

OGM o NON-OGM?

Istituto	Liceo Scientifico (Ordinamento e Scienze applicate)
Classi	Terze
Ambito	Progetti di orientamento scientifico
Docenti	Bionda - Mangiacotti
Data	16 gennaio 2015
Luogo	Dipartimento di Biologia - laboratorio 14, via celoria, 26
Attività	Scenario. È arrivato un carico di mais. Il laboratorio di cui siete responsabili deve certificare l'assenza di prodotto OGM.



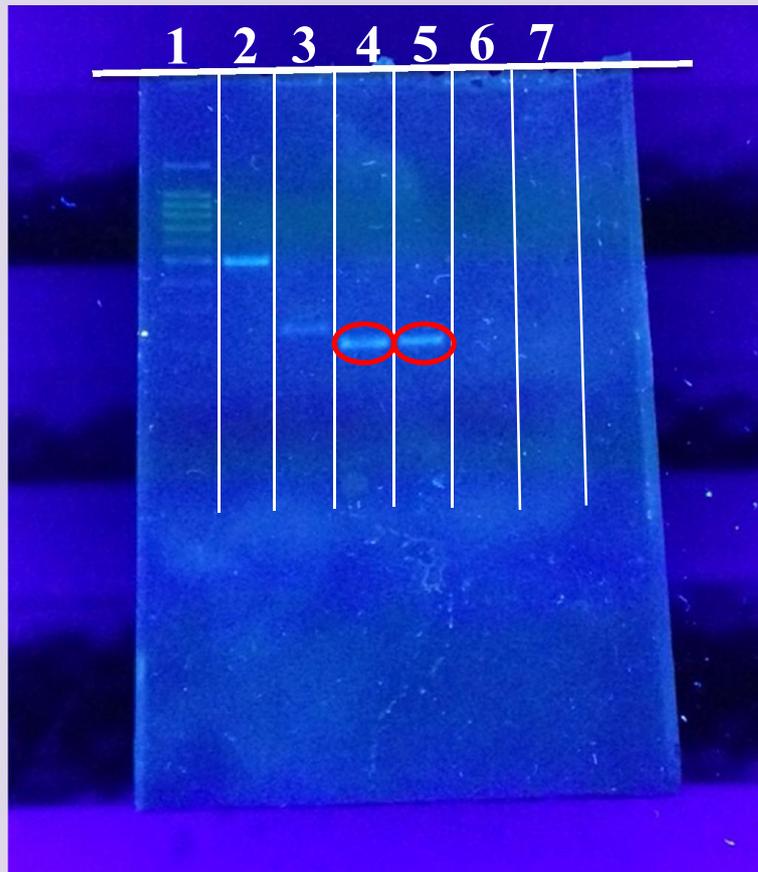
Protocollo. Dai campioni viene estratto il DNA, viene poi applicata la tecnica della PCR utilizzando *primer* specifici per il gene Bt (I *primer* sono corte sequenze nucleotidiche, lunghe circa 20 nucleotidi) e successivamente si effettua l'elettroforesi e si analizzano i risultati.

Dopo aver estratto il DNA ed aver eseguito una sua stima quantitativa mediante spettrofotometria, bisogna amplificare il presunto transgene mediante PCR. Per prima cosa è opportuno sottoporre il DNA da analizzare a un "controllo di qualità" per stabilire se proviene da quel determinato organismo vegetale. In questo modo si controlla che il campionamento e l'estrazione del DNA siano avvenuti in modo corretto. Per questo si ricercano un gene esclusivo delle cellule vegetali (come per es. un gene per una proteina del cloroplasto), e un gene specie-specifico (ad esempio, nel caso del mais, il gene per la proteina zeina). Si esegue mediante PCR la loro amplificazione con i *primer* idonei e mediante elettroforesi si verifica la presenza dell'amplificato. Questi non sono "transgeni" ma geni "spia" i quali indicano che siamo in presenza di materiale vegetale.

Avendo verificato queste due condizioni, si valuta se il transgene è davvero presente. La nostra analisi si riferisce alla ricerca del gene Bt, previa verifica che il DNA estratto sia di provenienza vegetale. La coppia di *primer* che si utilizza in laboratorio per la ricerca del gene Bt mediante PCR amplifica un segmento di DNA lungo 189 bp, interno al gene Bt.

Risultato

La farina di mais analizzata conteneva elementi transegениci, quindi proveniva (almeno in parte) da mais Bt.



Corsa elettroforetica.

1. Marcatore di peso molecolare (bande più lontane = molecole più piccole)
2. Gene spia per vegetali (cloroplasto): se nella corsia c'è una banda il DNA analizzato è vegetale
3. Gene spia per zeina: se si vede una banda il DNA è di mais
4. DNA sospetto amplificato per Bt
5. Controllo positivo (la banda indica la posizione che si dovrebbe osservare se il DNA fosse di mais Bt)
6. Controllo negativo (rappresenta il risultato che si dovrebbe osservare se il DNA non provenisse da mais Bt)
7. Bianco. Rappresenta ciò che si dovrebbe osservare se nella soluzione non fosse contenuto DNA.