

Sintha e la biologia sintetica

Centro Candiani Mestre

25-2-2011

Piero Benedetti

Università di Padova

Synthetic Biology (Biologia Sintetica) è
il tentativo di disegnare e creare nuove
forme di vita che il mondo non ha mai
visto prima.

Scoprire una nuova tecnologia
“vivente”, che cambierà la maniera con
la quale noi pensiamo ai sistemi viventi
e le macchine nel futuro

Synthetic Biology

A) disegnare e costruire nuove componenti,
biologiche, macchinari e sistemi

e

B) ri-disegnare sistemi biologici naturali ed
esistenti per renderli più utili a noi

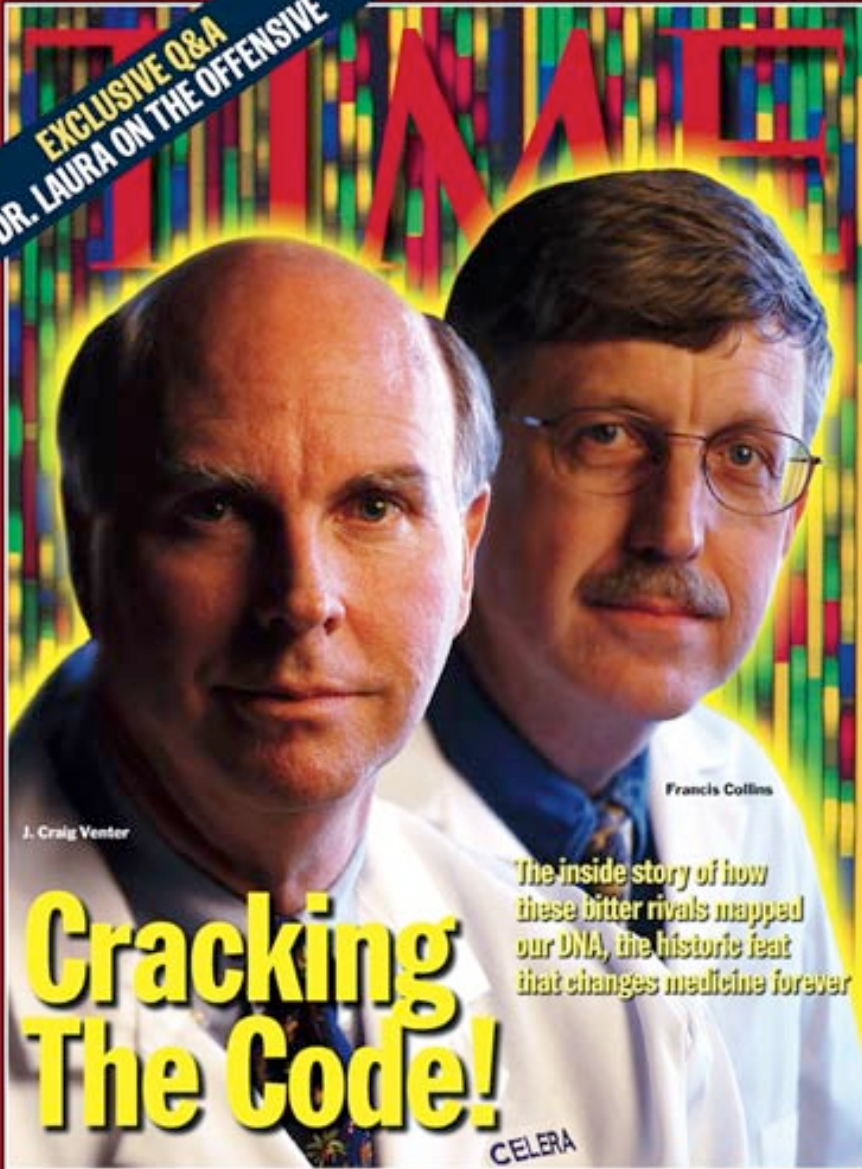
Chi sono Sinthya e il suo “creatore”



JULY 3, 2000 \$3.50

www.time.com AOL Keyword: TIME

EXCLUSIVE Q&A
DR. LAURA ON THE OFFENSIVE



J. Craig Venter

Francis Collins

Cracking The Code!

The inside story of how these bitter rivals mapped our DNA, the historic feat that changes medicine forever

CELERA

Science

22 December 2000

Vol. 290 No. 5500
Pages 2201-2372 \$8

WELL, HAVE YOU HAD
YOUR GENOME SEQUENCED YET?

SEQUENCED GENOMES

Breakthrough
of the Year



AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE

How much DNA is in a gene? How much is in a genome?

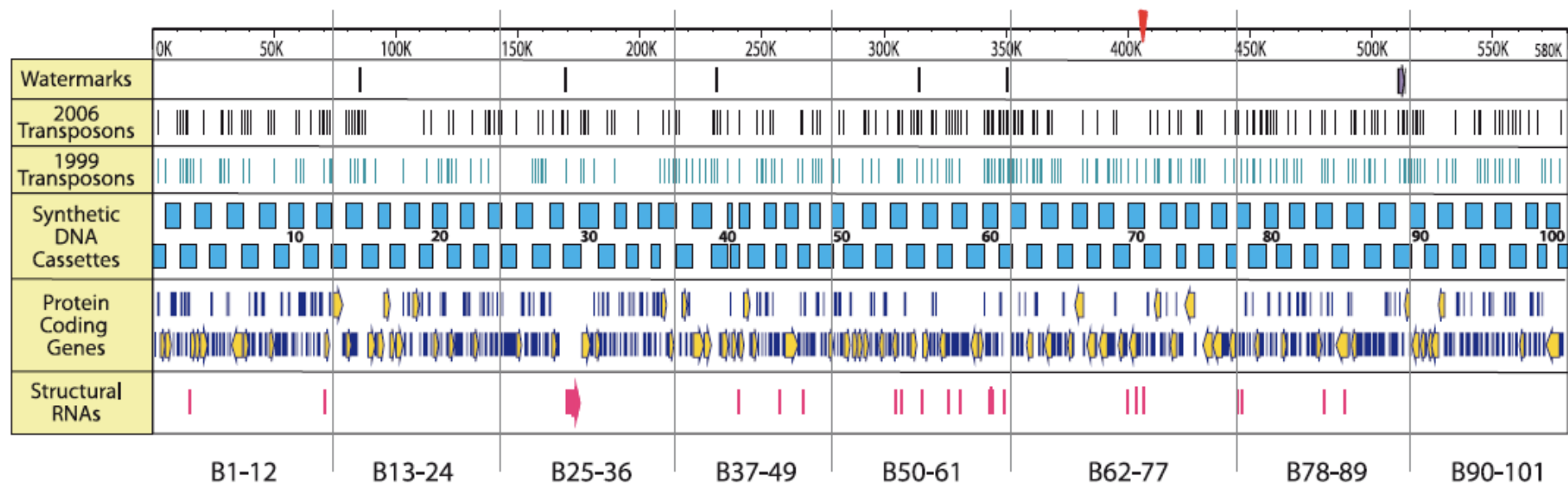
Both genes and genomes come in a variety of sizes.

