

Biotecnologie: tecniche e strumenti • Capitolo B6

VERIFICA LE TUE CONOSCENZE

| | | | | |
|-----|-----|-----|------|------|
| 1 D | 4 B | 7 C | 10 C | 13 C |
| 2 A | 5 C | 8 B | 11 D | |
| 3 A | 6 B | 9 C | 12 C | |

VERIFICA LE TUE ABILITÀ

14 A

Motivazione: il ciclo litico si divide in fase precoce (1-2 min dall'entrata del fago) e fase tardiva (dopo 9 minuti dall'entrata del fago). Fase precoce: trascrizione geni adiacenti al promotore, blocco trascrizione cellula ospite, duplicazione genoma virale. Fase tardiva: trascrizione geni virali che codificano per il capsido e per gli enzimi che lisano la cellula (schema figura pag. B155).

15 A

Motivazione: enzima in grado di utilizzare l'RNA come stampo di partenza per produrre DNA complementare. Si tratta infatti di un enzima caratteristico dei retrovirus.

16 a. forbici; b. EcoRI; c. palindromo; d. coesive

17 a. negativamente; b. agarosio; c. camera elettroforetica; d. positivo, anodo

18 reazione a catena della polimerasi, Kary Mullis, amplificare, primer, DNA polimerasi, trifosfato, magnesio, denaturazione, ibridazione, allungamento, 70°C, denaturi, 1 048 576

19 B

Motivazione: gli enzimi di restrizione sono delle endonucleasi batteriche in grado di riconoscere e tagliare una specifica sequenza del DNA.

20 C

Motivazione: la retrotrascrizione di uno specifico campione cellulare di un organismo da RNA a cDNA permette di ottenere informazioni su tutti i messengeri espressi da queste tipologie cellulari

nell'organismo studiato. Per ottenere una libreria di cDNA, gli mRNA presenti in una cellula sono copiati in cDNA mediante l'enzima trascrittasi inversa. I cDNA sono quindi inseriti in vettori plasmidici, usati per trasformare cellule batteriche. Si selezionano le cellule trasformate, ottenendo una libreria di cellule con diversi cDNA.

21 B

Motivazione: i vettori virali possono accettare frammenti di DNA più lunghi rispetto ai vettori plasmidici.

22 D

Motivazione: la corsa elettroforetica non è un'analisi funzionale; essa permette di confrontare i frammenti di DNA di diversi individui, di valutare qualitativamente la presenza di mutazioni o polimorfismi, di quantificare l'espressione di diversi geni usando una RT-PCR, ma non è in grado di dare risultati funzionali. Durante un'elettroforesi su gel, soluzioni di DNA sono inserite in pozzetti in un gel di agarosio, posto all'interno di una camera elettroforetica. Quando si applica il campo elettrico, le molecole migrano lungo il gel con una velocità che dipende dalla loro dimensione. È quindi possibile verificare la presenza di un frammento di DNA di una certa dimensione, ma non il suo funzionamento.

23 D

Motivazione: l'aggiunta di SDS permette di mantenere la proteina denaturata e conferisce carica negativa che ne permette la migrazione verso l'anodo.

TEST YOURSELF

24 C

25 A

26 A

27 D

28 C

29 Recombinant DNA: DNA molecule that contains genetic information from two or more different organisms, and that was obtained with genetic engineering techniques.

Plasmid vectors: circular, double-stranded DNA molecules used to transfer genes from one organism to another.

Bacterial transformation: it is a type of

horizontal gene transfer in bacteria; during gene cloning, it is used as a way to insert plasmid vectors in bacterial cells.

PCR: Polymerase Chain Reaction, it is an automated system used to amplify a DNA sequence.

Transcriptome: it refers to the set of all mRNAs in a cell, in a tissue or in an organism.

VERSO L'UNIVERSITÀ

30 A

31 C

32 E

33 C

VERSO L'ESAME

DEFINISCI

34 Endonucleasi: enzimi in grado di tagliare i legami tra nucleotidi adiacenti del DNA all'interno della doppia elica.

Vettori di espressione: vettori che consentono di introdurre un gene in una cellula ricevente e di farlo esprimere, poiché contengono anche le sequenze per la trascrizione del gene di interesse.

Clonaggio: processo attraverso il quale si ottengono molte copie identiche dello stesso gene.

cDNA: DNA copia, si ottiene dalla retrotrascrizione dell'mRNA.

