
Introduzione

Le tecniche nascono neutre, imparziali, indifferenti ai loro usi. Fanno però sognare noi umani, specie quando sono nuove e potenti. Le biotecnologie, in particolare, ci affascina e ci intimoriscono prima ancora che capiamo bene che cosa possano fare. Questo effetto, duplice e ambiguo, deriva forse dalla loro capacità di riscrivere le istruzioni della vita?

Quando prevale il timore, evocano piante con geni esotici o inquietanti cloni di animali. Se l'effetto è opposto, e prevale il fascino, allora riponiamo in loro le speranze di una salute duratura, un invecchiamento dolce, un mondo senza malattie e senza sofferenze.

I sogni sono prodigiosi o da incubo, ma quasi mai vicini al vero. Rispetto ai farmaci miracolosi o ai cibi terrificanti che ci si aspetta dalle biotecnologie, la realtà è più sorprendente e variopinta.

Accanto a pochi cibi OGM e ad alcuni biofarmaci, non tutti miracolosi, ci sono batteri "spugne" che assorbono il mercurio o altri inquinanti dall'ambiente; computer e geni comandati dalla forza del pensiero; e tante altre novità poco conosciute.

Gli ottimisti che nelle biotecnologie vedono la possibilità di migliorare la nostra vita, in questo li-

bro scopriranno che cosa è possibile fare e che cosa non lo è ancora. I pessimisti che nelle biotecnologie avvertono una minaccia per la natura e l'umanità, avranno la possibilità di confrontare le proprie opinioni e soprattutto di tranquillizzarsi – i mostri evocati non esistono.

Di certo le biotecnologie sono tra noi e non se ne vanno. Con equilibrio fra il facile entusiasmo e il rifiuto a priori, conoscerle conviene.

Come ti addomestico il microbo

Secondo lo storico di età imperiale Giuseppe Flavio, 15 000 sono stati gli schiavi necessari a costruire, in otto anni, il Colosseo. Due millenni più tardi, 300 operai riusciranno, in soli due anni, ad assemblare nella Tour Eiffel qualche decina di migliaia di pezzi di ferro forgiato.

Immaginate ora una forza lavoro composta da qualche miliardo di operai, sostenuta dalle tecnologie del nostro secolo. Questi operai esistono e, per di più, sono asserviti ai nostri desideri. Ma non sono esseri umani. Sono batteri ingegnerizzati, virus inoffensivi, lieviti trasformati, le cui opere, impressionanti come il Colosseo o la Tour Eiffel, sono molecole invece che edifici.

Operai altamente specializzati

I microrganismi abitano tutti gli ambienti terrestri, dai gelidi poli alle calde sorgenti dei vulcani che si trovano in fondo agli oceani. Se alcuni ceppi non temono le elevatissime temperature in cui noi finiremmo bolliti in pochi secondi, altri prosperano a concentrazioni saline dieci volte superiori a quelle

dell'acqua di mare. Anche sopravvivere nell'intestino umano, fra cascate di liquami, non dev'essere uno scherzo. Batteri si trovano perfino nelle centrali nucleari. Il batterio *Deinococcus radiodurans*, una specie di Hulk del mondo microbico, è in grado di sopravvivere a dosi di raggi gamma 1000 volte superiori a quelle sufficienti a uccidere qualsiasi cellula animale.

I batteri hanno anche modi assai versatili di ottenere energia tramite le reazioni del metabolismo. Ci sono batteri che la ricavano, come noi, dall'ossigeno e batteri che la ottengono insieme all'ossigeno dalla fotosintesi, come le piante. Ma per altri ancora l'ossigeno è un veleno mortale e al suo posto respirano composti come il solfuro di idrogeno. Inoltre sono in grado di metabolizzare molecole organiche un po' esotiche, come il toluene o il naftalene, inutilizzabili da tutti gli altri organismi noti.

Come se non bastasse, il loro genoma – l'insieme di istruzioni che governa la loro vita – è relativamente piccolo e facile da manipolare, e fare crescere batteri in laboratorio è una cosa semplice e rapida.

Insomma, i batteri sembrano proprio avere tutte le caratteristiche dell'operaio ideale, tanto che gli ingegneri genetici hanno imparato a istruirli perché eseguano compiti sempre più complicati.

