

GREEN BIOTECH

Le biotecnologie moderne

Biotecnologia: tecniche che utilizzano organismi viventi, o parti di essi, per la realizzazione di processi o prodotti utili alla società.

Le **biotecnologie moderne** impiegano le tecnologie del DNA ricombinante per produrre beni e servizi.

I campi di applicazione:

- biotecnologie **agroalimentari** (*green biotech*);
- biotecnologie **medico-farmaceutiche** (*red biotech*);
- biotecnologie **industriali e ambientali** (*white biotech*).

Biotecnologie e agricoltura

Le biotecnologie **in agricoltura** vengono utilizzate per il **miglioramento genetico** delle specie di interesse economico.

Le finalità possono essere:

- **generare nuove varietà** non ottenibili con gli incroci tradizionali;
- **correggere difetti** nelle varietà agricole esistenti.

Le specie più comunemente utilizzate sono: mais, orzo, riso, frumento, cotone, soia, patata, pomodoro, girasole, barbabietola.

Applicazioni delle varietà transgeniche

Le **principali applicazioni** delle piante transgeniche sono:

- migliorare i processi di **maturazione**;
- resistenza agli **erbicidi**;
- resistenza agli **stress** (freddo, salinità, siccità);
- resistenza ai **patogeni** (virus, funghi, batteri, insetti);
- modificare il **contenuto nutrizionale** (carboidrati, proteine);
- produzione di proteine esogene **ricombinanti** (enzimi, anticorpi, antigeni per vaccini).

Gli OGM

Organismi geneticamente modificati di prima generazione: creati con l'unico scopo di aumentare l'efficienza e la produttività agricola (per esempio, specie resistenti ai parassiti o agli erbicidi).

OGM di seconda generazione: progettati per ottenere alimenti con caratteristiche aggiuntive (vitamine o sostanze antiossidanti).

OGM di terza generazione: creati per far produrre alle piante vaccini o farmaci.

Manipolazione genetica di piante

In **campo agricolo**, la maggior parte delle trasformazioni sono di tipo *knock in*, ovvero prevedono **l'introduzione di geni esogeni** attraverso le seguenti fasi:

1. clonaggio del gene di interesse;
2. inserimento del gene in un opportuno vettore;
3. introduzione del gene nel genoma della pianta ricevente;
4. selezione delle piante trasformate e verifica dell'espressione del gene e del fenotipo.

TECNICA: Agrobacterium Tumefaciens

Come creare piante transgeniche? Utilizzando un batterio patogeno vegetale

Agrobacterium tumefaciens

Uno dei metodi più utilizzati per inserire geni esogeni in piante sfrutta il **plasmide Ti** del batterio ***Agrobacterium tumefaciens***, un batterio che infetta le piante causando un'escrecenza tumorale detta **galla del colletto**.



Una pianta infettata dal batterio

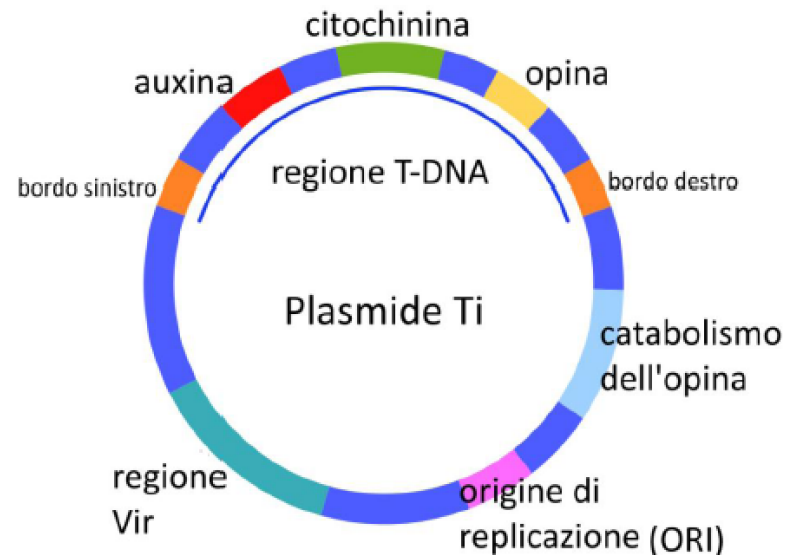
Trasformazione con *A. tumefaciens* (I)

Il plasmide Ti contiene:

- un segmento di DNA (**T-DNA**) che viene trasferito nelle cellule vegetali dal batterio e codifica per oncogeni che ne causano la crescita incontrollata;

- la **regione Vir** che codifica per i fattori di virulenza; in grado di produrre la malattia con il T-DNA

