

Sai cosa Rappresenta questa immagine?

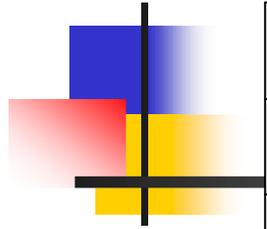


Per molti di noi è forse un'immagine già nota che rappresenta la struttura a doppia elica del DNA.

Ma per arrivare a scoprire la struttura e la funzione di questa sorprendente molecola la strada è stata assai lunga...



Breve Cronistoria della Scoperta del DNA

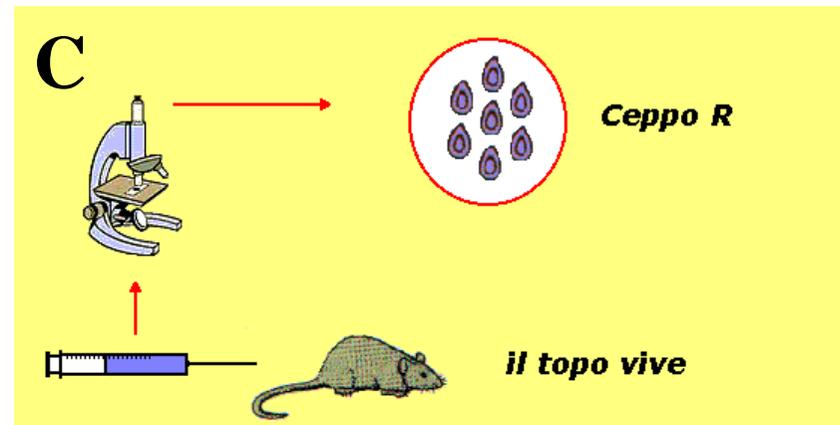
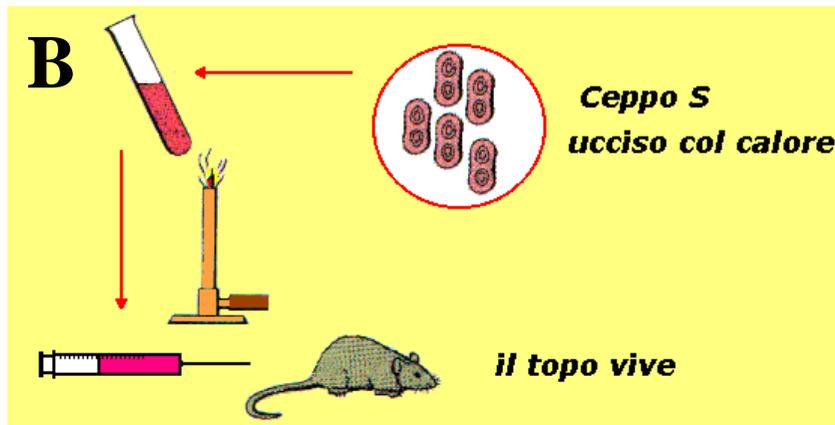
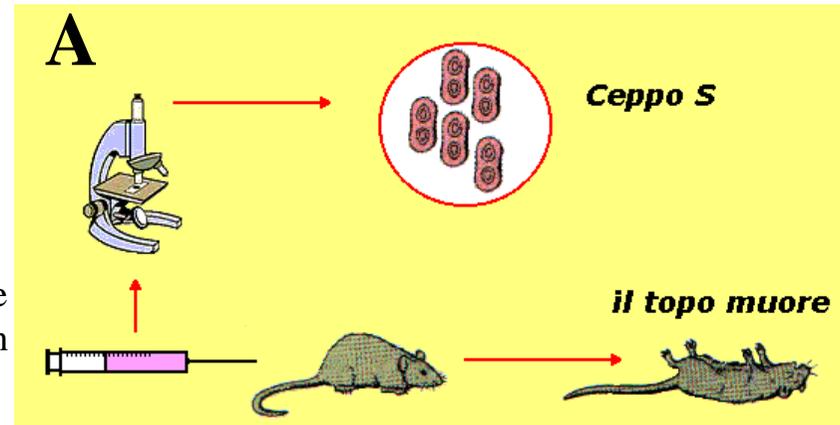


