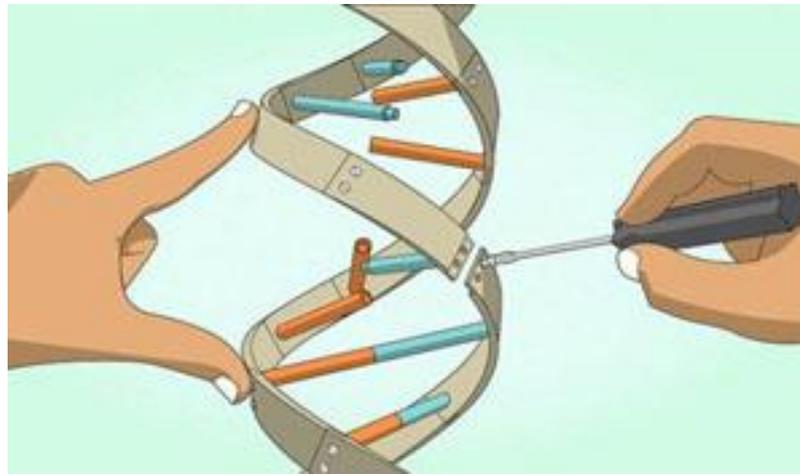
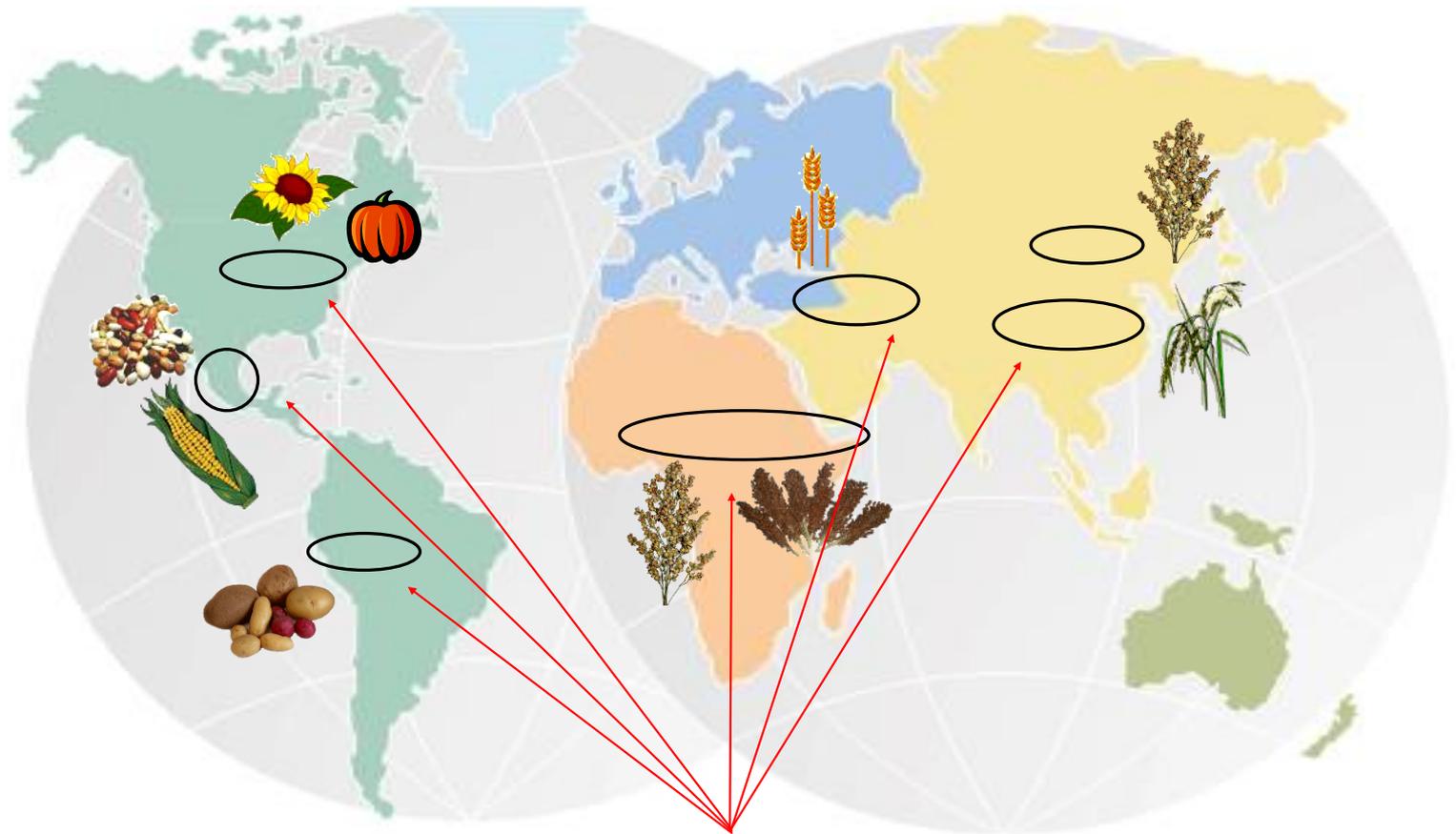


