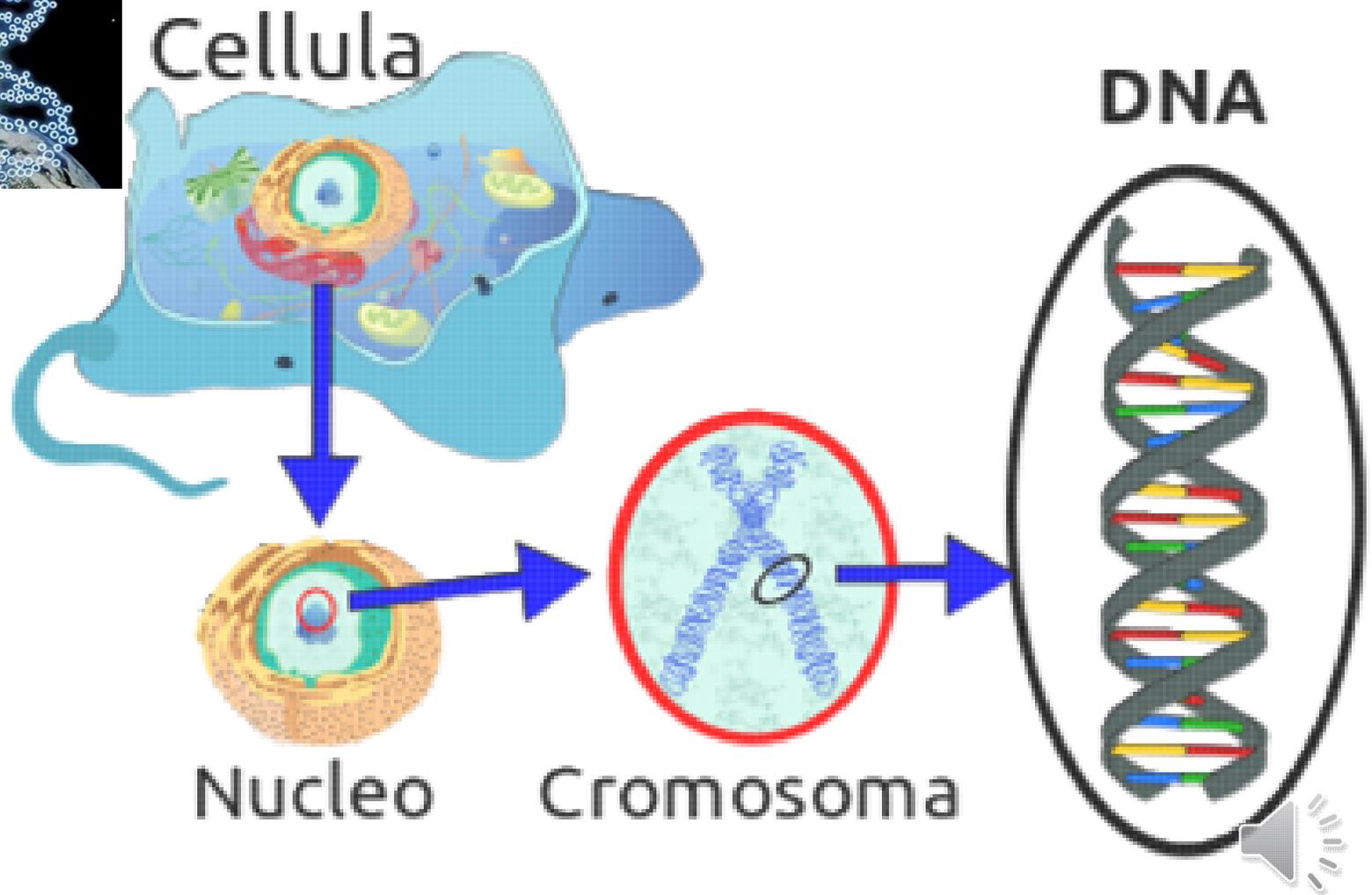




DNA e replicazione del DNA

Principi di Biologia e Genetica
Scienze Motorie
a.a 2020-21
Dr ssa Mazzoni Elisa





Già nel 1920, gli scienziati sapevano che i cromosomi erano fatti di DNA e proteine. In quel periodo fu sviluppato un nuovo colorante che marcava specificamente il DNA e che colorava i nuclei cellulari di rosso in maniera direttamente proporzionale all'ammontare di DNA presente nella cellula. Questa tecnica fornì evidenze circostanziali che il DNA è il materiale genetico

