



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TORINO



Agrion
Agricoltura ricerca innovazione

Confagricoltura
Cuneo

TECNICHE DI EVOLUZIONE ASSISTITA PER IL MIGLIORAMENTO GENETICO DELLE PIANTE AGRARIE



*Gene editing: tecnica innovativa per il
miglioramento genetico delle piante agrarie*

Sergio Lanteri
DISAFA -UNITO

L'uomo nel corso dei millenni ha selezionato piante geneticamente nuove completamente diverse rispetto ai progenitori selvatici

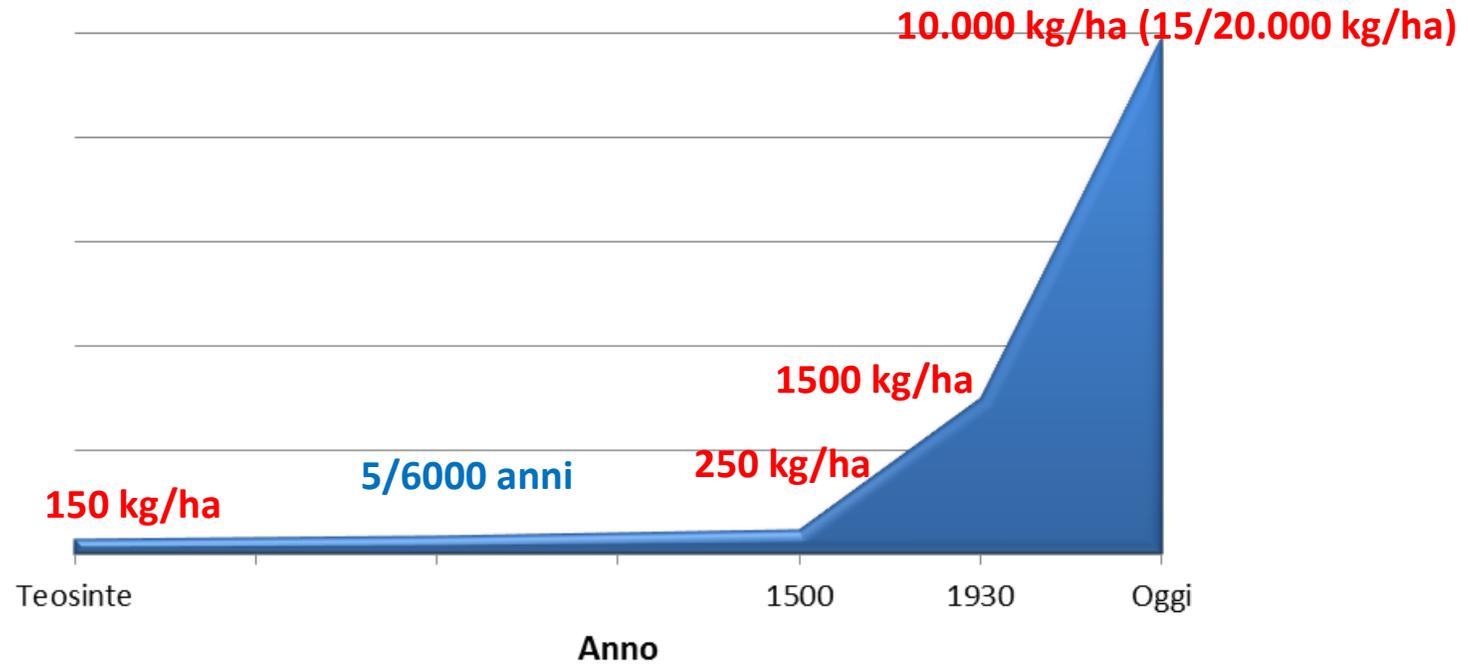
- aumentando la dimensione della parte commestibile
- eliminando composti tossici
- eliminando la dispersione dei semi
- modificando la struttura della pianta

Per migliaia di anni lo strumento a disposizione per migliorare geneticamente le piante è rimasto sempre lo stesso



Corn and its ancestor, teosinte

Evoluzione produzione mais



Una rivoluzione agricola si verifica agli inizi del 1900 con la riscoperta del lavoro di Mendel (sperimentazione 1857-1865)

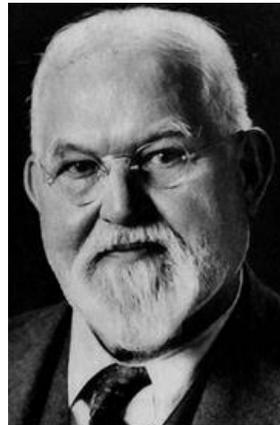
..... nasce una nuova scienza: **LA GENETICA**



Una delle prime e più importanti applicazioni delle leggi di Mendel è la creazione del mais ibrido F1



Nel 1908 Georg H. Shull ottiene un mais ibrido F1



George Harrison Shull

ETEROSI



P1

P2

F1

Rivoluzione Verde

Nella seconda metà del '900 la resa delle colture aumenta vertiginosamente (frumento, mais e riso - “pilastri” dell’ alimentazione)

Norman Borlaug (1914-2009)



Premio Nobel per la pace nel 1970.

Principi della Rivoluzione verde

- Ottenimento di piante a taglia ridotta
- Maggiore capacità della pianta di rispondere a concimazioni (azotate)
- Resistenza a patogeni (ruggine)
- Insensibilità della pianta al fotoperiodo

Anni '70: enormi progressi nel campo della biologia molecolare

Alla 'Rivoluzione verde' si aggiungono altre 2 rivoluzioni:

1. Lo sviluppo di tecniche di sequenziamento del DNA

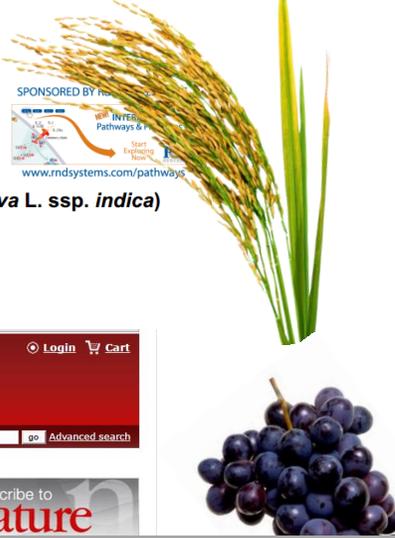
2. Lo sviluppo di tecniche di 'manipolazione genetica'

Piante gm (OGM)





A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*)
 Jun Yu *et al.*
Science **296**, 79 (2002);
 DOI: 10.1126/science.1068037



SPONSORED BY
 IN REE
 Pathways G
 Start
 Experiment
 Now!
www.rndsystems.com/pathways

nature International weekly journal of science

Journal home > Archive > Letter > Full Text

Journal content Letter

• Journal home

Nature **449**, 463-467 (27 September 2007) | doi:10.1038/nature06148; Received 5 April 2007; Accepted 7 August 2007; Published online 26 August 2007

subscribe to **nature**

www.nature.com/scientificreports

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN The genome sequence of the outbreeding globe artichoke constructed *de novo* incorporating a phase-aware low-pass sequencing strategy of F₁ progeny

Received: 20 August 2015
 Accepted: 11 December 2015
 Published: 20 January 2016

David Scaglione^{1,2,3}, Sebastian Reyes-Chin-Wo², Alberto Acquadro¹, Lutz Froenicke², Ezio Portis², Christopher Beite², Matteo Tirone², Rosario Mauro¹, Antonino Lo Monaco², Giovanni Maurolicale², Primita Faccioli², Luigi Cattivelli², Loren Rieseberg², Richard Michelmore^{2,3} & Sergio Lanteri^{1*}

Attualmente centinaia di genomi pubblicati

potato

The Potato Genome Sequencing Consortium

Affiliations | Contributions | Corresponding authors

Nature **475**, 189-195 (14 July 2011) | doi:10.1038/nature10158
 Received 11 January 2011 | Accepted 03 May 2011 | Published online 10 July 2011

nature.com scientificreports

Submit your manuscript today.



OPEN A chromosome-anchored eggplant genome sequence reveals key events in Solanaceae evolution

Received: 12 November 2018
 Accepted: 5 July 2019
 Published online: 13 August 2019

Lorenzo Barchi¹, Marco Pietrella^{2,3}, Luca Venturini^{4,5}, Andrea Minio⁶, Laura Toppino⁴, Alberto Acquadro², Giuseppe Andolfo², Giuseppe Aprea², Carla Avanzato¹, Laura Bassolino⁴, Cinzia Comino¹, Alessandra Dal Molin², Alberto Ferrarini², Louise Chappell Maor⁴, Ezio Portis¹, Sebastian Reyes-Chin-Wo², Riccardo Rinaldi², Tea Sala¹, Davide Scaglione^{1,9}, Prashant Sonawane⁸, Paola Tononi², Efraim Almekias-Siegl¹⁰, Elisa Zago², Maria Raffaella Ercolano⁷, Asaph Aharoni⁸, Massimo DelleDonne¹⁰, Giovanni Giuliano², Sergio Lanteri¹ & Giuseppe Leonardo Rotino⁴

nature International weekly journal of science

Home | News & Comment | Research | Careers & Jobs | Current Issue | Archive | Audio & Video | For Authors

Archive > Volume 485 > Issue 7400 > Letters > Article

NATURE | LETTER | **OPEN**

日本語要約

The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution

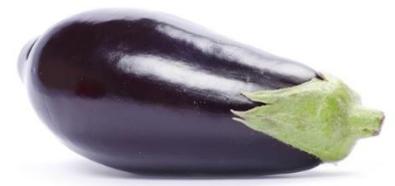
The Tomato Genome Consortium

Affiliations | Contributions | Corresponding authors

Nature **485**, 635-641 (31 May 2012) | doi:10.1038/nature11119
 Received 17 August 2011 | Accepted 03 April 2012 | Published online 30 May 2012

