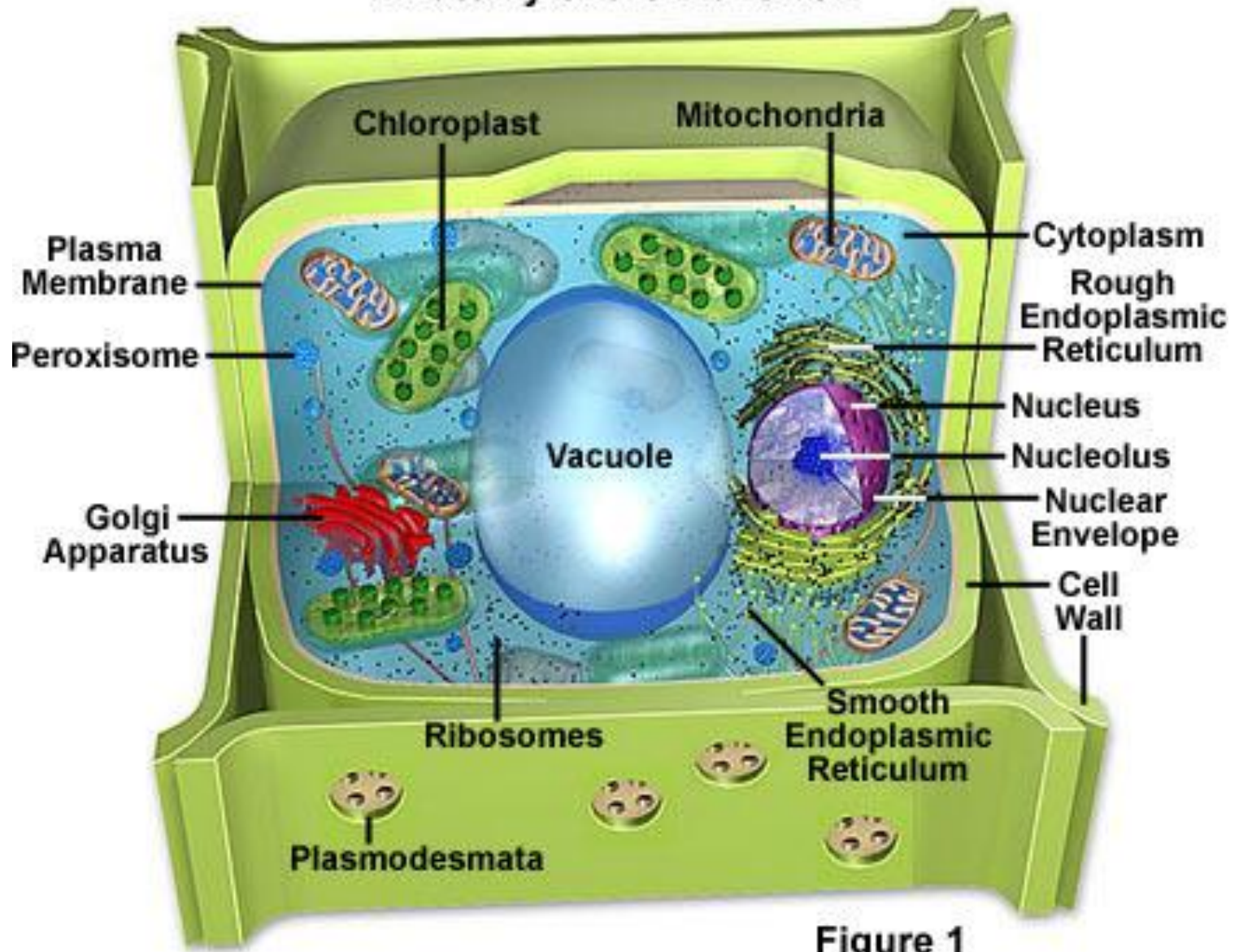


**Schema di una cellula animale**

# Anatomy of the Plant Cell



Schema di una cellula vegetale

Friedrich Miescher  
(1844-1895)



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

**1868. Miescher** isola una sostanza sconosciuta ricca in fosforo da nuclei di linfociti e la denomina **nucleina**. Successivamente (1920) 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**

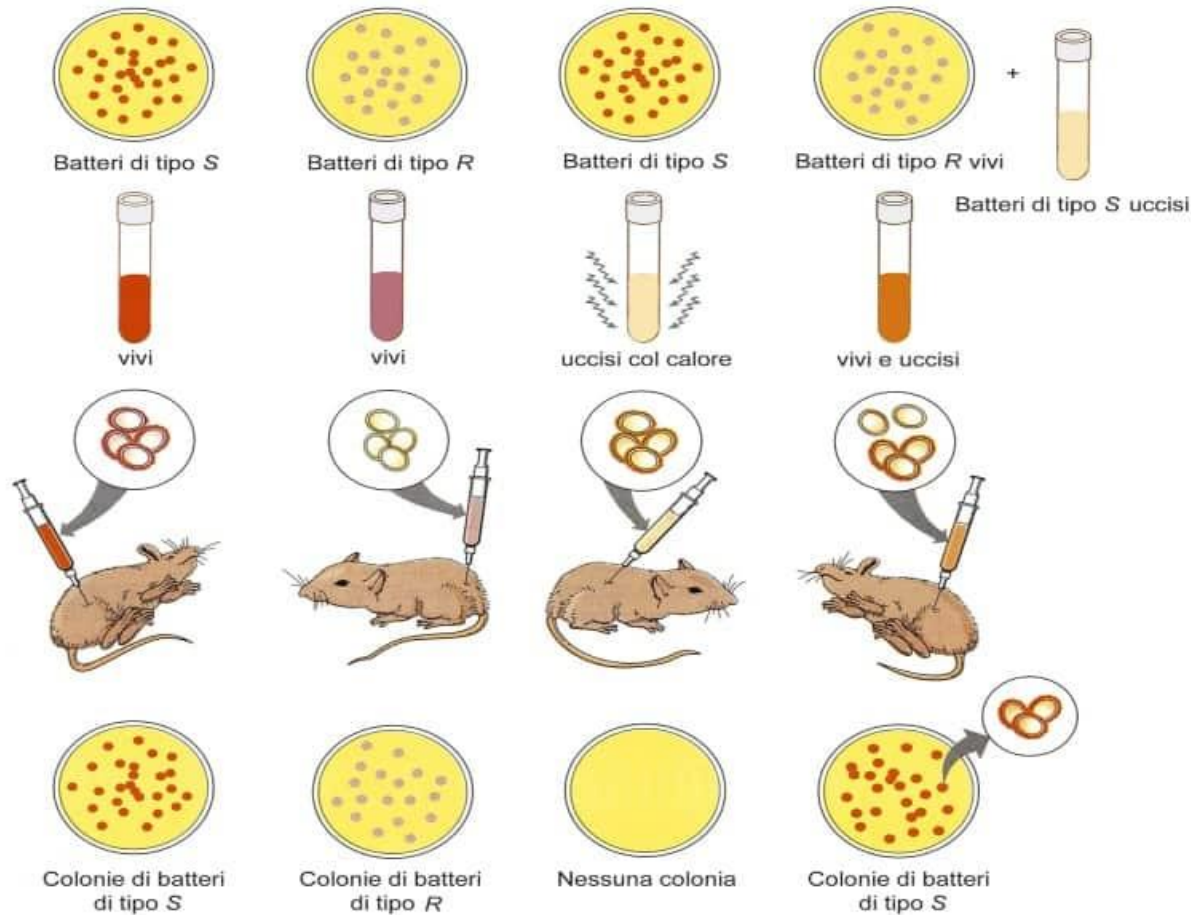
**1950. Chargaff** scopre che in tutti i DNA, salvo qualcuno di origine virale, la quantità in moli di **adenina** è uguale a quella di **timina** e quella di **guanina** è uguale a quella di **citosina (A=T, C=G)**.

**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.

# Esperimento di "trasformazione" batterica: Griffith

## 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

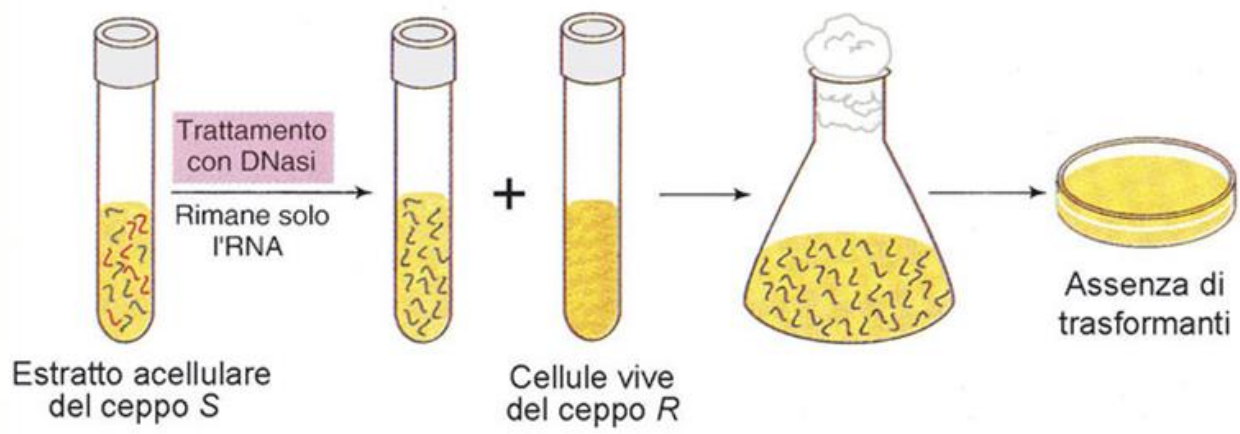
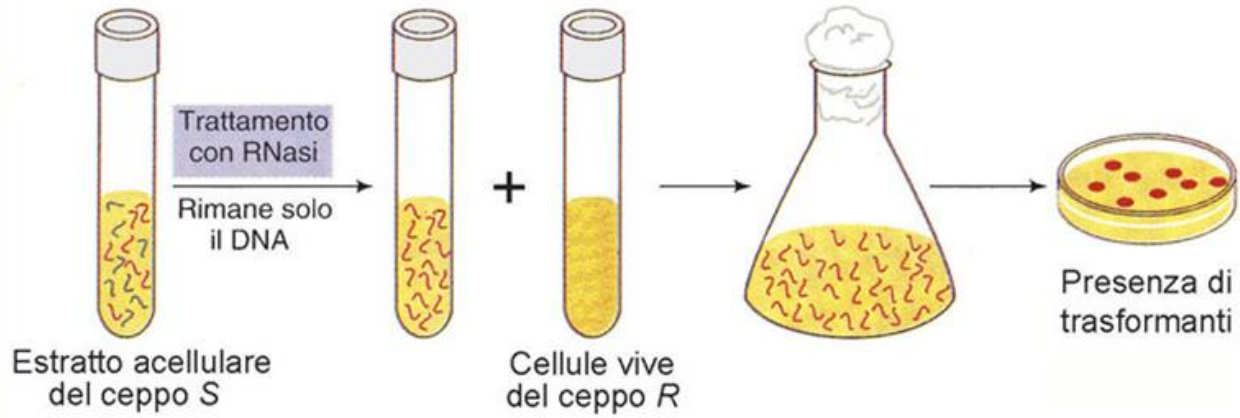
S strain