L'addestramento dei docili e affidabili batteri, che sono diventati gli animali da soma delle moderne biotecnologie, è avvenuto in qualche decina d'anni e per gradi. I primi a cimentarsi in questo compito sono stati nel 1973 due ricercatori californiani,

Herbert Boyer e Stanley N. Cohen, che riuscirono a estrarre un gene – ossia una delle istruzioni scritte nel genoma – della rana *Xenopus laevis*, e a inserirlo nel genoma del batterio *Escherichia coli*, osservandone poi l'attività.

Per realizzare questo risultato storico, i due ricercatori hanno dovuto risolvere tutta una serie di problemi: dal capire come estrarre il gene dal cromosoma della specie donatrice, all'elaborare le tecniche per inserirlo in quello della specie ricevente. Il loro lavoro ha gettato le basi delle moderne biotecnologie. Oggi, trasferire un gene da una specie batterica a un'altra è facile quasi come spedire la copia di un documento: servono una fotocopiatrice, forbici e colla per preparare la busta, e un corriere fidato.

Fotocopiare i geni

Isolare un gene specifico, tra le migliaia presenti in un cromosoma, è particolarmente facile grazie all'idea che nel 1983 venne al chimico americano Kary Mullis: costruire una fotocopiatrice per i geni. La macchinetta si chiama PCR, abbreviazione astrusa di un nome ancora più astruso, *Polymerase chain reaction* (reazione a catena della polimerasi), ma quello che fa è piuttosto semplice. La PCR riproduce in maniera automatica ciò che la cellula spontaneamente fa ogni volta che si prepara a riprodursi: la copiatura di tutta l'informazione genetica, da dividere e trasmettere a due cellule figlie.

L'informazione genetica di ogni cellula vivente è custodita in una grossa molecola chimica, l'acido deossiribonucleico, o DNA. Il DNA è una lunga molecola filamentosa, con una parte fissa e una variabile. Immaginatelo come una scala a chiocciola: la parte fissa, il corrimano della nostra scala immaginaria, sta all'esterno ed è formata dagli zuccheri di desossiribosio e da acido fosforico, mentre le parti variabili, all'interno, sono le cosiddette basi azotate. Queste basi sono i membri di un breve alfabeto di sole quattro lettere, A, T, G, C, con il quale si possono scrivere tutte le istruzioni di ogni variante della vita come la conosciamo (**A** sta per adenina, **T** per timina, **G** per guanina e **C** per citosina). Chiamiamo nucleotide ciascuna unità formata da uno zucchero, il desossiribosio, da un gruppo fosfato e da una base azotata. Il DNA degli esseri umani contiene oltre 6 miliardi di nucleotidi in ogni cellula.

Si parlava di una scala a chiocciola, ma fin qui abbiamo descritto soltanto una metà della scala: l'altra metà è un filamento speculare, avvolto a spirale sull'altro, a formare nell'insieme una doppia elica. Il collegamento fra i due filamenti avviene tramite le basi, che formano i gradini della scala, di ciascun filamento, che sono accoppiate in una relazione precisa: di fronte a una A, si trova sempre una T, di fronte a una G sempre una C.

Per conoscere l'ordine dei nucleotidi in una doppia elica di DNA è sufficiente leggere l'ordine in cui sono disposti in uno dei due filamenti: la sequenza dell'altro, detto complementare, si può dedurre au-

automaticamente applicando le semplici regole di appaiamento appena descritte.

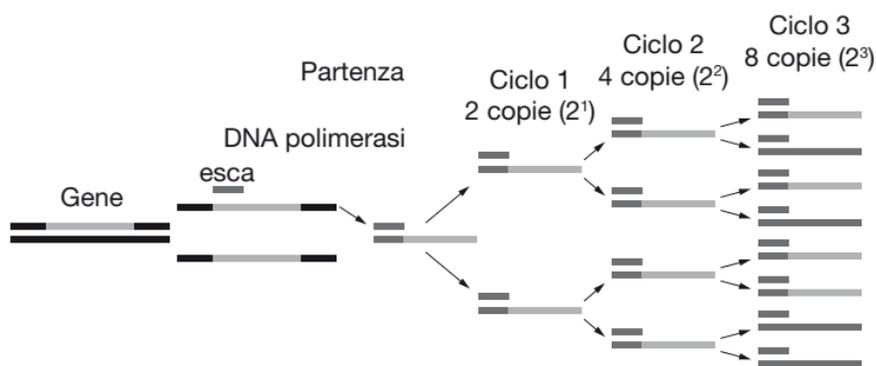
Veniamo ora alla PCR. La tecnica sfrutta l'attività di un enzima, la DNA polimerasi, che le cellule usano per duplicare il proprio DNA. In pratica, nella macchinetta la DNA polimerasi legge la sequenza del filamento (che avremo separato dall'altro alzando di qualche grado la temperatura) e costruisce il filamento complementare, allineando i vari nucleotidi e appaiandoli alle basi presenti sul filamento originale, in base alle regole di A con T e C con G.

