



CONVEGNO
NAZIONALE E
SEMINARIO
RESIDENZIALE

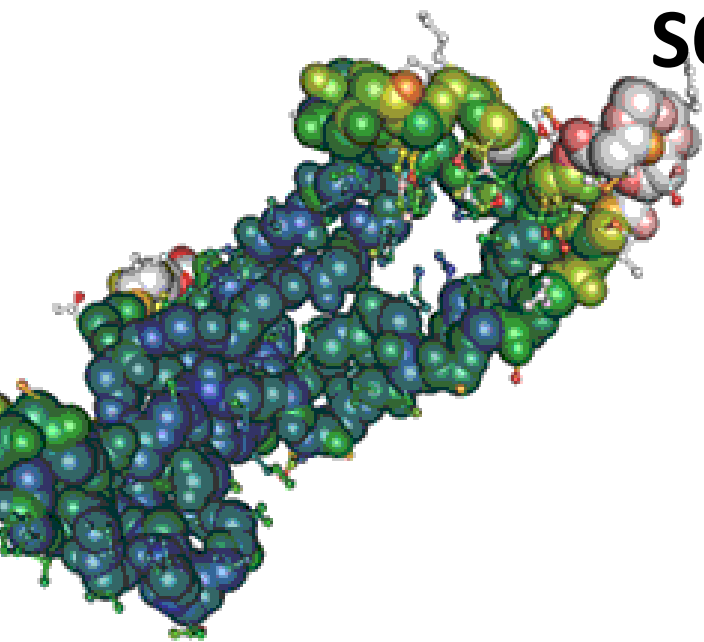
L'INSEGNAMENTO DELLA FISICA
E DELLE SCIENZE IN UNA
PROSPETTIVA SISTEMATICA,
STORICA E CRITICA

BOLOGNA / 27-29 GENNAIO 2022

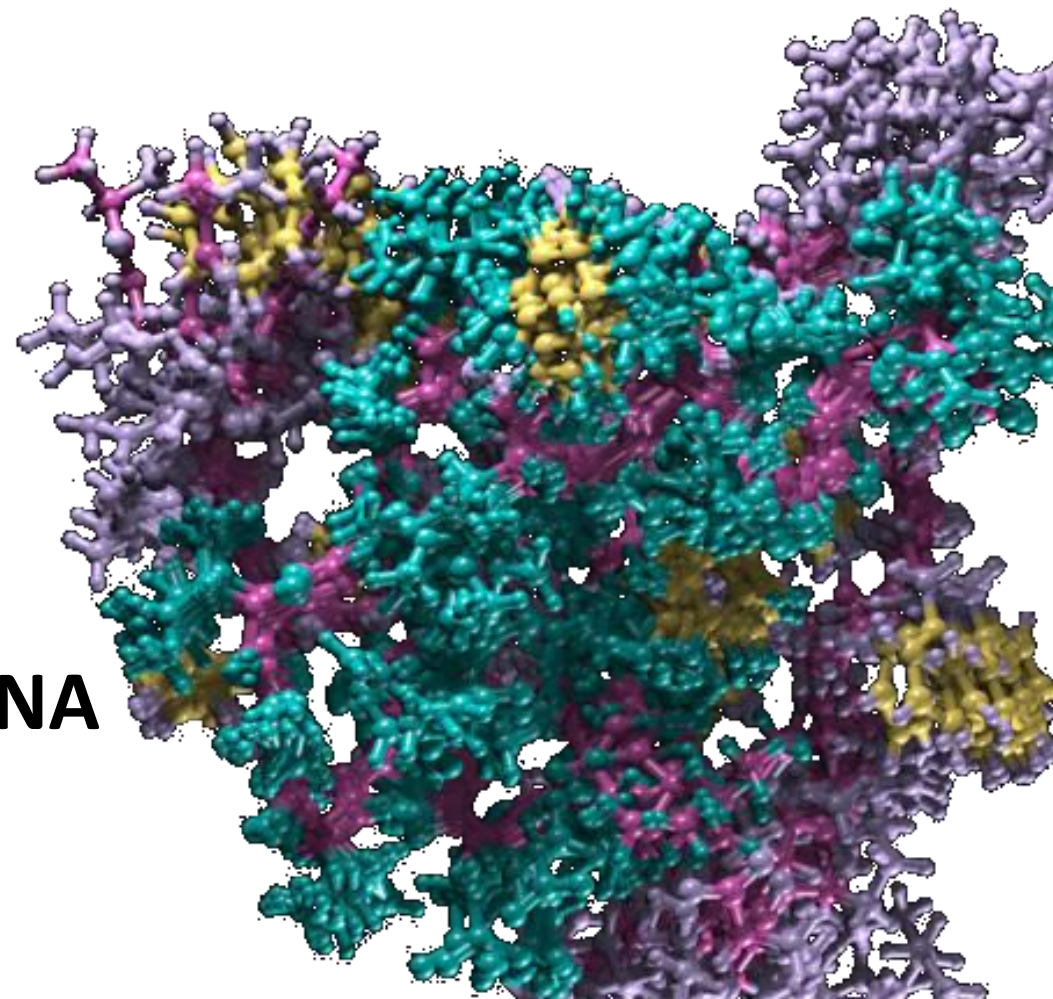
Premi per uscire dalla modalità a schermo intero

