

Le biotecnologie e l'ingegneria genetica

Le biotecnologie...

Molti prodotti alimentari, come il pane, il vino e lo yogurt, da migliaia di anni presenti sulle nostre tavole, sono "vivi", perché nella loro preparazione intervengono microrganismi, ossia microscopici organismi viventi, attraverso reazioni chimiche controllate da specifici **enzimi**.

Lo yogurt è latte fermentato, reso acido da microrganismi (*Lactobacillus bulgaricus*) che trasformano il lattosio, zucchero del latte, in acido lattico; nel vino, invece, lo zucchero dell'uva viene trasformato in alcol; il pane, infine, lievita grazie alla produzione di anidride carbonica da parte di particolari microrganismi, i lieviti.

Il ruolo dei microrganismi (e degli enzimi da essi prodotti) nella produzione di questi alimenti fu individuato da Louis Pasteur nel 1876 e, da allora, l'utilizzo (consapevole) dei microrganismi ha consentito lo sviluppo di tecnologie in grado di realizzare prodotti utili all'uomo: le biotecnologie.

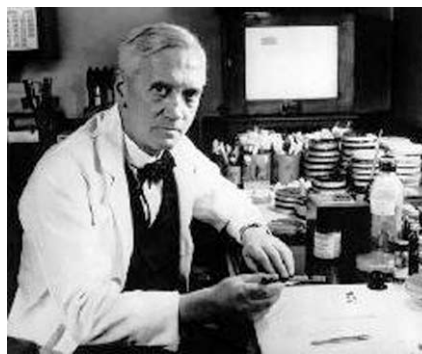


Louis Pasteur (1822-1895).

Le biotecnologie sono quelle tecnologie che utilizzano microrganismi (o cellule animali e vegetali o, ancora, gli enzimi da essi prodotti) per la realizzazione di prodotti utili all'uomo.

E, dopo le biotecnologie tradizionali - per produrre il pane, la pizza, le brio-

ches, il vino, la birra, lo yogurt, i formaggi (questi ultimi col caglio, enzima estratto dallo stomaco dei vitelli) - cominciarono a svilupparsi biotecnologie per la depurazione delle acque fognarie (1910); per la produzione industriale di sostanze organiche come l'acetone, la glicerina, il butanolo (1912); per la produzione di farmaci come gli antibiotici (1944), a partire dalla penicillina, scoperta da Fleming nel 1929.



Alexander Fleming.

... e l'ingegneria genetica

Il grande "salto" in avanti delle biotecnologie si realizzò solo dopo che Watson e Crick (1953) elaborarono il loro modello della struttura del DNA, identificando in questa molecola la sede delle informazioni genetiche per la produzione di qualunque proteina.

La scoperta dei meccanismi che regolano la sintesi proteica ha consentito, dagli anni '70, lo sviluppo di una tecnologia in grado di far produrre da un organismo microscopico (riproducibile in gran quantità e a un costo relativamente limitato) una proteina di un altro organismo, impossibile da ottenere in altro modo o, comunque, ottenibile (per estrazione o per sintesi industriale) in quantità limitate o solo a costi molto elevati. Questa tecnologia, detta **tecnologia del DNA ricombinante** o **ingegneria genetica**, impiega il **DNA ricombinante**, ossia una molecola di DNA ibrida, ottenuta inserendo il gene della proteina desiderata in una molecola di DNA - vet-

tore che si introduce e si replica nelle cellule dell'organismo da cui si vuol far produrre la proteina (cellule ospiti). In pratica, da una cellula di un organismo "donatore" si estrae il gene richiesto (o, meglio, frammenti del DNA tra i quali è compreso anche quello richiesto), lo si lega a un vettore (una molecola particolare di DNA capace di penetrare in una cellula ospite) formando così un DNA ibrido, detto DNA ricombinante, che si inserisce in una cellula "ospite", appartenente a un altro organismo.

La cellula ospite, ricevuto il DNA ricombinante, acquisisce la capacità di produrre la proteina codificata da quel gene, cioè **si trasforma**, diventa una cellula ricombinante.