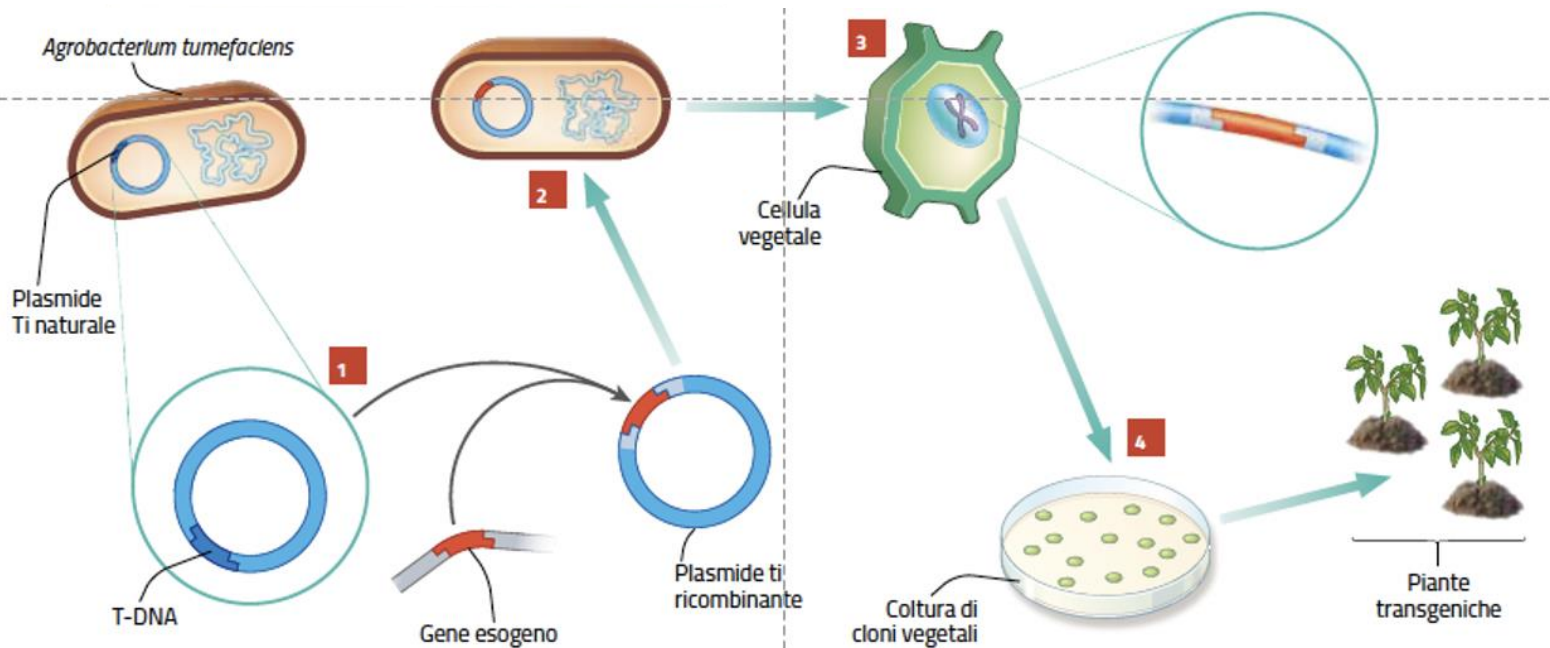
- sequenze specifiche per la **replicazione**.



Ti=Tumor inducing quindi il plasmide è oncogenico/virulento

I **vettori** basati sul plasmide Ti **mancano dei geni per la crescita tumorale**, ma mantengono quelli della regione Vir.

1. Una volta clonato il gene di interesse nel **vettore Ti**, questo viene inserito in *A. tumefaciens*;
2. Il batterio con il plasmide ricombinante viene usato per **infettare** la pianta ospite (solitamente partendo da un'incisione praticata nel tessuto vegetale);
3. A seguito dell'infezione, il T-DNA in cui è inserito il gene esogeno è **trasferito al genoma** delle cellule vegetali;
4. Il tessuto infetto viene espantato e **coltivato in vitro** per rigenerare una piantina che esprimerà il transgene.



Trasformazione biobalistica

Non tutte le piante sono infettabili da *A.tumefaciens*. In alternativa si può utilizzare il metodo **biobalistico**.

Si tratta di un apparecchio detto **cannone genico (gene gun)** che genera un flusso ad elevata velocità di **microparticelle** in grado di penetrare nei tessuti vegetali.



- Nel gene gun sono caricate **microsfere** di **oro** o **tungsteno** (1-4 μm di diametro) che possono essere coniugate al DNA da trasferire.
- Un getto di **aria compressa** o l'esplosione di polvere da sparo proietta le microsfere all'interno dei tessuti vegetali (calli, embrioni, meristemi).
- Il DNA "sparato" viene **integrato casualmente** nel genoma della cellula vegetale.
- I tessuti trasformati vengono **coltivati in vitro** per ottenere le piantine transgeniche.

2 applicazioni di *Agrobacterium Tumefaciens* (AT)

OGM prima generazione: creati con l'unico scopo di aumentare l'efficienza e la produttività agricola (per esempio, specie resistenti ai parassiti o agli erbicidi).

1. Mais BT

Il *Bacillus T.* vive nella terra, contiene un gene plasmidico, *cry*, codificante una proteina tossica nei confronti di molti insetti parassiti.

La proteina *cry* si lega all'intestino dell'insetto compromettendone la funzione e causandone la morte.

