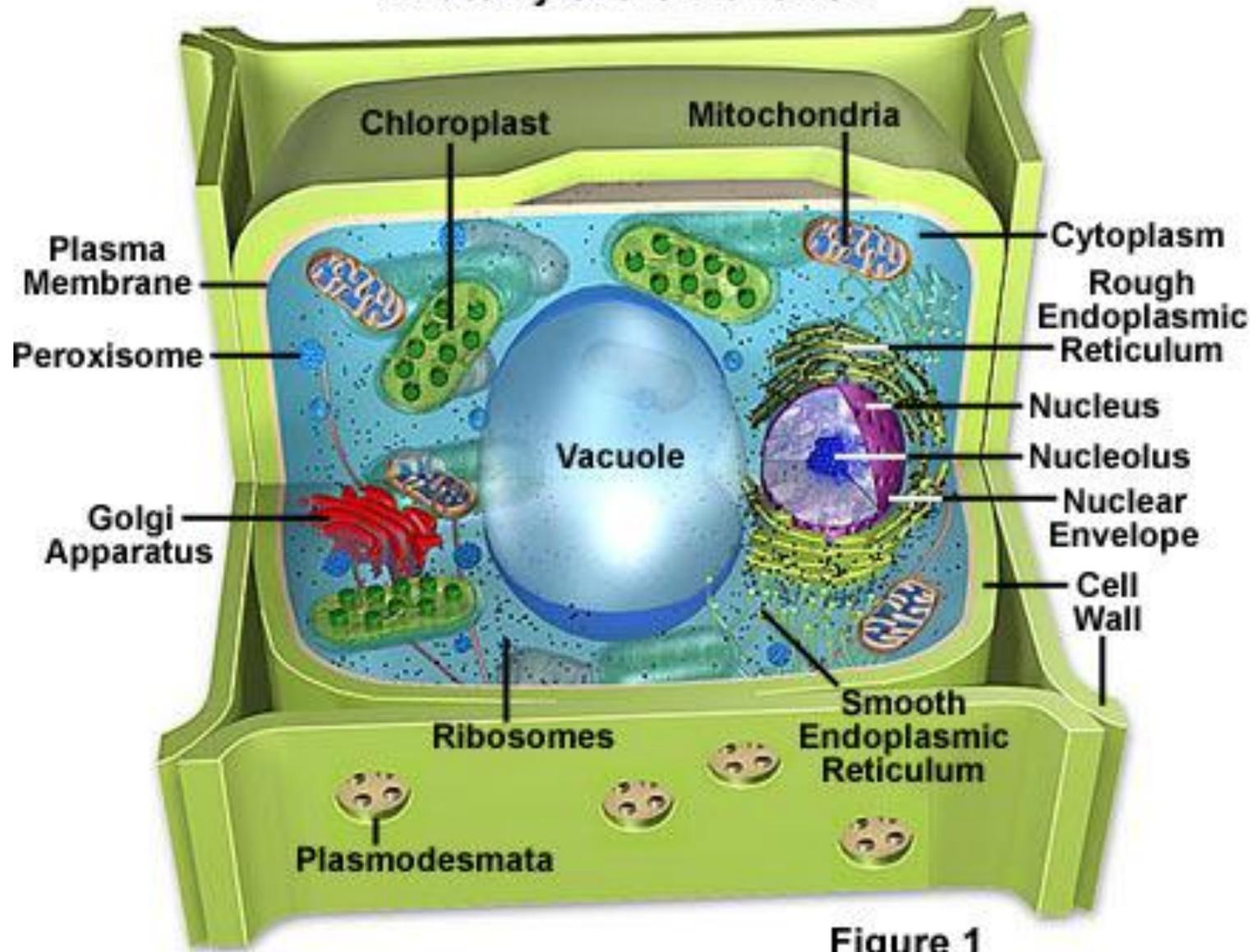


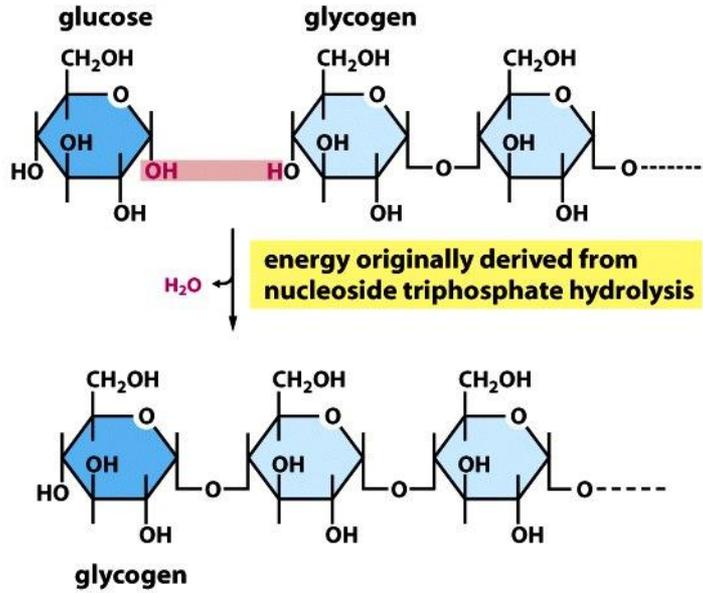
Schema di una cellula animale

Anatomy of the Plant Cell

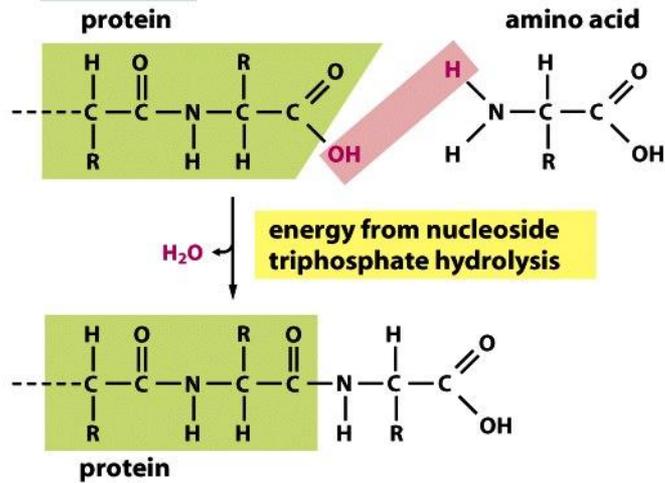


Schema di una cellula vegetale

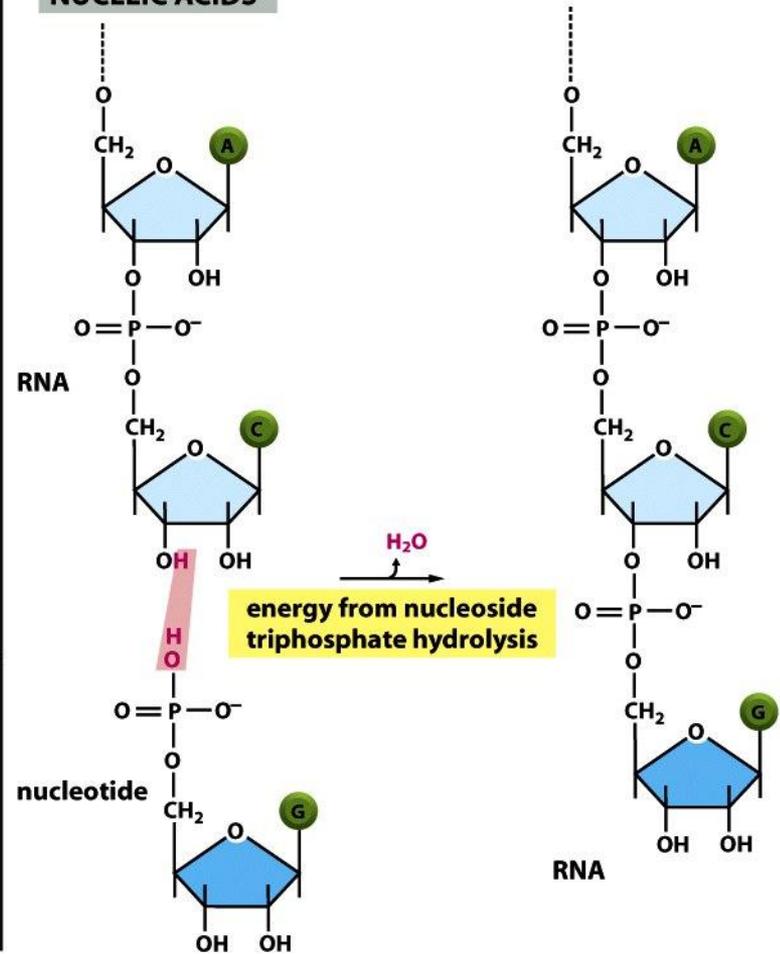
POLYSACCHARIDES

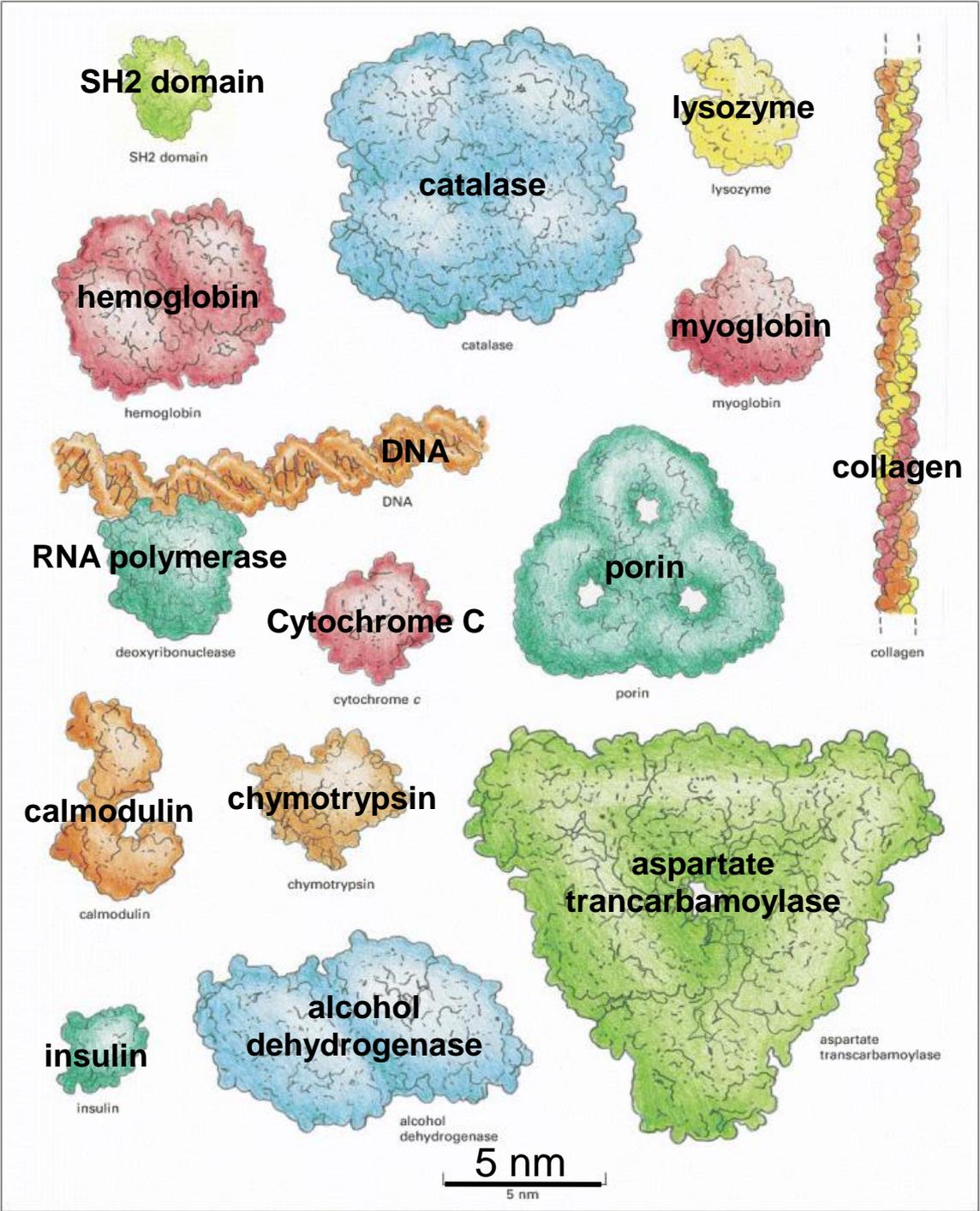


PROTEINS



NUCLEIC ACIDS





II DNA

Struttura e proprietà chimico-fisiche

1868. Miescher isola una sostanza sconosciuta ricca in fosforo da nuclei di linfociti e la denomina **nucleina**. Successivamente (anni 20 del secolo scorso) viene dedotta la composizione chimica: **deossiribosio, fosfato e molecole basiche aromatiche contenenti azoto (adenina, citosina, guanina, timina)** nonché le proprietà acide, da cui il nome **acido deossiribonucleico** o **DNA**.

