



Modelli sperimentali in biotecnologie

Prof.ssa Monia Perugini

Corso opzionale

Corso opzionale: Modelli sperimentali in biotecnologie 2022-2023

- ▶ Prof.ssa Perugini, Unità Farmacologia e Tossicologia Veterinaria, Facoltà di Bioscienze, tel.0861-266988; email mperugini@unite.it
CFU : 3.
- ▶ Esame: orale

Cosa sono le biotecnologie?

- ▶ **Per biotecnologie si intende *l'insieme delle tecniche che utilizzano organismi viventi per lo sviluppo di prodotti utili***
- ▶ **La *ricerca biomedica è multidisciplinare, e spesso utilizza approcci integrati che si servono di modelli sperimentali molto diversi e con funzioni complementari.***



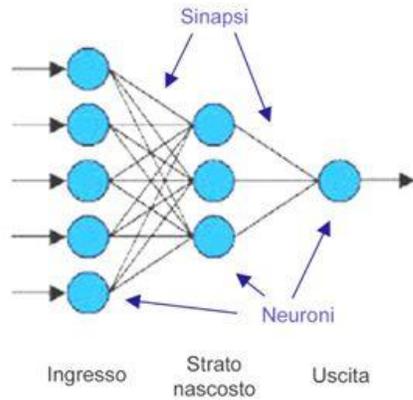
Modelli nelle biotecnologie

INTRODUZIONE

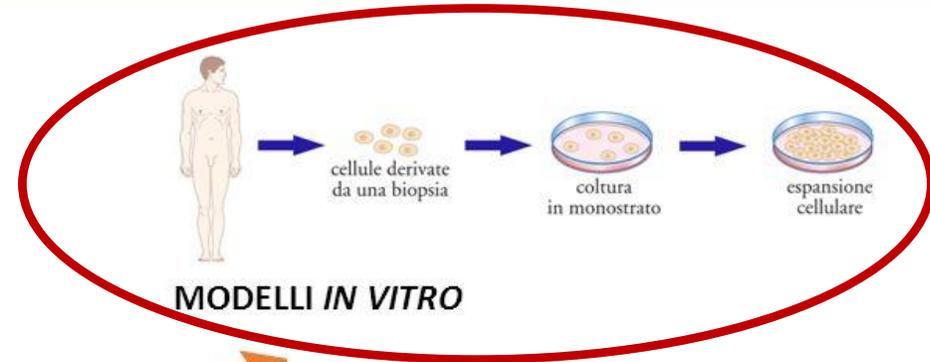
METODOLOGIA

EVIDENZE SPERIMENTALI

DISCUSSIONE



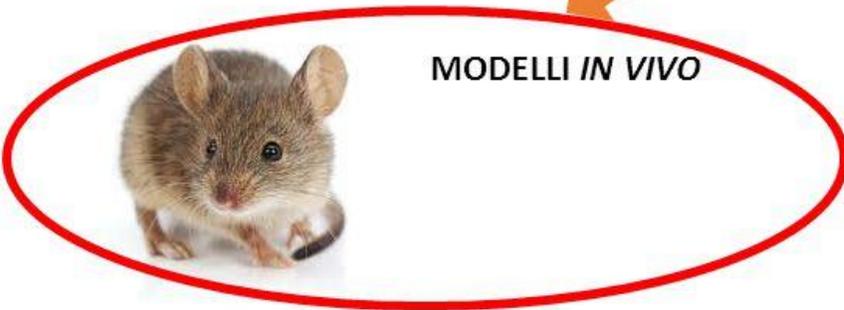
MODELLI *IN SILICO*



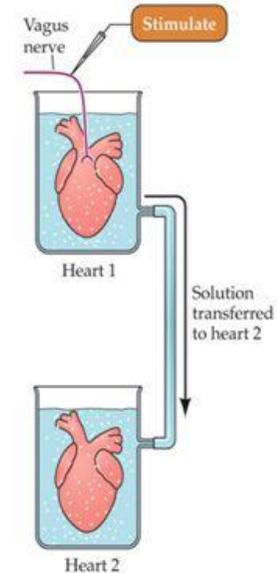
MODELLI *IN VITRO*

**MODELLI
SPERIMENTALI**

MODELLI *IN VIVO*



MODELLI *EX-VIVO*



Modelli in silico

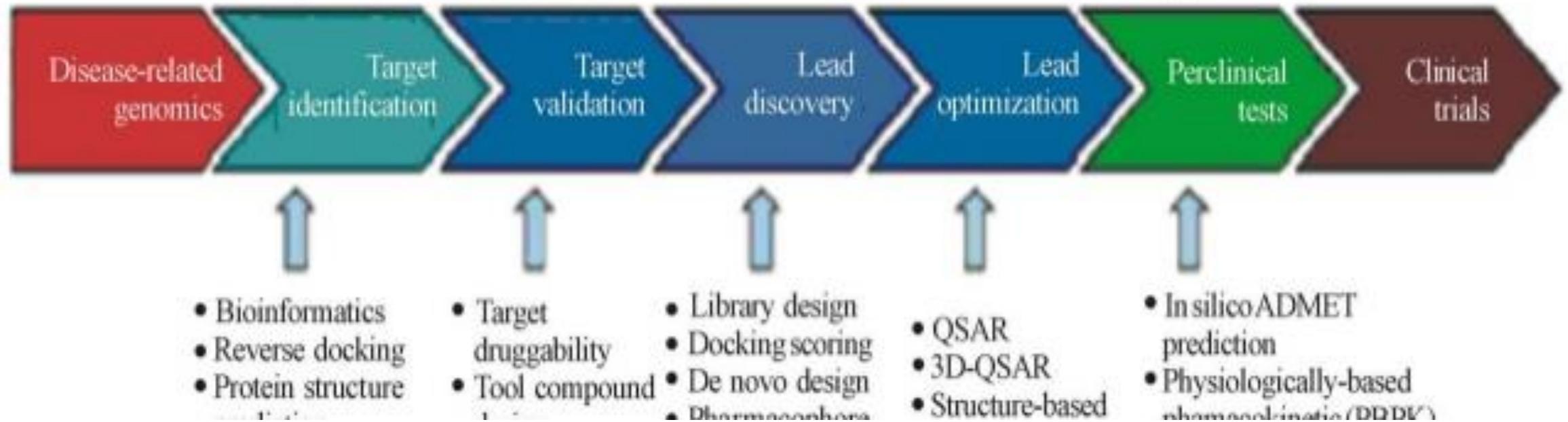
- ▶ **Progressi dell'informatica con internet e banche dati online come quelle di tipo genetico e proteico è possibile avere a disposizione la struttura primaria di geni e proteine umane o animali.**
