
A. Projektets titel

Bedre skimmelresistens i danske kartoffelsorter med DNA-fri CRISPR

2.1 Projektets baggrund og formål

Baggrund

I dansk og svensk landbrug går mindst 20% af fungicid-forbruget til forebyggelse og bekæmpelse af kartoffelskimmel og i praksis kræver det ugentlige sprøjtninger. Nedsat modtagelighed for infektion med *Phytophthora infestans* vil derfor kunne bidrage til bæredygtig udvikling for både miljø og erhverv. Ny forskning har vist, at planternes evne til at modstå infektion øges, hvis man kan forhindre ekspressionen af såkaldte S-gener (Das et al 2019). I dette projekt vil vi udnytte erfaringer fra projektet "Helt nye stivelseskartofler genereret ved Præcis Genom-Editering" 2016-19, hvor CRISPR teknologiplatformen blev etableret og resulterede i fremstillingen af kartoffellinjer, som producerer amylosefri stivelse. Vi har vist, at DNA-fri CRISPR virker effektivt, og dermed kan vi sikre, at de forædlede planter er uden fremmed DNA. DNA-fri CRISPR sidestilles med traditionel forædling i det meste af verden, indtil videre dog med den bemærkelsesværdige undtagelse af EU. Det forventes, at EU af hensyn til konkurrencedygtighed og udvikling vil følge trop med USA og den øvrige verden, som lægger sig op ad FDA's anbefalinger (Smyth and Lassoued 2018). Således blev problematikken taget op i et indslag på DR-TV 25.1.2019 under overskriften "[Forskere: EU's hårde linje mod GMP blokerer for bedre planter](#)".

Formål

Formålet er at mindske modtageligheden overfor *P. infestans* ved at slukke gener, som er nødvendige for infektionen, og dermed mindske behovet for sprøjtning mod kartoffelskimmel. Fra internationale forskningsresultater kendes allerede flere gener, hvor modtageligheden for *P. infestans* nedsættes, når generne slukkes. Resultaterne er opnået ved RNAi i transgene planter eller ved brug af virus induceret gene silencing i model-planten *Nicotiana benthamiana*, som også angribes af *P. infestans*. I dette projekt vil vi gøre det muligt at mindske modtageligheden for *P. infestans* i danske kartoffelsorter ved at slukke for udvalgte gener, som bidrager til planternes modtagelighed ved hjælp af CRISPR-teknologien. Som en del af projektet vil der arbejdes med DNA-fri CRISPR.

Kort status for igangværende projekt

Nyt projekt.

2.3 Projektets leverancer

- Oversigt over gener, som ifølge litteraturen kan forventes at nedsætte modtageligheden for *P. infestans*
- Detaljeret sekvens information på alle niveau på det eller de to udvalgte gener.
- Primere til IDAA, som er testet for specificitet og effektivitet.
- Liste med otte til ti guide-RNA pr gen udvalgt gennem analyse med software SSC, CRISPOR, CRISPRater, og CHOPCHOP v2.
- Oprensede og validerede plasmider, som udtrykker Cas9 og de enkelte guide-RNA.
- Data om effektivitet af samtlige guide-RNA og kombinationer af disse.
- Callus kulturer fra protoplaster, som er transformeret med DNA-fri CRISPR med de to mest effektive guide-RNA. Disse calli kultiveres med henblik på regenerering af planter.

Herudover vil resultaterne blive offentliggjort på Kartoffelafgiftfondens og KMC Agro's hjemmeside.

Resultaterne forventes at udkomme ultimo april 2020, og vil også kunne tilgås på <http://www.kmcagro.dk/forsoeg/>.

Resultaterne stilles gratis til rådighed for alle parter.