

Full paper	Bollettino Accademia Gioenia Sci. Nat.	Vol. 45	N.° 375	pp. 665 - 679	Catania 2012	ISSN 0393 - 7143
------------	---	------------	---------	---------------	-----------------	---------------------

Controversa storia della doppia elica: antefatto, scoperta, sviluppi

GIORGIO MONTAUDO

Professore emerito, Università di Catania.
montaudo@alice.it; gmontaudo@unict.it

RIASSUNTO

La scoperta della struttura tridimensionale del DNA (Crick & Watson, 1953) viene spesso rappresentata come la conclusione di una ricerca epocale che di colpo ha permesso di tradurre su basi molecolari i meccanismi genetici. In realtà, se la struttura del DNA suggerì immediatamente il meccanismo della sua replicazione, il problema che rimaneva da affrontare era il modo in cui i geni trasmettono l'informazione genetica, in che modo il DNA influisce sulla cellula. I dieci anni che seguirono, videro un'intensa attività, cui parteciparono fisici, chimici, genetisti, biochimici, e che culminò nel 1963 con la decifrazione del "codice genetico", il meccanismo che presiede alla sintesi proteica. Uno sforzo parallelo, iniziato già nel 1955, quando il codice non era ancora stato decifrato, portò poi alla chiarificazione del complesso processo cellulare che permette agli amminoacidi di disporsi nella sequenza corretta per la sintesi proteica e per la loro polimerizzazione.

SUMMARY

Controversial history of the double helix: background, discovery, development

The discovery of tridimensional architecture of DNA (Crick & Watson, 1953) is often represented as the conclusion of an epochal research which allowed at once to translate genetic principles into molecular terms. As matter of fact, if DNA structure immediately suggested the mechanism underlying its replication, the problem that remained unsolved was the mechanism by which genes transduce the genetic information, i.e. in which way DNA operates inside the cell. The subsequent ten years, saw an intense research activity from physicists, chemists, genetists, biochemists, that resulted into decoding the "genetic code", the molecular mechanism that directs protein synthesis. A parallel effort, initiated already in 1955, when the genetic code was still unknown, allowed to determine the complex cellular process that directs each amino acid into the correct sequence for protein synthesis.

LA STRUTTURA DEL DNA

La scoperta della struttura tridimensionale del DNA (Crick & Watson, 1953) viene spesso rappresentata come la conclusione di una ricerca epocale che di colpo permise di tradurre su basi molecolari i meccanismi genetici. In realtà, se la struttura del DNA suggerì immediatamente il meccanismo della sua replicazione, il problema che rimaneva da affrontare era il modo in cui i geni trasmettono l'informazione genetica; occorre definire in che modo il DNA influisce sulla cellula. I dieci anni che seguirono, videro un'intensa attività, cui parteciparono fisici, chimici, genetisti, biochimici, e che culminò nella decifrazione del "codice genetico", il meccanismo che presiede alla sintesi proteica. Uno sforzo parallelo, iniziato già quando il codice non era ancora stato decifrato, portò poi alla chiarificazione del complesso processo che permette agli amminoacidi di disporsi nella sequenza corretta per la loro polimerizzazione durante la sintesi delle proteine.

Il problema che Crick e Watson affrontarono fu di stabilire se la struttura tridimensionale delle macromolecole fibrose come il DNA fosse elicoidale o meno. I materiali fibrosi sono parzialmente cristallini e, pertanto, i dati di diffrazione ai raggi X non sono così chiari come nel caso dei cristalli singoli, che permettono di risalire alla struttura tridimensionale esatta. Crick padroneggiava molto bene la teoria della diffrazione ai raggi X e si accorse subito che mancava una teoria che permettesse di calcolare *a priori* la figura di diffrazione prodotta da una qualsivoglia macromolecola elicoidale. La soluzione del problema fu da lui pubblicata nel 1952 (la trasformata ottica di un'elica discontinua); essa costituisce uno strumento teorico raffinatissimo, che qualificò la statura scientifica di Crick, capace di "inventare" la teoria che gli serviva in quel momento per interpretare i dati sperimentali prodotti da Rosy Franklin. Infatti, la Franklin era riuscita ad ottenere delle ottime foto della diffrazione ai raggi X di fibre di DNA, ma cercava di interpretare i pochi dati di diffrazione da fibra mediante i metodi tradizionali di cristallografia che richiedevano, invece, accurate misure su cristalli singoli di DNA, allora non disponibili. Un compito ingrato, che avrebbe richiesto molto tempo.

Il successo di Crick e Watson, che lavorarono due anni usando i modelli molecolari e la teoria di Crick, fu dovuto proprio all'utilizzo di queste tecniche innovative. Essi supplirono all'insufficienza dei dati sperimentali, utilizzando la meccanica molecolare. In quei due anni, il conflitto fra i seguaci dell'ortodossia, secondo i quali si dovevano usare soltanto i metodi tradizionali, e i nostri eroi che intendevano sfruttare appieno le potenzialità degli algoritmi all'uopo sviluppati, fu asprissimo. Anche dopo la pubblicazione del lavoro sulla doppia elica, lo scetticismo circa la validità dei metodi impiegati nella ricerca durò per anni. Si riuscì poi, mediante misure su cristalli singoli di DNA, a dimostrare esatta la struttura di Crick e Watson. Ad essi dobbiamo se l'orologio del progresso è stato portato in avanti di almeno 30 anni.

La ricerca scientifica è per sua natura tentativa, fatta di congetture e confutazioni, procede a stadi, spesso tornando riflessivamente sui propri passi, prima di compiere ulteriori balzi in avanti. Spesso si impara più dagli errori e dalle

critiche, che dalla mera accettazione delle conclusioni di uno studio scientifico. Quella di imparare dagli errori, e di ricostruire il modello appena smantellato, modificandolo opportunamente, è proprio l'attitudine scientifica più corretta. Presentare una scoperta scientifica come qualcosa di preconfezionato, "in cui conviene saltare dentro di colpo", come affermava all'inizio del secolo scorso Giovanni Gentile, significa ignorare il travaglio intellettuale e umano che vi è dietro. Per conoscere, occorre storicizzare, nella scienza come nella filosofia, o in qualunque altra attività umana. Il riduzionismo di Gentile e Croce nei confronti della scienza si infranse proprio contro l'evidente vantaggio che comportò il processo di storicizzazione della scienza e l'analisi dell'evoluzione del pensiero scientifico. La tormentata storia della scoperta della struttura del DNA, è un buon esempio.