1928. Griffith scopre che la miscela di un ceppo di pneumococco non virulento (R) vivo con un ceppo virulento (S) ucciso dal calore induce l'infezione nel topo e porta allo sviluppo di batteri virulenti, mentre ciascuna delle due componenti da sola non lo fa.

1944. Avery e colleghi dimostrano che la sostanza del ceppo ucciso responsabile del fenomeno è il **DNA**, che quindi risulta essere chiaramente la sostanza che contiene l'**informazione genetica**

1950. Chargaff scopre che in tutti i DNA, salvo qualcuno di origine virale, la quantità in moli di **adenina** è uguale a quella di **timina** e quella di **guanina** è uguale a quella di **citosina** (**A=T, C=G**).

1952. Hershey e Chase, infettando *E. coli* con il **fago T2**, marcato con zolfo e fosforo radioattivi, dimostrano che lo zolfo, contenuto nella componente proteica, non entra nella cellula batterica, mentre il fosforo, contenuto nel DNA, sì. Inoltre lo zolfo radioattivo risulta sostanzialmente assente nei fagi di nuova generazione, mentre il fosforo radioattivo vi passa in buona misura.

1953. Watson e Crick, interpretando diffrattogrammi a raggi X da fibra di DNA, propongono la struttura a **doppia elica** ponendo le basi per la comprensione del funzionamento dei geni a livello molecolare.

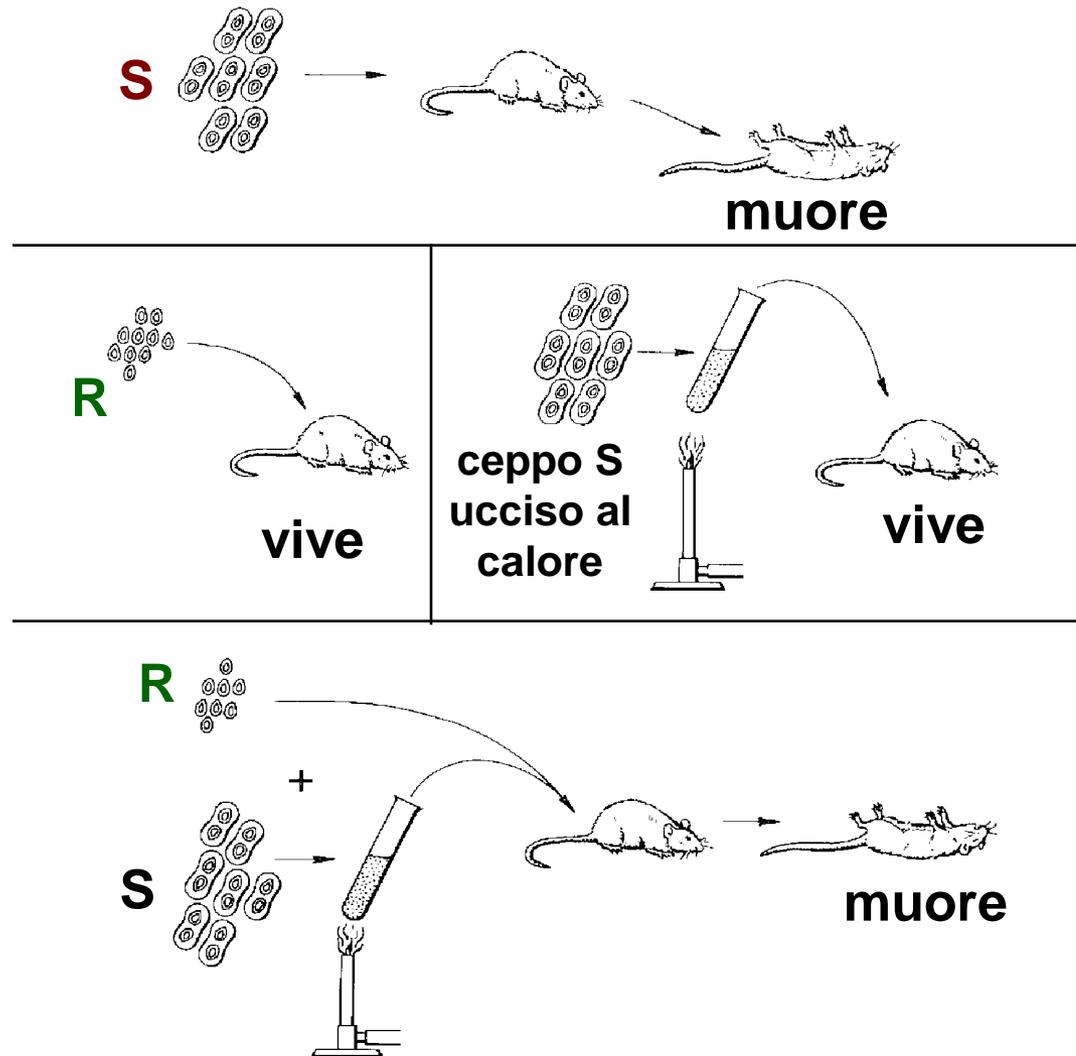
Friedrich Miescher
(1844-1895)



The laboratory located in the vaults of an old castle where Miescher isolated nuclein (1879)

Esperimento di "trasformazione" batterica: Griffith, 1929

Pneumococco (*Streptococcus pneumoniae*)



- **Un principio “trasformante” converte il ceppo R in S**

Oswald Avery at work in the laboratory, around 1930



S strain smooth pathogenic bacterium causes pneumonia



RANDOM MUTATION

R strain rough nonpathogenic mutant bacterium



live R strain cells grown in presence of either heat-killed S strain cells or cell-free extract of S strain cells

TRANSFORMATION

S strain Some R strain cells are transformed to S strain cells, whose daughters are pathogenic and cause pneumonia

CONCLUSION: Molecules that can carry heritable information are present in S strain cells.

(A)

S strain cells



fractionation of cell-free extract into classes of purified molecules

RNA

protein

DNA

lipid

carbohydrate

molecules tested for transformation of R strain cells

R strain

R strain

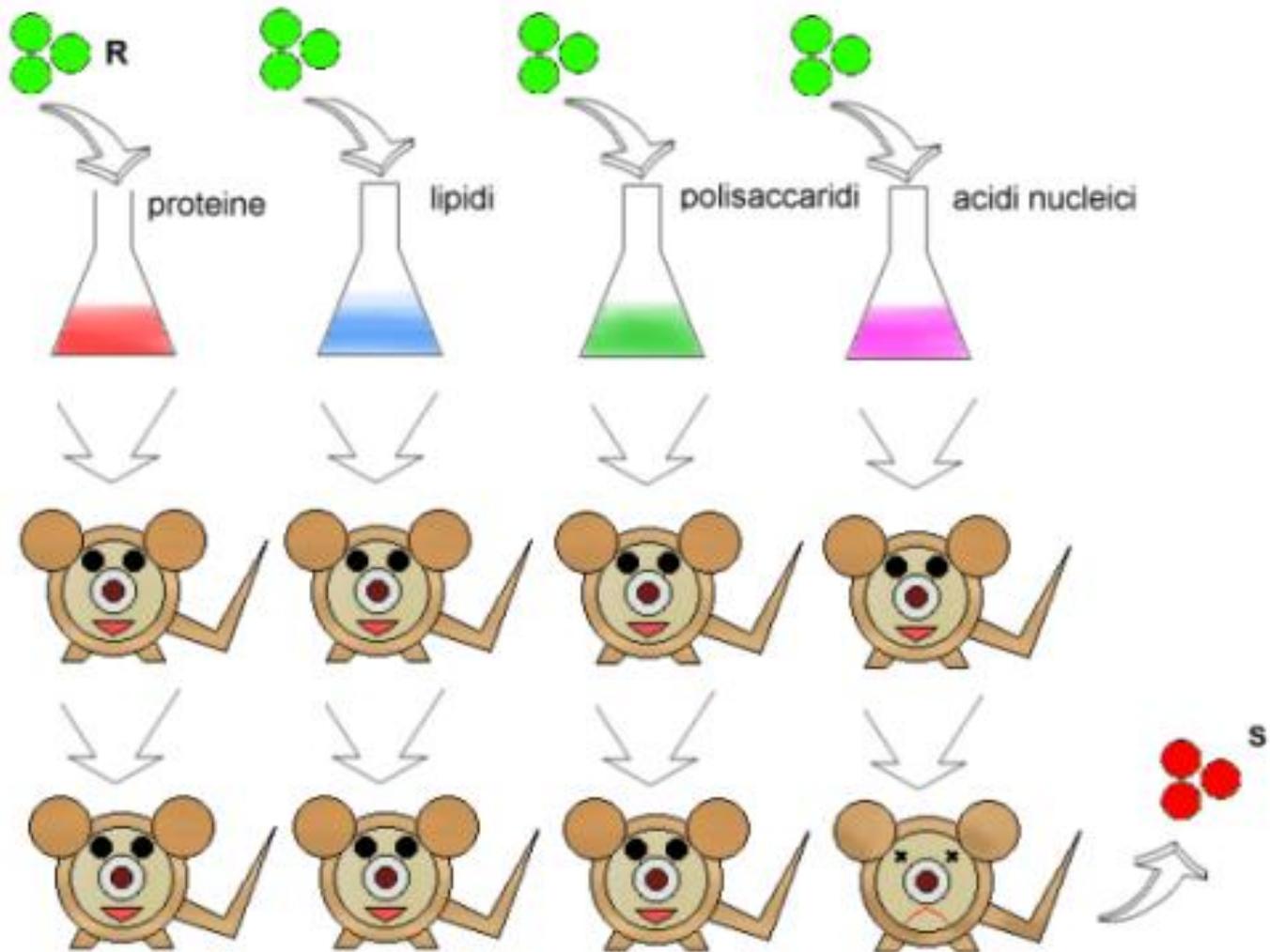
S strain

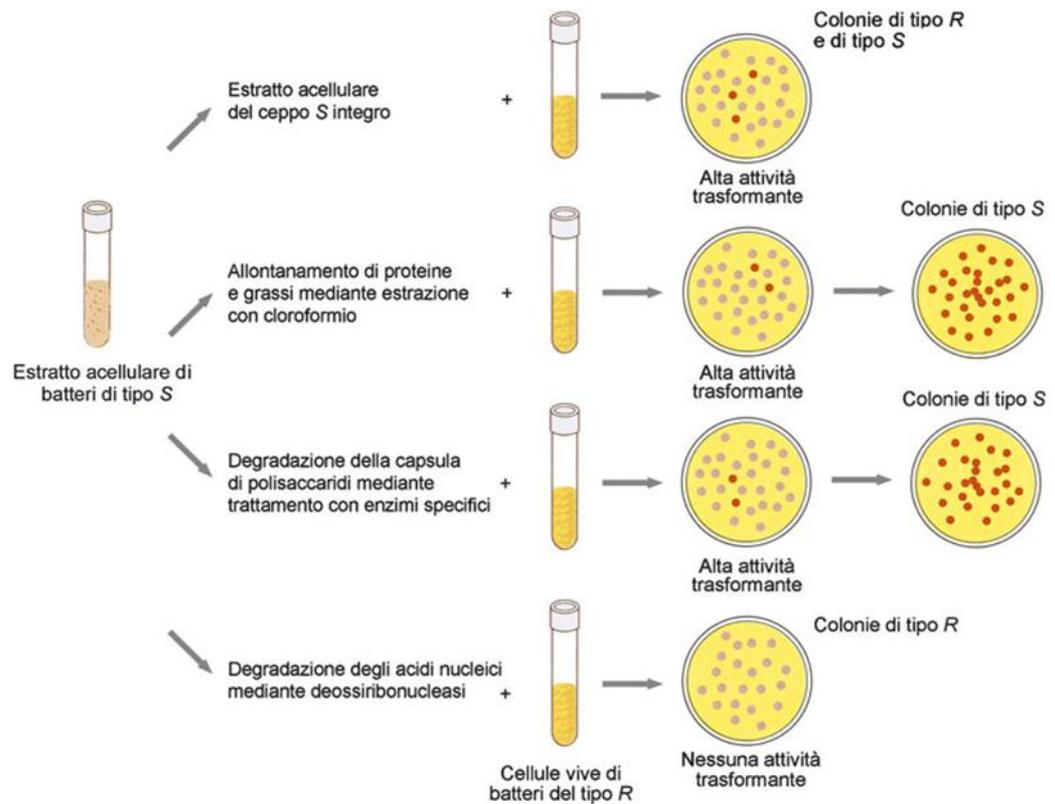
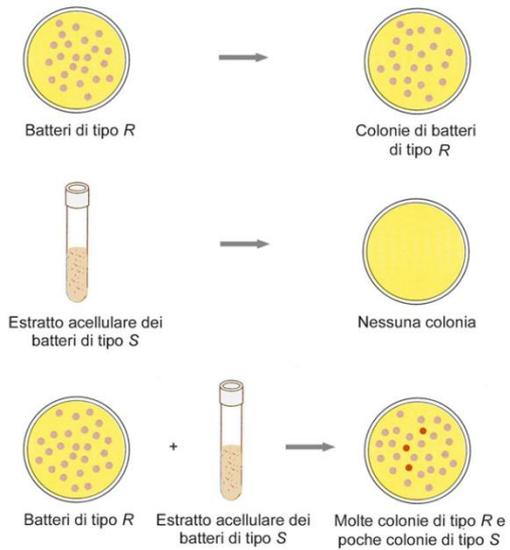
R strain

