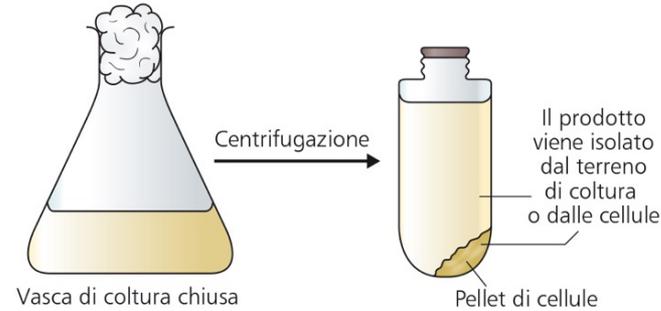
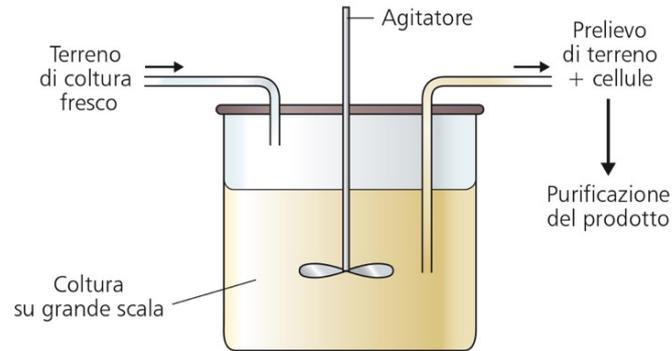


# Produzione di proteine da geni clonati

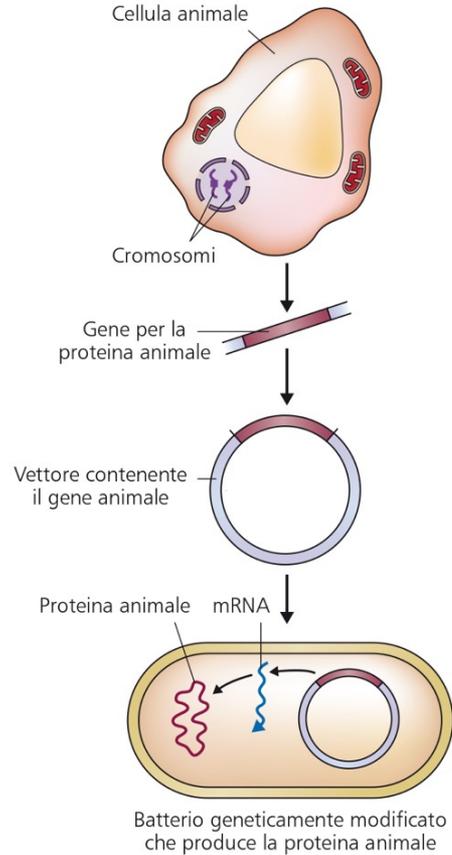
(a) Coltura in batch



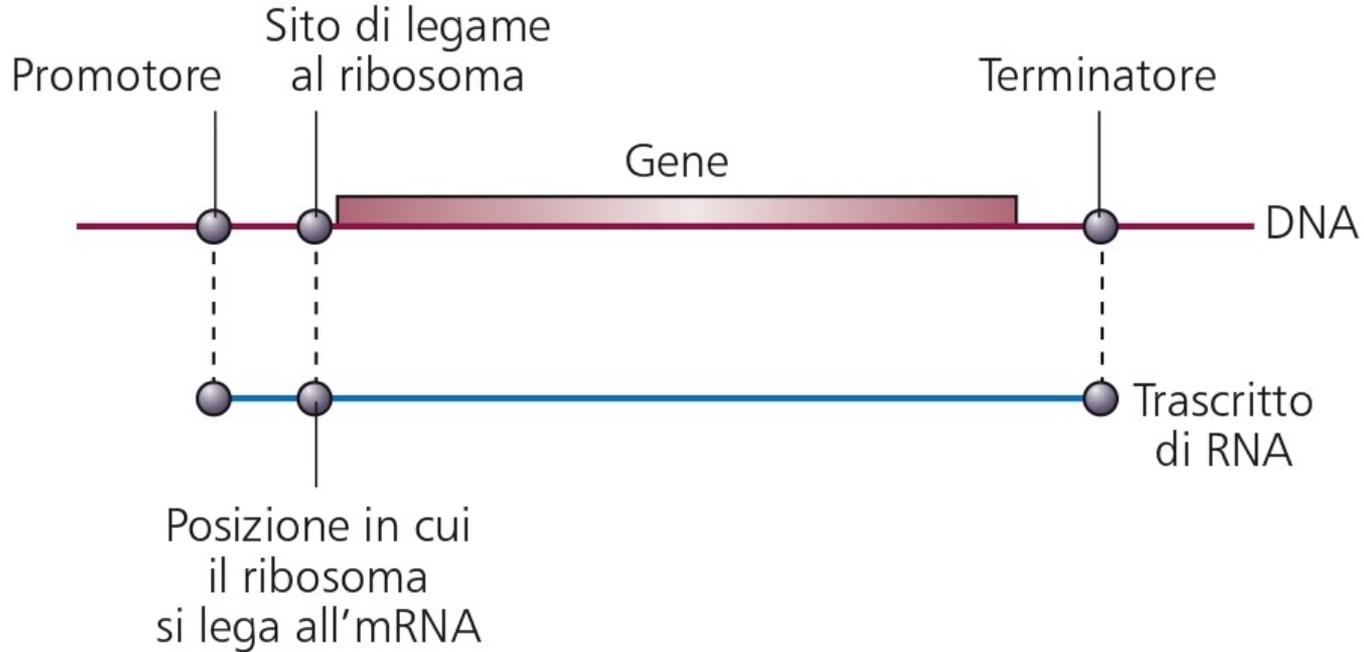
(b) Coltura continua



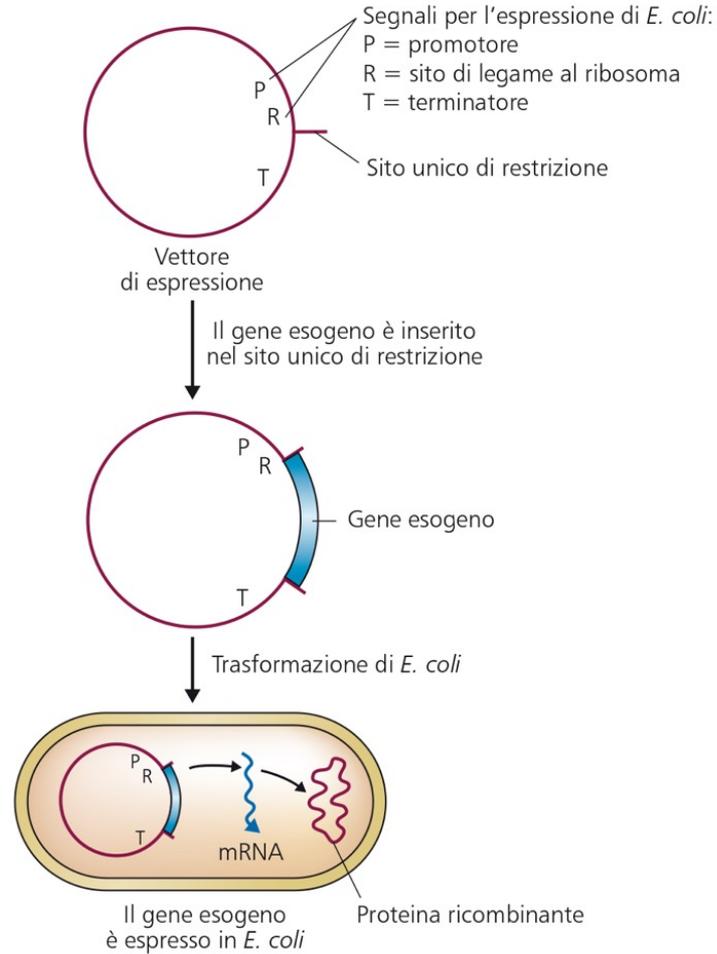
# Produzione di proteine da geni clonati



