Accademia Gioenia di Catania
Venerdì 10 novembre 2023 ore 16, Palazzotto Biscari

Caffè scientifico: "Celebrazione dei 70 anni della doppia elica del DNA nel bicentenario della Accademia Gioenia "

Coordina: Angelo Messina

Introduzione

Angelo Messina : "I laboratori Cavendish"

James Watson era un **biologo statunitense**, **Francis Crick** un **fisico britannico**. Lavoravano insieme da poco meno di due anni, quando, discutendo nel loro studio presso il Cavendish Laboratory, dipartimento di fisica di Cambridge, il **28 febbraio 1953** si resero conto di avercela fatta e di aver svelato un mistero che da 84 anni (il DNA era stato scoperto nel 1869) occupava la mente di decine di scienziati: **la struttura** dell'acido desossiribonucleico **DNA,** il codice **genetico** di ogni essere vivente.
I due ricercatori erano, si racconta, **insolenti**, arroganti, **competitivi**. Un indizio del loro carattere effettivamente sta anche nel modo in cui diedero l'annuncio delle loro scoperte la settimana successiva. Entrando all' **Eagle Pub** di Cambridge, Crick esordì con la frase: "*Abbiamo scoperto il segreto della vita*".

Nature pubblicò il loro articolo "*A structure for Deoxyribose Nucleic Acid*", il 25 aprile dello stesso anno. Circa di dieci anni dopo, l'Accademia Reale di Svezia assegnò ai due ricercatori il Premio Nobel per la Medicina. In realtà i due dovettero dividerlo con un altro ricercatore, **Maurice Wilkins**, un personaggio molto ambiguo del Medical Research Council, che lavorava allo studio del DNA con raggi X. Infatti, Watson e Crick erano stati diffidati dal direttore del loro laboratorio a continuare le loro ricerche sul DNA, proprio per evitare di entrare in competizione con Wilkins. I due ignorarono il divieto e sfruttarono senza riserve i risultati del laboratorio di Wilkins, realizzati, tra l'altro, non dallo stesso Wilkins, ma da **Rosalind Franklin**, brillante e giovane scienziata che *collaborava* con Wilkins. I due erano in continuo conflitto: lei si riteneva **indipendente** nelle sue ricerche mentre lui la considerava una collaboratrice, quasi una **subalterna**, e quindi si appropriava liberamente del risultato dei suoi lavori. **Senza consultarla** li mostrò ai due scienziati di Cambridge che ne **approfittarono**. Basandosi **sul lavoro di Franklin**, (immagini a raggi X del DNA dalle quali la ricercatrice aveva concluso che la struttura fosse un'**elica**, **doppia,** i cui due filamenti avessero direzione **opposta**), su alcune spiegazioni di biochimica dei nucleotidi che oggi sono conosciuti come i costituenti fondamentali del DNA fornite da Erwin Chargaff e **senza** condurre neanche un esperimento che verificasse le loro ipotesi, Watson e Crick costruirono il modello di DNA. **Costruirono** nel senso letterale del termine: un enorme modello fatto di **fil di ferro** e **cartone**. Mostrarono il loro giocattolo al capo del Cavendish, **sir William Lawrence Braggs**, che andò su tutte le furie, ma dovette riconoscerne il valore.

Interventi

Giorgio Montaudo: "La struttura del DNA"

Questo testo rievoca, molto brevemente, la storia delle ricerche sulla struttura delle macromolecole biologiche, proteine e acidi nucleici, che fu delucidata nel corso degli anni '50 del secolo scorso.

Lo studio della struttura tridimensionale delle proteine era cominciato già nel 1935. Allora si pensava che i geni fossero proteine, mentre per il DNA gli studi sistematici erano cominciati soltanto nel 1946 a seguito della scoperta che il DNA era il materiale genetico.

La conoscenza dell'architettura spaziale delle molecole aveva già fatto grandi progressi grazie all'applicazione della diffrazione ai raggi X ai cristalli singoli, facilmente ottenibili nel caso di piccole molecole. Diverso era il caso delle macromolecole biologiche. Infatti, questi materiali, fibrosi o globulari, danno delle figure di diffrazione, quantunque imperfette, da cui si sperava di ottenere indicazioni sulla loro struttura tridimensionale. Tuttavia, i dati di diffrazione erano insufficienti a fornire risposte utili a definire la struttura delle macromolecole e alcuni ricercatori cercavano di aiutarsi ricorrendo ai modelli molecolari, mentre altri insistevano a usare i metodi classici della cristallografia.

