

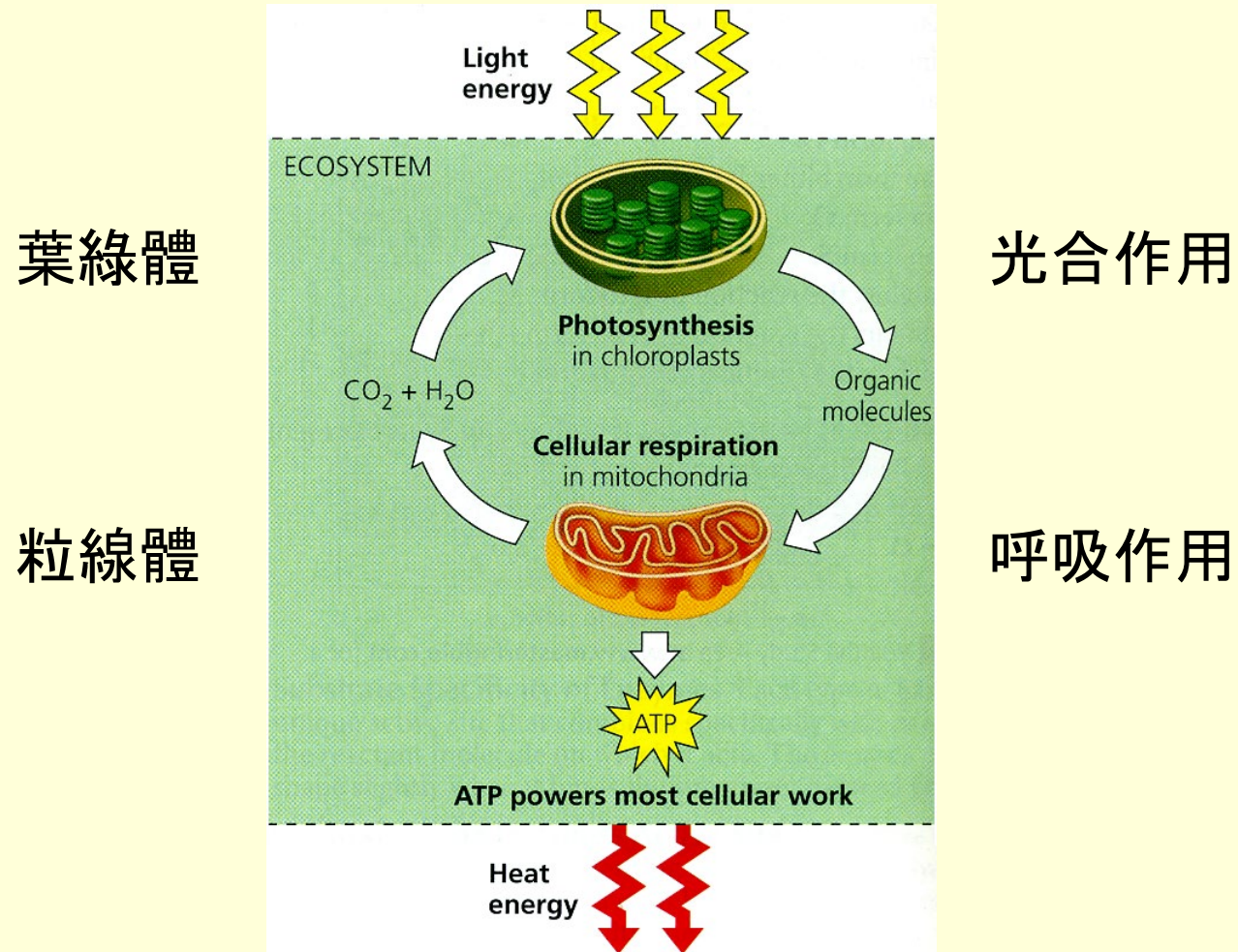
細胞生物學：葉綠體、粒線體



謝明勳

中央研究院
植物暨微生物學研究所

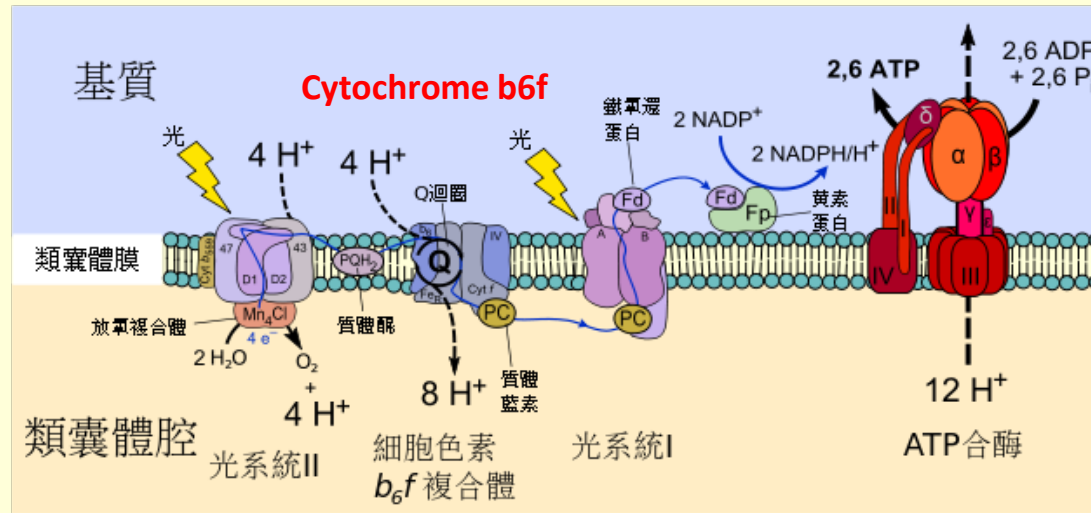
葉綠體與粒線體的主要生理功能



葉綠體、粒線體的生理功能：產生能量(ATP)

葉綠體、粒線體：細胞內產生能量 (ATP) 的重要胞器

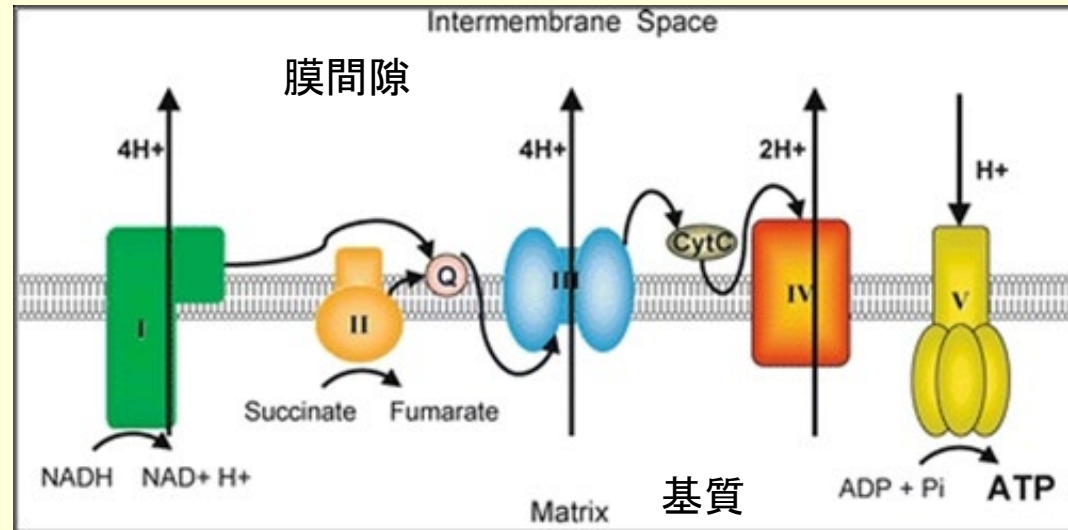
葉綠體的
電子傳遞鏈



PSII (Photosystem II) PSI (Photosystem I) ATP synthase

H⁺離子濃度的差異
驅動ATP的合成

粒線體的
電子傳遞鏈



Complex I Complex II Complex III Complex IV Complex V (ATP synthase)

H⁺離子濃度的差異
驅動ATP的合成

葉綠體與粒線體是如何演化來的？

Endosymbiosis theory (內共生假說)

- The **mitochondria** (粒線體) of eukaryotes evolved from **α -proteobacteria** (α -變形菌) living within their host cell.
~ 1.5 billion years ago
- The **chloroplasts** (葉綠體) of eukaryotes evolved from endosymbiotic **cyanobacteria** (藍綠菌).
~ 1.2 billion years ago

葉綠體與粒線體都有自己的 DNA

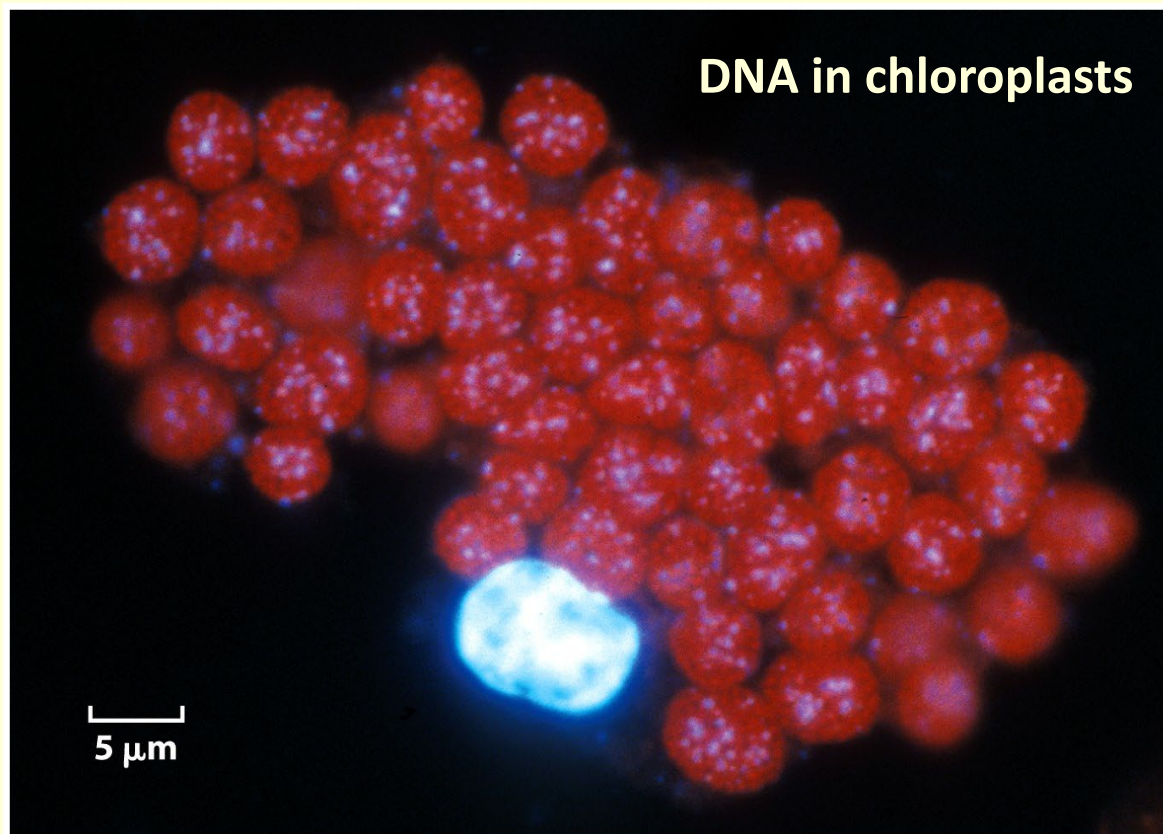


Figure 2-32 Plant Biology (© Garland Science 2010)

阿拉伯芥葉綠體內約有87 基因, >3,000 蛋白質

阿拉伯芥粒線體內約有57 基因, 2,000 ~ 3,000 蛋白質

植物葉綠體內的基因

I. Genes involved in chloroplast gene expression (與基因表現有關的基因)

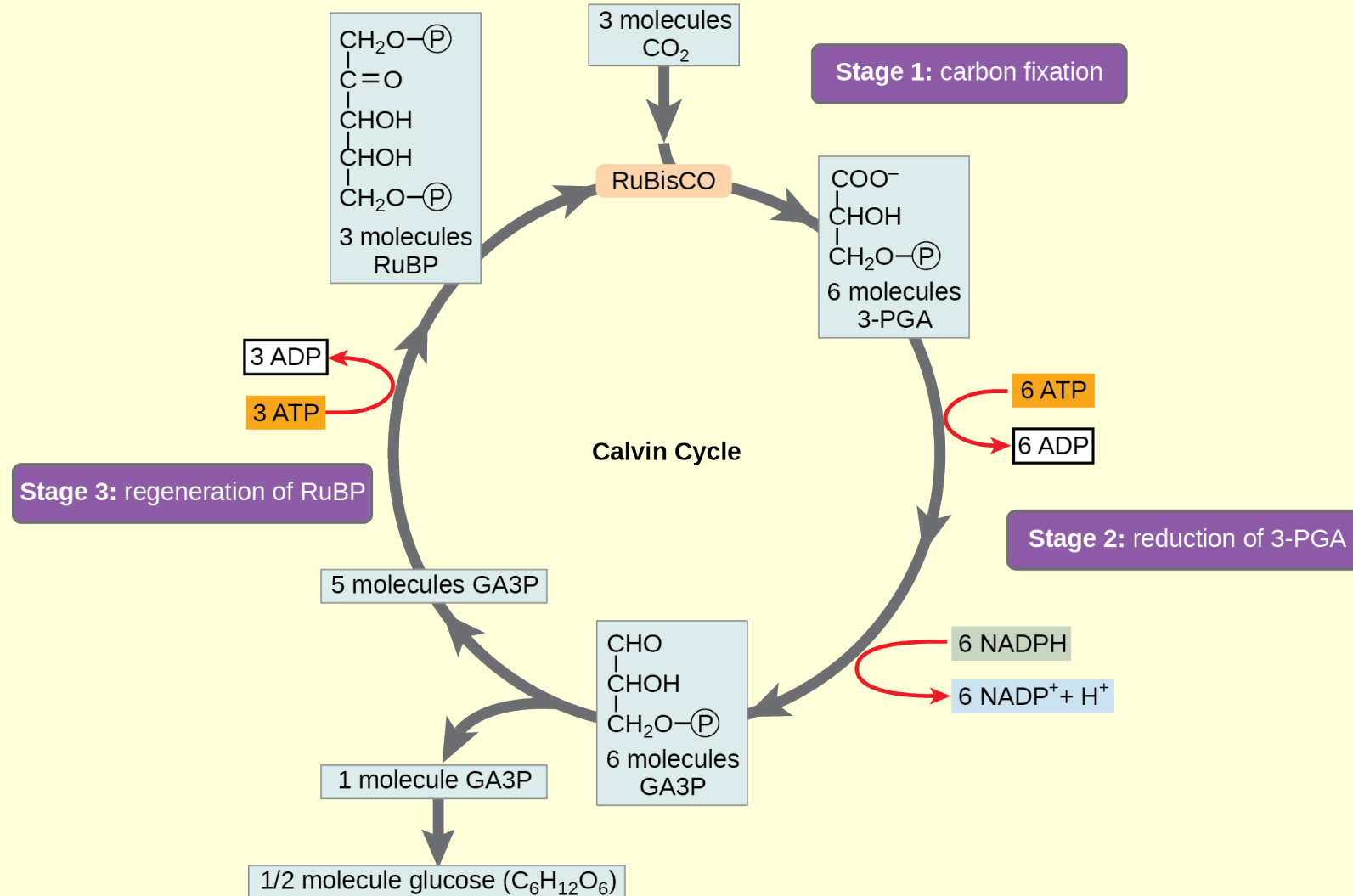
- rRNAs, tRNAs
- ribosomal proteins
- RNA polymerase

II. Genes involved in photosynthesis (與光合作用、電子傳遞鏈有關的基因) (electron transport chain)

- 28 thylakoid proteins *psa* and *psb* subunits
- ATP synthase subunits (*atp*)
- NADH dehydrogenase subunits (*nad*)
- Cytochrome b6f subunits (*pet*)

III. RUBISCO large subunit (*rbcL*)

Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase (RuBisCO) is the enzyme responsible for the fixation of C derived from atmospheric CO_2 as part of the Calvin-Benson cycle

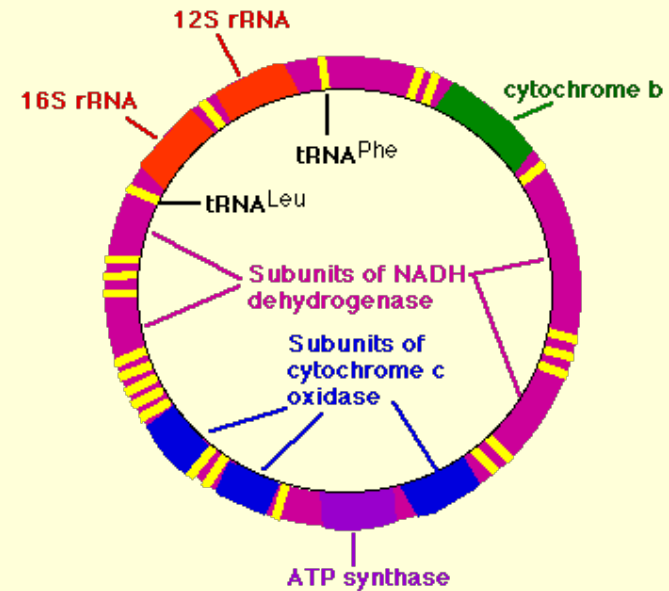


Human Mitochondrial Genome

人類粒線體的基因體全長16.5 kb，只有13個可以轉譯成蛋白質的基因（與電子傳遞鏈有關）

The genome of **human mitochondria** contains 16,569 base pairs of DNA organized in a closed circle. These encode:

- 2 **ribosomal RNA** (rRNA) molecules
- 22 **transfer RNA** (tRNA) molecules
- 13 polypeptides
 - 7 subunits that make up the mitochondrial **NADH dehydrogenase**
 - 3 subunits of **cytochrome c oxidase**
 - 2 subunits of **ATP synthase**
 - **cytochrome b**



絕大部分的粒線體蛋白質，都是在細胞質內合成，然後運送到粒線體內。

Evolutionary trend towards reducing organelle gene content

| Genome | Protein coding genes |
|--|----------------------|
| <i>Rickettsia prowazekii</i> (alpha proteobacterium) | 832 |
| <i>Reclinomonas americana</i> (protozoan) mitochondria | 62 |
| <i>Marchantia polymorpha</i> (liverwort) mitochondria | 64 |
| <i>Arabidopsis thaliana</i> mitochondria | 57 |
| <i>Homo sapiens</i> mitochondria | 13 |

- I. 葉綠體、粒線體: “Energy Producing Organelles” 細胞內產生能量 (ATP) 的重要胞器
- II. 葉綠體、粒線體: “Semi-autonomous Organelles” 有自己的基因, 但必須仰賴細胞核基因

Chloroplast Biology



**Many important reactions occur
in the chloroplast**

Photosynthesis

光合作用

Amino acid metabolism

氨基酸代謝

Carbohydrate metabolism

醣類代謝

Redox regulation...etc

- 很多殺草劑的作用機制，與必需氨基酸的合成有關。
- 很多基改作物，與抗殺草劑有關。

基改作物主要來自四大公司

- **BASF 巴斯夫 (德國)**



- **Syngenta 先正達 (瑞士)**



- **Bayer 拜耳 (德國)**

(Monsanto 孟山都)



- **Corteva 科迪華 (美國)**

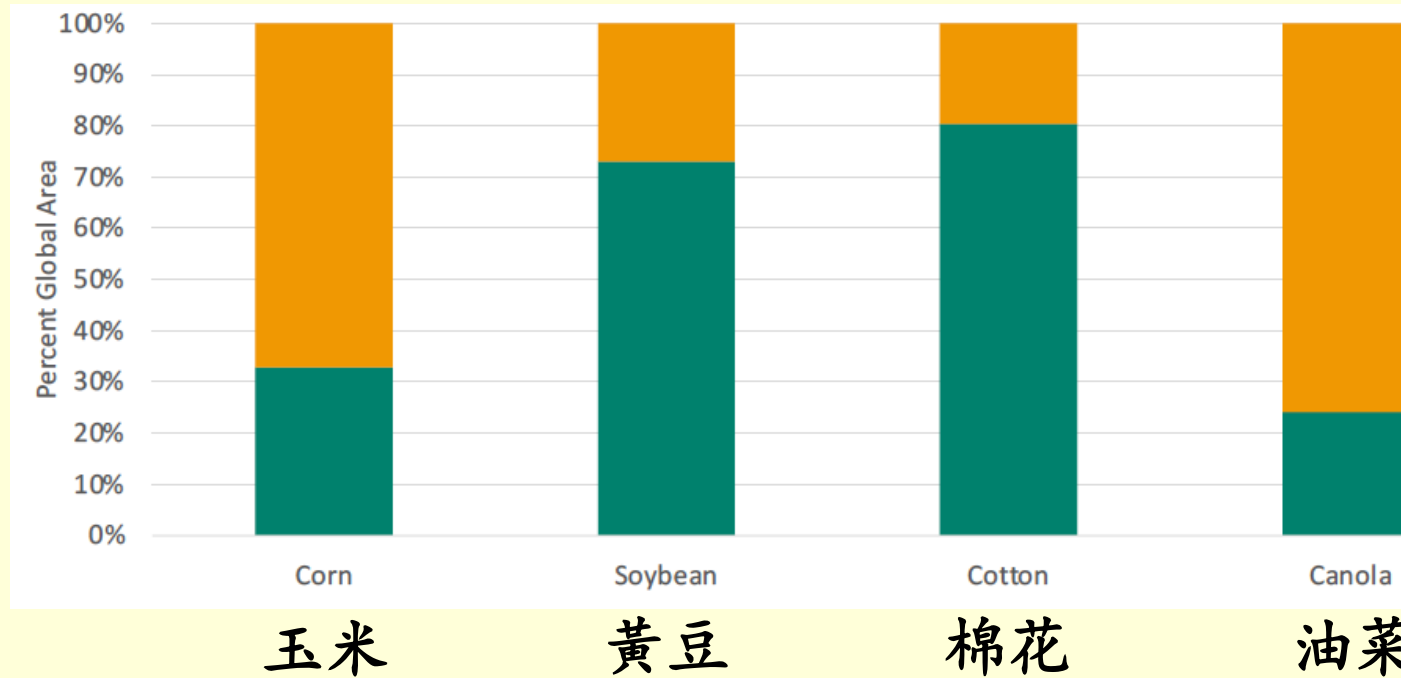
(Dupont 杜邦)



四大基改作物：



GM Crops grown on 200 million hectares in 2022



Source: <https://gm.agbioinvestor.com/>

- 99% 以上的基改作物是抗殺草劑、抗蟲的基改作物
- 這類基改作物的研發，讓農民耕作更方便，也讓種子公司更容易壟斷市場
- 種植基改作物的國家：美國、巴西、阿根廷、加拿大、印度、巴拉圭、中國、...

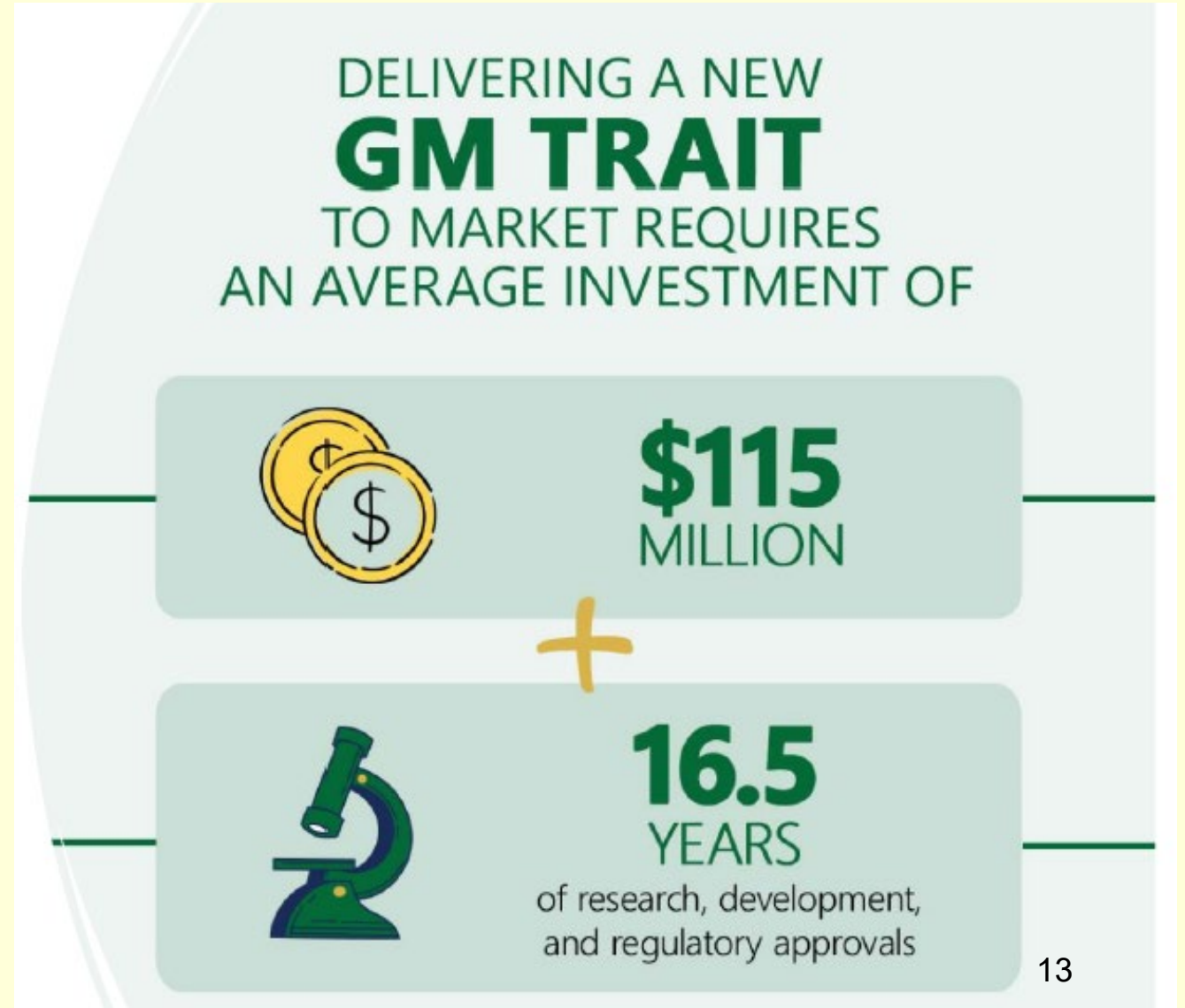
基改作物從研發到上市所花費的時間與金錢

- 16.5 年
- 1億1千5百萬 美元

巴斯夫、先正達、拜耳、科迪華
2017-2022 上市產品之平均花費

Time and Cost to Market Study

A new study from Agbio Investor surveyed four leading biotech crop developers (BASF, Bayer, Corteva, Syngenta) on how long it takes and how much it costs to bring a product from early-stage research through product launch, for traits launched 2017-2022.

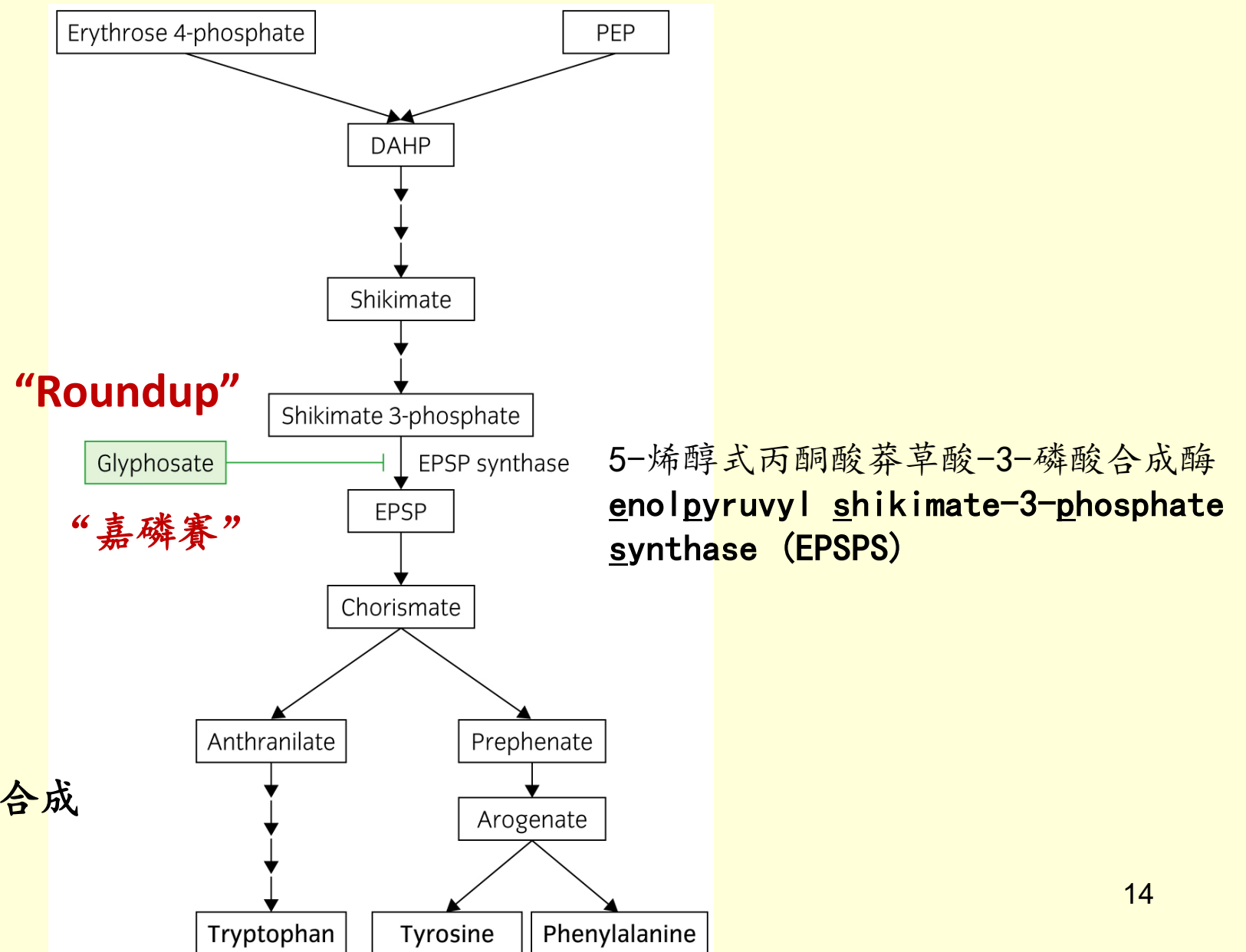


“Roundup” 「年年春」為什麼可以殺死植物？

“Roundup” 抑制了
芳香族氨基酸的合成



- 芳香族氨基酸：必須氨基酸
- 必須氨基酸：人類不能自行合成，必須從食物中獲得。



孟山都的抗除草劑基改作物 “Roundup Ready®” (抗農達)

傳統的
非基改作物



Roundup Ready®
基改作物

孟山都最賣座的產品：“Roundup”「年年春」殺草劑



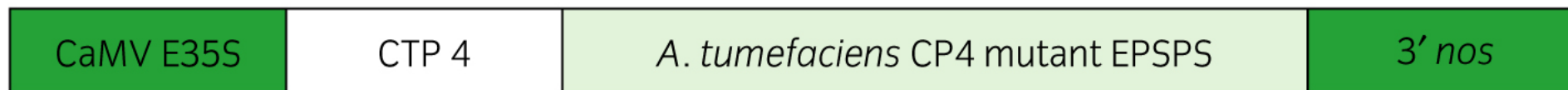
“Roundup”: the most used herbicide in the USA and the most-sold agrichemical of all time

Roundup Ready® 作物的研發

- 科學家在農桿菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 中，篩選到可以抗 “Roundup”，又能合成芳香族胺基酸的菌種 (*A. tumefaciens* CP4)

此菌種是因為 **EPSPS** 酵素發生**突變**所造成 (mutant EPSPS)

- 將此不受Roundup 抑制的 **EPSPS 突變型基因**轉殖到作物中

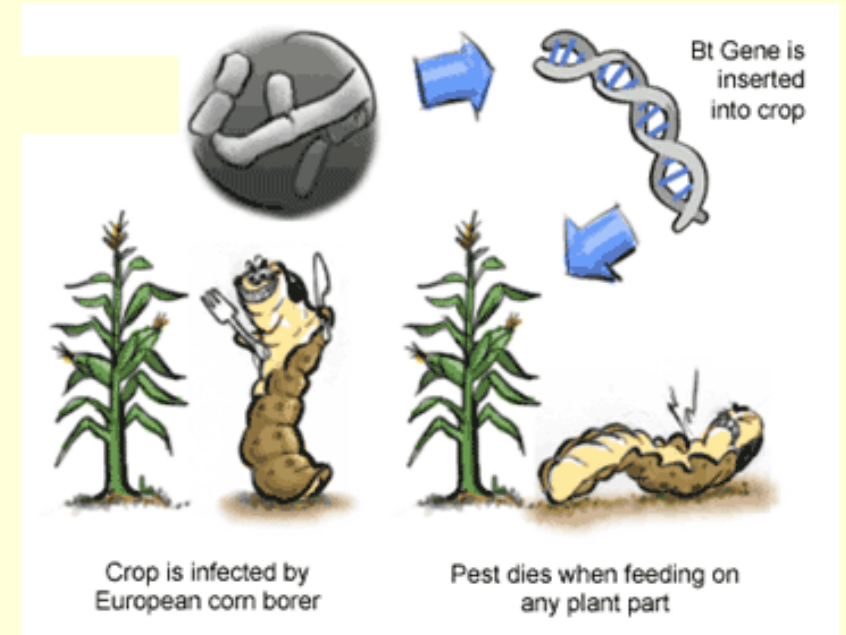
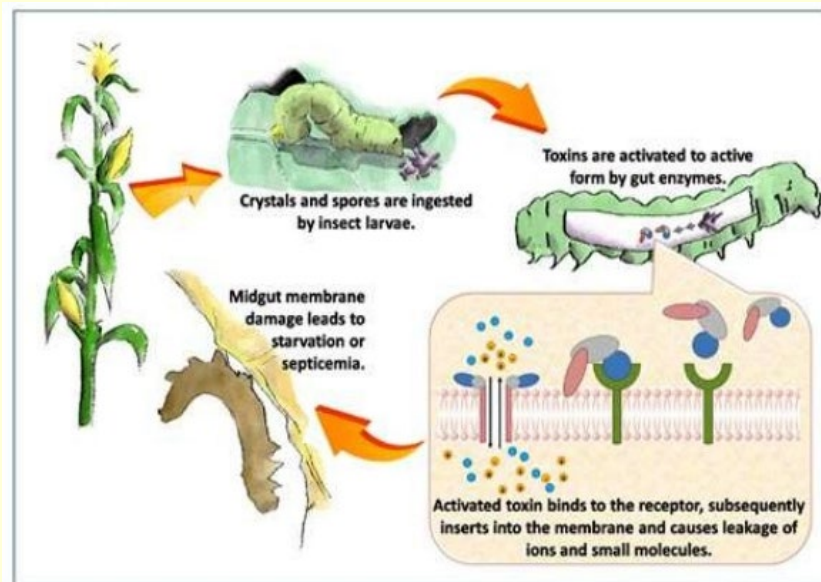


