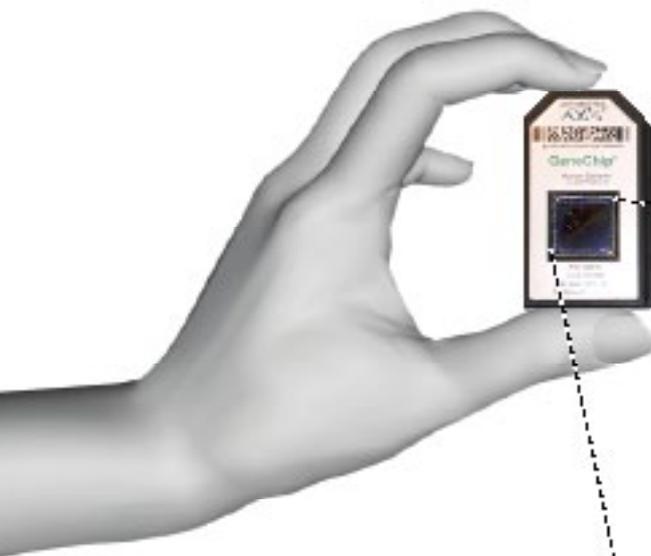


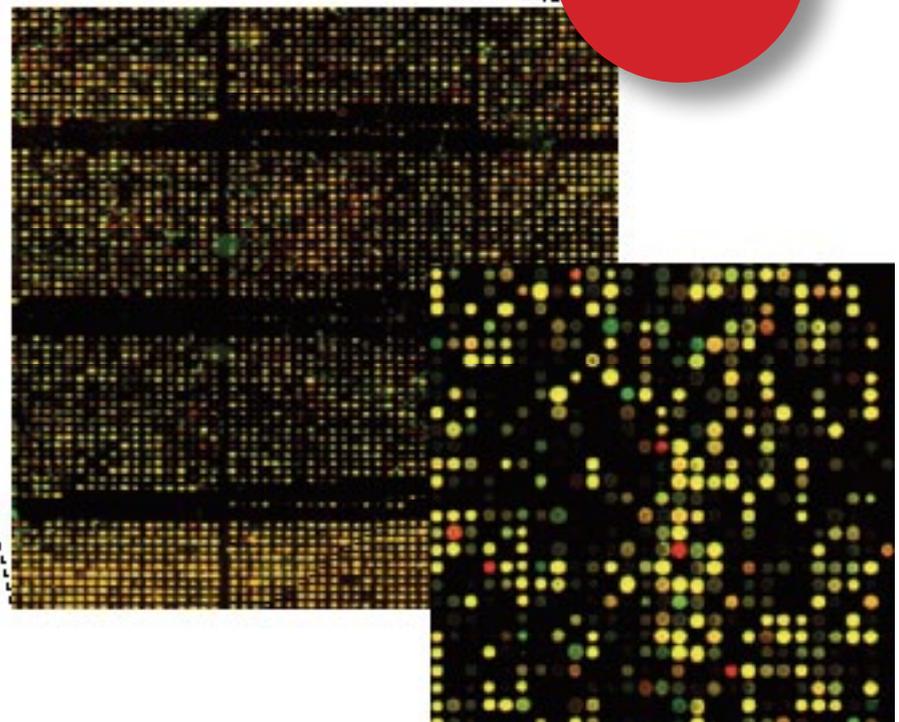
Introduzione ai Microarray

Anastasios Koutsos
Alexandra Manaia
Julia Willingale-Theune

Versione 2.3



Versione
italiana



Anastasios Koutsos, Alexandra Manaia and Julia Willingale-Theune



Introduzione ai Microarray

Versione 2.3

● Introduzione ai Microarray

1.1 Introduzione

Il periodo in cui viviamo sarà ricordato in futuro come l'era "genomica", il periodo in cui gli scienziati di tutto il mondo hanno lavorato ad uno dei progetti più ambiziosi di tutti i tempi: il "progetto genoma umano" (HGP). Lo scopo iniziale di questo progetto consisteva nel sequenziare le 3 milioni di basi nucleotidiche (A, C, G e T) lungo le 23 paia di cromosomi che formano il genoma umano.

La pubblicazione della prima sequenza incompleta nel 2001 ha segnato una rivoluzione nel campo della biologia molecolare, avendo eliminato la necessità di clonare e sequenziare i geni coinvolti in diverse patologie umane. I biologi potevano adesso trovare la sequenza di un gene sulla rete in database pubblici. Ma la prima sequenza pubblicata conteneva ancora ampie zone non sequenziate ed alcuni errori di assemblaggio, per cui alcune regioni del genoma risultavano invertite o non collocate nella giusta posizione.

