

Nye og traditionelle metoder i planteforædling

Søren K. Rasmussen
Institut for Plante- og Jordbrugsvidenskab,
27. september 2016



KØBENHAVNS UNIVERSITET



Traditionel forædling

- Vælge forældrene
 - Krydse forældrene
 - Selektare i afkommet fra krydsningerne
 - Rendyrke
- Selektare i frøsamlinger, i gamle og nye sortssamlinger
- Forædlingsprogrammer har medført indsnævring af diversitet, fastlåsing af nogle vigtige egenskaber (f. eks. resistens mod sygdomme, maltning)
- Behov for at tilvejebringe ny diversitet / mangfoldighed i de fastlåste egenskaber

Selektare i frøsamlinger, gamle og nye sortssamlinger

- Højere farvepigment i gulerødder
- Hjemtage linjer fra Nordisk Genbank og andre samlinger
- Krydse mange linjer, såkaldt "poly-cross"
- Finde ekstremerne i farvepigment ind
- Lave ny variation ved at krydse
- Lave ny mangfoldighed med mutagener



Bioteknologiske landvindinger til gavn for planteforædling, frøsamlere, økologer, botaniker,....

- 1980erne DNA sekvensering af plantegener (Nobelpris i 1980)
- 1990erne genetisk modificerede afgrødeplanter med agrobakterium
- 1990erne PCR lyn-opformering af DNA sekvenser (Nobelpris i 1993)
- 2010erne målrettede mutationer, ODM, crispr/cas
- 2010erne genomisk selektion

The Nobel Prize in Chemistry 1980



Paul Berg
Prize share: 1/2

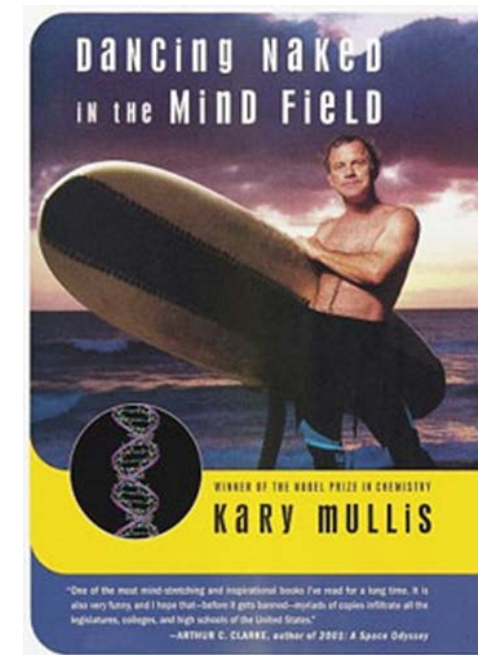


Walter Gilbert
Prize share: 1/4



Frederick Sanger
Prize share: 1/4

The Nobel Prize in Chemistry 1980 was divided, one half awarded to Paul Berg "for his fundamental studies of the biochemistry of nucleic acids, with particular regard to recombinant-DNA", the other half jointly to Walter Gilbert and Frederick Sanger "for their contributions concerning the determination of base sequences in nucleic acids".



Nye metoder i planteforædling (NPBT)