- ▶ **Videoimaging e ricostruzione tridimensionale delle immagini che sono alla base di molte tecnologie usate in diagnostica umana.**
- ▶ **L'analisi in silico integra ma non sostituisce i modelli sperimentali, che siano in vitro o in vivo.**

Modelli in silico

- ▶ **Esiste un certo numero di proteine per le quali sono conosciute le coordinate cristallografiche e per le quali è disponibile la struttura tridimensionale. Queste informazioni permettono di avere a disposizione modelli predittivi ragionevolmente accurati anche della disposizione nello spazio di proteine a struttura primaria (sequenza amminoacidica) simile. La disponibilità di modelli tridimensionali consente di effettuare in silico esperimenti di interazione molecolare di tipo sia statico sia dinamico.**
- ▶ **Con questo tipo di tecniche (**docking molecolare**) è possibile, per esempio, disegnare molecole organiche in grado di interagire con il sito catalitico di un enzima.**

Basic Steps in *In Silico* Drug Designing

CADD



Modelli in silico

The Process of drug discovery and development



- La modellistica è anche ampiamente utilizzata per migliorare le caratteristiche chimiche di composti attivi su determinati bersagli molecolari, individuati grazie a strategie di screening che implicano l'uso di modelli sperimentali in vitro o in vivo.

