

Edición genómica y su contribución al mejoramiento genético de la papa

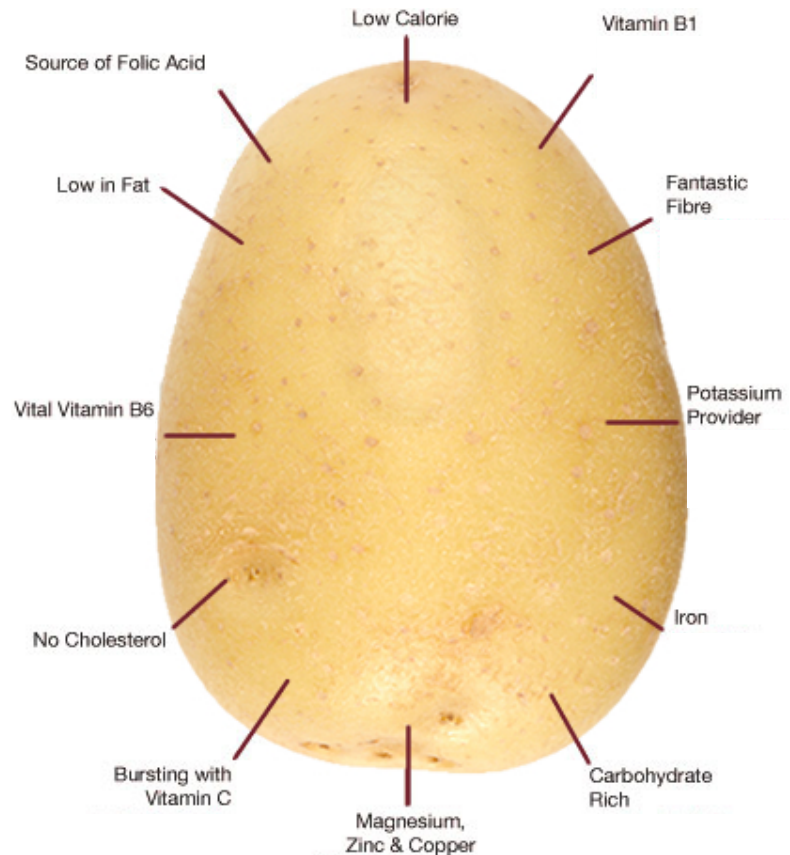
Felix E. Enciso-Rodríguez Ph.D.

Asociación latinoamericana de la papa
ALAP-2021



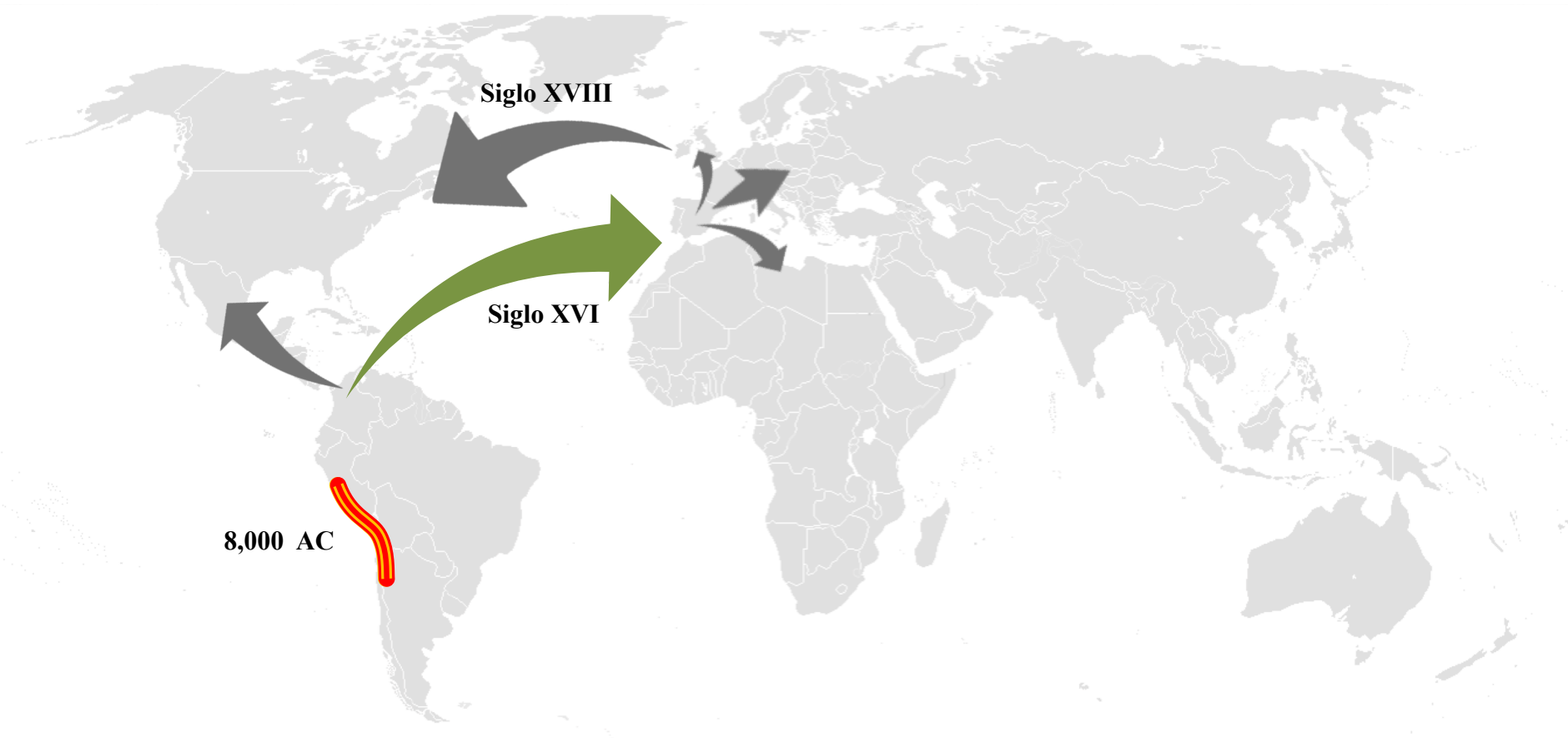
Papa (*Solanum tuberosum* L.)