Gli ingredienti di una reazione di PCR sono quindi la DNA polimerasi, il DNA che contiene il gene che vogliamo copiare, i quattro nucleotidi con cui costruire il filamento complementare più un corto filamento di DNA preparato in laboratorio.

Quest'ultimo ingrediente è fondamentale per fare in modo che la reazione della polimerasi si concentri soltanto sul pezzo di DNA che ci interessa, e non sul resto del filamento. Occorre però conoscere una porzione anche limitata di tale sequenza, costruire in laboratorio un breve filamento singolo di DNA complementare e mischiarlo con l'intero DNA dell'organismo. Poiché il DNA tende naturalmente a formare una doppia elica di due filamenti complementari, il nostro pezzetto di DNA andrà ad appaiarsi esattamente sulla sequenza a lui complementare, ossia sul gene desiderato, lungo il cromosoma. Il filamento appaiato, che è chiamato innesco, serve alla polimerasi a iniziare la sintesi del DNA. Proget-

tando opportunamente il nostro innesco, possiamo così determinare il punto da cui la polimerasi inizia a copiare. In una singola reazione di PCR che dura pochi minuti si ottiene in questo modo una copia fedele del nostro gene di interesse. Se si ripete questo ciclo un certo numero di volte, diciamo n , il numero di copie del filamento crescerà secondo la relazione esponenziale 2^n . Ad esempio, dopo 30 ripetizioni (equivalenti a circa tre ore), si avranno 2^{30} , ovvero oltre un miliardo, di copie del gene di interesse.

Brillante vero? Pensate che Mullis, quando ha inventato la PCR, era un tecnico di laboratorio che trovava mortalmente noiosa la precedente tecnica manuale per ottenere, in tempi incomparabilmente più lunghi, il medesimo risultato. Dalla noia al premio Nobel per la Chimica, nel 1993, il passo è stato breve.



Nello schema una serie di cicli di reazioni che avvengono nella PCR per duplicare molte volte un filamento di DNA.

Geni a rimorchio

Una volta fotocopiato il gene, abbiamo bisogno di un involucro per spedirlo, per così dire, nella cellula ricevente. Anche qui i biotecnologi si sono lasciati ispirare dalla natura.

Probabilmente conoscete gli antibiotici, quei farmaci che il dottore a volte prescrive quando sospetta che una tonsillite o un dolore alle orecchie sia causato da un'infezione batterica. Il primo antibiotico, scoperto da Alexander Fleming nel 1929, era un battericida naturale prodotto dalla muffa *Penicillium* come arma di difesa dalle infezioni. Per quella scoperta, con cui si sono salvate innumerevoli vite umane, Fleming meritò il premio Nobel nel 1945.

Se noi abbiamo scoperto solo un secolo fa che molti organismi in natura producono sostanze microbicide, i batteri lo sapevano già da qualche milione di anni e si erano attrezzati di conseguenza. Molti batteri sono infatti capaci di distruggere gli antibiotici grazie a particolari enzimi le cui istruzioni sono scritte in alcuni geni.

Ma c'è di più. I geni che rendono i batteri resistenti agli antibiotici sono conservati in molecole di DNA circolare, degli anelli a doppia elica chiamati plasmidi, circa 100-1000 volte più piccoli di un cromosoma batterico (i batteri hanno un solo cromosoma circolare, formato in media da qualche milione di nucleotidi). Tali plasmidi hanno la capacità di migrare – oltre che dalla cellula madre alle sue cellule figlie – da un batterio all'altro, anche di specie

diverse. Per questa particolare modalità di trasmissione dei plasmidi, la resistenza a un antibiotico specifico può rapidamente diffondersi anche tra batteri di specie differenti.

