

Algemene gegevens	
PPS-nummer	KV1509-039
Titel	Making haploids in chrysanthemum by applying the latest molecular tools in remodelling genome organization.
Topsector en innovatiethema	TKI-U Meer met minder
Projectleider (onderzoek)	Dr. F.A. Krens
PPS-coördinator (namens private partij)	Dhr. A. Post
Contactpersoon overheid	Jan van Vliet
Status (lopend of afgerond)	Lopend
Type onderzoek (F, T of V)	F
Werkelijke startdatum	01-03-2016
Werkelijke einddatum	01-03-2020
Korte omschrijving inhoud	D.m.v. CRISPR/Cas9-gemedieerde gerichte mutagenese worden in chrysant CENH3 genen uitgeschakeld en d.m.v. genetische modificatie wordt een aangepast CENH3 gen ingebracht. Dit moet resulteren in een z.g. haploid inducer die na kruising nakomelingen met een gereduceerd ploïdeniveau oplevert.

Highlights
<p>Moleculair: 1) CENH3. De in de NCBI aanwezige gensequentie van CENH3 van zonnebloem is gebruikt om in chrysant op zoek te gaan naar CENH3. Dit is gedaan in diverse transcriptoom databanken, o.a. die van deelnemende bedrijven. Gebaseerd op de zoekresultaten zijn primers ontworpen waarmee in genomisch DNA van de geselecteerde chrysanten lijnen bekeken is hoeveel loci en allelen aanwezig zijn en hoe de genorganisatie is (intronen e.d.). Op basis van deze informatie kunnen nu geschikte plaatsen om gRNAs op te ontwerpen worden geïdentificeerd. 2) Vector constructie. Omdat de 35S promotor niet altijd ideaal is gebleken voor chrysant is de beschikbaarheid en geschiktheid van enkele andere promotoren getoetst, zoals bijv. de eigen Rubisco promotor. 3) Histon H3.3. De chrysanten H3.3, nodig voor de tail-swap, blijkt bijna identiek aan de arabidopsis H3.3.</p> <p>Celbiologie: In eerste aanleg zijn zeven chrysanten lijnen geselecteerd, te weten 4 snijchrysanten, 2 potchrysanten en 1 diploïde soort. Deze lijnen zijn geschikt voor kruisingen en worden getoetst op vermeerdering in vitro, regeneratievermogen en transformeerbaarheid. Een uniform vermeerderingsprotocol is vastgesteld, regeneratievermogen is bekend en de eerste transformanten zijn verkregen.</p> <p>Optimalisatie is zo hier en daar nog wel nodig. Vier extra diploïde lijnen van twee Chrysanthemum soorten zijn bij de genenbank in Japan aangevraagd en eind 2016 binnengekomen. Ook deze lijnen worden meegenomen in de CENH3 screening en de toetsing op regeneratie en transformatie efficiëntie.</p>

Aantal opgeleverde producten in 2016			
Wetenschappelijke artikelen	Rapporten	Artikelen in vakbladen	Inleidingen/ workshops/ invited lectures
-	-	-	Door WUR zijn in 2016 bij de kick-off op 12 mei en op 27 september inleidingen verzorgd voor de deelnemende bedrijven