

# Verso la scoperta della struttura a doppia elica del DNA



Luisa Bonolis

[luisa.bonolis@roma1.infn.it](mailto:luisa.bonolis@roma1.infn.it)

**A. I. F.**

**Scuola di Storia della Fisica  
Brescia, 1 - 6 dicembre 2008**





# Bibliografia



F. Portugal e J. Cohen, *Un secolo di DNA*

M. Morange, *Histoire de la biologie moléculaire*

Garland E. Allen, *La biologia contemporanea*

G. Corbellini, *Le grammatiche del vivente. Storia della biologia e della medicina molecolare*

R. Olby, *Storia della doppia elica*

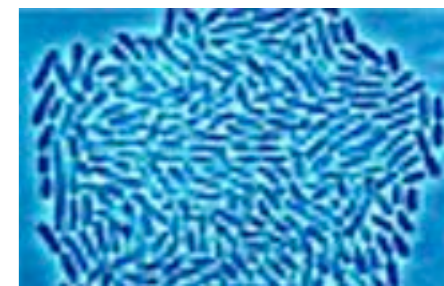
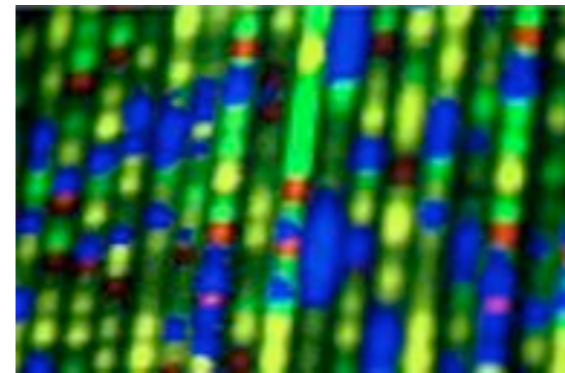
A. Lwoff, *L'ordine biologico*

E. Borek, *Il codice della vita*

B. Fantini, *La genetica classica e Le origini della biologia molecolare*, in P. Rossi (a cura di) *Storia della Scienza*.

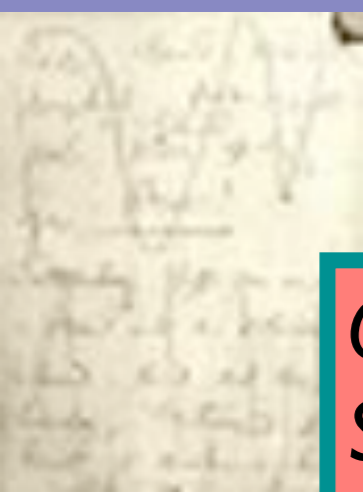
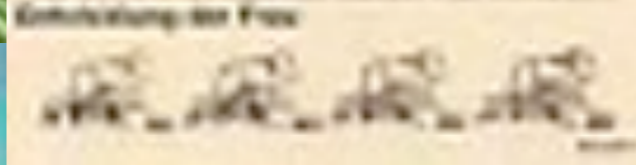
F. Crick, *La folle caccia*

J. Watson, *La doppia elica*

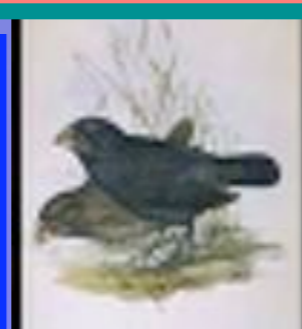




# Charles Darwin



*On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life (1859)*



*“There is grandeur in this view of life, with its several powers, having originally been breathed by the Creator into a few forms or into one”*





# Continuità e diversità



*Quale il padre, tale il figlio.*

*I contadini hanno sempre sparso i loro semi aspettando che essi germogliassero come copie identiche del seme gettato. Fin dal neolitico l'umanità ha fatto della genetica sulle specie animali e vegetali, senza saperlo. Gli allevatori di cavalli da corsa hanno tenuto per secoli accurate registrazioni delle genealogie dei loro purosangue. Ma sebbene si sapesse che certi caratteri variabili da un individuo all'altro vengono trasmessi dal genitore alla discendenza, i modi con cui l'eredità si attua rimasero sconosciuti fino a tempi molto recenti. La conoscenza di noi stessi è rimasta assai in ritardo rispetto a quella del mondo esterno. Johannes Kepler, quando trovò le leggi relative ai moti dei pianeti, pensava che i pesci potessero nascere per generazione spontanea dall'acqua salata del mare allo stesso modo in cui in cielo si formano le comete.*

*Così nella seconda metà del XIX secolo, quando eravamo padroni dei mari con enormi navi a vapore, non conoscevamo ancora quale fosse la probabilità che da genitori di occhi bruni nascesse una prole con occhi azzurri.*

*Lo stesso Darwin scriveva nel **1872**:*

*“Le leggi che governano l'eredità sono per la massima parte sconosciute. Nessuno sa dire come mai la stessa caratteristica in individui diversi della stessa specie, o in specie diverse, è talvolta ereditata e talvolta no; perché il bambino spesso ripresenta certe caratteristiche proprie di suo nonno o di sua nonna o di ascendenti ancor più lontani”.*



# Dagli *homunculi* ai piselli



Dall'epoca di Ippocrate e Aristotele e fino alla fine del XIX secolo, la trasmissione diretta dei caratteri dei genitori alla loro discendenza costituiva la spiegazione dominante del fenomeno dell'eredità. Nel XVII secolo si pensava, per esempio, che l'essere esistesse in uno stato preformato sotto forma di omuncolo rannicchiato nella testa dello spermatozoo... *Quel monstre est-ce que cette goutte de semence de laquelle nous sommes produits?* (Montaignes, *Essais*)

**Gregor Mendel (1822 - 1884)**  
Studia matematica e fisica a Vienna

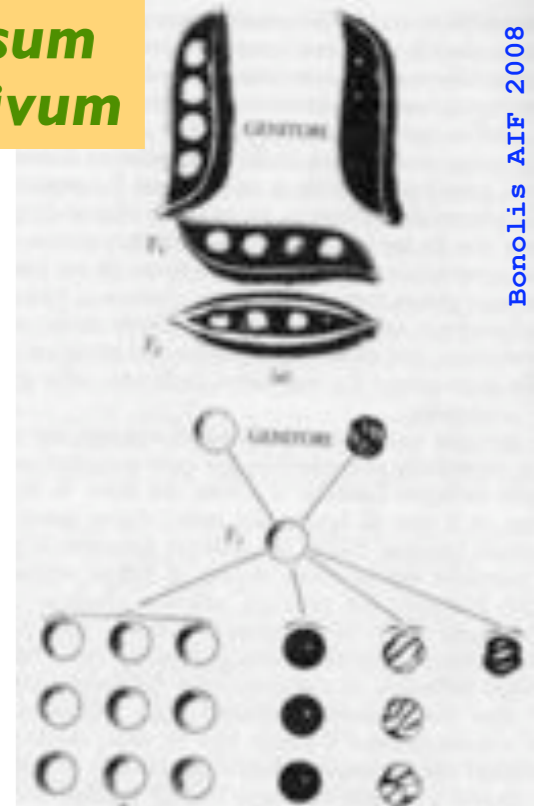


## Leggi di Mendel (1865)

*Pisum sativum*

(a) **Legge della segregazione** dei caratteri: quando una linea pura (monoibridismo) di piselli gialli viene incrociata con una linea pura di piselli verdi, la prima generazione (F1) è tutta di piselli gialli (**carattere dominante**). **Ma dagli incroci di due F1** si ottiene una seconda generazione (F2) composta da tre piselli gialli per ogni pisello verde.

(b) **Legge dell'assortimento indipendente** dei caratteri: se si incrociano linee pure che differiscono per più di un carattere (polibridismo), ciascuno si comporta indipendentemente dall'altro. Se due caratteri, come il colore e le caratteristiche della buccia del seme, vengono osservati simultaneamente, ognuno segrega indipendentemente dall'altro. Nella generazione F1 compariranno invariabilmente entrambi i caratteri dominanti, mentre nella generazione F2 si noteranno i tipici rapporti 9:3:3:1 (9 per i due caratteri dominanti, 3 per il primo carattere dominante e il secondo recessivo, 3 per il primo carattere recessivo e il secondo dominante e 1 per entrambi i caratteri recessivi).



È stato stimato che Mendel abbia complessivamente preso in considerazione circa 250.000 piselli.

Bonolis AIF 2008

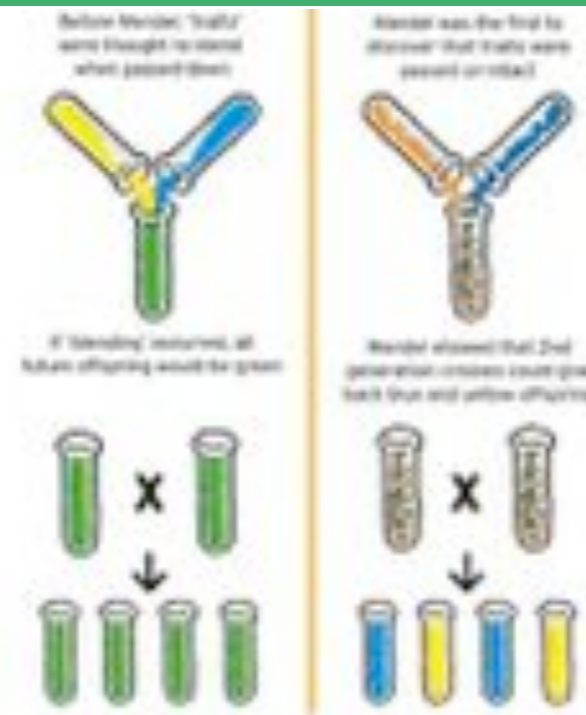
*Comptes Rendus de la Société d'Histoire naturelle de Brno, 1866*

**François Jacob:** Avec Mendel... les phénomènes de la biologie acquièrent soudain la rigueur des mathématiques. C'est toute une logique interne qu'imposent à l'hérédité la méthodologie, le traitement statistique et la représentation symbolique.

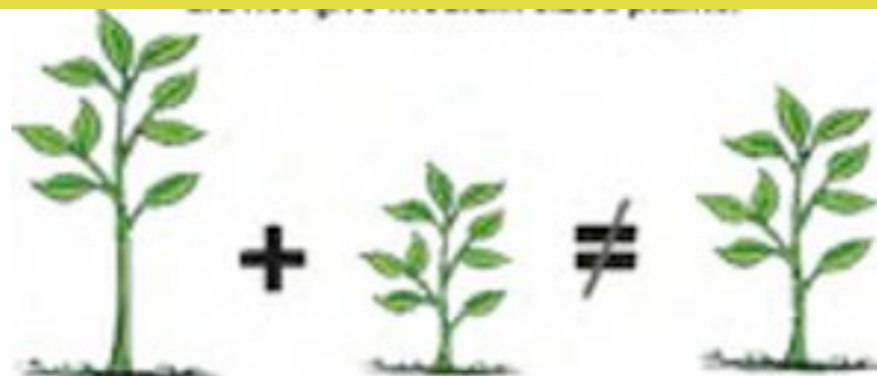
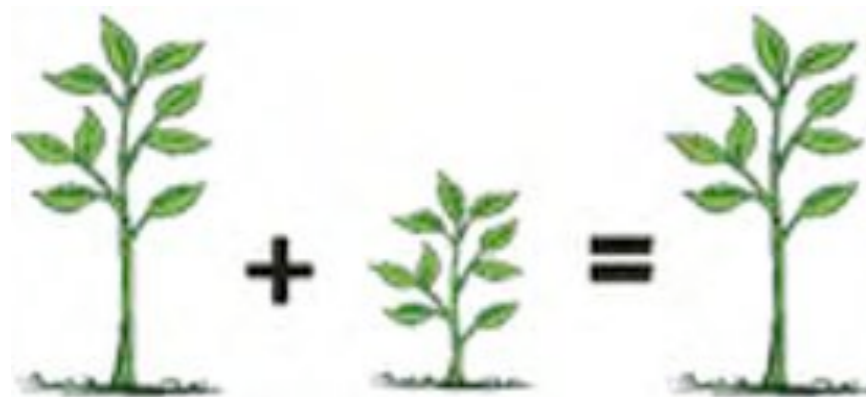
# Versione medioevale della grande catena dell'Essere basata sulle idee di Aristotele



Prima di Mendel: si pensava che i “tratti” si mescolassero (o si diluissero) nel corso della trasmissione. In questo caso tutta la progenie sarebbe stata di colore verde.





Nello stesso modo l'incrocio tra una pianta alta e una bassa non fornisce una pianta di media dimensione.



Tratti *dominanti* e *recessivi*: l'incrocio tra una pianta alta e una bassa può produrre una progenie alta. L'incrocio tra questi discendenti può produrre di nuovo piante basse secondo il rapporto 75 alte:25 basse. Mendel fu il primo a spiegare che i tratti potevano essere spiegati matematicamente in questo modo.

Mendel scoprì che i “tratti” venivano trasmessi inalterati, in *unità discrete*. I suoi studi mostravano che gli incroci della seconda generazione producevano sia esemplari blu che gialli

		
1.	45	12
2.	27	8
3.	24	7
4.	19	16
5.	32	11
6.	26	6
7.	88	24
8.	22	10
9.	28	6
10.	25	7
Total	336	107

Semi rugosi e semi lisci prodotti da dieci piante della generazione F1 secondo il rapporto 3:1 (dati dal lavoro di Mendel del 1866).

# I GENI

Le particelle ereditarie preformate - designate come *fattori, geni, caratteri elementari* etc. - non venivano in genere distinte dal carattere da esse veicolato, che si manifesta nell'individuo adulto.



Wilhelm L. Johannsen  
(1857-1927)

L'8 maggio del 1900, durante un viaggio in treno, William Bateson leggeva un articolo pubblicato nel 1866 da tale Johann Mendel... Colpito dal lavoro, riconosce la possibilità di dare una svolta ai suoi studi sull'evoluzione.

Nel 1905 **Bateson**, ormai un sostenitore delle idee di Mendel, usa la parola **genetica** in una lettera, manifestando l'esigenza di un nuovo termine per descrivere lo studio dell'eredità e delle variazioni ereditarie.

Il botanico danese **Wilhelm L. Johannsen** dimostrò la necessità **dell'esistenza di una sorgente di variazione genetica in una popolazione, prima che la selezione naturale potesse influenzarne l'evoluzione**. Nel 1909 fu il primo a introdurre e definire con chiarezza i termini **fenotipo** (manifestazione esteriore, apparenza di un individuo, o aspetto in un dato carattere) e **genotipo** (potenzialità ereditaria, base genica del fenotipo) e usa per la prima volta il termine **gene** per descrivere le "unità" mendeliane dell'eredità.

# Nascita della genetica moderna



Hugo de Vries (1848-1935) Carl Correns (1864-1933) Erich von Tschermak (1871-1962)

*The Journal of Heredity* XLII (4) 1951

THE REDISCOVERY OF GREGOR MENDEL'S WORK

An Historical Retrospect\*

ERICH VON TSCHERMAK-SEYSENEGG  
Hardtgasse 29, Wien, Austria

**1900 - I tre botanici confermano la fondatezza delle leggi e la estendono dai piselli ad altre specie vegetali.**

**H. de Vries, Teoria della mutazione (1901-1903).** Riscopre Mendel e si interessa alla teoria di Darwin chiedendosi se l'evoluzione sia un fenomeno graduale o avvenga per salti. Fa colture di varie piante erbacee e scopre che un piccolo numero di individui presentano una **variazione discontinua**, al contrario di Darwin che considera l'apparizione di nuove specie un processo di modifica progressiva (*Natura non facit saltum*). De Vries assimila invece questo fenomeno alla comparsa di una nuova specie e definisce il processo come una **mutazione**.

Superamento della teoria dell'*eredità diretta* e inizio della genetica moderna. Nuova strategia per la biologia: sostituire alle spiegazioni astratte delle relazioni osservabili tra fenomeni. **L'INNATO**, un insieme complesso a cui si ricorreva per spiegare il "carattere", assume ora l'aspetto di un insieme di elementi statisticamente trasmessi ai discendenti al momento della fecondazione.

1900-1911: Diffusione della spiegazione mendeliana e sua generalizzazione all'insieme dei fenomeni dell'eredità.

**William Bateson, Mendel's Principles of Heredity: A Defense (1902). Regno animale e regno vegetale obbediscono alle stesse leggi: "È Mendel, Mendel dovunque" (Bateson alla moglie, dagli Stati Uniti nel 1902).**

Opposizioni alla teoria mendeliana, considerata una costruzione ipotetica sprovvista di qualsiasi fondamento accertato.

Postulando l'esistenza di particelle che sarebbero state trasmesse di generazione in generazione, lo schema appariva un regresso a vecchie teorie incentrate su gerarchie di unità morfologiche le cui funzioni erano considerate inaccessibili alla conoscenza. La prospettiva fisiologica sembrava insostituibile per liberare la biologia dalle teorie speculative tipiche del tardo Ottocento.



1879

**Walter Fleming** osserva la **mitosi** e descrive il comportamento dei **cromosomi** durante i vari stadi della divisione delle cellule animali, per i quali coniò i termini *profase*, *metafase*, *anafase*.



1883: August Weismann: L'ereditarietà consiste nel trasferimento da una generazione all'altra del "plasma germinale."

# 1902: Teoria cromosomica dell'eredità

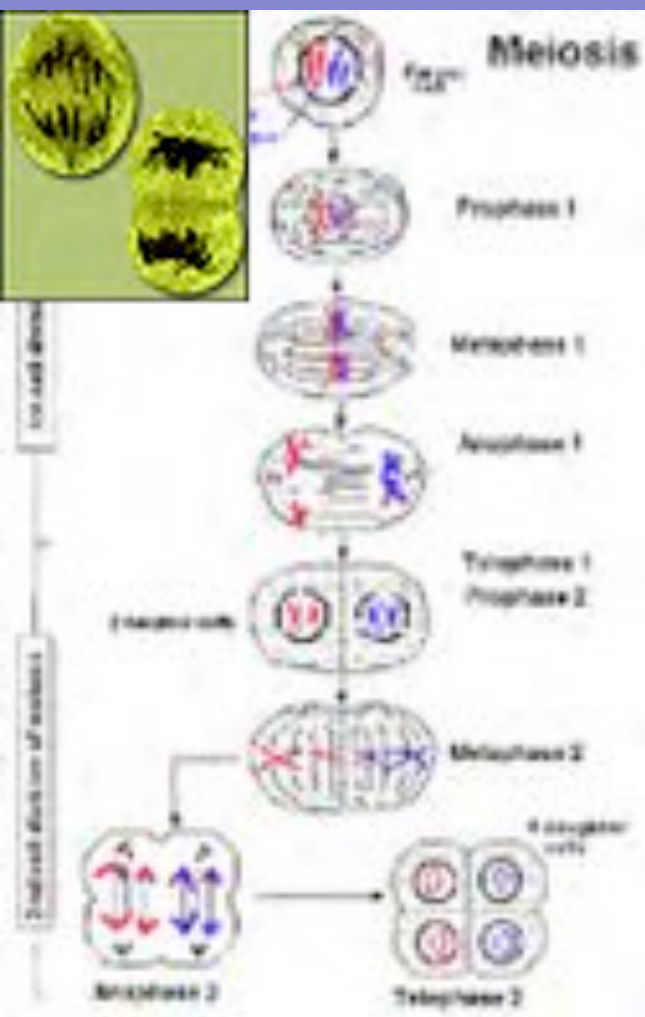


T. Boveri, 1910

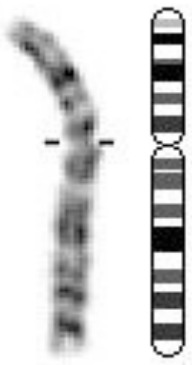
Relazione tra *citologia* (studio della struttura, funzione, e chimica delle cellule) e *mendelismo*. Si chiude il gap tra morfologia cellulare e eredità.



**Walter Sutton** (1877-1916) osserva che nel processo di divisione cellulare che produce gli spermatozoi e le cellule uovo, detto **meiosi**, ciascun spermatozoo o uovo riceve soltanto un cromosoma di ciascun tipo (In altre parti del corpo, le cellule hanno due cromosomi di ciascun tipo, ereditati ciascuno da un genitore). Lo schema della **segregazione dei cromosomi durante la meiosi era lo stesso dei geni mendeliani**. Sutton aveva osservato le cellule dei grilli, i cui cromosomi hanno forme molto diverse. Evidenziò il collegamento tra le leggi di Mendel e il comportamento dei cromosomi nel lavoro *The Chromosomes in Heredity* (1903). Tali conclusioni erano analoghe a quelle di **Theodor Boveri**, che nei tardi anni '80 dell'Ottocento aveva osservato che il numero dei cromosomi è diviso a metà nelle cellule uovo mature e concluse che gli spermatozoi e le cellule uovo hanno il loro insieme di cromosomi diviso a metà.



# I cromosomi come supporto dei “fattori” mendeliani



Fin dal 1879 Walter Fleming aveva descritto il comportamento dei cromosomi durante il processo di divisione delle cellule animali. Colora i cromosomi per osservarli meglio e descrive la mitosi.

Verso il 1910 si accumulano varie evidenze sperimentali **a favore dell'idea che i cromosomi siano strutture cellulari preposte alla trasmissione del patrimonio ereditario.**

**Non tutti concordano con questa interpretazione.**

1911-1922: Ricerca di una spiegazione unitaria intorno alla teoria cromosomica dell'eredità.

La localizzazione dei fattori ereditari sui cromosomi dà origine ad un nuovo programma di ricerca.

**All'inizio del Novecento il termine “ereditarietà” si riferisce sia alla trasmissione dei tratti, sia allo sviluppo di un uovo fertilizzato in un organismo adulto.**

\* Trasformazione della struttura teorica della biologia

\* Individuazione di nuovi oggetti sperimentali e nuove ipotesi esplicative

\* Nuovo inquadramento teorico delle conoscenze accumulate nei settori dell'embriologia, dell'evoluzione, della variabilità.

