

Il *genome editing* nel rinnovamento varietale

Edgardo Filippone

Università degli Studi
di Napoli Federico II



Società Italiana
di Genetica Agraria



L'Agricoltura è iniziata circa diecimila anni
fa con la domesticazione delle piante





Le piante coltivate sono il risultato di migliaia di anni di selezione e modificazione genetica da parte dell'Uomo, ancora oggi in atto.

Maggiore produzione

Migliore qualità

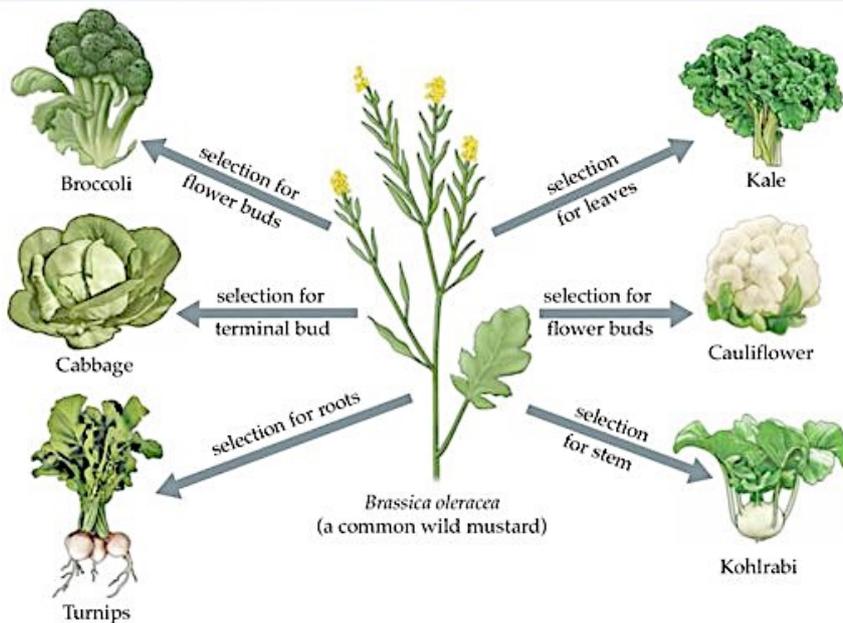
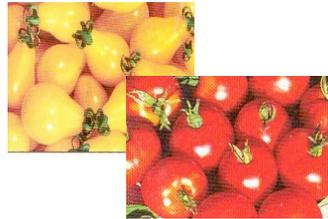
Maggiore resistenza



Teosinte



Mais moderno



Da un cavolo...
...tanti cavoli!



1865

La genetica nasce
“ufficiosamente”

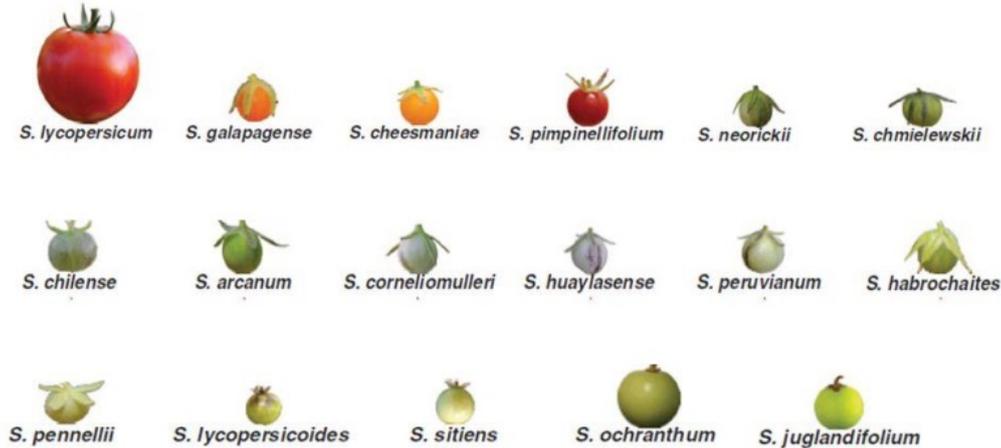
Gregor MENDEL presenta i
risultati dei suoi esperimenti
sull'ibridazione delle piante alla
SOCIETÀ dei Naturalisti di BRNO.