# Genome editing: le applicazioni in agricoltura

Michele Morgante  
Venezia, 16 Maggio 2017

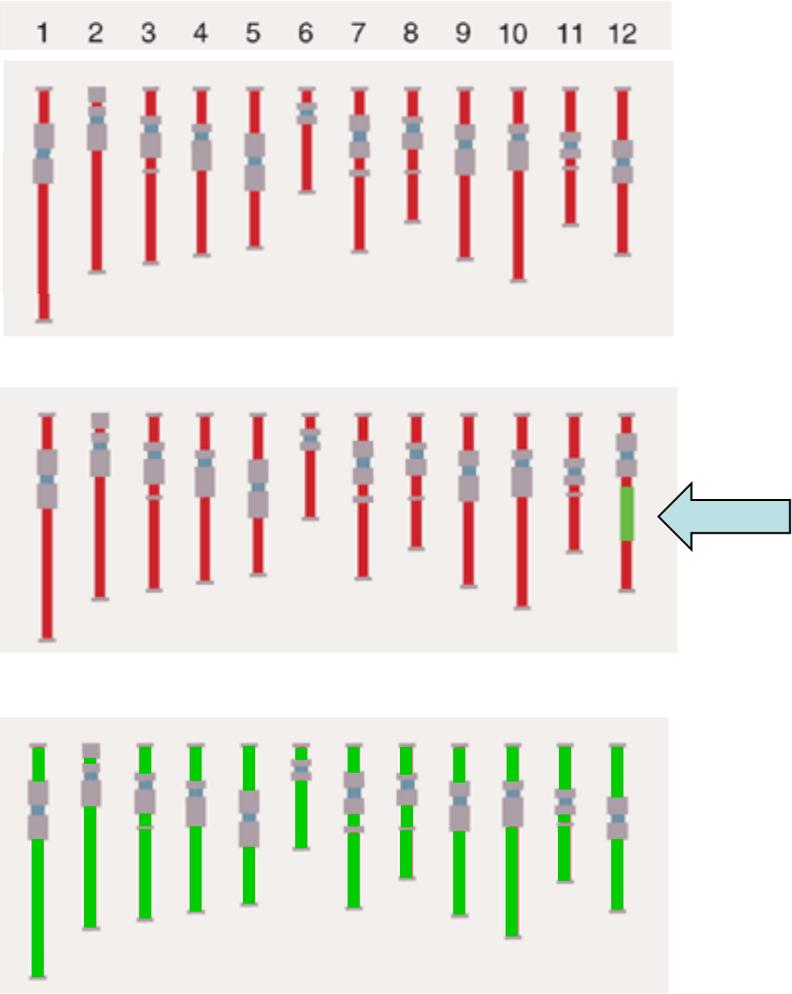
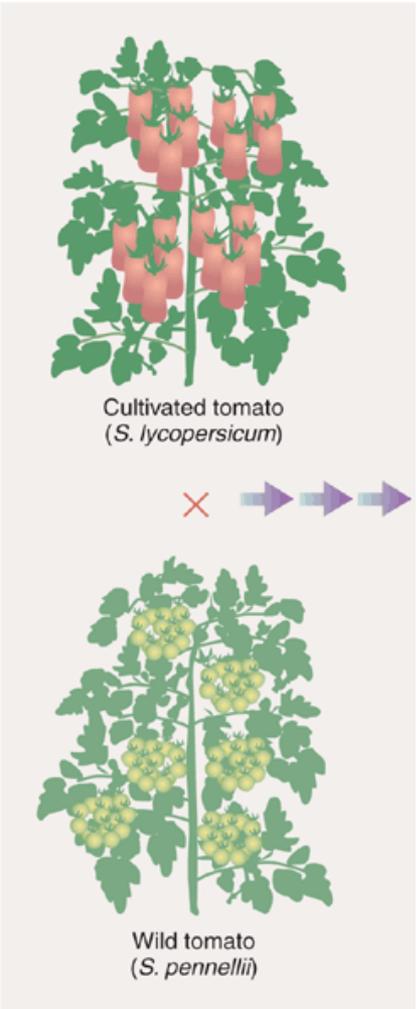


