

Breve storia dell'ereditarietà e del DNA

1866- Pubblicazione degli studi di Mendel sulle regole dell'ereditarietà- parla dell'esistenza di "fattori" coinvolti nella determinazione di caratteri, ma non identifica tali fattori

1884 - Morte di Mendel

1869- Miesher composti chimici ricchi di fosfato– nucleina- dal nucleo di leucociti

1902 - Sutton descrive il comportamento dei cromosomi suggerendo che siano i fattori descritti da Mendel e li associa alla nucleina, in quanto li vede scomparire in seguito all'estrazione della nucleina stessa.

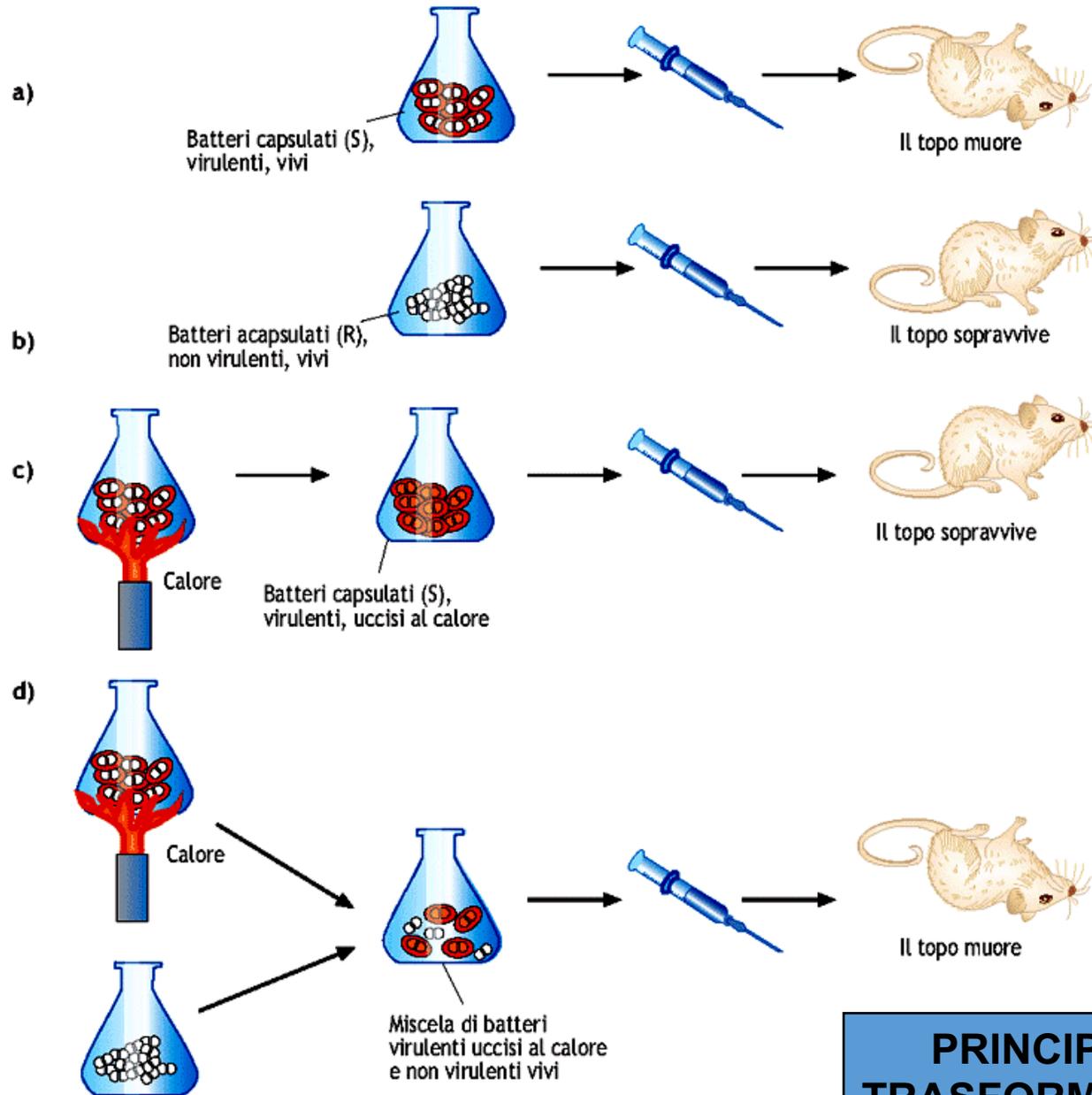
1928 - Griffith scopre il "principio trasformante"

1944 - il DNA è il principio trasformante -Avery McLeod McCarty

1952- Dimostrato in maniera definitiva da A. Hershey e M. Chase

Anni 50 - Chargaff- composizione del DNA /Wilkins e Franklin analisi DNA ai raggi X

1953 - Watson e Crick – struttura del DNA



Esperimento di Griffith, 1928.

Nonostante il DNA fosse noto sin dal 1869, la sua identificazione come materiale genetico è avvenuta solo nel 1944 ed è intimamente legata agli studi sulla virulenza del microorganismo, il *Diplococcus pneumoniae*, o più semplicemente pneumococco, che causa la polmonite nei mammiferi. I pneumococchi possono esistere in 2 varietà:

- 1) **virulenti (ceppo S)**, provvista di una capsula polisaccaridica di rivestimento che ne impedisce la fagocitosi;
- 2) **non virulenti (ceppo R)**, sprovvista di capsula.

PRINCIPIO TRASFORMANTE

PROTEINE

Le proteine sono polimeri di **22 aminoacidi**. Ciascun aminoacido consiste di un atomo di carbonio (detto carbonio α) legato ad un gruppo carbossilico (COO^-), ad un gruppo amminico (NH_3^+), ad un atomo di H e ad una variabile catena laterale (R). Le specifiche proprietà chimiche delle differenti catene laterali degli a.a. determinano il ruolo di ciascuno di essi nella struttura e funzione della proteina.