NOW ACCEPTING SUBMISSIONS
 npj Biofilms and Microbiomes
 Editor-in-Chief | Professor Staffan Normark
 Publishing the finest research on microbial biofilms and microbiomes
 Submit your next piece of research

Published in partnership with:
 NANYANG TECHNOLOGICAL UNIVERSITY
 SCELSE



Anni '70: enormi progressi nel campo della biologia molecolare

Alla 'Rivoluzione verde' si aggiungono altre 2 rivoluzioni:

1. Lo sviluppo di tecniche di sequenziamento del DNA

2. Lo sviluppo di tecniche di 'manipolazione genetica'

Piante gm (OGM)





GM CROPS

A story in numbers

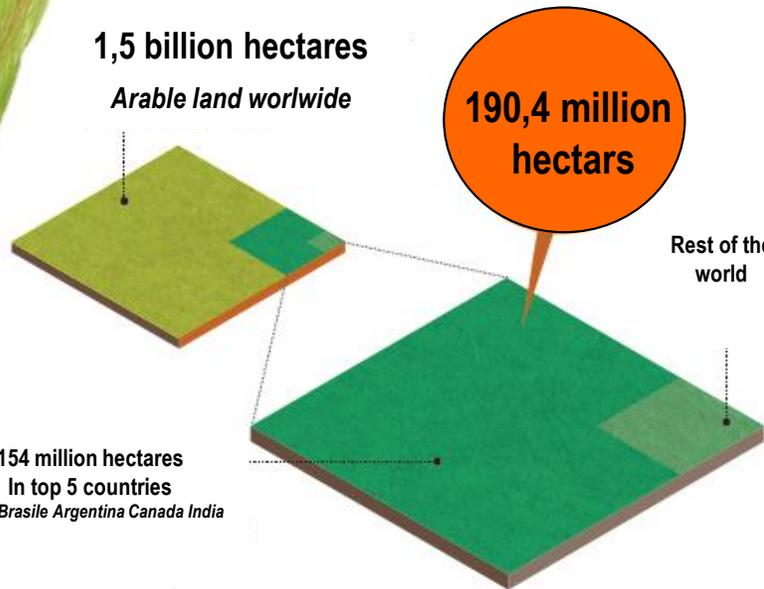
In the nearly two decades since they were first commercialized, genetically modified (GM) crops have gained ground on their conventional counterparts. The vast majority are grown in five countries. Four crops feature, with two main traits: herbicide tolerance and insect resistance.

1,5 billion hectares
Arable land worldwide

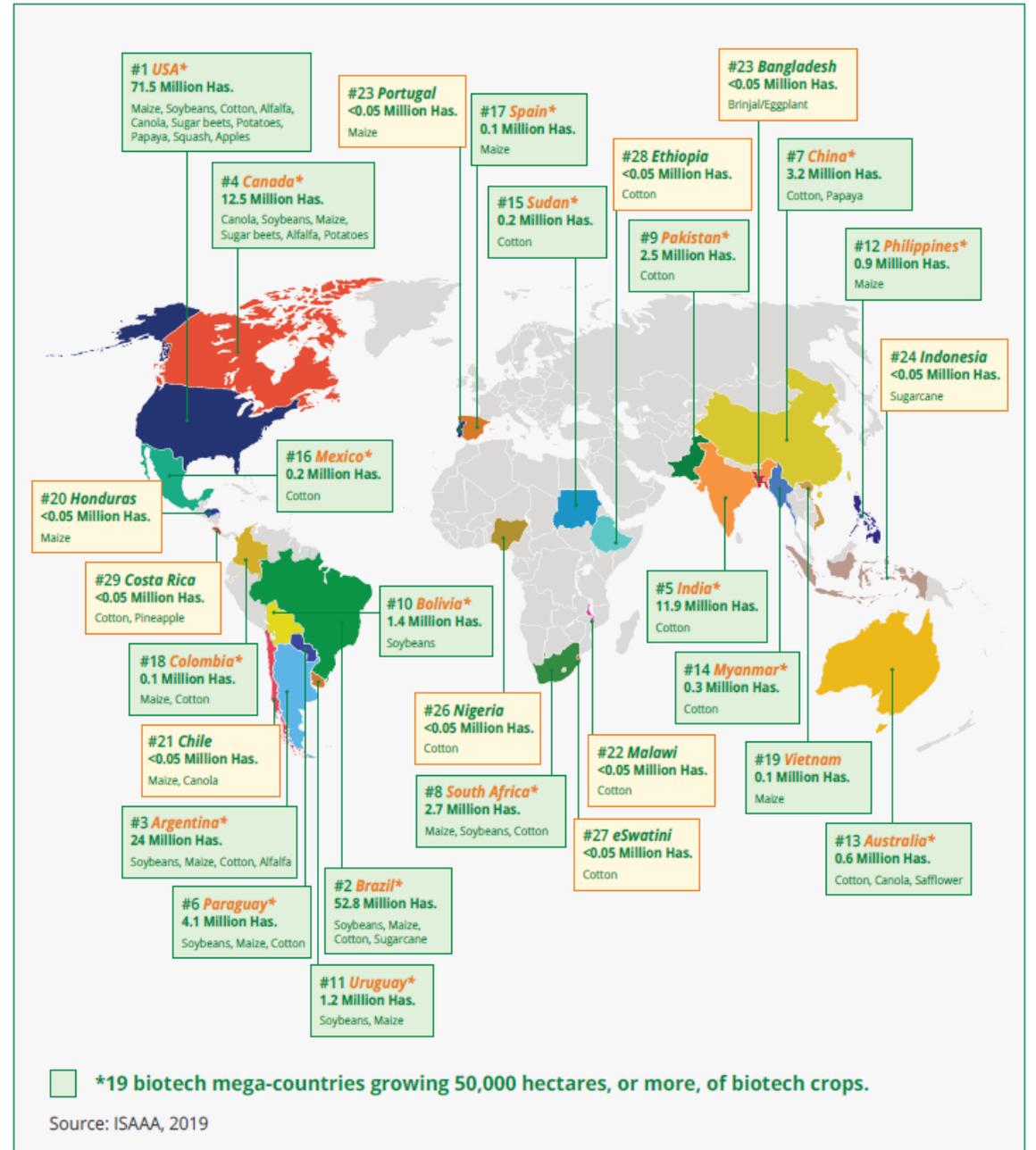
190,4 million
hectars

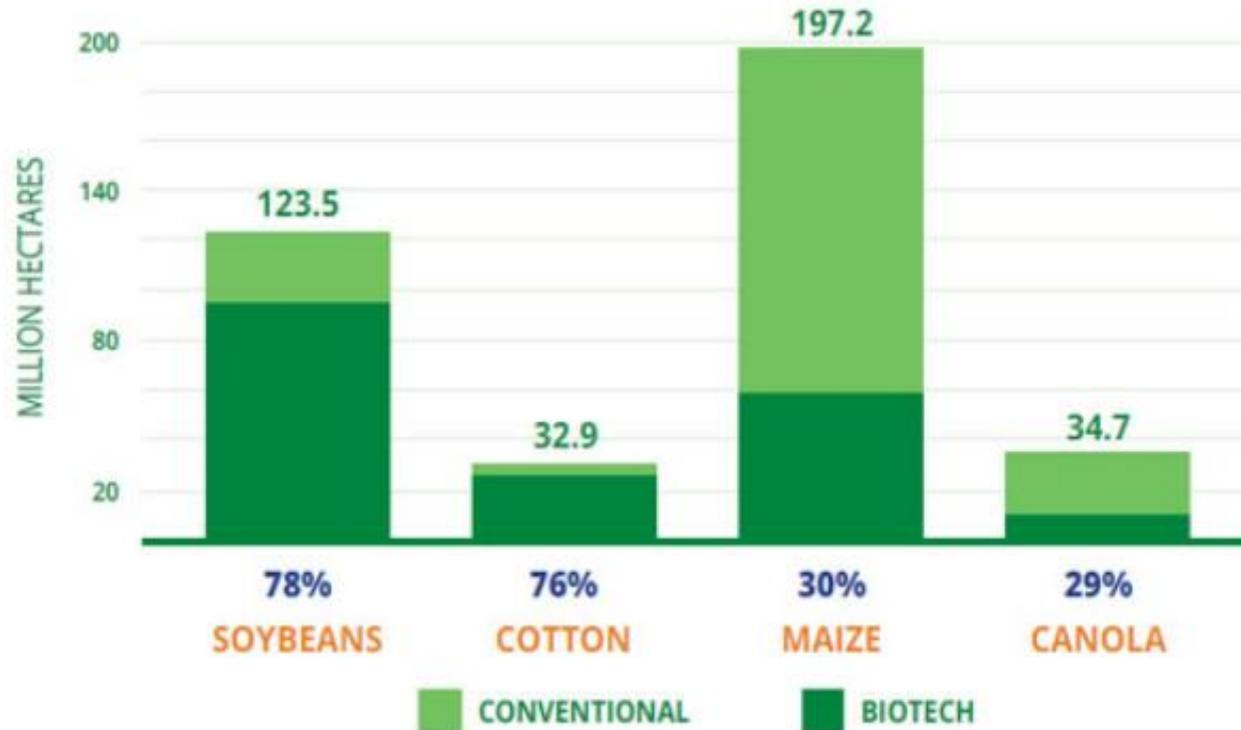
Rest of the world

154 million hectares
In top 5 countries
USA Brasile Argentina Canada India



SHUTTERSTOCK





RESISTENZA A INSETTI

RESISTENZA AD ERBICIDI

Ottenute piante g.m.

- Tolleranti a condizioni ambientali sfavorevoli
- Che forniscono un prodotto : - con migliori caratteristiche nutrizionali
- più adatto alla trasformazione industriale
- Resistenti a funghi patogeni , virus, ecc.
- Utilizzate come biofabbriche per molecole di interesse industriale e farmaceutico

La ricerca si è orientata sull'ottenimento di piante CISGENICHE

Manipolazione con geni della stessa specie
o di una specie interincrociabile

Non si possono controllare a priori il numero di copie del gene inserito

Non si può stabilire a priori dove il gene si va a inserire nel DNA della pianta g.m.