Il DNA venne confermato essere una componente importante del nucleo ed e i cromosomi che si sapevano portare i geni.

La quantità di DNA nelle cellule somatiche (cellule del corpo non specializzate per la riproduzione) era il doppio di quella nelle cellule per la riproduzione (uova o spermatozoi) come ci si sarebbe aspettato per cellule rispettivamente diploidi e aploidi.

Il DNA variava tra specie

Quando venivano colorate cellule di specie diverse, e l'intensità di colorazione veniva misurata, ogni specie sembrava avere il suo specifico ammontare di DNA nucleare



TABELLA 12-1**Cronologia di scoperte storiche relative al DNA**

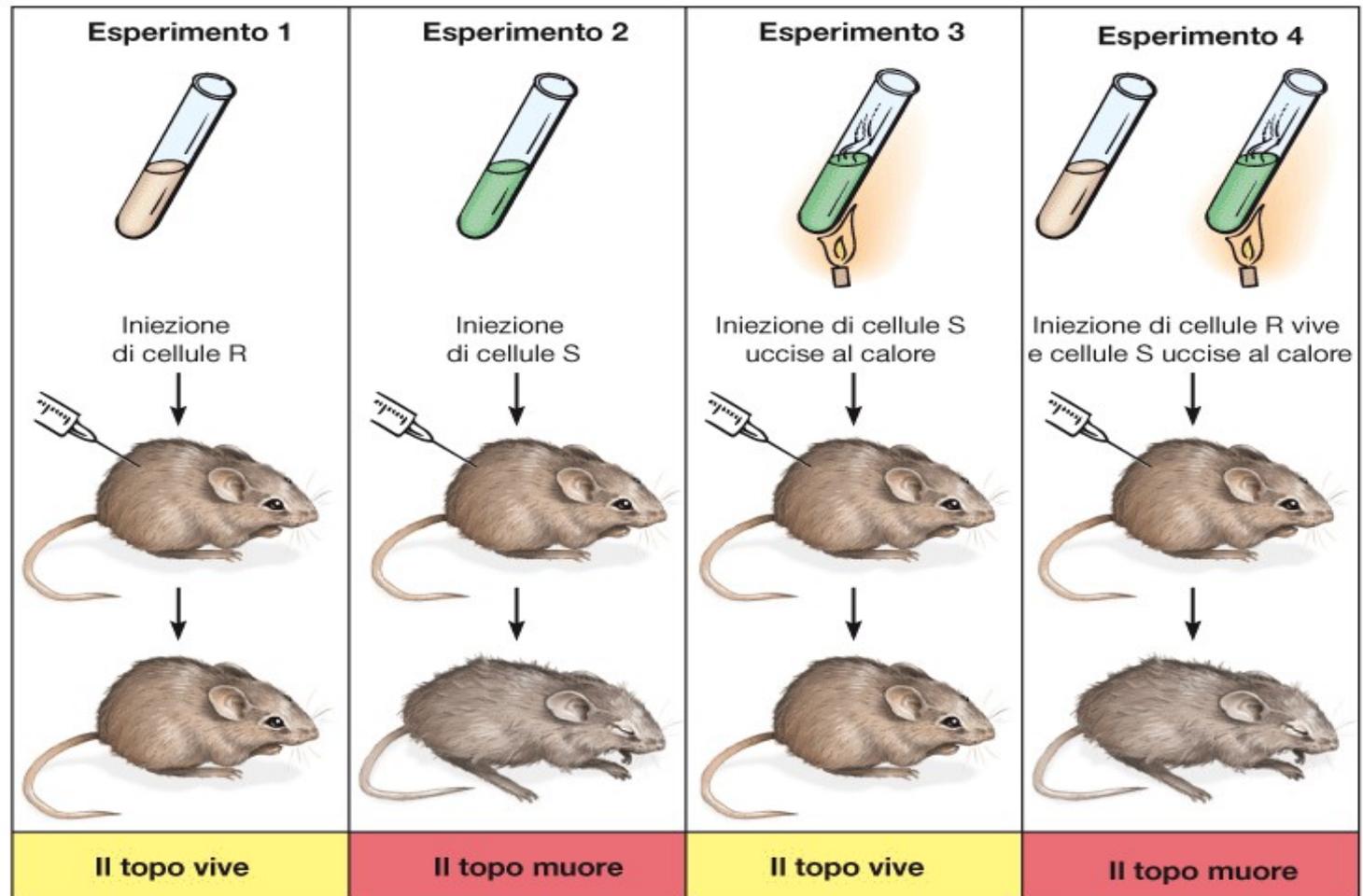
Data	Scoperta
1871	Friedrich Miescher riporta la scoperta di una nuova sostanza, la nucleina, presente nei nuclei delle cellule. Oggi sappiamo che la nucleina è una miscela di DNA, RNA e proteine.
1928	Frederick Griffith scopre una sostanza presente nei batteri uccisi al calore che “trasforma” i batteri vivi.
1944	Oswald Avery, Colin MacLeod e Maclyn McCarty identificano chimicamente il principio trasformante di Griffith nel DNA.
1949	Erwin Chargaff riporta le relazioni tra le basi del DNA che forniscono un indizio sulla struttura del DNA.
1952	Alfred Hershey e Martha Chase dimostrano che il DNA, e non le proteine, è coinvolto nella riproduzione virale.
1952	Rosalind Franklin produce un’immagine di diffrazione ai raggi X del DNA.
1953	James Watson e Francis Crick propongono un modello di struttura del DNA. Il loro contributo è considerato l’inizio di una rivoluzione nella biologia molecolare che continua tuttora.
1958	Matthew Meselson e Franklin Stahl dimostrano che la replicazione del DNA è semiconservativa.
1962	James Watson, Francis Crick e Maurice Wilkins sono insigniti del premio Nobel per la Medicina grazie alle scoperte sulla struttura molecolare degli acidi nucleici*.
1969	Alfred Hershey è insignito del premio Nobel per la Medicina grazie alla scoperta del meccanismo di replicazione e della struttura genetica dei virus.