# ADDOMESTICAMENTO

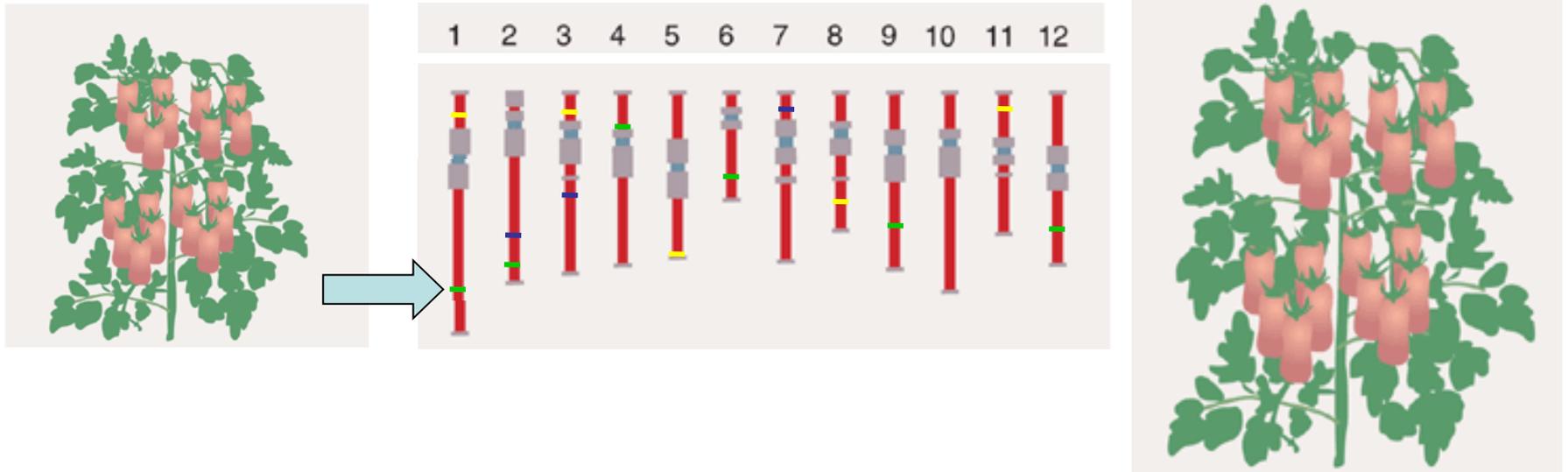


**7 ESPERIMENTI DI MODIFICAZIONI GENETICHE**

# MIGLIORAMENTO GENETICO: INCROCIO E SELEZIONE

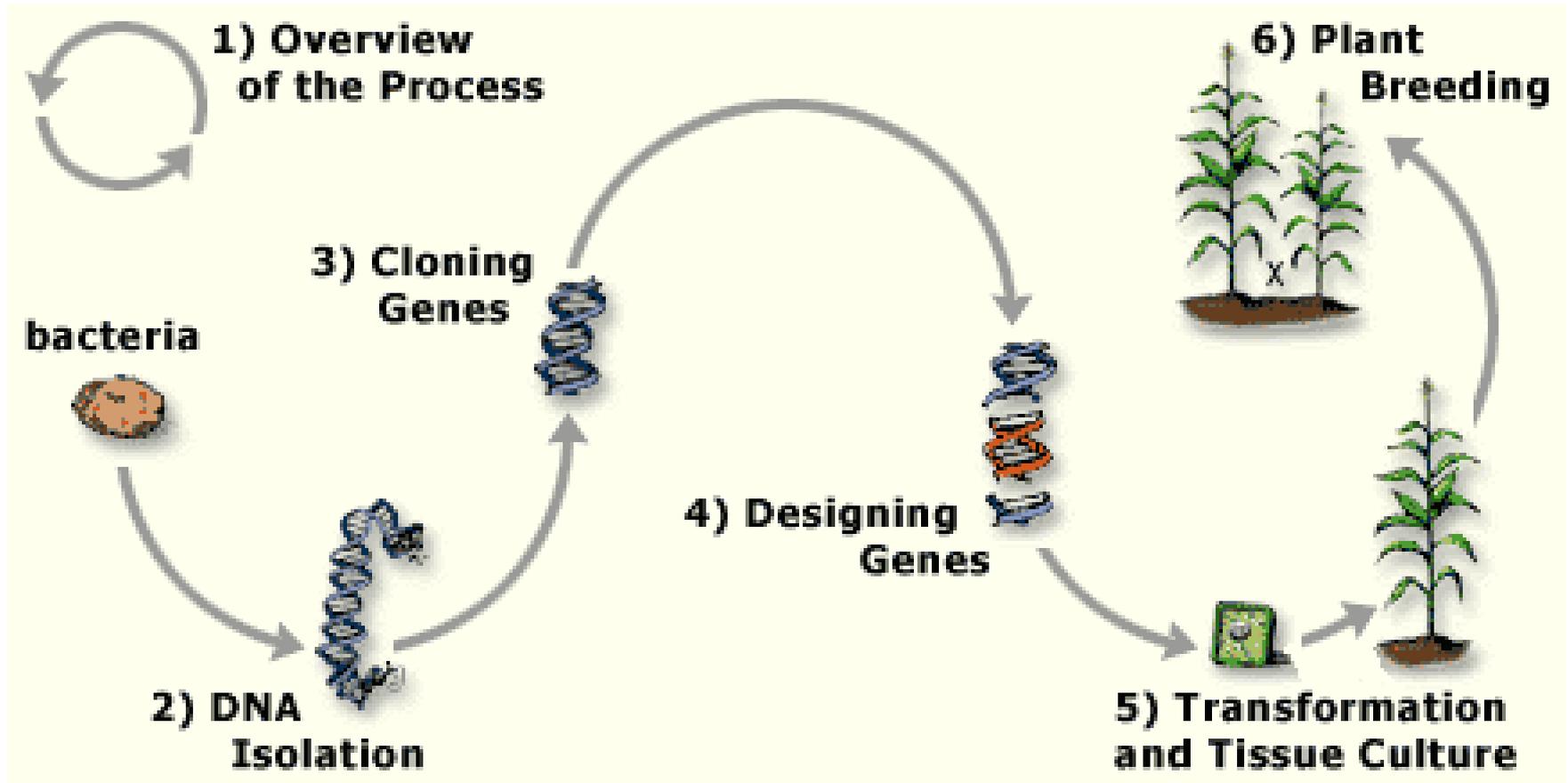


# MIGLIORAMENTO GENETICO: MUTAGENESI INDOTTA



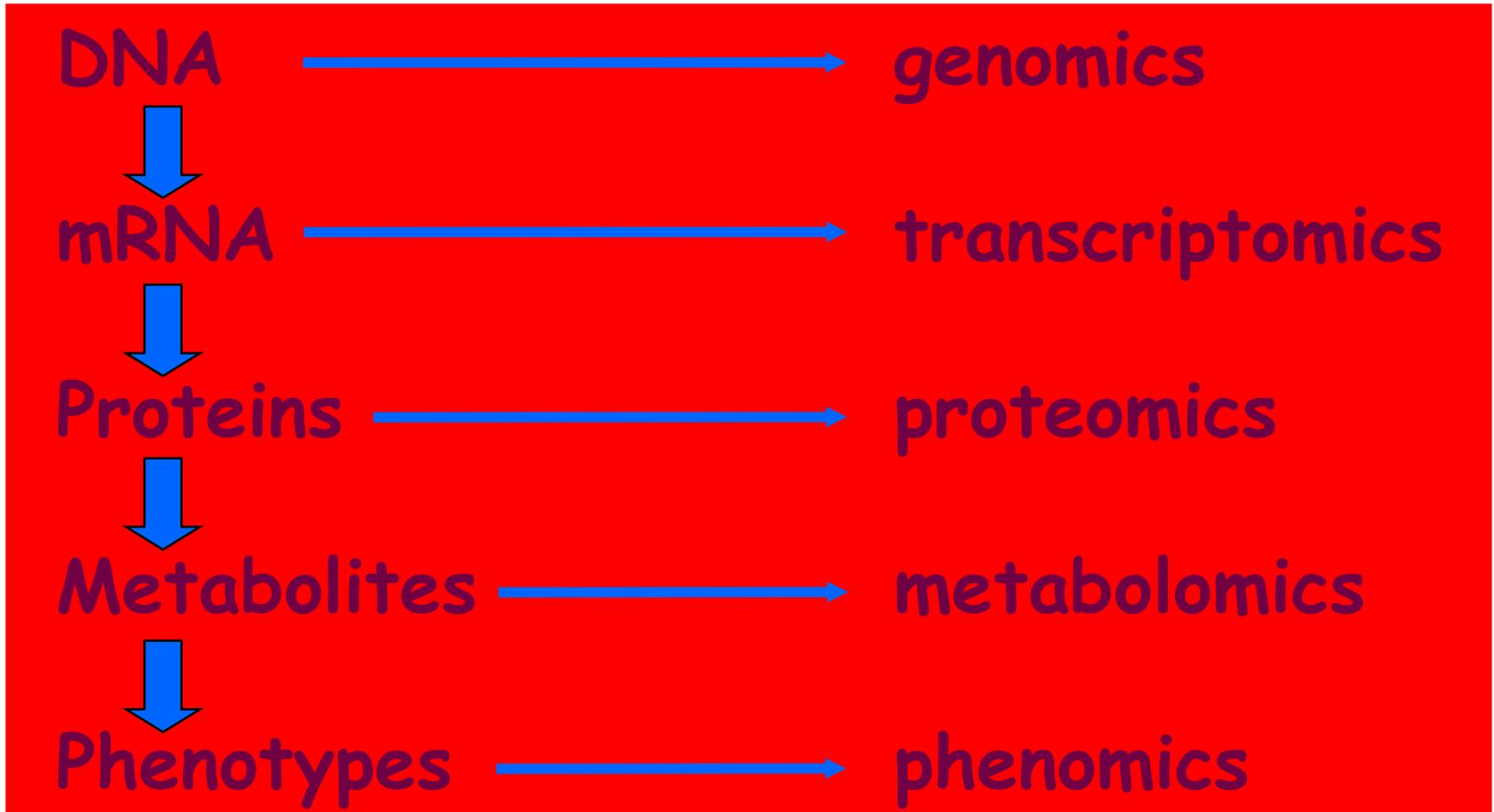
- Mutageni chimici
- Mutageni fisici (radiazioni)
- Generano mutazioni casuali
- Si seleziona il fenotipo desiderato fra le piante mutagenizzate