- Scoperta dei geni legati al sesso: legame tra cromosomi e eredità

- Geni collegati tendono ad essere ereditati insieme perché sono collocati sullo stesso cromosoma

- I genetisti usano i dati derivanti dalla ricombinazione per mappare i loci genetici sui cromosomi.

- Uso dei dati derivanti dal fenomeno del *crossover* per costruire le mappe genetiche

- La base cromosomica del sesso produce caratteri ereditari specifici

- Disturbi legati al sesso

- Alterazione nel numero dei cromosomi

- Alterazione della struttura cromosomica

# La stanza dei moscerini



Thomas H. Morgan: (1909) "Riconosco l'utilità di una teoria che ha permesso di ordinare i risultati in sequenza logica con la massima economia di ipotesi, eppure non posso fare a meno di temere che si stia rapidamente sviluppando una specie di rituale mendeliano con il quale spiegare i fatti anomali di ereditarietà per caratteri alternativi. Finché non perderemo di vista la natura puramente formale ed arbitraria delle nostre formulazioni, minimo sarà il danno; comunque è giusto mettere in evidenza che coloro che stanno svolgendo il proprio lavoro di ricerca ispirandosi al mendelismo sono coscienti della natura ipotetica dei fattori di Mendel"

Collegamento tra le leggi dell'ereditarietà e i cromosomi (separazione dall'embriologia).



**Premio Nobel 1933**

Thomas Hunt Morgan  
(1866-1943)



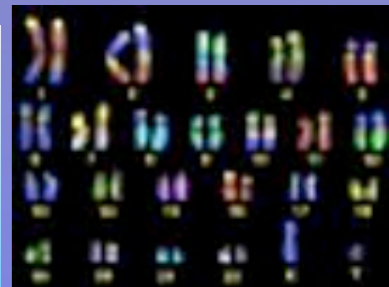
**Columbia University  
La stanza della Drosophila**

Alfred. H. Sturtevant  
(1891-1970)



Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli

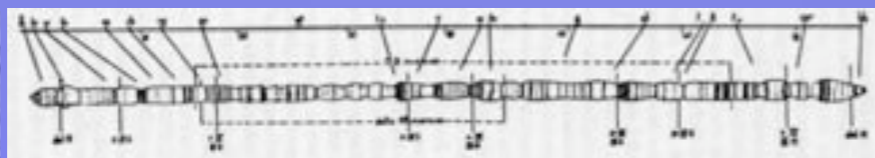
## La teoria cromosomica dell'ereditarietà e la topologia genetica



- Studio delle **mutazioni** (fenomeno scoperto da de Vries nelle piante) indotte attraverso trattamento con raggi X, radio ecc.
- Le mutazioni influenzano i fattori mendeliani (geni), disposti linearmente sui cromosomi come "le perle di una collana".
- Studio dell'ordine con cui i geni sono disposti e determinazione della distanza relativa all'interno dei cromosomi.
- **Mappe cromosomiche** e prime stime del numero di geni.
- Fenomeno del **crossing over** (rottura e riunione di frammenti di cromosomi contenenti gruppi di geni e scambio tra bastoncelli) come meccanismo di ulteriore variabilità nella trasmissione.



Calvin B. Bridges  
(1889 - 1938)



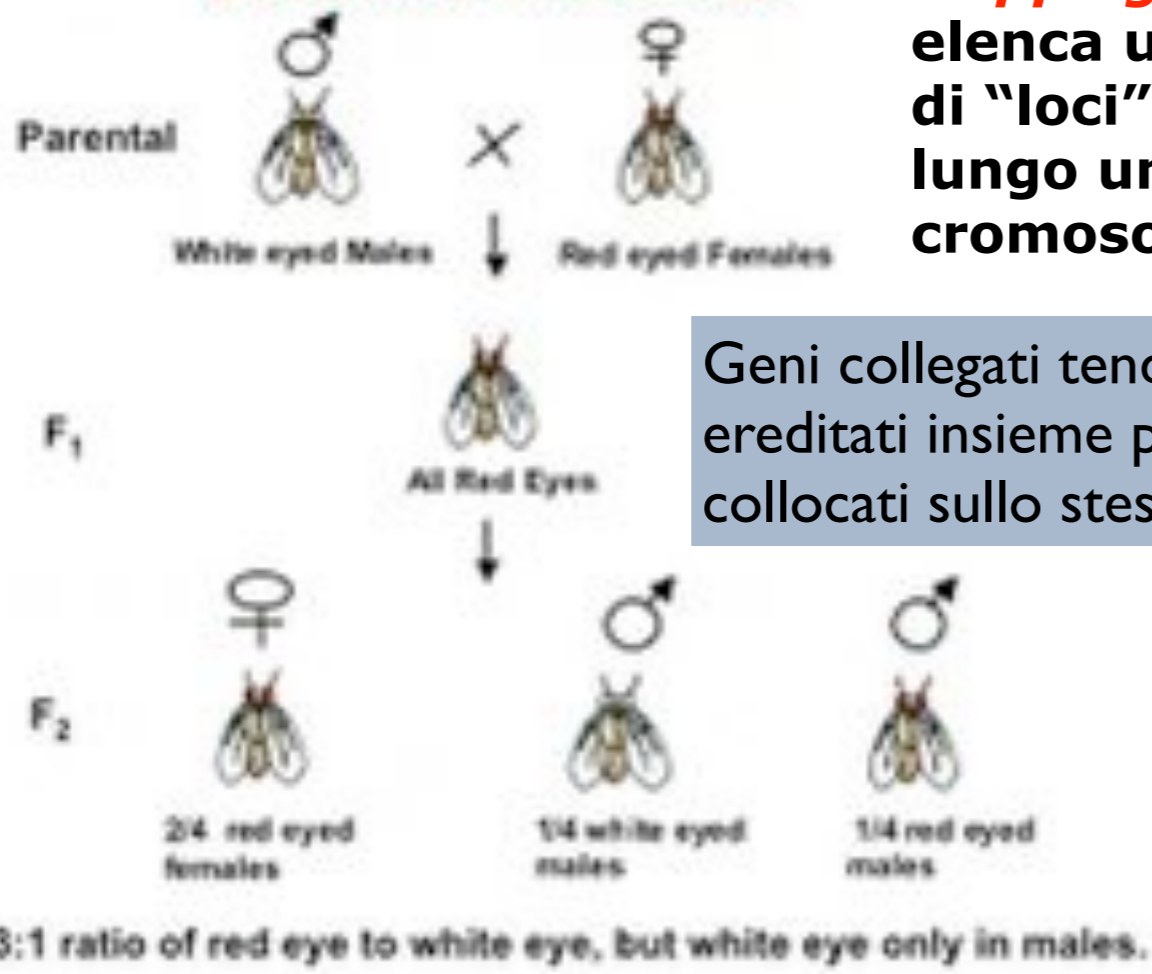
Hermann J. Muller  
(1890-1967)

**Premio Nobel 1946**



# Le coppie di cromosomi come base fisica delle leggi di Mendel dell'eredità

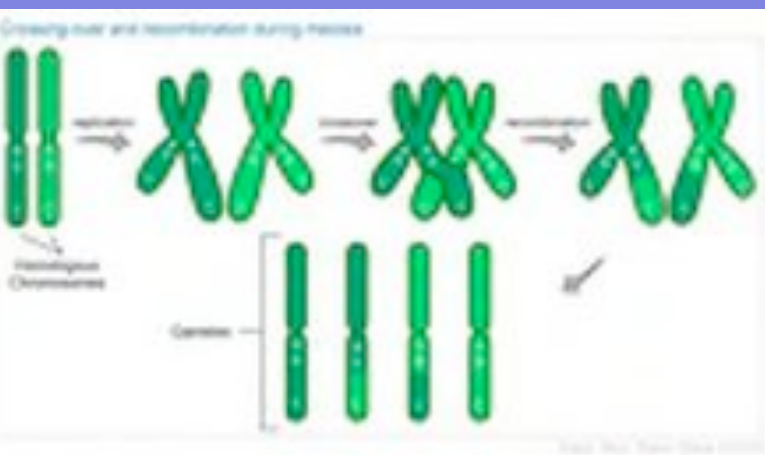
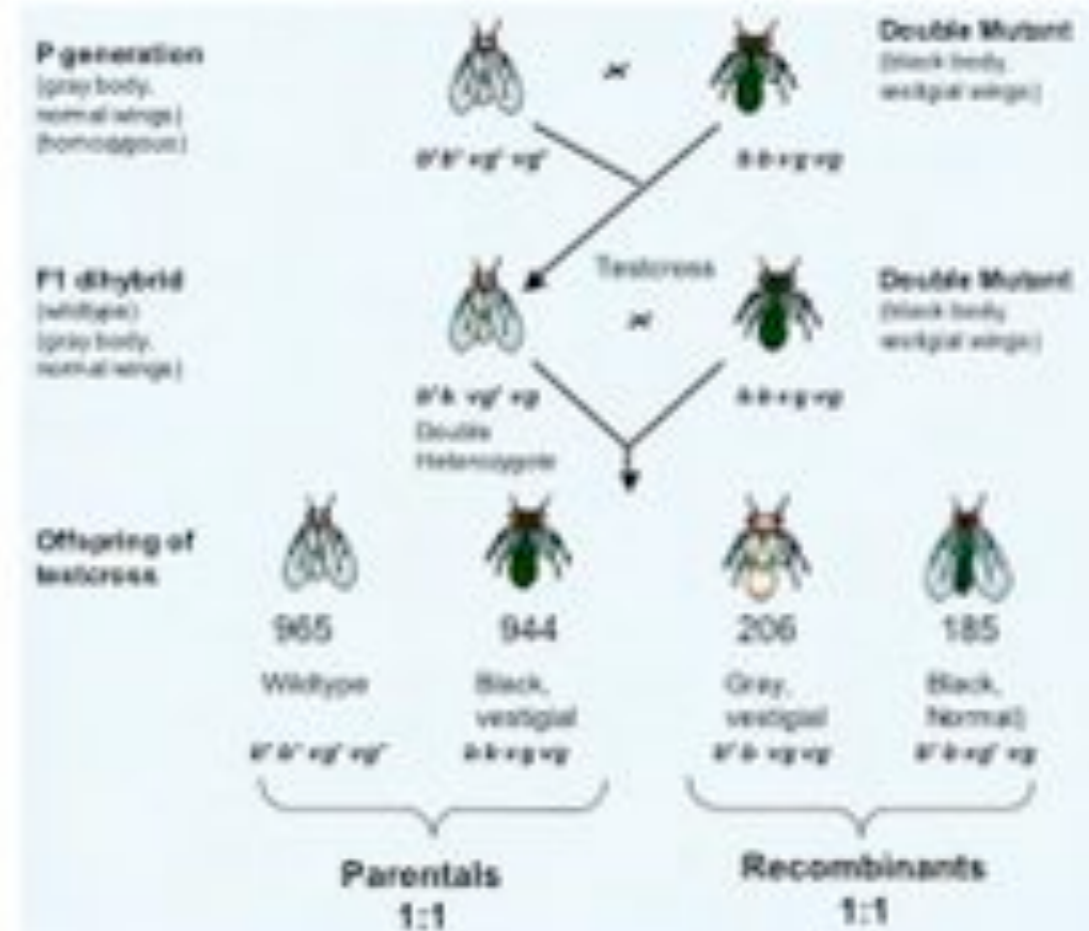
## Sex-linked Inheritance



**Mappa genetica** elenca una sequenza di "loci" genetici lungo un particolare cromosoma

Geni collegati tendono ad essere ereditati insieme perché sono collocati sullo stesso cromosoma

## Evidence for linked genes in *Drosophila*



All'inizio degli anni '20 le dimensioni stimate da Morgan per i geni erano di circa 20 millesimi di micron. Secondo questi calcoli il gene sembrava avere dimensioni di un ordine di grandezza superiore a quello di alcune molecole proteiche.

# T. H. Morgan: dal problema dell'evoluzione a quello dell'eredità



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1933

"for his discoveries concerning the role played by the chromosome in heredity"

Lo studio dell'eredità aveva acquisito più solide basi scientifiche. Le leggi dell'eredità erano state poste in relazione con i fenomeni citologici che ne stavano alla base. La natura chimica e fisica del gene era stata studiata sia direttamente che indirettamente.

La scuola di Morgan aveva mostrato che i geni potevano essere considerati i componenti materiali dei cromosomi, ma non aveva tentato di definirne la natura molecolare o di approfondire qualche aspetto della loro funzione biochimica.

Non era stato risolto un interrogativo: quali erano i passaggi o i meccanismi attraverso i quali il materiale genetico della cellula produceva i diversi caratteri?

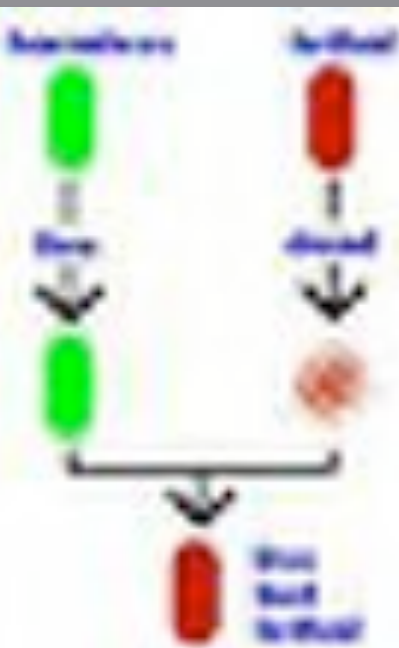
Come poteva la cellula trasformare l'informazione genetica, qualunque ne fosse la forma molecolare, in fenotipi specifici quali il colore degli occhi o la forma delle setole?



Thomas Hunt Morgan

# Trasformazioni genetiche nei batteri

Uno sconosciuto “principio” trasforma l'**inoffensivo ceppo R** del Diplococco nel **virulento ceppo S**.



Griffith's Streptococcus experiment

Treatment 1 (control)



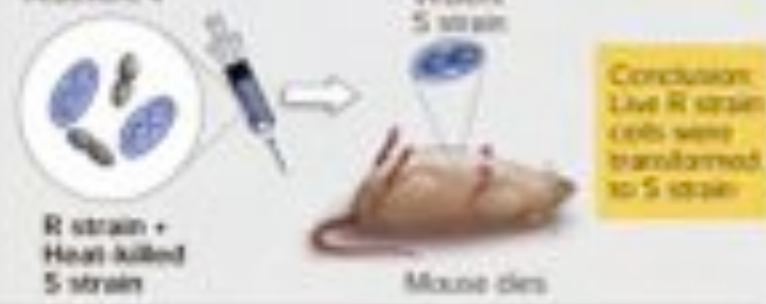
Treatment 2 (control)



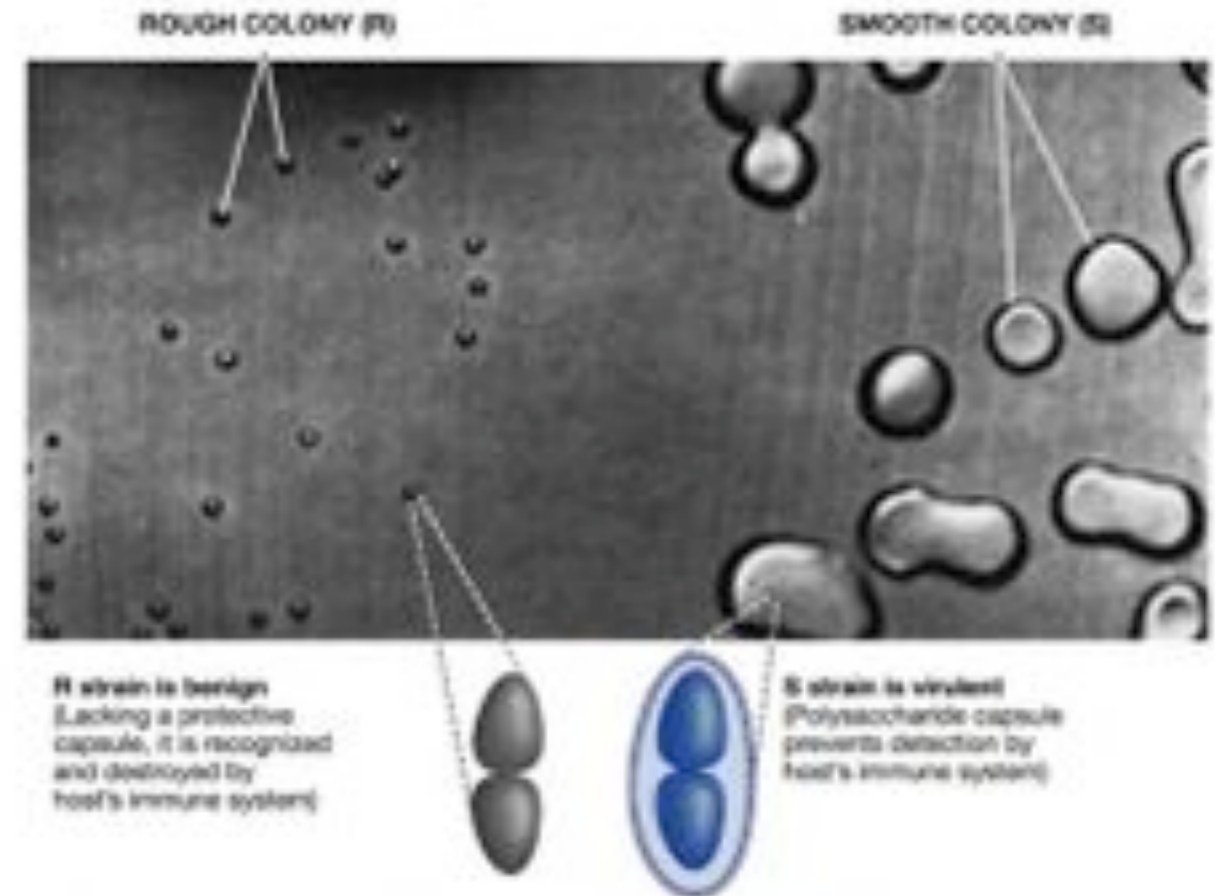
Treatment 3



Treatment 4



There are two strains of *Streptococcus pneumoniae*



**Nel 1928 Frederick Griffith** osserva una trasformazione genetica negli pneumococchi e suggerisce l'esistenza di un “fattore trasformante” all'interno delle cellule, in grado di far acquisire un carattere patogeno a batteri in cui era assente in precedenza: **cambiamento nel fenotipo dovuto all'assimilazione di materiale genetico esterno.**

# Quali sono i meccanismi dell'espressione dei geni?



Sir Archibald Garrod  
(1857 - 1936)

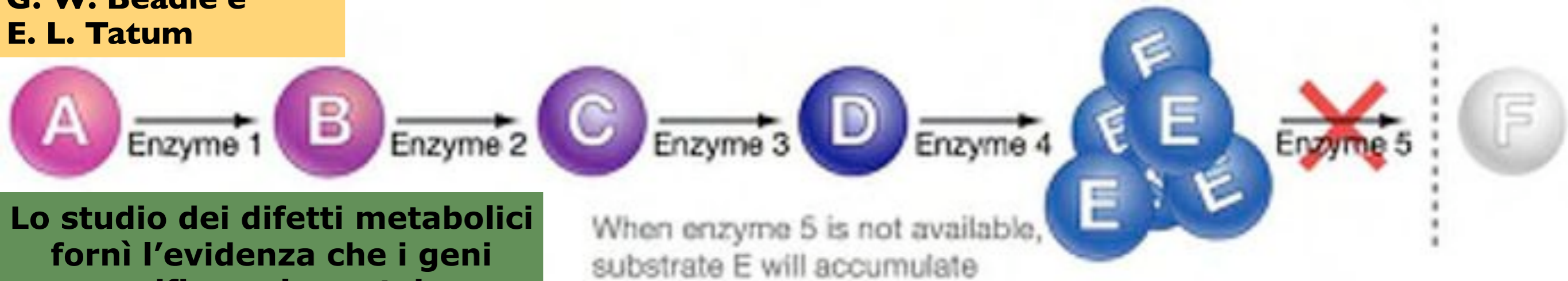
La risposta a questo interrogativo viene da quattro lavori fondamentali: quello di **Archibald Garrod** sulla base chimica delle malattie ereditarie, quello di **Oswald T. Avery** sullo pneumococco e gli esperimenti di **George Beadle e E. L. Tatum** sulla *Neurospora crassa*, e più tardi attraverso sofisticate indagini sulla genetica dei batteriofagi.

Nel 1902 **Archibald Garrod** osserva che l'alcaptonuria (presenza di elevati quantitativi di acido omogentisico, residuo metabolico nelle urine) viene ereditata secondo i principi di Mendel ed è dovuta a una rara **mutazione recessiva**. Fu una delle prime manifestazioni ricondotte a una causa genetica, ma il gene coinvolto resterà sconosciuto fino agli anni '90 del Novecento. Quasi contemporaneamente si scoprirono altre malattie, come l'**albinismo**, anch'esse caratterizzate da Garrod come "errori metabolici innati", il risultato della mancanza di uno specifico enzima.



**G. W. Beadle e  
E. L. Tatum**

# Convergenza tra biochimica e genetica connessione tra i geni e gli enzimi ruolo dei geni nel controllo del metabolismo cellulare



**Lo studio dei difetti metabolici fornì l'evidenza che i geni specificano le proteine**

**1909** - Analizzando il metabolismo di due aminoacidi (fenilalanina e tirosina) in persone che soffrono di malattie ereditarie, **Archibald Garrod** formula l'ipotesi dell'esistenza di una relazione diretta tra **geni** ed **enzimi**.

**1935/1936** - **Boris Ephrussi** e **George W. Beadle** dimostrano che la pigmentazione dell'occhio della *Drosophila* fa intervenire due ormoni **controllati da geni specifici, messaggeri chimici** che collegano dunque **geni** e **caratteri**.