1928:
EXP di Griffith
Scoperto il
fattore
trasformante

FIGURA 12-1 Gli esperimenti di trasformazione di Griffith

Griffith stava cercando di sviluppare un vaccino contro la polmonite, quando scoprì per caso il fenomeno della trasformazione.

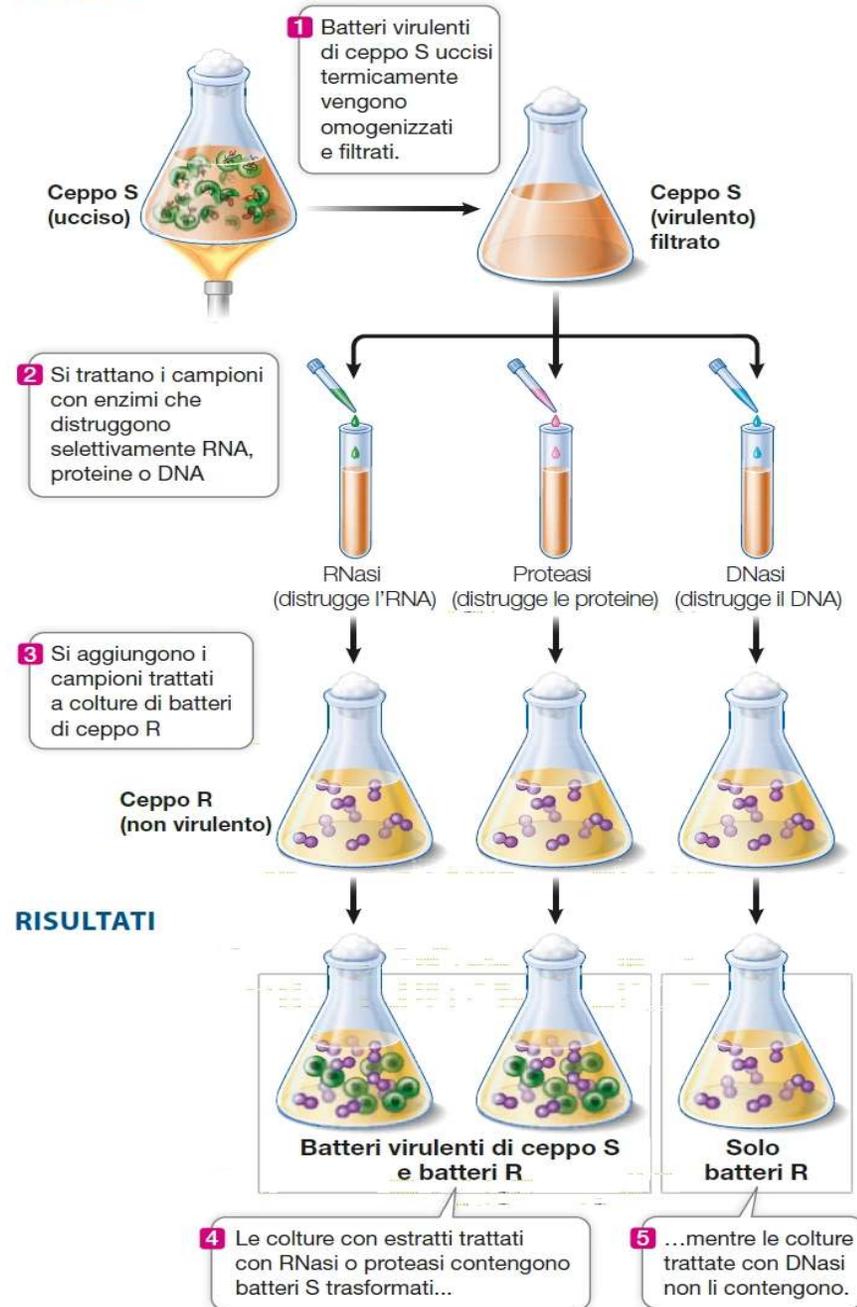


RISULTATI E CONCLUSIONI: Anche se né il ceppo R né il ceppo S ucciso al calore erano in grado da soli di uccidere un topo, la combinazione di entrambi ci riusciva. L'autopsia dell'animale morto mostrò la presenza di pneumococchi vivi del ceppo S. Questi risultati suggerivano che una qualche sostanza presente nelle cellule S uccise al calore era in grado di trasformare le cellule R vive in virulente.