Watson e Crick passarono due anni a combattere contro tutti, perché perseguivano lo studio della struttura del DNA con metodi per allora non ortodossi. Così facendo, incapparono in una serie di errori che li misero in una penosa situazione di discredito fra i colleghi che si occupavano dello stesso problema. Visti i risultati negativi, ad un certo momento, i superiori vietarono loro di occuparsi del problema. E il loro diretto superiore era Bragg, un premio Nobel! Insistettero, fra mille sotterfugi, e seppero imparare dai loro errori, correggendoli. Il successo ne fece poi degli eroi. Quella di Crick e Watson è la storia dei loro errori e delle loro frustrazioni durante il percorso, ma è anche la storia della conquista della soluzione del problema, storia delle controversie scientifiche e della maturazione delle idee che li portarono alla scoperta. Watson e Crick, due giovanotti senza reputazione scientifica, ebbero il coraggio di confrontarsi, con la sola forza delle loro intuizioni e delle loro idee, con scienziati di grandissimo prestigio, che erano di opinione contraria. Una grande lezione per tutti, e non solo in ambito scientifico.

ANTEFATTO

L'antefatto coinvolge essenzialmente i ricercatori di tre laboratori: Pauling al Caltech di Pasadena; Wilkins e Franklin al King's College di Londra; Crick, Watson, Bragg, Perutz, Kendrew al Cavendish di Cambridge. Erano questi i principali laboratori che si dedicavano allo studio della struttura delle macromolecole biologiche: proteine e acidi nucleici. Lo studio delle proteine era cominciato già nel 1935; allora si pensava che i geni fossero proteine, mentre per il DNA gli studi sistematici erano cominciati intorno al 1950. Toccò a Pauling di cogliere il primo successo, quando nel 1951 risolse la struttura delle proteine fibrose, proponendo la famosa α -elica. Egli aveva studiato per lungo tempo, mediante diffrazione ai raggi X, la struttura di piccoli peptidi, e risalì alla struttura delle proteine fibrose costruendo dei modelli molecolari molto accurati, basati sui parametri strutturali ricavati dai peptidi. Bragg, Perutz e Kendrew, al Cavendish di Cambridge, avevano tentato di risolvere lo stesso problema, ma la loro struttura risultò sbagliata. Lo stesso Pauling passò subito dopo allo studio del DNA, utilizzando il suo metodo di costruire modelli molecolari. Crick e Watson (1951) presero a lavorare anch'essi alla costruzione di modelli del DNA, basandosi anche

sui dati di diffrazione ai raggi X ottenuti da Wilkins e Franklin. Questi ultimi volevano, invece, affrontare il problema utilizzando i metodi classici della diffrazione ai raggi X. La corsa era cominciata.

SCOPERTA

Nel febbraio del 1953 apparve sui *PNAS* un articolo a firma di Pauling e Corey sulla struttura tridimensionale del DNA. Pauling, sulla base di vecchi dati di diffrazione ai raggi X (Atsbury, 1947), proponeva per il DNA una struttura a tripla elica, che risultò errata. Nell'aprile 1953, su *Nature* apparvero tre articoli consecutivi e concordati fra loro, in cui: (a) Crick e Watson proponevano il modello a doppia elica per il DNA; (b) Wilkins e Randall portavano argomentazioni a favore del modello a doppia elica; (c) Franklin e Gosling mostravano i loro nuovi dati sperimentali (forma B del DNA), su cui il modello di Crick e Watson era basato. Nel maggio 1953, sempre su *Nature*, apparve un articolo di Crick e Watson con maggiori dettagli sul loro modello e sulle implicazioni riguardo alla riproduzione delle informazioni genetiche. Il Nobel 1954 premiò Pauling per l' α -elica e per una lunga serie di brillanti contributi alla chimica. Il Nobel, che nel 1962 premiò Crick, Watson e Wilkins, lasciò nell'ombra il contributo essenziale di Rosalind Franklin, morta prematuramente nel 1958. Da qui, strascichi e polemiche, spesso fuor di luogo.

La scoperta della doppia elica del DNA suggerì immediatamente a Crick e Watson il meccanismo di trasmissione dell'informazione genetica, ed essi non mancarono di farlo rilevare nella loro prima pubblicazione sulla prestigiosa rivista *Nature* (una nota di una facciata appena). Nei processi cellulari, la doppia elica del DNA si scinde in due catene singole, e così ciascuna delle due catene può a sua volta replicarsi. In questo processo di replicazione, data la complementarietà delle catene, si riformeranno due doppie eliche esattamente identiche a quelle di partenza, e in ciò sta la base dell'ereditarietà: la molecola del DNA è capace di autoreplicarsi (in teoria senza errori), e ogni nuova cellula conterrà lo stesso identico DNA. Se vi sono errori nel processo di autoreplicazione del DNA, siamo in presenza di una "mutazione genica", con le conseguenze che ben conosciamo.

Il modello di Crick e Watson rende anche conto dei fenomeni degenerativi che avvengono nelle cellule cancerogene. Come sappiamo, la catena del DNA è composta da desossiribosio e acido fosforico, cui sono attaccate le basi nucleiche. La struttura si presenta come una gradinata elicoidale, e l'intervallo fra due basi successive è quello di contatto, cioè 3.4 Å. Tuttavia la catena del DNA ha un grado di flessibilità e, ruotando i legami fosforici si ottiene il raddoppio dell'intervallo esistente fra due basi nucleiche. Questa struttura permette l'intercalazione di una molecola estranea fra due basi nucleiche successive e denatura la funzione biologica del DNA. Le molecole capaci di intercalarsi con successo nel DNA sono principalmente quelle aromatiche (catramose), e ciò spiega per esempio la nocività del fumo (neoplasie ai polmoni). In realtà, se la struttura del DNA suggerì immediatamente il meccanismo della sua replicazione, il problema che rimaneva da affrontare era il modo in cui i geni trasmettono l'informazione genica, occorreva definire in che modo il DNA influisce sulla cellula. I dieci anni che seguirono,

videro un'intensa attività, cui parteciparono fisici, chimici, genetisti, biochimici, e che culminò nel 1963 con la decifrazione completa del "codice genetico", il meccanismo che presiede alla sintesi proteica.

