

文献ID	生物種	種名	用いた技術	ターゲット遺伝子	誌名	タイトル	年	ページ	要旨	所属
1	植物	キュウリ	CRISPR/Cas9	eIF4E	Mol. Plant Pathol.	Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology.	2016	17(7), 1140-5	キュウリを材料とし、ウイルス耐性の付与を目的としてCRISPR/Cas9により、eIF4E遺伝子の破壊を行った。EIF4E遺伝子のN末端及びC末端を標的としたCas9/sgRNAを導入したT1世代においては、標的部位において小規模の遺伝子欠損またはSNPsが認められた。非組換え(T-DNA脱落の意味か?)の系統を用い、ホモ変異体を取得した。T3世代ホモ系統は、cucumber vein yellowing virus (ipomovirus)、potyviruses Zucchini yellow mosaic virus, Papaya ring spot mosaic virus-Wに抵抗性を示したが、ヘテロ及び非変異体はこれらのウイルスに高い感受性を示した。このように初めて非遺伝子組換えで、生育に影響を与えることなく、また長期間の戻し交配を必要とせず、ウイルス抵抗性のキュウリを作成することに成功した。	[Chandrasekaran J et al.] Department of Plant Pathology and Weed Research, ARO, Volcani Center イスラエル
2	植物	コメ	CRISPR/Cas9	acetolactate synthase (ALS1)	Mol. Plant	Engineering Herbicide-Resistant Rice Plants through CRISPR/Cas9-Mediated Homologous Recombination of Acetolactate Synthase.	2016	9(4), 628-31	コメのALS1遺伝子に変異を導入するために種々の実験を行った。(1)トウモロコシで成功している、一本鎖オリゴDNAを用いる手法: Cas9-gRNAとW548LまたはS627I変異を導入するための一本鎖オリゴDNAをparticle bombardmentにより導入したが、ALS遺伝子に変異を導入された系統は取得できなかった。(2)ALS遺伝子上2カ所の変異を導入するための2カ所を認識し切断するためのgRNAをCas9と共に発現し、さらに、2カ所のアミノ酸変異導入のためのドナー断片となる配列を組み込んだベクターを構築した。このドナー断片の両端にはgRNAで切断される認識部位が置かれていることを特徴とする。このベクターを、相同組換えにおいてドナー断片となる本鎖DNAとともに、コマカス(日本晴)にparticle bombardmentにより導入したところ、T0世代で48/52の高効率でホモ変異体を取得することに成功した。(3)②で用いたベクターをアグロバクテリウム法で導入したところ、ヘテロ変異体は取得された。ホモ変異体についてbispyribac sodiumを散布したところ、変異体は耐性を示したが、非変異体は枯死した。このように、2つのgRNAと修復用の鋳型をプラスミドと二本鎖DNAの形で同時に供することで、効率よく変異導入ができることが示された。また、植物種において変異導入方法を最適化する必要があることが示唆された。	[Sun Y et al.] Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS) 中国
3	植物	アマ	TALEN, CRISPR/Cas9	BFP transgenic model (Arabidopsis thaliana), EPSPS (グリホサート耐性) (亜麻)	Plant Physiol.	Oligonucleotide-Mediated Genome Editing Provides Precision and Function to Engineered Nucleases and Antibiotics in Plants.	2016	1917-28	標的配列の改変配列を含む一本鎖オリゴヌクレオチド(ssODN)とTALENまたはCRISPR-Cas9を同時に導入することで正確なゲノム編集を行う方法を示す。シロイヌナズナでは、PhleomycinまたはTALENによる変異導入(BFP(H66:Blue)がGFP(V66:Green)への変換)効率が、ssODNとの同時導入により導入量依存的に上昇することが示された。TALENとssODNを併用することで、ssODNの長さ依存的にBFPからGFPへの変換効率が上がることが示された。なお、TALENまたはCRISPR/Cas9単体では、TALENと比較してCRISPR/Cas9の方が変異導入活性(NHE活性)が高い。アマにおいて、グリホサート耐性に関わるEPSPS遺伝子(2遺伝子)を標的とするssODN(2配列)をCRISPR/Cas9と同時に導入し、得られたカスに目的の変異が導入された割合は、0.15%または0.08%であった。変異導入に成功した系統のひとつA23のカスおよびその再生植物体はGlyphosate耐性を示した。	[Sauer N] et al.] Cibus, San Diego 米国
4	植物	コメ	TALEN	WAXY	Faming Zhuanni Shengqing	TALEN recognition targeting site for efficient editing rice WAXY gene.	2016	CN 105367628 A 20160302.	本発明は、コメのWAXY遺伝子を効率よく編集するためのTALEN用の一対のターゲッティング部位とその応用を提供する。TALENの遺伝子を含むプラスミドを使う方法を提供する。TALENのA/核酸配列とヌクレオチド配列を設計して、TALEN遺伝子を含むプラスミドを構築する。そして、ターゲッティングの効率を改善する。	[Lei W et al.] BGI Shenzhen Technology Co., Ltd. 中国