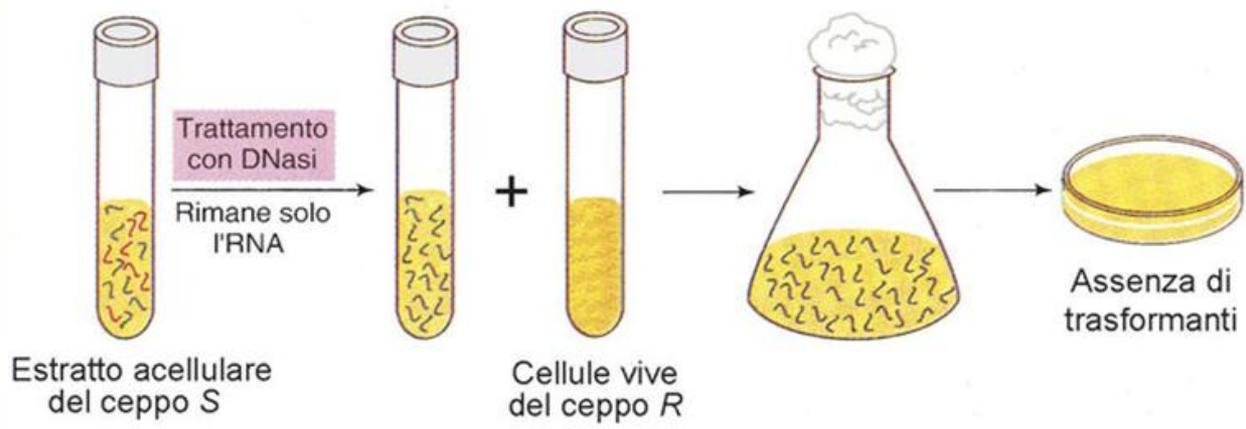
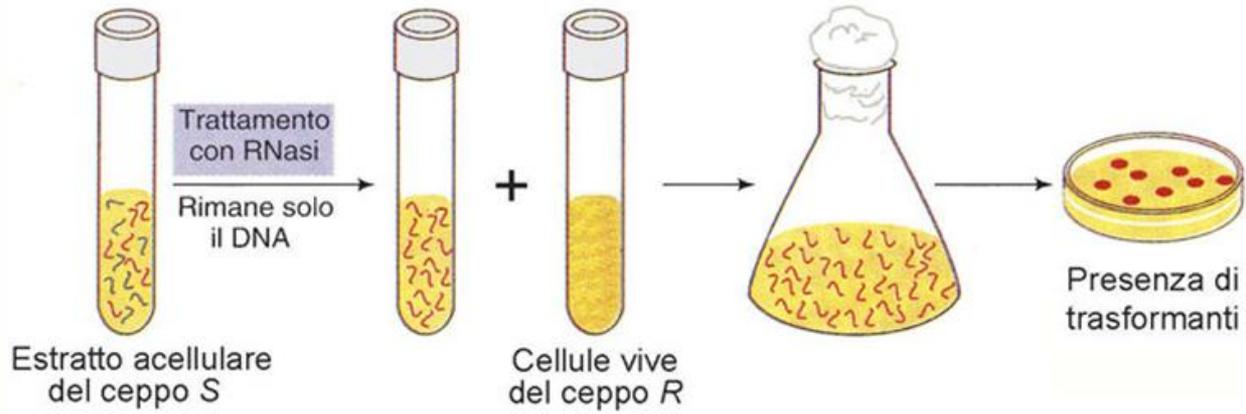
R strain

CONCLUSION: The molecule that carries the heritable information is DNA.

(B)









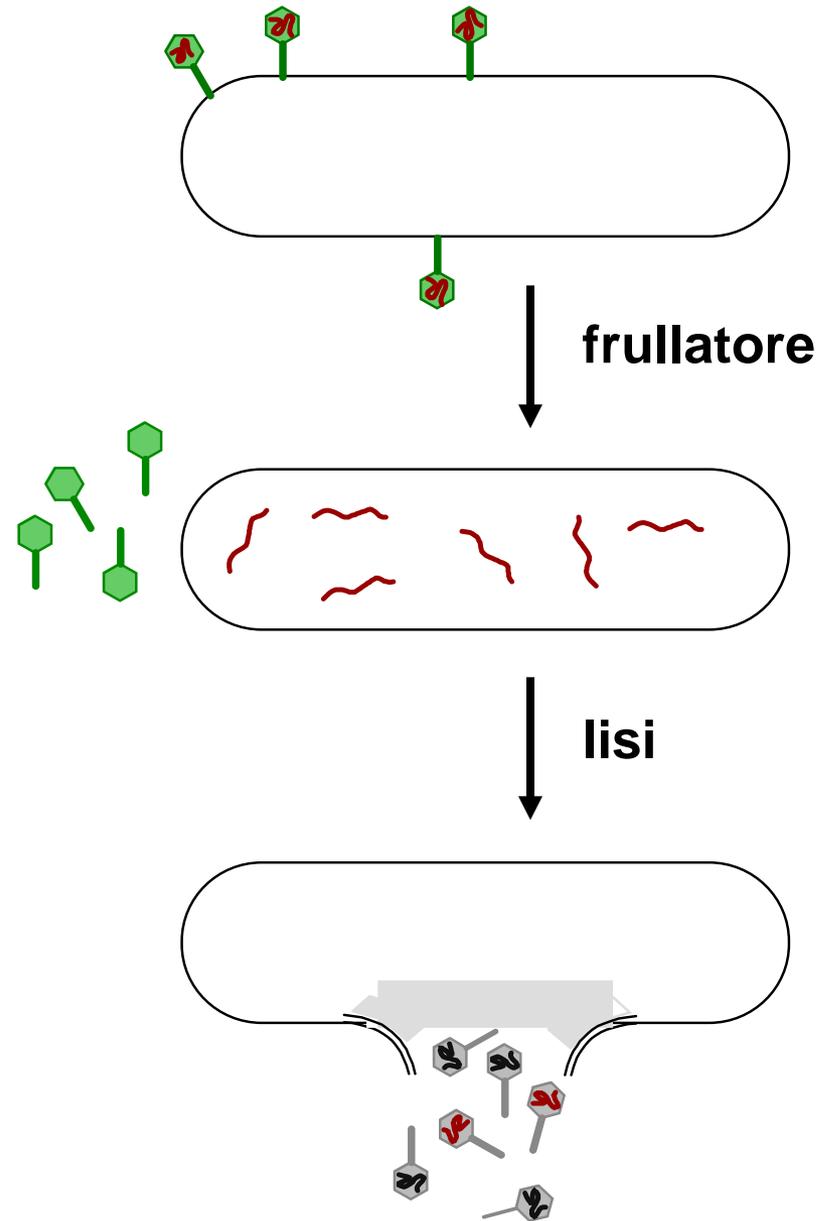
Alfred Hershey and Martha Chase (1953)

L'esperimento - Hershey e Chase, 1952

Fagi marcati con ^{32}P nel DNA
e con ^{35}S nelle proteine
infettano i batteri

I capsidi fagici contengono
l'80 % del ^{35}S mentre
i batteri infettati contengono
il 70 % del ^{32}P

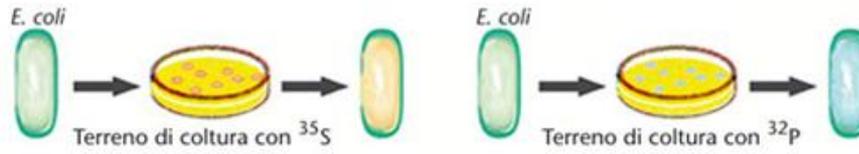
La progenie fagica
contiene il 30 % del ^{32}P
e < 1% del ^{35}S



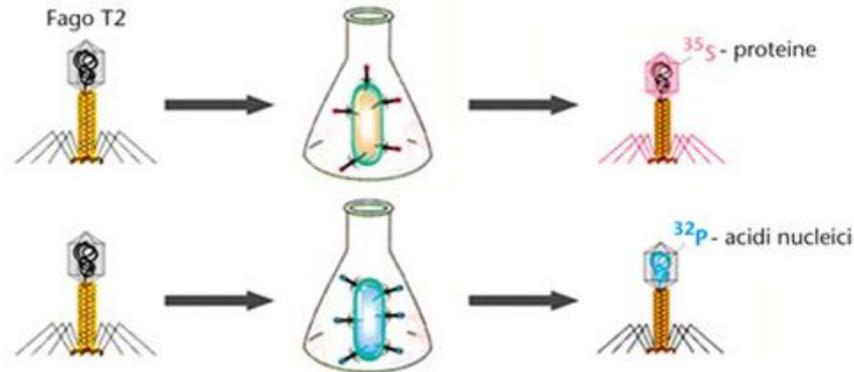
^{32}P viene trovato nei batteri e nella progenie di fagi, mentre ^{35}S non si trova nei batteri ma nei capsidi vuoti dei fagi (ghosts).

Da questo esperimento si concluse che il DNA del fago iniettato nel batterio porta l'informazione genetica per la nuova progenie di virus.

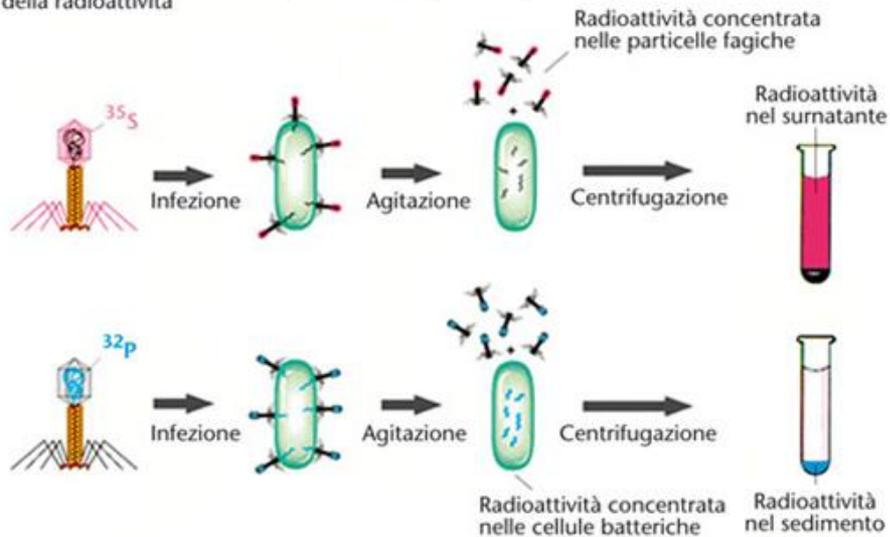
Moltiplicazione del batterio *E. coli* in presenza di radioisotopi



Infezione dei batteri radioattivi con i fagi



Infezione dei batteri con i fagi radioattivi, agitazione, centrifugazione e misurazione della radioattività



Erwin Chargaff

Per primo misurò accuratamente la percentuale dei quattro nucleotidi nel DNA



Composizione in basi del DNA di varie specie

Organismo	A	G	C	T	A/T	G/C	G+C	Py/Pu
Escherichia coli	26.0	24.9	25.2	23.9	1.08	0.99	50.1	1.04
Mycobact. tuberc.	15.1	34.9	35.4	14.6	1.03	0.99	70.3	1.00
Lievito	31.7	18.3	17.4	32.6	0.97	1.05	35.7	1.00
Bue	29.0	21.2	21.2	28.7	1.01	1.00	42.4	1.01
Maiale	29.8	20.7	20.7	29.1	1.02	1.00	41.4	1.01
Uomo	30.4	19.9	19.9	30.1	1.01	1.00	39.8	1.01

Maurice Wilkins
(1916 - 2004)



