



Società Italiana di Genetica Agraria
CORSO TEORICO-PRATICO 2024

New Genomic Techniques: CRISPR/Cas9 in tomato and wheat

La Società Italiana di Genetica Agraria organizza il corso teorico-pratico intitolato "**New Genomic Techniques: CRISPR/Cas9 in tomato and wheat**", che si svolgerà da martedì 2 luglio 2024 a venerdì 5 luglio 2024 a Roma, Via Ardeatina 546, presso il Centro di Genomica e Bioinformatica del Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA-GB). Il Corso è organizzato dal Dott. Fabio D'Orso (CREA-GB) e dalla Prof.ssa Stefania Masci (Università della Tuscia).

Aperto ad un massimo di 20 partecipanti, il corso è rivolto principalmente a dottorandi/e e assegnisti/e di ricerca che intendano imparare la metodologia del Genome Editing applicata al pomodoro e al frumento. In particolare, il corso è strutturato con una prevalenza di attività pratiche in laboratorio, con l'applicazione del protocollo della metodologia del Genome Editing su materiale vegetale e con lezioni teoriche per introdurre l'argomento e per effettuare il disegno delle guide e l'analisi degli eventi di editing.

Gli/Le interessati/e a partecipare al corso sono pregati/e di compilare la scheda di preregistrazione allegata e di inviarla entro il 20 maggio 2024 alla Segreteria SIGA (segretario@geneticagraria.it), specificando "Corso SIGA" nell'oggetto della mail.

Titolo preferenziale per l'ammissione al Corso sarà essere Socio/a SIGA o appartenente a gruppi di ricerca diretti da Soci/e SIGA. Nel caso pervenga un eccesso di candidature rispetto ai posti disponibili, verrà selezionata una sola persona per gruppo di ricerca. Per l'accesso al corso verrà valutata l'attinenza e il potenziale impiego della tecnica per lo svolgimento delle attività di ricerca del/la candidato/a.

Entro il 5 giugno 2024 le persone ammesse al Corso saranno contattate dalla Segreteria SIGA per le istruzioni relative al versamento della quota di partecipazione, che ammonta a:

- Euro 350 per i partecipanti soci/e SIGA e per partecipanti non strutturati;
- Euro 450 per i partecipanti non soci/e SIGA strutturati di Enti di Ricerca pubblici;
- Euro 550 per partecipanti afferenti a Ditte private.

Le quote comprendono i materiali didattici, i pranzi e coffee break indicati nel programma e un evento sociale. Non comprendono il pernottamento.

Il programma dettagliato e la scheda di pre-registrazione sono scaricabili dal sito della Società all'indirizzo <http://www.geneticagraria.it>.

Alla fine del Corso sarà consegnato l'attestato di partecipazione.

I/le dottorandi/e potranno effettuare, su richiesta, la valutazione dell'apprendimento se necessaria per l'accREDITAMENTO di CFU da parte dei rispettivi corsi di dottorato.

Il Presidente
Prof. Silvio Salvi

I Co-Direttori del corso
Dott.ssa Giorgia Batelli
Dott. Riccardo Aiese Cigliano



CORSO TEORICO-PRATICO SIGA
"New Genomic Techniques: CRISPR/Cas9 in tomato and wheat"

CREA – Genomica e Bioinformatica
Roma, 2-5 July 2024

PROGRAMME

Tuesday, July 2nd 2024

14:00 - 14:30 - Introduction to the course and welcome addresses – *Prof. Silvio Salvi* (President, SIGA) – *Dr. Luigi Cattivelli* (Director, CREA-GB) – Welcome Coffee

14:30 - 15:30 - New Genomic Techniques – *Prof. Stefania Masci* (UniTUS)

15:30 - 16:30 – Cloning systems available for gene editing– *Dr. Fabio D’Orso* (CREA-GB)

16:30 - 17:30 – Tissue culture: Wheat – *Prof. Domenica Nigro* (UniBA), *Dr. Chiara D’Attilia* (UniTUS)

17:30 - 18:30 - Tissue culture: Tomato – *Dr. Alessandro Nicolìa* (CREA-OF)

