



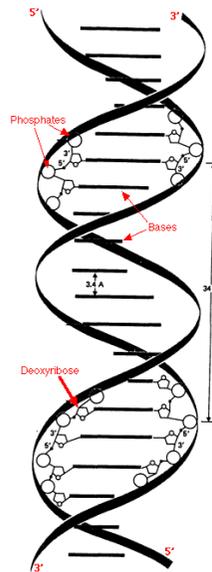
OGM
Organismi Geneticamente Modificati



DEFINIZIONE

Con il termine Organismo Geneticamente Modificato (OGM) si intende un organismo in cui parte del genoma sia stato modificato tramite la tecnologia del DNA ricombinante.

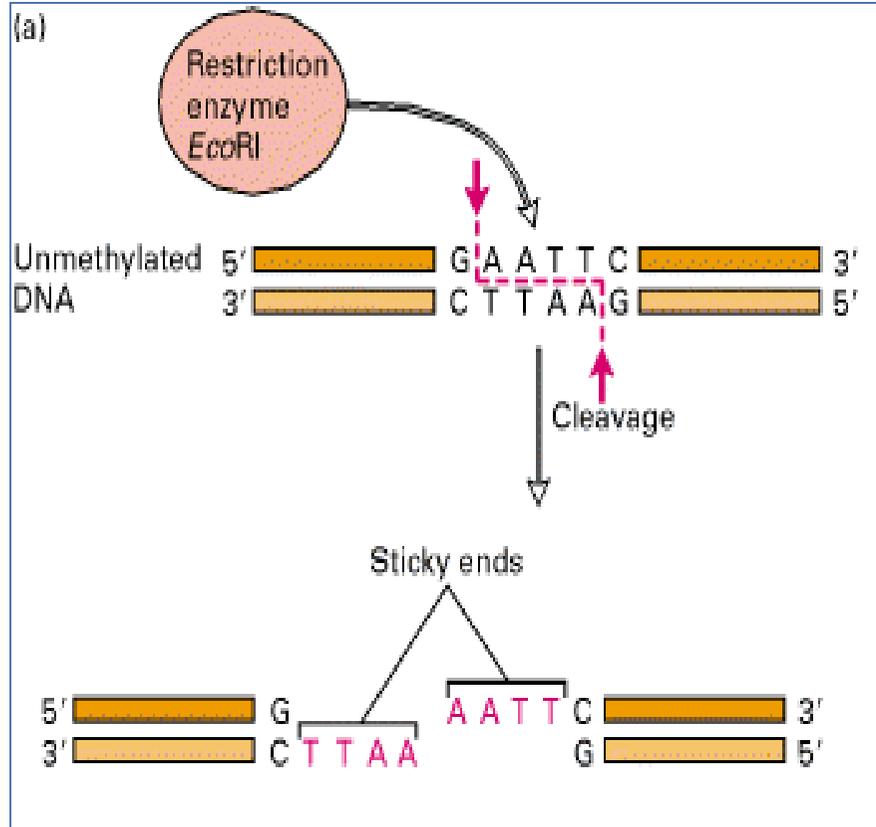
1953: James Watson e Francis Crick scoprono la struttura del DNA



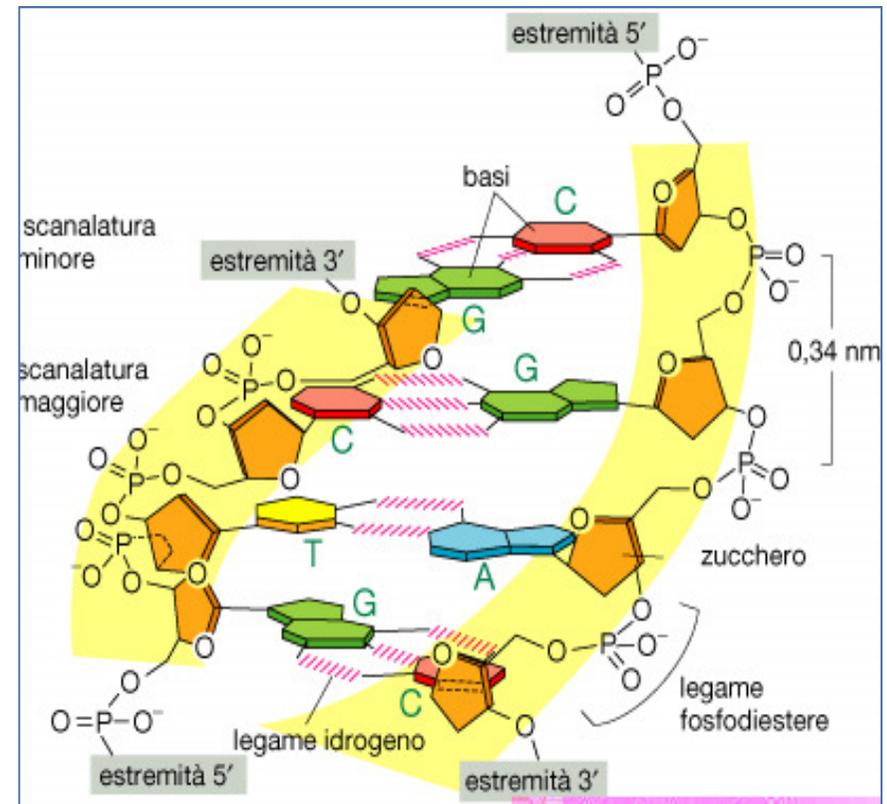
IL CODICE GENETICO

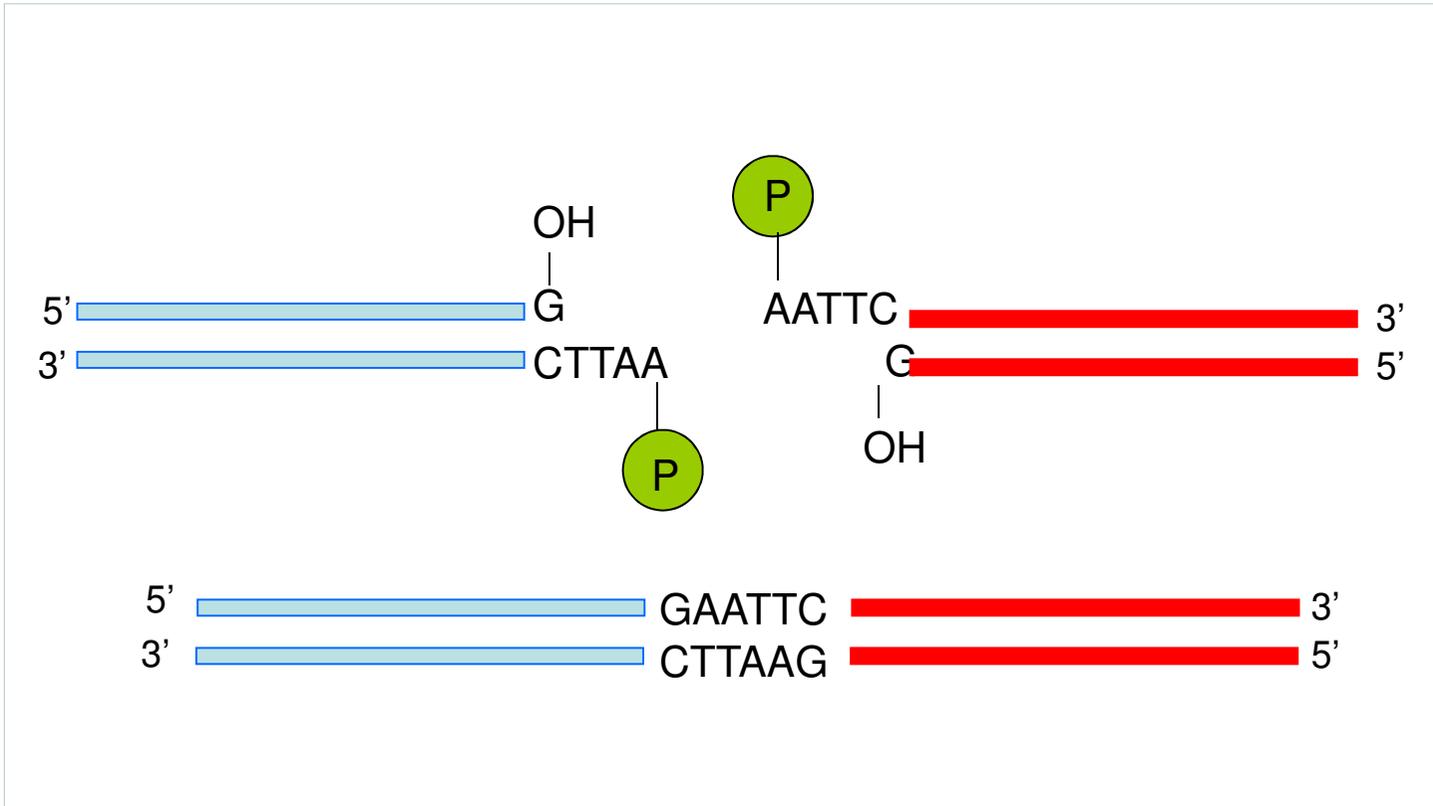
		Second letter							
		U	C	A	G				
U	UUU	Phenylalanine	UCU UCC	Serine	UAU	Tyrosine	UGU	Cysteine	U
	UUC				UAA		Stop codon		UGA
	UUA	UUG	Leucine	UCG	UAG	Stop codon	UGG	Tryptophan	G
C	CUU	Leucine	CCU CCC	Proline	CAU	Histidine	CGU	Arginine	U
	CUC				CAA		Glutamine		CGC
	CUA				CAG	CCG	CAG		CGA
A	AUU	Isoleucine	ACU ACC	Threonine	AAU	Asparagine	AGU	Serine	U
	AUC				AAA		Lysine		AGA
	AUA	AUG	Methionine; start codon	ACG	AAG	AGG	Arginine	G	
G	GUU	Valine	GCU GCC	Alanine	GAU	Aspartic acid	GGU	Glycine	U
	GUC				GAA		Glutamic acid		GGC
	GUA				GUG	GCG	GAG		GGG

1970: Smith ha isolato il primo
ENZIMA DI RESTRIZIONE



DNA ligasi: lega covalentemente due
molecole di DNA

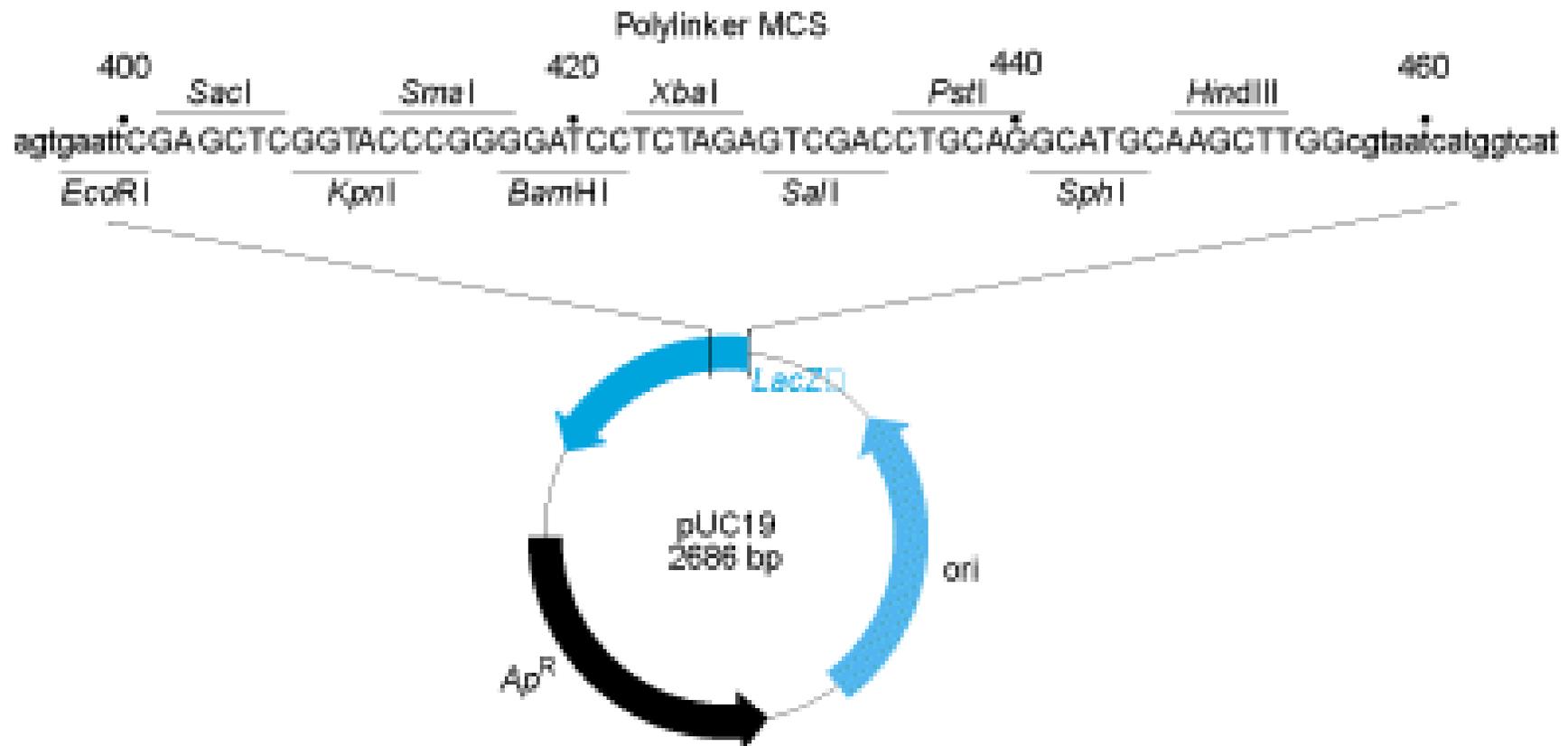




DNA RICOMBINANTE

Produzione su larga scala del DNA ricombinante

La molecola di DNA ricombinante, deve essere introdotta in un replicone (una unita' di DNA capace di replicarsi detta vettore o plasmide).



