

TECNOLOGIA DEL DNA RICOMBINANTE

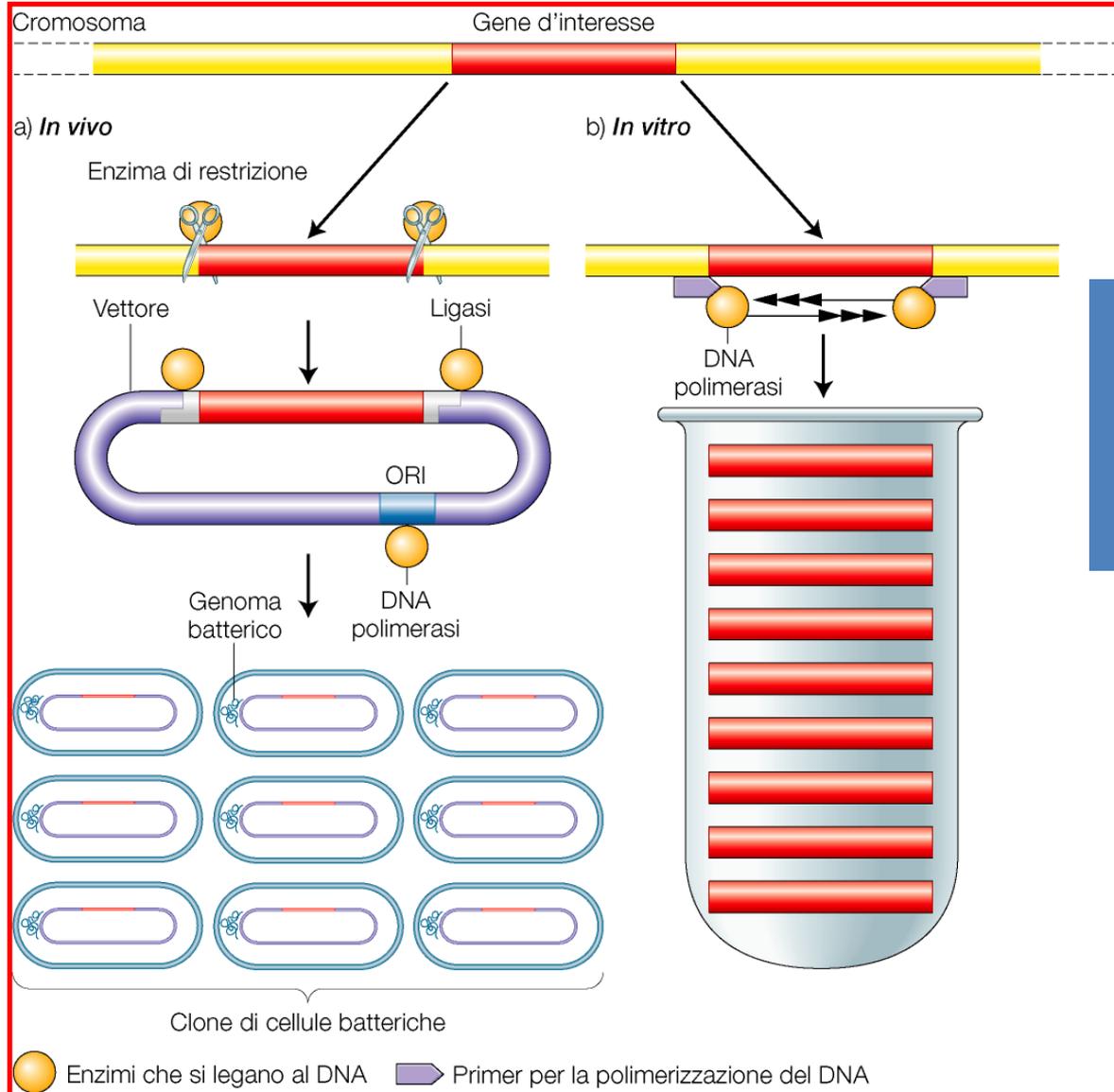
**LA TECNOLOGIA DEL DNA RICOMBINANTE
COMPRENDE TUTTE LE METODICHE CHE
PERMETTONO DI LAVORARE SUGLI ACIDI
NUCLEICI E MANIPOLARLI PER
STUDIARNE O UTILIZZARNE LE
PROPRIETÀ**

E' una tecnologia che permette ad es di studiare il genoma e il trascrittoma umano, di far produrre farmaci per l'uomo nelle piante e nei batteri, di diagnosticare precocemente alcune malattie...