5	植物	ジャガイモ	TALEN	vacuolar invertase	Plant Biotechnol. J.	Improving cold storage and processing traits in potato through targeted gene knockout.	2016	14(1), 169-176	ジャガイモを低温保存することは、発芽を抑制して保存期間を延長するために広く行なわれる。しかし、低温保存によって還元糖の蓄積を促進してしまう。高温で加工すると、これらの還元糖から茶色の苦味の製品ができてしまい、潜在的な発がん物質であるアクリルアミドの含有量が高くなってしまふ。本研究では、還元糖の蓄積を抑制するためにTALENを利用してvacuolar invertase遺伝子(Vinv)をノックアウトした。少なくとも11のVinv対立遺伝子に変異がある18個の植物を得た。これらの植物のうち5つは全てのVinv対立遺伝子に変異があった。Vinv遺伝子をノックアウトした植物が得られた。Vinvには還元糖が検出されず、加工されたチップスはアクリルアミドの含有量が減少し、色が黄かった。7つの植物はゲノム中にTALEN DNAの挿入がなかった。本研究は同質4倍体であるジャガイモの品種改良にTALENを利用する基礎となる。	[Benjamin CM et al.] Collectis plant sciences Inc. New Brighton 米国
6	植物	コメ	TALEN	OsCSA1, OsDERF1, OsGN1a, OsMST7, OsMST8, OsPMS3, OsTAD1	Plant Biotechnol. J.	TALEN-mediated targeted mutagenesis produces a large variety of heritable mutations in rice.	2016	14(1), 186-194	コメのゲノム編集にN287C230 TALEN骨格を使うと低い変異効率(0-6.6%)だった。しかし、TALEN骨格のC末端を除去すると変異効率が25%まで大きく上昇した。多くのトランスジェニックT0植物では1つの頻繁に現れる変異と多くの低頻度の変異があった。独立したT0植物において1つのひこばえの中の大部分の組織において頻繁に現れる変異が存在した。また、調べたすべてのひこばえにもそれは存在し、TALENによって誘導される変異は芽の頂点の分裂組織の発生においてかなり早く起こることを示唆する。数世代の解析はTALENによって誘導される変異は安定に標準的なメンデル型でT1とT2世代に伝達されることを示した。TALENによって誘導される変異の大部分(約81%)は複数の塩基に影響して、それらの約70%は欠失だった。この結果は、コメにおけるCRISPR/Cas9システムの報告とは対照的であり、そこでは一塩基が影響を受けることが多く、欠失は全体の約3.3%だった。	[Hui Z et al.] Shanghai Center for Plant Stress Biology Chinese Academy of Sciences 上海, 中国
7	植物	コメ	TALEN	WAXY	Plant Physiol.	A Defect in DNA Ligase4 Enhances the Frequency of TALEN-Mediated Targeted Mutagenesis in Rice.	2016	170(2), 653-6	植物でのTALENに誘導される変異においてclassical nonhomologous end joining (cNHEJ)とalternative nonhomologous end joining (altNHEJ)の役割を分析するために、DNA Ligase 4 (Lig 4)欠損がコメ細胞においてTALENに誘導される二本鎖切断の修復の反応速度論に影響するかどうかを調べた。Deep-sequencing分析から、すべてのタイプの変異の頻度はlig 4ヘテロ接合の変異体または野生型よりもlig 4完全欠損した変異体のカスにおいて高いことが示された。すべての欠失の変異は対称的な長さ(10 bp以上)のインデルで、カス結合(MMEJ)によって修復される欠失の割合はlig 4ヘテロ接合の変異体または野生型よりもlig 4完全欠損した変異体のカスにおいて高かった。さらに、ほぼすべての挿入(2 bp以上)は、遺伝的背景に関係なく、TALEN切断部位の周辺の1つ以上の領域のローアンドベースによって加工されてMMEJによって結合されることが示された。cNHEJの機能不全はcNHEJからaltNHEJまたは合成に依存したストランドアニーリングへと修復経路が変わることを本研究は示している。	[Nishizawa-Yokoi A et al.] Plant Genome Engineering Research Unit National Institute of Agrobiological Sciences 日本
8	植物	?	TALEN, CRISPR/Cas9	AIP10	U.S. Pat. Appl. Publ.	Method for promoting an increase in plant biomass, productivity and drought resistance.	2016	US 20160177327 A1 20160623.	植物のバイオマスと収量の増加を促進する方法を記載する。この増加は葉、幹、根および果実と実の生産において効果が見られる。さらに干ばつへの耐性が増加して環境への適応が向上し、成長、バイオマス、収量が改善する。	[Silva HA et al.] Universidade Federal do Rio de Janeiro ブラジル
9	植物	?	ZFN, TALEN, CRISPR/Cas9		Curr. Genomics	Genomics Approaches for Improving Salinity Stress Tolerance in Crop Plants.	2016	17(4), 343-357.	世界的に塩分は穀物の生産を減らす大きな要因の一つである。塩分への植物の反応は複雑で多くの遺伝子を含む。植物がどのように塩分に反応するかを完全に理解することは難しい。私たちはアミンクスを通じて塩分ストレスに反応する遺伝子を同定して、特徴を調べ、シグナル経路を地図にして精密に示し、穀物の塩分耐性を改善するためにこの情報を利用することができた。Gene pyramidingのような新しい手法を遺伝子工学とバイオマーカーに支援された育種に利用してストレス耐性の穀物を作る能力を大きく増強した。ゲノム編集技術も育種に利用できる。	[Nongpiur RC et al.] Jawaharlal Nehru Univ. New Delhi インド
10	植物	?	CRISPR/Cas9	TRV配列	PCT Int. Appl.	Nucleic acid constructs for plant genome editing	2016	WO 2016084084 A1 20160602.	核酸コンストラクトを提供する。このコンストラクトはタバコ葉モザイクウイルス(TRV)配列と興味のあるゲノムの標的配列において配列特異的な切断を欠するsgRNAをコードする核酸配列から構成されて、その場所でTRV配列は機能的な配列を欠している。このコンストラクトを含む植物細胞とゲノム編集におけるこのコンストラクトの使用も提供する。	[Alexander V et al.] Danziger Innovations Ltd. イスラエル