PCR

Copiare il DNA

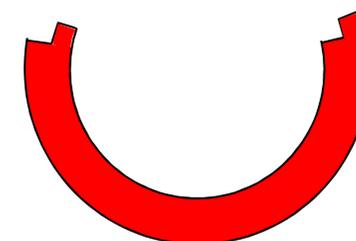


ENZIMI DI RESTRIZIONE

Tagliare il DNA

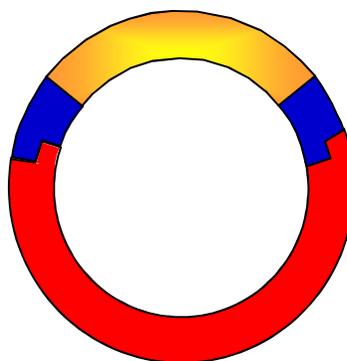


plasmide



LIGASI

Cucire il DNA



DNA RICOMBINANTE

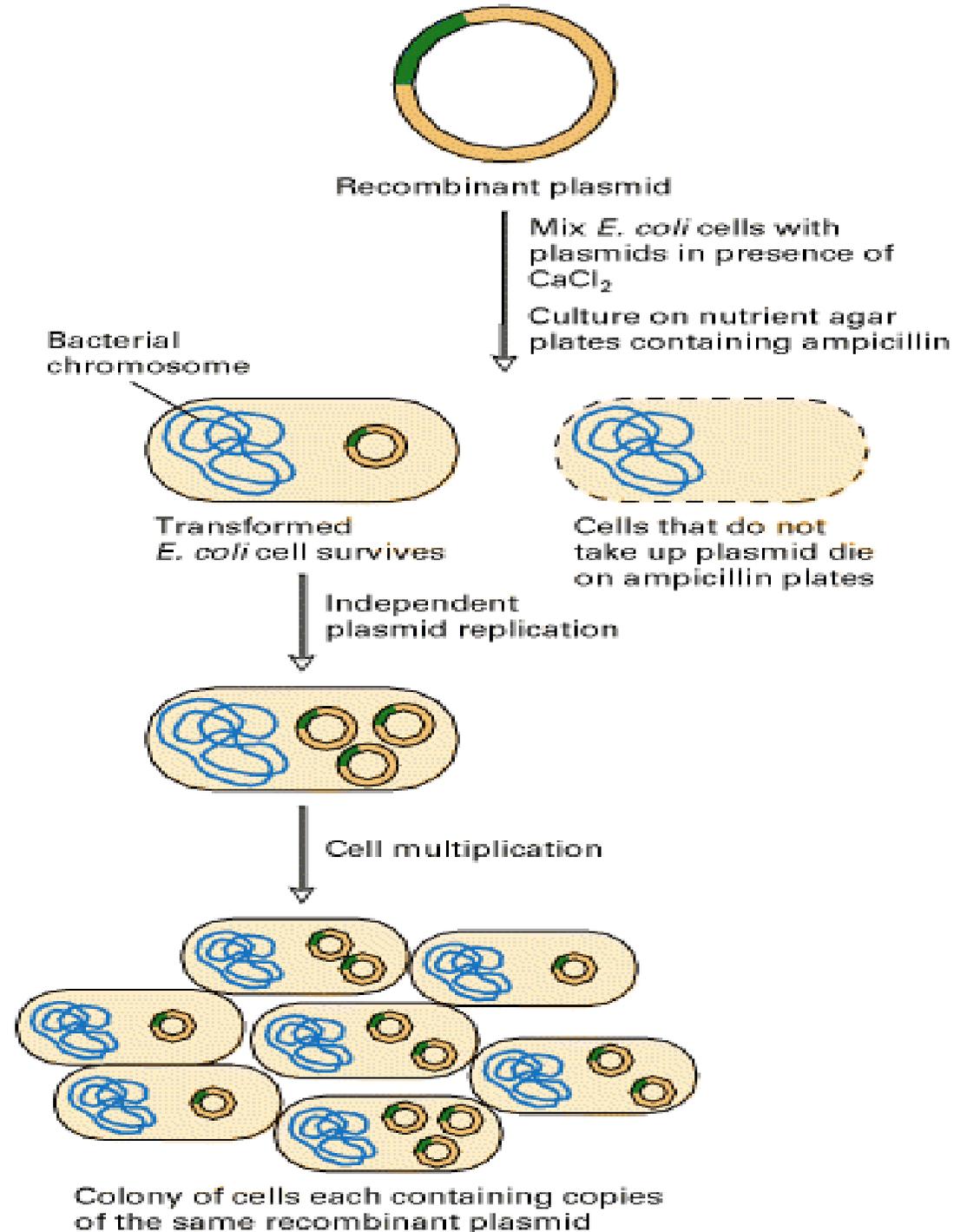
trasformazione batterica

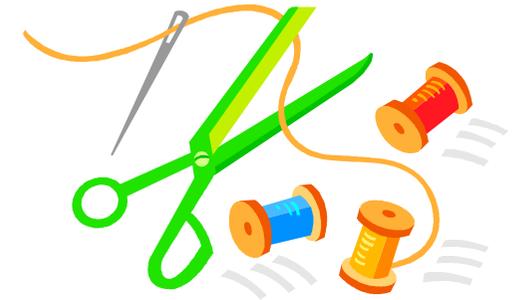
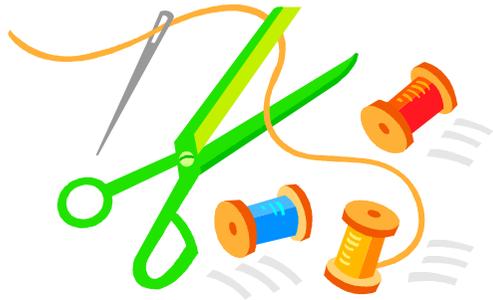


selezione del clone contenente il plasmide ricombinante

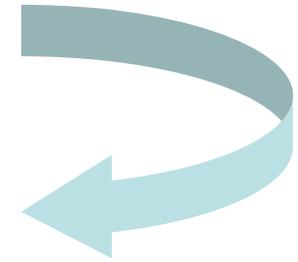
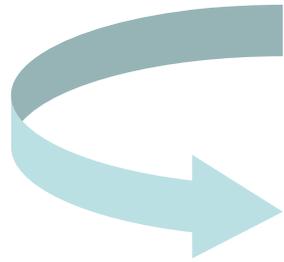


Tutti i discendenti del clone, conterranno la medesima molecola di DNA ricombinante originariamente isolata, permettendo di produrne quantità praticamente illimitate





“TAGLIA E CUCI” DEL DNA



DNA RICOMBINANTE



PRODUZIONE DI NUOVE PROTEINE

INSERIMENTO DEL DNA RICOMBINANTE IN CELLULE EUCARIOTICHE/PROCARIOTICHE

TRASFORMAZIONE

Cellula procariotica

TRASFEZIONE

Cellula eucariotica

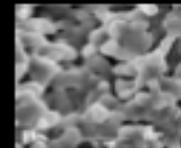
- **Metodi che impiegano molecole carrier**

CaFOSFATO

DEAE-destrano

LIPOSOMI

POLIMERI CATIONICI (*es.* PEI)



- **Metodi che permettono l'introduzione diretta di molecole di DNA nel citoplasma:**

ELETTROPORAZIONE

MICROINIEZIONE

TECNICHE BIOLISTICHE



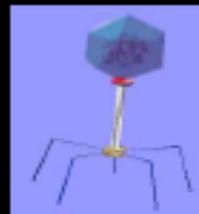
- **Metodi che fanno uso di vettori virali**

RETROVIRUS

VIRUS SV40

ADENOVIRUS

HERPES SIMLPEX



TRASFEZIONE CELLULARE

TRANSIENTE

DNA trasfettato rimane in sede extracromosomale. Consente di eseguire studi di espressione entro le 48 ore successive alla trasfezione

STABILE

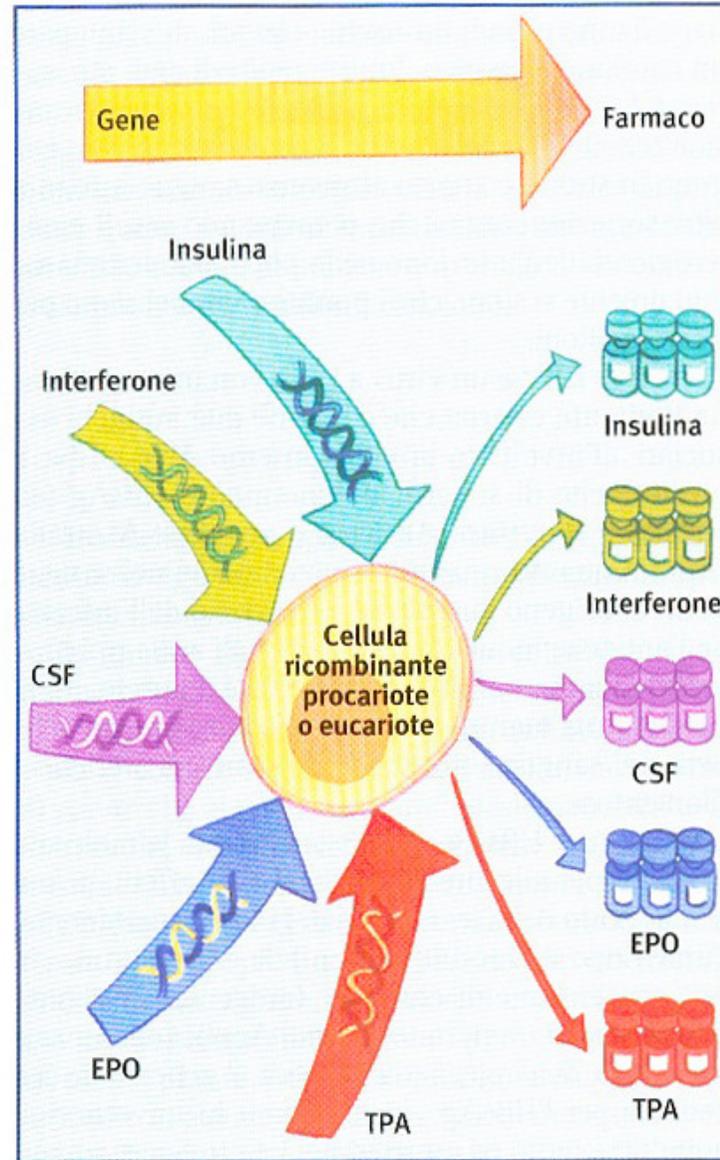
DNA trasfettato si integra nel genoma della cellula ospite che può essere selezionata con un marker di selezione

Marker	Gene product	Selection method
<i>neo</i>	aminoglycoside phosphotransferase; <i>neo</i> gene from the bacterial transposon Tn5	select cells in G418 (0.1 -1.0 mg/ml), an aminoglycoside that blocks protein synthesis and is similar to kanamycin
<i>hyg</i>	hygromycin -B-transferase; <i>hyg</i> gene from <i>E. coli</i>	select cells in Hygromycin -B (10-300 mg/ml), an aminocyclitol that inhibits protein synthesis
<i>pac</i>	puromycin -N-acetyl transferase; <i>pac</i> gene from <i>Streptomyces alboniger</i>	select cells in puromycin (0.5 -5 mg/ml), an antibiotic that inhibits protein synthesis
<i>zeo</i>	bleomycin binding protein; a <i>zeo</i> gene (a.k.a. <i>bla^z</i>) is located on the bacterial transposon Tn5	select cells in bleomycin or commercially -available Zeo (50 -500 mg/ml), an antibiotic that binds DNA and blocks RNA synthesis
<i>gpt</i>	xanthine -guanine phosphoribosyltransferase; <i>gpt</i> gene isolated from <i>E. coli</i>	select cells in guanine -deficient media that contains inhibitors of de novo GMP synthesis and Xanthine; this selects for <i>gpt+</i> cells that can synthesize guanine from xanthine

TRASFETTANTI STABILI COME BIOREATTORI



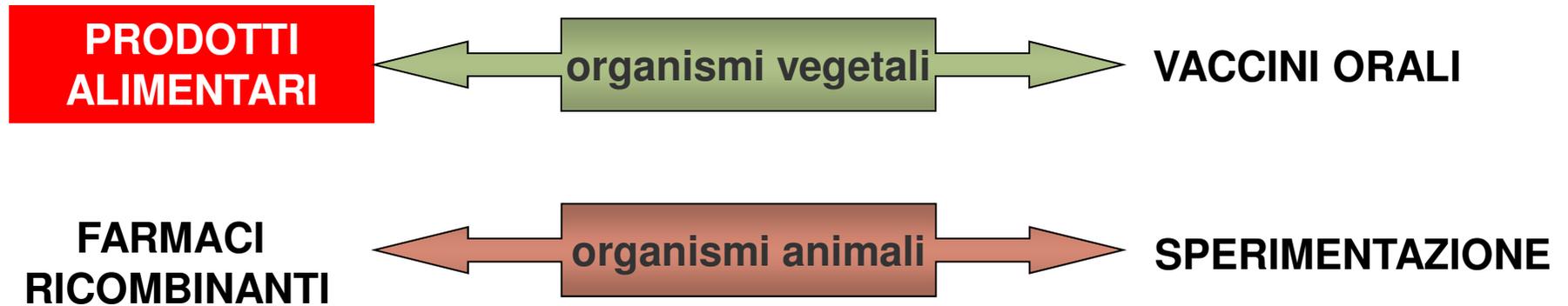
FARMACI RICOMBINANTI



Tab. 3.2. Esempi di farmaci biotecnologici disponibili in terapia.

