

La trasformazione artificiale

Molte specie batteriche non naturalmente competenti si possono trasformare artificialmente in laboratorio con metodi chimici (impiegando cloruro di calcio, CaCl_2) o fisici (*elettroporazione*) che permettono alle molecole di DNA di attraversare la membrana rendendola temporaneamente permeabile.

- Si pensa che il **cloruro di calcio**, ionizzandosi in soluzione e formando ioni Ca^{++} , crei un gradiente esterno alla parete dei batteri e legghi i gruppi fosfato del DNA

carichi negativamente. Il DNA ormai neutralizzato e legato agli ioni Ca^{2+} , precipita in soluzione ed è incorporato dalla cellula batterica.

- L'**elettroporazione** consiste nel sottoporre le cellule a uno shock elettrico per rendere le membrane cellulari permeabili al DNA che si vuole inserire. Si ottengono frequenze di trasformazione circa 1000 volte superiori rispetto ai metodi chimici.

Tecniche di coltura in vitro

L'uso delle colture cellulari nella ricerca risale agli anni Cinquanta del secolo scorso, ma solo negli ultimi decenni, con l'avvento delle biotecnologie, ha subito un forte impulso. Le colture cellulari sono uno strumento molto potente per clonare cellule specifiche e produrre in grande quantità metaboliti o polipeptidi specifici.

Le più comuni sono le colture di microrganismi, sia procarioti, come il batterio *Escherichia coli*, sia eucarioti, come il lievito *Saccharomyces cerevisiae*.

A esse si affiancano le colture di cellule vegetali e animali. Com'è noto, gli organi e i tessuti di piante e animali sono formati da cellule con funzioni specializzate e, a seconda dello scopo, è auspicabile conservare la specializzazione o indurre nelle cellule una regressione allo stato embrionale per rigenerare nuovi tipi cellulari (**pluripotenza**) o addirittura nuovi individui (**totipotenza**).

■ COLTURE DI CELLULE VEGETALI

Le colture di cellule vegetali, pur originando da cellule mature, altamente specializzate, mostrano la capacità di regressione verso uno stato indifferenziato da cui ripartire per rigenerare un individuo completo, una peculiarità alla base dello sviluppo di piante transgeniche.

Un'altra loro applicazione è la produzione di composti vegetali di interesse farmacologico o alimentare difficilmente ottenibili. È il caso per esempio del taxolo, un metabolita con potenti proprietà antitumorali

accumulato in piccole quantità nella corteccia del tasso (*Taxus brevifolia*), oggi prodotto con colture cellulari.

■ COLTURE DI CELLULE ANIMALI

Le colture di cellule animali sono meno plastiche di quelle vegetali e infatti ne esistono moltissime tipologie con caratteristiche riconducibili al tessuto di provenienza. Per esempio, quasi tutte le cellule in sospensione derivano da cellule del sistema immunitario, mentre le cellule coltivate su substrati solidi derivano da muscoli, fegato, sistema nervoso, rene ecc. Le colture di cellule animali sono utilizzate dalla comunità scientifica come "sistema modello" per studi di biochimica e fisiologia cellulare.

Ma il loro impiego è molto importante per numerose altre applicazioni quali: la produzione di sostanze farmacologicamente attive (anticorpi, vaccini, fattori di crescita ecc.); nei test di tossicità di farmaci; nei test di ecotossicità, per valutare l'effetto di inquinanti ambientali; nella diagnosi di malattie genetiche; negli studi oncologici.

Benché le cellule animali non siano totipotenti, tuttavia, le cellule staminali embrionali sono **pluripotenti**, cioè in grado di originare vari tipi di cellule diverse, ma non individui completi. La possibilità di coltivare con successo queste cellule offre grandi prospettive per la cura di malattie come il morbo di Parkinson e l'Alzheimer che sono il risultato di lesioni in gruppi determinati di cellule cerebrali.