LA TRASFORMAZIONE BATTERICA: CATTURA DI UN GENE PER DIVENTARE **FLUO**

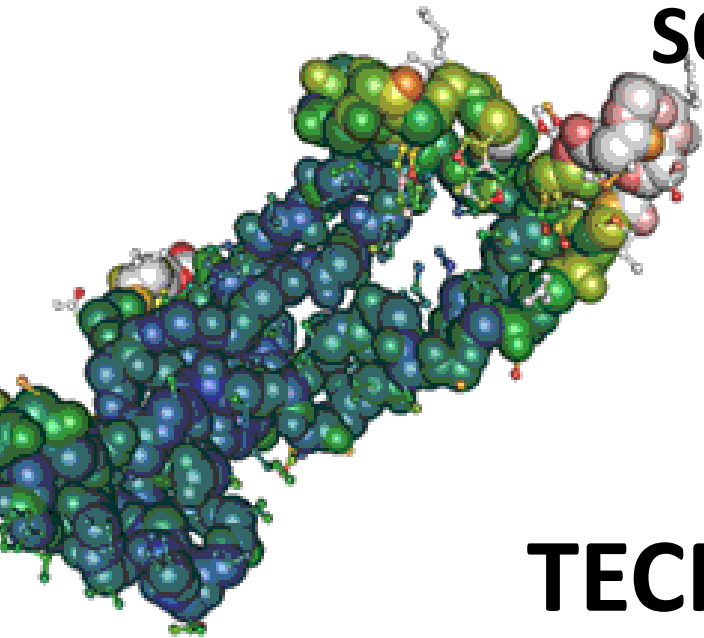
SOMATOSTATINA



INSULINA

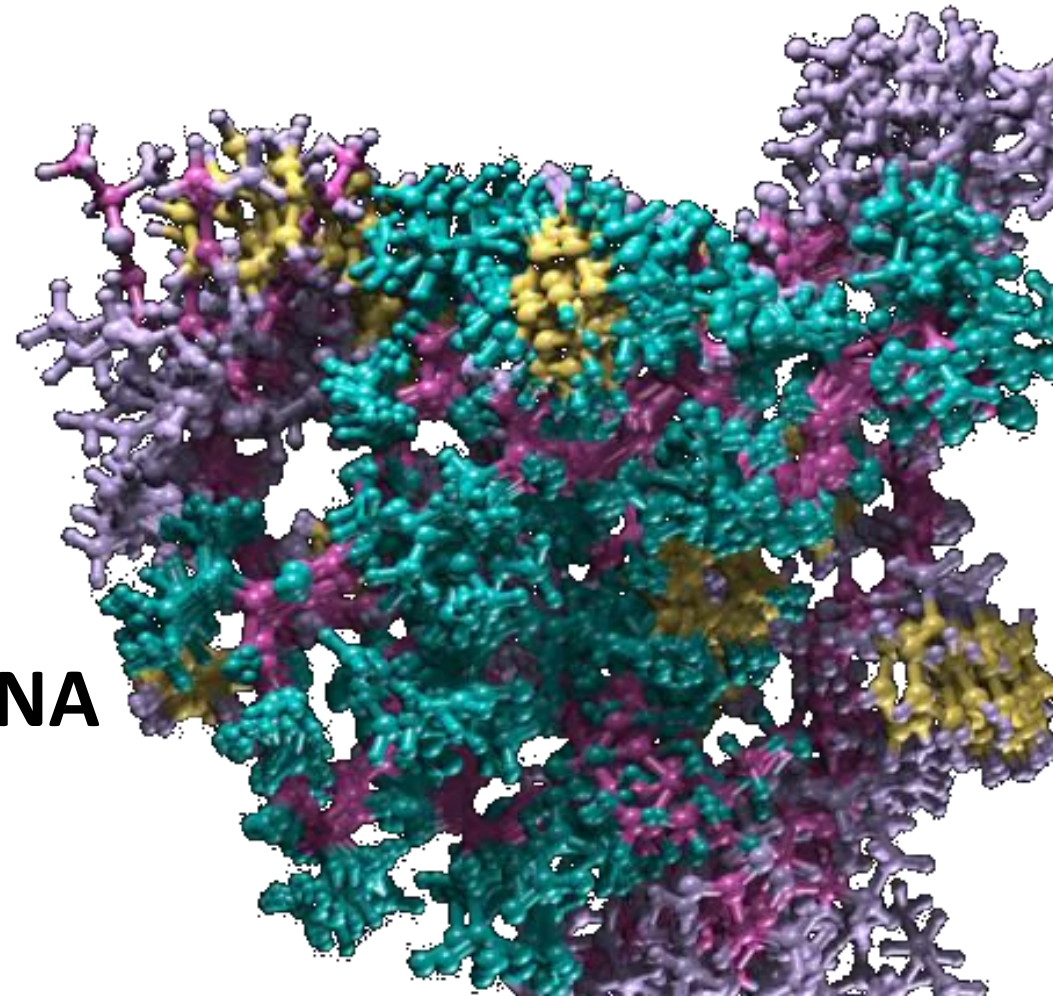


SOMATOSTATINA



**TECNOLOGIA
DEL DNA RICOMBINANTE**

INSULINA



TECNOLOGIA DEL DNA RICOMBINANTE

Tecniche di laboratorio
che permettono di **isolare e tagliare** brevi sequenze di DNA
e **trasferire l'informazione genetica da un organismo ad un altro.**



E' possibile trasferire DNA anche tra specie diverse,
spesso molto differenti l'una dall'altra.