L-aminoacidi nelle proteine

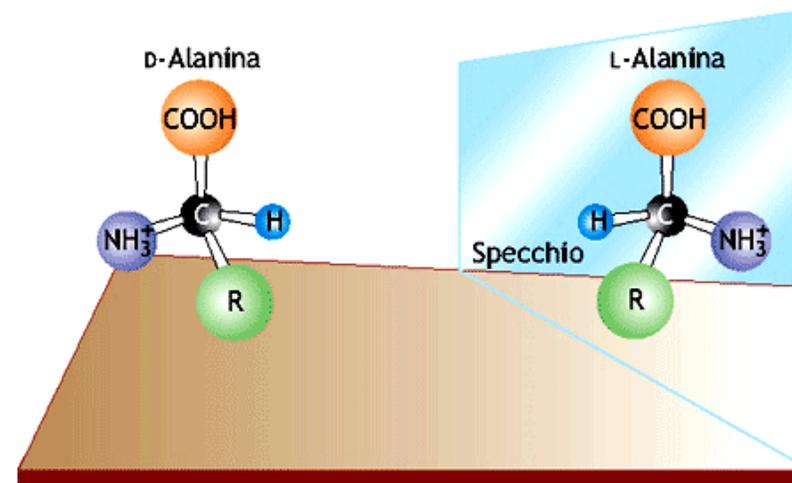
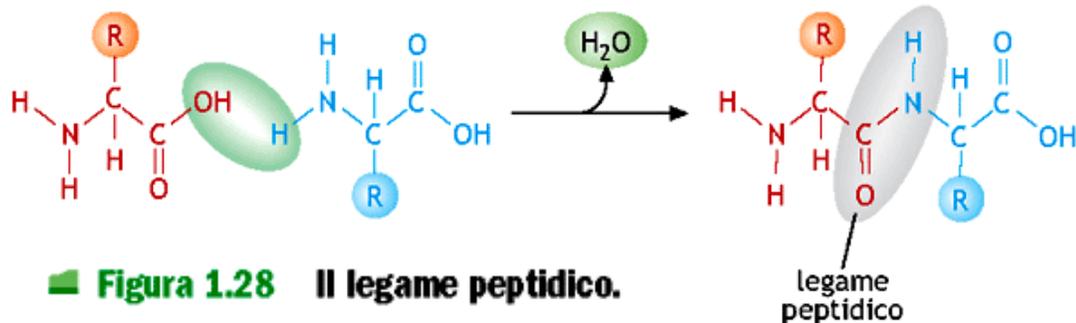
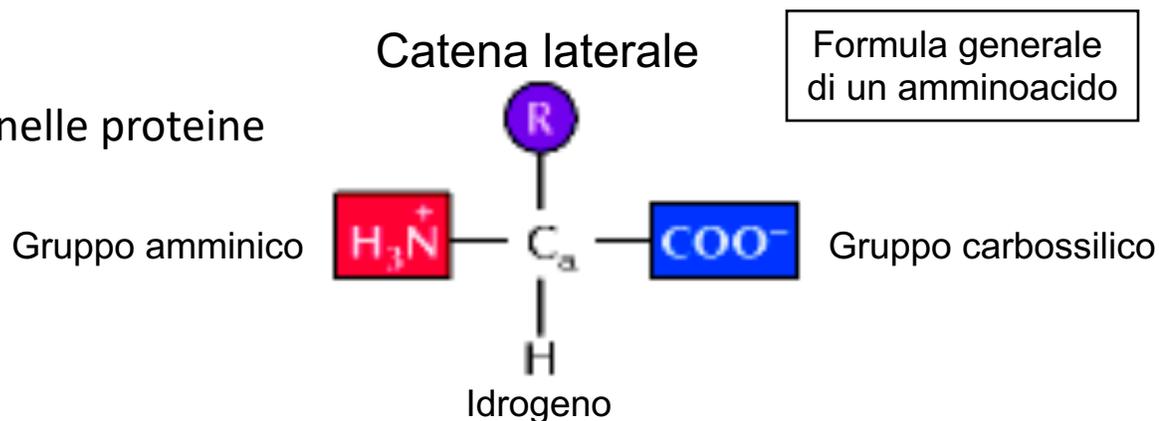
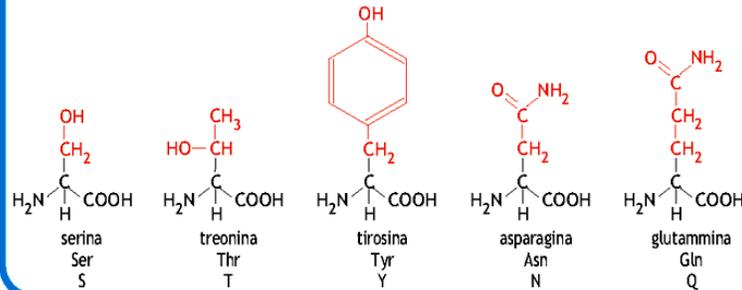


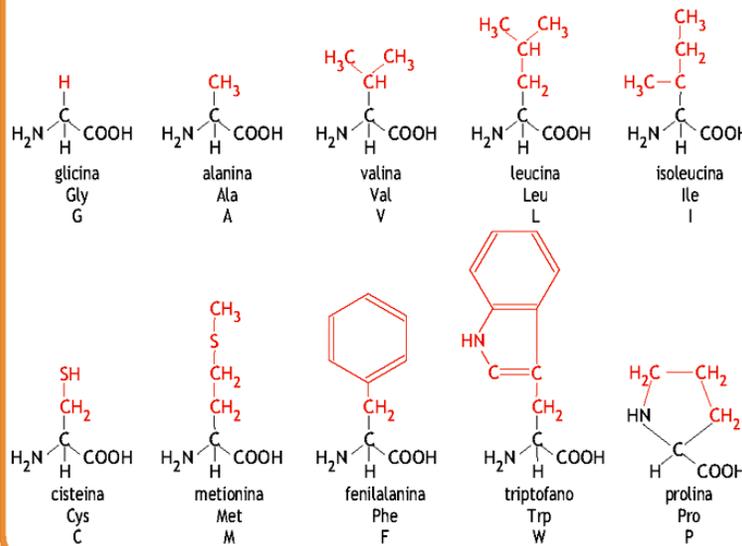
Figura 1.30 Stereochimica degli aminoacidi.

