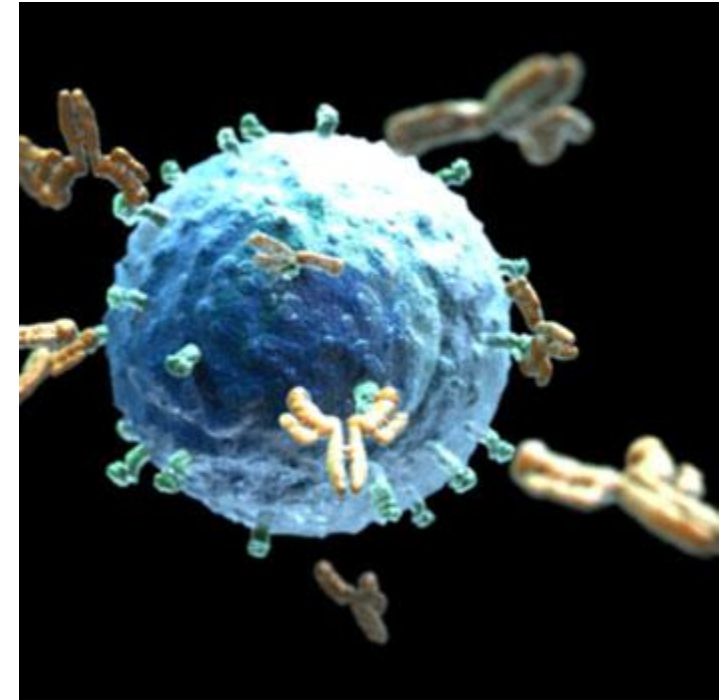


Biotechnologie avanzate

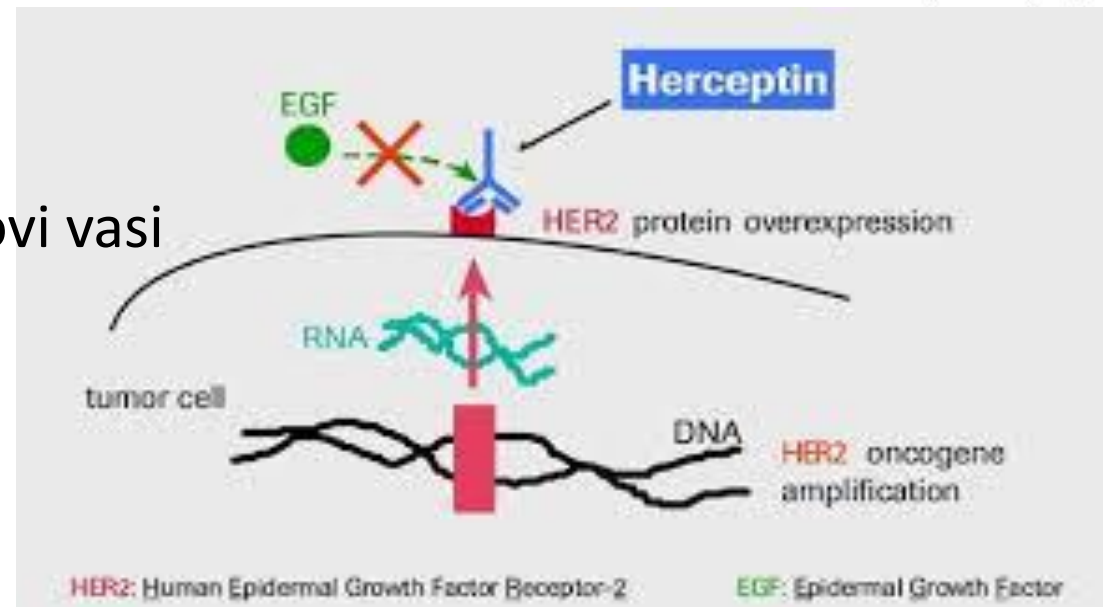
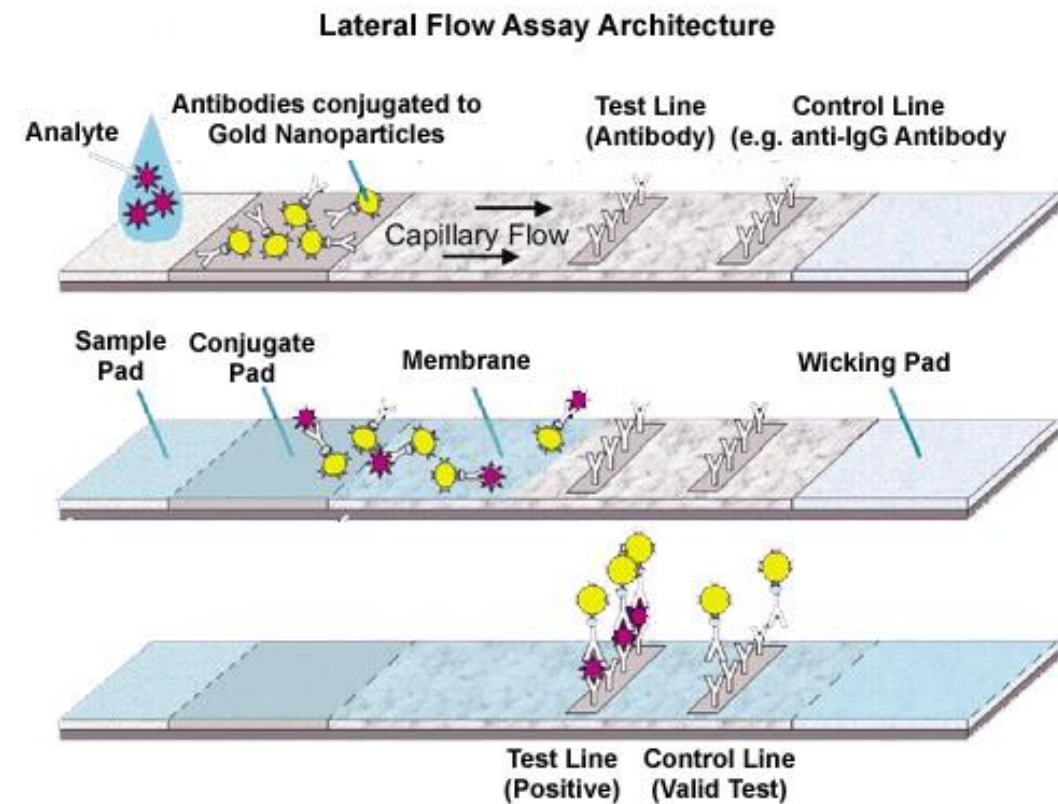
Anticorpi Monoclonali e Clonazione

