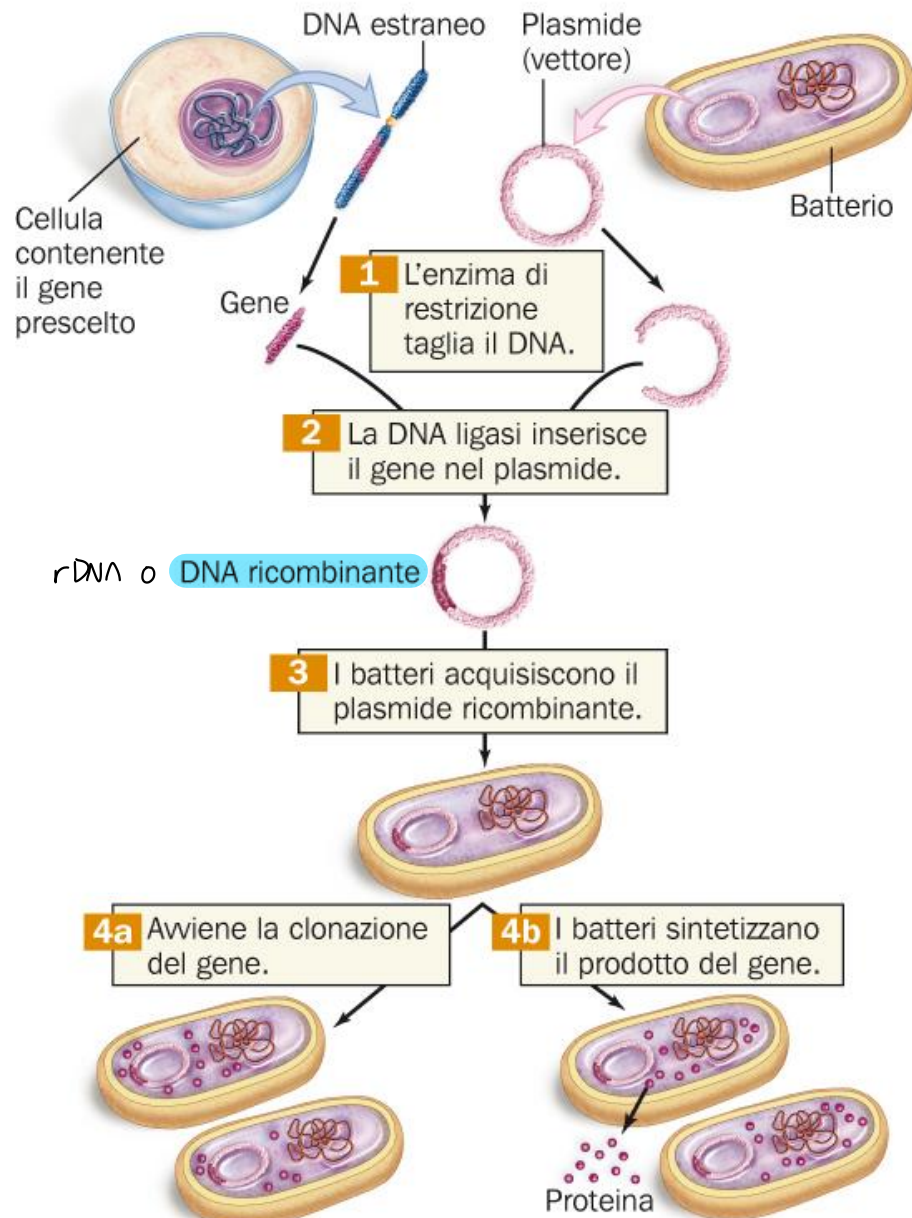


# Singoli geni possono essere isolati, inseriti in batteri e quindi clonati



Per clonare un gene, si estrae un plasmide da un batterio e il DNA con il gene di interesse da un'altra cellula.