R strain

R strain

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

(B)







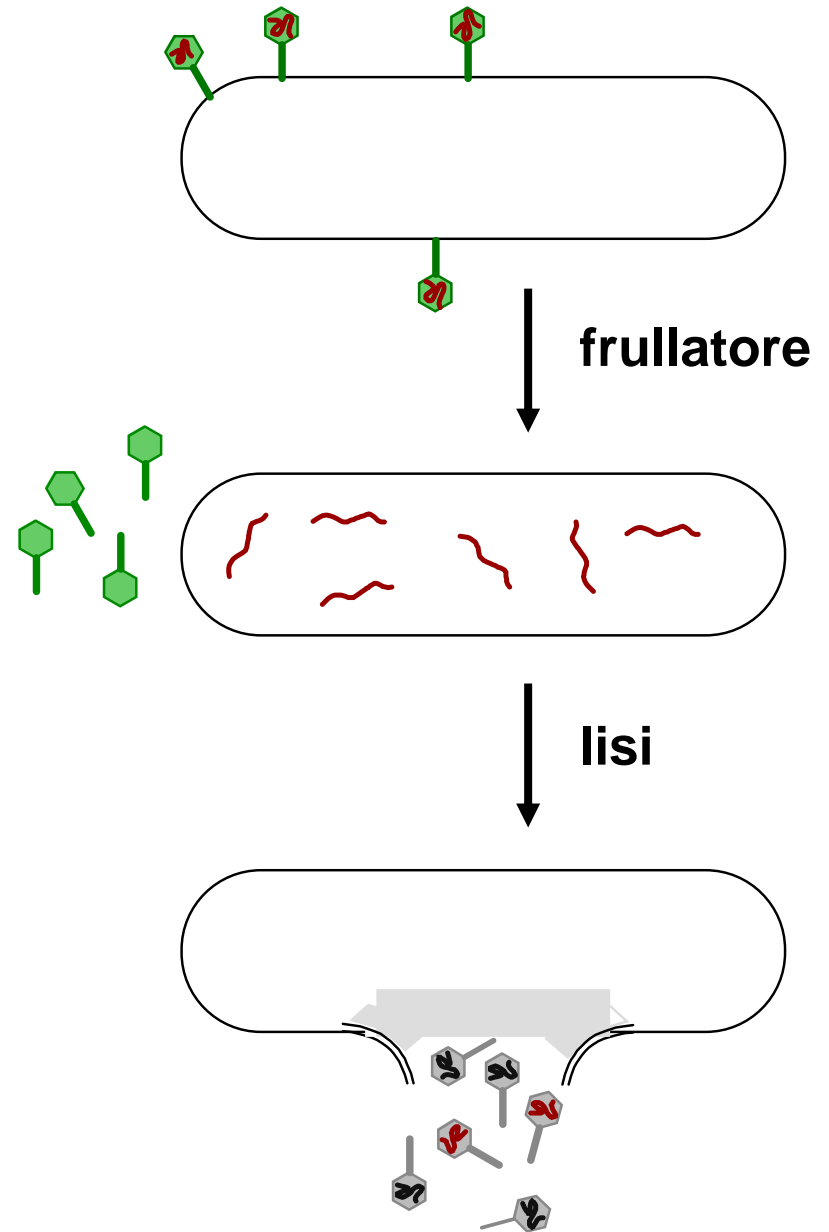
Alfred Hershey and Martha Chase (1953)

# L'esperimento - Hershey e Chase, 1952

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

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

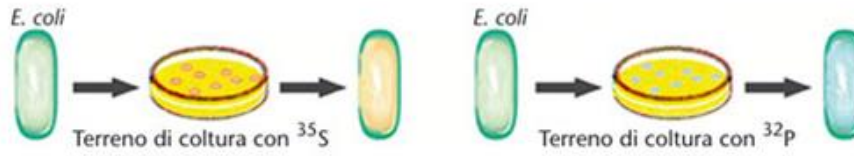
La progenie fagica  
contiene il 30 % del  $^{32}\text{P}$   
e < 1% del  $^{35}\text{S}$



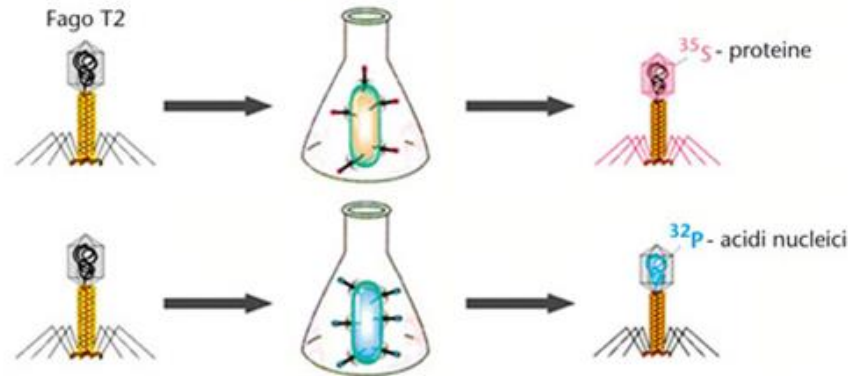
**$^{32}\text{P}$  viene trovato nei batteri e nella progenie di fagi, mentre  $^{35}\text{S}$  non si trova nei batteri ma nei capsidi vuoti dei fagi (ghosts).**

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

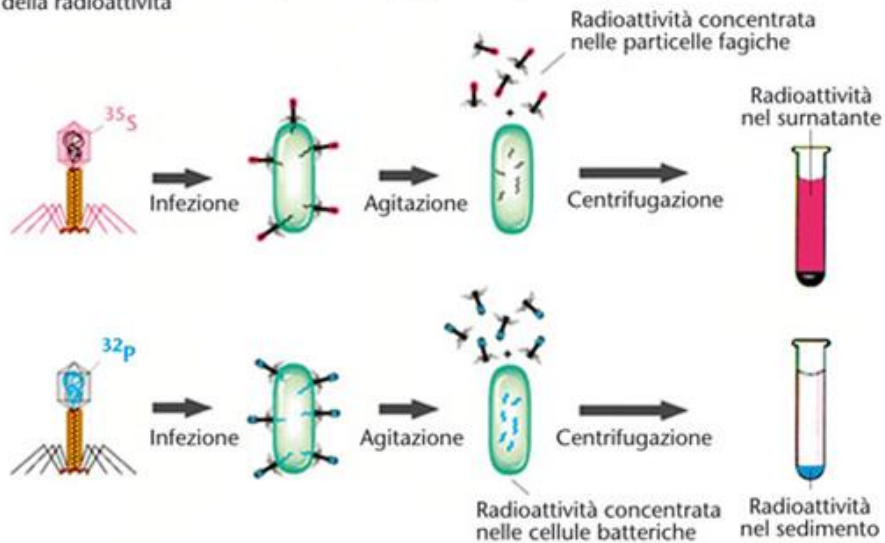
Moltiplicazione del batterio *E. coli* in presenza di radioisotopi



