

Bedre skimmelresistens med CRISPR

Titel: Bedre skimmelresistens i danske kartoffelsorter med DNA-fri CRISPR

De to DMR6 gener i sorten Wotan er sekventeret, og hermed er SNP'er og større polymorfier i de områder af generne, som koder for proteinet blevet kortlagt. For begge gener kan vi identificere tre alleler og et meget stort antal polymorfier, hvoraf en del SNP'er også befinder sig i de kodende regioner.

På basis af SNP'er kortlægningen er der placeret otte guideRNA fordelt på de fire exons af det DMR6 gen, hvor knockout kan mindske skimmelmodtageligheden. Ved udvælgelsen er der anvendt flere forskellige software, som angives at kunne forudsige guide RNA effektiviteten.

SNP kortlægningen har også været grundlag for placering af PCR primere, som anvendes til at måle editerings effektiviteten ved hjælp af High Resolution Fragment Analysis metoden IDAA.

Guide RNA er blevet testet i flere forsøg i protoplaster af Wotan, og resultaterne af disse forsøg peger på, at de tre guide RNA i exon 1 og exon 2 vil være bedst egnede til det videre arbejde med DNA fri CRISPR editing.