# Produzione di proteine da geni clonati

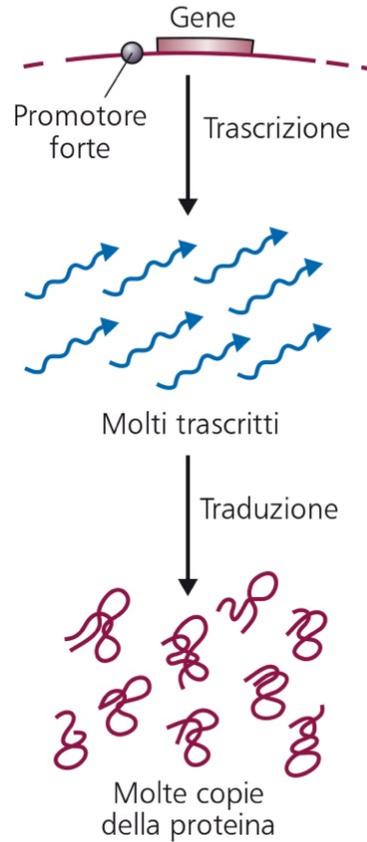


# Produzione di proteine da geni clonati

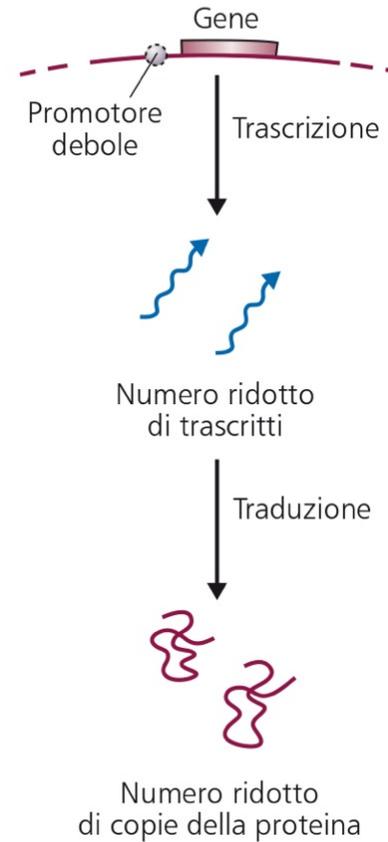


# Produzione di proteine da geni clonati

(a) Un promotore forte

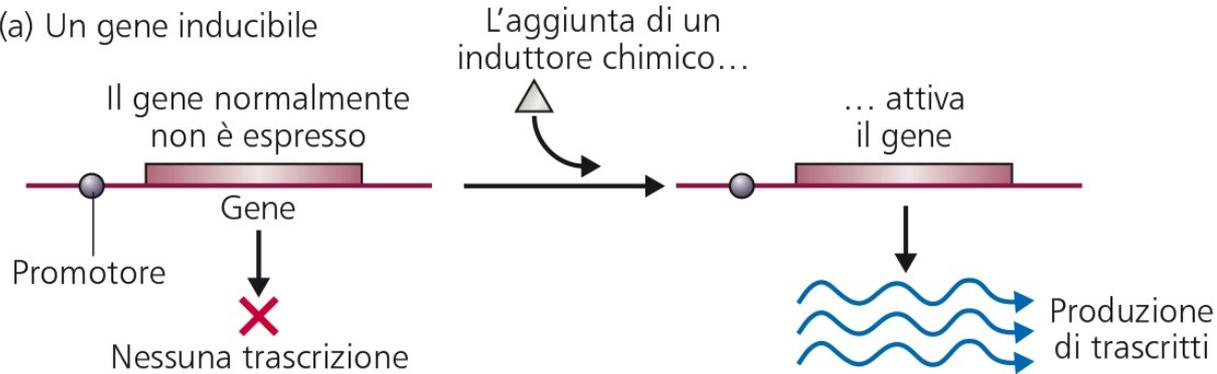


(b) Un promotore debole

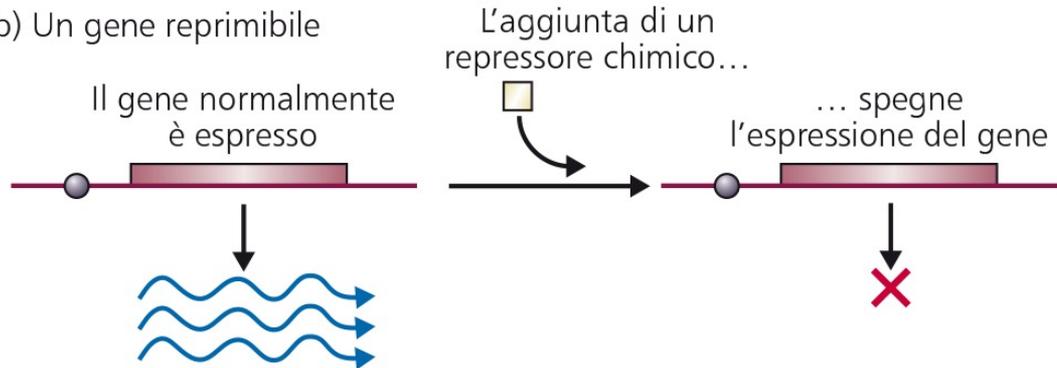