Fu il fisico Gamov, già nel 1953, a suggerire l'idea che la struttura del DNA fosse uno stampo per la sintesi proteica, mediante un codice a triplette di basi (sovrapposte) che permette di specificare la sequenza delle proteine. Doveva essere la sequenza delle basi nucleiche a trasportare tale informazione. Si trattava di capire come un alfabeto a quattro lettere fosse capace di specificare i venti amminoacidi proteici. Siccome il DNA è contenuto all'interno del nucleo e la sintesi delle proteine avviene nel citoplasma, ricco di RNA, si poteva supporre che l'RNA fosse il tramite attraverso cui il DNA veniva ricopiato. Il meccanismo di copiatura DNA → RNA poteva avvenire tramite una sintesi templata all'interno dei ribosomi. A sua volta, l'RNA poteva dirigere la sintesi proteica. Tuttavia, nonostante gli sforzi dei fisici teorici e dei genetisti, il codice genetico fu delucidato dai biochimici. Nirenberg (1961) fornì la chiave del codice, mediante un esperimento *in vitro*. Egli isolò i ribosomi dell'*Escherichia coli*, aggiunse amminoacidi, ATP, RNA ricavato da virus e ottenne una sintesi proteica. Ottenuto questo primo risultato, usò RNA artificiale. Aggiungendo poliuracile ottenne soltanto polifenilalanina; da policitosina ottenne poliprolina; da poliadenina ottenne polilisina. Fu la prima decodificazione, ed anche la dimostrazione che il codice è costituito da triplette non sovrapposte. Kornberg, Kohrana e Ochoa delucidarono gli altri codoni e nel 1963 in codice fu completato con tutti i 64 codoni.

SVILUPPI

A seguito dei collegamenti essenziali stabiliti fra biochimica e genetica, lo sviluppo più importante della scoperta della doppia elica e del codice genetico fu la nascita della biologia molecolare. La sintesi proteica è stata decodificata non solo per quanto riguarda il codice a triplette, ma anche per i processi cellulari coinvolti nella sintesi, ormai noti a livello molecolare. La biologia molecolare nasce proprio dalla constatazione che studiare la biologia su basi meramente fenomeniche e morfologiche, non è sufficiente. Occorre scendere a livelli molecolari, bisogna individuare le molecole che promuovono i processi vitali, aggiungere agli oggetti della biologia classica (cellule e organi), dei nuovi oggetti: le biomolecole. Occorre tenere conto della loro forma spaziale, dei meccanismi biosintetici, delle loro interazioni e della loro reattività.

In realtà, il risultato più clamoroso è stato di mostrare che la biologia è scritta essenzialmente nel linguaggio della chimica. La conclusione (rivoluzionaria per l'epistemologia) che scaturisce dall'esame delle formule strutturali chimiche è che esse non sono simboli, bensì rappresentazioni autentiche, fedeli ed accurate, della materia organica e inorganica esistente nell'universo. Quando costruiamo un modello tridimensionale della molecola del DNA, non si tratta di una rappresentazione simbolica, bensì di una riproduzione in scala della molecola così come quest'ultima esiste in natura. La chimica non offre spazio al simbolismo, ci pone subito di fronte alla realtà. I processi biologici sono generati da reazioni fra

biomolecole, e queste sono reazioni chimiche complesse che devono essere chiarite nei minimi particolari se si vuole comprendere il funzionamento della macchina biologica.

La biologia cellulare è scritta nel linguaggio della chimica. La chimica è sufficiente a trattare i processi cellulari. Tuttavia, le nanodimensioni rientrano nel campo della quantomeccanica, che ha le sue leggi particolari (l'effetto tunnel è un processo che spiega il decadimento β negli atomi, altrimenti proibito per la meccanica classica). Potrebbe accadere che la quantomeccanica giochi un ruolo nei fenomeni di trasferimento dell'energia, di superconduzione, e quant'altro, a livello di processi cerebrali e mentali. Delbruck, quando negli anni '30 si impegnò nel tentativo di fondare la biofisica, sperava che la biologia permettesse di scoprire nuove leggi fisiche. Questo tentativo risultò vano, a livello di processi e trasformazioni cellulari, la chimica è sufficiente. Forse era troppo presto per l'entrata in gioco della fisica. Allora come oggi, i processi cerebrali non erano stati esplorati a livello molecolare. Le nanodimensioni e le loro leggi quantomeccaniche potrebbero rivelarsi essenziali per sviluppare dei modelli utili a comprendere le funzioni cerebrali e mentali, oggi così misteriose.

Citazione da Francis Crick, "La folle caccia" (Rizzoli 1990, p. 84-85): "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 delle macromolecole, e che la nostra conoscenza dell'atomo di carbonio, dei legami che tengono insieme gli atomi (il legame covalente e le attrazioni elettrostatiche, i legami idrogeno e le forze di Van der Waals), fosse sufficiente a svelare i misteri della vita. Max Delbruck, che era per formazione un fisico, sperava, invece, che la biologia permettesse di scoprire nuove leggi della fisica.

Io penso che Delbruck non sia mai dato molto pensiero della chimica. 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. Il tempo dimostrò che Pauling aveva ragione e Delbruck torto, come in effetti lo stesso Delbruck riconobbe nel libro "Mind into matter". Tutto ciò che sappiamo sulla biologia molecolare appare spiegabile in una maniera chimica tradizionale. Noi oggi ci rendiamo conto che la biologia molecolare è non è un aspetto banale dei sistemi biologici. Essa è al cuore della questione. Quasi tutti gli aspetti della vita vengono prodotti a livello molecolare; senza la comprensione delle molecole possiamo avere soltanto una comprensione molto lacunosa della vita stessa. Tutti gli approcci a un livello superiore sono sospetti finché non sono stati confermati a livello molecolare.