1869	<i>F. Miescher isola da nuclei di cellule del pus un composto organico contenente fosforo che chiamerà "nucleina"</i>
1885-1894	La "nucleina" contiene basi puriniche (Adenina e Guanina) e pirimidiniche (Citosina e Timina) [A. Kossel]. La "nucleina" viene chiamata "acido nucleico" [R. Altman 1889]
1900	A. Kossel identifica anche la base pirimidinica Uracile
1910	Gli "acidi nucleici" sono polimeri di nucleotidi cioè basi+pentoso (= nucleosidi) + acido fosforico [P.A. Levene]
1924	R. Feulgen identifica la cromatina con l'"acido timonucleico" (quello contenente timina)
1928	F. Griffith dimostra che un "fattore" rilasciato da pneumococchi virulenti, uccisi col calore, può rendere virulenti pneumococchi non patogeni
1930	P.A. Levene distingue due acidi nucleici sulla base del pentoso presente nel nucleotide: Deossiribosio → DNA (già acido timonucleico) Ribosio → RNA (già acido zimonucleico)
1944	O. Avery et al. dimostrano che il fattore trasformante di Griffith è il DNA
1950	E. Chargaff scopre il rapporto costante 1/1 tra T e A nonché tra G e C in DNA estratto da differenti organismi
1951	R. Franklin studia la struttura del DNA mediante diffrazione dei raggi X
1953	<i>F. Crick e J. Watson determinano la struttura tridimensionale del DNA</i>
1958	A. Komberg ottiene la sintesi di DNA con una DNA-polimerasi estratta da <i>Escherichia coli</i>
1961	M. Nieremberg e I.H. Matthaël scoprono che l'indicazione di ciascun amminoacido è data dalla sequenza specifica di tre basi
1961-1966	<i>Si decifra l'intero codice genetico</i>



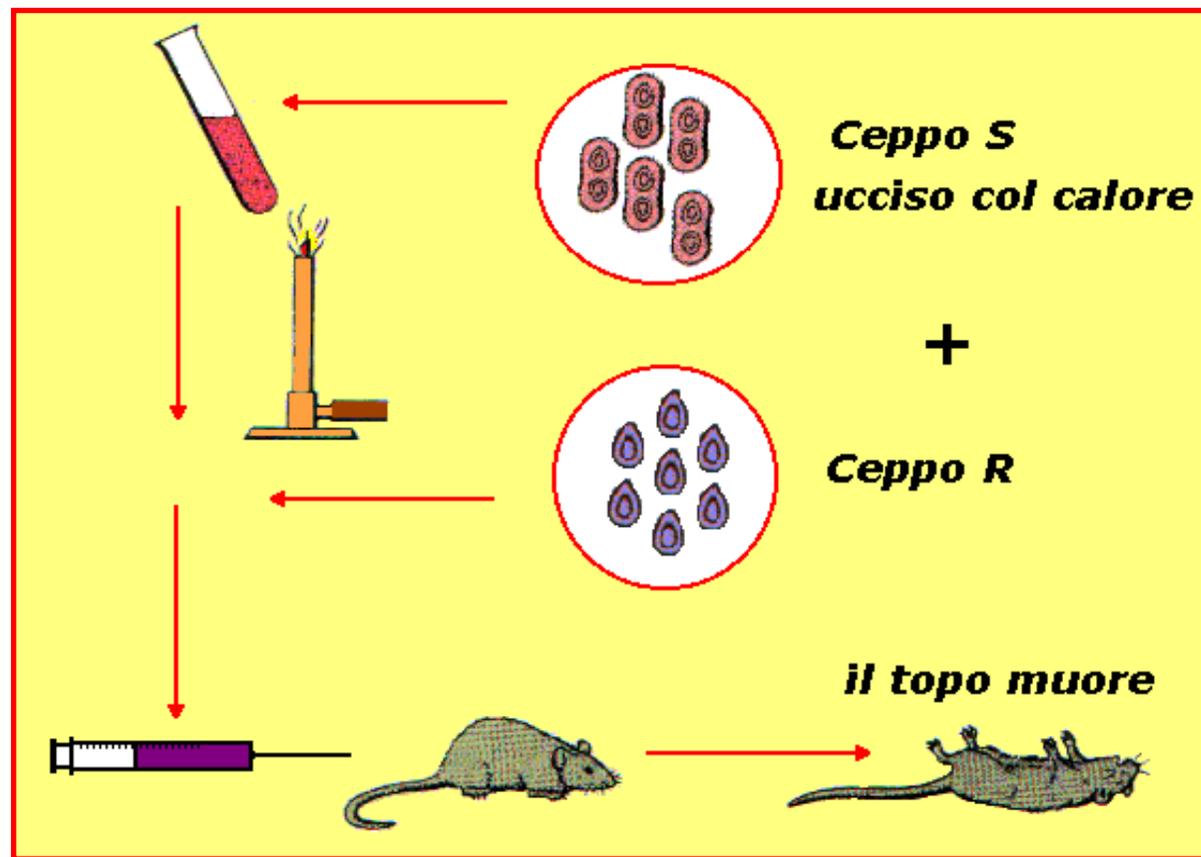
Esperimento di Griffith (1928)

