

Etablierung einer robusten TALEN-Technologie in Gerste

Anne-Kathrin Pfrieme, Stefan Hiekel, Nagaveni Budhagatapalli, Götz Hensel und Jochen Kumlehn

Leibniz Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK),
Pflanzliche Reproduktionsbiologie,
Corrensstr. 3, 06466 Stadt Seeland/OT Gatersleben
pfrieme@ipk-gatersleben.de

Die Sequenz-spezifische Mutagenese mittels Transcription activator-like effector nuclease (TALEN)- oder RNA-guided endonuclease (RGEN)-induziertem Doppelstrangbruch bietet neue Möglichkeiten zur gezielten Genomveränderung selbst in schwierig transformierbaren Kulturpflanzen, wie z.B. Getreide. Trotz anfänglicher Erfolge bei der Mutagenese eines in Gerste integrierten Reportergens (Gurushidze et al. 2014), erwies sich das Design von TALENs und deren Expression mittels stabiler Agrobakterien-vermittelter Transformation in nachfolgenden Experimenten als unverlässlich. Es wird vermutet, dass die für eine TALEN-induzierte Mutagenese erforderliche Expressionsstärke in stabil transgenen Pflanzen oftmals nicht erreicht wird. Bei Gentransfer mittels Partikelbeschuss von Gerstenblättern und der damit einhergehenden hohen transienten Expression konnte jedoch die prinzipielle Funktionalität weitere TALEN-Paare nachgewiesen werden. Das vorliegende Poster referiert über die Nutzung der hohen transienten Expression nach biolistischem Gentransfer zur effizienten TALEN-induzierten Mutagenese und der Entwicklung von praktikablen Methoden zur Detektion relevanter Mutationen mittels Sequenzierchromatogramm und PCR/Restriktionsverdau.