

## Estabelecimento e validação da edição de genoma via CRISPR/Cas em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) por knockout de GUS

Guilherme Souza Prado<sup>1</sup>, Thaísa Tessutti Pinheiro, Paula Arielle Mendes Ribeiro Valdisser, Gesimária Ribeiro Costa Coelho, Rosana Pereira Vianello e Josias Correa de Faria

<sup>1</sup> Graduação em Biotecnologia, Pós-doutorado. E-mail: gsprado25@gmail.com

**Resumo** - A Biologia Sintética é uma área emergente da Biotecnologia e, dentre os ramos desta área, a engenharia ou edição de genoma tem se destacado nos últimos anos por permitir alterar de forma precisa e direcionada qualquer região do genoma. Considerando as ferramentas de edição disponíveis, a tecnologia CRISPR é a mais recente e revolucionária. Diversas espécies vegetais têm sido submetidas à edição de genoma via CRISPR, com destaque para aquelas de grande importância econômica como arroz, trigo, soja e milho, porém sem qualquer relato envolvendo o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). E considerando a posição-chave desta leguminosa no mundo, torna-se imprescindível estabelecer e validar um sistema próprio de edição. Com esse intuito, nosso grupo utilizou o sistema CRISPR/Cas para realizar o *knockout* do gene repórter *gus* previamente inserido em um acesso de *P. vulgaris*. Para conduzir esta estratégia, o mecanismo de edição foi baseado em sistema plasmidial de CRISPR/Cas9, utilizando o promotor constitutivo CaMV 35S para dirigir a expressão da enzima Cas9 e do gRNA. Essa abordagem dispensou a utilização de promotores clássicos do tipo U6 e U3, que não são caracterizados em *P. vulgaris*. Para isso, foram utilizadas sequências de ribozimas flanqueadoras (HH e HDV) do gRNA para realizar o processamento da molécula-guia. A partir de experimentos de biobalística e regeneração de explantes a partir de meristema apical via cultura de tecidos, em meio seletivo contendo o herbicida imazapyr, foi possível gerar indivíduos transformados e com edição do gene repórter. Esta metodologia permitiu observar fenotipicamente e de forma simples a ocorrência da edição por meio de um ensaio histoquímico, revelando ausência de cor azul em indivíduos editados, que foram aclimatizados e cultivados para caracterização da edição. Este é o primeiro relato da obtenção de eventos de feijoeiro comum resultantes da edição de genoma, constituindo o primeiro feijão editado em nível genômico no mundo.

Termos para indexação: biologia sintética, engenharia de genoma, plantas editadas, tecnologia CRISPR.