Nonostante 50 anni di tentativi non si sono ottenuti risultati analoghi con strategie di miglioramento genetico classico.

Le varietà dotate di tale gene non posseggono le stesse qualità del frutto (aroma e consistenza) delle varietà elite

Nell'ultimo decennio si è realizzata un'ulteriore **rivoluzione**

**Lo sviluppo di tecniche di editing genetico
(gene editing)**

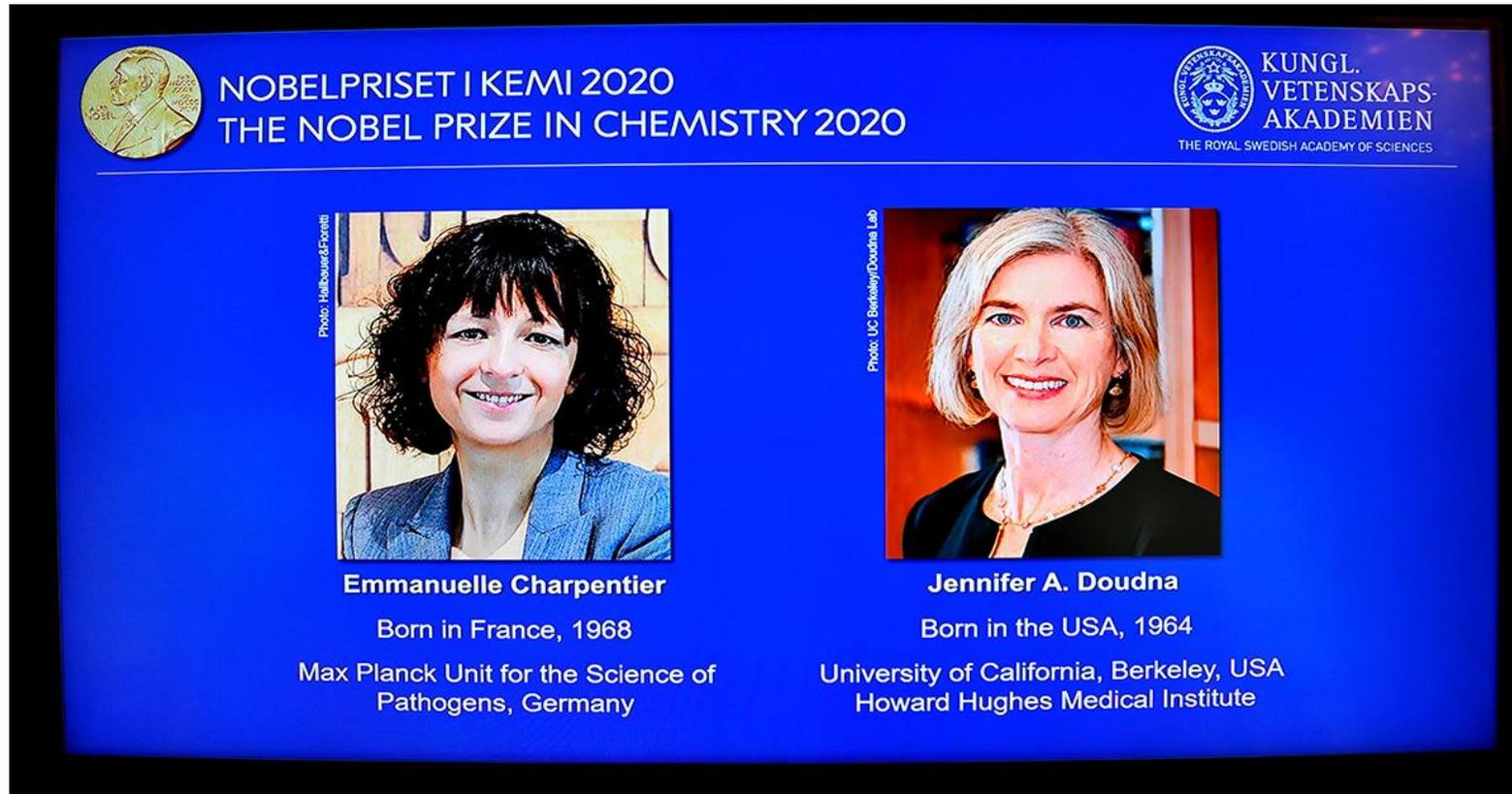
una tecnologia innovativa che consente di modificare il DNA di un organismo in un punto prestabilito e senza causare nessun'altra alterazione o modifica dell'informazione genetica complessiva della pianta



Tra le diverse tecniche disponibili la più veloce, economica ed accurata si è dimostrata quella definita

CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats),
associate alla proteina Cas9 (un enzima in grado di tagliare il DNA)

La sua messa a punto è valsa nel 2020 il premio Nobel per la chimica alle due ricercatrici:
Emmanuelle Charpentier e Jennifer A. Doudna



The image is a blue banner for the Nobel Prize in Chemistry 2020. At the top left is a gold Nobel medal. To its right, the text reads "NOBELPRISET I KEMI 2020" and "THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY 2020". At the top right is the logo of the Royal Swedish Academy of Sciences, with the text "KUNGL. VETENSKAPS-AKADEMIEN" and "THE ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES". Below the text are two portraits. The left portrait is of Emmanuelle Charpentier, with a vertical photo credit "Photo: Holtbeuser/Farelli" on the left. Below her name, it says "Born in France, 1968" and "Max Planck Unit for the Science of Pathogens, Germany". The right portrait is of Jennifer A. Doudna, with a vertical photo credit "Photo: UC Berkeley/Doudna Lab" on the left. Below her name, it says "Born in the USA, 1964" and "University of California, Berkeley, USA" and "Howard Hughes Medical Institute".

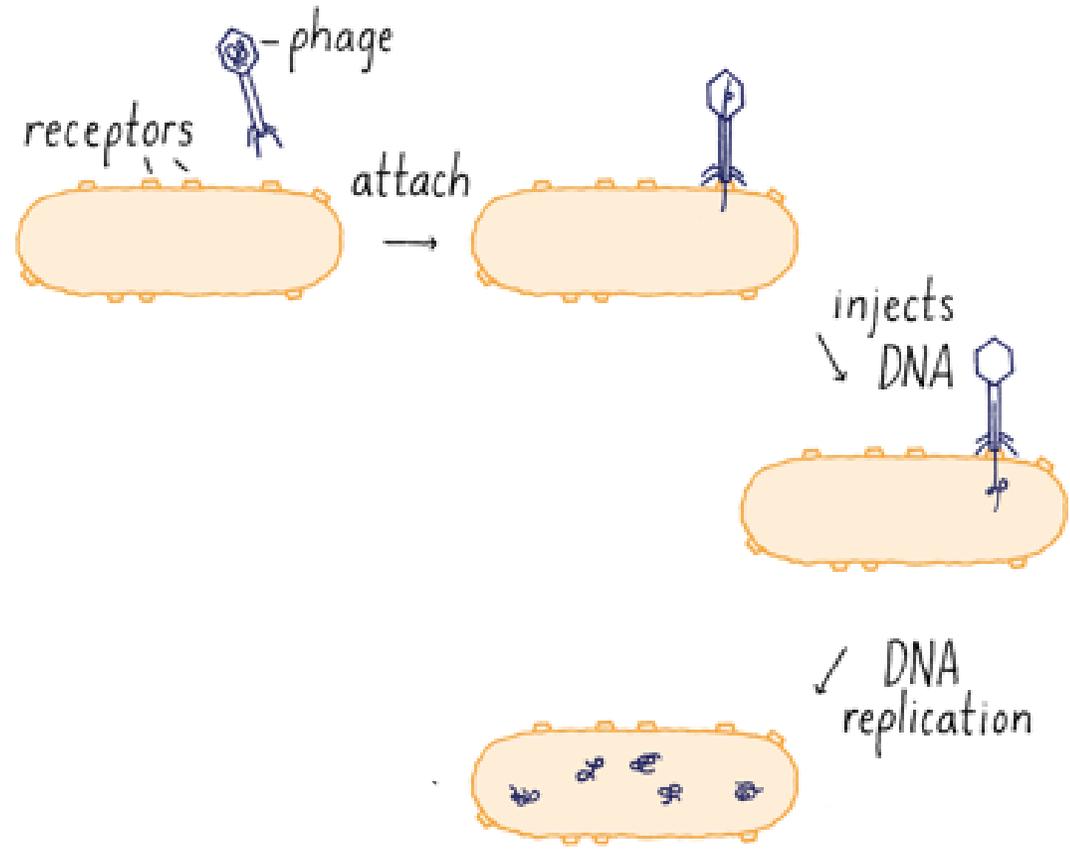
 NOBELPRISET I KEMI 2020
THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY 2020

 KUNGL.
VETENSKAPS-
AKADEMIEN
THE ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES

 Photo: Holtbeuser/Farelli
Emmanuelle Charpentier
Born in France, 1968
Max Planck Unit for the Science of Pathogens, Germany

 Photo: UC Berkeley/Doudna Lab
Jennifer A. Doudna
Born in the USA, 1964
University of California, Berkeley, USA
Howard Hughes Medical Institute