# Produzione di proteine da geni clonati

(a) Un gene inducibile



(b) Un gene reprimibile

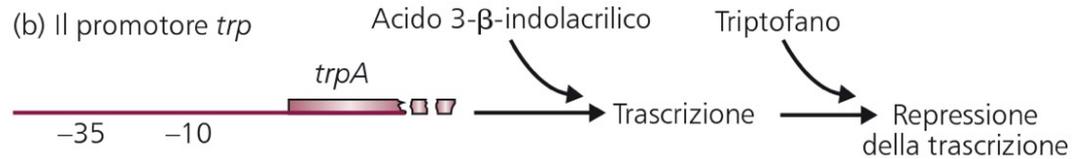


# Produzione di proteine da geni clonati

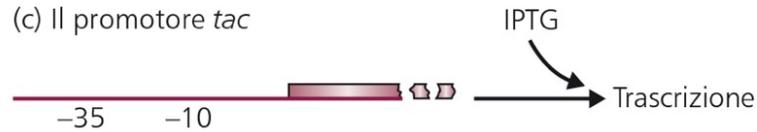
(a) Il promotore *lac*



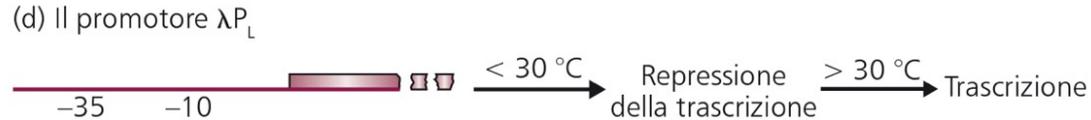
(b) Il promotore *trp*



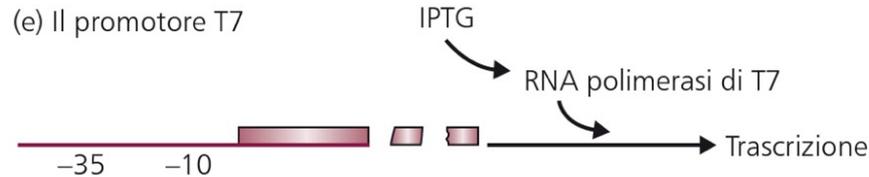
(c) Il promotore *tac*



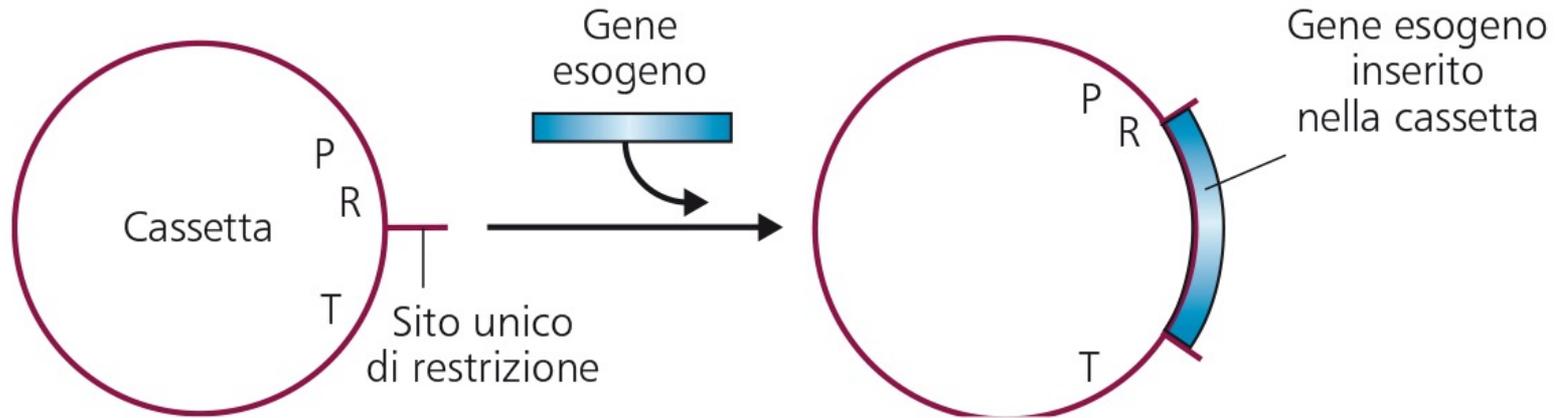