I primi indizi di una molecola in grado di trasferire l'informazione genetica vengono messe in evidenza da Frank Griffith con una serie di esperimenti di infezione sperimentale con pneumococchi di topi da laboratorio (A). Era già noto dai tempi di Pasteur che il calore era in grado di rendere innocue le colture batteriche (B). Era noto anche che alcune varianti dello pneumococco che crescevano con colonie di aspetto rugoso (ceppi R) non erano più in grado di scatenare la polmonite nell'animale (C).



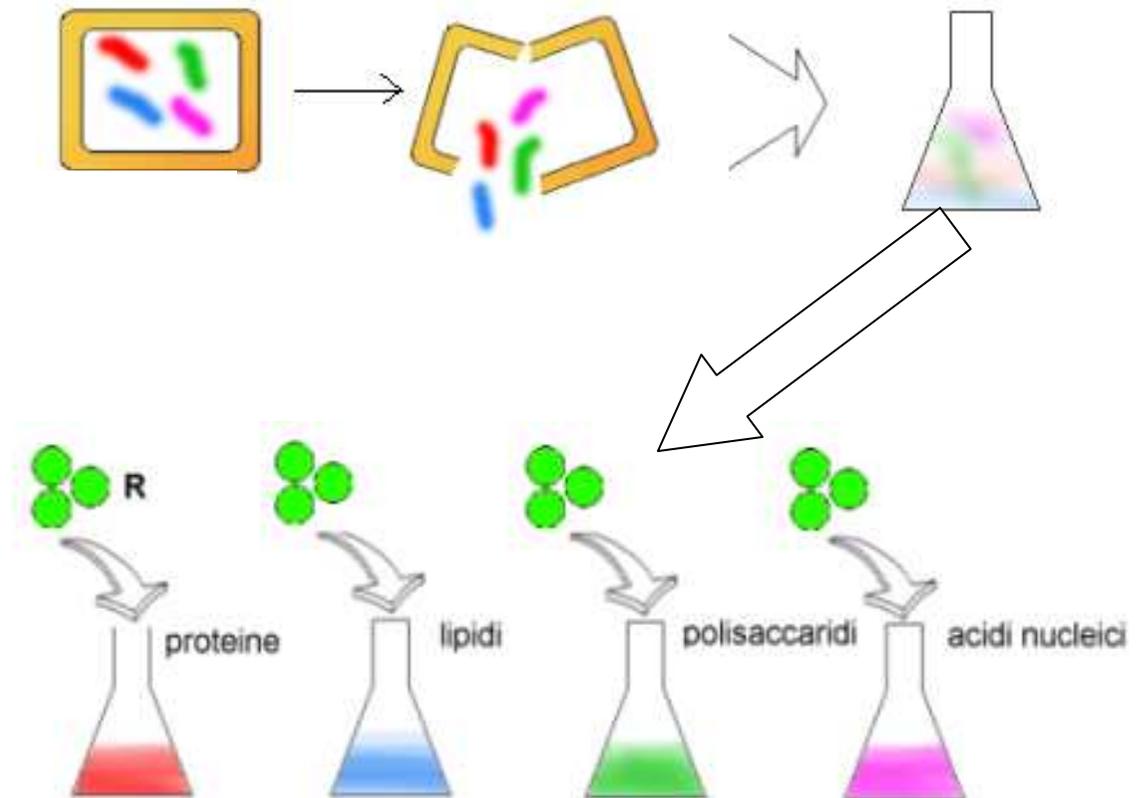
La Trasformazione batterica

L'osservazione originale di Griffith si realizzò quando egli provò a inoculare in combinazione sia i batteri patogeni uccisi con il calore che quelli vivi, ma non patogeni, di ceppo R. Inaspettatamente gli animali sviluppavano