Tipo di farmaco	Prodotto	Applicazione terapeutica	Anno di approvazione
Proteine terapeutiche	Insulina	Diabete tipo I	1982
	Somatotropina	Deficit crescita	1984
	Interferone α e β	Antivirale, Epatite C, Sclerosi multipla	1986-1996
	Alteplase (tPA)	Trombosi	1987
	Eritropoietina	Eritropoesi	1988
	Filgastrim (G-CSF)	Leucopenia	1991
	Fattore VIII e IX	Emofilia	1993-1997
	Retepase	Trombosi	1995
	Follitropin α e β	Infertilità femminile	1996
	Etanercept	Artrite reumatoide	1998
	Anakinra	Artrite reumatoide	2002
Anticorpi terapeutici	Muromonab (OKT3)	Trapianto organi	1986
	Abciximab	Trombosi	1995
	Declizumab	Trapianto organi	1997
	Infliximab	Morbo di Chron, Artrite reumatoide	1998-2000
	Basiliximab	Trapianto organi	1998
	Pailivizumab	Malattie infettive	1998
	Rituximab	Linfoma non-Hodgkin	1997
	Trastuzumab	Cancro del seno	1998
	Gemtuzumab	Leucemia mieloide acuta	2000
	Alemtuzumab	Leucemia linfocitaria cronica	2001
Adalimumab	Artrite reumatoide	2002	
Farmaci antisenso	Fomivirsen	Retinite da CMV	1998

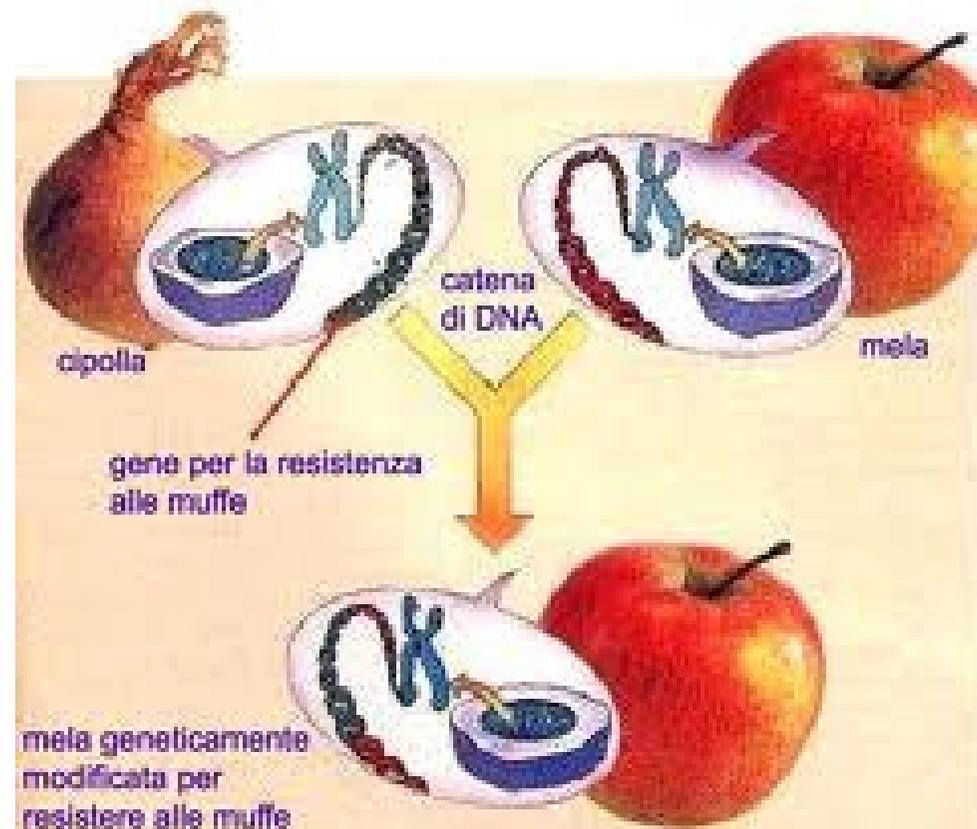
OGGM



ORGANISMI VEGETALI GENETICAMENTE MODIFICATI NELL'ALIMENTAZIONE

SCOPO

Intervento diretto sul DNA vegetale per modificare in maniera mirata alcune caratteristiche **morfologiche e/o funzionali** desiderate delle principali specie di interesse agronomico



Rigenerazione per embriogenesi somatica

Le cellule vegetali sono pluripotenti



Rigenerazione di un'intera pianta a partire da singole cellule.

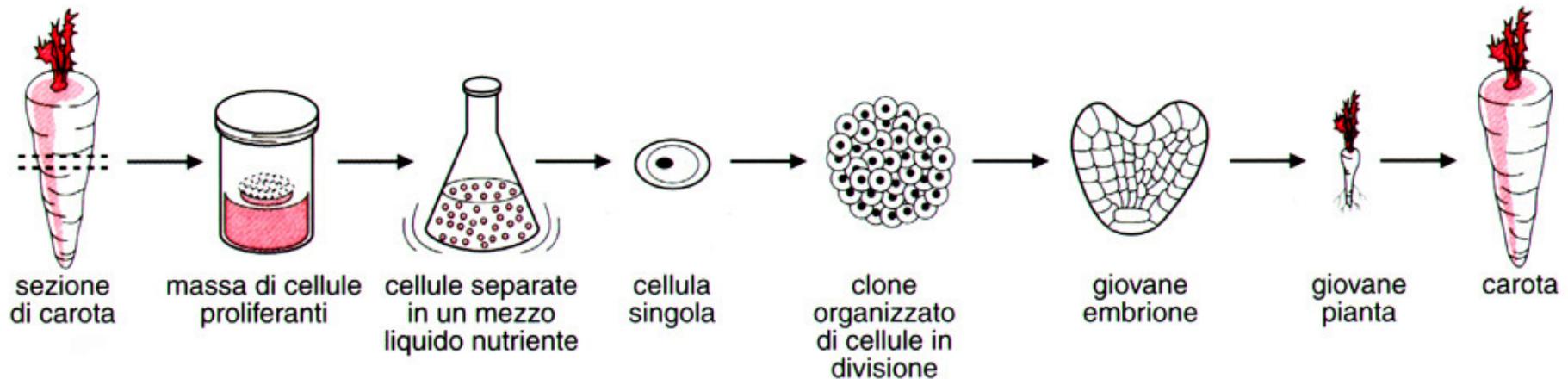
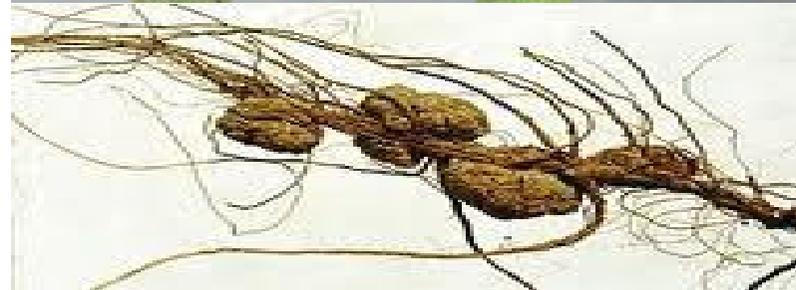
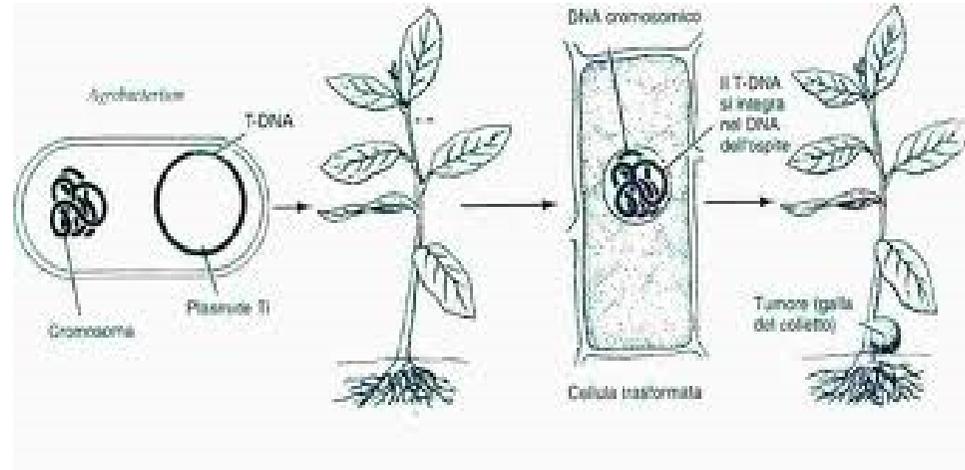
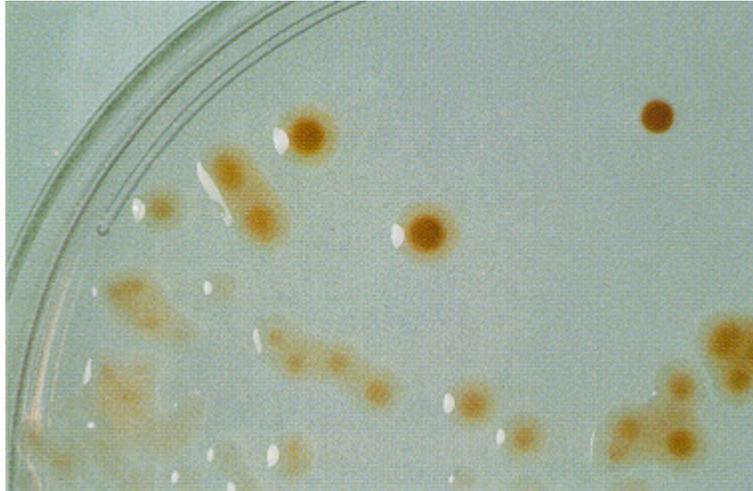
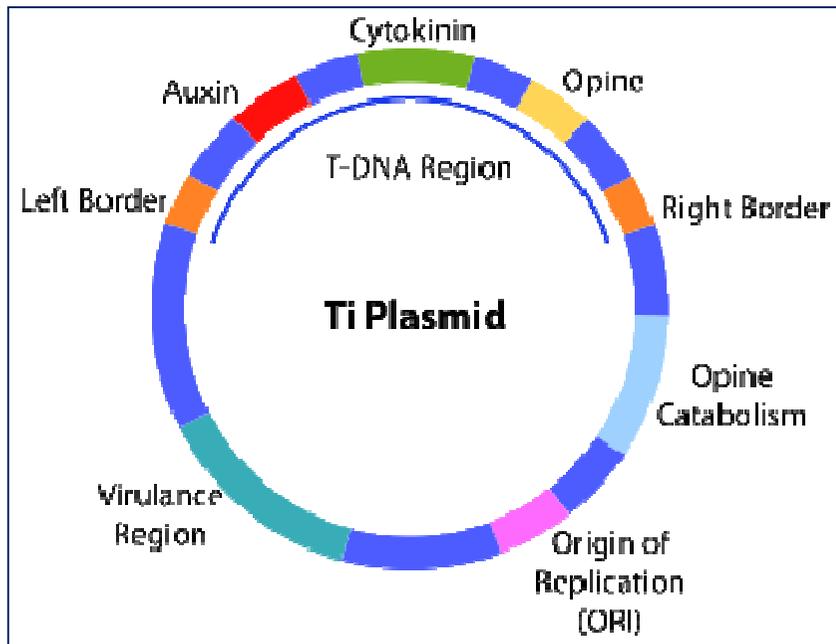


Fig. 10.1. Rigenerazione per embriogenesi somatica in carota.

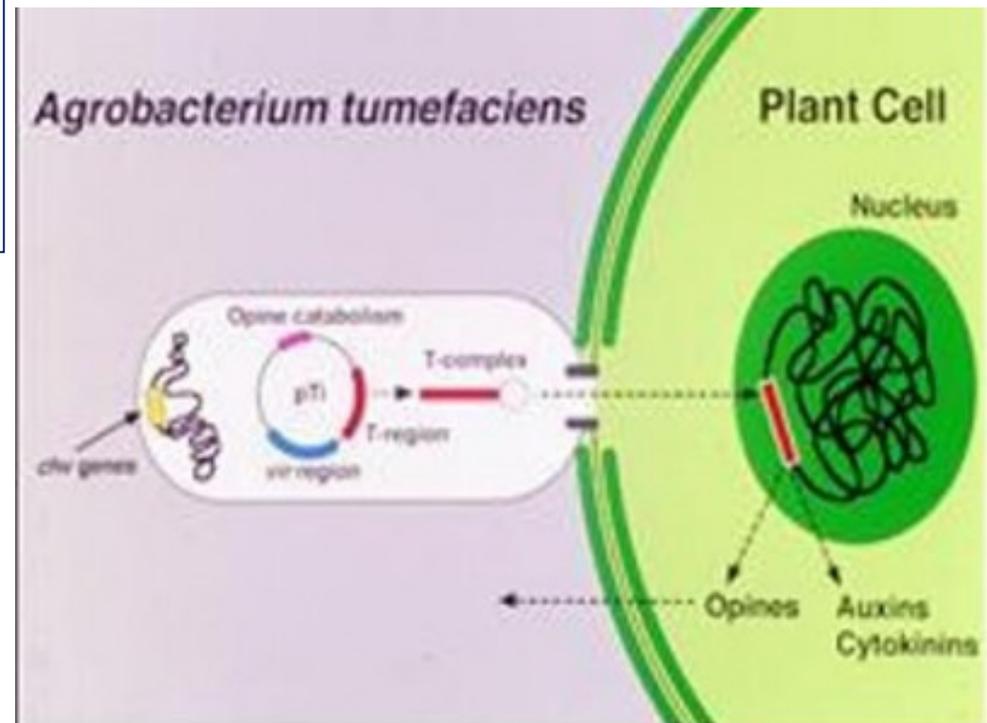
UTILIZZO DELL'AGROBACTERIUM TUMEFACIENS COME VETTORE DEL TRANSGENE IN CELLULE VEGETALI



UTILIZZO DELL'*AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* COME VETTORE DEL TRANSGENE IN CELLULE VEGETALI



Manipolazione genetica della 'T-DNA region'