- 4.º cultivo alimenticio
- Producción mundial:
388 mill. Tons (FAO, 2020).
- Una de las principales fuentes de carbohidratos, fibra, minerales y vitaminas



Fuente: www.proudpotato.co.uk

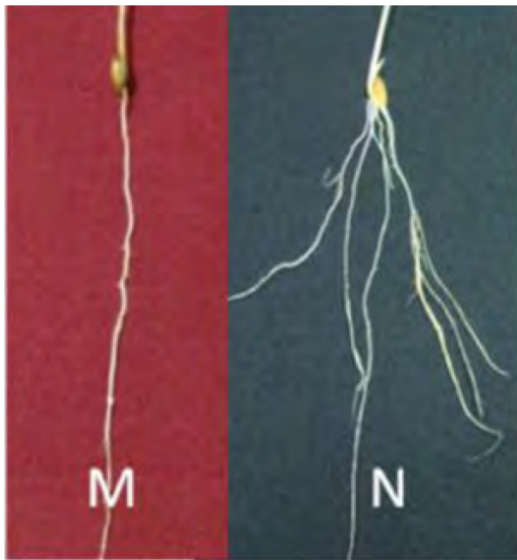
Papa (*Solanum tuberosum* L.)



Adaptada a una gran variedad de ambientes

Mutación inducida

Agentes químicos



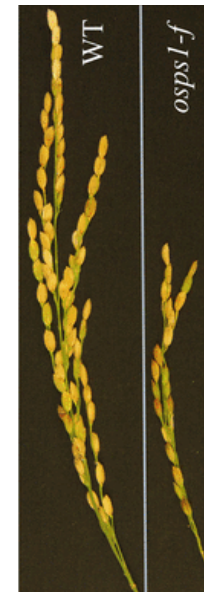
Mohapatra *et. al*, (2014)

Agentes físicos



Song *et. al*, (2012)

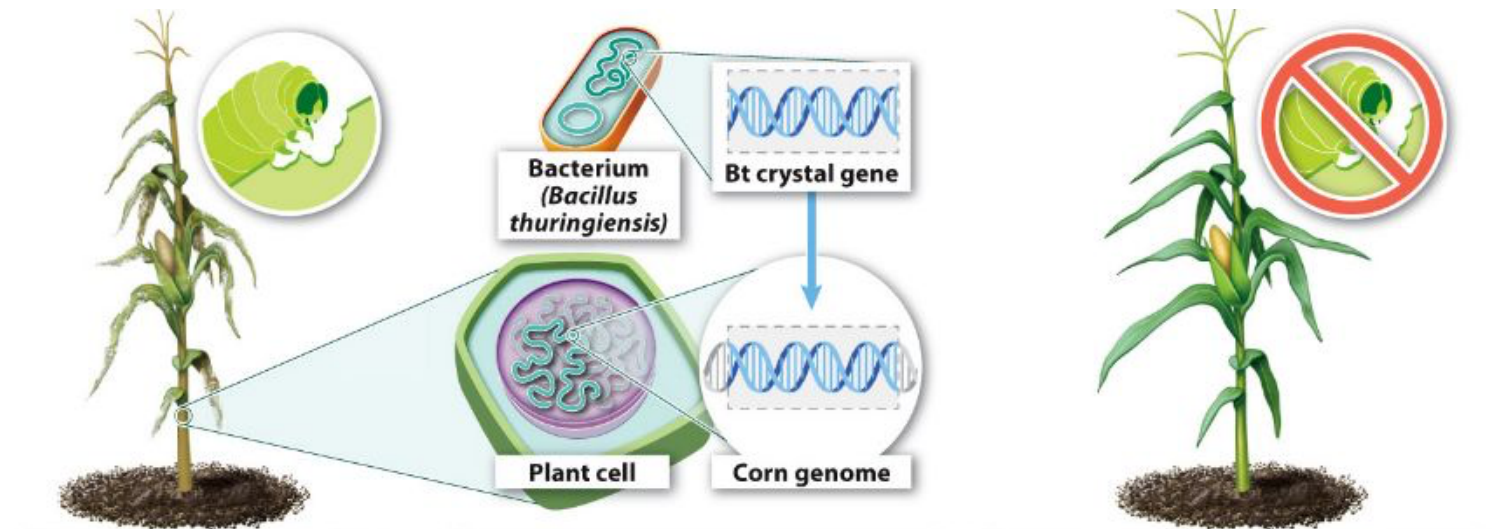
Agentes biológicos



Ramamoorthy *et. al*, (2017)