Modelli in vitro

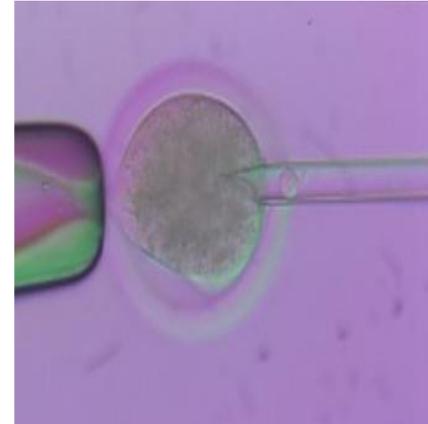
Culture Cellulari



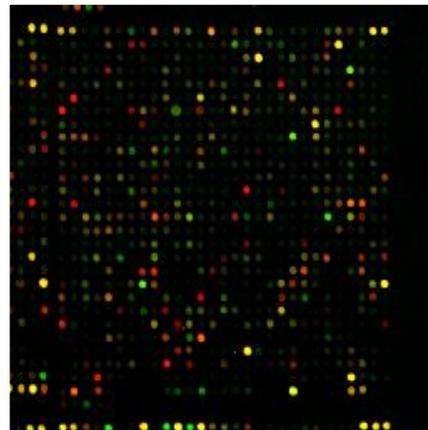
DNA Ricombinante



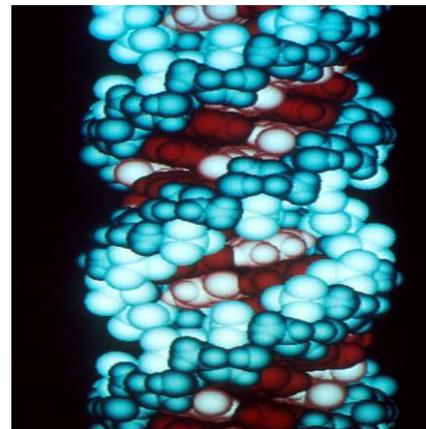
Clonaggio e Clonazione



Microarray

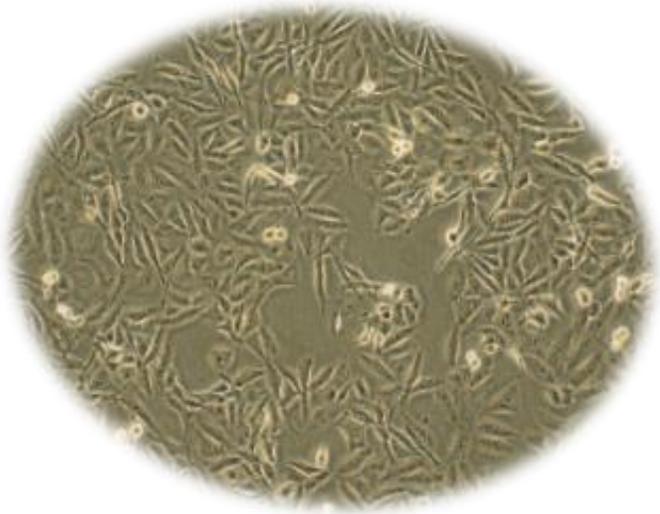


Tecnologia Antisenso



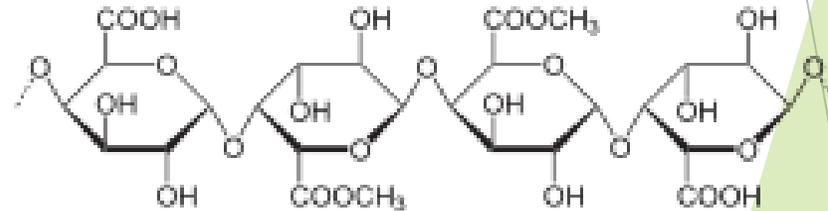
Colture Cellulari

- ▶ **E' la tecnologia piu' prossima alle biotecnologie tradizionali.**