About 1,000 base pairs would be enough DNA to encode most proteins. But introns—"extra" or "nonsense" sequences inside genes—make many genes longer than that. Human genes are commonly around 100,000 base pairs long, and some are up to 2 million base pairs.

	Organism	Number of genes in the genome
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	517
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6,275
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	~ 20, 000
	<i>Caenorhabditis elegans</i>	19, 099
	<i>Haemophilus influenzae</i>	1,743
	<i>Drosophila melanogaster</i>	13, 601
	<i>Neisseria meningitidis</i>	2, 158
	<i>Homo sapiens</i>	~ 30, 000

Very simple organisms tend to have relatively small genomes. The smallest genomes, belonging to primitive, single-celled organisms, contain just over half a million base pairs of DNA.

Nel 1995, un team diretto da
Venter
ha sequenziato le 600,000-basi del
cromosome
di un batterio chiamato
Mycoplasma genitalium,
il più piccolo genoma di un
organismo vivente



Il microrganismo ha circa 500 geni,
e nel Febbraio 2003 i ricercatori
hanno scoperto che ne potevano
eliminare 100
senza nessun effetto sulla salute
del batterio

Nel 2008, hanno dimostrato che potevano assemblare un cromosoma artificiale che era identico a quello di *M. genitalium's* ma conteneva anche “watermark”, sequenze di DNA che permettersero di riconoscere il genoma sintetico da quello naturale

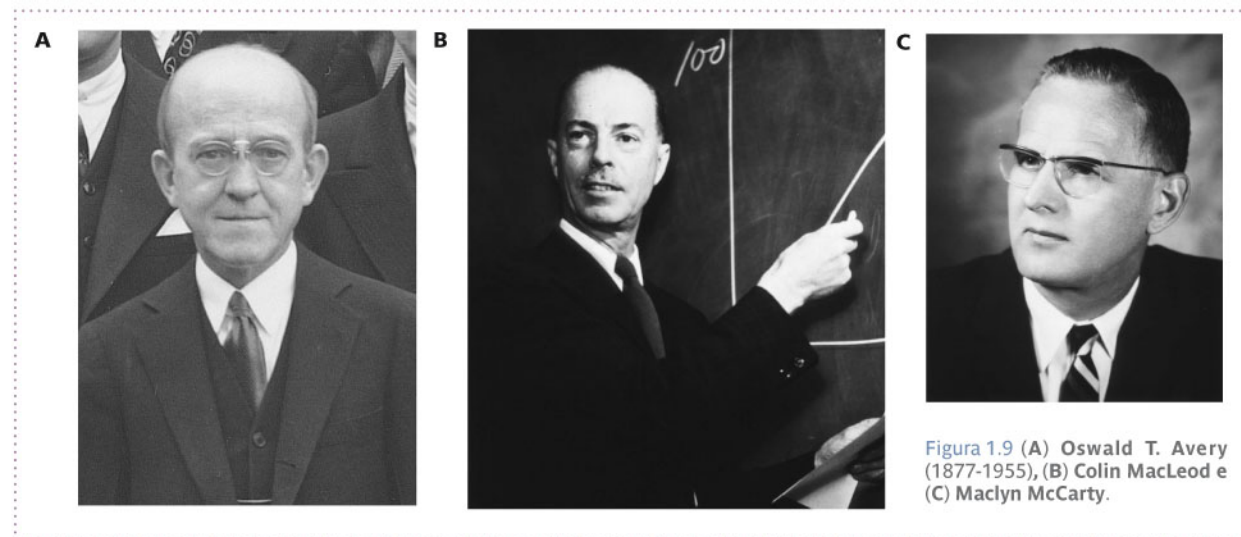
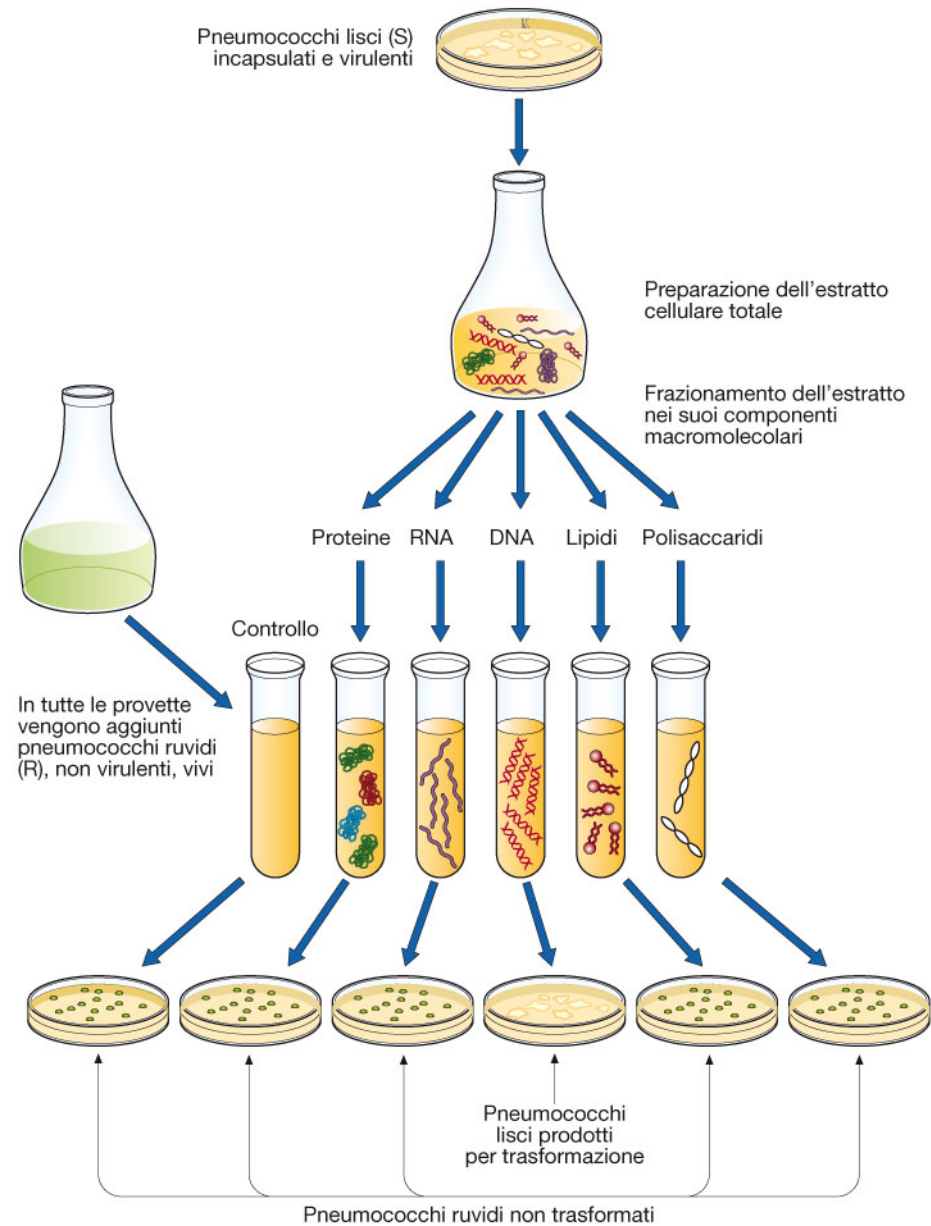


Figura 1.10 La "bomba di Avery".

