Corso di GENETICA

Laura Arcangeli

GENETICA

Quali argomenti abbiamo affrontato ?

- ✓ Teorie dell'evoluzione
- ✓ Come è fatta una cellula (procariote, eucariote)
- ✓ Informazione genetica – DNA e RNA (mitosi, meiosi, sintesi proteica)
- ✓ Riproduzione (errori : mutazioni)
- ✓ Leggi di Mendel (trasmissione e segregazione dei caratteri)
- ✓ Genetica delle popolazioni (conoscenza delle fasi migratorie)
- ✓ Epigenetica (condizionamento dell'ambiente sul fenotipo)
- ✓ Ingegneria genetica/Biotecnologie (ricombinazione artificiale)
- ✓ Progetto Genoma Umano (studio della sequenza di basi azotate)

GENETICA

Di cosa parleremo ?

- ✓ Clonazione
- ✓ OGM e organismi transgenici
- ✓ Cellule staminali
- ✓ Bioetica
- ✓ Eugenetica
- ✓ Analisi del DNA

Clonazione

Cloni

E' il nome che viene dato a una popolazione di cellule derivate dalla divisione di una singola cellula madre (sono tutte identiche dal punto di vista genetico)

- Un clone, più in generale, è un individuo geneticamente uguale a un altro

- Per **clonazione**, in biologia, si intende la riproduzione asessuata, naturale o artificiale, di un intero organismo vivente o anche di una singola cellula

- In natura avviene per alcuni organismi unicellulari, per alcuni invertebrati (platelminti, anellidi) e per alcune piante.

- In agricoltura il termine viene utilizzato per indicare una tecnica che l'uomo utilizza da tempo per riprodurre piante con talee, margotte e innesti.

Cloni

La clonazione è abbastanza frequente in natura, in particolare negli organismi unicellulari che si riproducono per semplice divisione, ***senza rimescolamento di materiale genetico con altri individui***

oppure nelle piante: un frammento di foglia o di radice si stacca dalla pianta madre mette radici e forma un individuo indipendente.

Dal punto di vista evolutivo viene adottata da organismi che devono formare grandi popolazioni in ambienti difficili

Cloni

I cloni creati dall'uomo sono diventati importanti perché garantiscono un prodotto dalle caratteristiche uniformi, sempre ripetibili

Nel caso degli animali, la clonazione viene effettuata a partire dal suo corredo genetico.

Da una qualsiasi cellula di un organismo si estrae il nucleo contenente il DNA. Si toglie poi da un ovulo (proveniente da un altro organismo) il proprio nucleo e si inserisce al suo posto l'altro nucleo.

L'ovulo si svilupperà normalmente e darà vita a un individuo geneticamente identico al "proprietario" della cellula donatrice di nucleo.