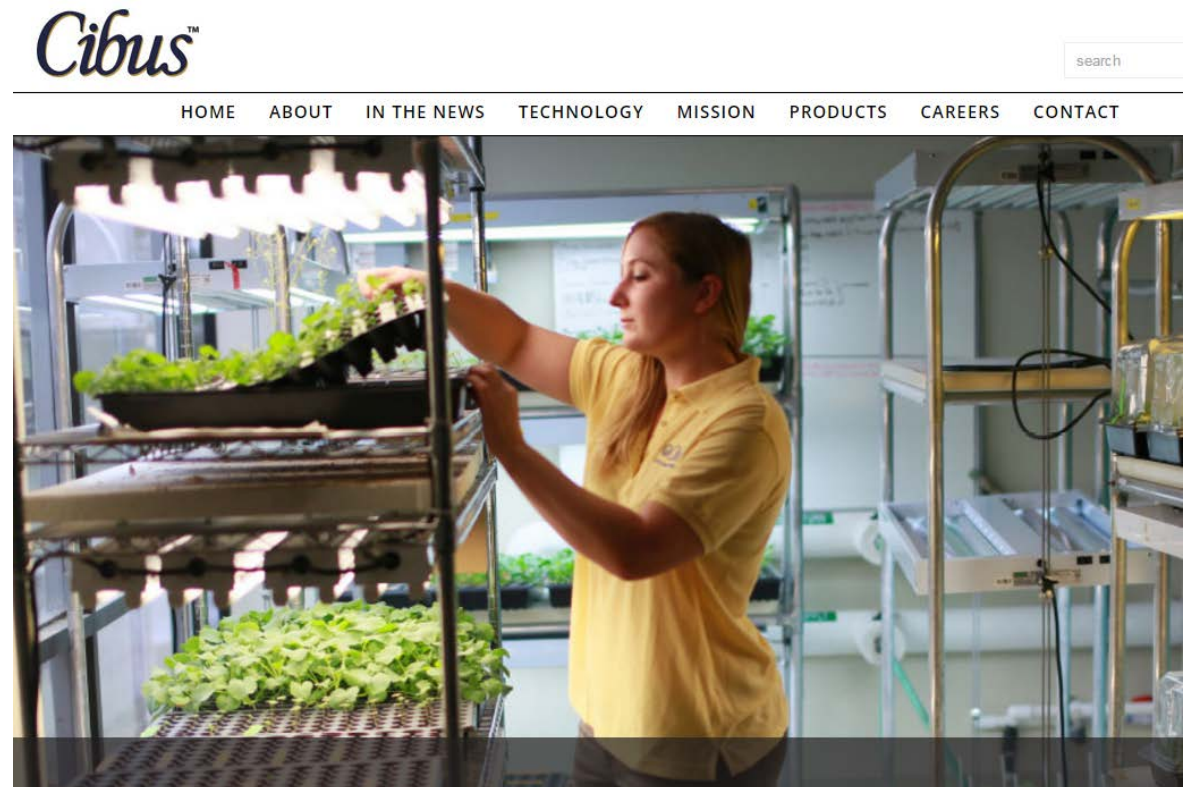
- Oligonukleotid mutagenese (ODM)
- Zinc Finger Nuklease Teknologi (ZFN)
- Cisgenese og intragenese (kartofler)
- Podning (træer, roser, m.m.)
- Agro-infiltrering (produktion af antistoffer)
- RNA-afhængig DNA methylering (RdDM)
- Revers forædling (gendanner forældre linjerne)
- Syntetiske genomer

Oligonukletide mutagenese

- Den første genetiske editeringsmetode blev udviklet i 1990erne
- 40 nukleotider anvendes til mutationen
- De 40 nukleotider er syntetiske med en rygrad af aminosyrer
- Punktmutationer, indsætte / fjerne nogle få nukleotider
- Intet fremmed DNA bliver indsat i plantegenomet (20 nt grænsen)

CIBUS Rapid Trait Development System (RTDS™)

- CIBUS har fremstillet raps-sorter som de for et par år siden spurgte hos en række Europæiske lande om de kunne markedsføres. Seks lande svarede, ja, det er OK.
- SU Canola™, en gmo-fri raps som er tolerant overfor sulfonylurea. Godkendt i Canada og USA til markedsføring fra 2016.
- RTDS er oligonukleotid mutagenese (ODM)



Flere målrettede mutationsmetoder

- Zinc finger
- TALEN
- CRISPR

De 2 første bruger et protein som binder til DNAet og et enzym som klipper DNA strengen

CRISPR/Cas9 bruger et guide-RNA som binder til DNAet og Cas9 som klipper DNA strengen

Planten vil ikke indeholde noget fremmed DNA indsat i den endelige form

Champignon uden brunfarvning

- Fremstillet med crispr/cas metoden
- Brunfarvning udgås ved inaktivering af et phenoloxidase enzyme
- Kræver ingen godkendelse fra USDA

BIOTECHNOLOGY

Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation

A fungus engineered using CRISPR-Cas9 can be cultivated and sold without oversight.

BY EMILY WALTZ

The US Department of Agriculture (USDA) will not regulate a mushroom that has been genetically modified with the gene-editing tool CRISPR-Cas9, the agency has confirmed. The long-awaited decision means that the mushroom can be cultivated and sold without passing through the agency's regulatory process — making it the first CRISPR-edited organism to receive a green light from the US government.

"The research community will be very happy with the news," says Caixia Gao, a plant biologist at the Chinese Academy of Sciences



STUART MCKOLLETT

Revers forædling

- Ofte forældrene til succesfulde og attraktive pryddplanter, afgrøder, gået tabt
- Revers forædling er en metode til at gendanne forældrene så ny mangfoldighed kan skabes
- Det første trin kræver gmo for at undgå overkrydsning, men i den endelige form er planterne gmo-fri