11	植物	コメ	CRISPR/Cas9	Badh2	Faming Zhuanni Shengqing	A method and CRISPR/Cas system for rapidly transforming rice into scented rice by Badh2 gene knockout.	2016	CN 105543228 A 20160504.	本発明は、コメを香りのするコメに迅速に形質転換するための方法とCRISPR/Casシステムを開示する。この方法は、コメの香りを代謝する過程の関連遺伝子の配列に対するベクターを設計して、香りのする物質が代謝されるように大量に蓄積するように遺伝子の特定の部位で欠失やサイレンシングを誘導するためにアグロバクテリウムを媒介する形質転換によって香りのしないコメベクターをトランスフェクトする。標準的なコメが香りのするコメに形質転換された後に、改変された遺伝子を分離する際に自殖または交配が行なわれて、他の遺伝子の構造や性質に影響を与えずに安定的に遺伝するホモ接合体の香りのするコメが得られる。	[Wang J et al.] Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences 中国
12	植物	コメ	CRISPR/Cas9	Badh2	Faming Zhuanni Shengqing	Method for obtaining fragrant rice line through targeting Badh2 gene with CRISPR/Cas9 gene editing technology.	2016	CN 105505979 A 20160420.	本方法はCas9によって認識される香りの遺伝子のエクソンとイントロンから配列を選び、ゲノミックDNAを切り、DNA修復を誘導して欠失変異を作り、機能しないBadh2遺伝子を得ることから構成される。形質転換を行なうのはOryza sativa, ssp. indica, Oryza sativa, ssp. Japonicaともち米のカスを使い、二倍体のカスを誘導するための外植体として成熟した胚、若い穂と子房を使う。アグロバクテリウムの媒介でカス細胞へターゲット配列を転写して、スクリーニングして、陽性の植物を同定して、T1グループから香りのするコメ系列を分離して、半数体のカスを誘導するための外植体として若、花粉、不受精の子房を使う。アグロバクテリウムの媒介でカス細胞にターゲット配列ベクターを挿入して、陽性カスをスクリーニングして、コルヒチンで処理して、苗に分化させて、陽性の形質転換植物を同定して、香りのするコメ系統を得る。	[Ju C et al.] Hubei Univ. 中国
13	植物	コメ	CRISPR/Cas9	Acetate Synthase	Mol. Plant	Engineering Herbicide-Resistant Rice Plants through CRISPR/Cas9-Mediated Homologous Recombination of Acetolactate Synthase.	2016	9(4), 628-631	CRISPR/Cas9に媒介される相同組換えによってコメにおけるacetolactate synthaseの除草剤への耐性を導入する方法を記載する。本方法は、二本鎖切断を作り、1つ以上の変異を含むcDNAに宿主の遺伝子を置換するために2つのgRNAを使う。この方法はコメにおいて1つのgRNAを使うよりも効率が低い。	[Sun Y et al.] Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 中国
14	植物	コメ	CRISPR/Cas9	Gn1a, DEPI, GS3, IPA1	Front. Plant Sci.	Reassessment of the Four Yield-related Genes Gn1a, DEPI, GS3, and IPA1 in Rice Using a CRISPR/Cas9 System.	2016	7, 377.	コメの栽培品種Zhonghua11においてGn1a, DEPI, GS3とIPA1遺伝子に変異を導入するためにCRISPR/Cas9システムを使った。これらの遺伝子は粒の数、円すい花序の構造、粒の大きさ、植物の構造を制御すると報告されている。形質転換した植物の第一世代(T0)における表現型と編集された遺伝子の頻度の分析は、CRISPR/Cas9システムはゲノム編集を誘導する効率が低いことが示された。形質転換された植物においてゲノム編集された割合は42.5%(Gn1a), 67.5%(DEPI), 57.5%(GS3), 27.5%(IPA1)だった。gn1a, dep1, gs3変異体のT2世代の特徴はそれぞれ粒の数の増加、高濃度の直徑の大きい胚乳、大きくなった。さらに、dep1gs3変異体ではそれぞれやわらかい植物で、長い茎を持つ表現型が見られた。ipa1変異体は2つの対照的な表現型を示し、Osmit166領域において誘導される変化に依存して、少ないまたは多いひこばえができた。さらに、以前の報告よりも欠失の変異の頻度が高いことが明らかになった。オフターゲットは高度に類似した配列で起きていた。この結果は、CRISPR/Cas9によって単一の栽培品種において重要な性質の複数の制御因子を修飾できるとことを証明した。そして、これらの結果は同じ遺伝的背景における複雑な遺伝子制御のネットワークと栽培品種における重要な性質の重なりを調査を促進する。	[Li M et al.] Key Laboratory of Applied Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of SciencesGuangzhou 中国