OTTENIMENTO DI UN OGM VEGETALE

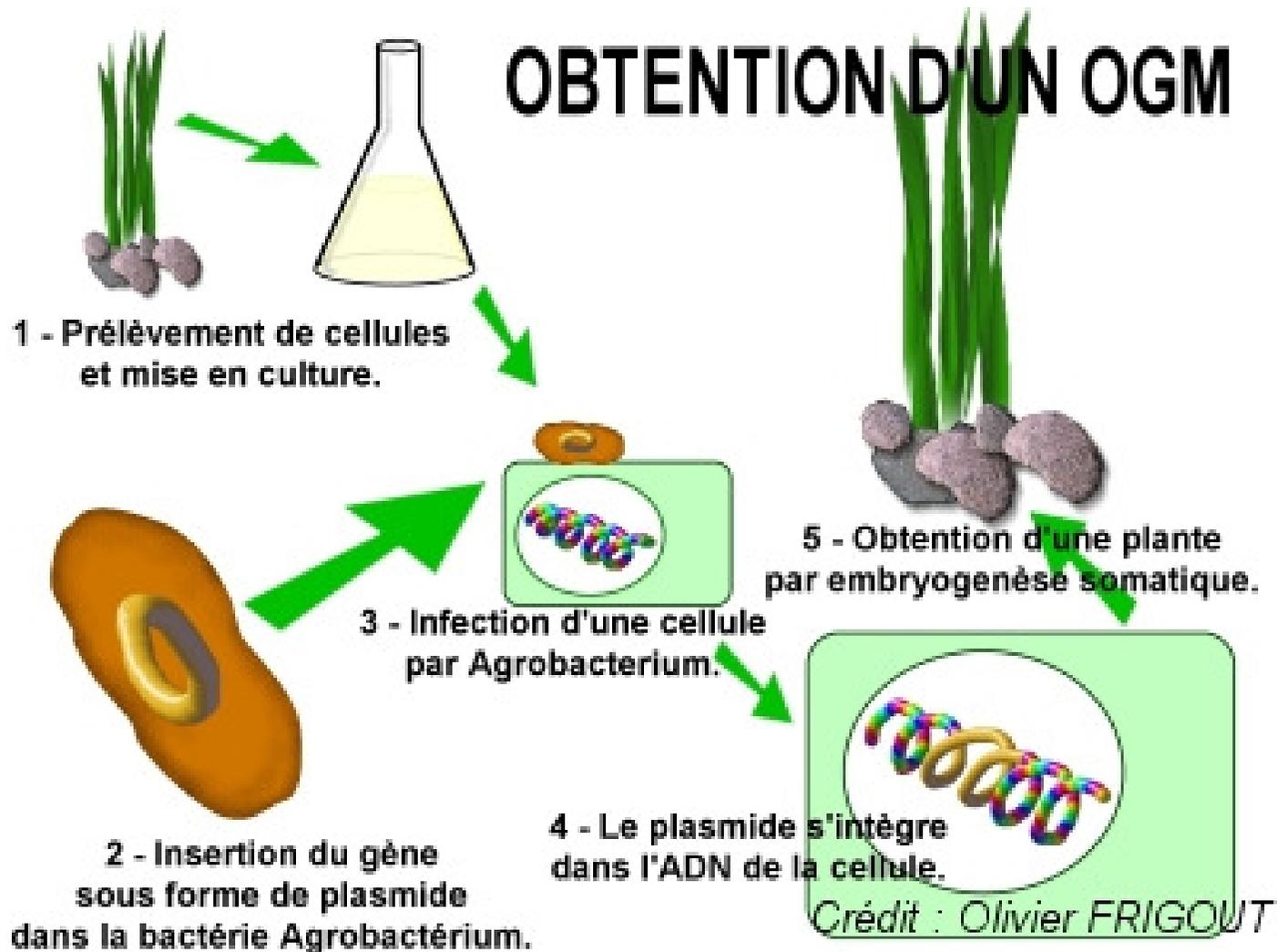
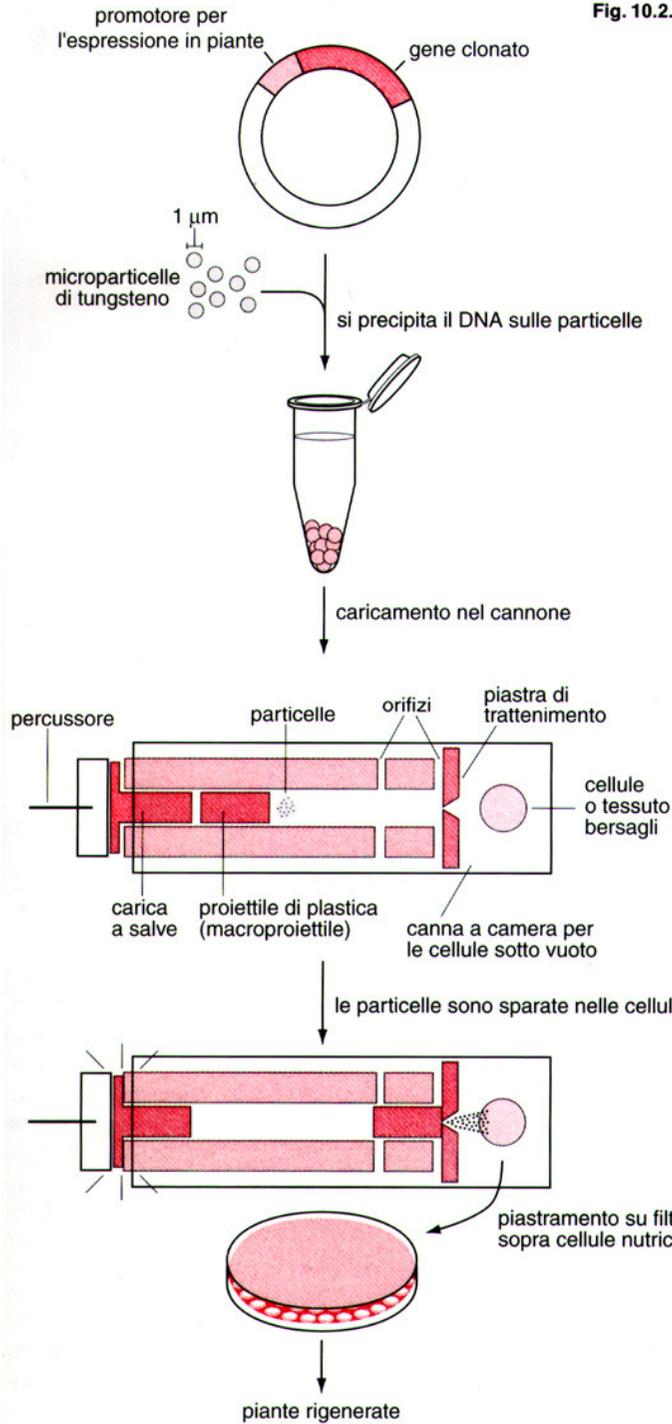
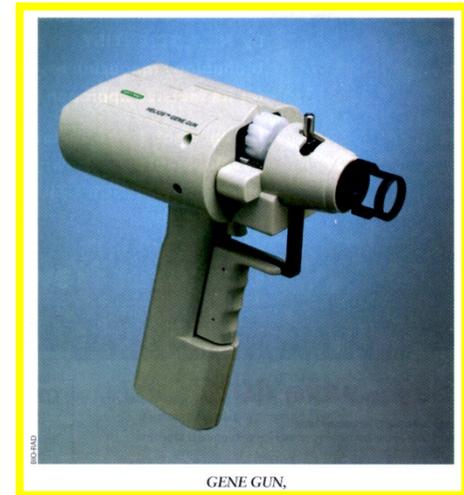


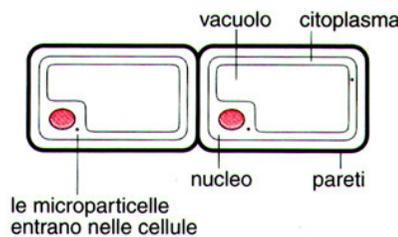
Fig. 10.2. Trasformazione di un tes:



Trasformazione di un tessuto mediante bombardamento



LA PISTOLA "GENICA"





La fabbrica dei geni

Vantaggi offerti dalle piante OGM in campo alimentare

AUMENTATO VALORE NUTRIZIONALE



- Maggiore contenuto in vitamine, esempi:
- riso *golden* OGM capace di sintetizzare precursori della vit. A
- olio di soia con alto contenuto di vit.D



Maggiore contenuto in acidi grassi monoinsaturi (introduzione di una desaturasi di ratto); es. olio di girasole OGM

- maggiore contenuto in aminoacidi essenziali, es. alimenti con maggior contenuto proteico destinati al terzo mondo.

POMODORO VIOLA ANTICANCRO



Si tratta di un pomodoro a cui sono stati impiantati - nel modo scientifico visto sopra - i geni del fiore “Bocca di Leone”. Questa succosa prelibatezza da color violaceo sarebbe in grado di produrre molte più antocianine, cioè un pigmento (colorante) idrosolubile della famiglia dei flavonoidi. Un semplice antiossidante.

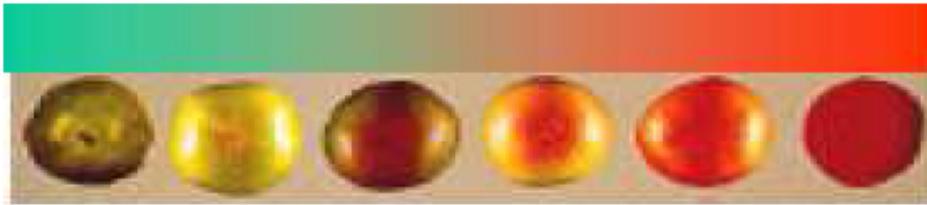
AUMENTATE PROPRIETA' ORGANOLETTICHE

POMODORO *Flavr Savr*: effetto 'antirammollimento'



- Prodotto dalla Calgene, Inc.
- Esprime polygalacturonase Antisense
- trasformazione con *Agrobacterium*

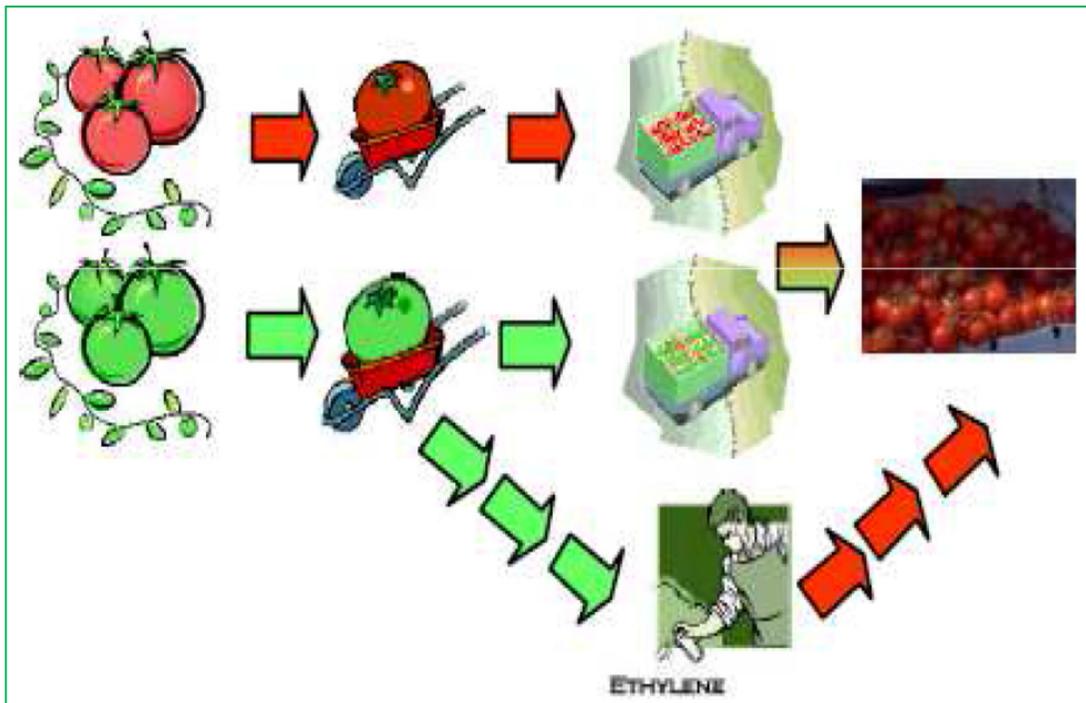
MATURAZIONE DEL POMODORO



sintesi etilene

Softening:
ammorbidimento - degradazione parete

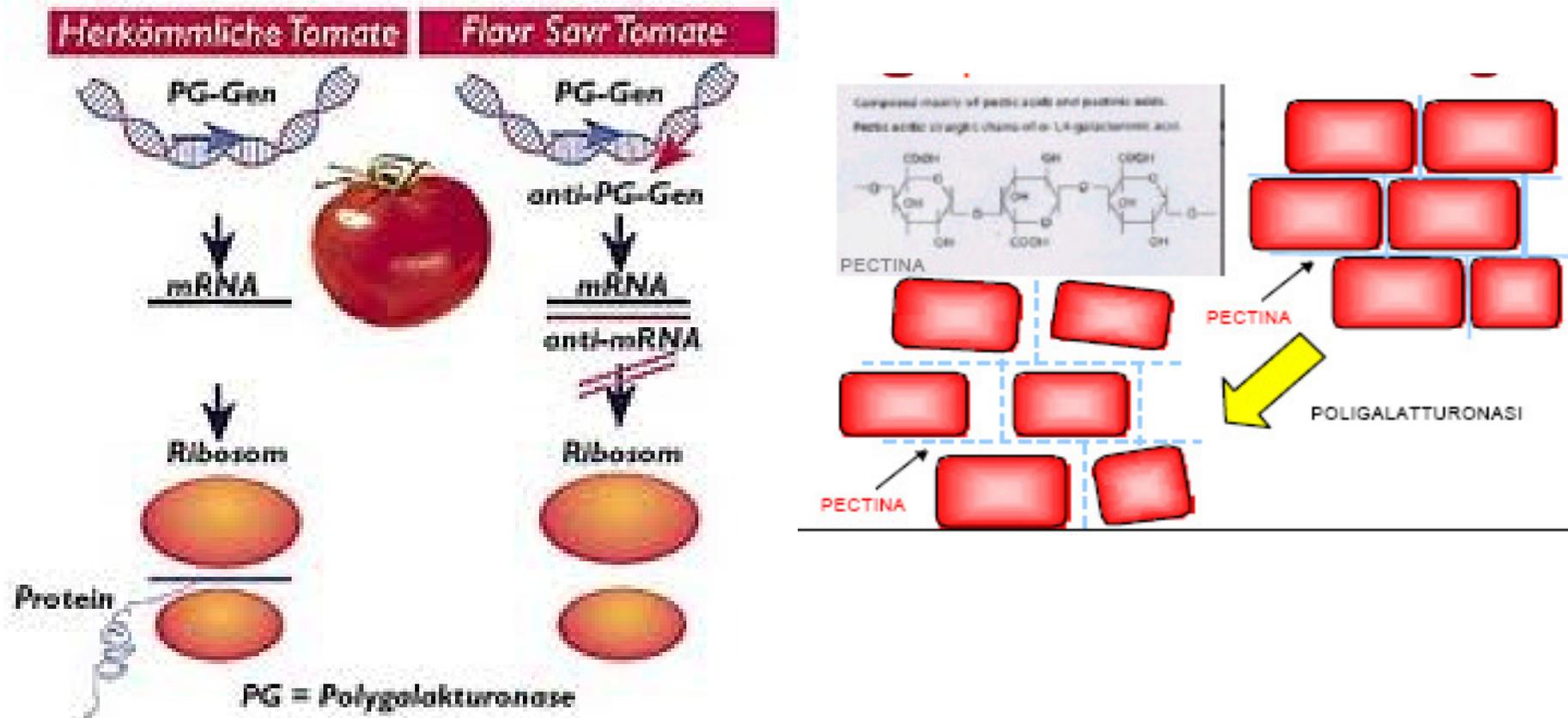
Over-maturazione:
attività poligalatturonasi