Le leggi di Mendel
si basano sulla
variabilità
genetica presente
nelle popolazioni
naturali



Varianti Genetiche Naturali

Specie Selvatiche di pomodoro



Miglioramento genetico delle piante agrarie



Sfruttando la variabilità genetica esistente nelle specie selvatiche, tramite l'incrocio l'uomo ha modificato geneticamente le piante coltivate



Specie selvatica

×

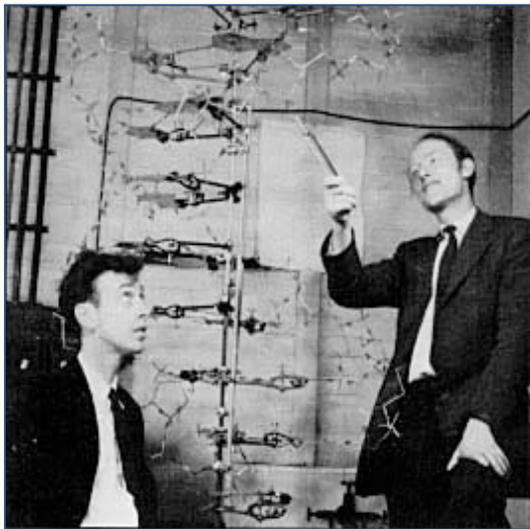
Varietà commerciale

=

Nuova varietà



LA RIVOLUZIONE della DOPPIA ELICA



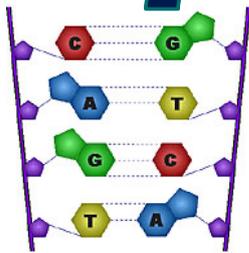
Watson & Crick

1952/53: il modello a
doppia elica del DNA



Rosalind Franklin

Il GENOMA è il **MATERIALE GENETICO (DNA)**
di una cellula, di un organismo, di una specie



Genotipo

La *complessità* dello studio del Genoma è nel numero of paia di basi (bp) di un organismo

- 1 Mbp = 1 milione bp
- Uomo = 3.000 Mb
- Vite = 500 Mb
- Grano = 14.000 Mb

Caratteri (Fenotipo)



Varianti Genetiche

...C C	A	T T G A C...	Variante 1
...G G	T	A A C T G...	
...C C	G	T T G A C...	Variante 2
...G G	C	A A C T G...	



C	G	R	G	C	G	C	A	N	T	T	C
C	G	G	A	C	C	G	C	A	T	T	N
C	G	G	A	C	C	G	C	A	T	T	N
C	C	G	A	C	C	G	C	N	T	T	C
C	C	G	A	C	C	G	C	C	T	T	T
C	G	R	G	C	C	G	C	A	T	T	C
C	G	R	G	C	C	G	C	A	T	T	C
C	G	R	G	C	C	G	C	A	T	T	C
C	C	R	G	C	C	C	C	A	T	T	C
C	G	R	G	C	C	G	C	C	T	T	G
C	G	R	G	C	C	G	C	C	T	T	G
C	G	R	G	C	C	G	C	C	T	T	G
C	C	G	A	T	T	C	C	A	T	T	C
C	C	G	A	C	C	G	C	A	T	T	C
C	C	G	G	C	C	G	C	A	T	T	C
C	C	G	G	C	C	G	C	A	T	T	C

Gli strumenti a disposizione dei genetisti



Come aumentare la variabilità genetica

Incrocio:

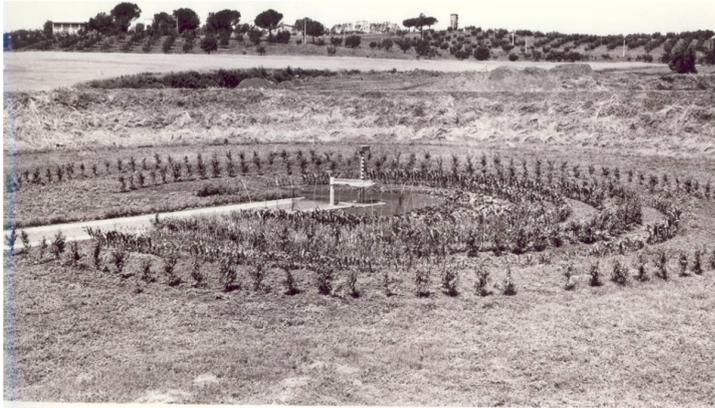
- tra specie compatibili
- tra specie incompatibili ma dove sia possibile ottenere una progenie con la coltura *in vitro* degli embrioni ibridi