Avery e colleghi, a partire dai Pneumococchi lisci e virulenti, fecero un estratto cellulare che era in grado di trasformare il ceppo ruvido. In seguito purificarono tutte le componenti dell'estratto, che divisero in tubi diversi. Solo il DNA era in grado di trasformare il ceppo di Pneumococco ruvido nel ceppo liscio e patogeno, dimostrando che solo il DNA era il principio trasformante.



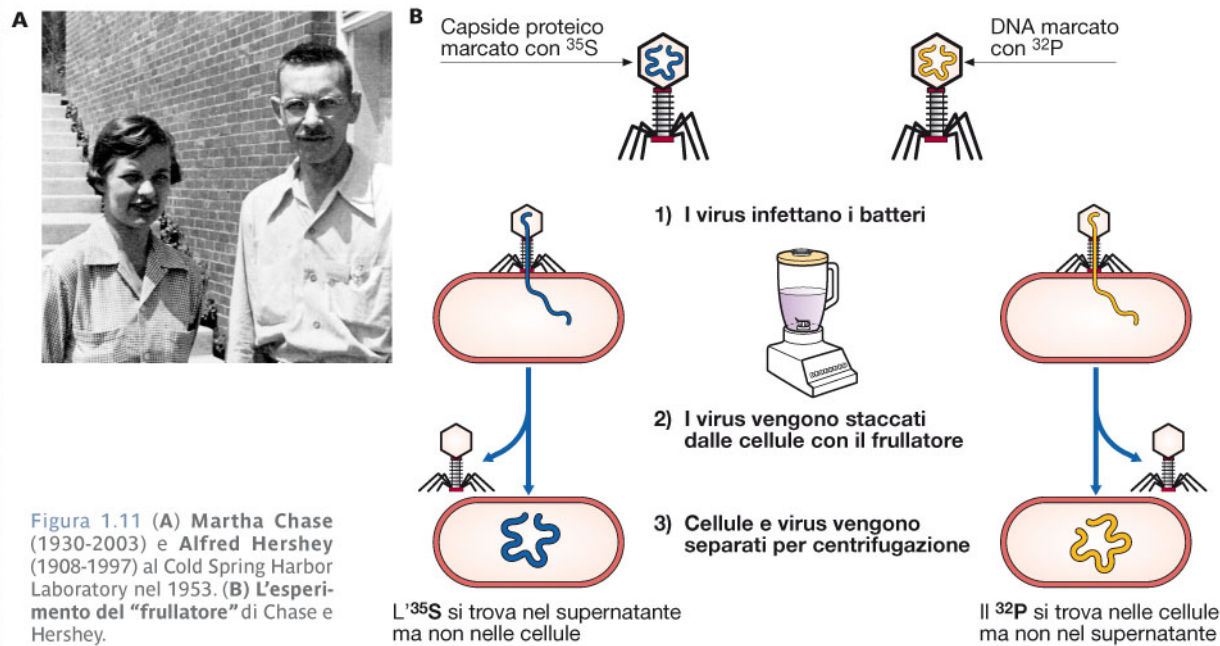


Figura 1.11 (A) Martha Chase (1930-2003) e Alfred Hershey (1908-1997) al Cold Spring Harbor Laboratory nel 1953. (B) L'esperimento del "frullatore" di Chase e Hershey.

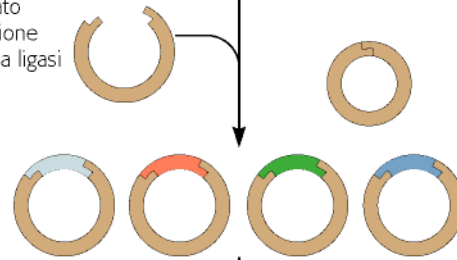
(a) Selezione del DNA



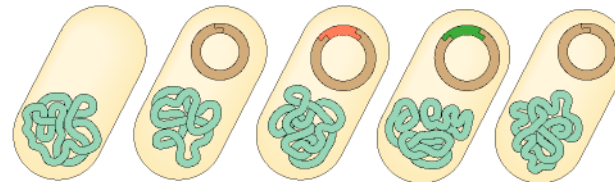
(b) DNA tagliato
con l'enzima
di restrizione



(c) Miscela con il vettore
tagliato
e unione
con la ligasi

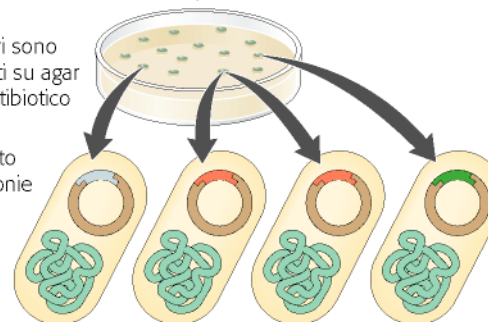


(d) Introduzione nei batteri



I batteri sono
piastrati su agar
con antibiotico

(e) Isolamento
delle colonie



I ricercatori hanno cominciato a costruire i cromosomi sintetici facendo quello che si chiama DNA shopping. Hanno comprato da una company sequenze di più di 1000 1080-basi che hanno convertito nel genoma intero di *M. mycoides*