I 20 amminoacidi

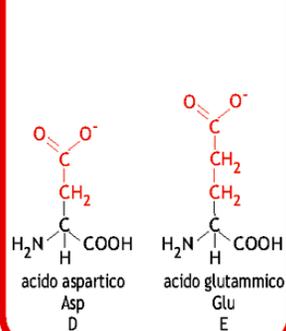
Amminoacidi polari privi di carica



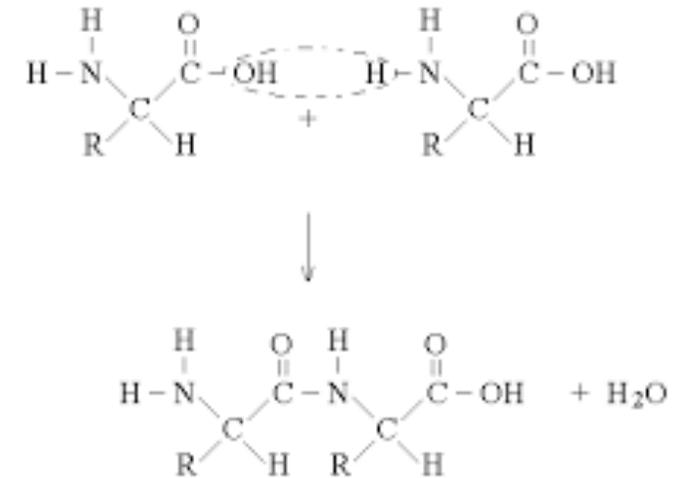
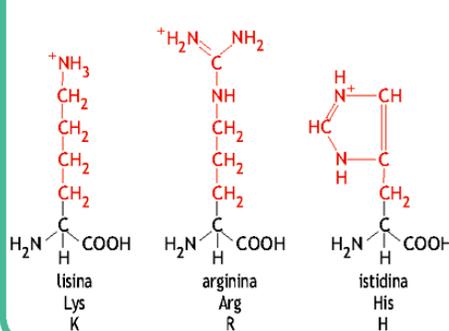
Amminoacidi apolari



Amminoacidi acidi (carichi negativamente)



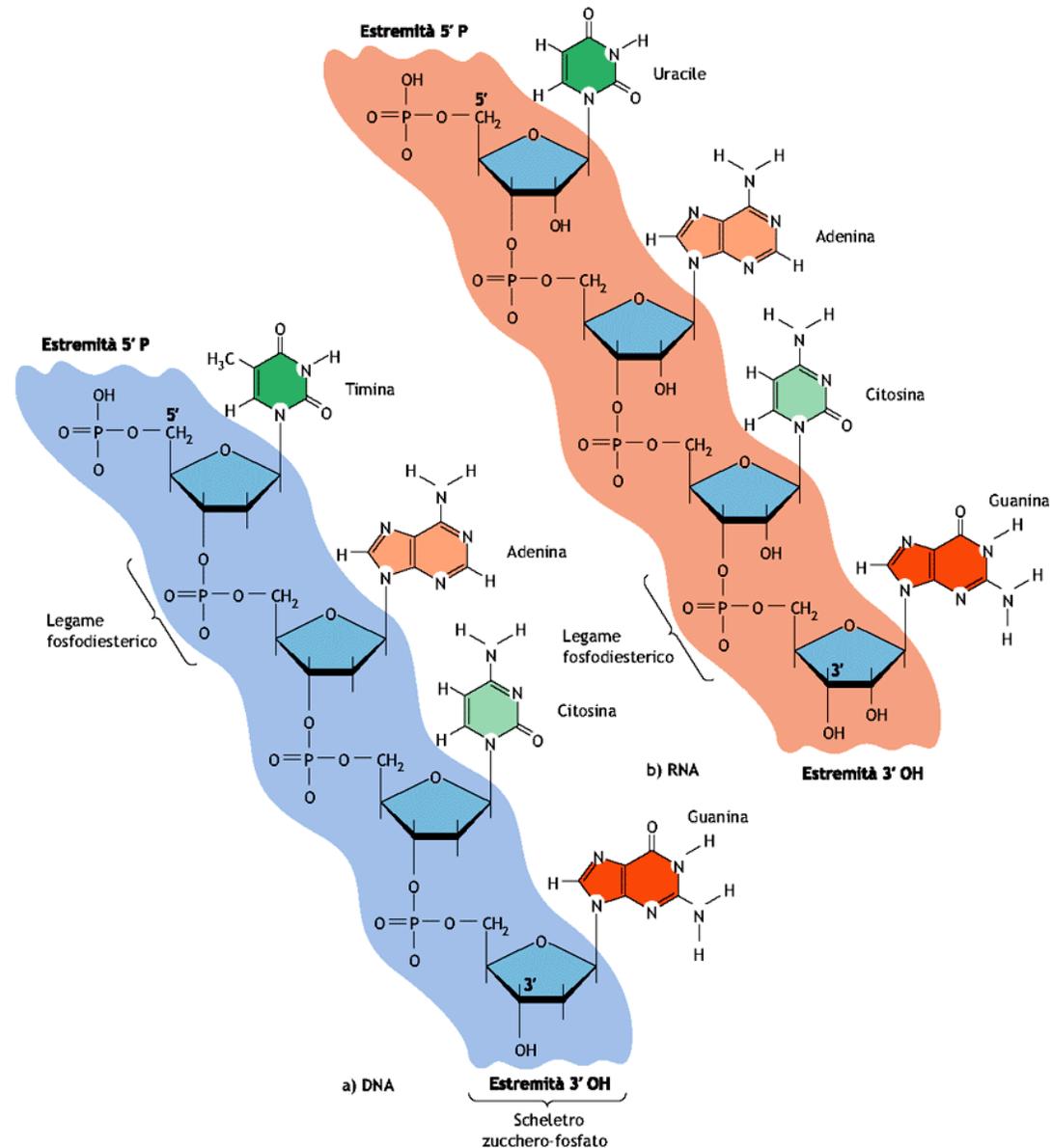
Amminoacidi basici (carichi positivamente)