Amplificare specifiche sequenze di DNA (specifici geni)

In vivo
(1973)

**CLONAGGIO
GENICO**



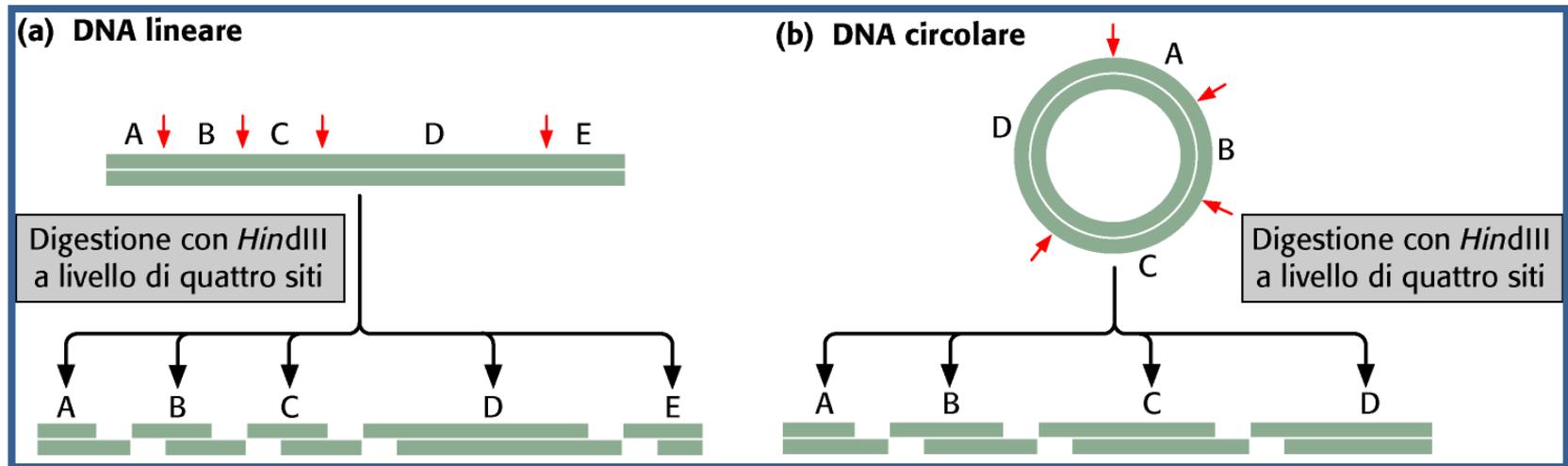
In vitro
(1983)

