

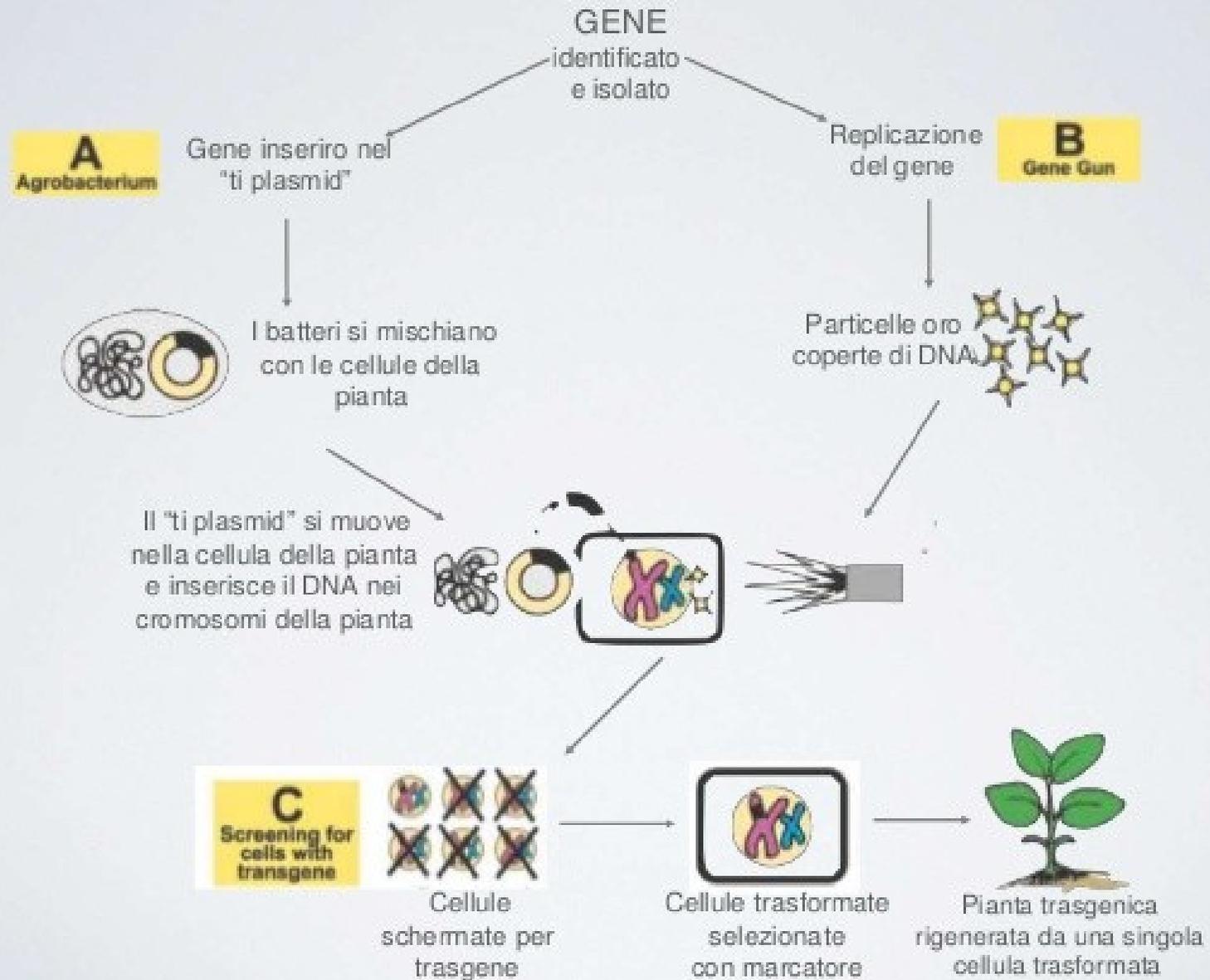
AGRARIA DAY 22.10.2016

FABIO VERONESI



OGM e Cisgenesi: in cosa differiscono tra loro?