- 1975: G. Köhler e C. Milstein mettono a punto la tecnica per produrre gli ANTICORPI MONOCLONALI (Nobel 1984)
- E' stato così realizzato l'ideale degli immunologi, quello di poter produrre quantità illimitate di anticorpi identici con specificità predeterminata.
 - ✓ specificità di legame
 - ✓ la loro omogeneità
 - ✓ l'illimitata possibilità di produzione.

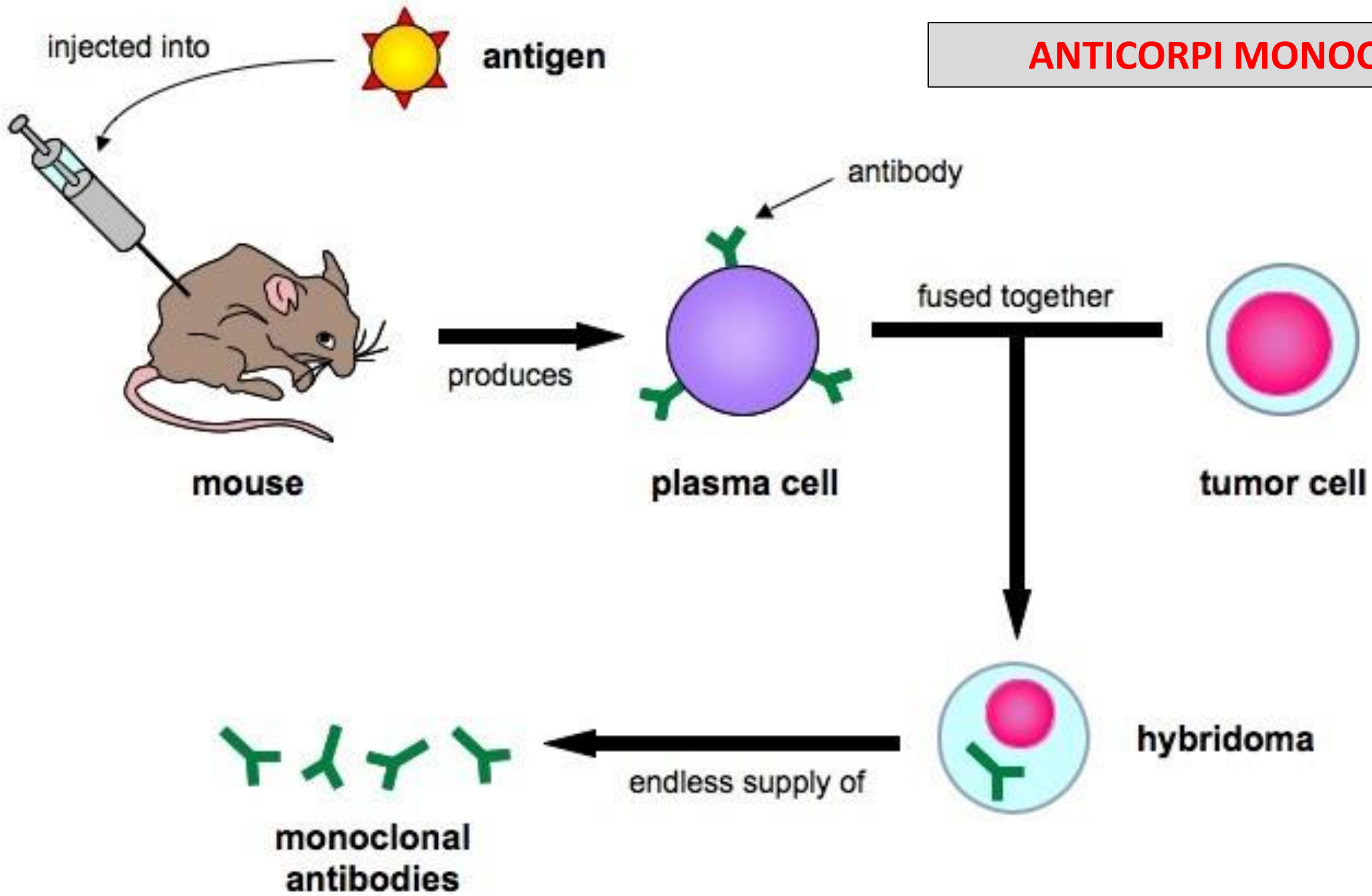