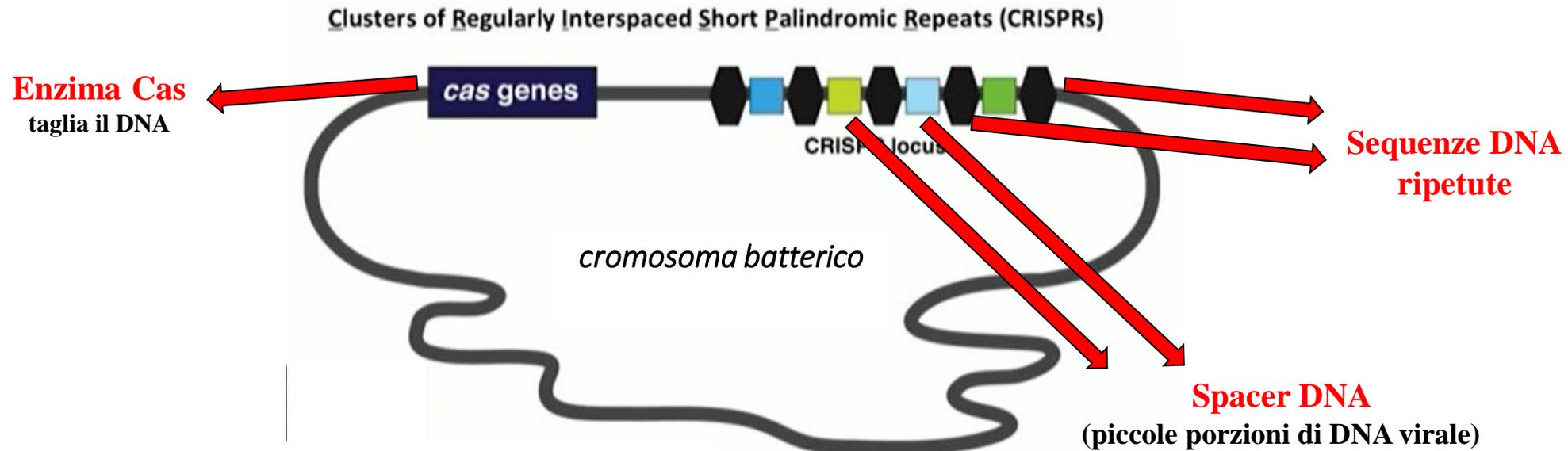
La tecnologia **CRISPR-Cas9** sfrutta un sistema naturale di difesa dei batteri nei confronti delle infezioni da parte di virus (batteriofagi) identificato nel 2012.



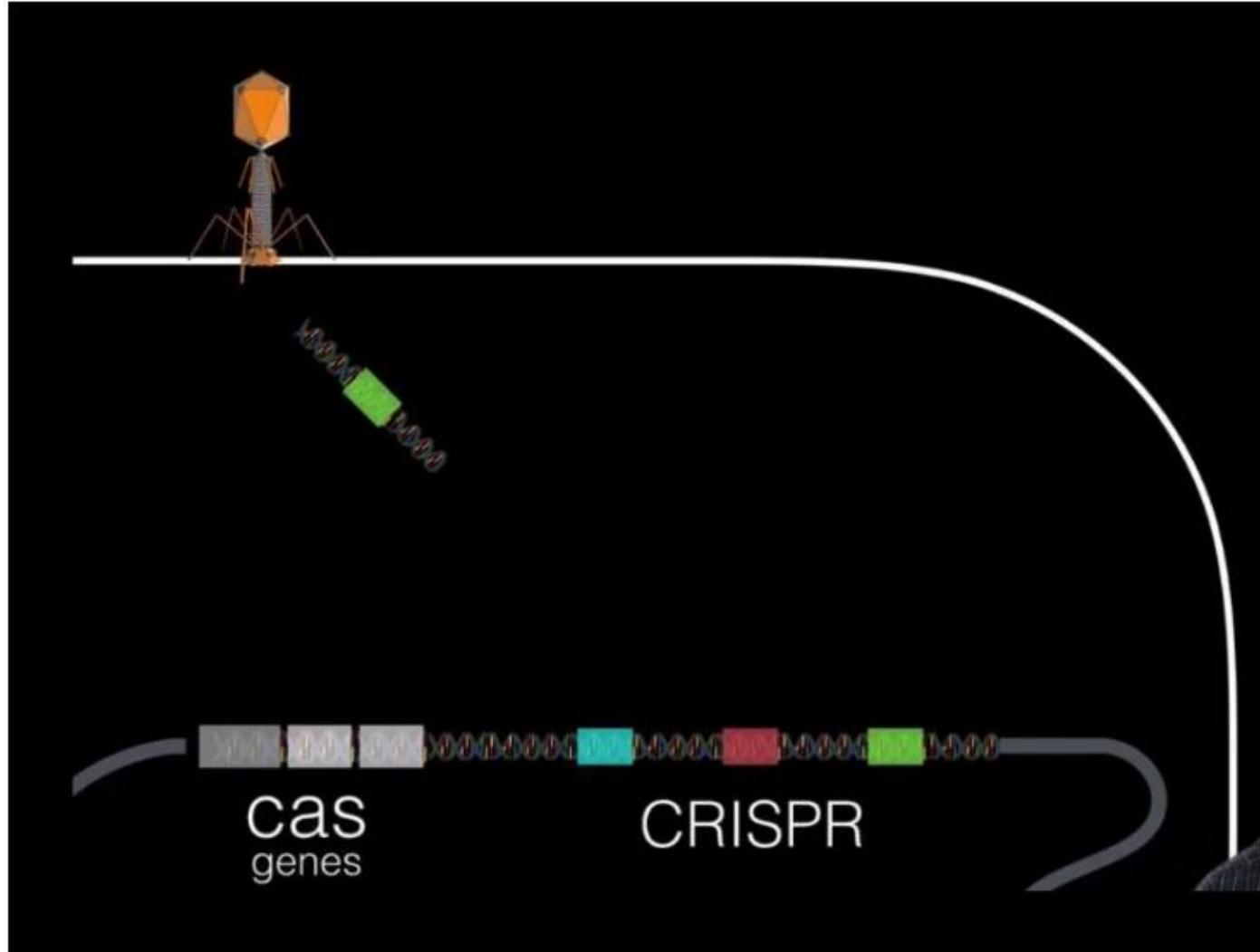
CRISPR-Cas9

Nel DNA di un batterio (*Streptococcus pyogenes*) è presente una regione costituita da un insieme (array) di **sequenze di DNA ripetute** - Clustered Regularly Interspaced (nero) tutte uguali che si alternano a **sequenze di DNA diverse tra loro** - Spacer DNA (colorate)

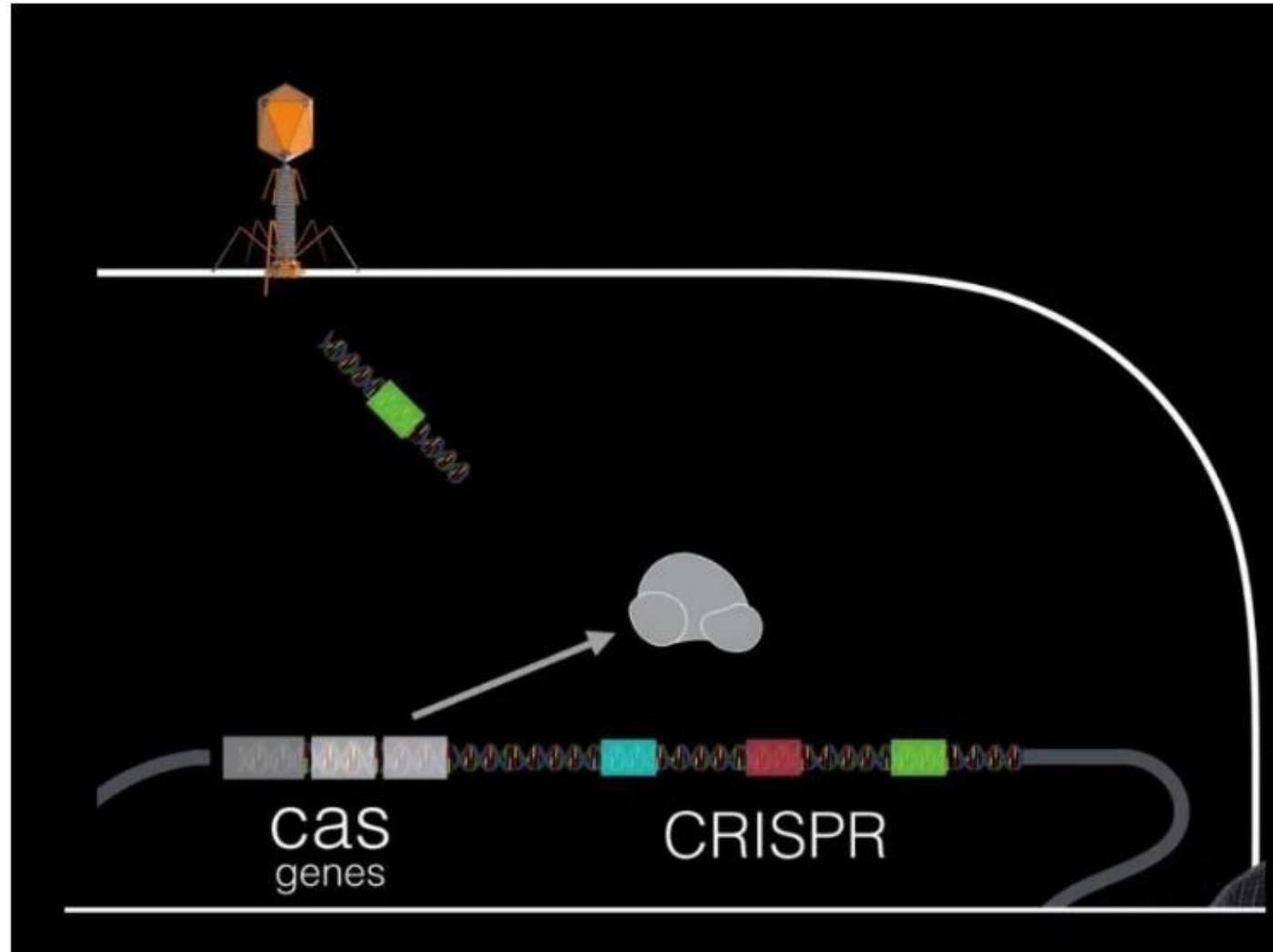
Analisi delle sequenza hanno evidenziato che le sequenze diverse del DNA corrispondono a porzioni di sequenza del genoma di virus