(d) Il promotore  $\lambda P_L$



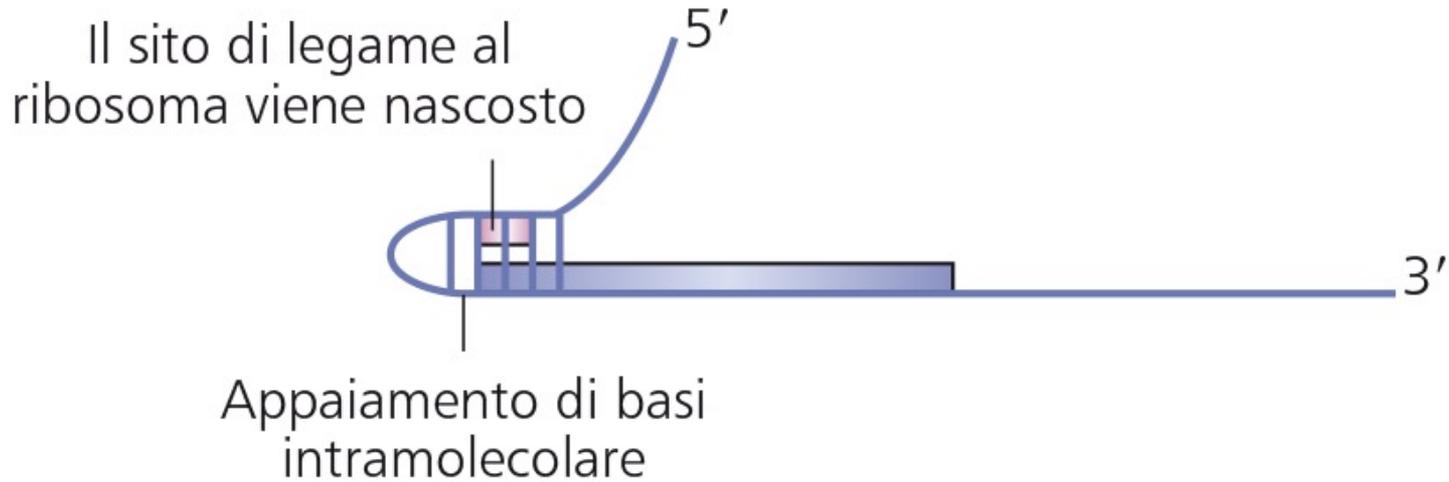
(e) Il promotore T7



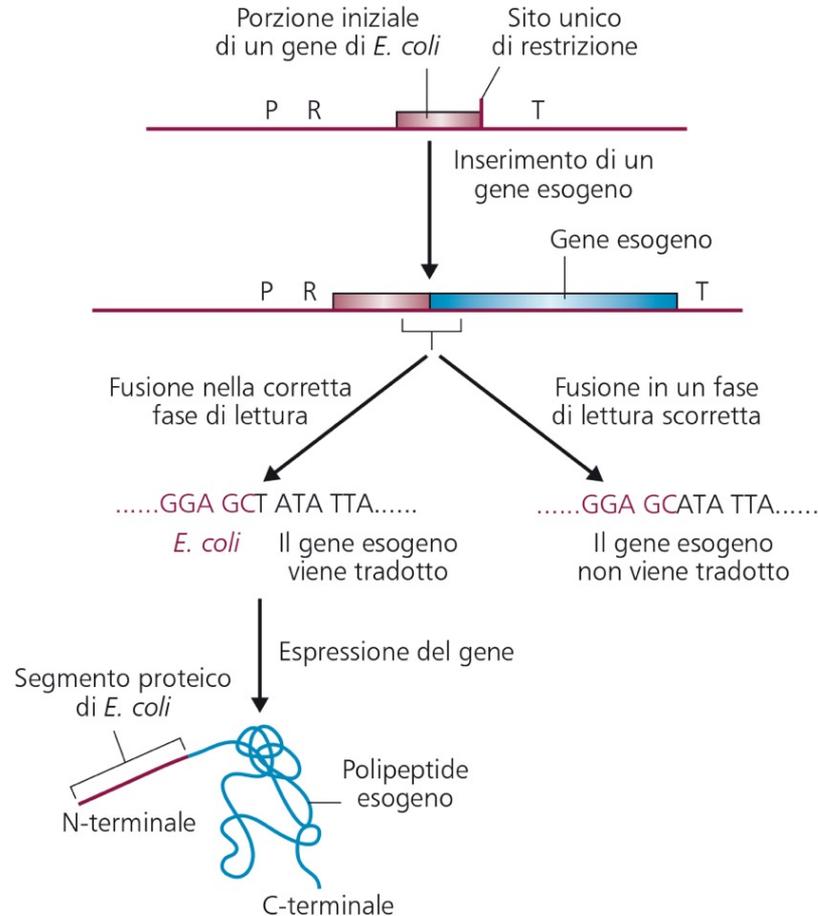
# Produzione di proteine da geni clonati



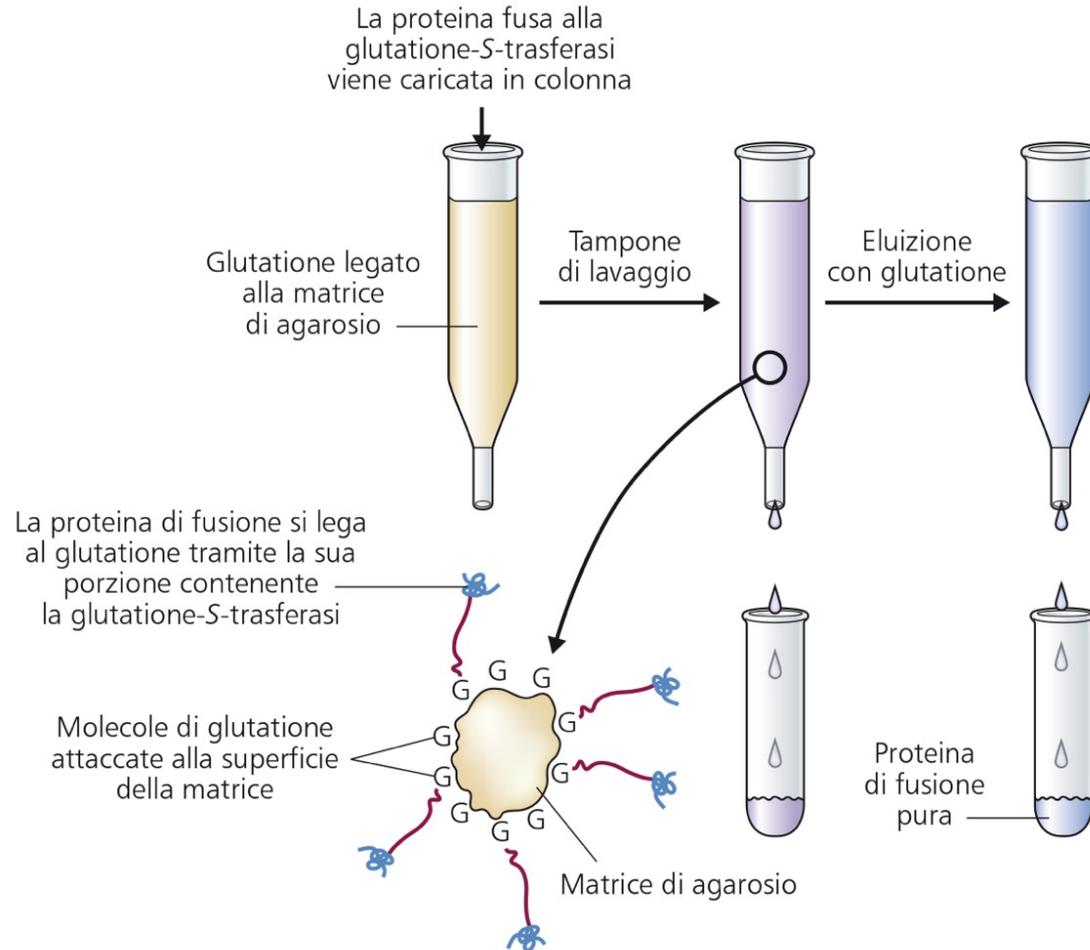
# Produzione di proteine da geni clonati



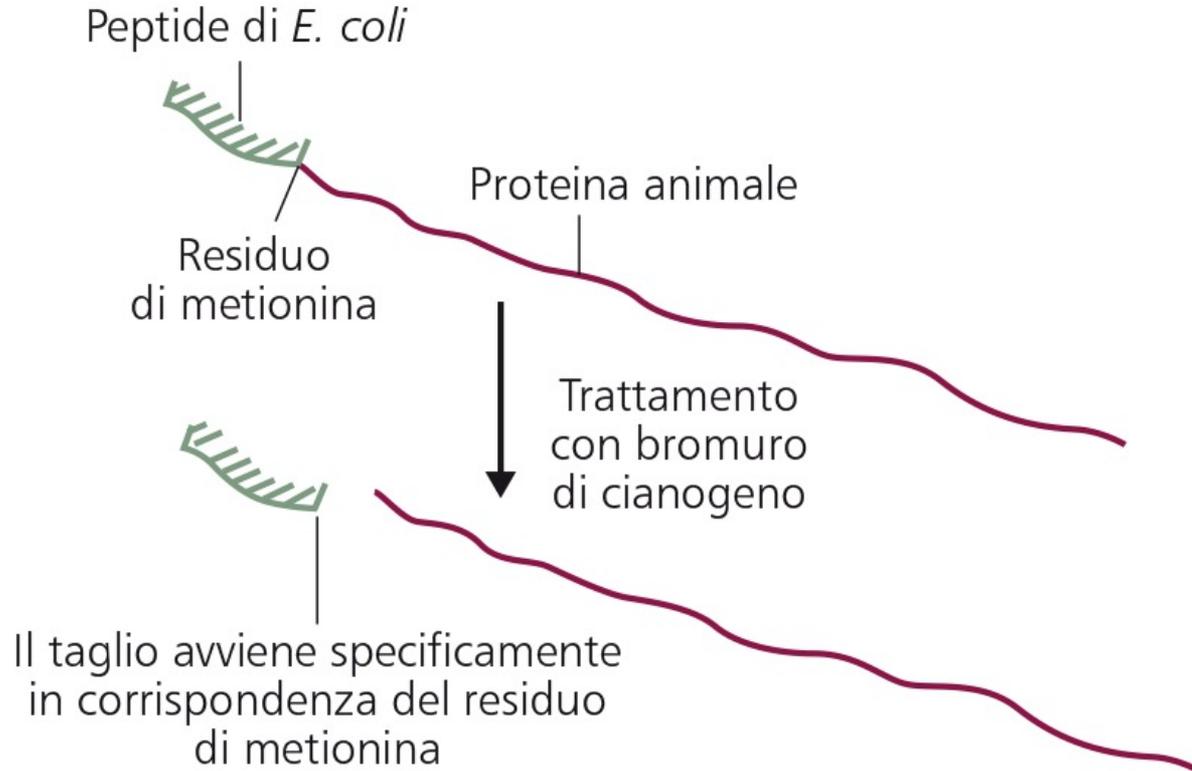
# Produzione di proteine da geni clonati



