



**HUDSON RIVER**  
**Biotechnology**

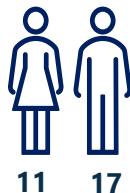
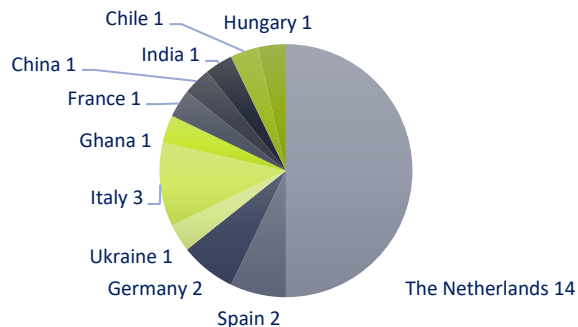
**Technologies for better crops**

2024/04/11



# Intro - Hudson River Biotechnology

- Proveedor tecnológico independiente
- Fundada en 2015 y con base en Wageningen (NL)
- 28 empleados (90% R&D)
- 560 m<sup>2</sup> lab | 600 m<sup>2</sup> oficinas
- Expertos de todo el mundo

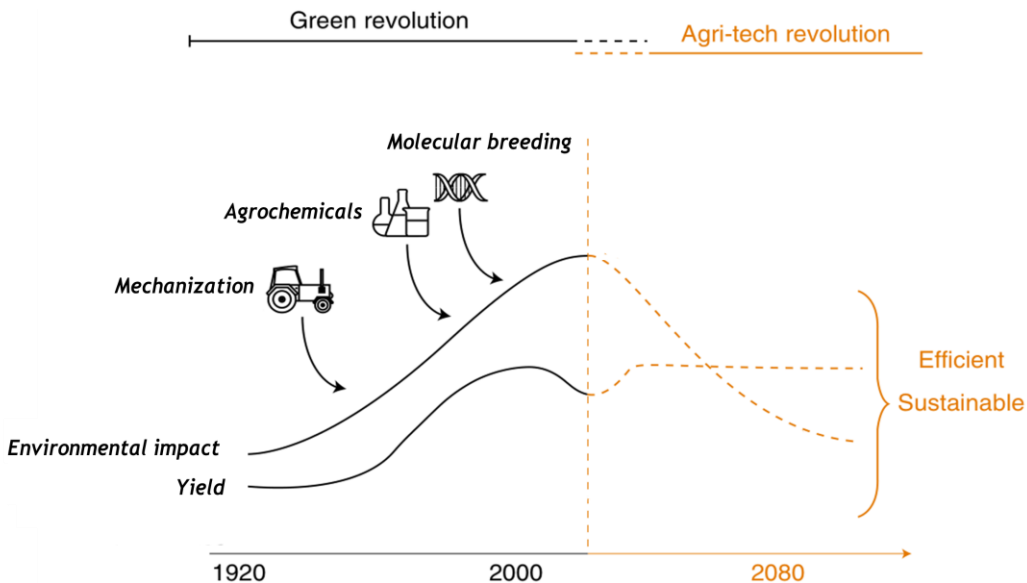




# Misión de HRB

Acelerar la transición hacia una bio-economía sostenible mundial

HRB contribuye con **dos tecnologías** a mejorar los cultivos y a minimizar los insumos, disminuyendo el impacto medioambiental de la agricultura



## TiGER workflow



Edición génica de plantas



## Plentrance™



Aplicación eficiente de insumos mediante nanopartículas

Picture modified from G. V. Lowry, A. Avellan & L. M. Gilbertson, Nature nanotechnology 2019



**TiGER**

La edición génica - una herramienta más  
en el proceso de mejora vegetal





# La urgente necesidad de una cadena alimentaria sostenible

Climate change & abiotic stress tolerance



Sustainable production & environmental footprint



Consumer preferences  
tasty & healthy food



Quality & shelf life



Urbanization & competing  
claims for arable lands



Disease resistance  
& pest control



Increasing population  
9 billion 2050



## Soluciones actuales



Mejora convencional



GMO o orgánico

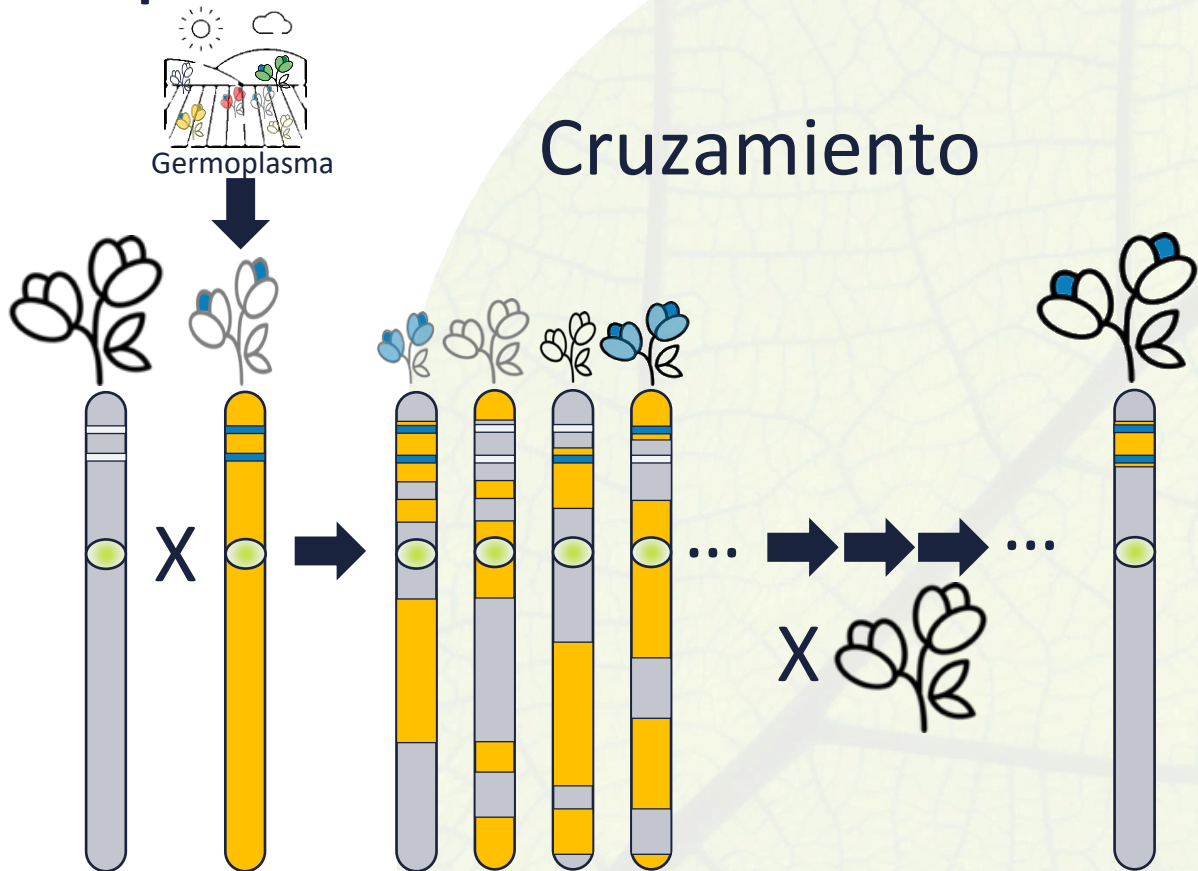
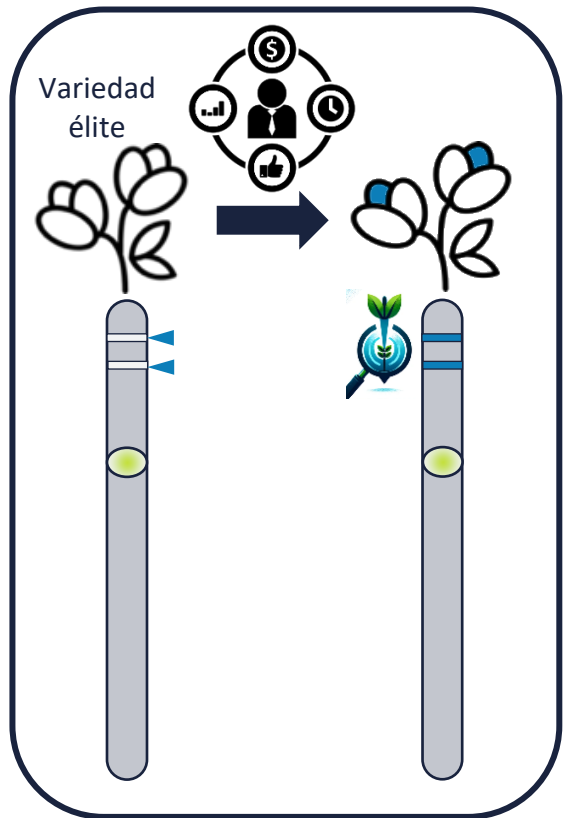
## Es el momento CRISPR!