- ▶ **Ne esistono tre tipi diversi: colture vegetali, animali e di cellule staminali embrionali.**



Colture Cellulari

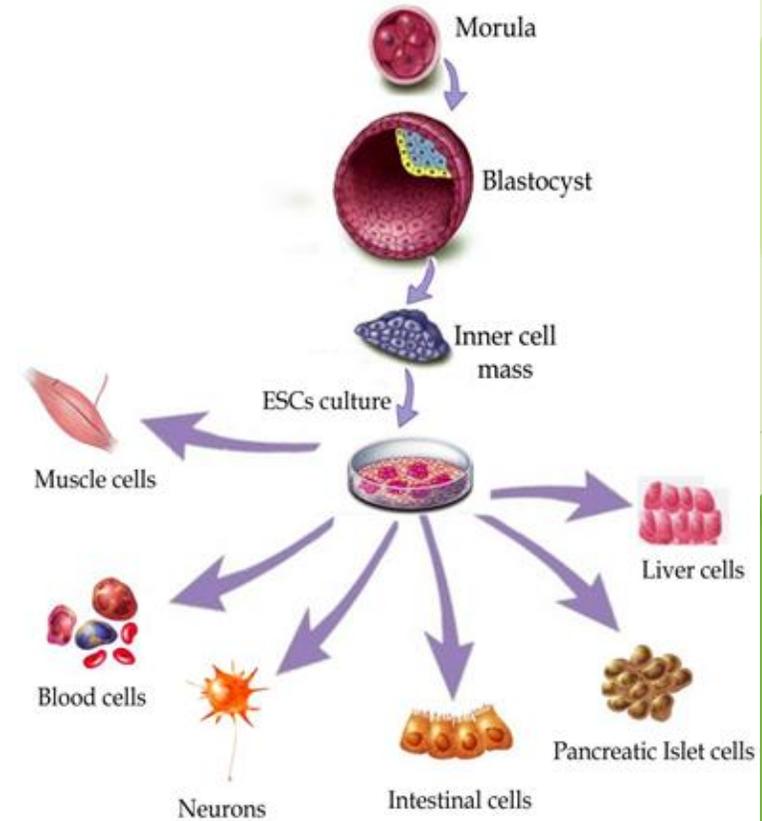
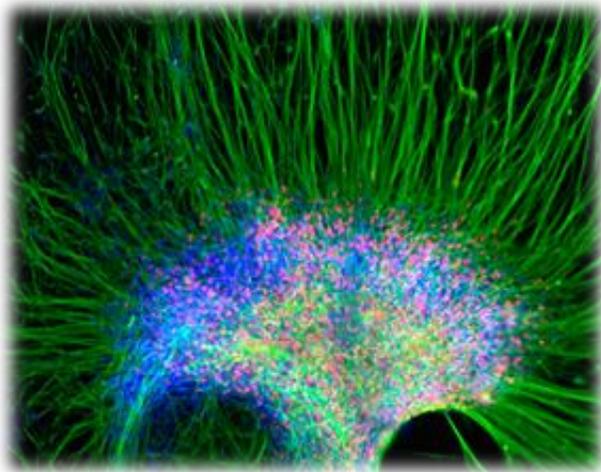
- ▶ **Le colture vegetali** sono molto diffuse perché le cellule vegetali sono totipotenti: possono generare l'intera pianta a partire da una singola cellula.
- ▶ **Le colture animali** sono usate principalmente come «sistema modello».