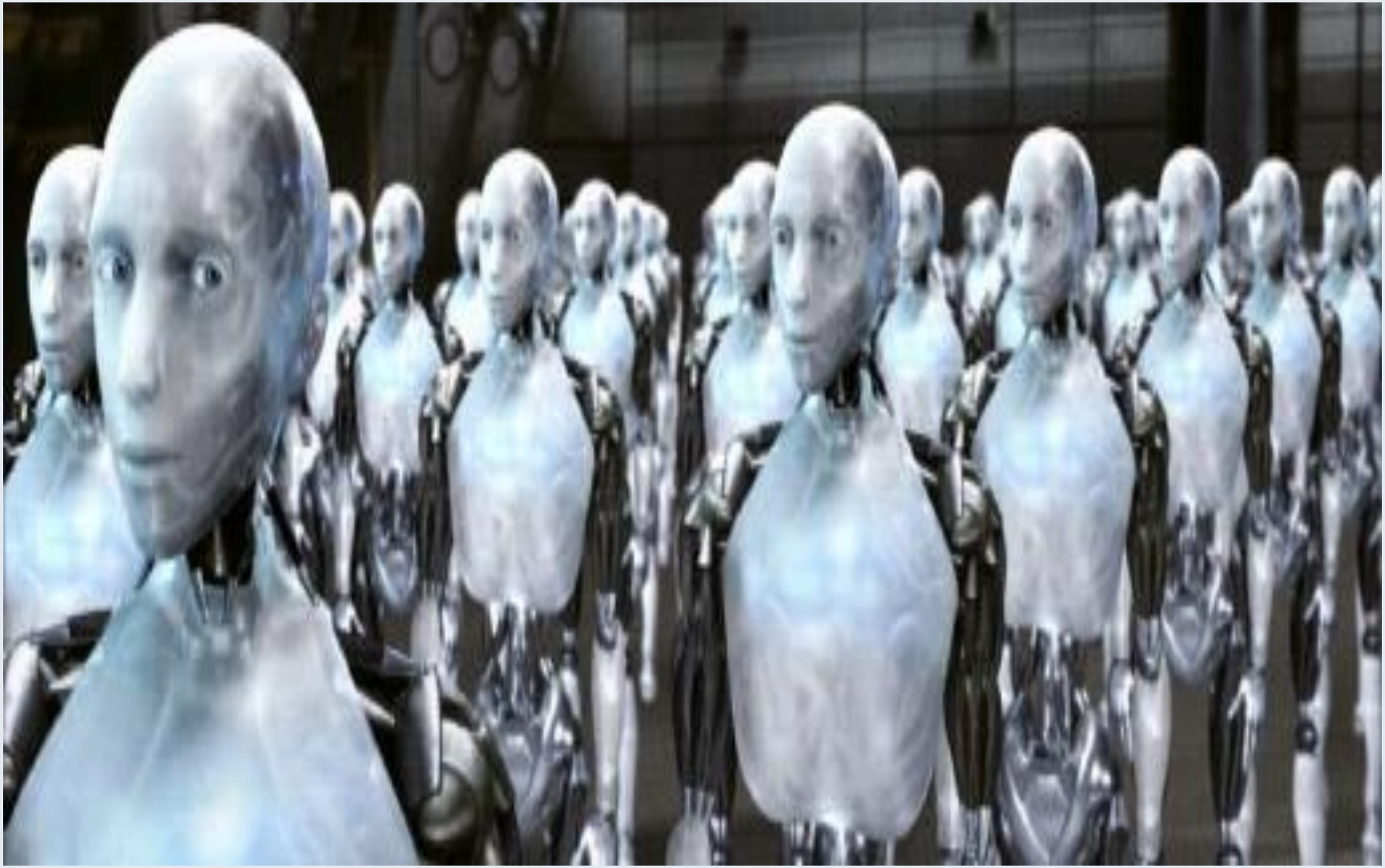
Nel processo viene eliminata la ricombinazione del DNA, che si ha con l'unione delle cellule germinali maschile e femminile e che porta a un essere geneticamente nuovo.

Cloni

- la **clonazione** è la tecnica di produzione di copie geneticamente identiche di organismi viventi tramite manipolazione genetica.

- Clonare in laboratorio un organismo significa creare *ex novo* un essere vivente che possiede le stesse informazioni genetiche dell'organismo di partenza.

Cloni



Cloni

Lo sviluppo di tecniche di manipolazione genetica sempre più sofisticate applicate all'Embriologia* ha portato alla clonazione della pecora Dolly

*scienza che studia lo sviluppo di un essere vivente a partire da un uovo fecondato

Cloni

Come avvenne la clonazione di Dolly

La clonazione animale da una cellula adulta è ovviamente molto più complessa e difficile rispetto all'attecchimento di un ramo tagliato da una pianta.

Perciò quando gli scienziati, che lavoravano presso il Roslin Institute in Scozia, produssero la pecora Dolly, l'unico agnello nato da 277 tentativi, fu una notizia importante che fece il giro del mondo.