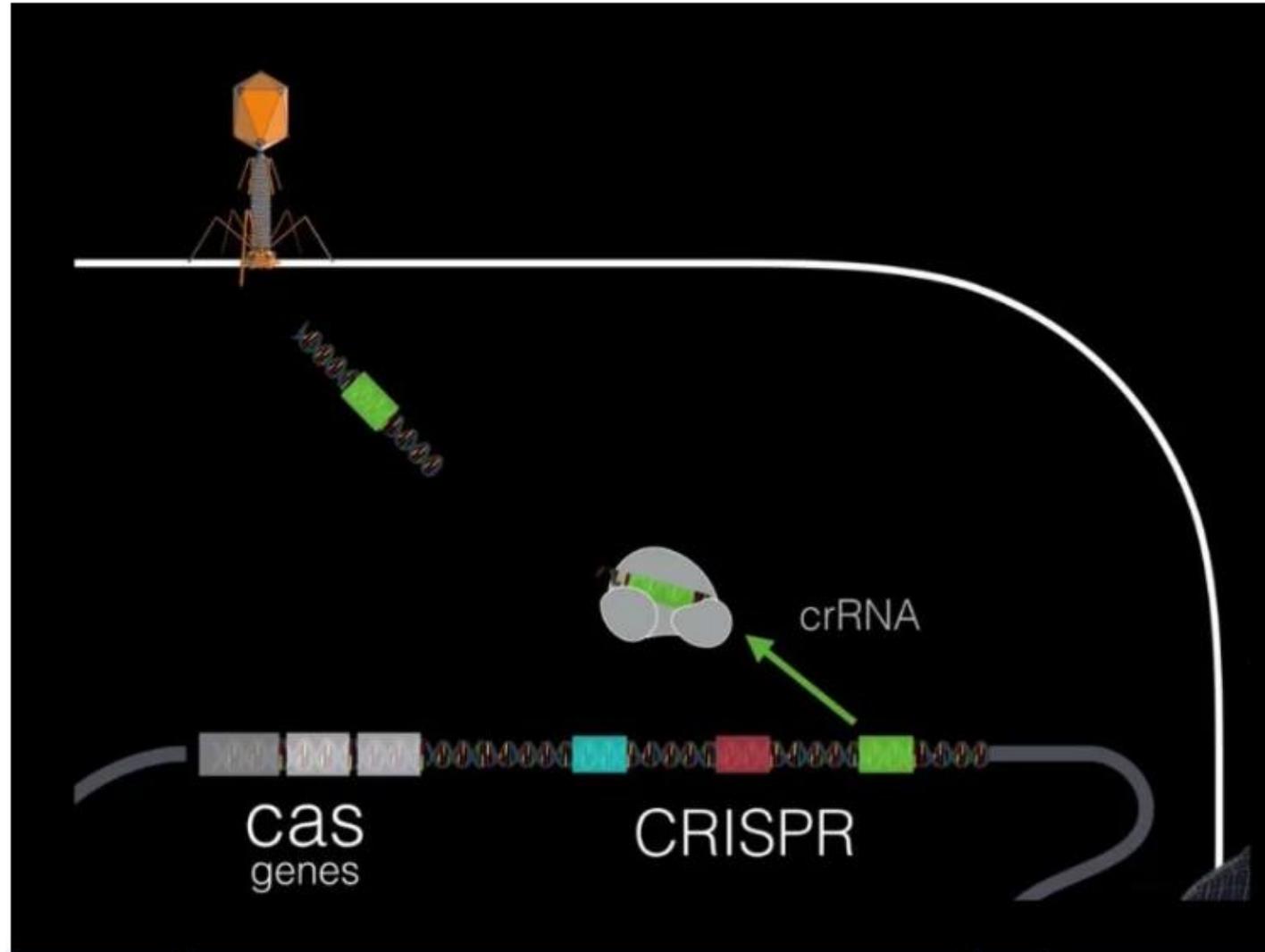
1 . Il virus inietta il proprio DNA



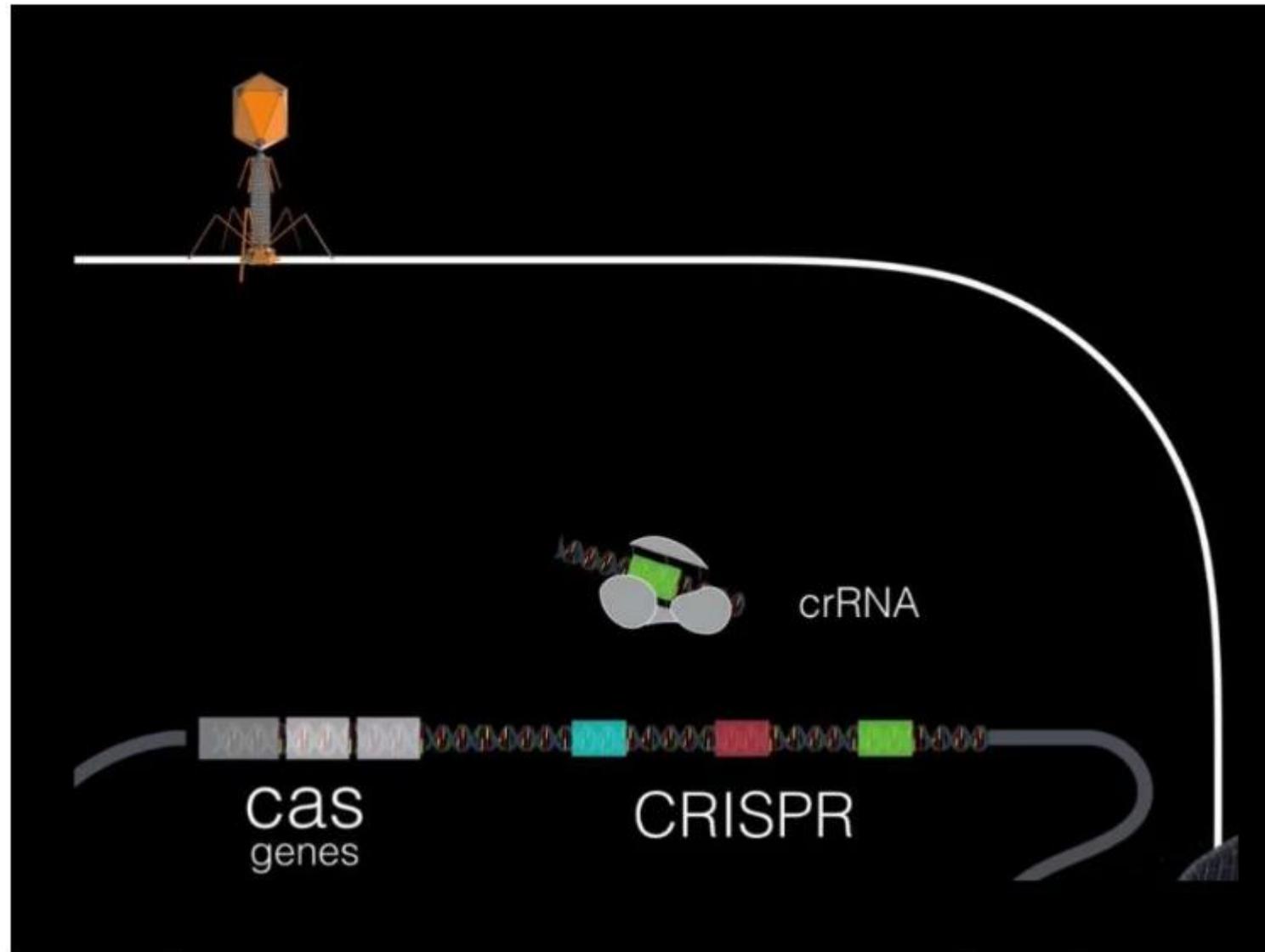
2. Si attivano geni (operone) che producono l'enzima Cas9