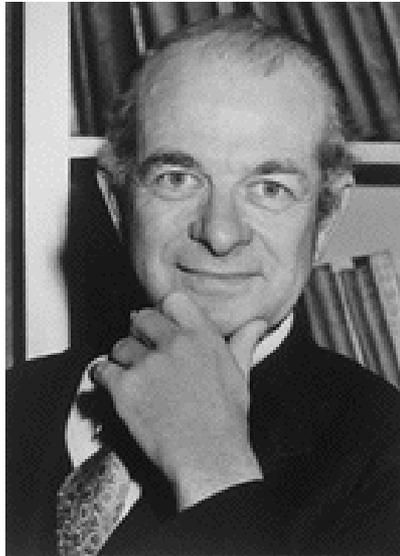
Watson, Crick, Wilkins: Nobel 1962

Francis Crick
(1916 - 2004)

James Watson
(1928 -)



Linus Pauling
(1901 - 1994)



Rosalind Franklin
(1920 - 1958)

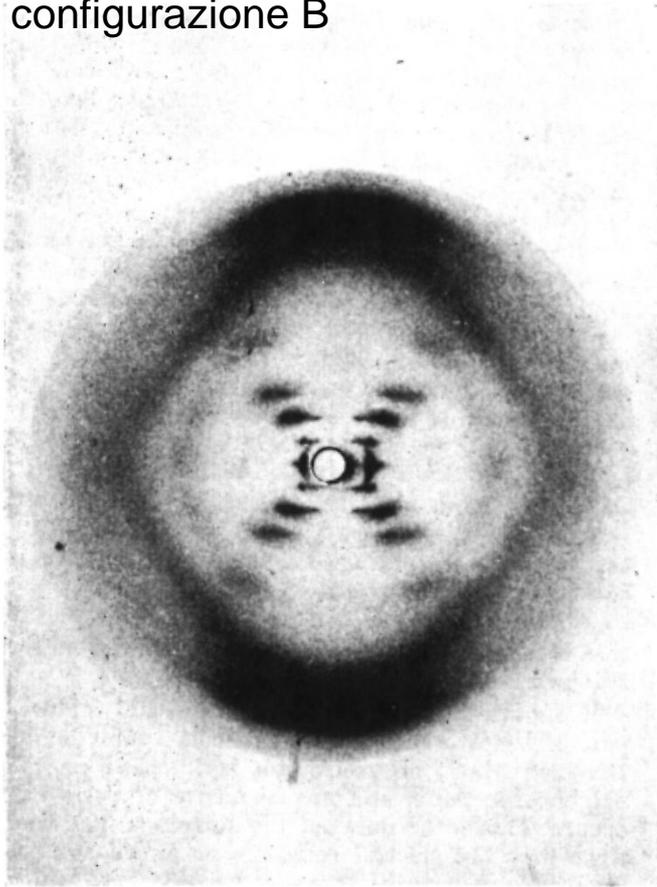


Pauling: Nobel 1954
(struttura proteine)

Franklin's X-ray crystallographic images of DNA enabled Watson to deduce that DNA was helical

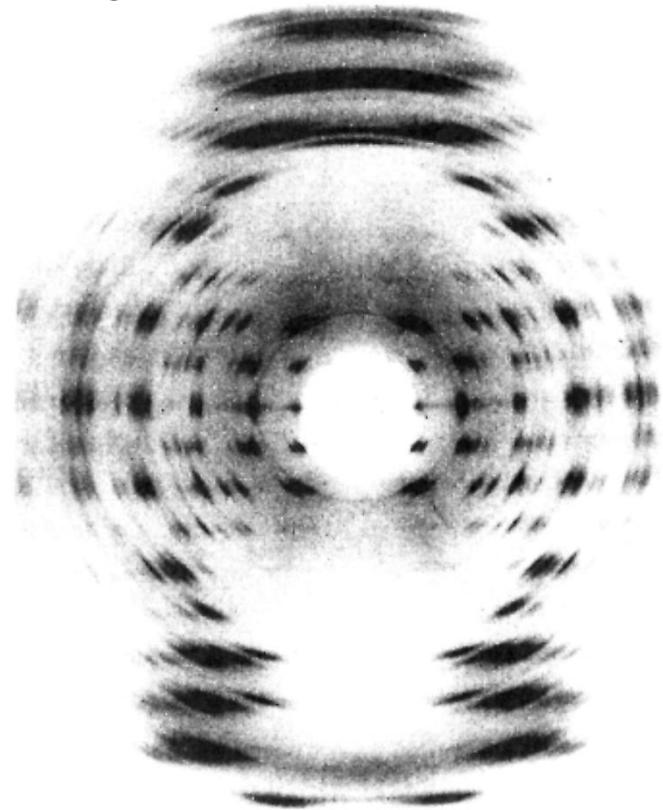
Diffrazione dei raggi X di fibre di DNA

configurazione B



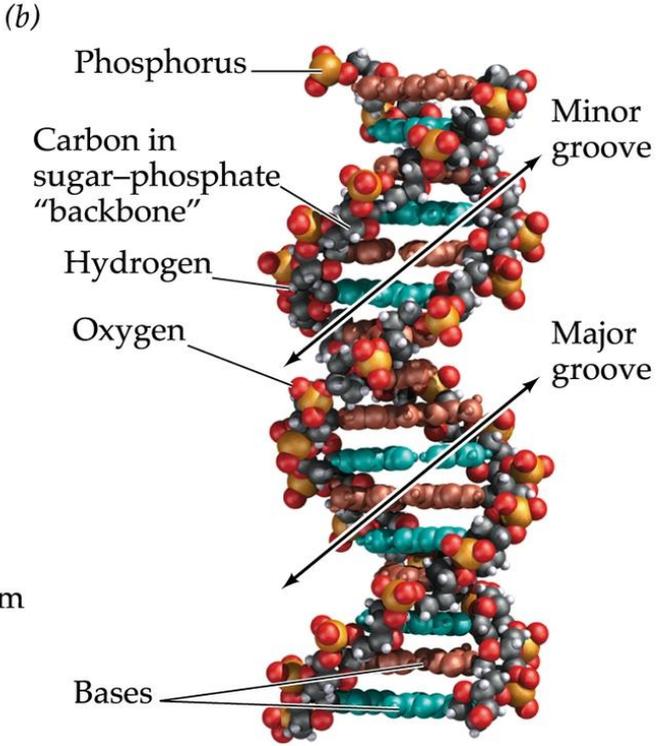
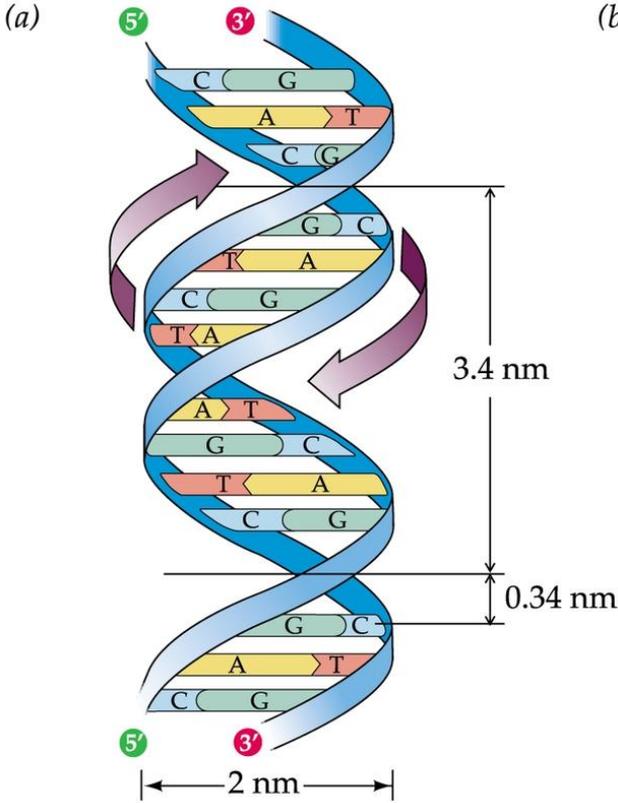
Franklin R.E. & Gosling R., 1953

configurazione A



Wilkins M.H.F., 1956

Conclusion: DNA is a helical structure with distinctive regularities, 0.34 nm e 3.4 nm.



ROSALIND FRANKLIN

1920-1958



si iscrive, nel 1938, a 18 anni al Newnham College di Cambridge.

si laurea in chimica fisica nel 1941.

1942 lavora presso l'Associazione Britannica di Ricerca per l'utilizzazione del Carbone.

■ *conseguì il dottorato in fisica e chimica nel 1945.*

■ *nel 1946 si trasferì a Parigi presso i Laboratoire Central des Services Chimiques de L'Etat, per specializzarsi nella tecnica della diffrazione ai raggi X.*



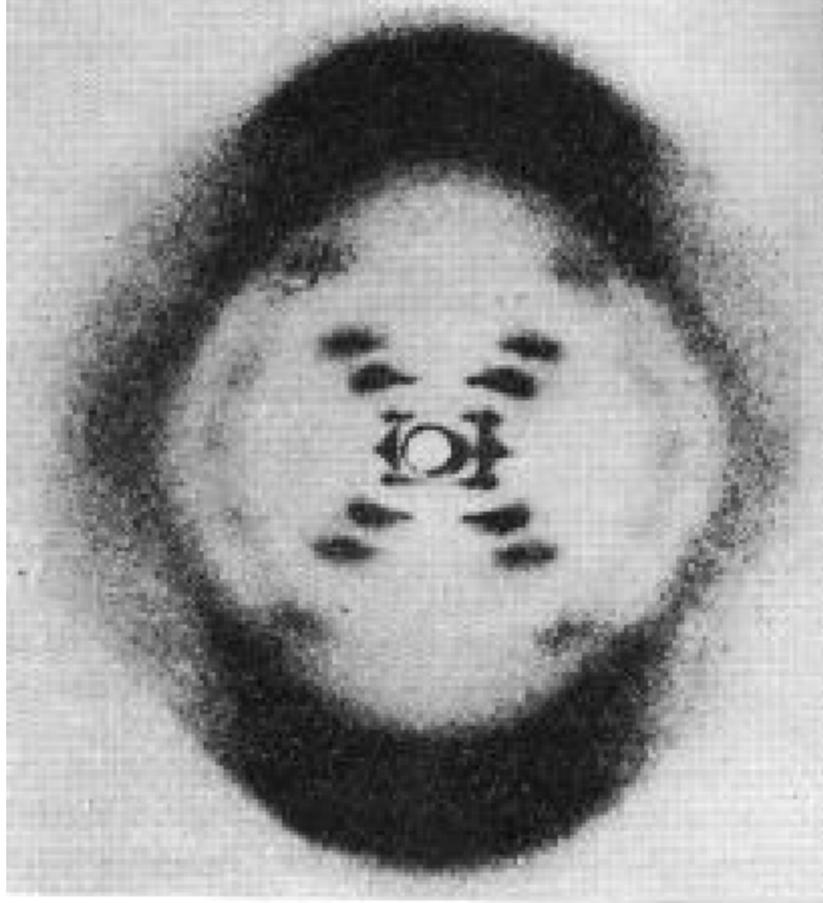
THE KING'S COLLEGE



*Nel 1951, per le sue
competenze, venne invitata
da John Randall al
Dipartimento di biofisica
del King's College di
Londra.*

LA RICERCA SUL DNA

Nel King's College erano iniziate le ricerche sul DNA, acido desossiribonucleico, la componente principale dei cromosomi e quindi dei geni. In poco tempo, Rosalind mise a punto una tecnica innovativa che utilizzava i raggi X per fotografare i costituenti di tutti i materiali viventi e non viventi.



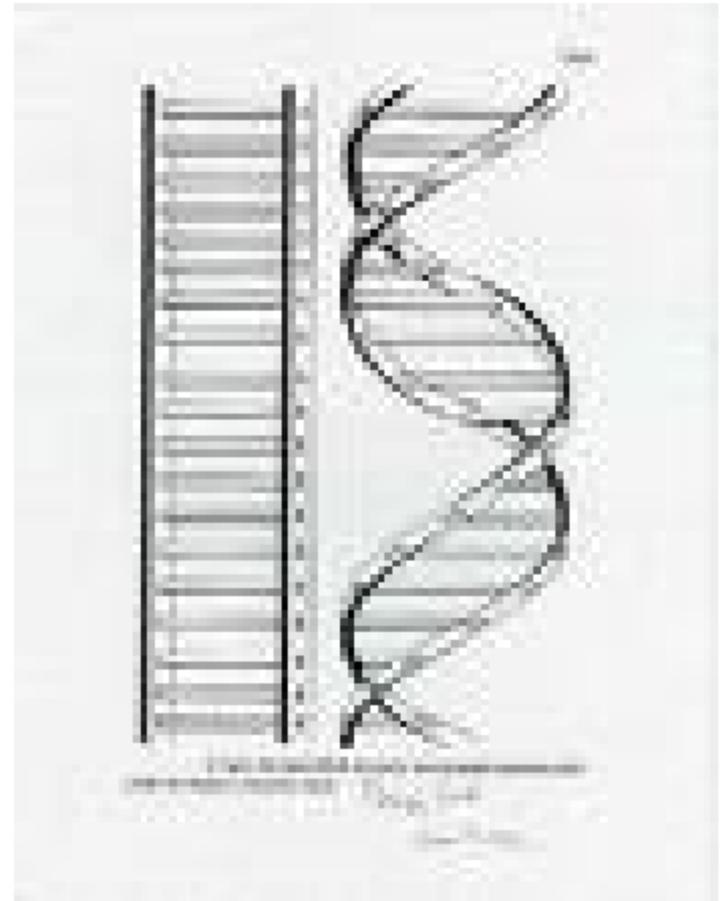
Il dispositivo consisteva in una microcamera capace di produrre fotografie ad alta definizione dei singoli filamenti del DNA. La Franklin riuscì dunque a fare la prima fotografia dello scheletro del Dna...