Transformación genética

- Manipulación del genoma: DNA endógeno o foráneo



Fuente: www.bio1100.nicerweb.com

Mutaciones dirigidas: Edición genómica

- Manipulación del genoma: modificaciones de regiones blanco



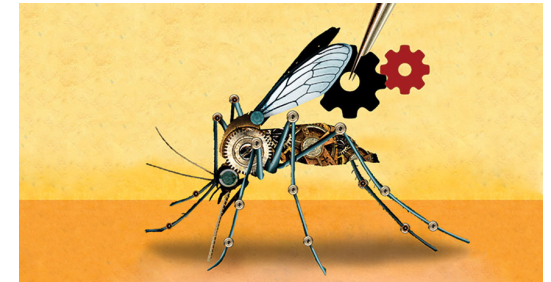
www.technologyreview.com

Gen de la miostatina



[doi:10.1038/nature.2015.18448](https://doi.org/10.1038/nature.2015.18448)

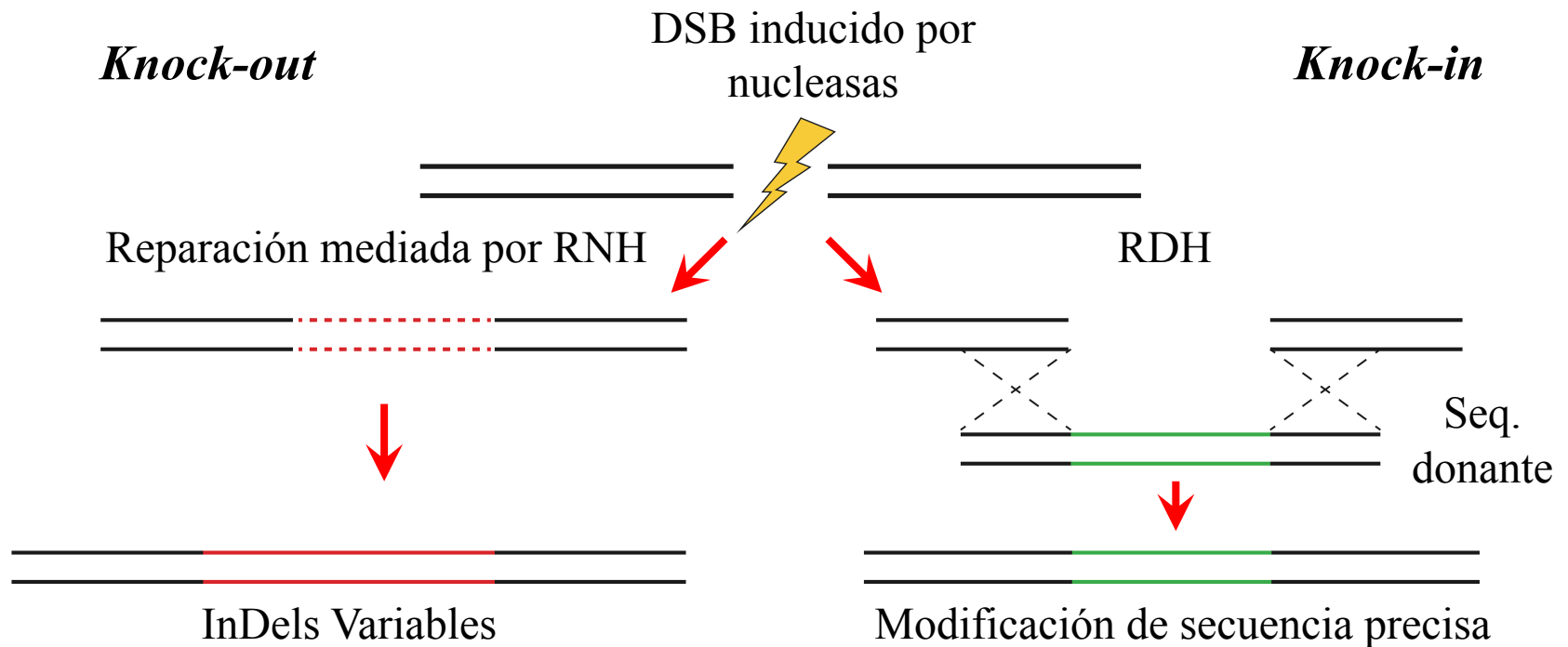