Questa caratteristica dei plasmidi è assai importuna e pericolosa per l'efficacia della terapia antibiotica, ma è preziosissima per le biotecnologie: i plasmidi presenti naturalmente nei batteri sono infatti stati isolati e modificati in laboratorio, diventando dei rimorchiatori di geni, che in gergo si chiamano vettori plasmidici. Tipicamente un vettore contiene alcune sequenze segnale per attivare al momento giusto i geni rimorchiati e altre per consentire la duplicazione del plasmide quando la cellula che lo contiene si divide. Inoltre i plasmidi trasportano un gene per la resistenza a un antibiotico, che permette di selezionare le cellule batteriche contenenti il plasmide.

Come si inserisce un gene esogeno in un batterio

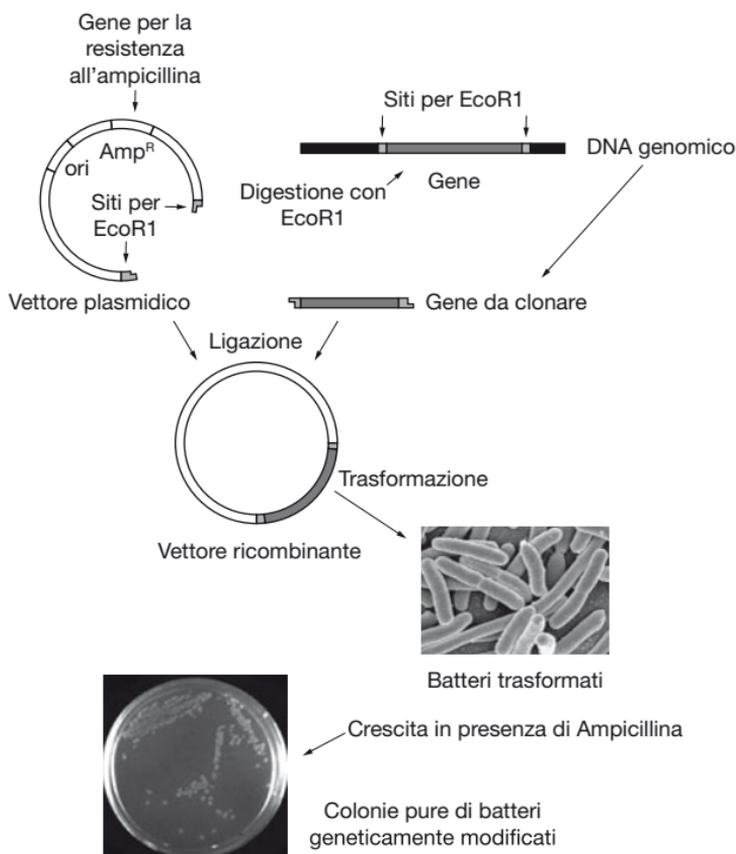
Abbiamo detto che per trasferire un gene da un batterio a un altro servono una fotocopiatrice (la PCR), per ottenere una quantità adeguata del gene che ci interessa, e un corriere fidato (il vettore plasmidico), in cui inserire tale gene. Ci resta da vedere come si ottiene questo inserimento.

In pratica bisogna tagliare il DNA del plasmide e poi ricucirlo, dopo avervi inserito il gene in più. È un po' come aggiungere un pezzo di stoffa a un vestito, con la differenza che le forbici degli ingegneri

genetici sono, ancora una volta, gentilmente offerte dalla natura. Ci sono infatti particolari proteine, dette enzimi di restrizione, in grado di tagliare la doppia elica di DNA rompendo i legami chimici tra due nucleotidi adiacenti su ciascun filamento della doppia elica. Questi enzimi sono normalmente prodotti dai batteri, che li usano per distruggere il DNA dei virus che li infettano. Se ne conoscono ormai centinaia, molti dei quali tagliano il DNA in corrispondenza di specifiche sequenze. Con una semplice manipolazione si può ottenere che le copie del gene fatte dalla PCR contengano, alle loro estremità, le sequenze riconosciute da un certo enzima di restrizione. Se tagliamo con lo stesso enzima sia il nostro gene, sia il vettore plasmidico, entrambi avranno le stesse estremità e saranno quindi compatibili. Miscelando il DNA del plasmide con il nostro gene, quest'ultimo si inserirà all'interno dell'interruzione, incastrando le sue estremità con quelle compatibili presenti sul plasmide.