Il legame peptidico

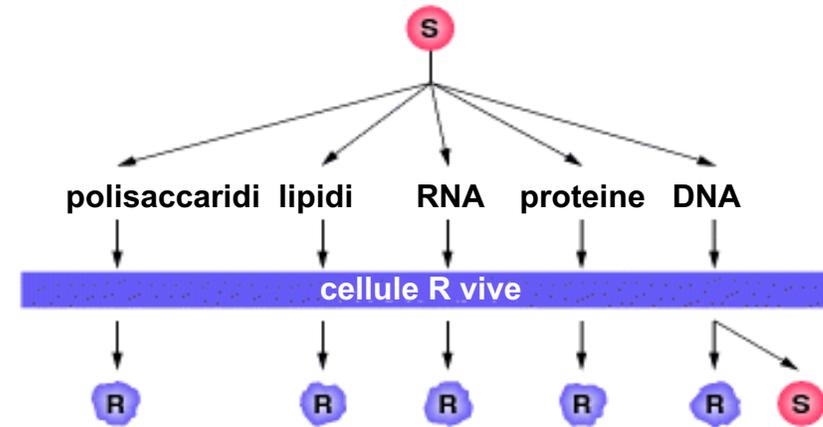
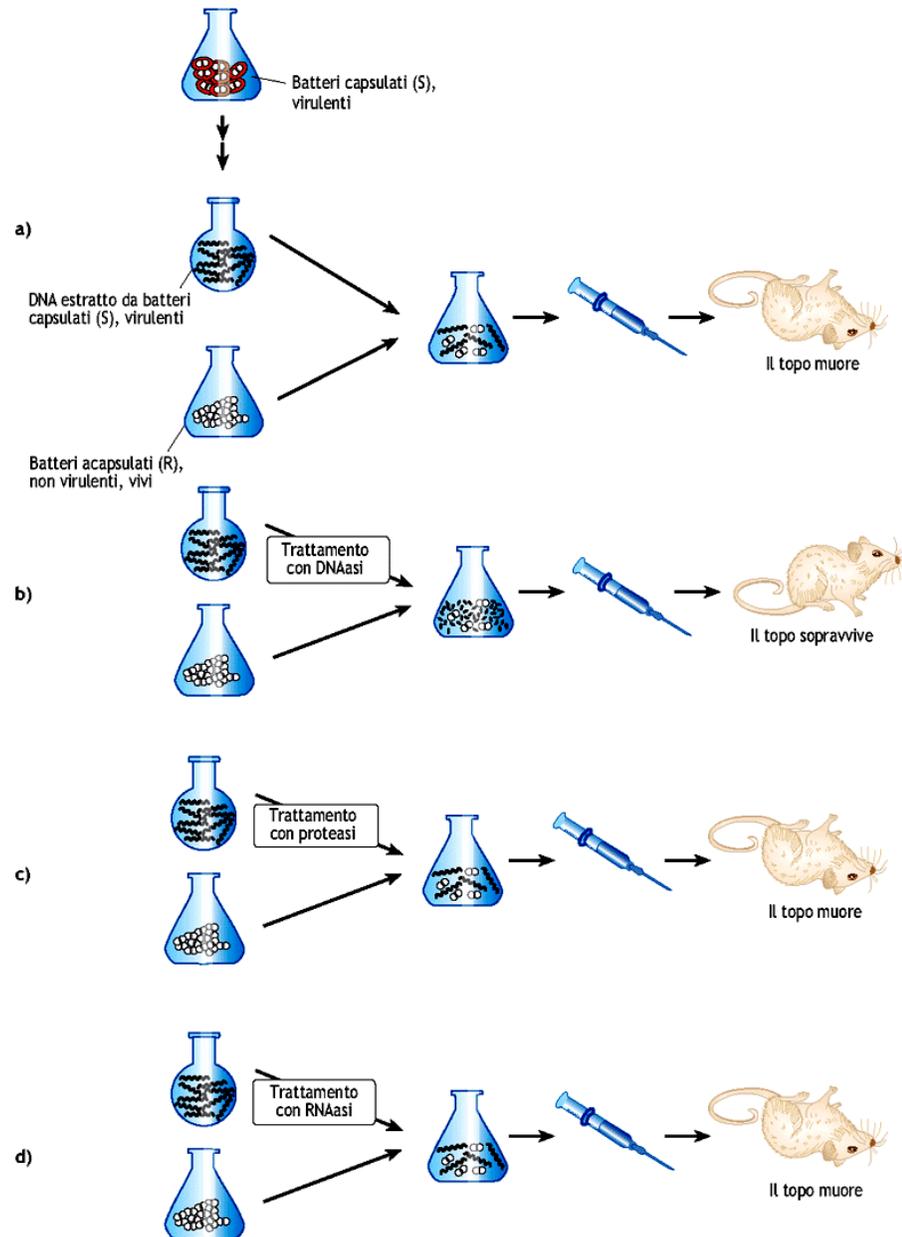
Selenocisteina,
Pirrolisina

DNA ed RNA



■ **Figura 1.50** Costruzione di una singola elica. Gli acidi nucleici sono costituiti da catene lineari di nucleotidi uniti fra loro grazie ad un ponte fosfodiesterico che si instaura tra l'estremità 3' OH del primo nucleotide e l'estremità 5' P del secondo. Un polinucleotide così costituito ha, per convenzione, una polarità 5' P → 3' OH. Sia nel DNA che nell'RNA, lo scheletro è rappresentato dal regolare alternarsi di molecole di zucchero e di acido fosforico, da cui sporgono le basi azotate.