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)**

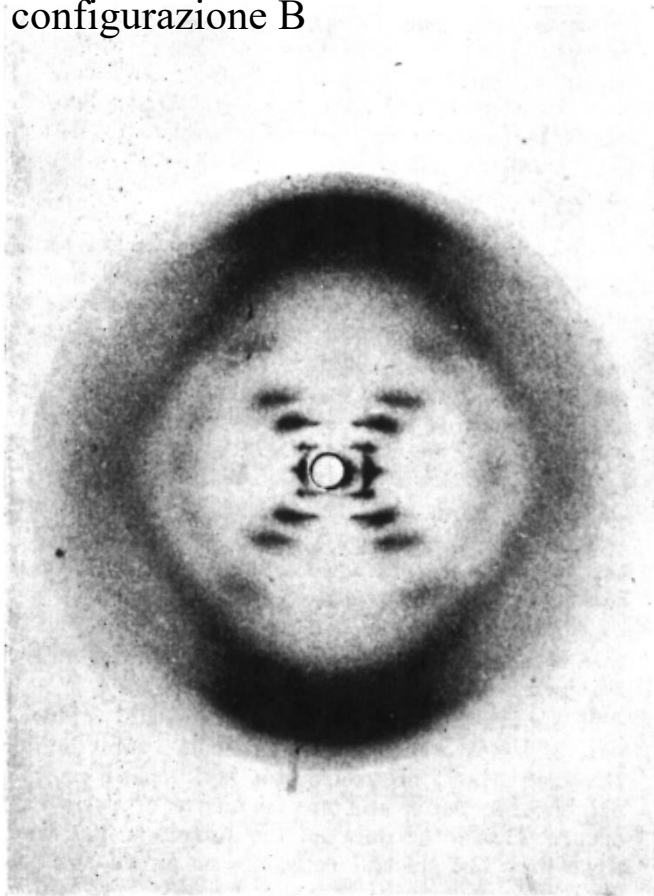


**Pauling: Nobel 1954  
(struttura proteine)**

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

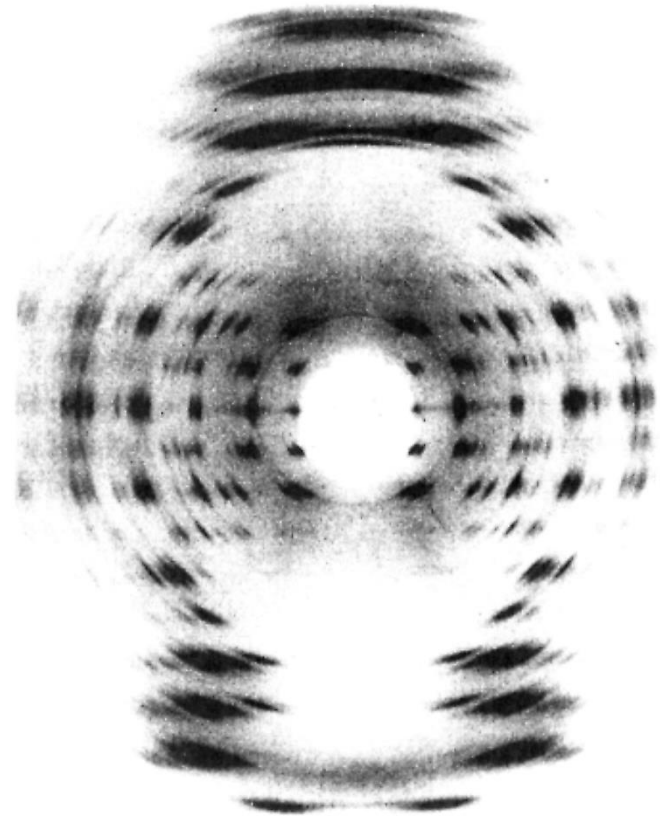
# Diffrazione dei raggi X di fibre di DNA

configurazione B



Franklin R.E. & Gosling R., 1953

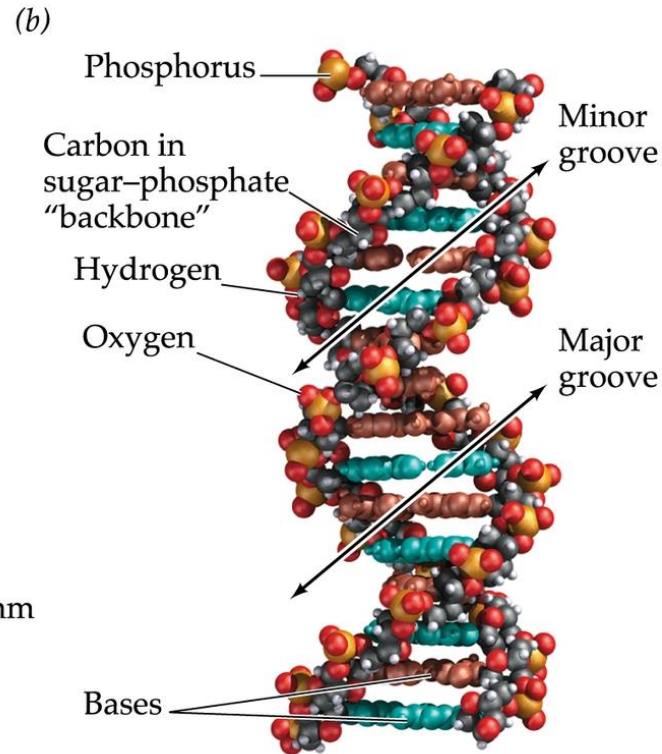
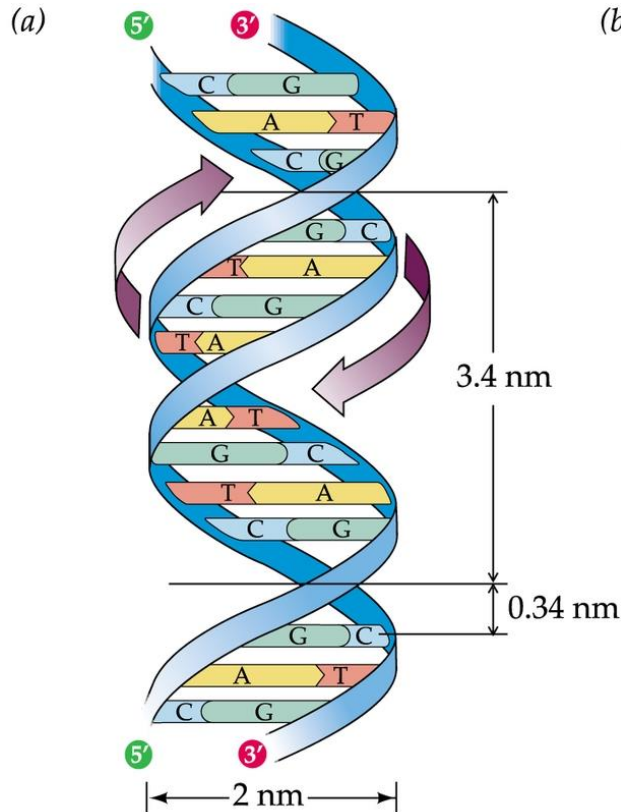
configurazione A



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.*



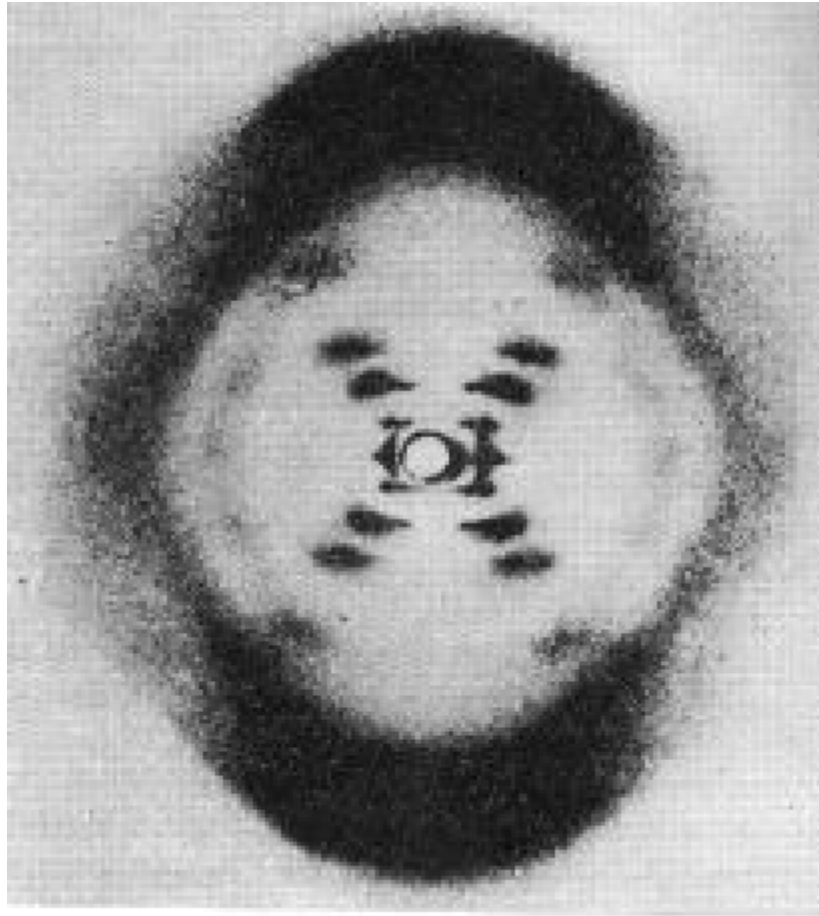
# THE KING'S COLLEGE



*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.*



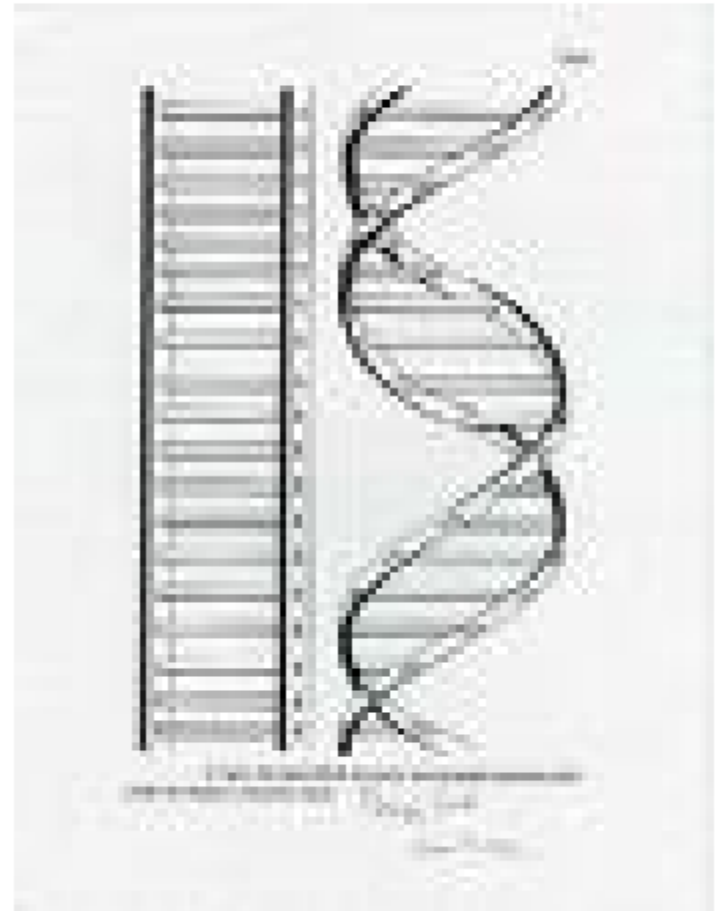
*Il dispositivo consisteva in una microcamera capace di produrre fotografie ad alta definizione dei singoli filamenti del DNA. La Franklin riuscì dunque a fare la prima fotografia dello scheletro del Dna...*