Per saldare il nuovo pezzo di DNA al resto del plasmide, si sfrutta un enzima presente in tutte le cellule: la DNA ligasi. Questa proteina è in grado di ripristinare il legame chimico tra due nucleotidi adiacenti, se questo si era spezzato. In altre parole funziona all'opposto degli enzimi di restrizione. L'uso combinato di enzimi di restrizione e ligasi si è rivelato fin da subito un'accoppiata vincente per gli ingegneri genetici.

Il passaggio successivo è convincere una cellula batterica ad aprire al postino, ovvero a incorporare



Come si inserisce un gene estraneo in un plasmide batterico.

all'interno della cellula il vettore ricombinante (si dice ricombinante perché contiene una combinazione di geni assemblata dagli ingegneri genetici).

In genere i batteri si convincono facilmente con un piccolo shock termico seguito da un raffreddamento o con l'applicazione di un campo elettrico (una specie di elettroshock). In entrambi i casi la

membrana che separa i batteri dall'ambiente esterno si altera, facilitando l'ingresso di grosse molecole di DNA. Così i batteri, forse un po' storditi dal maltrattamento, incorporano facilmente il DNA plasmidico in un evento chiamato trasformazione.

D'ora in poi ogni cellula batterica contenente il plasmide esprimerà i geni in esso contenuti e duplicherà il vettore insieme al suo cromosoma tutte le volte che si dividerà. Tuttavia l'efficienza della trasformazione non è mai completa: se vogliamo avere una popolazione batterica in cui tutte le cellule posseggano il nostro vettore, dovremo eliminare quelle più pigre che non l'hanno incorporato. Ricorderete che una delle caratteristiche dei vettori è possedere un gene per la resistenza agli antibiotici. Basta crescere le cellule trasformate in presenza dell'antibiotico specifico: resisteranno solo quelle trasformate dal plasmide, le altre saranno eliminate.

Una cellula batterica si duplica in media ogni 20 minuti (come termine di paragone, una cellula umana ci mette quasi un giorno). Pertanto in 10 ore, l'equivalente di una notte, una cellula può andare incontro a 30 cicli di duplicazione da 20 minuti l'uno, ottenendo 2^{30} o più di un miliardo di nuove cellule. I numeri sono analoghi a quelli della PCR, ma non i tempi: del resto, se l'efficiente macchinetta genera copie di un solo gene, qui stiamo parlando di intere cellule.

La progenie derivata da una singola cellula sarà costituita da batteri identici tra loro, i cosiddetti cloni, e ciascun clone conterrà una copia del nostro ge-

ne. Ecco dunque il significato di una parola oscura e molto usata in biologia, il clonaggio: clonare vuol dire generare molte copie identiche di un gene all'interno di una cellula o di un organismo ricevente.

Che cosa si può fare con questi cloni? Gli usi sono vari: li si può conservare congelati, come magazzini da cui recuperare facilmente il gene che ci interessa in tempi successivi (le cellule trasformate e congelate possono essere riportate in vita anche dopo molti anni); o li si può sfruttare come fabbriche biologiche in cui produrre su larga scala la proteina codificata dal gene inserito. Un esempio è l'insulina umana, che chi soffre di diabete acquista in farmacia: una molecola molto preziosa per i malati, prodotta in una cellula modificata appositamente dagli ingegneri genetici.

Vivere la dolce vita

Herbert Boyer aveva intuito il potenziale delle sue scoperte dopo avere trasferito, con Stanley Cohen, il gene della rana nel DNA di un batterio, fondando poi una delle prime industrie biotecnologiche, la Genentech, nel 1976. In soli due anni dall'inaugurazione la Genentech annunciava, nel 1978, la produzione del primo farmaco a uso umano, l'insulina, con le tecniche dell'ingegneria genetica: con Humulin – approvata con questo nome commerciale per la vendita nel 1982 – nasceva l'era delle biotecnologie farmaceutiche.

L'insulina, una piccola proteina fabbricata nel pancreas, svolge un compito importantissimo: regola l'utilizzo del glucosio, uno zucchero fondamentale e fra i principali carburanti energetici degli organismi animali. Basta pensare che il cervello umano, da solo, necessita di oltre 100 grammi di glucosio al giorno per funzionare. Ma la concentrazione di glucosio nel sangue è strettamente regolata: se ce n'è troppo (iperglicemia) o troppo poco (ipoglicemia), i danni all'organismo possono essere fatali.