IL CONTRIBUTO DI WATSON E CRICK

Tutto comincia nel 1951, quando due intelligenze vivacissime, Crick e Watson, s'incontrano e decidono di lavorare insieme ad un progetto che crea loro molte difficoltà con i superiori, ma che accende la loro fantasia: la struttura tridimensionale del DNA.

Francis Crick, fisico geniale, di indole mordace e ribelle, proveniva da una famiglia agiata che lo sollevò da problemi economici, ancora a 35 anni studente di dottorato, con pochissima voglia di applicarsi al suo specifico lavoro di tesi e tanta curiosità scientifica in tutti i campi. Crick era in perenne conflitto con i professori e con i colleghi, circa l'importanza dei temi di ricerca affrontati e sui metodi usati per risolvere i problemi. Al Cavendish Laboratory for Molecular Biology di Cambridge, dove svolgeva il lavoro di tesi, per la sua acutezza era considerato un utile interlocutore, ma anche un problema umano e uno scansafatiche.

Jim Watson, genetista americano, invece aveva appena 23 anni ed era venuto a trascorrere un periodo di post-dottorato a Cambridge. Per Watson, quella era quasi una vacanza che seguiva al conseguimento del dottorato e gli serviva a conoscere un poco il mondo scientifico europeo prima di intraprendere una seria e meditata carriera universitaria in patria.

Era stato Salvador Luria, Premio Nobel e suo professore in America, a consigliargli di andare al Cavendish di Cambridge. Da Luria, Watson aveva appreso la virologia. Assieme a Delbruck ed Hershey, Luria faceva parte del "gruppo dei fagi", che pose lo studio dei virus alla base della nuova genetica. Luria, che fu anche maestro di Renato Dulbecco, ritenne che al giovane Watson avrebbe giovato un'esperienza di prima mano sui metodi fisici usati per delucidare la struttura tridimensionale delle molecole biologiche.

Watson era un profano di strutturistica e per consolarsi, al suo arrivo a Cambridge prese a frequentare anche i laboratori di biologia ed ebbe compagno e mentore Crick, che aveva deciso di prestare attenzione al giovane virologo e alle sue problematiche sul meccanismo di azione dei virus.

In realtà, Crick mal si adattava al metodico lavoro di tesi con Peruz e Kendrew (entrambi futuri Premi Nobel), i quali cristallizzavano pazientemente le proteine globulari e poi analizzavano la loro struttura con metodi di diffrazione ai raggi X e con laboriosi calcoli. Non che l'argomento fosse poco interessante. Tutti si rendevano conto che, se fossero riusciti nel loro intento, quei due avrebbero conseguito uno strepitoso successo, che avrebbe segnato grandi progressi in chimica ed in biologia.

Infatti, la struttura tridimensionale delle proteine globulari è responsabile di funzioni vitali, come la respirazione e i processi enzimatici. Ciò che rendeva tutto problematico era che, allora, non esistevano metodiche atte allo scopo, e quelle divise da Kendrew e Peruz, non apparivano a Crick molto promettenti. Era un lavoro troppo complesso, e Crick aveva espresso in un seminario dinanzi a tutto lo staff del Cavendish, il suo scetticismo sul fatto che quelle metodiche fossero in grado di risolvere il problema della struttura tridimensionale delle proteine globulari.

Il direttore del laboratorio, un prestigioso Premio Nobel, quel Sir Lawrence Bragg cui si devono le leggi fondamentali della diffrazione a raggi X, si era molto arrabbiato al seminario. Quel briccone di Crick osava criticare il programma cardine di tutto il laboratorio. Crick aveva poi fatto parzialmente ammenda, precisando che, secondo lui, solo il metodo delle sostituzioni isomorfe era in grado di risolvere il problema, il che si avverò qualche anno più tardi. Quel seminario mise in difficoltà Crick, che si trovò a dover svolgere un lavoro di tesi in cui non credeva e che aveva pubblicamente criticato.

Fu in quel frangente che cominciò a delinarsi la collaborazione con Watson. Anche Watson era molto critico nel selezionare i problemi di ricerca. Prima di arrivare al Cavendish era stato in giro per altri laboratori a curiosare, ma non aveva trovato niente degno di accendere la sua fantasia.

Crick era l'uomo adatto con cui discorrere quando c'era da valutare le tematiche di ricerca e le loro probabilità di successo. La genetica era allora una disciplina emergente, e Crick, era affascinato dai problemi dell'ereditarietà.

Watson spiegò a Crick il problema fondamentale della genetica molecolare. Gli acidi nucleici (quelle macromolecole che si trovano nel nucleo d'ogni cellula animale, circondati da tutti gli altri componenti cellulari), erano stati da poco individuati come portatori del patrimonio genetico (1944), ma nulla era noto sul come il DNA influiva sulla cellula e sul meccanismo di trasferimento delle informazioni genetiche.

Poteva esserci un collegamento fra la forma spaziale del DNA ed il meccanismo dell'ereditarietà? Questo era il problema che Watson dibatteva con Crick, e che accese il loro interesse. Nessuno al Cavendish si occupava della struttura degli acidi nucleici, ma Watson sapeva che a Londra c'era un gruppo al King's College che si occupava di struttura del DNA.

Si trattava di Wilkins e della sua assistente Franklin. Watson entrò in contatto con questi ricercatori, riportando poi a Crick le sue impressioni. Wilkins aveva ottenuto dei campioni di DNA molto puro e aveva potuto cristallizzarli, almeno parzialmente. La speranza era, come per il caso delle proteine, di poter estrarre dai dati di diffrazione ai raggi-X dalle informazioni sulla struttura tridimensionale del DNA e sulla sua funzione biologica. I riflessi della diffrazione ai raggi X contengono solo metà dell'informazione necessaria per determinare le coordinate atomiche. I riflessi forniscono infatti l'intensità ma non la fase dei componenti della trasformata di Fourier. Il diametro della molecola del DNA, come risultava dai dati di diffrazione, era troppo grande per una sola catena. Ce ne potevano essere 2, 3 o 4. Rosy Franklin sostenne che le basi stavano al centro. Il modello con le basi nucleiche al centro e lo scheletro zuccherofosfato esterno, costrinse Watson e Crick a porsi il problema delle irregolarità di diametro.

