

Come si produce l'insulina umana

1

Le tecnologie del DNA ricombinante (ingegneria genetica) hanno permesso l'ampliamento delle applicazioni delle biotecnologie.

Una delle prime proteine ottenute mediante la tecnologia del DNA ricombinante è stata l'**insulina umana**, un ormone proteico carente nei diabetici e utilizzato, perciò, per curare il diabete mellito. Vediamo di seguito come si ottiene la produzione di tale 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, gli **enzimi di restrizione**, che tagliano il DNA in corrispondenza di specifiche sequenze di nucleotidi. Si ottengono frammenti di DNA, uno dei quali corrisponde al gene dell'insulina.

2. Esistono attualmente 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**. Un plasmide è una piccola molecola di DNA circolare con pochi geni, presente in alcuni batteri, con la caratteristica di poter essere trasferito da una cellula batterica all'altra (per trasferire geni all'interno di un batterio); inoltre, si riproduce insieme alla cellula.

3. Il DNA della cellula (in frammenti) e il plasmide, dopo essere stati tagliati, vengono mescolati insieme e legati attraverso 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.

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

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

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

1. Isolamento dell'RNA messaggero per la proteina che ci interessa
2. Trascrizione dell'mRNA in cDNA complementare a singola elica, grazie alla trascrittasi inversa.
3. Trascrizione del cDNA in DNA a doppia elica, grazie alla DNA polimerasi.
4. Inserimento di due leganti alle due estremità del DNA (sequenze di nucleotidi "adesive").
5. Contemporanea estrazione dal batterio del plasmide.
6. Apertura del plasmide per mezzo di uno specifico enzima di restrizione.
- 7-8. Fusione di DNA e plasmide (per mezzo dei leganti) in un nuovo plasmide ricombinante.
9. Inserimento del plasmide ricombinante in un batterio per la clonazione genica.
10. Clonazione batterica con il plasmide contenente il gene e quindi clonazione del gene.
11. Produzione da parte dei batteri della proteina codificata dal gene inserito nel plasmide; si ottengono prodotti utili come il caglio, per fare il formaggio, l'insulina o l'ormone della crescita.
- 12-13-14. Oppure, isolamento del gene clonato e inserimento dello stesso nel DNA di un idoneo organismo (animale, pianta, batteri); si ottengono così OGM dalle più svariate applicazioni, come il gene per la resistenza della pianta ai parassiti o al freddo o per la depurazione dei rifiuti tossici o molti altri ancora.