Quattro erano i principali gruppi di ricercatori che agli inizi degli anni '50 si dedicavano allo studio della struttura delle macromolecole biologiche, utilizzando tecniche di diffrazione ai raggi X.
Pauling e Corey lavoravano al Caltech di Pasadena, in California sulle proteine fibrose.
Bragg, Peruz e Kendrew lavoravano invece al Cavendish Laboratory di Cambridge, sulle proteine globulari e fibrose.Wilkins e Franklin lavoravano invece sul DNA al King's College di Londra.
Crick e Watson lavoravano anch'essi sul DNA al Cavendish Laboratory di Cambridge.

Questi quattro gruppi di ricercatori lavoravano indipendentemente l'uno dall'altro, ma sapevano di essere in competizione per risolvere la struttura tridimensionale di questi materiali e ci furono parecchie occasioni di confronto diretto. Classico il caso, che descriveremo sotto, del conflitto fra i ricercatori di Londra e Cambridge.

Toccò a Pauling di cogliere il primo successo, quando già nel 1951 riuscì a risolvere il problema della struttura delle proteine fibrose proponendo la famosa alfa-elica, un risultato clamoroso che aprì tutto un nuovo campo di studi e per cui gli fu assegnato il Premio Nobel nel 1554. Egli, assieme a Corey, aveva studiato per lungo tempo la struttura di piccoli peptidi mediante la diffrazione ai raggi X e, servendosi di quei dati, poté costruire dei modelli molecolari molto accurati basati sulla struttura accertata per i peptidi. Senza l'ausilio dei modelli molecolari, la struttura dell'alfa elica sarebbe rimasta ancora a lungo ignota.

In realtà, Pauling aveva introdotto i modelli molecolari tuttora in uso già nel 1930, sostituendo i vecchi modelli di Kekulè che prevedevano che il carbonio fosse sempre tetraedrico. Pauling, profondo conoscitore della meccanica quantistica, aveva formulato le varie forme di ibridizzazione del carbonio, in accordo con i dati di diffrazione ai raggi X, e aveva introdotto il concetto di ordine di legame, applicandolo al legame peptidico. Questi risultati gli permisero di usare con grande confidenza i suoi modelli molecolari allo studio della struttura delle proteine fibrose.

Bragg, Peruz e Kendrew, al Cavendish, avevano tentato (1950) di risolvere lo stesso problema ma la loro struttura risultò errata, con grande scorno del famoso W. Bragg, padre della cristallografia (Premio Nobel 1915), che aveva prodotto la prima dimostrazione della struttura tetraedrica del carbonio nel 1913 e che adesso dirigeva il Cavendish.

La scoperta di Pauling dell'alfa-elica, oltre a segnare un grande progresso per definire la struttura delle proteine fibrose, mise in luce il problema se anche altre macromolecole biologiche potevano possedere una struttura elicoidale.

In generale, un edificio elicoidale possiede elementi di simmetria suoi propri (asse elicogiro), per cui una fibra orientata risulta ai raggi X semicristallina e dà luogo ai cosiddetti spettri di fibra che forniscono qualche indicazione (incompleta) sulla struttura della macromolecola.

Pauling, che aveva capito subito le potenzialità delle strutture elicoidali, si mise a lavorare con i suoi modelli molecolari al problema della struttura tridimensionale degli acidi nucleici e, proprio basandosi sui modelli molecolari, propose nel 1952 una complessa struttura a tripla elica del DNA. Tuttavia, questa struttura, che aveva lo scheletro zucchero- fosfato al centro dell'elica e le basi all'esterno, risultò clamorosamente errata.

È a questo stadio che entrano in gioco Crick e Watson, i quali lavorarono costruendo dei modelli molecolari e utilizzando i dati cristallografici di Franklin e Wilkins, perseguendo lo stesso approccio che aveva usato Pauling per scoprire l'alfa elica e proporre una struttura del DNA. Nella fattispecie, Crick e Watson, due studenti di dottorato, entrarono in competizione con Pauling, lottarono con la sfiducia di Bragg sul loro approccio e si trovarono anche in conflitto con la Franklin.

Le loro ricerche ebbero inizio quando il giovane biologo Watson vide i diffrattogrammi di fibra ottenuti da Wilkins, che li presentò ad un convegno a Napoli nel 1951. Watson, un biologo allievo di Luria, si interessò al lavoro di Wilkins e gli chiese di poter lavorare con lui a Londra. Wilkins rifiutò l'offerta e Watson andò a lavorare a Cambridge da Bragg, Peruz e Kendrew (che si occupavano però di proteine) sperando di poter interessare qualcuno alla struttura del DNA.