Uno dei principi fondanti della doppia elica sono le basi tenute insieme da legami idrogeno, come richiesto dalle regole di Chargraff, che allora apparivano del tutto inspiegabili. Il cammino era lungo, e nessuno sapeva bene come procedere. La posta in gioco era, però, assai rilevante, perché la conoscenza della struttura tridimensionale del DNA poteva essere importante per capire il meccanismo molecolare con cui i geni esplicano la loro funzione biologica, cioè

capire il segreto della vita. Agli inizi del 1951, i tempi erano maturi per porsi il problema della struttura delle macromolecole biologiche. Al Cawendish, Bragg, Kendrew e Perutz erano impegnati in un duello a distanza con Linus Pauling, il famoso scienziato del Caltech, sulla struttura delle proteine. Pauling, un anno prima, li aveva preceduti proponendo il modello dell'alfa-elica per le proteine fibrose, definendo così per la prima volta la struttura tridimensionale di una macromolecola biologica. L'implicazione contenuta in quella scoperta, che non era sfuggita a Crick e Watson, era che la struttura elicoidale potesse essere la forma preferenziale adottata da altre grandi molecole biologiche come il DNA.

Il metodo seguito da Pauling era stato geniale, poiché non c'era modo di ottenere cristalli singoli dalle proteine fibrose, e ci si doveva accontentare degli spettri di diffrazione prodotti da fibre. Questi ultimi avevano il difetto di produrre soltanto pochi riflessi alla diffrazione ai raggi-X, insufficienti per dedurre la struttura tridimensionale di quegli oggetti. Pauling aveva, quindi, studiato la diffrazione ai raggi-X di molecole peptidiche di piccole dimensioni, che davano luogo a cristalli singoli e potevano essere studiate con le normali tecniche di diffrazione ai raggi-X, permettendo la delucidazione completa della loro struttura, ed aveva poi utilizzato quei dati per costruire dei modelli molecolari delle macromolecole peptidiche, ossia le proteine fibrose.

Pauling, con quegli studi aveva ottenuto la conferma sperimentale della sua teoria quantomeccanica della risonanza. Infatti, le ricerche sui peptidi gli permisero di accertare che il legame peptidico era planare, cosa che era spiegabile solo se ammetteva il parziale doppio legame fra gli atomi C-N. Quando Pauling si accorse che il legame peptidico era planare, intravide la possibilità di costruire dei modelli molecolari delle proteine fibrose, e di confrontare questi con gli spettri di diffrazione prodotti dalle proteine fibrose. Infatti, il gruppo peptidico planare riduceva i gradi di libertà rotazionali della catena polipeptidica, che altrimenti risultava troppo flessibile. Lavorando sui modelli molecolari, Pauling era riuscito a costruire una struttura elicoidale per le proteine fibrose, detta α -elica. Tuttavia, i dati di diffrazione ai raggi-X sulle proteine fibrose erano insufficienti a permettere la determinazione della struttura tridimensionale, e mancava anche una teoria generale per la trasformata ottica della diffrazione dell'elica discontinua (se si immagina una linea ideale che congiunga gli atomi di una molecola lineare avente forma elicoidale, gli atomi descrivono un percorso elicoidale punteggiato, detto appunto elica discontinua).

La scoperta di Pauling poneva la questione se la forma elicoidale potesse costituire una disposizione spaziale comune ad altre macromolecole biologiche a struttura fibrosa, come il DNA e le proteine. Il problema era di estremo interesse per i ricercatori del Cawendish e Crick, assieme a Cochran e Wand, elaborò una elegante teoria fisico-matematica adatta allo scopo, la cosiddetta teoria generale dell'elica discontinua. La funzione di Bessel si prestava molto bene a descrivere la trasformata ottica di un'elica discontinua. Adesso, se una macromolecola biologica si presentava in forma cristallina elicoidale, si poteva approntare un modello molecolare a priori, immediatamente confrontabile con i dati di diffrazione di fibra ai raggi-X. Questo strumento teorico, nelle mani di Crick e Watson, si rivelò poi

essenziale per la definizione della struttura del DNA. Infatti, i dati sperimentali di diffrazione ottenuti da Wilkins e Franklin su fibre di DNA, non potevano essere interpretati tramite le tecniche ortodosse, valide solo per cristalli singoli, e giacevano pertanto inutilizzati nel laboratorio del King's College a Londra, poiché i ricercatori londinesi non avevano nessuna fiducia nell'efficacia del metodo elaborato da Crick.

Crick e Watson costruirono dei modelli molecolari elicoidali per il DNA, basandosi sugli spettri di diffrazione del DNA, ottenuti dal gruppo di Wilkins a Londra, e applicarono la teoria dell'elica elaborata in precedenza da Crick. In poco più di due anni riuscirono nell'impresa, una formidabile combinazione di sagacia, di fortuna e di scelte giuste, che portò alla scoperta che ha segnato un'epoca. Se Crick e Watson avessero seguito gli schemi e le tecniche disponibili nel 1950 per stabilire la struttura tridimensionale del DNA, ci sarebbero voluti molti anni davvero. Infatti, solo nel 1980 fu possibile ottenere direttamente la disposizione spaziale degli atomi nella molecola del DNA a partire dalla diffrazione ai raggi-X di un cristallo singolo. I risultati confermarono esattamente ciò che i nostri due avevano proposto già nel 1953, ben 30 anni prima! Non fu facile arrivarci, e i due risolsero genialmente, uno dopo l'altro, parecchi problemi, facendo compiere numerosi passi avanti alla chimica ed alla cristallografia.