Dalla prima pubblicazione nel 2001, il lavoro è proseguito per aggiungere le informazioni mancanti: già nell'ottobre del 2004 le regioni mancanti erano appena 341! Qual è il prossimo passo? Forse è quello più importante, che consiste nel capire qual è la funzione di ogni gene, e come i geni collaborino per provvedere a tutte le funzioni necessarie per la nostra sopravvivenza. Soprattutto sarà importante capire come l'espressione di alcuni geni possa risultare in malattie come il cancro, con la possibilità di sviluppare dei trattamenti medici su misura, che si adattino alle caratteristiche genetiche di ogni individuo.

Non è solo l'HGP ad aver prodotto una quantità enorme di dati. Con la tecnica del "whole genome shotgun" (WGS) - che consiste nel frammentare un genoma, sequenziare i piccoli frammenti generati, e riassemblarli attraverso l'uso di software specifici - i biologi stanno sequenziando i genomi di molti organismi modello utilizzati da tempo nella ricerca. Capire quale gene è coinvolto nello sviluppo di una malattia nell'animale può servire ad identificare il gene corrispondente nell'uomo. Inoltre, il confronto tra il DNA umano e quello di altri organismi può fornire utili informazioni sulla biologia di base e l'evoluzione. Man mano che cresce la lista degli organismi modello sequenziati - che include anche microrganismi, invertebrati, piante ed animali quali ratto, topo, scimpanzè - vengono sviluppati nuovi strumenti per interpretare la vastità di informazioni che ne derivano e comprendere meglio l'espressione genetica.

1.2 L'espressione genica nelle cellule

A parte poche eccezioni, ogni cellula del nostro organismo contiene un set completo di cromosomi composti da geni identici. Tuttavia solo una parte di questi geni è attiva, e sono proprio i diversi gruppi di geni attivi che conferiscono proprietà specifiche ad ogni tipo cellulare. Per "espressione genetica" si intende la trascrizione delle informazioni contenute sul DNA nell'RNA messaggero (mRNA) che viene poi tradotto nelle proteine che provvedono alle funzioni di base delle cellule.

Gli scienziati studiano il tipo e la quantità di mRNA prodotto per capire quali geni sono espressi in una data circostanza, e questo permette loro di analizzare la risposta di una cellula alle diverse sollecitazioni esterne. L'espressione genetica è un processo molto complesso e finemente regolato, che permette ad ogni cellula di reagire in maniera dinamica sia a stimoli ambientali sia a diverse esigenze interne.

1.3 Analisi dell'espressione genica

Analizzare l'espressione genica vuol dire analizzare la quantità di mRNA o di proteine prodotte da una cellula in un particolare momento. Fino agli anni '90 gli scienziati riuscivano ad analizzare solo pochi geni contemporaneamente. Lo sviluppo del Microarray, chiamato anche DNA chip, ha rivoluzionato i metodi di analisi della biologia molecolare, consentendo agli scienziati di analizzare l'espressione di migliaia di geni con un singolo esperimento, rapido ed affidabile.

Il principio alla base dell'analisi dell'espressione genica consiste nel confronto di campioni diversi, ad esempio tessuti – nuovi e vecchi – per studiare lo sviluppo e l'invecchiamento, organismi semplici e complessi per studiare l'evoluzione, tessuti sani o malati per studiare l'espressione genica in una determinata malattia.

1.4 Microarray - Come funzionano i chip

Il principio fondamentale del Microarray è che le molecole di mRNA si legano selettivamente, attraverso l'appaiamento delle basi, ad una sequenza di DNA complementare. L'idea è stata quella di immobilizzare migliaia (20.000) di sequenze di DNA a singolo filamento su una griglia microscopica di pochi centimetri, che funge da supporto per l'appaiamento di molecole di mRNA che vengono poste sulla sua superficie. I Microarray a DNA possono essere facilmente prodotti in laboratorio a costi bassi utilizzando supporti di vetro come quelli utilizzati in microscopia. Come potete immaginare, stampare 20.000 sequenze di DNA (ognuna corrispondente ad un particolare gene) su una superficie così piccola non è semplice. Non solo la superficie occupata dalle varie sequenze deve essere uguale, ma le varie sequenze devono anche essere equidistanti tra di loro. Questi problemi sono stati risolti dalla robotica.