A Cambridge, Watson fece amicizia con Crick, un dottorando di Peruz e Kendrew che studiavano la struttura della mioglobina e emoglobina, e lo interessò al problema del DNA.
Nel frattempo Wilkins aveva proseguito i suoi studi e si valeva della collaborazione d. Rosy Franklin, una specialista in tecniche di diffrazione ai raggi X. Quest'ultima, già nel 1952 riuscì ad ottenere degli ottimi diffrattogrammi della forma B del DNA e aveva concluso che lo scheletro zucchero-fosfato sta all'esterno dell'elica.

Questa conclusione era in contrasto con il modello presentato da Pauling ed era stata ottenuta dalla Franklin utilizzando i metodi classici della trasformata di Patterson, che però non permettevano di definire ulteriormente la struttura del DNA. La Franklin non aveva fiducia nell'approccio con i modelli molecolari di Crick e Watson ed entrò anche in contrasto con Wilkins a motivo del trattamento dei dati sperimentali.

Tuttavia, Watson fu ammesso ad assistere ad alcuni seminari interni in cui la Franklin presentava i suoi diffrattogrammi e venne a conoscenza dei dati essenziali su cui aggiustare i modelli che lui e Crick stavano costruendo.

Per i loro studi, Crick e Watson usarono parzialmente i modelli molecolari in scala costruiti da Peruz, Kendrew e Bragg per la struttura delle proteine fibrose. Naturalmente, mancavano gli atomi di fosforo e le basi nucleiche, che furono costruiti appositamente. In attesa di questi ultimi modelli, Crick e Watson vi sopperirono con dei modellini fatti con dl fil di ferro.

Con l'ausilio dei modelli molecolari e utilizzando i diffrattogrammi di Rosy Franklin, nell'Aprile 1953 Crick e Watson proposero la struttura vincente del DNA. Tra i molti meriti del lavoro di Crick e Watson emergono alcuni punti salienti.

Watson riuscì a formulare la corretta geometria per l'accoppiamento delle basi nucleiche, che spiega le famose regole di Chargraff. Per la struttura delle basi nucleiche fu utilizzata la corretta forma chetonica e fu correttamente ipotizzato che l'accoppiamento avvenisse attraverso la formazione di labili legami idrogeno, permettendo un facile diaccoppiamento delle due eliche.

Crick sviluppò la teoria matematica relativa alla trasformata ottica dell'elica discontinua tramite l'utilizzo della funzione di Bessel. Mancava fino ad allora un algoritmo teorico che permettesse di prevedere il diffrattogramma corrispondente ad una qualsivoglia struttura elicoidale.

La funzione di Bessel si presta molto bene a descrivere la trasformata ottica dell'elica discontinua prodotta da una macromolecola in forma elicoidale e permette di disporre di un modello molecolare a priori immediatamente confrontabile con la figura di diffrazione sperimentale. Questo algoritmo, nelle mani di Crick e Watson, si rivelò essenziale per definire la struttura a doppia elica del DNA.

Nella costruzione del modello molecolare del DNA, Crick usò i corretti dati cristallografici corrispondenti alle distanze di contatto fra gli atomi non legati all'interno dell'elica. Questi dati trovarono riscontro nei diffrattogrammi della forma A del DNA ottenuti da Rosy Franklin.

La struttura a doppia elica del DNA fu presentata da Crick e Watson in una riunione privata con i loro capi, Bragg, Peruz e Kendrew, che fino ad allora erano stati scettici sulla bontà dell'approccio seguito e sulla solidità degli argomenti presentati a favore della doppia elica.

Una volta convinti i capi, venne organizzata una riunione con i due gruppi londinesi, Wilkins e Franklin, che ormai operavano distinti. Tutti ebbero modo di presentare i loro dati e di confrontarsi reciprocamente. Alla fine, la Franklin si dichiarò completamente in accordo con modello della doppia elica.

Di conseguenza, Bragg si incaricò di far pubblicare al più presto su NATURE ben tre testi consecutivi: di Crick e Watson, di Wilkins e di Franklin. Questi apparvero in bella sequenza nell'aprile 1953, seguiti poi nel maggio dello stesso anno, da un altro articolo di Crick e Watson sul significato biologico della scoperta della doppia elica del DNA. In questo articolo, Crick e Watson discutevano la possibile duplicazione dell'elica e il conseguente trasferimento delle informazioni genetiche.