Per produrre Dolly, gli scienziati hanno impiegato il nucleo di una cellula della mammella di una pecora bianca di sei anni della razza Finn Dorset. (Il nucleo contiene tutti i geni della cellula)

Innanzitutto si dovette trovare il modo di 'riprogrammare' le cellule mammarie della pecora per mantenerle in vita ma bloccandone la crescita, e si riuscì alterando il mezzo di coltura (la 'zuppa' in cui le cellule venivano mantenute in vita e nutrite)

Cloni

Quindi iniettarono il nucleo di una cellula mammaria in una cellula uovo non fecondata (dalla quale era stato rimosso il nucleo) stimolando poi con impulsi elettrici.

La cellula uovo non fecondata era di una pecora Scottish Blackface.

Una volta ottenuta la 'fusione' del nucleo di una cellula della pecora bianca adulta con la cellula uovo della pecora ricevente (dal muso nero), ci si dovette assicurare che la cellula che derivava dalla fusione si trasformasse in un embrione.

Cloni

L'embrione rimase in coltura per sei o sette giorni per assicurarsi che si dividesse e sviluppasse normalmente , prima di impiantarlo in una madre surrogata, un'altra pecora della razza Scottish Blackface.

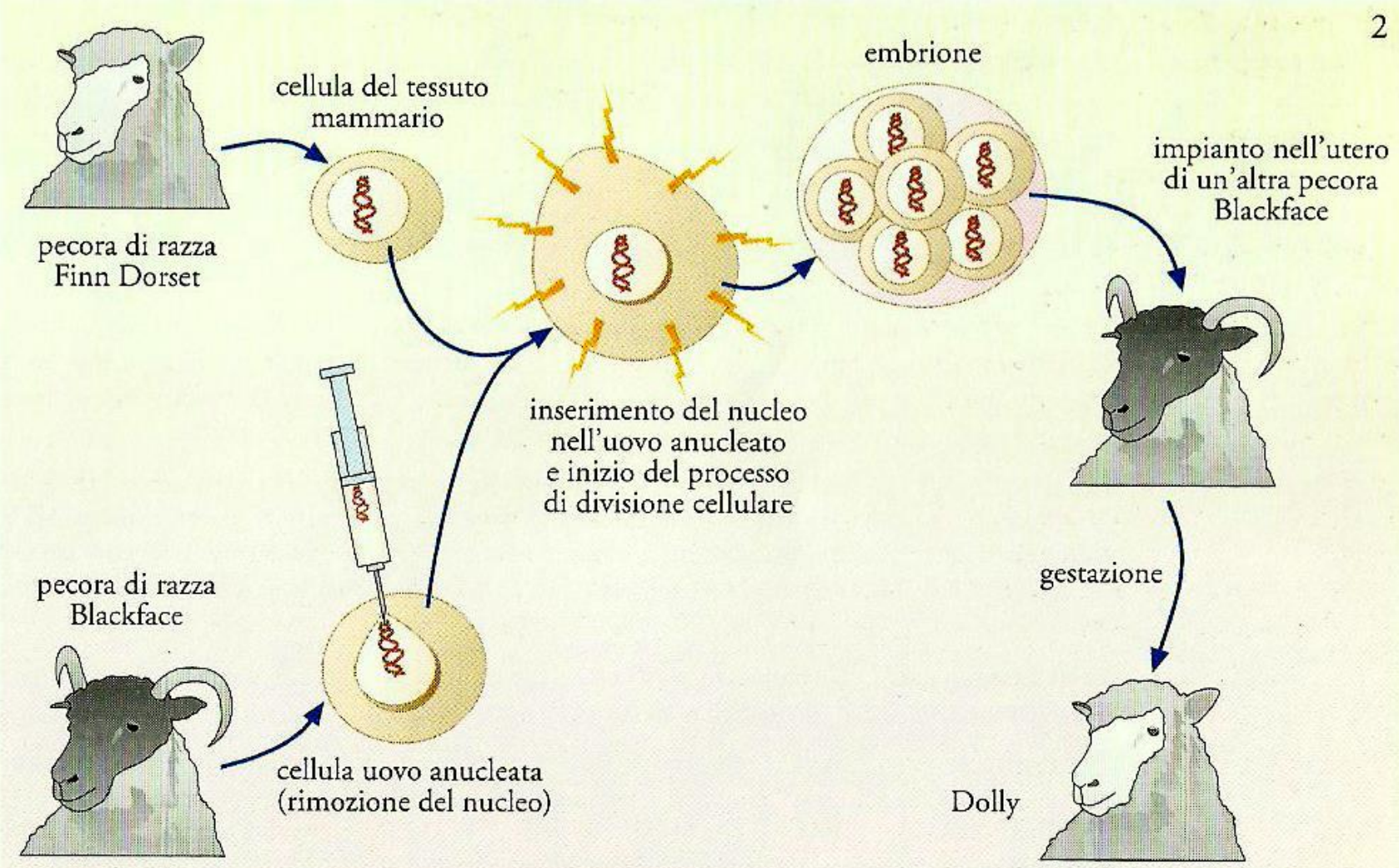
La pecora Dolly aveva il muso bianco.