Figura 13.2 La trasformazione genetica da DNA

METODO



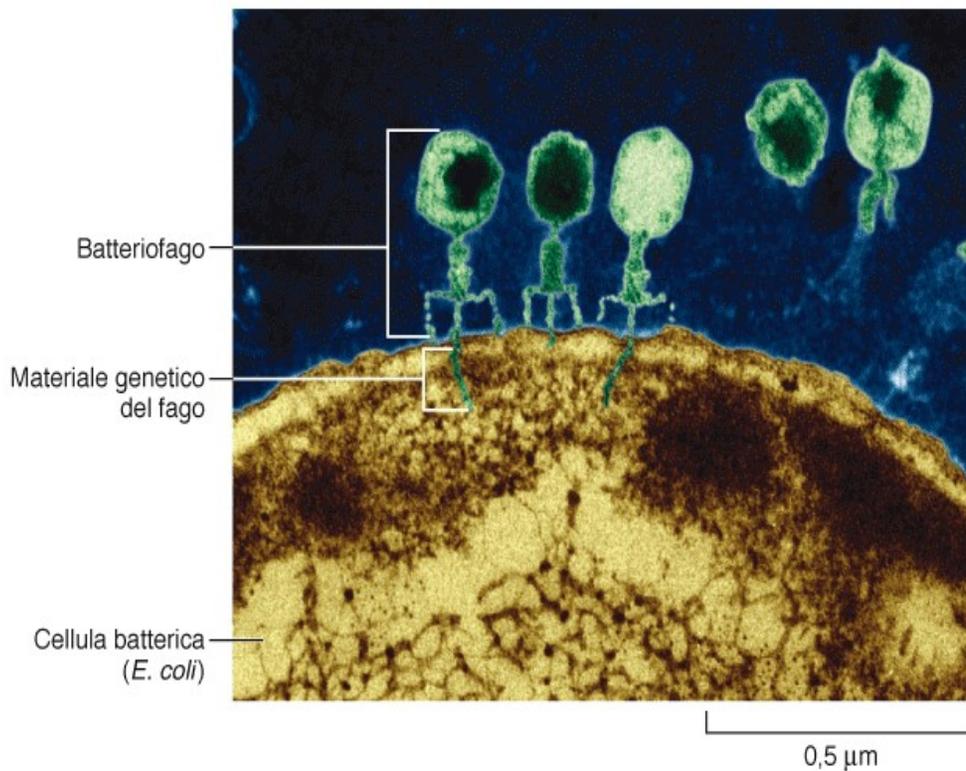


FIGURA 12-2 Batteriofagi sulla superficie di una cellula batterica
 Questa immagine al microscopio elettronico a trasmissione (MET) mostra diversi fagi attaccati alla superficie del batterio *Escherichia coli*. Si noti il materiale genetico del virus che viene iniettato nel batterio.

