

PLANTAS DE TRIGO EDITADAS CON CRISPR/Cas9

P. Maestre-Aguilar¹, P. Resina-Cruces¹, P. Garrido-Berenguer¹, A. Giménez-Arcos¹, E. León-Rodríguez¹
H. Guzmán-López², F. Barro-Losada²

1. IES Fidia

2. Instituto de Agricultura Sostenible. CSIC

En la investigación realizada nuestro objetivo era editar genes de trigo mediante CRISPR/Cas9 para eliminar las proteínas que son perjudiciales para las personas celíacas (intolerantes al gluten). Para ello, es necesario emplear distintas técnicas, entre ellas, el cultivo in vitro de escutelos inmaduros de trigo, la preparación de plásmidos y reactivos CRISPR/Cas9 y el bombardeo de micropartículas, utilizada para introducir los reactivos y plásmidos en las células vegetales. En relación a los materiales utilizados tenemos en primer lugar los escutelos de granos de trigo harinero, seguidamente su transformación con vectores CRISPR/Cas9, una vez transformados pasados a un cultivo in vitro y por último la extracción de ADN y su caracterización por PCR. Se han bombardeado 262 escutelos de trigo, y tras el proceso de cultivo y selección in vitro, hemos recuperado 49 plantas, de las que 10 fueron positivas para Cas9. En relación a la embriogénesis, aproximadamente la mitad de los escutelos fueron embriogénicos. La eficiencia de regeneración fue del 18,7% mientras que la eficiencia de transformación fue del 3,8%. La identificación de las plantas transformadas se hizo mediante PCR para Cas9, y la identificación de las mutaciones se hizo en geles A-PAGE. Con estos datos podemos sacar distintas conclusiones: más del 60% de los escutelos producen embriones somáticos, el sistema de selección in vitro es altamente eficiente y permite regenerar en torno al 19%, mientras que el 20% de las plantas analizadas contenían el gen que codifica para Cas9.

Palabras clave: trigo, gluten Crispr/Cas9, edición genómica

In our research, we aimed to edit wheat genes using CRISPR/Cas9 to remove proteins that are detrimental to people with coeliac disease (gluten intolerance). To do this, it is necessary to use different techniques, including in vitro culture of immature wheat scutellum, preparation of plasmids and CRISPR/Cas9 reagents and microparticle bombardment, used to introduce the reagents and plasmids into plant cells. In relation to the materials used; we have firstly the scutellum of bread wheat grains, then their transformation with CRISPR/Cas9 vectors, once transformed they were transferred to an in vitro culture, and finally the extraction of DNA and its characterization by PCR. A total of 262 wheat scutellum were bombarded, and after the in vitro culture and selection process, 49 plants were recovered, of which 10 were positive for the Cas9 gene. Regarding embryogenesis, approximately half of the bombarded scutellum was embryogenic. Regeneration efficiency was 18.7% while transformation efficiency was 3.8%. Identification of transformed plants was done by PCR for the Cas9 gene, and identification of mutations was done on A-PAGE gels. From these data, we can draw different conclusions: more than 60% of the scutellum produce somatic embryos, the in vitro selection system is highly efficient and allows regeneration of about 19%, while 20% of the plants analyzed contained the gene coding for Cas9.

Keywords: wheat, Crispr/Cas9 gluten, genome editing