I frammenti di DNA vengono uniti dall'enzima **DNA ligasi** a formare un *plasmide ricombinato* (rDNA).

Attraverso la trasformazione batterica si fa in modo che il plasmide penetri nel batterio; esso diviene così un **organismo geneticamente modificato (OGM)**, in grado di esprimere il gene estraneo.

Clonazione ≠ Clonaggio

**ZANICHELLI**

Clonazione: intero individuo che viene replicato, ed

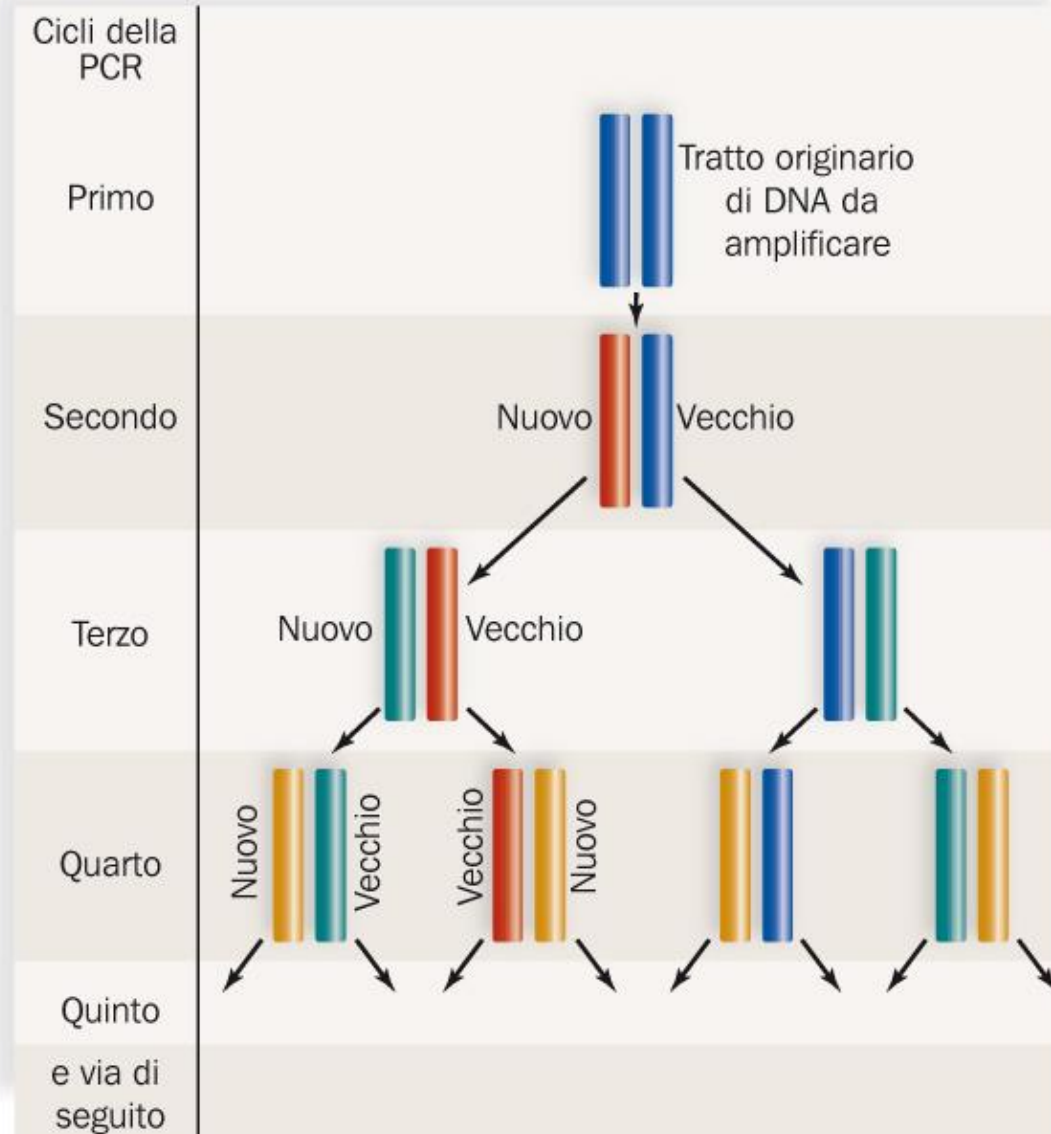
Dolly

Clonaggio: un singolo gene che viene replicato più

volte, vengono utilizzati per essere inseriti in

altre cellule per acquisirne le caratteristiche

