

Argomento 16: tecniche per lo studio delle funzioni geniche in biologia dello sviluppo.

Studio della funzione dei geni implicati nello sviluppo mediante approcci di genetica classica (“forward genetics”): mutagenesi su larga scala per identificazione di linee di organismi mutanti con fenotipi embrionali, in cui risalire al gene mutato (es. approcci di mutagenesi in zebrafish). (Gilbert cap. 3; Wolpert cap. 3)

Approcci di genetica inversa (“reverse genetics”): tecniche di perdita di funzione genica. Il knockout genico nel topo. Modificazione del genoma mediante la tecnica CRISPR/Cas9. Tecniche di inattivazione funzionale transiente di geni mediante oligonucleotidi antisenso. Microiniezioni in embrioni di riccio di mare, zebrafish, Xenopus. (Gilbert cap. 3; Wolpert cap. 3)

Tecniche di guadagno di funzione genica: sovraespressione ed espressione ectopica mediante microiniezioni di mRNA sintetici, creazione di organismi transgenici o tecniche di kock-in. (Wolpert cap. 3)

Tecniche per la visualizzazione dell’espressione genica durante lo sviluppo: ibridazione in situ, immunocitochimica, uso di geni reporter per visualizzare l’espressione genica in cellule e tessuti viventi (in vivo imaging). (Gilbert cap. 1 e cap. 3; Wolpert cap. 3)