**Tardi anni '30** - **Beadle e E. L. Tatum** studiano il fungo *Neurospora Crassa* dopo aver indotto mutazioni con raggi X e riescono a caratterizzare oltre cento geni e propongono che ciascun gene di un organismo è responsabile della produzione di una specifica proteina, la maggior parte dei quali funziona come enzima. **UN GENE-UN ENZIMA. Associazione sperimentale tra biochimica e genetica.** Ciascuna tappa di una catena di reazioni è controllata da un gene che permette la formazione di un enzima specifico, che la catalizza. Lo stesso gene, in seguito a mutazione, può divenire incapace di sintetizzare l'enzima, o addirittura sintetizzare un enzima inattivo. Altre mutazioni possono influire sulle proprietà delle emoglobine (malattia molecolare), come nel caso dell'anemia falciforme, una malattia genetica (carattere recessivo). **Risultati pubblicati nel 1941.** Nel 1946 Beadle succede a Morgan a Caltech. **Nel 1958 Beadle and Tatum condivisero con J. Lederberg, il premio Nobel per la Fisiologia o Medicina.**

# L'espressione dei geni

Le proprietà catalitiche degli enzimi risultavano responsabili della specificità degli esseri viventi. I geni controllavano la vita e la sintesi degli enzimi. **L'ipotesi più semplice non era forse che i geni fossero essi stessi degli enzimi capaci di autosintetizzarsi, di autoreplicarsi?**

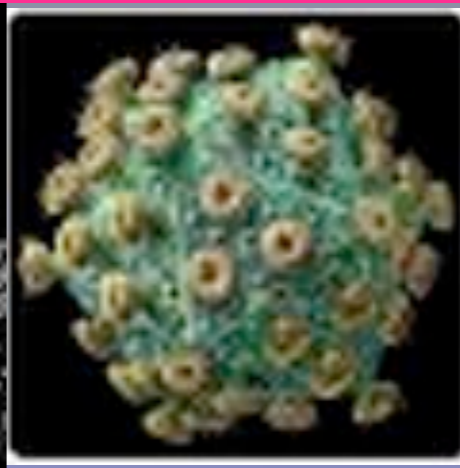
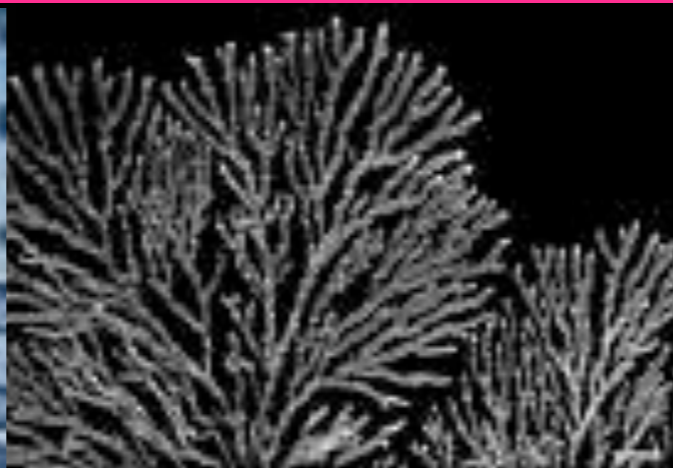
La nascita della genetica metabolica nel decennio che segue la prima guerra mondiale contribuisce a stabilire il concetto di gene come “unità di funzione”. Nel determinare la formazione delle proteine, le cui attività catalitiche o costruttive materializzano le caratteristiche cellulari, i geni determinano le proprietà della specie. Passaggio dalla nozione di carattere a quella di molecola (l'enzima o i polipeptidi) vale a dire di un elemento submicroscopico il cui studio permette di affrontare le modalità di azione dei geni.

Ma se i genetisti riescono a grandi linee a fornire **uno schema di funzionamento dei geni** concentrando i loro sforzi soprattutto sui **meccanismi della trasmissione ereditaria**, restano due domande principali a cui rispondere:

- 1) Di che cosa sono costituiti i geni, da un punto di vista fisico e chimico?**
- 2) Quali sono le basi biochimiche del determinismo genetico delle proteine?**

Nel fornire la risposta a questi due interrogativi la genetica uscirà dalla sua età classica e inizierà a svilupparsi la biologia molecolare del gene.

# Dai piselli ai virus



Nel corso di oltre mezzo secolo le indagini genetiche impiegarono organismi via via più piccoli. Gregor Mendel, per i suoi esperimenti, aveva usato piante di pisello che potevano raggiungere un'altezza di oltre un metro e il cui sviluppo richiedeva settimane. Più tardi, gli esperimenti vennero eseguiti utilizzando la *Drosophila*, un organismo appena visibile a occhio nudo, che si sviluppa in circa dieci giorni. La *Neurospora crassa* era un fungo minuscolo e con i successivi lavori sui virus chiamati "batteriofagi", le dimensioni degli organismi studiati si ridussero a livello submicroscopico e il corrispondente intervallo di tempo nel quale si poteva osservare l'evento più importante dal punto di vista genetico, l'autoreplicazione o "autocatalisi" (trasformazione di una parte del protoplasma cellulare in un prodotto finale identico al gene originario) scendeva a 13-14 minuti.

Ma l'interrogativo principale non era ancora stato risolto: qual era la molecola chimica responsabile del comportamento genetico dell'organismo?

# Nascita della biologia molecolare

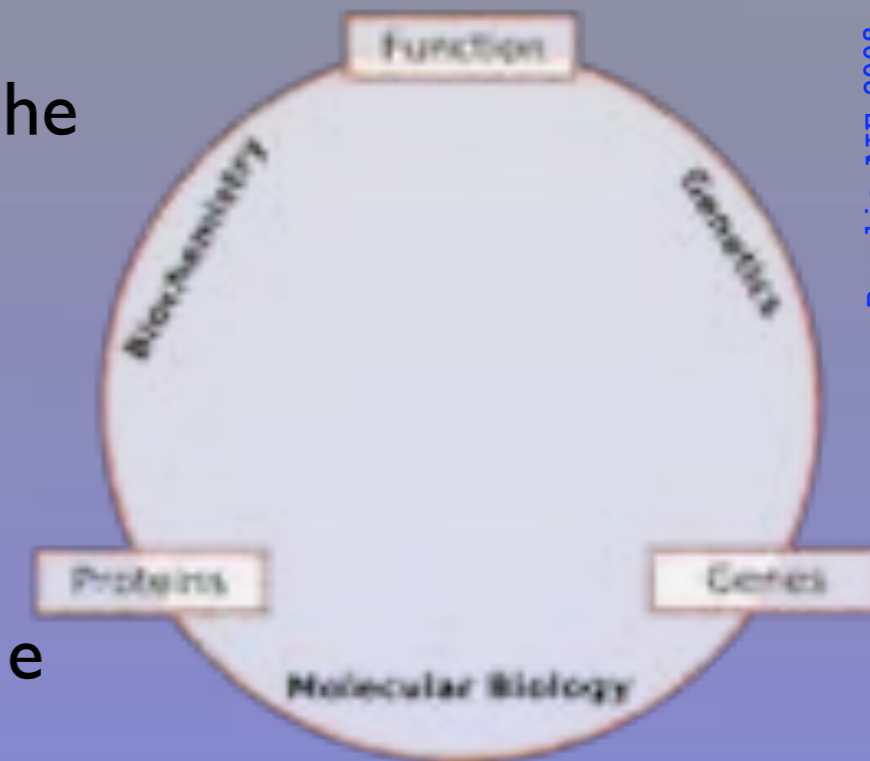
Storicamente tre linee di ricerca sono confluite in quella che oggi conosciamo come biologia molecolare.

1. *Strutturistica*: relativa all'analisi della struttura delle molecole biologiche, in particolare dei problemi spaziali tridimensionali inerenti alla configurazione delle molecole e all'influenza di tale struttura sulla loro funzione specifica.

2. *Biochimica*: relativa allo studio della chimica dei processi biologici, alla sintesi delle molecole biologicamente attive e alle interazioni cui sono soggette le molecole biologiche nell'ambito del metabolismo cellulare e dei meccanismi dell'ereditarietà (ruolo, funzione e struttura delle biomolecole).

3. *Informazionale*: relativa sia al trasferimento di informazione da una generazione di organismi all'altra che ai meccanismi che traducono l'informazione in ciascuna molecola biologica.

Questi filoni di ricerca sono rimasti relativamente separati fino alla fine degli anni '50.



# Entrano in scena i fisici

Due ostacoli dovevano essere superati perché il ruolo del DNA come costituente dei geni potesse essere seriamente preso in considerazione. Il primo cambiamento necessario era quello di una separazione: dissociare il problema della natura dei geni da quello del loro meccanismo di azione.

Contrariamente ai biochimici, i genetisti erano preparati da tempo a questa dissociazione. Ma furono i fisici, che di fronte alla complessità incredibile e in parte irrazionale della biochimica, si posero il problema della genetica in termini di trasferimento di informazione e quello della natura dei geni in termini di supporto dell'informazione. Allontanarono il gene dai suoi effetti nella cellula, e lasciarono il campo libero ad altri tipi di relazioni tra i geni e le proteine, in luogo dell'interazione diretta proteina-proteina.

Questo modo diverso di guardare al ruolo dei geni si impose in associazione a un nuovo metodo sperimentale nel quale lo studio del trasferimento e della replicazione dei geni era più importante che la caratterizzazione delle loro funzioni. Il sistema studiato fu il batteriofago, studiato dal cosiddetto **gruppo del "fago"**, un sistema sperimentale del tutto nuovo. I batteriofagi, virus che infettano i batteri, furono scoperti nel 1915, ma a lungo considerati una curiosità di laboratorio, oggetto dell'interesse dei microbiologi o dei patologi specializzati nello studio delle malattie infettive. Possono subire mutazioni. Una nuova concezione del ruolo dei geni fece poco a poco abbandonare l'idea che i geni controllassero, a distanza come dei catalizzatori, il funzionamento degli organismi, in favore del modello attuale della biologia molecolare in cui i geni determinano, nel più piccolo dettaglio chimico, lo sviluppo e il funzionamento degli esseri viventi.

# I geni come unità strutturali discrete e le mutazioni indotte dai raggi X



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946

"for the discovery of the production of mutations by means of X-ray irradiation"



Hermann Joseph Muller

Lo studio delle mutazioni indotte artificialmente nella *Drosophila* per mezzo dei raggi X condotte da Hermann Muller all'inizio degli anni '20 fornirono evidenze sulla natura discreta dei geni, dimostrando che gli effetti delle radiazioni sui tassi di mutazione indicavano una proporzionalità diretta tra la dose di raggi X e il numero di mutazioni indotte. Tale rapporto suggeriva un'azione diretta dei quanti di radiazione sul gene che indusse diversi fisici, fra cui Max Delbrück, a interrogarsi sulla natura chimica e fisica del gene partendo dalle modificazioni indotte dal trattamento con radiazioni.

# Max Delbrück -- Nobel Lecture (1969)

During the years 1932-1937, while I was assistant to Professor Lise Meitner in Berlin, a small group of theoretical physicists held informal private meetings, at first devoted to theoretical physics but soon turning to biology. Our principal teacher in the latter area was the geneticist, Timofeeff-Ressovsky, who together with the physicist, K.G. Zimmer, at that time was doing by far the best work in the area of quantitative mutation research. A few years earlier H.J. Muller had discovered that **ionizing radiations produce mutations** and the work of the Berlin group showed very clearly that these mutations were caused either by single pairs of ions or by small clusters of them. **Discussions of these findings within our little group strengthened the notion that genes had a kind of stability similar to that of the molecules of chemistry. From the hindsight of our present knowledge one might consider this a trivial statement: what else could genes be but molecules?** However, in the mid-thirties, this was not a trivial statement. Genes at that time were algebraic units of the combinatorial science of genetics and it was anything but clear that these units were molecules analyzable in terms of structural chemistry. They could have turned out to be submicroscopic steady state systems, or they could have turned out to be something unanalyzable in terms of chemistry, as first suggested by Bohr and discussed by me in a lecture twenty years ago ... It is true that our hope at that time to get at the **chemical nature of the gene by means of radiation genetics never materialized.**

To illustrate our state of mind at that time I will append to this lecture\* a memorandum on the "Riddle of Life", written to clarify my own thinking in the fall of 1937, just before leaving Germany to go to the United States. I found this note a few years ago among my papers. **This memorandum would appear to be a summary of discussions at a little meeting in Copenhagen, arranged by Niels Bohr, to which Timofeeff-Ressovsky, H.J. Müller and I had travelled from Berlin.** These discussions occurred very much under the impact of the W. M. Stanley findings reporting the crystallization of tobacco mosaic virus [1935]...

# Max Delbrück -- Nobel Lecture (1969)

## \* Appendix

**\*[Appendix, 1937]** These recent results all agree in showing a remarkable uniformity in the behavior of individuals belonging to one species of virus in preparations employing physical or chemical treatments mild enough not to impair infective specificity... These results force us to the view that the viruses are things whose atomic constitution is as well defined as that of the large molecules of organic chemistry... **The similarity between virus and molecule is particularly apparent from the fact that virus crystals can be stored indefinitely without losing either their physico-chemical or infectious properties.**

**Therefore we will view viruses as molecules.** If we now turn to that property of a virus which defines it as a living organism, namely, its ability to multiply within living plants, then we will ask ourselves first whether this accomplishment is that of the host, as a living organism, or whether the host is merely the provider and protector of the virus, offering it suitable nutrients under suitable physical and chemical conditions. In other words, we are asking whether we should view the injection of a virus as a stimulus which modifies the metabolism of the host in such a way as to produce the foreign virus protein instead of its own normal protein, or whether we should view the replication as an essentially autonomous accomplishment of the virus and the host as a nutrient medium which might be replaced by a suitably offered synthetic medium... we will look on virus replication as an autonomous accomplishment of the virus, for the general discussion of which we can ignore the host... **we want to look upon the replication of viruses as a particular form of a primitive replication of genes,** the segregation of which from the nourishment supplied by the host should in principle be possible. **In this sense, one should view replication not as complementary to atomic physics but as a particular trick of organic chemistry.**

Such a view would mean a great simplification of the question of the origin of the many highly complicated and specific molecules found in every organism in varying quantities and indispensable for carrying out its most elementary metabolism. One would assume that these, too, can replicate autonomously and that their replication is tied only loosely to the replication of the cell. It is clear that such a view in connection with the usual arguments of the theory of natural selection would let us understand the enormous variety and complexity of these molecules, which from a purely chemical point of view appears so exaggerated.



# Niels Bohr, Max Delbrück, Erwin Schrödinger



Bonolis AIF 2008

H. J. Muller (1935): “La fisica all’attacco dei problemi della genetica”. La fisica e la chimica hanno gli strumenti per risolvere un problema centrale: la replicazione del materiale ereditario.

N. W. Timofeeff-Ressovsky, K. G. Zimmer, M. Delbrück: “**Il problema chiave della biologia, dal punto di vista di un fisico, è come la materia vivente è in grado di registrare e perpetuare le sue esperienze**” (Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur, *Nachrichten der Biologischen Gesellschaft für Wissenschaft*, 1935).

Seguendo le idee di Niels Bohr, Delbrück si mise alla ricerca delle “nuove leggi della natura” che avrebbero dovuto spiegare i fenomeni biologici : teoria molecolare del gene che cercava di trovare una spiegazione fisica per l’origine delle mutazioni. La chiave di spiegazione dell’evoluzione è nella “riproduzione covariante rispetto alle mutazioni”

Il pensiero di Delbrück sulle basi fisiche della vita e la teoria molecolare del gene ebbero una considerevole influenza su Erwin Schrödinger.



Il libro di Schrödinger *WHAT IS LIFE?*, pubblicato nel 1944 si basava su una serie di conferenze pubbliche tenute al *Trinity College* di Dublino, nel febbraio 1943.

Il tema era: “in che modo gli eventi nello spazio e nel tempo che avvengono nei confini spaziali di un organismo vivente possono essere descritti dalla fisica e dalla chimica?”

Il libro si pone tre problemi con i quali chimici e genetisti si erano confrontati a più riprese:

- 1) In che modo l’organismo resiste alla tendenza alla distruzione della propria organizzazione, implicita nel secondo principio della termodinamica;
- 2) In che modo la sostanza ereditaria si mantiene inalterata nonostante l’agitazione termica;
- 3) Con quale meccanismo tale sostanza si può riprodurre con tanta fedeltà.

Per Schrödinger il vero problema è la spiegazione del meccanismo ereditario e il rapporto fra questo problema e le dimensioni dei geni. Riprendendo un modello chimico del gene proposto da Delbrück introduce il modello del “cristallo aperiodico” che porta il codice ereditario. Il gene deve essere un cristallo, perché solo un cristallo può mantenere una morfologia regolare e servire da modello per la formazione di altri cristalli, ma deve al tempo stesso essere non regolare, per garantire la variabilità necessaria per il substrato materiale dell’ordine.



# Il gruppo del “fago”



Alfred Hershey  
(1908 - 1997)

Max Delbrück: la **riproduzione dei virus** è la forma più semplice di autoreplicazione. Principio metodologico: utilizzare **oggetti semplici per studiare un problema complesso** usando il più possibile una **formalizzazione astratta**.

**Il batteriofago come sistema modello per affrontare lo studio degli esseri viventi**



Max Delbrück  
(1906 - 1981)  
Salvador Luria  
(1912 - 1991)

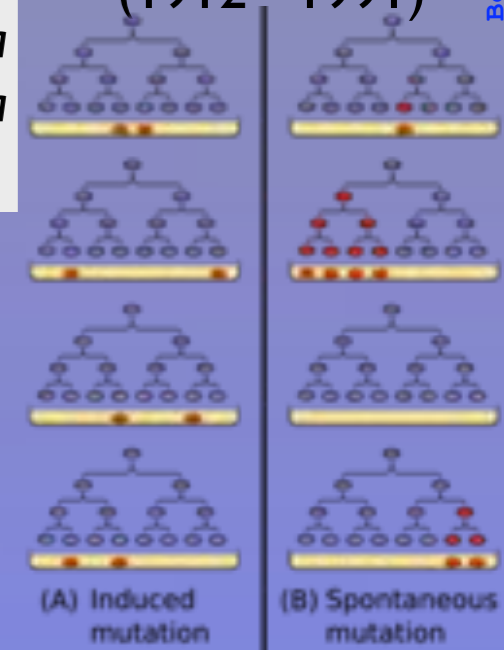
Bonolis AIF 2006

Gli organismi sono una “*unità indissolubile*” e i fisici devono essere preparati a considerarla “essenziale”, non riducibile alla fisica molecolare: “*L’analisi deve essere fatta nei termini propri della cellula vivente e le teorie devono essere formulate senza timore di contraddire la fisica molecolare*” (Trovare altre leggi della fisica, valide per i sistemi biologici).

Nel 1937 Max Delbrück si sposta negli Stati Uniti per seguire i suoi interessi nel campo della biologia e inizia a lavorare a Caltech sulla genetica della *Drosophila melanogaster*, venendo a conoscenza dei batteri e dei loro virus, i **batteriofagi**.

La collaborazione con Salvador Luria iniziò verso il 1940 con una serie di esperimenti sulle modalità di infezione nel caso di ceppi diversi di batteri e batteriofagi. Stabilirono subito che un singolo batterio può essere infettato da un solo ceppo di fago.

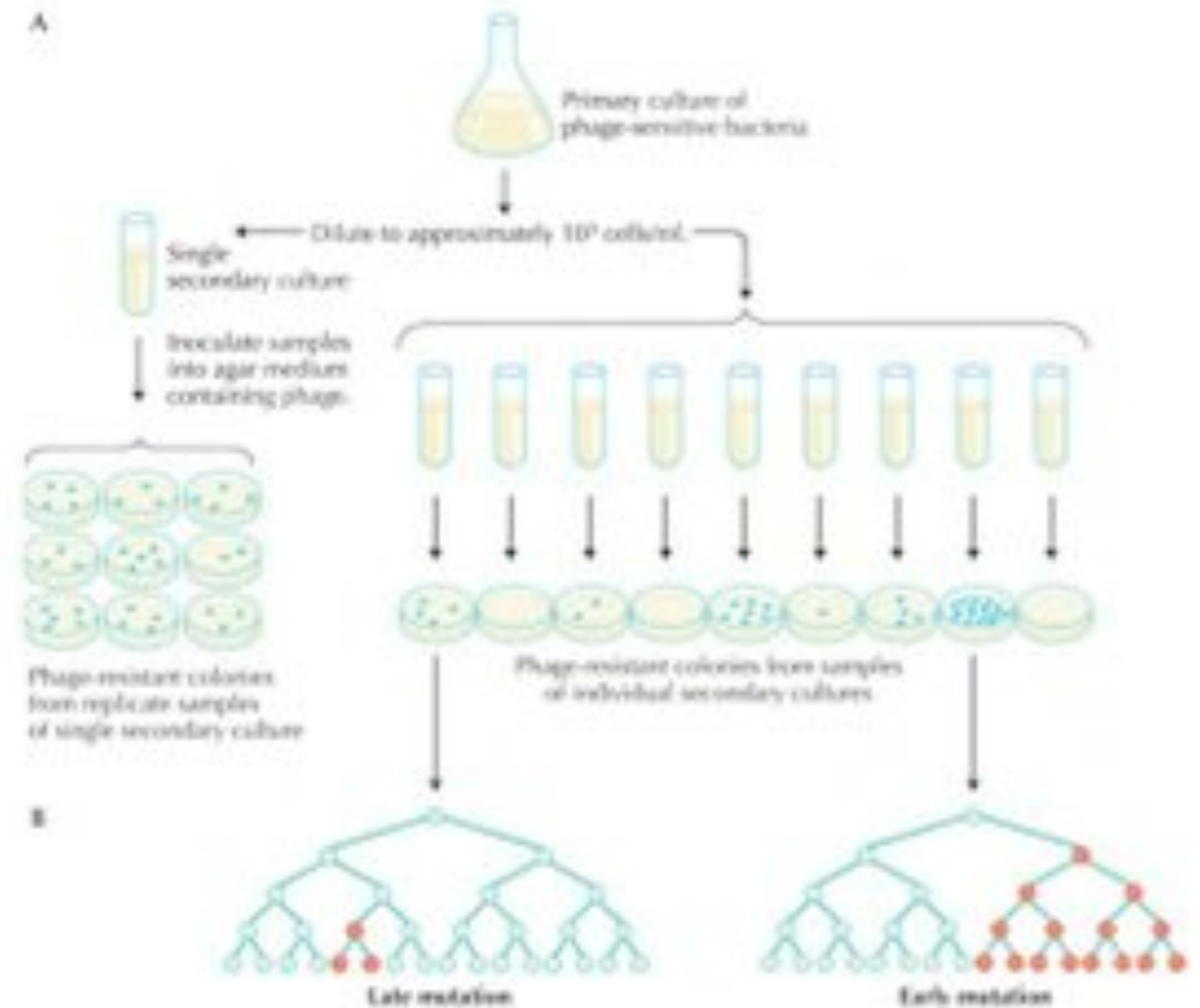
Nel 1943, mostrarono che le mutazioni genetiche riguardo la resistenza agli antibiotici insorgono per *mutazioni casuali e non per cambiamenti di tipo adattativo* calcolando il tasso di mutazione spontanea. Questa ricerca, nota come l’**esperimento Luria-Delbrück**, fu significativo per l’uso della matematica nel fare previsioni quantitative dei risultati attesi da modelli alternativi. Luria e Delbrück iniziarono quello stesso anno a lavorare con Alfred Hershey, con cui nel 1968 condivisero il Premio Nobel per la Fisiologia o Medicina “per il lavoro sul meccanismo di replicazione e sulla genetica dei virus”. Nel 1945 Delbrück organizzò un corso sul fago al Cold Spring Harbor Laboratory, che durò per 26 anni consecutivi. Questo corso rappresentò la prima base per l’addestramento delle prime due generazioni di biologi molecolari.



