

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、エクソンの配列にわた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る。L-idonate dehydrogenase遺伝子(<i>IdnDH</i>)の異なる部位を標的として2つのsgRNAを設計した。CE11エントモスプレアーゼアッセイとシーケンシング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シーケンシ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、植物においてフルイクマリンの生産を阻害する方法を提供する。植物においてフルイ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.] Université de Lorraine フランス
22	植物	トマト	CRISPR/Cas9	DMR6オゾンログ	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わせ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、持続可能な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 6</i>)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に特異的に発現が上昇し、 <i>dmr6</i> 遺伝子における変異はザリチン酸濃度の上昇を起した。トマトの <i>SlDMR6-1</i> オゾンログである <i>SolyC03g080190</i> , <i>Pseudomonas syringae pv. tomatos</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こ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ヌ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.	全ゲノムシークエ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導入が可能となり、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く、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、また可能性が高いなど、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、効率の良い標的化への突然変異誘発のために、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の栽培植物のプロトプラスチクを精製して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、影響を受けるような遺伝子である、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を標的にした。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チクの形質転換、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をプロトプラスチク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の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 Development, 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_Os01g062920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び、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を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植物を得ること、トランスジェニック植物ととも標的部位で変異を持つ植物を得ること、変異体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タイプの品種と新しい組み合わせを得ることができ。	[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21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部位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は次世代に伝達される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比較に調べた。病原菌の感染の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半分以下の両方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個の部位に異なる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の異なる遺伝子型を持つ9個の植物を得た。HRによって媒介される遺伝子置換は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らい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阻まれ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ミニウイルスのレプリアン(GVR)を使った。GVRsを使って得られた形質転換植物は、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T-DNAによる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脂肪酸(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やして、それが心臓血管の病気を引き起こしている。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、リノール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用な、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	OsEPSPS	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NHEJ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、コメの内在水性遺伝子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22%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。さらには、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、コメ以外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こさせた。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。米国内は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
----	----	----------------------	-------------	------------------------	-------------------------	--	------	---------------	--	---