculture, Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions 中国
89	植物	コメ	CRISPR/Cas9	DROOPING LEAF	Genes Genet. Syst.	Generation of artificial drooping leaf mutants by CRISPR-Cas9 technology in rice	2016	90(4):231-5	コメのDROOPING LEAF (DL) 遺伝子を標的にCRISPR/Cas9で遺伝子破壊を行った。その結果、7/9の供試植物においてバイアレリックな変異が導入されていることが判明した。これらの変異体の葉の垂れ下がる形態はdl変異体と同様であった。CRISPR/Cas9システムはコメの発生学的研究に利用可能である。	[Ikeda T et al.] Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo 日本
90	植物	アラビドプシス	CRISPR/Cas9	cell wall invertases (AtCWIN1)	Front. Plant Sci.	Targeting the AtCWIN1 Gene to Explore the Role of Invertases in Sucrose Transport in Roots and during Botrytis cinerea Infection.	2016	7: 1899	根におけるショ糖の輸送と灰色かび病の感染におけるインベルターゼの役割を調べるために、AtCWIN1遺伝子をターゲティングした。T-DNAとCRISPR/Cas9を使って作成した変異体はヘキソースの輸送ができなかった。これを利用して、AtCWIN1といくつかの細胞膜の糖輸送タンパク質の協調した活性を含む糖/H <sup>+</sup> シンポートシステムによって、外部のショ糖はヘキソースの形状で活発に吸収されることを証明した。	[Veillet F et al.] Laboratoire Ecologie et Biologie des Interactions, Equipe "SEVE-Sucres et Echanges Végétaux-Environnement," UMR Centre National de la Recherche Scientifique 7267, Université de Poitiers Poitiers フランス
91	植物	コメ	CRISPR/Cas9	acetolactate synthase (ALS1), confers bispyribac sodium resistance	Plant Physiol.	Biallelic Gene Targeting in Rice.	2016	170(2):667-77	コメを材料としてCas9、sgRNAと相同組換え修復に使用するDNA断片の導入・作用時期に対する検討を行った。コメカルスに①Cas9を導入したのち、ALSの2か所を個別に切断するsgRNAと相同組換え修復用点変異導入ALSを導入、②Cas9及びUlig4遺伝子破壊用sgRNAを先に導入したのち、ALSの2か所を個別に切断するsgRNAと相同組換え修復用点変異導入ALSを導入、③対照として、Cas9の代わりにcGFPを導入したのち、ALSの2か所を個別に切断するsgRNAと相同組換え修復用点変異導入ALSを導入、の各条件でALS上2か所の変異点(W548L, S627I)への点変異導入効率を検討した。その結果、著者らの予想に反し、Cas9発現細胞と、Cas9非発現細胞において1か所の変異導入効率に顕著な差は認められなかったが、変異導入に先だってCas9と共にLig4破壊用のsgRNAを導入することにより劇的に変異効率が上昇し、2か所の変異を有するバイアレリック変異がALSに導入された系統が1系統以上得られた。	[Endo M et al.] Plant Genome Engineering Research Unit, AgroGenomics Research Center, National Institute of Agrobiological Sciences 日本
92	植物	ダイズ	CRISPR/Cas9	RJ4	Plant Physiol.	RJ4, a Gene Controlling Nodulation Specificity in Soybeans, Encodes a Thaumatin-Like Protein But Not the One Previously Reported	2016	170(1):26-32	大豆においてはRJ4は根粒菌ラジジリビウム・エルカーニによる結節形成を抑制する遺伝子であり、RJ4遺伝子を有する系統がよいとされる。RJ4遺伝子の分子機能を理解し、大豆の窒素固定能を向上させるうえで、RJ4遺伝子のクローニングは第一ステップである。筆者らは、1番染色体上にRJ4遺伝子をマッピングすることに成功し、その遺伝子をcomplementationまたはCRISPR/Cas9により破壊し、機能解析を行った。その結果、これまでにRJ4として報告されていた遺伝子とは異なる遺伝子(複製されたもう一方)がRJ4遺伝子であることを明らかにした。	[Tang F et al.] Department of Plant and Soil Sciences, University of Kentucky 米国
93	植物	コメ	CRISPR/Cas9	OsRAV2遺伝子のプロモーター中のGT-1因子	Plant Mol. Biol.	Identification of a regulatory element responsible for salt induction of rice OsRAV2 through ex situ and in situ promoter analysis.	2016	90(1-2):49-62	イネにおいては塩ストレス下、AP2/ERFドメインを有するRAV転写因子ファミリーのひとつである、OsRAV2遺伝子の発現が誘導される。著者らは、OsRAV2遺伝子のプロモーター領域P OsRAV2に着目し、プロモーター領域に存在するGT-1エレメントが塩ストレスによるP OsRAV2の発現誘導に必須であることを突き止めた。そこでGT-1エレメントの機能解析のため、筆者らはCRISPR/Cas9システムを使用し、最終的にGT-1エレメントが直接OsRAV2の塩ストレスのレスポンスを制御していることを示した。	[Duan YB et al.] Key Laboratory of Rice Genetic Breeding of Anhui Province, Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences 中国
94	植物	タバコ	CRISPR/Cas9	mCherry (model target)	Front. Plant Sci.	Gene Inactivation by CRISPR-Cas9 in Nicotiana tabacum BY-2 Suspension Cells.	2016	7, 40.	タバコBY-2懸濁細胞にアグロバクテリウム法で赤色蛍光タンパク質mCherryを発現するT-DNAを挿入した組換え細胞を構築し、CRISPR/Cas9によるmCherry遺伝子を標的とした遺伝子編集実験のプラットフォームとした。mCherry上3か所を標的としたCRISPR/Cas9遺伝子sgRNA1-3を設計し、Cas9と共にmCherry導入BY-2細胞にアグロバクテリウム法で導入したところ、20個の遺伝子導入体のうち7つにおいて標的部位の短絡が生じていることが判明した。3か所の標的部位で切断、欠損が起り、標的部位3において1塩基の欠損、標的部位1と3、2と3の間でそれぞれ168bp、41bpの欠損が生じた変異体を取得された。以上のようにCRISPR/Cas9がタバコBY-2細胞で使用できることが示された。	[Mercx S et al.] Institut des Sciences de la Vie, Université Catholique de Louvain ベルギー

95	植物	タバコ	CRISPR/Cas9	xylosyltransferase (XT)	Plant Methods	A modular toolbox for gRNA-Cas9 genome engineering in plants based on the GoldenBraid standard.	2016	12:10	植物合成生物学において頻用されるようになりつつあるモジュラーDNA構築システムであるGoldenBraid (GB)をCRISPR/Cas9遺伝子の構築に適用した。構築したCRISPR/Cas9はベンタミアタバコにおける一過性発現によりアッセイにより標的遺伝子破壊及び、転写調節に利用可能であった。	[Vazquez-Vilar M et al.] Instituto de Biología Molecular Celular de Plantas (BMCP), Consejo Superior de Investigaciones Científicas スペイン
----	----	-----	-------------	-------------------------	---------------	---	------	-------	---	--