# MIGLIORAMENTO GENETICO: BIOLOGIA MOLECOLARE

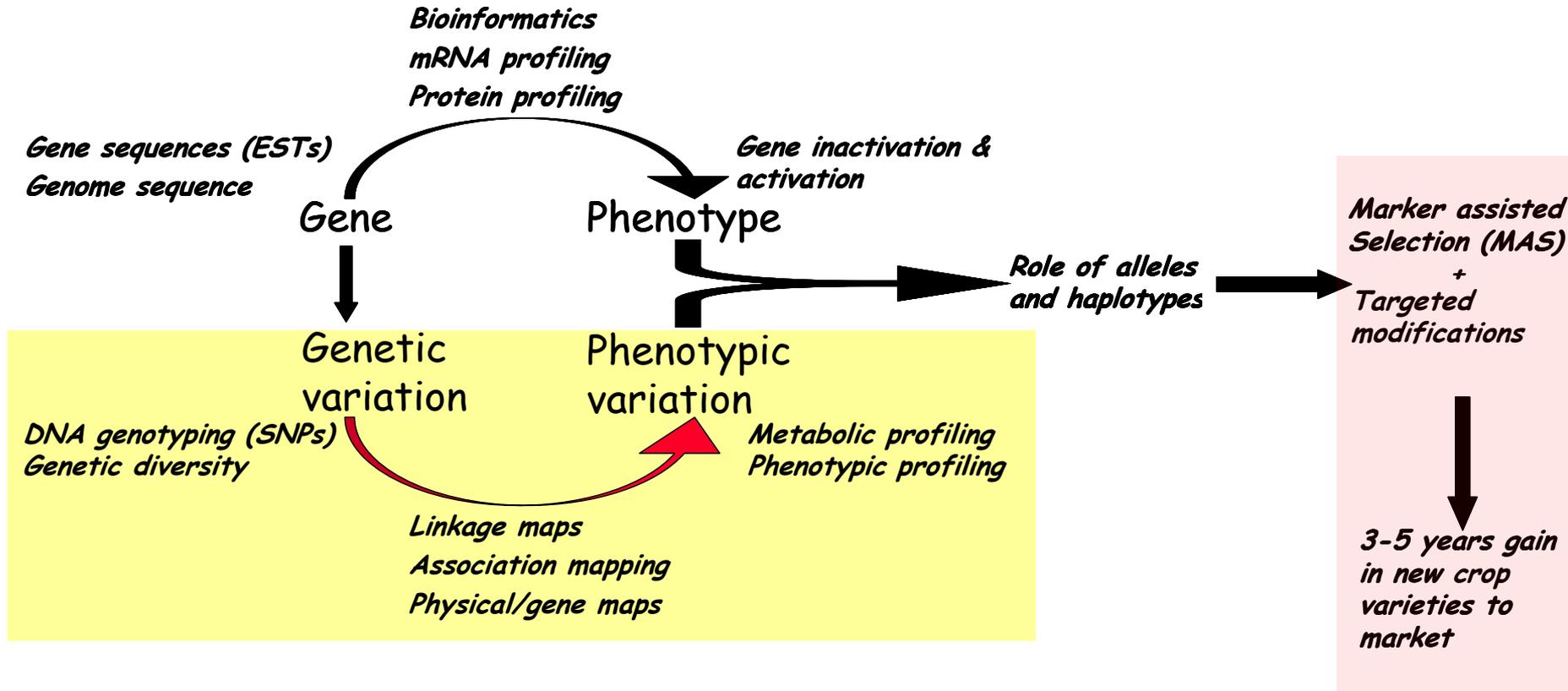


# L'ERA OMICA

## Scienze Omiche



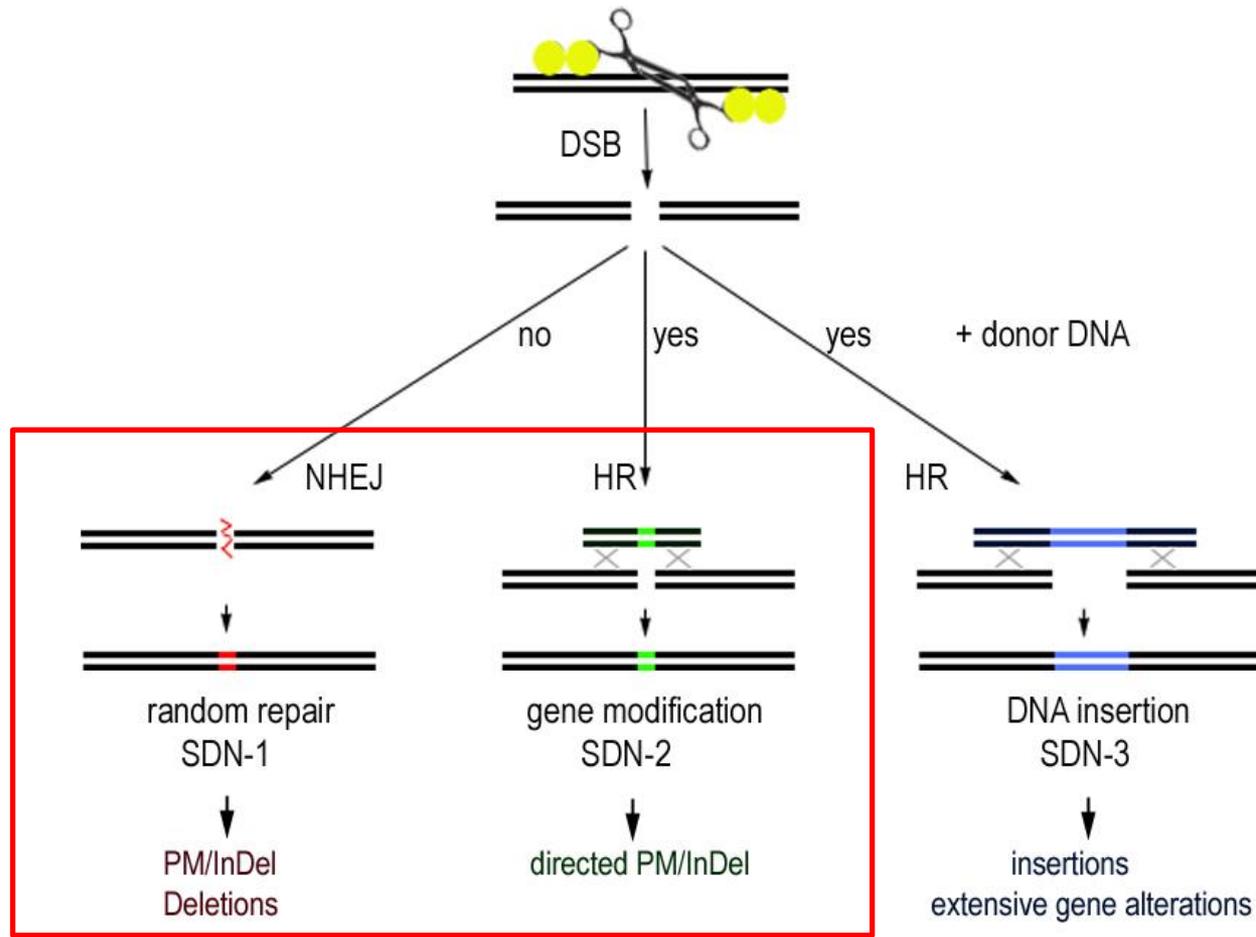
# MIGLIORAMENTO GENETICO E GENOMICA: TROVARE I GENI ED ACCELERARE LA PRODUZIONE DI NUOVE VARIETA'