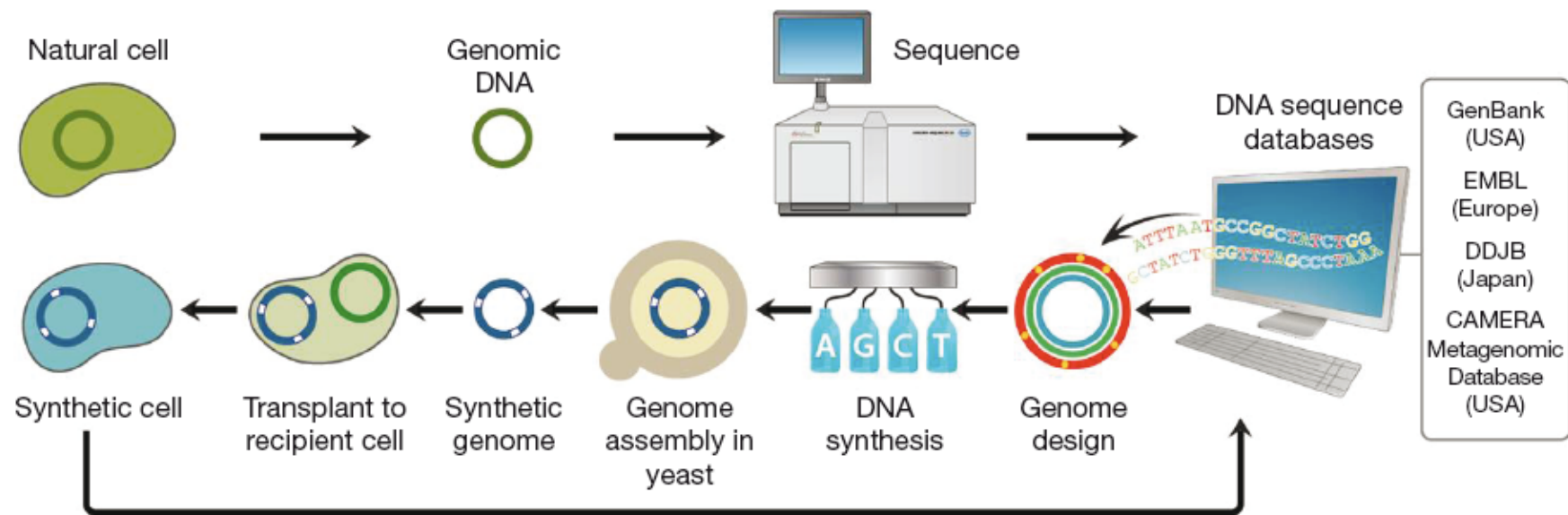
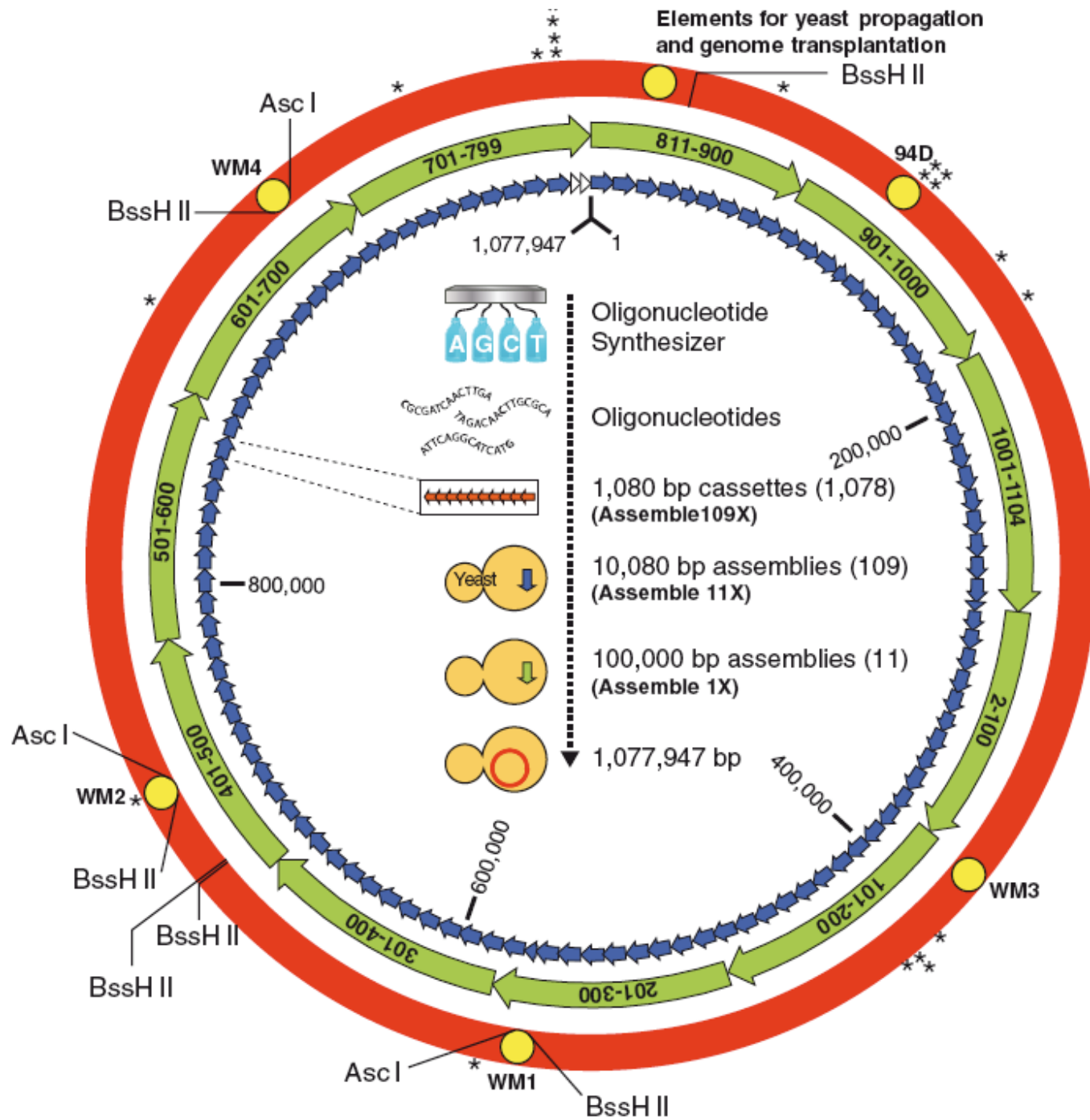
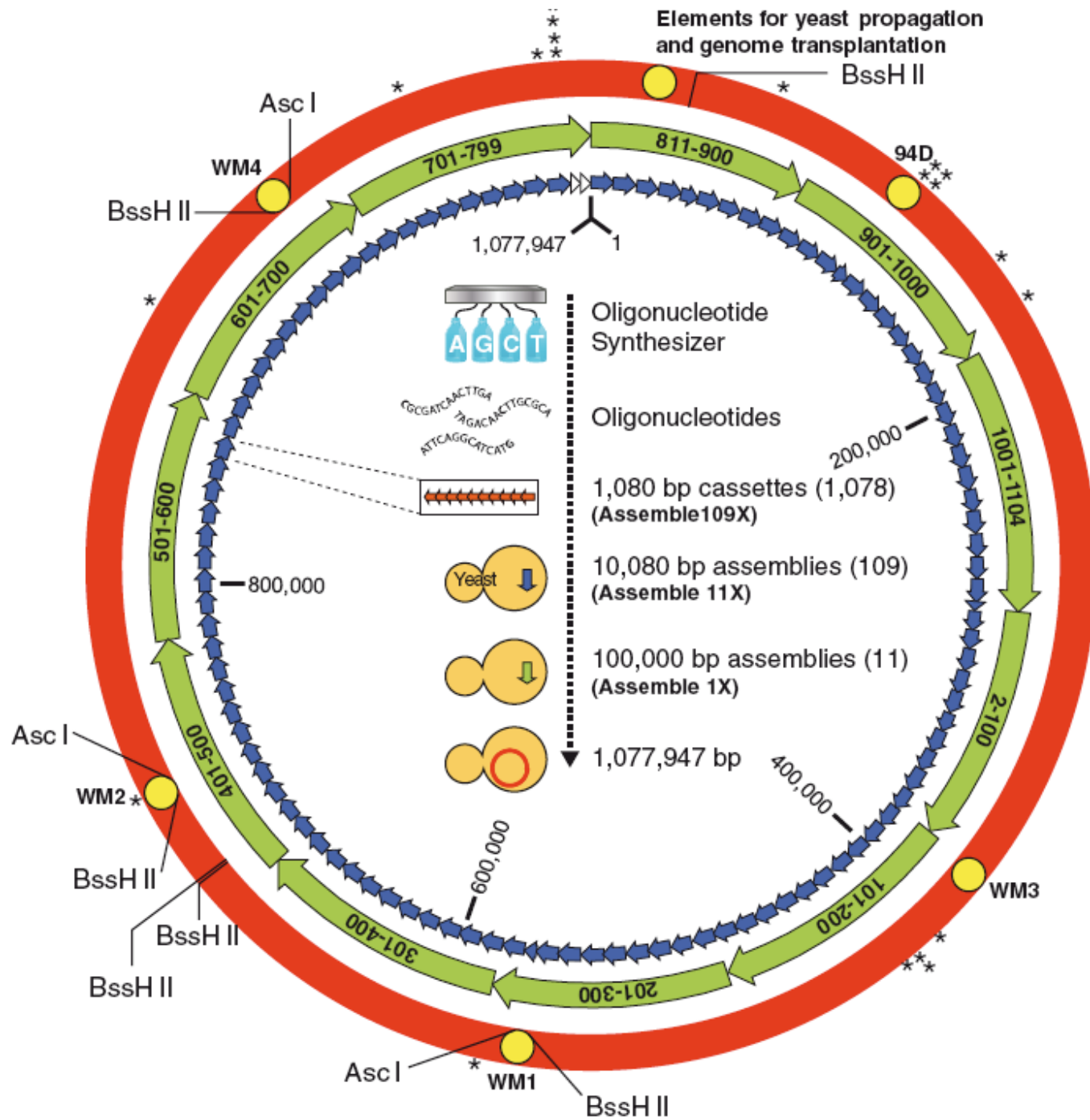