# *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**

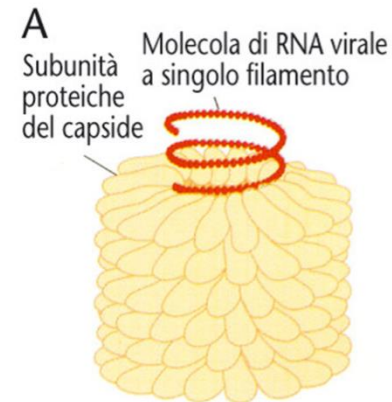
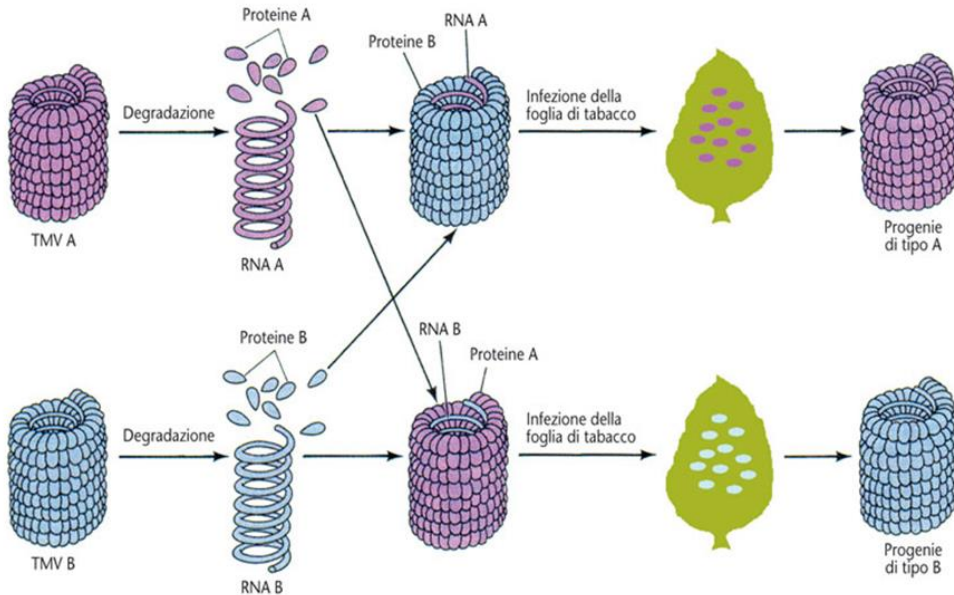
We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.).  
This structure has novel features which are of considerable biological interest.

.....

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).