Raccolta del pomodoro immaturo e trattamento con etilene per controllare la maturazione

AUMENTATE PROPRIETA' ORGANOLETTICHE

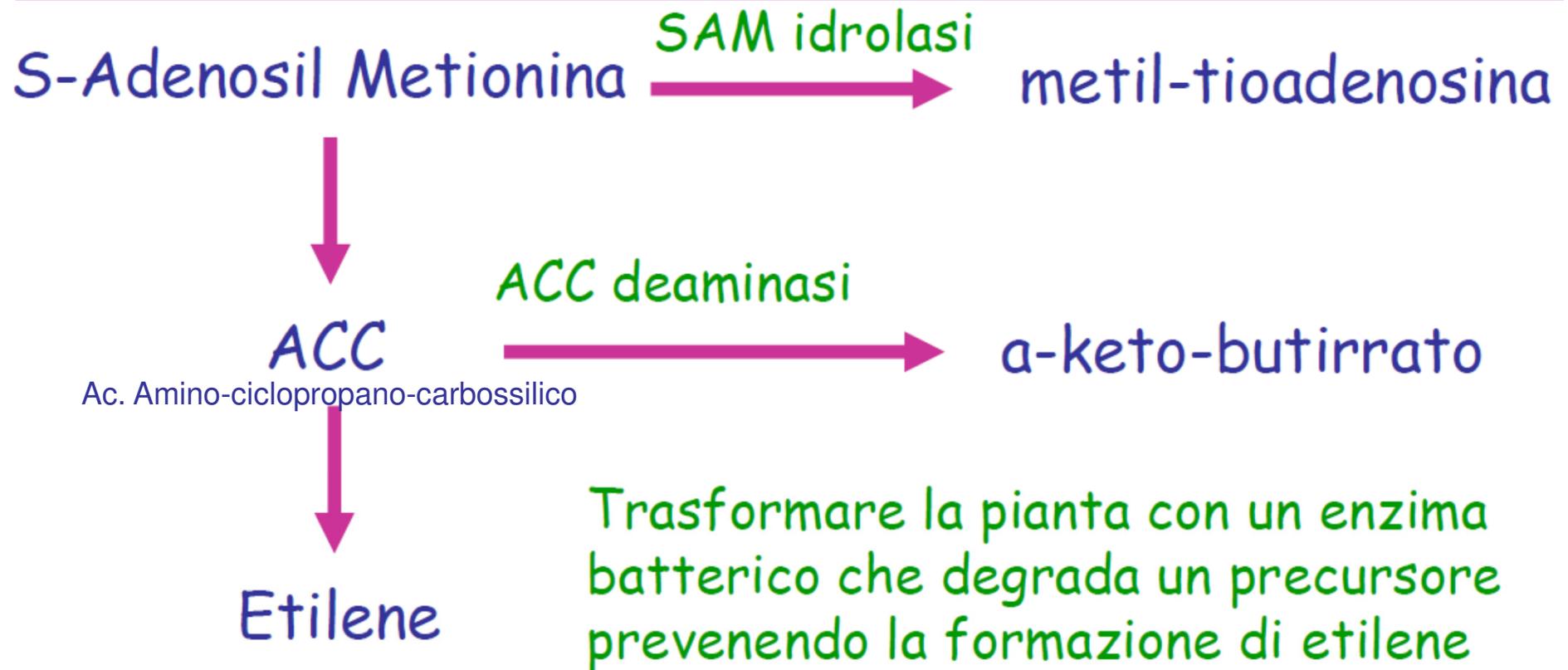
POMODORO *Flavr Savr*: effetto 'antirammollimento'



VANTAGGI:

- i pomodori *Flavr Savr* sono raccolti maturi anziché acerbi
- non sono inseriti nella catena del freddo e mantengono meglio il sapore.

INTERFERENZA CON LA BIOSINTESI DELL'ETILENE PER CONTROLLARE LA
MATURAZIONE



- espressione di ACCd (ACC deaminasi) \rightarrow riduzione dei livelli del precursore ACC (pomodoro)
- espressione di SAM idrolasi \rightarrow riduzione dei livelli del precursore SAM (pomodoro, melone)

MELONE B: *melone a maturazione ritardata*

METODO DI MODIFICAZIONE
mediata dall'*Agrobacterium tumefaciens*.

CARATTERI MODIFICATI

- Introduzione del gene *nptII* per la resistenza agli antibiotici (Kanamicina)
- Introduzione del gene *sam-K* che codifica per l'enzima S-adenosylmethionine hydrolase. Questo enzima riduce l'accumulo di SAM (S-adenosylmethionine), un precursore dell'etilene, responsabile della maturazione dei frutti.



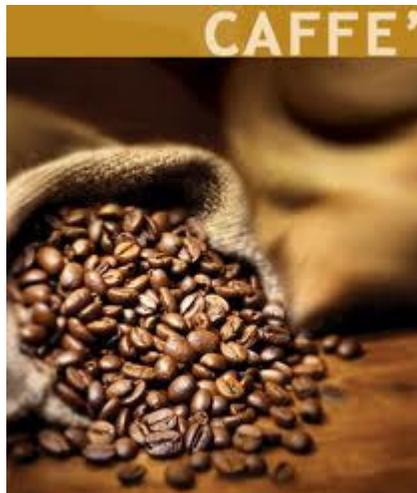
Scopo della modificazione

Produrre una varietà di melone a maturazione ritardata per il consumo umano.

ELIMINAZIONE DI SOSTANZE DANNOSE



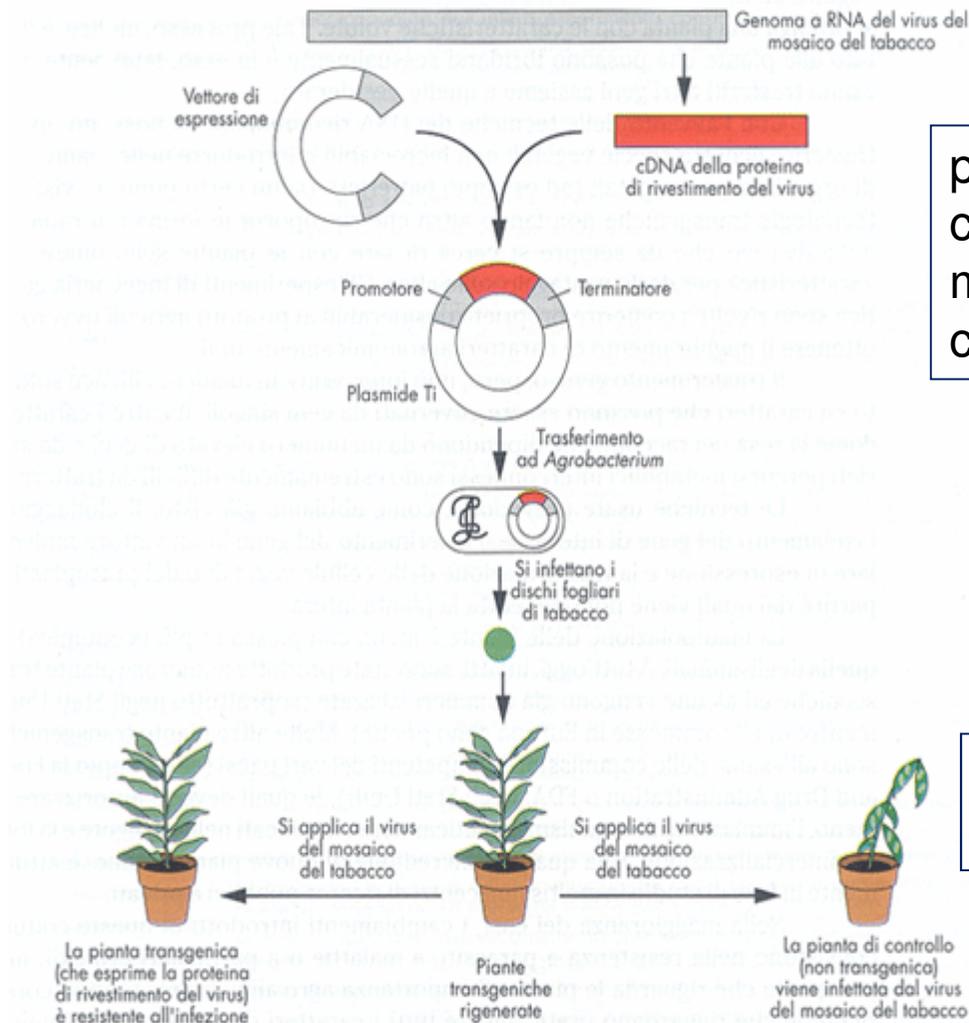
nelle fragole ed in altri alimenti “allergizzanti”, inattivazione del gene codificante per allergeni



nel caffè, inattivazione del gene codificante per l'enzima chiave per la biosintesi della caffeina.

Vantaggi offerti dalle piante OGM in campo agronomico

RESISTENZA NEI CONFRONTI DELLE MALATTIE VIRALI



piante transgeniche che esprimono costitutivamente una proteina virale, mostrano una protezione crociata contro vari ceppi virali

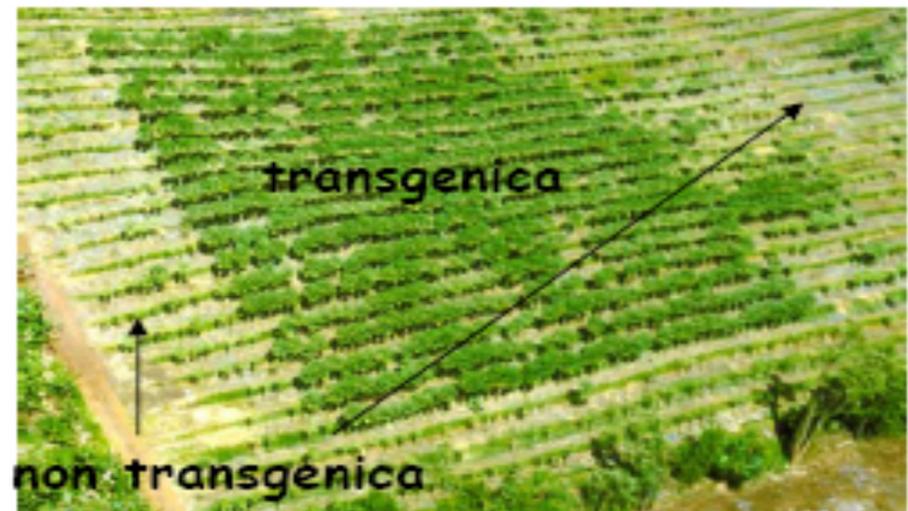
PIANTA DEL TABACCO RESISTENTE AL VIRUS DEL MOSAICO

PAPAYA RESISTENTE AL RINGSPOT VIRUS (PRSV)

In tutto il mondo le colture di papaya sono attaccate da un virus: il PRSV (Papaya RingSpot Virus)

PAPAYA OGM

PAPAYA NATURALE



AUTODIFESA NEI CONFRONTI DEGLI INSETTI

piante transgeniche che esprimono costitutivamente il gene codificante per la sintesi della tossina del *Bacillus Thuringensis* sono dotate di un effetto insetticida permanente nei confronti delle larve di molti insetti
LA TOSSINA VIENE ATTIVATA SOLO NELL'INTESTINO DELLA SPECIE BERSAGLIO

MAIS Bt

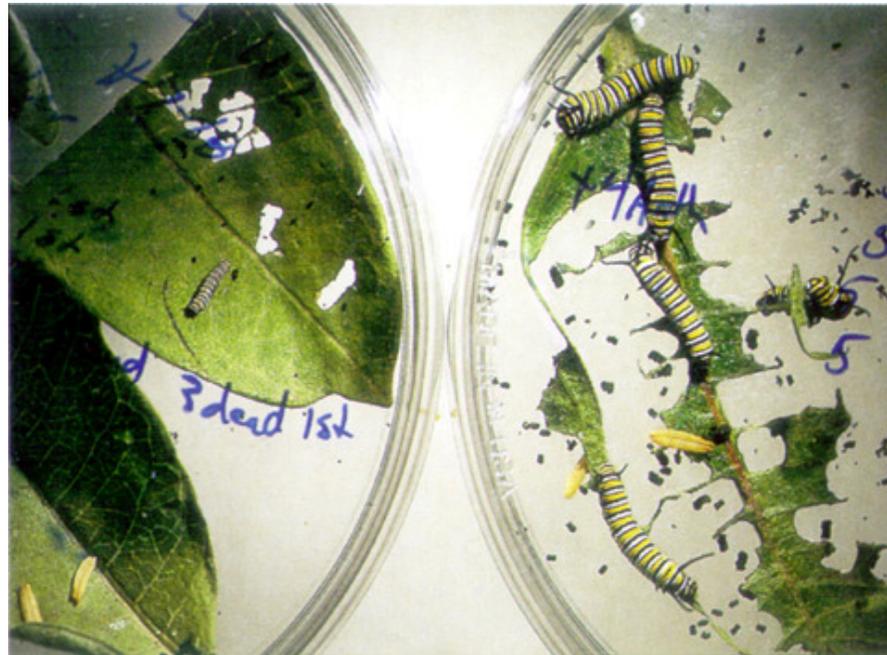


MAIS NATURALE



MAIS OGM

MAIS Bt: EFFETTI COLLATERALI

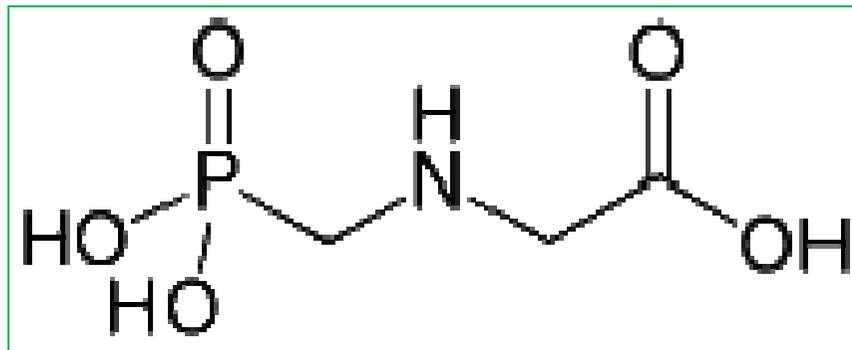


Il mais Bt è risultato tossico per le larve della 'farfalla monarca' che si nutre delle foglie di una pianta che cresce nei campi. Le larve sono uccise dal polline di mais Bt spolverato sulle foglie della pianta

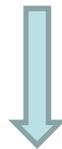
Possibilità che l'esposizione continua degli insetti alla tossina possa indurre la selezione d'insetti resistenti

RESISTENZA AGLI ERBICIDI PER COMBATTERE LE ERBE INFESTANTI

GLIFOSATO: diserbante più venduto al mondo



Prodotto dalla biotech Monsanto, con il nome commerciale di **Roundup**, di cui possedeva il brevetto, scaduto nel 2001.