# Con la PCR si possono ottenere molte copie di specifiche sequenze di DNA



La reazione a catena della polimerasi (PCR) può creare in provetta molte copie di un segmento di DNA assai rapidamente. La PCR richiede l'uso della DNA polimerasi, l'enzima che si occupa della duplicazione del DNA, e una fornitura di nucleotidi per la formazione del nuovo DNA.

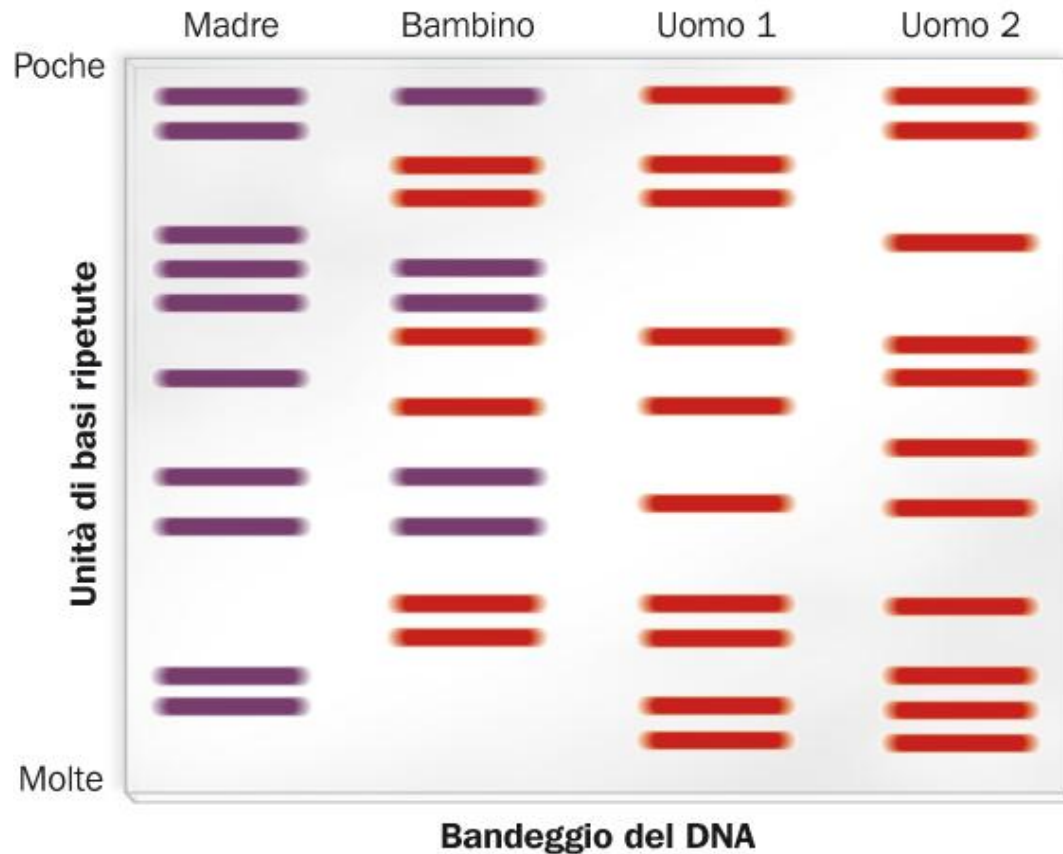
**ZANICHELLI**

Con questo, si vanno a creare tante copie di uno stesso frammento per poter fare tanti esperimenti sullo stesso materiale

# Con la PCR si possono ottenere molte copie di specifiche sequenze di DNA

La PCR sta alla base di importanti analisi del DNA, come il **DNA fingerprinting** («impronta digitale» del DNA) e gli studi evoluzionistici.