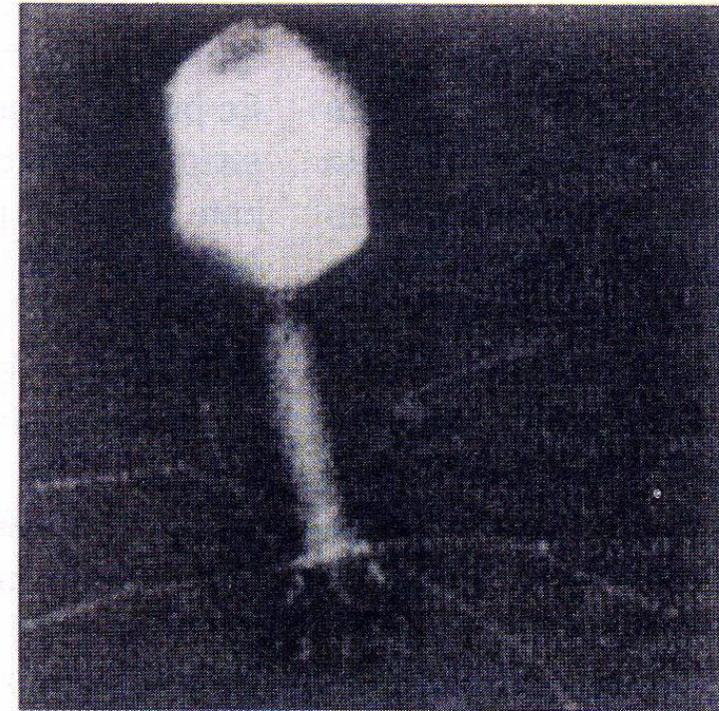
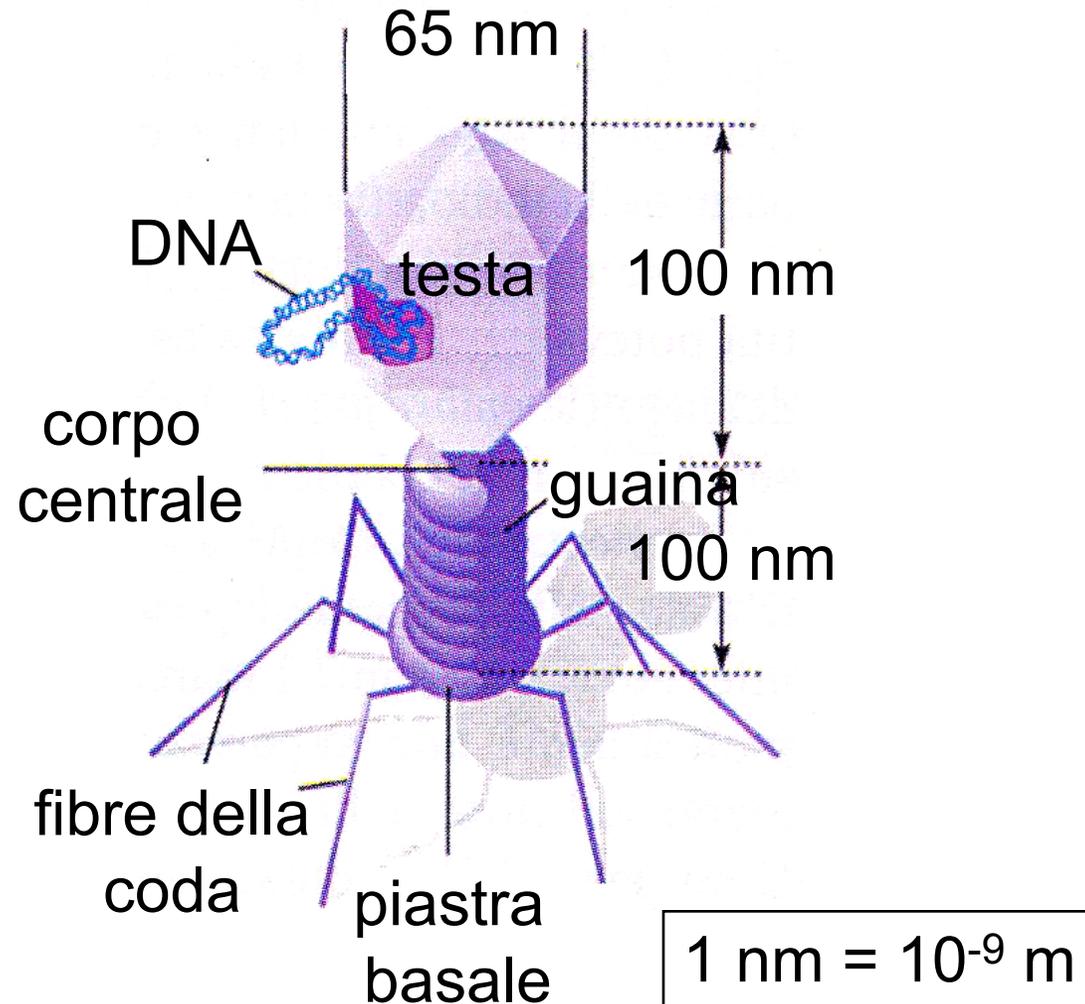
Esperimento di O. Avery, C. MacLeod, M. McCarty, 1944



Stabilirono che il principio trasformante era il DNA, purificandolo da estratti batterici e al tempo stesso dimostrando che l'attività del principio trasformante veniva eliminata dalla digestione enzimatica del DNA ma non dalla digestione delle proteine.