polmonite mortale e dal loro sangue era possibile isolare i batteri vivi di ceppo patogeno. Griffith intuì che dalle cellule batteriche inattivate qualche sostanza veniva trasferita a quelle innocue ed era in grado di conferire ad esse le caratteristiche di patogenicità. Griffith definì questa sostanza non identificata **FATTORE TRASFORMANTE**.



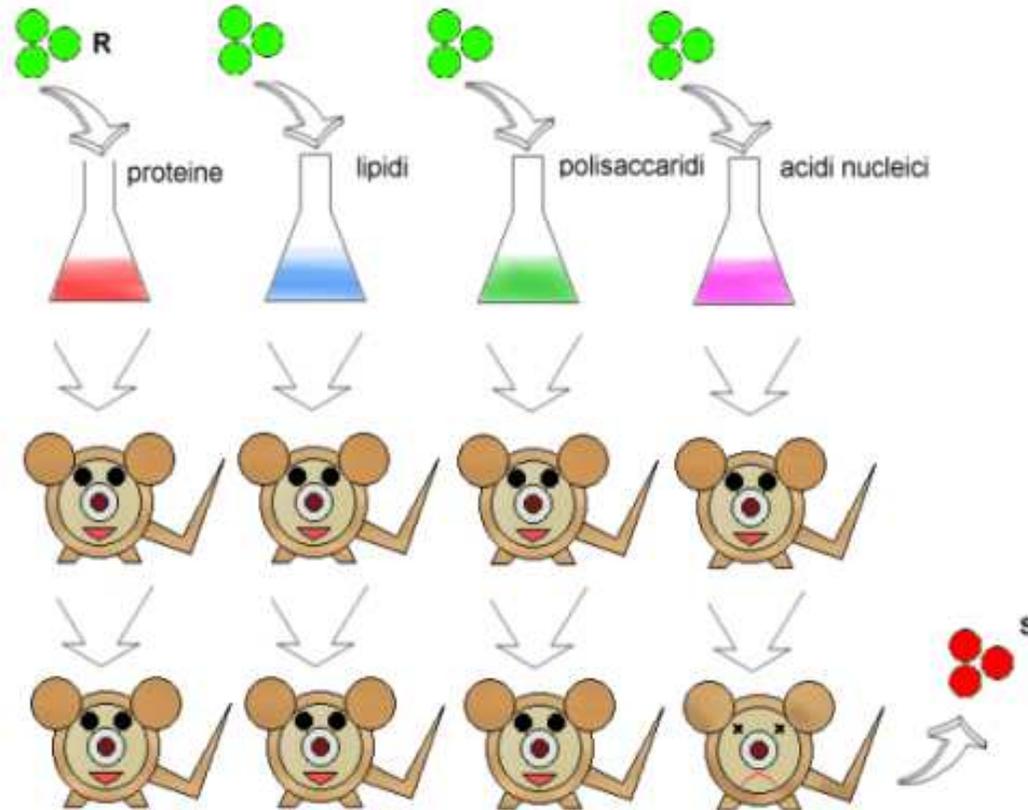
La Trasformazione batterica: Esperimento di Avery (1944)

Fu solo quasi due decenni dopo che il progresso della biochimica permise al gruppo di ricerca Avery e McLeod di sviluppare l'esperimento di Griffith con la purificazione delle sostanze che compongono le cellule batteriche uccise. Partendo dalla coltura di pneumococchi uccisi con il calore, i ricercatori separarono zuccheri, proteine, lipidi ed acidi nucleici.