Wednesday July 3rd 2024

09:00 - 10:00 – The Golden Gate cloning system, workflow to obtain your plasmids – *Dr. Fabio D’Orso* (CREA-GB)

10:00 - 11:30 - *Dr. Fabio D’Orso* (CREA-GB) – *Dr. Alessandro Nicolìa* (CREA-OF) – *Dr. Chiara D’Attilia* (UniTUS)

- Concepts to design specific and efficient RNA guides;
- RNA guide selection and off-target evaluation using *ad hoc* softwares (CRISPOR, CRISPR-P, CRISPR RGEN softwares)
- Virtual construct assembly through Golden Gate cloning tools (Geneious software)
- Systems for guide validation (*In vitro* validation, agroinfiltration, protoplasts, hairy roots)

11:30 - 12:00 – Coffee Break

12:00 - 13:30 - Practice: gRNA design and construct assembly *in silico*, bring your own gene!

13:30 - 14:30 - Lunch

14:30 - 16:15 – Practice 1: Tomato tissue culture – *Dr. Marco Possenti* (CREA-GB), *Dr. Alessandro Nicolìa* (CREA-OF), *Dr. Giorgia Batelli* (CNR-IBBR), *Dr. Valentina Forte* (CREA-GB)

- Preparation of explants from cotyledons for transformation with *Agrobacterium* and protoplast isolation
- Co-culture with *Agrobacterium*
- Protoplast isolation: digestion with cell wall-degrading enzymes

16:15 - 16:45 – Coffee Break

16:45 - 18:30 – Practice 2: Wheat tissue culture - *Dr. Chiara D'Attilia* (UniTUS), *Prof. Domenica Nigro* (UniBA)
- Spike threshing, seed sterilization

Thursday, July 4th 2024

9:00 - 13:00 – Practice 1: Tomato tissue culture – *Dr. Marco Possenti* (CREA-GB), *Dr. Alessandro Nicolìa* (CREA-OF), *Dr. Giorgia Batelli* (CNR-IBBR), *Dr. Valentina Forte* (CREA-GB)
- transfer of calli, shoot excision, transfer on rooting media
- protoplast isolation: filtration, washes, description of transfection steps
- visualization of protoplasts transformed with fluorescent markers

11:00 - 11:30 - Coffee Break

13:00 - 14:00 - Lunch

14:00 - 18:00 - Practice 2: Wheat tissue culture - *Dr. Chiara D'Attilia* (UniTUS), *Prof. Domenica Nigro* (UniBA)
- embryo isolation, axis removal, stereoscope visualization
- Co-culture with *Agrobacterium*
- biolistic transformation
- transfer of calli and putative transformants

16:00 - 16:30 – Coffee Break

20:30 - Dinner

Friday, July 5th 2024

09:00 - 10:30 – Whole genome sequencing vs. targeted (amplicon sequencing) approaches for analysis of edited individuals, off-target identification and T-DNA free plants *Dr. Riccardo Aiese Cigliano* (Sequentia Biotech)

10:30 – 11:00– Coffee Break

11:00 – 12:00 – Methods of sequence analysis for editing/off-target evaluation– multiallelism, polyploidy *Dr. Fabio D'Orso* (CREA-GB), *Dr. Chiara D'Attilia* (UniTUS)

12:00 – 13:00 –Analysis of edited individuals through Sanger sequencing + ICE analysis

13:00 - 13:30 - Questionnaire, Learning assessment (upon request), Closure of course



CORSO SIGA

"New Genomic Techniques: CRISPR/Cas9 in tomato and wheat"

Roma, 2-5 Luglio 2024

Scheda di pre-registrazione

Cognome:		Nome:	
Data di nascita:		Posizione:	
Telefono:	Cell.:	Email:	
Istituzione di appartenenza:			
Group leader (*):			

(*) Da indicare nel caso il richiedente non sia Socio SIGA

Breve *curriculum vitae* (max 10 righe; indicare anche titolo laurea magistrale ed eventuale dottorato)

Motivazione della partecipazione al corso (max 2 righe)

Si prega di compilare la scheda e di inviarla via e-mail, entro il 20 Maggio 2024, alla Segreteria della SIGA (segretario@geneticagraria.it) specificando "Corso SIGA" nell'area *Oggetto* della mail.