

BIOLOGIA MOLECOLARE ~ LEZIONE 1 – 07/03/2023

BIOLOGIA MOLECOLARE → studio dei processi biologici a livello molecolare.

La biologia molecolare studia gli esseri viventi a livello molecolare ed è figlia legittima della biochimica e della genetica. La biologia molecolare, quindi, si concentra sull'interazione tra proteine e geni grazie all'unione tra biochimica e genetica.

- **1865** → **Mendel** scopre il ruolo dell'ereditarietà
- **1869** → **Miescher** scopre il DNA e lo chiama nucleina in quanto lo isola dai nuclei dei globuli bianchi di bende infette
- **1910** → Phoebe Aaron Theodore **Levene** descrive il DNA come piccole molecole costituite da quattro nucleotidi, ipotizza una forma lineare e una ciclica ma esclude l'ipotesi che questo DNA possa essere il materiale genetico.
- **1928** → **Griffith** stava studiando la possibilità di creare un vaccino per la polmonite. Scopre nei batteri un principio trasformante ereditabile che trasmette la capacità di causare la polmonite nei topi.

Nel 1928, conducendo un esperimento su dei topi da laboratorio, egli prese in analisi due differenti tipologie di batteri: una detta ceppo S (da "smooth", liscio) provvista di una capsula polisaccaride, e l'altra detta ceppo R (da "rough", ruvido), che invece non presentava alcun involucro.

Inoculò quindi ciascun ceppo in un topo diverso ed osservò che il topo a cui era stato iniettato il ceppo S moriva, mentre quello del ceppo R rimaneva in vita.

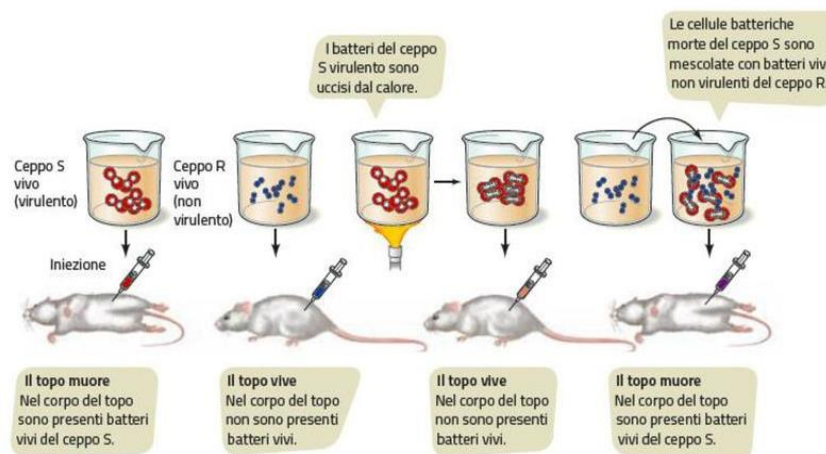
Dopodiché prese i batteri S e li "inattivò" per mezzo del calore (denaturazione della capsula), per poi iniettarli in un roditore: in questa circostanza l'animale sopravviveva.

Una grande intuizione lo spinse a mischiare il ceppo S ucciso col calore e quello R: tale unione si rivelò infatti essere letale per l'animale.

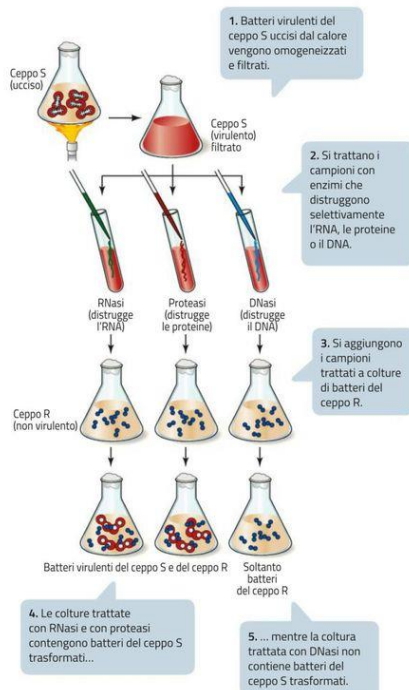
Da ciò lo scienziato concluse che il ceppo R, durante il mescolamento, assorbiva materiale genetico (il cosiddetto "fattore trasformante", in questo caso la capsula) così da renderlo in grado di difendersi dagli anticorpi dell'animale ed ucciderlo.