Impiego degli Anticorpi Monoclonali

- ✓ DIAGNOSTICA (Test Immunoenzimatici/Chemiluminescenza/Immunocromatografici)
- ✓ TERAPIA
 - ✓ Rendono la cellula più visibile al sistema immunitario
 - ✓ Bloccano i fattori di crescita
 - ✓ Impediscono la formazione di nuovi vasi
 - ✓ Radioimmunoterapia



ANTICORPI MONOCLONALI

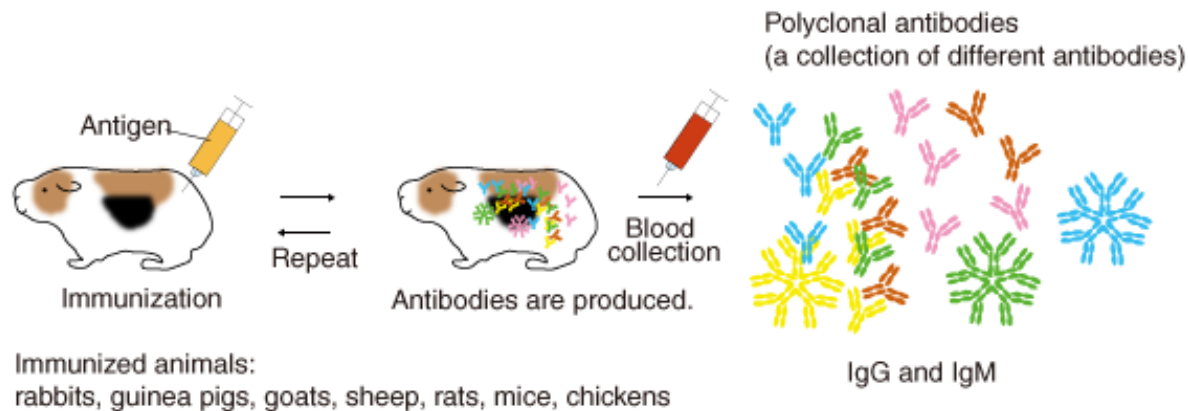
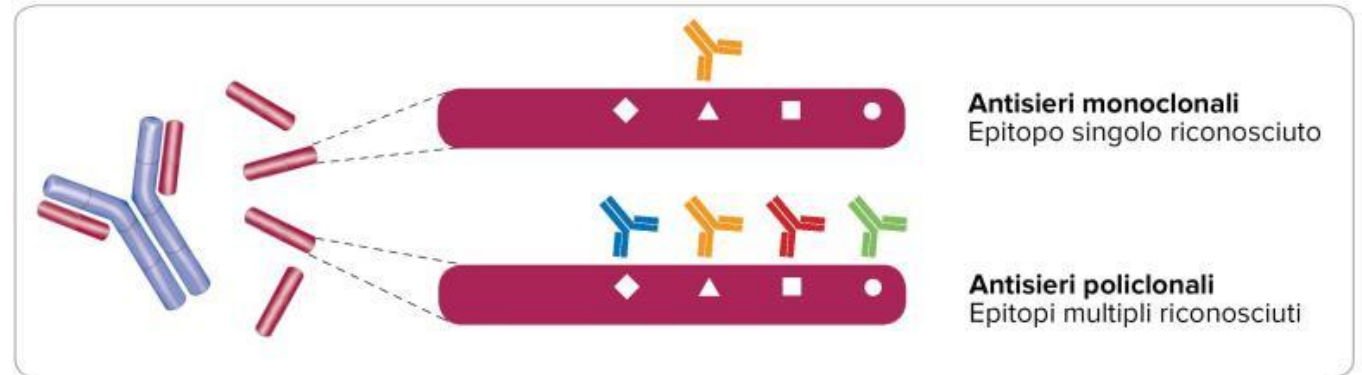