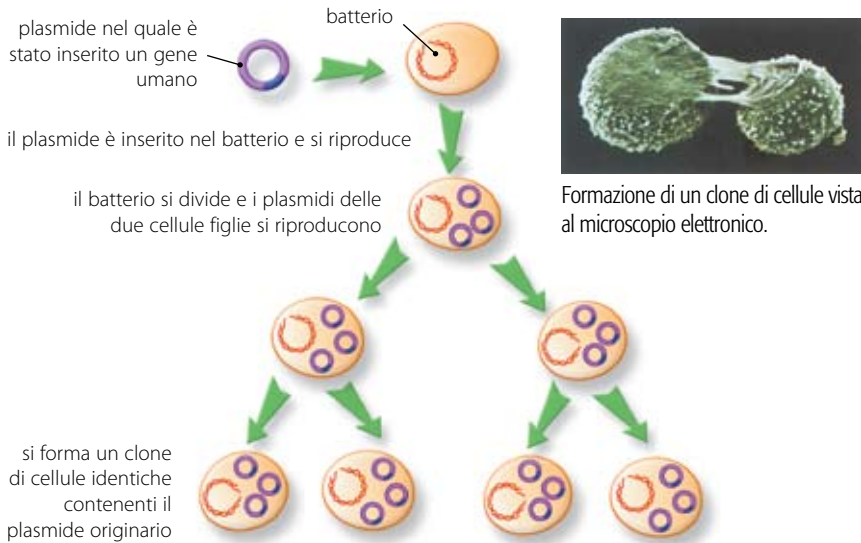
La trasformazione comporta per la cellula l'acquisizione di una nuova proprietà: la capacità di produrre quella proteina. Essendo stabilmente integrato nel DNA della cellula ospite, il gene si riproduce insieme alla cellula, per cui le cellule figlie manterranno tutte la capacità di produrre la nuova proteina.

Stimolando la riproduzione delle cellule ospiti (**clonazione**), in poco tempo si otterrà una popolazione di milioni di cellule, tutte in grado di produrre la proteina desiderata.

Le cellule che vengono utilizzate come "ospiti" del DNA ricombinante devono essere:

- 1) in grado di ospitare il DNA ricombinante (che va costruito utilizzando un vettore adeguato alla cellula in cui deve inserirsi);
- 2) facili da coltivare (si devono riprodurre rapidamente);
- 3) innocue (sia per il personale di laboratorio che per il destinatario della proteina prodotta: non possono essere usate cellule di microbi patogeni, che potrebbero infettare i laboratoristi o contaminare la sostanza proteica da produrre con sostanze tossiche prodotte dal batterio stesso).

