

Attività formativa:	BIOLOGIA GENETICHE VEGETALI				
Modulo didattico:	BIOLOGIA MOLECOLARE DEGLI EUCARIOTI				
CFU	6				
Ore	60				
Tipo	Lezioni frontali (32 ore) ed esercitazioni (28 ore)				
Obiettivo formativo	Al termine del corso, lo studente ha conoscenze di base pe realizzare interventi biotecnologici sulle piante erbacee di interesse agrario, a supporto dell'attività di miglioramento genetico della produzione. In particolare, conosce e sa applicare le principali metodologie molecolari come la selezione assistita da marcatori e la trasformazione genetica.				
TEMATICA			LEZIONI (32 ORE)		
Tema	Obiettivo	Ore	Lezione	Argomenti	Durata (ore)
Introduzione	Lo studente conosce l'organizzazione del corso, della verifica e degli argomenti del corso	2	1	Organizzazione delle lezioni e modalità di verifica dell'apprendimento. Introduzione al corso e presentazione dei principali argomenti del corso con enfasi sugli aspetti applicativi delle biotecnologie genetiche di interesse agrario (es. selezione assistita con marcatori e ingegneria genetica). Ruolo delle biotecnologie vegetali nell'assicurare un adeguato livello di Food Security (sicurezza dell'approvvigionamento alimentare e di sostenibilita' delle produzioni agricole. Rivoluzione verde e conseguenze a livello planetario.	2
Organizzazione dei genomi delle piante	Lo studente conosce le modalità organizzative, strutturali e funzionali dei genomi e la struttura dei geni.	4	2	Richiami sulla struttura dei geni eucariotici ed implicazioni nello studio della struttura, organizzazione e funzionamento dei genomi delle piante. Geni nucleari ed organellari (cloroplasti e mitocondri) ed implicazioni nell'applicazione di metodiche di ingegneria genetica e nel miglioramento genetico delle piante (es. maschiosterilita' e produzione di seme ibrido).	2
			3	Struttura e dimensioni dei genomi delle piante, ruolo e rapporti tra eucromatina ed eterocromatina, ruolo dei trasposoni,metilazione, sintenia e microcolinearita'. Aspetti evolutivi nella complessita' dei genomi vegetali. Famiglie multigeniche, geni orologi ed omeologi.Ridondanza genetica e suo ruolo nell'evoluzione delle specie e nell'adattamento alle condizioni ambientali. Poliploidia.	2
Marcatori molecolari basati sul DNA	Lo studente acquisisce le nozioni per l'analisi dei polimorfismi del DNA tramite marcatori RFLP, RAPD, SSR, AFLP. Analisi di vantaggi e svantaggi di ogni classe di marcatori.	4	4	Richiami di genetica utili alla comprensione di come utilizzare l'informazione derivante dall'analisi dei marcatori molecolari. Ruolo della ricombinazione genetica e sua variabilita' lungo il cromosoma. Enzimi di restrizione, isoschizomeri. Caratteristiche ideali dei marcatori molecolari. Maractori: RFLP.	2

				Southern blotting. Sonde molecolari Profili RFLP e loro interpretazione.	
			5	Marcatori basati su tecnica PCR: RAPD, SSR, AFLP. Aspetti tecnici per ottenere profili molecolari RAPD, SSR, AFLP. Ruolo della lunghezza del primer nel determinare i rprofili molecolari. Analisi critica dei vantaggi e svantaggi di ogni classe di marcatori ed i costi relativi al loro utilizzo.	2
Popolazioni sperimentali per la mappatura di caratteri Mendeliani e quantitativi. Analisi QTL e sue applicazioni.	Lo studente acquisisce le nozioni su come costituire popolazioni sperimentali per mappare geni e QTL e sulle applicazioni dei marcatori molecolari: selezione assistita con marcatori e reincrocio assistito mediante l'uso dei marcatori.	8	6	Realizzazione di popolazioni sperimentali per la mappatura di loci per caratteri Mendeliani e caratteri quantitativi. Popolazioni di linee ricombinanti (RIL), linee di introgressione (IL), linee da interincrocio (IRIL) e doppi aploidi (DH). Risoluzione di mappa consentita dalle diverse categorie di popoolazioni di mappa.	2
			7	Richiami di genetica quantitativa. Concetto di QTL (Quantitative Trait Locus). Importanza dei QTL per la produttività delle colture agrarie. Cenni sui metodi analitici per identificare e mappare i QTL: metodo a singolo marcatore e metodo ad intervallo.	2
			8	Dimensioni delle popolazioni di mappa e numero di marcatori richiesti per l'analisi QTL. Analisi critica dell'approccio QTL. Interpretazione di risultati dell'analisi QTL. Selezione assistita con marcatori per caratteri Mendeliani e quantitativi.	2
			9	Reincrocio assistito con marcatori e suoi vantaggi sul metodo tradizionale. 1. Selezione del locus target; 2. selezione per ridurre il "linkage drag" attorno al locus target; 3. selezione del background genomico su tutti i cromosomi.	2
Analisi biodiversità delle piante coltivate e sequenziamento.	Lo studente acquisisce le nozioni per l'analisi della biodiversità delle piante e delle sequenze.	8	10	Analisi della biodiversità tra ed entro specie vegetali tramite marcatori molecolari. Metodi di analisi statistica per determinare la distanza genetica su base molecolare. Effetto della domesticazione sulla variabilità genetica. Eterosi e studi molecolari sulle cause dell'eterosi.	2
			11	Concetto di disequilibrio di associazione. Mappatura per associazione a livello dell'intero genoma. Popolazioni adatte per la mappatura per associazione. Vantaggi e svantaggi della mappatura per associazione.	2
			12	Metodi di sequenziamento. Sequenziamento dei genomi delle piante. Sequenziamento nelle specie	2