用來製造 Roundup Ready® 作物的基因簡圖

植物芳香族氨基酸於“葉綠體”內合成，因此在EPSPS基因前面加上一段“transit peptide (TP)”，讓EPSPS可以順利地運送到“葉綠體”內。

抗蟲的基改作物 (*Bt crops*)

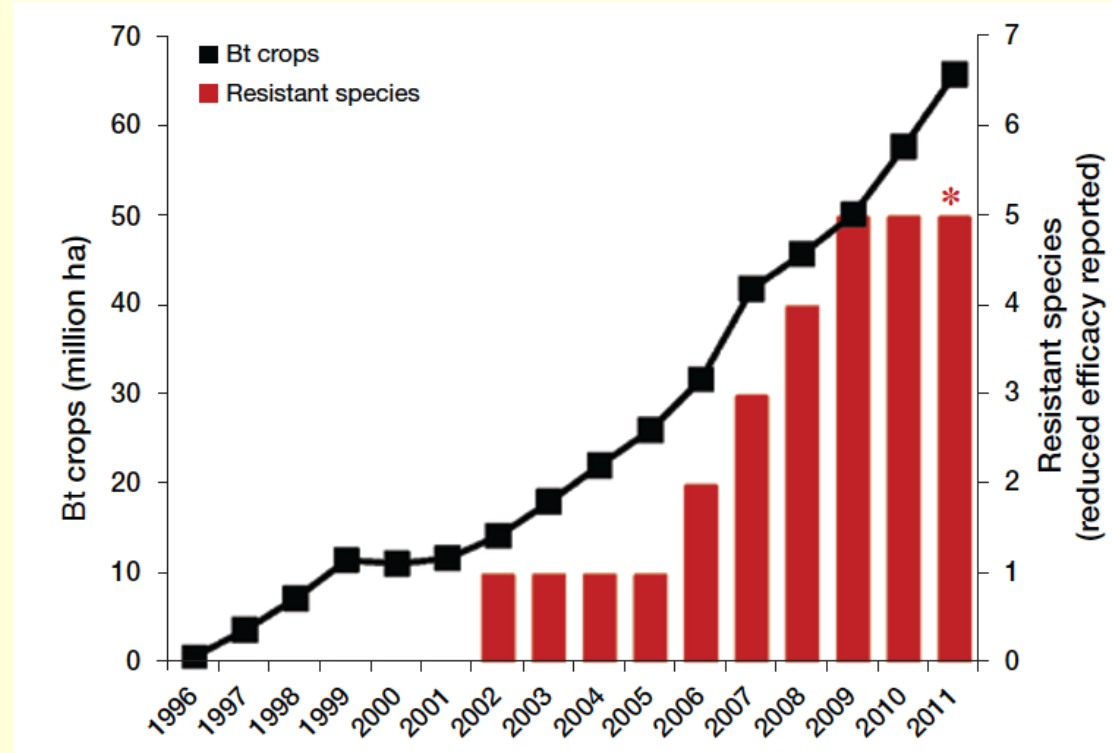
- 蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*) 會產生具有殺蟲效果的結晶蛋白(crystal proteins, Cry)
- Cry 蛋白在昆蟲的腸道中 (鹼性) 具有毒性，在人類腸道中 (酸性) 不具毒性。
- 將蘇力菌的 **Cry** 基因轉殖到作物中，簡稱“***Bt crops***”。
- Cry 蛋白的作用機制：



蘇力菌的 Cry 蛋白會與昆蟲的腸壁細胞膜上的接受器(receptor)結合，造成腸細胞穿孔

廣泛種植 Bt 基改作物會促進昆蟲抗性 (Bt crops resistance) 之演化

Bt crops 種植面積



抗性昆蟲種類

VOLUME 31 NUMBER 6 JUNE 2013 NATURE BIOTECHNOLOGY

因應之道: (1) 堆疊更多的 Cry 基因

(2) 研發新的抗蟲技術

新一代的抗蟲基改作物（2022年上市）：利用 RNAi 的原理



SmartStax[®] PRO
With **RNAi** TECHNOLOGY

BAYER

SMARTSTAX[®] PRO WITH RNAi TECHNOLOGY*

Available in 2022

- 該基改玉米轉殖了一個會產生 *dvSnf7* 240個鹼基對雙股RNA的基因。
- *Snf7* 是一種“**必須基因**”，其功能與膜蛋白之運送有關。The DvSnf7 protein is essential for transmembrane protein sorting.
- 西方玉米根蟲 (Western Corn Rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*) 吃了該基改玉米，會在體內引發RNAi反應，抑制 *Snf7* 基因的表現，導致死亡。

- **堆疊更多的 Cry 基因**
- **新的抗蟲技術之研發**



抗蟲的基改黃豆、基改玉米

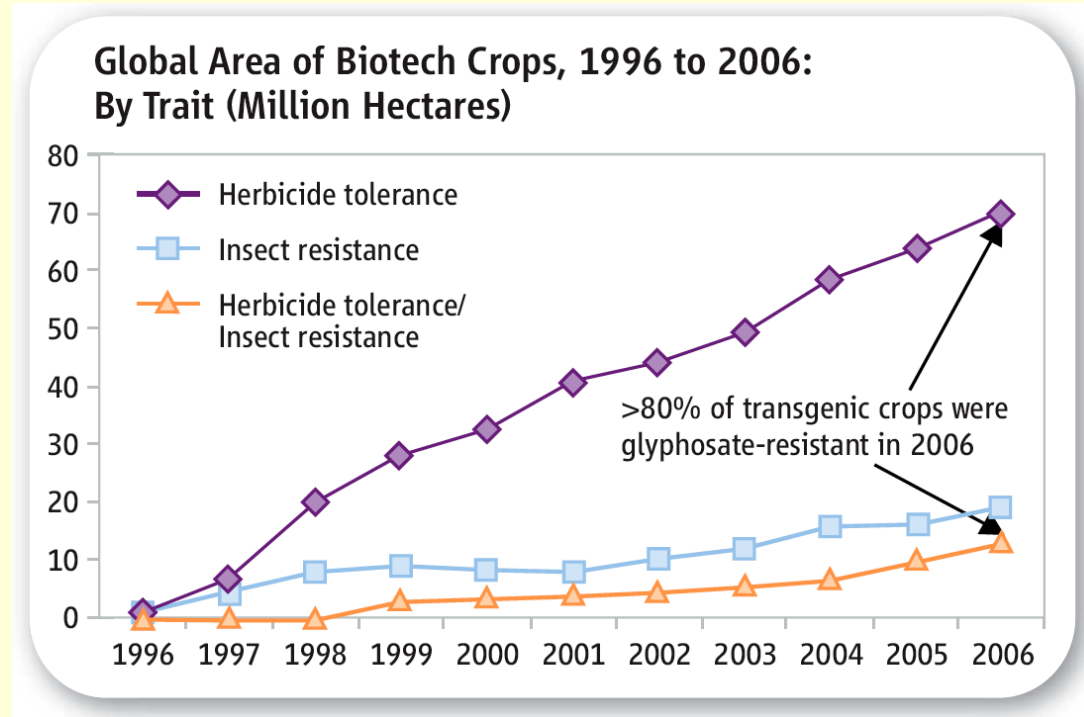


黃豆



玉米

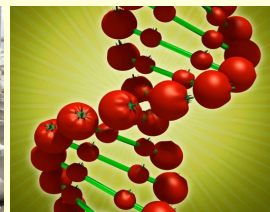
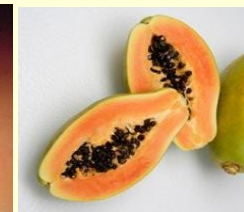
抗殺草劑、抗蟲的基改作物自1996年上市後即不斷擴增



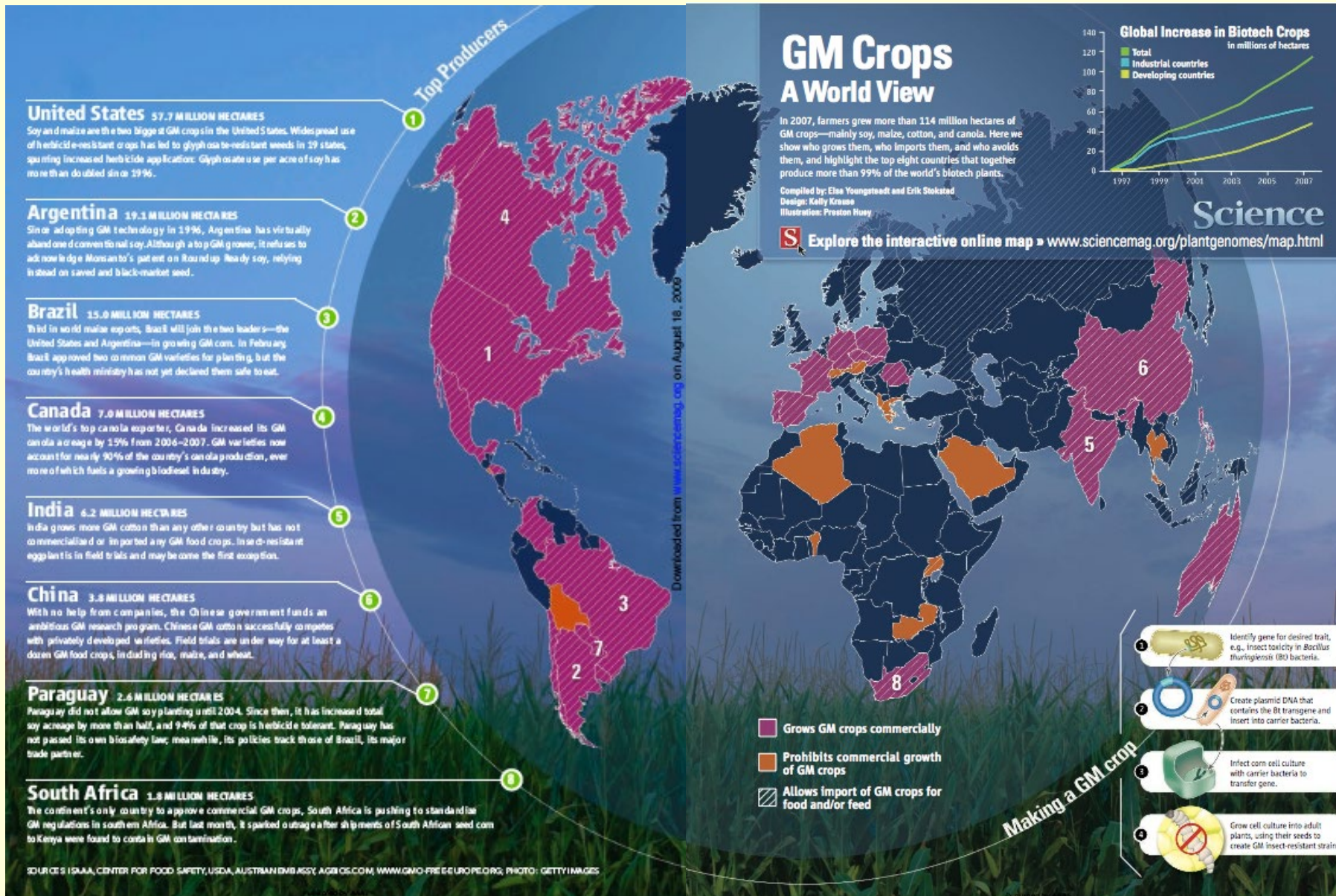
抗殺草劑

抗蟲
抗殺草劑 / 抗蟲

SCIENCE VOL 316 25 MAY 2007

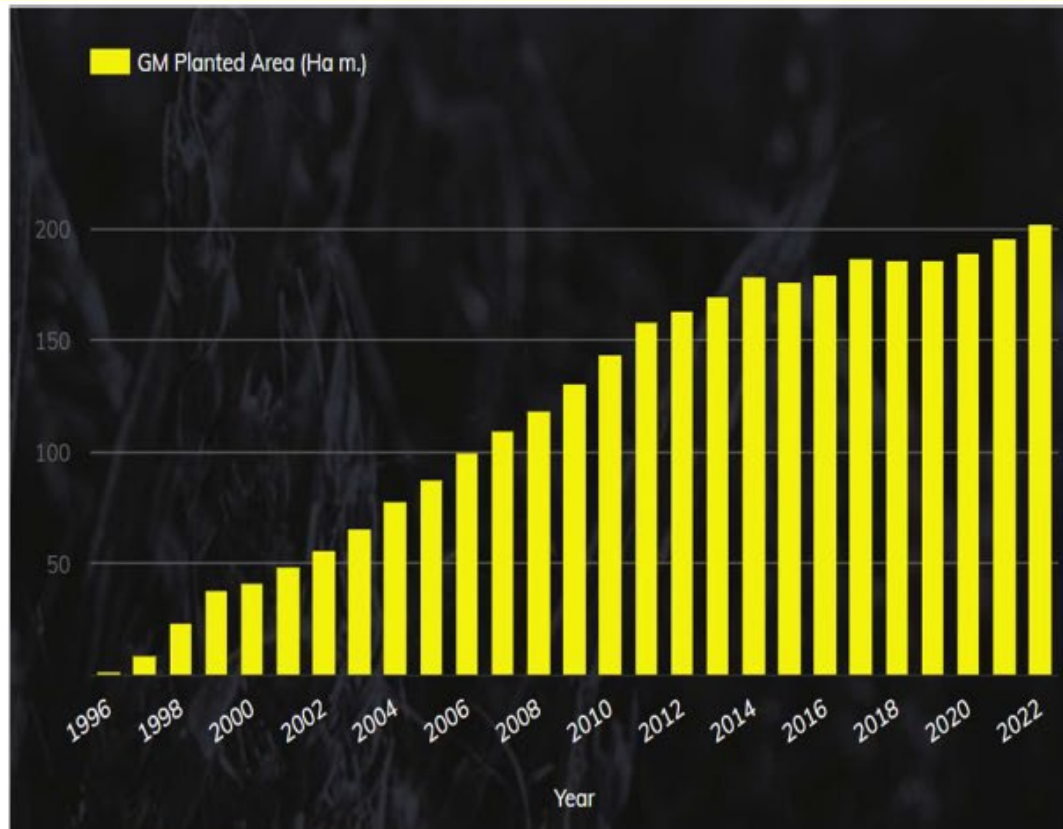


種植基改作物的國家：美國、阿根廷、巴西、加拿大、印度、中國、巴拉圭、南非...



台灣不種植
但准許進口
基改作物

抗殺草劑、抗蟲的基改作物自1996年上市後即不斷擴增

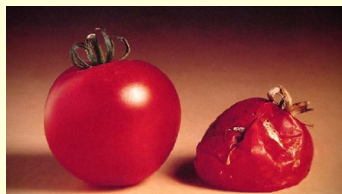


Source: <https://gm.agbioinvestor.com/>

- 27 countries in 2021
- Total of 202.2 million hectares in 2021
- Increase of 3.3% in 2022 (208.9 million hectares)

種植基改作物的國家：美國、巴西、阿根廷、加拿大、印度、巴拉圭、中國、...

越來越多與抗蟲、抗殺草劑無關的基改作物已獲批准上市



番茄
不易軟化



紫色番茄



藍色玫瑰花



木瓜
抗病毒



鳳梨
粉紅色



蘋果
不易變黑



水稻
黃金米



馬鈴薯
抗病、不易變黑、低丙烯醯胺

“不是由四大公司所研發”

可以抗輪點病毒的基改木瓜於1998年在夏威夷核准上市



SunUp



Rainbow

利用DNA重組技術，將輪點病毒 (Ringspot virus) 的表面蛋白 (coat protein) 基因，轉殖到木瓜。

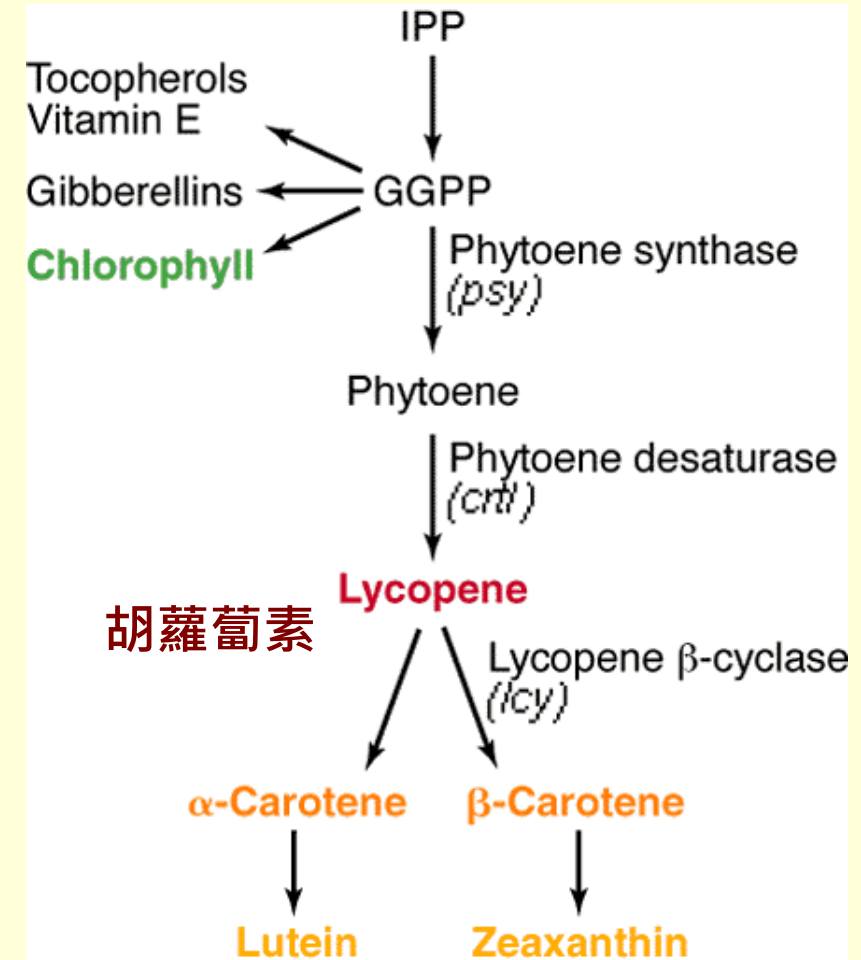


黃金米 Golden Rice



25 APRIL 2008 VOL 320 SCIENCE www.sciencemag.org

Published by AAAS



將植物和細菌中，與合成胡蘿蔔素有關係的基因 *psy*, *crtI*, *lcy* 轉殖到水稻

黃金米 Golden Rice



<http://www.goldenrice.org/>

第一代 黃金米

第二代 黃金米

Provitamin A (β -carotene):