Usato tanto in medicina forense

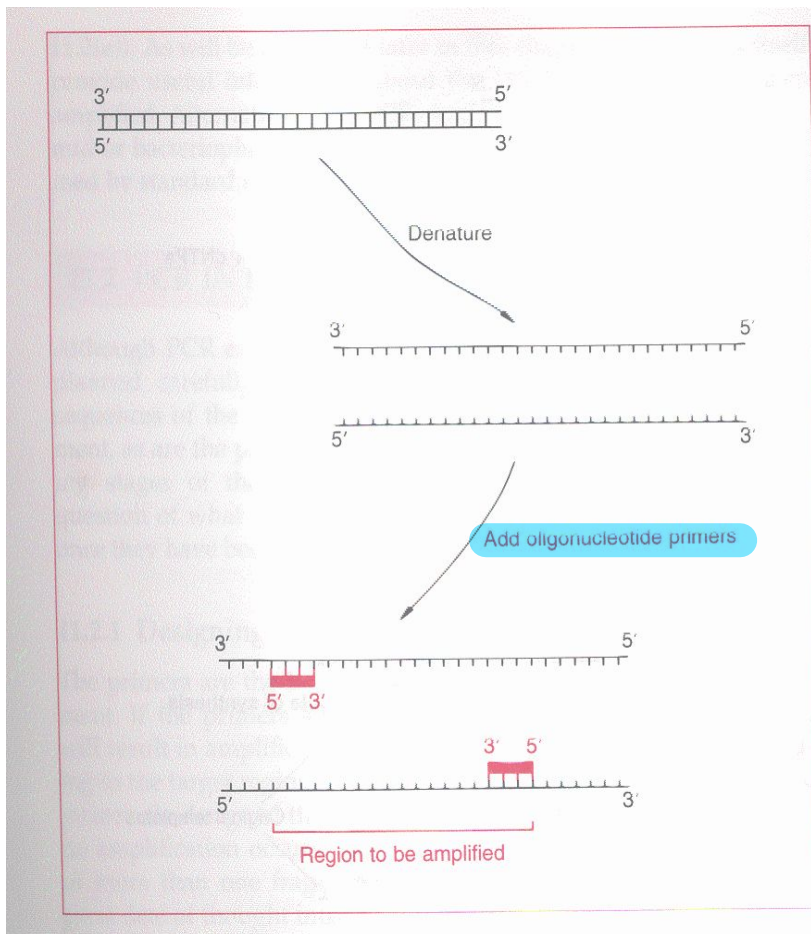


Il *DNA fingerprinting* di specifiche unità di basi ripetute in varie posizioni del genoma, per la determinazione di paternità tra due potenziali padri.

**ZANICHELLI**

# Cos'è la PCR (Polymerase Chain Reaction) ?

- ♦ E' una tecnica per l'amplificazione "in vitro" di specifiche sequenze di DNA, attraverso la simultanea estensione di filamenti complementari di DNA.
- ♦ Il metodo fu inventato da Mullis e colleghi della Cetus Corporation nel 1987, sfruttando una reazione naturale compiuta dalla DNA polimerasi



1. Denaturazione DNA
2. Raffreddamento necessario per il processo di ibridizzazione
3. Sintesi della regione da amplificare a opera della polimerasi (fase di estensione)

# Le FASI della PCR

## DENATURAZIONE:

Il DNA viene denaturato mediante riscaldamento in provetta a  $\sim 92-95^{\circ}\text{C}$