# Produzione di proteine da geni clonati



# Produzione di proteine da geni clonati



5' ATG-----TAA 3'  
3' TAC-----ATT 5'

Fw 5' G. AATTCATGNNNNNNN 3'  
CTTAA GTAGNNNNNN

Rw 5' GAATCTTANNNNNNNN. 3'

GAATTCATG                    AATTC  
CTTAA                            G

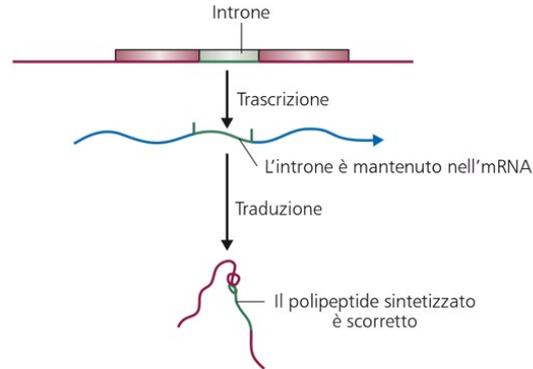
# Produzione di proteine da geni clonati

Problemi nella produzione di proteine ricombinanti da cellule procariotiche

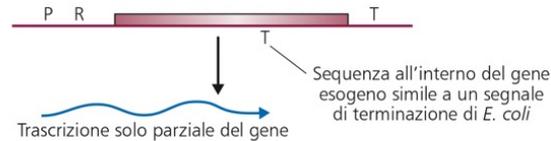
- a) Processamento dell'RNA messaggero
- b) Folding non corretto delle proteine
- c) Modificzioni post-traduzionali (glicosilazione)
- d) Degradazione delle proteine

# Produzione di proteine da geni clonati

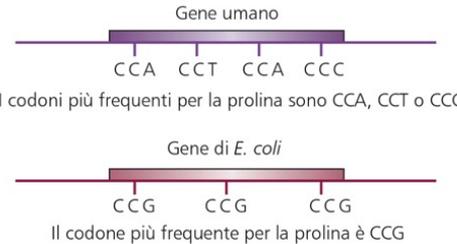
(a) *E. coli* non è in grado di rimuovere gli introni