OTTENIMENTO DI PIANTE TRANSGENICHE



- **transgenici**: la sequenza di DNA inserita proviene da un organismo che non si può incrociare sessualmente con l'organismo ricevente;
- **intragenici**: la sequenza di DNA proviene dalla stessa specie che viene trasformata o da specie sessualmente compatibili, ma in laboratorio è stata modificata oppure è stata alterata la porzione che ne regola l'espressione naturale (la cosiddetta sequenza regolatrice di un gene, che "decide" quando, quanto e in quali organi il gene è espresso);
- **cisgenici**: la sequenza proviene dalla stessa specie che viene trasformata o da specie sessualmente compatibili; la sequenza non è stata modificata e conserva la propria porzione regolatrice. Per quanto riguarda la caratteristica desiderata, il prodotto risultante è equivalente a quello che si potrebbe ottenere per introgressione tramite reincrocio, ma con il vantaggio di inserire il solo gene desiderato ma non altri geni provenienti dal genitore donatore.

Genome editing
attraverso Sequence
Specific Nucleases
(SSN)



Nuclease-induced
double-strand break

NHEJ

NHEJ: Native non
Homologous End
Joining
HDR: Homolous
Directed Repair

Deletions



Insertions



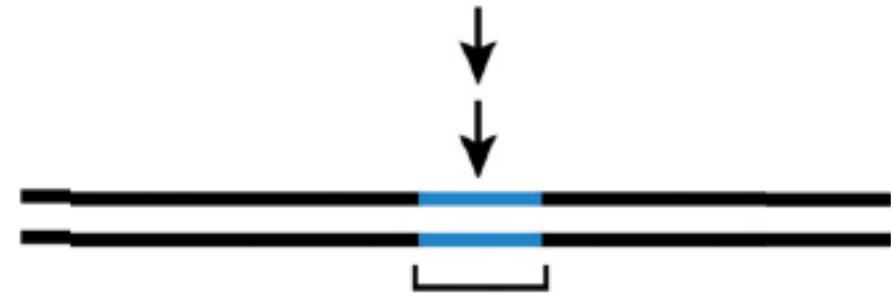
Variable length
insertions/deletions



Donor
template



HDR

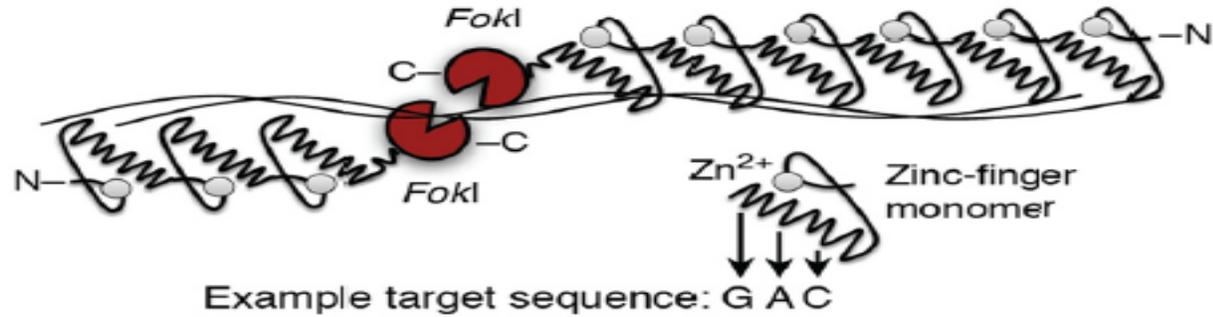


Precise insertion or modification

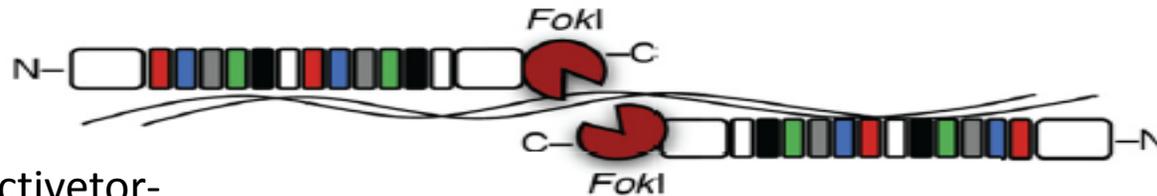
Meganuclease



Zinc-finger nucleases



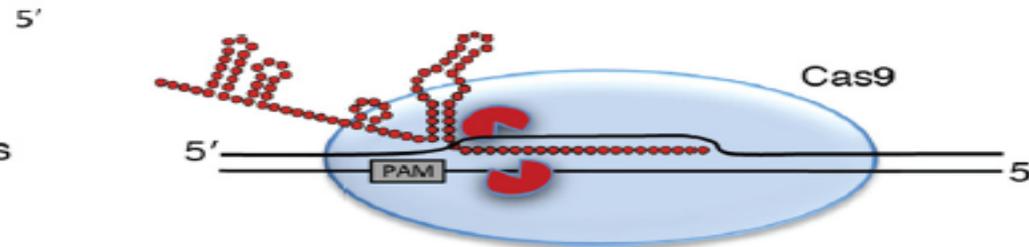
TALENs



Transcription Activator-Like Effector Nuclease



CRISPR/Cas



Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

New Plant Breeding Techniques (NPBT)

Site Directed Nucleases (SDN1, SDN2, SDN3)

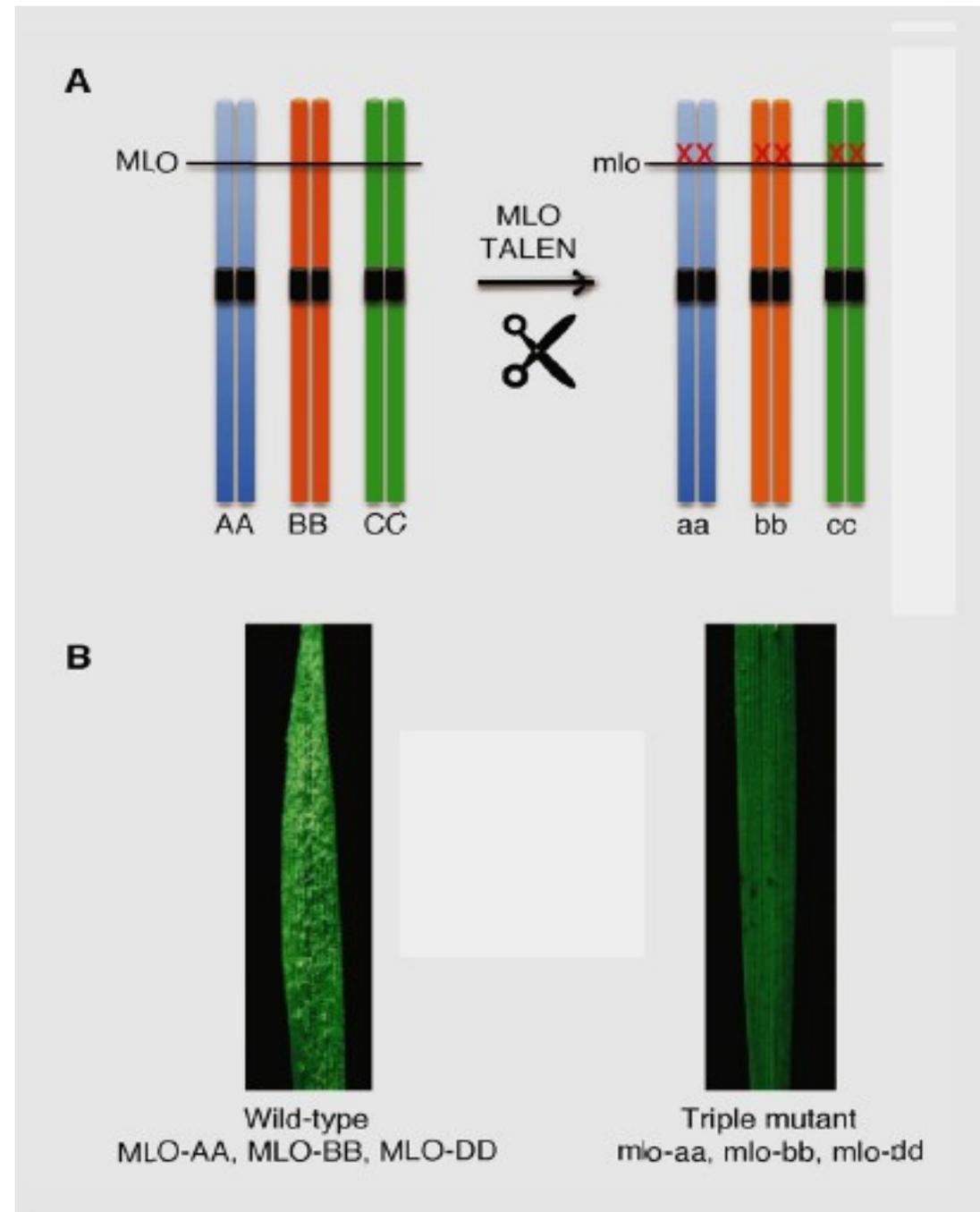
SDN1: la nucleasi opera il taglio nella molecola di DNA e il meccanismo di riparazione cellulare del DNA provvede a risaldare le estremità. Frequentemente, questo processo di riparazione produce mutazioni nel sito scelto per il taglio, che possono consistere in sostituzioni nucleotidiche oppure l'aggiunta o perdita di uno o pochi nucleotidi.

