



## UNIVERSITÀ DI PISA

---

### NEW BREEDING TECHNOLOGIES

#### TOMMASO GIORDANI

Anno accademico	2020/21
CdS	BIOTECNOLOGIE VEGETALI E MICROBICHE
Codice	384GG
CFU	6

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
NEW BREEDING TECHNOLOGIES	AGR/07	LEZIONI	64	TOMMASO GIORDANI CLAUDIO PUGLIESI

#### Obiettivi di apprendimento

##### *Conoscenze*

Lo studente che completa con successo il corso sarà in grado di dimostrare una solida conoscenza della struttura e della funzione del genoma negli organismi vegetali. Apprenderà le basi delle moderne tecnologie di sequenziamento del genoma e saprà utilizzare software per l'analisi di sequenze genomiche. Conoscerà le basi e le metodologie della selezione assistita da marcatori molecolari. Nella seconda parte del corso, lo studente apprenderà, anche attraverso esercitazioni pratiche, le tecniche di trasformazione genetica delle piante, l'ingegneria genetica classica e i principi e le applicazioni del "genome editing" nelle piante coltivate.

##### *Modalità di verifica delle conoscenze*

Per verificare le conoscenze acquisite saranno svolti incontri periodici tra il docente e gli studenti. Gli incontri ad inizio corso serviranno anche per colmare eventuali lacune di conoscenze di base di Genetica o di Biologia Molecolare. A fine corso le conoscenze acquisite verranno verificate con un esame orale.

##### *Capacità*

Al termine del corso lo studente avrà acquisito non solo competenze e conoscenze adeguate al superamento dell'esame, ma anche la capacità di analizzare la struttura del genoma di un organismo vegetale mediante tecnologie di sequenziamento di seconda generazione. Inoltre lo studente avrà acquisito le principali tecniche per la modificazione del genoma delle piante sia attraverso tecniche di ingegneria genetica classica che attraverso "new breeding technologies".

##### *Modalità di verifica delle capacità*

Per l'accertamento delle capacità acquisite verranno effettuate esercitazioni teorico-pratiche durante le quali lo studente dovrà dimostrare di:

- avere acquisito le nozioni di genomica strutturale, e di sapere utilizzare correttamente gli strumenti bioinformatici per l'analisi di sequenze genomiche.
- sapere utilizzare correttamente le tecniche di laboratorio per la coltura *in vitro* di tessuti vegetali, l'isolamento di geni, il clonaggio, la costruzione di vettori e la trasformazione genetica delle piante.

##### *Comportamenti*

Alla fine del corso lo studente potrà acquisire e/o sviluppare sensibilità alle problematiche riguardanti la genomica vegetale e la trasformazione genetica delle piante. In particolare potrà.

- utilizzare strumenti bioinformatici per l'analisi di sequenze genomiche.
- utilizzare i moderni strumenti di breeding per il miglioramento genetico delle piante coltivate.

##### *Modalità di verifica dei comportamenti*

La verifica dei comportamenti sarà effettuata attraverso periodiche valutazioni dell'apprendimento mediante discussioni in aula, ma anche durante le esercitazioni teoriche, in cui sarà valutato il grado di accuratezza e precisione delle attività svolte, e durante le esercitazioni pratiche di laboratorio, finalizzate a valutare il comportamento dello studente di fronte alle problematiche poste dal docente.



## UNIVERSITÀ DI PISA

---

### Prerequisiti (conoscenze iniziali)

Per affrontare l'insegnamento di "New breeding technologies" sono necessarie conoscenze iniziali di genetica e biologia molecolare. Nello specifico:

- la struttura della cellula, la struttura di DNA, RNA, proteine, il codice genetico e la sintesi proteica, mitosi e meiosi il concetto di gene e di variabilità genetica, la ricombinazione genica.
- clonaggio genico, costruzione di genoteche, enzimi di restrizione, PCR, sequenziamento del DNA.