# MIGLIORAMENTO GENETICO E GENOMICA: MODIFICAZIONI MIRATE

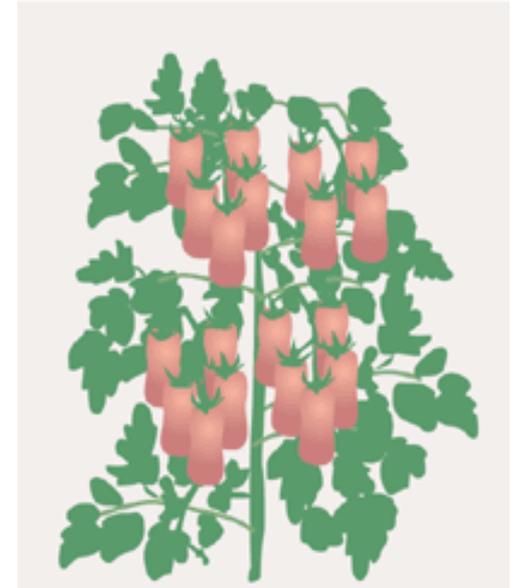
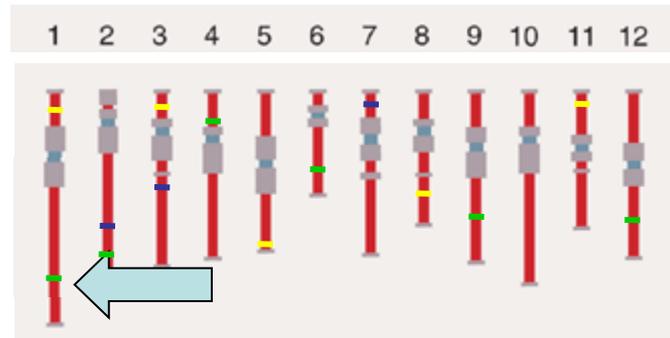
- L'analisi genetica consente di identificare i geni responsabili per caratteri di interesse
  - Genomica fornisce i geni ed i marcatori
  - I caratteri quantitativi non sono controllati da un numero infinito di geni
- Si possono mettere a punto metodi di modificazione genetica mirata a specifici geni ed anche specifici nucleotidi
  - Aumento di efficienza del processo

# MIGLIORAMENTO GENETICO E “GENOME EDITING”: NUOVE TECNOLOGIE



Modificazioni mirate analoghe a quelle spontanee

# SOSTITUIRE LA MUTAGENESI INDOTTA



- Eseguire modificazioni mirate usando il genome editing (CRISPR/CAS)
  - Si annullano le modificazioni indesiderate
  - Non c'è bisogno di autofecondare per mutazioni recessive
  - Si può preservare intatto il genotipo di partenza
- Potrebbe anche sostituire incroci complessi e/o reincroci

# CRISPR/CAS: IL PROCESSO

## 1. Select genomic target

- 20 bp sequence followed by the PAM (NGG)
- Use online tools to minimize off-targeting

## 2. Design sgRNA

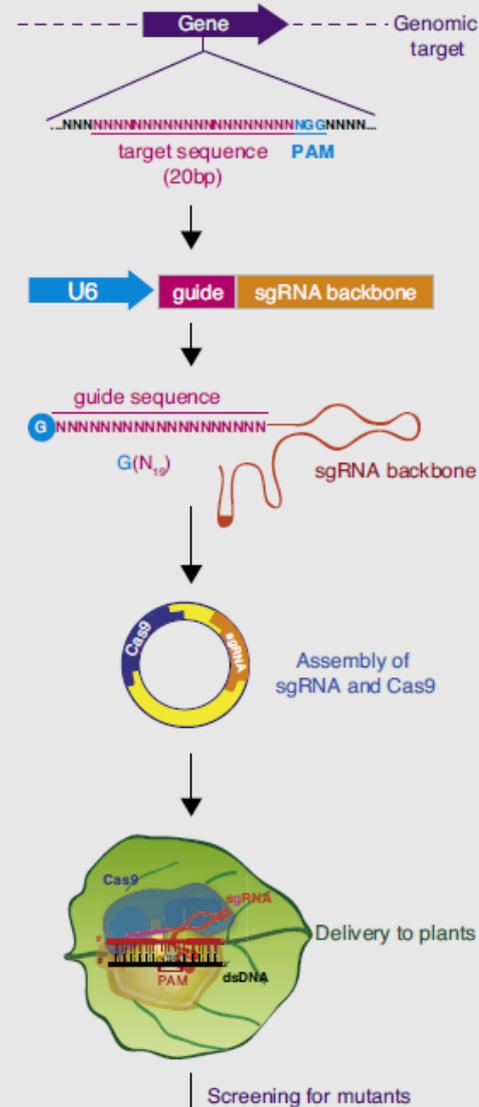
- sgRNA is expressed using a small RNA promoter, such as U6p or U3p
- First nucleotide in the guide sequence is a "G", if U6p is used, or an "A", if U3p is used
- Guide sequence should match the target, except for the first nucleotide (5' G or A) that does not have to match