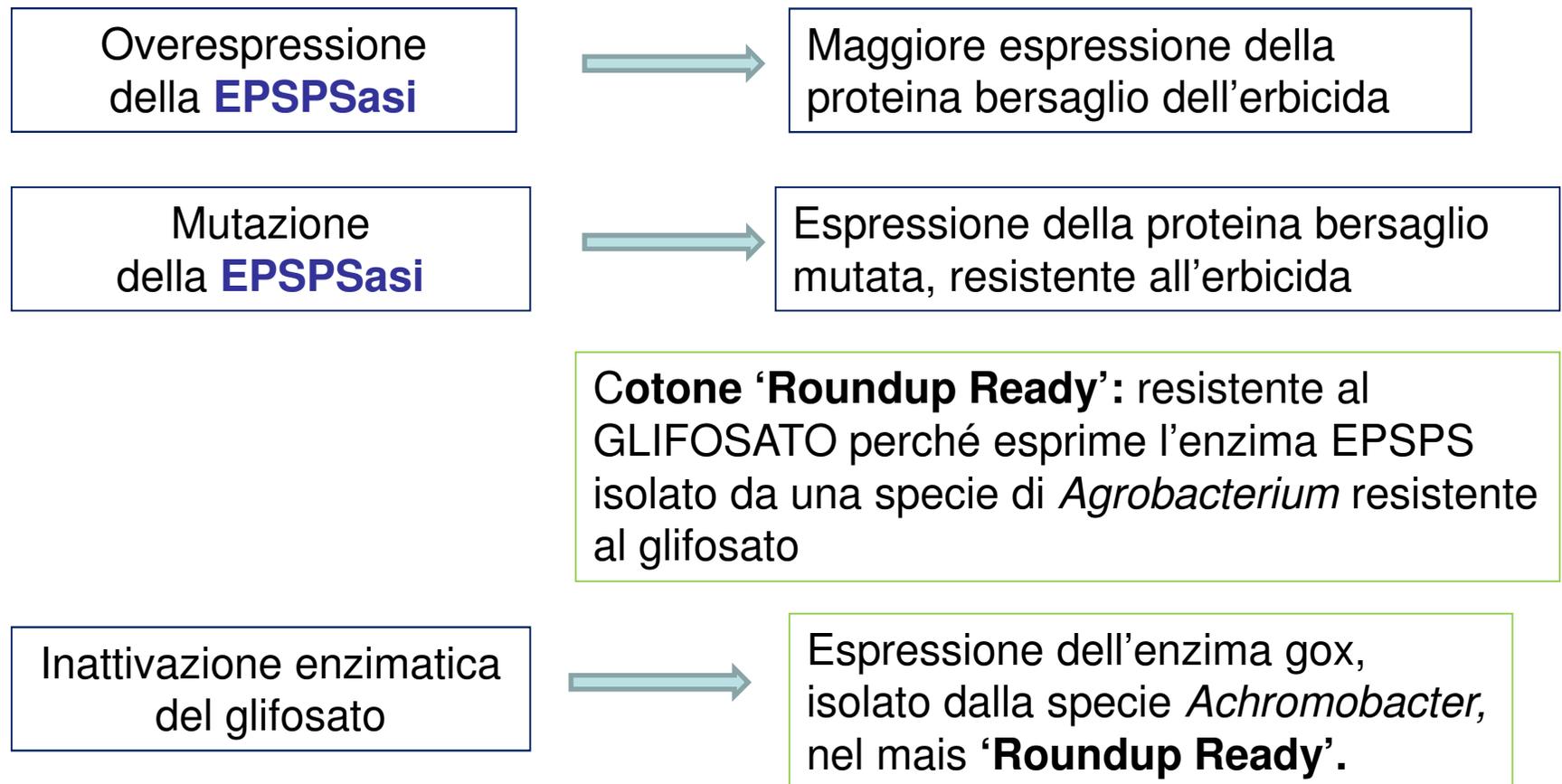
Inibitore specifico dell'enzima:

EPSPSasi
5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase



Sintesi degli
aminoacidi aromatici

Piante glifosato-resistenti ("Roundup Ready")



GLI OGM “Roundup Ready”

Conflitto d'interessi nel settore!

Organismi vegetali appositamente modificati per essere resistente al glifosato (OGM/RR), brevettati dalla stessa biotech Monsanto

Dalla parte degli agricoltori

Mietitrebbiatrici dell'ultima generazione vengono messe alla prova sotto lo sguardo attento dei coltivatori riuniti in Nebraska per una fiera agricola. Le macchine sono alle prese con una nuova coltura: il mais “Roundup Ready”, un prodotto modificato dalla Monsanto per resistere al suo famoso erbicida. In cantiere la multinazionale ha anche un mais Bt (il più sviluppato nella foto a destra) che resiste alla diabrotica del mais, un insetto che costa ai coltivatori americani miliardi di dollari l'anno.



VANTAGGI DEGLI OGM/RR

Utilizzo dell'erbicida durante la coltivazione dell'OGM/RR con l'obiettivo di eliminare in un colpo solo le erbe infestanti, senza intaccare le coltivazioni.

L'utilizzo di glifosato sulle coltivazioni RR di soia, mais e cotone, è così aumentato drasticamente in Nord e Sud America, dove si concentra la coltivazione di varietà RR.

EFFETTI COLLATERALI DEGLI OGM/RR

Sviluppo di resistenza al Roundup da parte delle piante infestanti

Intacca la biodiversità delle specie vegetali per azione su piante non-target

Esposizione al glifosato della popolazione:

a seguito delle irrorazioni aeree con glifosato di alcune zone in America destinate a vaste monoculture, sono stati ritrovati residui di glifosato negli alimenti e nell'ambiente e sono state contaminate le falde acquifere sotterranee e le acque di superficie.

Problemi per la salute umana

Difetti alla nascita, alterazioni endocrine, elevata incidenza di linfomi non-Hodgkin

Problematiche connesse con le piante OGM

in campo salutistico

- **rischio di allergie scatenate da allergeni espressi dalle piante transgeniche**
gli studi sono in numero limitato e parziali poiché gli effetti potrebbero mostrarsi solo per consumo continuativo di OGM e sul lungo periodo
- **assenza di eclatanti casi di tossicità da OGM**
test accurati ai fini della sicurezza sanitaria prima dell'impiego su larga scala e legislazione sempre più attenta nella regolamentazione degli OGM
- **rischio di trasferimento di geni per la resistenza agli antibiotici (marcatori per la selezione) dagli alimenti OGM alla flora intestinale e ai batteri patogeni**
questa possibilità sembra comunque piuttosto remota

Problematiche connesse con le piante OGM

in campo ecologico

- **utilizzo di piante transgeniche resistenti ai parassiti**
iniziale diminuzione dell'uso di pesticidi, ma rischio di insorgenza di resistenza nell'evoluzione dei parassiti
- **utilizzo di piante transgeniche resistenti ai pesticidi**
possibilità di bonificare dalle malerbe il campo destinato alla coltivazione senza danneggiare la specie coltivata, ma rischio di diffusione con il polline di geni per la resistenza ai pesticidi e quindi di sviluppo di malerbe resistenti ai pesticidi stessi (→ come può tutelarsi chi vuol produrre non OGM?)
- **utilizzo preferenziale di piante transgeniche rispetto ad altre non resistenti**
progressiva perdita di biodiversità ed appiattimento del panorama di scelta alimentare (*processo di globalizzazione*)
- **impatto ambientale**
quale situazione può essere considerata di maggior impatto ambientale, quella dell'utilizzo di pesticidi o della perdita di biodiversità e dell'equilibrio ecologico?

Problematiche connesse con le piante OGM

in campo economico

- **i prodotti transgenici sono convenienti per il produttore, ma non per il consumatore**
gli OGM garantiscono una più alta produttività, ma essi non sono più saporiti, né più economici
- **possibilità di miglioramento delle condizioni di vita nei paesi sottosviluppati e di soluzione del problema della fame nel mondo**
le multinazionali promotrici del transgenico sono realmente interessate alla soluzione di tali problematiche umanitarie, oppure tendono ad imporre le loro condizioni con i loro prodotti?

ESEMPI DI OGM

Soia, Colza e Mais “Roundup Ready”: resistenza al pesticida Roundup (Monsanto)

Mais “StarLink”, Cotone Bt: resistenza ai parassiti per espressione della tossina del *Bacillus Thuringensis*

Olio di senape e Riso *Golden*: arricchito in Vit.A

Olio di soia: arricchito in Vit.D

CENNI DI NORMATIVA EUROPEA SUGLI OGM

Dei 18 tipi di OGM autorizzati dalla Ue, soltanto **2 possono essere utilizzati nell'alimentazione umana** (soia Roundup Ready di Monsanto e mais Bt di Novartis), gli altri sono destinati a mangimi destinati a polli, suini, bovini e pesci!

Dal luglio 2003 è diventato obbligatorio dichiarare in **etichetta** la presenza di OGM in tutti gli alimenti per uso umano e nei mangimi che ne contengano più dello 0.9%. Questa regola non viene applicata ai prodotti derivanti da animali nutriti con OGM.

Dal 1999 è vietato utilizzare materie prime transgeniche per la produzione di alimenti destinati ai lattanti e ai bambini.

LEGISLAZIONE AMBIENTALE

OGM, l'Unione Europea sta con Monsanto

L'Unione Europea ha proibito ai paesi membri di vietare le coltivazioni geneticamente modificate. Questo provvedimento va a rafforzare una precisa linea politica, mirata a favorire la conquista del mercato da parte di multinazionali dell'agrobusiness, come Monsanto.

di Francesco Bevilacqua - 31 Gennaio 2012

La situazione normativa in Italia

L'Italia, in quanto Stato membro dell'Unione Europea, ha l'obbligo di recepire le Direttive comunitarie. La penetrazione delle colture geneticamente modificate in Italia è stata comunque fortemente contrastata.

2000 il "decreto Amato: blocco dell'uso di prodotti alimentari derivati da 4 mais OGM, nonostante il parere dell'ISS sull'assenza di rischio per la salute umana. Nel 2004 il TAR del Lazio ha annullato tale decreto.

2001: la ricerca scientifica

Blocco della sperimentazione in campo agrobiotecnologico. Grande protesta da parte di numerosi scienziati italiani, inclusi i premi Nobel Dulbecco e Montalcini.

2003: la presenza accidentale di OGM nelle sementi convenzionali

In Italia politica di tolleranza zero, nonostante in 2003 la Regione Piemonte ha ordinato la distruzione di 381 ettari di mais in cui era stata rilevata una contaminazione di OGM compresa tra lo 0,1 e lo 0,02% (ovvero tra 1 seme su 1000 ed 1 seme su 5000); gli agricoltori interessati dalla distruzione non hanno in seguito ricevuto alcun indennizzo.

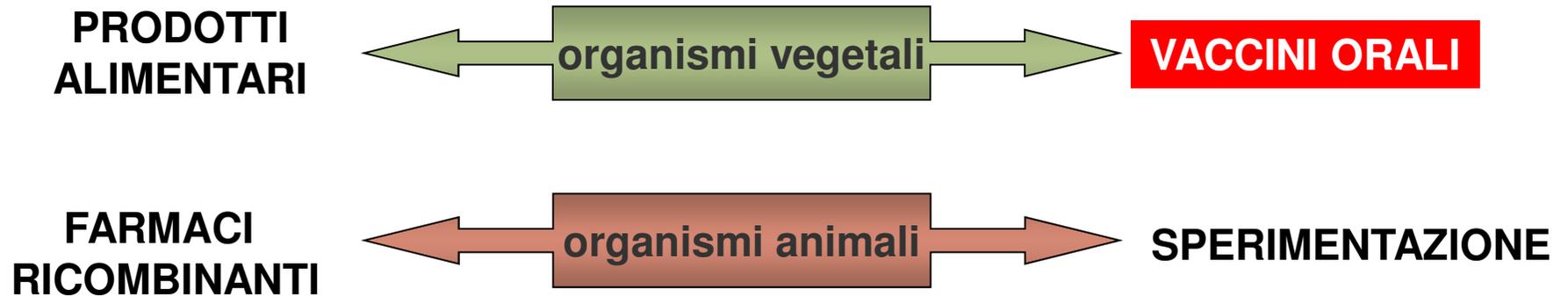
2004: la coesistenza tra coltivazioni convenzionali, biologiche e OGM

La legge prevede la parità tra i diversi tipi di agricoltura, demandando alle regioni e alle province autonome l'approvazione di un "piano di coesistenza" più o meno rigido. Di fatto nessuna regione può vietare la coltivazione di OGM poiché contravverrebbe alla normativa Europea, ma al momento 13 regioni hanno comunque predisposto delle norme che impediscono la coltivazione di OGM sul loro territorio.