(b) Terminazione precoce della trascrizione

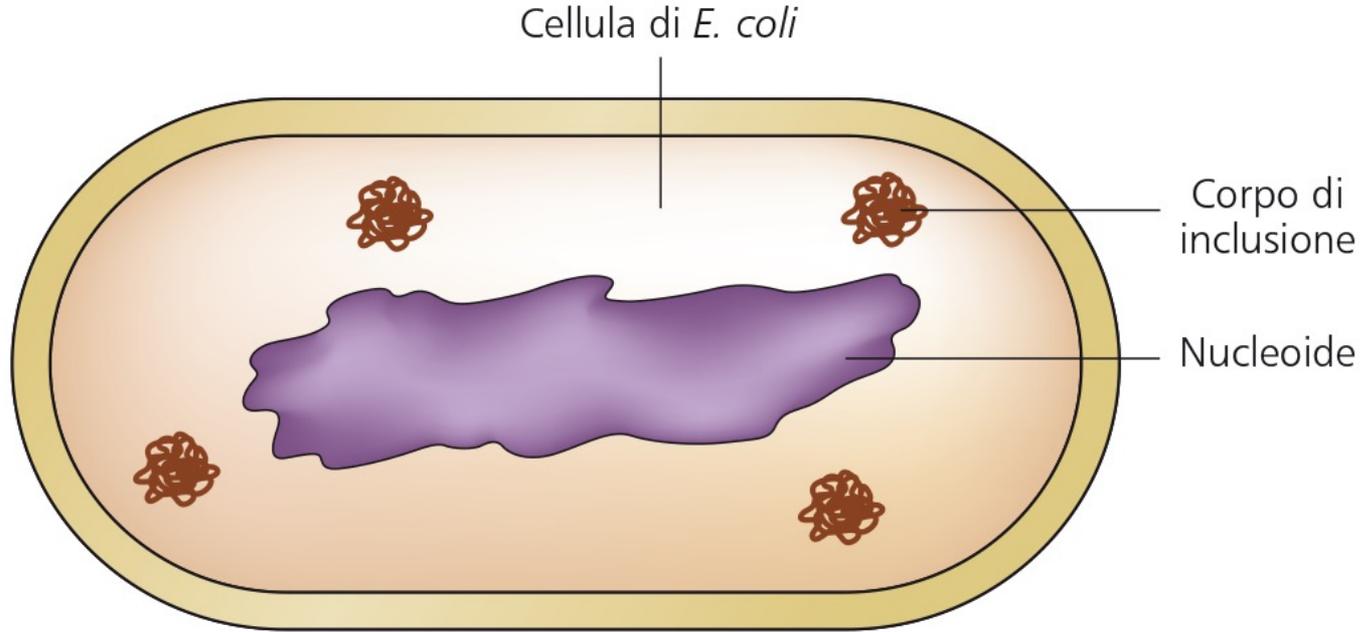


(c) Bias nell'utilizzo dei codoni



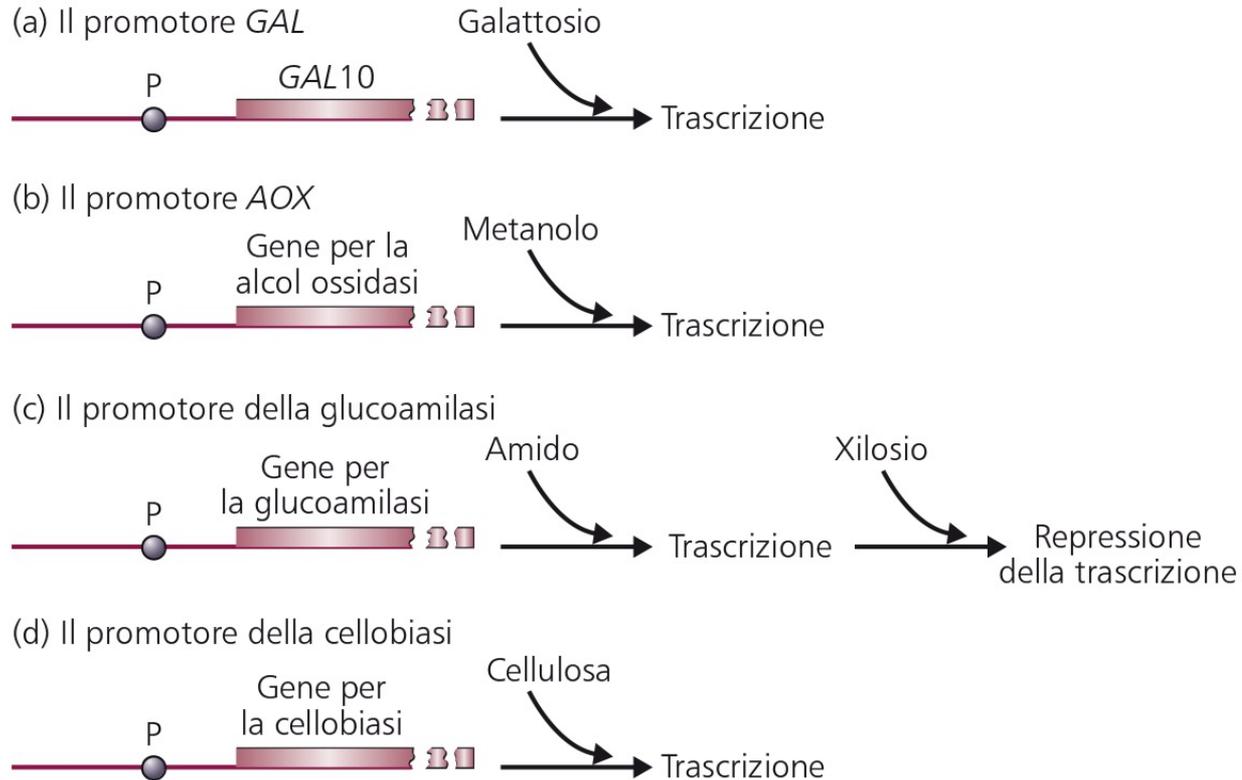
Risultato: *E. coli* presenta difficoltà nel tradurre i codoni per la prolina presenti nel gene umano

# Produzione di proteine da geni clonati



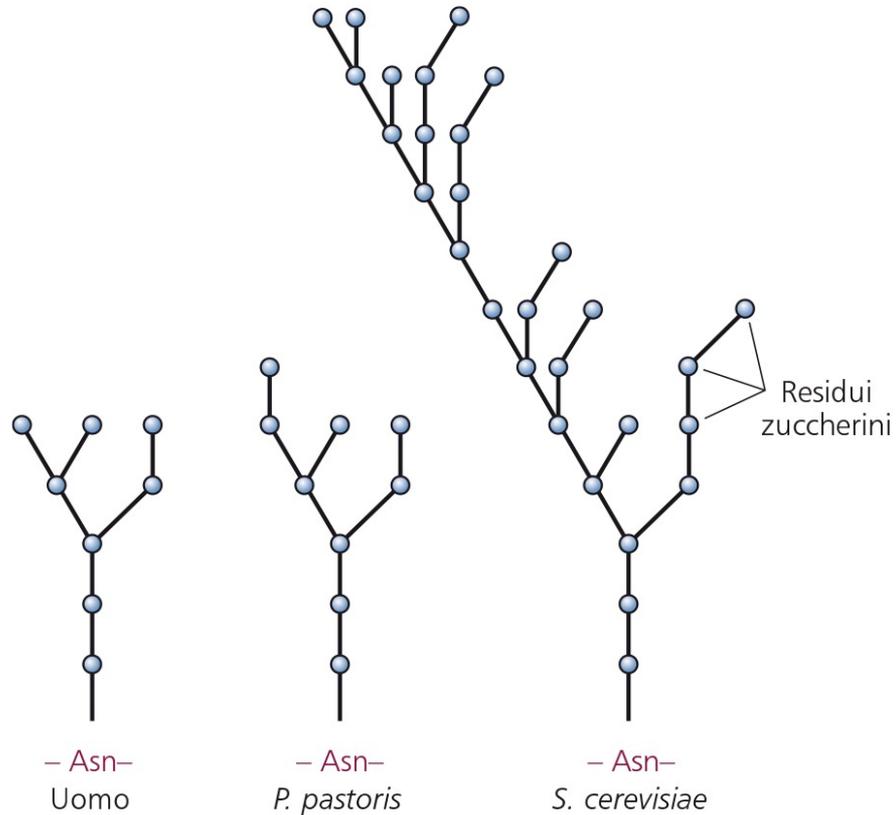
Folding non corretto

# Produzione di proteine da geni clonati



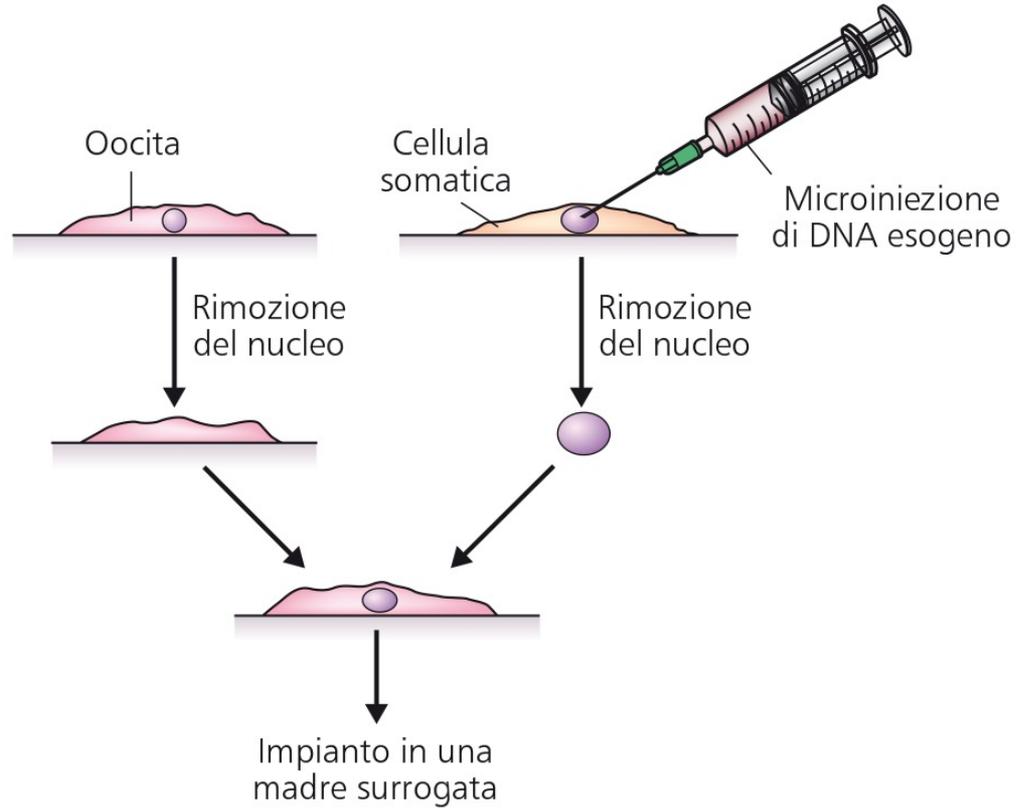
Produzione di proteine in *S.cerevisiae*

