

Capitolo B5 Manipolare il genoma: le biotecnologie

Quesiti e problemi

1 Le biotecnologie sono applicazioni tecnologiche che utilizzano organismi viventi o loro derivati per realizzare prodotti e processi per usi specifici.

2 B, E

3 C

4 A

5

Prodotto o processo	Tipo di biotecnologia (R= rossa, V= verde o B= bianca)
Batteri produttori di idrogeno	V
Produzione di fragole resistenti al congelamento	V
Produzione di interferone per la cura della sclerosi multipla	R
Farina di grano contenente acido folico	V
Vaccino contro la meningite	R
Produzione di amoxicillina (antibiotico)	B

6 B

7 Il processo di domesticazione del cane e delle sue varie razze è considerata una biotecnologia.

8 B, F, G

9 Perché occorrono moltissimi incroci e tempi molto lunghi per selezionare combinazioni favorevoli, dato che la probabilità di avere combinazioni non favorevoli è molto più elevata.

10 D, E

11 È una molecola di DNA plasmidico modificata.

12 d; b; c; a; e.

13 D

14 Il DNA ricombinante è una molecola di DNA costituita da porzioni provenienti da individui diversi.

15 La trasformazione

16 Un clone è una colonia di batteri derivati dalla duplicazione di un batterio iniziale, e quindi geneticamente identici tra loro; la clonazione è la produzione di un intero organismo geneticamente identico a quello di partenza; il clonaggio è la produzione di molte copie di uno stesso gene ricombinante.

17 Le endonucleasi di restrizione sono enzimi che idrolizzano il legame fosfodiesterico tra due nucleotidi adiacenti all'interno di una doppia elica di DNA.

18

5'-ATCGCTG|AATTCAAACGT-3'

3'-TAGCGACTTAA|GTTTGCA-5'

Si ottengono quattro frammenti: 5'-ATCGCTG-3', 5'-AATTCAAACGT-3', 3'-TAGCGACTTAA-5', 3'-GTTTGCA-5'.

19 I frammenti di DNA presentano una carica elettrica negativa a livello dei gruppi fosfato nei legami fosfodiesterici che legano insieme i vari nucleotidi; migrano quindi dal catodo negativo all'anodo positivo.

20 B**21 A, C, E**

22 La DNA ligasi catalizza la reazione di condensazione tra nucleotidi adiacenti, che hanno il gruppo –OH sul desossiribosio in posizione 3', e il gruppo –OH del residuo fosforico (è una reazione di esterificazione). La saldatura è necessaria per ripristinare la continuità del filamento di DNA.

23 Nella duplicazione e nella riparazione del DNA.

24 È un corto filamento di RNA, legato all'endonucleasi batterica Cas9 del sistema CRISPR/Cas.

25 I vettori plasmidici sono molecole di DNA circolare a doppia elica lunghi alcune migliaia di nucleotidi.

26 Un'origine di replicazione, uno o più geni per la resistenza ad antibiotici e un sito multiplo di clonaggio o polilinker.

27 È una tecnica che permette di sparare il DNA nelle cellule dopo averlo caricato su microproiettili di materiali inerti come l'oro o il tungsteno.

28 E**29 B**

30 Una libreria genomica o genoteca è una collezione di cloni batterici, ciascuno contenente un diverso frammento di DNA. Con una genoteca è possibile conservare tutto il genoma di un organismo da cui estrarre poi il frammento di DNA di interesse.

31 Il cDNA è più corto del corrispettivo DNA genico, perché essendo una copia dell'RNA maturo, è privo di introni.

32 La libreria contiene i cDNA trascritti partendo dagli mRNA dei geni espressi, attraverso la trascrittasi inversa.

33 La DNA polimerasi polimerizza direttamente i nucleotidi basandosi su un filamento stampo di DNA, mentre la trascrittasi inversa usa come stampo un filamento di RNA.

34 PCR è l'acronimo di *Polymerase Chain Reaction* o reazione a catena della polimerasi. Questa tecnica sfrutta la tendenza di due filamenti di DNA con sequenza complementare ad appaiarsi spontaneamente e la capacità dell'enzima DNA polimerasi di copiare un filamento di DNA stampo.

35 B

36 I primer della PCR sono oligonucleotidi complementari alle parti iniziali e terminali delle sequenze da amplificare; forniscono l'innesco della reazione di polimerizzazione. Sono necessari due primer perché l'innesco serve sia per un filamento sia per il suo complementare.

37 I primer universali sono già integrati al vettore di clonaggio, a monte e a valle del polilinker; in questo modo non è necessario conoscere la sequenza del gene che si sta amplificando.

38 Denaturazione (separazione dei filamenti stampo), ibridazione (appaiamento dei primer ai filamenti stampo), allungamento (sintesi dei filamenti complementari).

39 La *Taq* polimerasi è una polimerasi che, all'elevata temperatura a cui vengono sottoposti i campioni, non si denatura e può quindi essere utilizzata per il terzo stadio del ciclo della PCR, l'allungamento.

