

CHE COSA SONO

LE BIOTECNOLOGIE?

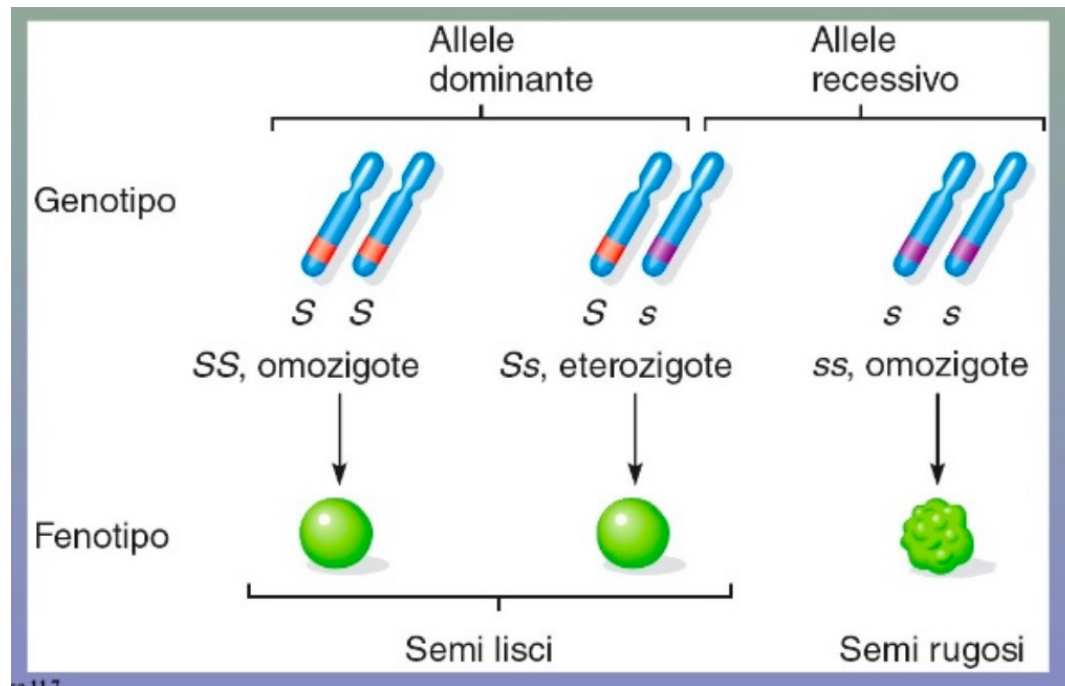
«Biotecnologia indica qualsiasi applicazione tecnologica che utilizzi sistemi biologici, intesi come organismi viventi o loro derivati, per realizzare prodotti e processi per usi specifici»

Convenzione mondiale dell'ONU sulla biodiversità

Ingegneria genetica

Insieme di tecniche che permettono di isolare geni, clonarli, introdurli ed esprimerli in un ospite eterologo

Ingegneria genetica è la tecnica alla base delle biotecnologie



FENOTIPO: rappresenta un aspetto visibile ed evidente nell'individuo. La sua manifestazione è determinata dal genotipo ma può essere influenzata da condizioni ambientali.