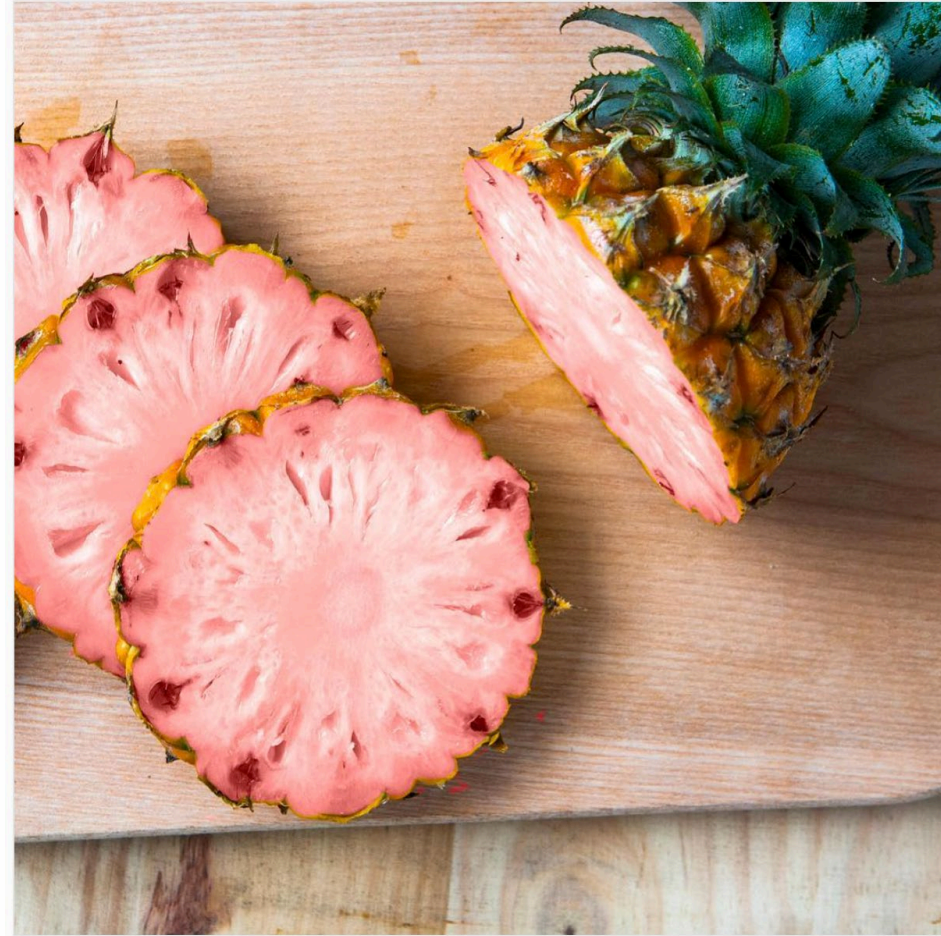
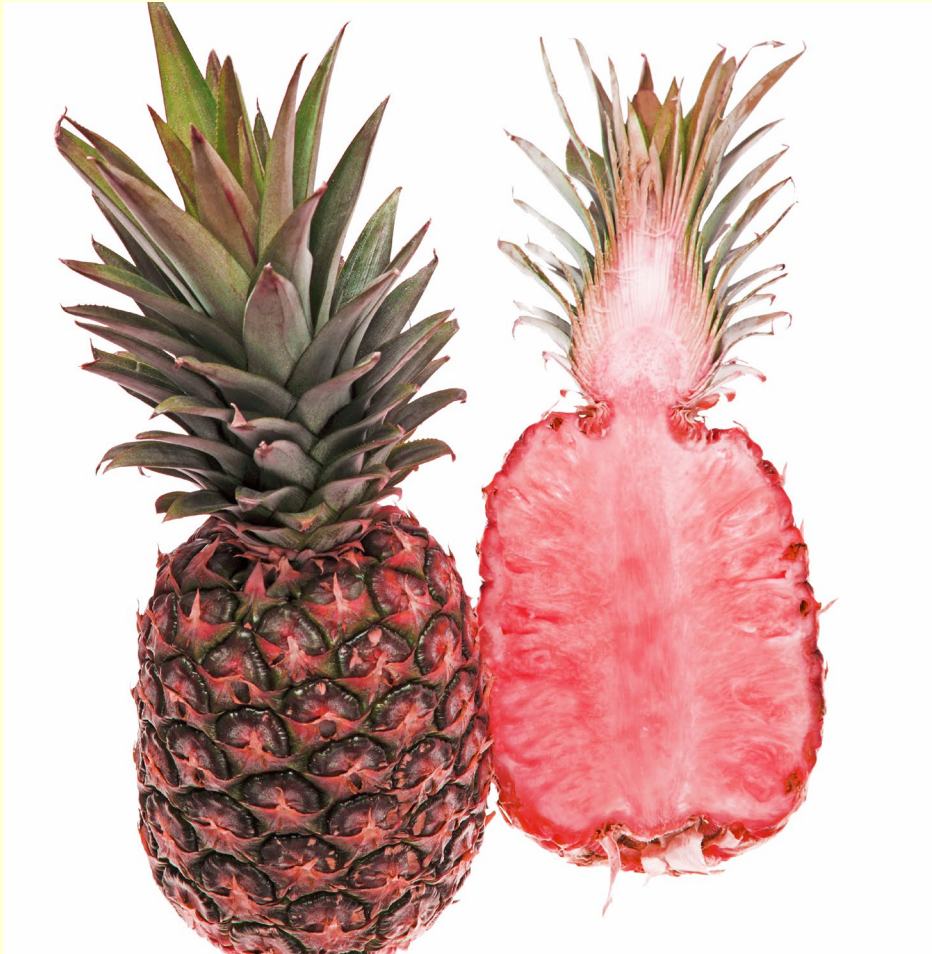
1.6 $\mu\text{g/g}$

31 $\mu\text{g/g}$

β -胡蘿蔔素

粉紅色的鳳梨

Del Monte "ROSÉ" pink pineapples



- FDA approves pink, genetically engineered pineapple from Del Monte [Fox News](#) December 16, 2016

與花青素相關的基因轉殖植物：紫色番茄與藍玫瑰



英國科學家研發出的紫色蕃茄(2008)

NATURE BIOTECHNOLOGY VOLUME 26 NUMBER 11 NOVEMBER 2008

Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors

Eugenio Butelli¹, Lucilla Titta², Marco Giorgio², Hans-Peter Mock³, Andrea Matros³, Silke Peterek³, Elio G W M Schijlen⁴, Robert D Hall⁵, Arnaud G Bovy⁴, Jie Luo¹ & Cathie Martin¹



日本山多利公司的藍玫瑰：“喝采”

SUNTORY blue rose “APPLAUSE”

美國農業部於2022年9月批准紫色的基改番茄

HEALTH & WELLBEING

Genetically modified purple tomato approved by US regulators

By Rich Haridy
September 11, 2022



2004年，丹麥一家生技公司發展出可以偵測地雷的基改植物



NO₂ inducible
P_i promoter

Gene that controls
anthocyanin biosynthesis

Termination
signal

將可以調控花青素合成的基因，接在會受二氧化氮誘導的驅動子之後

可以偵測地雷的植物 Land-mine-detecting plants



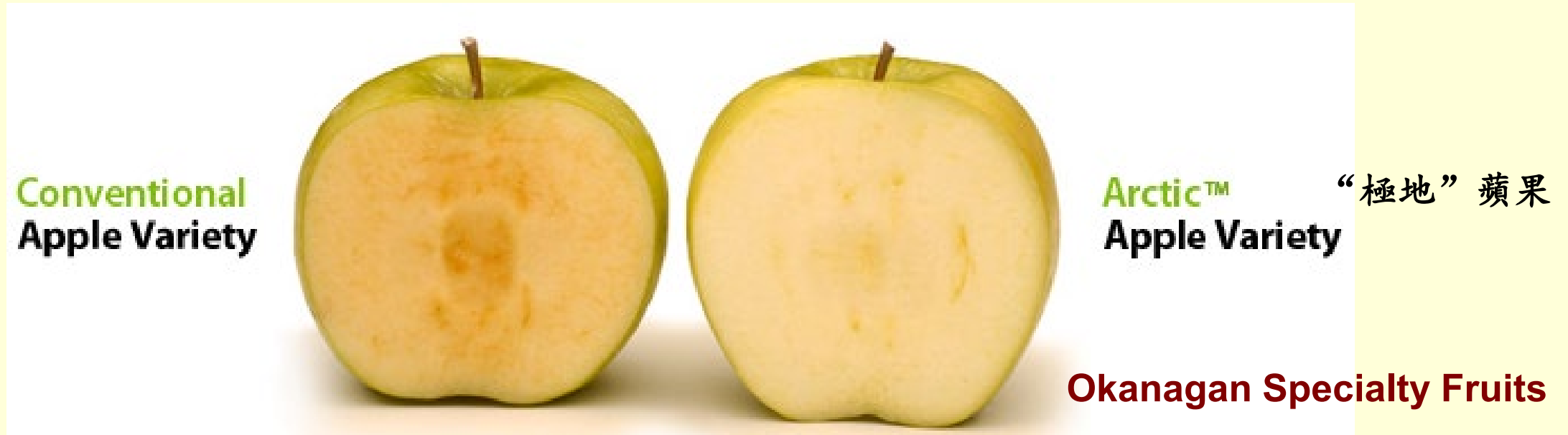
The New York Times

December 9, 2004

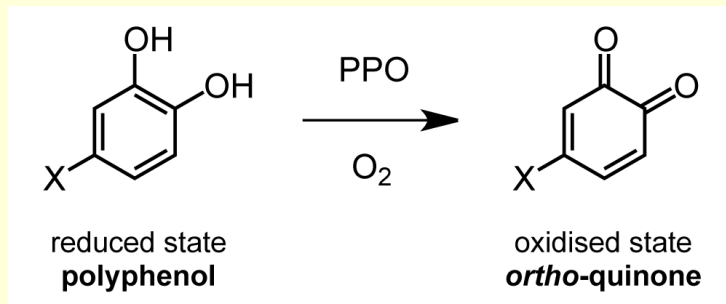
Photomontage by Zachary Scott for The New York Times

紐約時報

不易褐化變黑 (non-browning) 的基改蘋果



PPO: polyphenol oxidase 多酚氧化酶



利用“基因靜默 (gene silencing)”，
即 **RNA interference (RNAi)** 的技術，
來抑制 **PPO** 基因的表現。

美國已批准上市的基改馬鈴薯

USDA Approves Modified Potato. Next Up: French Fry Fans.

By ANDREW POLLACK NOV. 7, 2014 The New York Times



比較不會氧化變黑的馬鈴薯

A genetically modified **Innate potato™** (“天生” 馬鈴薯) left, made by **J.R. Simplot**, next to a bruised conventional potato.

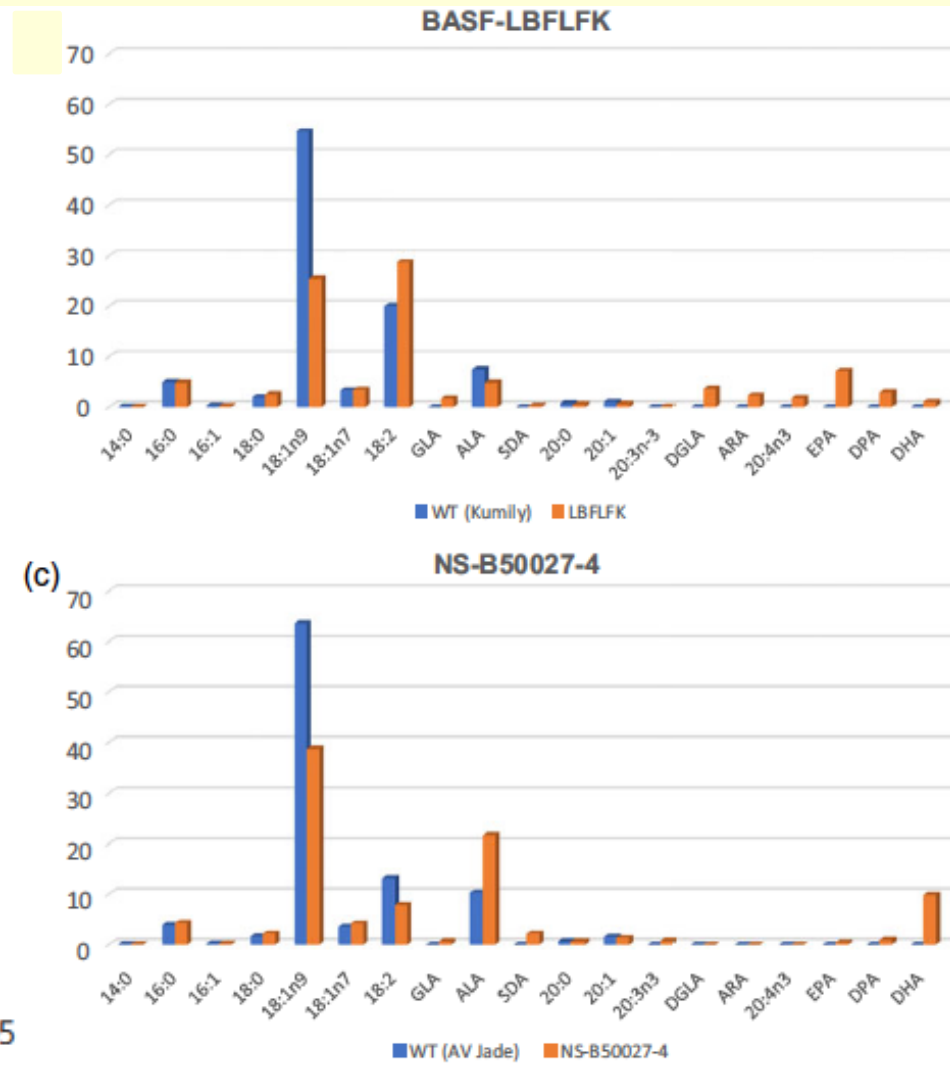
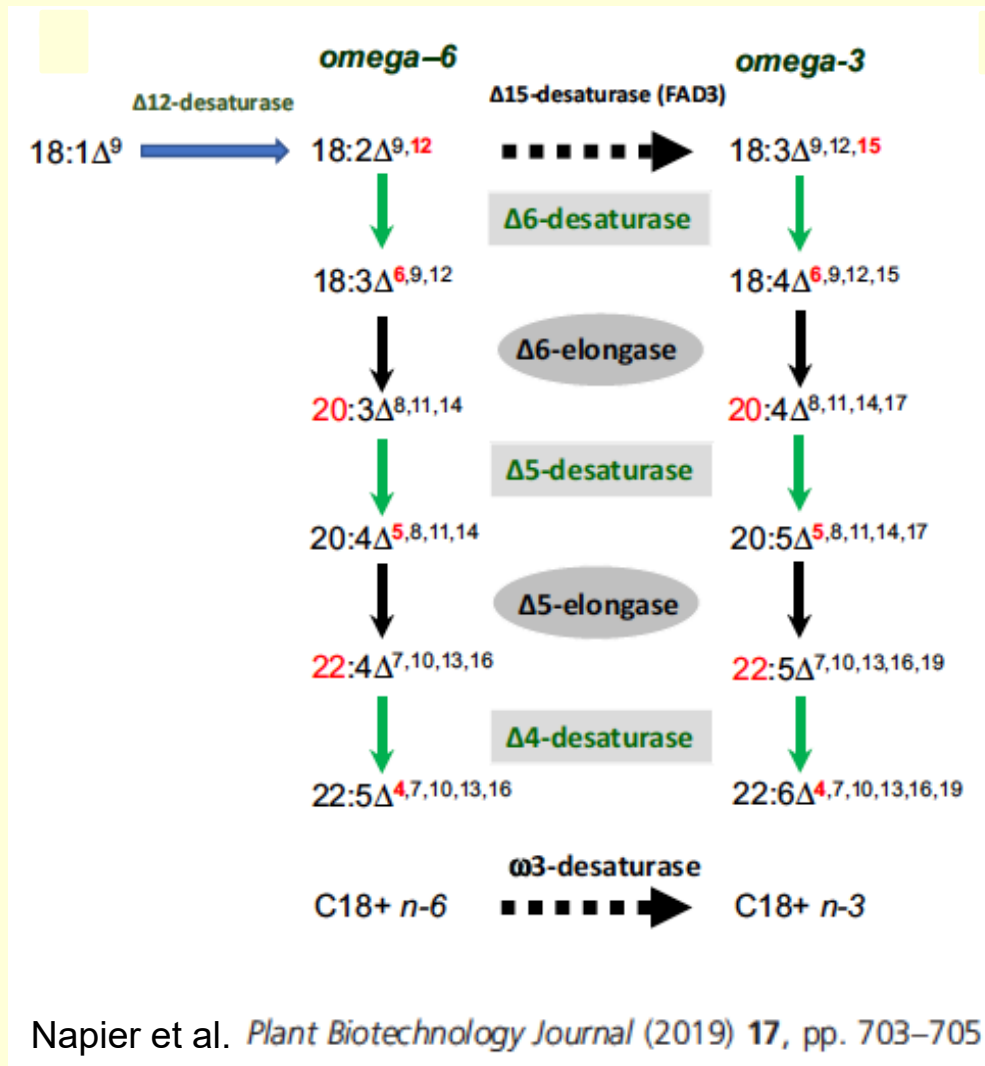
BASF 與 Nuseed 公司的 DHA 基改油菜近年已獲美、加、澳等國批准上市