L'intero processo prende il nome di <<trasformazione>>.

L'esperimento del medico inglese **Frederick Griffith** nel 1928:



- **1944** → **Avery** afferma che il fattore trasformante è il DNA (ma per 6 anni non gli credette nessuno). Nel suo esperimento partendo da pneumococchi lisci fece un estratto cellulare separando diversi componenti (proteine, RNA, DNA ecc...). In tutte le provette vengono aggiunti pneumococchi ruvidi (non patogeni) e si è visto che in proteine, lipidi, ecc... gli pneumococchi ruvidi rimanevano così ma sono nel DNA gli pneumococchi venivano trasformati.



L'esperimento di Avery

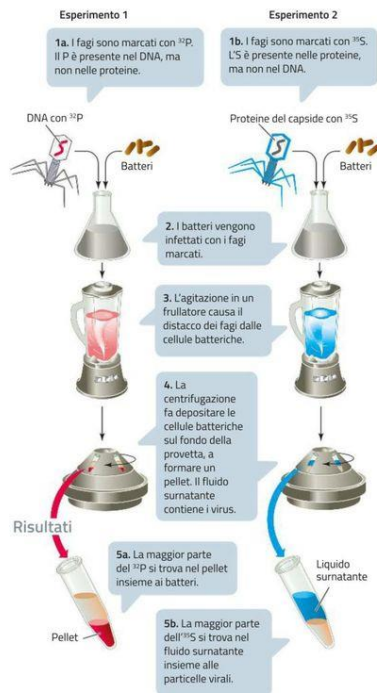
Nel 1944 Oswald Avery dimostrò che il fattore di trasformazione era il **DNA**.

Tuttavia si riteneva il DNA **troppo semplice**, rispetto alle *proteine*, per essere il materiale genetico.

ZANICHELLI

6

- **1952** → **Hershey e Chase** provano definitivamente che il materiale genetico è costituito da DNA e non da proteine. Essi lavorarono con i batteriofagi, dei parassiti endo-cellulari che infettano i batteri; in particolare, utilizzarono il fago T2, che occupa l' *Escherichia coli*. Strutturalmente, il fago è composto da una "testa" (la capsida), un corpo centrale detto "collo" ed una parte terminale, i "piedi", che servono per attaccarsi al batterio in cui si introducono. L'intero virus è rivestito da un involucro proteico; all'interno della capsida invece sono presenti molecole di DNA. Per condurre l'esperimento, i due genetisti si servirono di:
 - isotopi radioattivi (i "marcatori"), ossia:
 uno ione del fosfato (^{32}P), elemento presente solo nel DNA
 uno ione dello zolfo (^{35}S), presente invece nelle proteine
 - frullatore da cucina
 - centrifuga
 Nella prima parte dell'esperimento i batteriofagi furono marcati con ^{35}S , così che l'involucro proteico risultasse radioattivo, per poi inserirli in una coltura di cellule batteriche, che i virus infettarono: l'involucro marcato rimaneva all'esterno, mentre il DNA entrava nei batteri. I virus al loro interno non mostravano segni di radioattività. La coltura fu frullata per ottenere il distacco con gli involucri e fu poi centrifugata: i batteri (più pesanti) erano in fondo alle provette, mentre il materiale radioattivo raggiunse la parte superiore.
 Nella seconda parte dell'esperimento, ad essere marcato fu il DNA (con ^{32}P); in questo caso, la radioattività si trasferiva nelle cellule batteriche e si ritrovava nella progenie virale: il solo DNA era il responsabile della programmazione del genoma.



Sadava et al. *La nuova biologia.blu* © Zanichelli 2016

Gli esperimenti di Hershey e Chase

Nel 1952 Alfred D. Hershey e Martha Chase dimostrarono definitivamente che il materiale genetico è costituito dal DNA e non dalle proteine.

ZANICHELLI

7

- **1952-1953** → **Watson e Crick** deducono la struttura a doppia elica del DNA (grazie a esperimenti di Wilkins e della Franklin)