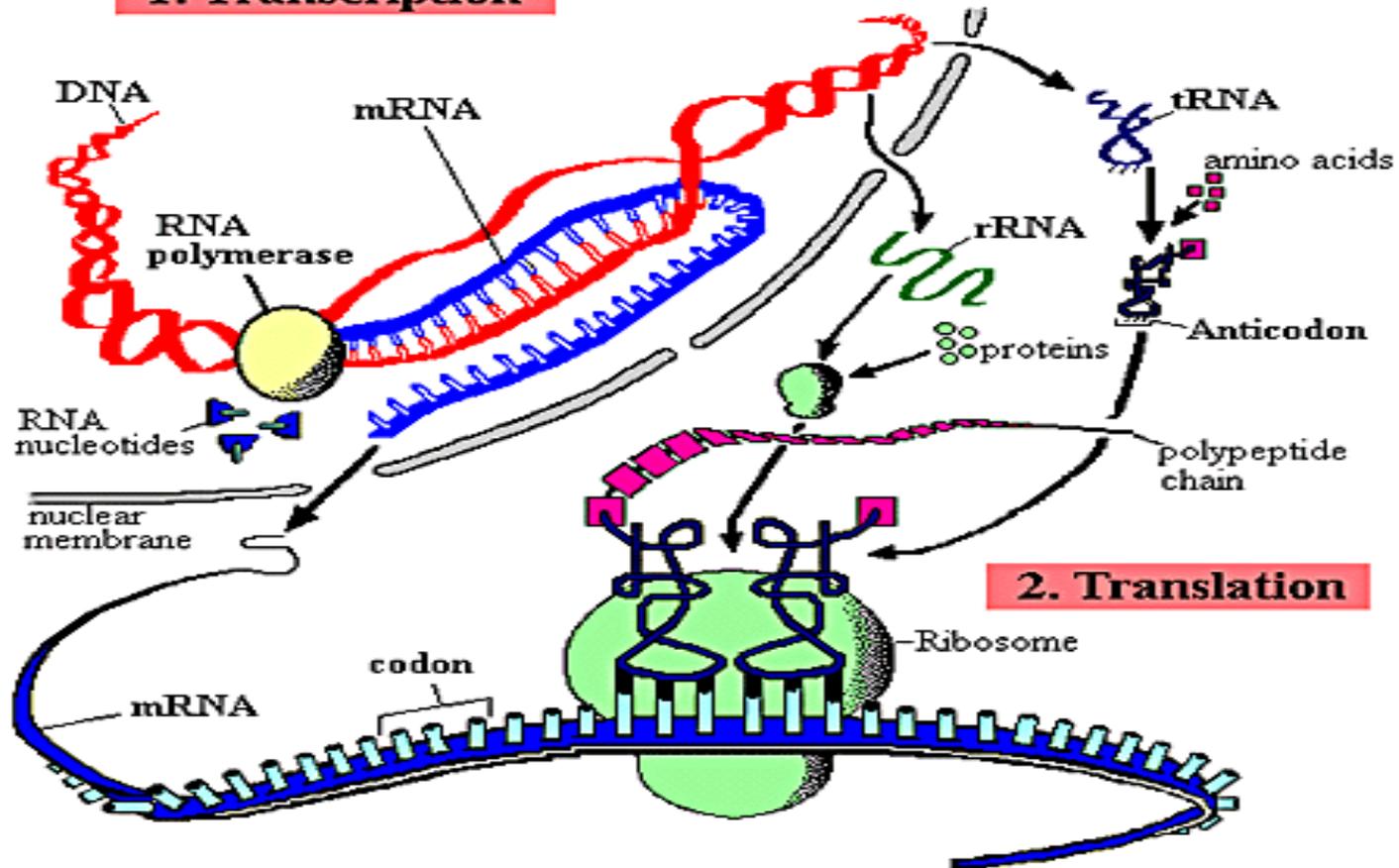
Il DNA e' il fattore Trasformante

Mescolando ciascuna delle componenti batteriche purificate con una coltura di pneumococchi non patogeni ed inoculando le miscele in animali diversi, solo i topi che ricevevano pneumococchi innocui ed acidi nucleici degli pneumococchi patogeni sviluppavano la polmonite. Avery, McLeod ed i loro colleghi dimostrarono che il DNA è il fattore trasformante scoperto da Griffith, ed è in grado di trasferire l'informazione genetica.