Modifica del DNA:

- casuale*, con la mutagenesi sperimentale (mutagenesi fisici e chimici)
- specifici*, con il *genome editing*

Varianti Genetiche Indotte per Mutagenesi Sperimentale

❖ Radiazioni



Campo gamma alla Casaccia

❖ Mutageni chimici



Modificazioni Mirate: La Rivoluzione *Genome Editing*



- L'analisi genetica consente di identificare i geni responsabili per caratteri di interesse
- Sono disponibili metodi di *editing genetico* mirato a modificare specifiche sequenze di DNA (geni o parti di essi)



**Jennifer Doudna
e Emmanuelle
Charpentier**

2012
deposito patent

2018
registrazione patent

2020
*Premio Nobel per la
Chimica*

Come funziona la CRISPR/Cas9?

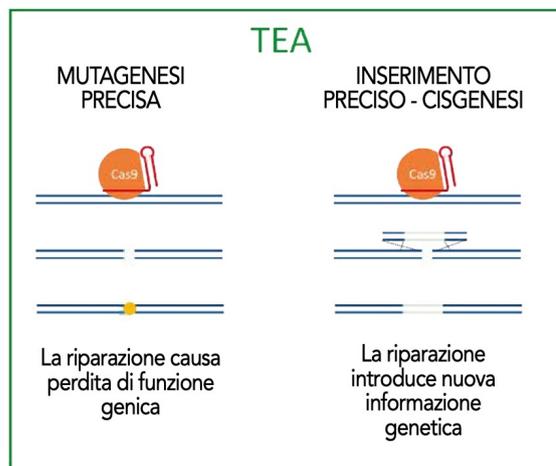


La proteina Cas9 è
una forbice
molecolare che
taglia il DNA in una
precisa posizione
individuata da una
molecola di RNA che
fa da "guida"

<https://bit.ly/2G6N89u>



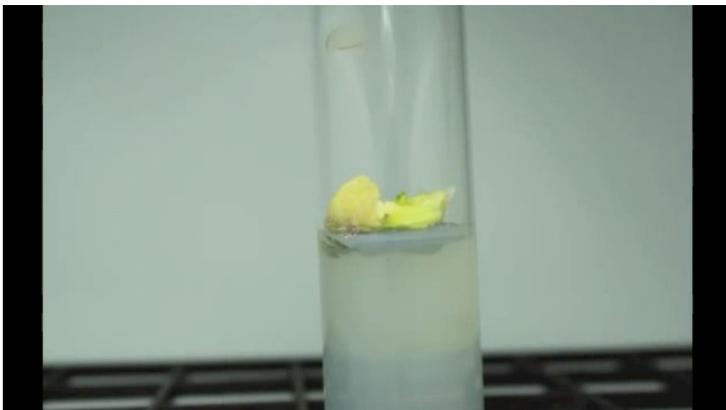
Confronto tra mutagenesi sperimentale e le Tecniche di Evoluzione Assistita



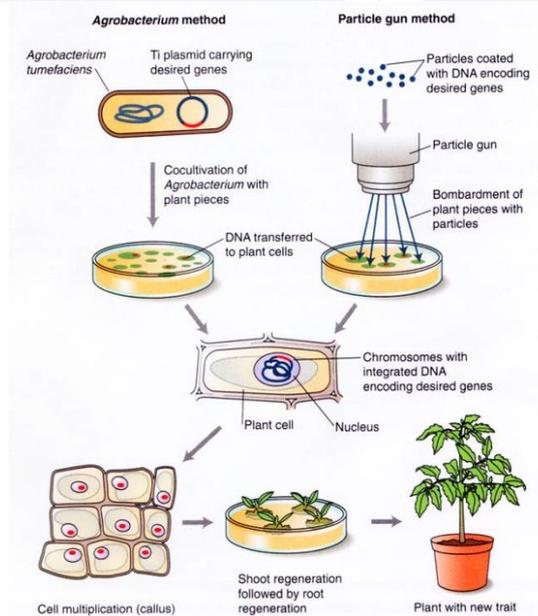
Il differenziamento *in vitro* è importante per le TEA