Chi soffre di diabete in genere ha una ridotta quantità di insulina disponibile e quindi accumula glucosio nel sangue. Oggi il diabete si tiene a bada piuttosto bene con l'insulina e altri farmaci, ma chi si ammalava un secolo fa, moriva nel giro di qualche mese.

Nicola Paulescu, un medico di Bucarest, fu il primo al mondo a sperimentare estratti di pancreas come cura per il diabete, nei cani, nel 1921. Ma furono Frederick Banting e Charles Best, due scienziati canadesi, a dimostrare che l'idea di Paulescu funzionava: riuscirono a estrarre una sorta di succo di insulina dal pancreas di un cane e a provarla con successo in un paziente umano. Per la scoperta Banting e MacLeod, il capo di Best, meritavano il premio Nobel nel 1923. Da allora ai diabetici fu somministrata per parecchi decenni insulina prodotta da estratti di pancreas suino o bovino.

Ma l'insulina umana e quella animale non sono identiche e l'utilizzo prolungato di quest'ultima poteva causare reazioni allergiche a volte anche gravi. Inoltre la purificazione da organi era complessa, di-

spendiosa e poco efficiente, ed esponeva i pazienti al rischio di infezioni da parte di agenti patogeni presenti negli animali. Per non parlare di chi aveva difficoltà ad accettare un farmaco estratto da un maiale o da una mucca. Così, quando negli anni '50 il biochimico inglese Frederick Sanger trovò il modo di sintetizzare chimicamente l'insulina, per i malati fu un grande passo avanti e Sanger meritò il Nobel nel 1958. Ma anche l'insulina sintetica, usata almeno fino agli anni '80, aveva i suoi difetti: per quanto i chimici fossero stati bravissimi a imitare la natura, la struttura della molecola artificiale era assai più rozza e approssimativa di quella fabbricata in base alla ricetta genetica delle cellule del pancreas.

L'insulina umana prodotta dai batteri ingegnerizzati seguiva proprio quella ricetta, risolvendo in un colpo tutti i problemi: finalmente i pazienti potevano avere insulina pura, identica a quella prodotta da un corpo umano sano, e l'efficienza di produzione era enormemente superiore. Ma mettere a punto un sistema del genere nei batteri non è stato semplice, soprattutto considerando che ciò accadeva nel 1978, agli albori dell'ingegneria genetica. A quel tempo nessuno immaginava la sveltezza miracolosa della PCR, e le tecniche per trovare e sequenziare i geni erano assai rudimentali: ecco perché i ricercatori della Genentech decisero di risalire controcorrente, per così dire, il flusso dell'informazione genetica.

Dall'alfabeto alle parole: il codice nascosto dei geni

Francis Crick non pensava in modo modesto, diceva James Watson, che lo conosceva bene. Insieme, nel 1953, avevano annunciato la struttura a doppia elica del DNA, grazie al contributo fondamentale dei dati di Maurice Wilkins e Rosalind Franklin. Nel 1962 Crick, Watson e Wilkins avrebbero ricevuto il Nobel a Stoccolma; non la Franklyn, che nel frattempo era purtroppo morta di cancro.

Fino al 1958 però non si sapeva che cosa facesse di preciso la molecola di DNA: si intuiva che fosse implicata nell'ereditarietà e che contenesse inoltre istruzioni importanti per la costruzione di un organismo. Mancavano però pezzi importanti di conoscenza per chiarire bene le cose e per questo ci voleva una pensata ambiziosa.

Eccola: nel 1958 Crick propose che l'informazione contenuta nel DNA fosse utilizzata dalle cellule per sintetizzare le proteine. Che cosa sono le proteine? Sono i factotum delle nostre cellule: gli operai che agiscono e producono energia, i motivatori che fanno avanzare le reazioni, i sostenitori che fanno stare in piedi palizzate e altre strutture morbide o rigide.