**Esperimento Delbrück-Luria**  
L’ereditarietà nei batteri segue i principi darwiniani e non lamarckiani. I concetti della genetica e la teoria darwiniana della selezione naturale si applicano anche ai batteri.

# Esperimento Luria-Delbrück

Si abbatte l'ultimo rifugio del Lamarckismo



**FIGURE 12.22.** Fluctuation test. (A) The protocol as used by Luria and Delbrück to study the origin of mutations. Their test focused on mutations in bacteria that conferred resistance to killing by phage. The test was designed to determine if such mutations arose prior to exposure to the phage or specifically in response to exposure. A primary culture of bacteria was grown that had been inoculated with a phage-sensitive strain. Multiple secondary cultures were made by transferring small amounts of the primary culture to new growth media. The secondary cultures underwent many rounds of replication. Subsamples of each culture were removed, mixed with phage, and placed onto growth plates. After several days, the number of colonies on each plate was counted. This number is a measure of the number of cells in the subsample that were able to resist killing by the phage. There were two key results in this experiment. First, replicate subsamples from a single secondary culture gave similar numbers of phage-resistant colonies (shown on the left). Second, and more importantly, different secondary cultures of the same primary culture yielded wildly different numbers of colonies (shown on the right). They concluded that this "jackpot" pattern could only occur if mutations in the bacteria arose prior to their exposure to the phage. (B) Mutations that occurred late in the growth of the secondary culture would yield few mutant cells (shown in red), and thus few colonies, at the end of the growth of the culture (tree on the left). Mutations that occurred early would yield many mutants, and thus many colonies (tree on the right).

Attraverso il **test di fluttuazione** concepito da Luria per stabilire la distribuzione statistica dei batteri resistenti in diverse colture indipendenti e il calcolo del tasso di mutazione spontanea, i fenomeni microbiologici di adattamento vengono ricondotti a una spiegazione genetico-evoluzionistica



# The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969

"for their discoveries concerning the replication mechanism and the genetic structure of viruses"



**Max Delbrück**

③ 1/3 of the prize



**Alfred D. Hershey**

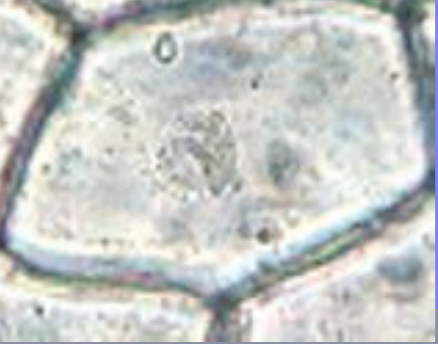
③ 1/3 of the prize



**Salvador E. Luria**

③ 1/3 of the prize

# Dalla *nucleina* al DNA



**1839: Theodore Schwann**, un fisiologo tedesco, estendeva la teoria di Matthias Schleiden (che descriveva le cellule delle piante come dotate di nuclei) applicandola agli animali e affermando che tutti gli organismi viventi sono composti da cellule:

- 1) La cellula è l'unità strutturale, fisiologica e organizzativa degli organismi viventi;
- 2) La cellula ha una funzione duale come entità distinta e mattone degli organismi viventi;
- 3) Le cellule si formano liberamente, in analogia ai cristalli (generazione spontanea).

Studiando i leucociti presenti nel pus, **Friedrich Miescher** isolò un materiale insolitamente ricco di fosforo. Si pensava all'epoca che tali cellule fossero formate principalmente da proteine, ma Miescher notò la presenza di qualcosa che "non può appartenere ad alcuna sostanza proteica attualmente nota".

Mostrò che la nuova sostanza derivava esclusivamente dal nucleo della cellula e quindi la chiamò **nucleina**. Mostrò anche che poteva essere ottenuta da molte altre cellule. Il suo articolo, sottoposto nel 1869, fu bloccato per due anni in attesa che i suoi risultati fossero confermati.



**Il laboratorio di Miescher a Tübingen**

Nel 1889 Richard Altman ridenominò la sostanza **acido nucleico**.

# I componenti degli acidi nucleici

**La scoperta della nucleina fu solo il primo passo verso la comprensione del ruolo biologico e della struttura chimico-fisica di questa sostanza.**

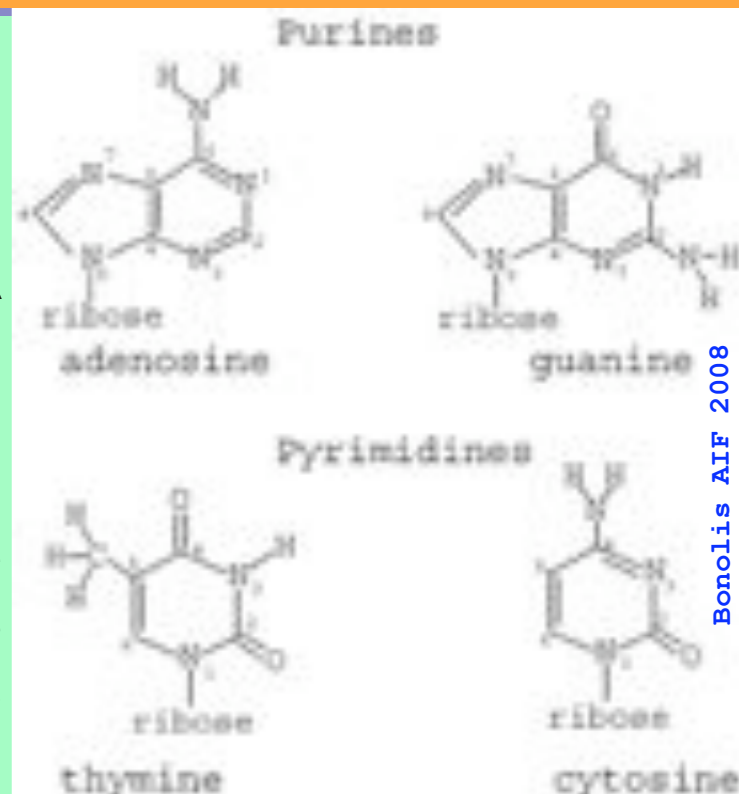
Gli studi sugli acidi nucleici rivelarono che queste sostanze erano molto più complesse di quanto non si

pensasse inizialmente, anche se la piena comprensione della loro struttura e della loro funzione biologica si presentava tutt'altro che semplice. Alla fine del Novecento erano state già individuate le purine e le pirimidine, ma il solo fatto di decidere quale delle molte purine e pirimidine facesse realmente parte degli acidi nucleici si rivelò un compito estremamente laborioso.

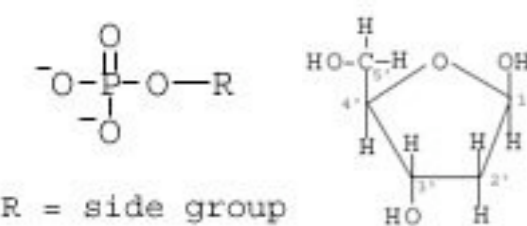


Phoebus Aaron Theodore Levene (1869-1940), cresciuto a S. Pietrouργο e emigrato con la famiglia negli Stati Uniti nel 1891 a causa dei pogrom antisemiti.

Nel 1909 Levene e Jacobs identificarono il D-ribosio come lo zucchero presente nell'acido nucleico del lievito. Studiando la struttura e la funzione degli acidi nucleici Levene, caratterizzò le differenti forme **RNA** e **DNA**, trovando che il **DNA** conteneva **adenina, guanina, timina, citosina, desossiribosio** e un **fosfato**. **L'RNA conteneva ribosio e uracile**. Levene assunse erroneamente che il DNA avesse uguali quantità di ciascuna delle quattro basi azotate organizzate in lunghe catene con un ordine invariabile (1919): **Teoria del tetranucleotide: (AGCT)<sub>n</sub>**.



Bonolis AIF 2008



**Sino all'introduzione della cromatografia non fu possibile realizzare un'analisi quantitativa efficace dei rapporti tra le basi. Fino al 1940 nessuno mise in discussione l'ipotesi del tetranucleotide, l'equimolarità delle quattro basi negli acidi nucleici.**

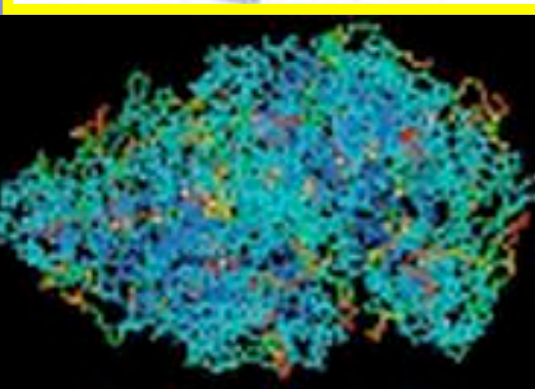
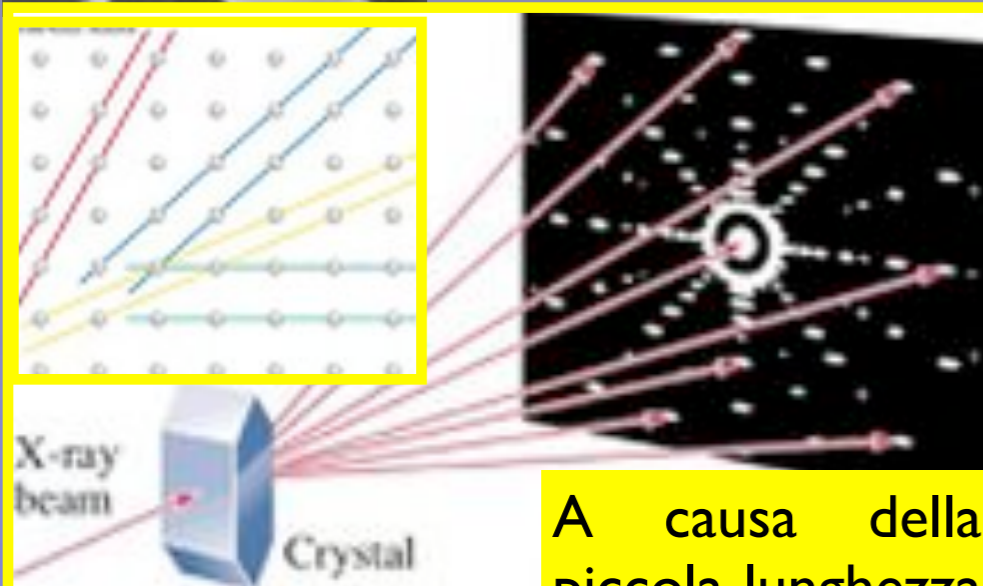
# Diffrazione dei raggi X



Max von Laue  
Premio Nobel  
per la Fisica 1914



Sir William Henry Bragg fu un pioniere nella determinazione della struttura dei cristalli con il metodo della cristallografia a raggi X, per il quale lui e suo figlio William Lawrence Bragg ebbero il **Premio Nobel per la Fisica nel 1915**.



A causa della piccola lunghezza d'onda dei raggi X i cristalli funzionano da reticolo di diffrazione.

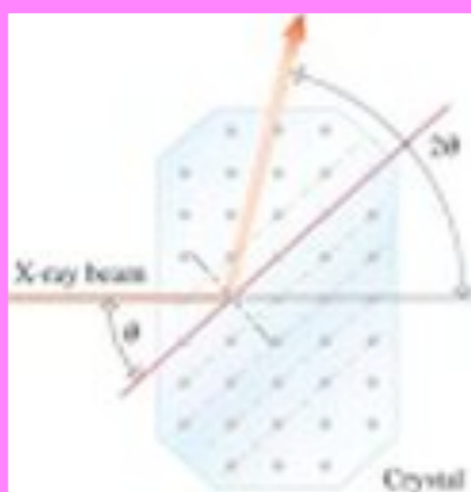
Cambio di clima scientifico: chimici e biologi sono costretti ad accettare l'esistenza in natura di molecole gigantesche. Ci si rende conto dell'esistenza di un grandissimo numero di proteine diverse per forma, dimensioni e composizione in amminoacidi, oltre che del loro grandissimo peso molecolare.

Il fascio di raggi X inviato sul cristallo viene deflesso dagli atomi o dalle molecole del reticolo cristallino. **L'angolo e l'immagine di diffrazione è differente per ciascun tipo di proteina** e quindi il reticolo di punti sullo schermo può essere usato per ricostruire la **struttura tridimensionale delle molecole**.

Il processo di riflessione dei raggi X dipende dal cammino che riescono a compiere.

La **diffrazione dei raggi X** da un cristallo ha luogo solo in corrispondenza degli angoli di incidenza che soddisfano la cosiddetta **equazione di Bragg**:

$$2d \sin\theta_m = m\lambda$$



Il processo di diffrazione dipende dal cammino, dalla distanza **d** tra le molecole.

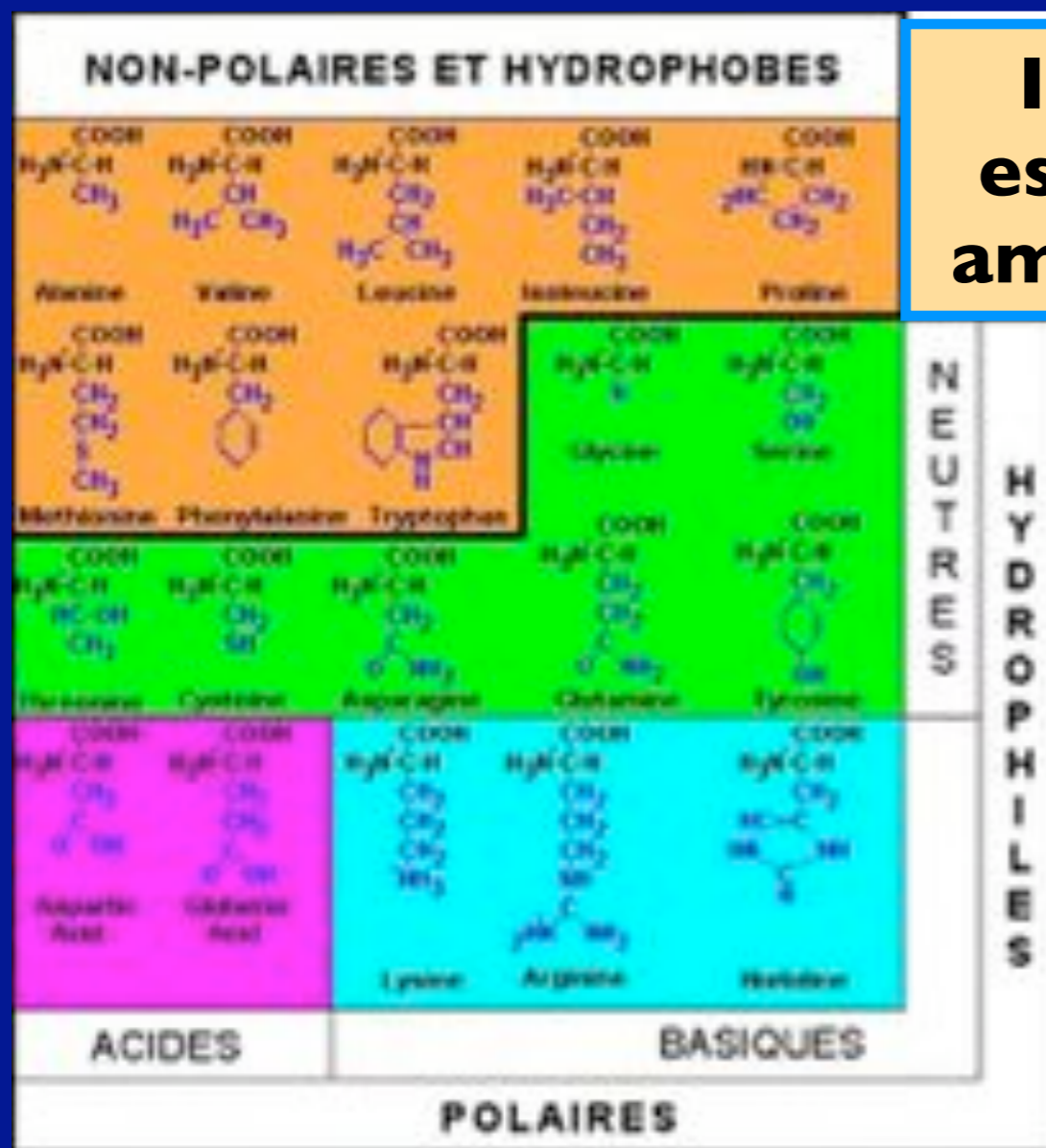
# La natura delle proteine

Alfred Mirksy e Linus Pauling - 1936

*“L’idea che ci siamo fatti di una molecola proteica nativa (dotata di proprietà specifiche) è la seguente: una proteina consiste di una catena polipeptidica che continua senza interruzione lungo tutta la molecola (o in certi casi di due o più catene); questa catena è avvolta in una configurazione definita in modo unico, che è mantenuta da legami idrogeno tra gli atomi di azoto e di ossigeno del peptide e anche tra i gruppi amminici e carbossilici liberi dei residui amminoacidici diamminici e dicarbossilici. Le proprietà specifiche caratteristiche delle proteine native si possono attribuire alla loro configurazione definita in modo unico. Le molecole proteiche denaturate le consideriamo caratterizzate dall’assenza di una configurazione definita in modo unico”.*

# Proteine e amminoacidi

In natura esistono 20 amminoacidi

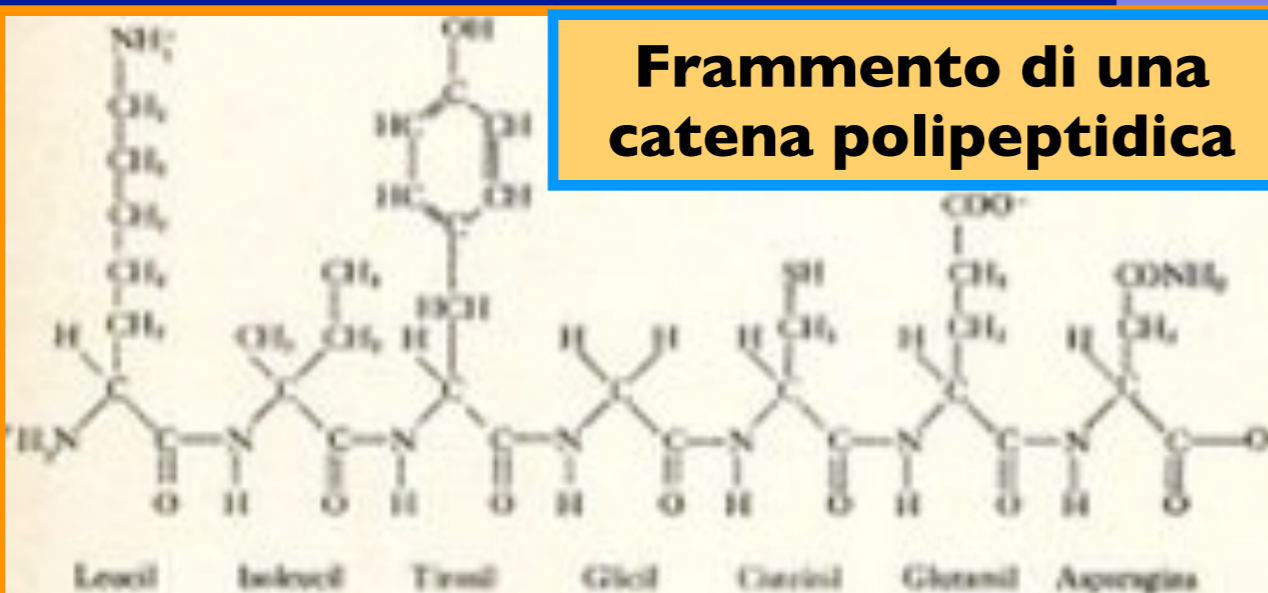


First Letter	Second Letter				Third Letter
	U	C	A	G	
U	phenylalanine	serine	tyrosine	cysteine	U
	phenylalanine	serine	tyrosine	cysteine	C
	leucine	serine	stop	stop	A
	leucine	serine	stop	tryptophan	G
C	leucine	proline	histidine	arginine	U
	leucine	proline	histidine	arginine	C
	leucine	proline	glutamine	arginine	A
	leucine	proline	glutamine	arginine	G
A	isoleucine	threonine	asparagine	serine	U
	isoleucine	threonine	asparagine	serine	C
	isoleucine	threonine	lysine	arginine	A
	(sulf) methionine	threonine	lysine	arginine	G
G	valine	alanine	aspartate	glycine	U
	valine	alanine	aspartate	glycine	C
	valine	alanine	glutamate	glycine	A
	valine	alanine	glutamate	glycine	G