15	植物	トマト	ZFN	LEAFY-COTYLEDON1-LIKE4 (L1L4)	Plant Cell Rep.	A novel arrangement of zinc finger nuclease system for in vivo targeted genome engineering: the tomato LEC1-LIKE4 gene case.	2016	35(11), 2241-6	植物において、特に穀物において正確な遺伝子ターゲッティングを行なうことは遺伝子機能の解明や分子育種の前進のために長年求められてきた。この問題に取り組みするために、トマトの種に対してZFNに基づく技術を開発した。2つのDNA認識配列の間のイントロンの配列とともにZFNの設計をターゲット配列した遺伝子の変異導入に評価した。核因子Yのβサブユニットをコードする発生の制御因子LEAFY-COTYLEDON1-LIKE4 (L1L4)に対して特別に作成したZFNはトマトの種で一過性に発現させると、標的配列を切断し、非同末端結合による不完全な修復を刺激して、内在性の標的配列に変異を導入した。ZFNの技術を植物に適用できて、発生の段階でヘテロクローナな表現型をもたらすL1L4変異が得られた。L1L4のDNA結合ドメインの上流での配列の変化は果実の組織を含めて表現型の多様性につながる可能性がある。これらの結果は、トマトでのターゲッティングによる変異導入の代わりにZFNの方法が使用できることを明確に示しており、トランスジェニックフリーな育種を加速するかもしれない。	[Hiloti Z et al.] Institute of Applied Biosciences Centre for Research and Technology Hellas Thessaloniki ギリシャ
16	植物	コメ	CRISPR/Cas9	thermo-sensitive genic male sterility (TGMS)	Sci. Rep.	Development of Commercial Thermo-sensitive Genic Male Sterile Rice Accelerates Hybrid Rice Breeding Using the CRISPR/Cas9-mediated TMS5 Editing System.	2016	6, 37395.	ハイブリッド米はコメの生産の改善のための重要な戦略を提供する。その中で不妊の雄の系列の栽培は交雑育種の成功のための鍵である。CRISPR/Cas9システムが穀物の遺伝的改良のために応用された報告は少ない。本研究ではCRISPR/Cas9システムを使ってTMS5に特異的な変異を導入した。TMS5は中国において最も広く応用される熱に感受性な遺伝子の雄の不妊の遺伝子である。そして私たちは「外来遺伝子で汚染されていない」TGMS系列を作成した。私たちはCRISPR/Cas9システムを使ったターゲッティングの変異導入のためにTMS5のコード領域において10個の標的配列を設計して、オンターゲットとオフターゲットの効果の潜在的な割合を評価した。最後に、私たちは潜在的に応用可能な「外来遺伝子で汚染されていない」TGMS系列を育種するために最も効率的な良いコンストラクトであるTMS5abコンストラクトを作成した。私たちは異なる標的配列の特徴にしたがって編集に影響する因子も議論した。注目すべきは、TMS5abコンストラクトを使って私たちは11個の新しい「外来遺伝子で汚染されていない」TGMS系列を作成した。この方法は2つのコメの品種においてわずか1年以内に種育種の潜在的な応用が可能である。私たちの方法の応用は不妊の系列の育種を大きく加速するだけでなく、種育種の阻害を促進するだろう。	[Zhou H et al.] State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources Guangzhou 中国
17	植物	コメ	CRISPR/Cas9	?	Faming Zhuanni Shengqing	Targeting vector and method for modifying non-glutinous rice line into glutinous rice using CRISPR/Cas9 technology.	2016	CN 106119275 A 20161116.	本発明はCRISPR/Cas9技術に基づいてモチゴメではないコメの系統をモチゴメの系統に変えるためのターゲッティングベクターに関する。ターゲッティングベクターは、sgRNA発現カセット、Cas9発現カセット、スクリーニングベクターから構成される。sgRNAは第一のプロモーターと第一のプロモーターの制御下で転写される配列をコードするsgRNAから構成される。Cas9発現カセットは第二のプロモーターと第二のプロモーターの制御下で転写される配列をコードするCas9から構成される。第一のプロモーターと第二のプロモーターはコメにおいて恒常的に発現する強い同じまたは異なるプロモーターである。本発明はこのターゲッティングベクターを使ってモチゴメではないコメの系統をモチゴメの系統に変えるための方法も提供する。本発明によって育種の時間を大幅に短縮できる。	[Ju C et al.] Hubei Univ. 中国
18	植物	コメ	CRISPR/Cas9	OsARF4	Faming Zhuanni Shengqing	Application of gene OsARF4 for controlling rice grain length and grain weight.	2016	CN 105950633 A 20160921.	本発明は分子生物学と遺伝子工学技術の分野、特にコメの粒の長さや重さを制御するOsARF4遺伝子への応用に関する。本発明はコメにおいて発現する、オーキシン反応因子をコードするOsARF4を阻んでいる。コメの粒の長さや重さを改善して収量を改善するためにOsARF4をノックアウトする。本発明はOsARF4遺伝子のコード領域に特異的なsgRNAを利用したCRISPR-Cas9技術を用いて、OsARF4遺伝子のコード領域に損傷を与えて、T-DNAを除去して非トランスジェニックコメを得る。遺伝子組換えコメは粒の長さや重さについてのみ明らかな改善があり、他の農産物の性質には大きな変化がない。本発明の遺伝子と操作技術は実用的な価値があり、植物の収量を改善するうえで大きな役割を果たす。	[Liu J et al.] Fudan Univ. 中国

19	植物	コメ	CRISPR/Cas9	OsLCT1	Faming Zhuanni Shengqing	Breeding method for decreasing cadmium content of rice grain by gene LCT1 knockout with CRISPR/Cas9 system.	2016	CN 105936907 A/20160914.	本方法は、コメのLCT1エクソンのクローニング、CRISPR/Cas9システムの利用、エクソンの配列にしたがって標的配列を選び、pCRISPR/Cas9組換えベクターを構築し、それをコメのカルスに導入する。トランスジェニック苗を得て、トランスジェニックな陽性の植物をスクリーニングする。本発明は、CRISPR/Cas9技術を使ってターゲットングによってコメのOsLCT1をノックアウトして、カドミウムトランスポーターOsLCT1を完全に不活性化させる。外来遺伝子を含まない利点とコメの粒のカドミウム含量が大幅に減少して、包括的な農学的な特徴は大きく変わらないようなコメの育種を行なう。本発明は安全で、時間がかからず、コストが安いという利点がある。	[Tang L et al.] Hunan Hybrid Rice Research Center 中国
