



Becas colaboración curso 2020/2021

Fecha: 19 Junio 2020

Vicerrectorado de Investigación, Innovación y Transferencia

Subcomisión de I+D+i

Propuesta del departamento *BIOTECNOLOGÍA*

Núm Proyecto: 2020/02/00009

Responsable

Seguí Simarro, José María

E-mail

seguisim@btc.upv.es

Ext.

79047

Título proyecto

Clonaje de nuevas guías para editar el gen CENH3 mediante CRISPR/Cas9 en tomate y análisis de las plantas editadas

Valoración proyecto

4

Descripción proyecto

La generación de plantas doble haploides (DHs) tiene un gran interés en la mejora genética vegetal por su uso como parentales para la obtención de variedades híbridas más productivas. Para la obtención de DHs se han desarrollado diferentes protocolos basados en técnicas de cultivo in vitro, los cuales han supuesto un gran avance en la obtención de nuevas variedades en los últimos 20 años. Estos protocolos, sin embargo, tienen la limitación de que su eficacia es altamente dependiente de la especie y de la variedad. En algunas especies como el tomate, no se han conseguido líneas DHs hasta la fecha. Recientemente se ha reportado un protocolo para la obtención de embriones haploides basado en técnicas moleculares en la especie modelo *Arabidopsis*. Esta nueva metodología consiste en la modificación de la histona centromérica CENH3, la cual es responsable del anclaje de los cromosomas al huso mitótico, y su desplazamiento al ecuador celular durante la metafase. En cigotos obtenidos por cruzamiento de una línea con la proteína CENH3 alterada, pero funcional, y una planta silvestre, se produce un desacompasamiento de la migración cromosómica de ambos parentales, lo cual tiene como consecuencia que la mitosis prosiga únicamente con la dotación haploide del parental silvestre. La proteína CENH3 está altamente conservada en otras especies vegetales, como es el caso del tomate. En este proyecto se pretende modificar la proteína SICENH3 por la técnica CRISPR/Cas9, obteniéndose así líneas de tomate que puedan inducir haploidía por cruzamiento con líneas silvestres. En el laboratorio estamos generando plantas transgénicas de tomate con tres construcciones para la edición de regiones específicas de SICENH3. Además, se pretende generar por clonaje basado en GoldenBraid 2.0 nuevas construcciones para la edición genética de SICENH3.

Actividades a realizar por el alumno

- o Identificación por PCR y por secuenciación de cambios en la secuencia del gen SICENH3 de plantas T1 de tomate.
- o Clonaje de nuevas guías específicas para la edición por CRISPR/Cas9 del gen SICENH3, y transformación genética.

Horario

Mañanas o tardes a convenir con los responsables del proyecto