Bonolis AIF 2008

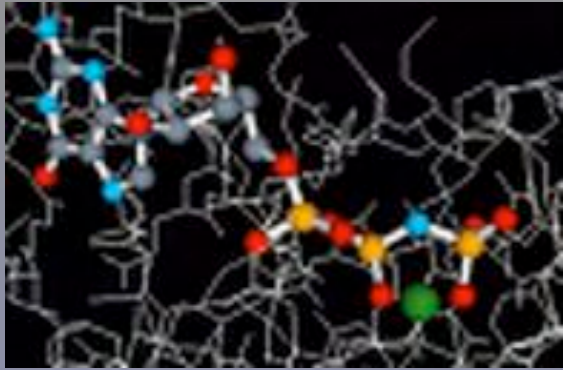
Le 20 lettere dell'alfabeto delle proteine

Frammento di una catena polipeptidica

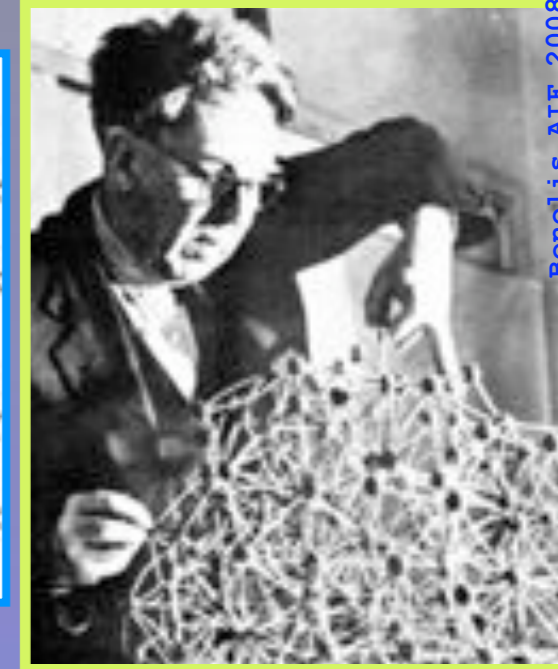
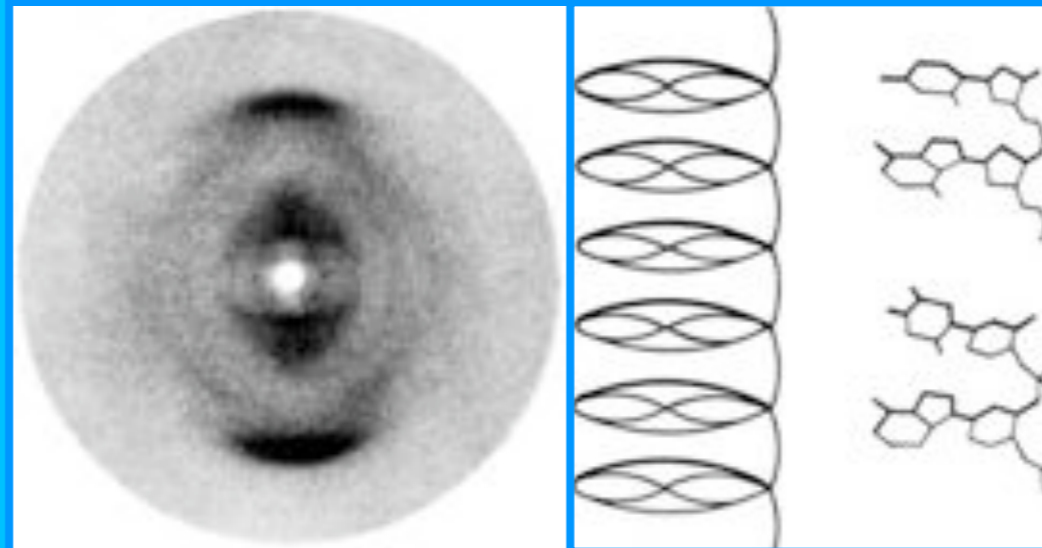


Mentre l'analisi chimica degli acidi nucleici portava alla provvisoria ipotesi che si trattasse di strutture prive di specificità, ovvero indifferenziate, le proteine apparivano essere assai eterogenee per quanto riguardava il **contenuto dei diversi amminoacidi** e dotate di una specificità di tipo **tridimensionale (stereochimica)**

# Cristallizzare macromolecole biologiche e studiarle con i raggi X



William Edwin Astbury (1898-1961), fondatore degli studi sulle macromolecole biologiche con la tecnica della diffrazione dei raggi X.



Bonolis AIF 2008

Collaboratore di William Bragg al termine della prima guerra mondiale, per lo studio della struttura dei composti organici. Successivamente Astbury iniziò a studiare le fibre di molecole proteiche molto più complesse, come i peli, il corno, la seta, le piume e i muscoli, mostrando che gli schemi di diffrazione ottenuti appartenevano a un numero limitato di classi. Le classificò come alfa e beta. Nel 1938 realizzò **la prima immagine di diffrazione del DNA, il cui pattern sembrava indicare una struttura regolare**. Astbury fece previsioni corrette sulle dimensioni complessive della molecola e affermò che la struttura del DNA si ripeteva ogni 2.7 nanometri e che le basi azotate si “impilavano” a 0.34 nm l’una dall’altra (valore attuale: 0.332nm).

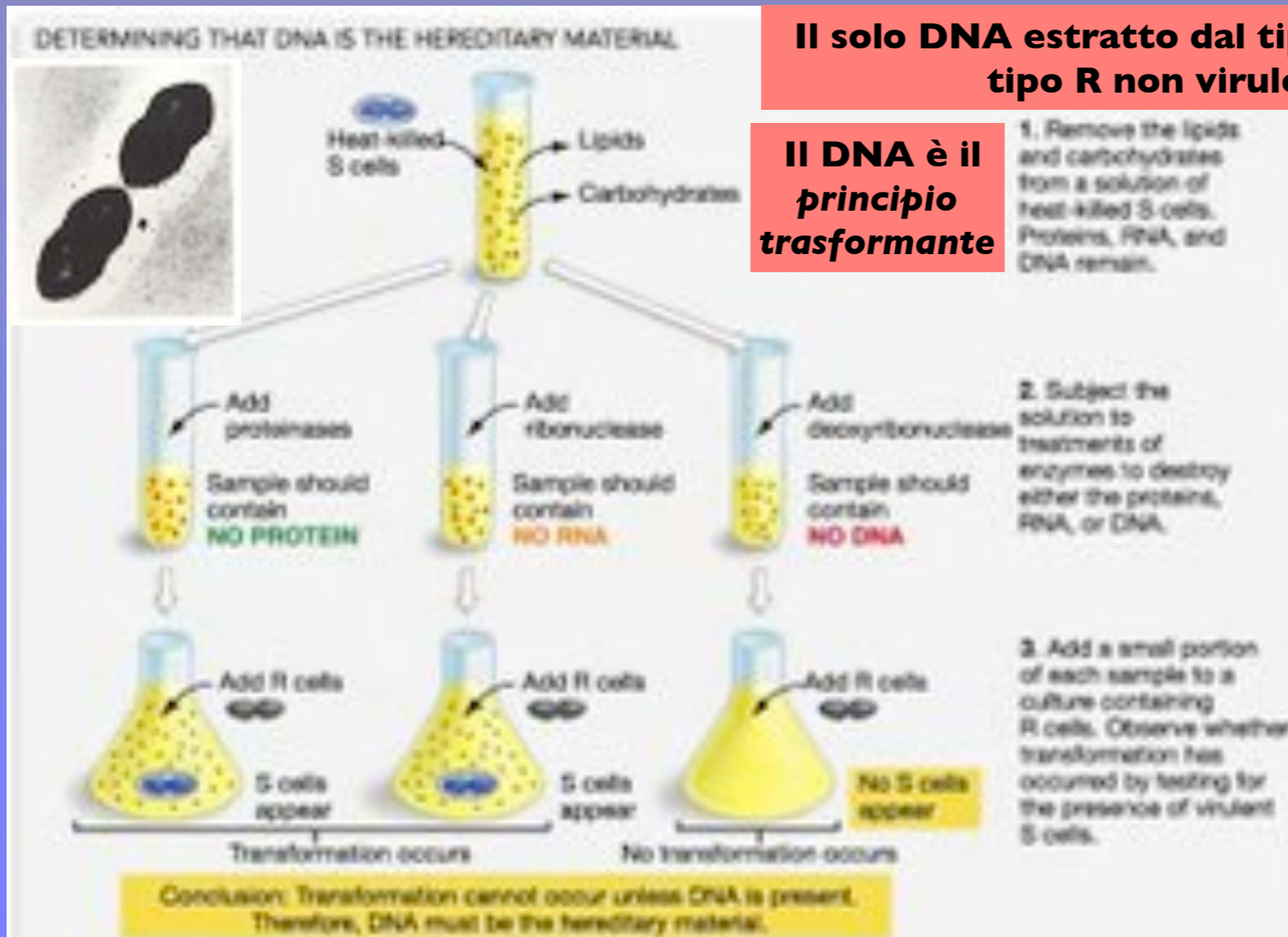
John Desmond Bernal (1901-1971) iniziò con Sir William Bragg. Nel 1924 determinò la struttura della grafite e lavorò sulla struttura delle vitamine e della pepsina. Nel 1934, insieme a Dorothy Hodgkin realizzò la prima foto a raggi X di cristalli di proteina. Con lui studiarono anche Rosalind Franklin e Max Perutz.

# La natura biochimica dei geni

Basi molecolari dell'eredità  
**IL DNA come supporto dell'informazione genetica**

**Oswald Avery, Colin McLeod, e McLyn McCarty** riprendono le esperienze di Griffith sulla trasformazione batterica e cercano di purificare il fattore trasformante dello pneumococco. Usano mezzi chimico-fisici e impiegano 10 anni per accumulare le prove che questo fattore non è altro che il **DNA**, in grado di trasformare un ceppo non virulento in ceppo virulento. La trasformazione avviene attraverso l'incorporazione di frammenti di DNA provenienti da batteri virulenti uccisi: **La prova che abbiamo qui presentato accredita l'ipotesi che un acido nucleico del tipo con desossiribosio sia l'unità fondamentale dell'agente trasformante dello pneumococco tipo III (1944).**

Bonolis AIF 2008



**Il solo DNA estratto dal tipo S è sufficiente a trasformare il tipo R non virulento in tipo S virulento.**

**Il DNA è il principio trasformante**



**Oswald Avery (1877-1955)**

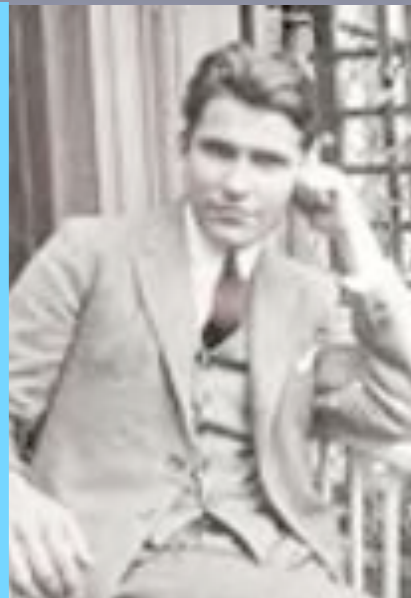
**Colin McLeod**

**McLyn McCarty**

**Il fattore trasformante non era una proteina, che per la sua complessità si riteneva potesse essere materiale di tipo genetico. Il fattore resisteva infatti a temperature in grado di denaturare le proteine.**

# Erwin Chargaff: la grammatica della biologia

Nel corso degli anni '40 e all'inizio dei '50 un certo numero di esperimenti mise in evidenza che **era il DNA e non la proteina la molecola dell'eredità**. Tuttavia, malgrado l'accumulo di prove la comunità scientifica non accettava facilmente che il DNA potesse essere il supporto del materiale ereditario, essendo una **molecola semplice e quindi ritenuta incapace di veicolare una informazione necessariamente complessa**. Le proteine, con la loro immensa diversità, e come altro componente principale dei cromosomi, sembravano migliori candidati. Nonostante le riserve avanzate da molti ricercatori, dopo aver letto il lavoro di Avery, MacLeod e McCarty, alcuni riorientarono le loro ricerche.



Erwin Chargaff

Il biochimico Erwin Chargaff si spostò dalle lipoproteine agli acidi nucleici: **...quella classica pubblicazione mi convinse che vi dovevano essere differenze chimiche tra preparazioni di DNA di differente origine cellulare**. Chargaff scoprì che il DNA appare diverso da una specie all'altra. Studiò i rapporti tra le basi nel DNA all'interno di specie diverse e concluse che le due basi *adenina* (A) e *timina* (T) apparivano in quantità relativamente uguali, come la *guanina* (G) e la *citosina* (C). Questo lavoro analitico sulla composizione chimica del DNA dimostrò che la **teoria del tetranucleotide** era del tutto **infondata** e che si doveva ipotizzare  $A_m G_n C_o T_p$  per le diverse specie, ma  $m=p$  ed  $n=o$ !

L'indagine biochimica mostrava come il DNA non fosse per nulla una molecola dalla struttura regolare e monotona, comprendente una catena ripetitiva delle quattro basi azotate, come ipotizzato da Levene:  $(AGCT)_n$ , bensì una sostanza caratterizzata da specifiche regole di combinazione, e variabile in rapporto alle caratteristiche specie-specifiche degli organismi.

# Verso il DNA

# Linus Pauling

**"I have always wanted to know as much as possible about the world"**



Fu uno dei primi chimici ad utilizzare la meccanica quantistica in chimica e un pioniere nell'applicarla alla struttura delle molecole. Le sue descrizioni del legame chimico in termini quantomeccanici culminarono con la pubblicazione, del volume *The Nature of the Chemical Bond* (1939), un classico.

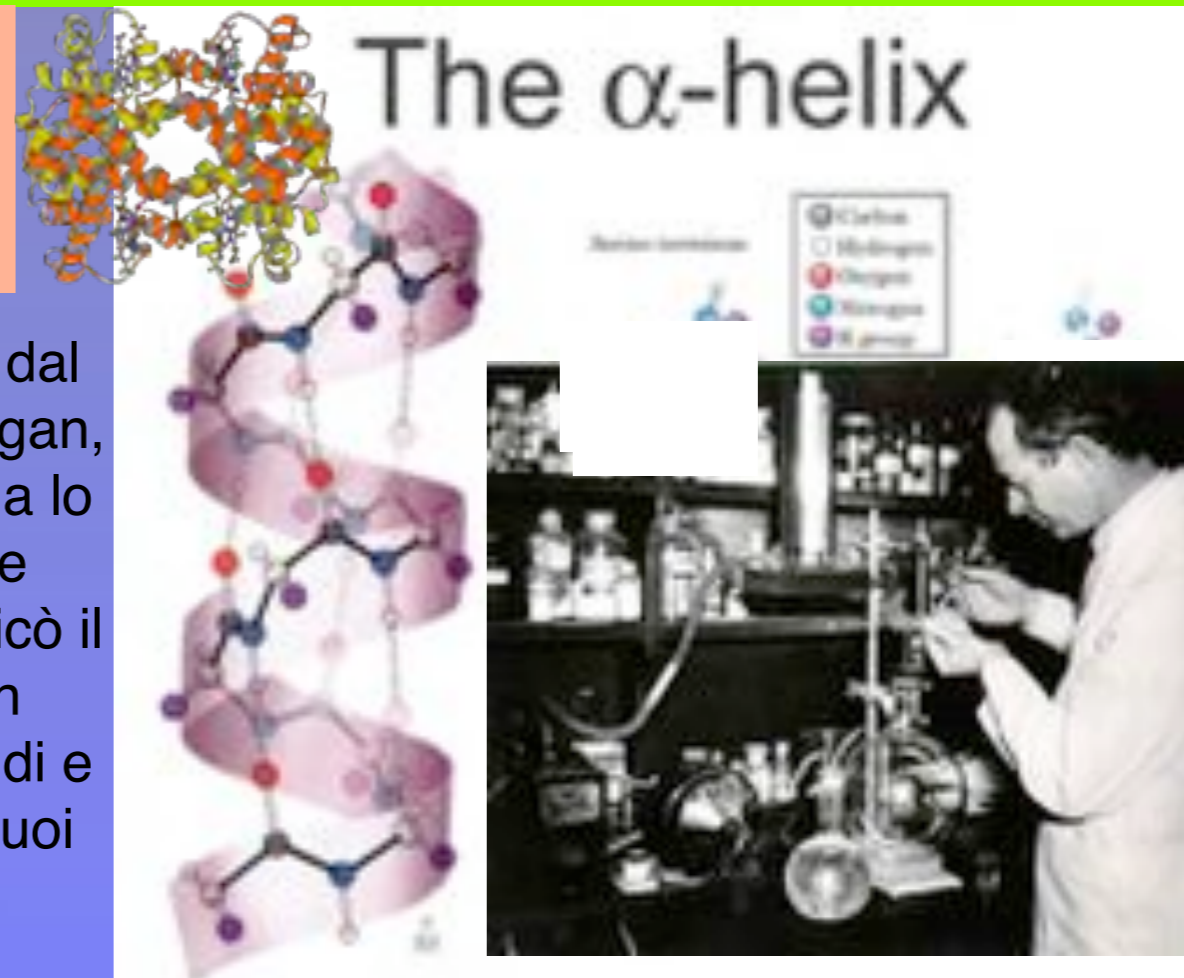


**Pauling e sua moglie  
Ava Helen Miller**

Nel 1954 ebbe il Premio Nobel per la Chimica: "for his research into the nature of the chemical bond and its application to the elucidation of the structure of complex substances."



Nel 1949 Pauling dimostrò che l'anemia falciforme era conseguenza di una mutazione genetica che dava luogo a un'unica modificazione nella sequenza di aminoacidi della molecola dell'emoglobina



Verso la metà degli anni '30 Pauling, che si trovava a Caltech dal 1927, iniziò ad interessarsi alle biomolecole, stimolato da Morgan, Bridges e Sturtevant. I suoi studi sulla struttura dell'emoglobina lo indussero a compiere indagini approfondite sulla struttura delle proteine mediante la diffrazione dei raggi X, alla Astbury. Applicò il suo modello a elica elaborato per l'emoglobina alle proteine in generale. Nel 1951, basandosi sulle strutture degli amminoacidi e dei peptidi e sulla planarità del legame peptidico, Pauling e i suoi collaboratori raccolsero prove dell'esistenza di una struttura elicoidale nelle proteine, l'**α-elica**. L'idea che l'elica fosse un fattore costitutivo importante delle molecole biologiche (cromosomi compresi) era già nell'aria fin dagli anni '30.

Pauling costruì un modello di carta in scala dell'**α-elica** per comprenderne la struttura



The Nobel Prize in Physiology or  
Medicine 1983

"for her discovery of mobile genetic elements"



Barbara McClintock

(1902-1992)



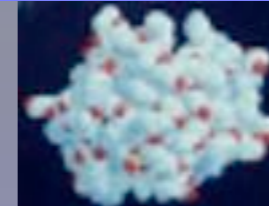
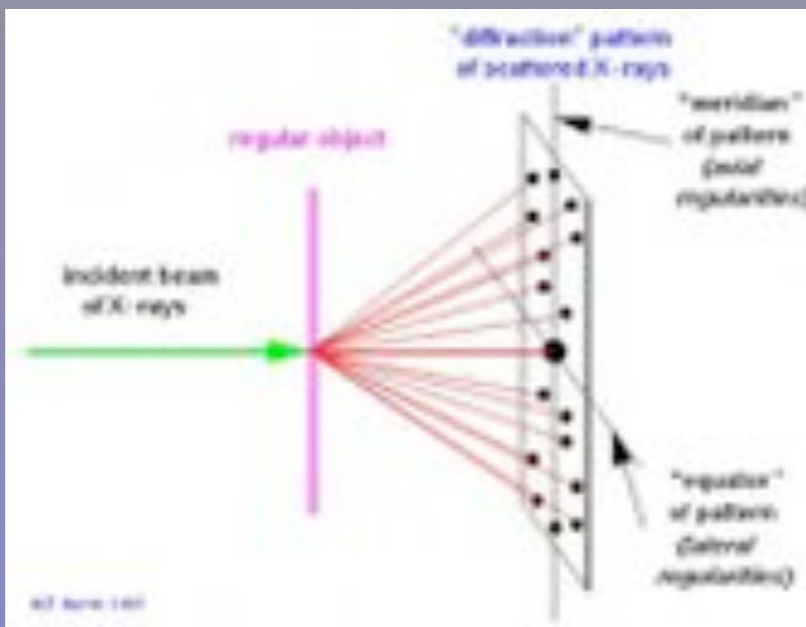
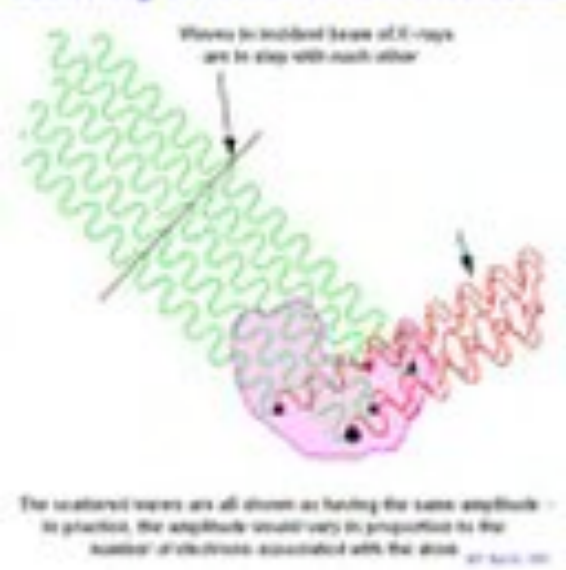
# Barbara McClintock

Studiando gli elementi che controllano lo schema di pigmentazione delle pannocchie di mais tra il 1948 e il 1951 scoprì che i geni potevano saltare a caso e cambiare posizione all'interno dei cromosomi da una generazione all'altra. Sugerì che elementi mobili nei geni sono probabilmente presenti negli insetti e negli animali superiori. Le sue osservazioni ricevettero pochissima attenzione. Un piccolo cambiamento poteva avere effetti considerevoli.