## 3. Assemble Cas9 / sgRNA construct

## 4. Deliver to plants

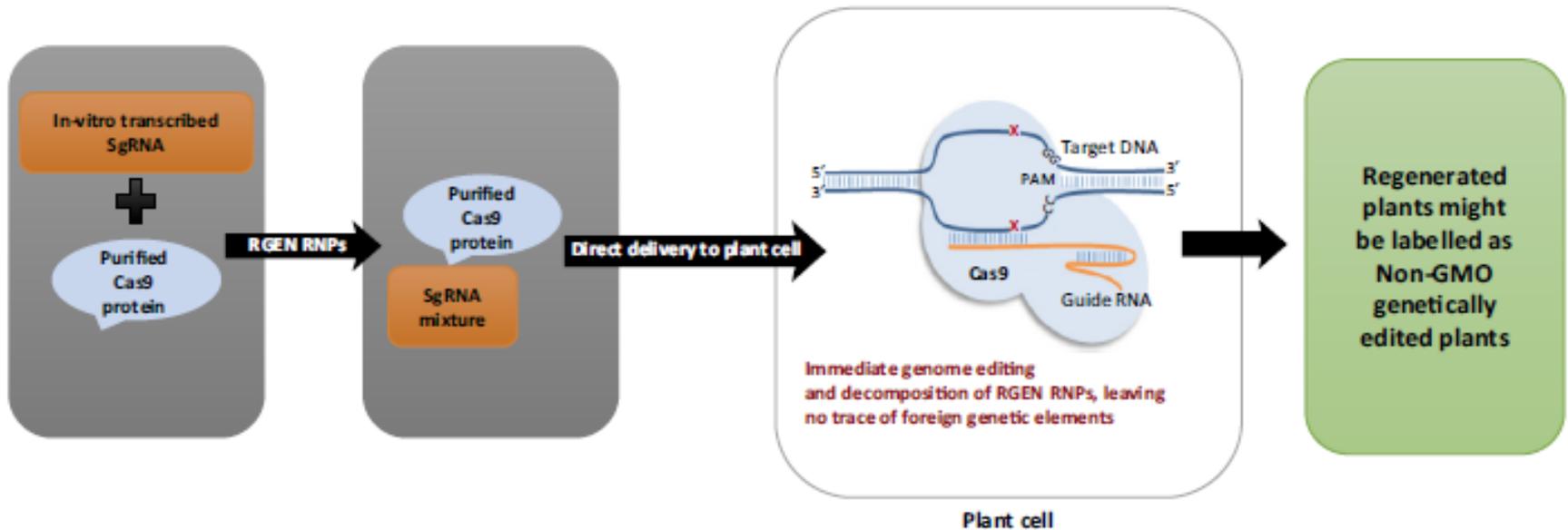
- Protoplast transformation
- Agrobacterium transformation
- Callus bombardment