Le biotecnologie e l'ingegneria genetica

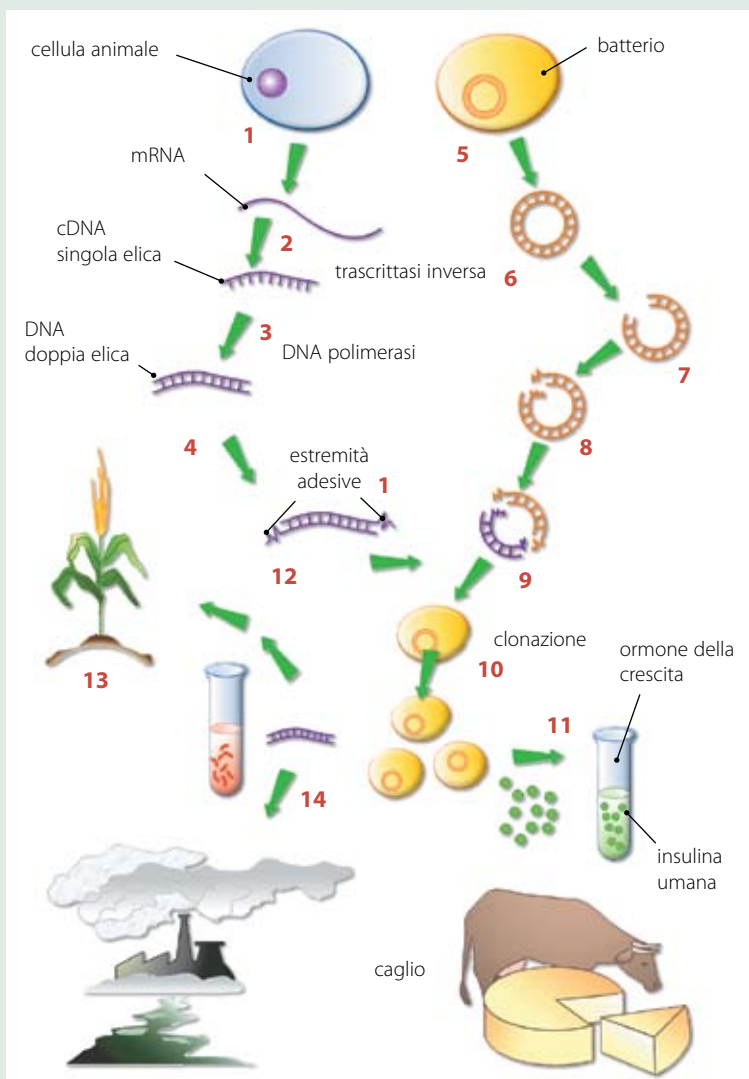


Le cellule ospiti più frequentemente utilizzate sono batteri e microrganismi unicellulari eucarioti ma possono essere impiegate cellule provenienti da piante o animali. Ognuna di queste cellule può ricevere nuovo DNA mediante un idoneo vettore, specifico per ogni tipo di cellula.

I vettori possono essere: batteriofagi (virus che infettano i batteri) per i batteri; plasmidi (piccole molecole di DNA circolare) per i batteri e altri organismi unicellulari; virus vegetali e virus animali rispettivamente per cellule di piante e di animali.

Impiego di plasmidi nell'ingegneria genetica: trasferimento di un gene animale (o umano) a una cellula batterica

1) Isolamento dell'rRNA messaggero per la proteina che ci interessa; 2) l'mRNA viene trascritto in cDNA complementare a singola elica, grazie alla trascrittasi inversa; 3) e in DNA a doppia elica grazie alla DNA polimerasi; 4) al DNA si attaccano due leganti (sequenze di nucleotidi "adesive"); 5) dal batterio viene, contemporaneamente, estratto il plasmide, che 6) viene aperto per mezzo di uno specifico enzima di restrizione; 7) aggiunti i leganti, 8) il DNA animale e il plasmide si fondono in un nuovo plasmide ricombinante, che 9) viene inserito in un batterio per 10) la clonazione genica; 11) possiamo ora lasciar produrre ai batteri la proteina codificata dal gene inserito nel plasmide, ottenendo prodotti utili come il caglio, per fare il formaggio, o l'insulina o l'ormone della crescita; 12) oppure, possiamo isolare il gene clonato e inserirlo in un idoneo organismo (animale, pianta, batteri), ottenendo così OGM dalle più svariate applicazioni, come 13) il gene per la resistenza della pianta ai parassiti o al freddo o 14) il gene per la depurazione dei rifiuti tossici o molti altri ancora.



Le biotecnologie e l'ingegneria genetica

L'ingegneria genetica e l'insulina umana

Una delle prime proteine ottenute mediante la tecnologia del DNA ricombinante è stata l'**insulina** umana, un ormone carente nei diabetici e utilizzato, perciò, per curare il diabete mellito.