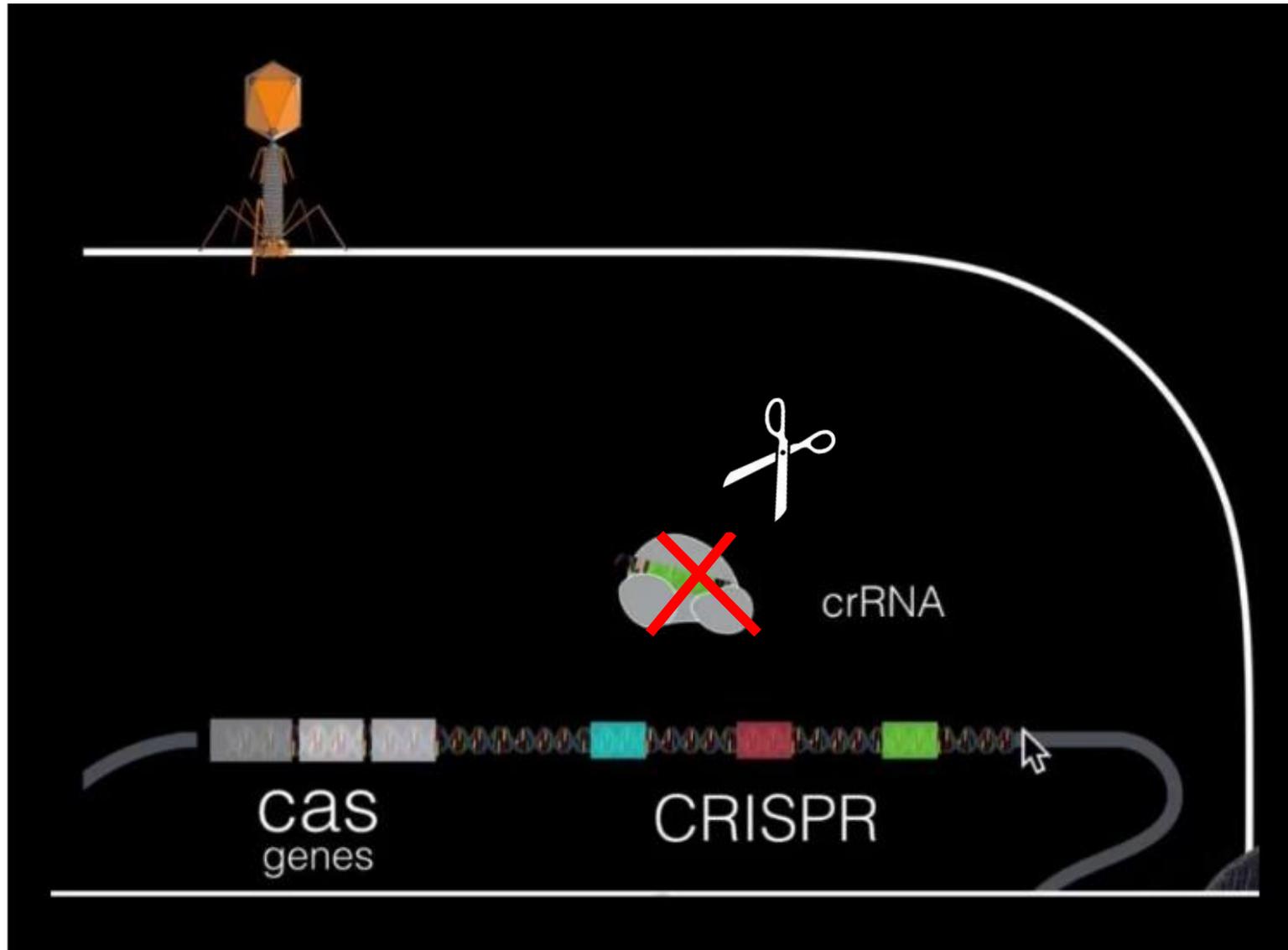
3. Viene copiato in RNA lo Spacer DNA che corrisponde alla porzione del DNA del virus integrato nella regione CRISPR (crRNA = Crisper RNA) che si lega al complesso delle proteine Cas



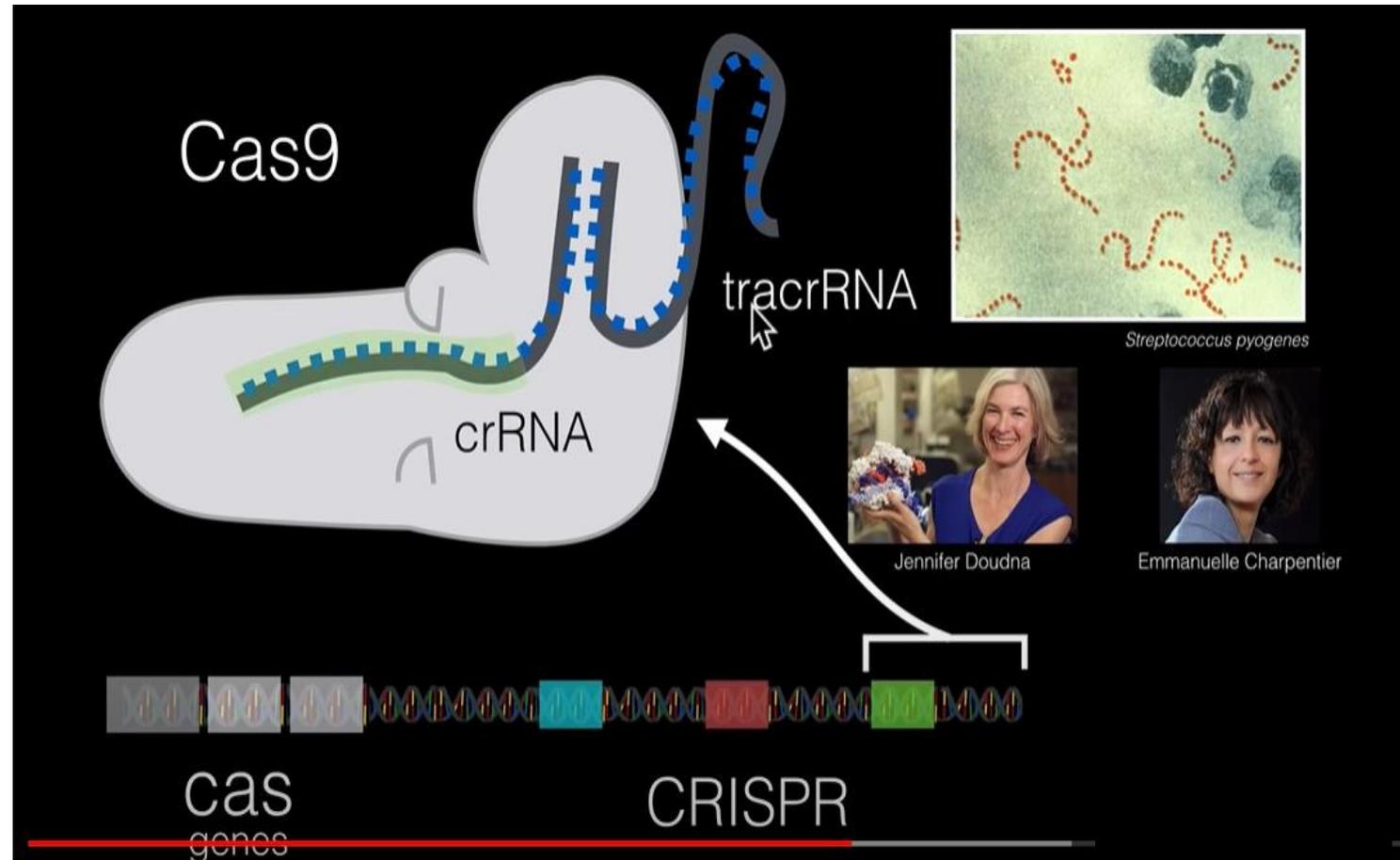
4. Il crRNA riconosce il DNA del virus



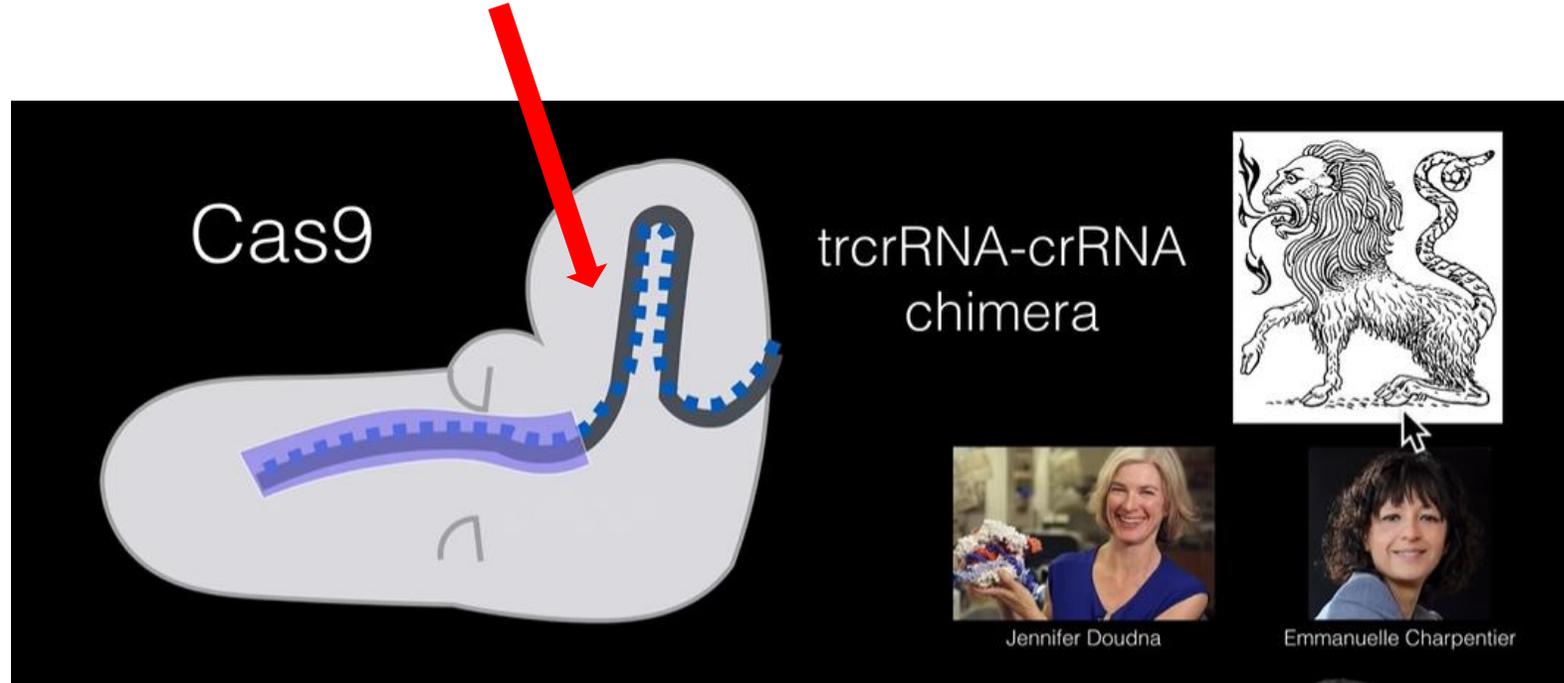
5. la proteina Cas 9 taglia il DNA del virus degradandolo