Anticorpi monoclonali

Rappresentano uno strumento molto utile in ambito biotecnologico.

Si tratta di anticorpi prodotti da un **singolo clone di linfociti B** e pertanto del tutto **identici nella loro regione variabile** (quella che riconosce l'antigene).

Gli anticorpi monoclonali quindi **riconoscono un'unica regione della proteina bersaglio (epitopo)** e risultano essere altamente specifici.

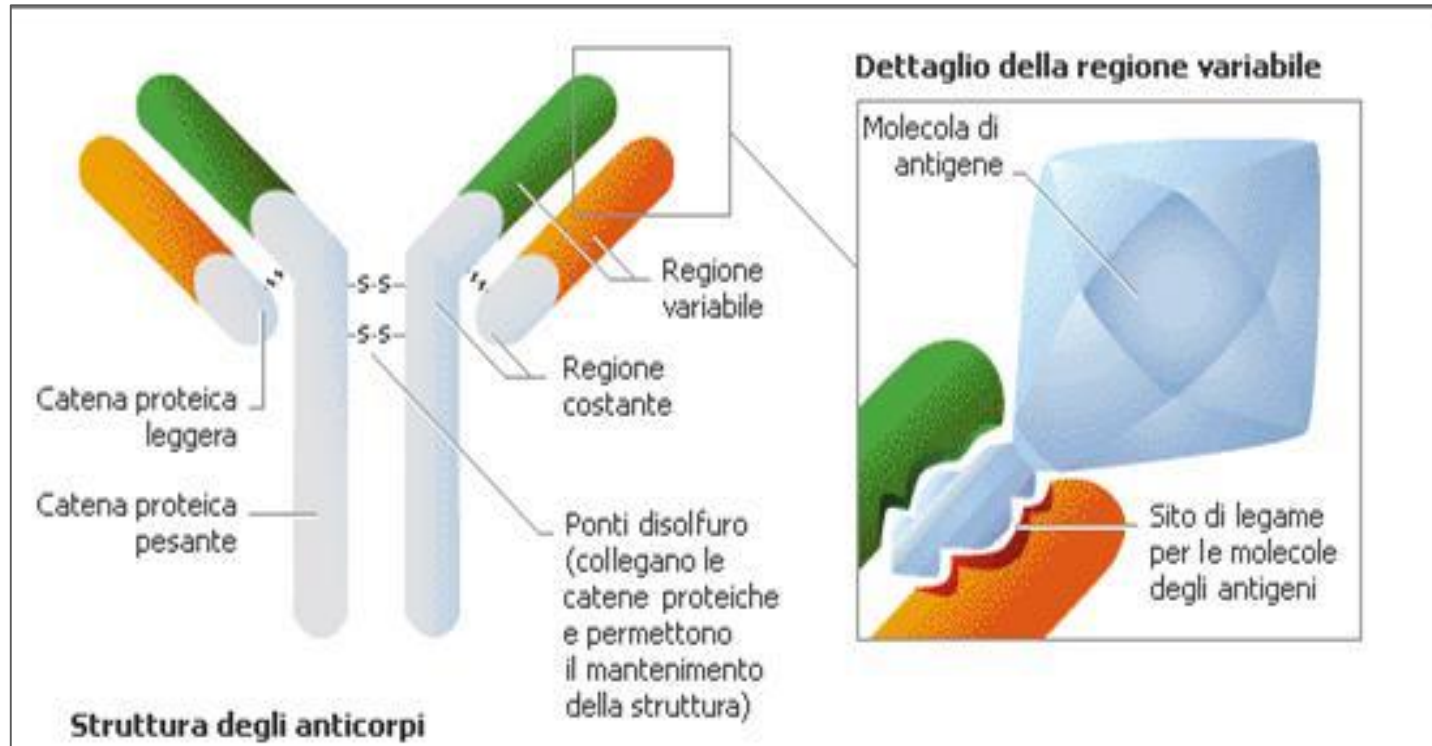


Anticorpi monoclonali: produzione (I)