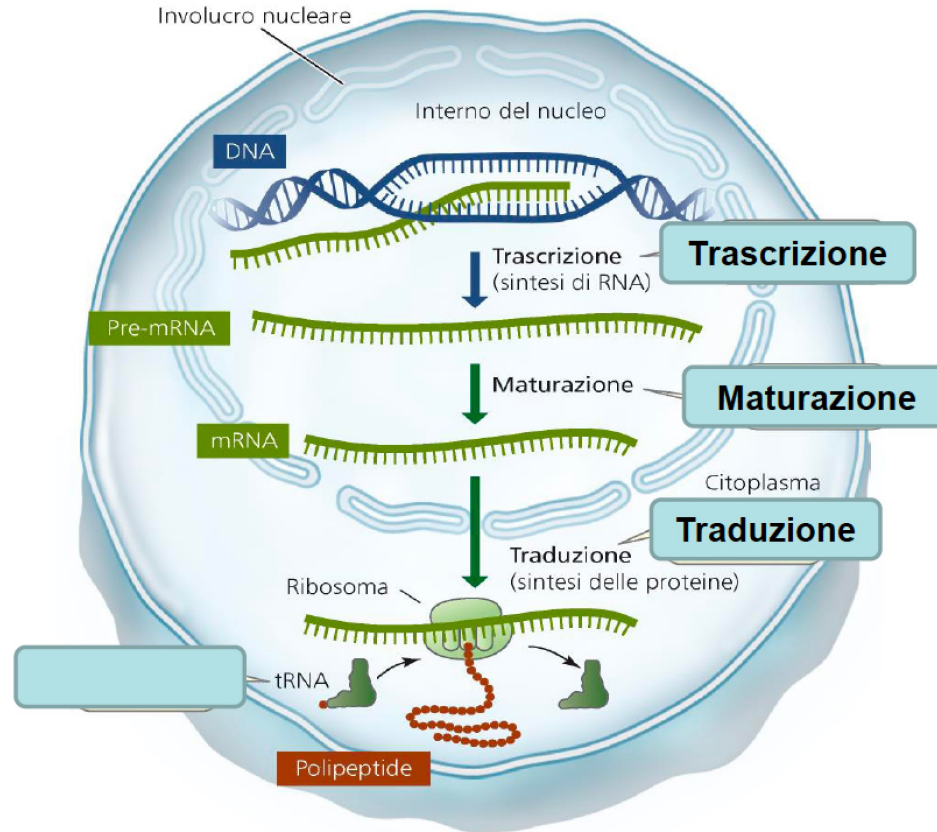
GENOTIPO: è l'assetto genetico di un individuo, non è facilmente individuabile, rappresenta la COMBINAZIONE di ALLELI dell'individuo che determina un dato carattere, ovvero il fenotipo.

Gli **ALLELI** sono le varianti possibili di un determinato gene, cioè le forme alternative possibili di un dato gene.

Trascrizione e traduzione

Dal
genotipo
al
fenotipo

.....



Le biotecnologie modificano il GENOTIPO per ottenere un nuovo FENOTIPO

Le origini delle biotecnologie

Gli esseri umani hanno **da sempre** utilizzato gli organismi viventi a proprio vantaggio,
spesso modificandone anche la struttura genetica.



fermentazioni, domesticazione di piante e animali

Il mais attuale (a destra) è stato ottenuto dagli antichi agricoltori dell'America centrale dal *teosinte* (a sinistra), una varietà di mais selvatico, per selezione progressiva dei semi con le caratteristiche desiderate.

Collezione di semi di mais attualmente coltivati. L'ultimo a destra è un seme di *teosinte*.



La manipolazione genetica non è certo un concetto nuovo.....l'uomo è biotecnologo da molto tempo