Nel luglio del 1953, in una lettera privata inviata a Crick e Watson, Gamow fece notare che ogni tripletta delle basi nucleiche poteva specificare un amminoacido proteico. Questa fu la base del codice genetico, che fu poi completamente delucidato nel 1961. A seguito di queste scoperte, la biologia ha fatto un grandissimo progresso, che continua fin ad oggi.

Daniele Condorelli: "F. Crick and J. Watson: The complementary structure of Desoxyribonucleic Acid. Proceedings of the Royal Society of London"

Il 25 Aprile del 1953 appaiono nel volume 171 della rivista scientifica Nature tre articoli in successione: il primo di J. Watson and F. Crick (Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid), il secondo di M. Wilkins, A. Stokes e H. Wilson (Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids) e il terzo di R. Franklin e R. Gosling (Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate). I tre articoli occupano in tutto 5 pagine stampate ma il loro impatto sulla comprensione molecolare della vita sarà devastante e pervasivo, a tal punto che, 50 anni dopo, in coincidenza con la chiusura ufficiale del Progetto Genoma Umano, il Congresso e il Senato degli Stati Uniti dichiareranno il 25 Aprile come il "DNA Day" ed aprile come il mese del genoma Umano. In realtà il successo dei tre lavori innesca progressivamente una polemica sul ruolo e sui meriti degli autori che continua ancora oggi.

Il primo dei tre articoli, quello a firma Watson e Crick, non solo sembra contenere una interpretazione strutturale compatibile con risultati sperimentali dei successivi due, ma tiene conto, per la prima volta, di ulteriori dettagli molecolari condensati in un modello in grado di fare luce su un'ampia serie di dati sperimentali precedenti (la prima regola di Chargaff, 1951). Nella singola pagina a due colonne, da cui è composto l'articolo in questione, 25 mezze righe vengono utilizzate per criticare due recenti articoli che hanno proposto modelli molecolari per la struttura del DNA (di cui uno a firma di Linus Pauling), 40 mezze righe e una figura per presentare il nuovo modello strutturale a doppia elica con catene antiparallele, altre 32 mezze righe per introdurre l'importanza del legame ad idrogeno tra le basi azotate e la conseguente definizione chimica del concetto di complementarietà delle basi. Il resto della pagina viene utilizzata per avvisare il lettore che la struttura del DNA presentata "is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results" o per includere la seguente frase considerata un esempio famoso di understatement "It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material". In realtà Watson e Crick torneranno ampiamente su questo punto con un altro articolo su Nature il 30 Maggio del 1953 intitolato: "Genetical implications of the structure of the dexoyribonucleic acid".

Infine, l'ultima frase prima dei ringraziamenti recita così: "Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of coordinates for the atoms, will be published elsewhere". La pubblicazione in questione sarà comunicata il 25 Agosto 1953 alla Royal Society e pubblicata nei Proceedings of the Royal Society of London nel Gennaio del 1954. A un primo sguardo due aspetti differenziano questa pubblicazione dalla precedente del 25 Aprile 1953. Il primo è solo una curiosità e consiste nell'ordine invertito degli autori, Crick and Watson anziché Watson and Crick; il secondo aspetto riguarda il titolo che per la prima volta mette in risalto

la complementarietà delle basi nella struttura del DNA, "The Complementary Structure of Deoxyribonucleic Acid".

Quest'ultimo lavoro è la base di questa breve relazione dove si prenderanno in considerazione il percorso logico che ha condotto all'elaborazione del modello del DNA con particolare riguardo agli aspetti non strettamente collegati alla cristallografia a raggi X del DNA (già esaminati in modo esaustivo nella relazione del Prof. Montaudo) e agli errori commessi (il caso del terzo legame ad idrogeno mancante nella coppia G:C).