La loro versatilità sta nella forma. Diversamente dal DNA, che ha una forma sempre uguale a se stessa, le proteine possono assumere quasi ogni sagoma. E questo grazie agli aminoacidi, i 21 diversi mattoncini di cui possono essere costituite. In ogni proteina gli aminoacidi sono disposti in lunghe catene, un po' come il DNA è fatto di nucleotidi. Da qui l'idea

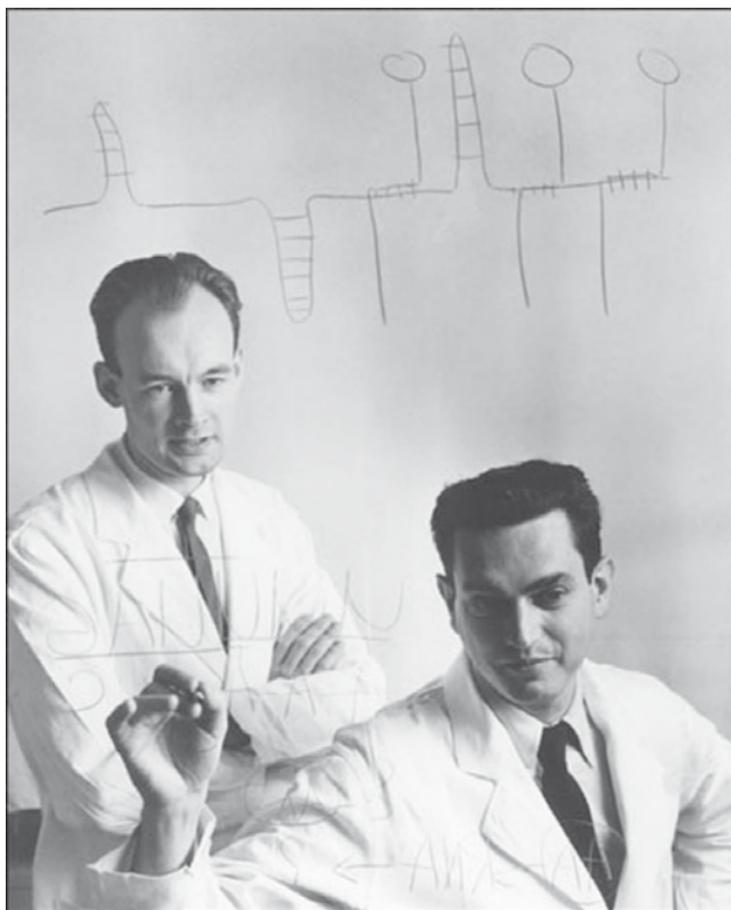
di Crick: se fra il linguaggio a base di nucleotidi nel DNA e quello a base di aminoacidi delle proteine c'è una relazione, deve esistere una chiave, ancora da scoprire, per mettere in relazione tali linguaggi.

Crick chiamò questa chiave misteriosa “molecola adattatrice” e negli anni successivi si comprese che tale funzione era svolta dall'RNA. L'RNA è il secondo acido nucleico presente nelle cellule e assomiglia parecchio al DNA, ma con alcune differenze: al posto del desossiribosio c'è un altro zucchero, il ribosio, e al posto della timina (T) l'uracile (U), una base simile. Inoltre, a differenza del DNA che di solito si trova nel nucleo sotto forma di doppia elica, l'RNA è presente nella cellula come singola elica.

Se la corrispondenza fra DNA e RNA sembrava piuttosto evidente, restava da capire come si potesse passare dal RNA alle proteine. Nel 1961 Marshall Nirenberg e il suo allievo Heinrich Matthaei ebbero l'idea di sintetizzare un corto segmento di RNA formato da un'unica base, l'uracile, e di incubarlo con un estratto batterico contenente gli elementi necessari alla sintesi proteica. La scoperta, avvenuta nel laboratorio di Nirenberg ai National Institutes of Health di Bethesda, negli Stati Uniti, fu sorprendente: la cellula batterica aveva usato quella breve sequenza di RNA, fatta di qualche uracile, per fabbricare una catena di ripetizioni di un'unico aminoacido, la fenilalanina.

Nirenberg era un perfetto sconosciuto quando annunciò il risultato davanti a una platea semideserta di un congresso di Mosca. Crick, che era fra gli organizzatori del simposio, cambiò il programma

del congresso e implorò Nirenberg di ripetere la sua presentazione il giorno dopo, questa volta davanti a una platea di mille persone che uscirono elettrizzate da quella sala. Nirenberg, con l'aiuto di Matthaei, aveva trovato la chiave per decifrare il codice che



Marshall Nirenberg e Heinrich Matthaei ai tempi della scoperta del codice genetico.

permette di costruire ogni proteina da ogni sequenza di DNA. E Francis Crick, pur essendo assai immodesto, a quel congresso aveva modestamente riconosciuto il merito di uno scienziato che avrebbe ricevuto il premio Nobel nel 1968.