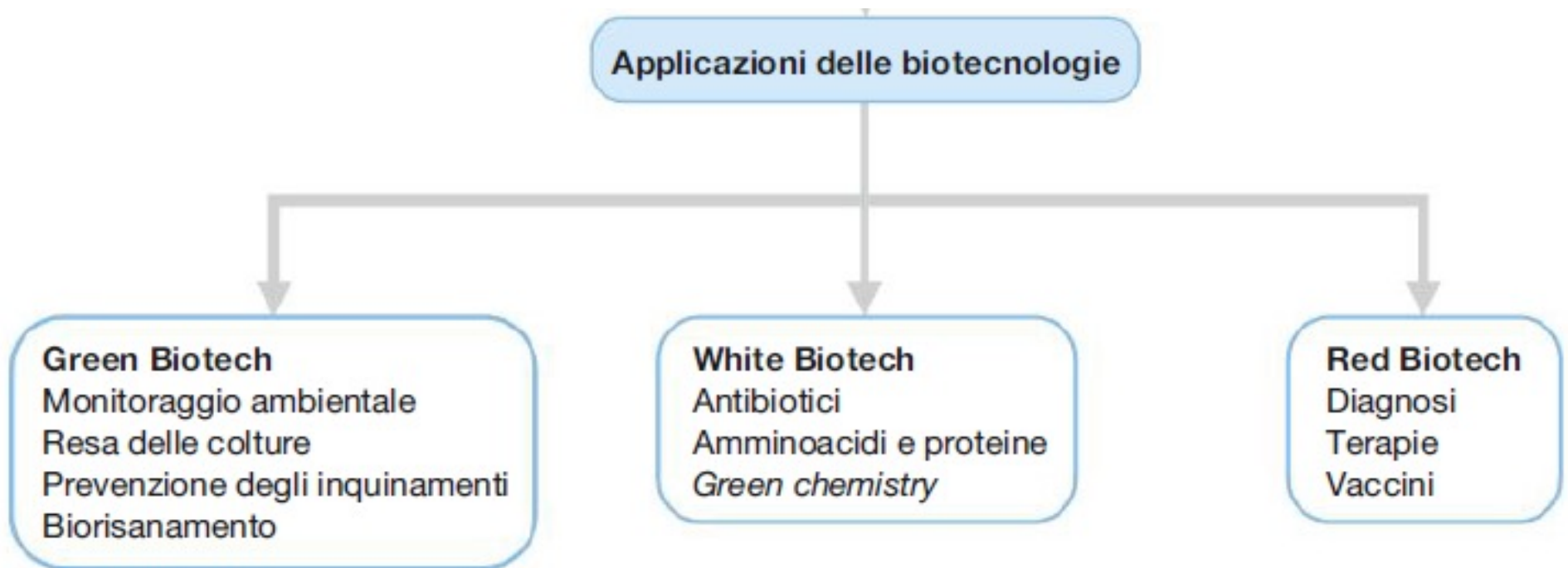
Domesticazione di animali e piante





Il frumento ha 6 alleli cioè 6 copie per ogni gene su 42 cromosomi.....
La probabilità di ottenere una determinata combinazione in un incrocio casuale è di circa 1 su 280000!

Biotecnologie moderne usano la tecnologia del **DNA ricombinante**, che agisce sul genotipo degli organismi per ottenere nuovi fenotipi utili.



Grazie all'ingegneria genetica, le moderne biotecnologie superano i limiti imposti dall'ereditarietà mendeliana, spostando solo il carattere desiderato tra specie diverse (cioè non incrociabili naturalmente)

Cosa fa un biotecnologo?

“Il biotecnologo è specializzato nell’utilizzo dei processi cellulari e biomolecolari per sviluppare tecnologie e prodotti che aiutino a migliorare la **nostra vita** e la **salute del pianeta.**”

Salute umana e animale

**RED
BIOTECH**

Agricoltura e alimentazione

**GREEN
BIOTECH**

Ambiente, processi industriali, biomateriali,
bioenergie

**WHITE
BIOTECH**

Quali sono i vantaggi per l'uomo



Salute umana e animale

RED BIOTECH

Proteggere in maniera più

efficace **la nostra salute**, grazie ai nuovi farmaci sviluppati:

vaccini più sicuri, **medicinali** contro disfunzioni metaboliche a base genetica prima incurabili, **trattamenti** contro diverse forme di epatite, **antitumorali** più efficaci e meno dannosi per l'organismo, **stimolatori** e **regolatori** delle difese immunitarie...
nuovi tests diagnostici

(test prenatali praticati sull'embrione per svelare anomalie genetiche).



GREEN BIOTECH

Innovazione:

Le varietà vegetali modificate con l'ingegneria genetica **O.G.M.** (organismi geneticamente modificati) al fine di **migliorarne le qualità nutrizionali** (*latte particolarmente ricco di sostanze proteiche, riso arricchito di vitamine*), la **resistenza alle malattie**, la **produttività e la tolleranza ai fattori nocivi.**



WHITE BIOTECH

Prospettive alla soluzioni dei problemi ambientali, come il controllo dell'inquinamento, l'eliminazione dei rifiuti tossici, il recupero dei metalli dalle scorie minerarie e dai minerali a basso tenore, grazie all'azione di geni utili per la biodegradazione di composti chimici tossici.