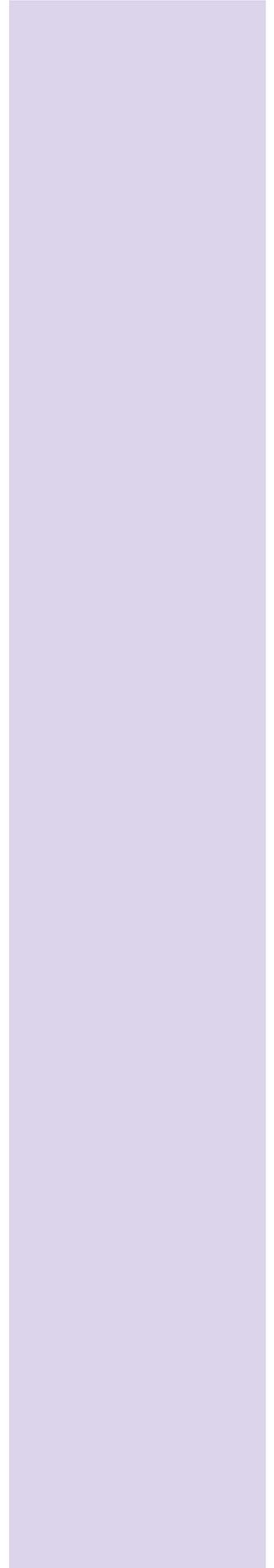
1.5 Chips all' EMBL

Diversi gruppi di ricerca all'EMBL utilizzano i microarrays. Il gruppo di Wilhelm Asorge è stato tra i pionieri dell'utilizzo e della creazione di microarray, costruendo un microarray per l'analisi di geni umani.

Il gruppo di Matthias Hentze ha utilizzato il microarray per studiare una malattia umana chiamata "emrocromatosi", un disturbo metabolico che provoca un aumento dell'assorbimento del ferro, che viene depositato in alcuni organi e tessuti del corpo.



Il ferro si accumula nel corpo dove può diventare tossico e causare danni. In ambito di sviluppo, Eileen Furlong ha utilizzato il microarray per scoprire quali geni sono espressi in diversi stadi di sviluppo del moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*). Infine, il laboratorio di Fotis Kafatos ha utilizzato il microarray per identificare i geni del sistema immunitario della zanzara (*Anopheles gambiae*), che potrebbero servire a distruggere il parassita responsabile della malaria nell'insetto, prima che infetti l'uomo.



Ringraziamenti



Vorremmo ringraziare tutte le persone che hanno contribuito alla realizzazione di questo modulo didattico per i preziosi consigli ed il supporto:

Udo Ringeisen e lo staff dell' EMBL Photolaboratory per la stampa del tappeto e della versione ridotta per l'utilizzo nelle classi;

Thomas Sandmann, studente di dottorato all' EMBL di Heidelberg, per utili discussioni e suggerimenti, e per averci segnalato l'eccellente materiale prodotto dal *NIH Office of Science Education* e supportato dal *Office of Research on Women's Health* dal titolo „*Snapshots of Science and Medicine*“;

Russ Hodge del *Office of Information and Public Affairs (OIPA)* dell' EMBL di Heidelberg, e lo staff dell' European Learning Laboratory for the Life Sciences (ELLS), per utili confronti, consigli e continuo incoraggiamento;

Giovanni Frazzetto, Mehrnoosh Rayner e Vassiliki Koumandou per aver letto la prima versione della guida per gli insegnanti del Microarray Virtuale;

Amici e colleghi dell'EMBL di Heidelberg con i quali abbiamo condiviso idee, entusiasmo e dubbi;

Gli esercizi sul microarray sono stati adattati da „*Snapshots of Science and Medicine*“, disponibile online (science-education.nih.gov/snapshots);

Immagine in copertina André-Pierre Olivier;

Realizzazione grafica Nicola Graf

Realizzazione editoriale Corinne Kox;



L'ELLS utilizza i **creative commons** per proteggere i diritti del materiale prodotto che è rivolto a studenti, insegnanti ed altre istituzioni. I simboli sono presenti anche sul sito del "TeachingBASE" dell'ELLS e nelle versioni da scaricare nei formati pdf/doc/ppt.



Attribuzione – Non commerciale – Condividi allo stesso modo

E' possibile alterare o trasformare quest'opera per scopi non commerciali, purchè sia attribuita la paternità dell'opera ed utilizzata una licenza identica o equivalente.

E' possibile riprodurre e distribuire quest'opera così come tradurla, trasformarla e produrne nuove versioni basate su quella originale. L'opera risultante dovrà avere lo stesso tipo di licenza e non dovrà essere usata per fini commerciali.

Significato dei simboli

-  Riprodurre
-  Modificare
-  Attribuzione
-  Non commerciale
-  Condividi allo stesso modo

Per maggiori informazioni <http://creativecommons.org>