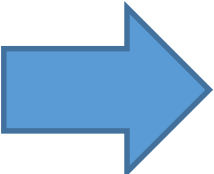
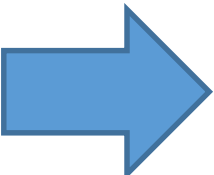
1973

Esperimento di
Boyer e Cohen

LE FASI

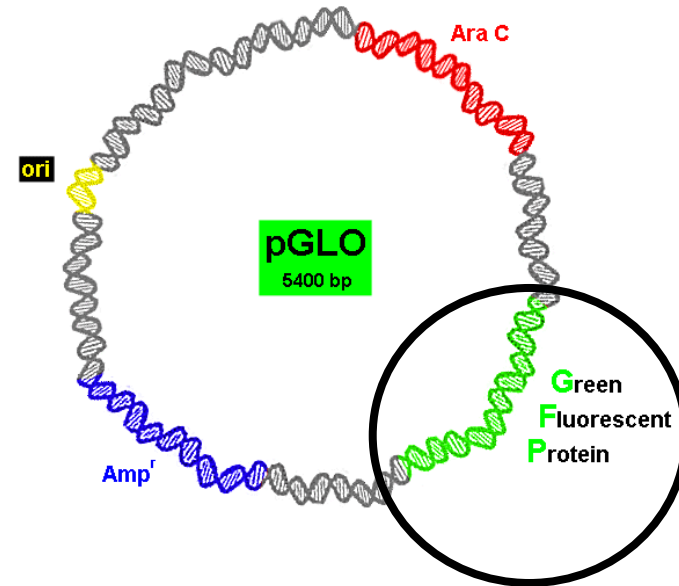
- 1 Identificazione del gene;
- 2 Taglio e isolamento della molecola del DNA;
- 3 Unione del gene ad un DNA vettore;
- 4 Trasferimento all'interno di una cellula ricevente
- 5 Selezione delle cellule trasformate.

LE FASI

- 1 Identificazione del gene;
- 2 Taglio e isolamento della molecola del DNA;
- 3 Unione del gene ad un DNA vettore;
-  4 Trasferimento all'interno di una cellula ricevente
-  5 Selezione delle cellule trasformate.

**DI COSA
ABBIAMO BISOGNO?**

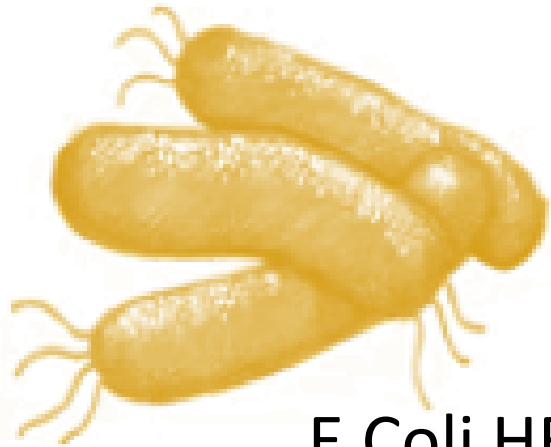
DNA VETTORE



**GENE DI
INTERESSE**

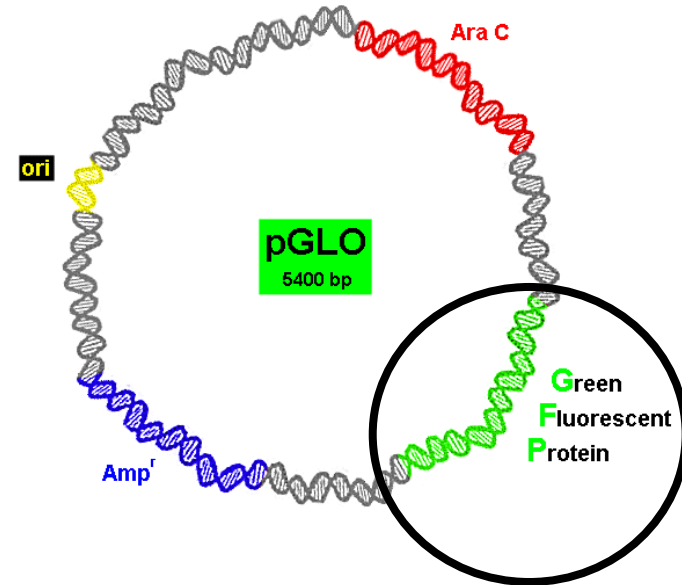
**DI COSA
ABBIAMO BISOGNO?**

CELLULA RICEVENTE



E.Coli HB101

DNA VETTORE



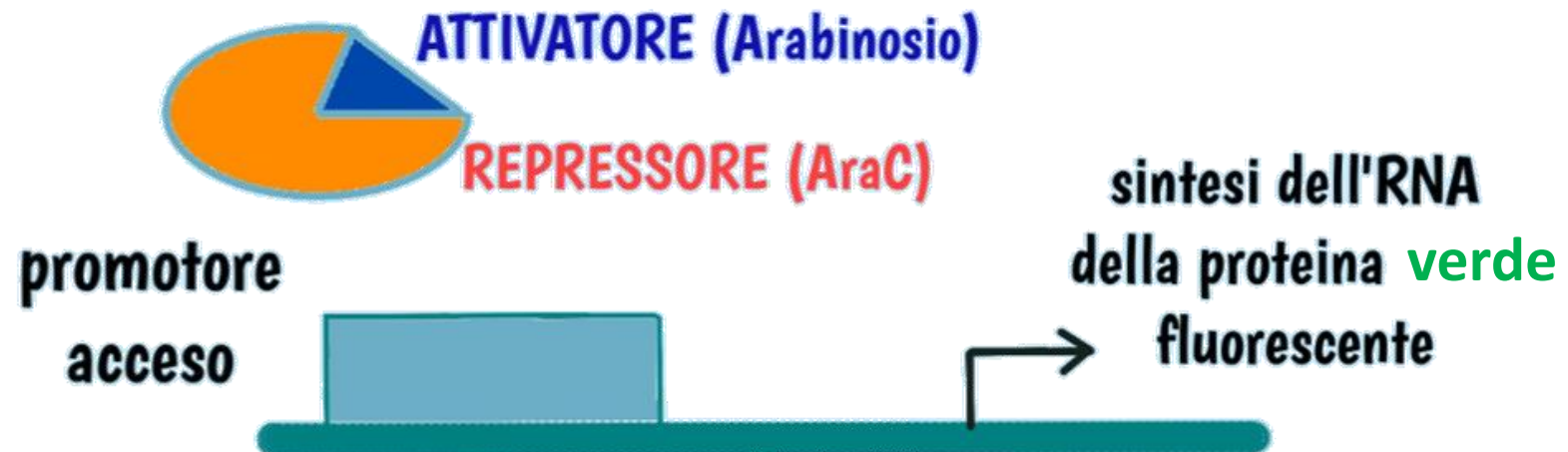
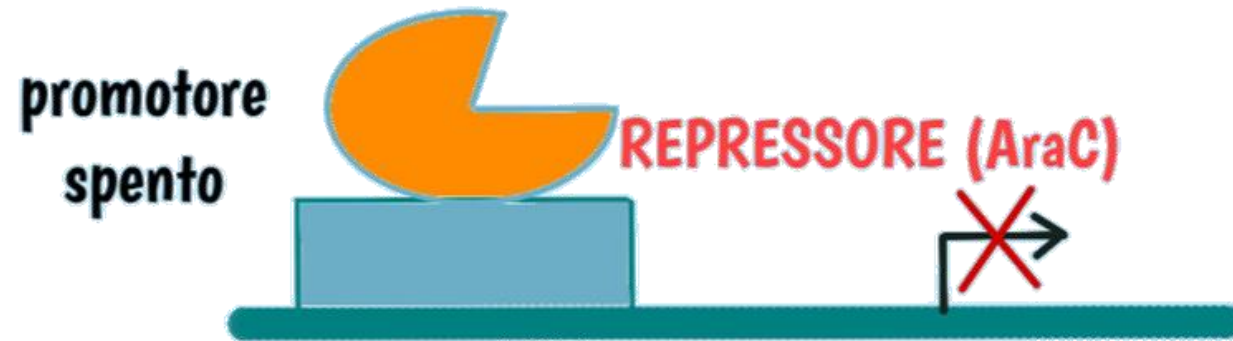
**GENE DI
INTERESSE**