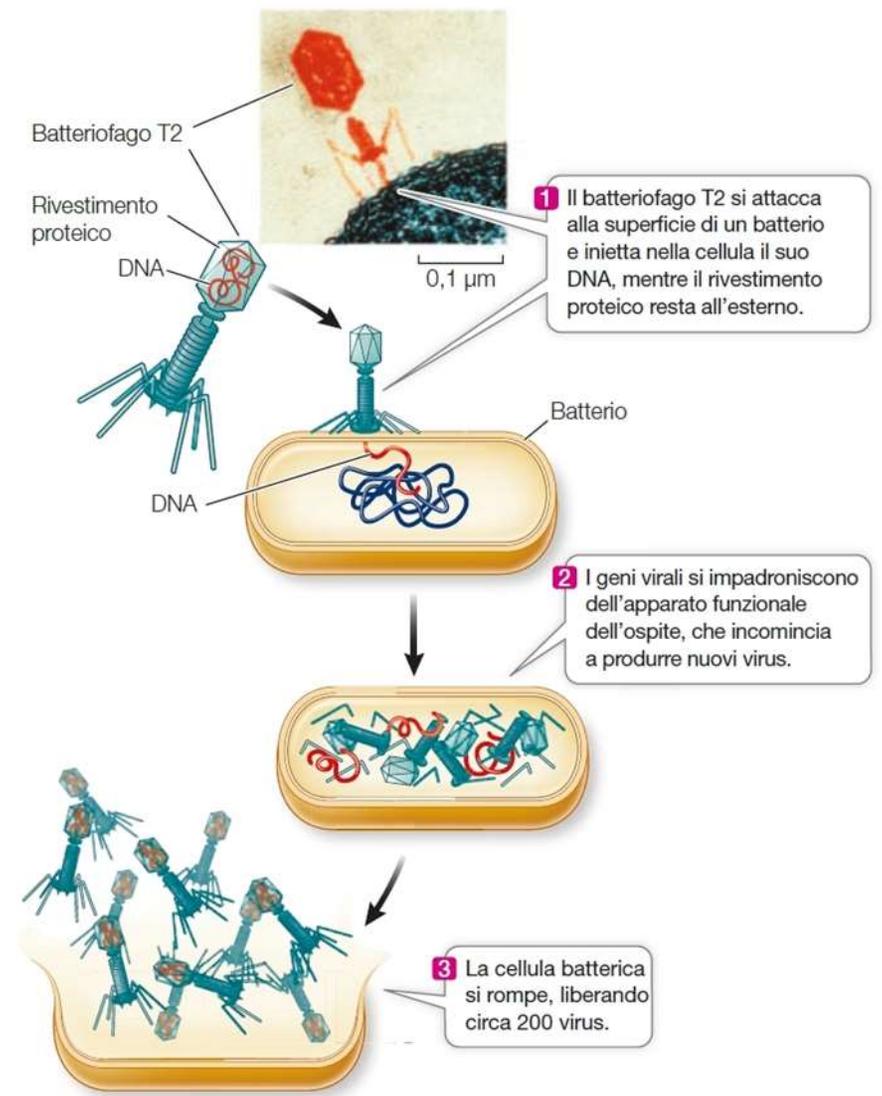


Figura 13.3 Il ciclo riproduttivo del batteriofago T2 Il batteriofago T2 infetta l'*E. coli* e dipende dagli apparati del batterio per la produzione di nuove particelle virali. Il batteriofago è costituito interamente da DNA avvolto da un rivestimento proteico. Quando il virus infetta una cellula di *E. coli* è il suo DNA, e non le proteine, a essere iniettato nella cellula ospite.

Figura 13.4 L'esperimento Hershey-Chase

METODO

Esperimento 1

1a I fagi vengono marcati. P è presente nel DNA ma non nelle proteine.

DNA con ^{32}P

Batteri



2 I batteri vengono infettati con virus marcati.



3 L'agitazione in un frullatore causa il distacco dei virus dalle cellule batteriche.

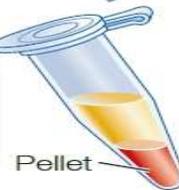