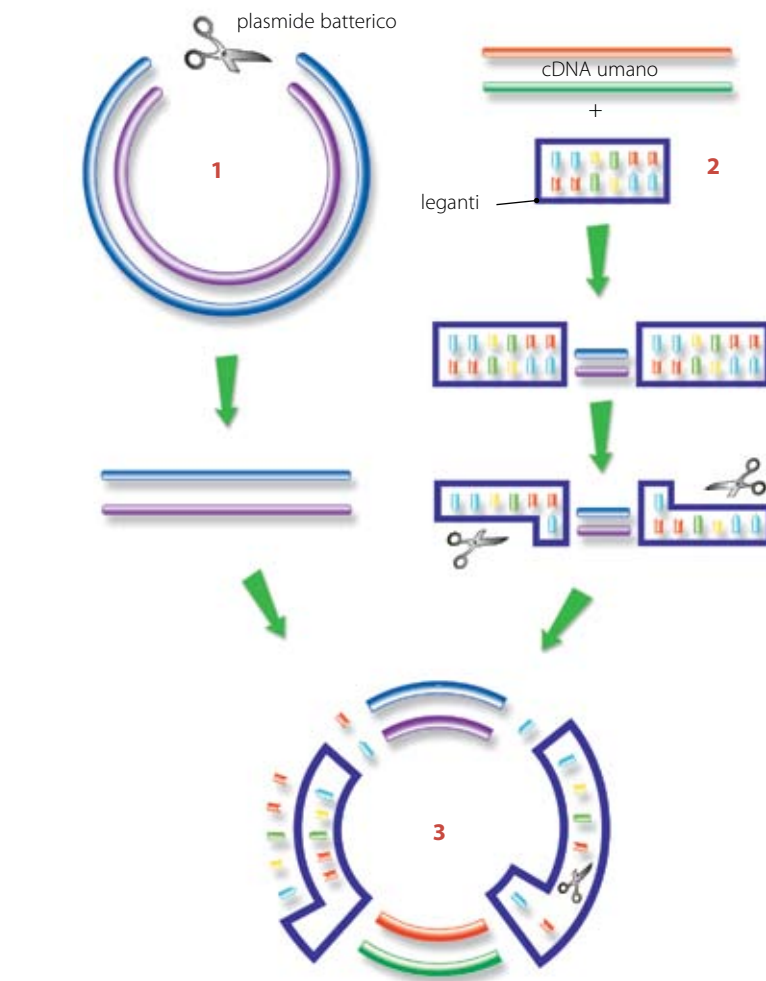
Vediamo come si ottiene la produzione di questo ormone con questa tecnica.

1) La prima tappa consiste nell'isolamento del gene che codifica per l'insulina, ormone prodotto dalle cellule beta del pancreas: si estrae il DNA di queste cellule e lo si "taglia" in vari pezzi utilizzando dei particolari enzimi, detti **enzimi di restrizione**, che tagliano il DNA in corrispondenza di specifiche sequenze di nucleotidi. Si ottengono vari frammenti di DNA, uno dei quali corrisponde al gene dell'insulina.

2) Esistono oggi tecniche più rapide che consentono di ottenere il gene dell'insulina partendo dall'RNA messaggero, del quale sono presenti molte molecole nelle cellule beta del pancreas; con un enzima, la **trascrittasi inversa**, vengono prodotte molecole di DNA complementari all'RNA messaggero; questa singola catena viene poi duplicata per azione della **DNA polimerasi**, ottenendo così il gene dell'insulina.

Viene tagliato, sempre con gli enzimi di restrizione, anche il DNA del vettore, che, in questo caso, è un **plasmide**.

3) Il DNA della cellula (in frammenti) e il plasmide, dopo essere stati tagliati, vengono mescolati insieme e legati per mezzo di un enzima specifico, la **DNA-ligasi**. Si ottengono così delle molecole di DNA ricombinante, costituite da pezzi del plasmide e da pezzi del DNA umano legati insieme. Alcune di queste molecole "ibride" di DNA ricombinante contengono, attaccato al plasmide, il gene dell'insulina, altre invece no.



Preparazione di un plasmide-vettore di un gene umano. 1) un enzima di restrizione taglia il plasmide, aprendo l'anello; 2) il gene umano isolato o prodotto (come cDNA) da un RNA messaggero mediante la trascrittasi inversa viene mescolato a sequenze di nucleotidi-leganti, sulle quali può agire lo stesso enzima di restrizione; 3) il plasmide batterico si unisce, grazie ai leganti (modellati dall'enzima di restrizione), al DNA umano e le due parti vengono saldate dalla DNA-ligasi, formando così un plasmide ricombinante, pronto per essere inserito in una cellula batterica, per la clonazione genica.

4) Questi nuovi plasmidi ricombinanti vengono messi a contatto con le cellule di un particolare batterio, *Escherichia coli*, dal quale vengono assorbiti.