Il codice genetico sarebbe stato poi completamente decifrato entro il 1966 e oggi sappiamo come funziona: l'ordine in cui si susseguono i nucleotidi sul DNA specifica l'ordine degli aminoacidi della proteina corrispondente. Ciascun aminoacido è individuato da una specie di parola in codice di tre lettere: una tripletta, o codone, di tre nucleotidi. Quindi, se adesso ripensate all'esperimento che Nirenberg ha presentato a Mosca, vi sarà facile dedurre la tripletta della fenilalanina: una sequenza di tre U.

L'informazione necessaria a sintetizzare una certa proteina è dunque contenuta nel DNA, ma per uscire dal nucleo e passare nel citoplasma, dove si assemblano le proteine, viene copiata in una molecola di RNA a singolo filamento, detta RNA messaggero. Ciascun RNA messaggero, una volta arrivato nel citoplasma, è poi letto nei ribosomi, speciali macchinette per l'assemblaggio delle proteine, in grado di attaccare gli aminoacidi nell'ordine specificato dalle triplette.

Il rifornimento di aminoacidi sui ribosomi è a carico di una truppa di trasportatori, gli RNA transfer. Ciascun RNA transfer da un lato si lega a uno specifico aminoacido e dall'altro lato è dotato di una tripletta, chiamata anticodone, che gli permette di atterrare precisamente, nel ribosoma, sul codone

corrispondente che si trova sull'RNA messaggero. Facciamo un esempio: l'RNA transfer della fenilalanina avrà un anticodone AAA, complementare al codone UUU (ricorderete che la timina, cioè la lettera T nel DNA, nell'RNA diventa uracile, ovvero U). Questo appaiamento tra codone e anticodone a livello del ribosoma assicura che l'aminoacido inserito sia quello corrispondente alla tripletta.

Questa parentesi un po' lunghetta sulla sintesi delle proteine ci servirà per comprendere la strategia usata dai biotecnologi per clonare il gene dell'insulina.

Dalla proteina al gene e ritorno

L'insulina, abbiamo detto, è una piccola proteina, fatta di pochi aminoacidi. La sequenza del suo gene era stata determinata, con tecniche fisico-chimiche, grazie alla scoperta del codice genetico, che permetteva di risalire a ritroso, dagli aminoacidi, alla corrispondente sequenza di nucleotidi. Il processo è noto come *reverse genetics* o genetica al contrario: dalla proteina al gene.

L'insulina è composta da due corte catene di aminoacidi. Per la sintesi biotecnologica vennero prodotti in laboratorio due frammenti di DNA, ciascuno codificante una delle due catene. Poiché l'insulina è una proteina umana, avrebbe potuto essere fabbricata con qualche difficoltà dai batteri. Per aiutare i microbi a produrla, i ricercatori hanno

attaccato il gene di ciascuna catena a quello di una proteina batterica, la β -galattosidasi. I due geni fusi sono poi stati introdotti, tramite vettori plasmidici, nella cellula.

Le proteine prodotte dalla cellule sono quindi la β -galattosidasi unita alle catene dell'insulina, un truccetto che serve a confondere il batterio, che così sintetizza con alta efficienza la sua proteina endogena, la galattosidasi, il più delle volte senza accorgersi che è un po' più lunga del normale.

A questo punto è sufficiente purificare la proteina ibrida e separare, con semplici tecniche chimico-fisiche, la proteina batterica che è servita da guida per la sintesi dalla proteina umana. Oggi l'insulina ricombinante viene prodotta anche in altri microrganismi: i lieviti. Qui il vantaggio è duplice: essendo il lievito un organismo eucariote, l'apparato per la costruzione delle proteine è più simile a quello umano di quanto non sia nei batteri, e inoltre l'insulina viene secreta direttamente all'esterno delle cellule. In questo modo è sufficiente purificare la proteina dal liquido di coltura, senza bisogno di rompere la parete delle cellule batteriche.

L'insulina è stato il primo grande successo delle biotecnologie applicate alla produzione di una proteina per soddisfare un bisogno dell'uomo. Ma altri ne sono seguiti a ritmo serrato.