## ANNEALING:

La miscela viene raffreddata fino a raggiungere la temperatura che garantisce la specifica ibridazione dei primers alle regioni dello stampo ad essi complementari

**ALLUNGAMENTO:** Viene usata la **TAC polimerasi**, polimerasi termostabile

La temperatura della miscela viene portata a  $68-72^{\circ}\text{C}$  consentendo alla DNA polimerasi termostabile di sintetizzare il filamento complementare allo stampo a partire dall'innesco oligonucleotidico



# Gli organismi possono essere geneticamente modificati

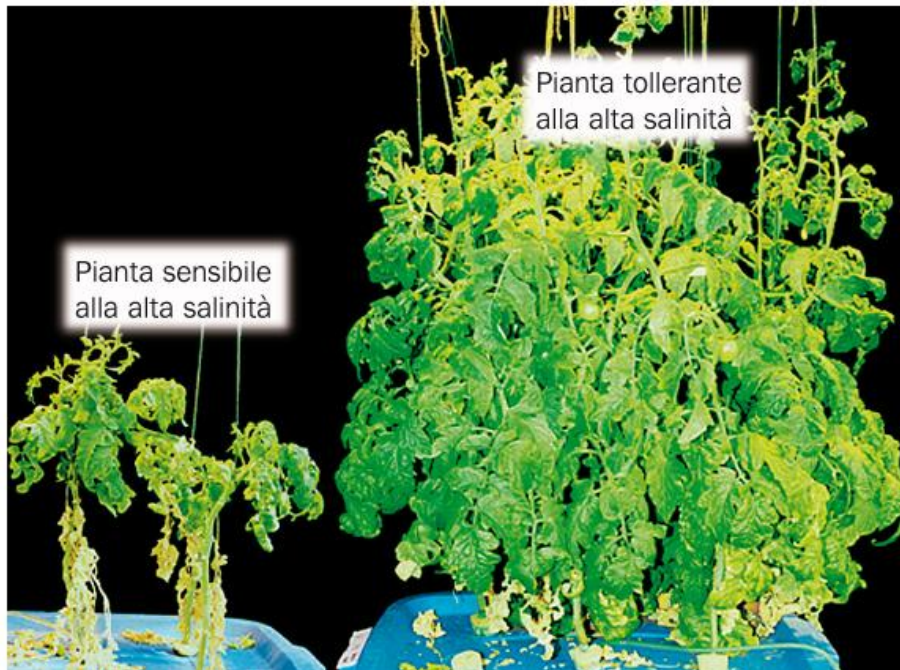
Grazie alle tecnologie del DNA ricombinante, i batteri possono essere **geneticamente modificati (GM)** per vari impieghi. Prodotti biotecnologici ricavati dai batteri GM vengono impiegati nel campo della medicina, nell'ambito delle tecnologie per il miglioramento agrario, nel contesto dei servizi per potenziare le naturali capacità di degradare particolari sostanze e in molti altri ambiti. → DIGERIRE le PLASTICHE



**ZANICHELLI**

# Le piante vengono modificate per migliorare i raccolti o produrre sostanze

L'ingegneria genetica viene utilizzata anche per migliorare le **qualità organolettiche** delle piante e renderle **più resistenti** a insetti patogeni e a condizioni ambientali estreme (sale, siccità, freddo).



Miglioramenti della fase di coltivazione	
Resistenza agli erbicidi	Frumento, mais, patata
Resistenza agli erbicidi	Frumento, riso, barbabietola da zucchero, colza
Tolleranza al sale	Cereali vari, riso, barbabietola da zucchero
Resistenza alla siccità	Cereali vari, riso, barbabietola da zucchero
Resistenza al freddo	Cereali vari, riso, barbabietola da zucchero
Aumento della resa	Cereali vari, riso, mais, cotone
Modifica della polpa di legno	Alberi
Miglioramenti delle qualità organolettiche	
Contenuto di acidi/oli salutari	Mais, soia
Contenuto di proteine/amido	Cereali vari, patata, soia, riso, mais
Contenuto di amminoacidi	Mais, soia

**ZANICHELLI**

# Sono sani gli alimenti derivati dall'ingegneria genetica?

**La legge sulle coltivazioni OGM** varia da Stato a Stato; in generale, in Europa la legge è più restrittiva che negli Stati Uniti. In Italia la legge non permette coltivazioni GM se non a scopo di ricerca, ma ne permette l'importazione.