I geni sono sequenze di DNA che codificano la produzione di proteine

1. Transcription



Protein synthesis



Il Codice Genetico

	First base		Second base	
	U	C	A	G
U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } STOP UAG } STOP	UGU } Cys UGC } UGA } STOP UGG } Trp
C	CUU } Leu CUC } CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }
A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }
G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }

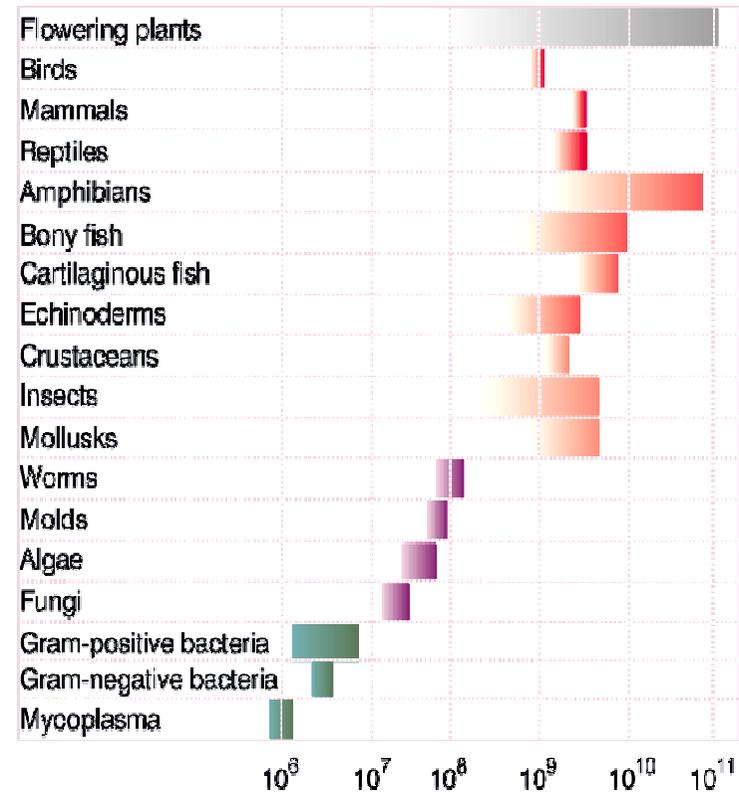
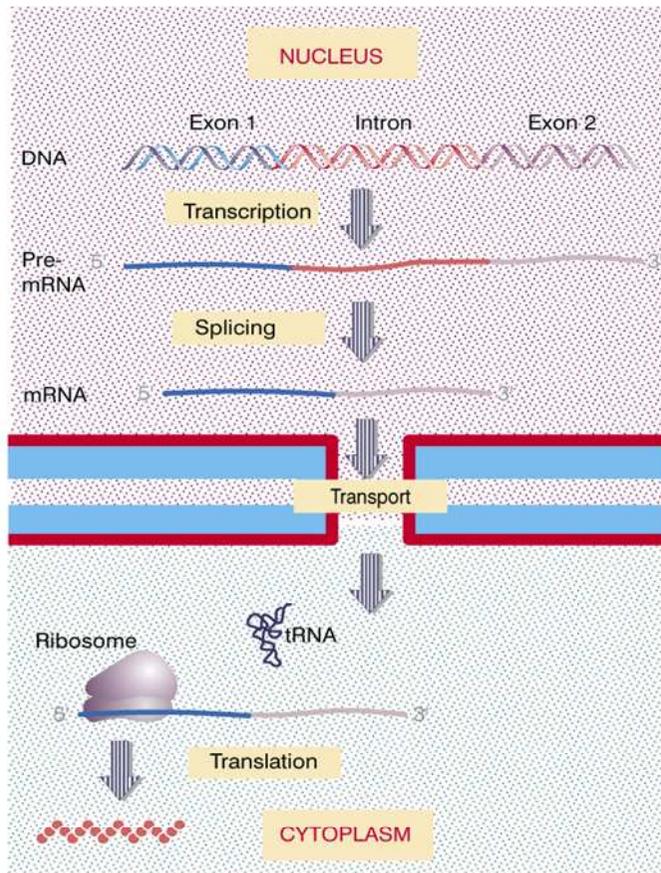
Il “messaggio” del DNA è codificato nella sequenza dei nucleotidi