I vantaggi delle biotecnologie moderne

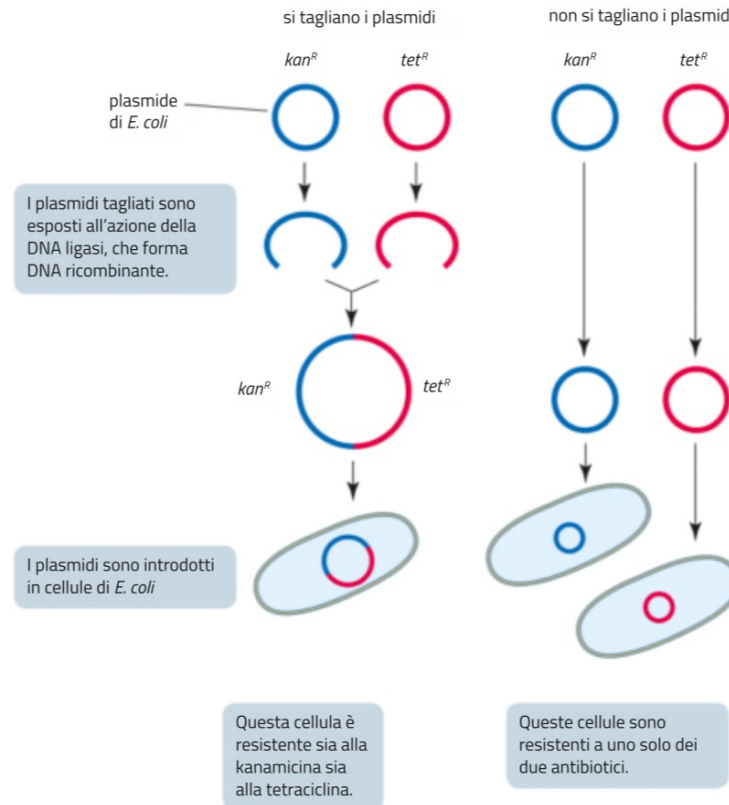
Le **biotecnologie moderne** offrono numerosi **VANTAGGI**:

1. Le tecniche di ingegneria genetica sono **più efficaci** perché consentono di trasferire solo i geni desiderati
2. I geni trasferiti possono provenire da specie anche molto distanti dal punto di vista evolutivo rispetto alla specie ricevente: si generano così **varietà impossibili da ottenere con gli incroci tradizionali**
3. Le moderne biotecnologie agiscono in modo mirato e permettono di ottenere le caratteristiche desiderate con un'**alterazione genetica minima**, spesso limitata a un singolo gene (o a una parte di esso) tra le migliaia che compongono il genoma

La tecnologia del DNA ricombinante

La **tecnologia del DNA ricombinante** è alla base dell'ingegneria genetica: consente di manipolare l'informazione genetica di un organismo.

È stata resa possibile dalla scoperta di enzimi che ci permettono di tagliare il DNA in frammenti (**enzimi di restrizione**) e successivamente di incollarli (**ligasi**), includendo al loro interno porzioni di DNA di varia provenienza.



La cassetta degli attrezzi

- **ENZIMI di RESTRIZIONE:** difesa batterica
- **LIGASI:** replicazione/riparazione del DNA
- **PLASMIDI:** resistenza a stress/antibiotici
- **DNA polimerasi:** replicazione/riparazione del DNA

SONO TUTTI ELEMENTI PRESENTI IN NATURA

Gli enzimi di restrizione

Gli **enzimi di restrizione** o endonucleasi sono in grado di tagliare il DNA (idrolizzano il legame fosfodiesterico tra un atomo di fosforo e uno di ossigeno) in corrispondenza di specifiche sequenze di nucleotidi, dette **siti di restrizione (che contengono sequenze palindrome)**

Gli **enzimi di restrizione** sono stati scoperti nei batteri, che li utilizzano per tagliare il DNA dei virus che li infettano.

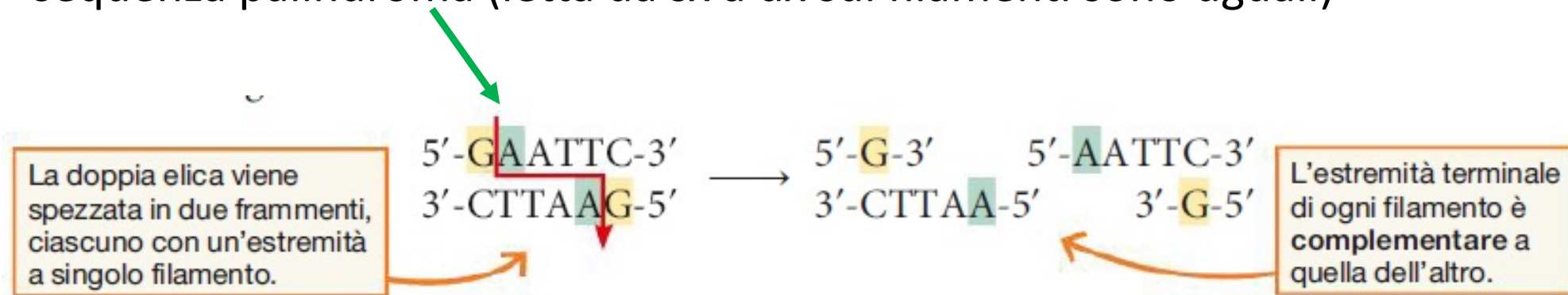
Hanno 2 caratteristiche:

1. Tagliano entrambe le eliche del DNA
2. Effettuano il taglio in specifiche sequenze bersaglio

Gli enzimi di restrizione

L'enzima EcoRI è uno degli enzimi più usati in laboratorio:

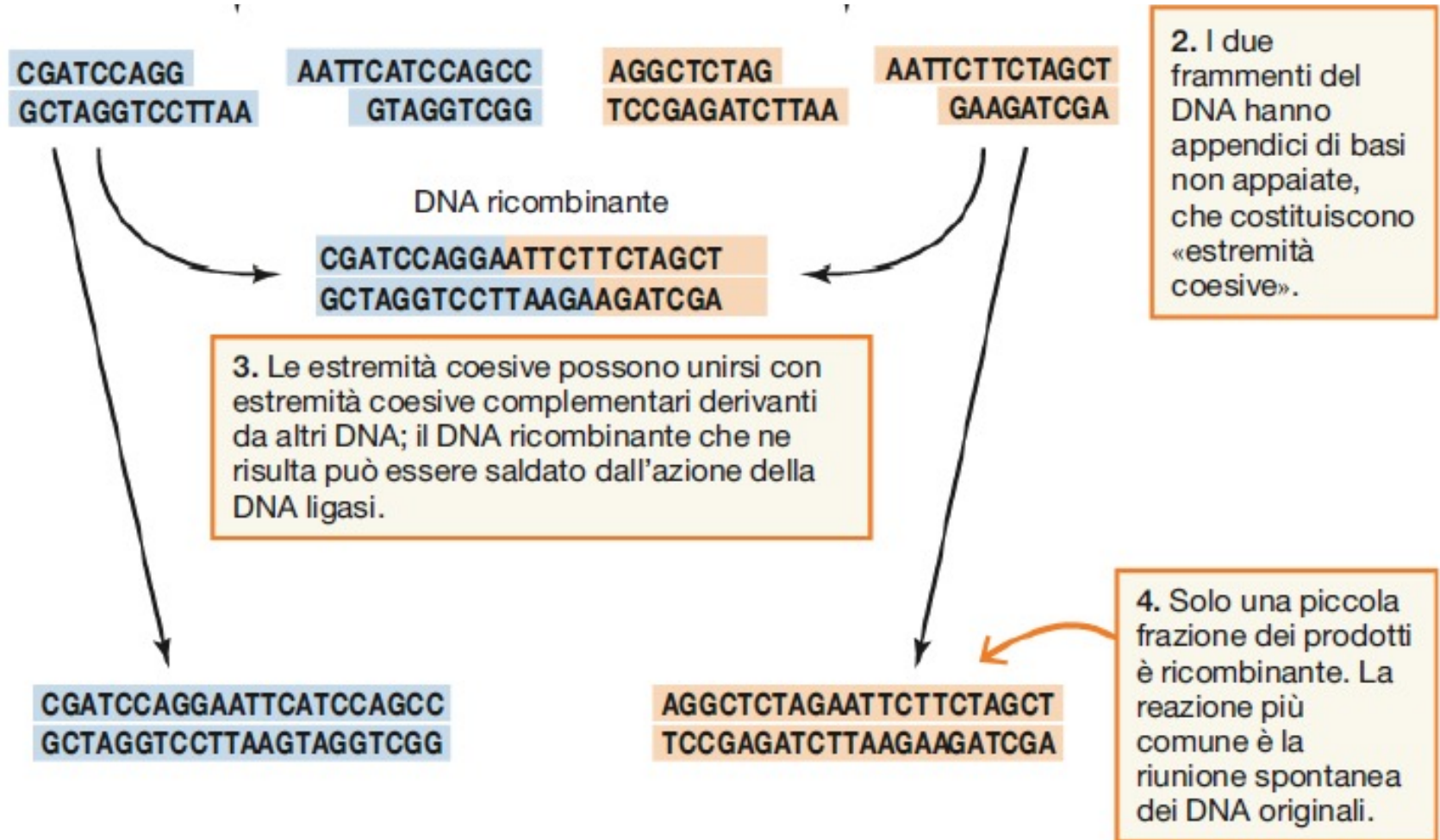
sequenza palindroma (letta da sx a dx sui filamenti sono uguali)



La presenza di **estremità sfalsate** (*sticky ends* in inglese) o **coesive** è fondamentale per ottenere DNA ricombinante.