20	植物	ブドウ	CRISPR/Cas9	IdnDH	Sci. Rep.	CRISPR/Cas9-mediated efficient targeted mutagenesis in Chardonnay (<i>Vitis vinifera</i> L.).	2016	6, 32289	CRISPR/Cas9システムは多くの植物に適用されてきたが、ブドウにおいてゲノム編集のために利用できるかは不明である。本研究では「シャルドネ」懸濁細胞と植物においてCRISPR/Cas9システムを利用したゲノム編集とターゲットングした遺伝子の変異を述べ、L-idonate dehydrogenase遺伝子 (IdnDH) の異なる部位を標的として2つのsgRNAを設計した。CE11エントモスクリューパーゼ/サイエノクエンシンの結果から標的部位において予想される挿入と欠失があることが明らかになった。sgRNA1/Cas9を発現させたトランスジェニックな細胞集団とそれに対応する再生させた植物においては100%の変異の頻度が得られた。トランスジェニックな細胞集団において検出される変異の中で大多数は1 bpの挿入であり、それに続いて1-3 bpの欠失が見られた。オフターゲット活性は、潜在的なオフターゲット部位をスクリーニングすることによって評価した。その結果、明らかにオフターゲット変異は検出されなかった。私たちの結果はブドウにおいて正確なゲノム編集のためにCRISPR/Cas9システムが利用できることを証明した。	[Ren C et al.] Beijing Key Laboratory of Grape Science and Enology and Key Laboratory of Plant Resource, Institute of Botany the Chinese Academy of Sciences Beijing 中国
21	植物	グレープフルーツ	CRISPR/Cas9	GfPT	U.S. Pat. Appl. Publ.	Method for inhibiting production of furanocoumarins in plants by inhibiting grapefruit prenyltransferase.	2016	US 20160244771 A1 20160825.	本発明は、グレープフルーツのクマリンに特異的なプレニルトランスフェラーゼ (GfPT) を阻害することによって、植物においてフラボノクマリンの生産を阻害する方法を提供する。植物においてフラノクマリンの発現を阻害する方法は、部位特異的突然変異誘発法、EMS突然変異生成、TILLING、ノックアウト技術、CRISPR/Cas9、TALEN、ZFNを使う遺伝子編集技術、またはRNA干渉によって誘導される遺伝子サイレンシングによってGfPTを不活性化することを含む。	[Bourgaud F. et al.] Universite de Lorraine フランス
22	植物	トマト	CRISPR/Cas9	DMR6オルソログ	bioRxiv	CRISPR-Cas9 mediated mutagenesis of a DMR6 ortholog in tomato confers broad-spectrum disease resistance	2016	64824/1-64824/23	病原菌による穀物の生産への被害は世界的に大きい。病原菌に対して耐性な穀物の品種の使用は世界の増加する人口の食料需要に合致した持続可能な方法になりうる。私たちは病気耐性に関連した特異的な遺伝子を修飾することによってトマトにおいてゲノム編集を行い、持続できる病気耐性な性質を獲得した。最近、アフリカ大陸においてDMR6 (<i>downy mildew resistance</i>) のと呼ばれる一つの遺伝子の不活性化によっていくつかの病原菌に耐性を与えることが示された。この遺伝子は病原菌の感染中に特異的に発現が上昇し、 <i>dmr6</i> 遺伝子における変異はサリチン酸濃度の上昇を起した。トマトの <i>SlDMR6-1</i> オルソログであるSolyC03g080190、 <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> と <i>Phytophthora capsici</i> の感染中に発現が上昇する。私たちはCRISPR/Cas9システムを使ってトマトにおいて <i>SlDMR6-1</i> 遺伝子に小さな欠失を作り、フレームシフトを起して未成熟な先欠けたタンパク質を作らうとした。これらの変異は温室の条件下では成長や発生について大きな有害な効果はなく、 <i>P. syringae</i> 、 <i>P. capsici</i> 、 <i>Xanthomonas</i> spp. を含む異なる病原菌に対して耐性を示した。	[Thomazella DPT et al.] Univ. California Berkeley 米国
23	植物	コメ	CRISPR/Cas9	CSA	Faming Zhuanni Shengqing	Application of rice CSA gene and method for site-directed knocking out by CRISPR/Cas9 system.	2016	CN 105671075 A/20160615	コメの雄性不稔遺伝子CSAのタンパク質の配列とスクレオチド配列を開示する。CRISPR/Cas9システムに基づいてCSA遺伝子をノックアウトする、変える、または抑制することによって通常のコメの品種におけるCSA遺伝子の発現量が減少して、コメの雄性不稔系統を得る。部位特異的ノックアウトの方法は、CH-CRISPR/Cas9システムに基づいたCC-CSA-1ベクターとGateway-CRISPR/Cas9システムに基づいたGC-CSA-1ベクターによる雄性不稔遺伝子CSAの遺伝子編集を含む。本発明は、コメの雄性不稔遺伝子CSAに基づいた雄性不稔系統の生殖質の資源とコメの二系統の交配による種子の生産のために効率の良いノックアウトの方法と育種の様式を提供する。	[Zhang D et al.] Shanghai Jiao Tong Univ. 中国