Se inseriamo il gene *cry* al posto del T-DNA in *AT* otterremo un mais transgenico *Bt* esprime il gene *cry*.

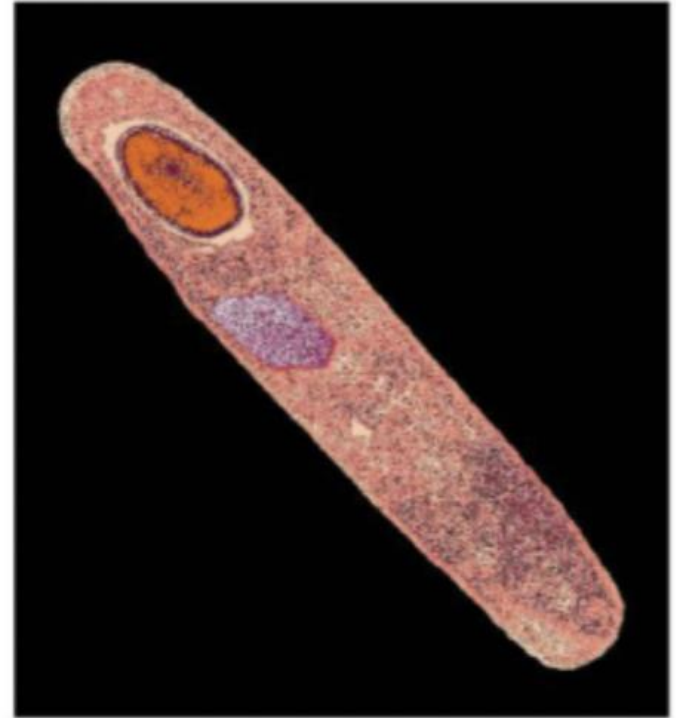
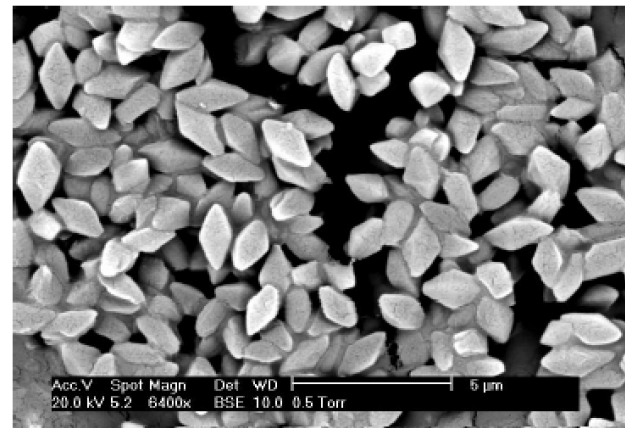


Figura 5 *Bacillus thuringiensis* Questo batterio produce una tossina letale per gli insetti patogeni; tale composto, al microscopio, appare come un cristallo di grandi dimensioni (qui colorato in viola).

Il mais Bt

Il **mais Bt** esprime la tossina del *Bacillus thuringiensis*, che è letale per gli **insetti** ma totalmente innocua per l'uomo e presenta numerosi vantaggi:

- **Vantaggi sanitari:** il mais GM del tipo Bt accumula un minor numero di tossine di origine fungina, le fumolisine.
- **Vantaggi ambientali:** necessita di un uso molto inferiore di insetticidi.
- **Vantaggi economici:** ha una resa per ettaro di circa il 20% superiore rispetto al mais tradizionale.



Cristalli della tossina Bt al
microscopio

OGM di seconda generazione: progettati per ottenere alimenti con caratteristiche aggiuntive (vitamine o sostanze antiossidanti).

2. GOLDEN RICE

Nel 2000 ricercatori svizzeri hanno utilizzato *A.Tumefaciens* come vettore per realizzare un riso transgenico contenente 2 geni per la sintesi della Vitamina A

I chicchi di questi riso arricchiti di beta-carotene (che conferisce la colorazione giallo-oro da cui il nome) possono essere utilizzati per l'alimentazione in aree povere del mondo dove la **carenza di vitamina A** nei bambini e nelle donne gravide causa **800 000 morti all'anno.**



Problematiche delle coltivazioni OGM

- Possibili rischi di **incrocio** con varietà naturali in campo;
- possibili **fenomeni allergici** alle proteine esogene nei consumatori;
- rischio di **monopolio** da parte di pochi grandi produttori di sementi OGM; e danno alla biodiversità;
- **normativa non omogenea** nei vari Paesi sulla brevettazione di tecniche, geni, varietà OGM.

Ad oggi **non sono emersi rischi per la salute** alla luce delle risultanze scientifiche, ma l'attenzione deve rimanere.

Esistono **organi di controllo nazionali e internazionali** che vigilano sulla produzione di piante OGM.

Ma la commercializzazione è solo nelle mani delle grandi multinazionali.

- ❖ la brevettabilità è avversata da molti orientamenti politici, soprattutto europei, che mirano a salvaguardare la proprietà collettiva e ritengono contraria alle comuni prassi della produzione agricola la vendita di semi sterili, incapaci cioè di dare a loro volta prole con le nuove caratteristiche genetiche vantaggiose.