CORSO TEORICO-PRATICO SIGA
"Tecnologie di Evoluzione Assistita: CRISPR/Cas9 in piante agrarie"

Dipartimento di Biotecnologie - Università degli Studi di Verona
Verona, 31 Agosto-3 Settembre 2021

PROGRAMMA

Martedì 31 agosto 2021

14:00 - 14:30 - Introduzione al corso e saluti - *Prof. Mario Enrico Pe'*

14:30 - 16:30 - Tecnologie di Evoluzione Assistita - *Prof. Fabio Fornara*

16:30 - 18:30 - TEA: situazione brevettuale e legislativa - *Avv. Arturo Pironti*

Mercoledì 1 settembre 2021

09:00 - 10:00 - Golden Braid - *Prof. Andrea Moglia*

10:00 - 13:00 - *Prof. Andrea Moglia*

Preparazione *in silico* dei costrutti, partendo dal gene scelto dal corsista o fornito dal docente:
- Selezione dei gRNA (Benchling)/CRISPR-P
- Preparazione oligo (GB tools)
  a) Assemblaggio virtuale del costrutto di trasformazione GB tramite Benchling
  b) Assemblaggio virtuale del costrutto mediante GB cloning tools per elementi già depositati nel sistema
- Valutazione dei potenziali off target (Cas-off finder)

14:00 - 15:30 - Pratica: Preparazione in silico dei costrutti - *Prof.ssa Cinzia Comino, Prof. Andrea Moglia*

15:30 - 17:30 - Teoria: Colture in vitro - *Prof. Giovanni Dal Corso*

17:30 - 19:00 - Pratica: Colture in vitro - *Prof.ssa Sara Zenoni, Prof.ssa Linda Avesani, Dott.ssa Valentina Dusi, Dott.ssa Erica D'Incà, Dott. Edoardo Bertini*

VITE: protoplasti (i partecipanti vengono divisi in due gruppi da 10 e si alternano nelle attività 1 e 2, di circa 45 min l'una)
Attività 1:
- prelievo di antere e messa in coltura per induzione callo embriogenico – 30/40 min
le piastre sono già pronte e le antere vengono prelevate da cuttings fruttiferi di diverse varietà
- osservazione callo embriogenico allo stereo microscopio -15 min
i calli embriogenici sono già pronti, i partecipanti saranno in grado di distinguere calli de-differenziati da embriogenici

Attività 2:
- isolamento protoplasti: digestione con enzimi di degradazione della parete, filtrazione e lavaggio
- analisi vitalità dei protoplasti, staining con FDA e osservazione al microscopio a fluorescenza

Giovedì 2 settembre 2021

9:00 - 13:00 - Colture in vitro e Trasformazione in vitro - *Prof.ssa Sara Zenoni, Prof.ssa Linda Avesani, Dott.ssa Valentina Dusi, Dott.ssa Erica D'Incà, Dott. Edoardo Bertini*
POMODORO
- Preparazione espianti da cotiledoni (da plantule di 2 settimane)
- Co-coltura espianti + Agrobacterium

VITE
- Conta protoplasti e transfezione con PEG
- Analisi dell'espressione del reporter YFP al microscopio a fluorescenza e calcolo dell'efficienza di trasformazione

14:00 - 17:30 - Colture in vitro e Trasformazione in vitro - *Prof. Fabio Fornara, Dott.ssa Francesca Giaume, Dott. Giulio Vicentini*

RISO
Co-coltura
- Preparazione espianti da callo riso
- Co-coltura espianti + Agrobacterium

17:30 - 19:00 - Screening molecolare degli eventi di editing - *Dott. Gianpiero Marconi, Prof.ssa Cinzia Comino*
- Screening PCR+T7 assay
- Interpretazione del risultato su gel

Venerdì 3 settembre 2021

09:00 - 12:30 - Analisi di sequenze per valutare editing/off-target - *Prof. Alberto Acquadro*

12:30 - 13:00 - QUESTIONARIO di gradimento, conclusione lavori e Saluti