Gli anticorpi sono prodotti dai **linfociti B** quando vengono opportunamente stimolati da un'**antigene**.

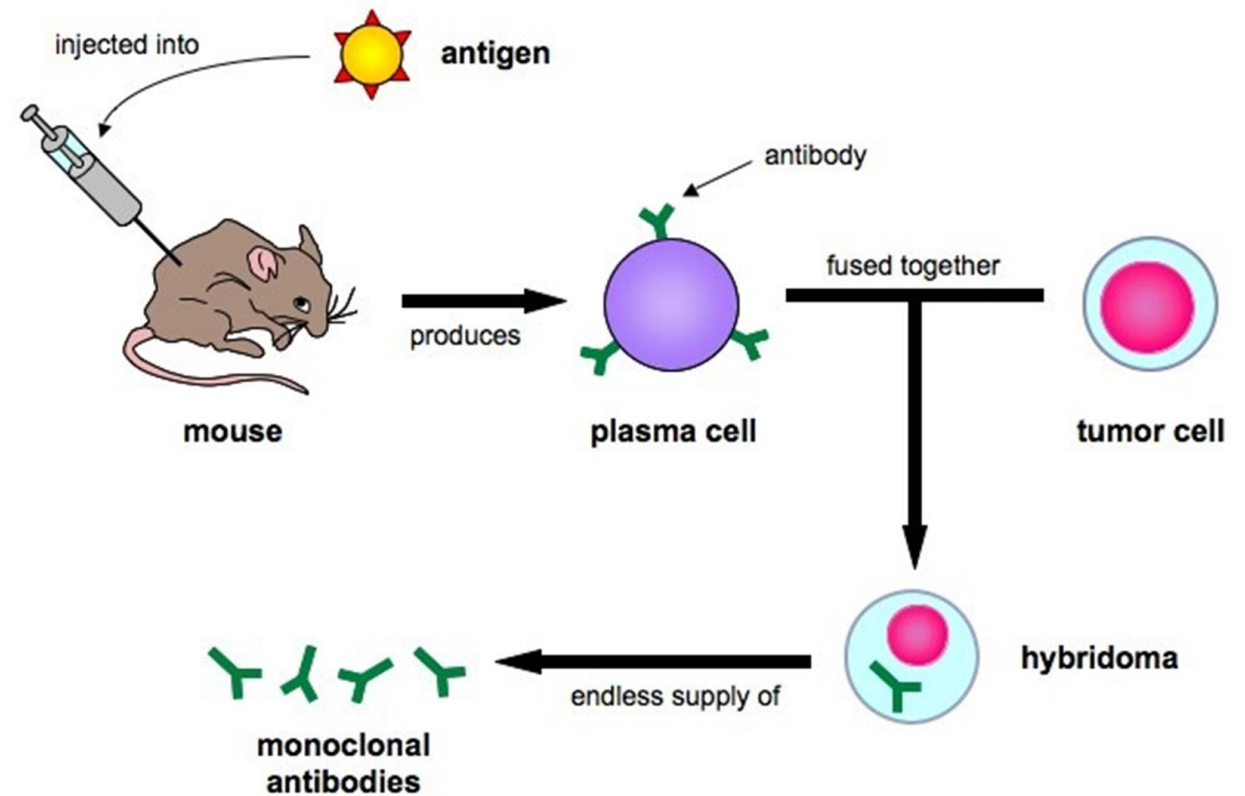
È possibile produrre anticorpi monoclonali contro **qualsiasi proteina** di interesse:

1. la proteina che dovrà essere riconosciuta dagli anticorpi viene iniettata in **animali da laboratorio**, solitamente topi;
2. dopo un certo tempo il sistema immunitario dei topi favorisce l'espansione di **numerosi cloni** di cellule B, ciascuno produttore un anticorpo contro un diverso epitopo della proteina;