- Madurez tecnológica (secuenciación, AI)
- Diferente percepción pública (no GMO)
- Cambio global en la regulación



# Cómo generar la próxima variedad?

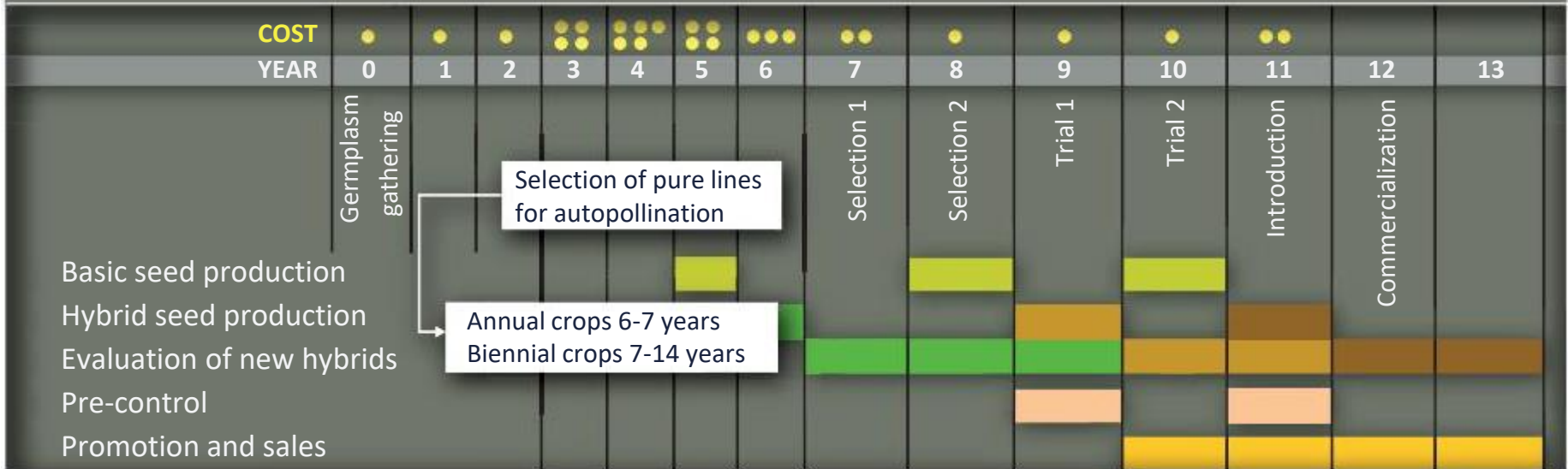




# Inversión para el desarrollo de una variedad vegetal

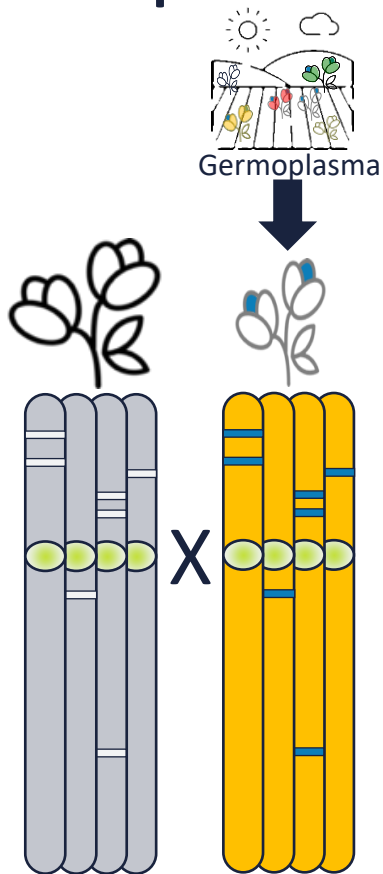
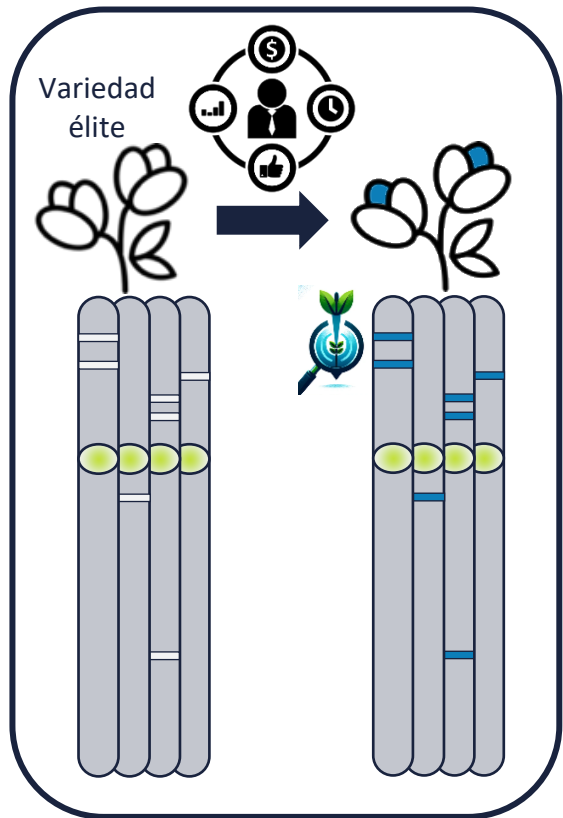
- Coste acumulado desde I+D a mercado en Europa: ~1,0-1,5 M€
- Tiempo medio variedad en el mercado: 4-5 años (3 generaciones/año) / 12 años (anuales) / 15 años (bianuales)

TIMELINE/COST FOR VARIETY DEVELOPMENT (ANNUAL HARVEST)

