

ALTERNANZA SCUOLA·LAVORO IN ISS

05-08 e 14-16 febbraio 2018



Percorso formativo:

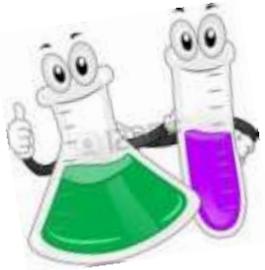
**BC09. LE NUOVE FRONTIERE DELLE BIOTECNOLOGIE:
IL TRASFERIMENTO GENICO**

Studenti/Liceo:

L. L./GESU' MARIA
S. P./ORAZIO
B. P./PASTEUR
A. R./MORGAGNI

Tutor/affiliazioni: Dott.ssa ZULEIKA MICHELINI
Dott.ssa ALESSANDRA GALLINARO

Centro Nazionale per la Salute Globale



LA TERAPIA GENICA



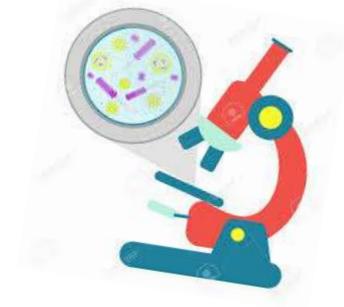
dalla teoria:

la terapia genica consiste nel trasferimento di uno o più geni sani in una cellula malata, al fine di curare una patologia causata dall'assenza o dal difetto di uno o più geni (mutati).

alla pratica:



Trasferire materiale genetico tramite vettori lentivirali in una cellula di mammifero (geni reporter: GFP e Cherry)



QUANDO SI APPLICA:

- malattie genetiche con un solo gene coinvolto
- malattie oncologiche (leucemia)
- malattie infettive (causate dall'infezione di un singolo agente patogeno sia virale sia batterico)
- malattie del sistema immunitario



A COSA SERVE:

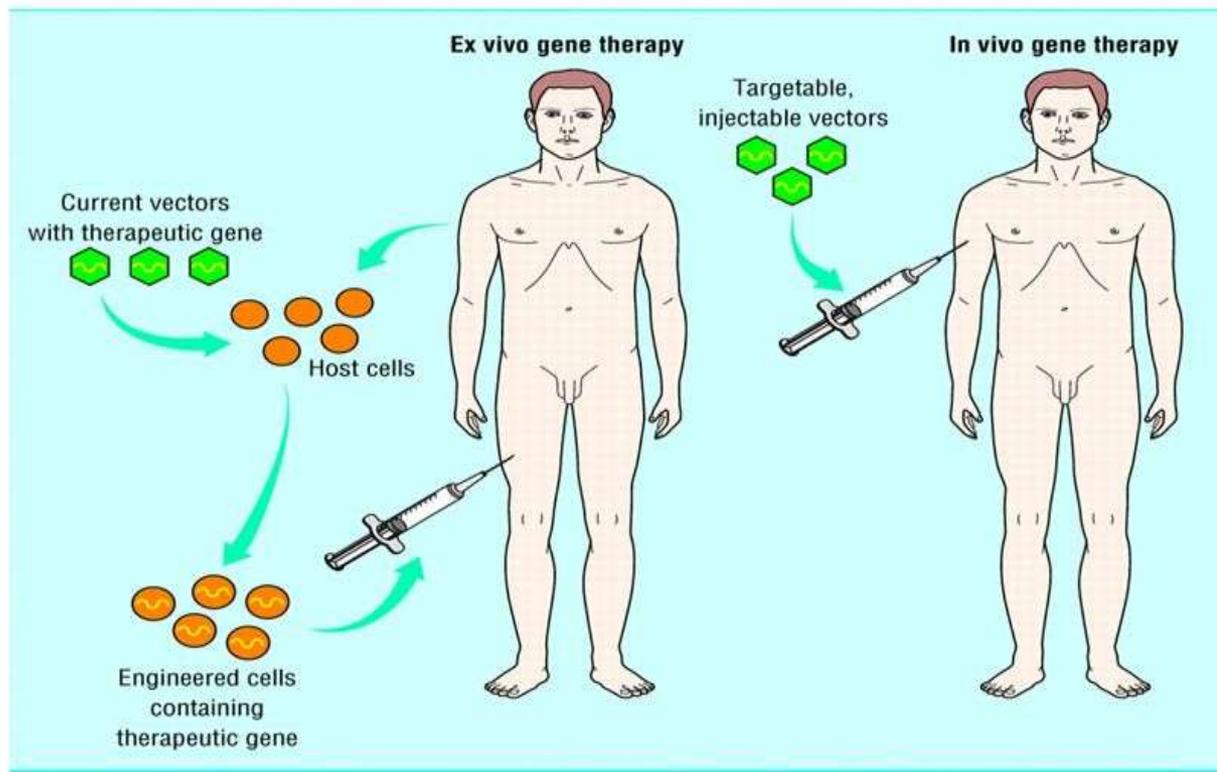
- *Dare nuove funzioni alla cellula*
- *Correggere difetti genetici*