# La corsa al DNA

# Maurice Wilkins

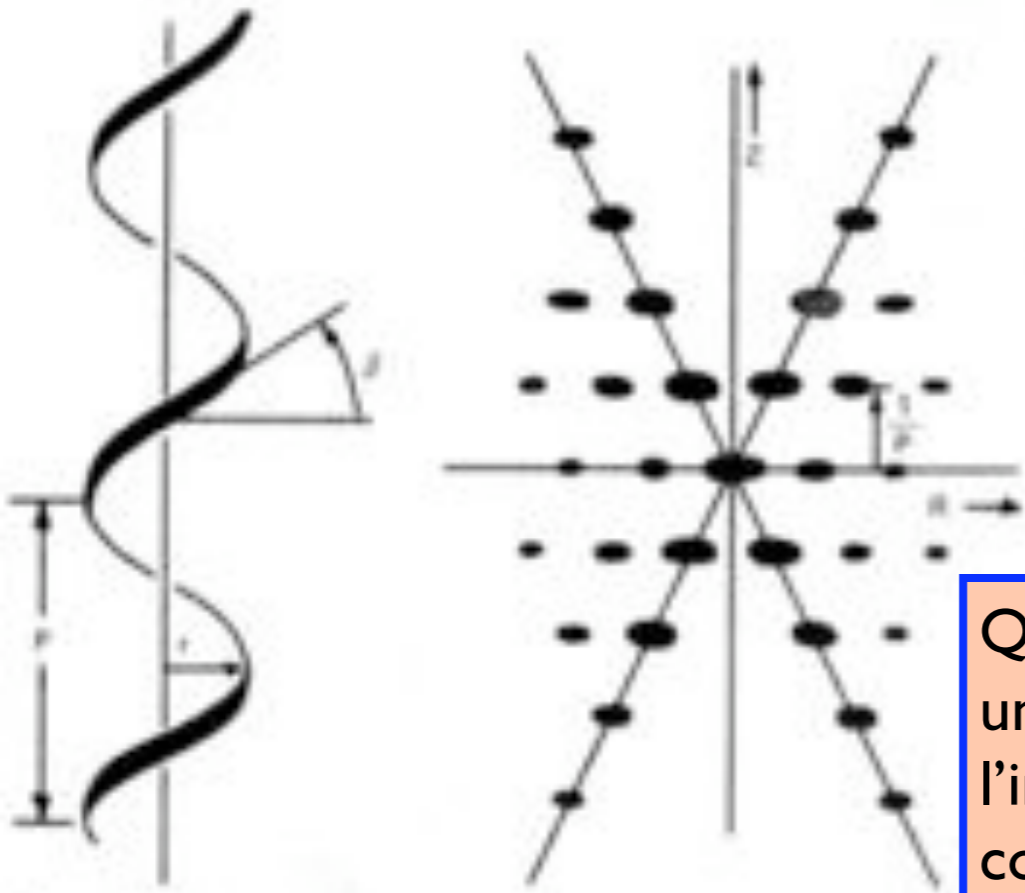
Scattering from the atoms in a molecule



KING'S COLLEGE LONDRA

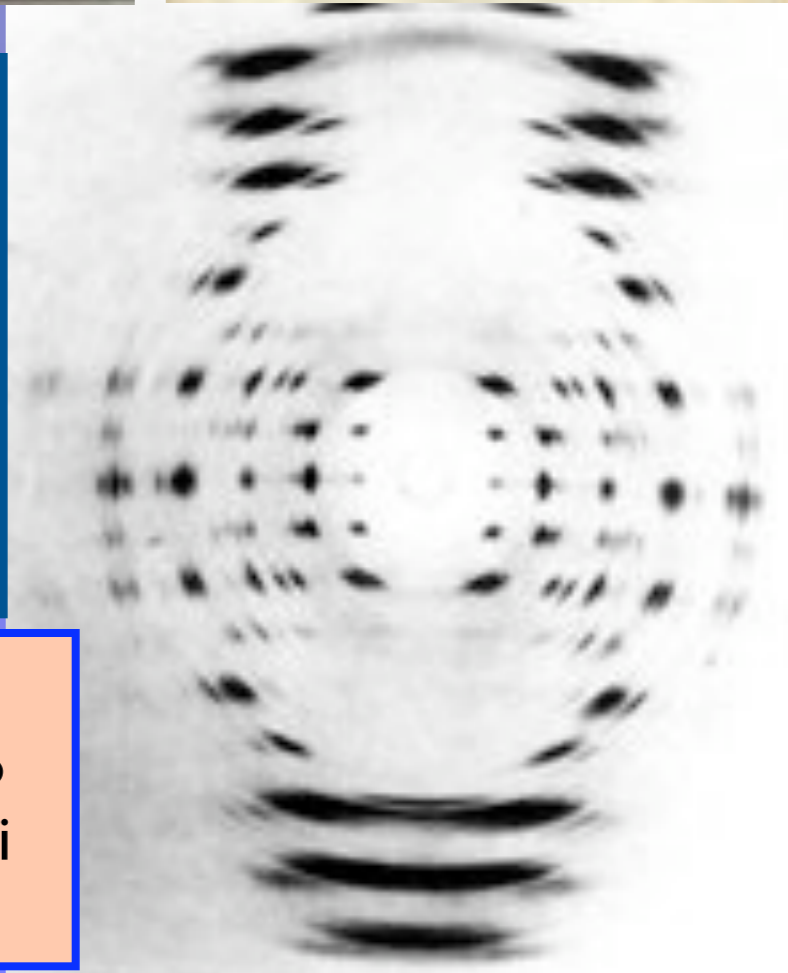


L'uso di fibre umide, invece della pellicola essiccata di DNA che aveva usato Astbury, produceva un **quadro di diffrazione** estremamente chiaro e dettagliato.



Quadro di diffrazione ai raggi X della **forma A del DNA** ottenuto da Wilkins. Verso il 1951 Wilkins aveva capito che il quadro di diffrazione del DNA mostrava le caratteristiche di un'elica.

Quadro di diffrazione prodotto da un'elica, dove  $P$  è il passo,  $r$  il raggio,  $\beta$  l'inclinazione del passo, e  $R$  e  $Z$  gli assi coordinati.



Dopo aver studiato chimica a Cambridge Rosalind Franklin si interessò di cristallografia, e nel 1947 lavorò a Parigi sviluppando una notevole competenza nel campo della determinazione della struttura delle sostanze organiche attraverso la diffrazione dei raggi X. Nel 1951 entrò al King's College con una borsa di studio per dedicarsi a una ricerca sistematica sulle fibre del DNA. Si instaurò un rapporto conflittuale con Wilkins.



Secondo i teorici Stokes, Cochran, Crick e Vand, l'elica non era una disposizione ristretta di atomi, ma un lungo cilindro con determinate caratteristiche ripetitive di simmetria. La precisa localizzazione e l'intensità delle macchie sulla foto a raggi X dipendevano dai parametri fisici dell'elica, dal passo o distanza ripetuta e dal diametro.

Nel tardo 1951 Bruce Fraser, un ricercatore del gruppo di spettroscopia del King's, costruì un modello a elica del DNA con i fosfati all'esterno, con tre catene. I ricercatori del King's ritenevano che la densità e il contenuto di acqua fossero indicativi di una catena tripla (una visione condivisa da Pauling e da Astbury), ma il modello non era in accordo con le immagini ai raggi X.

La Franklin comprese che le due forme dipendono dal fatto che nella molecola le basi sono all'interno e che le forze intermolecolari spiegano il maggior compattamento della forma A, ma si astenne intenzionalmente dal presentare ipotesi che non fossero suffragate da incontrovertibili evidenze sperimentali.

**La Franklin pensava che fosse prematuro fare modelli.**



**Nel maggio 1952  
Franklin ottenne una  
superba immagine  
della forma B del DNA.**

**La chiara X al centro della  
forma B costituiva una  
ulteriore conferma che la  
struttura del DNA era quella  
di un'elica.**

**Le macchie scure all'esterno  
indicavano l'importanza degli  
atomi dei fosfati.**

# Attrezzatura fotografica



Attrezzatura usata da Maurice Wilkins



Apparecchio fotografico di produzione USA usato da Rosalind Franklin. Fu poi replicato dai tecnici del *King's College* per svariate altre utilizzazioni



Non si poteva dare per scontato che nell'ambiente idratato della cellula, quella specie di sottile sacchetto pieno di acqua in cui sono racchiusi enzimi ed energia, il DNA quale si presenta nelle reali condizioni fisiologiche, fosse più o meno simile al materiale che era stato estratto e pesato, posto sotto il microscopio ed esaminato alla luce ultravioletta e ai raggi X. Il DNA aveva effettivamente una forma determinata? Le immagini X erano forse un artefatto dovuto ai metodi di preparazione? Quanto era fondamentale il ruolo che giocavano le proteine? Erano state proprio queste preoccupazioni il fondamento razionale dell'indecisione, protrattasi a lungo di Wilkins tra la scelta di compiere ulteriori studi di diffrazione delle fibre di DNA o di dedicarsi invece, con maggiore impegno allo studio ai raggi X della testa degli spermatozoi, studi che dimostravano a suo avviso, che nelle cellule integre il DNA ha sempre una struttura a elica.

# Immagini di diffrazione del DNA

## Confronto tra vari tipi di DNA

- a = eritrociti di pollo
- b = leucociti umani (leucemia acuta)
- c = leucociti umani (leucemia cronica)
- d = leucociti umani (leucemia cronica linfatica)

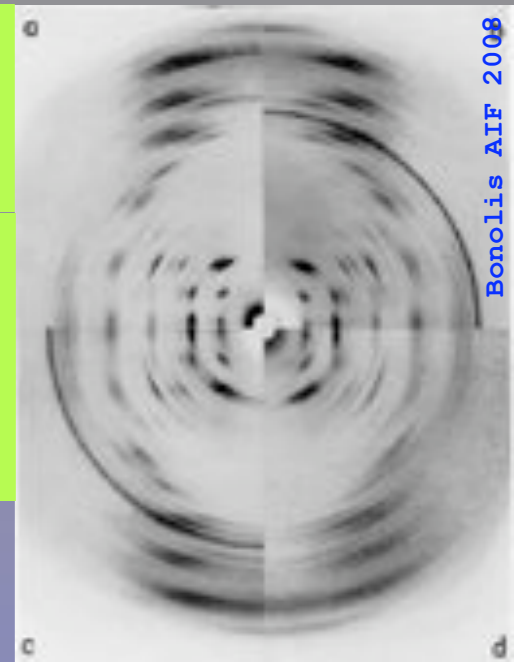
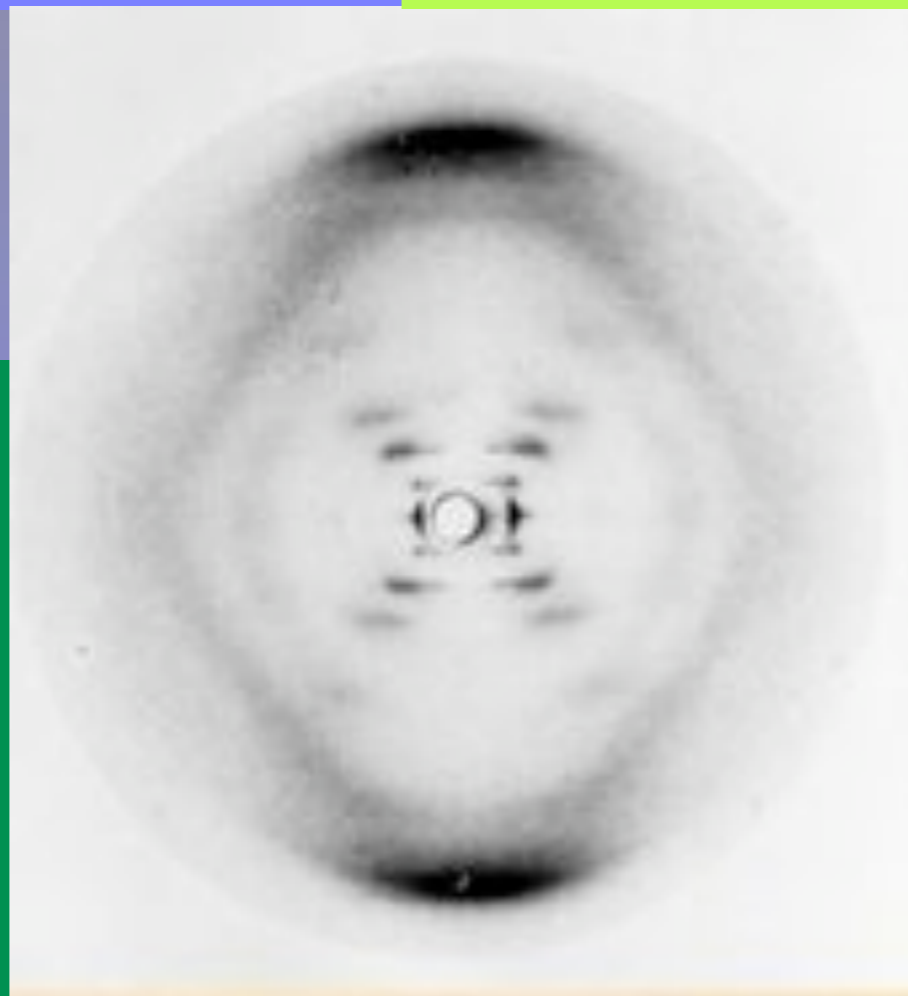
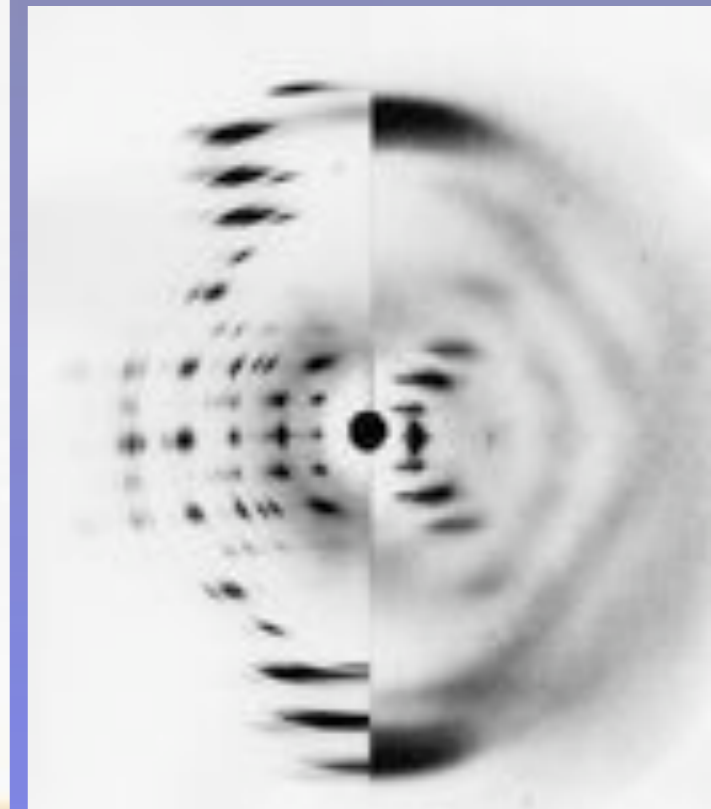


Immagine della forma A con gli I I strati rappresentati dalla sequenza di cerchi intorno al centro



Forma B



Forme A e B allineate

Secondo un modello matematico basato sul fatto che l'elica è un lungo cilindro con determinate caratteristiche ripetitive di simmetria, la fotografia a raggi X deve fornire una serie di macchie la cui localizzazione e intensità dipendono dai parametri fisici dell'elica, dal passo e dal diametro. In base alla disposizione circolare dei punti in cerchi sempre più ampi, tipico del quadro di diffrazione del DNA, Wilkins fu quindi in grado di accertarne la struttura elicoidale, nonché di misurare l'inclinazione della spirale e il diametro della molecola. Nonostante ciò le idee erano tutt'altro che chiare e apparentemente Wilkins pensava che si trattasse di un'elica singola.

# 1952

## Prima clonazione



I biologi americani Robert Briggs e Thomas King clonarono per la prima volta un essere vivente: una rana leopardo.

Prelevarono una cellula dall'embrione di un girino, ne isolarono il nucleo e lo inserirono in una cellula uovo di una rana, preventivamente privata del nucleo. Ottennero così un girino assolutamente identico a quello originario, senza unione dei gameti (fecondazione).

Un esperimento analogo - "fantastical cloning experiment" - era stato proposto da Hans Spemann nel 1938.

# La folle caccia

# Francis Crick



**Sir Lawrence Bragg-->Bernal -->Perutz**

Nel 1949 Crick arriva al Cavendish Laboratory dove si studiano la struttura delle proteine e il ripiegamento delle catene polipeptidiche. Usando modelli metallici di atomo, Bragg, Kendrew e Perutz



Sir L. Bragg



John D. Bernal



Max Perutz e John Kendrew,  
Nobel per la chimica 1962,  
“for their studies of the  
structures of globular proteins”



svilupparono modelli delle strutture regolari dei ripiegamenti della catena, tra cui un'  $\alpha$ -elica. Nello stesso tempo Pauling stava seguendo la stessa impostazione, con maggiore successo.

Il suo articolo principale sull' $\alpha$ -elica apparve nella primavera del 1951. Bragg definì il suo modello dell' $\alpha$ -elica “il più grande errore della mia carriera scientifica”. “L'  $\alpha$ -elica fu una pietra miliare sul sentiero impervio della biologia molecolare...” (F. Crick, *La folle caccia*)

**“Pauling fu una figura più importante nella biologia molecolare di quanto ci si renda conto talvolta. Non solo fece certe scoperte chiave... ma usò il giusto approccio teorico a questi problemi biologici. Egli credeva che gran parte di ciò che dovevamo spiegare si potesse chiarire usando le idee ben affermate della chimica e, in particolare, la chimica delle macromolecole, e che la nostra conoscenza dei vari tipi di atomi, specialmente del carbonio, e dei legami che tengono assieme gli atomi [il legame omeopolare, le interazioni elettrostatiche, i legami a idrogeno e le forze di van der Waals], fosse sufficiente a svelare i misteri della vita. Max Delbrück, che era per formazione un fisico, sperava invece che la biologia permettesse di scoprire nuove leggi della fisica... Come la maggior parte dei fisici, considerava la chimica un'applicazione piuttosto banale della meccanica quantistica. Non si era reso ben conto di quali importanti strutture possano essere costruite dalla selezione naturale, né quanti tipi distinti di proteine possano esistere.”** (F. Crick, *La folle caccia*)

Wilkins voleva dedicare una maggiore attenzione alla forma più umida (la cosiddetta forma B), la quale dava un'immagine di diffrazione dei raggi X più semplice ma più rivelatrice di quella fornita dalla forma leggermente più asciutta (la forma A), anche se i diffrattogrammi prodotti da quest'ultima erano più dettagliati. A Cambridge stavo lavorando a una tesi di dottorato sulla diffrazione dei raggi X nelle proteine...”

# La folle caccia



## James Watson Dal gruppo del fago al Cavendish Laboratory

“Le eliche erano nell’aria, e si doveva essere ottusi o molto ostinati per non pensare lungo quelle linee.” (F. Crick, *La folle caccia*)

“L’americano Jim Watson, allora ventitreenne, venuto al Cavendish come ricercatore ospite, era deciso a scoprire cosa fossero i geni e sperava che potesse essere d’aiuto la risoluzione della struttura del DNA... A quel tempo io sapevo molto sulle proteine e sulla diffrazione dei raggi X. Jim sapeva molto meno su questi argomenti ma molto di più sulle ricerche sperimentali sui fagi... Jim sapeva molto di più anche sulla genetica batterica... Non sorprende perciò che trascorressimo una grande quantità di tempo a parlare assieme di problemi... Una delle stranezze dell’intero episodio è che né io né Jim stavamo ufficialmente lavorando sul DNA. Io stavo tentando di scrivere una tesi di dottorato sulla diffrazione dei raggi X nei polipeptidi e nelle proteine, mentre Jim era venuto ufficialmente a Cambridge per aiutare John Kendrew a cristallizzare la mioglobina.”