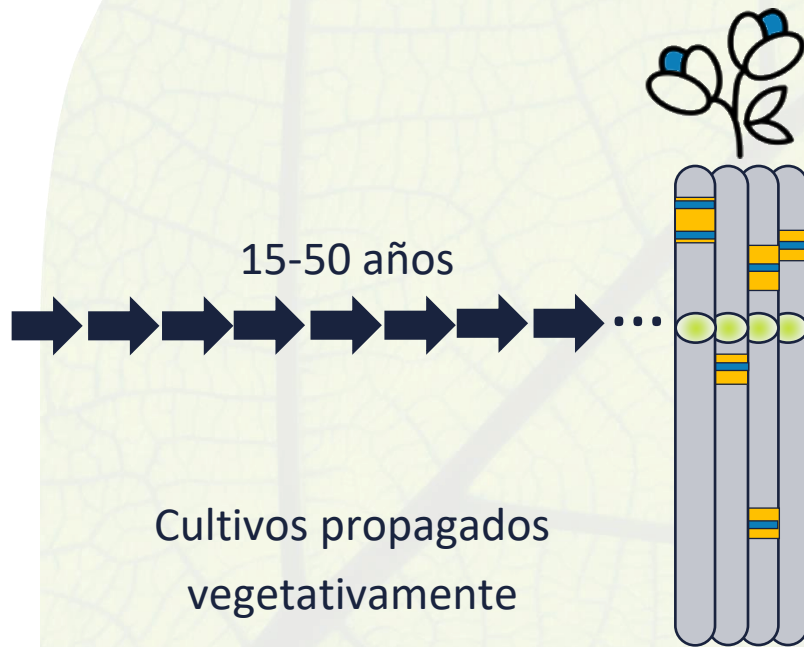




# Cómo generar la próxima variedad?

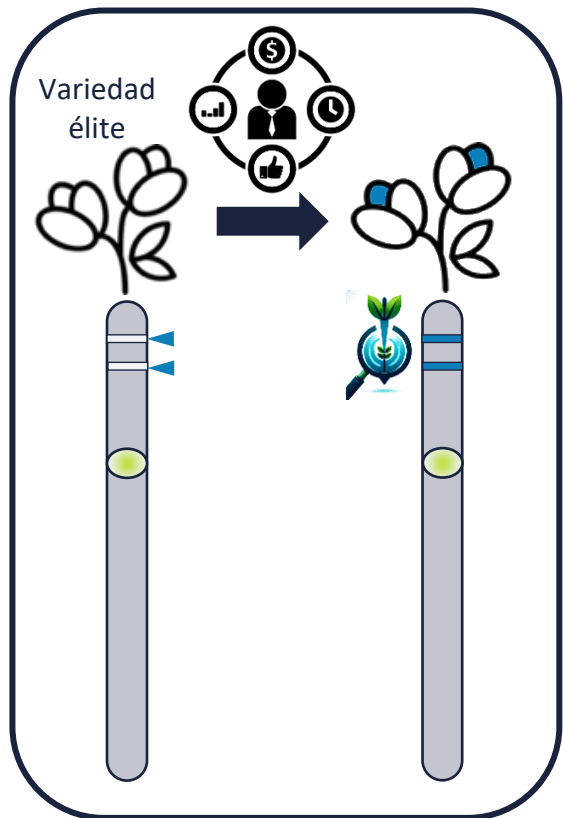


## Cruzamiento

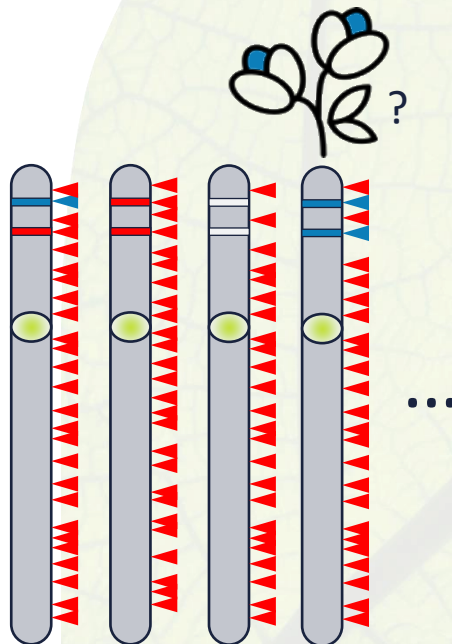
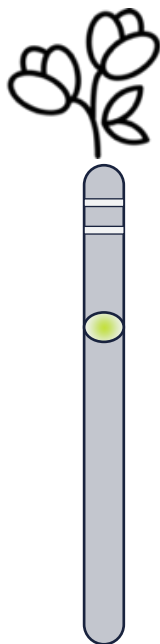




# Cómo generar la próxima variedad?



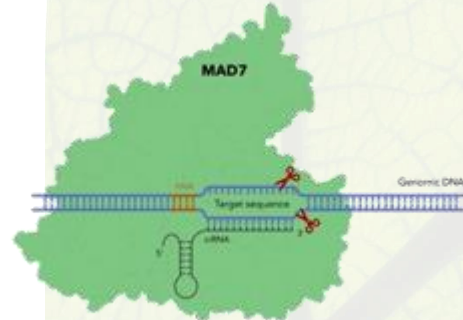
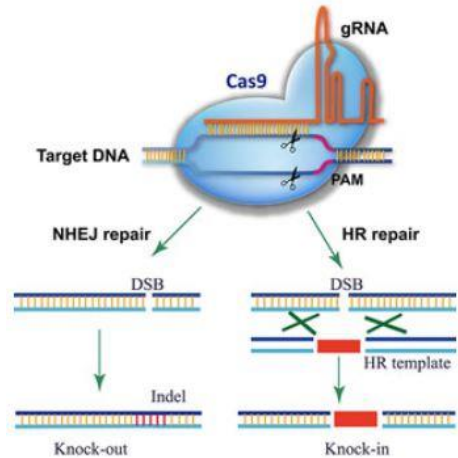
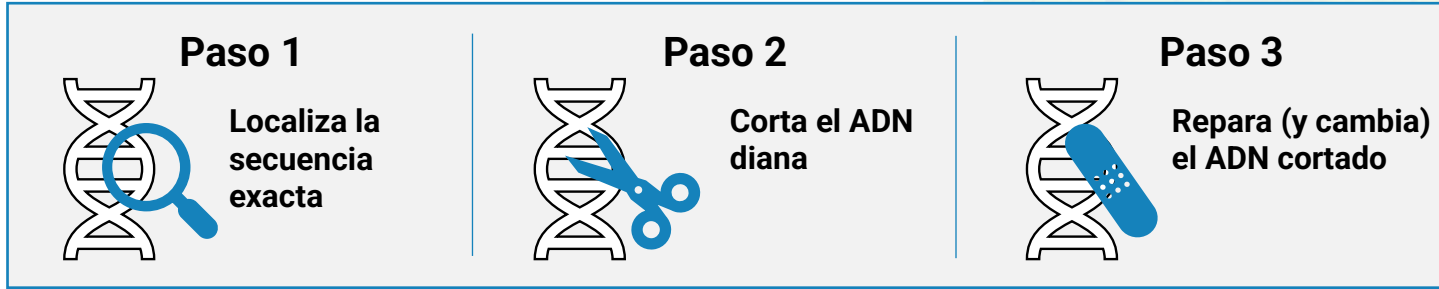
## Mutagénesis