# **II DNA**

**Struttura e proprietà chimico-fisiche**

# **GLI ACIDI NUCLEICI**

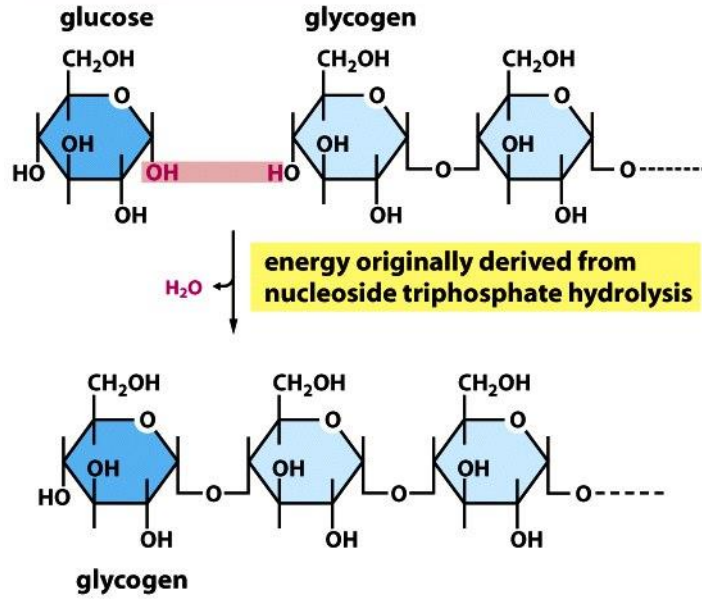
## **DNA acido deossi-ribonucleico**

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

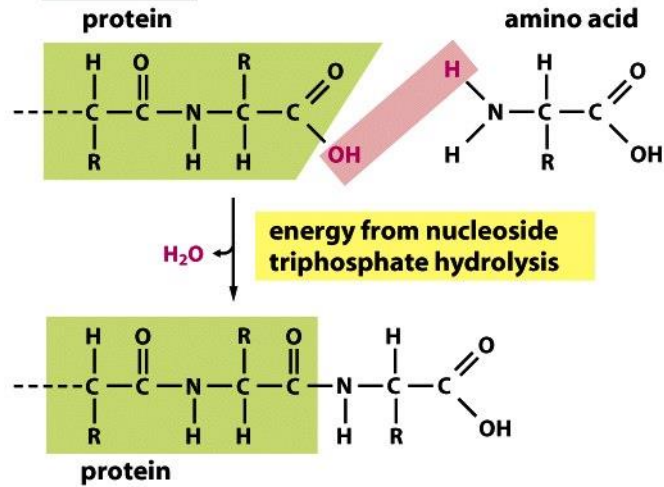
## **RNA acido ribonucleico**

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

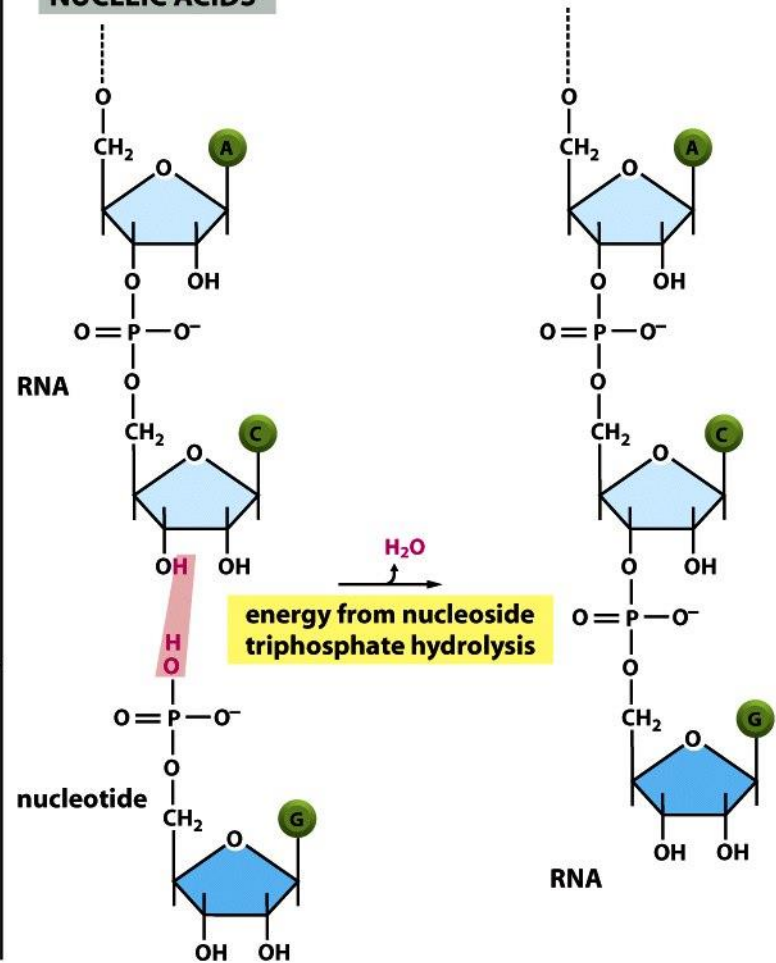
## POLYSACCHARIDES



## PROTEINS

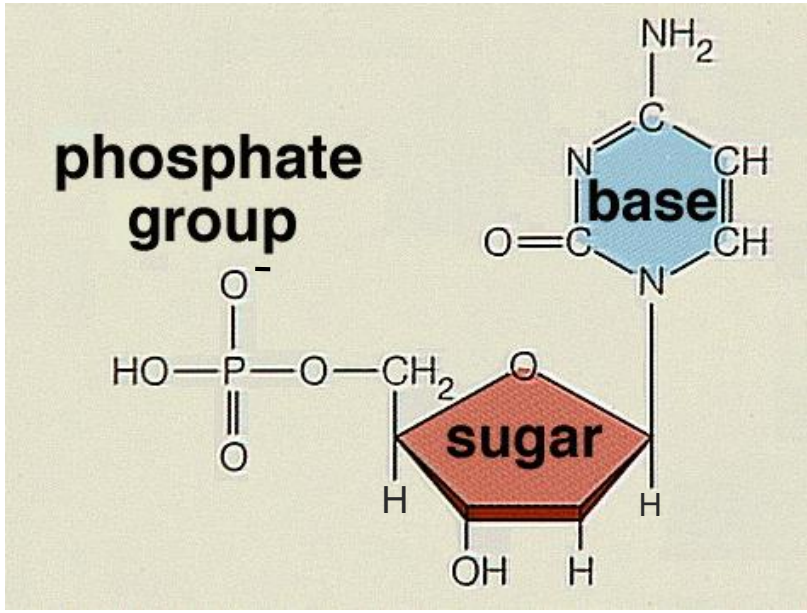
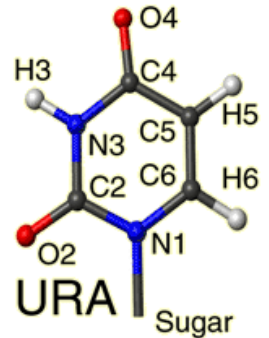
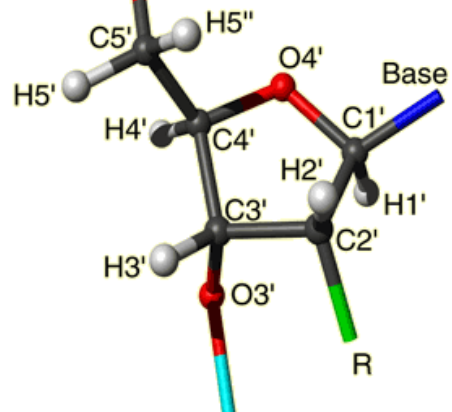
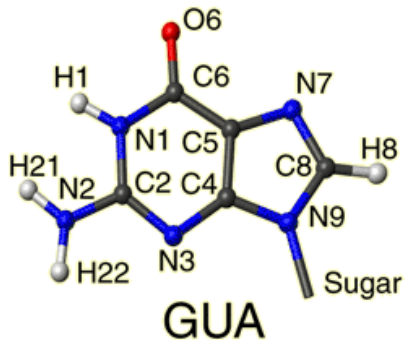
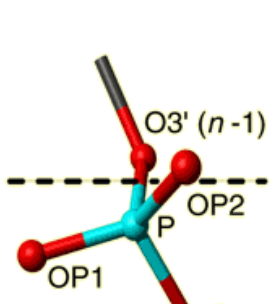
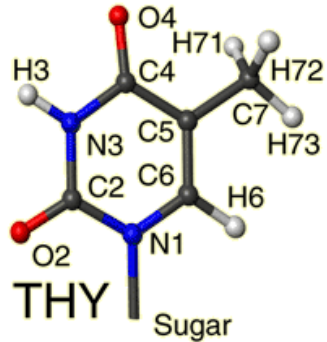
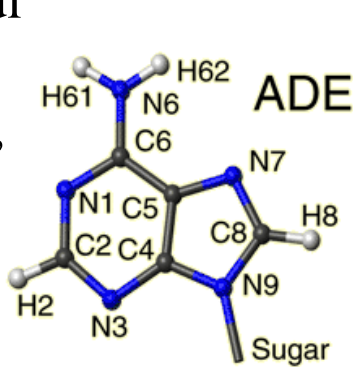


## NUCLEIC ACIDS

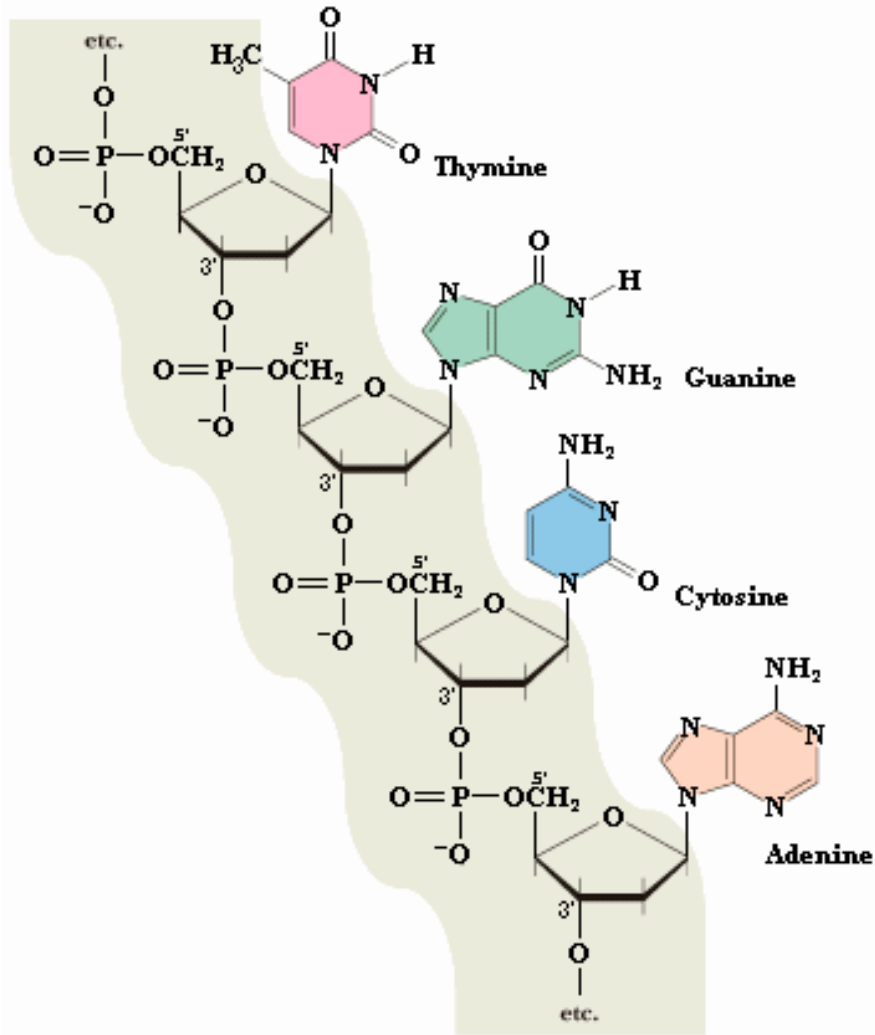


Il DNA deriva dalla polimerizzazione di unità monomeriche dette nucleotidi, ciascuna composta da un deossiribosio, un gruppo fosfato e una base azotata.

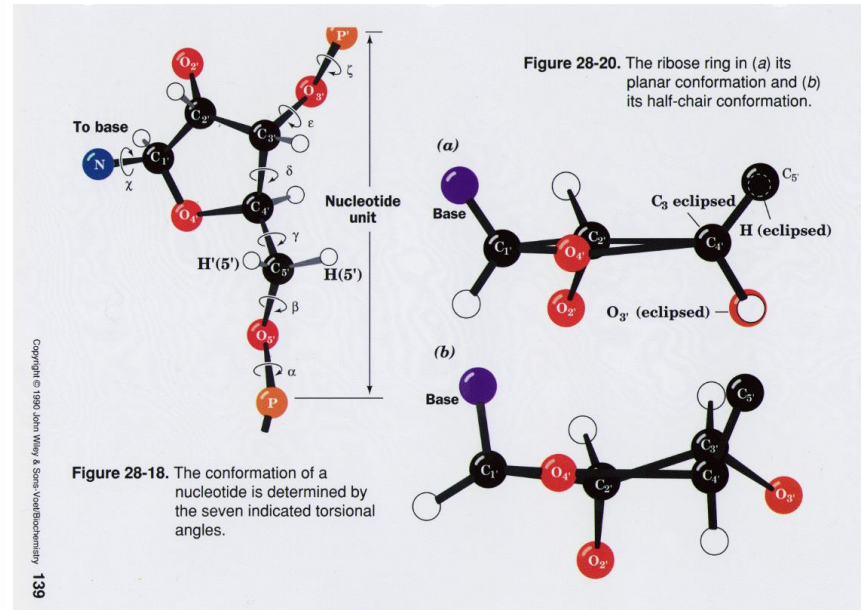
**Il composto di deossiribosio e base azotata privo del fosfato prende il nome di nucleoside.**