LA RICERCA SCIPPATA

Fu quella fotografia, insieme ai dati da lei elaborati, che permise ai suoi principali rivali, James Watson e Francis Crick, venuti segretamente in possesso del materiale, di pubblicare nel 1953 la dettagliata descrizione della molecola.

Nessun riconoscimento fu invece assegnato a Rosalind.

Nell'autunno del 1956, scoprì di avere il cancro alle ovaie, ma rifiutò di abbandonare il suo lavoro di ricerca. Morì il 16 aprile del 1958, all'età di 37 anni, forse per le eccessive esposizioni ai raggi X.



A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid
J. D. Watson and F. H. C. Crick

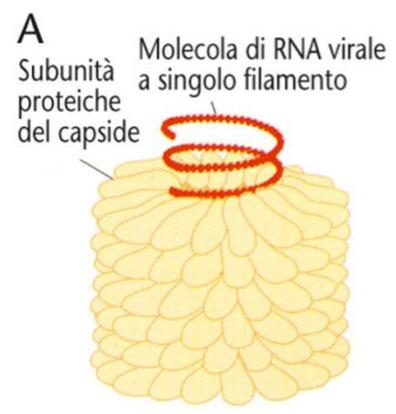
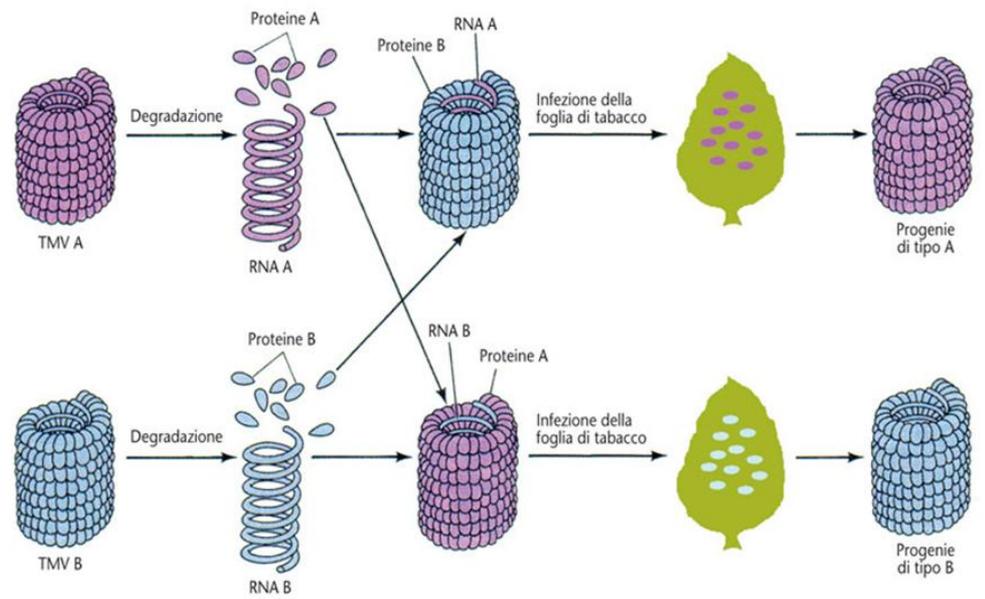
April 25, 1953 (2), *Nature* (3), 171, 737-738

We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.).
This structure has novel features which are of considerable biological interest.

.....

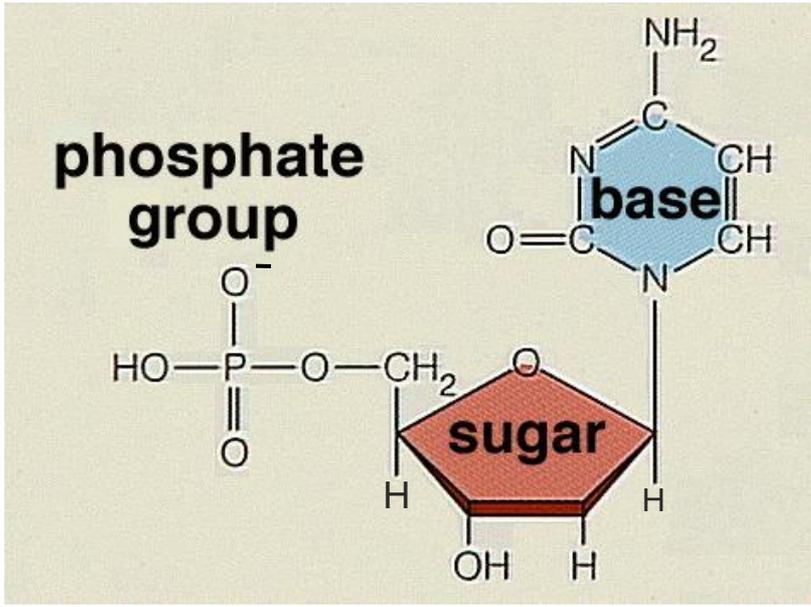
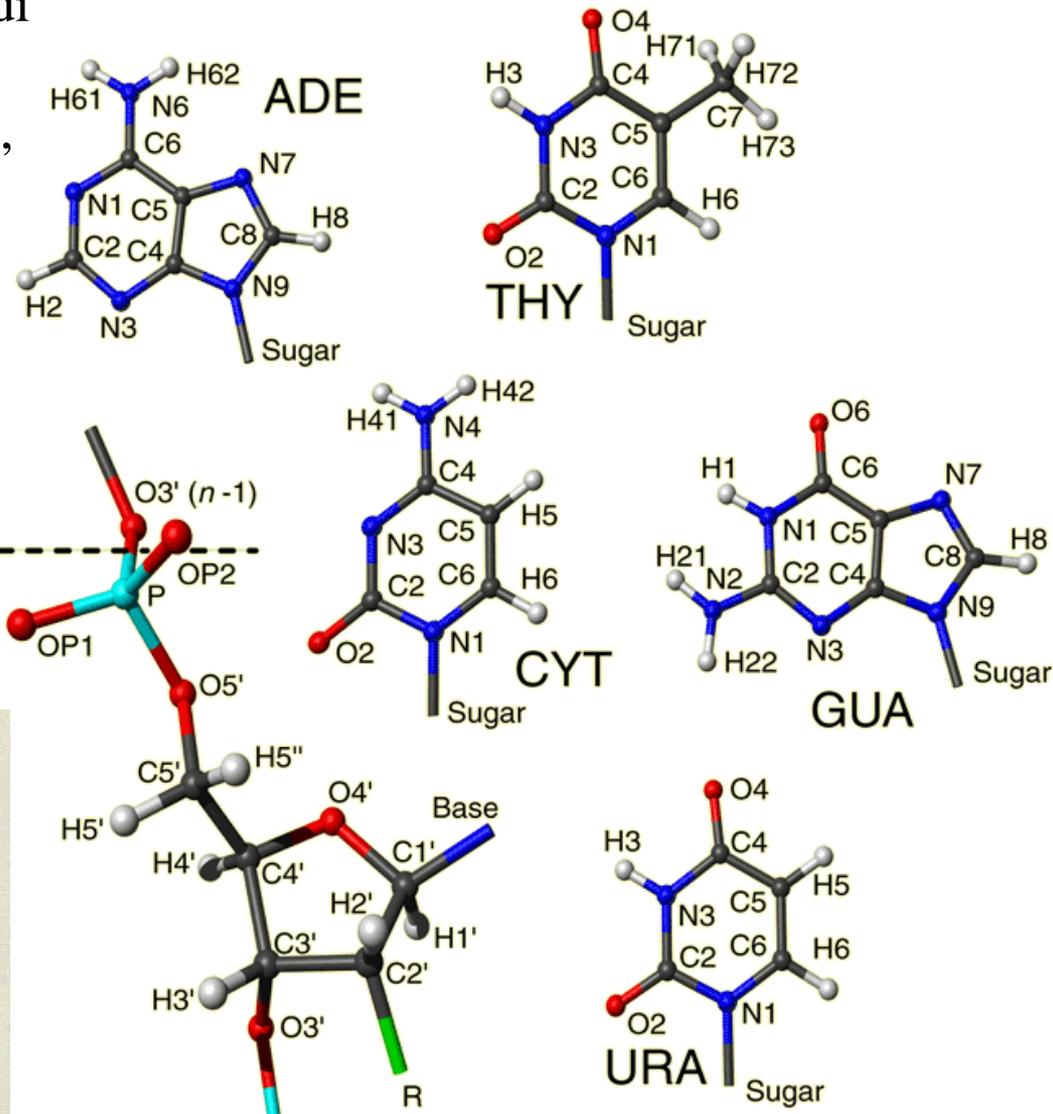
It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated
immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Esperimenti di Gierer e Schramm e Fraenkel-Conrat e Singer: alcuni virus hanno RNA come materiale genetico (1956-57).

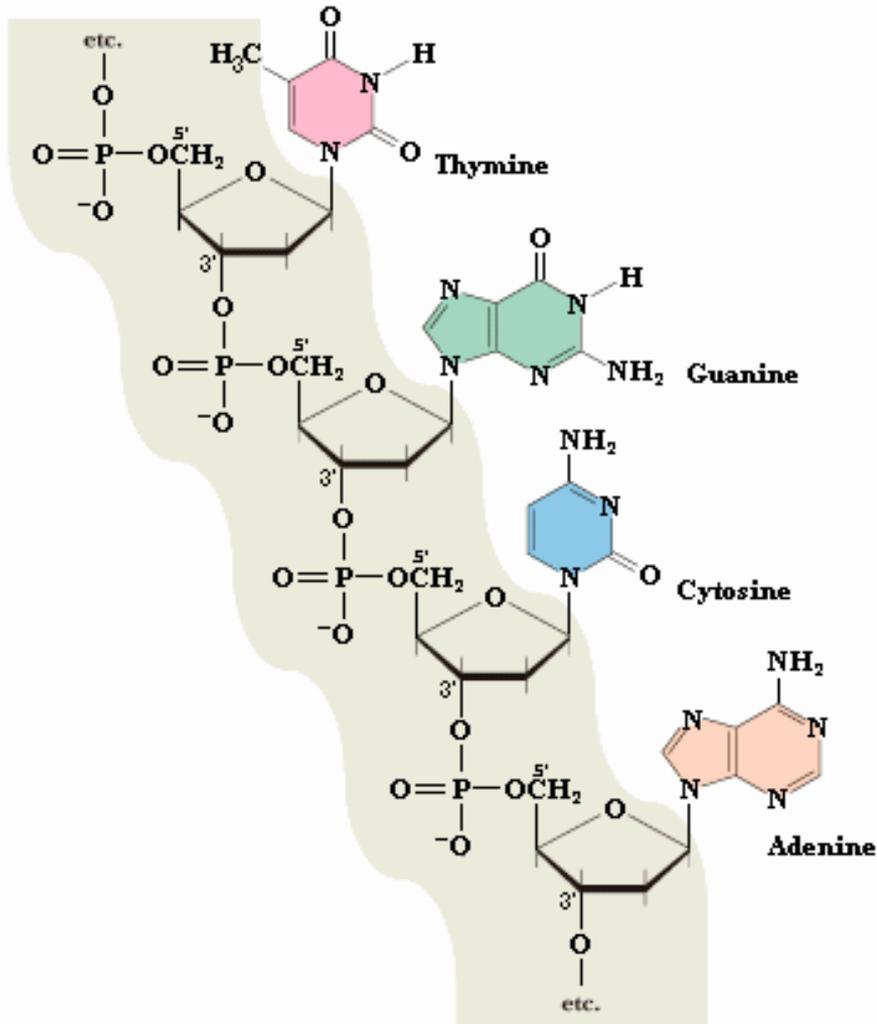


Il DNA deriva dalla polimerizzazione di unità monomeriche dette nucleotidi, ciascuna composta da un deossiribosio, un gruppo fosfato e una base azotata.