Figure 6: Overview of one process using synthetic biology techniques to produce synthetic cells.
(Courtesy of J. Craig Venter Institute)

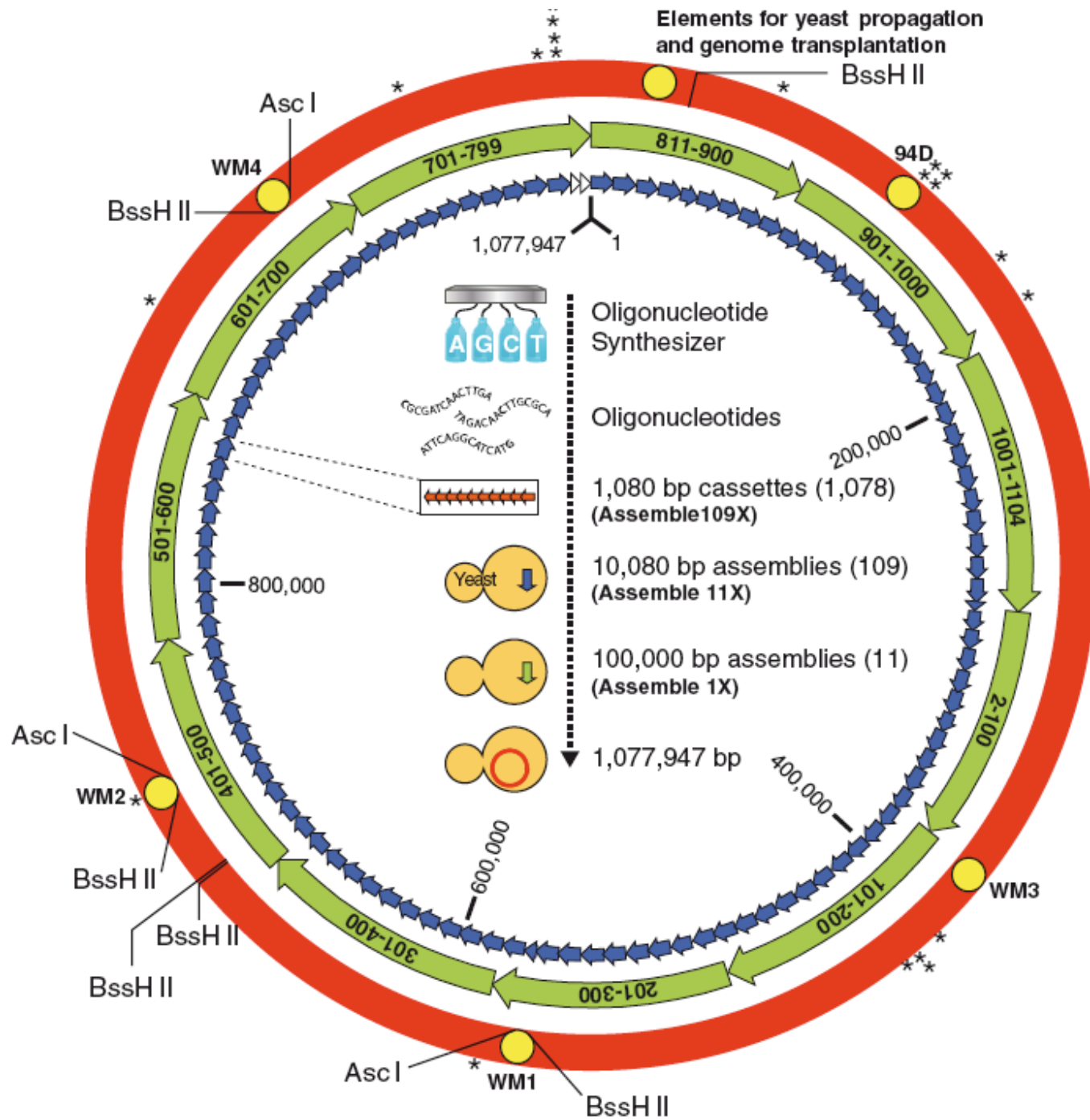
Non è ancora possibile sintetizzare in un solo passaggio un genoma di circa 1×10^6 bp, perciò Gibson e collaboratori hanno compiuto la sintesi in 3 tappe. Inizialmente sono stati sintetizzati segmenti di circa 1000 bp (freccette arancio), riuniti enzimaticamente insieme a formare segmenti di circa 10.000 bp (freccette blu), che vengono a loro volta riuniti a formare 11 segmenti di circa 100.000 bp (freccette verdi).