I problemi a lungo termine legati alla coltivazione di piante GM riguardano:

- **i rischi ambientali;**
- **gli impatti ecologici;**
- **gli effetti sulla salute e le allergie;**
- **gli impatti sulla biodiversità.**

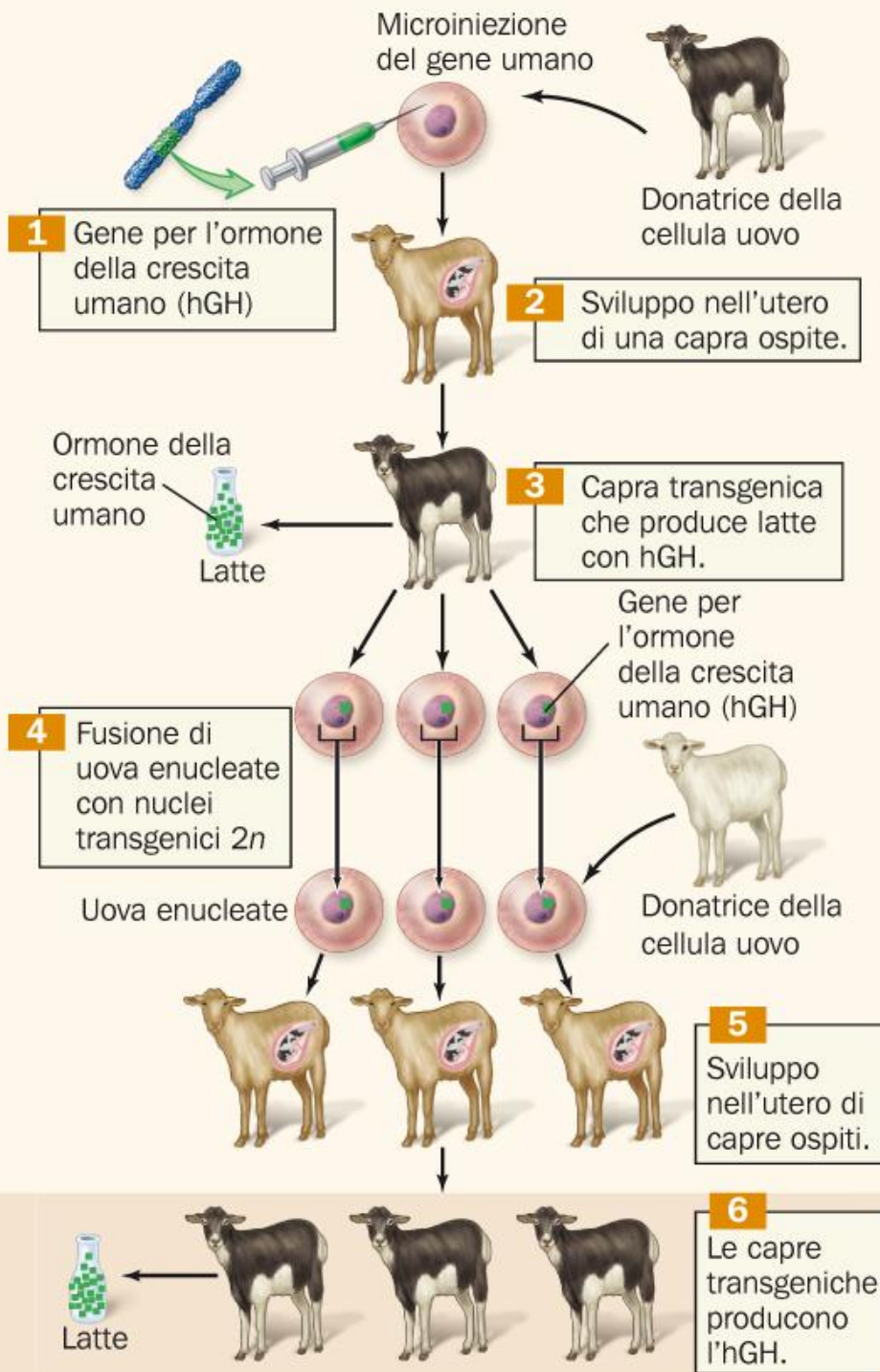
Non abbiamo statistiche, non sappiamo gli effetti a lungo termine. Oltre ai geni per migliorarne le prestazioni, veniva messo un **gene terminatore**, per far sì che gli effetti della modifica genetica di esaurissero dopo un paio di anni.