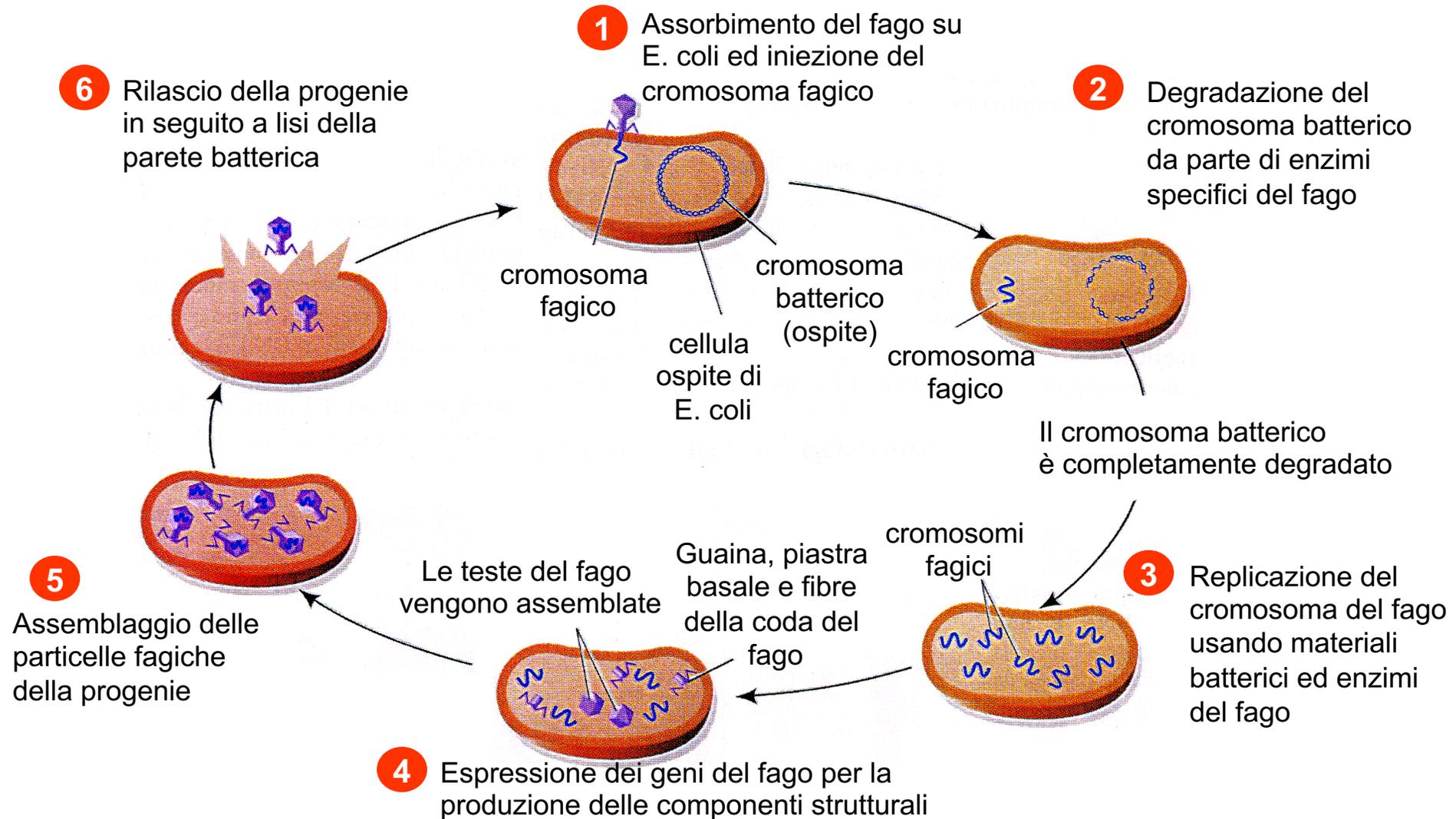
Esperimento di Hershey e Chase, 1953

Alfred Hershey e Martha Chase stavano studiando nel 1953 un batteriofago chiamato T2.