24	植物	ブドウ、リンゴ	CRISPR/Cas9	MLO-7, DIPM-1, 2, 4	Front. Plant Sci.	DNA-Free Genetically Edited Grapevine and Apple Protoplast Using CRISPR/Cas9 Ribonucleoproteins.	2016	7, 1904.	全ゲノムシーケンスとゲノム編集を組み合わせて利用することによって、初めて得られる表現型を獲得するため、新しい機能を導入するために、以前にはできなかった制御と正確さで標的とした部位での遺伝子の変化を導入することが可能となり、果物のバイオテクノロジー分野に革命が起きた。プラスミドによってゲノム編集の成分を導入することも効率が良いが、宿主のゲノムにプラスミドの配列ランダムに取り込まれてしまう可能性があるなど、いくつかの欠点もある。さらには、現在のプロセスベースのGMOの規制に阻まれて、改良した品種の商品化が難しくなるかもしれない。私たちは、効率の良い標的部位への変異誘導のために、ブドウの栽培品種シャルドネとリンゴの栽培品種Golden delicious fruit の穀物植物のプロトプラストへ精製したCRISPR/Cas9リボヌクレオプロテイン (RNPs) を直接導入することを試みた。ブドウの栽培品種においてほとんど粉病への耐性を強化させるために、影響を受けない遺伝子である、MLO-7を標的とした。リンゴにおいては火傷病への耐性を強化させるためにDIPM-1、DIPM-2、DIPM-4を標的とした。さらに、各々のブドウとリンゴの栽培品種に対して、効率の良いプロトプラストの形質転換、Cas9とsgRNAのモル比を最適化した。標的部位のディープシーケンシングを使って、標的部位の挿入と欠失の割合を解析した。CRISPR/Cas9 RNPsをプロトプラストへ直接導入することで遺伝子編集が可能であり、DNAを使わないゲノム編集でブドウとリンゴの植物を作ることへ可能性を開いたことを私たちの結果は証明する。	[Malony M] Research and Innovation Centre, Genomics and Biology of Fruit Crop Research Department, Fondazione Edmund Mach Trento イタリア、韓国
25	植物	コメ	CRISPR/Cas9	qSH1	Faming Zhuanni Shengqing	Molecular improvement method for reducing shattering performance of rice seed.	2016	CN 106191107 A/20161207.	本発明は、CRISPR/Cas9システムを使ってコメの種子が砕け散ることに関連した遺伝子qSH1のターゲットングによる修飾によってコメが砕け散る性質を低下させるための分子遺伝学的方法を提供する。本方法は、qSH1またはLOC_Os01g62920またはOs01g0848400のコード領域と5'末端の開始コドンの付近に適切な標的を選ぶこと、標的配列を含むベクター-pYLgRNA-U3とpYLgRNA-U6を構築すること、ベクター-pYLgRNA-U3とpYLgRNA-U6と標的配列を含む組換えベクター-pCRISPR/Cas9を構築すること、コメに組換えベクター-pCRISPR/Cas9を導入すること、トランスジェニック陽性植物を得ること、トランスジェニック陽性植物とともに標的配列で変異を持つ植物を得ること、変異体の植物を世代交代栽培することによって遺伝子組換え実験の成分を含まないホモ接合性の変異体植物を得ること、砕け散る性質が大きく低下した植物を得るためにホモ接合性の変異体の植物の砕け散る性質を試験を行うことを含む。この方法は高い指向性があり、遺伝的背景の変化はほとんどなく、遺伝子組換えのリスクを避けることができ、遺伝子組換え実験の成分を含まず、砕け散る性質が大きく低下した新しいコメの品種と新しい組み合わせを得ることができる。	[Sheng X et al.] Hunan Hybrid Rice Research Center 中国
26	植物	コメ	CRISPR/Cas9	OsERF922	PLoS One	Enhanced rice blast resistance by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the ERF transcription factor gene OsERF922.	2016	11(4), e0154027/1-e0154027/18.	コメのイモチ病は世界的にコメに影響を与える最も破壊的な病気である。宿主の耐性の獲得はそれを制御するための最も経済的で効率の良い方法であることが証明されている。私たちは、コメのOsERF922遺伝子を標的にするCRISPR/Cas9配列特異的ヌクレアーゼ (C-ERF922) を利用することでコメのイモチ病への耐性を改善したことを報告する。50個のトランスジェニック植物から11個のC-ERF922によって誘導される変異植物 (42.0%) が同定された。サンガーシーケンシングによってこれらの植物は標的配列に様々な挿入と欠失の変異を持っていることが明らかになった。C-ERF922によって誘導される対立遺伝子の変異のすべてが次世代に伝達されたとを私たちは示した。望ましい遺伝子修飾を持っているが、導入されたDNAを含まない変異植物がT1とT2世代の分離によって得られた。6個のT2ホモ接合性の変異系統はイモチ病に対する耐性の表現型と様々な農学的な性質についてさらに調べた。病原菌の感染後に形成されるイモチ病の損傷の数は野生型の植物と比較して苗分げの2つの段階で大きく減少した。さらには、6個のT2変異系統と野生型の植物の間には調べた農学的な性質について大きな違いはなかった。2, 3個の部位に変異を持つ植物を得るために、Cas9/Multi-target-sgRNAs (C-ERF922S1S2およびC-ERF922S1S2S3) を使うことによってOsERF922の中に複数の部位を標的にした。CRISPR/Cas9による遺伝子修飾はコメにおけるイモチ病への耐性を強化するための有用な方法であることを私たちの結果は示している。	[Wang F et al.] College of Agriculture, Guangxi University, Nanning, National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement (NFCRI), Institute of Plant Science, Chinese Academy of Agriculture Sciences (CAAS), Beijing 中国