Alessandra Gentile: "Il DNA e le biotecnologie verdi"

L'agricoltura, scrive Marco Terenzio Varrone nel 'De re rustica', è "*la scienza che insegna quali colture piantare in un tipo di terreno e le operazioni da fare per avere la maggiore produzione in perpetuo"*. Fin dall'avvento dell'agricoltura, gli esseri umani hanno selezionato le piante con caratteristiche migliori tali da rispondere alle loro esigenze. Alla base di qualunque forma di agricoltura c'è la genetica, la scienza che studia la trasmissione dei caratteri ereditari negli organismi viventi. I principi fondamentali dell'ereditarietà dei caratteri sono stati scoperti da Gregor Mendel, di cui lo scorso anno si è celebrato il bicentenario della nascita (20 luglio 1822), attraverso famosi esperimenti di incrocio condotti su piante di pisello pubblicati nel 1866. Questi studi hanno dimostrato l'esistenza di fattori ereditari, identificati nei geni almeno cento anni dopo con la scoperta del DNA, quale deposito dell'informazione genetica. E tali studi sono stati fondamentali anche per l'applicazione della genetica in ambiti diversi dall'agricoltura. Le conoscenze genetiche e genomiche delle piante sono un aspetto fondamentale per garantire la selezione e la costituzione di nuove varietà, in grado anche di assicurare lo sviluppo economico dell'attività agricola. L'ottenimento di nuove varietà è possibile grazie alla realizzazione di programmi di miglioramento genetico che perseguono obiettivi diversi, a seconda che siano indirizzati verso le varietà oppure nei confronti di portinnesti, e che possono essere realizzati utilizzando tecniche diverse che sono antiche quanto antica è l'agricoltura (la selezione, ad esempio) ovvero assai recenti, come le TEA, che traggono vantaggio dall'avanzamento delle conoscenze di genomica delle piante coltivate.
Gli obiettivi del miglioramento genetico delle piante includono diversi aspetti quali l'incremento produttivo e qualitativo del prodotto, l'adattabilità ambientale e la resistenza e/o tolleranza alle malattie o ai parassiti. Obiettivi vecchi, ma sempre attuali, ai quali se ne aggiungono altri associati alle nuove sfide cui va incontro l'agricoltura, quali la crescita costante della popolazione, il cambiamento climatico, l'insorgenza di nuovi patogeni e parassiti e l'esigenza di un utilizzo sostenibile delle risorse naturali. Nuovi obiettivi che chiedono al miglioramento genetico la selezione e costituzione di varietà migliorate capaci di rispondere con forza e prontezza alle nuove esigenze. In questo contesto, la variabilità genetica già esistente, l'agrobiodiversità di cui il nostro Paese è particolarmente ricco, di ogni specie coltivata costituisce una risorsa fondamentale da salvaguardare e a cui attingere per il miglioramento o lo sviluppo di nuove varietà da utilizzare in agricoltura. Gran parte delle varietà o dei portinnesti oggi utilizzati in agricoltura originano da programmi di selezione di mutazioni spontanee, spesso ottenuti in maniera inconsapevole e casuale. Metodi antichi ma sempre attuali ed efficaci che però devono fare i conti con i limiti della biologia delle specie vegetali, come la lunga fase giovanile delle specie arboree o la presenza di barriere riproduttive, che rendono i piani di incrocio e selezione lunghi e difficoltosi. Il progresso dell'agricoltura è in larga parte sovrapponibile all'aumento delle conoscenze della genetica delle piante. La comprensione della struttura del DNA segna un evento fondamentale per lo sviluppo delle biotecnologie innovative, consentendo l'utilizzo dell'informazione genetica per lo sviluppo di marcatori molecolari utili nella caratterizzazione della variabilità genetica o nella selezione precoce assistita (MAS). La scoperta della tecnologia del DNA ricombinante, unita allo sviluppo di tecniche di coltura *in vitro* e di trasformazione, hanno reso possibile l'introduzione di transgeni associati a caratteri di interesse all'interno dei genomi vegetali attraverso l'ottenimento di organismi geneticamente modificati (OGM). Oggi, le moderne tecniche di selezione assistita (TEA) consentono attraverso la mutazione specifica di geni di interesse di evitare l'introduzione di geni

estranei al DNA della specie oggetto del programma di miglioramento genetico mantenendo inalterato il patrimonio genetico della varietà di interesse commerciale. Le biotecnologie, nate con l'agricoltura e ad essa fortemente legate, consentono il raggiungimento in tempi rapidi e con un minor livello di approssimazione di obiettivi importanti, tra i quali un ruolo di primo piano riveste la resistenza a stress biotici e abiotici. Oggi, grazie alla disponibilità dei genomi di riferimento e alle tecniche di fenotipizzazione di precisione, in combinazione con le TEA, sarà possibile rispondere alle sfide attuali con nuove varietà, salvaguardando nel contempo il patrimonio genetico elitario di molte specie accumulatosi nel corso del tempo e garantendo una gestione sostenibile delle risorse.

Discussione