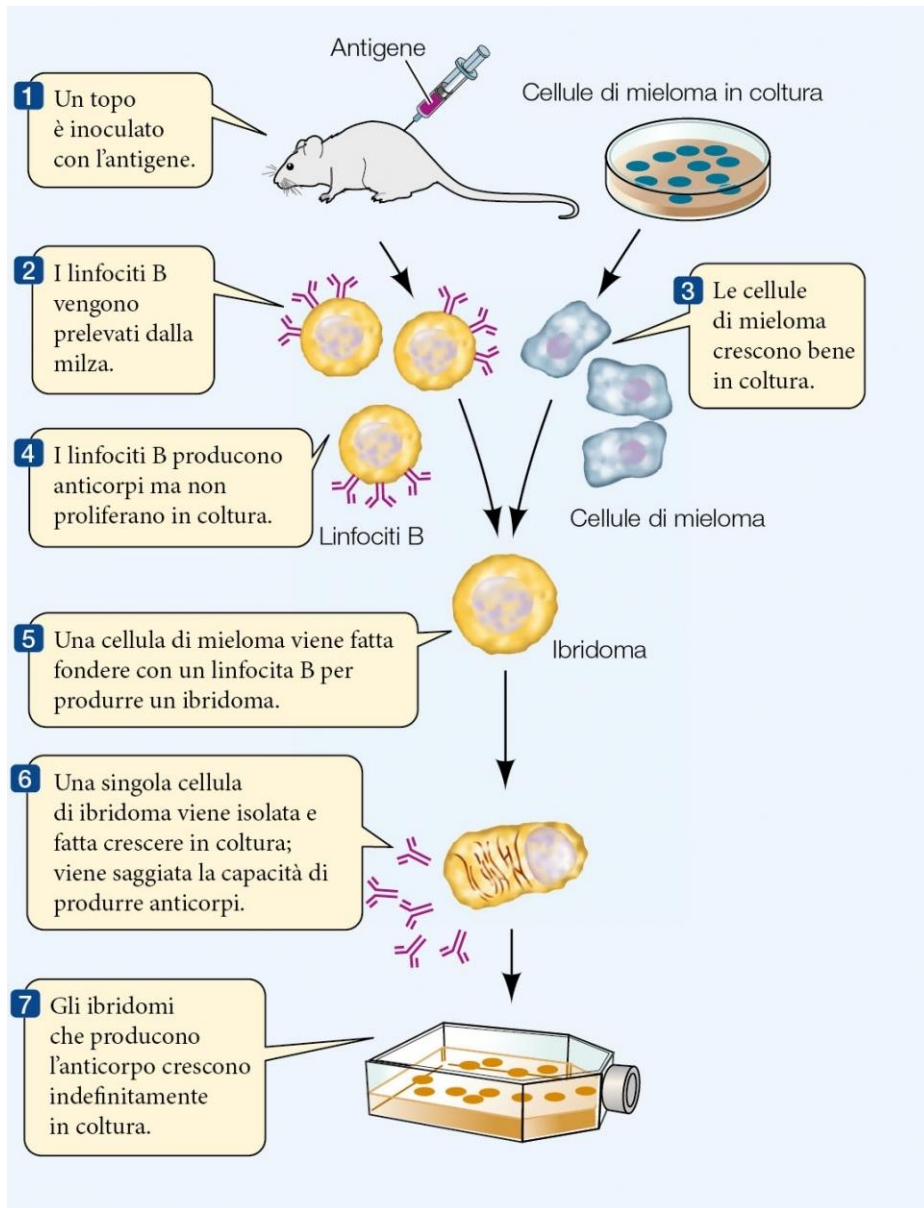


Anticorpi monoclonali: produzione (II)