Il differenziamento *in vitro* da foglia di cavolo



<https://www.youtube.com/watch?v=jHt88X3rS4w>



L'Agricoltura oggi: produrre nuove varietà per un'Agricoltura *sostenibile* e di *qualità*

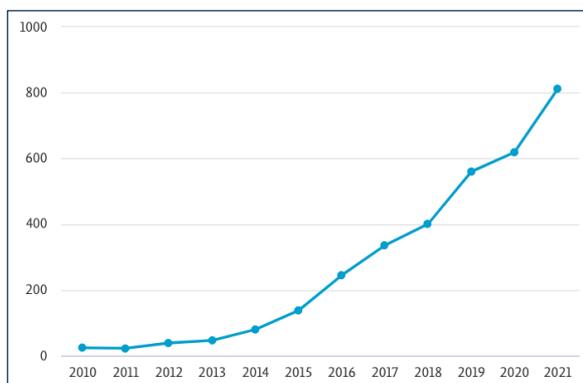
Elevato potenziale produttivo

Elevata qualità nutrizionale e di trasformazione

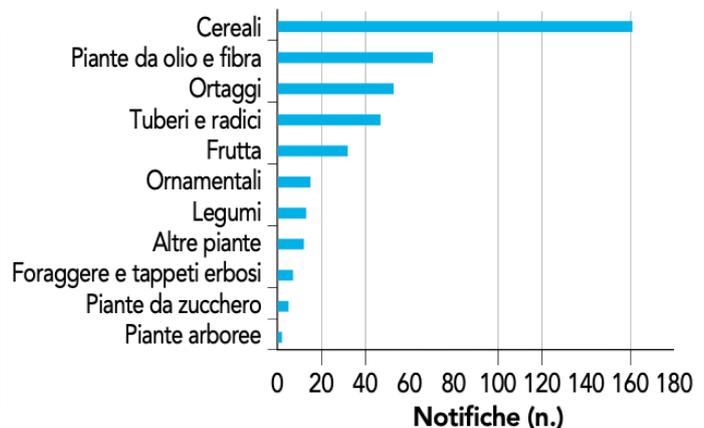
Stabilità delle produzioni → tolleranze/resistenze

Uso efficiente delle risorse → N, P, traslocazione, metabolismo

Numero di pubblicazioni sul *genome editing* in pianta dal 2010 al 2021



Notifiche di piante TEA depositate in UE a Giugno 2021
(260 da EPR, 184 da privati)



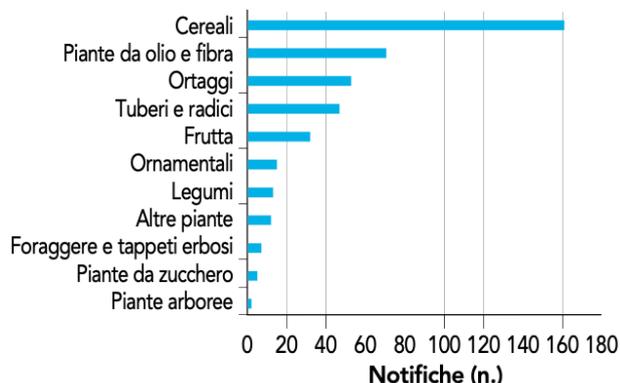
Esempi di caratteri di interesse agronomico modificati con le TEA

Caratteri	Specie coltivate	Geni modificati
Resistenza a parassiti		
Oidio	Pomodoro	<i>MLO, PMR4</i>
Peronospora	Pomodoro	<i>DMR6</i>
Picchiatura batterica	Pomodoro	<i>JAZ2</i>
Virosi dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro	Pomodoro	<i>Ty-5/SIPelo</i>
Orobanche del pomodoro	Pomodoro	<i>ccd7, ccd8</i>
Varie virosi	Cetriolo	<i>eIF4E</i>
Peronospora	Basilico	<i>DMR6, HSK</i>
Tolleranza a stress ambientali		
Siccità	Pomodoro	<i>LBD40</i>
Salinità	Pomodoro	<i>HyPRP1, P5CDH</i>