## 5. Regenerate and screen transgenic plants for gene editing events



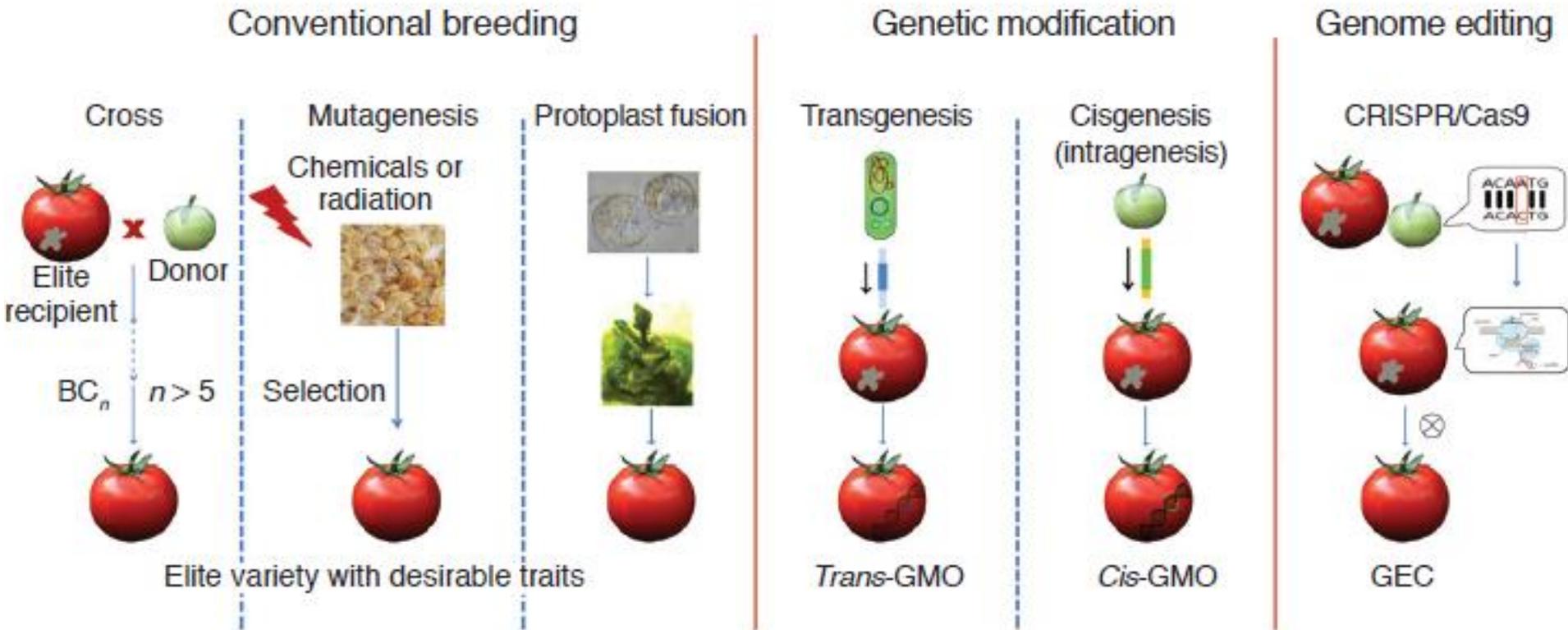
# CRISPR/CAS: DELIVERY

- Trasformazione stabile
- Trasformazione transiente
- Delivery diretta



Kanchiswamy et al. 2015

# I PROCESSI A CONFRONTO

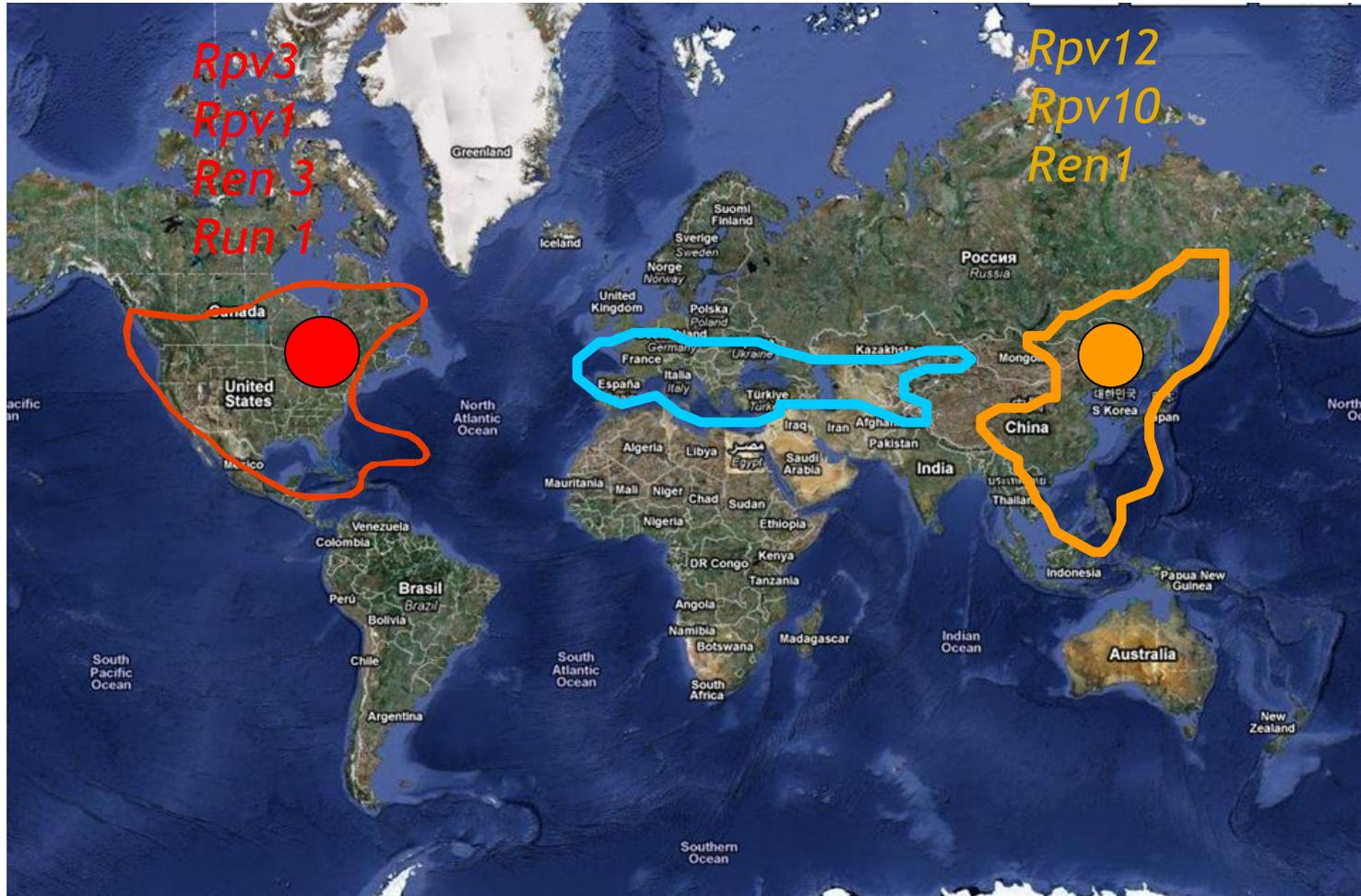


# **SOSTENIBILITA' AMBIENTALE ED IMPATTO DEI FUNGICIDI NELLA VITICOLTURA EUROPEA**

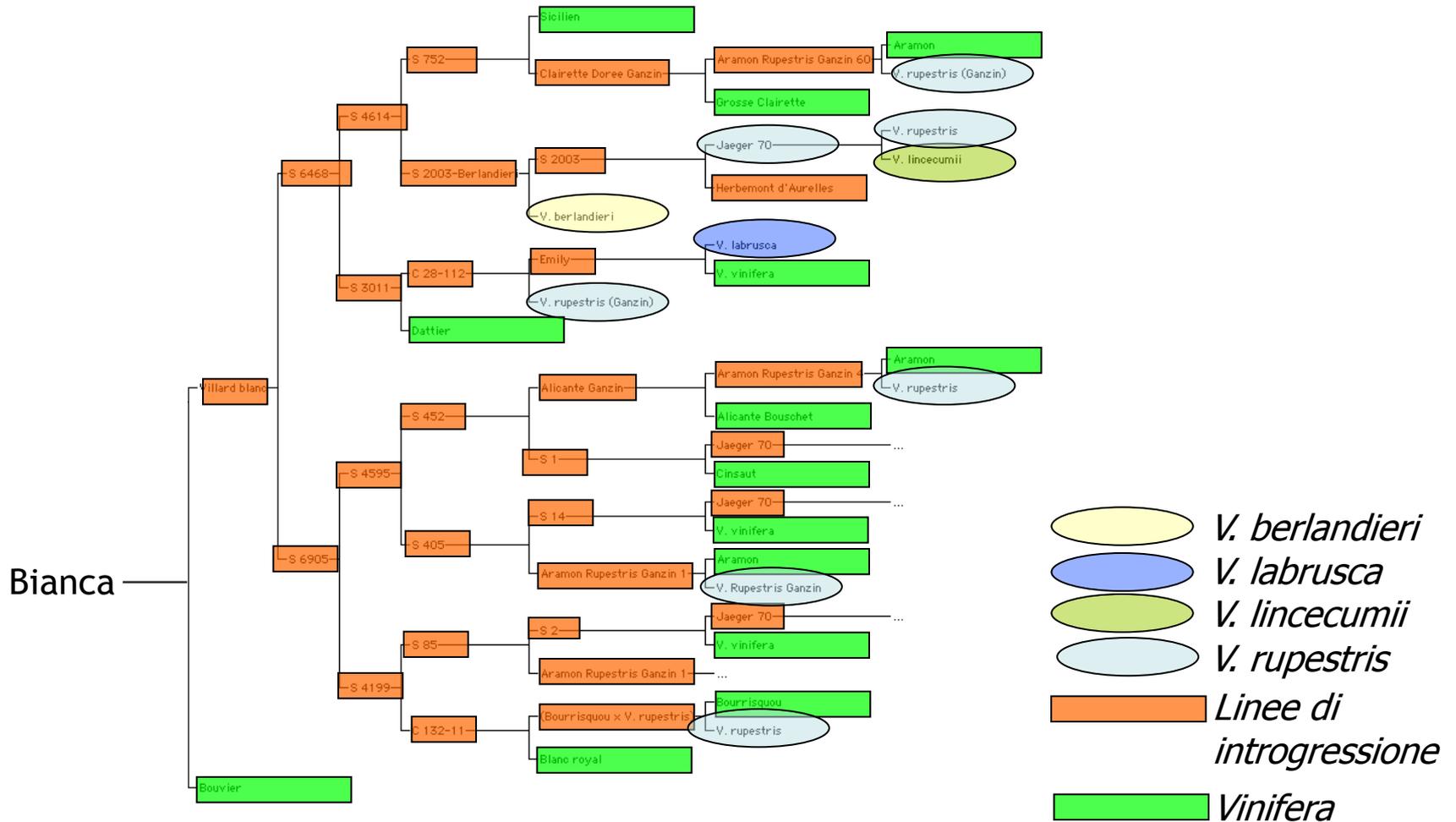
- 3.5 milioni di ha di vigneti in EU
- 3.3% dei terreni agricoli in EU
  