Receptores de hormonas
de crecimiento



www.sciencenews.org

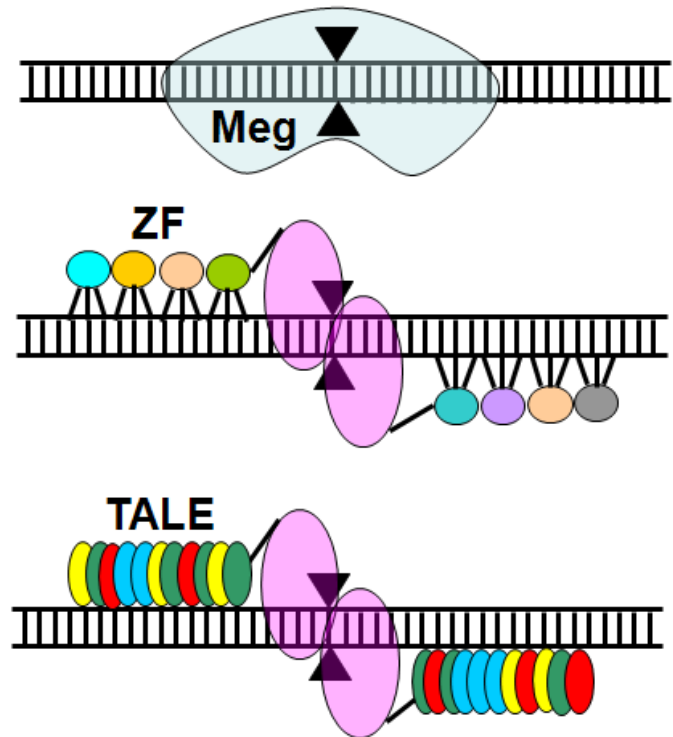
Gene drivers

La edición génica se basa en mecanismos de reparación del ADN

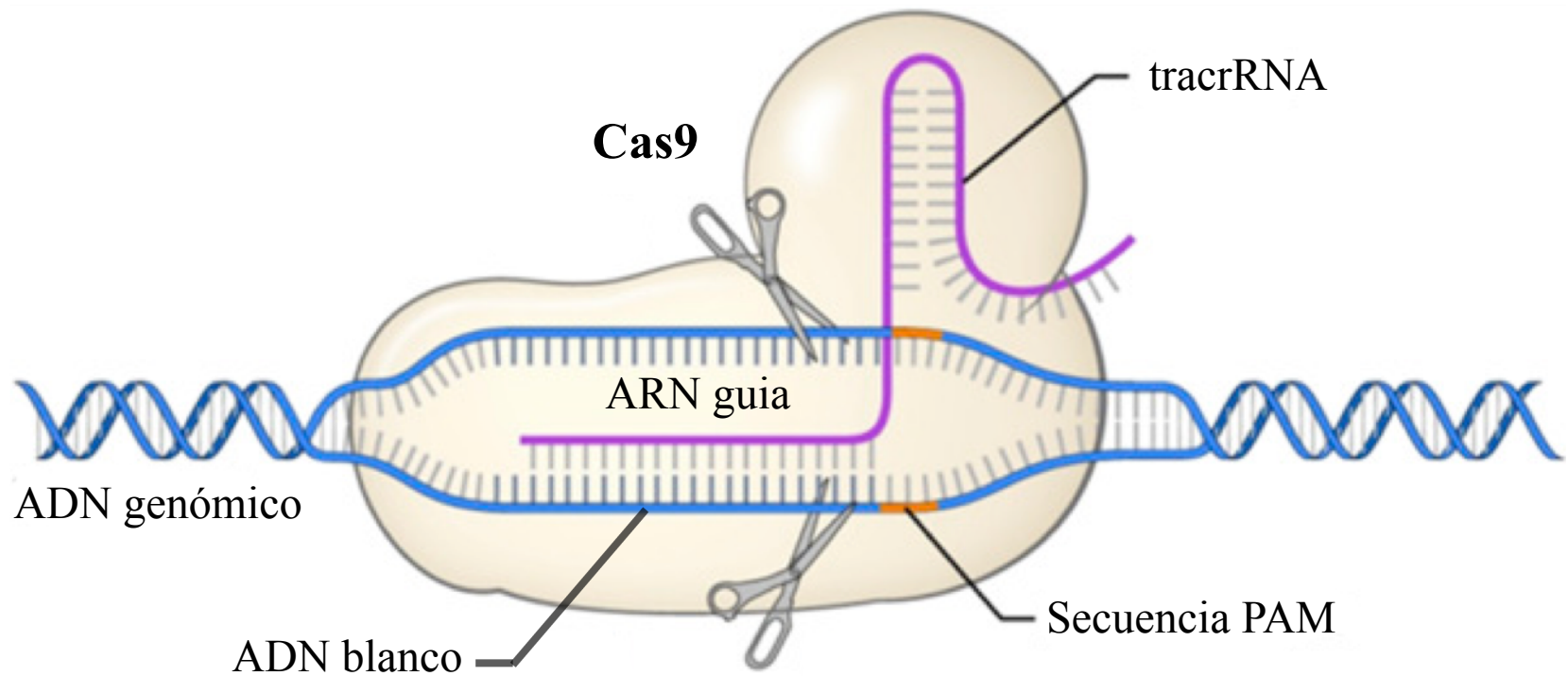


Herramientas usadas en edición genómica

- Meganucleasas
- Nucleasas tipo dedos de zinc (ZFNs)
- Nucleasas efectoras de tipo activador de la transcripción (TALENs)