Saldare il DNA con la DNA ligasi

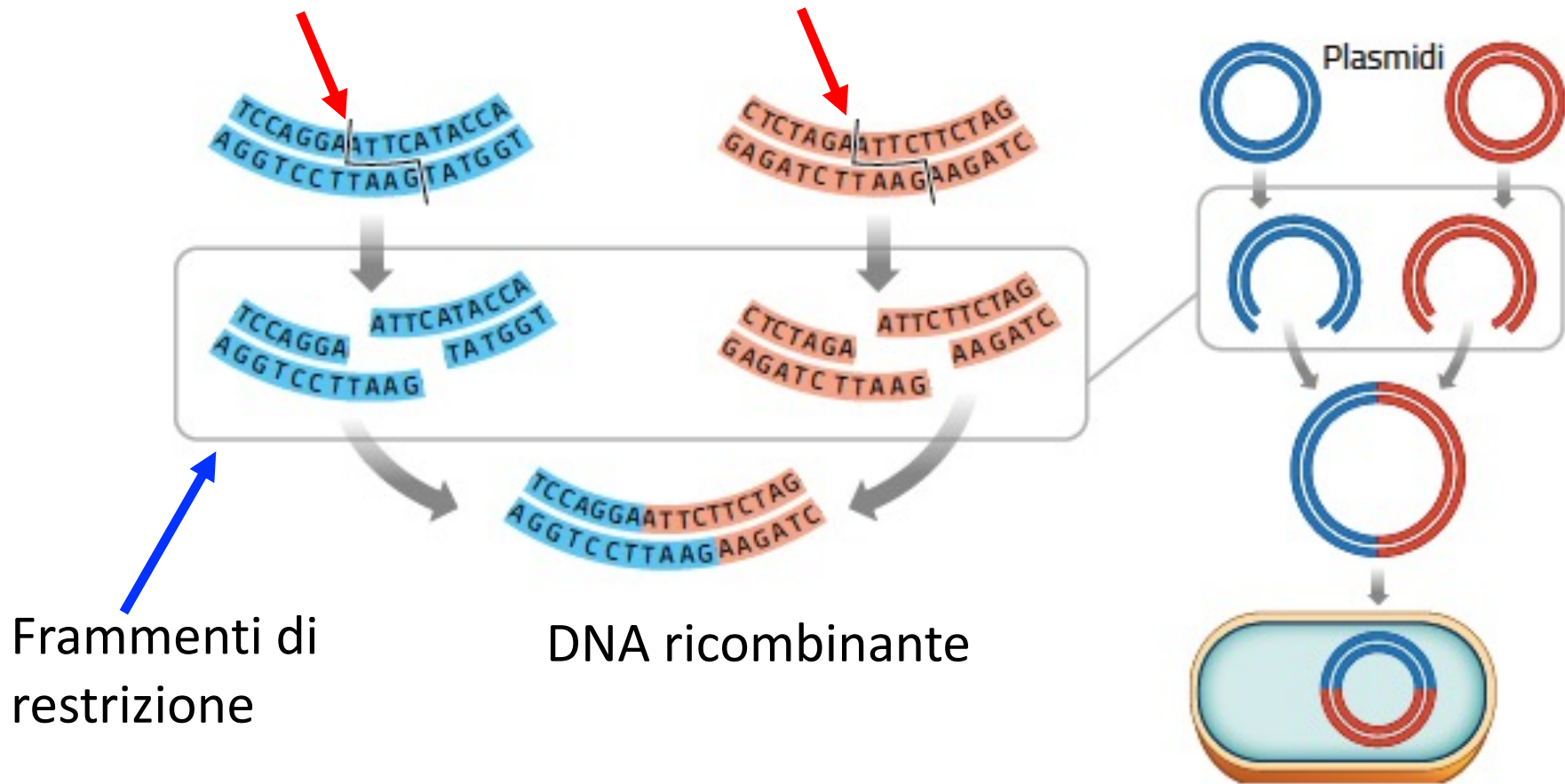
DNA ligasi  ricostituisce il legame fosfodiesterico tra due nucleotidi adiacenti



Le ligasi

Le **ligasi** sono utilizzati in laboratorio per saldare i frammenti di restrizione.

Sono gli stessi enzimi che legano tra loro i frammenti di Okazaki che si ottengono sul filamento lento durante la duplicazione del DNA.