Oltre alla teoria della trasformata dell'elica discontinua, per esempio, la struttura allo stato solido delle basi nucleiche non era allora ben definita. Watson intuì che esse si presentano nella forma chetonica e non nella forma enolica, come fino a allora creduto, e che esse sono appaiate, tenute insieme da fortissimi legami idrogeno. Questo fatto permise di superare il problema della regolarità del diametro della doppia elica, dato che l'accoppiamento poteva solo avvenire fra una base purinica e una pirimidinica. Di conseguenza, fu risolto il problema di collocare all'esterno dell'elica la catena fosfato-desossiribosio, come richiedevano i dati e come sostenuto dalla Franklin. Pauling (ancora lui!) aveva nel frattempo pubblicato un modello elicoidale del DNA ma, sbagliando, aveva posto la catena fosfato-desossiribosio all'interno! Di conseguenza, la struttura tridimensionale proposta da Pauling non era quella che poi fu accertata per il DNA. Per poter produrre il modello tridimensionale del DNA, più e più volte modificato radicalmente nel corso dello studio, Crick dovette ricavarsi i valori di contatto fra i vari atomi del DNA e postulare che le due catene della doppia elica siano antiparallele.

Oggi il modello molecolare della doppia elica del DNA è ben noto. E' il simbolo della vita, e compare di frequente nelle raffigurazioni artistiche e pubblicitarie. Si tratta di due catene macromolecolari che corrono in senso inverso l'una all'altra e si avvolgono in un'elica molto compatta. La catena del DNA è composta da desossiribosio e acido fosforico, mentre quattro basi nucleiche (due puriniche: Guanina e Adenina, e due pirimidiniche: Timina e Citosina), sono attaccate all'anello del desossiribosio e si saldano all'interno della struttura con le basi appartenenti all'altra catena. Affinché l'elica del DNA abbia diametro costante, le basi nucleiche debbono accoppiarsi in modo specifico: l'Adenina con la Timina e la Guanina con la Citosina. Ne consegue che la struttura delle due catene della doppia elica è collegata, e che se una catena possiede una certa

sequenza di basi, la sequenza di basi nucleiche nell'altra catena non è casuale, ma al contrario deve essere quella complementare.

La rilevanza del contributo di Watson e Crick non si ferma alla scoperta della struttura della doppia elica. Essi contribuirono in modo sostanziale allo sviluppo della biologia molecolare. L' α -elica di Pauling (1951) fu il primo successo della cristallografia biologica, tuttavia non fornì informazioni alla biologia. Watson e Crick, a differenza degli altri ricercatori coinvolti nella scoperta (Franklin, Wilkins, Pauling), non si fermarono alla delucidazione della struttura del DNA, ma si occuparono subito delle implicazioni biologiche della struttura a doppia elica. Essi pubblicarono subito (1953) un modello per la replicazione del DNA e lavorarono poi a chiarirne i dettagli. Watson si occupò della struttura tridimensionale del RNA e della biologia molecolare del gene. Crick si occupò a fondo del problema del codice genetico, proponendo soluzioni al problema delle triplette (sovrapposte o meno), seguendone tutti gli sviluppi e contribuendo direttamente alla sua completa delucidazione tramite l'ipotesi vincente dell'esistenza dei t-RNA, i trasportatori di amminoacidi, e dei relativi enzimi di acetilazione.

Il progetto di Watson e Crick, costruire un modello teorico (a priori) per la struttura tridimensionale del DNA usando i modelli molecolari, era più che pionieristico a quell'epoca. Era tanto azzardato che molti esperti lo giudicavano un gioco senza speranza. Il parallelo con l'impatto rivoluzionario che ebbe a suo tempo l'ipotesi stereochimica di Van't Hoff, non è per niente esagerato. α -Elica delle proteine fibrose e doppia elica del DNA, insieme, segnano l'avvento della meccanica molecolare e della biologia molecolare.

Pauling aveva aperto la strada delucidando la struttura dell' α -elica (1951) e Watson e Crick proseguirono con il DNA (1953). Fino al 1951 nessuna struttura di macromolecole biologiche era stata delucidata. Senza la scoperta della doppia elica, il lavoro di Pauling con i modelli molecolari potrebbe non avere avuto seguito per molto tempo. Pauling stesso, dopo il suo tentativo fallito di costruire un modello molecolare tridimensionale per il DNA (1953), abbandonò questa linea di ricerca. Invece, a seguito del successo di Watson e Crick, l'impiego della meccanica molecolare e dei modelli molecolari si diffuse subito; già nel 1955 furono risolte la struttura a tripla elica del collagene, della poliprolina e della seta, oltre a quella del TMV e perfino quella del polipropilene (Natta).

Per la scoperta del DNA, Watson e Crick si giovarono di molte informazioni e delle competenze di grandi scienziati con cui entrarono in contatto a Cambridge: Bernal, Bragg, Peruz, Kendrew, Todd, Chargraff, Donohue, Pauling, Delbruck, Franklin, Wilkins. La polemica sul fatto che Watson e Crick usarono i dati della Franklin e non fecero misure sperimentali proprie, è tipica del pregiudizio proprietario della ricerca. Crick intuì subito che l'assenza di riflessi sul piano equatoriale negli spettri di fibra rivela una struttura elicoidale nel DNA. Anche Van't Hoff non fece sintesi chimiche (come gli rimproverò Kolbe) per dimostrare la sua ipotesi. Eppure, essa giovò grandemente allo sviluppo della chimica. D'altronde, nessuno rimproverò a Pauling di aver usato i dati di Atsbury per proporre, rispettivamente, il modello dell' α -elica e del DNA (errato). E' vero, tuttavia, che Pauling usò dati pubblicati, mentre Watson e Crick non aspettarono e

usarono dati sperimentali che Franklin e Wilkins volevano ancora analizzare prima di pubblicarli. L'ortodossia cristallografica, fino al 1953, consisteva nell'ottenere un cristallo singolo di una molecola e di dedurre la struttura dagli spettri di diffrazione ai raggi X. Era considerato scorretto (impresa senza speranza) usare per questo scopo gli spettri di diffrazione generati da fibre macromolecolari, che sono parzialmente cristalline e danno risultati inferiori ai cristalli singoli. Grazie a Watson e Crick, invece, il metodo di costruire modelli molecolari di macromolecole fibrose si è rivelato vincente, cosa che ha portato a compiere enormi progressi in chimica ed in biologia.

GAMOW E IL "RNA TIE CLUB"

Nel maggio 1953, Watson e Crick erano ancora assorbiti dai dettagli sui possibili meccanismi con cui avviene la replicazione del DNA, e non avevano ancora avuto modo di affrontare il problema di come il DNA trasmette l'informazione genetica. Fu il fisico teorico Gamow, già nel luglio 1953, a suggerire l'idea che la struttura del DNA fosse uno stampo per la sintesi proteica.