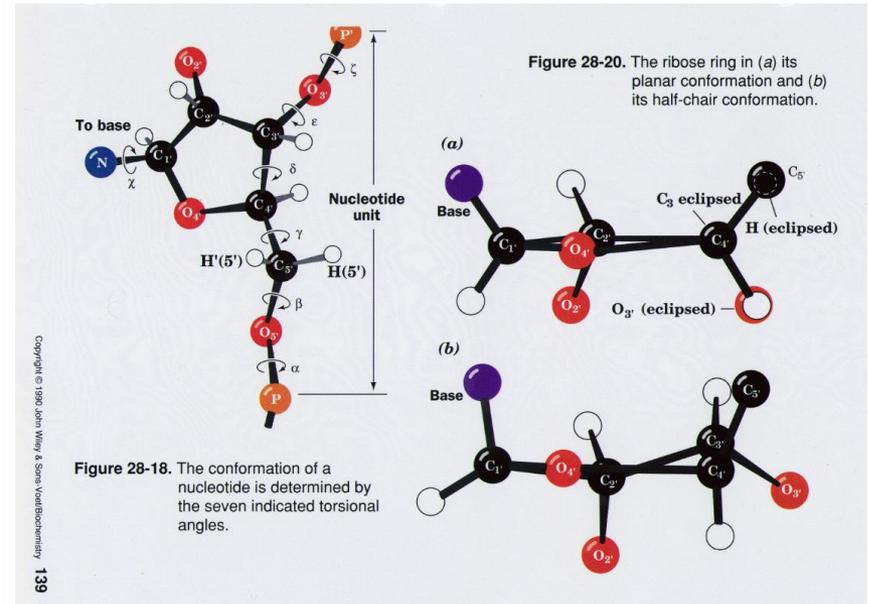
Il composto di deossiribosio e base azotata privo del fosfato prende il nome di nucleoside.



Deoxyribonucleic acid
DNA



Un segmento di catena di DNA



In un'unità ripetitiva, da fosforo a fosforo, ci sono sei singoli legami covalenti, dotati quindi di una certa libertà di rotazione, a cui si aggiunge il legame N-glicosidico, pure singolo. Ciò rende possibile al DNA di assumere più conformazioni.

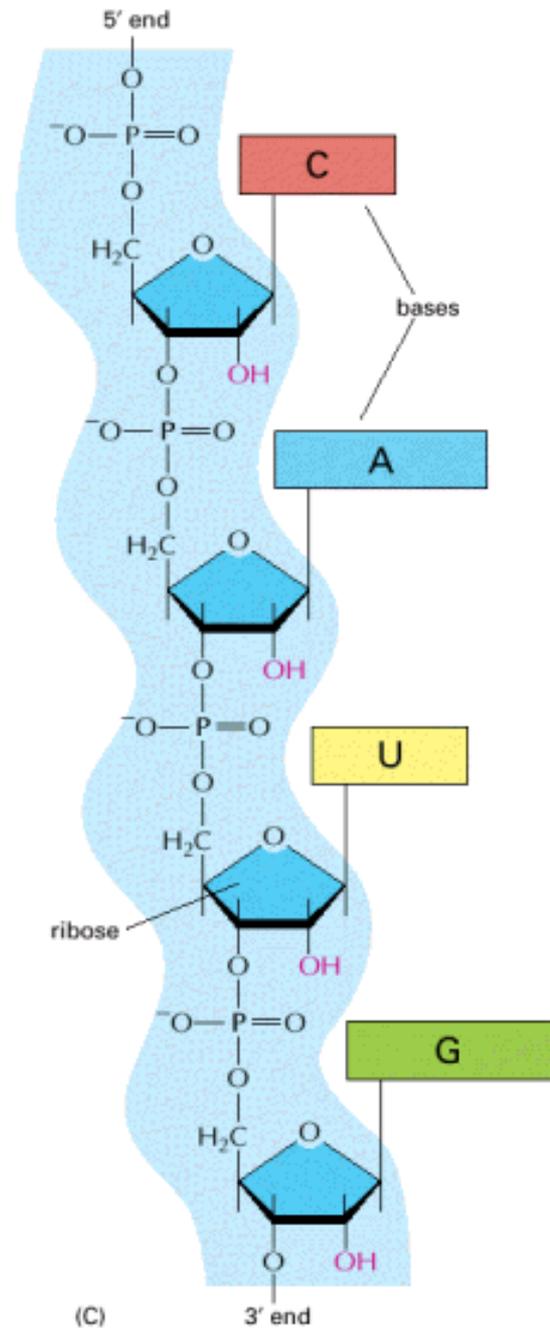
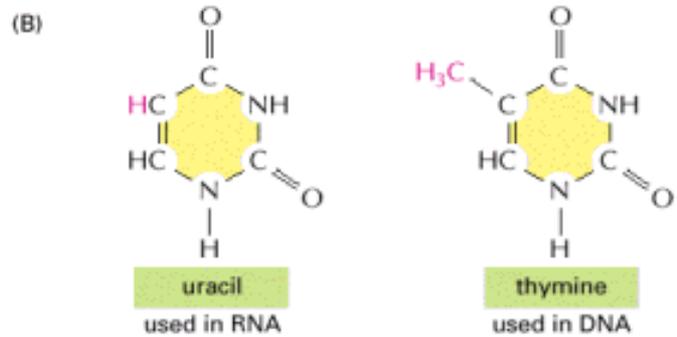
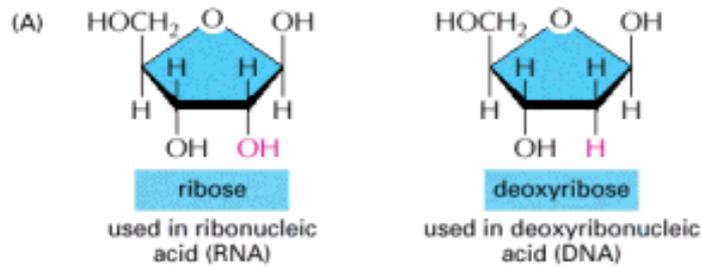
GLI ACIDI NUCLEICI

DNA acido deossi-ribonucleico

(adenina, timina, guanina, citosina, deossi-ribosio, acido fosforico)

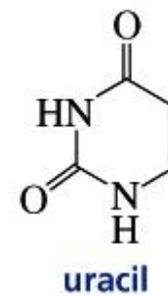
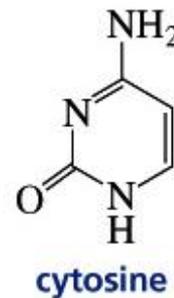
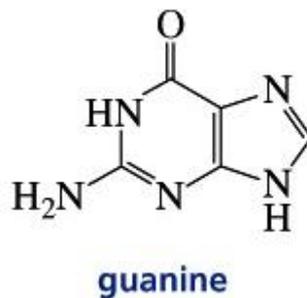
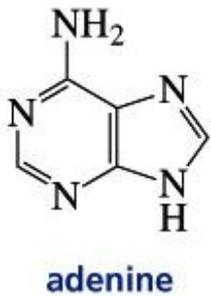
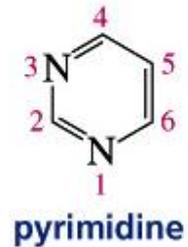
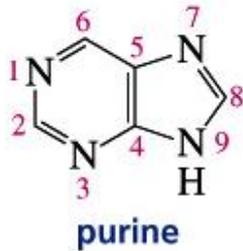
RNA acido ribonucleico

(adenina, uracile, guanina, citosina, ribosio, acido fosforico)



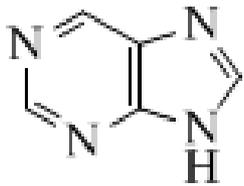
Un segmento di catena di RNA e le sue fondamentali differenze chimiche dal DNA: il ribosio al posto del deossiribosio, l'uracile al posto della timina.

LE BASI AZOTATE

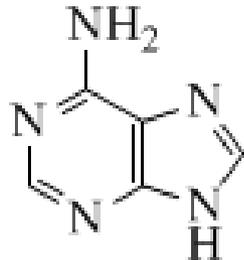


Adenina, guanina, citosina e timina si trovano nel DNA

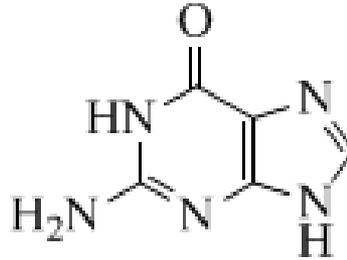
Adenina, guanina, citosina e uracile si trovano nell' RNA



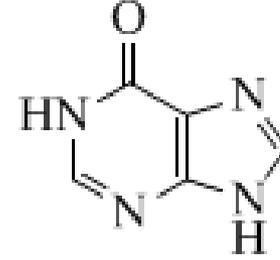
purine
1



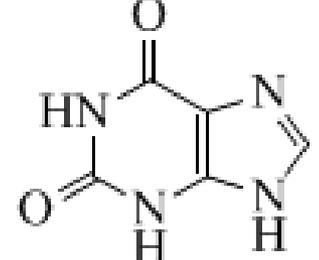
adenine
2



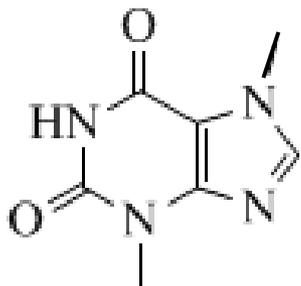
guanine
3



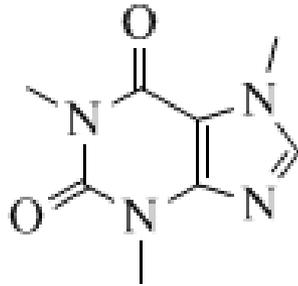
hypoxanthine
4



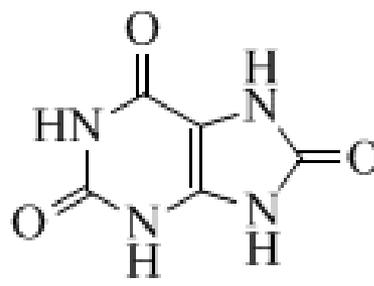
xanthine
5



theobromine
6



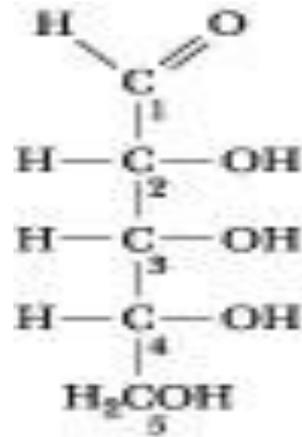
caffeine
7



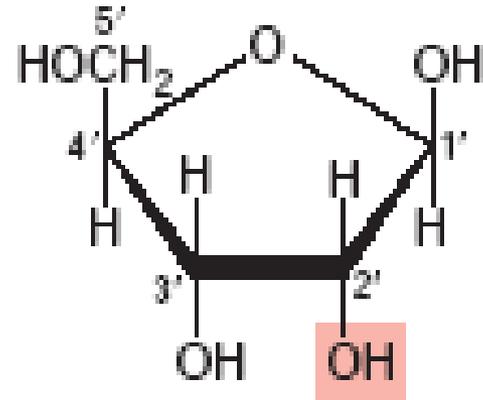
uric acid
8

Vari derivati della purina
si trovano in natura,
ma solo alcuni negli
acidi nucleici