含有高量的 EPA 與 DHA ω -3 多元不飽和脂肪酸的基改油菜

“Just one to **two hectares of Nuseed canola could provide about the same amount of DHA from **10,000 kg fish.**”**

BASF 與 Nuseed 的基改油菜含有高量的 EPA 與 DHA



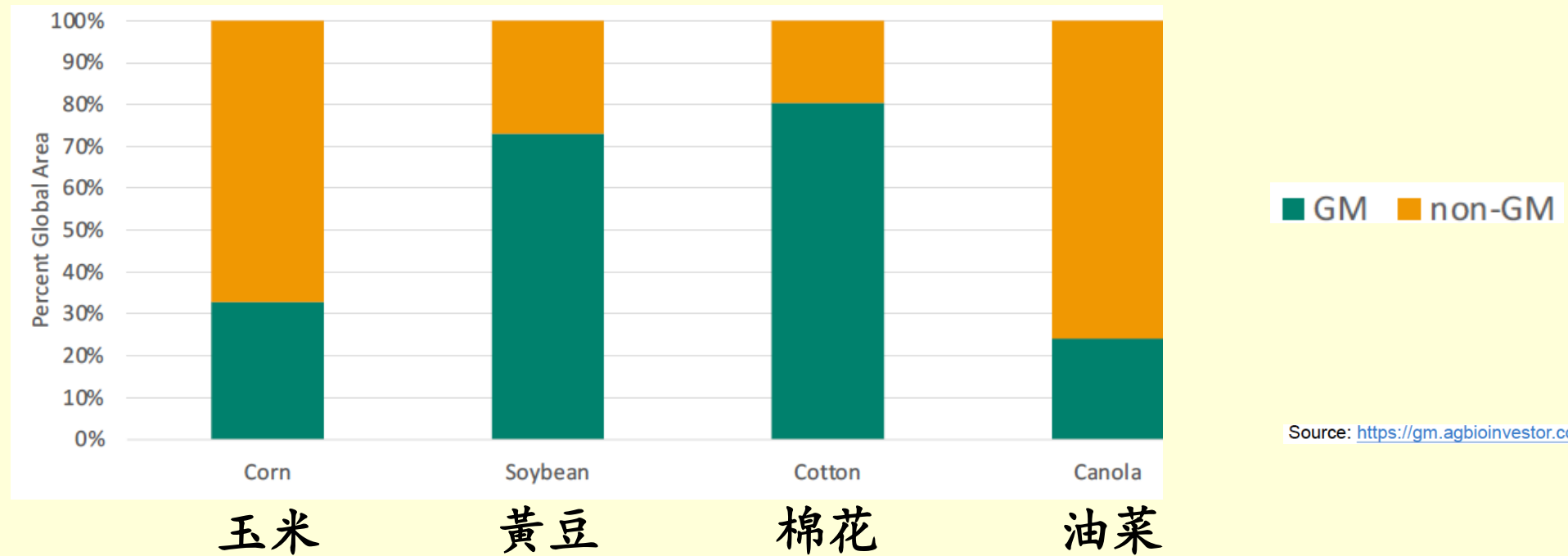
-3 levels

- **BASF-LBFLFK** 基改油菜轉殖了12個與 DHA 合成有關的基因（7種酵素），外加一個抗殺草劑基因。

四大基改作物：



GM Crops grown on 200 million hectares in 2022

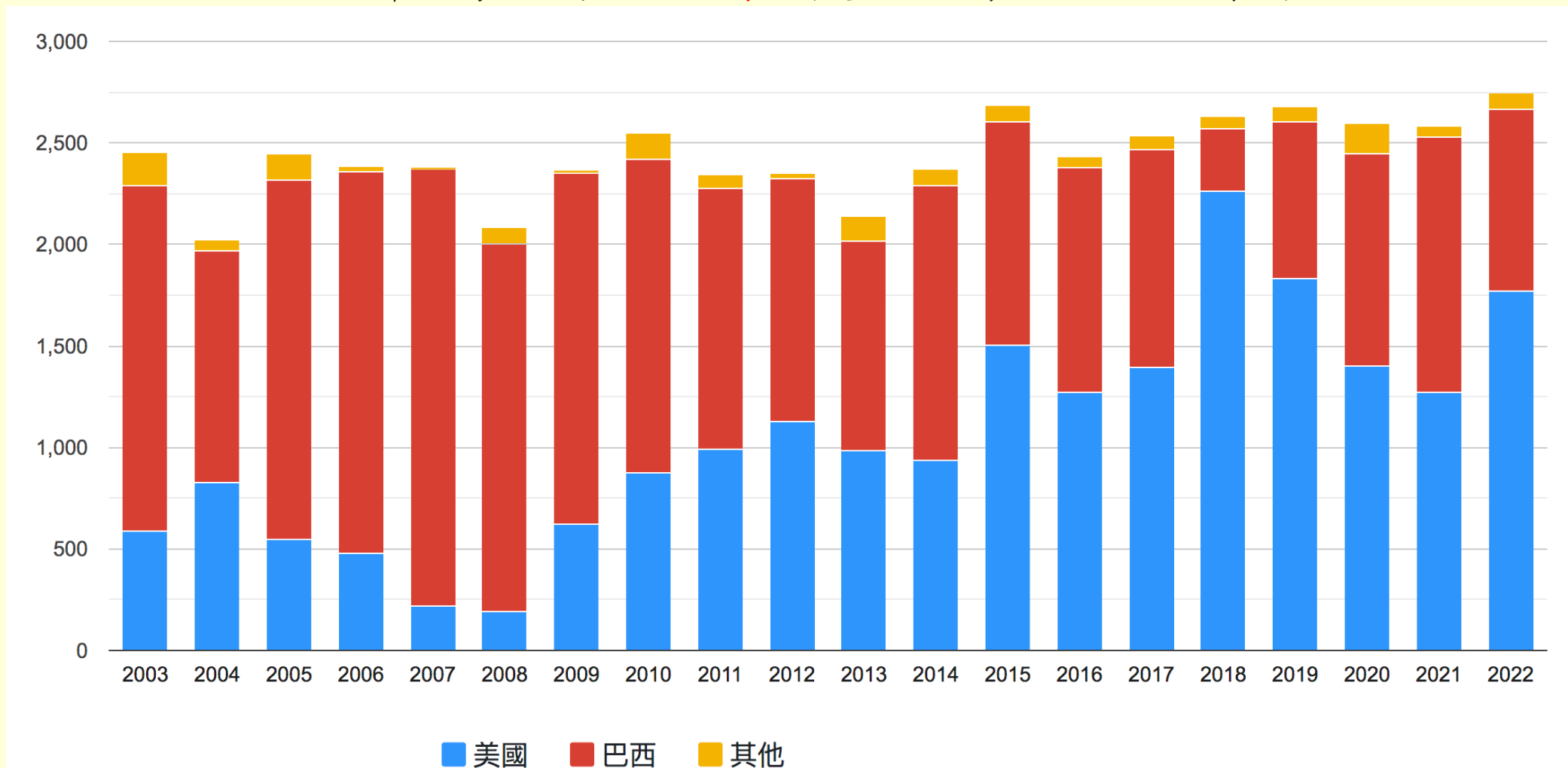


Source: <https://gm.agbioinvestor.com/>

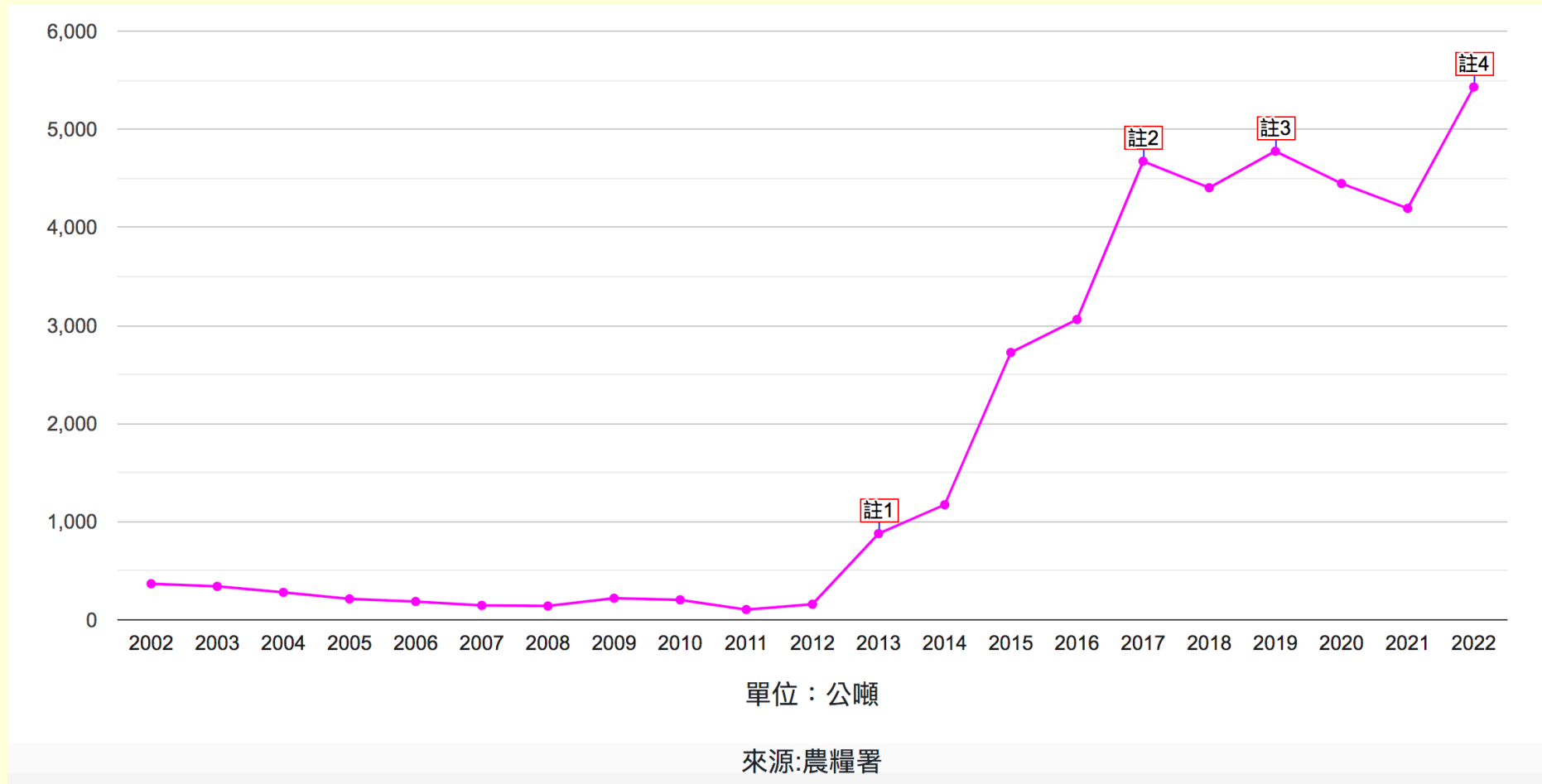
基改作物：台灣不准種植，但准許進口。

歷年台灣進口黃豆來源國比較

2022年台灣進口黃豆**275萬噸**(美國177萬噸、巴西89萬噸)



2022年國產黃豆年產量為5,430公噸

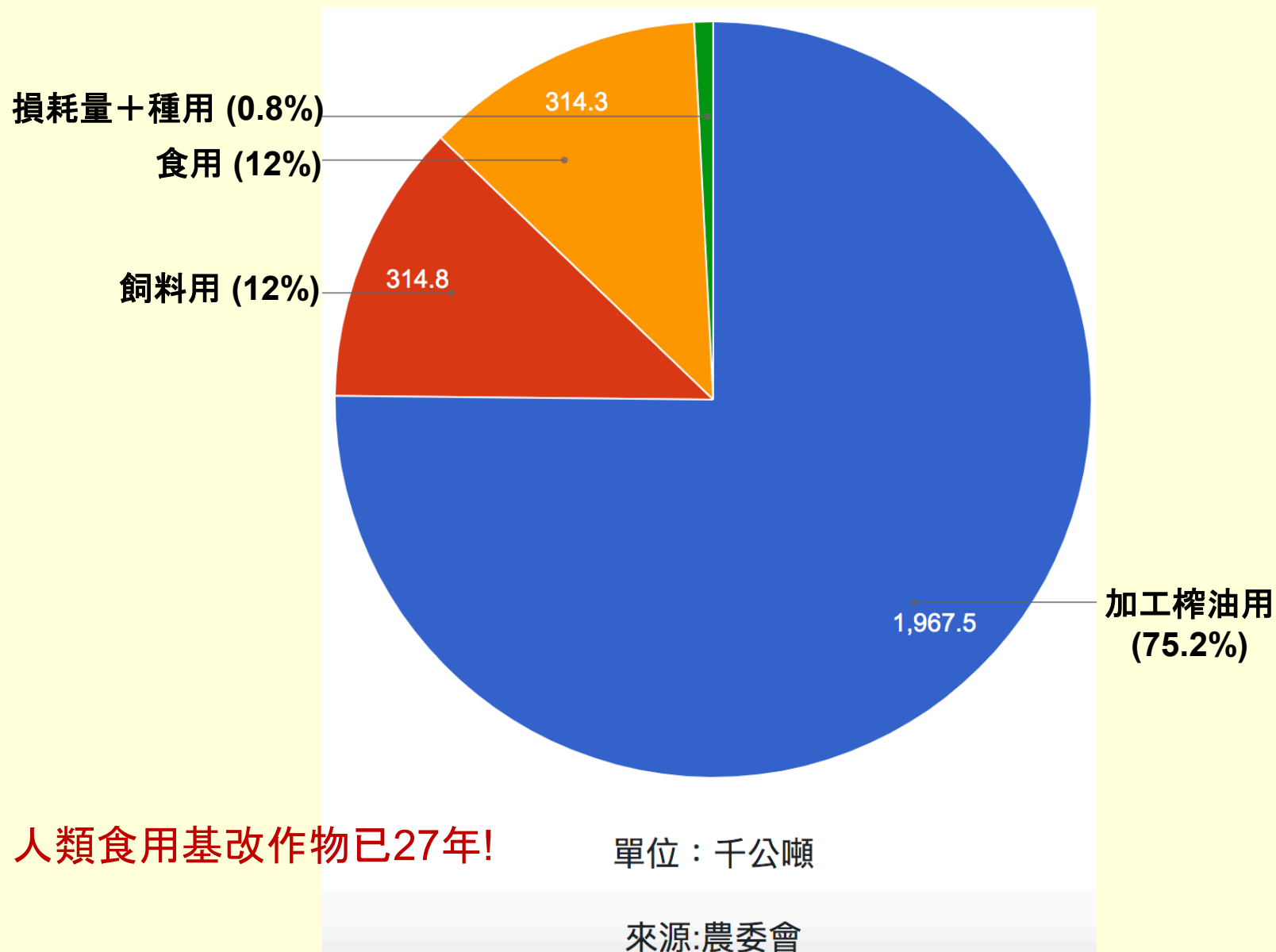


- 註1：2013年，879公噸，調整耕作制度，活化農地計畫，國產黃豆量提升
- 註2：2017年，4,674公噸，實施大糧倉計畫，國產黃豆量增加
- 註3：2019年，4,776公噸，實施對地綠色環境給付計畫，國產黃豆量增加
- 註4：2022年，5,430公噸，持續實施大糧倉計畫，國產黃豆量增加

$$5430/2750000+5430 = 0.001970 (\sim 0.2\%)$$

2022年台灣 99.8% 以上的黃豆是進口黃豆

2021年台灣黃豆的需求量為262萬公噸



人類食用基改作物已27年!