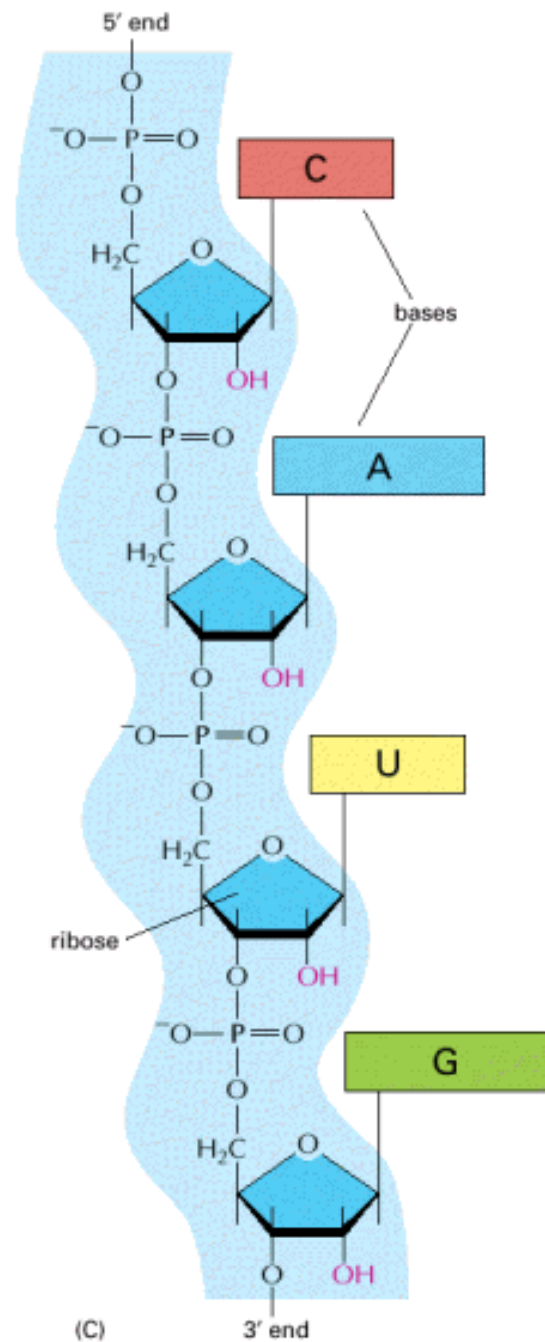
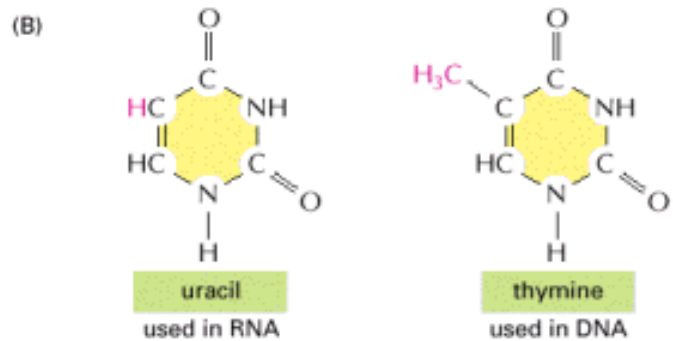
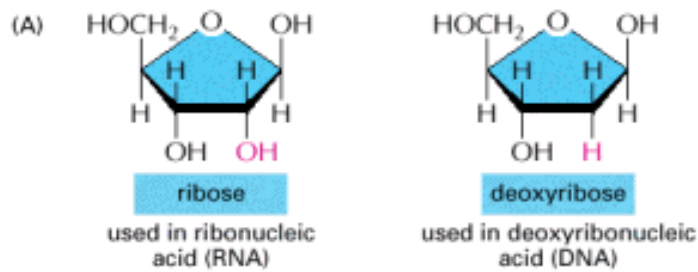
Deoxyribonucleic acid  
DNA



Un segmento di catena di DNA

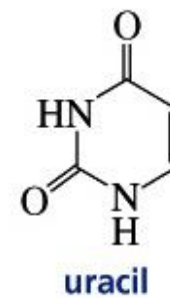
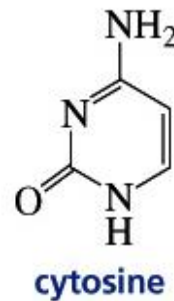
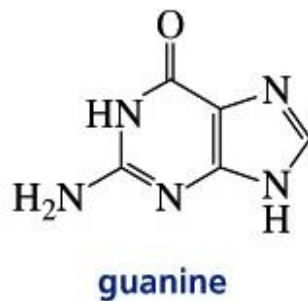
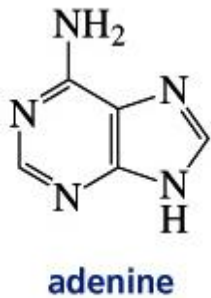
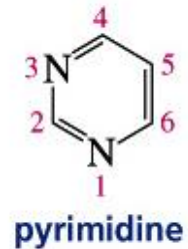


In un'unità ripetitiva, da fosforo a fosforo, ci sono sei singoli legami covalenti, dotati quindi di una certa libertà di rotazione, a cui si aggiunge il legame N-glicosidico, pure singolo. Ciò rende possibile al DNA di assumere più conformazioni.



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.

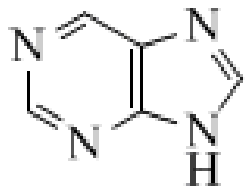
# LE BASI AZOTATE



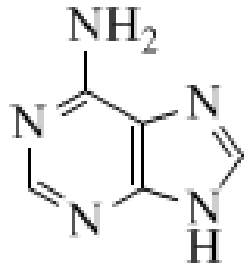
**Adenina, guanina, citosina e timina si trovano nel DNA**