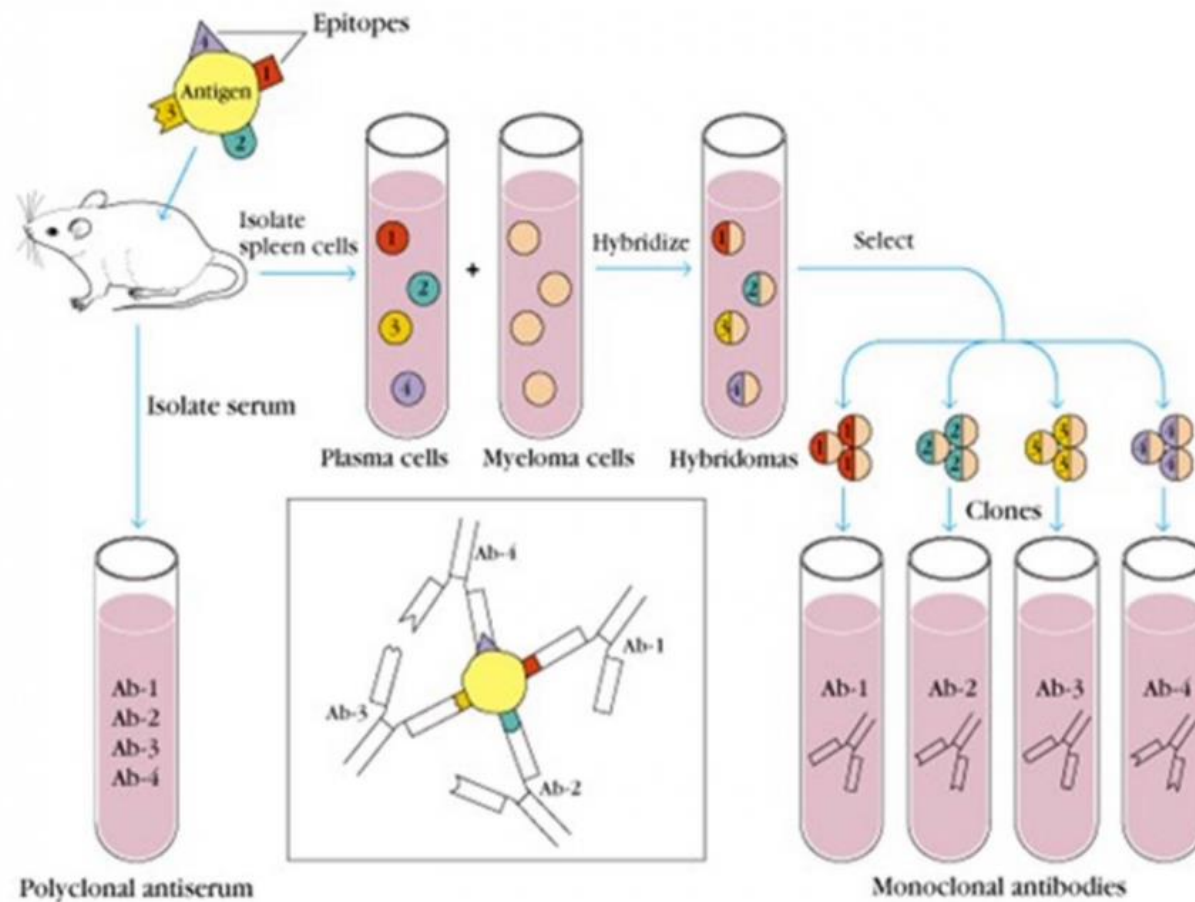
3. dalla **milza** dei topolini immunizzati sono prelevate le **cellule B**;
4. le cellule B sono fuse con **cellule tumorali di mieloma**: si forma un **ibridoma**. Le cellule ibride mantengono la capacità di produrre anticorpi, ma acquisiscono anche quella di **proliferare indefinitamente** in coltura (mentre i linfociti B della milza muoiono dopo pochi passaggi);
5. le diverse cellule ibride vengono separate e da ciascuna viene ottenuta una **colonia clonale**;
6. ciascun clone di cellule rilascia il proprio anticorpo monoclonale nel terreno di coltura, da dove può essere **purificato**.



Produzione anticorpi monoclonali



CONFRONTO POLICLONALI VS MONOCLONALI



Clonazione di interi organismi

Per **clonazione artificiale** si intende la generazione di un intero organismo a partire da una singola cellula non zigotica.

Questa tecnica permette di ottenere **copie geneticamente identiche** dell'organismo di partenza e trova applicazioni nella **zootecnia** (ad es. per riprodurre animali dalle caratteristiche eccellenti come cavalli da corsa, mucche da latte o tori da riproduzione), ma anche nella **conservazione dell'ambiente** (per esempio per ripopolare specie animali in via di estinzione che non è possibile fare riprodurre naturalmente in cattività).