Il materiale genetico può venire trasferito:

nelle cellule precedentemente prelevate dal paziente e solo in seguito reintrodotte nel paziente stesso
terapia genica ex-vivo

direttamente nelle cellule nel corpo di un paziente
terapia genica in-vivo



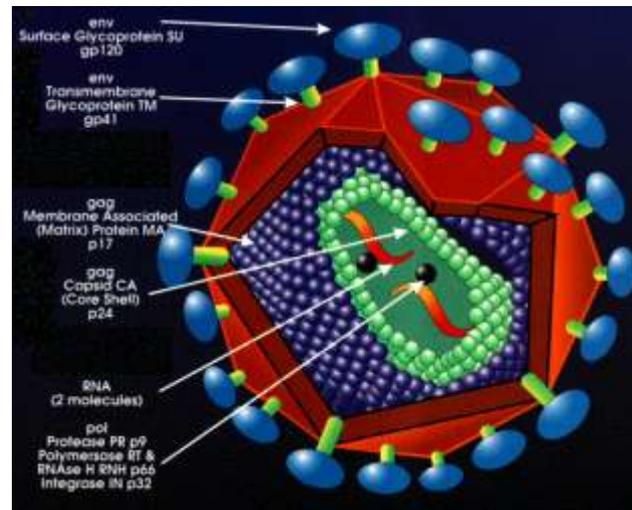
Il trasferimento di geni è di solito studiato per:

- modificare geneticamente esclusivamente le cellule patologiche
- modificare specificatamente le cellule sane, come quelle del sistema immunitario

VETTORI

Per trasferire il transgene (parte del DNA corretto) nella cellula bersaglio (cellula che si vuole correggere) è necessario disporre di un sistema in grado di veicolare all'interno il DNA, cioè un vettore.

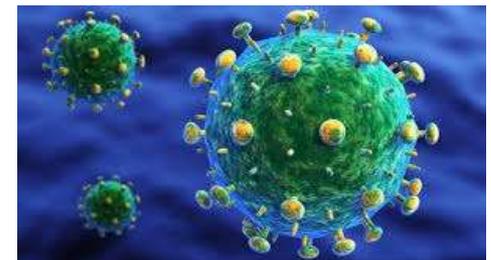
Non virali



Virali

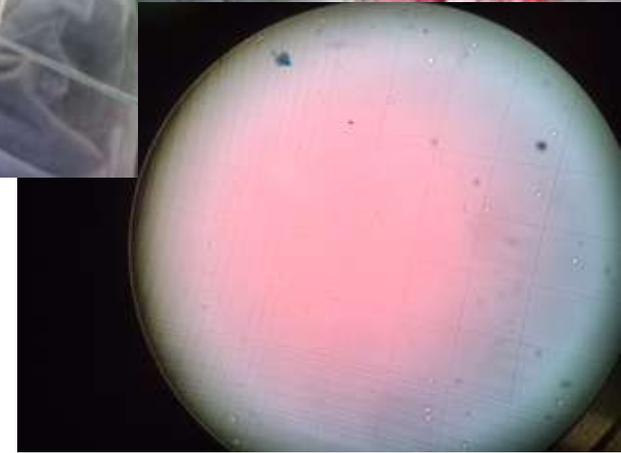
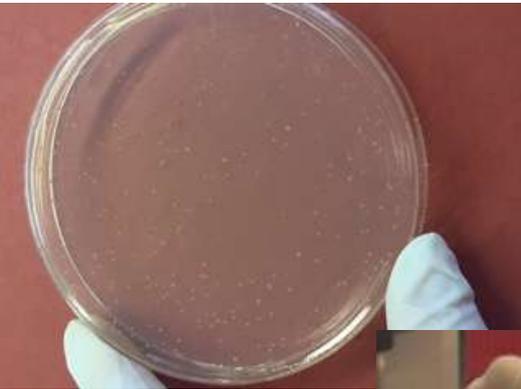
- RETROVIRUS
- ADENOVIRUS
- VIRUS ADENO-ASSOCIATI
- LENTIVIRUS (HIV)

I lentivirus sono tra i virus maggiormente utilizzati nelle tecniche di terapia genica. Il virus è stato **modificato** per renderlo **non patogeno**, è suddiviso in tre o più plasmidi (packaging, transfer ed envelope) per veicolare il gene di interesse.