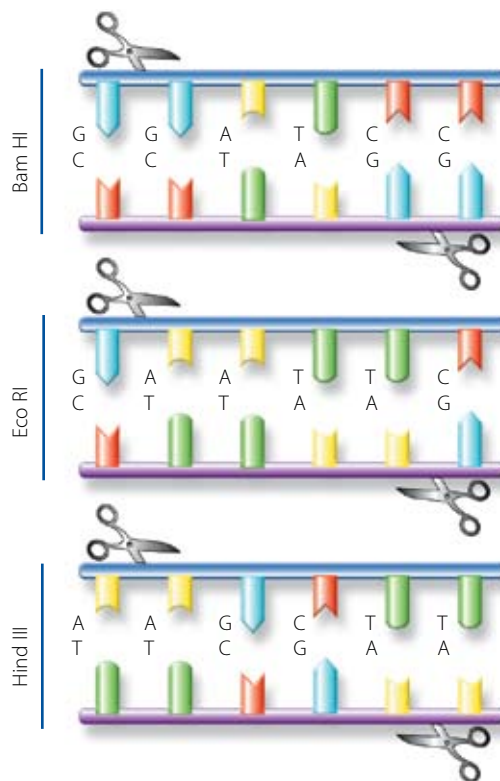
5) Si cerca quindi di individuare gli *E. coli* ricombinanti che hanno assorbito il plasmide ricombinante contenente il gene per l'insulina, li si isola, li si coltiva in modo da ottenere un numero elevato di cellule produttrici di insulina umana.

Gli enzimi di restrizione

La tecnologia del DNA ricombinante, chiamata anche ingegneria genetica, ha avuto inizio a partire dal 1972, quando sono stati scoperti gli **enzimi di restrizione (endonucleasi)**, che derivano da alcuni microrganismi, ai quali devono anche il nome, ossia la sigla che li caratterizza: ad esempio, l'endonucleasi BAM deriva dal *Bacillus aminoliquefaciens*. I batteri utilizzano questi enzimi per tagliare ed eliminare

Le biotecnologie e l'ingegneria genetica

Molti batteri producono enzimi che consentono loro di difendersi dal DNA estraneo, come quello virale. Sono i cosiddetti "enzimi di restrizione" che attaccano il DNA invasore e lo tagliano. Ogni enzima riconosce una specifica sequenza di basi (in genere da 4 a 6). Nella figura tre esempi: Bam HI (che riconosce la sequenza CTAG) viene prodotta da *Bacillus amyloquefaces*; Eco RI (che riconosce la sequenza TTAA) viene prodotto da *Escherichia coli*; Hind III (che riconosce la sequenza TCGA) viene prodotto da *Haemophilus influenzae*.



frammenti di DNA estranei, derivanti dai batteriofagi; rappresentano cioè un tentativo di difesa contro la riproduzione dei virus che li distruggerebbero. L'ingegneria genetica sfrutta questi enzimi che agiscono come "bisturi" chimici per sezionare il DNA, che, viene poi incollato grazie alla DNA-ligasi, scoperta già nel 1967. Nel 1972 si è ottenuto il primo DNA ricombinante e l'anno successivo si è riusciti a inserirlo in un batterio. Dal 1977 le tecniche del DNA ricombinante sono state applicate anche ai geni dei mammiferi.

Applicazioni dell'ingegneria genetica

Le possibili applicazioni dell'ingegneria genetica sono teoricamente infinite: dal **settore farmaceutico**, con la produzione di importanti proteine di origine umana, come l'insulina, l'ormone della crescita, l'interferone (per la terapia dell'epatite C) e con la produzione di vaccini come quello contro l'epatite B (e, si spera in un breve

futuro, anche contro l'AIDS); al **settore agro-alimentare**, con la produzione di proteine alimentari da parte di microrganismi, o di piante più resistenti o contenenti sostanze più pregiate, come le proteine ad alto valore biologico; all'allevamento del bestiame, con il miglioramento dei foraggi, la creazione di nuove razze di animali più resistenti alle malattie, di peso maggiore, con carni più pregiate; alla **chimica fine**, con una netta riduzione dei costi di produzione di sostanze particolari come vitamine, aminoacidi, enzimi, aromi ecc.; al settore energetico-ambientale, con la manipolazione genetica di microrganismi allo scopo di depurare rifiuti urbani, agricoli o industriali o per riconvertirli in sostanze combustibili utilizzabili a scopo energetico (alcol etilico, metano, ecc.).

Un altro importante settore di applicazione dell'ingegneria genetica è rappresentato dalla **terapia genica**, che consiste nella correzione di difetti genetici mediante l'introduzione (nel-

le cellule di un organismo umano) di geni "sani" in soggetti portatori di geni difettosi, che causano malattie ereditarie: il gene "sano" introdotto nelle cellule "malate" consentirebbe di ristabilire il loro normale funzionamento, determinando la guarigione dalla malattia.