La sequenza di nucleotidi è interpretata in base al codice genetico



Il genoma degli eucarioti contiene geni "interrotti" e nel complesso contiene più DNA rispetto a quello dei procarioti

I Geni negli eucarioti



Dimensione del genoma di diversi organismi (espresso in coppie di nucleotidi)



La nascita dell'ingegneria genetica e la tecnologia del DNA ricombinante

1970	H. Smith isola la prima endonucleasi di restrizione (Hind III)
1973	H. Boyer e S. Cohen inaugurano la tecnologia del DNA ricombinante (costruzione in vitro di un plasmide ricombinante [pSC101] che inserito in un batterio si dimostrava biologicamente funzionale)
1975	Al meeting di Asilomar si propone una moratoria delle sperimentazioni sul DNA ricombinante
1978	La Genetech produce l'insulina umana in E. coli
1980	La Corte Suprema di Giustizia degli U.S.A. sancisce la possibilità di brevettare microrganismi manipolati geneticamente
1981	<i>I. Gordon genera il primo animale transgenico</i>
1983	<i>Si cominciano ad utilizzare i plasmidi Ti (Agrobacterium tumefaciens) per manipolare geneticamente le piante</i>
1988	Viene pubblicato il metodo della reazione a catena della polimerasi (P.C.R.)
1990	Si concede negli U.S.A. l'approvazione al primo tentativo di terapia genica sulle cellule somatiche dell'uomo
1994-1995	Inizia la pubblicazione delle mappe fisiche e genetiche particolareggiate dei cromosomi umani
1996	Si determina la sequenza completa del DNA di tutti i cromosomi di un organismo eucariotico: Saccharomyces cerevisiae (Lievito di birra)
1997	Si realizza la clonazione nucleare di un mammifero (la pecora Dolly) a partire dal nucleo di una cellula differenziata
2003	Viene completata la sequenza del Genoma umano



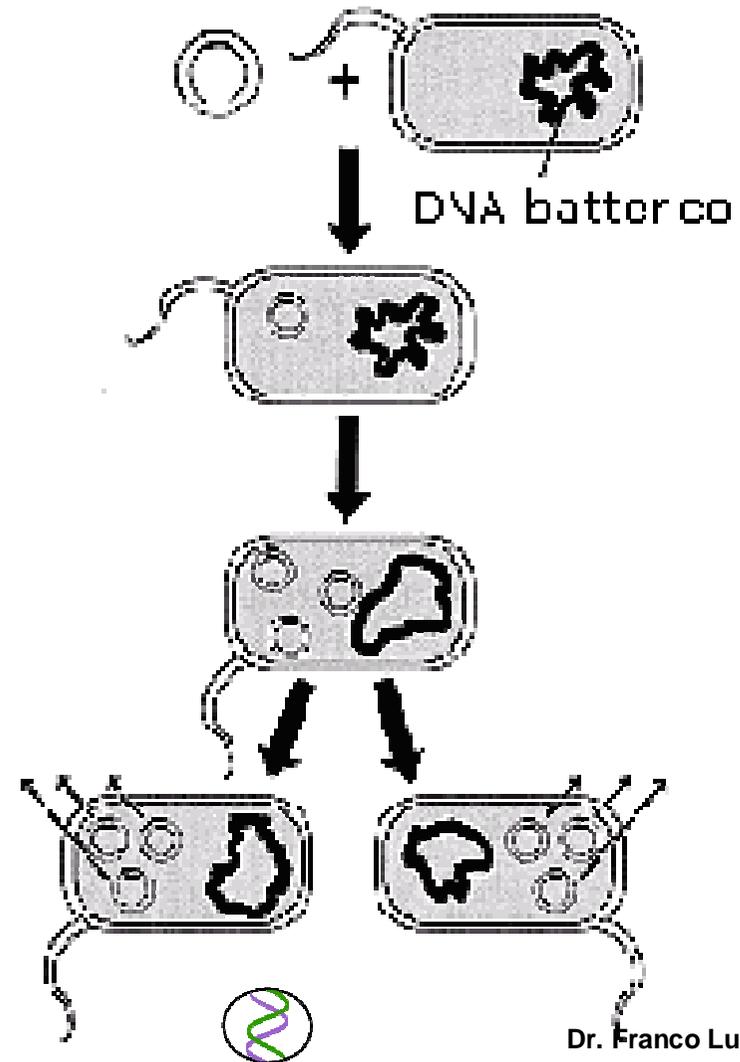
Plasmidi

La forma di DNA evidenziata negli pneumococchi da Griffith ed Avery come fattore trasformante, è un piccolo elemento mobile, distinto dal cromosoma, che prende il nome di **plasmide**.