Delle 277 fusioni cellulari, si sono sviluppati 29 embrioni e sono stati impiantati nelle 13 madri surrogate.

Ma solo una gravidanza fu portata a termine, e dopo 148 giorni nacque l'agnello Finn Dorset 6LLS (alias Dolly), pesava 6,600 kg.

Pecora Dolly (1994)

2. Schema del procedimento seguito per la clonazione della pecora Dolly.



Cloni

Cosa è successo a Dolly?

Dolly, è stata viziata e coccolata al Roslin Institute.

Si è accoppiata e ha partorito normalmente dimostrando che gli animali clonati si possono riprodurre.
È nata il 5 luglio del 1996 e quando aveva sei anni e mezzo, il 14 febbraio del 2003, è morta con l'eutanasia.

Le pecore possono vivere fino a 11 o 12 anni, ma Dolly soffriva di artrite all'articolazione dell'arto posteriore e di adenomatosi polmonare, un tumore del polmone provocato da virus al quale sono soggette le pecore allevate in ambiente chiuso.

- In Australia : Il 2 febbraio del 2003, la prima pecora clonata morì inaspettatamente all'età di due anni e 10 mesi. La causa della morte rimase sconosciuta e la carcassa è stata subito cremata.

Cloni

I cromosomi di Dolly erano un po' più corti rispetto a quelli di altre pecore, ma sotto molti altri aspetti la pecora Dolly era uguale a qualunque altra pecora della sua eta' cronologica. Tuttavia, il suo precoce invecchiamento potrebbe essere un'indicazione del fatto che essa è stata riprodotta dal nucleo di una pecora di 6 anni.

Studi della sue cellule rivelarono anche che una quantità molto esigua di DNA esternamente al nucleo (mDNA) era stata tutta ereditata dalla cellula uovo e non dal nucleo del donatore come il resto del DNA.

Perciò essa non rappresenta una copia completamente identica.

Questo risultato potrebbe essere importante per le malattie correlate al sesso, come l'emofilia, e determinati stati neuromuscolari, cerebrali e renali che sono trasmessi solo attraverso la parte materna della famiglia.

Cloni

La pecora Dolly fu prodotta al Roslin Institute come parte di una ricerca per la produzione di medicinali nel latte degli animali da allevamento.

I ricercatori sono riusciti a trasferire i geni umani che producono utili proteine, nelle pecore e nelle mucche in modo che esse possano produrre, per esempio, il fattore IX agente coagulante del sangue per curare l'emofilia o la proteina alfa-1-antitripsina per curare la fibrosi cistica e altre patologie polmonari.

Cloni

L'idea di clonare un caro defunto, sia esso umano o animale, è invece caduta in disgrazia, in parte perché è difficile disconoscere l'influenza dell'ambiente sul comportamento.