- ◀ Mutación deseada
- ▶ Mutación no deseada

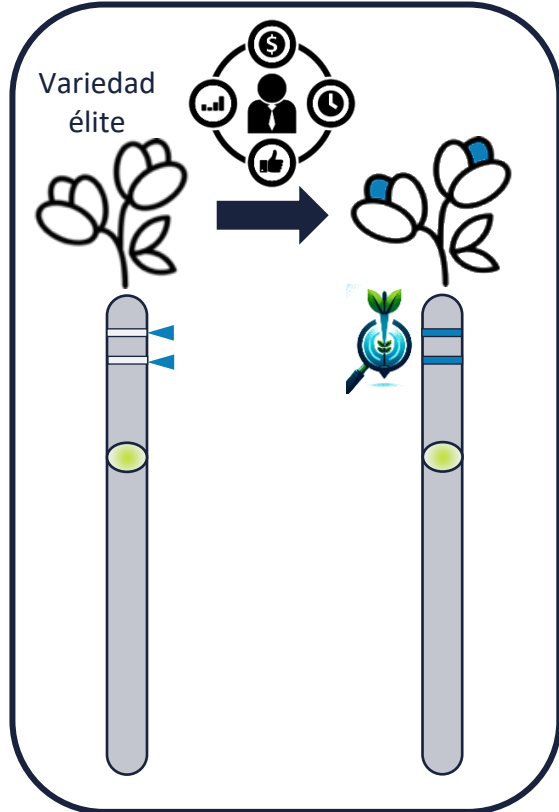


# Qué es CRISPR?

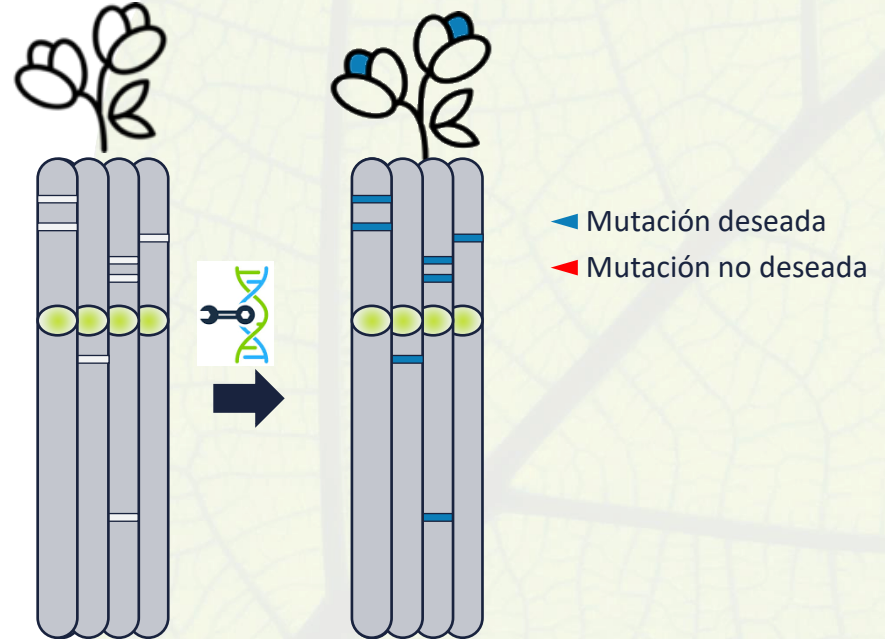




# Cómo generar la próxima variedad?



## Edición génica - CRISPR



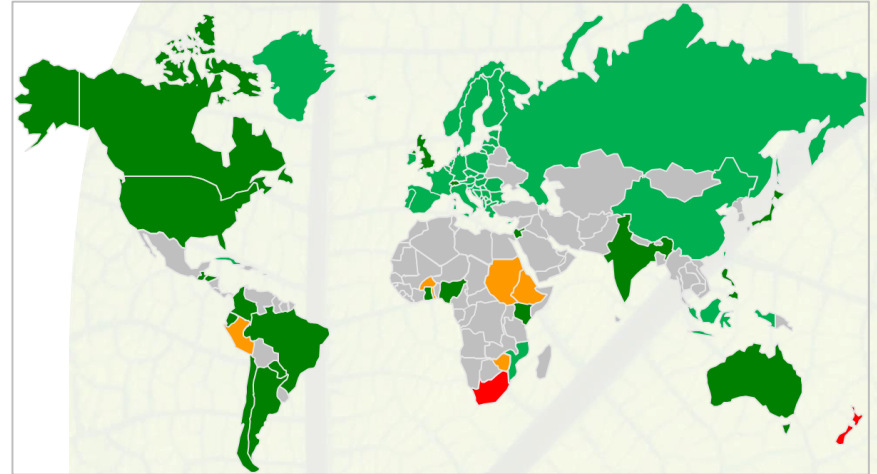
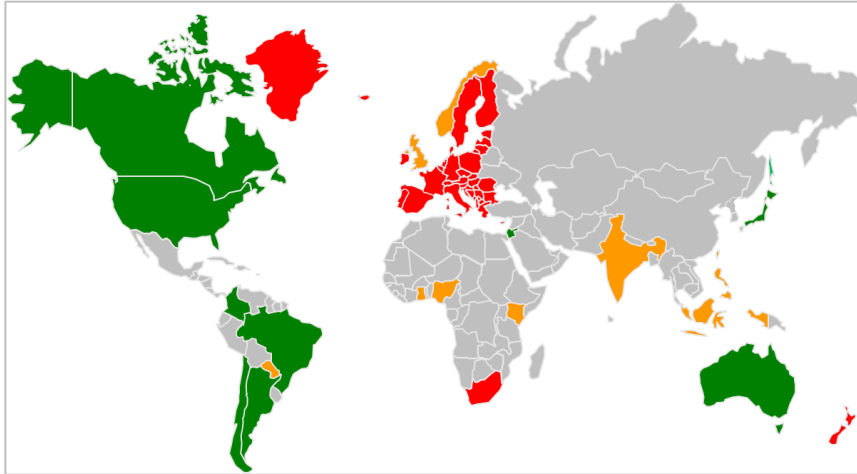


# NGTs – Hacia la aceptación regulatora global

2020



2024



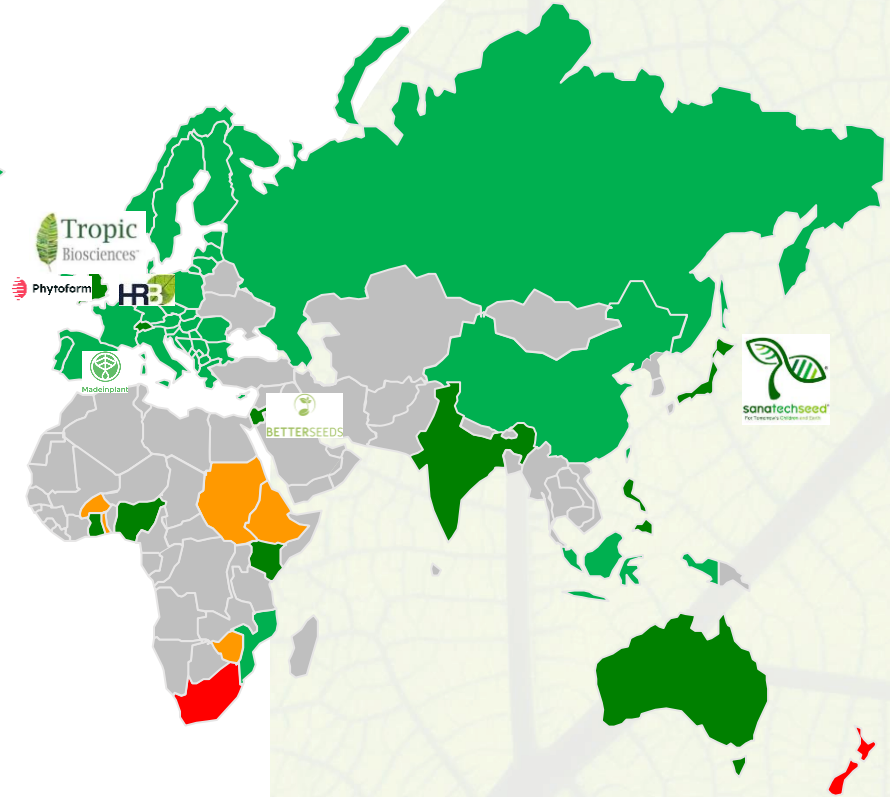
GMO

Edited plants are:

En 2030 -> se alcanzará adopción global

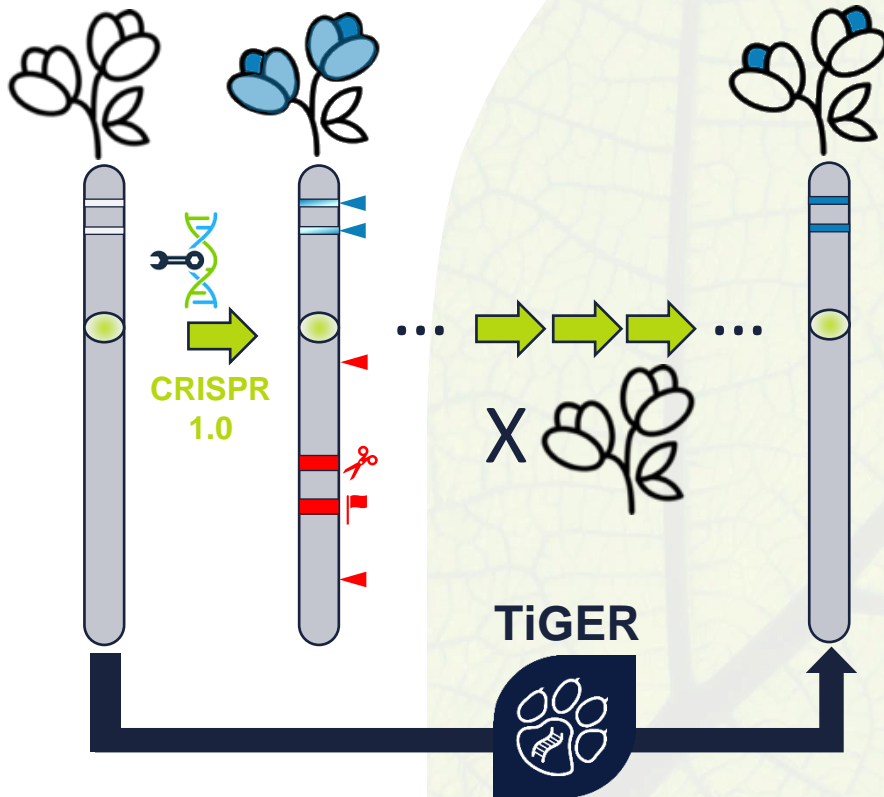
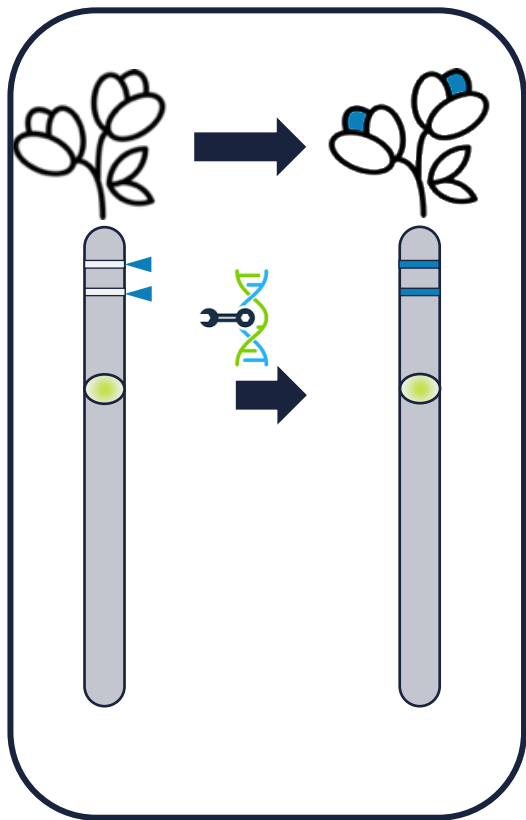