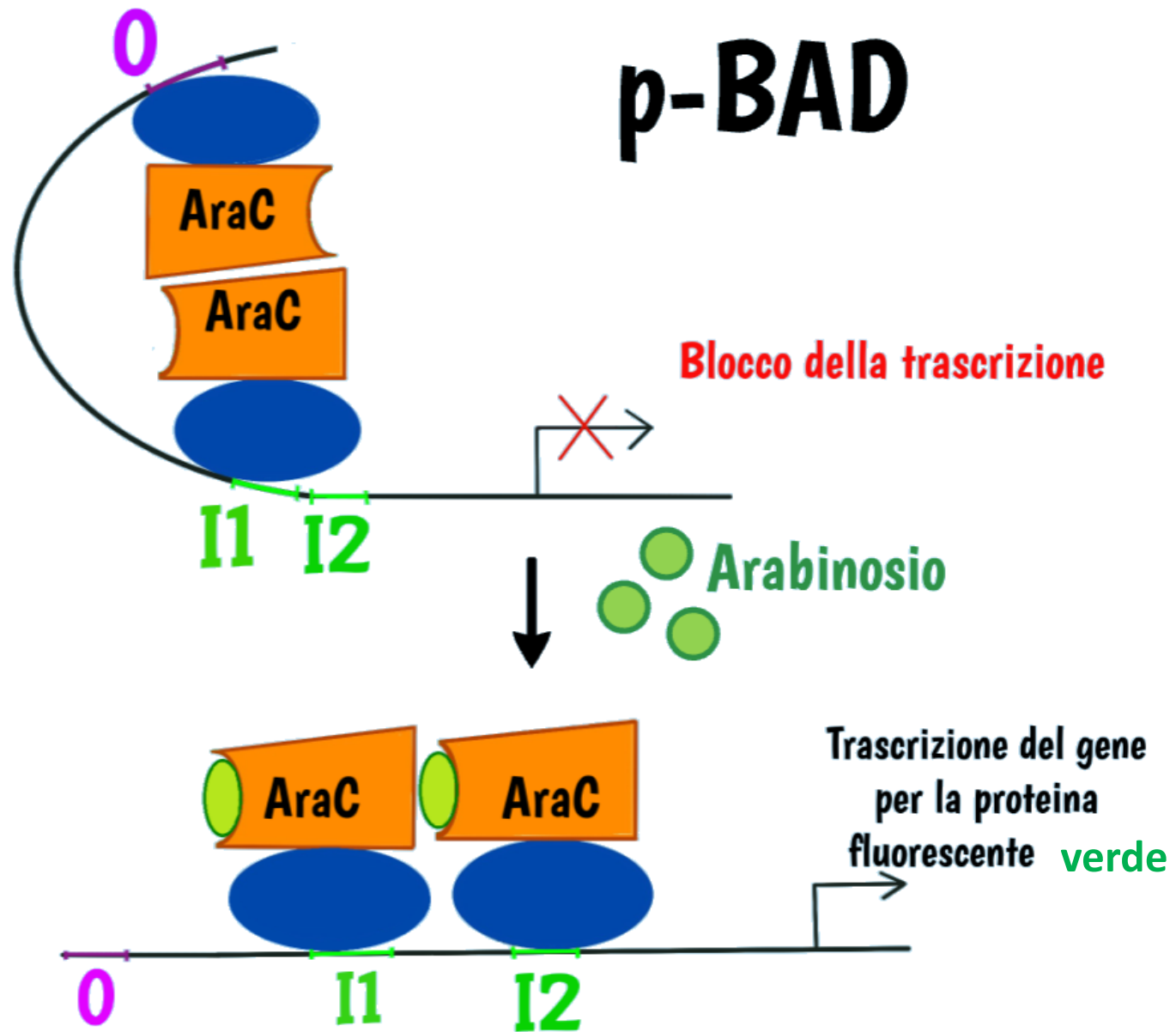
TRASFERIMENTO DEL VETTORE



Utilizzo di uno strumento
che produce una repentina scarica elettrica,
nel nostro caso: 1,8 kV per 5.50-5.80 ms

PROMOTORE INDUCIBILE pBAD





SCHEMA ESPERIMENTO

CAMPIONE **T** → **2 μ L di pGLO**

CAMPIONE **C** → **2 μ L di ACQUA**

TRASFORMAZIONE BATTERICA

Tecnica di biologia molecolare utilizzata per introdurre materiale genetico in cellule batteriche.