27	植物	コメ	TALEN	OsALS	J. Genet. Genomics.	TALEN-Mediated Homologous Recombination Produces Site-Directed DNA Base Change and Herbicide-Resistant Rice.	2016	43(5), 297-305	DNA二本鎖切断に対する相同組換え (HR) による修復を通じた部位特異的な置換または本物のゲノム編集は課題である。コメにおけるTALENに基づいたHRによる遺伝子置換として、TALENと希望する変異を含むドナーDNAを使って、私たちはコメのacetolactate synthase遺伝子 (OsALS) へ2つの点突然変異を作り、除草剤に耐性なコメの系統を作った。3回の実験でTALEN遺伝子を含むDNAとドナーDNAをコメのカルスへ導入した後に、1.4 - 6.3%の効率でT0世代においてOsALSの異なる置換型を持つ9個の植物を得た。HRによって媒介される遺伝子編集はT1世代の子孫へ遺伝する。編集されたT1植物は強い除草剤への耐性を示し、対照の植物と同じく形態学的に正常だった。この結果は、コメにおいてTALENによって媒介されるゲノム編集の実現可能性を証明し、他のヌクレアーゼに基づいたゲノム編集に有用な情報を提供する。	[Li T et al.] Department of Genetics, Development and Cell Biology, Iowa State University, Ames 米国
28	植物	ジャガイモ	TALEN, CRISPR/Cas9	ALS1	Front. Plant. Sci.	Geminivirus-Mediated Genome Editing in Potato (<i>Solanum tuberosum</i> L.) Using Sequence-Specific Nucleases.	2016	7, 1045	相同組換え (HR) による遺伝子ターゲットングは理解しにくい、DNA修復のための強力な方法かもしれない。遺伝子ターゲットングに関連した障壁を克服するために、ジャガイモのacetolactate synthase 1 (ALS1) 遺伝子を標的とする配列特異的なヌクレアーゼ (SSNs) とALS1遺伝子座の中に除草剤を阻害するための点突然変異を導入するために設計された修復の鋳型を導入するためにジメニウイルスのレプリコン (GVR) を使った。GVRsを使った。GVRsによって得られた形質転換体の植物は、除草剤への感受性が弱くなる表現型を支えることのできる点突然変異を持っていた。一方で、古典的なT-DNAを使った形質転換した植物は検出可能な変異を持っておらず、野生型と同じだった。形質転換した植物の再検査は、除草剤への感受性を大きく低下させた表現型を支える点突然変異の検出を改善した。これらの結果は、植物ゲノム編集のための農業を導入するためのジェミニウイルスの使用の有効性を証明し、栄養繁殖する種における遺伝子ターゲットングのための新しい方法を示した。	[Butler NM et al.] Department of Plant, Soils and Microbial Sciences, Michigan State Univ., East Lansing 米国
29	植物	ダイズ	TALEN	FAD2-1A, FAD2-1B, FAD3A	BMC Plant Biol.	Direct stacking of sequence-specific nuclease-induced mutations to produce high oleic and low linolenic soybean oil.	2016	16(1), 225.	ダイズ油の中の個々の脂肪酸の量を調節できれば、保存可能期間と炒めるときの安定性を増加させて、栄養的特徴を改善できる可能性がある。ダイズ油は高濃度の多価不飽和リノール酸とリノレン酸を含んでいて、それが酸化的不安定性につながる。この問題は部分的に水素化によって取り組まれてきた。しかし、部分的な水素化はトランス脂肪酸の量を増加させている。それが心臓血管の病気を関連させている。以前に私たちは脂肪酸デサチュラーゼ2-1A (FAD2-1A) とFAD2-1B遺伝子にノックアウト変異を持つダイズ系統を作った。そのダイズ系統では一価不飽和オレイン酸 (18:1) の量が上昇してリノール酸 (18:2) とリノレン酸 (18:3) の量が減少した油が得られた。本研究では、リノレン酸の量をさらに低下させるために、FAD2-1AとFAD2-1Bの中の変異脂肪酸デサチュラーゼ3A (FAD3A) の変異を積み重ねた。fad2-1a fad2-1b fad3aダイズ植物へTALENを直接導入することによってFAD3Aの中に変異を導入した。fad2-1a fad2-1b fad3aダイズの油はfad2-1a fad2-1bダイズと比較すると、リノレン酸の濃度が有意に低かった (4.7%に対して2.5%)。さらに、油はリノール酸の量が有意に低く (5.1%に対して2.7%)、オレイン酸の量は有意に高かった (77.5%に対して82.5%)。外来遺伝子を含まないfad2-1a fad2-1b fad3aダイズ系統が同定された。本方法はダイズにおいて性質を積み重ねるために配列特異的なヌクレアーゼを使うための効率的な方法を提供する。得られた生産品は80%以上のオレイン酸と3%以下のリノール酸とリノレン酸から構成される。	[Demorest ZL et al.] Calyxt, Inc., New Brighton 米国
30	植物	コメ	CRISPR/Cas9	QTL遺伝子群	J. Integr. Plant Biol.	QTL editing confers opposing yield performance in different rice varieties.	2016	Sep 15, doi: 10.1111/jipb.12501. [Epub ahead of print]	粒子の収量は穀物において遺伝的改良をするための最も重要で複雑な性質である。それは量の性質の遺伝子座 (quantitative trait loci, QTLs) として知られる多くの遺伝子によって制御されていることが知られている。過去10年で穀物において収量に貢献している多くのQTLsが同定された。しかし、これらのQTLsは異なる遺伝的背景において同じ収量をもたらすかは不明である。本研究では私たちは5つの広く栽培されているコメの品種においてCRISPR/Cas9によってQTLを編集した。そして、同じQTLが異なる遺伝的背景において粒子の収量に対して多様な、ときには逆の効果を与えることを示した。	[Shen L et al.] Key Laboratory of Plant Functional Genomics, Ministry of Education, Yangzhou University, Yangzhou 中国