# Edición Génica en Plantas: un mercado competitivo







# No toda la edición génica es comercialmente relevante



- ▶ Mutación deseada
- ▶ Mutación no deseada
- ✂ Maquinaria CRISPR
- Marcador selección



 1/3 time

 1/5 cost

 All-in model



# TiGER workflow: en qué consiste?



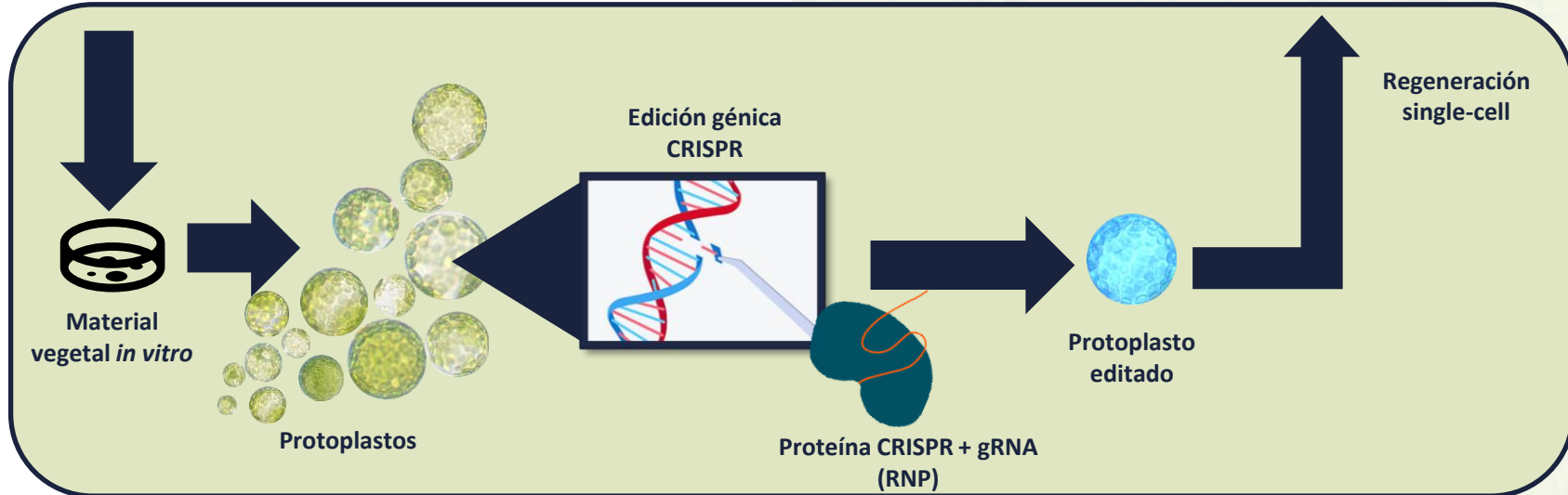
Variedad élite



TiGER workflow



Variedad preparada para desarrollo comercial



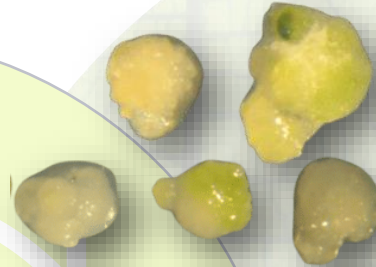
Regeneración  
single-cell



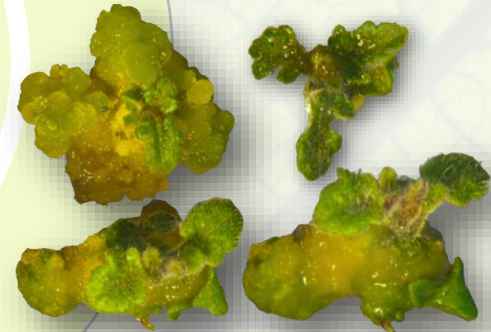
# Típico proyecto en TiGER: tomate



**Microcallo** - 3 semanas de inducción de microcallo



**Callo** - 4 semanas de inducción apical



**Shooting Calli** - 4 semanas de elongación apical



**Transferencia y aclimatación**



**Plántula** - 1 semana de inducción radicular



# TiGER: Modelo agnóstico de regeneración de plantas



		(R)				(R)	(R)	(R)	(R)		(R)	
Protoplast procedure	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Transfection	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
>70% editing	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	N/A
Protocallus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Shooting	✓				✓	✓	✓	✓		N/A		N/A

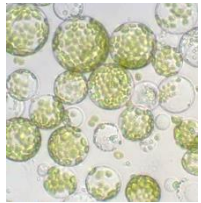
- **Experiencia con >12 cultivos, 40+ variedades comerciales**
- **“Polinización cruzada”**: usar lo aprendido para adaptar nuevos cultivos



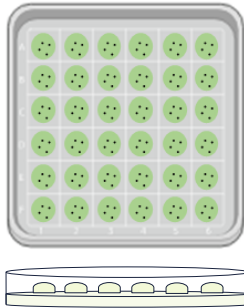
# Semi-automática evaluación medios regeneración

Cada 2 semanas

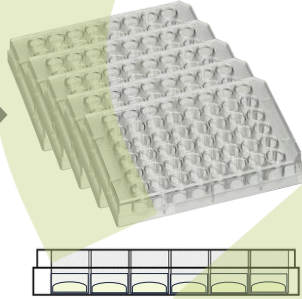
Aislamiento protoplastos



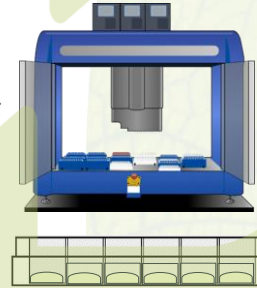
Inmersión en hidrogel



Transfer to plates



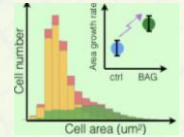
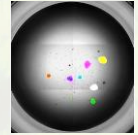
Media refreshment