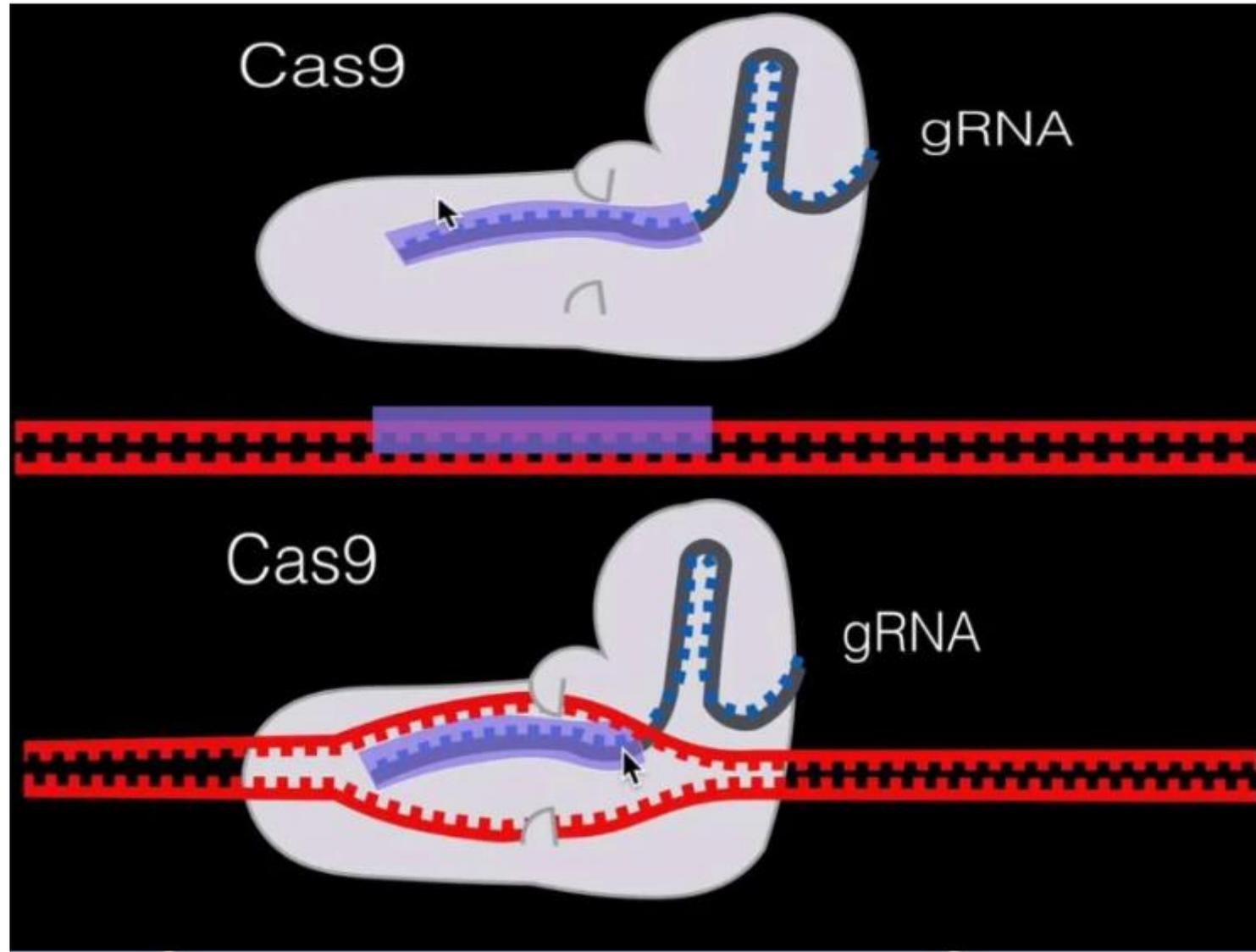
Charpentier e Doudna hanno identificato in *Streptococcus pyogenes* oltre al **crRNA** anche un secondo tipo di RNA: il **tracrRNA** (RNA tracer) che contribuisce al trasferimento del crRNA (Crisper RNA) e della Cas



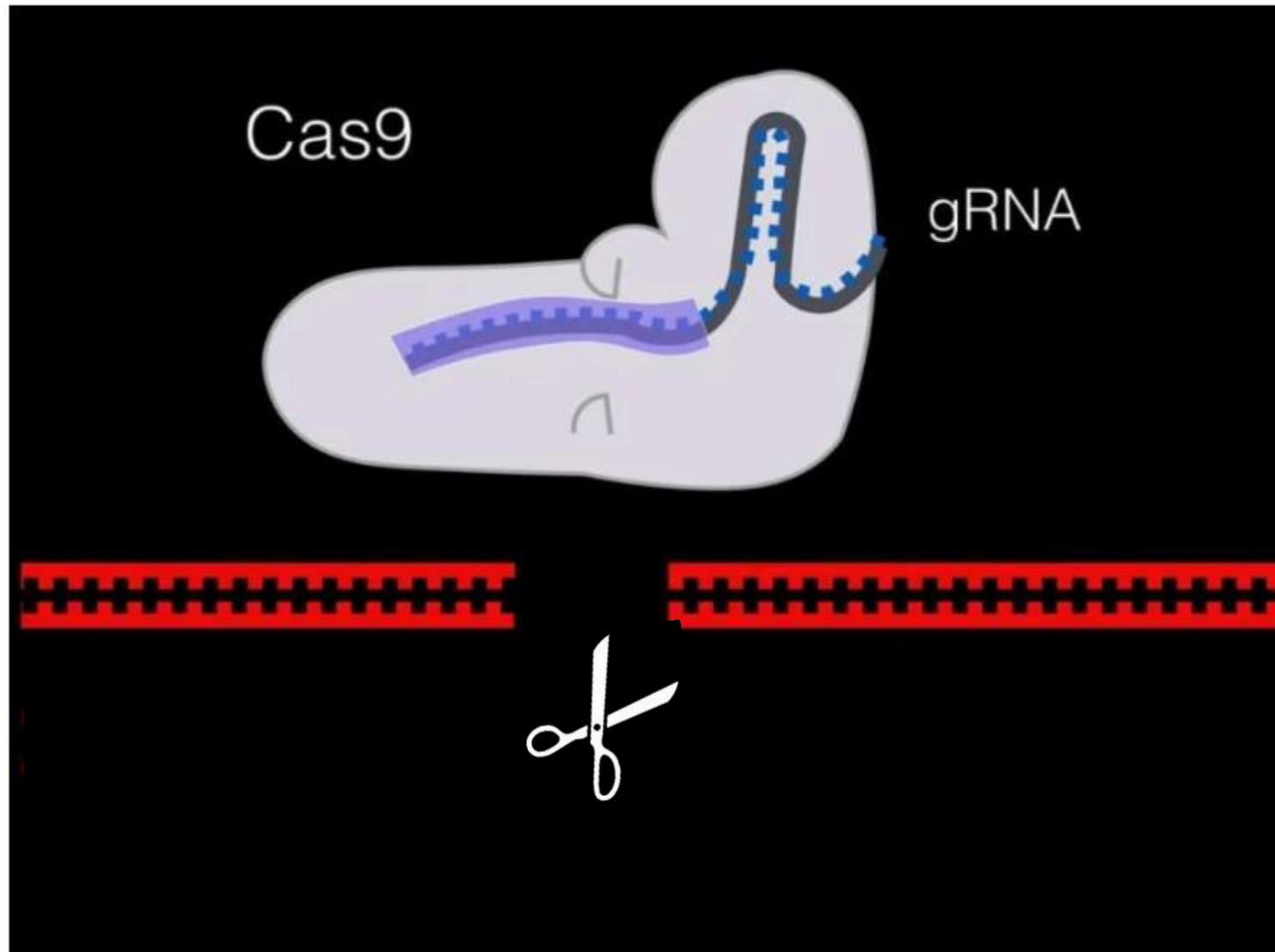
Charpentier e Doudna hanno creato una chimera, cioè fuso insieme il crDNA e il tracrRNA, chiamata: **RNA guida (guideRNA)** e legato alla Cas 9



Costruendo in laboratorio un RNA guida con una sequenza complementare a quella di una qualsiasi sequenza del DNA target, l'RNA guida è in grado di riconoscere la sequenza target ed indirizzare l'enzima Cas 9 ad effettuarne il taglio

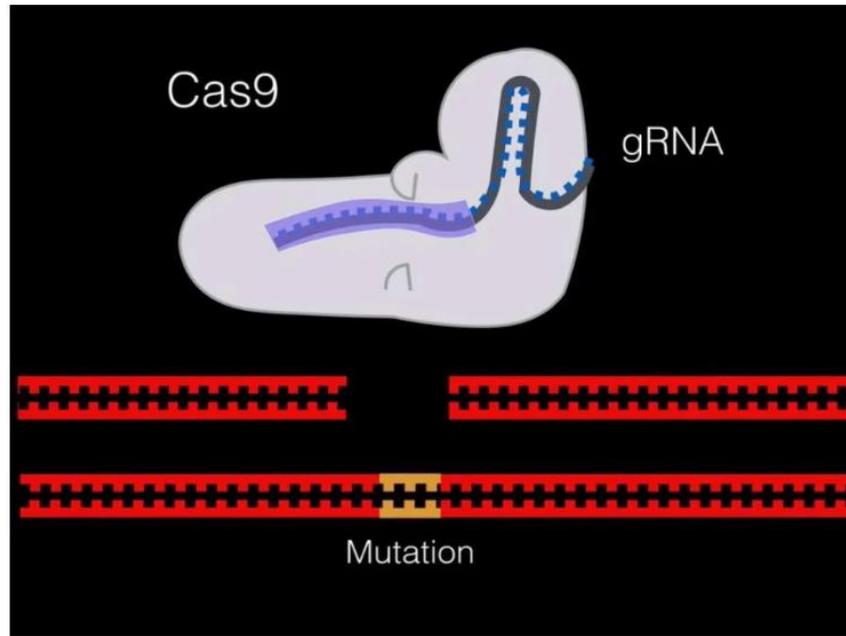


Una sequenza del gRNA riconosce la sequenza bersaglio e la doppia elica del DNA si apre