40 Il termociclatore è un apparecchio che permette di eseguire i cicli di amplificazione della PCR in modo automatizzato e in breve tempo.

41 D

42 A, C

43 Le scienze forensi si basano sull'evidenza sperimentale che individui diversi presentano minime ma significative differenze di sequenza, che permettono di distinguerli l'uno dall'altro.

44 Il DNA viene tagliato con una miscela di numerosi enzimi di restrizione diversi; nella regione in cui ciascun enzima agisce, anche la differenza di un singolo nucleotide è sufficiente a modificare i siti di taglio e quindi a generare segmenti di lunghezza diversa.

45 Tramite la PCR si amplificano le corte sequenze ripetute in tandem o STR presenti nel nostro DNA. Ogni individuo ha un numero di ripetizioni diverse, la tecnica si basa sulle sequenze di 13 loci diversi.

46 B, E

47 Suspect C

48 Il sequenziamento del DNA permette di ricostruire l'ordine in cui si susseguono le basi. Viene utilizzato per conoscere la funzione di un gene e interi genomi, come quello umano.

49 I didesossinucleotidi sono nucleotidi in cui il desossiribosio è stato privato di un atomo di ossigeno. Furono utilizzati da Sanger perché, una volta inseriti nella sequenza, la polimerizzazione non può proseguire: per questo, i didesossinucleotidi sono detti «terminatori di catena».

50 I sequenziatori automatici accoppiano il sequenziamento di Sanger alla PCR. I didesossinucleotidi sono attaccati a un gruppo fluorescente, rilevati poi con un raggio laser tramite elettroforesi capillare (un tipo di elettroforesi in cui il gel si trova all'interno di tubi capillari).

51 I colori necessari sono solo quattro, come il numero di basi azotate diverse presenti nel DNA.

52 Un vettore di espressione è un vettore di clonaggio particolare che consente di fare esprimere il gene clonato all'interno di una qualsiasi cellula ricevente.

53 Il sito multiplo di clonaggio di un vettore di espressione si trova tra il promotore e il terminatore.

54 D

55 Il gene dell'insulina umana è stato clonato e inserito in batteri che lo esprimono in modo da ottenere grandi quantità di insulina in forma pura. In passato, l'insulina estratta dai bovini provocava nei pazienti gravi effetti collaterali.

56 Insulina, ormoni, fattori di coagulazione, anticorpi e vaccini.

57 Gli animali transgenici sono utili per studiare varie patologie. Il topo ha in comune con l'uomo oltre il 97% dei propri geni.

58 g; c; e; d; f; b; a.

59 Disattivando uno o più geni nel topo knock-out, si può verificare quale sia l'impatto e quindi la funzione di quel gene.

60 Il deficit dell'enzima ADA e l'epidermolisi bollosa giunzionale.

61 Le cellule staminali sono cellule non differenziate che mantengono la possibilità di dare origine ai diversi tipi di cellule che formano i tessuti e gli organi di un individuo.

62 a-2; b-3; c-1

63 C

64 Le cellule staminali ematopoietiche sono cellule multipotenti.

65 Le cellule iPSC si ottengono dalla riprogrammazione di cellule adulte già differenziate. Questo è possibile attivando alcuni geni che de-differenziano la cellula riportandola alla pluripotenza. Un altro vantaggio è che questa tecnica non richiede la manipolazione di cellule embrionali.

66

Cellula	Tipologia di staminale
Zigote	Cellula totipotente
Cellula ematopoietica del midollo rosso	Cellula multipotente
Cellule della blastocisti	Cellula pluripotente
Cellule iPSC	Cellula pluripotente

67 Le piante Bt sono piante transgeniche che esprimono il gene *cry*, che conferisce alla pianta la resistenza a molti parassiti.

68 Il *Golden Rice* è una varietà di riso arricchita di vitamina A che previene la cecità nei bambini dei paesi poveri; è detto *golden*, cioè dorato, per il colore giallo che assume a causa della presenza della vitamina.

69 Si tratta di un combustibile, come il bioetanolo o il biodiesel, ottenuto per fermentazione a partire da masse vegetali.

70 Si tratta di batteri OGM contenenti gli operoni per la degradazione della cellulosa (nel caso del bioetanolo) o per la sintesi di acidi grassi (nel caso del biodiesel).

71 Il biorisanamento è un sistema che sfrutta il metabolismo di alcuni OGM nella lotta all'inquinamento, per esempio la depurazione delle acque dal mercurio o da altri metalli pesanti.

72 Un biofiltro consiste di batteri ingegnerizzati e successivamente immobilizzati su una matrice solida che sono in grado di assorbire il mercurio presente nelle acque; se ai batteri è aggiunto il gene per la proteina verde fluorescente GFP si possono comportare da biosensori segnalando la presenza dell'inquinante nell'ambiente.