Colture Cellulari

- **Le colture di cellule staminali embrionali costituiscono l'ultima frontiera della ricerca. In questo tipo di colture le cellule umane primitive**

Sono in grado di differenziarsi.



Colture Cellulari...

- ▶ **La necessità di passare dalle colture cellulari a un sistema più complesso è legata ai limiti intrinseci degli studi farmacologici in vitro. Infatti, l'attività di un farmaco è funzione di diversi parametri di cui non si tiene conto in un sistema cellulare, quali l'assorbimento, la distribuzione, le concentrazioni ottenibili nell'organo e nella cellula bersaglio, il metabolismo e l'escrezione.**



DNA ricombinante

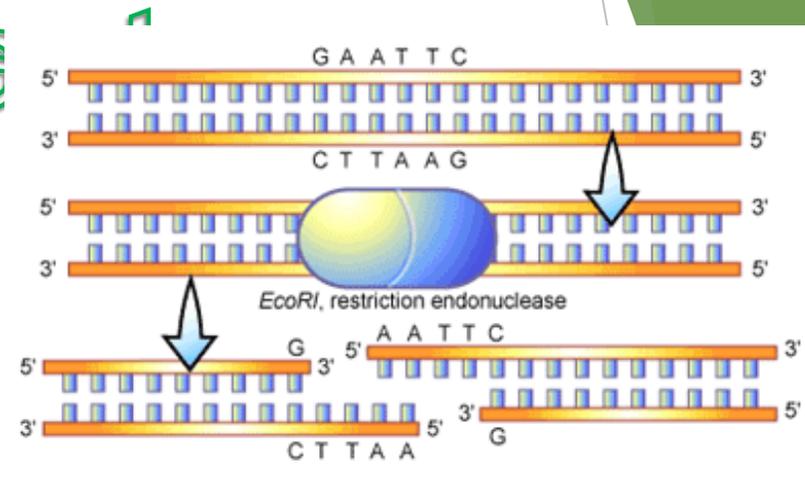
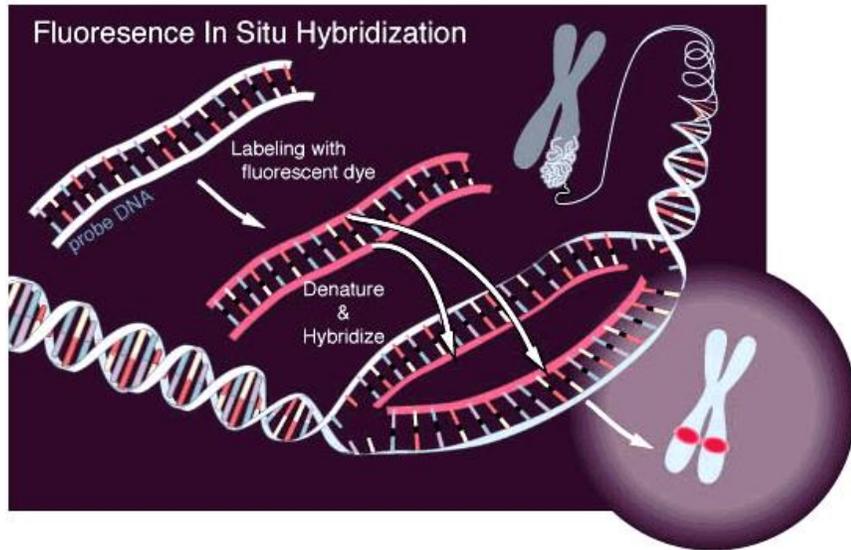
- ▶ Il **DNA ricombinante** permette di tagliare piccole sequenze di **DNA** per trasferirle in genomi di altre cellule.
- ▶ **Fondamentale** e' stata la scoperta del «**modello a doppia elica**» nel 1953 (**Watson e Crick**).