Questi ultimi segmenti di DNA sono stati riuniti per formare il genoma sintetico completo che è stato trapiantato nel citoplasma della cellula ospite, un batterio dello stesso genere *M. capricolum*. La sequenza di DNA sintetizzata in laboratorio è stata copiata da *Mycoplasma mycoides* con alcune modifiche indicate come cerchi gialli.



Sono 4 regioni di identificazione (WM1-WM4, watermarks), costituite da una delezione di 4-kb (94D), e da elementi per la crescita e il trapianto del genoma in lievito. Infatti, quasi tutte le tappe dell'assemblaggio dei frammenti di DNA sono state compiute mediante ricombinazione omologa all'interno di cellule di lievito. Gli asterischi indicano 20 posizioni in cui sono presenti polimorfismi nucleotidici.



Il genoma sintetico creato dal team di Venter è praticamente identico a quello del batterio naturale ed è stato ottenuto con la considerevole spesa di 40 milioni di \$ e il lavoro di 20 persone che hanno lavorato per più di una decade.

Hanno usato il lievito del pane, per
assemblare il DNA sintetico e prima
hanno “incollato” insieme le prime
10,000-basi, poi
100,000-basi, and finalmente il
genoma completo

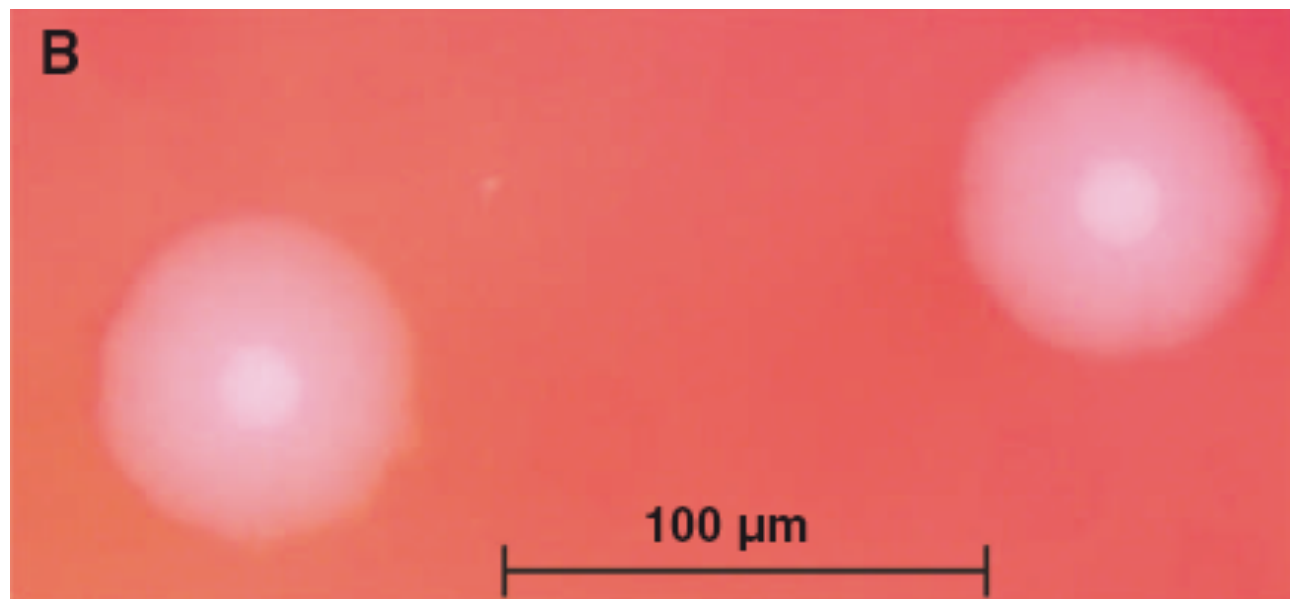
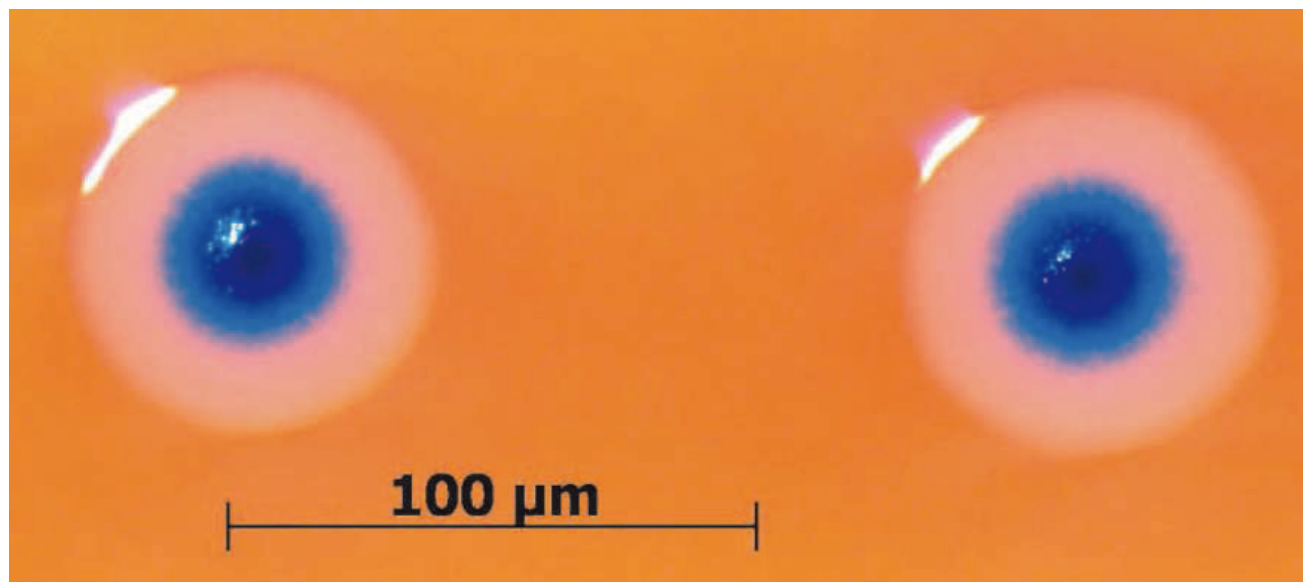
.