Lo studio dei plasmidi naturali ha permesso di sviluppare vettori artificiali per la moltiplicazione di frammenti di DNA e la sintesi di proteine nei batteri.

Queste acquisizioni sono alla base della cosiddetta tecnologia del DNA ricombinante

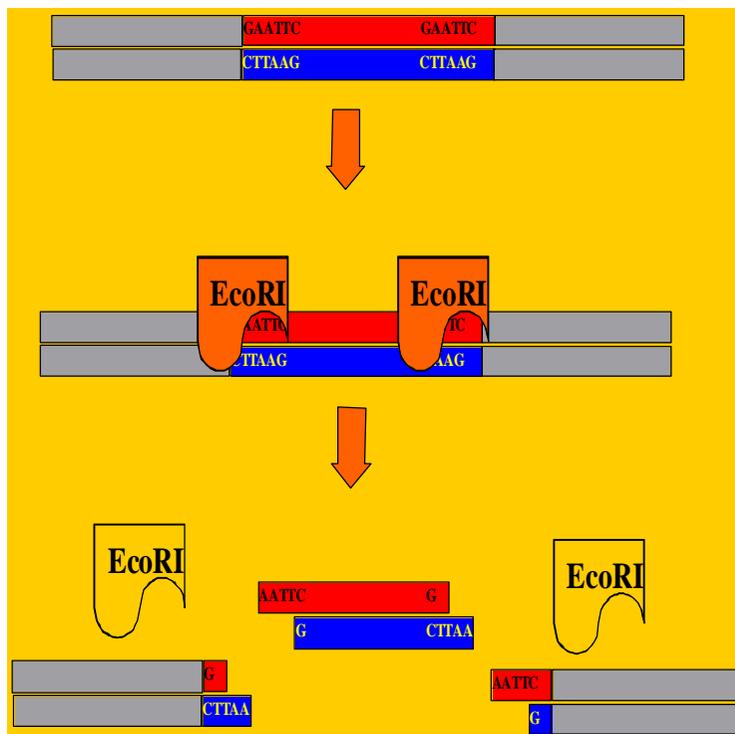
Plasmide



Vettori ricombinanti

Taglia....

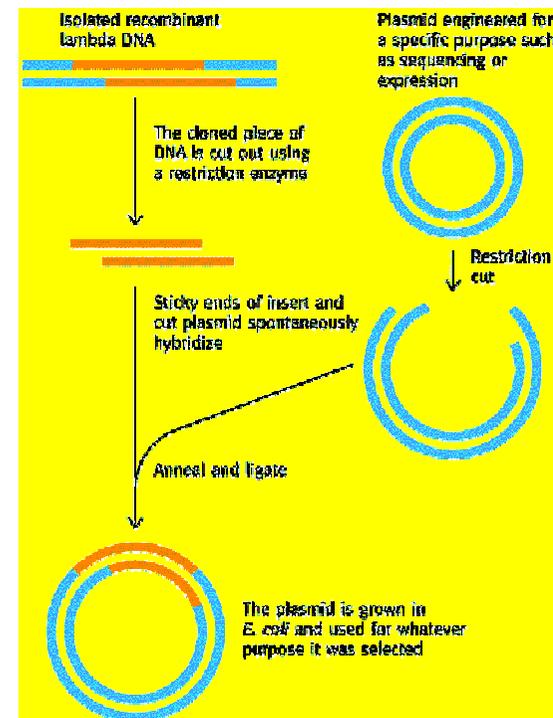
E incolla!



Gli Enzimi di Restrizione ci permettono di “tagliare” con precisione in una provetta dei frammenti di DNA



Università Cattolica del Sacro Cuore
Centro Ricerche Biotecnologiche



L’enzima Ligasi permette di “incollare” tra loro frammenti di DNA in una provetta.



Dr. Franco Lucchini