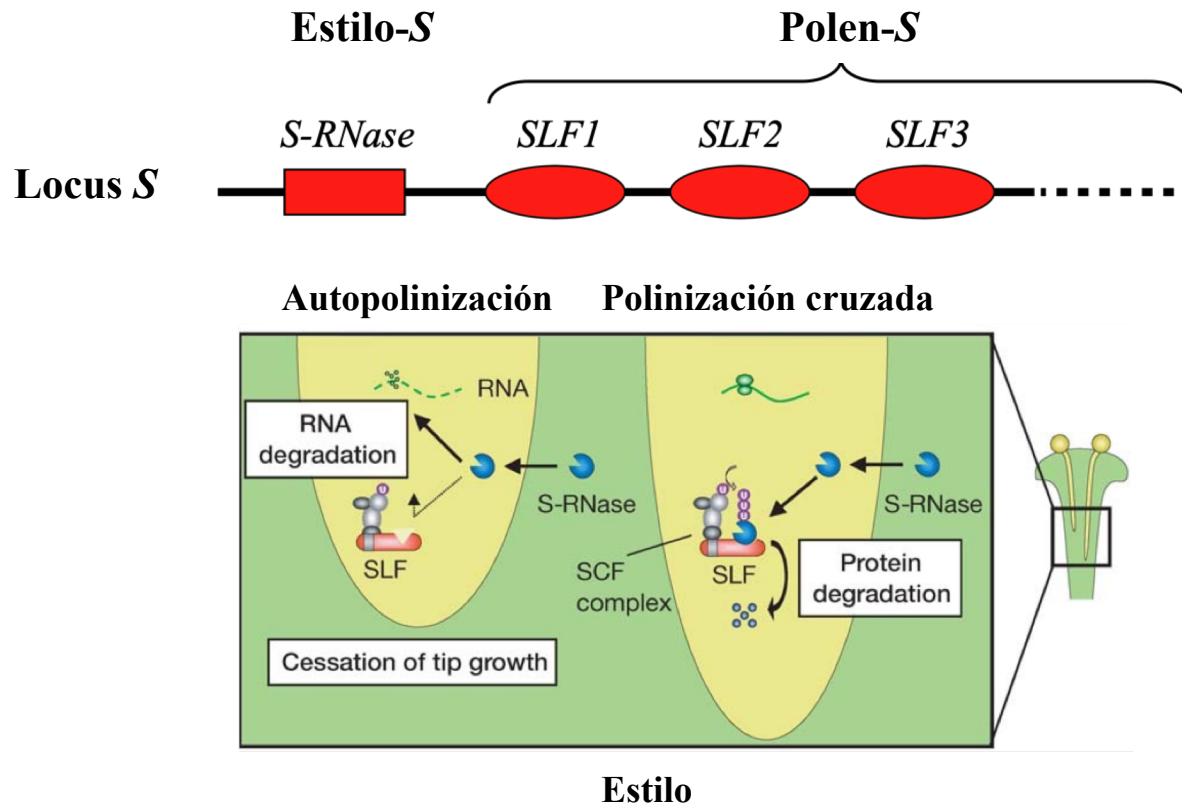


Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente interespaciadas (CRISPR) proteína asociada 9 (Cas9)



Modificado de: Guitart *et al.* (2016).
PMID: 27542298

Autoincompatibilidad en papas diploides



Edición genética en papa para generar líneas autocompatibles

Generar una mutación dirigida del gen *S-RNase* en papas auto-incompatibles mediante CRISPR/Cas9 para evadir la degradación de ARN polínico.