Ottenere una grande quantità del materiale genetico introdotto o di una proteina di interesse.

TRASFORMAZIONE PER ELETTROPORAZIONE

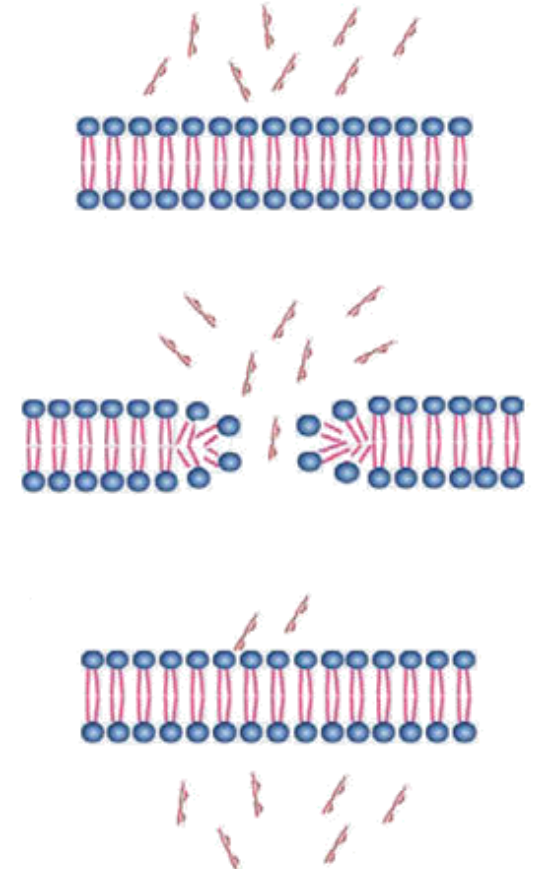
Esposizione delle cellule e del DNA, nella stessa mix,
ad una **repentina e elevata scarica elettrica**



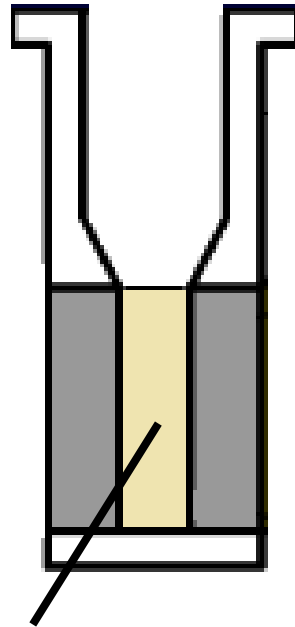
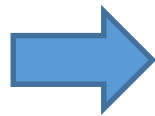
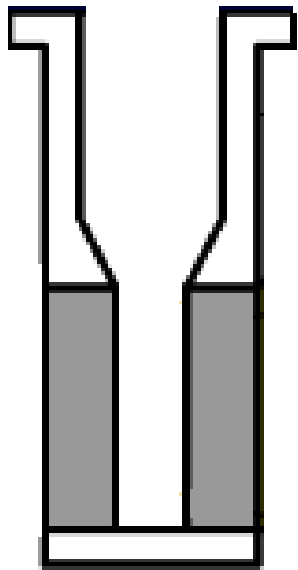
Inducono la formazione di pori transienti del diametro
di alcuni nanometri



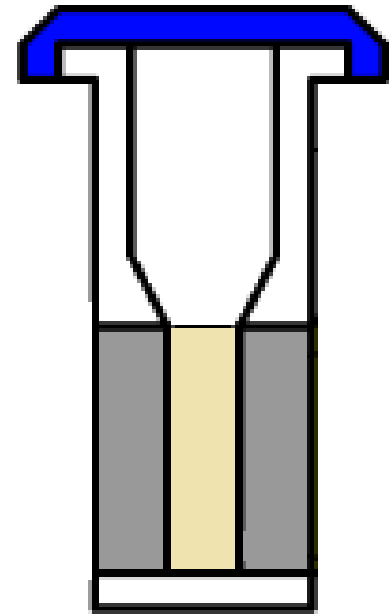
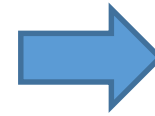
Lo shock provocato da questo trattamento
determina l'internalizzazione del DNA.