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

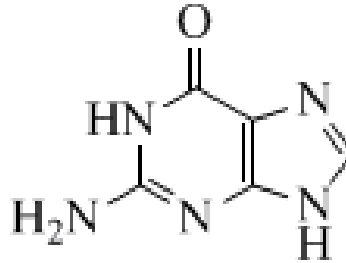




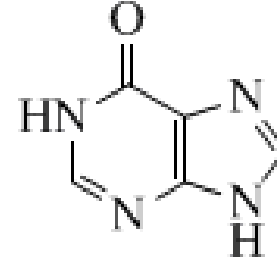
purine  
**1**



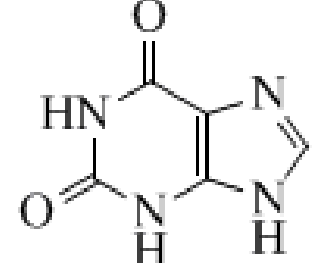
adenine  
**2**



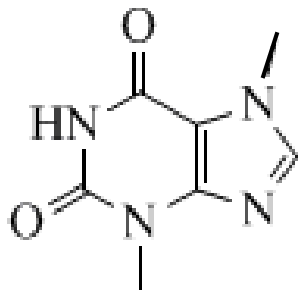
guanine  
**3**



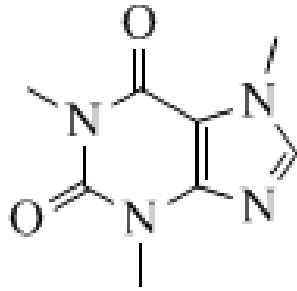
hypoxanthine  
**4**



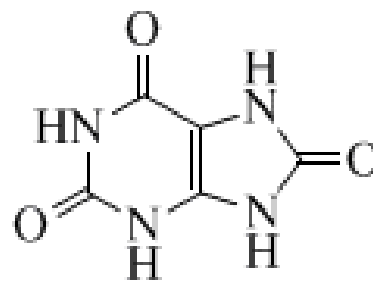
xanthine  
**5**



theobromine  
**6**



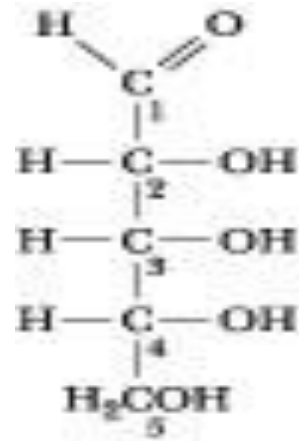
caffeine  
**7**



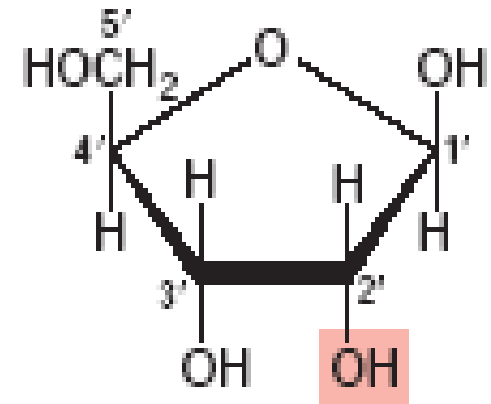
uric acid  
**8**

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

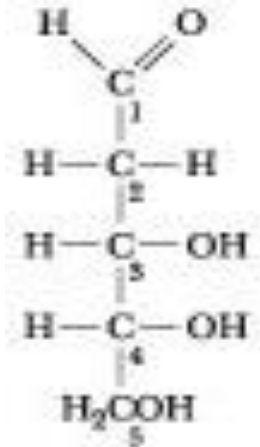
# IL MONOSACCARIDE



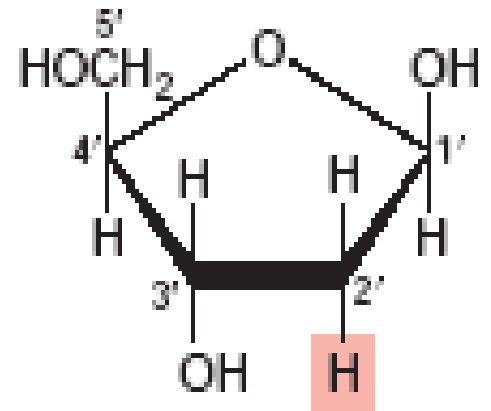
D-Ribose



Ribose



2-Deoxyribose



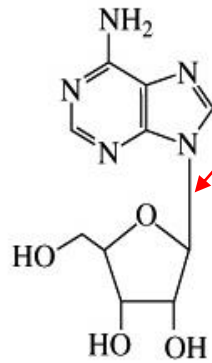
2-Deoxyribose

# I NUCLEOSIDI = BASE + ZUCCHERO

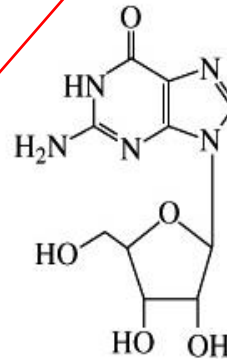
**Legame  $\beta$ -glicosidico**

**Ribosio**

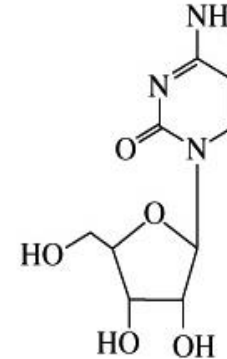
**Ribonucleosidi**



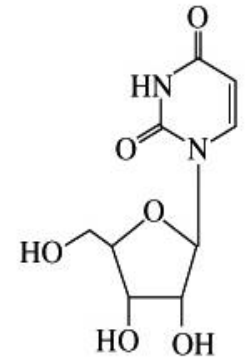
adenosine



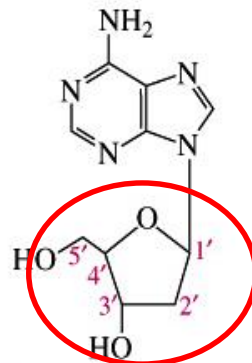
guanosine



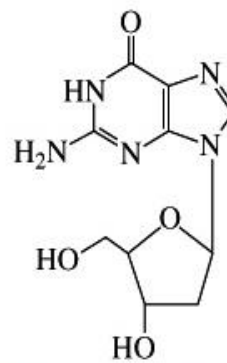
cytidine



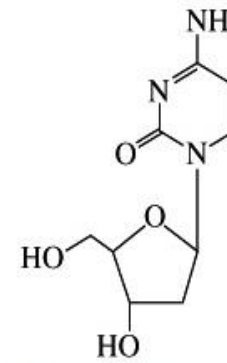
uridine



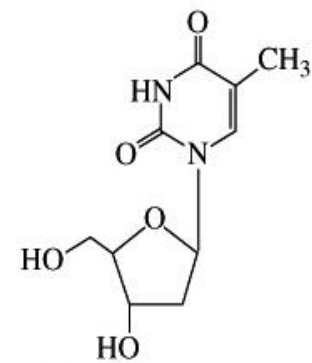
2'-deoxyadenosine



2'-deoxyguanosine



2'-deoxycytidine



thymidine

**Desossiribosio**

**Deossi-ribonucleosidi**

# Basi, nucleosidi e nucleotidi

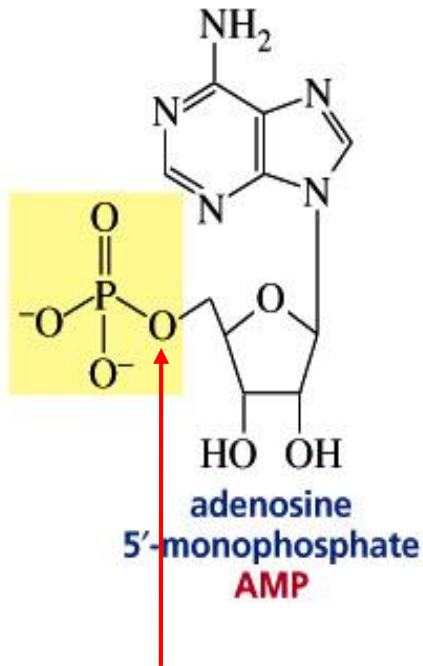
<b>Base</b>	<b>Nucleoside</b>	<b>Nucleotide (estere fosforico)</b>	<b>RNA</b>	<b>DNA</b>
<b>Adenina</b>	<b>Adenosina</b>	<b>Adenosina-5'-fosfato (Acido adenilico)</b>	<b>AMP</b>	<b>dAMP</b>
<b>Guanina</b>	<b>Guanosina</b>	<b>Guanosina-5'-fosfato (Acido Guanilico)</b>	<b>GMP</b>	<b>dGMP</b>
<b>Citosina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

		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)

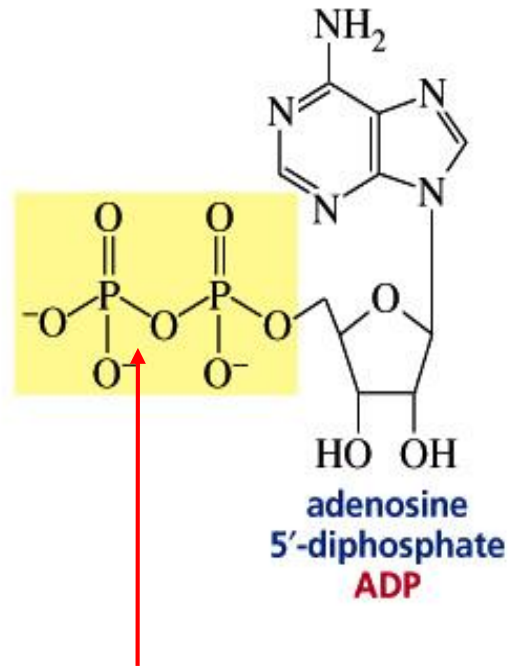
# Nomenclatura IUPAC per le basi e i nucleosidi degli acidi nucleici.

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>

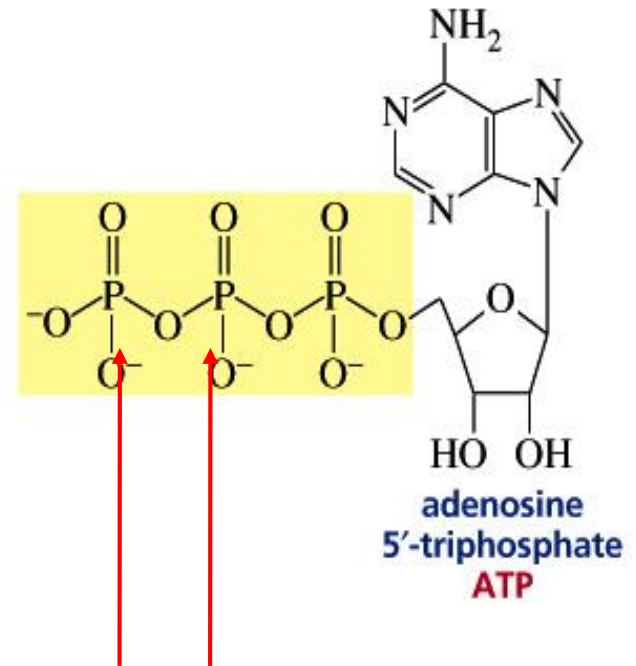
# AMP, ADP e ATP



**Legame estereo**

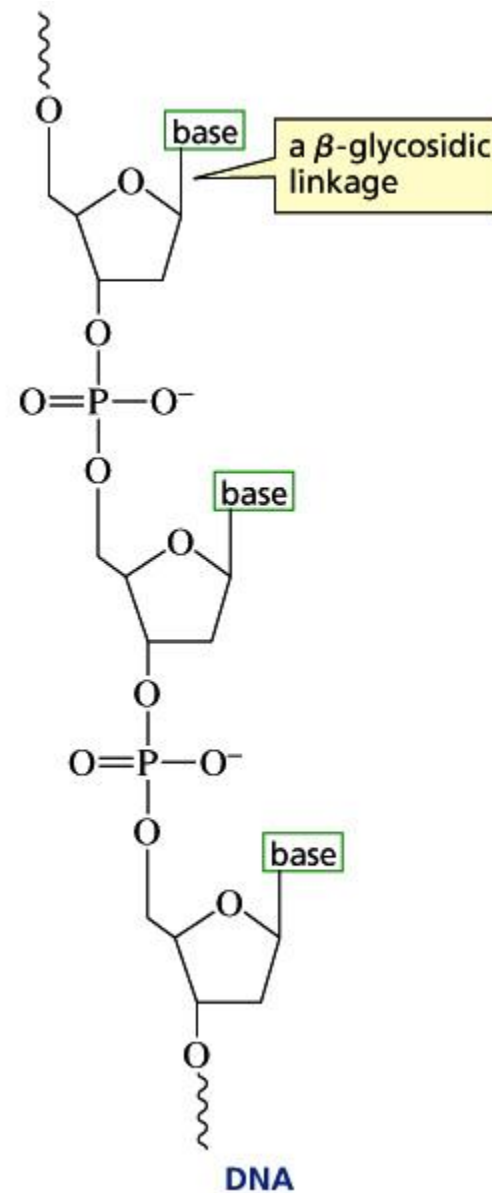
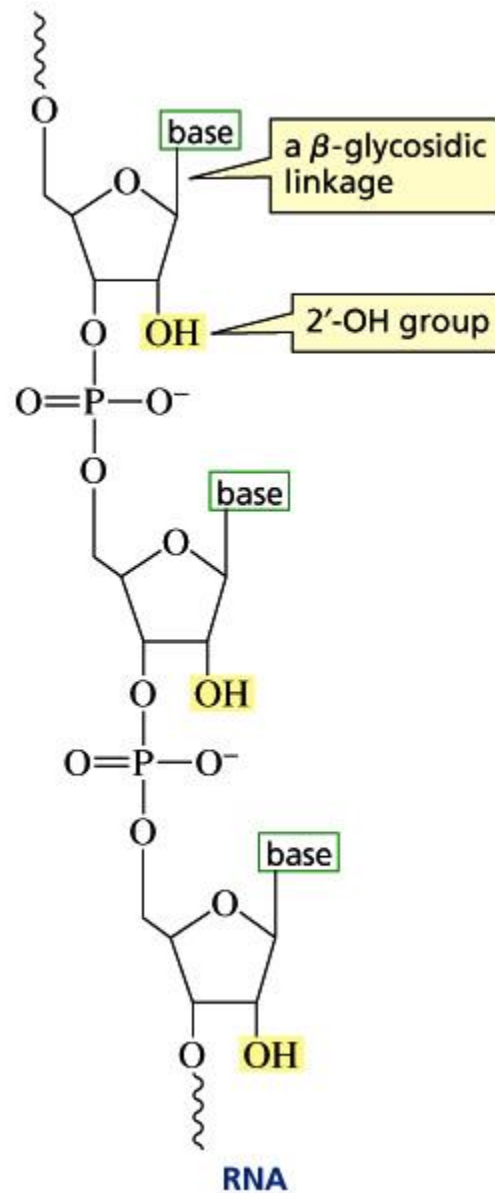