La componente genetica potrebbe essere la stessa, ma un clone sarebbe ancora lo stesso individuo che abbiamo amato?

Cloni

Finalità della clonazione

A) finalità "**riproduttiva**": per ottenere individui con patrimonio genetico identico a quello del donatore del nucleo (Dolly)

B) finalità "**terapeutica**": per ottenere, con la clonazione mediante *nucleo- transfer* o con il trasferimento di nucleo da un oocita ad un altro oocita e successiva fecondazione, un embrione immune da malattie mitocondriali

Cloni

Finalità della clonazione

C) finalità "**produttiva**": per ottenere organi, tessuti e linee cellulari prescelte.

Il prodotto della clonazione sarebbe sempre un organismo-individuo (con o senza encefalo), ottenuto con il metodo *nucleo-transfer* e in possesso del patrimonio genetico prescelto : da questo organismo-individuo si pensa di poter poi ottenere organi, tessuti o linee cellulari della qualità genetica richiesta.

D) finalità "**sperimentale**": per lasciare semplicemente aperta alla ricerca la possibilità di fare.

Organismi transgenici

Organismi transgenici

Organismi transgenici

Il **transgene** è un gene che descrive una qualsiasi sequenza di DNA (isolata da un organismo o creata in laboratorio) introdotta artificialmente in uno o più organismi.

Questo segmento esogeno del DNA può mantenere la capacità di produrre RNA e proteine nell'organismo transgenico, o ne può alterare la normale funzione del codice genetico.

Il transgene è oggi utilizzato nella creazione dei cosiddetti OGM.

Organismi transgenici

Gli OGM vengono spesso indicati come *organismi transgenici*: i due termini non sono sinonimi in quanto il termine **transgenesi** si riferisce all'inserimento, nel genoma di un dato organismo, di geni provenienti da un organismo di specie diversa.

Sono invece definiti **OGM** anche quegli organismi che risultano da modificazioni che non prevedono l'inserimento di alcun gene (es. sono OGM anche gli organismi dal cui genoma sono stati tolti dei geni), così come gli organismi in cui il materiale genetico inserito proviene da un organismo "donatore" della stessa specie

Organismi transgenici

Gli organismi transgenici possono essere sia procarioti sia eucarioti, appartenenti al regno animale e vegetale.

Essi fanno parte degli OGM :

ossia piante, animali e microrganismi che possiedono una nuova combinazione di materiale genetico ottenuta artificialmente

Da quando sono stati disponibili i geni clonati è stato possibile microiniettarli nella linea germinale di animali per produrre organismi transgenici

Organismi transgenici

La Direttiva 2001/18/CE sul rilascio degli OGM nell'ambiente, definisce così un OGM:

un organismo, diverso da un essere umano, il cui materiale genetico è stato modificato in modo diverso da quanto avviene in natura (cioè con l'accoppiamento e/o la ricombinazione genetica naturale)

Organismi transgenici

Sono quegli organismi in cui è stato inserito un gene estraneo addetto alla produzione di sostanze utili.

- Vegetali : le piante transgeniche ricevono molti geni (introdotti da microorganismi) che conferiscono alla pianta nuove proprietà come la resistenza a diserbanti o all'attacco di insetti.

Es :

- pomodori resistenti ai lepidotteri
- tabacco resistente al virus del mosaico
- la papaya e la zucchina resistenti a virosi, ma soprattutto il cotone, il mais e la patata Bt resistenti agli insetti
- *fragola (che spesso subisce i danni del gelo) è stata infettata con un gene di un pesce che vive a bassissime temperature* Questa notizia pare non essere vera !!!

Organismi transgenici

- Animali :

Tra le biomolecole prodotte da animali transgenici:

- anticorpi policlonali e lattoferrina prodotti da bovini,
- fattore antitrombina III e altri fattori della coagulazione prodotti da capre
- calcitonina prodotta da coniglie.
- A oggi sono più di cinquanta le sostanze prodotte da AGM, in particolare da capre, pecore e, in parte, suini e bovini

Alcuni effetti non desiderati sono tuttavia stati riscontrati a volte negli animali impiegati a questi scopi, come per esempio inferiori produzioni di latte o inferiore durata della lattazione e infertilità.