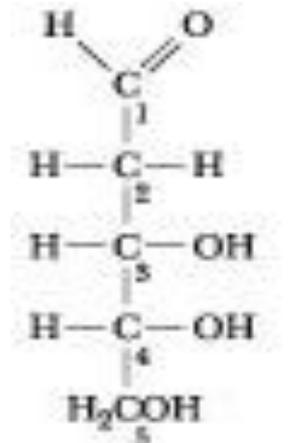
IL MONOSACCARIDE



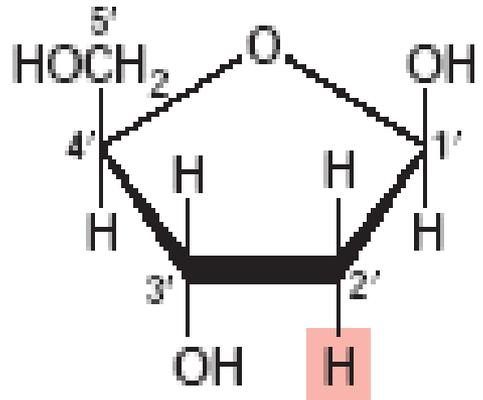
D-Ribose



Ribose



2-Deoxyribose



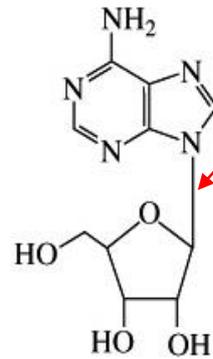
2-Deoxyribose

I NUCLEOSIDI = BASE + ZUCCHERO

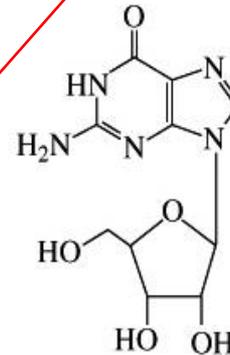
Legame β -glicosidico

Ribosio

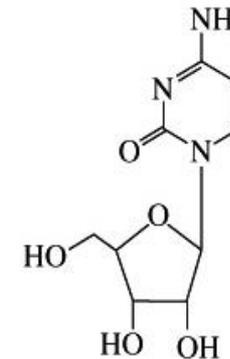
Ribonucleosidi



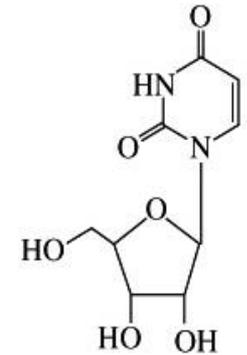
adenosine



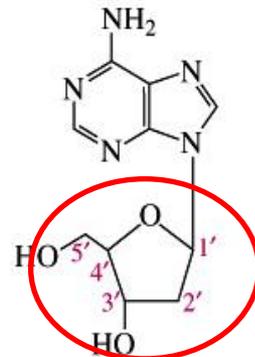
guanosine



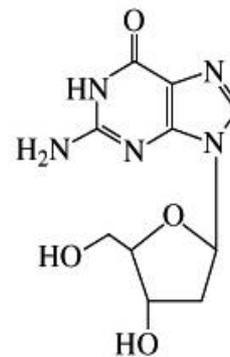
cytidine



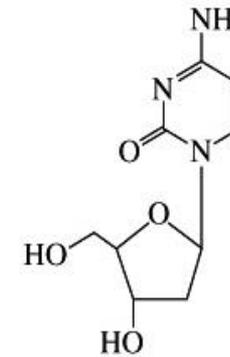
uridine



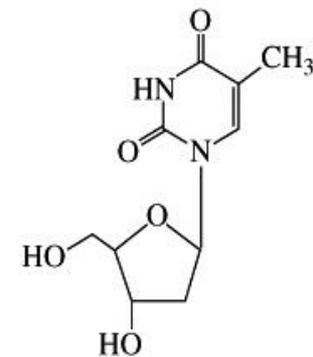
2'-deoxyadenosine



2'-deoxyguanosine



2'-deoxycytidine



thymidine

Desossiribosio

Deossi-ribonucleosidi

Basi, nucleosidi e nucleotidi

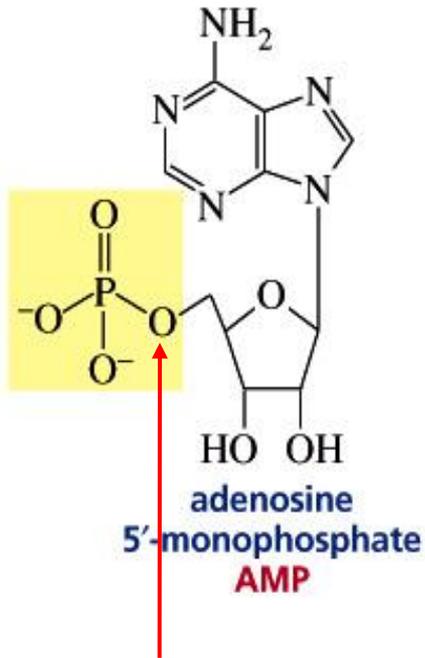
Base	Nucleoside	Nucleotide (estere fosforico)	RNA	DNA
Adenina	Adenosina	Adenosina-5'-fosfato (Acido adenilico)	AMP	dAMP
Guanina	Guanosina	Guanosina-5'-fosfato (Acido Guanilico)	GMP	dGMP
Citosina	Citidina	Citidina-5'-fosfato (Acido citidilico)	CMP	dCMP
Timina	Timidina	Timidina-5'-fosfato (Acido timidilico)		dTMP
Uracile	Uridina	Uridina-5'-fosfato (Acido uridilico)	UMP	

		Purine		Pirimidine		
		Adenina (A)	Guanina (G)	Citosina (C)	Timina (T)	Uracile (U)
DNA	Nucleoside: deossiribosio + base	Deossiadenosina (dA)	Deossiguanosina (dG)	Deossicitidina (dC)	Timidina (dT)	
	Nucleotide: deossiribosio + base + gruppo fosfato	Acido deossia- denilico o deos- siadenosinamo- nofosfato (dAMP)	Acido deossigua- nilico o deossi- guanosina mo- nofosfato (dGMP)	Acido deossiciti- dilico o deossici- tidina monofosfa- to (dCMP)	Acido timidilico o timidina monofosfato (TMP)	
RNA	Nucleoside: ribosio + base	Adenosina (A)	Guanosina (G)	Citidina (C)		Uridina (U)
	Nucleotide: ribosio + base + gruppo fosfato	Acido adenilico o adenosina mo- nofosfato (AMP)	Acido guanilico o guanosina monofosfato (GMP)	Acido citidilico o citidina monofos- fato (CMP)		Acido uridilico o uridina monofos- fato (UMP)

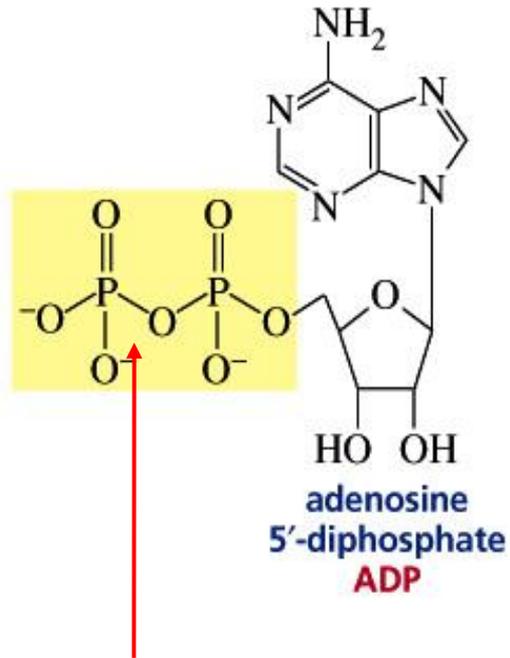
Nomenclatura IUPAC per le basi e i nucleosidi degli acidi nucleici.

Simbolo	Base		Nucleoside
A	Adenine		Adenosine
C	Cytosine		Cytidine
G	Guanine		Guanosine
T (U)	Thymine (Uracil)		Thymidine (Uridine)
R	puRine	A ◦ G	
Y	pYrimidine	C ◦ T (U)	
S	Strong	C ◦ G	
W	Weak	A ◦ T (U)	
K	Keto-enolic	G ◦ T (U)	
M	aMino-iminic	A ◦ C	
B	non A	C ◦ G ◦ T (U)	
D	non C	A ◦ G ◦ T (U)	
H	non G	A ◦ C ◦ T (U)	
V	non T (non U)	A ◦ C ◦ G	
N	any	A ◦ C ◦ G ◦ T (U)	
I	Hypoxanthine		Inosine
<i>O* (5mC)Not off.</i>	<i>5-methylcytosine</i>		<i>5-methyl-cytidine</i>

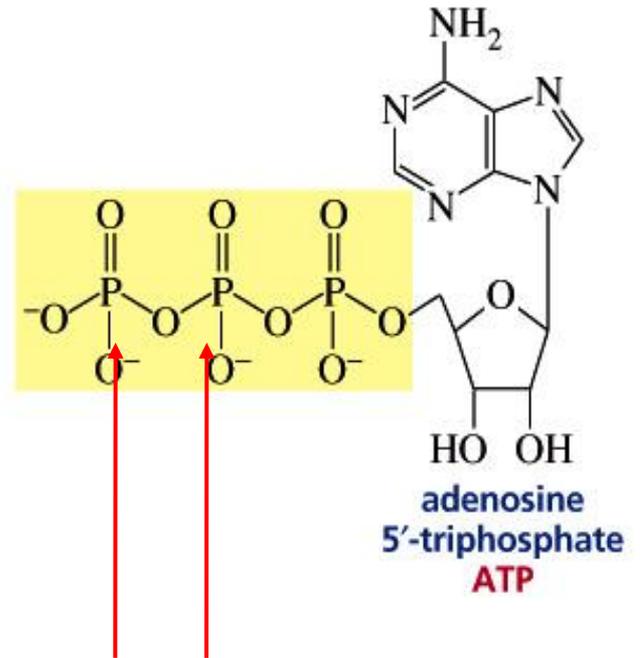
AMP, ADP e ATP



Legame estereo

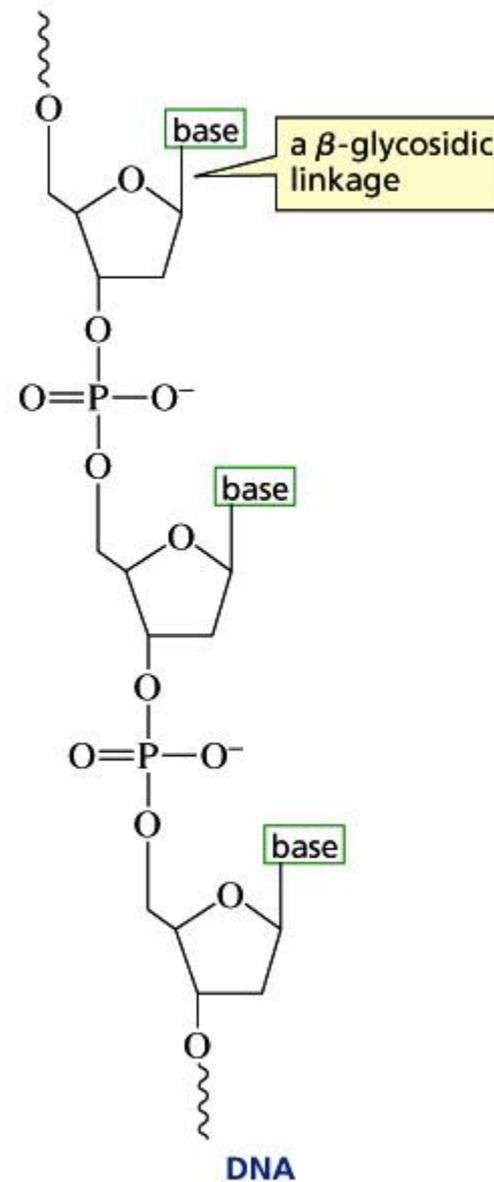
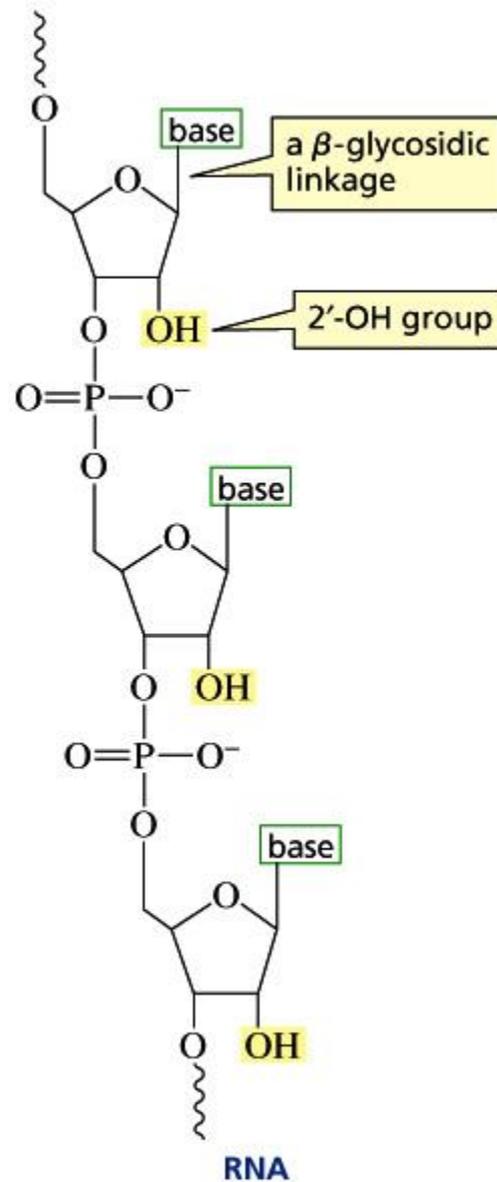