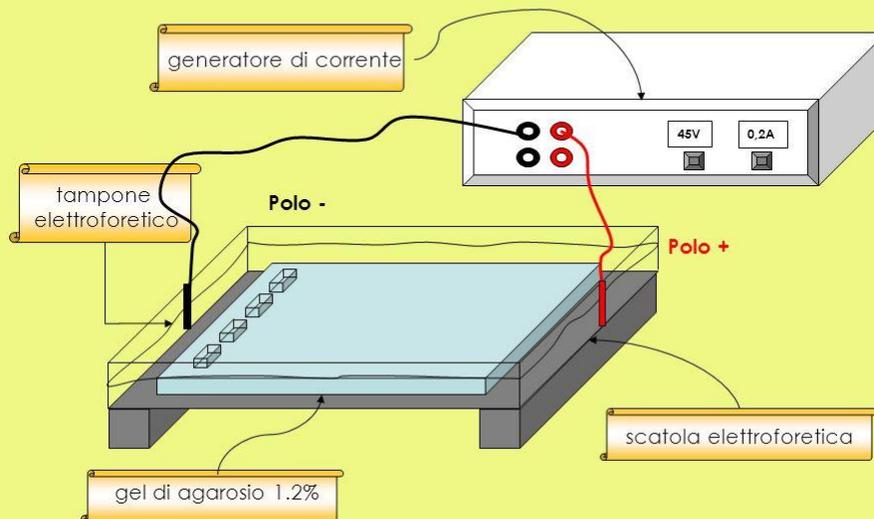
DNA ricombinante

- ▶ **Nel 1960 si scopre un enzima capace di tagliare il DNA: e' il primo passo verso le biotecnologie moderne.**
- ▶ **Questo tipo di enzimi (enzimi di restrizione) agiscono solo su sequenze specifiche.**
- ▶ **Per poter tagliare un frammento di restrizione di DNA e' necessaria l'elettroforesi.**

DNA ricombina



ELETTROFORESI IN GEL DI AGAROSIO

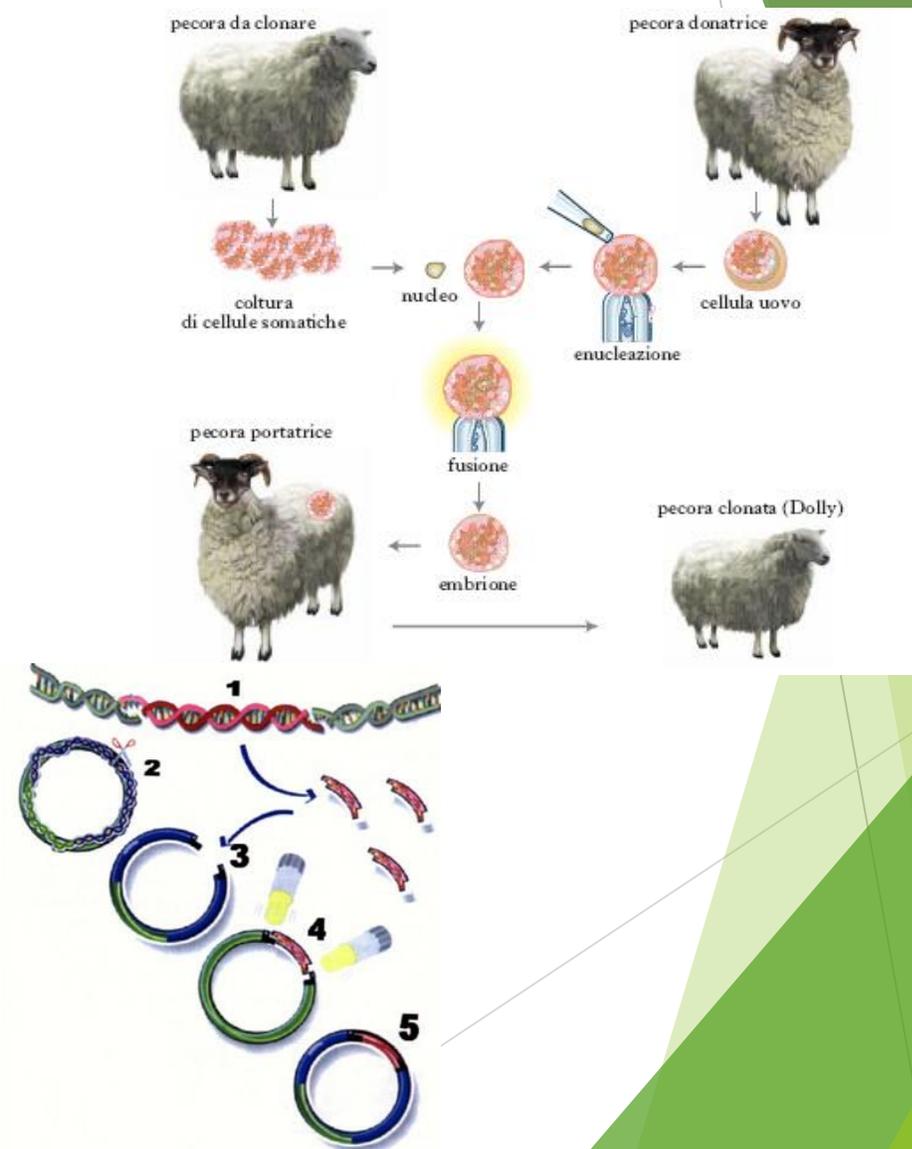
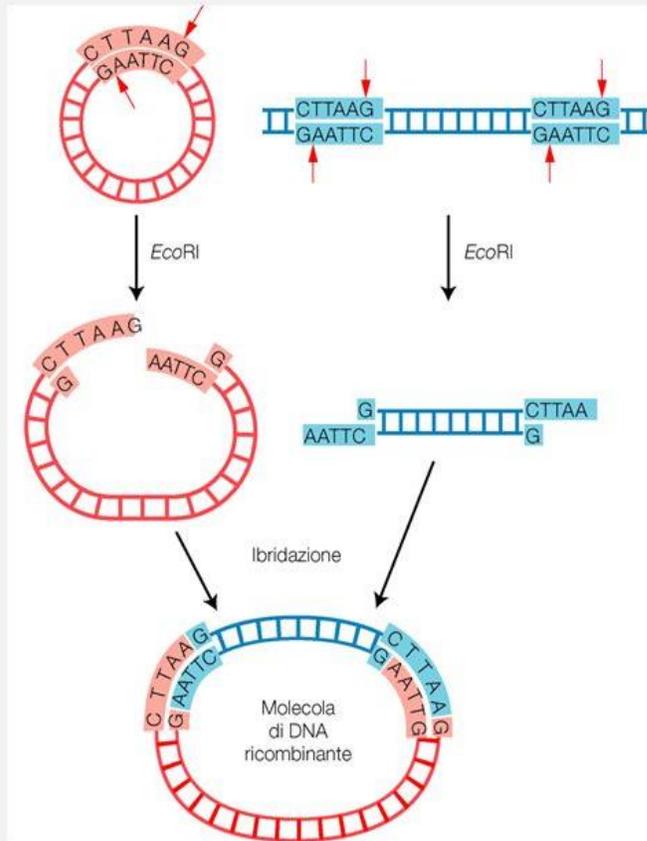