Gamow era ben noto per i suoi contributi fondamentali nel campo della fisica teorica, quali l'effetto tunnel; le regole di selezione per il decadimento β ; il Big Bang e la radiazione di fondo. Personaggio eclettico ed estroverso, egli si occupava, amatorialmente, anche di biologia. Secondo Gamow, doveva essere la sequenza delle basi nucleiche a trasportare tale informazione. Per prima cosa, si trattava di capire come un alfabeto a quattro lettere fosse capace di specificare i venti amminoacidi proteici. Subito dopo aver letto l'articolo del maggio 1953, pubblicato da Watson e Crick su *Nature*, Gamow propose un codice a triplette (sovrapposte) per passare da un alfabeto a 4 lettere a quello a 20 lettere. Il codice a triplette di basi permette di specificare la sequenza di amminoacidi nelle proteine.

Gamow argomentò che un codice binario, in cui bastano due basi a specificare un amminoacido, è limitato poiché porta un alfabeto di 16 amminoacidi ($4^2 = 16$). Da qui la necessità di avere un codice in cui siano tre basi nucleiche a specificare un singolo amminoacido ($4^3 = 64$). Gamow si rese conto che 64 era un numero eccessivo e che il suo codice doveva essere degenerare. Egli propose che gli amminoacidi proteici fossero 20, e cercò di ridurre la degenerazione applicando delle regole di simmetria alle triplette. La sua intuizione risultò corretta in due punti essenziali: il codice è costituito da triplette di basi; gli amminoacidi proteici sono 20 (cosa che nel 1953 non era assodata, infatti, la prima sequenziazione dell'insulina avvenne nel 1955 ad opera di Singer, lo stesso che poi sequenziò il DNA). Sbagliò invece a proporre un codice di triplette sovrapposte e anche a pensare che le basi nucleiche potessero attirare direttamente gli amminoacidi per polimerizzarli. Gamow prese subito contatto con Watson e Crick e scrisse loro una lunga lettera nel luglio 1953, esponendo per sommi capi la sua idea: siccome il DNA è contenuto all'interno del nucleo e la sintesi delle proteine avviene nel citoplasma, ricco di RNA, si poteva supporre che l'RNA fosse il tramite attraverso cui il DNA veniva ricopiato. A sua volta, l'RNA poteva dirigere la sintesi proteica. La sua idea del codice a triplette fu accettata, e Gamov fondò subito uno scherzoso "RNA Tie Club", cosiddetto per via della cravatta con il disegno dell'RNA, che

costituiva il distintivo di appartenenza, e di cui potevano far parte soltanto 20 scienziati di punta. Negli anni '50 vi era disponibilità di denaro per le ricerche, e grande voglia degli studiosi di viaggiare per colmare le lacune di comunicazione scientifica accumulate durante il periodo bellico. Il club si riuniva periodicamente e servì da incubatore dei rapidi progressi che si verificarono nel settore; aveva fra le sue regole che le relazioni informali, che i suoi membri si scambiavano di continuo, non potevano essere pubblicate altrove e dovevano rimanere private. Fu così, per esempio, che la giusta previsione di Crick (1955) che dovessero esistere degli t-RNA capaci di selezionare gli amminoacidi da attaccare al mRNA per attuare la sintesi proteica, rimase non pubblicata. Nonostante i suoi brillanti contributi, Crick non riuscì nell'intento di delucidare il meccanismo del codice genetico, che fu scoperto da Nirenberg nel 1961. Gamov morì nel 1964, e il "Tie Club" finì con lui.

CRICK E IL PROBLEMA DEL CODICE GENETICO

Ecco il caso di una grande scoperta, la struttura del DNA, che rivela l'esistenza di un segreto ancora più grande: il codice genetico. Quando, all'interno della cellula, inizia il processo di sintesi delle proteine, il DNA si sdoppia e si presenta sotto forma di catena singola. La sua forma somiglia ora a quella di un pettine, i cui denti sono costituiti dalle basi nucleiche, che possono attrarre gli amminoacidi presenti nella cellula, disponendoli in fila ordinata e provocarne la polimerizzazione, con conseguente formazione di molecole proteiche. Non dobbiamo sorprenderci della presenza degli amminoacidi nella cellula. Anche se non siamo capaci di sintetizzarli direttamente, essi provengono dalla digestione dei cibi che ingeriamo. Le proteine che mangiamo appartengono ad altri animali o vegetali, e come tali non sono direttamente utilizzabili dal nostro organismo. Esse debbono quindi essere decomposte mediante la digestione, in semplici amminoacidi, per poi procedere alla sintesi di proteine specifiche del nostro corpo.

Le proteine sono le molecole più importanti del nostro ciclo vitale. Proteici, per esempio, sono gli enzimi (più di mille enzimi diversi sono presenti in ogni cellula), l'insulina, l'emoglobina del nostro sangue, l'albumina, etc. Sono le proteine che caratterizzano le varie specie vegetali e animali. Ma come fa il DNA a specificare la sintesi di una proteina e non di un'altra? Ad una data sequenza di basi nucleiche nel DNA corrisponde una certa proteina, specifica per una specie e non per altre. Il DNA si serve quindi di un codice, atto a dirigere la sintesi proteica! E' questo il segreto della vita: il codice genetico! Il problema della delucidazione del codice genetico s'impose, dunque, all'attenzione della comunità scientifica all'indomani della scoperta della doppia elica del DNA e delle sue particolari proprietà di autoreplicazione.

In un'epoca di eccessi come la nostra, di fama amplificata dai media, di culto del successo spinto agli estremi del pensabile, nessuno scienziato è forse entrato così totalmente nel mito come Francis Crick, l'uomo che assieme a Jim Watson scoprì la doppia elica del DNA, svelando il meccanismo della trasmissione dei caratteri genetici, e che è stato l'intelletto dominante dell'età eroica della biologia molecolare. L'ultimo libro di Crick, "La folle caccia", può indurre alcuni potenziali

lettori a pensare che il libro dia l'occasione a Crick di rivendicare chissà quale verità e quale suo ruolo rimasto sottaciuto. Quei lettori rimarranno delusi.