Questo perché una volta comprato un prodotto, i coltivatori non ne avrebbero più avuto bisogno, avrebbero riusato il seme dei prodotti.

**ZANICHELLI**



# Gli animali vengono modificati per esaltare tratti scelti o ottenere prodotti



- Gli animali GM possono produrre principi attivi **farmaceutici**.
- I topi GM sono usati per la **ricerca genetica**, anche applicata allo studio delle malattie umane.
- Alcuni animali GM possono essere usati come donatori di organi (**xenotrapianto**).
- Alcuni mammiferi sono usati per creare femmine GM che producono latte contenente l'**ormone della crescita** (hGH).

ZANICHELLI

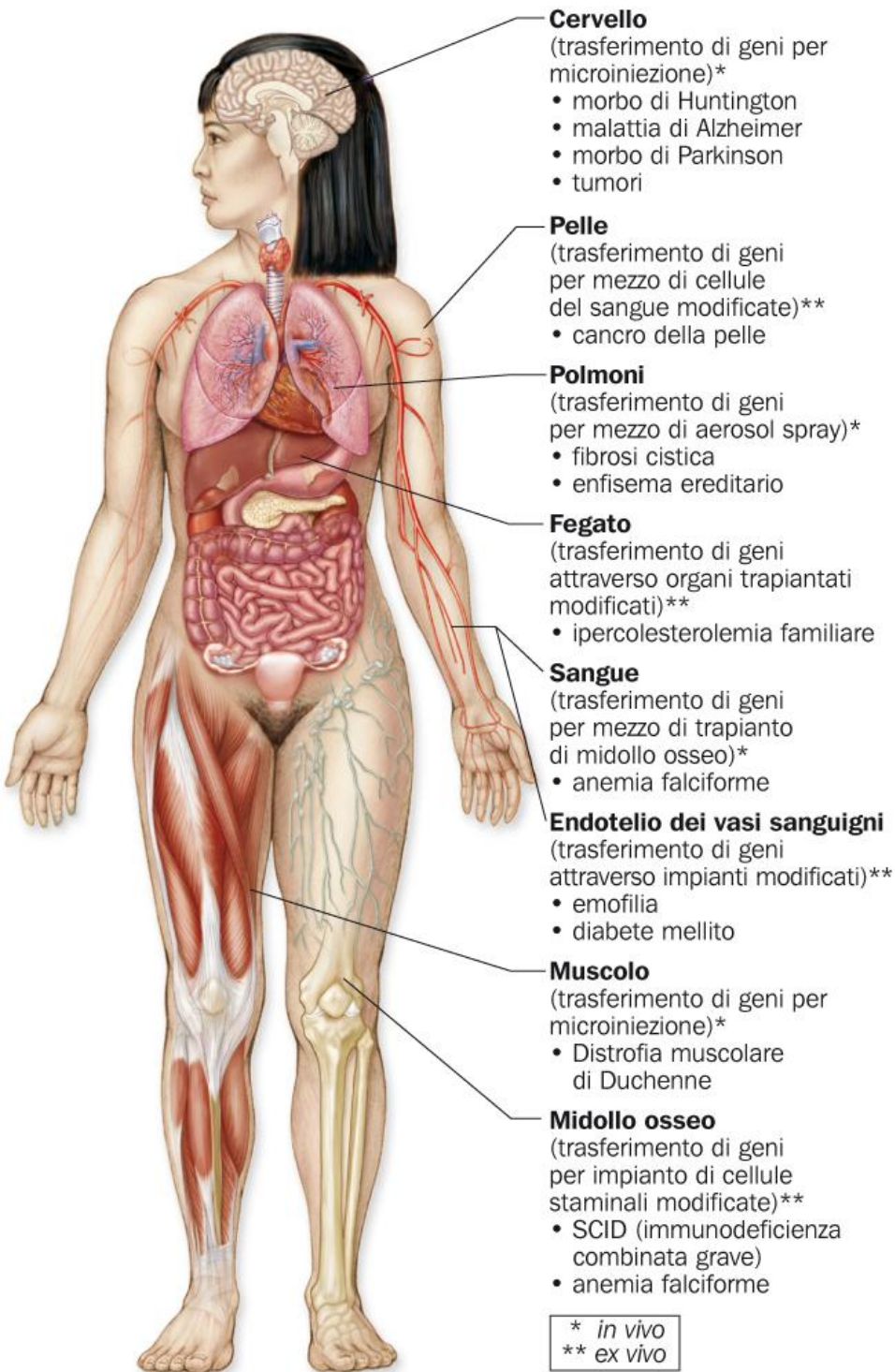
# La terapia genica umana offre nuove prospettive di cura