Material vegetal

Doble monoploide
S. tuberosum
grupo Phureja



DM



RH



Diploide heterocigoto
S. tuberosum
grupo Tubersum



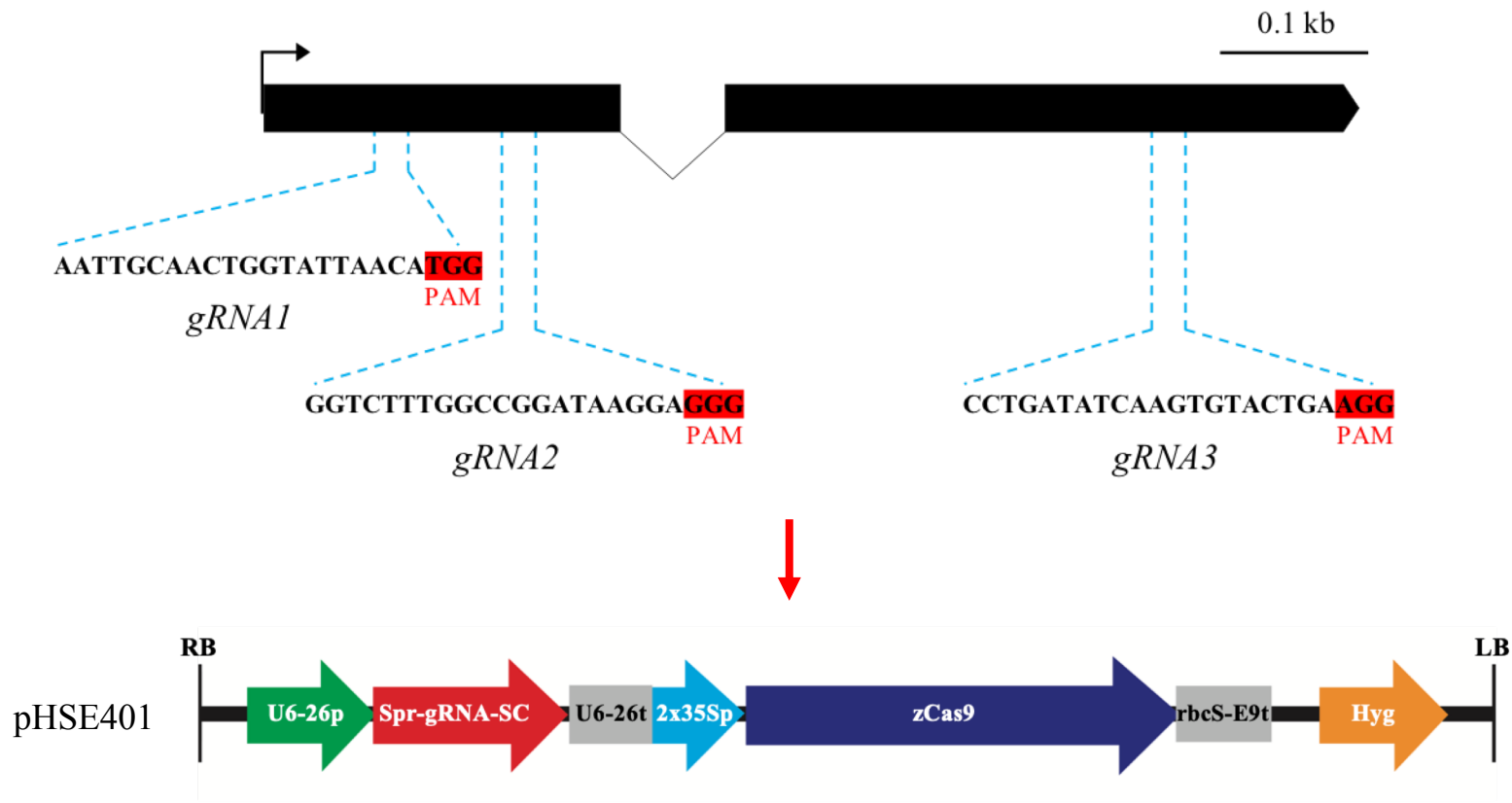
DRH-195



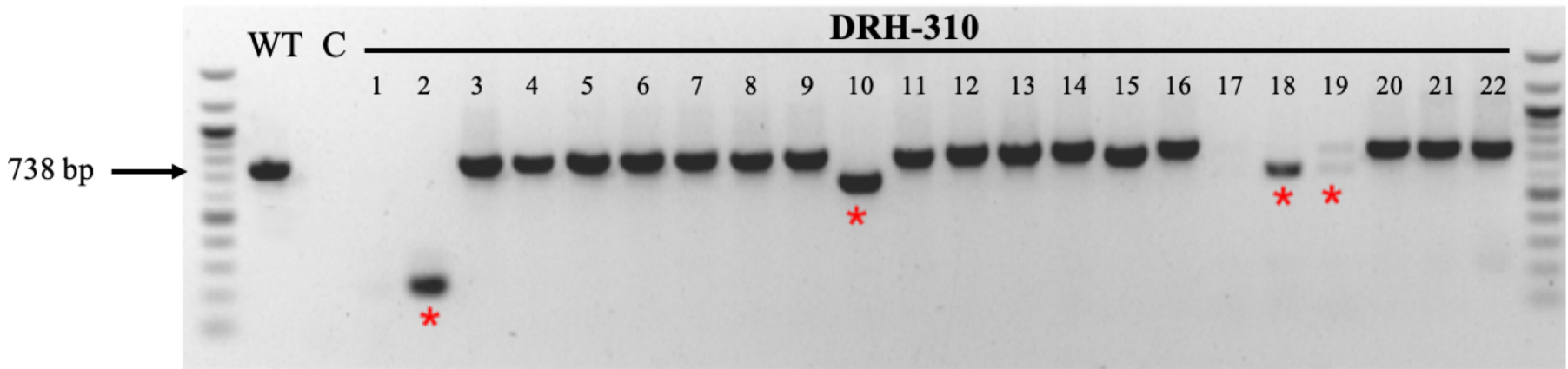
DRH-310

Autoincompatibles

Diseño y ensamblaje de sgRNAs para la mutagénesis dirigida de *S-RNase*



Estrategia de sgRNA-dual permitió la selección rápida de líneas KO *S-RNase*



Se observaron diferentes tipos de variaciones en líneas mutantes

(a)