Legame fosfoanidridico



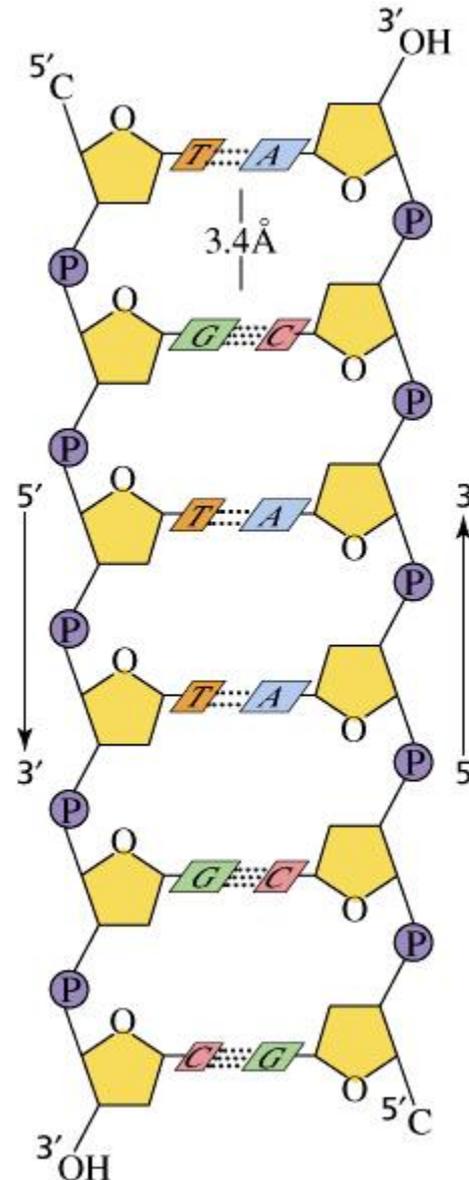
Legami fosfoanidridici

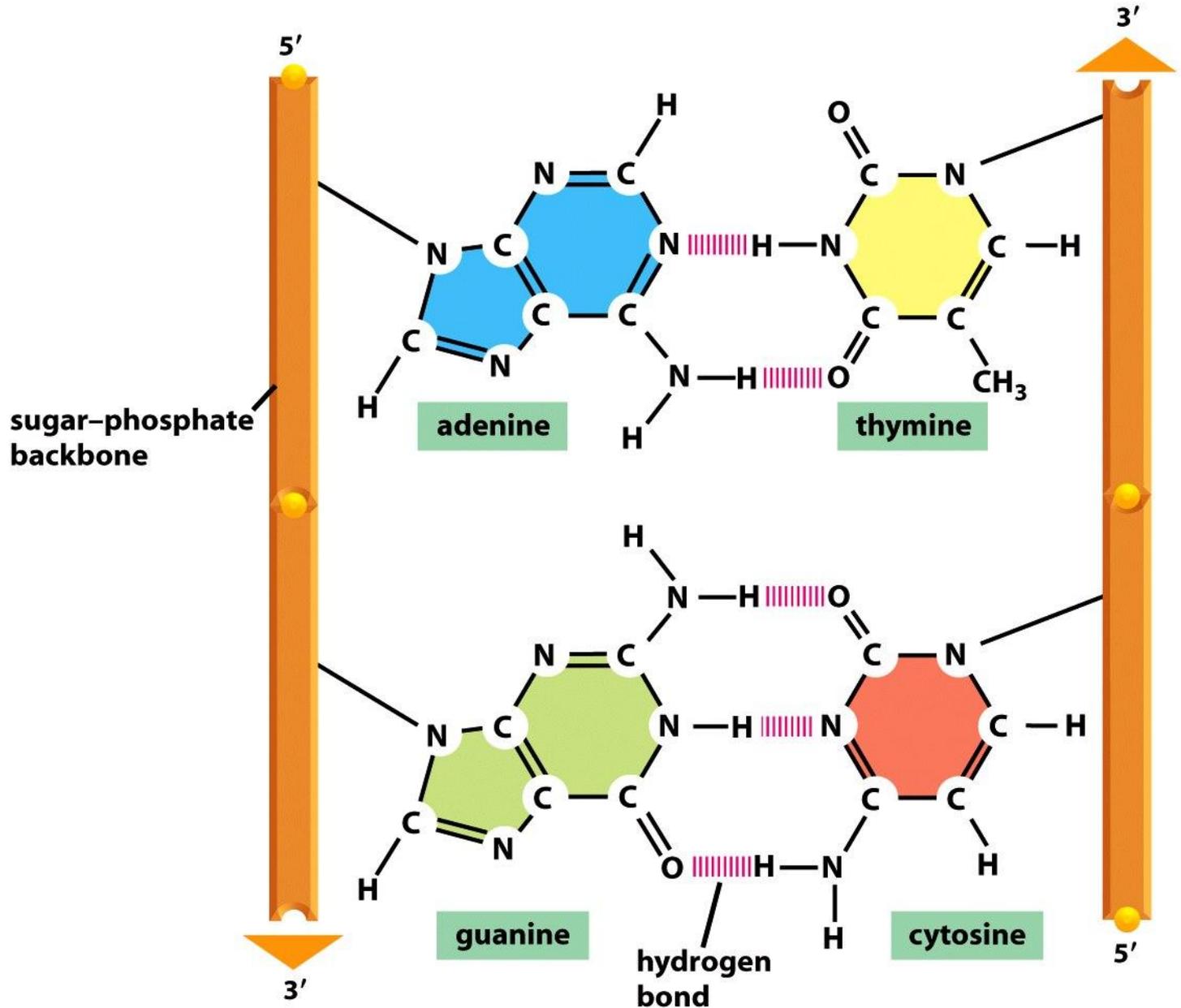
GLI ACIDI NUCLEICI sono POLINUCLEOTIDI



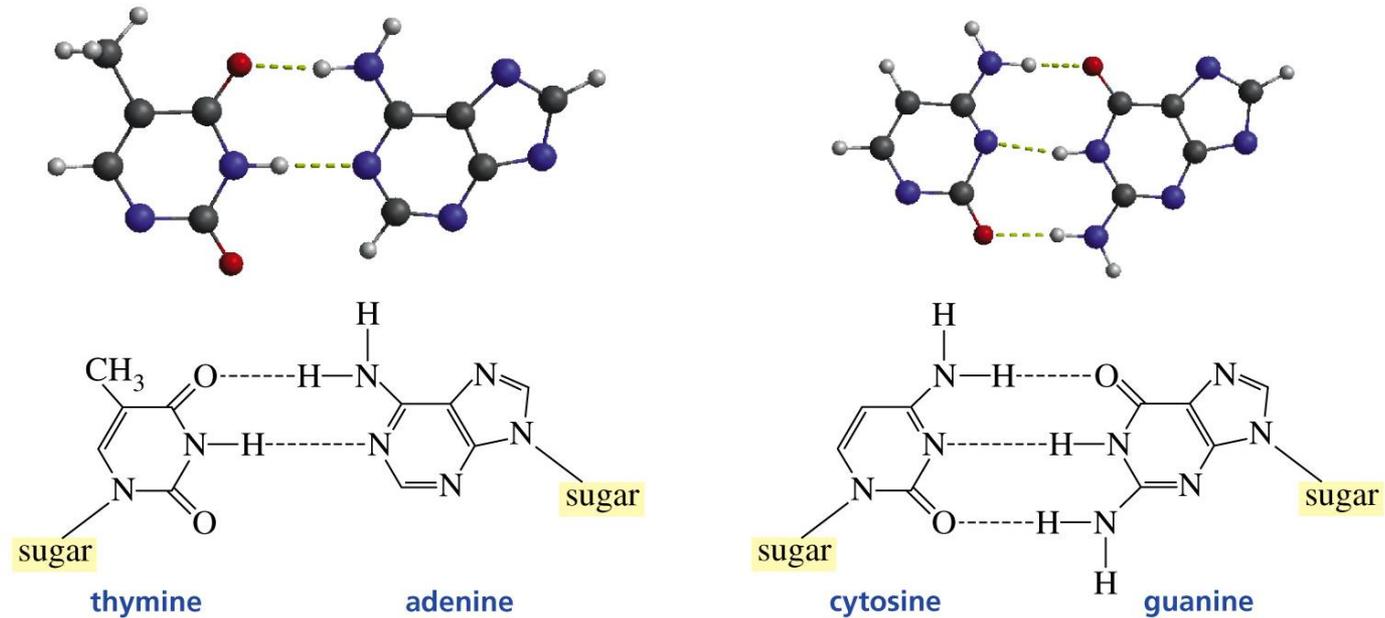
L'ACCOPPIAMENTO DELLE BASI NEL DNA

**Nel DNA i 2
filamenti
polinucleotidici
sono
antiparalleli!**



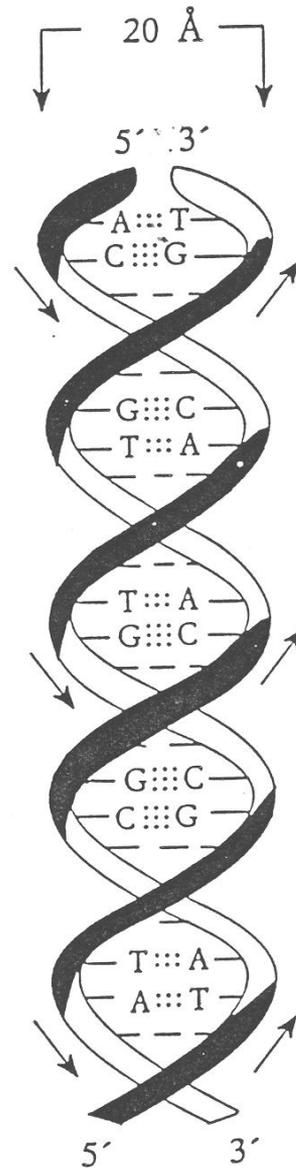


I LEGAMI IDROGENO FRA LE BASI STABILIZZANO LA STRUTTURA DEL DNA



DNA (acido deossi-ribonucleico)

(due filamenti polinucleotidici antiparalleli avvolti ad α -elica)



34 Å

Giro completo dell'elica

Nel caso della struttura a doppia elica del DNA le **interazioni deboli** più significative sono:

- a) le interazioni di van der Waals e quelle idrofobiche nell'**impilamento** delle coppie di basi al centro della doppia elica;
- b) i legami idrogeno **tra le basi** di ciascuna coppia; la loro importanza sta essenzialmente nel fatto che solo se si esplicano fra basi complementari generano **coppie isomorfe**, cioè con la stessa geometria, prerequisito per lo sviluppo di una struttura elicoidale regolare (Struttura secondaria);
- c) le interazioni elettrostatiche, repulsive **tra le cariche negative dei gruppi fosfato** di ciascuna delle due catene, e attrattive con gli ioni piccoli positivi eventualmente presenti nel mezzo.

Stabilizzano la doppia elica:

- **Legami idrogeno;**
- **Interazioni di impilamento-stacking- legami deboli che stabilizzano l'elica: orbitali pi greco delle basi (mantengono minimo il contatto con l'acqua);**
- **Interazioni idrofobiche interne;**
- **Forze di Van der Waals.**

Destabilizzano la doppia elica:

Le interazioni elettrostatiche dovute principalmente ai gruppi fosfato carichi negativamente che modificano le interazioni intra- ed intercatena.

Ioni carichi positivamente, proteine e poliammine possono neutralizzare la repulsione mutua delle cariche negative e contribuire alla stabilità della doppia elica.

Le interazioni chimico-fisiche coinvolte nella struttura delle macromolecole biologiche:

A) **van der Waals** (sensu stricto, o forze di dispersione di London), dovute all'interazione tra dipoli elettrici transienti generati dagli elettroni appartenenti a molecole diverse o a gruppi atomici della stessa macromolecola non direttamente legati in via covalente; sono le più deboli, hanno efficacia solo a corto raggio, ma assumono rilevanza perché sono numerose;

B) **dipolari**, dovute alla presenza di legami covalenti dipolari tra atomi a diversa elettronegatività; assieme ai legami idrogeno si distinguono dalle altre per il carattere direzionale;

C) **elettrostatiche**, dovute alla presenza di atomi o gruppi con carica elettrica fissa; possono stabilirsi tra cariche interne a una macromolecola o tra cariche di macromolecole distinte, o con ioni piccoli del mezzo solvente; si distinguono dalle altre per l'azione a lungo raggio;

D) **legami idrogeno**; si stabiliscono tra un idrogeno covalentemente legato ad un atomo elettronegativo e un atomo elettronegativo di un'altra molecola o di una parte non direttamente legata della stessa molecola; gli atomi elettronegativi coinvolti sono per lo più l'ossigeno e l'azoto, possono essere coinvolti anche il fluoro e il cloro ma la loro presenza in molecole d'interesse biologico è del tutto marginale;

E) **idrofobiche**, derivanti dal bilancio entropico connesso alla distribuzione dei legami idrogeno tra le molecole d'acqua che circondano la macromolecola e quelle più lontane.