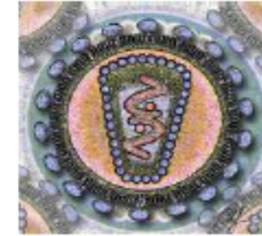
L'ITALIA non è un Paese "OGM free".

La gran parte dei mangimi utilizzati negli allevamenti italiani (esclusi gli allevamenti [biologici](#)) è prodotta a partire da soia e mais geneticamente modificati importati da [Stati Uniti](#), [Canada](#) e [America Latina](#). L'Italia infatti produce solo l'8% della soia di cui necessita.

OGGM



VACCINI EDIBILI



- I vaccini attuali sono costosi
- Sono richieste infrastrutture per il trasporto e la somministrazione (problemi logistici ed economici)



DESTINATI AI PAESI SOTTOSVILUPPATI

VACCINI EDIBILI: vantaggi della produzione in piante OGM

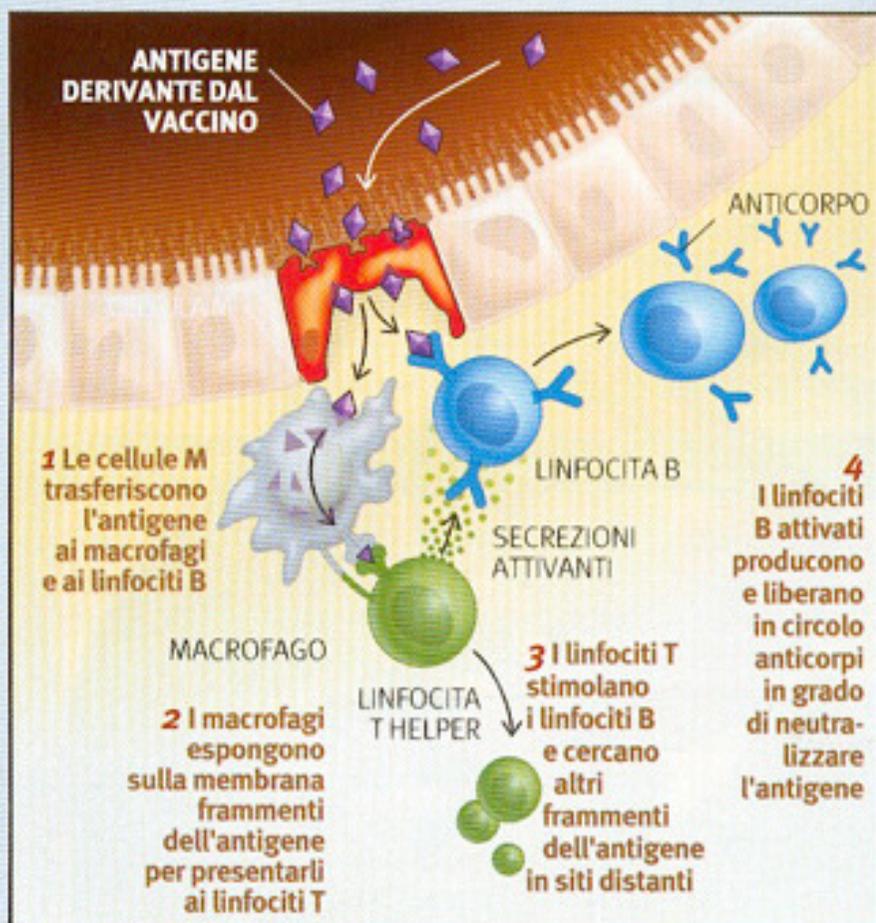
Technical and social benefits envisaged in plant-derived edible vaccines

No.	Benefit	Characteristics
1	Oral delivery	The plant cell wall, consisting essentially of cellulose and sugars, provides protection in the stomach and gradual release of the antigen in the gut
2	Use as raw food or dry powder	The vaccinogenic plant tissue may be used as raw food, dried or, alternatively, proteins may be partially or fully purified and administered in capsules as dry powder
3	No need for "cold chain"	The vaccinogenic plant parts or plant extracts can be stored and shipped at room temperature
4	Mucosal and serum immune response	Plant-derived vaccines are primarily designed to trigger the mucosal immune system (IgA), thus preventing pathogen entry at mucosal surfaces; they also elicit serum and, possibly, cytotoxic responses
5	Cost efficiency	Production cost will be reduced 100–1000 times as compared with that of traditional vaccines
6	Optimised expression system	Plants may be engineered to accumulate the antigen in convenient intracellular compartments (endoplasmic reticulum, chloroplast)
7	Ease of genetic manipulation	Procedures essentially rely on established molecular and genetic manipulation protocols; these are already available in developing countries
8	Ease of production and scale-up	GM-plants can be stored as seeds. Unlimited vaccine quantity can be produced from these in limited time; production and management is suitable for developing countries
9	Safer than conventional vaccines	Lack of contamination with mammalian pathogens
10	Ideal to face bio-weapons	Safety and cost efficiency propose plants plant-derived vaccines as an ideal tool to face bio-terrorism
11	Ideal for veterinary use	Cost affordable Ready for use as food additive

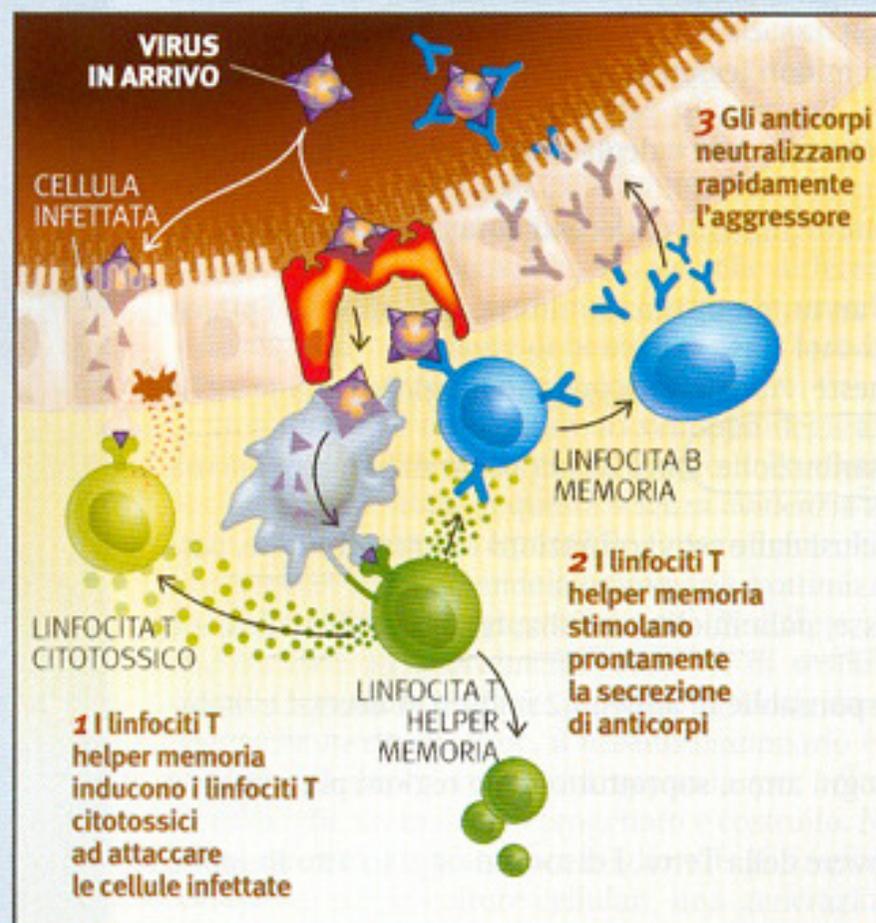
Come i vaccini commestibili forniscono protezione

Un antigene presente in un vaccino commestibile viene assorbito dalle cellule M dell'intestino (*sotto, a sinistra*) e trasferito a diverse cellule del sistema immunitario, che a quel punto avviano una risposta difensiva di attacco, come se l'anti-

gene fosse un autentico agente infettivo, e non solo parte di esso. Questa risposta produce «cellule memoria» di lunga durata che sono in grado di neutralizzare prontamente il vero agente infettivo se esso tentasse di aggredire l'organismo (*a destra*).



RISPOSTA INIZIALE



QUANDO COMPARE L'AGENTE PATOGENO

VACCINI ORALI DI VECCHIA GENERAZIONE

virus antipolio di Sabin e virus antitifico Ty21a: entrambi sono di tipo vivo-attenuato. La loro caratteristica, da cui si comprende l'utilità della somministrazione orale, è che si riproducono nella mucosa intestinale e vi stimolano l'immunità locale cellulo-mediata nonché la produzione di IgA secretorie. In questo modo si ottiene un'efficace immunità di barriera che protegge dall'infezione naturale impedendo l'attecchimento dei patogeni già nel sito di ingresso, a livello della mucosa intestinale.

VACCINI ORALI BIOTECNOLOGICI

ceppi ricombinanti di *Salmonella* e di *E. Coli*: usati per stimolare le difese immunitarie delle mucose gastroenteriche (immunità locale).

vaccini commestibili o edibili: alcuni cibi possono essere modificati geneticamente per far esprimere proteine antigeniche di vari organismi patogeni (ad es.: virus Norwalk, *E. coli*, *V. colerae* e virus dell'epatite B) all'interno delle parti commestibili. Essi possono essere prodotti in:

- **vegetali transgenici** (per es. patate, tabacco, soia, lattuga, pomodori e banane contenenti alte concentrazioni di proteine antigeniche)
- **latte da animali transgenici** (per es. capre transgeniche che nel loro latte secernono frammenti della proteina MSP-1, principale proteina esposta sulla superficie del plasmodio della malaria)

Come preparare un vaccino commestibile

Uno dei metodi per preparare un vaccino commestibile si basa sull'uso del batterio *Agrobacterium tumefaciens* come vettore - ossia, per introdurre nelle cellule vegetali l'informazione ge-

netica di antigeni virali o batterici - di proteine che provocano una risposta immunitaria mirata nell'organismo ricevente. Lo schema illustra la produzione di patate-vaccino.



SCELTA DELLA PIANTA OSPITE PER LA PRODUZIONE DI VACCINI EDIBILI: VANTAGGI E SVANTAGGI

PATATA

- Sistema di trasformazione facile ed efficiente
- Il tubero può essere mangiato anche crudo (anche se non gustoso!)

POMODORO

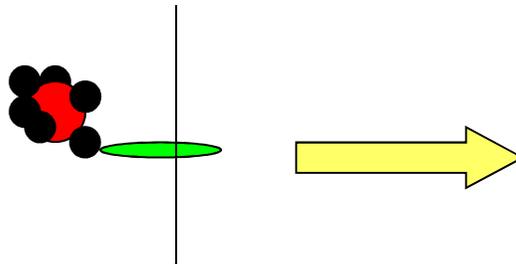
- Sistema di trasformazione relativamente facile ed efficiente
- Il frutto viene mangiato crudo
- Coltura in serra e processamento industriali già ben avviati
- Possibile incompatibilità dell'acidità dei frutti con certi antigeni e con la somministrazione ai neonati

BANANA

- Ampiamente coltivata nei paesi in via di sviluppo
- Mangiata cruda da neonati ed adulti
- Sistemi di trasformazione inefficienti
- Coltura che richiede ampi spazi e spese elevate, se condotta in serra

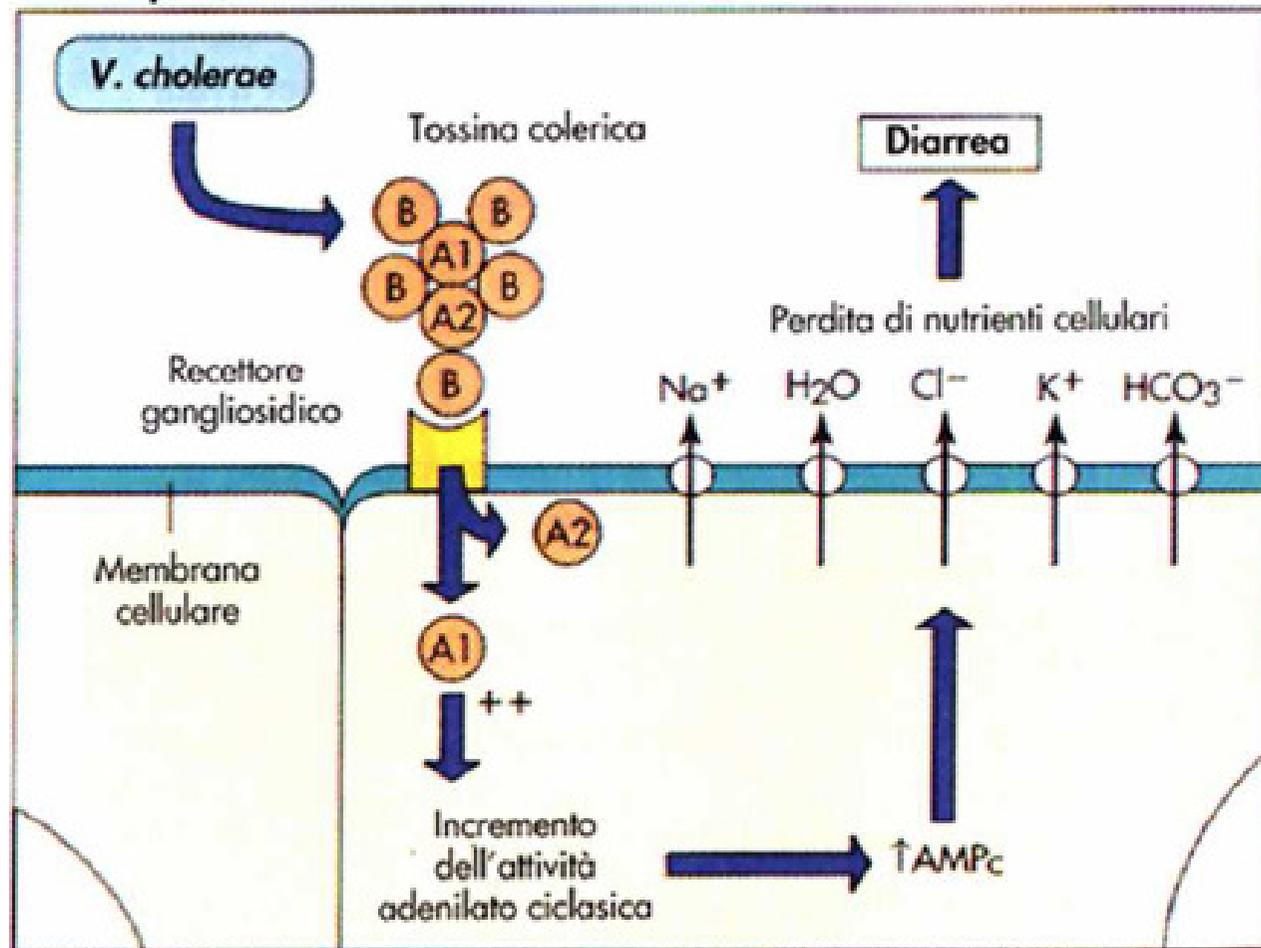
DIARREA BATTERICA

tossina secreta da
V. cholerae e
E. Coli enterotossigenico
subunità A (tossica)
subunità B (di ancoraggio)



legame specifico con i
gangliosidi G_{M1} della
mucosa intestinale

1. Ingresso della subunità "A" all'interno della cellula
2. Aumentata attività dell'adenilato ciclasi
3. Aumentata concentrazione di AMP-ciclico intracellulare
4. Aumentata secrezione di ioni Cl^- e ridotto riassorbimento di $NaCl$
5. Diarrea