Organismi transgenici

la manipolazione genetica "combina" organismi che **in natura non possono fecondarsi**: batteri con cereali, pesci con fragole (??), scorpioni con piante, ecc.

VEDI : www.treccani.it/enciclopedia/organismi-geneticamente-modificati

Organismi transgenici

Attraverso l'ingegneria genetica, i ricercatori della Calgene cercarono di rallentare il processo di maturazione del **pomodoro**, evitandone così il rammollimento, pur consentendo al pomodoro di conservare il suo naturale colore e sapore.

Si rivelò però una delusione per i ricercatori poiché il nuovo gene ebbe sì un effetto positivo sulla durata di conservazione, ma non sulla consistenza del frutto; di conseguenza, il "transpomodoro" andò comunque incontro a rammollimento e si dovette ritirarlo dal commercio

Organismi transgenici

Ad oggi, in via sperimentale, circa 20 specie di **pesci** utilizzati in acquacoltura, come il salmone, la carpa e il pesce gatto sono stati modificati geneticamente.

Le ricerche hanno permesso di produrre pesci che reagiscono meglio ai climi freddi.

Dal punto di vista commerciale, gli esperti ritengono che il pesce transgenico possa assicurare un più alto rendimento produttivo.

Attualmente però, la pescicoltura commerciale di pesci transgenici è vietata in molte nazioni.

Secondo molti scienziati i pesci GM presentano infatti seri rischi e produrrebbero quasi sicuramente effetti indesiderati sull'ambiente, alterando l'ecosistema, e probabilmente anche sull'uomo.

Ad esempio, le tossine di molte alghe potrebbero accumularsi in questi animali e ripercuotersi con gravi effetti sulla salute dell'uomo.

Organismi transgenici

Salmoni : è stato inserito un gene regolatore della crescita :

Il risultato ottenuto è un salmone in grado di crescere più velocemente rispetto a quello selvatico, raggiungendo le dimensioni adatte per essere venduto in soli 18 mesi, circa la metà del tempo impiegato dagli esemplari naturali, risparmiando inoltre il 25% di mangime usato per la sua alimentazione.

Nel 2016, Health Canada ha approvato il pesce GM per il consumo umano ma non è tenuto ad indicarlo in etichetta

La convivenza fra i salmoni dell'allevamento transgenico e i "selvatici" mette in pericolo il delicato equilibrio biologico ?

Organismi transgenici

Un altro esempio può essere la **soia**.

Questa è il prodotto dell'agricoltura più coltivato al mondo, ed è stato ingegnerizzato, per la prima volta nel 1995 in un laboratorio americano, mediante l'inserimento di un transgene che gli conferisce la resistenza ad un potente erbicida.

Sulla base dei primi incoraggianti esperimenti la soia modificata geneticamente venne dichiarata sostanzialmente equivalente alla soia non GM.

In realtà la composizione chimica della soia GM è ovviamente diversa da quella delle varietà non-GM perché, altrimenti, la linea transgenica non sarebbe resistente all'erbicida.

Organismi transgenici

Nel 1988 una ricerca condotta in Germania dai ricercatori Sandermann e Wellman evidenziò che il transgene può scatenare notevoli mutamenti chimici nella soia, in particolare fa aumentare i livelli dei fitoestrogeni che, quando vengono introdotti nell'organismo dei mammiferi attraverso il cibo, agiscono come ormoni causando gravi squilibri ormonali.

Anche nel 2005 attraverso altri esperimenti, sono stati raggiunti risultati simili, e da ciò sembrerebbe che la soia GM non possa essere considerata sicura per la nostra alimentazione.