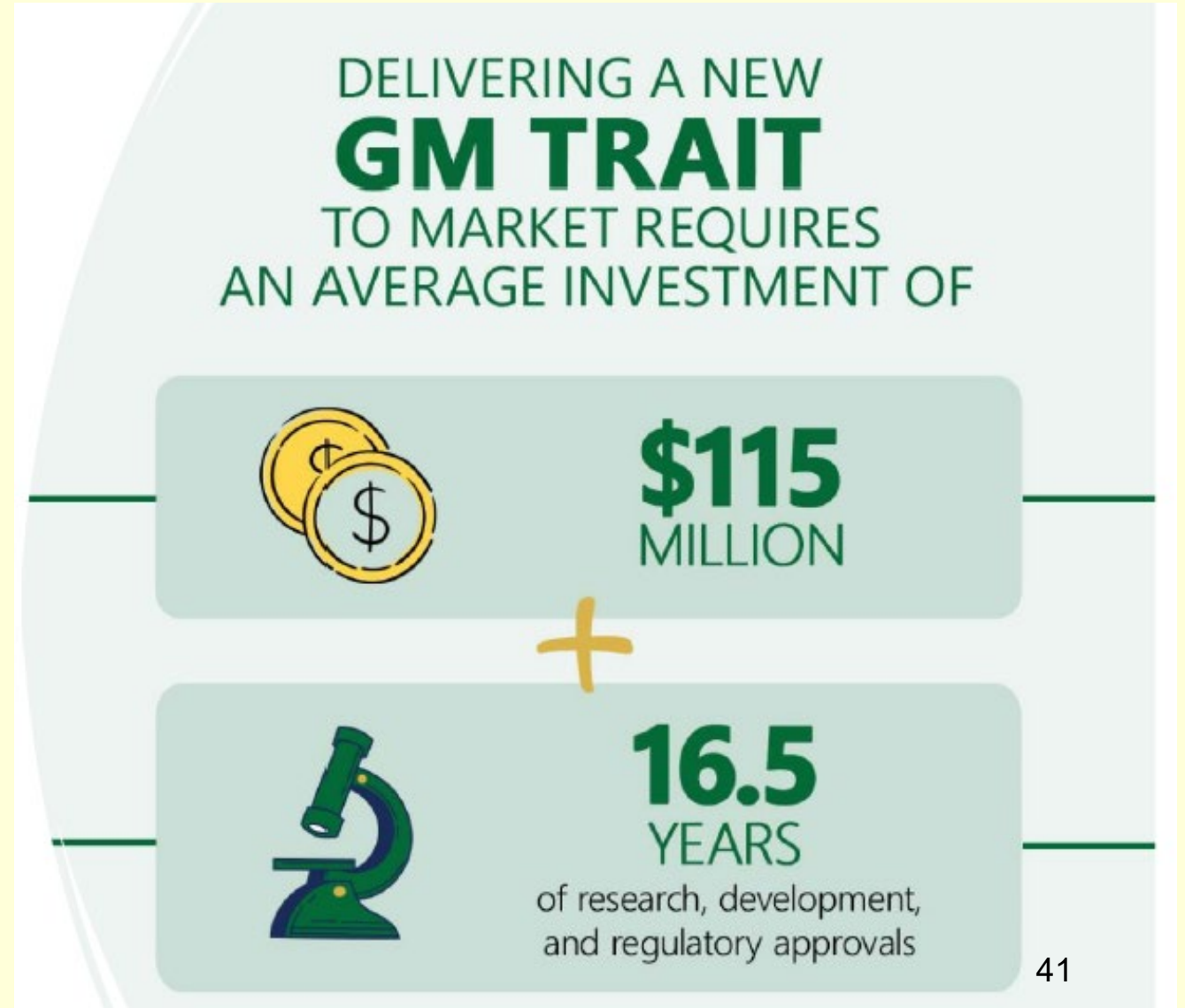
基改作物從研發到上市所花費的時間與金錢

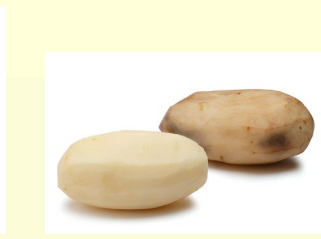
- 16.5 年
- 1億1千5百萬 美元

巴斯夫、先正達、拜耳、科迪華
2017-2022 上市產品之平均花費

Time and Cost to Market Study

A new study from Agbio Investor surveyed four leading biotech crop developers (BASF, Bayer, Corteva, Syngenta) on how long it takes and how much it costs to bring a product from early-stage research through product launch, for traits launched 2017-2022.





科學家能利用基因編輯做些什麼？

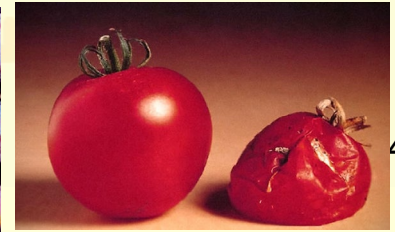
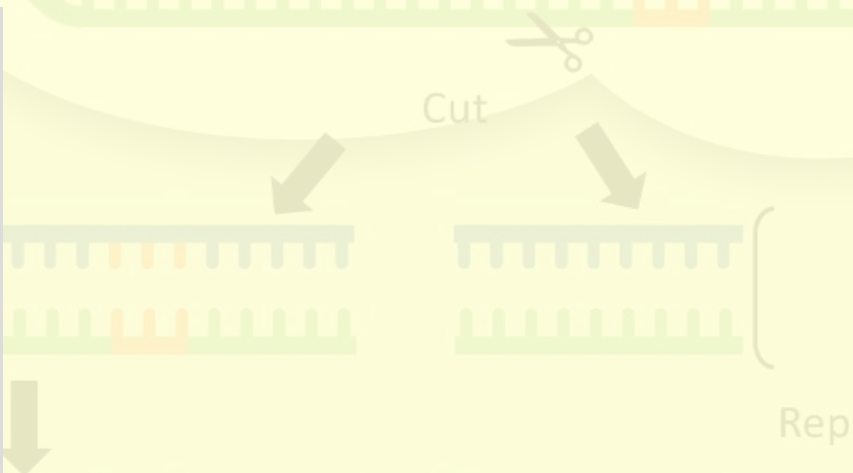
Genomic DNA

PAM

Guide RNA

Cut

Repa



已經有基因編輯(CRISPR/Cas9)作物上市販售

- 基因編輯尚未應用於治療人類疾病

No human therapy based on CRISPR has yet been approved.

- 基因編輯作物已批准上市！

- 基因編輯作物相當容易製備
- 沒有倫理、道德的問題



日本的高 GABA 番茄
已於2021年9月開始販售

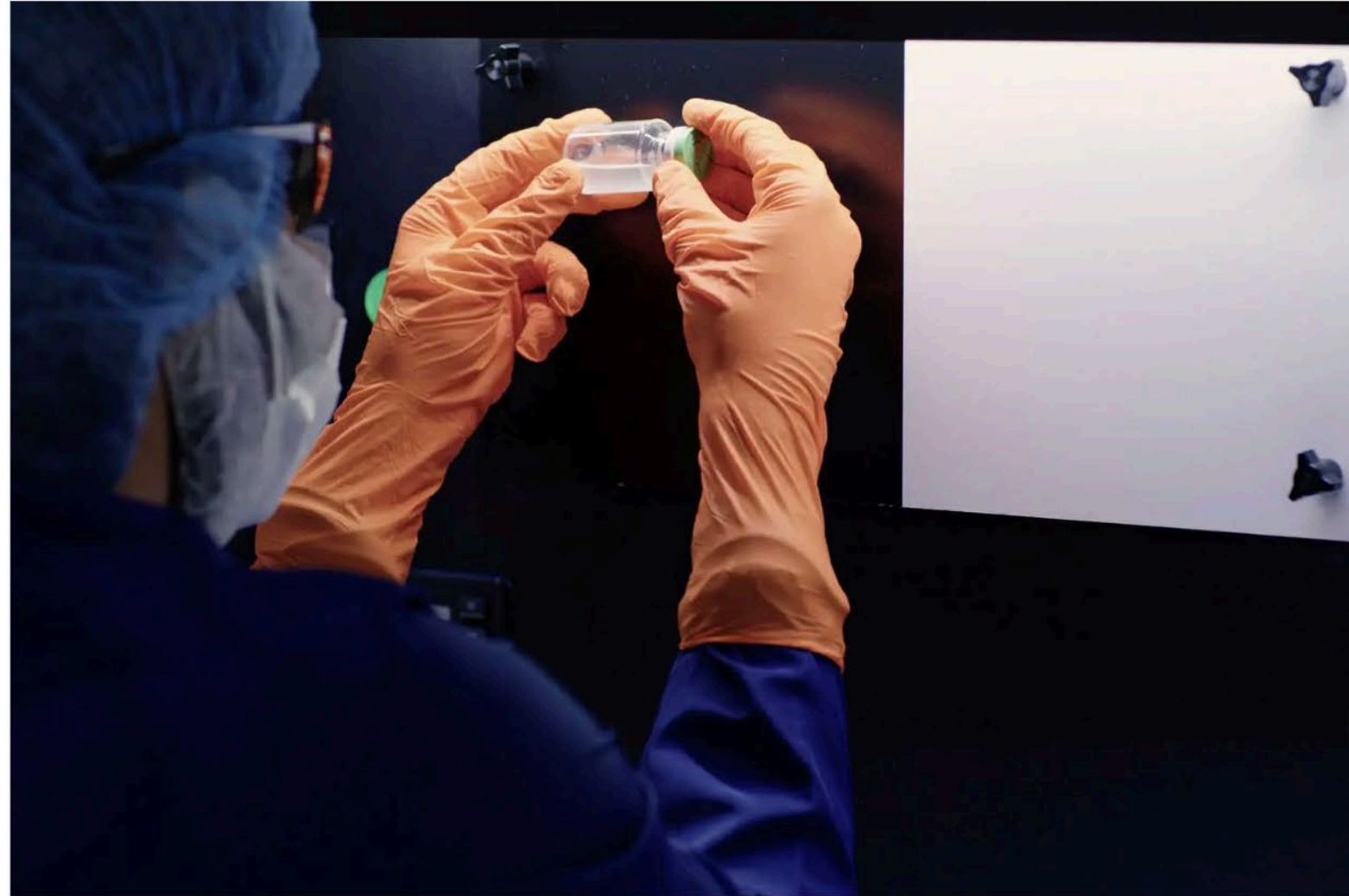
- 基因編輯作物不含外源基因，算不算是“基改作物”？

- 歐盟執委會 (European Commission) 已於2023年7月提議重新討論
- 台灣？ (基改作物：台灣准許進口，但不准種植！)

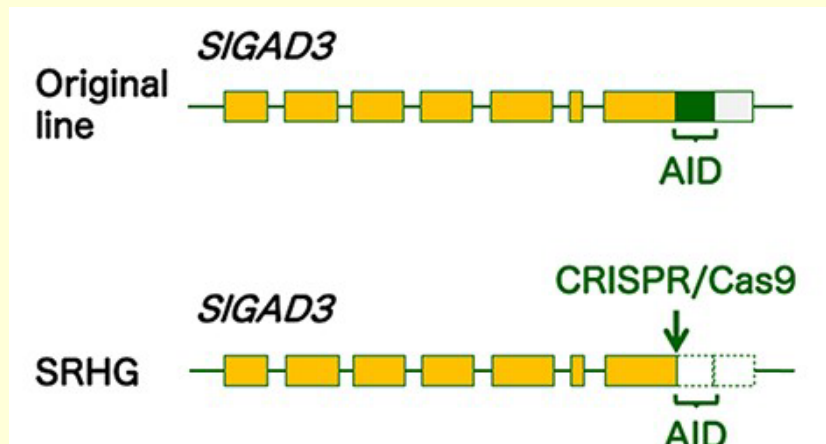
F.D.A. Approves First Gene-Editing Therapy in Humans, for Sickle Cell

People with the genetic disease have new opportunities to eliminate their symptoms, but the treatments come with obstacles that limit their reach.

6 MIN READ



日本的 Sanatech 公司於2021年9月開始販售高GABA番茄



“自身抑制區域”
讓GAD3不會合成過多的GABA

利用CRISPR/Cas9在
“自身抑制區域”前產生“終止碼”。

GAD3: GLUTAMATE DECARBOXYLASE3 (合成GABA的基因)

CRISPR 沙西米 來了! CRISPR sashimi is coming

22nd century sea bream



Pagrus major

“Madai” Red Sea Bream

(真鯛)

22nd century blowfish



Takifugu rubripes

“22-seiki fugu” Tiger Puffer

(torafugu, 虎河豚)

日本科學家利用基因編輯技術，剔除了會抑制肌肉生長的 **myostatin** 基因



CRISPR 真鯛
增加了16%魚肉

真鯛

Scientists used CRISPR-Cas9 to “knock out” the fish’s **myostatin** gene, which restricts muscle growth.

The modified fish, top, has up to 16 percent more flesh than an equivalent unedited red seabream.

Photo courtesy of Masato Kinoshita/Kyoto University, and Kato/Kindai University

日本科學家利用基因編輯技術，破壞了能控制食慾的瘦體素受體基因
“Leptin receptor”



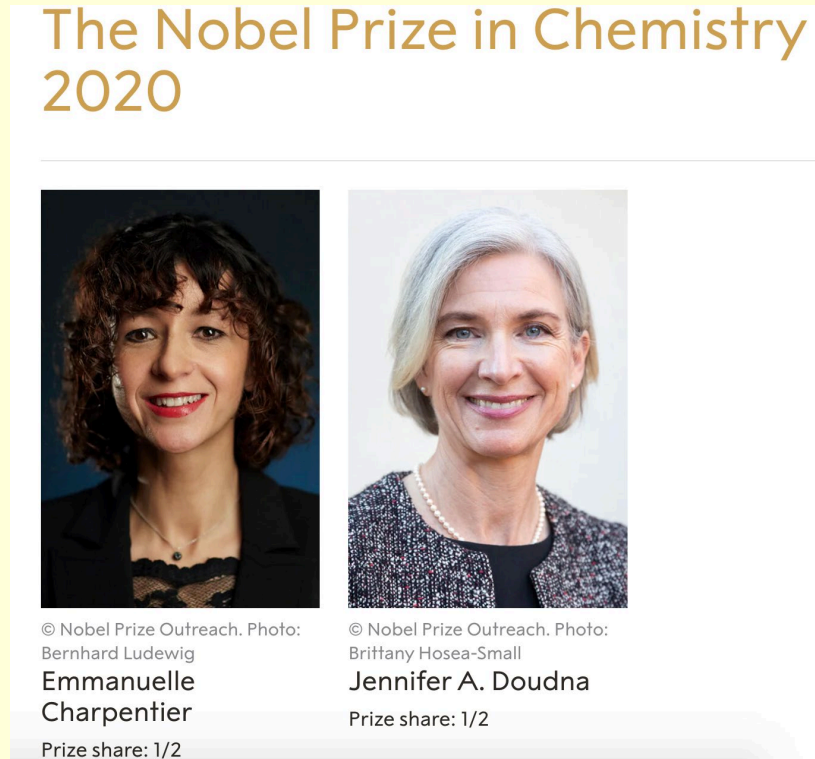
CRISPR 虎河豚
吃更多，長更快！

虎河豚

The gene-edited fish (2-year-old) is **1.9 times** heavier than the same species grown in the same farming period.

Regional Fish Institute Ltd.

研發 CRISPR/Cas9 技術的學者於 2020 年獲得諾貝爾化學獎



距離她們論文發表的時間，
只有短短的八年！

The Nobel Prize in Chemistry 2020 was awarded jointly to Emmanuelle Charpentier and Jennifer A. Doudna **"for the development of a method for genome editing"**

17 AUGUST 2012 VOL 337 SCIENCE www.sciencemag.org

A Programmable Dual-RNA–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity

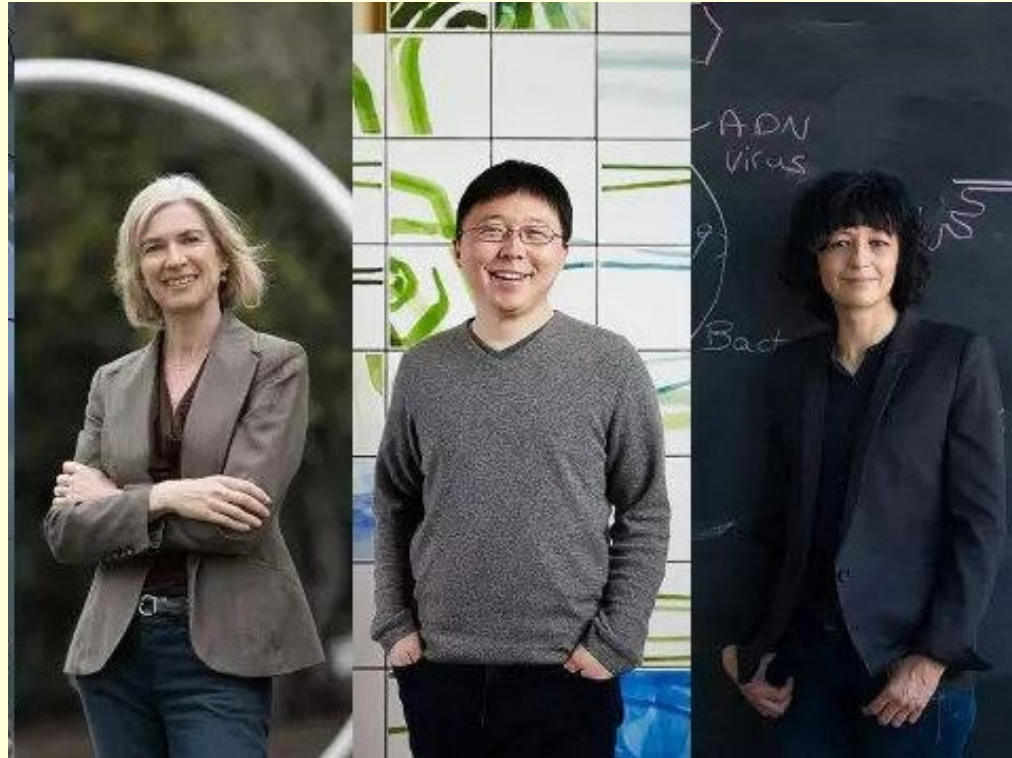
“細菌免疫系統”

Martin Jinek,^{1,2*} Krzysztof Chylinski,^{3,4*} Ines Fonfara,⁴ Michael Hauer,^{2†}
Jennifer A. Doudna,^{1,2,5,6‡} Emmanuelle Charpentier^{4‡}

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) systems provide bacteria and archaea with adaptive immunity against viruses and plasmids by using CRISPR RNAs (crRNAs) to guide the silencing of invading nucleic acids. We show here that in a subset of these systems, the mature crRNA that is base-paired to trans-activating crRNA (tracrRNA) forms a two-RNA structure that directs the CRISPR-associated protein Cas9 to introduce double-stranded (ds) breaks in target DNA. At sites complementary to the crRNA-guide sequence, the Cas9 HNH nuclease domain cleaves the complementary strand, whereas the Cas9 RuvC-like domain cleaves the noncomplementary strand. The dual-tracrRNA:crRNA, when engineered as a single RNA chimera, also directs sequence-specific Cas9 dsDNA cleavage. Our study reveals a family of endonucleases that use dual-RNAs for site-specific DNA cleavage and highlights the potential to exploit the system for RNA-programmable genome editing.