Clonaggio e Clonazione

- ▶ Per **clonaggio** si intende la **produzione di copie multiple di una molecola**.
- ▶ La **clonazione** e' la **produzione di organismi geneticamente identici a quelli di partenza**.
- ▶ Il **clonaggio** avviene con il **trasferimento di un frammento di DNA in una cellula ospite sfruttando il processo di replicazione grazie ad una molecola detta vettore**.

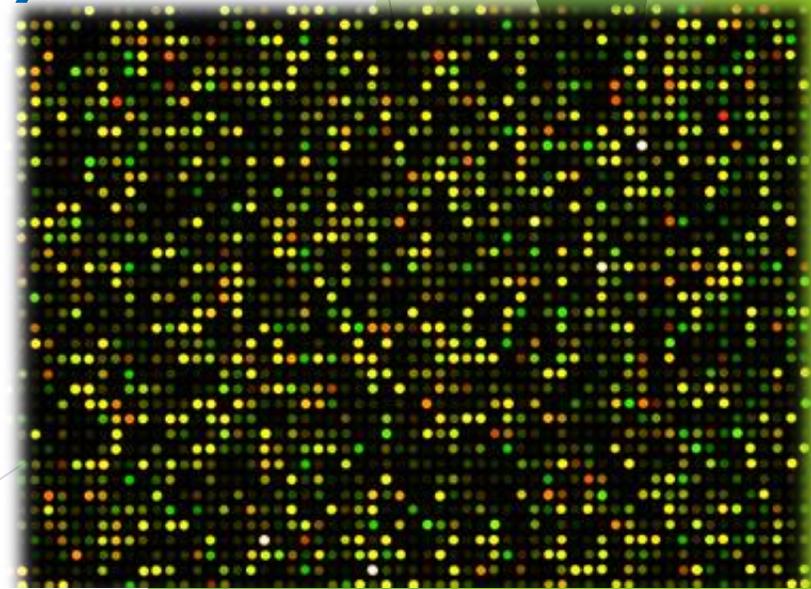
Clonaggio e Clonazione

CLONAGGIO ATTRAVERSO VETTORE



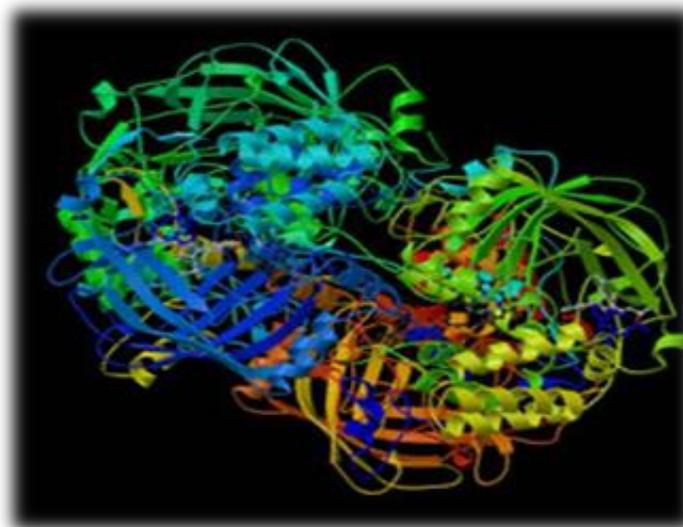
La tecnologia microarray

- ▶ Permette l'analisi in contemporanea di piu' campioni di DNA, RNA o proteine.
- ▶ Immobilizzando tratti di DNA, RNA o proteine su supporti di vetro si crea una matrice (array) di molecole, detta chip.



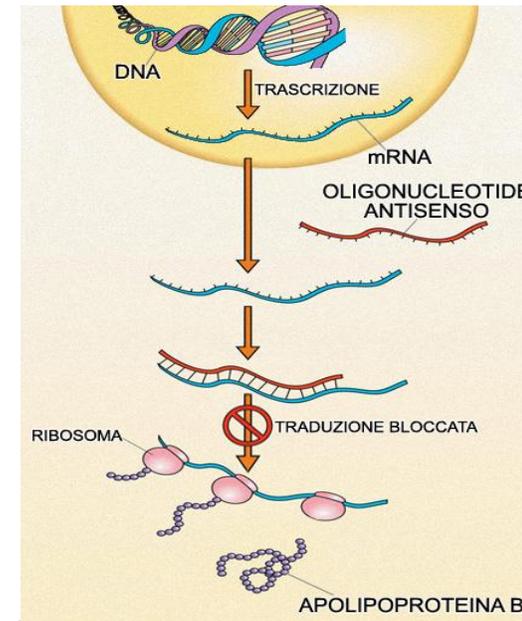
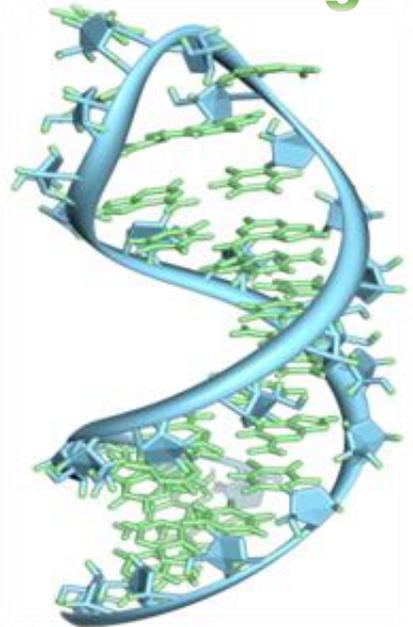
La tecnologia microarray

- ▶ Il microarray di DNA si applica per identificare **mutazioni genetiche causate da malattie**.
- ▶ La tecnologia microarray fa uso della **bioinformatica** per l'archiviazione e l'analisi di dati.



La tecnologia antisense

- ▶ La tecnologia antisense e' usata per il **silenziamento di alcuni geni** per evitare che esprimano le informazioni di cui sono portatori.
- ▶ Si basa sull'uso di **oligonucleotidi, complementari all' mRNA.**