Nel libro, Crick propone il suo racconto, lungamente atteso per la verità, circa quell'unica combinazione di sagacia, di fortuna e di scelte giuste, che sta dietro alla scoperta che ha segnato un'epoca. Crick non cerca di attribuirsi ulteriori meriti, non ne ha bisogno. Il posto nella storia gli fu assicurato quando scoprì la celebrata doppia elica del DNA. Il suo scopo è diverso, come annunciato nel sottotitolo che porta l'opera "A personal view of scientific discovery", un punto di vista personale sulle scoperte scientifiche. Crick scrive il libro a settantadue anni, pieno di matura saggezza. Vuole insegnare ancora qualcosa circa la ricerca, da lui vissuta come avventura intellettuale. Egli usa esempi calzanti e impiega una logica serrata ed efficace, nel discutere i problemi che s'incontrano in biologia. Il messaggio di Crick è un chiaro segnale, lanciato da un addetto ai lavori, sul fatto che ci sono dei limiti all'approccio fisico alla biologia.

Per capire l'importanza di questo messaggio occorre riandare all'antefatto, allo scenario in cui s'inserisce la riflessione di Crick. Tutto era cominciato intorno agli anni Trenta. Il metodo galileiano, così com'era stato fino allora utilizzato in fisica e in chimica, fu applicato con gran successo in biologia. Occorreva smetterla con l'abuso delle osservazioni, con la sistematica che si gonfiava a dismisura senza portare a conclusioni generali. La mera osservazione doveva essere affiancata dalla sperimentazione. Il boom della biologia quantitativa cominciò dopo la pausa imposta dalla seconda guerra mondiale. Schiere di brillanti fisici e chimici si dedicarono alla risoluzione di problemi biologici, non solo tramite l'impiego di tecniche strumentali, ma tentando di trarre delle generalizzazioni partendo dai dati sperimentali e progettando situazioni atte a verificarle. La scoperta della doppia elica è un tipico esempio di quest'approccio. Sulla base di alcuni dati sperimentali, peraltro insufficienti per arrivare ad una dimostrazione rigorosa della struttura del DNA, Crick e Watson costruirono dei modelli molecolari del DNA. Nel 1953, la loro era solo un'ipotesi, rigorosamente provata solo nel 1980.

Accadde, però, a Crick di dedicare i seguenti dieci anni al vano tentativo di trovare la soluzione del mistero del codice genetico, usando gli stessi metodi logici che gli avevano permesso di risolvere la struttura del DNA. Perché i suoi sforzi furono vani? Perché il rasoio di Ockham non ha funzionato? "Bellezza è verità, verità è bellezza", insisteva Keats nel poema da cui prende il titolo il libro di Crick. "Ma se eleganza e semplicità sono guide utili nella fisica." - dice Crick nel suo libro - "in biologia questi strumenti intellettuali possono essere molto fuorvianti".

Ciò che dà alla ricerca biologica il suo speciale carattere, è il continuo operare della selezione naturale. Ogni organismo, ogni cellula, e anche le macromolecole biologiche, sono il risultato finale di un processo lungo e complicato che ha operato per miliardi di anni. Questo fa della biologia una disciplina molto diversa dalle leggi della fisica e chimica, che sono atemporali. Per produrre una teoria biologica valida, al contrario che in fisica o in chimica, si deve cercare di guardare in trasparenza, attraverso la confusione prodotta dall'evoluzione, ai meccanismi di base, rendendosi conto che a questi ultimi si sono probabilmente sovrapposti dei meccanismi secondari.

Cercare di immaginare esattamente che cosa accade nel corso dell'evoluzione è molto difficile; non sono possibili generalizzazioni, e si possono solo cercare degli orientamenti per individuare linee possibili di ricerca. Un processo biologico, per quanto esso possa apparire complesso, è quello che la natura ha trovato di più semplice in un dato spazio-tempo, avendo dovuto usare ciò che già esisteva, e potrebbe essere il risultato di un accidente storico anziché di una necessità teorica. Per esempio, se per procedere nel processo di evoluzione naturale la natura ha bisogno di sintetizzare una molecola specifica, ma non ha a disposizione i materiali di partenza più semplici (quelli che costituirebbero la scelta più logica ed efficiente), essa userà ciò che trova, anche se la sintesi diviene un processo illogico, estremamente complesso e malfunzionante. Solo successivamente, quando sarà reso possibile dalle mutate condizioni ambientali, il processo sarà eventualmente affinato e modificato. Questo lavoro continuerà fino a che si saranno raggiunte le condizioni di massima efficienza del processo con la minore spesa energetica possibile.

Così funziona l'evoluzione naturale a livello molecolare. Tuttavia, il nostro mondo non è stato sempre biologico. Fino a che l'evoluzione della materia fu abiologica, i processi biologici furono dominati dalla necessità energetica; essi risultarono, quindi, i più semplici possibili. L'avvento dell'autoriproduzione cellulare, e quindi della vita, introdusse però la legge della sopravvivenza, e i processi più veloci divennero quelli favoriti, indipendentemente dalla loro semplicità. Furono i biochimici, tramite una serie di pazienti esperimenti, volti a sintetizzare degli RNA artificiali, a risolvere il mistero del codice genetico. Crick aveva avuto delle brillanti intuizioni sui meccanismi cellulari di trasferimento degli amminoacidi, ma non bastò. Così Crick uscì di scena, raccontando la storia della sua vita senza nascondere la sua delusione di ricercatore sconfitto, lui, che i collaboratori usavano chiamare col soprannome di "God".

BIBLIOGRAFIA

- JAMES D. WATSON, *La doppia elica*, Garzanti Ed. Milano, 1968.
JAMES D. WATSON, *Genes, girls, and Gamov*, Alfred A. Knopf. Publ. N.Y., 2002
JAMES D. WATSON, *Molecular Biology of the Gene*, Benjamin Inc. N.Y., 1965
FRANCIS CRICK, *La folle caccia*, Rizzoli RCS Milano, 1990