- 60,000 tonnellate di pesticidi usati in viticoltura
- 65% di tutti i fungicidi usati nell'agricoltura in EU

(Eurostat report 2007)

# FONTI DI RESISTENZA



# REINCROCIO IN VITE: ANCORA PIÙ COMPLESSO

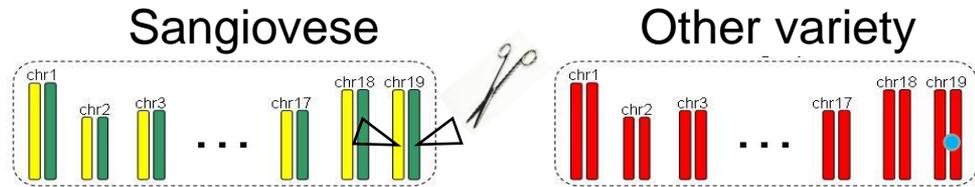


# SVILUPPO DI NUOVE VARIETA' RESISTENTI A PATOGENI IN VITE

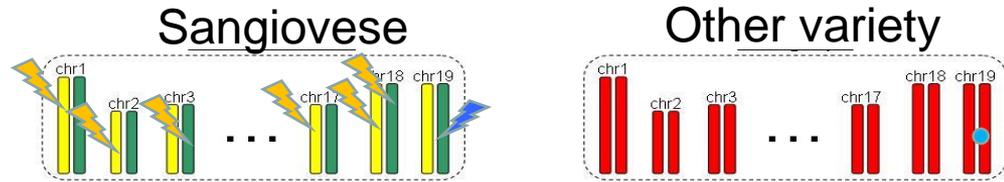
- Il miglioramento genetico tradizionale è efficace ma lento
  - Produce varietà completamente nuove
  - Queste potrebbero soppiantare le varietà tradizionali
- Le nuove biotecnologie potrebbero preservare le varietà tradizionali
  - Cisgenesi: geni di resistenza (guadagno di funzione)
  - Genome editing: geni di suscettibilità (perdita di funzione)
- Abbiamo bisogno dell'innovazione per preservare la tradizione!

# GENOME EDITING VS. MUTAZIONI INDOTTE O SPONTANEE

genome editing **NBT**

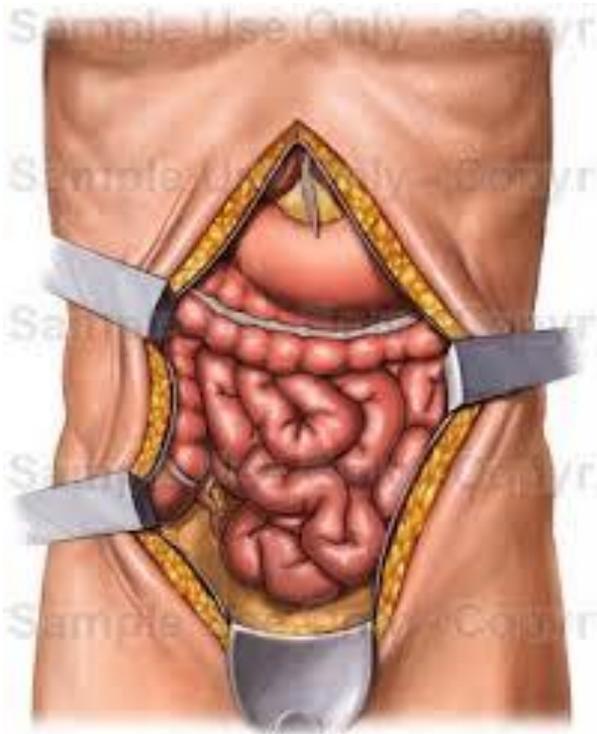


mutagenesis



# I PROCESSI A CONFRONTO: LA SCELTA E' OVVIA

- Incrocio e selezione, mutagenesi indotta: efficace ma poco preciso
- Ingegneria genetica: efficace, precisa e poco invasiva



# IL MIGLIORAMENTO GENETICO OGGI E DOMANI

- E' possibile identificare i geni responsabili per i diversi caratteri di interesse agronomico
  - Lo sviluppo tecnologico e scientifico stanno accelerando il processo: necessità di investimenti e di ricerca
- Marker assisted breeding
  - Sfrutta la variabilità esistente
  - Singoli marcatori per singoli geni: marker assisted selection
  - Marcatori multipli per un fenotipo complesso: genomic selection
- Modificazioni mirate dei geni
  - Crea nuova variabilità
  - Mutagenesi in planta mirata a produrre le mutazioni desiderate: genome editing
  - Approccio cisgenico
  - Approccio transgenico
- E' necessaria l'innovazione varietale
  - Le vecchie varietà sono come auto d'epoca
    - Hanno un mercato ma è di nicchia e per ricchi

# E' TUTTO TAGLIA E CUCI DEL DNA?



La questione normativa e la questione filosofica

# GENOME EDITING E SOCIETA'

- Situazione brevettuale
  - Scontro a due
- Adozione di un modello di scienza aperta
  - Dare accesso a tutti ai benefici per evitare tensioni e iniquità
- Coinvolgere opinione pubblica
  - Ruolo attivo degli scienziati per creare fiducia nella tecnologia
  - Comunicare in maniera semplice, chiara e trasparente
  - Ruolo delle accademie e società scientifiche