Microscopio



Análisis de imágenes y extracción de datos



~4x = 1,5 meses

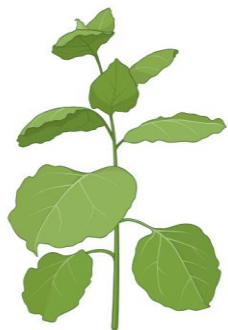


2 días, manual

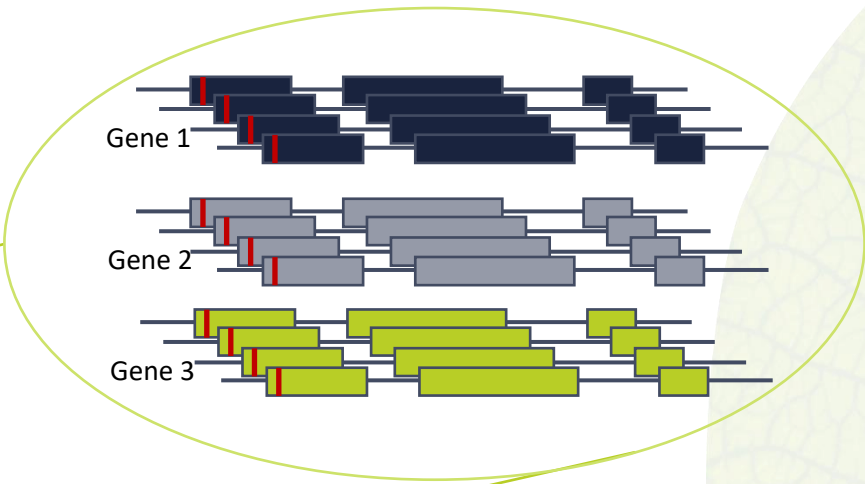
Hasta 4 semanas, automatizado



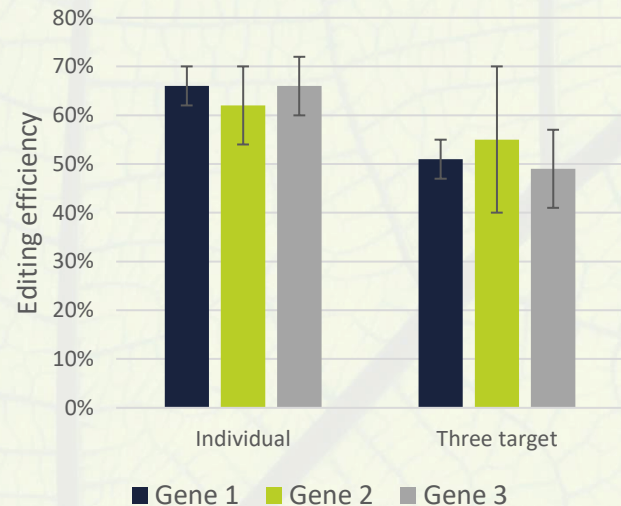
# Multiplexing: Edición génica multiples genes



*N. benthamiana*



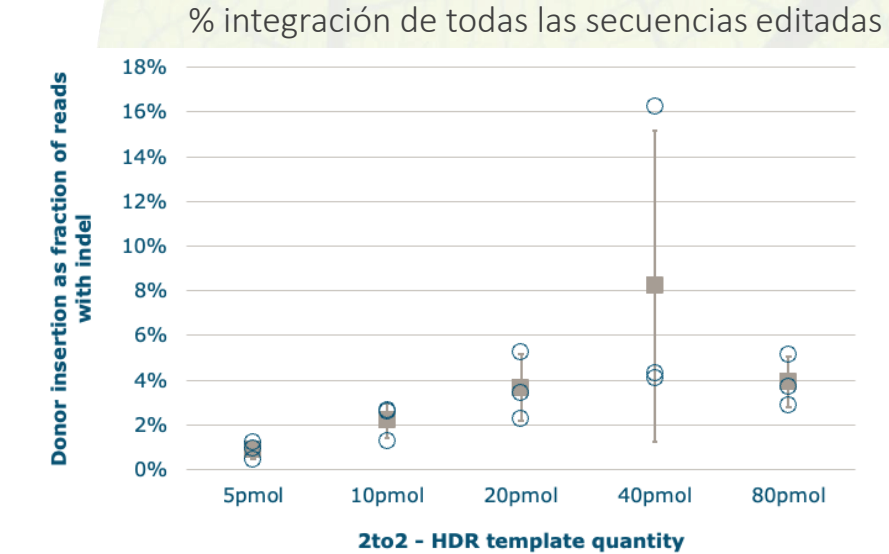
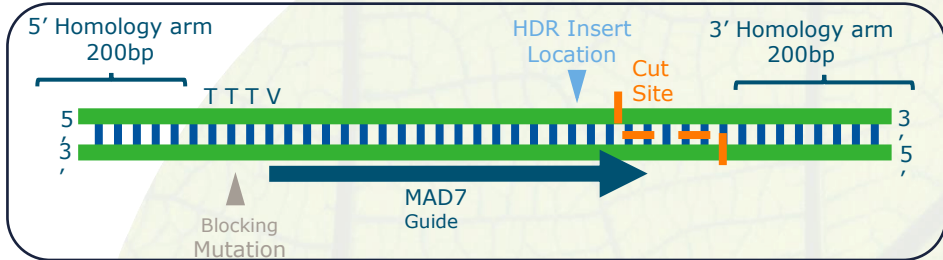
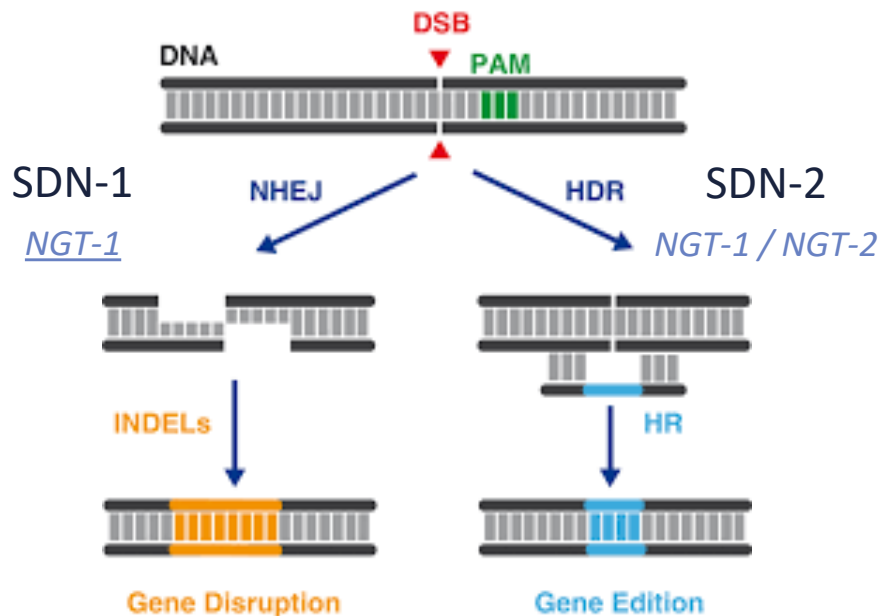
KO simultáneo de 12 alelos  
3 genes homólogos en *N. benthamiana*  
(4n) alotetraploide = 12 alelos



Edición génica de multiples genes  
simultáneamente sin pérdida significativa  
de la eficiencia



# TiGER-HDR: diseñando la mutación deseada



Inserción perfecta vía HDR > 15% de las secuencias editadas



# TiGER workflow: mapping USPs



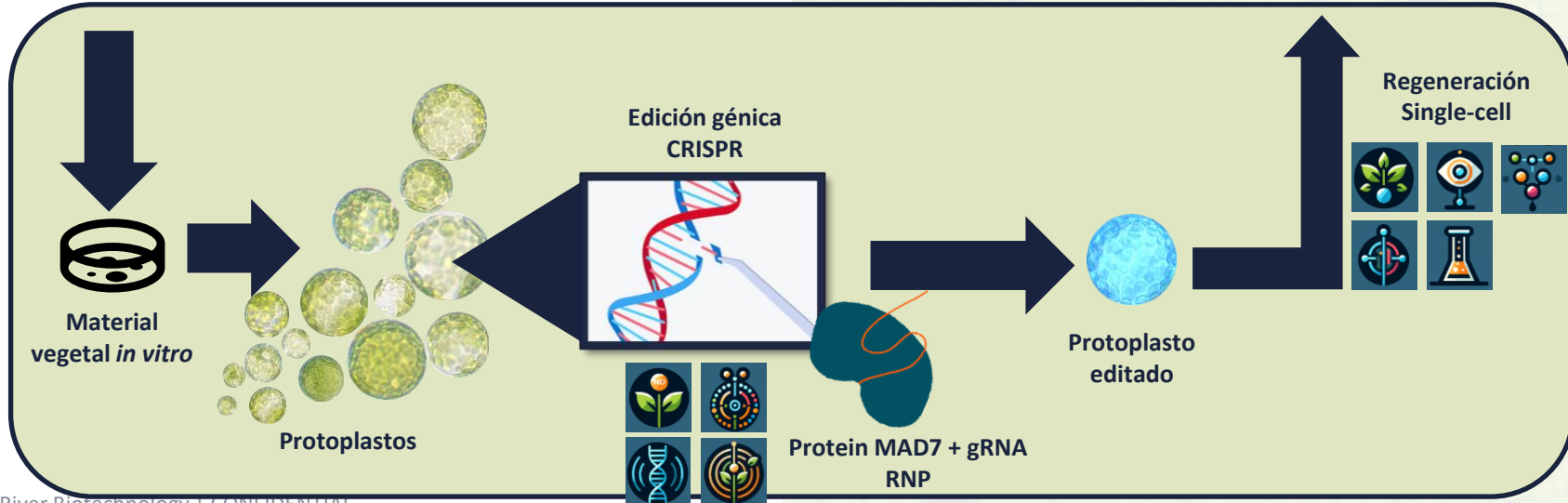
Variedad élite



TiGER workflow



Variedad preparada para desarrollo comercial





Es la hora del TIGRE





## Plentrance

Sistema sostenible de aplicación para llevar insumos **dentro** de la planta en minutos