# Produzione di proteine da geni clonati

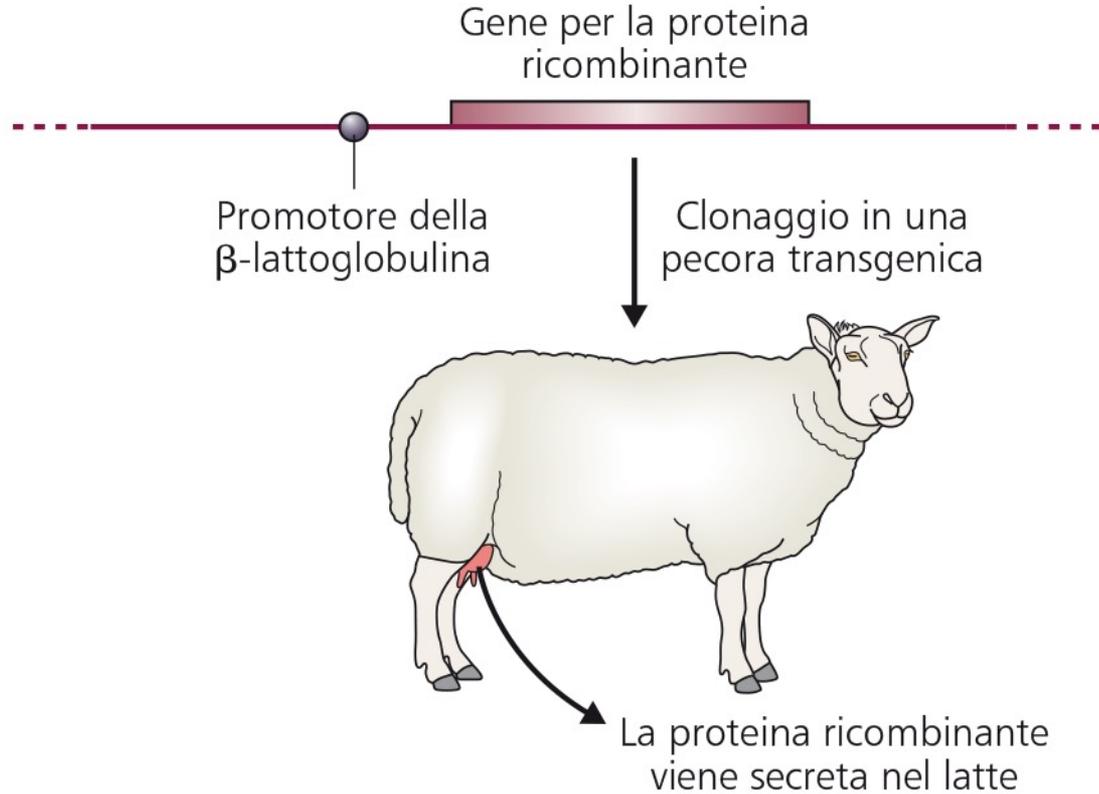


Glicosilazione

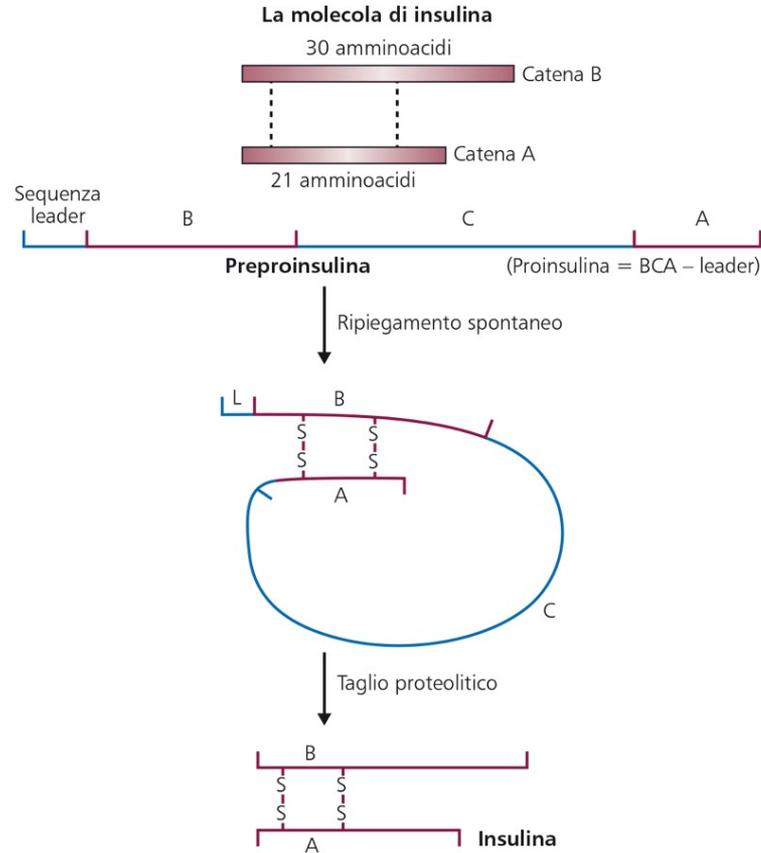
# Produzione di proteine da geni clonati