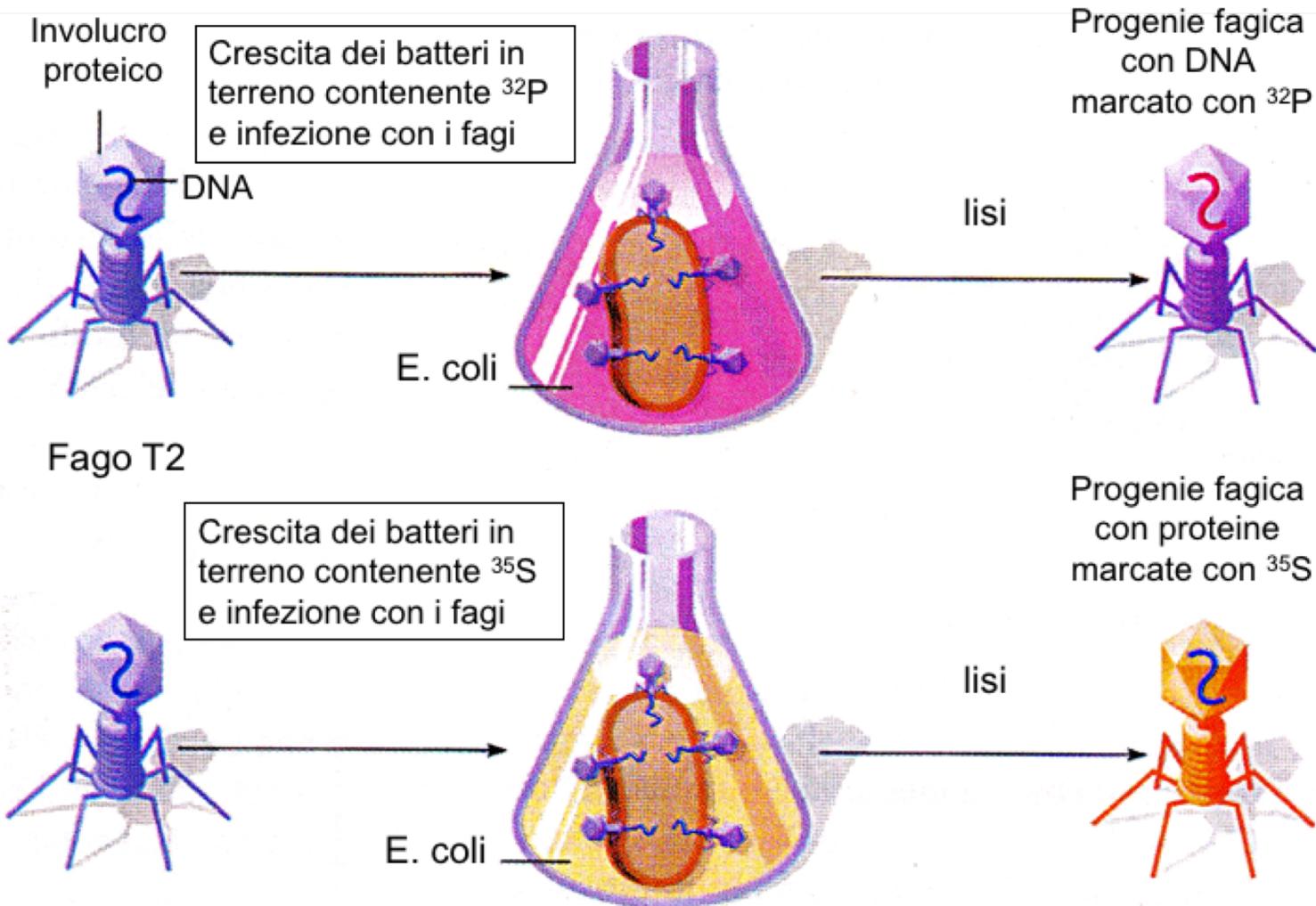


Fotografia al M.E. del batteriofago T2

Hershey e Chase sapevano che il virus T2 era costituito soltanto da DNA e proteine e che il virus era in qualche modo capace di usare il proprio materiale genetico per riprogrammare la cellula ospite per farle produrre nuovi fagi. Tuttavia, non erano a conoscenza di quale dei due componenti, DNA o proteine, fosse la causa.



Esperimento di Hershey e Chase, 1953



Usarono gli isotopi radioattivi del fosforo e dello zolfo per marcare rispettivamente il DNA e le proteine virali. Ciò fu possibile in quanto le proteine virali sono ricche di zolfo ma mancano di gruppi fosfato, mentre il DNA presenta una situazione opposta.

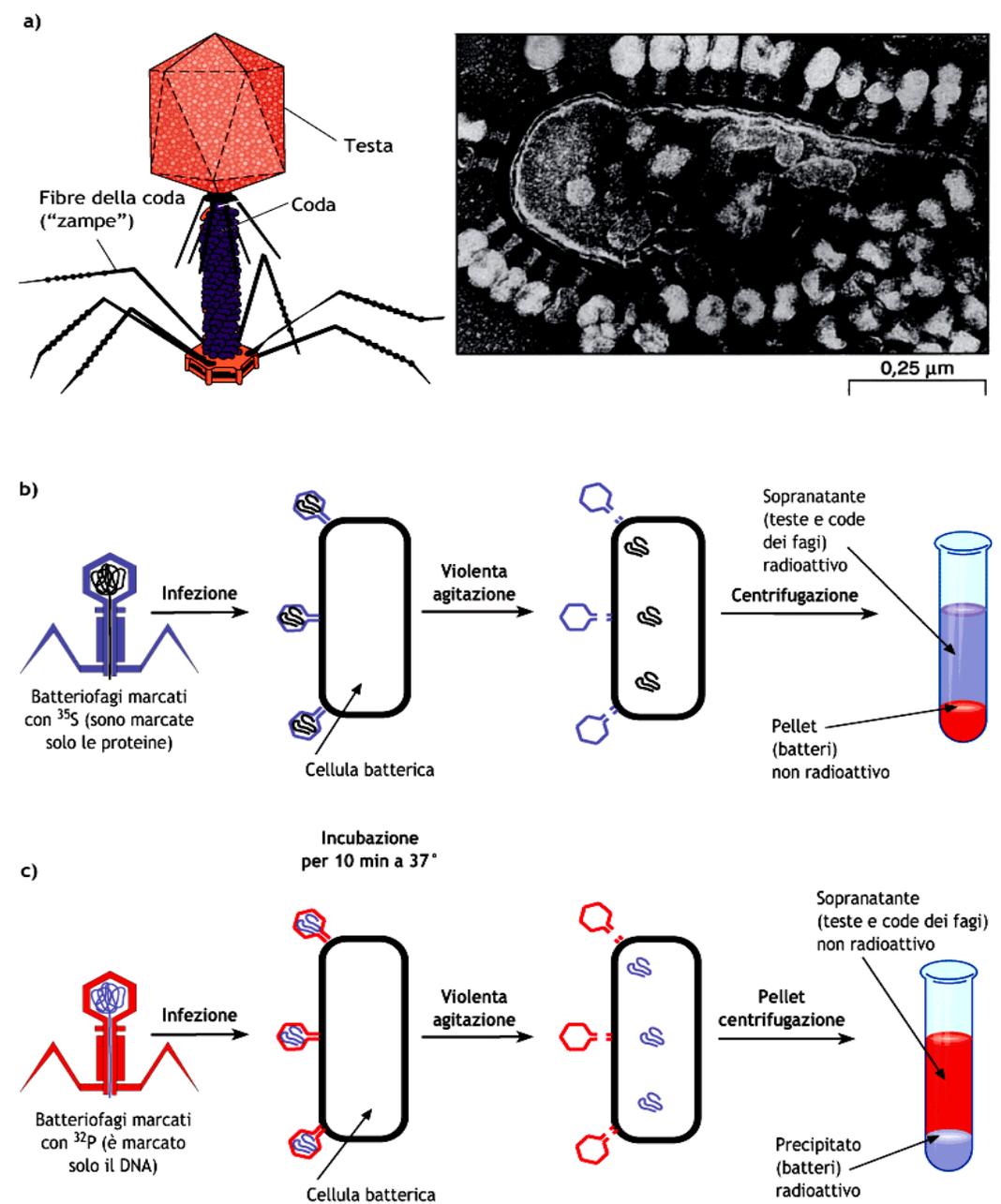
Un **isotopo** è un [atomo](#) di uno stesso [elemento chimico](#), e quindi con lo stesso [numero atomico](#) Z , ma con differente [numero di massa](#) A , e quindi differente [massa atomica](#) M . La 0 , un diverso numero di [neutroni](#) presenti nel nucleo dell'atomo a parità di numero atomico.