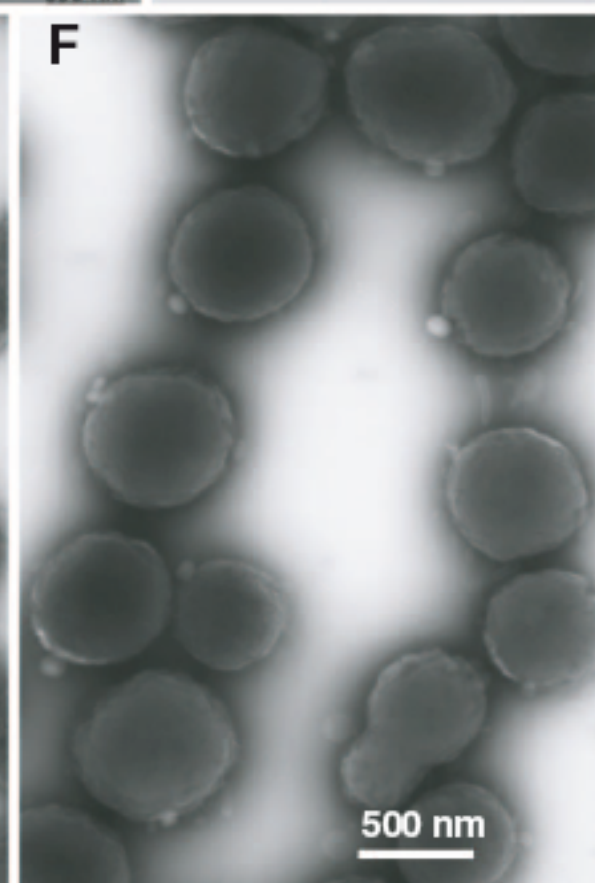
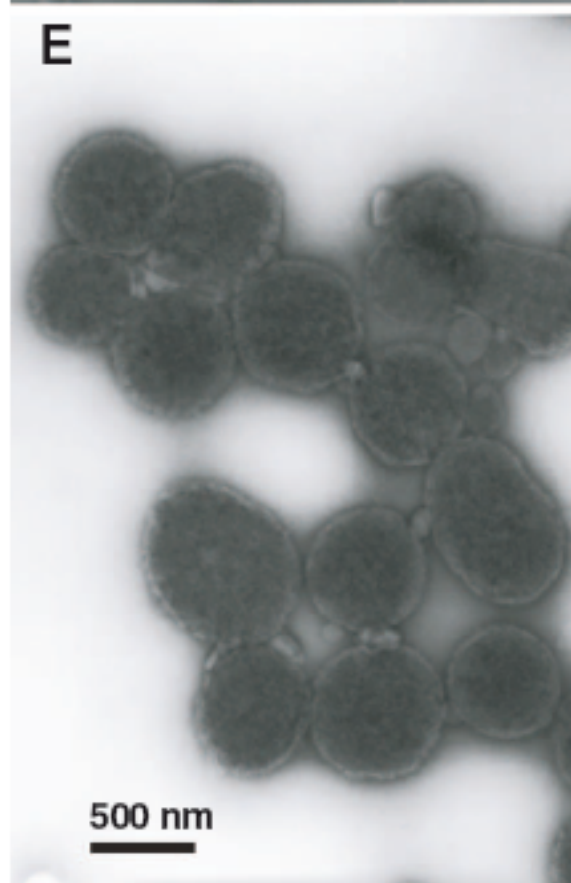
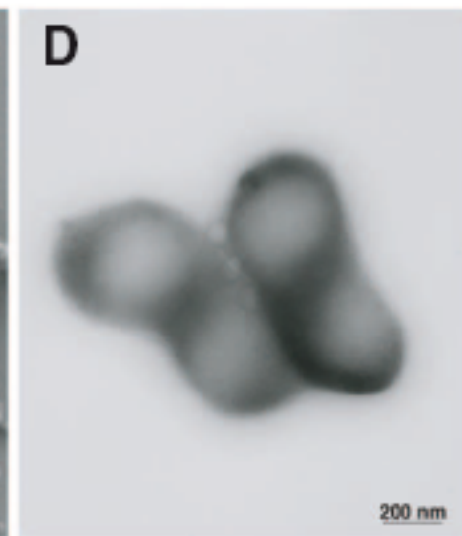
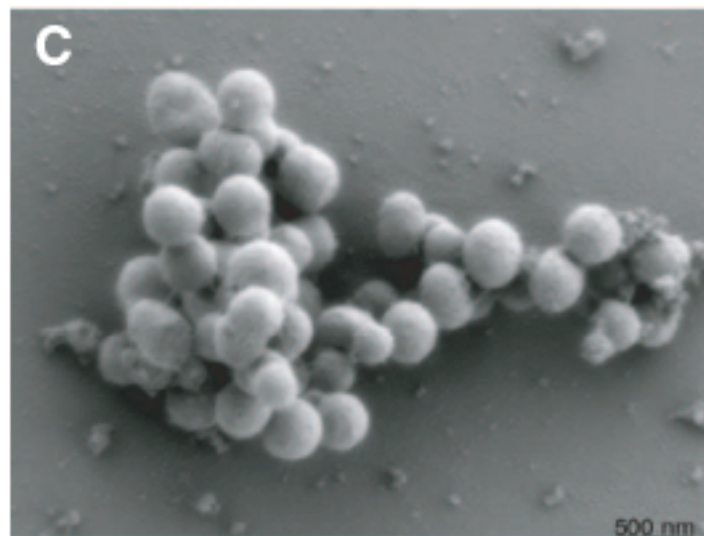
Dopo aver assemblato tutto il
genoma di *M. mycoides* lo hanno
inserito dentro un altro batterio
simile il *M capricolum*

La cosa interessante è che questo genoma non è identico a quello che si trova naturalmente in *M. mycoides*: infatti, la sequenza di DNA di partenza era stata modificata in una ventina di posizioni, proprio al fine di ottenere un cromosoma artificiale che in natura non esiste. Vi farà sorridere, ma tra le variazioni appositamente inserite ci sono alcune sequenze che decodificate si traducono in un indirizzo email, nei nomi degli autori e addirittura in alcune [citazioni di Joyce](#).

Una volta svolto il lavoro di assemblaggio del DNA sintetico di *M. mycoides*, questo è stato trasferito a una cellula svuotata del suo genoma originario e appartenente a un'altra specie. Il batterio, che poco tempo prima era “convinto” di essere un *Mycoplasma capricolum*, ha dovuto affrontare un'imprevista crisi di identità, ritrovandosi dentro di sé un codice genetico che insistentemente cercava di trasformarlo in un *Mycoplasma mycoides*.

Superata la fase di smarrimento, la piccola forma di vita ha accettato le istruzioni fornite dal suo nuovo genoma esogeno, e ha quindi iniziato a produrre le proteine normalmente presenti in *mycoides*, finché dividendosi in due cellule figlie ha dimostrato agli attoniti ricercatori di essere in grado perfino di riprodursi.





“Non da meno questo esperimento
certamente riconfigurerà
l’immaginazione etica”
ha detto

Paul Rabinow, un antropologo
presso the University
of California, Berkeley, che studia la
biologia sintetica.

