



## **LINEE GUIDA PER LA VERIFICA DELLE CONSEGUENZE GENOMICHE DEGLI INTERVENTI DI MUTAGENESI SITO-SPECIFICA E CISGENESI**

La proposta di Regolamento “relativo alle piante ottenute mediante alcune nuove tecniche genomiche, nonché agli alimenti e ai mangimi da esse derivati”, presentata dalla Commissione Europea il 5 luglio 2023, è stata in seguito analizzata dalle altre due Istituzioni dell’UE - Parlamento e Consiglio –, ciascuna delle quali ha proposto modifiche che sono attualmente in discussione fra le tre Istituzioni per giungere ad un testo condiviso da approvare. In tale testo, e con piccole modifiche formali proposte dal Parlamento e dal Consiglio, una pianta NGT è definita come “una pianta geneticamente modificata ottenuta mediante **mutagenesi mirata** o **cisgenesi**, o una loro combinazione, a condizione che **non contenga alcun materiale genetico non proveniente dal pool genetico dei selezionatori che possa essere stato temporaneamente inserito durante lo sviluppo della pianta NGT**”. Il pool genetico dei selezionatori (breeders’ gene pool) è a sua volta definito come “il totale delle informazioni genetiche disponibili in una specie e in altre specie tassonomiche con cui la specie in questione può essere incrociata, anche utilizzando tecniche avanzate quali il salvataggio degli embrioni, la poliploidia indotta e gli incroci ponte”.

A livello nazionale, per consentire lo svolgimento delle attività di ricerca, nelle more dell’adozione, da parte dell’UE, di una disciplina organica in materia, prima il Decreto Legge n. 39/2023 e poi il DL n. 63/2024 (convertiti, rispettivamente, nelle Leggi n. 68/2023 e n. 101/2024) hanno regolamentato in via temporanea l’emissione deliberata nell’ambiente di organismi prodotti con tecniche di mutagenesi sito-diretta o di cisgenesi a fini sperimentali e scientifici.

Al fine di promuovere la sperimentazione in campo delle piante ottenute mediante mutagenesi sito-specifica e cisgenesi, nelle more dell’approvazione del Regolamento EU in discussione e nel contesto normativo vigente, la Società Italiana di Genetica Agraria raccomanda che, prima dell’immissione in campo, il genoma di tali piante sia caratterizzato con la massima accuratezza, utilizzando le tecnologie più avanzate. In particolare, per accertarsi che la pianta ricada nella definizione di NGT, le suddette analisi dovranno:

- a) verificare l’assenza di sequenze estranee al breeders’ gene pool;
- b) individuare le mutazioni *target* e *off-target* riconducibili alla tecnologia utilizzata di mutagenesi sito-specifica o cisgenesi.

A questi fini, si raccomanda il sequenziamento dell’intero genoma sia della linea che si intende sperimentare in campo, risultante dalle modificazioni, sia della linea di partenza, prima delle modificazioni.

Il sequenziamento genomico può essere effettuato con tecnologie *short reads* con una copertura minima di 20X per aplotipo (cioè 20X per linee omozigoti, 40X per individui eterozigoti). Le linee modificate vanno considerate eterozigoti in quanto le modifiche introdotte possono essere in eterozigosi. Ove possibile si può ricorrere in alternativa al sequenziamento *long reads* con copertura minima di 10X per aplotipo.

Le analisi bioinformatiche successive si baseranno sull’allineamento delle sequenze ottenute su una sequenza genomica di riferimento, ove disponibile, e alle sequenze esogene note (es. vettori) che siano state utilizzate nel processo che ha portato all’ottenimento della pianta in esame.

Il sequenziamento del genoma e le analisi bioinformatiche vanno condotte anche sulle piante che dopo l’evento iniziale di modificazione genetica siano state sottoposte a procedimenti di incrocio e segregazione per eliminare sequenze esogene.

Le presenti linee guida sono suscettibili di aggiornamento in funzione della legislazione e del progresso delle tecnologie di editing genomico, di sequenziamento genomico e bioinformatiche.