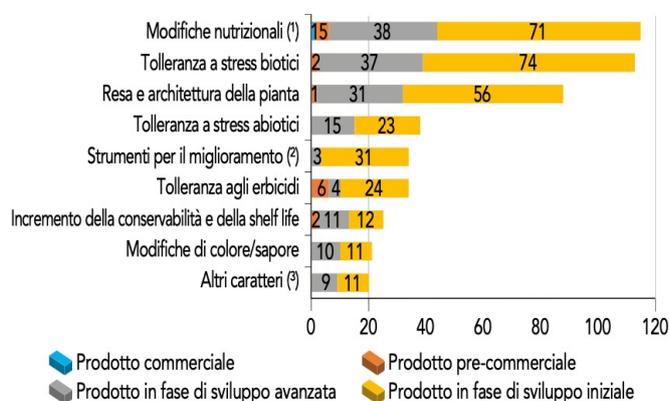
Caratteri	Specie coltivate	Geni modificati
Qualità dei frutti		
Contenuto di carotenoidi	Pomodoro	<i>SGR1, LCY-E, LCY-B1, LCY-B2, Bc, Psy1, CycB, CRTISO</i>
Contenuto di flavonoidi nell'epidermide	Pomodoro	<i>Myb12</i>
Contenuto di acido γ -aminobutirrico	Pomodoro	<i>GAD2, GAD3, GABA-TP1, GABA-TP2, GABA-TP3, CAT9, SSADH</i>
Maturazione e conservabilità	Pomodoro	<i>RIN, NOR-like1, SBP-CNR, NAC-NOR, AP2a, FUL1/TDR4, FUL2/MBP7, PL, PG2a, TBG4</i>
Partenocarpia	Pomodoro	<i>IAA9, AGL6</i>
Contenuto di vitamina C	Pomodoro	<i>GGP</i>
Contenuto di glicoalcaloidi	Pomodoro	<i>GAME4</i>
Contenuto di allergeni	Pomodoro	<i>SOLA4</i>
Contenuto di solidi solubili	Pomodoro	<i>LIN5</i>
Imbrunimento	Melanzana	<i>PPO4, PPO5, PPO6</i>

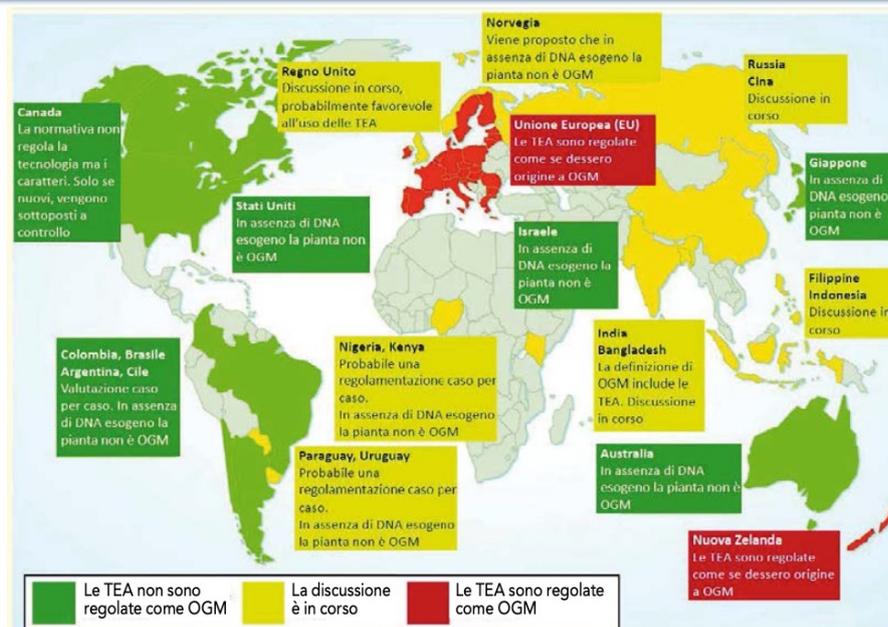
Situazione piante TEA in UE al Giugno 2021

Notifiche di piante depositate
(260 da EPR, 184 da privati)