基因編輯 (CRISPR) 專利的紛爭

UC Berkeley



U. of Vienna

Jennifer Doudna Feng Zhang 張峰 Emmanuelle
Charpentier
Broad Institute of MIT and Harvard

“美國專利商標局 (USPTO) 於2022年2月判定CRISPR專利權屬於 **Broad Institute**”

目前有關 CRISPR 專利權的司法紛爭還在訴訟之中

Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems

Le Cong,^{1,2*} F. Ann Ran,^{1,4*} David Cox,^{1,3} Shuailiang Lin,^{1,5} Robert Barretto,⁶ Naomi Habib,¹ Patrick D. Hsu,^{1,4} Xuebing Wu,⁷ Wenyan Jiang,⁸ Luciano A. Marraffini,⁸ Feng Zhang^{1†}

Functional elucidation of causal genetic variants and elements requires precise genome editing technologies. The type II prokaryotic CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/Cas adaptive immune system has been shown to facilitate RNA-guided site-specific DNA cleavage. We engineered two different type II CRISPR/Cas systems and demonstrate that Cas9 nucleases can be directed by short RNAs to induce precise cleavage at endogenous genomic loci in human and mouse cells. Cas9 can also be converted into a nicking enzyme to facilitate homology-directed repair with minimal mutagenic activity. Lastly, multiple guide sequences can be encoded into a single CRISPR array to enable simultaneous editing of several sites within the mammalian genome, demonstrating easy programmability and wide applicability of the RNA-guided nuclease technology.

什麼是 CRISPR/Cas9（常間回文重複序列叢集關聯蛋白系統）？

- “CRISPR” (pronounced “crisper”): **Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats**

1987年日本科學家在大腸桿菌的基因組發現有特別的規律序列，某一小段DNA會一直重複，重複片段之間又有等長的間隔，此序列稱為 **CRISPR**。它是存在於細菌中的一種基因，該類基因組中含有曾經攻擊過該細菌的病毒的基因片段。細菌透過這些基因片段來偵測並抵抗相同病毒的攻擊，並摧毀其DNA。這類基因組是**細菌免疫系統**的關鍵組成部分。

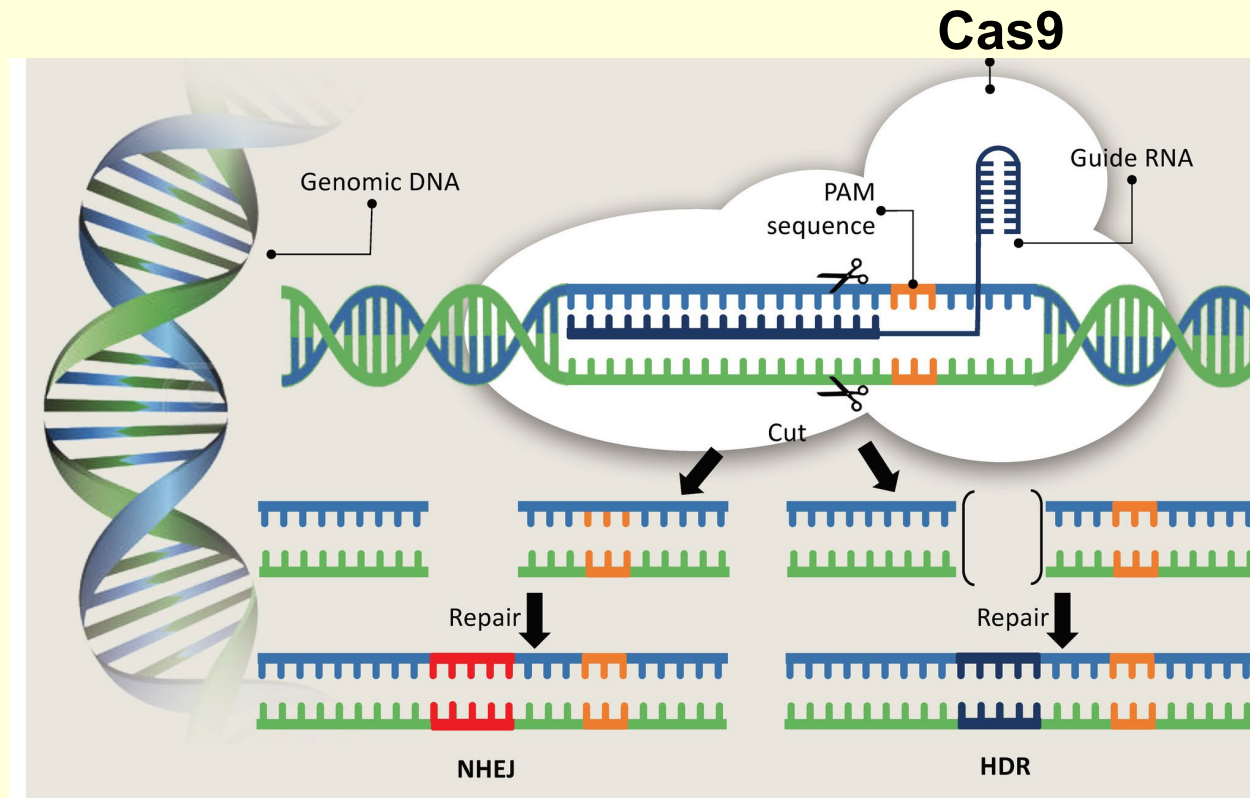
- **Cas9: CRISPR-associated protein 9**; an endonuclease that cuts DNA at a location specified by a guide RNA

Cas9 是第一個被廣泛應用的 **CRISPR 核酸酶**

(<https://zh.wikipedia.org/wiki/CRISPR>)

- **CRISPR/Cas9 原本是細菌免疫系統的一部分**

如何利用 CRISPR/Cas9 進行基因編輯? **Guide RNA + Cas9**



- 根據目標基因設計
引導RNA (~20 bp)
- **Cas9**: CRISPR 核酸
酶

- **Guide RNA** 與目標基因序列配對後，**Cas9** 蛋白質可以將雙股 DNA 切斷
- DNA 斷裂後，細胞會啟動 **DNA 修復系統**
- DNA 修補不完全，產生**突變**，破壞了目標基因

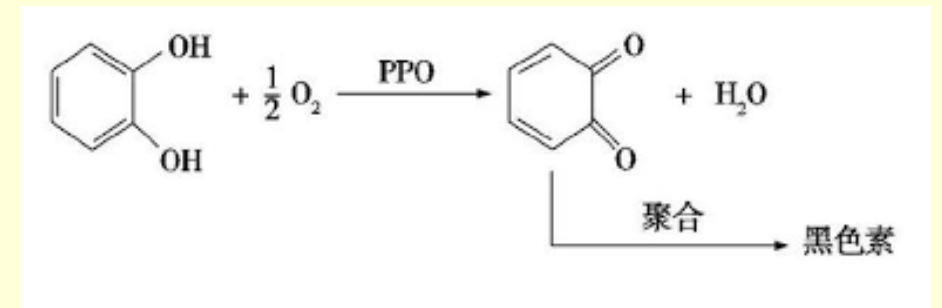
美國於2016年認定不易變黑的基因編輯洋菇不算是GMO

BIOTECHNOLOGY
Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation
A fungus engineered using CRISPR-Cas9 can be cultivated and sold without oversight.



The common white button mushroom (*Agaricus bisporus*) has been modified to resist browning.

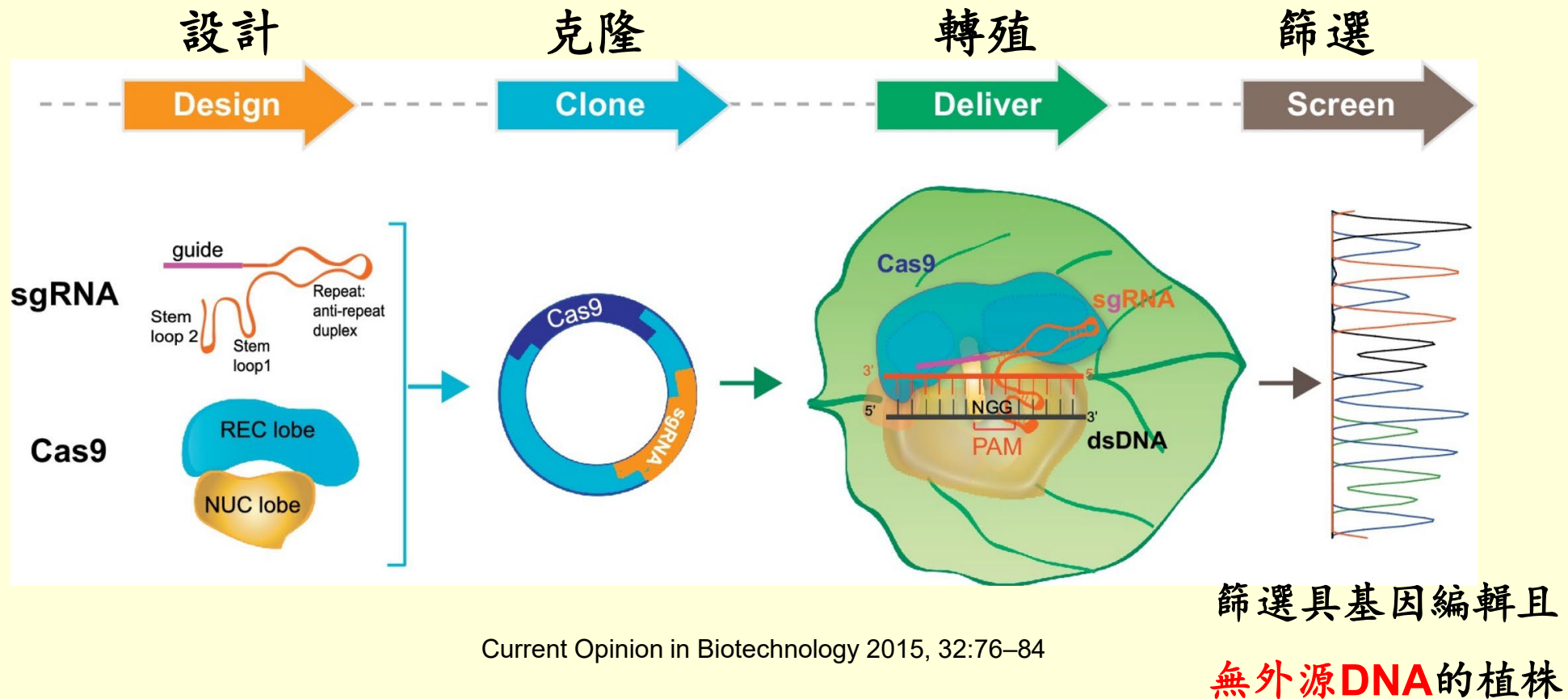
多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, 簡稱PPO)



由美國賓州州立大學所研發的CRISPR洋菇

，
目前並沒有上市販售。

植物學家如何利用CRISPR/Cas9進行基因編輯



- 基因編輯作物的篩選，沒有倫理、道德的問題
- 基因編輯作物如果有脫靶效應 (off-target)，也不是問題

植物學家能利用基因編輯（CRISPR）做些什麼？

- 基礎科學研究（以我們實驗室的研究為例）

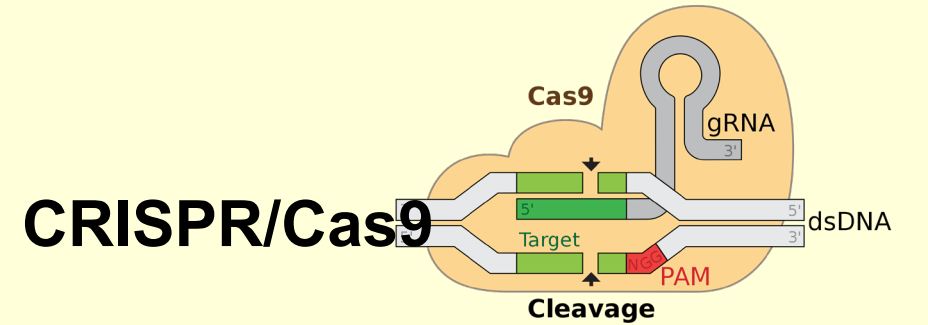
利用“分子遺傳”的方法，研究水稻未知基因之功能。

—透過**CRISPR**技術，製造該基因的**突變株**

—研究突變株的**性狀**，確認該基因的**功能**

植物學家能利用基因編輯 (genome editing) 做些什麼？

- 基礎科學研究：研究進展更快速
- 農業科技應用：生技產品更多元



(https://en.wikipedia.org/wiki/CRISPR_gene_editing)

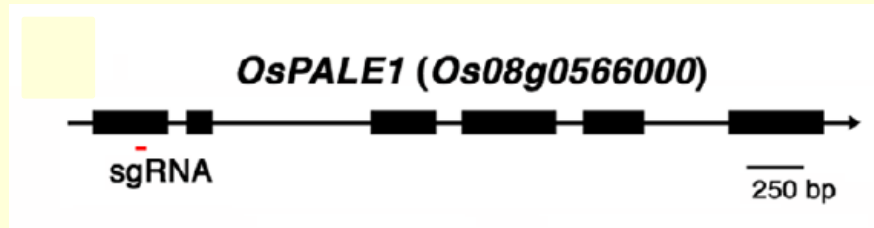
目前美國 90% 以上的 **CRISPR** 產品來自中小企業與學術界 (令人意外！)

結論：台灣很適合以基因編輯技術來發展農業科技

儘速將“不含外源DNA”的作物視為非GMO

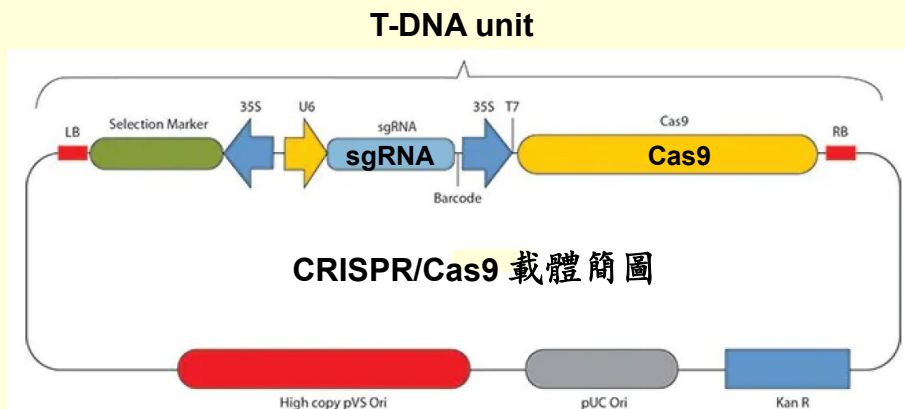
利用 CRISPR/Cas9 技術研究水稻 *OsPALE1* 基因的功能

設計



single guide RNA: 單股引導 RNA

克隆

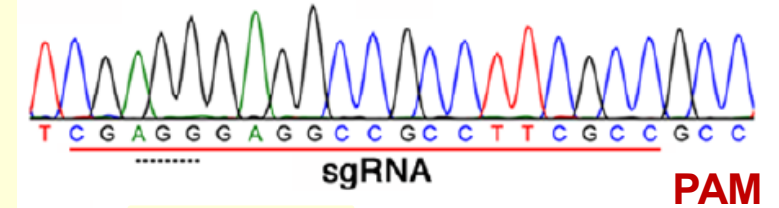


(<https://www.sigmaaldrich.com/TW/en>)

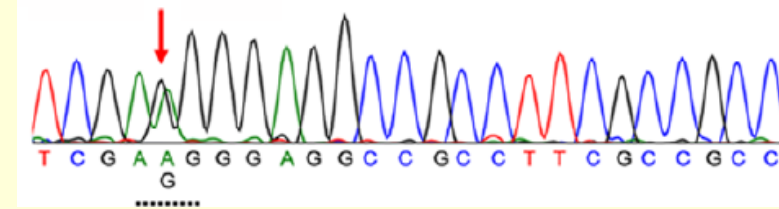
轉殖

“只要合成一段 DNA 序列 (20mer), clone 到 CRISPR/Cas9 載體, 再進行轉殖實驗。”

野生型親本

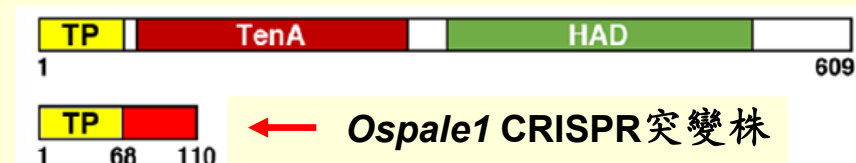


single nucleotide insertion CRISPR突變株



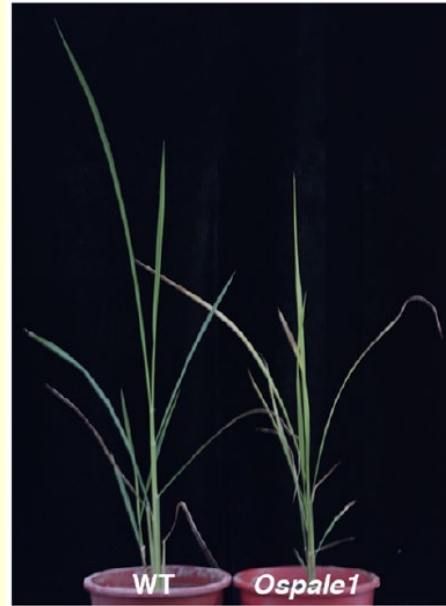
單一核苷酸插入, 破壞了基因編碼!