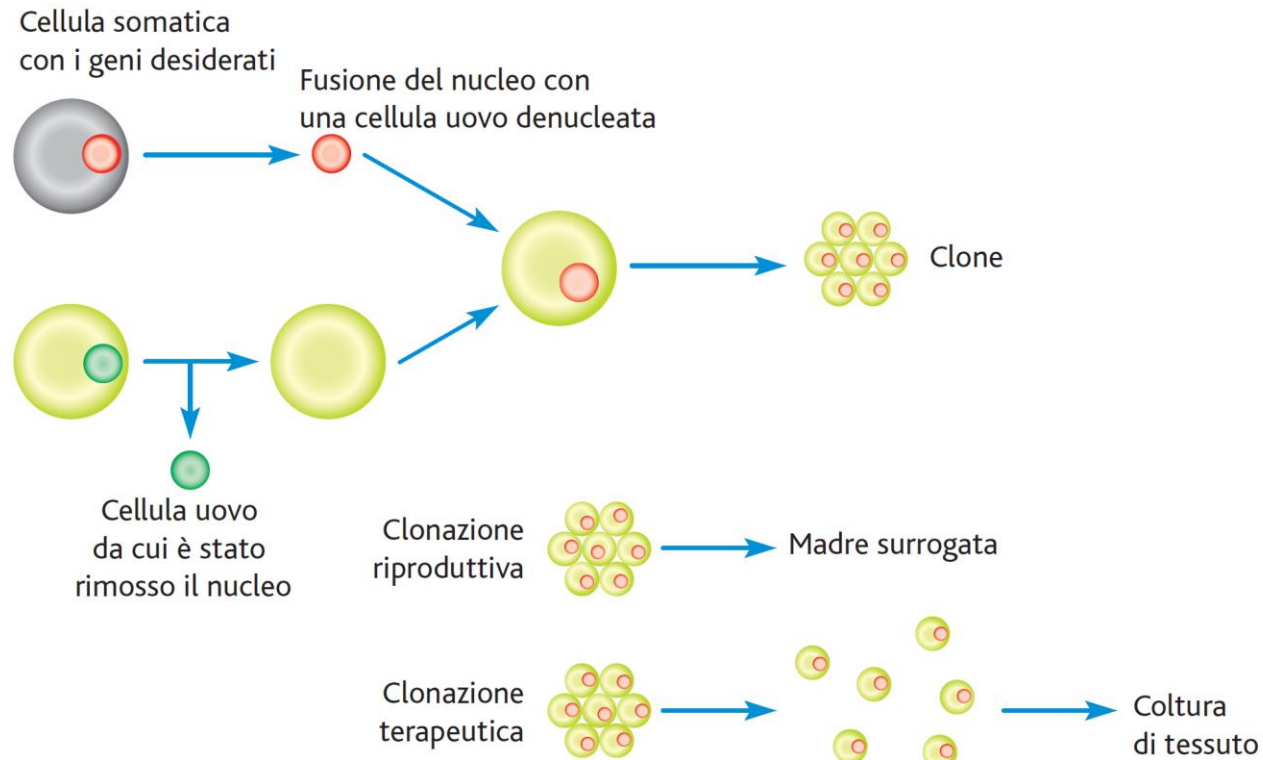
Trasferimento nucleare (I)

La tecnica più diffusa è quella del **trasferimento nucleare**:

1. Il nucleo aploide di una **cellula uovo** ricevente viene sostituito con il nucleo contenente il genoma diploide di una **cellula somatica** del donatore;
2. Lo pseudo-zigote (cellula uovo resa diploide non per fecondazione con uno spermatozoo) dà origine a un embrione, anche se il suo genoma deriva da una cellula adulta (cioè differenziata);

Trasferimento nucleare (II)

3. L'embrione viene trasferito nell'**utero** di una femmina della specie donatrice (madre surrogata);
4. La prole avrà il **genoma identico** (clone) a quello della cellula somatica donatrice.



Trasferimento nucleare (III)

Con questa tecnica è stata generata nel 1996 la **pecora Dolly**, il primo animale a essere clonato da una cellula somatica.



La pecora Dolly nacque, clonata, nel 1996 e visse per sette anni, durante i quali diede alla luce diversi cuccioli; ora è conservata in un museo a Edimburgo.

Le biotecnologie sono applicazioni tecnologiche di fenomeni naturali

Tutte le tecniche esposte finora, dalle più semplici alle più avanzate, hanno una caratteristica comune: sono **derivate da processi naturali**.

Le biotecnologie, infatti, sfruttano le proprietà biologiche delle molecole (DNA, RNA, proteine) e i processi fisiologici corrispondenti (replicazione del DNA, risposta immunitaria, etc.), **replicandoli in sistemi in vitro** controllati e **adattandoli** alle particolari esigenze dell'operatore.