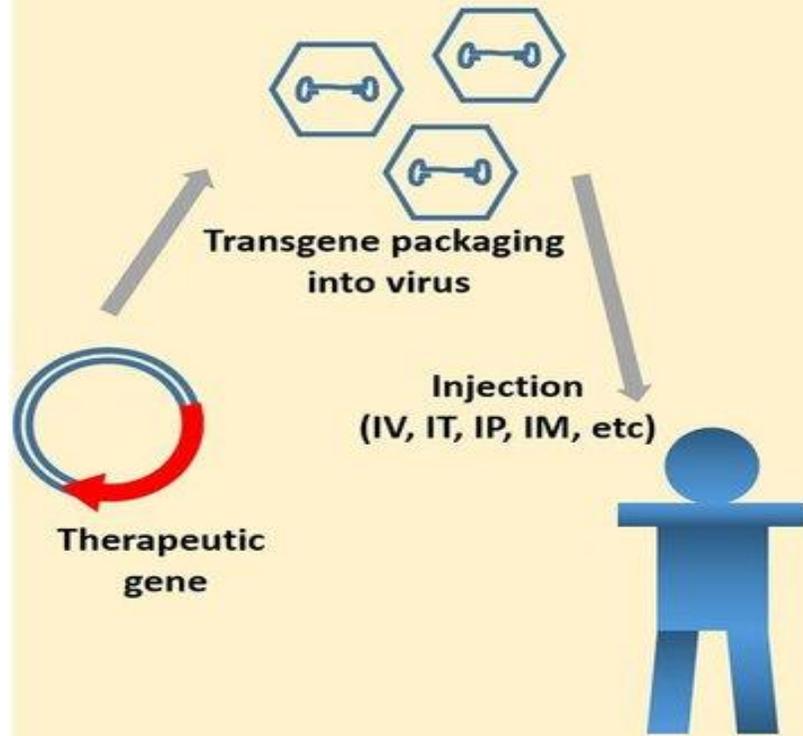
Modelli ex vivo

- ▶ **Gli organi isolati e perfusi rappresentano un modello sperimentale intermedio tra le colture cellulari e l'organismo intero.**
- ▶ **Alcuni organi (fegato, cuore, rene, intestino etc) di animali da esperimento possono mantenere la loro funzione fisiologica, per periodi di tempo più o meno lunghi, anche in condizioni di parziale o completo isolamento dal resto dell'organismo.**
- ▶ **Questo tipo di modello è utilizzato quando si vogliono effettuare studi che richiedono l'integrità anatomica e funzionale dell'organo di interesse ma si intendano valutare fenomeni locali e indipendenti dall'interazione con altri organi, sistemi e apparati.**

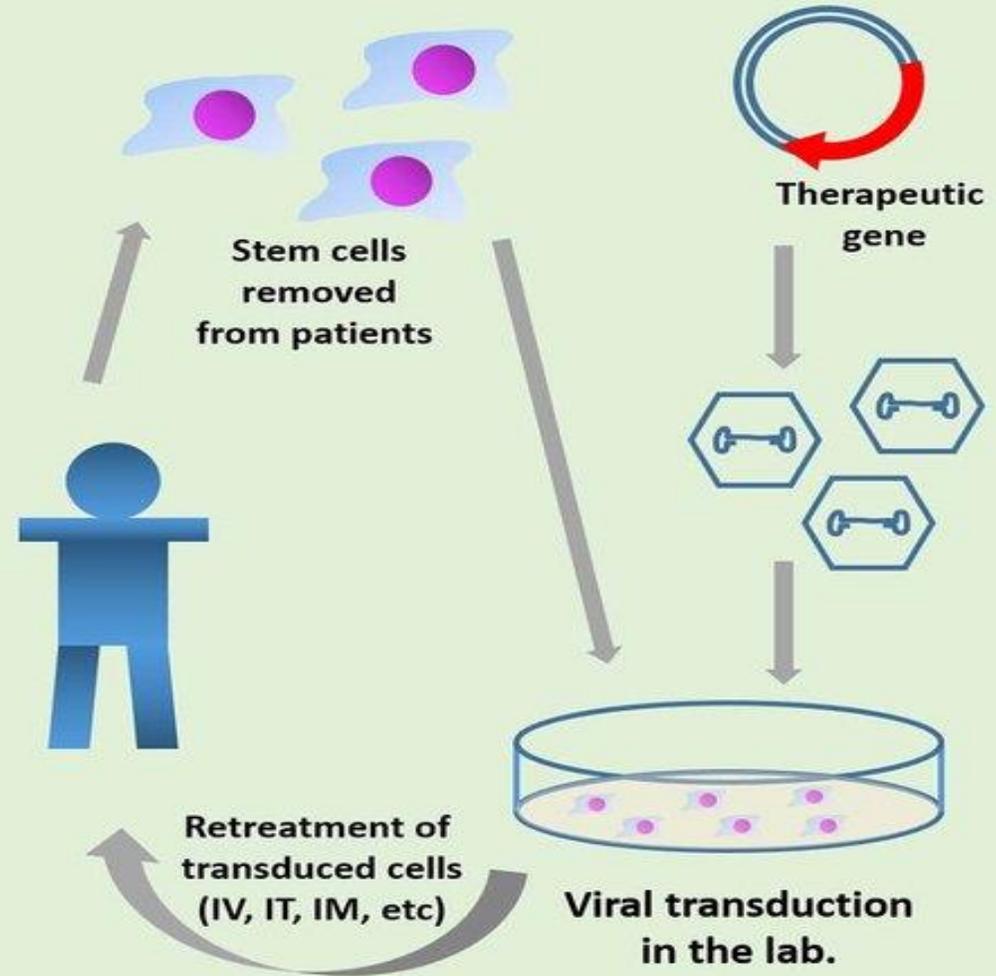
Modelli ex vivo

- ▶ **Questo modello permette di raccogliere e analizzare i fluidi di perfusione, cambiarne la composizione e manipolare le condizioni sperimentali.**
- ▶ **Anche questo tipo di modello deve essere comunque visto come un buon sistema in grado di integrare le osservazioni e i risultati che sono stati ottenuti mediante altri paradigmi sperimentali sia in vitro sia in vivo**

In Vivo



Ex Vivo



Modelli in vivo

► Vertebrati



► Invertebrati



Gli uomini non sono topi!