# Produzione di proteine da geni clonati

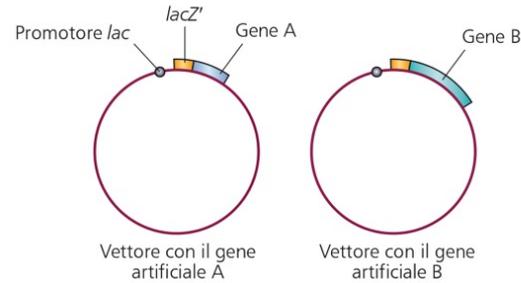


# Produzione di proteine da geni clonati

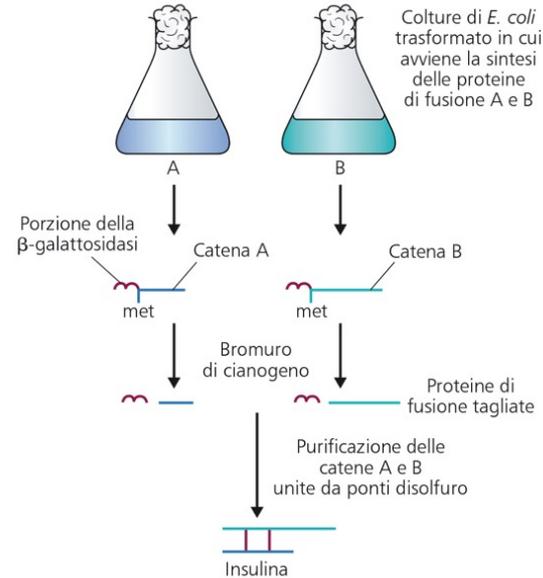


# Produzione di proteine da geni clonati

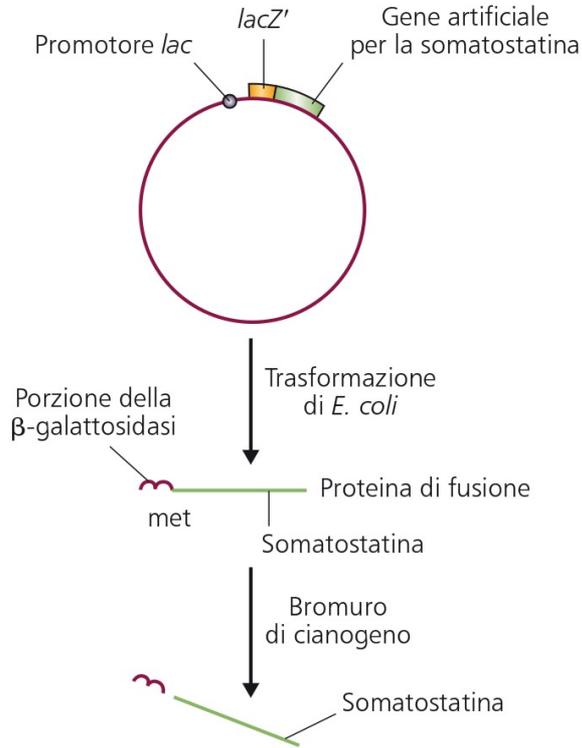
(a) Geni artificiali



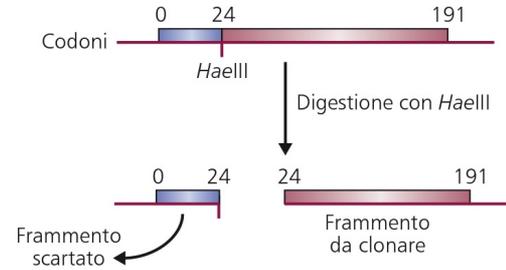
(b) Sintesi dell'insulina



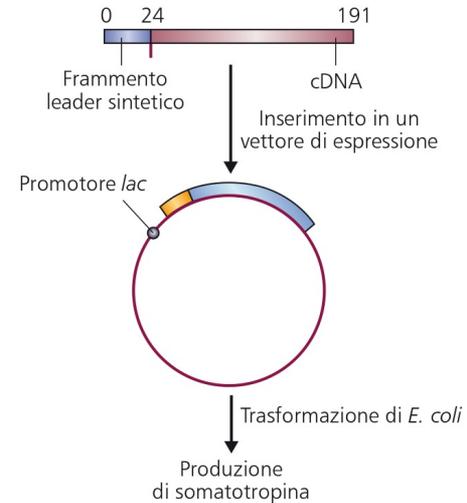
# Produzione di proteine da geni clonati



(a) Preparazione del frammento di cDNA della somatotropina

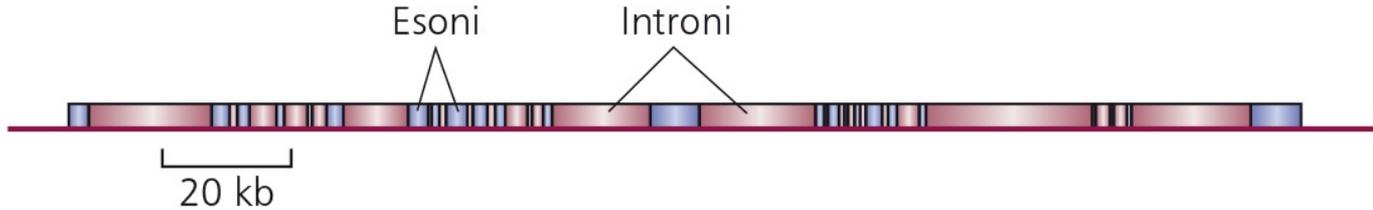


(b) Espressione

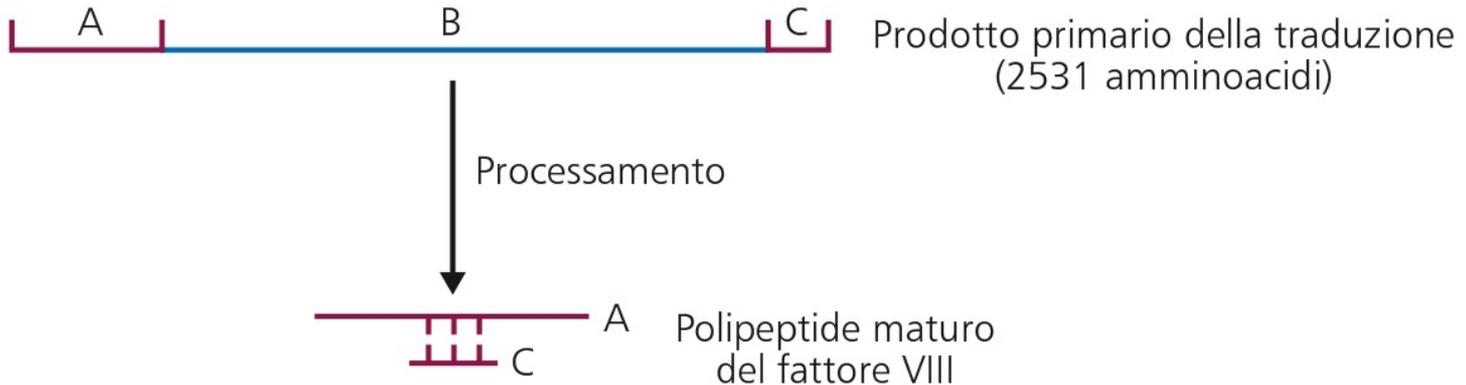


# Produzione di proteine da geni clonati

(a) Il gene per il fattore VIII



(b) Processamento post-traduzionale del fattore VIII



# Produzione di proteine da geni clonati



# Produzione di proteine da geni clonati

Esempi di proteine umane prodotte a partire da geni clonati in batteri e/o cellule eucariotiche o con il pharming

Proteina	Utilizzata nel trattamento di
$\alpha_1$ -antitripsina	Enfisema
Albumina sierica	Supplemento del plasma
Attivatore del plasminogeno tissutale	Infarto
Deossiribonucleasi	Fibrosi cistica
Eritropoietina	Anemia
Fattore VIII	Emofilia A
Fattore IX	Emofilia B
Fattore di crescita dei fibroblasti	Ulcere
Fattore di crescita epidermico	Ulcere
Fattore di crescita insulino-simile 1	Disturbi dell'accrescimento
Fattore di necrosi tumorale	Cancro
Fattore di stimolazione dei granulociti	Cancro
Insulina	Diabete
Interferone- $\alpha$	Leucemia e altri tipi di cancro
Interferone- $\beta$	Cancro, AIDS
Interferone- $\gamma$	Cancro, artrite reumatoide
Interleuchine	Cancro, malattie immunitarie
Ormone follicolo-stimolante	Trattamento dell'infertilità
Proteina surfattante polmonare	Malattie respiratorie
Relaxina	Facilitazione del parto
Somatostatina	Disturbi dell'accrescimento
Somatotropina	Disturbi dell'accrescimento
Superossido dismutasi	Danno da radicali liberi nei trapianti di rene