Caratteri e fasi di sviluppo delle notifiche





Il panorama in evoluzione del Mondo del genome editing in agricoltura al Giugno 2021

TIPO	QUADRO NORMATIVO ATTUALE	QUADRO NORMATIVO PROPOSTO - SPERIMENTAZIONE	QUADRO NORMATIVO COMMERCIALE
a) Mutazioni puntiformi	Non definito	Treatmento parificato alle altre varietà vegetali	In attesa dell'interpretazione delle istituzioni UE
b) Corte inserzioni o delezioni	Non definito	Treatmento parificato alle altre varietà vegetali	In attesa dell'interpretazione delle istituzioni UE
c1) Inserzione di gene nuovo da altro organismo	Normato come OGM (18/2001 CE e legge italiana 212/2001)	Normato come OGM (18/2001 CE e legge italiana dm 19 gennaio 2005)	In attesa dell'interpretazione delle istituzioni UE
c2) Inserzione gene inalterato stessa specie	Normato come OGM (18/2001 CE e legge italiana 212/2001)	Treatmento parificato alle altre varietà vegetali se indistinguibile	In attesa dell'interpretazione delle istituzioni UE
c3) Inserzione gene nuovo sintetico	Normato come OGM (18/2001 CE e legge italiana 212/2001)	Normato come OGM (18/2001 CE e legge italiana dm 19 gennaio 2005)	

Nelle varietà ottenute con il *genome editing* non è presente DNA di altri organismi o microrganismi.

All'esame di laboratorio le piante ottenute col *genome editing* sono indistinguibili da quelle non sottoposte alla tecnica genetica.

Il *genome editing* è in realtà una tecnica di mutagenesi.

Il principio di precauzione si applica nei casi in cui si sia incertezza scientifica, mentre per il *genome editing* c'è meno incertezza sugli effetti rispetto ai prodotti del miglioramento genetico classico, considerati sicuri dalla direttiva della UE, perché la modificazione genetica prodotta copia quanto c'è già in natura.



Genome Editing e Società

- ❖ 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 organizzazioni di settore



prima i geni

LIBERIAMO IL FUTURO DELL'AGRICOLTURA

Il genome editing è per tutti. E la sua regolamentazione deve mantenerlo tale.

- 1 La Storia è cominciata con il miglioramento genetico delle piante. Non solo la storia dell'agricoltura.
- 2 Con l'aiuto della scienza siamo solo diventati più bravi a fare quello che abbiamo sempre fatto. Ma è cambiato il mondo.
- 3 L'agricoltura italiana è nata da tante innovazioni genetiche. Che col tempo sono diventate tradizioni.
- 4 Il miglioramento genetico non si può fermare perché la natura non si ferma mai. E neppure la Storia.
- 5 Il miglioramento genetico è l'unica tecnologia agricola che adatta la pianta all'ambiente, anziché l'ambiente alla pianta. E dovrebbe quindi essere sempre la tecnologia di prima scelta.
- 6 Il miglioramento genetico è sempre stato sicuro. Qualunque metodo sia stato utilizzato.
- 7 Una regolazione sbagliata può soffocare l'innovazione. Ma favorire le aziende sementiere più grandi.
- 8 L'Italia ha perso la sua scommessa contro l'innovazione. Aggravando i problemi della sua agricoltura.
- 9 Il genome editing è un passo avanti decisivo. Ma solo perché rende molto più facile quello che abbiamo sempre fatto.
- 10 Con il genome editing si possono ottenere varietà come quelle che potrebbe produrre la natura. E che non sono OGM.
- 11 A controllare le nuove tecnologie sarà chi conosce meglio la biologia delle piante. Più che chi controlla il metodo.
- 12 Il genome editing ci permette di scegliere una "via italiana" al nuovo miglioramento genetico.

L'Appello



<https://bit.ly/3xdO5px>



L'INFORMATORE AGRARIO

Tecnologie di Evoluzione Assistita

la nuova via per la sostenibilità dell'agricoltura italiana

Con le TEA, Tecnologie di Evoluzione Assistita, ogni «ambiente» avrà la varietà più adatta

Un'iniziativa di:

Con il supporto di:



<https://bit.ly/3Kb83VD>



AGRICOLTORI ITALIANI



ASSOSEMMENTI



presidente@geneticagraria.it