Organismi transgenici

Gli OGM sono un problema serio perché , introdotti nell'ambiente, impollinando colture non-OGM ne potrebbero alterare gli equilibri; causare l'estinzione di alcune specie di insetti (API)…

ES :

- in Nord America due decenni di colture di mais trattato con Roundup:

- Roundup è un erbicida che uccide qualunque pianta tocchi
- Roundup Ready mais contiene un gene EPSPS modificato che lo rende insensibile all'erbicida

È stata però completamente eradicata la cosiddetta erba del latte, unica fonte di cibo nei terreni coltivati per il bruco della farfalla Monarca; la carenza di piante ospiti per le larve ha portato a un **crollo del 90 per cento della popolazione Monarca nell'ultimo ventennio**

Un esempio emblematico è quello del mais, che negli Stati Uniti per anni è stato decimato (con danni per centinaia di milioni di dollari) dalla *Diabrotica virgifera*, un insetto che depone le sue larve vicino alle radici, uccidendo le giovani piante che non sono in grado di difendersi. Certo, detto così, non sembra davvero che il mais sia un campione di difesa vegetale. Eppure... Non è colpa sua!

Le più antiche varietà di mais europee e il mais selvatico – entrambi molto diversi da quello che coltiviamo oggi, frutto di lunghissime selezioni – erano perfettamente in grado di difendersi dagli attacchi della diabrotica. Siamo stati proprio noi che – attraverso un processo di selezione delle nuove varietà mirato a ottenere esemplari con elevati rendimenti e pannocchie molto grandi – senza accorgercene abbiamo indirettamente selezionato piante che non erano più in grado di difendersi da sole. Le vecchie varietà di mais, quando la *Diabrotica virgifera* attaccava deponendo le sue larve vicino alle radici, producevano una sostanza detta «cariofillina», la cui unica funzione era quella di chiamare in aiuto della pianta piccoli vermetti (nematodi) ghiotti delle larve di diabrotica. Questi se ne nutrivano, liberando il mais dal parassita.

Il nostro involontario errore, che ha portato alla selezione di varietà di mais inermi, è costato carissimo: si stima che, a livello mondiale, le perdite dovute a questo insetto ammontino a circa un miliardo di dollari l'anno! Per decenni la diabrotica ha rappresentato una delle più temibili avversità del mais e, per contrastarla, si sono spese cifre enormi, diffondendo nell'ambiente tonnellate d'insetticidi. C'è voluto l'intervento dell'ingegneria genetica per ripristinare l'originaria capacità del mais: nelle varietà moderne è stato reintrodotto il gene che sovrintende alla produzione della cariofillina, prendendolo in prestito dall'origano! Insomma, per restituire al mais una caratteristica innata, abbiamo dovuto creare una pianta transgenica.

Organismi transgenici

Il rilascio in natura di OGM tramite coltivazione e allevamento o contaminazione accidentale può produrre **effetti irreversibili sugli ecosistemi**.

Diversamente da un inquinante chimico, gli OGM sono organismi viventi e possono riprodursi e moltiplicarsi, estendendo la propria presenza sia nello spazio che nel tempo, sfuggendo a qualsiasi controllo.

Fonte : Greenpeace

Organismi transgenici

Senza parlare dell'impoverimento della economia locale causata dalla supremazia delle grandi industrie agrarie

Es le coltivazioni intensive di :

- olio di palma nel Borneo
- soia GM nel Centramerica

Organismi transgenici

La Ricerca continua :

- Polli GM per resistere al virus dell'influenza

- Vaccini da virus GM (HBV)

- virus herpes geneticamente modificato per curare melanoma

- gli scienziati stanno esplorando il potenziale anti-cancerogeno anche di altri noti virus: poliomelite, rabbia e adenovirus

- lo scienziato cinese Jiankui ha dichiarato di aver "silenziato" il recettore cellulare Ccr5, al quale si lega il virus dell'Aids, con l'obiettivo di ottenere la resistenza genetica al virus dell'HIV e - in futuro - l'obiettivo ambizioso di passare a vaiolo e colera.