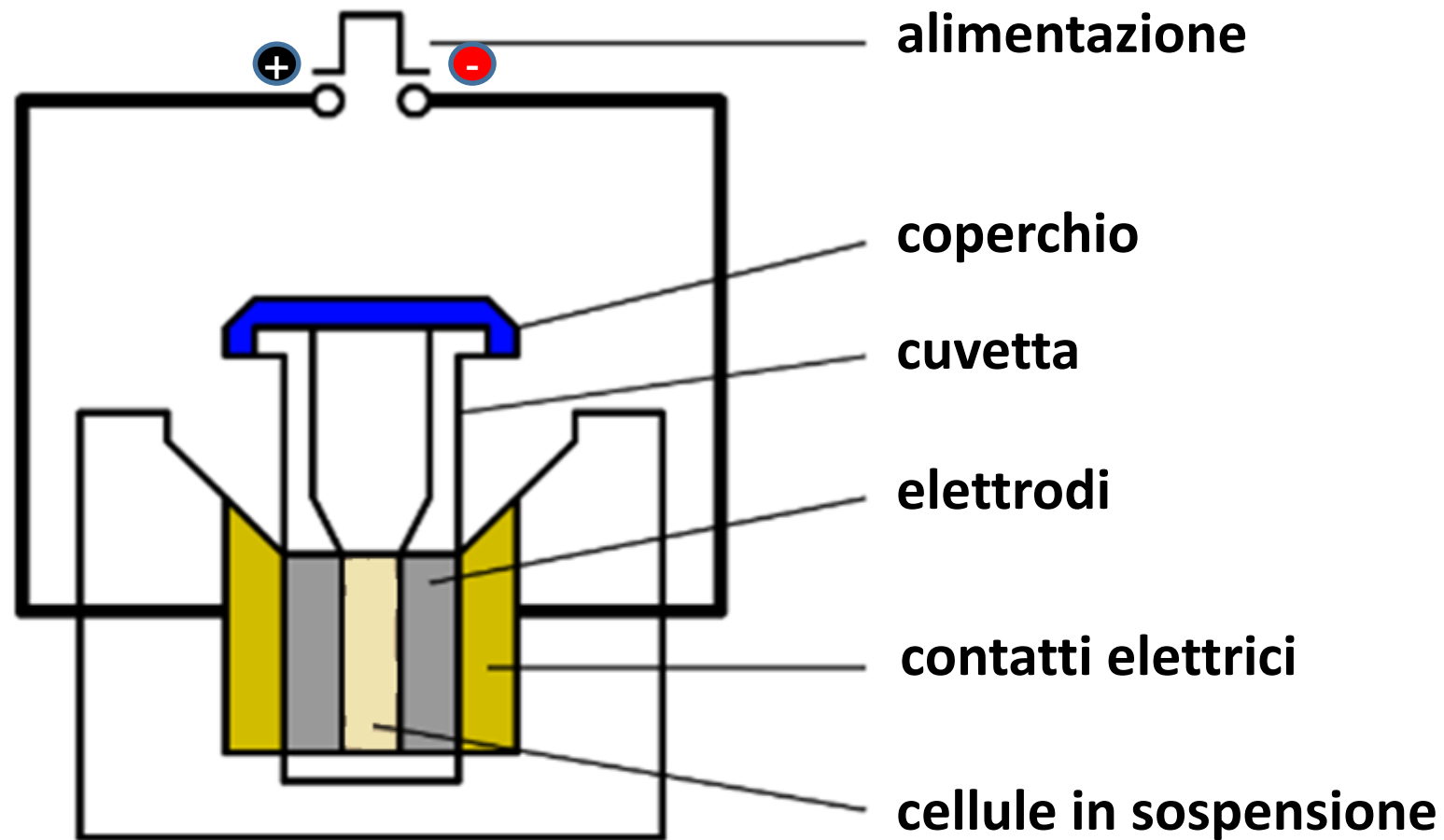


cuvetta



campione di cellule





ELETTROCOMPETENZA

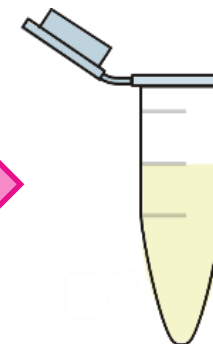
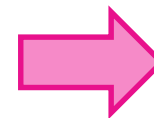
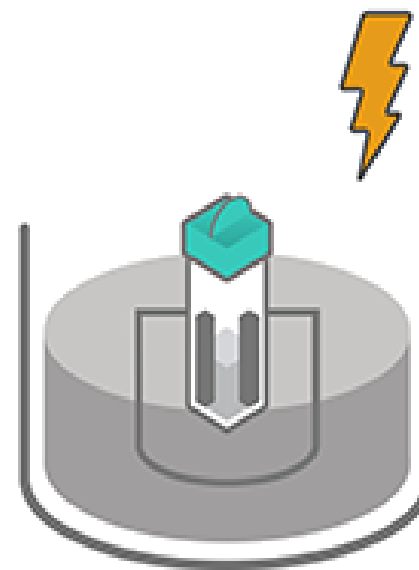
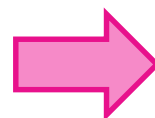
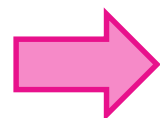
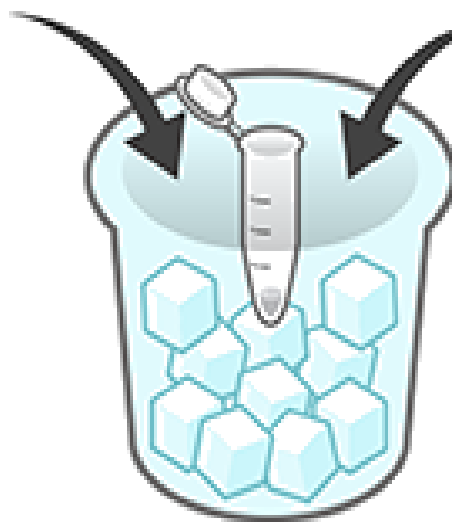
Serie di lavaggi che hanno lo scopo di rimuovere i sali presenti nel terreno di coltura perché non impediscano il passaggio della corrente.