				poliploidi. Interpretazione dei risultati. Riquenziamento dei genomi. Marcatori SNP e loro importanza. Concetto di aploipo anche a fini di selezione.	
			13	Applicazioni dei dati di sequenziamento. Analisi del trascrittoma. Metodi per quantificare i trascritti. Cenni al TILLING per individuare mutanti a loci specifici.	2
Ingegneria genetica e sue applicazioni nelle piante di interesse agrario.	Lo studente acquisisce le nozioni sugli aspetti generali relativi alla trasformazione genetica delle piante e all'impiego degli OGMi in agricoltura.	6	14	Realizzazione di costrutti plasmidiali. Geni marcatori e geni reporter. Trasformazione genetica delle piante con Agrobacterium tumefaciens. Plasmide Ti e regione T con sequenze border. Plasmidi disarmati. Trasferimento del DNA all'ospite.	1
			15	Trasformazione genetica delle piante tramite metodo biolistico. Confronto tra metodo Agrobacterio e metodo biolistico. Inserzione cpie multiple e silenziamento geneico. Nuove metodiche di ingegneria genetica mirate al singolo gene.	2
			16	Applicazioni dell'ingegneria genetica in agricoltura. Esempi: mais e soja resistenti al glifosate; mais e cotone Bt;Golden Rice; piante arricchite in vitamine ed elementi nutritivi; piante resistenti a parassiti fungini	2
			17	Considerazioni socio-economiche sulle piante geneticamente modificate; brevettabilità e vincoli legislativi alla realizzazione di piante ingegnerizzate, alla loro coltivazione ed alla loro commercializzazione.	1
				ESERCITAZIONI (28 ORE)	
Estrazione di DNA da tessuti vegetali.	1 - Lo studente apprende ed utilizza le diverse metodiche per estrarre DNA genomico di buona qualità da tessuto fogliare.	4	1	Liofilizzazione e macinazione dei tessuti fogliari.	1
			2	Macinazione dei tessuti vegetali in N-liquido.	1
			3	Estrazione del DNA dai tessuti vegetali con kit preconfezionati.	1
			4	Estrazione del DNA con l'uso di solventi.	1
Controllo della qualità DNA genomico e sua quantificazione.	2 - Lo studente apprende ed utilizza le metodiche per il controllo della qualità del DNA genomico e per ottenere un marcatore molecolare polimorfico SSR.	4	1	Controllo della qualità e quantità del DNA genomico estratto tramite elettroforesi.	1
			2	Controllo della qualità e quantità DNA genomico tramite biofotometro.	1
			3	Illustrazione dei dettagli relativi al protocollo per ottenere un marcatore molecolare microsatellitare (SSR).	1
			4	Assemblaggio reagenti e programmazione termociclatore per ottenere un marcatore molecolare microsatellitare (SSR).	1
Separazione e clonaggio di	3 - Lo studente apprende ed utilizza le	4	1	Metodiche di ligazione di frammenti di DNA.	1

frammenti di DNA. Trasformazione di ceppi batterici.	metodiche di (i) elettroforesi per separare frammenti di DNA in gel di agarosio e (ii) clonaggio di sequenze di DNA mediante vettore pGEM.				
			2	Elettroforesi in gel di agarosio per separare frammenti di DNA da utilizzare come marcatori.	1
			3	Illustrazione del metodo di clonaggio di frammenti di DNA.	1
			4	Illustrazione del metodo di trasformazione di frammenti di DNA.	1
Sviluppo di un marcatore molecolare SCAR basato su sequenze note (visualizzazione in agarosio).	4 - Lo studente apprende ed utilizza le metodiche per sviluppare un marcatore molecolare SCAR basato su sequenze note e sua visualizzazione in agarosio.	4	1	Controllo delle piastre trasformate.	1
			2	o. Illustrazione di un metodo per lo sviluppo di marcatori genoma-specifici in frumento.	1
			3	Illustrazione di un protocollo per evidenziare polimorfismi tra piante tramite l'uso di un marcatore molecolare.	1
			4	Assemblaggio reagenti e PCR.	1
Realizzazione ed interpretazione di profili molecolari STS e visualizzazione in High Resolution Melting (HRM).	5 - Lo studente apprende ed utilizza le metodiche per ottenere un marcatore STS basato su sequenze note e sua visualizzazione in High Resolution Melting (HRM).	4	1	Elettroforesi per marcatori in agarosio.	1
				Assemblaggio dei reagenti e programmazione termociclatore.	
			2	Illustrazione protocollo marcatore in High Resolution Melting (HRM).	1
			3	Analisi di profili ottenuti tramite tecnica di High Resolution Melting (HRM).	1
Realizzazione di una mappa genetica.	6 - Lo studente apprende ed utilizza le nozioni fondamentali richieste per realizzare una mappa genetica tramite l'uso di profili molecolari.	4	4	Assemblaggio reagenti e programmazione termociclatore per realizzare un protocollo marcatore in High Resolution Melting (HRM).	1
			1	Verifica risultato marcatore HRM.	1
			2	Prova pratica utilizzo software per mappe di linkage.	1
			3	Prova pratica utilizzo software per mappe di linkage.	1
Mappatura per associazione.	7 - Lo studente apprende ed utilizza le nozioni fondamentali richieste per realizzare l'analisi di mappatura per associazione per caratteri di interesse agronomico.	4	4	Prova pratica utilizzo software per mappe di linkage.	1
			1	Teoria e prove di utilizzo software per association mapping.	1
				Assemblaggio reagenti e programmazione termociclatore.	
			2	Prove di utilizzo di software per association mapping	1
			3	Prove di utilizzo di software per association mapping.	1
			4	Analisi dei risultati ottenuti tramite analisi di association mapping.	1