“Sul lungo termine questo
approccio sarà usato per
sintetizzare sempre più genomi
disegnati artificialmente ” dice
Kenneth Oye, un sociologo presso il
Massachusetts
Institute of Technology a Cambridge
USA

“Ora stiamo sparando nel buio per quanto riguarda i benefici e i rischi a lungo termine, che queste tecnologie impongono”

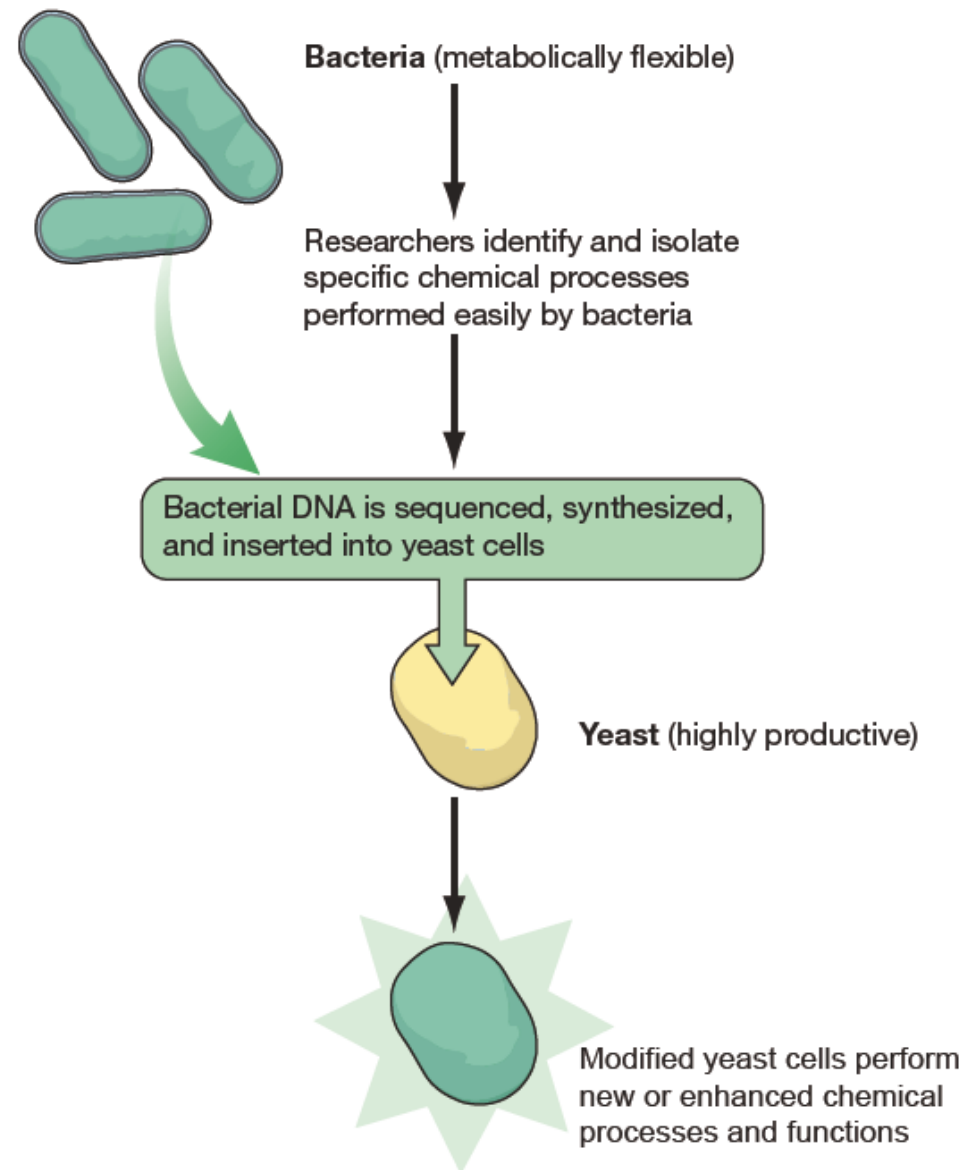


Figure 4: Example of a top-down approach to synthetic biology.

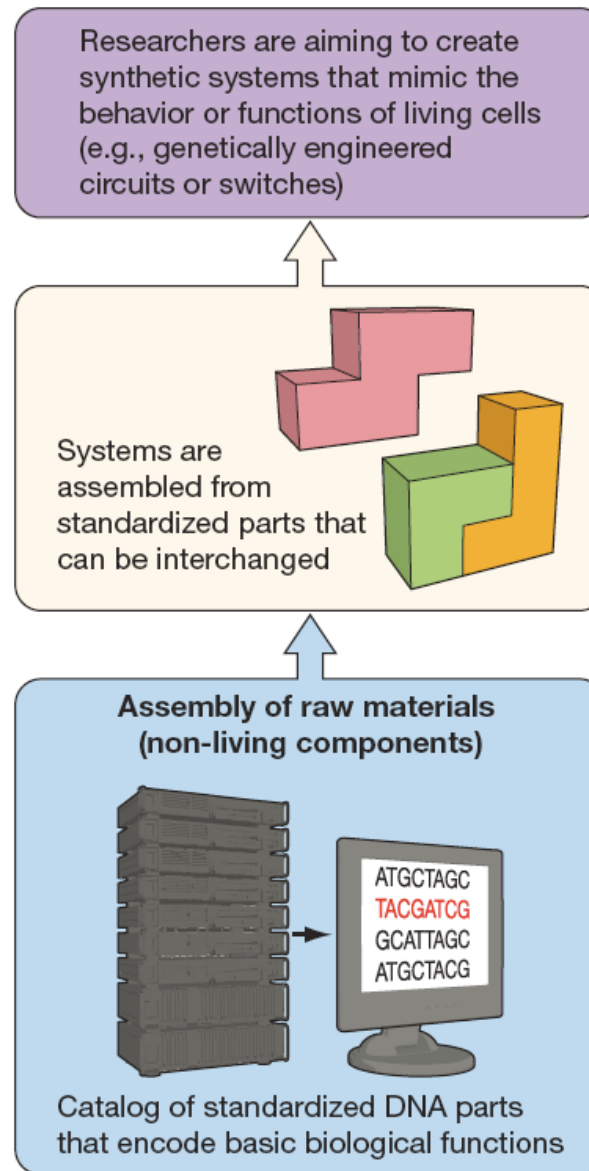


Figure 5: Example of a bottom-up approach to synthetic biology.

Applications, Benefits, and Risks

Bioalcohols

Photosynthetic Algae

Hydrogen Fuel

Medicines

Vaccines

Advancing Basic Biology and Personalized Medicine

Il Presidente Obama ha chiesto alla commissione considerare come l'argomento in via di sviluppo della biologia sintetica e le tecnologie ad essa relative, possano massimizzare i benefici pubblici e minimizzare i rischi e rimanere all'interno di appropriati confini etici.

Una struttura di basilari principi etici può fornire una guida per la valutazione di una tecnologia emergente come la biologia sintetica .

Sono stati identificati e considerati i più rilevanti, per una valutazione delle considerazioni etiche della biologia sintetica e di altre tecnologie emergenti i seguenti

5 principi

1. Pubblico beneficio
2. Gestione responsabile
3. Libertà intellettuale e responsabilità
4. Decisioni democratiche
5. Giustizia e imparzialità