		sgRNA 1		PAM		sgRNA 2		PAM														
WT		5'	ATTTTCGACA	AAATTGCAACTGGTATTAACA	TGG	CCACCATCA	//	AGATGGAT	CCTGATATCAAGTGTACTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	0 (bp)								
195-104	DM	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGT	-----		//	-----	-----	CTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	-527							
	RH	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGTATTA	GV	LV	LV	QV	GV	LV	QV	LV	//	LDQDVVVV	LV	LV	GGTGGCCATGTT	CTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'
195-105	DM	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGT	-----		//	-----	-----	CTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	-527							
	RH	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGTA	---	CA	TGG	CCACCATCA	//	AGATGGATCCT	GATATCAAGTGT	---	GA	AGG	AGCACC	GGA	3'	-7				
195-128	DM	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGTATTA	A	ACA	TGG	CCACCATC	//	AGATGGATCCT	GATATCAAGTGTACTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	+1						
	RH	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGG	-----		//	-----	-----	-----	-----	-----	-----	3'	-580							
195-137	DM	5'	ATTTTC	-----		//	-----	-----	-----	-----	-----	-----	3'	+4, -564								
	RH	5'	-----		-----	TC	//	AGATGGATCCT	GATATCAAGTGTACTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	-74								
195-142	DM	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGT	---	ACA	TGG	CCACCATCA	//	-----	-----	-----	3'	-206								
	RH	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGT	---	ACA	TGG	CCACCATCA	//	AGATGGATCCT	GATATCAAGTG	---	TGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	-7				
195-158	DM	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGTATTA	-CA		TGG	CCACCATCA	//	AGATGGATCCT	GATATCAAGTGT	-CTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	-2					
	RH	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAACTGGTATT	-----		//	-----	-----	-----	CTGA	AGG	AGCACC	GGA	3'	-524						
195-160	DM	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAAC	-----		TGG	CCACCATCA	//	-----	-----	-----	3'	+18, -135								
	RH	5'	ATTTTCGACAA	ATTGCAAC	-----		TGG	CCACCATCA	//	AGATGGATCCT	GATATCAAGTCT	---	GA	AGG	AGCACC	GGA	3'	+1, -14				

(b)

(b)

		sgRNA 1	PAM		sgRNA 2	PAM	
WT		5' ATTTTCGACAAATTGCAACTGGTATTAACATGGCCACCATCA	//	AGATGGATCCTGATATCAAGTGTACTGAAGGAGCACC	GGA	3' 0 (bp)	
310-8 DM		5' ATTTTCGACAAATTGCAACTGGTATT-----	//	-----CTGAAGGAGCACC	GGA	3' -524	
310-21 DM		5' ATTTTCGACAAATTGCAACTGGT---CATGGCCACCATCA	//	-----		3' -143	
310-33 DM		5' ATTTTCGACAAATTGCAACTGGTATT-----	//	-----		3' -129	

Se obtuvo autocompatibilidad en líneas mutantes para *S-RNase*

(a)



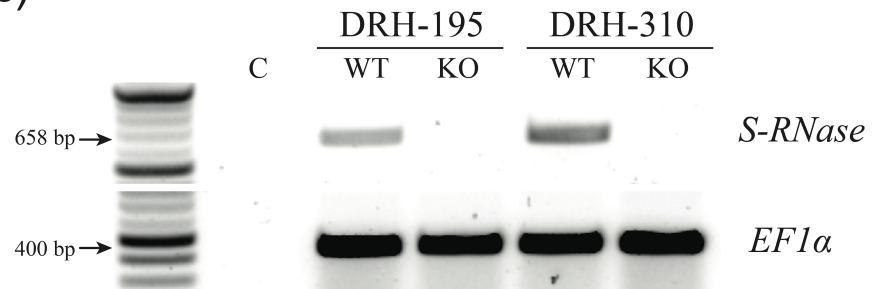
DRH-195 T₀

(b)

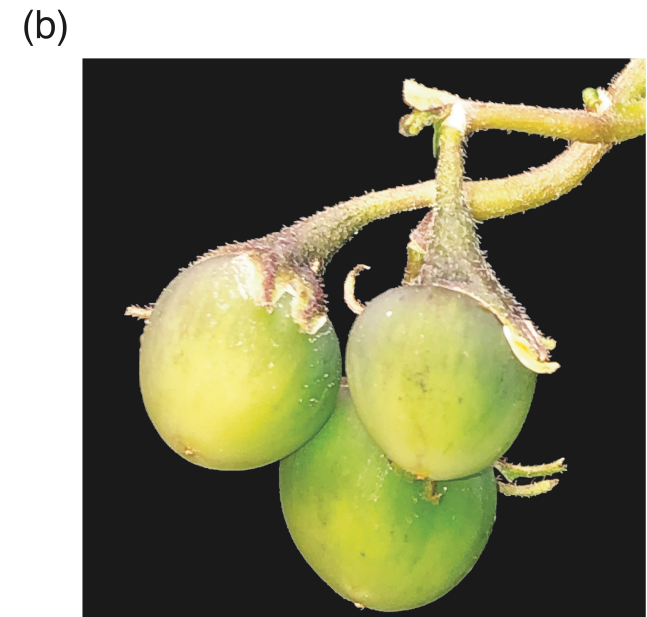
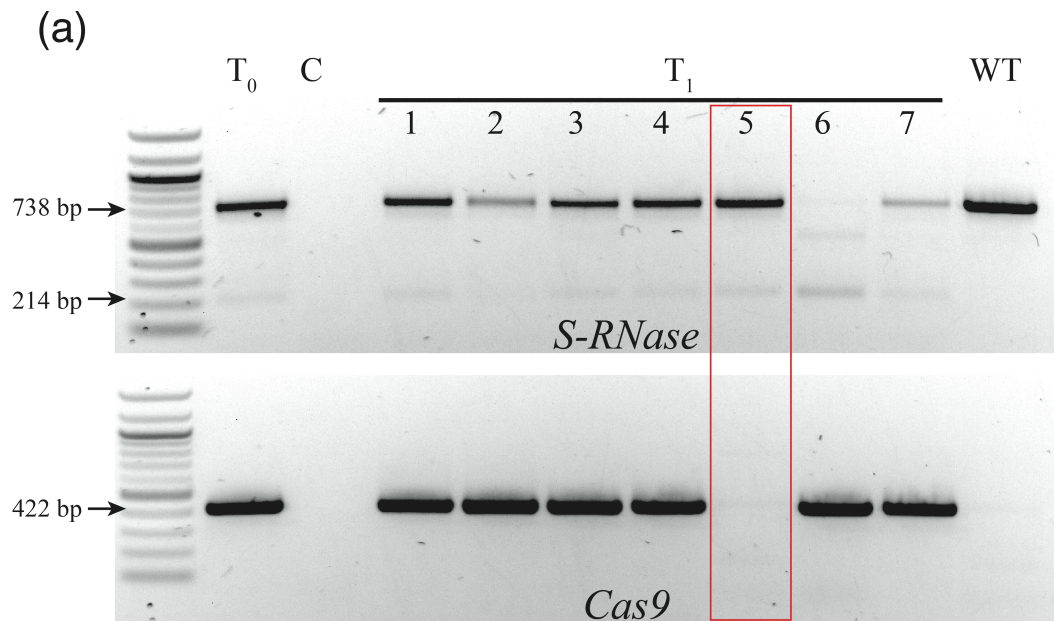