Il DNA della nostra specie è stato sequenziato con il **Progetto Genoma Umano** (PGU). Grazie al PGU oggi conosciamo l'ordine dei circa **tre miliardi di basi** del nostro DNA.

La **terapia genica** consente di inserire un gene «sano», ma estraneo, in cellule di pazienti affetti da malattie genetiche.

La terapia genica può essere ***in vivo*** se il gene viene direttamente iniettato nel paziente, o ***ex vivo*** se si usa un virus vettore.

**ZANICHELLI**



# La genetica offre nuove possibilità nel campo della medicina

Secondo la maggior parte dei biologi di tutto il mondo il fatto di conoscere, grazie al Progetto Genoma Umano, la sequenza delle basi del nostro **DNA di tutti i cromosomi**, darà come risultato dei rapidi miglioramenti generali nel campo della medicina.

In particolare, saranno disponibili **nuovi farmaci** e le **medicine saranno più sicure** e consentiranno di intervenire direttamente sull'informazione genetica cellulare.

Sulla base del profilo genetico individuale, sarà possibile sviluppare delle **terapie geniche personalizzate**.

**ZANICHELLI**

# Le nuove frontiere della biologia sono la proteomica e la bioinformatica

La **proteomica** è lo studio della struttura, della funzione e delle interazioni delle proteine cellulari.

La traduzione di tutti i geni codificanti della nostra specie ha come risultato un corredo di proteine che, nel complesso, è detto **proteoma umano**.

La **bioinformatica** è l'applicazione della tecnologia informatica allo studio del genoma.

**ZANICHELLI**

# La genomica funzionale e comparata mettono a fuoco ruolo e affinità dei genomi

La **genomica funzionale** mira a determinare il modo in cui i geni funzionano per dare vita a cellule differenziate e quindi a interi organismi complessi.

Il confronto dei genomi nella **genomica comparata** è uno dei modi per ricostruire l'evoluzione delle specie, capire le funzioni dei geni e quelle delle regioni non codificanti.

Studiamo la storia evolutiva di una specie

**ZANICHELLI**