Geiger-Müller counter



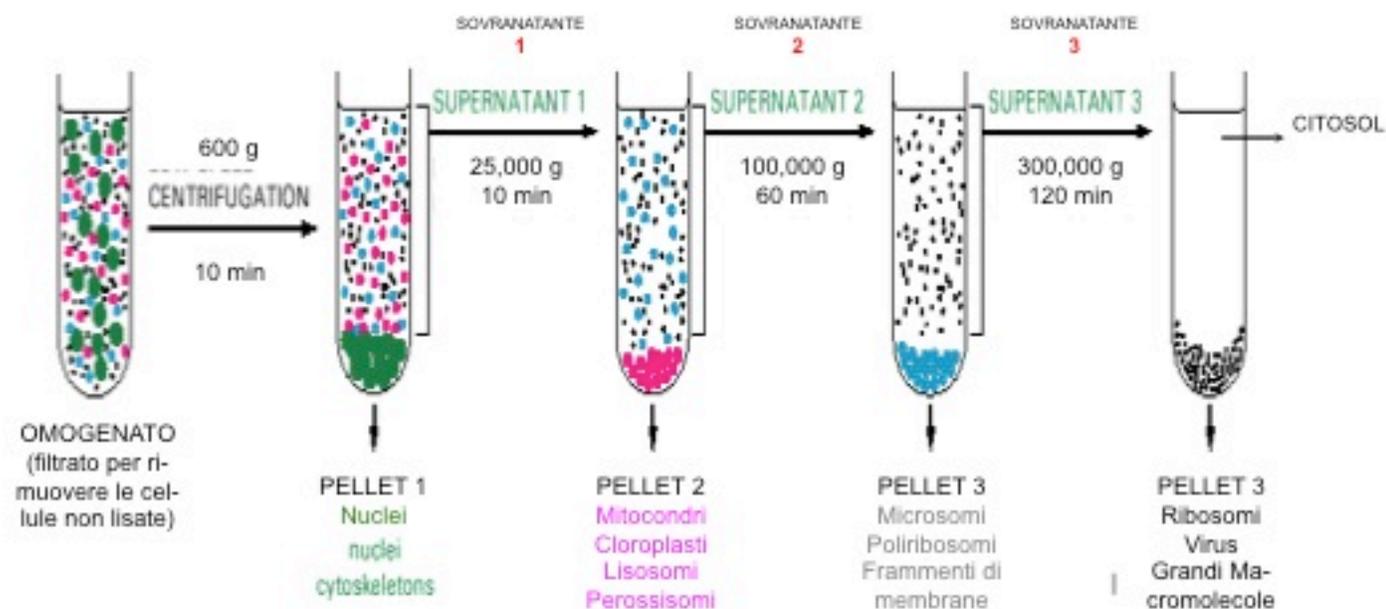
Esperimento di Hershey e Chase, 1953

Gli esperimenti mostrarono che solo il DNA virale entra nella cellula batterica e, inoltre, questa molecola deve contenere le informazioni capaci di indirizzare la cellula verso la produzione del DNA e delle proteine di tipo virale.



■ FIGURA 1.46 Esperimento di Hershey e Chase – dimostrazione che è il DNA del fago che viene inserito nel batterio nel momento dell'infezione. (a) Struttura di un fago della serie T4 e relativa immagine al ME; (b) infezione di batteri da parte di fagi che hanno le proteine del capsido marcate con ^{35}S . Dopo centrifugazione, il pellet che contiene i batteri non è radioattivo; (c) infezione di batteri da parte di fagi che hanno il DNA marcato con ^{32}P . Dopo centrifugazione, il pellet che contiene i batteri è radioattivo.

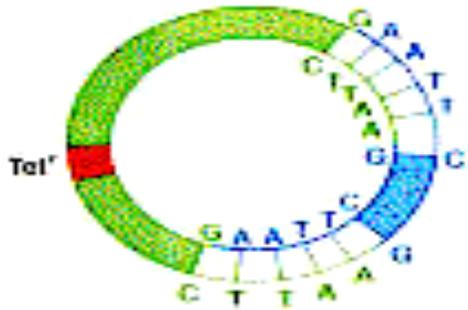
Centrifugazione differenziale



Clonaggio di un gene

- Isolare DNA (o RNA) dalla cellula o tessuto in analisi
- Tagliare DNA genomico in frammenti (o preparare il cDNA , copia di mRNA)
- **I frammenti ottenuti vengono inseriti in vettori plasmidici in modo da ottenere librerie genomiche (o di espressione cDNA)**
- Screening delle librerie per individuare il vettore con il gene di interesse
- Una volta clonato il gene può essere inserito in un vettore di espressione per ottenere la proteina di interesse.

La trasformazione batterica



Trasformazione



Trattamento dei batteri con CaCl_2 :
aumenta la permeabilità di
membrana.

E. coli