Trasfezione: un tipo di trasferimento genico orizzontale, usato per inserire in cellule eucariotiche vettori plasmidici durante la procedura di clonaggio di un gene.

Agarosio: polisaccaride estratto dalle alghe che solidificando permette la formazione di un gel utilizzato nell'elettroforesi.

Sequenziamento: determinazione della sequenza dei nucleotidi di un frammento di DNA.

Proteomica: analisi della composizione del proteoma.

DISCUTI

35 Concetto fondamentale: l'universalità del codice genetico consente di trasferire geni tra organismi di specie diverse e di sfruttare i comuni meccanismi di trascrizione e traduzione, che rimangono in gran parte invariati anche in organismi molto diversi, come i batteri e gli esseri umani. Per esempio, una cellula batterica può essere usata per esprimere un gene umano.

36 Concetto fondamentale: batteri e virus sono usati in modelli di studio per il controllo della trascrizione genica, per il loro ciclo riproduttivo molto veloce rispetto a una cellula eucariote e per la loro versatilità; sono usati anche in esperimenti di trasfezione genica.

RIFLETTI

37 Concetto fondamentale: è necessario utilizzare tecniche differenti per inserire un vettore plasmidico all'interno di cellule diverse a causa delle caratteristiche specifiche dei rivestimenti cellulari. Per entrare in una cellula batterica, un plasmidi-

de deve attraversare anche la parete batterica, formata da lipopolisaccaridi. Nel caso delle cellule vegetali, i vettori plasmidici devono superare anche la parete cellulare.

Quando la cellula che riceve il vettore plasmidico è un batterio, si parla di trasformazione, quando è una cellula eucariotica di trasfezione.

DESCRIVI

38 Concetto fondamentale: un batterio può sviluppare resistenza a un antibiotico quando una mutazione casuale interferisce con il meccanismo d'azione del farmaco, permettendo al batterio di sopravvivere e di diffondere la mutazione.

Quando la caratteristica acquisita protegge dall'azione di più di un antibiotico, si parla di multi-resistenza. Nei batteri esistono sistemi di trasferimento di geni verticale e orizzontale – per esempio attraverso coniugazione – che permettono la trasmissione della resistenza agli antibiotici anche tra ceppi di batteri diversi.

RICERCA

39 Concetto fondamentale: la proteina GFP ha una struttura cilindrica, formata all'esterno da α -foglietti e all'interno da una β -elica. All'interno della struttura è presente un gruppo di amminocidi, chiamato fluoroforo, in grado di assorbire fotoni di una certa lunghezza d'onda e di emettere fluorescenza.

La proteina può essere utilizzata come marker biologico. È possibile inserire il gene per GFP in un plasmide, e trasferirlo in una cellula di interesse. Le cellule transgeniche esibiscono fluorescenza quando vengono colpite da luce a specifiche lunghezze d'onda.

ANALIZZA E DEDUCI

40 Concetto fondamentale: il sospettato B ha un profilo di frammentazione del DNA identico a quello prelevato sulla scena del crimine.

DEDUCI

41 Concetto fondamentale: i vettori plasmidici possono essere prodotti facilmente e a bassi costi, ma possono avere una minore efficienza di trasferimento nelle cellule riceventi.

Un vantaggio dell'uso dei vettori virali è la possibilità di accettare frammenti di DNA molto più

lunghi rispetto ai vettori plasmidici. Uno svantaggio è rappresentato dai sistemi di difesa che hanno sviluppato le possibili cellule riceventi nei confronti dei virus. In alcuni casi, i vettori virali potrebbero scatenare una risposta immunitaria nell'organismo ospite.

I vettori retrovirali offrono la possibilità di inserire in modo stabile un gene all'interno del cromosoma della cellula ricevente.

IPOTIZZA

42 L'enzima A è preferibile: le estremità coesive che si formerebbero dal taglio dell'enzima A favorirebbero l'unione spontanea tra i frammenti di DNA e la formazione di legami a idrogeno. Il DNA ricombinante così formato potrebbe essere saldato dall'enzima DNA ligasi. L'enzima B formerebbe estremità piatte; l'azione della DNA ligasi in questo caso sarebbe meno efficiente, perché i due frammenti non si legherebbero spontaneamente. L'enzima C taglierebbe nel mezzo della sequenza di interesse.