**Essendo amico di Maurice Wilkins io avevo appreso molto sulle ricerche sul DNA fatte al King’s College... mentre Jim era stato affascinato dal problema della diffrazione dopo aver ascoltato una comunicazione di Maurice sull’argomento a Napoli...** (F. Crick, *La folle caccia*)



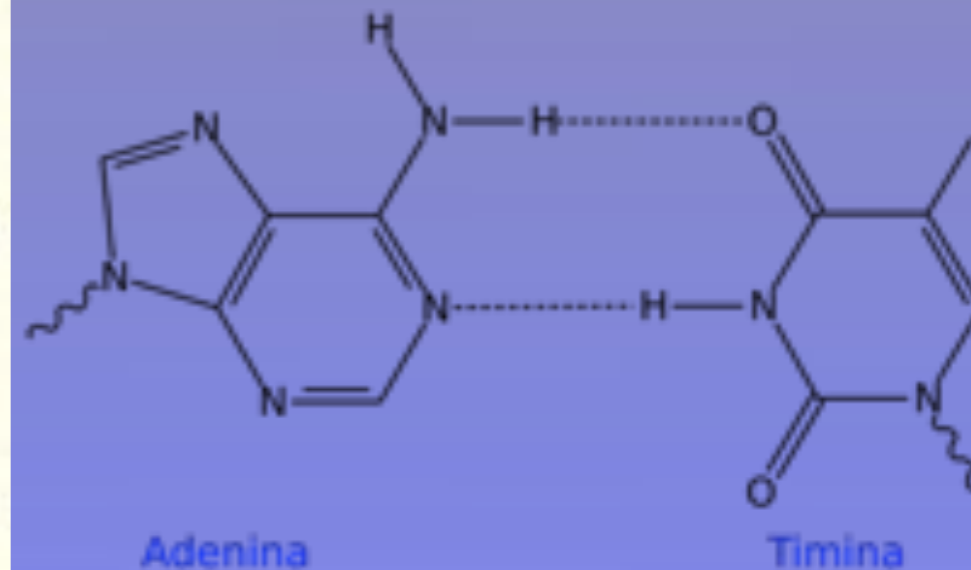
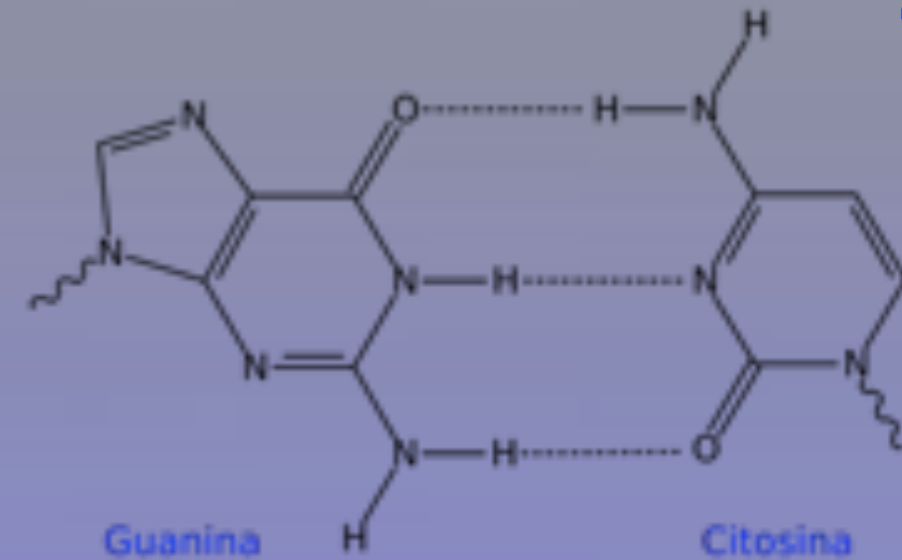
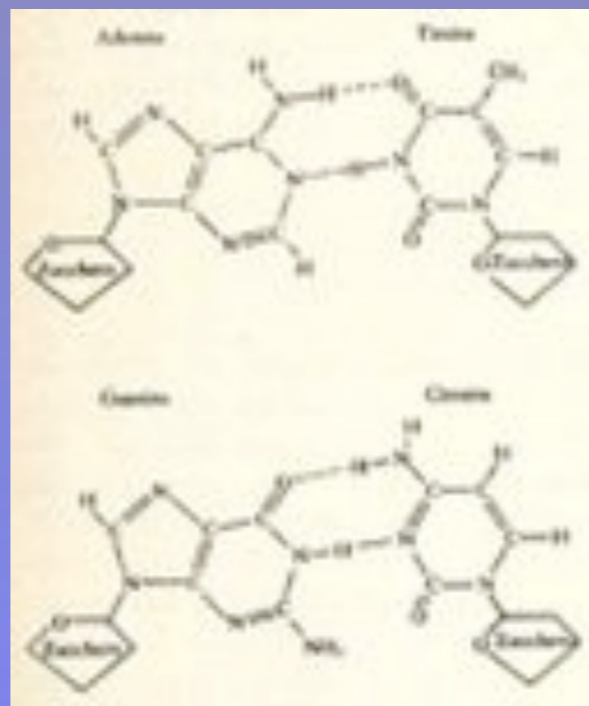
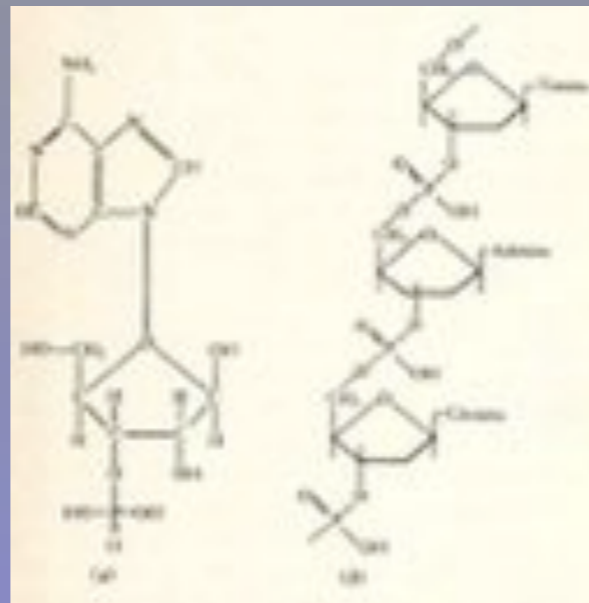
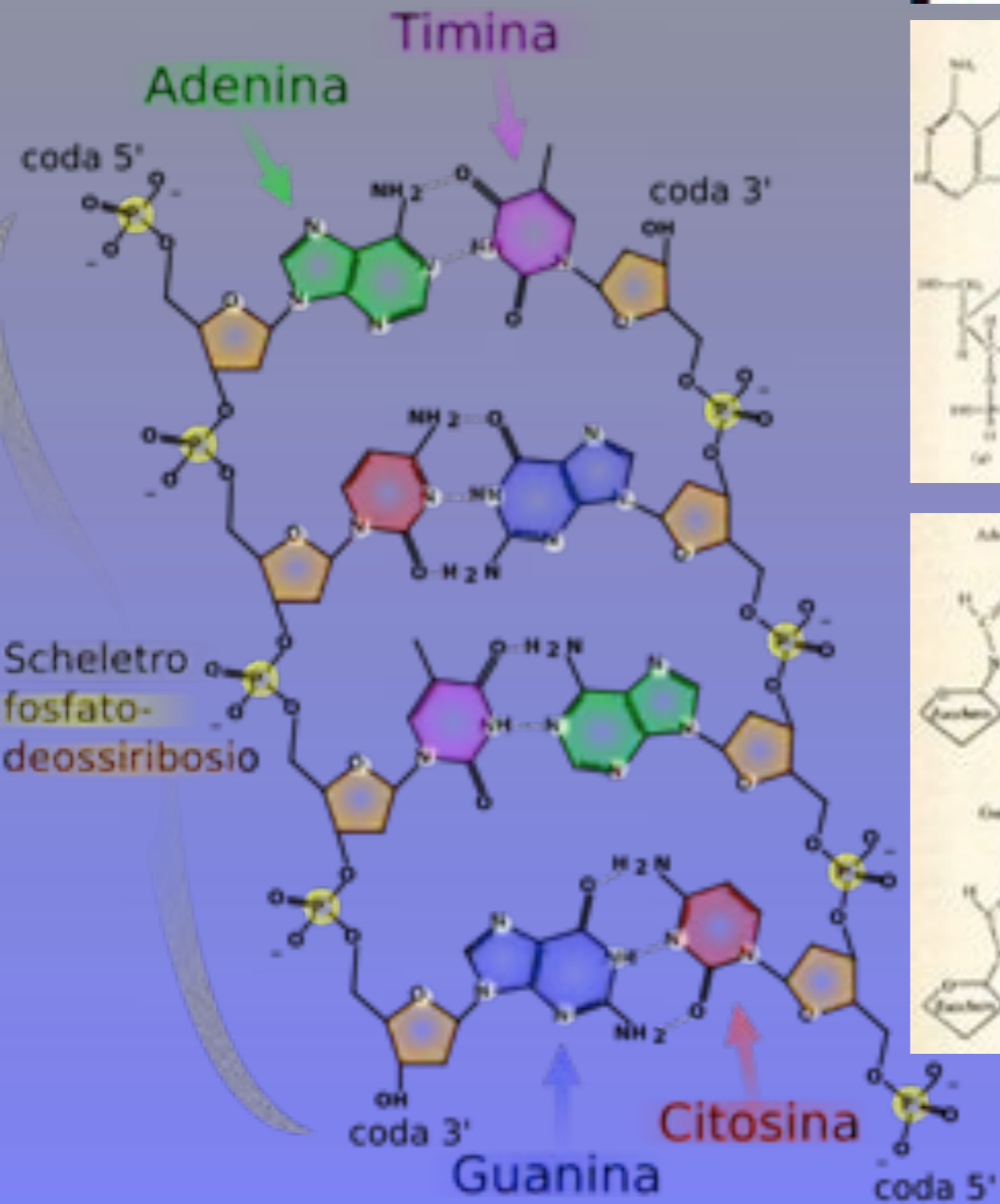
“Prima del discorso di Maurice [maggio 1951] non m’era affatto chiara la possibilità che il gene fosse una sostanza fantasticamente irregolare. Ora, invece, sapevo che i geni potevano cristallizzare; pertanto dovevano avere una struttura regolare risolvibile in maniera diretta”.

“Parlava più forte e più in fretta di tutti e quando rideva, all’interno del Cavendish chiunque sapeva dove si trovava”. “Le nostre conversazioni durante i lunch ben presto riguardarono solamente il problema dei geni... I risultati ottenuti da Pauling con la catena dei polipeptidi facevano pensare a Francis che gli stessi trucchi potessero funzionare anche nel caso del DNA... Già pochi giorni dopo il mio arrivo avevamo deciso cosa fare: imitare Linus Pauling e batterlo sul suo stesso terreno”. (J. Watson, *The Double Helix*)

# La folle caccia



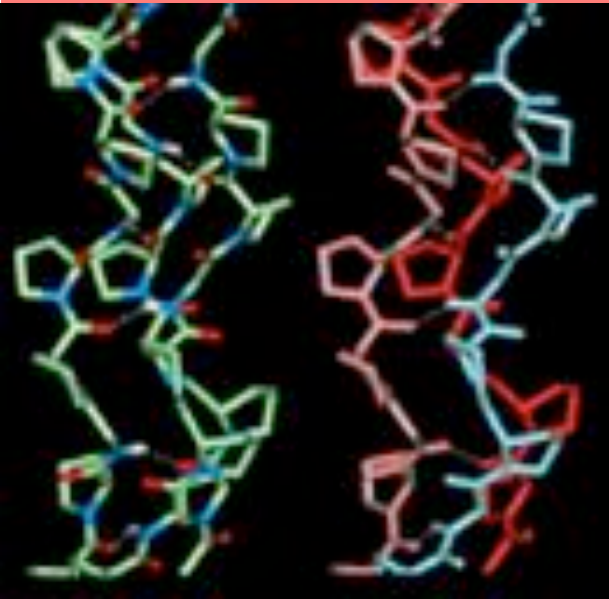
# Watson e Crick



Ciascuna delle quattro basi nucleiche nell'acido desossiribonucleico - Adenina Timina, Guanina e Citosina - unite al ribosio e all'acido fosforico, formano i nucleotidi

Accoppiamento delle basi nella doppia elica del DNA. I **legami idrogeno** che legano tra loro la base purinica alla base pirimidinica sono quelli con la linea tratteggiata. Gli zuccheri sono uniti mediante legami fosforici

# La folle caccia Modelli



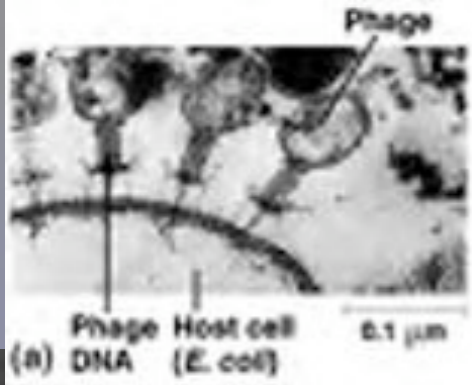
Novembre 1951: Watson segue al King's College un seminario della Franklin. I risultati sembrano confermare che il DNA deve avere una struttura a elica consistente di 2, 3 o 4 catene allacciate tra loro. Ciascuna possiede un asse di zuccheri e fosfati a cui si agganciano le basi (adenina, timina, citosina e guanina), come suggerito da Levene. Dettaglio importante: secondo Franklin sembra che le basi siano



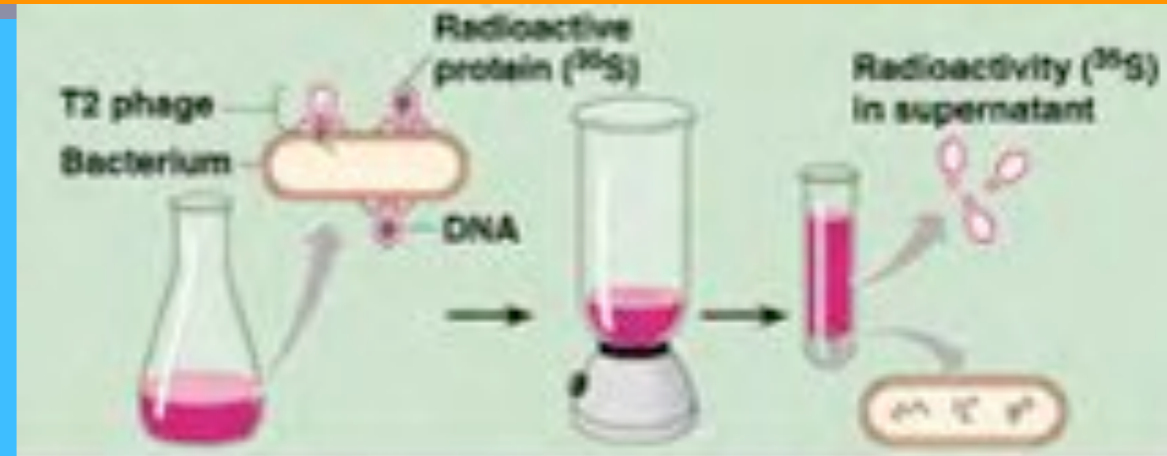
*fissate all'interno della spirale e possano servire da legame tra le catene elicoidali.* La Franklin non crede molto nei modelli. Invece, secondo Watson "l' $\alpha$ -elica non era stata scoperta solo guardando le fotografie ai raggi X... i principali strumenti di lavoro erano stati una serie di modelli molecolari". "Dovevamo solamente metterci a giocare costruendo una serie di modelli: se avessimo avuto fortuna, ne sarebbe venuta fuori una struttura elicoidale". (Watson, *The double helix*) Sulla base dei dati di Wilkins e della Franklin, Watson e Crick fanno un primo tentativo costruendo un **modello di elica a tre filamenti**, con i *fosfati al centro e le basi all'esterno*. Ma il modello viene subito bocciato da Wilkins e dalla Franklin: Watson non aveva tenuto conto del fatto che la Franklin aveva parlato di *basi all'interno*. Il fiasco arriva alle orecchie di Bragg, che vieta di continuare a "lavorare" sul DNA, campo per il quale era già finanziato il King's College.

Ma intanto Crick incontrò John Griffith, nipote di Frederick Griffith che aveva scoperto la trasformazione batterica e gli propose di calcolare *la forza di attrazione tra le basi impilate*. Griffith invece calcolò l'energia dei legami idrogeno delle basi non impilate, ma una di fronte all'altra, e *trovò che A e G, come T e C, tendevano ad attrarsi reciprocamente, o meglio davano un'energia inferiore a quella delle interazioni tra basi simili*. Crick ripensò a questa conversazione quando in luglio incontrò *Chargaff* che era in visita a Cambridge e questi gli parlò dei rapporti unitari tra le basi. *"Mi sentii immediatamente elettrizzato: 'Ma certo - pensai - con l'appaiamento complementare il rapporto è senza dubbio di 1:1'."* Nel maggio 1952 Watson ricevette una lettera da Alfred Herhey il quale gli riassumeva gli esperimenti appena portati a termine con Martha Chase...

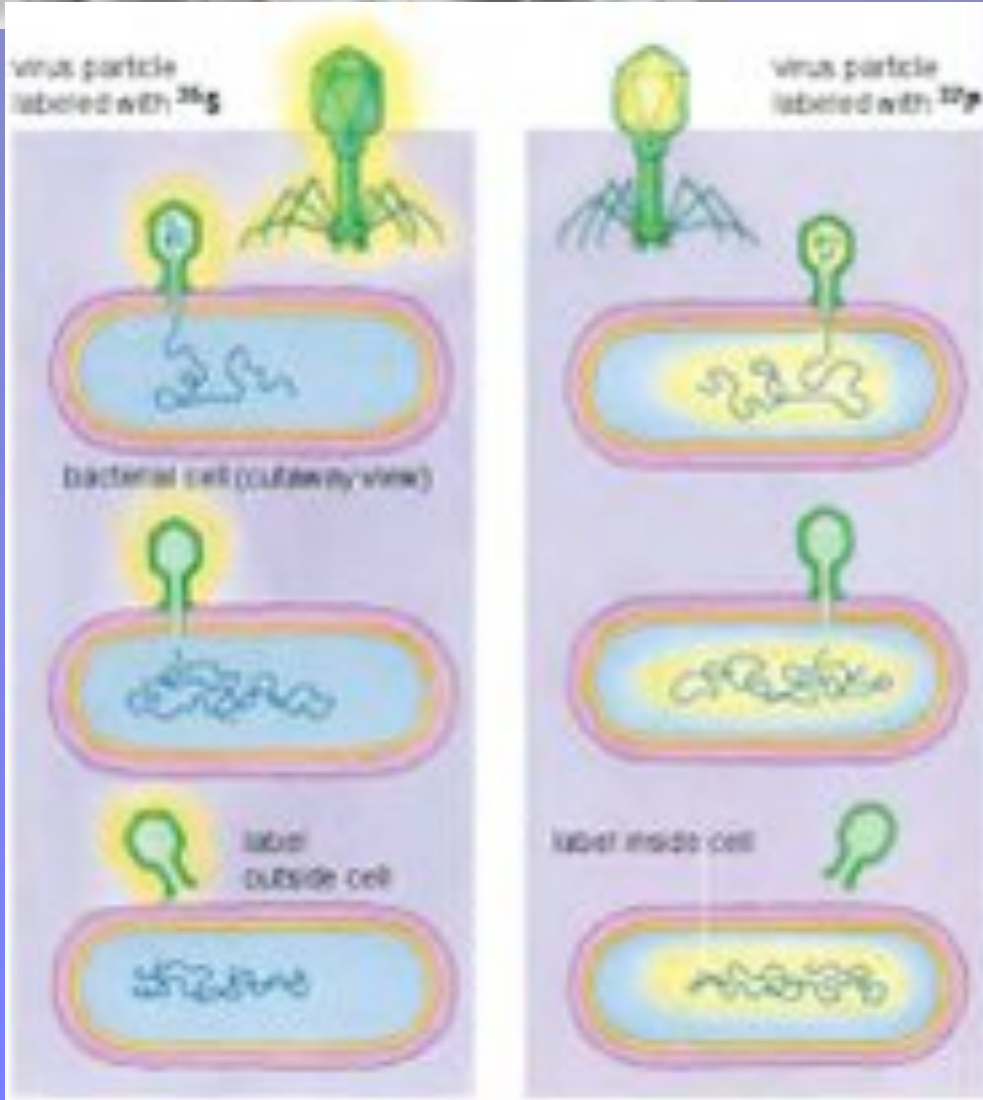
# Maggio 1952: Il batteriofago colpisce ancora. Nuove prove a favore del DNA



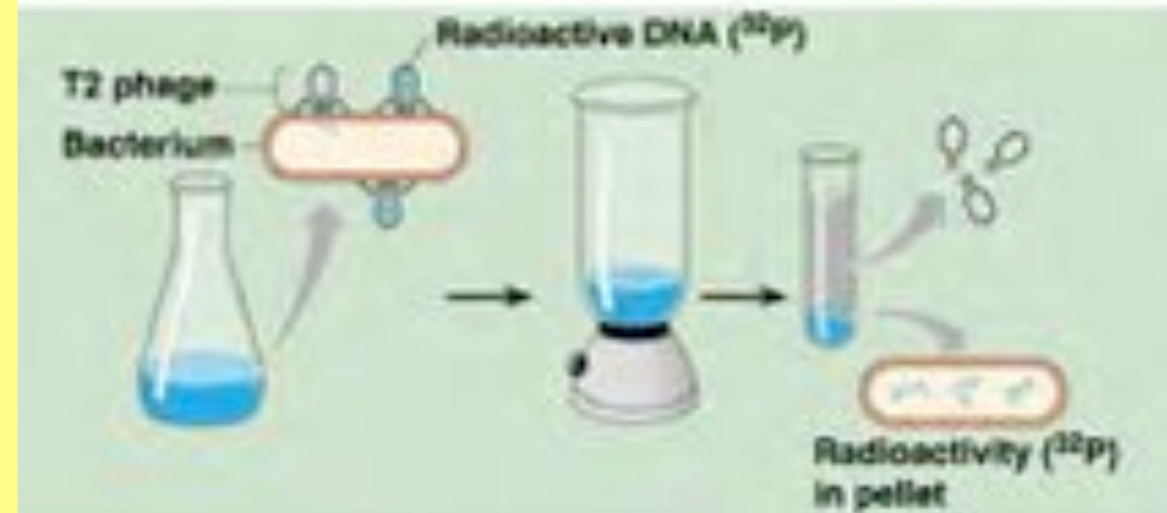
Alfred Hershey e Marta Chase dimostrano che **solo il DNA** di un virus, e **non la parte proteica**, agisce nel processo di replicazione di nuovi virus. È un convincente supporto all'idea che i geni sono fatti di DNA



Mix radioactively labeled phage with bacteria. The phage infects the bacterial cells. Agitate in a blender to separate phage outside the bacteria from the cells and their contents. Centrifuge and measure the radioactivity in the pellet and supernatant.