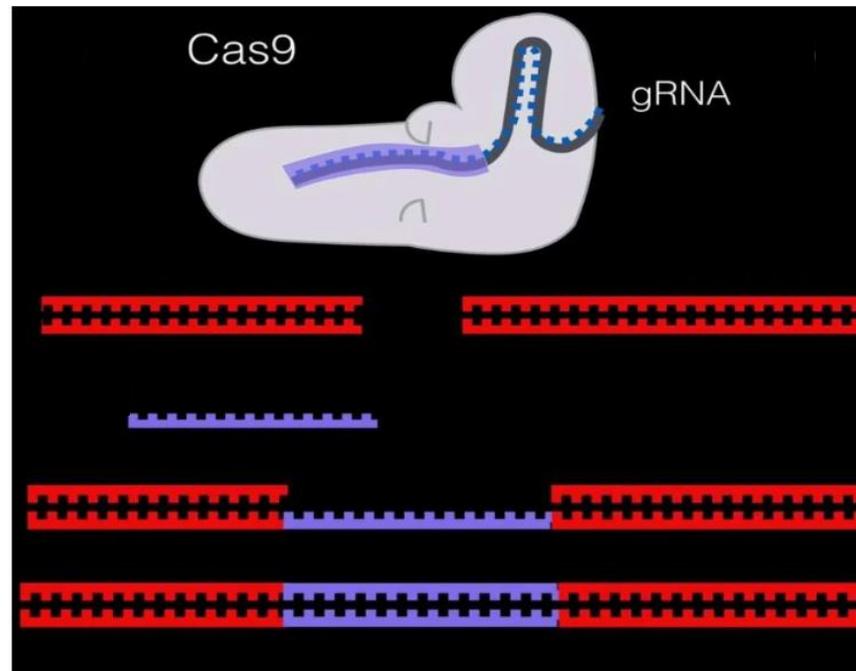
L' enzima Cas 9 effettua un taglio in corrispondenza della sequenza riconosciuta

1



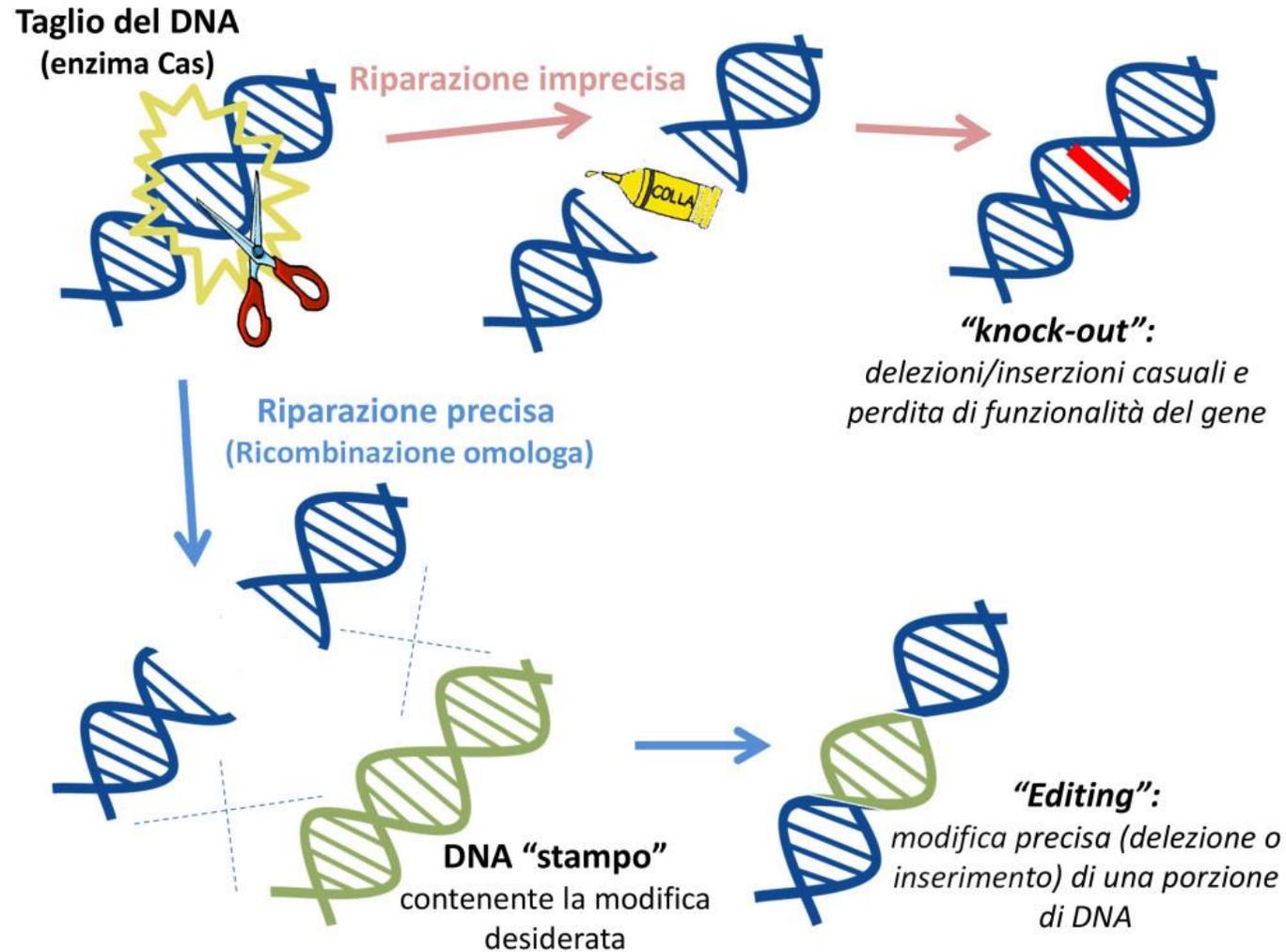
Meccanismi di riparo
della cellula compiono
errori e il gene è
disattivato

2



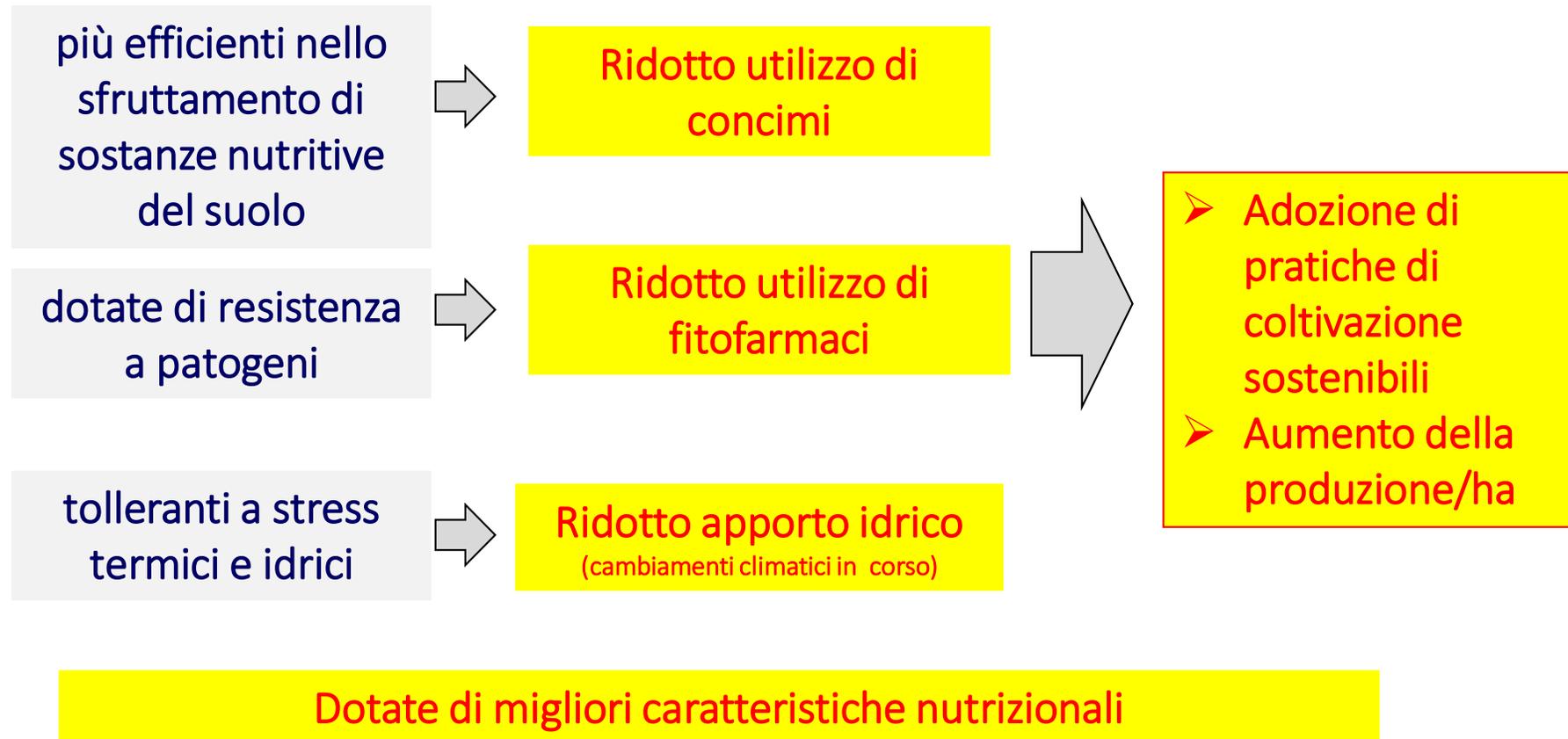
Inserimento di un
nuovo gene o sua
modifica

Sistema CRISPR-Cas ingegnerizzato



La disponibilità di approcci innovativi di biologia molecolare e la possibilità di intervenire in modo mirato su uno o più geni

ha consentito e consentirà di sviluppare varietà di specie agrarie :



Grazie per l'attenzione



FONDAZIONE CRC