Verde, bianco e rosso

I campi di applicazione dell'ingegneria genetica possono essere ricondotti a tre diverse categorie, che possiamo memorizzare semplicemente pensando alla bandiera italiana:

- **biotecnologie verdi** (*green biotechnologies*): per applicazioni nel campo delle produzioni vegetali, zootecniche (animali) e ambientali;
- **biotecnologie bianche** (*white biotechnologies*), per applicazioni nel campo delle produzioni industriali;
- **biotecnologie rosse** (*red biotechnologies*), per applicazioni nel campo della salute, per la diagnosi, la prevenzione e la cura delle malattie umane e animali.

OGM: pro e contro

L'ingegneria genetica consente di creare organismi viventi contenenti geni di diverse specie, addirittura appartenenti a regni diversi (ad esempio geni umani in batteri); questi organismi sono detti OGM, Organismi Geneticamente Modificati, e rappresentano un settore produttivo particolarmente in espansione.

Piante e animali geneticamente modificati potranno entrare nelle nostre case, sulla nostra tavola, come cibi transgenici; tuttavia, un incontrollato sviluppo degli OGM e, più in generale, dell'ingegneria genetica solleva importanti questioni (bioetiche, sanitarie, ecologiche, ambientali, giuridiche, politiche, economiche ecc.) alle quali dovrà essere data una risposta esauriente, perché il progresso della Scienza e della Tecnologia possa veramente essere al servizio dell'umanità.

Le biotecnologie e l'ingegneria genetica

I pro. Grazie all'ingegneria genetica stanno oggi arrivando sul mercato vegetali più nutrienti e più resistenti a malattie, freddo, siccità.

Le aziende che si occupano dei cibi transgenici creano fragole e kiwi resistenti a funghi patogeni o cicorie e soia in grado di contrastare l'azione dei diserbanti totali. Altri prodotti modificati sono alcuni pomodori che marciscono più lentamente di quelli tradizionali, oppure pomodori o fragole che, grazie a un gene ricavato da un pesce dei mari del nord, possono essere coltivati in climi più rigidi. Sono da annoverare in questa lista anche le api transgeniche, che non pungono e producono più miele e, non ultimo, il narciriso, prodotto in Italia, ottenuto inserendo nel genoma del riso alcuni geni del narciriso responsabili della produzione di caroteni (provitamina A) di cui i fiori di questa pianta sono ricchi. Con questo riso si potrà curare addirittura

la cecità dei popoli orientali che seguono una dieta ricca di riso ma povera di vitamina A, fondamentale per il processo della visione.

I vantaggi maggiori, in campo agricolo, sono di ordine economico, perché i raccolti sono più abbondanti e resistenti e questo può essere un vantaggio anche nella lotta contro la fame nel mondo; tuttavia, in questo e in altri settori applicativi dell'ingegneria genetica non è tutto oro ciò che riluce...

I contro. Dobbiamo domandarci, innanzitutto, se ciò che produce l'ingegneria genetica è realmente esente da rischi per la salute umana e per l'ambiente.

Una pianta OGM può resistere meglio ai parassiti, ma non è detto che questo sia del tutto un fatto positivo: la catena alimentare che parte dalla pianta viene interrotta e può essere alterato tutto l'ecosistema, con conseguenze difficili da preve-

dere; i pollini della pianta OGM, più resistente, potrebbero consentire la diffusione incontrollata degli OGM a spese di altre piante, riducendo la biodiversità; inoltre, i pollini degli OGM potrebbero causare allergie in soggetti oggi non affetti da queste patologie.

Nell'ambito medico, le terapie geniche sollevano problemi di ordine bioetico, in particolare quando sono associati ai temi della fecondazione artificiale, della clonazione e della produzione di tessuti, organi ed embrioni a fini terapeutici.

Una posizione corretta in relazione a tutte queste complesse problematiche può maturare dentro di noi solo attraverso la conoscenza e l'approfondimento di questi argomenti su testi specifici e anche consultando la rete internet, dove potremo trovare siti scientifici e ambientalisti come:

- www.farescienza.it
- www.greenpeace.it