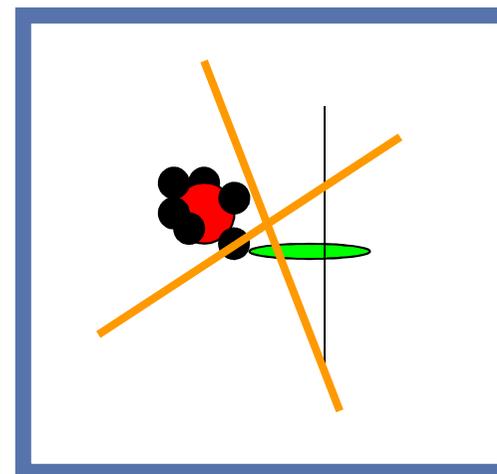
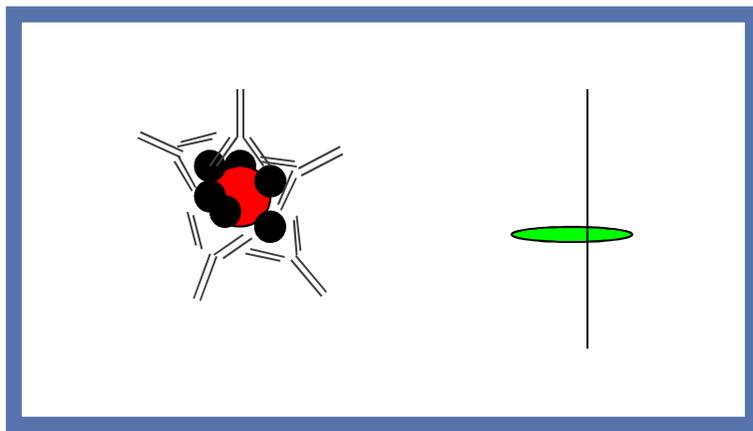


L'aumento di AMPc blocca il normale trasporto di Na^+ dal lume intestinale verso il torrente ematico e causa la fuoriuscita, verso il lume, di K^+ e bicarbonati

Il movimento di ioni richiama H_2O dal torrente circolatorio verso il lume intestinale, causando diarrea e massiva perdita di liquidi (mortalità per disidratazione).

VACCINO CONTRO LA DIARREA BATTERICA SPERIMENTATO SULL'UOMO

- Patate transgeniche esprimenti la subunità "B" non tossica
- Dopo ingestione di patata-vaccino (50 o 100g di patata cruda contenente 375 o 700 μg di antigene, tre dosi settimanali) si è ottenuta una risposta anticorpale intestinale protettiva nei confronti della tossina (livelli sierici di IgG neutralizzanti la tossina quadruplicati e persistenti per 38 giorni dopo l'ultima dose)



ALTRI VACCINI CONTRO ANTIGENI VIRALI SPERIMENTATI SULL'UOMO

VACCINO CONTRO LA DIARREA VIRALE

- Viene prodotto in tabacco e patata transgenici esprimenti proteine capsidiche di virus Norwalk (NVCP).
- Dopo ingestione di due o tre dosi da 150g di patata cruda, contenenti circa 500 μ g di antigene, si ottiene un significativo aumento di IgG e di IgA.

VACCINO CONTRO L'EPATITE B

- Viene prodotto in lattuga e patata transgeniche esprimenti proteine d'envelope del virus dell'epatite B.
- L'antigene prodotto dalle piante è strutturalmente simile a quello ottenuto da lieviti transgenici (vaccino iniettabile comunemente usato).
- Dopo ingestione di due dosi di lattuga contenenti appena 1 μ g di antigene, si ottiene un significativo aumento di IgG.

REGOLAMENTAZIONE DEI VACCINI DERIVANTI DA PIANTE

I VACCINI EDIBILI NON DEVONO DIVENTARE UN NORMALE COSTITUENTE DEL CIBO

- Crescita delle piante-vaccino sotto **condizioni controllate** per evitare la contaminazione di forniture di cibo e per preservare il loro contenuto genetico.
- **Distribuzione** dei vaccini non in forma fresca ma **processata** (contenuto antigenico ben definito, omogeneo e stabile), **eseguita da personale medico**.

LE PIANTE VACCINO DEVONO ESSERE NON FERTILI E PROPAGATE PER CLONI PER UN EFFICACE CONTENIMENTO DEL MATERIALE GENETICO INGEGNERIZZATO

OGGM

**PRODOTTI
ALIMENTARI**



VACCINI ORALI

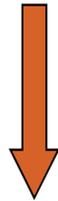
**FARMACI
RICOMBINANTI**



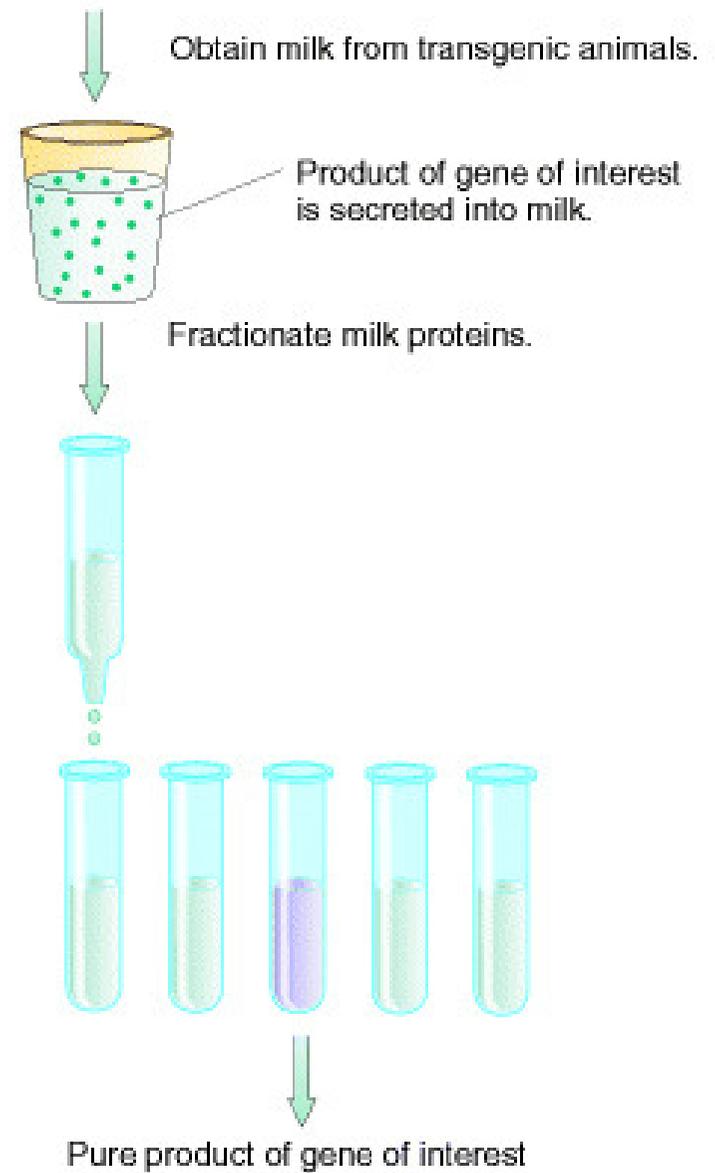
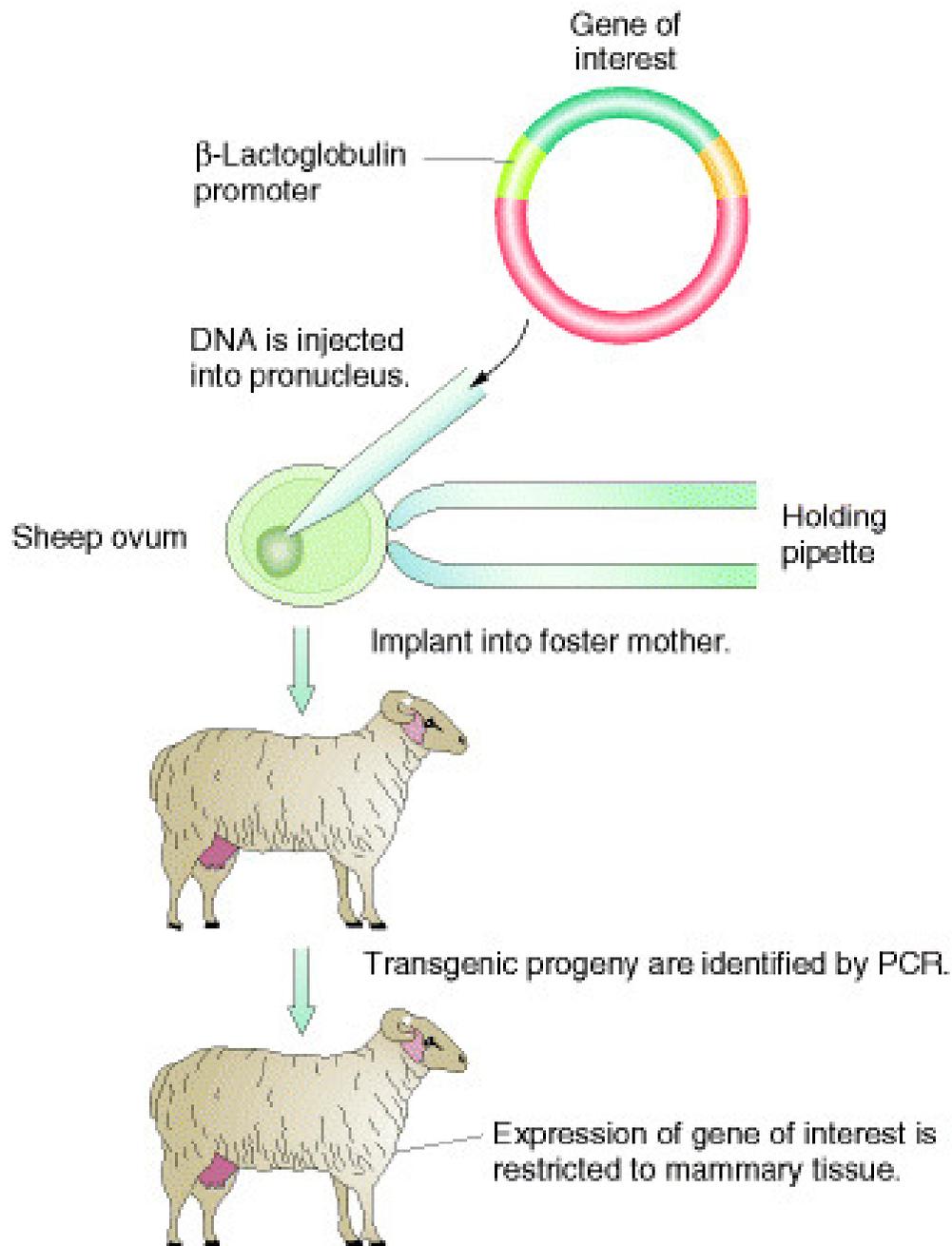
SPERIMENTAZIONE

Transgenesi e gene targeting finalizzate all'ottenimento di:

- un aumentato **valore nutrizionale** delle carni
- **proteine umane** da animali da allevamento



I primi risultati importanti sono stati ottenuti utilizzando **sequenze *enhancer* tessuto-specifiche**, capaci di indirizzare l'espressione di geni esogeni codificanti per **proteine farmacologicamente importanti** nella ghiandola mammaria e quindi **NEL LATTE**, che può essere raccolto facilmente ed in grande quantità (animali transgenici come **BIOREATTORI**)



ANIMALI COME BIOREATTORI

Tabella 19.2 Transgeni della ghiandola mammaria, sequenze promotrici e organismi riceventi

<i>Transgene</i>	<i>Promotore</i>	<i>Specie transgenica</i>
Attivatore tissutale del plasminogeno ad azione prolungata	Proteina acida del siero	Capra
Antitripsina α_1	Lattoglobulina β	Pecora
Fattore di coagulazione IX	Lattoglobulina β	Pecora
Proteina solubile CD4	Proteina acida del siero	Topo
Lattoferrina	Caseina α_{s1}	Mucca
Urochinasi	Caseina α_{s2}	Topo
CFTR	Caseina β	Topo
Interleuchina 2	Caseina β	Coniglio

UN CLONE FAMOSO: LA PECORA DOLLY

Dolly with her surrogate mother



Nata nel 1996 al Roslin Institute in Scozia, dopo 277 tentativi.

Dolly with her first newborn, Bonnie



METODO DI CLONAZIONE:

Cellula donatrice: cellula somatica adulta di pecora dell'età di 6 anni.

Trasferimento nucleare in oociti denucleati (privati del proprio nucleo) e indotte ad avviare lo sviluppo del feto.