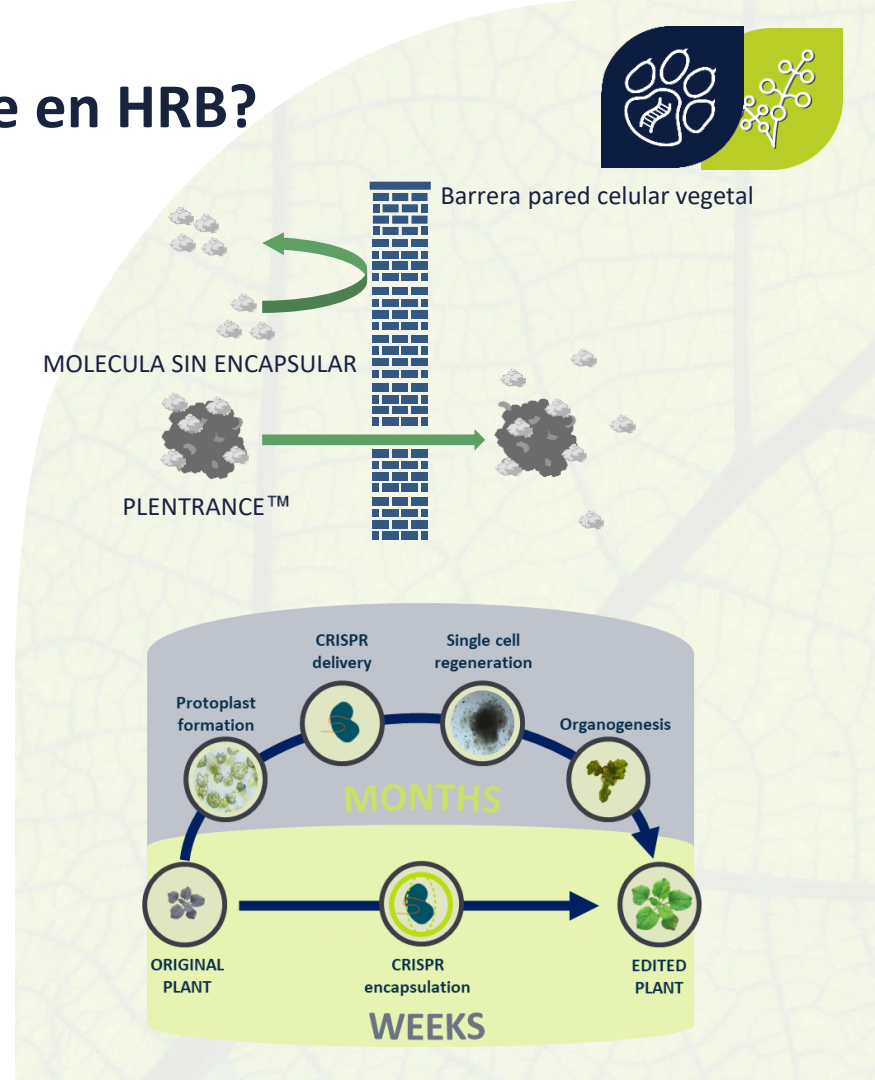
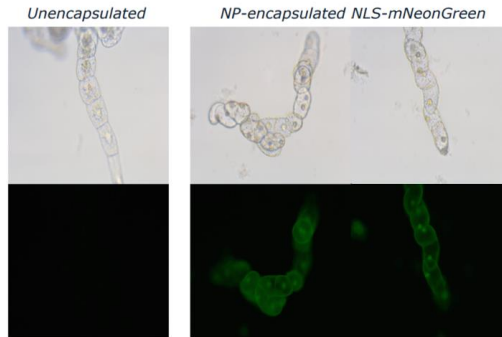




# De dónde surge Plenrance en HRB?

Mejorar TIGER para especies recalcitrantes

- Algunas especies son recalcitrantes a la regeneración
- Un sistema de aplicación que atraviese la pared celular vegetal puede eliminar la recalcitrancia
- **Plenrance™**, desarrollado junto con Sphera Encapsulation



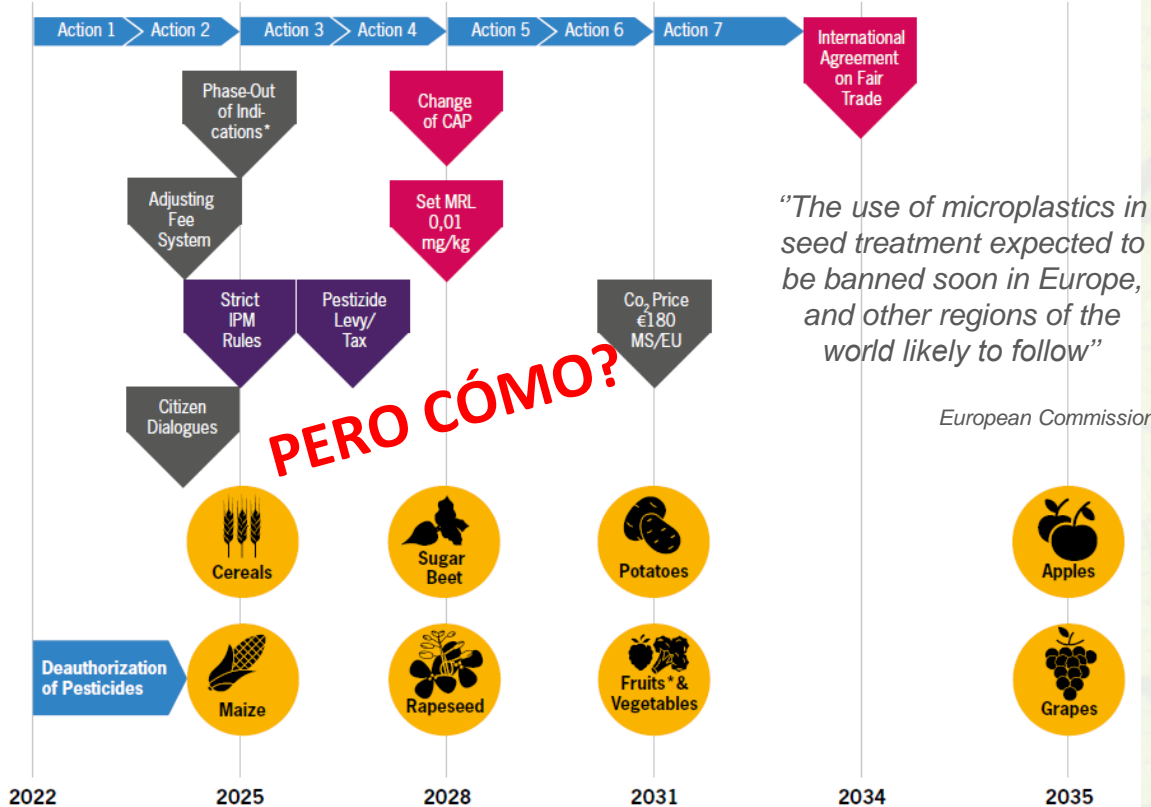


# Objetivos agrícolas EU para 2030 marcan la agenda del uso de agroquímicos



Reducir al 50% del uso total de **pesticidas químicos** y reducir al 50% los **pesticidas** más tóxicos

Reducir **pérdida de nutrientes** al menos 50% sin deterioro en la fertilidad del suelo; ésto reducirá el uso de **fertilizantes** al menos 20%





# Plentrance™: la solución innovadora

Qué hace a Plentrance™ único?