Marcano i batteriofagi con zolfo o fosforo radioattivo. Le proteine del batteriofago contengono zolfo ma non fosforo. Il DNA del batteriofago contiene fosforo ma non zolfo.



Infettano i batteri con i virus marcati. Trovano che lo zolfo radioattivo resta all'esterno della cellula, e il fosforo all'interno.

È la prova che **è il DNA il materiale ereditario.**



# In corsa con Pauling

Nel frattempo Pauling e Luria erano attesi a Londra a un convegno della Royal Society sulla struttura delle proteine, ma il Dipartimento di Stato rifiutò il visto a entrambi.

Pauling aveva scritto a Wilkins chiedendogli informazioni sui risultati ottenuti con i raggi X...

Pauling e Corey hanno elaborato una struttura a tre filamenti per il DNA, come Watson e Crick apprendono dal figlio Peter (a Cambridge per lavorare con Kendrew) che **verso la metà di gennaio del 1953** fa leggere loro il manoscritto del padre di imminente pubblicazione. Ma essi si rendono subito conto dei motivi per i quali il modello, la cui configurazione era molto simile a quello ipotizzato da loro, non poteva funzionare. I due tirano un sospiro di sollievo e si sentono di nuovo in corsa, ma il tempo stringe: a metà marzo la struttura di Pauling sarebbe ormai stata di dominio pubblico e l'errore sarebbe diventato palese.

Il 6 febbraio Watson andò a Londra per parlare dei modelli di Pauling con Wilkins e la Franklin. Quest'ultima reagì con irritazione. Ma Wilkins tirò fuori la notizia più grossa: fin dalla metà dell'estate Rosy aveva ottenuto la prova di una nuova forma tridimensionale del DNA, la forma B. "Come vidi la fotografia rimasi a bocca aperta e sentii il cuore battermi più forte. Questa nuova forma era incredibilmente più semplice di quelle ottenute in precedenza (struttura A). Inoltre la croce nera delle riflessioni al centro della foto poteva nascere soltanto da una struttura elicoidale". In seguito, nello scompartimento appena appena riscaldato, tracciai sul margine del giornale uno schizzo di ciò che ricordavo della struttura B. Mentre il treno sferragliava verso Cambridge mi sforzavo di scegliere tra il modello a doppia e a tripla elica. [...] Così, il tempo di pedalare in fretta fino al College e di scavalcare il cancello posteriore e avevo deciso di costruire modelli a due eliche."



**Linus Pauling manifesta davanti alla Casa Bianca prendendo parte a una manifestazione di massa per protestare contro la ripresa dei test nucleari nell'atmosfera**

**Per la sua strenua opposizione agli esperimenti con le armi nucleari Pauling ricevette il Premio Nobel per la pace del 1962.**



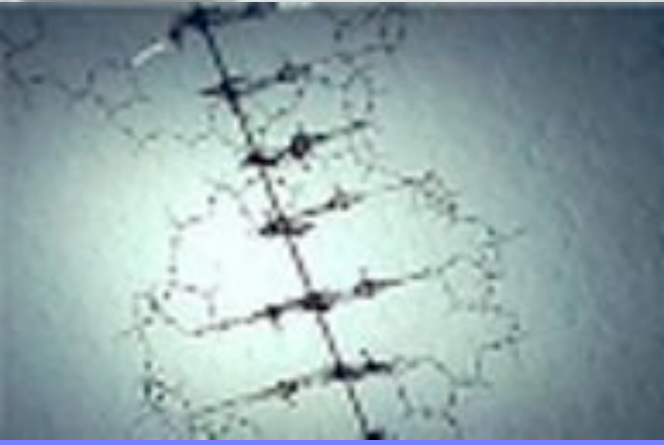
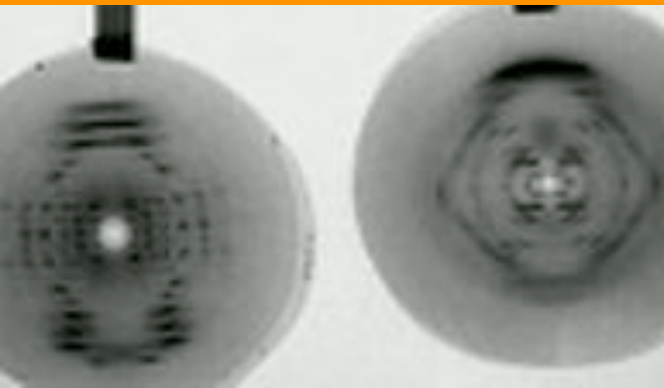
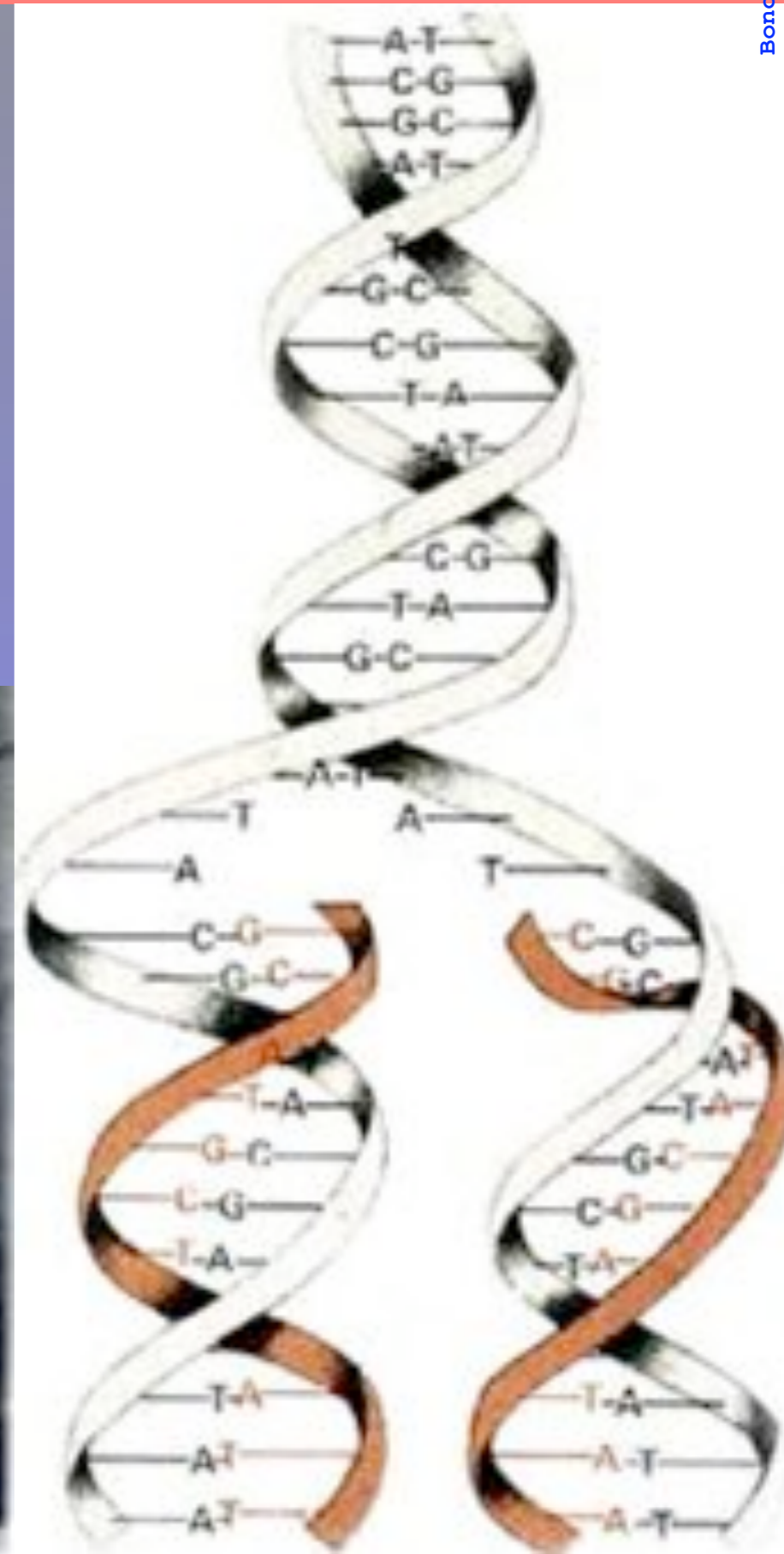
Inizialmente Watson provò con un modello a doppia elica accoppiando basi simili tra di loro, ma quando lo mostrò a Crick, questi si rese conto che non rispondeva ai principi di simmetria posti in evidenza dal quadro a raggi X.

Watson trascorse quel pomeriggio ritagliando nel cartone accurate rappresentazioni delle basi e il giorno seguente, **sabato 21 febbraio**, continuò i tentativi tenendo conto delle critiche.

“Il mattino dopo, quando arrivai nel nostro ufficio ancora vuoto, spazzai via tutte le carte dalla scrivania, in modo da avere un’ampia superficie libera su cui formare le coppie di basi tenute assieme da legami a idrogeno. Da principio mi intestardii sul mio vecchio schema ‘simile con simile’, ma ben presto mi resi conto che non sarei approdato a nulla e cominciai a spostare la basi avanti e indietro, cercando altre possibilità di accoppiamento. Improvvisamente notai che la coppia adenina-timina tenuta assieme da due legami a idrogeno aveva forma identica alla coppia citosina-guanina, anch'essa tenuta insieme da almeno due legami idrogeno. Tutti i legami sembravano formarsi spontaneamente; non occorreva alcun artificio per ottenere i due tipi di coppie nella stessa forma”. La necessità del legame idrogeno significava che l’adenina si sarebbe sempre accoppiata alla timina, mentre la guanina poteva accoppiarsi solo con la citosina. Di colpo le regole di Chargaff mi apparvero la conseguenza logica di una struttura a doppia elica. Ma soprattutto, questo tipo di doppia elica suggeriva uno schema di duplicazione molto più soddisfacente dell’accoppiamento simile con simile’. L’appaiamento costante dell’adenina con la timina e della guanina con la citosina significava che le sequenze di basi delle due catene intrecciate erano complementari l’una all’altra. Data la sequenza di basi di una catena, risultava automaticamente determinata quella dell’altra. Da un punto di vista concettuale, era quindi assai facile immaginare come ogni singola catena potesse costituire lo stampo per la sintesi di un’altra catena con la sequenza complementare. Francis non era neppure entrato nella stanza che mi precipitai ad annunciargli la vittoria.” (*Watson, The double helix*)

# La doppia elica di Watson e Crick

N. B. Il primo modello a elica (una) del DNA fu proposto da Sven Furberg, studente di Bernal nella sua tesi di dottorato, nel 1949, precedentemente alla pubblicazione dell' $\alpha$ -elica da parte di Pauling. Provò a costruire modelli di rame.



# MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

**W**e wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (DNA). This structure has several features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey.<sup>1</sup> They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three interwound chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is satisfactory for two reasons:

- (1) We believe that the material which gives the X-ray diagram is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other.
- (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Trice (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains, each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate ester groups joining 5-D-deoxy-ribose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the bases in the two chains run in opposite directions.

Each chain locally resembles Pauling's model No. 1, that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Pauling's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. Thus in a residue on each chain every 3.4 Å, in the z-direction, we have assumed an angle of 36° between adjacent residues on the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphate group from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At low water content, we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so

that the two lie side by side with identical z-coordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1, purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tetrameric forms (that is, with the base ratios that the model configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine, similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain, does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally<sup>2,3</sup> that the ratio of the amount of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity in deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the water oxygen atoms would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data<sup>4,5</sup> on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communication. We were not aware of the details of the results presented there when we derived our structure, which was, accordingly, not entirely in published experimental data and more chemical assumptions.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilton, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at King's College, London. One of us (J.D.W.) has been aided by a Fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON  
F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the Study of the Molecular Structure of Biological Systems, Cavendish Laboratory, Cambridge, April 1.

<sup>1</sup> Pauling, L., and Corey, R. B. *Science*, **75**, 246 (1952); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **31**, 36 (1952).

<sup>2</sup> Pauling, L., *Adv. Chem. Ser.*, **4**, 54 (1952).

<sup>3</sup> Chargaff, E., in *Colloquia on DNA*, ed. E. Brannen, G., and Chargaff, E., *Science*, **6**, 140 (1952).

<sup>4</sup> Wilton, M. H. F. *J. Gen. Phys.*, **30**, 261 (1952).

<sup>5</sup> Astley, W. T., *J. gen. Phys.*, **30**, 261 (1952).

<sup>6</sup> Wilton, M. H. F., and Randall, J. T. *Science*, **6**, 140 (1952).

# La scoperta della doppia elica

Passano in rassegna le strutture proposte fino a quel momento in particolare quelle di Furberg e di Pauling, presentano la loro struttura basata su due catene avvitate intorno allo stesso asse e tenute insieme da legami idrogeno tra le basi puriniche e pirimidiniche, con l'adenina che si lega alla timina e la guanina alla citosina.

## La specificità strutturale del DNA



This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis.

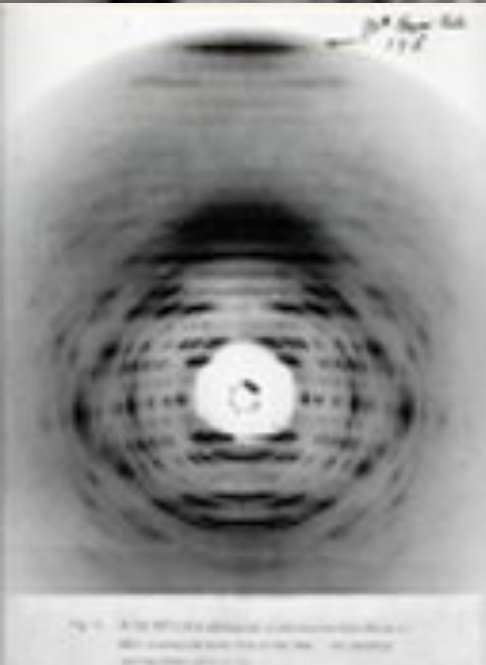
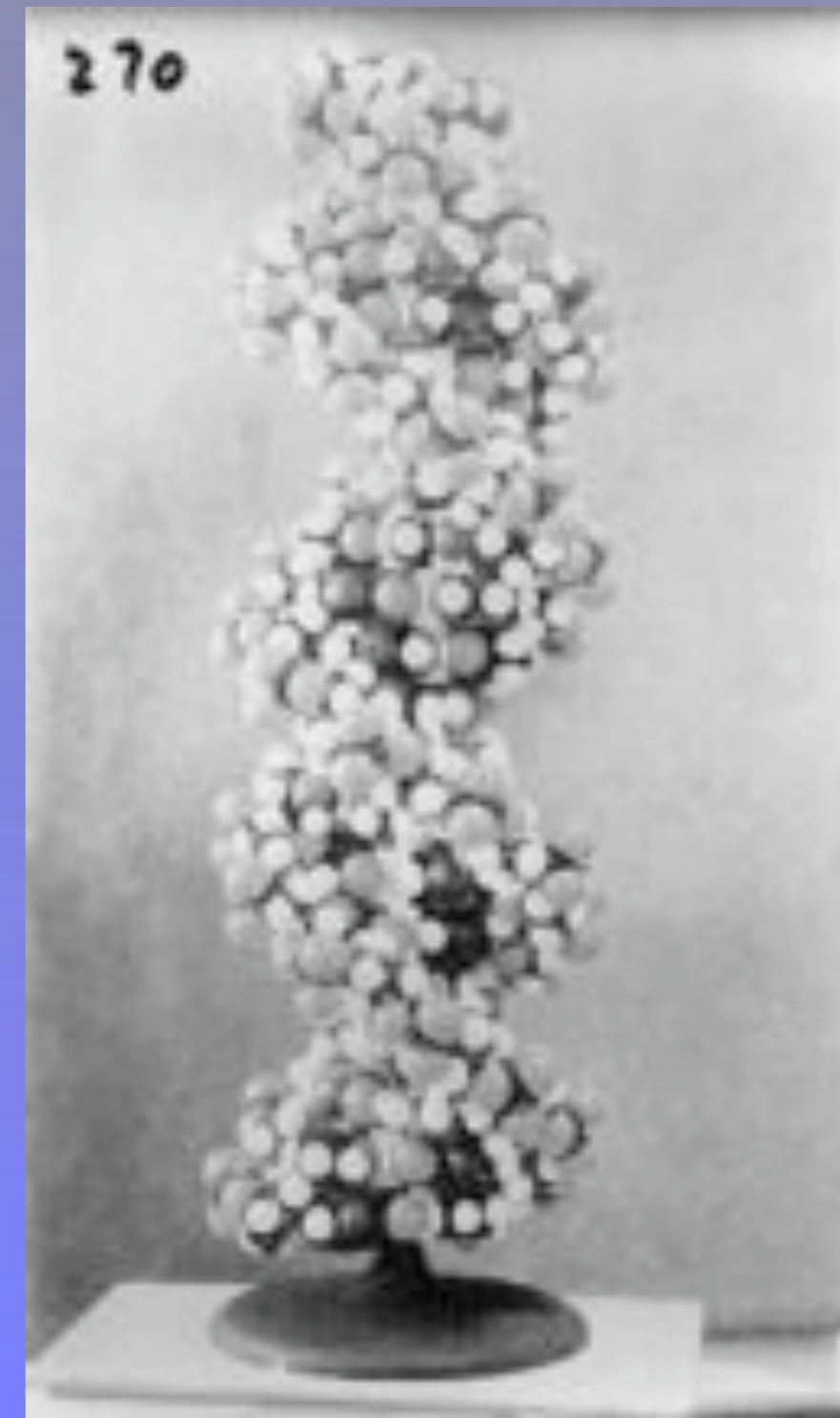
# Ingredienti della scoperta

- Crick e Watson erano meno condizionati dagli apparati concettuali e metodologici utilizzati negli studi sul DNA.
- Misero in comune le rispettive competenze (quelle fisico-matematiche di Crick e quelle genetico-biologiche di Watson)
- *Selezionarono* i dati che ritennero essenziali e poi procedettero per tentativi a costruire dei modelli della struttura, aggiustandoli sulla base dei problemi che via via sorgevano nella definizione dell'organizzazione delle catene nucleotidiche.

## **Dati essenziali disponibili:**

- Alexander Todd aveva chiarito la natura dei legami tra i nucleotidi
- Chargaff aveva scoperto le relazioni quantitative tra le basi puriniche e pirimidiniche
- Wilkins e Gosling avevano stabilito che le fibre cristalline del DNA sono costituite da basi impilate
- Furberg aveva mostrato la perpendicolarità della base rispetto allo zucchero
- John Masson Gulland aveva mostrato l'esistenza di legami idrogeno tra le basi
- Franklin e Gosling avevano ottenuto le evidenze cristallografiche del fatto che lo scheletro fosfato-zucchero è esterno mentre le basi sono interne e che la molecola è a doppia o tripla elica con asse di simmetria duale.

**Inoltre:** (1) Ebbero l'opportunità di vedere i dati raccolti dalla Franklin da cui ricavare i valori fisico-strutturali riguardanti il passo e il diametro dell'elica. (2) Lessero la relazione inviata dalla Franklin al Medical Research Council fornita da Max Perutz. (3) Ebbero dal chimico Jerry Donohue il suggerimento circa la corretta forma tautomerica delle basi da prendere in considerazione nella costruzione del modello e per la definizione dei legami idrogeno.



## **Crick Watson and Wilkins share The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962**

**"for their discoveries concerning the  
molecular structure of nucleic acids and its  
significance for information transfer in  
living material"**

# La grammatica molecolare della vita

L'individuazione delle caratteristiche chimico-strutturali del DNA era solo il primo passo nella spiegazione delle proprietà biologiche della macromolecola.

La scoperta spiegava in modo semplice la replicazione dell'informazione ereditaria, nonché le basi molecolari delle mutazioni e delle ricombinazioni e implicava quasi automaticamente che la sequenza delle basi potesse rappresentare la specificità del messaggio ereditario trasmesso dai geni ed espresso fenotipicamente a livello della struttura della proteina.

Il problema era stabilire **come** avvenisse la replicazione dell'informazione codificata nella sequenza, quale fosse la forma del codice in cui era scritto il programma genetico e in che modo la sequenza specifica di basi nucleotidiche poteva essere tradotta in una sequenza specifica di amminoacidi.



The Nobel Prize in Physiology or  
Medicine 1965

"for their discoveries concerning genetic control of enzyme and  
virus synthesis"



François Jacob

1/3 of the prize



André Lwoff

1/3 of the prize



Jacques Monod

1/3 of the prize

# Dove si riparla di RNA

Una volta ottenuta la comprensione del meccanismo (semiconservativo) di replicazione (Matthew Meselson e Franklin Stahl, 1957), soltanto a partire dai primi anni '60 fu possibile decifrare il linguaggio fondamentale della vita attraverso una serie di ingegnose tecniche biochimiche

In particolare le ricerche sulle diverse caratteristiche degli RNA presenti nelle cellule consentirono di comprendere il meccanismo della sintesi proteica portando alla scoperta dell'RNA messaggero e dell'RNA di trasporto, quali tramiti tra il DNA e le proteine e videro emergere il concetto di regolazione dell'espressione genica nei batteri, con la scoperta del sistema operone da parte della **scuola francese di biologia molecolare.**

# Dai Cromosomi al DNA