SDN2: oltre ad usare la nucleasi per introdurre il taglio nella molecola di DNA, si utilizza anche una molecola di DNA che funziona nella cellula come "stampo" per riparare la lesione. Pur non venendo integrata nel genoma, tale molecola guida la riparazione. In questo modo, invece di ottenere mutazioni casuali si ottengono mutazioni precise e volute, che possono consistere in specifiche sostituzioni di nucleotide oppure aggiunte o perdite di nucleotidi, in funzione della sequenza che viene usata come stampo.

SDN-3: al taglio in un sito predefinito operato dalla nucleasi si può far seguire l'integrazione di una nuova sequenza nel sito stesso, producendo così una pianta transgenica, intragenica o cisgenica a seconda dell'origine e della natura della sequenza inserita.

Mal bianco dei cereali (oidio),
Blumeria graminis f. sp. *tritici*

GEO: Genetically Edited Organism



Triticum aestivum
L., $2n=6x=42$),
AABBDD

Gli alleli dominanti **MLO** rendono la pianta suscettibile, gli alleli recessivi **mlo** inducono resistenza

Il miglioramento genetico e l'attuale normativa europea per gli OGM (Direttiva 2001/18/EC)

Ogni pianta OGM deve ottenere un'autorizzazione alla coltivazione e commercializzazione ai sensi della Direttiva 2001/18/EC del Parlamento Europeo e del Consiglio. I punti più rilevanti di questa direttiva per la tematica che stiamo discutendo sono i seguenti

L'articolo 2 recita:

Definizioni

«organismo geneticamente modificato (OGM)», un organismo, diverso da un essere umano, il cui materiale genetico è stato modificato in modo diverso da quanto avviene in natura con l'accoppiamento e/o la ricombinazione genetica naturale.

Ai fini della presente definizione:

a) una modificazione genetica è ottenuta almeno mediante l'impiego delle tecniche elencate nell'allegato I A, parte 1.

L'articolo 3 specifica:

Deroghe

1. La presente direttiva non si applica agli organismi ottenuti con le tecniche di modificazione genetica di cui all'allegato I B.