**ENTREGA DENTRO DE LA PLANTA** 

**NO TÓXICO y BIODEGRADABLE** 

**TECNICA and ECONOMICAMENTE ESCALABLE** 

✓  **Rápida entrega activa en minutos**

✓  **Encapsulación basada en proteína**

✓  **Escalable y asequible**

 **trilliumAg**  
INNOVATIVE BIO-AGRICULTURE

 **GreenLight**  
BIOSCIENCES™

 **biotallys**  
reinventing food protection

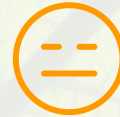
 **AgroSpheres**

 **Carbon nanotubes**

 **micropep**

 **nano scoping**

 **invaio**





# Entrega activa dentro de planta en 30'

Aplicación de una proteína fluorescente con señal de localización nuclear



CALLO



HONGO



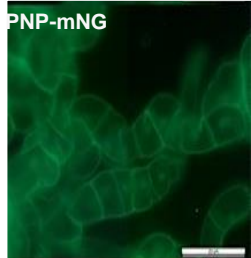
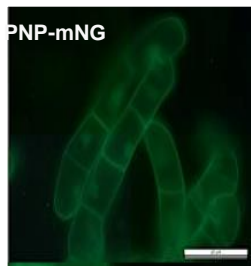
HOJA



POLEN

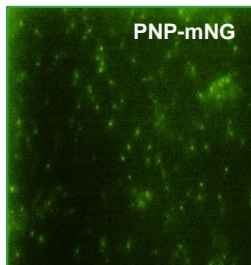
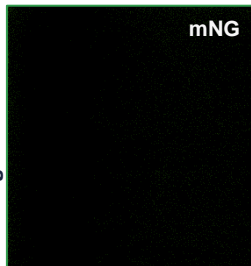
DIFICULTAD DE PENETRACIÓN

*N. tabacum*



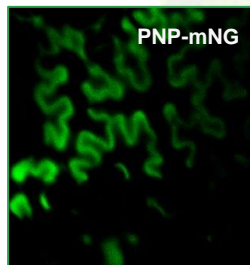
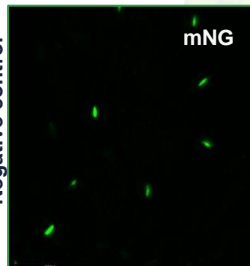
*C. viswanathii*

Negative control

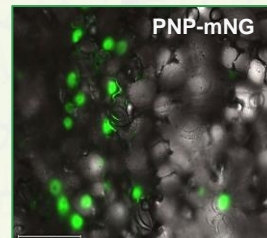


*S. lycopersicum*

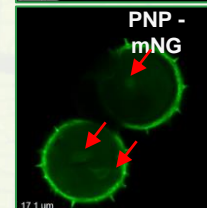
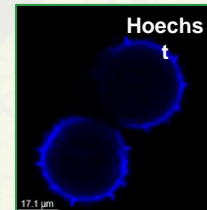
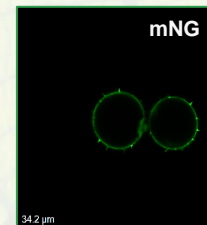
Negative control



*N. benthamiana*



Negative controls





# Plentrance™: entrega funcional agroquímicos

Mejorando formulaciones de pesticidas comerciales

- **Lirios**, una de las flores más importantes en el segmento ornamental
- El hongo **Botrytis** causa la enfermedad más común en lirios
- Tratamiento lleva hasta 6 aplicaciones antes de la cosecha
- Experimento: pre-tratamiento hojas con fungicida (Trifloxystrobin, 25%)
- 24h después, infección con esporas de Botrytis
- Fotos tomadas 3 días después de la inoculación

*Infección foliar después  
pre-tratamientos con fungicida*

Control negativo



Control positivo



Trifloxystrobin

0.05 mg/ml



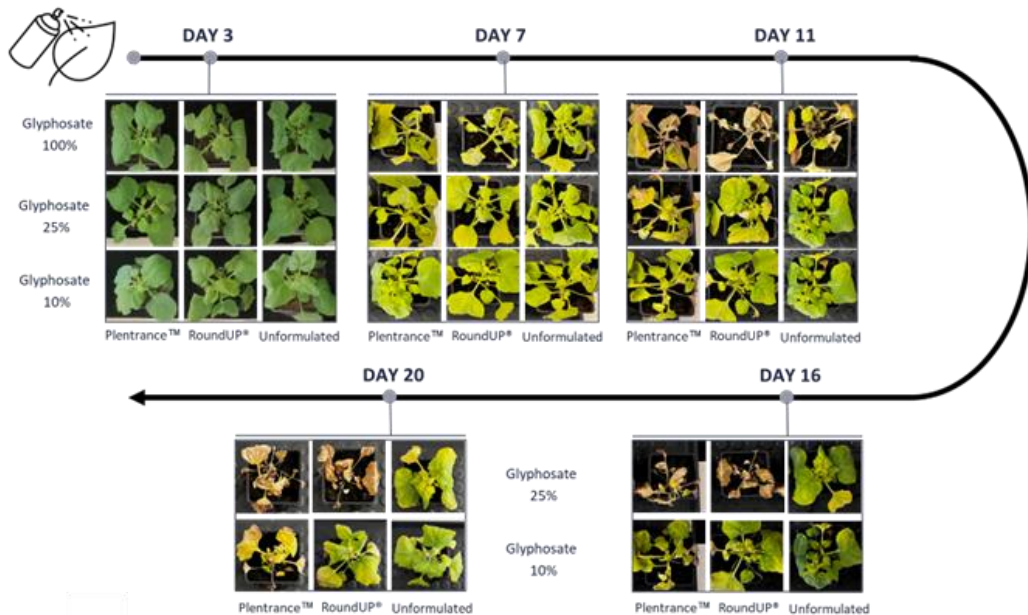
0.05 mg/ml



Research in collaboration with Wageningen University

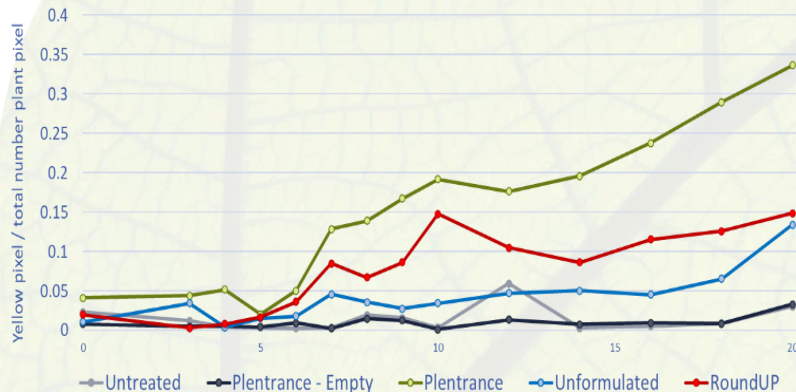


# Plentrance™ - aplicación de nutrientes & agroquímicos



## GLIFOSATO

10% glyphosate formulations



**Al 10%, Plentrance™-glifosato es más efectivo que Roundup®!**



# Plentrance™ al mercado: insumos agrícolas y más allá

EARLY RESEARCH

LATE RESEARCH

PRODUCT DEVELOPMENT

REGULATORY & PRODUCT PLACEMENT

LAUNCH

**2025**

Entrega funcional—  
creación de MVP

**2026**

Mejora y optimización

**2027**

Ensayos de campo y  
producción

**2028**

Plentrance™ lanzamiento  
comercial

**AGRICULTURAL  
INPUTS**



Steep reduction of  
agrochemical-use

**FOOD PROCESSORS**



Ingredients with less  
chemicals

**PACKAGING**



Increase shelf life

**RETAIL**

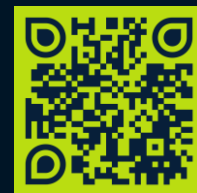


Provide safe, healthy,  
and sufficient food





# Es hora de Plentrance™



*Hudson River Biotechnology*  
Wageningen | The Netherlands  
gabino.sanchez@hrb.bio



**HRB**



®