Il glicerolo mantiene l'integrità di membrana



**Cellule
elettrocompetenti**

DNA



TRASFERIMENTO

ELETTROPORAZIONE

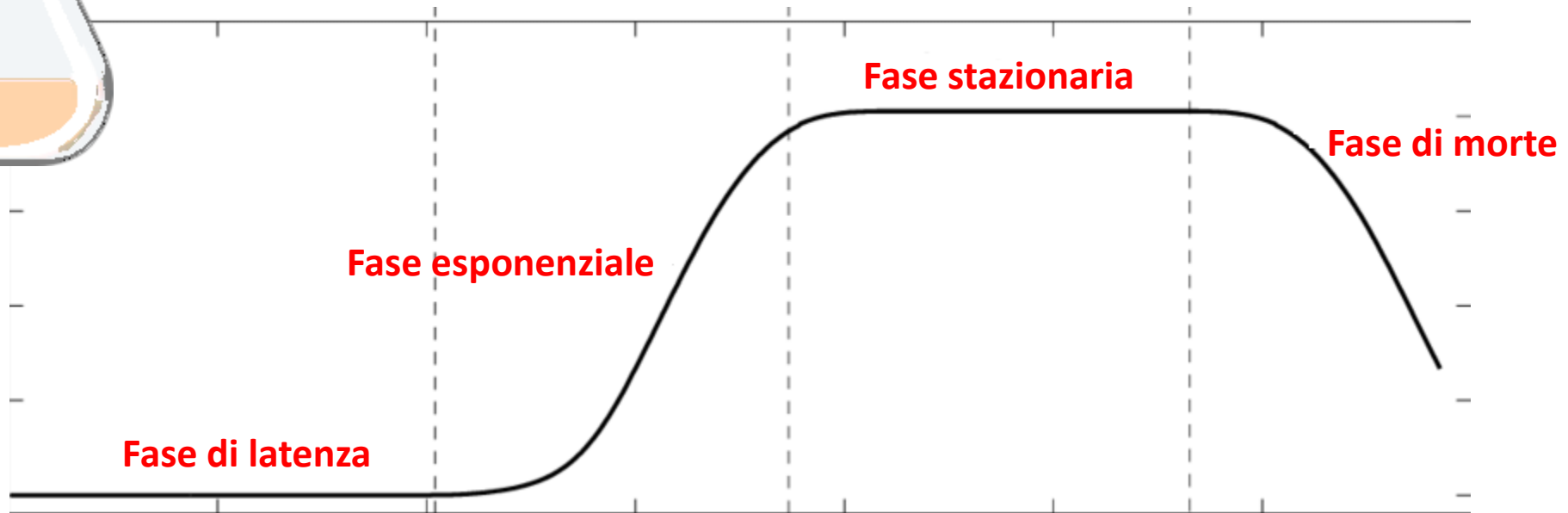
**INCUBAZIONE
A 37°C**

COLTURA DI E.coli HB101

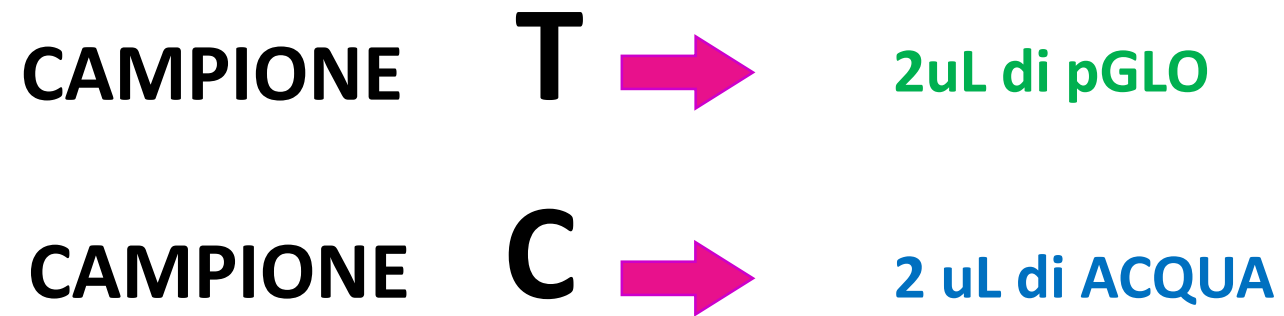
$$OD_{600} = 0.4-0.5$$



FASE ESPONENZIALE

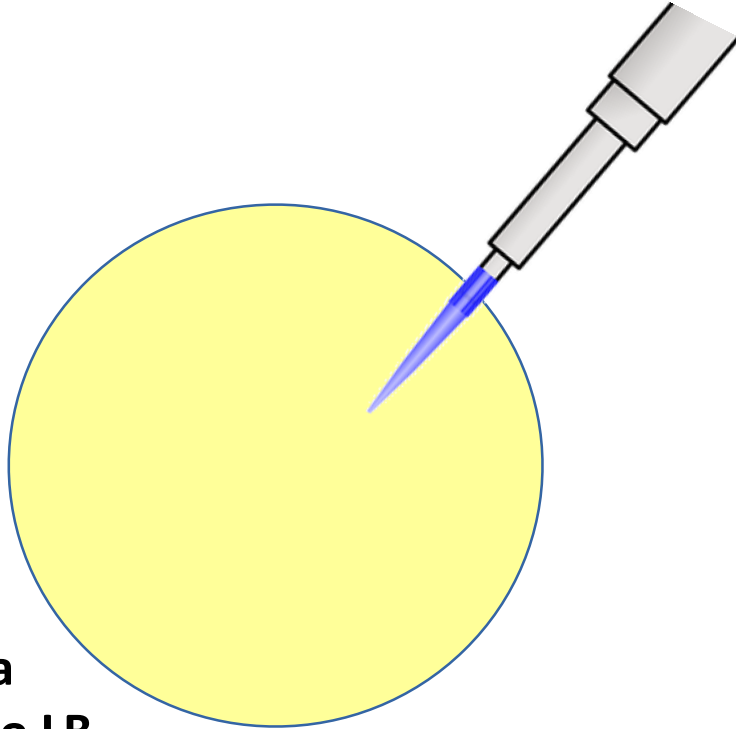


SCHEMA ESPERIMENTO



CAMPIONE T

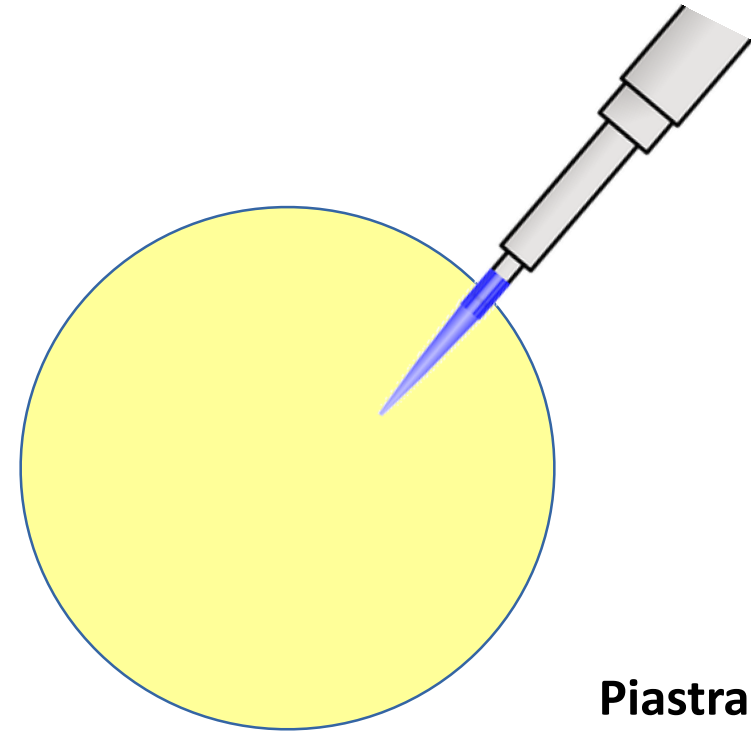