**Legame fosfoanidridico**



**Legami fosfoanidridici**

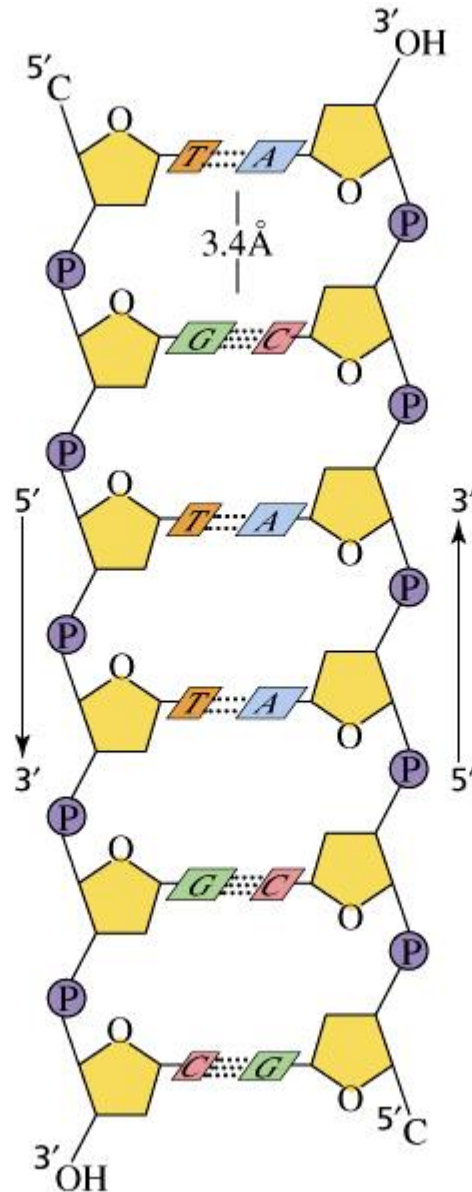
# GLI ACIDI NUCLEICI sono POLINUCLEOTIDI

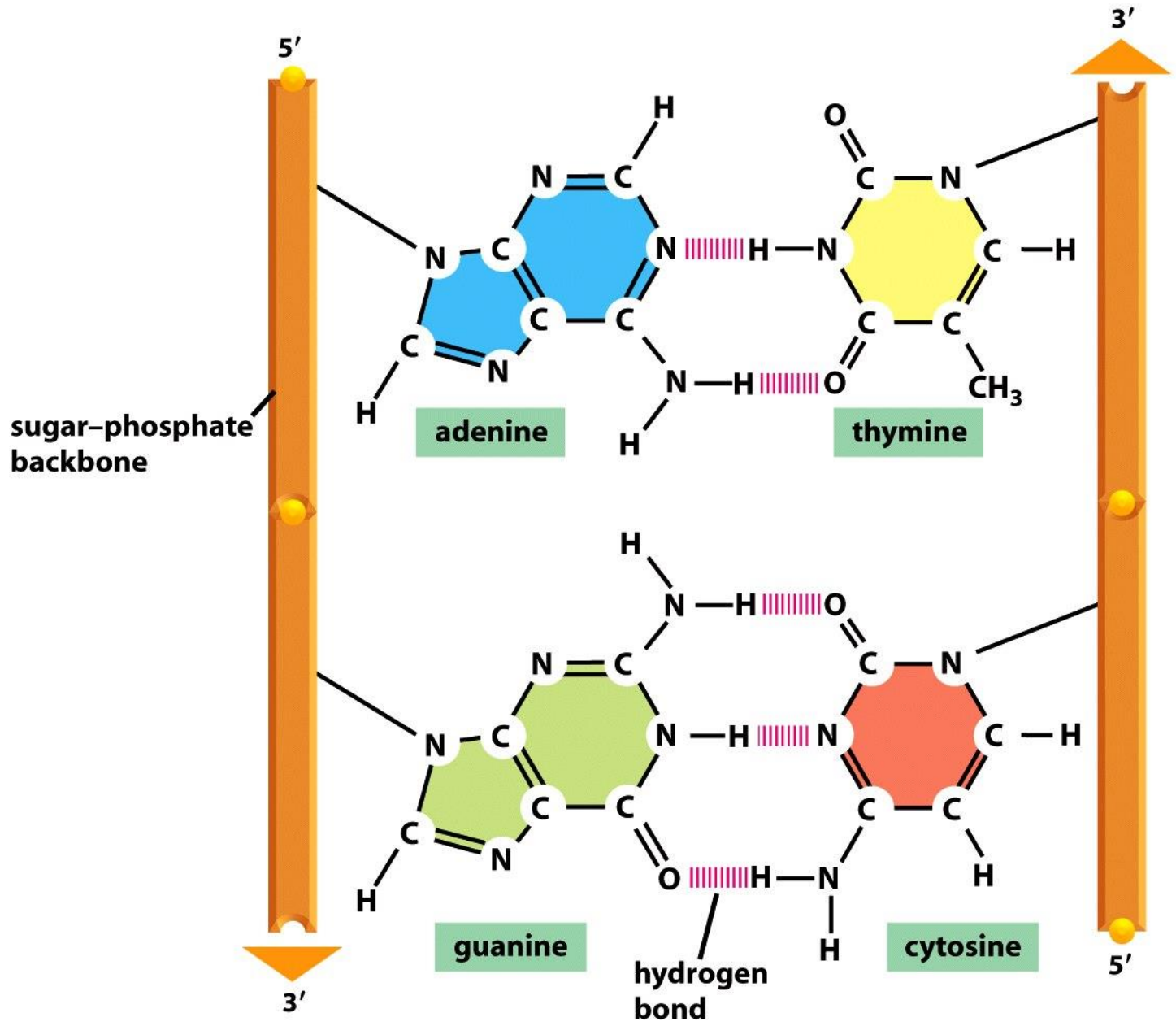




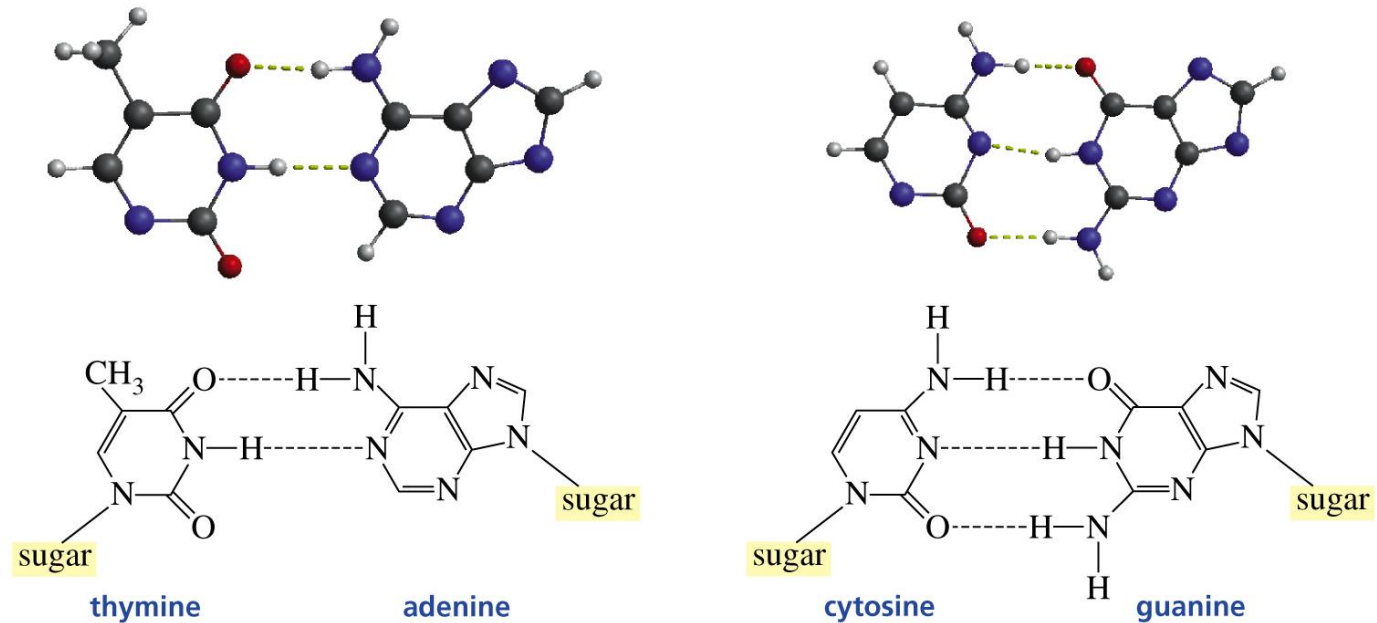
# L'ACCOPPIAMENTO DELLE BASI NEL DNA

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



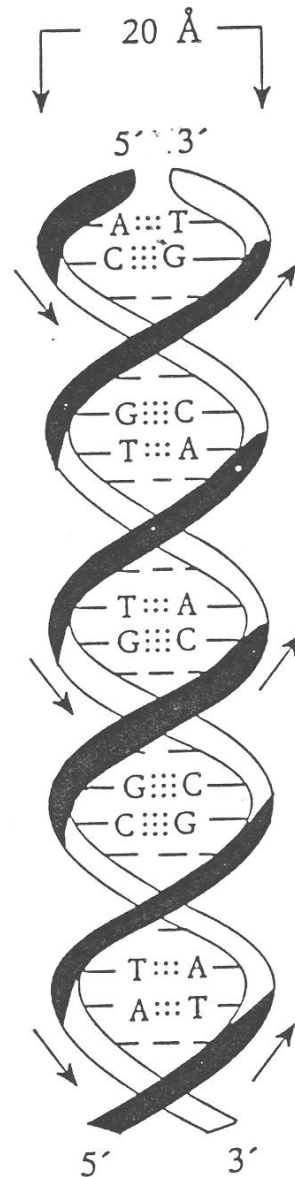


# I LEGAMI IDROGENO FRA LE BASI STABILIZZANO LA STRUTTURA DEL DNA



# DNA (acido deossi-ribonucleico)

(due filamenti polinucleotidici antiparalleli avvolti ad  $\alpha$ -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.**