31	植物	コメ	CRISPR/Cas9	OsEPSPS2	Nat. Plants.	Gene replacements and insertions in rice by intron targeting using CRISPR-Cas9.	2016	Sep 12, 2: 16139. doi: 10.1038/nplants.2016.139.	植物のゲノムの特定の遺伝子座において、遺伝子の断片を置換することと遺伝子の挿入を行なうことはとても難しい。本研究ではNHIE経路とCRISPR/Cas9システムを使って変異を作る効率の良いイントロンによって媒介される部位特異的な遺伝子の置換と挿入の方法を報告する。近接するイントロンを標的とする一対のsgRNAと、そのsgRNAの標的部位を含むドナーのDNAの鋳型を使って、コメの内挿性遺伝子5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) 遺伝子において2%の頻度で遺伝子置換を達成した。1つのイントロンを標的とした1つのsgRNAとそのsgRNAの標的部位を含むドナーのDNAの鋳型を使って2%の頻度でターゲットングによる遺伝子の挿入も行った。意図した置換を持つOsEPSPS遺伝子を含むコメの植物はグリホサートに耐性になった。さらに、部位特異的な遺伝子の置換と挿入は正確に次世代へ伝達された。これらの新しい開発された方法は、コメ他の植物においてターゲットングによる遺伝子の断片の置換と外来DNA配列を挿入するために一般的に使える。	[Jun L et al.] State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 中国
32	植物	マッシュルーム	CRISPR/Cas9	polyphenol oxidase	Nature	Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation.	2016	532 (7599) 293	マッシュルームの6つあるpolyphenol oxidase遺伝子の1つに数塩基の欠失を起させた。酵素活性性が30%減少した。マッシュルームが茶色くなるのが遅くなり、保存可能期間が長くなる。CRISPR/Cas9を利用したケースで米国の規制から外れる結論になった最初の例。米国はGMOを規制するための規則を改革している。	[Waltz E] Freelance writer based in New York 米国

33	植物	ダンカン グレープ フルーツ	CRISPR/Cas9	T1CsLOBP遺伝子 のプロモーター	Plant Biotechnol. J.	Modification of the PthA4 effector binding elements in Type I CsLOB1 promoter using Cas9/sgRNA to produce transgenic Duncan grapefruit alleviating Xcc Δ pthA4:dCsLOB1.3 infection.	2016	14, 1291-1301	<p><i>Xanthomonas citri</i>亜種<i>citri</i> (Xcc)が引き起こすかんきつ類潰瘍病は大部分の商業的なかんきつ類の栽培品種に対して深刻な病気であり、世界的に大きな経済的な被害をもたらしている。潰瘍病に耐性なかんきつ類の品種を作ることは、かんきつ類潰瘍病の効率的で持続的な解決策を提供するだろう。本研究では、<i>CsLOB1</i> (<i>Citrus sinensis</i> Lateral Organ Boundaries) 遺伝子のCsLOB1プロモーター (EBE_{PthA4}-CsLOBP)の中のPthA4エフェクター結合成分 (EBEs)を修飾することによって潰瘍病に耐性なグレープフルーツを作ることにおける進歩を報告する。<i>CsLOB1</i>はかんきつ類潰瘍病によって影響を受けやすい遺伝子であり、病原因子PthA4によって誘導される。PthA4は<i>CsLOB1</i>遺伝子の発現を誘導するためにEBE_{PthA4}-CsLOBPへ結合する。ダンカングレープフルーツには<i>CsLOB1</i>の中に2つの対立遺伝子タイプI、IIがある。本研究では、ダンカングレープフルーツの上胚軸の形質転換によってタイプI CsLOB1プロモーター (T1 CsLOBP)のPthA4EBEsを破壊するためにバイナリーベクターを設計した。EBE_{PthA4}-T1 CsLOBPの標的部位に修飾を持つ4つのトランスジェニックダンカン植物が作られた。タイプI <i>CsLOB1</i>プロモーターについては、変異の率は15.63 % (#D13)、14.29 % (#D17)、54.54 % (#D18)と81.25 % (#D22)だった。野生型のXccの存在下ではトランスジェニックダンカングレープフルーツは野生型と同じように潰瘍病の症状が現れた。人工的に設計したdTALE dCsLOB1.3は特異的にダンカンの形質転換体で感染させるために開発した。結果はXcc ΔpthA4:dCsLOB1.3の存在下で#D18は弱い潰瘍病の症状を示し、#D22は目に見える潰瘍病の症状はなかった。PthA4による影響を受けやすい遺伝子<i>CsLOB1</i>の1つの対立遺伝子の活性化はかんきつ類潰瘍病の誘導に十分であり、かんきつ類潰瘍病に耐性な植物を作るためには<i>CsLOB1</i>の両方の対立遺伝子プロモーターの変異がたぶん必要であることを私たちのデータは示唆する。本研究は、将来Cas9/sgRNAによって潰瘍病に耐性なかんきつ類の品種を作るための基礎となるだろう。</p>	[Jia H et al.] Citrus Research and Education Center, Department of Microbiology and Cell Science, Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), University of Florida, Lake Alfred 米国
----	----	----------------------	-------------	------------------------	-------------------------	--	------	---------------	--	---