### Indicazioni metodologiche

- le lezioni frontali si svolgono con l'ausilio di diapositive e video;
- le esercitazioni vengono svolte in aula informatica del Dipartimento e vengono effettuate in gruppi di studenti;
- le esercitazioni pratiche vengono svolte presso il laboratorio di coltura *in vitro* presso la sezione di Genetica del Dipartimento e vengono effettuate in gruppi di studenti;
- viene utilizzato il sito E-learning del CdS dove viene fornito, all'inizio del corso, il calendario delle lezioni, il materiale didattico utilizzato nelle lezioni frontali e nelle esercitazioni. Il sito E-learning è utilizzato anche per comunicazioni di qualsiasi tipo con gli studenti;
- l'interazione tra docente e studenti avviene anche mediante ricevimenti e posta elettronica.

### Programma (contenuti dell'insegnamento)

Introduzione al corso. Cosa sono i genomi. Perché sequenziare un genoma, i genomi sequenziati. Il caso del genoma di vite e l'origine poliploide delle Angiosperme.

Struttura e organizzazione del genoma eucariotico, tipi di classificazione: funzionale, per ridondanza e per localizzazione nel genoma; geni strutturali, famiglie geniche, sequenze ripetute in tandem, sequenze ripetute disperse. Elementi trasponibili (Transposable Element, TE), effetti fenotipici dei TE.

Sequenziamento Sanger, ferogrammi e qualità delle sequenze. Software per lo studio e l'annotazione di sequenze nucleotidiche. Esercitazioni pratiche.

Strategie seguite per il sequenziamento dei genomi. Problemi legati all'assemblaggio delle sequenze ripetute.

Tecnologie di sequenziamento di seconda generazione, confronto con metodica Sanger, Pyrosequencing, Illumina. Utilizzo della metodica Illumina per lo studio del genoma. Tecniche di sequenziamento di terza generazione.

"Quantitative trait loci" (QTL). Selezione assistita da marcatori molecolari. "Genome Wide Association Study". Analisi di casi studio.

Piante transgeniche, definizioni, coltura *in vitro* di tessuti vegetali.

I costrutti genici: promotori, geni per la selezione dei trasformati, geni reporter, sequenze di terminazione. La tecnica della trasformazione con *Agrobacterium tumefaciens* (Metodo indiretto). Metodi diretti di trasformazione. Elettroporazione, particle gun, floral deep. Cisgenesi.

Esempi di piante transgeniche. Tecnologia "terminator", introduzione della maschiosterilità, partenocarpia e apomissia, trasformazione dei cloroplasti. Introduzione delle resistenze ad erbicidi, insetti funghi e virus. Modificazioni del contenuto in proteine, zuccheri complessi, acidi grassi, carotenoidi, antociani e altri antiossidanti. Modificazioni della forma delle piante. Aumento della capacità di radicazione delle talee. Modificazioni del contenuto di sostanze utili all'industria. L'uso delle piante transgeniche a scopi farmaceutici.

Basi e applicazioni del "genome editing". Analisi di casi studio.

### Bibliografia e materiale didattico

Testi consigliati:

-Biotecnologie e Genomica delle Piante di R. Rao e A. Leone Ed. Idelson Gnocchi

-Miglioramento Genetico delle Piante Agrarie F. Lorenzetti, E. Albertini, L. Frusciante, D. Rosellini, L. Russi, R. Tuberosa, F. Veronesi Ed. Edagricole

-Materiale fornito dal docente e caricato su E-learning

### Indicazioni per non frequentanti

Gli studenti non frequentanti possono seguire lo svolgimento delle lezioni utilizzando il materiale didattico messo a disposizione dal docente prima dell'inizio del corso sul sito E-learning del CdS e seguendo il registro delle lezioni del docente. Le esercitazioni teorico-pratiche sono fortemente consigliate.

### Modalità d'esame

L'esame consiste in una prova orale sull'intero programma.

### Note

Le esercitazioni teorico-pratiche sono fortemente consigliate.