Ricapitoliamo:

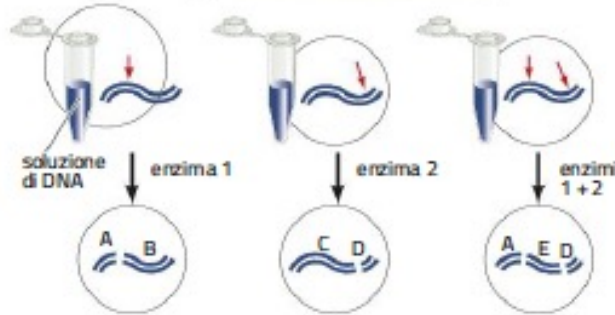
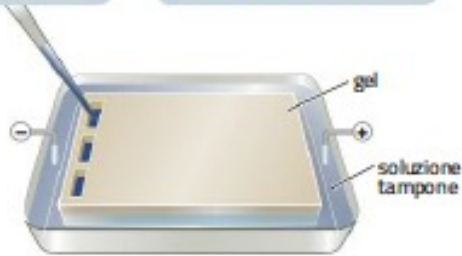
Tagliare e incollare il DNA

Per tagliare il DNA in punti specifici i biotecnologi utilizzano gli **enzimi di restrizione**, che riconoscono **sequenze palindrome** del genoma e creano frammenti di restrizione di lunghezza diversa.

Attraverso gli enzimi **DNA ligasi** è possibile unire i frammenti di restrizione e ottenere un DNA ricombinante che contiene sequenze provenienti da fonti diverse.

1. Un gel di agarosio è posizionato in una camera tra due elettrodi.

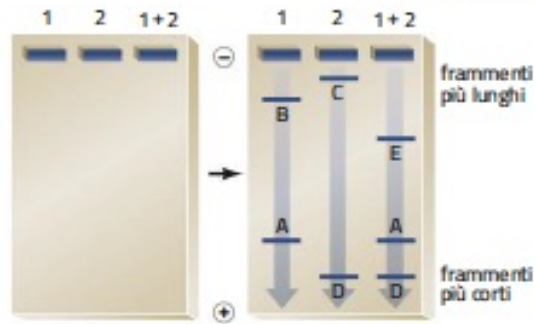
2. Le cavità presenti nel gel (pозzetti) vengono riempite con le soluzioni di DNA.



3. L'enzima di restrizione 1 taglia il DNA una volta, producendo due frammenti A e B.

4. L'enzima di restrizione 2 taglia il DNA una volta, in un sito di restrizione diverso.

5. Se vengono usati entrambi gli enzimi di restrizione, vengono fatti due tagli nel DNA.



6. Dopo l'incubazione con l'enzima, ogni campione viene caricato in un pazzo del gel.

7. Mentre i frammenti di DNA si muovono verso il polo positivo, i frammenti più corti si muovono più velocemente (e quindi vanno più lontano) dei frammenti più lunghi.

Come separo i frammenti di DNA dopo che li ho tagliati con gli enzimi di restrizione?

L'elettroforesi su gel separa i frammenti di DNA ottenuti con gli enzimi di restrizione sulla base delle loro dimensioni sfruttando il fatto che il DNA carico negativamente può migrare, se posto in un campo elettrico dal catodo (-) all'anodo (+).

Per l'**elettroforesi su gel** si usano 2 polimeri:

Agarosio: polisaccaride naturale estratto dalle alghe, formato da molecole di galattosio, liquido a 90 °C e solidifica a temperature inferiori ai 40 °C.

Allo stato solido si formano maglie di dimensioni di 50-200nm attraverso cui il **DNA** può migrare.

Poliacrilammide: polimero artificiale formato da acrilammide forma allo stato solido maglie più piccole 20-100nm. Si usa per le proteine.

Una volta solidificato il gel è immerso in posizione orizzontale in una soluzione tampone all'interno di una camera elettroforetica, un apparecchio in grado di generare un campo elettrico di intensità compresa tra i 50 e i 100 V.

I campioni di DNA vengono miscelati con una soluzione contenente un indicatore colorato (blu di bromofenolo) che serve a visualizzare lo spostamento del campione nel gel.

L'estremità del gel con i pozzetti è posizionata dal lato del catodo; applicando il campo elettrico i frammenti di DNA entrano nella matrice e corrono verso l'anodo con una velocità che dipende dalla loro dimensione.