Mutationsforædling

Eksempel: byg mlo resistens på 3 måder

- Induceret mutation – ny mangfoldighed
 - Behandle 24000 bygfrø med kemikalie eller bestråling
 - Undersøge 20.000 bygmutantlinjer for resistens mod meldugsvampen
 - Rendyrke byg mlo resistente mutantlinjer til forædling
- Spontan / naturlig mutation
 - Opdage en plante i en bygmark som er resistent overfor meldug
 - Rendyrke byglinjen til forædling
- Induceret / naturlige mutanter kræver ingen viden om gen-sekvensen
- Crispr/cas,
 - Introducerer mutationen direkte i mlo-genet
 - Forudsæt: gen-sekvensen er kendt

Undtagelser fra EU GMO regulativ

ANNEX I B

TECHNIQUES REFERRED TO IN ARTICLE 3

➔ Techniques/methods of genetic modification yielding organisms to be excluded from the Directive, on the condition that they do not involve the use of recombinant nucleic acid molecules or genetically modified organisms other than those produced by one or more of the techniques/methods listed below are:

➔ (1) mutagenesis,

(2) cell fusion (including protoplast fusion) of plant cells of organisms which can exchange genetic material through traditional breeding methods.

REGULATION (EC) No 1829/2003 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL
of 22 September 2003
on genetically modified food and feed
(Text with EEA relevance)

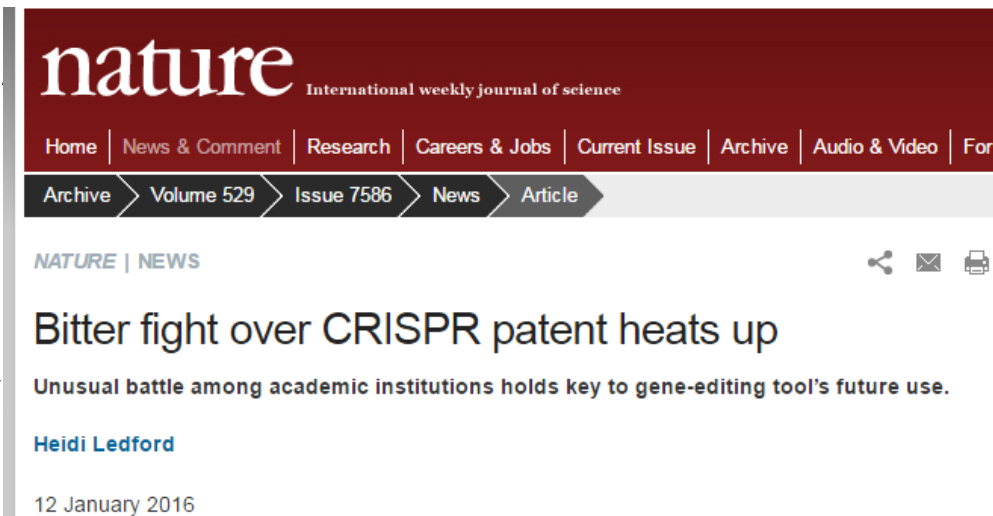
Nye metoder i planteforædling (NPBT)

Hvilke er GMO efter EU regulativet?

- Oligonukleotid mutagenese (ODM)
- Zinc Finger Nuklease Teknologi (ZFN)
- **Cisgenese og intragenese** (kartofler) **GMO**
- **Podning** (træer, roser, m.m.) **GMO**
- **Agro-indfiltrering** **GMO**
- RNA-afhængig DNA methylering (RdDM)
- Revers forædling (gendanner forældre linjerne)
- **Syntetisk genomer** **GMO**

Hvad nu...

- Mange afgrøde/nytteplanter er eller bliver DNA sekventeret
- Brug de nye mutations metoder som kan undtages fra EU regulativet om gmo planter
- Skaber nye muligheder for mange planteforædlere, ingen kostbare godkendelser, som kun meget store virksomheder kan bære
- Usikkerhed omkring patenter for crispr/cas9 i kommerciel forædling;
- Patent claims on CRISPR
 - 1-MIT (Feng Zhang, Broad Institute)
 - 2-Jennifer Doudna of the University of California, Berkeley
 - 2-Emmanuelle Charpentier, Helmholtz Center, Germany



The screenshot shows the top portion of a news article on the Nature website. The header includes the 'nature' logo and the tagline 'International weekly journal of science'. A navigation bar contains links for Home, News & Comment, Research, Careers & Jobs, Current Issue, Archive, Audio & Video, and For. Below this, a breadcrumb trail shows 'Archive > Volume 529 > Issue 7586 > News > Article'. The article title is 'Bitter fight over CRISPR patent heats up', with a sub-headline: 'Unusual battle among academic institutions holds key to gene-editing tool's future use.' The author is Heidi Ledford, and the date is 12 January 2016. Social media sharing icons are visible on the right side of the article header.