Allegato 1A

TECNICHE DI CUI ALL'ARTICOLO 2, PARAGRAFO 2

PARTE 1

Le tecniche di modificazione genetica di cui all'articolo 2, paragrafo 2, lettera a), comprendono tra l'altro:

1) tecniche di ricombinazione dell'acido nucleico che comportano la formazione di nuove combinazioni di materiale genetico mediante inserimento in un virus, un plasmide batterico o qualsiasi altro vettore, di molecole di acido nucleico prodotte con qualsiasi mezzo all'esterno di un organismo, nonché la loro incorporazione in un organismo ospite nel quale non compaiono per natura, ma nel quale possono replicarsi in maniera continua;

2) tecniche che comportano l'introduzione diretta in un organismo di materiale ereditabile preparato al suo esterno, tra cui la microiniezione, la macroiniezione e il microincapsulamento;

3) fusione cellulare (inclusa la fusione di protoplasti) o tecniche di ibridazione per la costruzione di cellule vive, che presentano nuove combinazioni di materiale genetico ereditabile, mediante la fusione di due o più cellule, utilizzando metodi non naturali.

Allegato I B

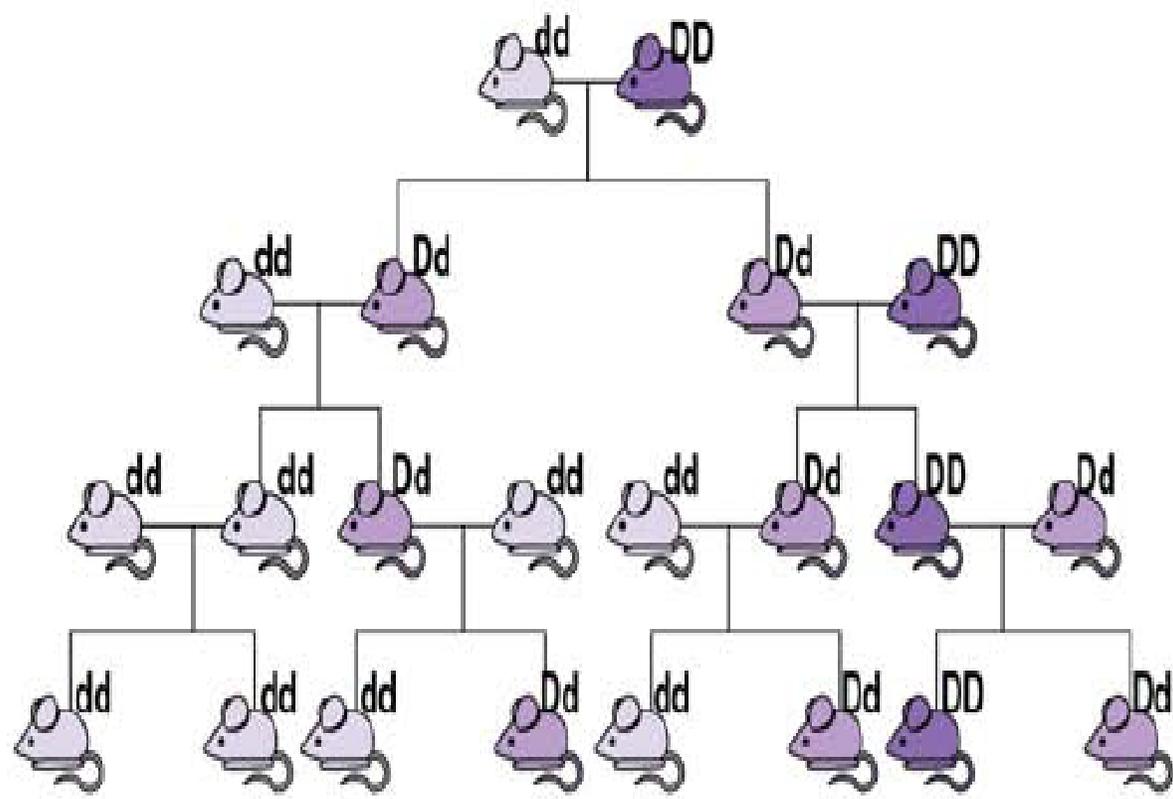
TECNICHE DI CUI ALL'ARTICOLO 3

Le tecniche o i metodi di modificazione genetica che implicano l'esclusione degli organismi dal campo di applicazione della presente direttiva, a condizione che non comportino l'impiego di molecole di acido nucleico ricombinante o di organismi geneticamente modificati diversi da quelli prodotti mediante una o più tecniche oppure uno o più metodi elencati qui di seguito sono:

1. la mutagenesi;

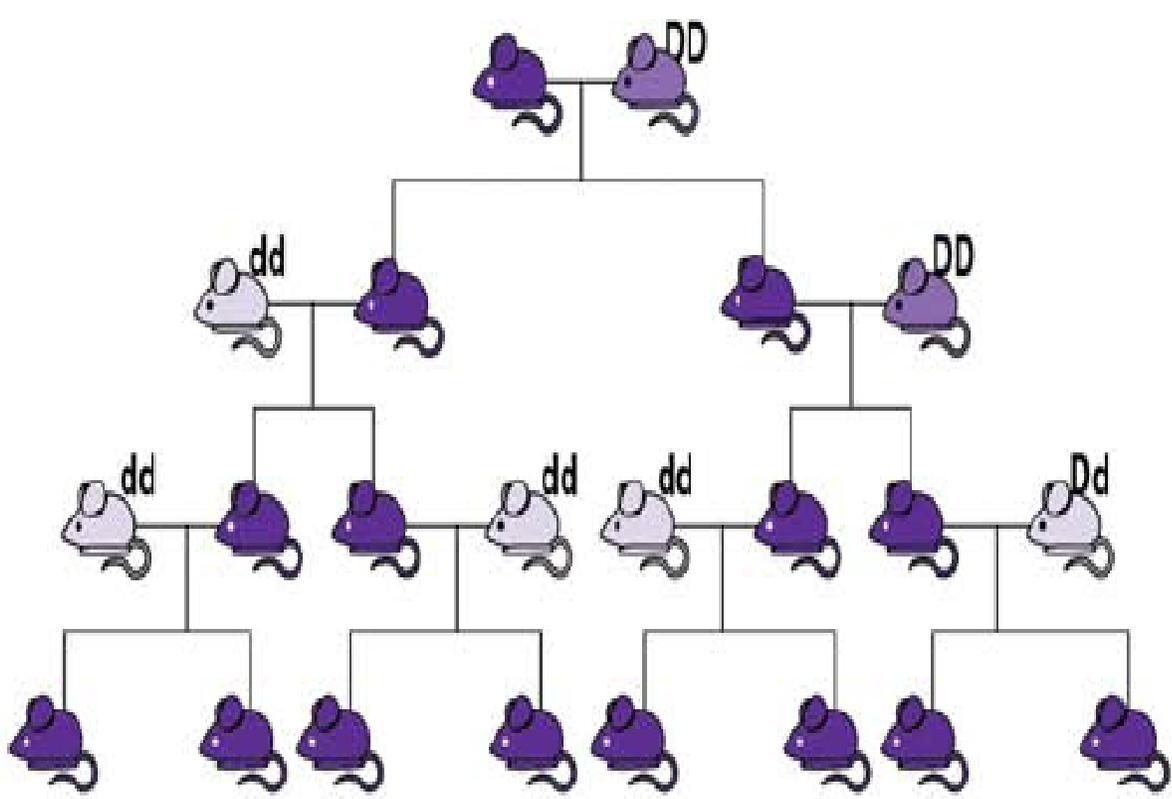
2. la fusione cellulare (inclusa la fusione di protoplasti) di cellule vegetali di organismi che possono scambiare materiale genetico anche con metodi di riproduzione tradizionali.

Mendelian Inheritance



GENE DRIVE

Gene Drive Inheritance



-  Homozygous recessive (dd) mouse
-  Homozygous dominant (DD) mouse
-  Heterozygous dominant (Dd) mouse
-  Gene-drive modified mouse