**PCR
(polymerase
chain
reaction)**

CLONAGGIO: GLI ENZIMI DI RESTRIZIONE

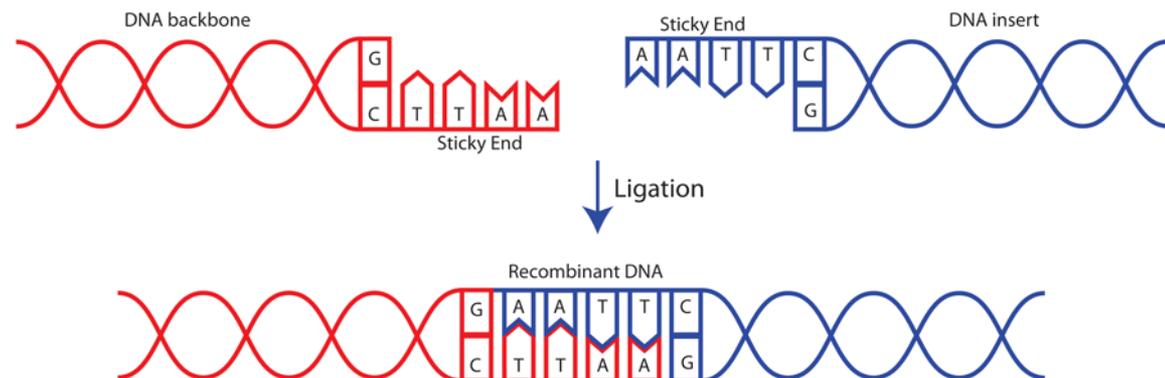
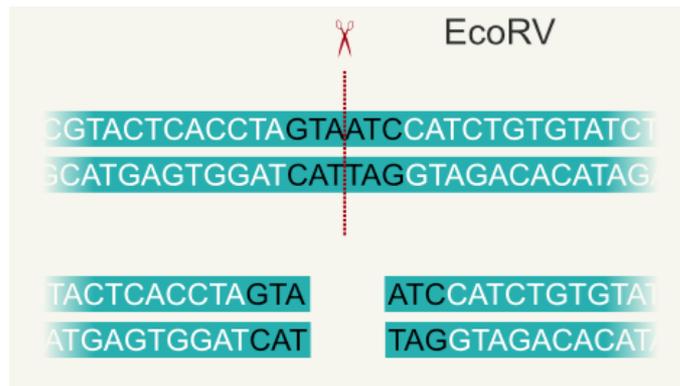
Sono enzimi di origine batterica che riconoscono una determinata sequenza di pochi nucleotidi (**SITO DI RESTRIZIONE**) e tagliano il DNA in maniera PRECISA E RIPRODUCIBILE

UNA LUNGA MOLECOLA DI DNA VIENE TAGLIATA IN FRAMMENTI DI DIMENSIONI PRECISAMENTE DEFINITE



GLI ENZIMI DI RESTRIZIONE

LE SEQUENZE RICONOSCIUTE (SITI DI RESTRIZIONE) SONO IN GENERE **PALINDROMI** DI 4-6 NUCLEOTIDI; L'ENZIMA TAGLIA SU QUESTE O NELLE VICINAZZE



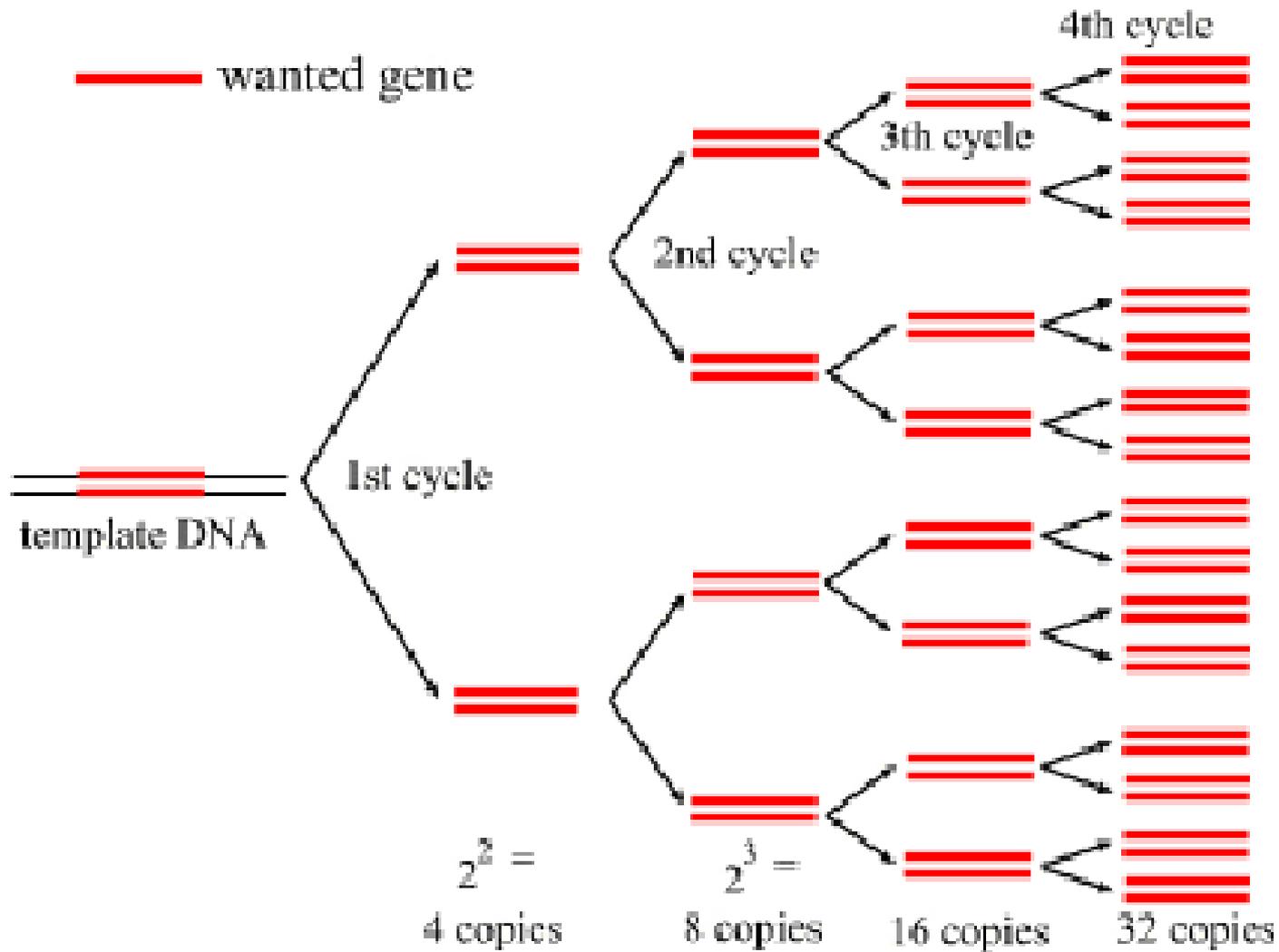
Polymerase Chain Reaction (PCR)