- …anche qui ogni scienziato dice la sua …

Organismi transgenici

Le biotecnologie sono sicure per l'uomo e per l'ambiente?

L'uso delle biotecnologie, soprattutto applicate all'agricoltura, ha suscitato fin da subito perplessità e opposizioni, le cui ragioni sono economico-politiche, filosofiche, ma anche più propriamente scientifiche.

Tra queste ultime, si possono segnalare:

- la possibilità di immissione di allergeni nella catena alimentare;
- la possibilità di aumento della resistenza di germi patogeni naturali a determinati *antibiotici* o altre sostanze;
- le conseguenze su specie diverse da quelle desiderate;
- la diminuzione della *biodiversità*.

Organismi transgenici

- Riguardo agli allergeni, chi si oppone agli OGM sostiene che inserire geni estranei in un organismo potrebbe causare reazioni allergiche legate alla specie da cui provengono i geni estranei inseriti nel genoma ospite.
- Riguardo all'induzione di effetti indesiderati di resistenza, sappiamo che alcune piante GM permettono di ridurre l'uso dei diserbanti grazie all'inserimento nel loro genoma di un gene che conferisce resistenza ai pesticidi; se tale gene si trasmettesse tramite vettori da una pianta coltivata a un'erbaccia che cresce nelle vicinanze, si genererebbe un'infestante capace di prosperare anche nelle aree trattate con diserbanti.

Organismi transgenici

- È stato fatto presente un altro problema sempre legato alla coltivazione degli OGM:

- alcune piante GM sono resistenti ai parassiti grazie a un gene ricavato dal batterio *Bacillus thuringensis*, che consente di produrre una tossina letale per gli insetti ma innocua per gli esseri umani.
- Tali tossine, tuttavia, potrebbero causare gravi danni anche alle popolazioni di insetti utili, come gli impollinatori.

Organismi transgenici

- In merito alla biodiversità, la questione è che l'uso di coltivazioni standardizzate, con poche specie ultraselezionate e uguali in tutto il mondo è una condizione di per sé instabile, che espone a rischi potenzialmente gravi.

Organismi transgenici

Per placare tali dubbi ci sono diverse possibilità :

La scelta più radicale è la messa al bando degli OGM;

mentre un approccio meno drastico potrebbe prevedere :

- l'utilizzo sotto stretto controllo, con aree delimitate per la coltivazione di OGM
- una serie di precise norme sull'etichettatura
- l'incentivazione di biotecnologie sicure e rispettose dell'ambiente.

A proposito di quest'ultimo punto, l'Unione Europea sovvenziona da anni programmi di ricerca che studiano la possibilità di un utilizzo «dolce» delle biotecnologie.

Organismi transgenici

Tra il 1990 e il 1997 la mobilitazione degli attivisti anti-OGM ha fatto sì che il dibattito sugli OGM entrasse nelle agende politiche degli Stati Membri dell'Unione europea

Il dibattito sulla validità degli OGM è oltre che scientifico soprattutto politico ed economico.

- In molti Paesi del mondo esiste un quadro di riferimento normativo che regola il settore OGM, per garantire la biosicurezza, ossia l' utilizzo nel rispetto dei necessari livelli di sicurezza dell'ambiente, della salute umana e di quella animale.

PRINCIPIO di PRECAUZIONE

- I principi legislativi di riferimento a livello internazionale in tema di biosicurezza e per la protezione delle biodiversità sono contenuti all'interno del Protocollo di Cartagena (anno 2000) che pone l'accento sulla tracciabilità dei prodotti.

Organismi transgenici

- L'Italia ha recepito la direttiva 2001/18/CE. Nel luglio 2013 è stata annunciata la firma di un decreto che proibisce uno dei più diffusi OGM : il mais Monsanto 810

Monsanto è la multinazionale diventata famosa per aver prodotto l'**Agente Arancio**, il defoliante tossico e cancerogeno usato nella guerra del Vietnam