WT

(c)

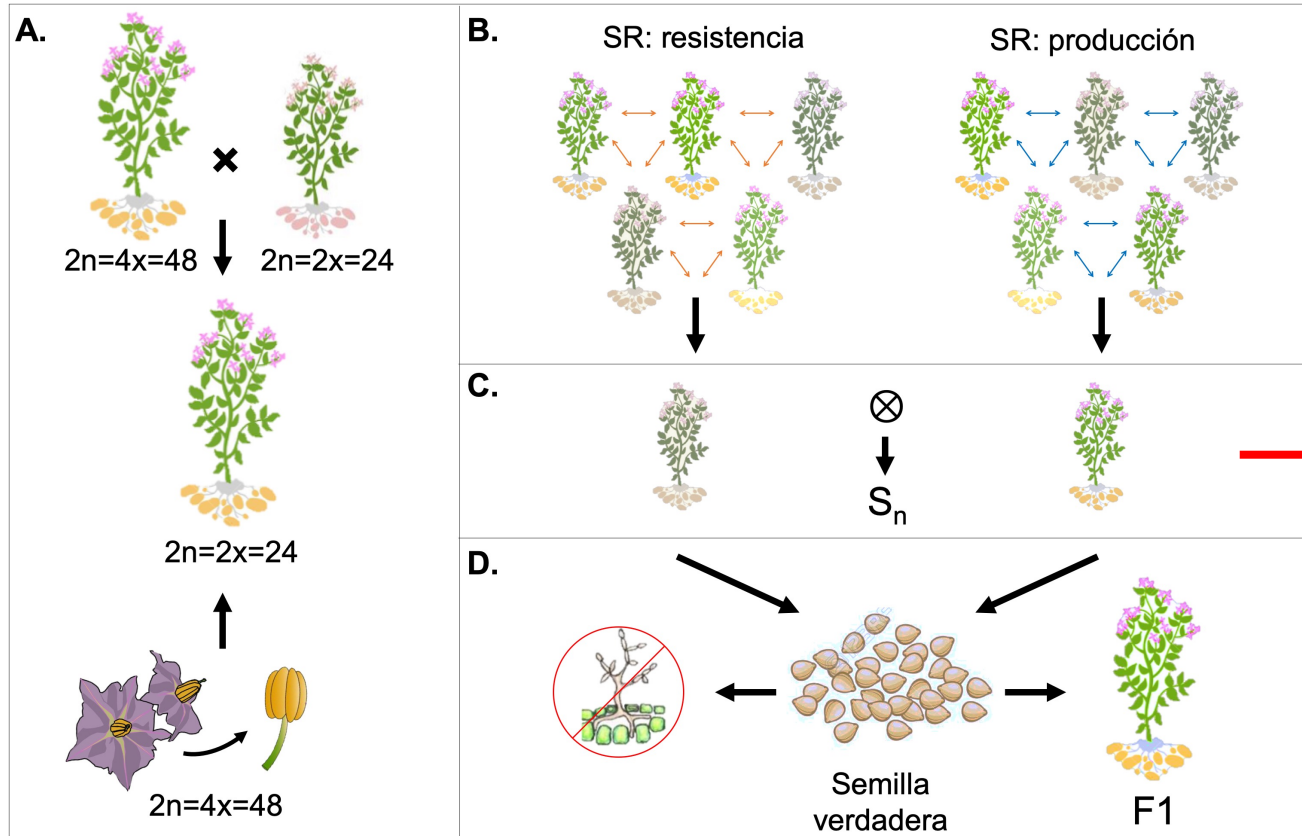


El geno/fenotipo autocompatible se transmite en diferentes generaciones



DRH-195 T₁

Conclusiones



Uso de líneas editadas para *S-RNase*/ otros genes

Agradecimientos



Programa de mejoramiento de papa (UEM)

¿Preguntas?