篩選

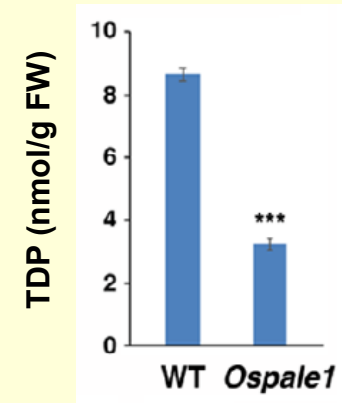


(Hsieh et al., 2021)

基因編輯水稻：以 CRISPR mutant 證明水稻 *OsPALE1* 基因的功能



維生素B1含量



(Hsieh et al., 2021)

Plant Biotechnology Journal

Open Access



The rice PALE1 homolog is involved in the biosynthesis of vitamin B1

*OsPALE1*與維生素B1的合成有關

在台灣的小實驗室，也可以進行簡單的 CRISPR 實驗

基因編輯樹木：以 CRISPR 製備低木質素的白楊樹 (poplar tree)

PLANT SCIENCE

SCIENCE science.org

14 JULY 2023 • VOL 381 ISSUE 6654

Genetic editing of wood for sustainability

Trees engineered to have less lignin could make paper production less polluting



基因編輯樹木：低木質素的白楊樹可以減少造紙業的污染

WOOD ENGINEERING

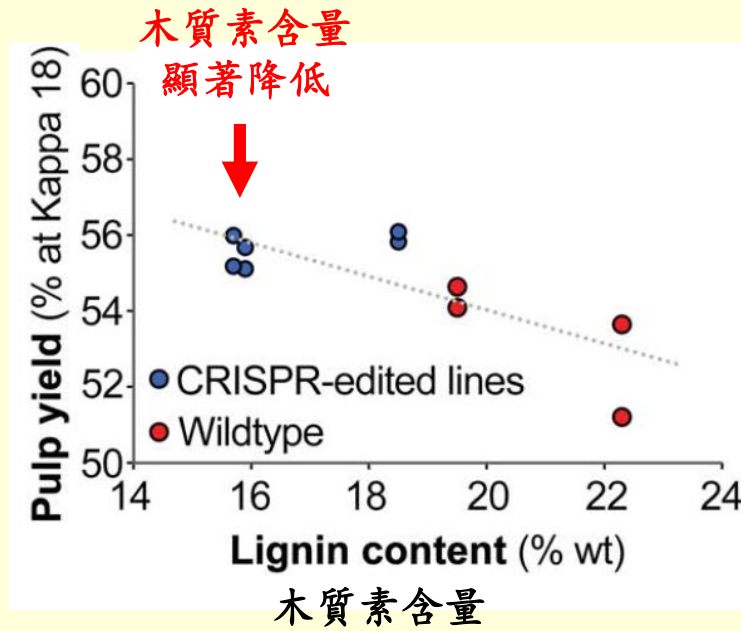
Sulis *et al.*, *Science* **381**, 216–221 (2023) 14 July 2023

Multiplex CRISPR editing of wood for sustainable fiber production

Daniel B. Sulis^{1,2,3}, Xiao Jiang⁴, Chenmin Yang^{1,2,3}, Barbara M. Marques^{2,3}, Megan L. Matthews^{5,6}, Zachary Miller⁴, Kai Lan⁴, Carlos Cofre-Vega^{2,3}, Baoguang Liu^{1,2,3,7}, Runkun Sun⁴, Henry Sederoff², Ryan G. Bing⁸, Xiaoyan Sun⁹, Cranos M. Williams^{3,5}, Hasan Jameel⁴, Richard Phillips⁴, Hou-min Chang⁴, Ilona Peszlen⁴, Yung-Yun Huang¹⁰, Wei Li¹¹, Robert M. Kelly⁸, Ronald R. Sederoff^{1,2,11}, Vincent L. Chiang^{1,2,4,11}, Rodolphe Barrangou^{1,3,12*}, Jack P. Wang^{1,2,3,11*}

基因編輯多達 6 個與木質素合成相關的基因

“... 21 lignin biosynthesis genes,... genome editing strategies targeting the concurrent alteration of up to 6 genes...”



Paper from CRISPR-edited wood

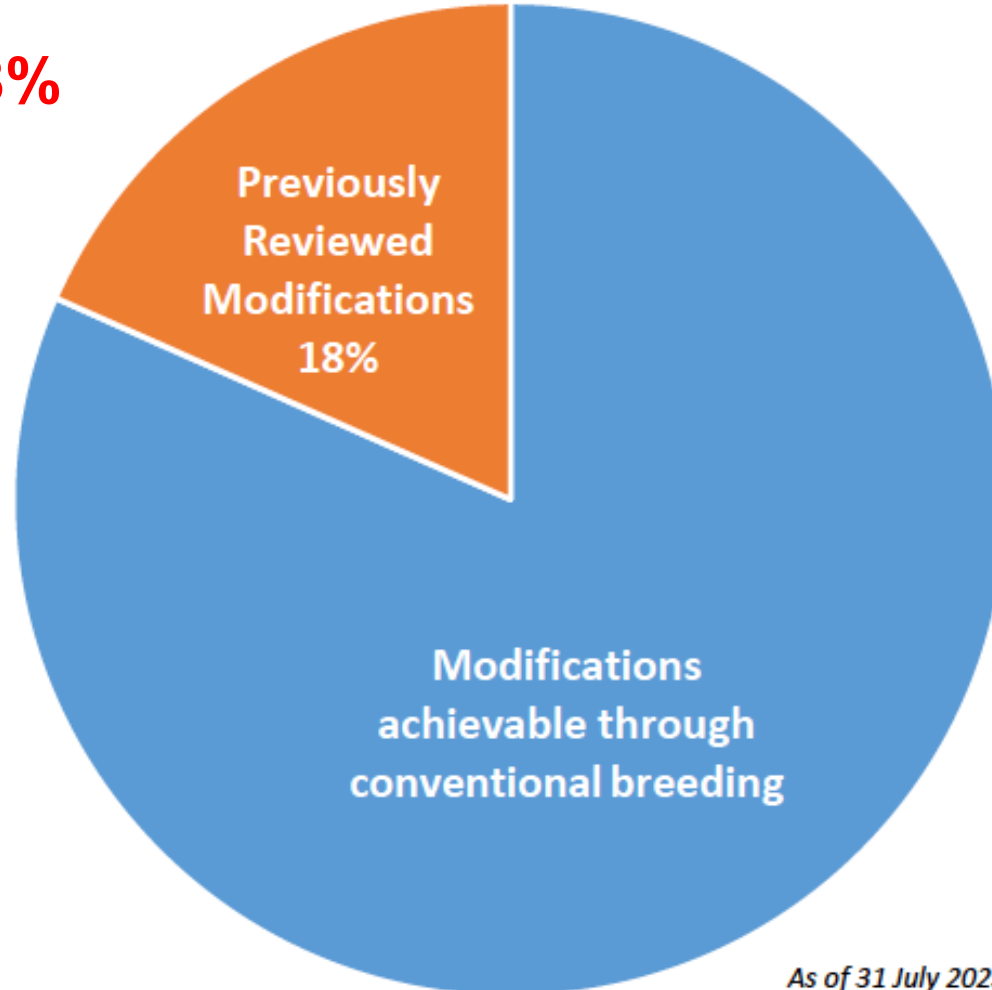
基因編輯白楊樹所造的紙

大一點的實驗室可以進行複雜一點的 CRISPR 實驗

美國不受基改規範的作物

Regulatory Exemptions

基因編輯 18%

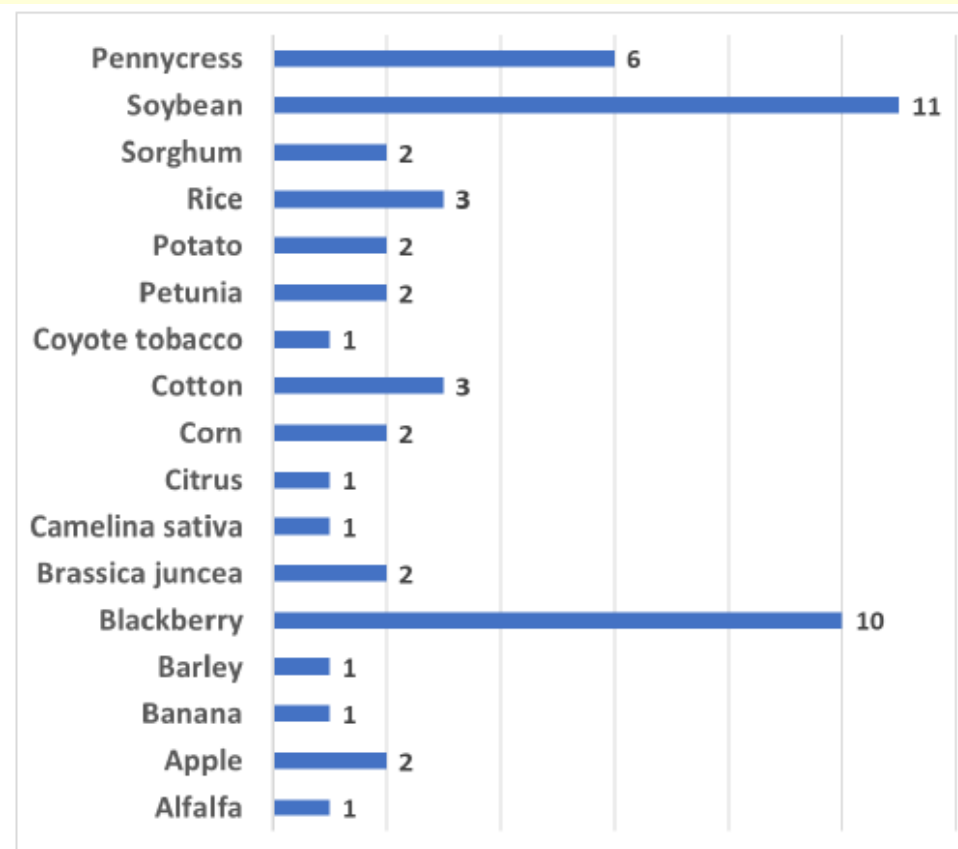
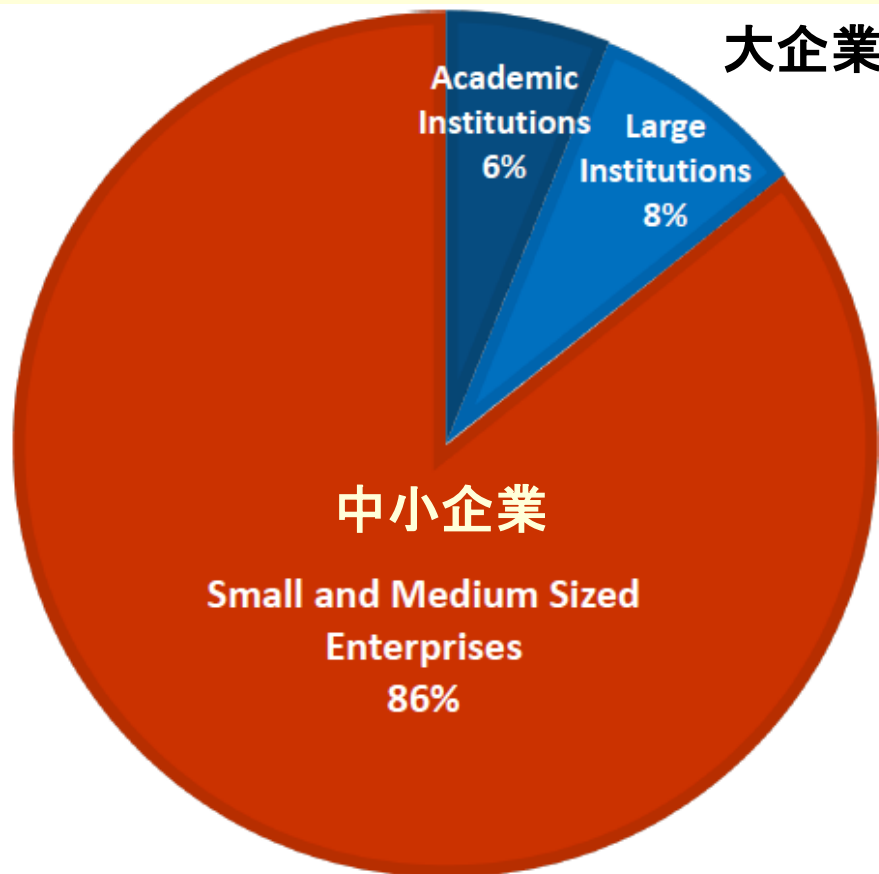


傳統育種 82%

美國90%以上的基因編輯作物來自小公司或學術單位

學界

大企業



As of 31 July 2023

(統計至2023年7月31日止)



資料來源：美國農業部

United States Department of Agriculture

台灣應該投入基因編輯作物的研發！

「基因編輯」抗病玉米



09/08/2023 攝於 USA

「基因編輯」高胺基酸黃豆



高離胺酸、
高甲硫胺酸

09/08/2023 攝於 USA

「基因編輯」高胺基酸黃豆




09/08/2023 攝於 USA

作物改良：從傳統育種、基改作物到基因編輯作物

How Crops Are Genetically Modified

Traditional Breeding



Crossing plants and selecting offspring

Almost All Crops


Mutagenesis




Exposing seeds to chemicals or radiation




RNA Interference




Switching off selected genes with RNA



Transgenics



Inserting selected genes using recombinant DNA methods



Number of Genes Affected

10K - >300K

? No way to assess

1-2

(改變的基因數目)
1-4

傳統育種

(最終產品不含外源基因)

非基改

誘導突變

非基改

RNA 干擾

(抑制基因)

基改

基因轉殖

(外加基因)

基改

基因編輯作物

基改？非基改？

2023年歐盟
會重新審視！

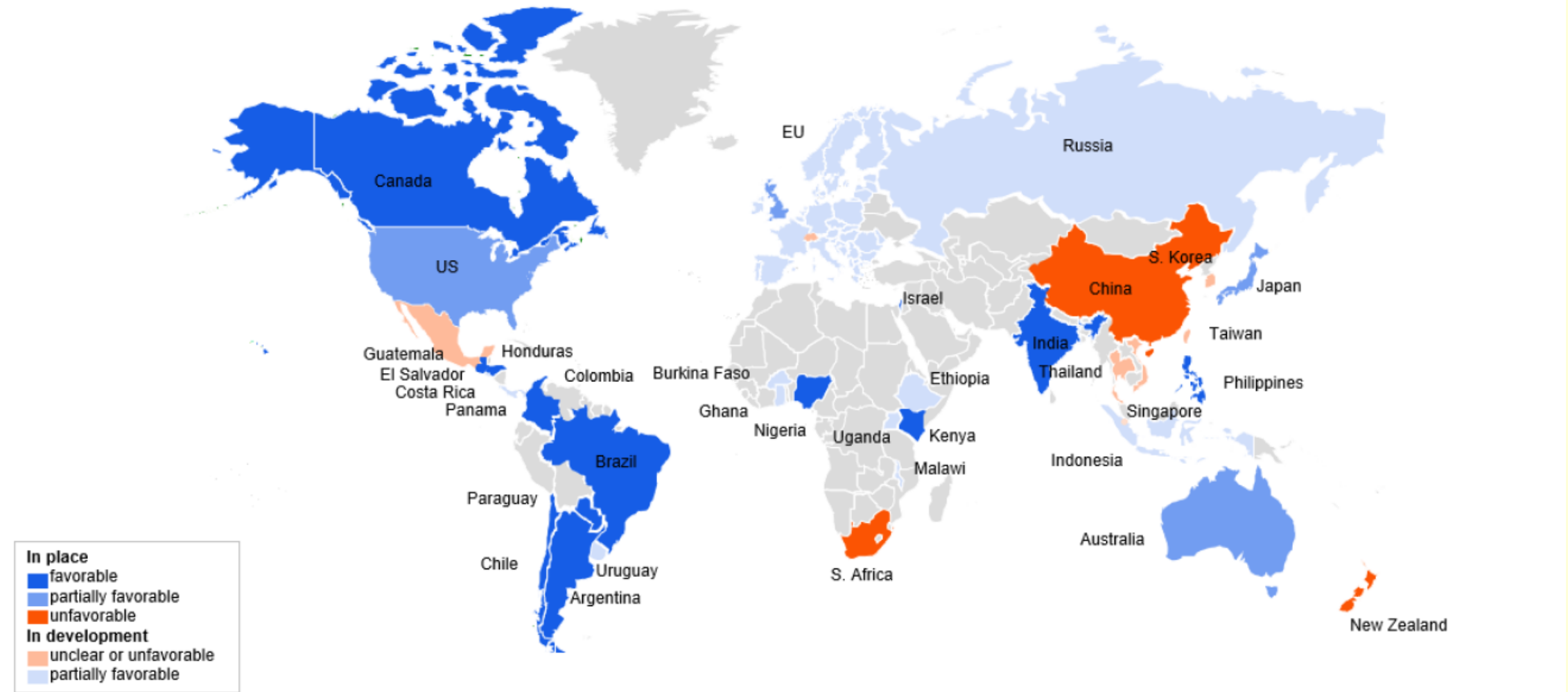
我的看法：

如果最終產品
不含外源基因

非基改

世界各國對基因編輯植物之規範

Genome Editing Policy Advancement: a 2023 Snapshot



越來越多國家認為基因編輯作物不是GMO，因為“最終產品不含外源基因”⁶⁹。

利用基因編輯技術把雜草變成作物 CoverCress™



THE WALL STREET JOURNAL.

SIGN IN

SUBSCRIBE



THE FUTURE OF EVERYTHING

What Was Once a Weed Could Fuel Jet Engines

Scientists are developing nonfood plants to take the place of corn and soybeans as sources for biofuels

Aug. 9, 2023 10:50 am E.T.

By Yusuf K

A crop called CoverCress, a source for biofuel that is aimed for cultivation on farms in harvest offseasons, was developed from a plant considered a weed. COVERCRESS

利用基因編輯技術把 Pennycress (*Thlaspi arvense*) 變成作物



- **綠鈴草 (Pennycress)** 是北美大部分地區常見的雜草
- 綠鈴草的種子含有 36% 的油 (黃豆的 2 倍)
- 綠鈴草種子的油可做為“生質柴油”
- 榨油後殘餘的物質可做為“動物飼料”
- **綠鈴草可於黃豆、玉米收成後種植 (冬季)**

- From Weed to **Wonder Fuel** (November 28, 2008)
- Biotech Firm Develops Pennycress as the Next **Cash Crop** (February 25, 2015)
- Arvegenix Attempt to Domesticate Pennycress for **Biofuel** Production (March 18, 2015)
- **Scientists Use CRISPR to Turn Pennycress into an Oilseed Crop** (October 20, 2022)

“科學家利用基因編輯技術把綠鈴草變成油料作物”