La **Reazione a catena della Polimerasi** è una tecnica di biologia molecolare che consente la copiatura ripetitiva di uno **specifico** tratto di DNA





**SI TRATTA DI UN'ESTENSIONE
DEL PROCESSO DI
REPLICAZIONE DEL DNA**



30 cicli

Da 1 singola molecola di DNA → **10^9**

TERMOCICLATORE PROGRAMMABILE



IN ESSI LE PROVETTE CONTENENTI LA MISCELA DI REAZIONE SONO POSTE IN BLOCCHI DI METALLO RISCALDABILI E LE VARIE FASI DI UN CICLO (TEMPERATURA E DURATA) COSI' COME IL NUMERO DI RIPETIZIONE DEL CICLO SONO PROGRAMMABILI MEDIANTE UN PICCOLO COMPUTER INCORPORATO

LE APPLICAZIONI IN AMBITO MEDICO

LA DIAGNOSI GENETICA

INDAGINI PRE- E POST-NATALI PER LA PRESENZA DI ANOMALIE GENETICHE (mutazioni genetiche causa di malattie monogeniche a trasmissione mendeliana)

RILEVAMENTO DI INFEZIONI DA PATOGENI

INDAGINE MEDICO-LEGALE

TEST DI PATERNITA'

IL GENOMA ALL'INTERNO DI UNA SPECIE E' POLIMORFICO

POLIMORFISMO: ESISTENZA, IN UNA POPOLAZIONE (>1%), DI DUE O PIU' VARIANTI ALLELICHE DI UN GENE (PER LO PIU' VARIANTI DI SEQUENZA NON PATOLOGICHE)

TERAPIA GENICA :

sostituzione della versione difettosa di un gene con una funzionante all'interno di un organismo, in modo da rimediare alla malattia genetica.

PRODUZIONE DI ORGANISMI TRANSENICI (OGM)

INTRODUZIONE, IN CELLULE GERMINALI DI PIANTE E ANIMALI O IN CELLULE BATTERICHE, DI UN GENE ESTRANEO (**TRANSGENE**) CHE CONFERISCE ALL'ORGANISMO IN TUTTO CARATTERISTICHE NUOVE

Es:

- produzione di piante transgeniche resistenti a insetti o fitopatogeni
- produzione di organismi transgenici per la produzione di farmaci o vaccini