IN PRATICA...

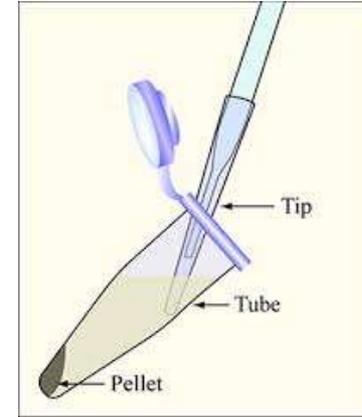
1. Abbiamo messo le cellule in coltura e le abbiamo contate.



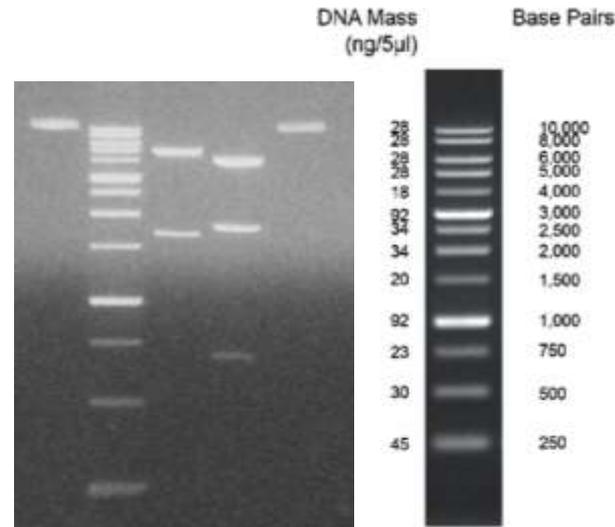
2. Abbiamo fatto crescere i batteri contenenti il **plasmide** che esprime il gene di interesse **gfp** e **cherry**.

LE NUOVE FRONTIERE DELLE BIOTECNOLOGIE: IL TRAFERIMENTO GENICO

3. Abbiamo estratto il **DNA plasmidico** dai batteri.



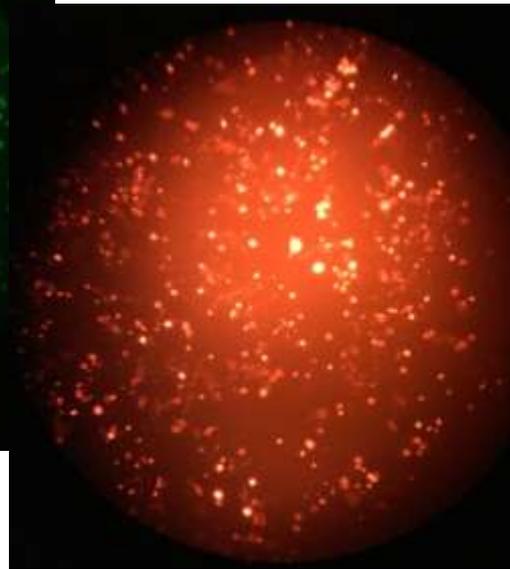
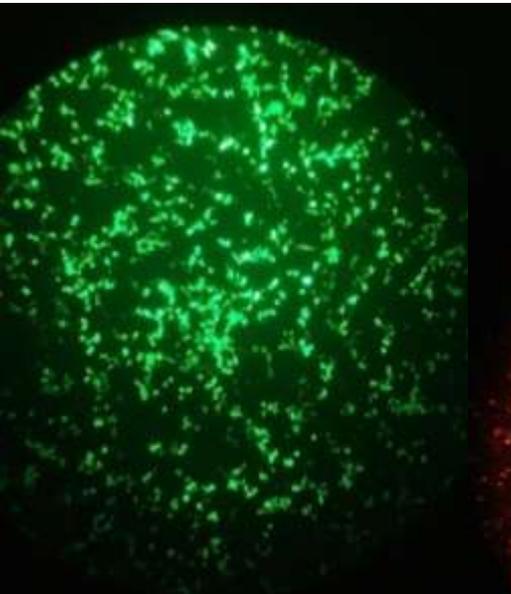
4. Abbiamo controllato l'esattezza dell'**inserto** e la **quantizzazione**.