73 D

74 No, non esistono dati scientifici al riguardo, già dal 2006.

75 Diritto alla formazione, diritto all'informazione, diritto di accesso universale alle biotecnologie e ai suoi vantaggi, diritto alla tutela dell'ambiente e della salute.

Il laboratorio delle competenze

87

Tecnica	Reagente chiave
Elettroforesi	Gel di agarosio
PCR	<i>Taq</i> polimerasi
Tecnica RFLP	Enzimi di restrizione
Sequenziamento genico	Dideossinucleotidi
Libreria genomica	cDNA

88 a) Animale transgenico, terapia genica; b) pianta transgenica; c) biocarburante; d) cellule staminali, terapia genica; e) biorisanamento; f) pianta transgenica arricchita di nutrienti; g) farmaci biotecnologici.

89 Le esonucleasi separano un nucleotide per volta, perdendo in questo modo la sequenza nucleotidica portatrice di informazioni genetiche.

90 I didesossinucleotidi impediscono la formazione del legame fosfodiesterico con il nucleotide successivo.

91 a) La sequenza CTTT nel cromosoma 4. b) No, perché i cromosomi sessuali corrispondono al numero 23. c) Sì, le sequenze GATA e AGAA nel cromosoma 18. d) Le due sequenze possono appartenere alla stessa persona perché sono due STR diverse, presenti in due cromosomi diversi.

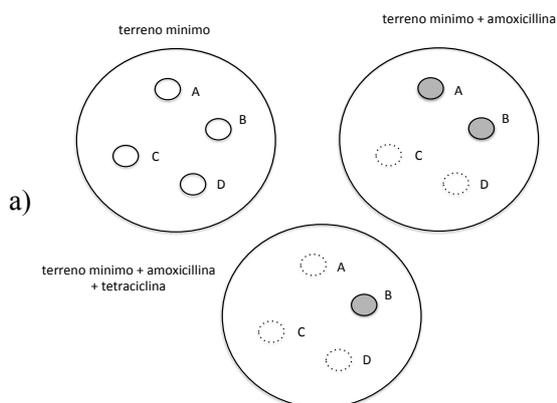
92 a) 10 combinazioni su 16; b) la probabilità è del 62,5%.

93 Dopo 20 cicli di PCR si ottengono $2^{20} = 1048576$ copie del DNA di partenza.

94 Il DNA ladder è il campione di controllo positivo che dà indicazioni sulla lunghezza dei frammenti che, migrando, si posizionano a diverse distanze nel gel.

95 D

96



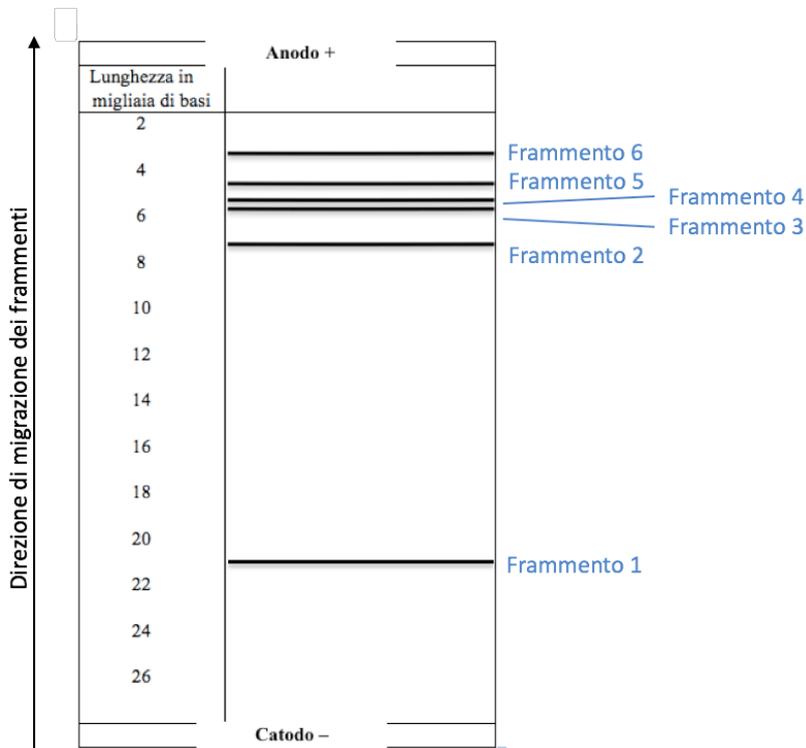
a) La colonia A.

97 Maggiore, perché lo scimpanzé è più vicino all'uomo dal punto di vista filogenetico.

A scuola di lavoro

98 a) 6 segmenti; b) 1. 21226 bp, 2. 7421 bp, 3. 5804 bp, 4. 5643 bp, 5. 4878 bp, 6. 3530 bp;

c)



d) il terzo e il quarto frammento, perché hanno lunghezza molto simile.

Verso l'Università – Capitoli B4-B5

1 B

2 C

3 C

4 A

5 E

6 C

7 D

8 E

9 C

10 E

11 B

12 B