E.Coli HB101 trasformate con pGLO



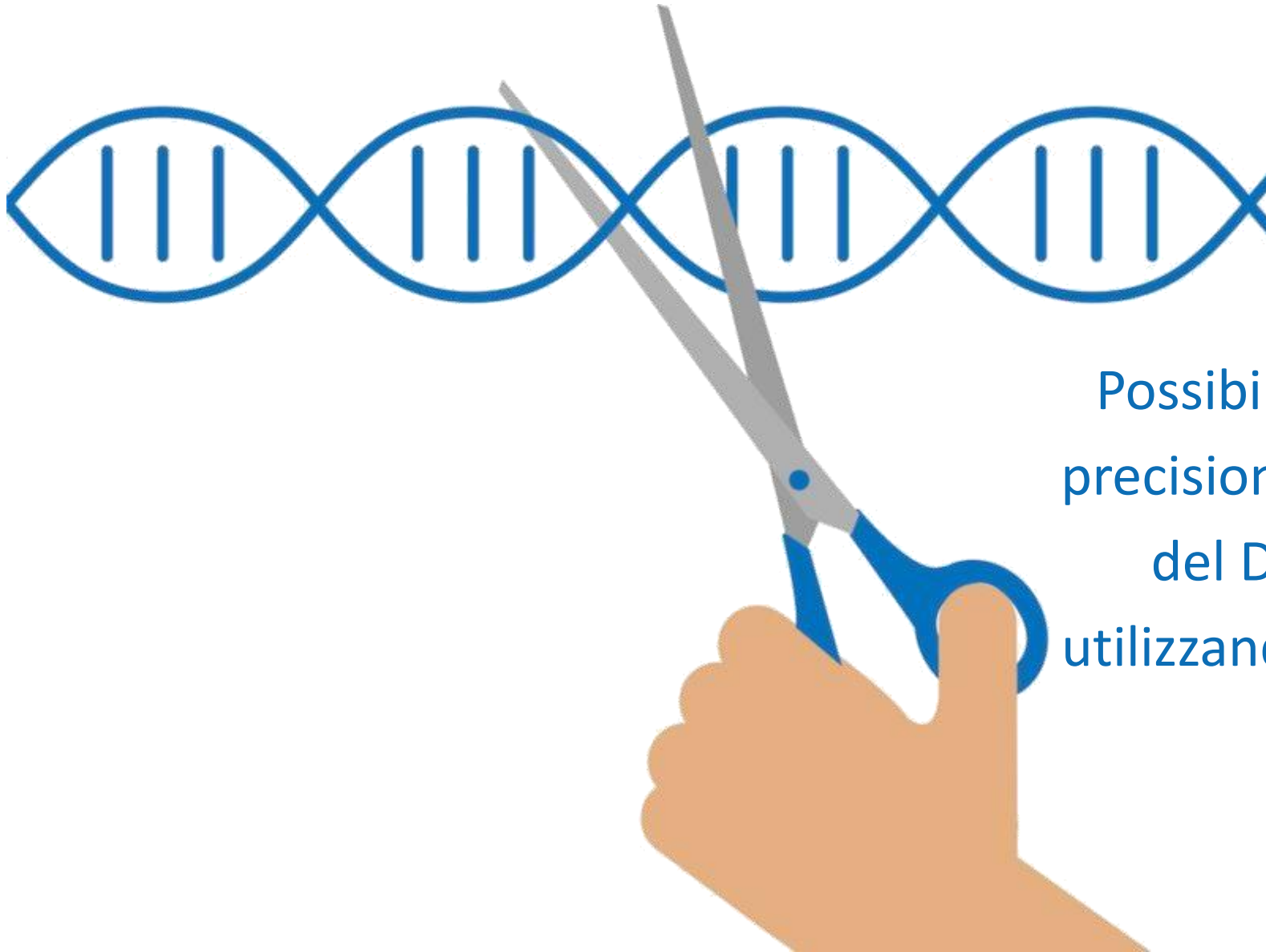
Piastra
con terreno LB,
Ampicillina e
Arabinosio

CAMPIONE C

E.Coli HB101 trasformate con acqua



Piastra
con terreno LB



Possibilità di **modificare** con grande precisione piccole parti della sequenza del DNA degli organismi viventi utilizzando diverse tecniche di biologia molecolare

FINE