1 % TAE agarose gel

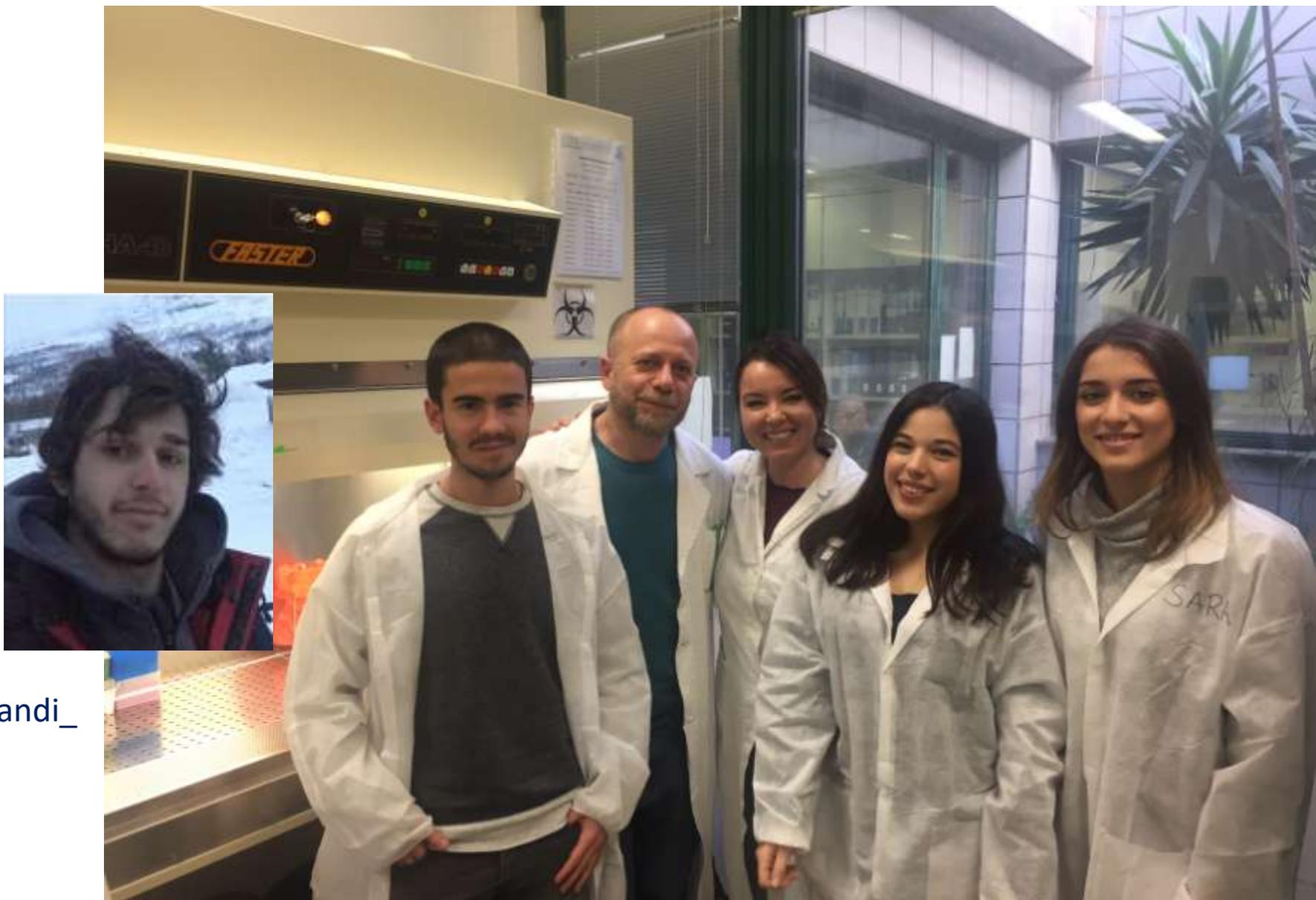
1. 80ng dig EcoRI. Bande attese: 4791bp (60ng) + 1572bp (20ng)
2. 120ng dig. KpnI/SacI. Bande attese: 3906bp (65ng) + 1766bp (29ng) + 691bp (12ng)

5. Abbiamo eseguito la **trasfezione** delle
cellule tramite calcio fosfato



6. Abbiamo poi verificato
l'espressione

GRAZIE INFINITE PER LA BELLISSIMA ESPERIENZA!



@lollolandi_