4 La centrifugazione forza le cellule batteriche sul fondo della provetta, a formare un pellet. Il fluido soprannatante contiene i virus.



RISULTATI

5a La maggior parte del ^{32}P è nel pellet con i batteri.

Pellet



Esperimento 2

1b I fagi vengono marcati. S è presente nelle proteine, ma non nel DNA

Proteine del capside con ^{35}S

Batteri



2 I batteri vengono infettati con virus marcati.



3 L'agitazione in un frullatore causa il distacco dei virus dalle cellule batteriche.

4 La centrifugazione forza le cellule batteriche sul fondo della provetta, a formare un pellet. Il fluido soprannatante contiene i virus.



5b La maggior parte dell' ^{35}S è nel fluido soprannatante con le capsule virali.

Liquido soprannatante



Figura 12-3 Gli esperimenti di Hershey-Chase

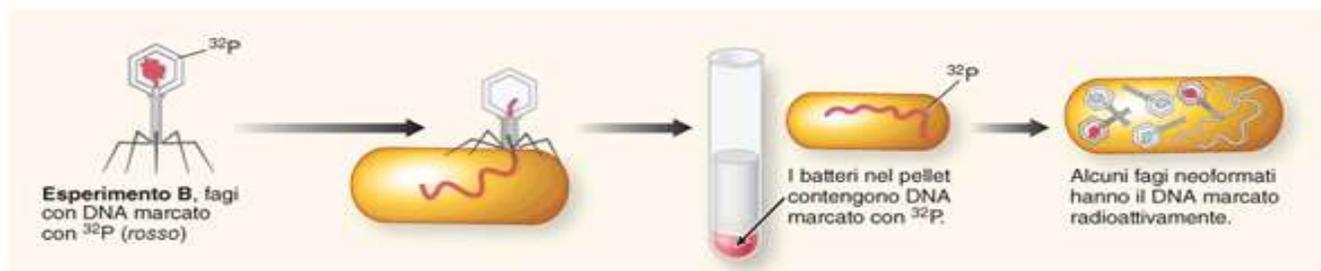
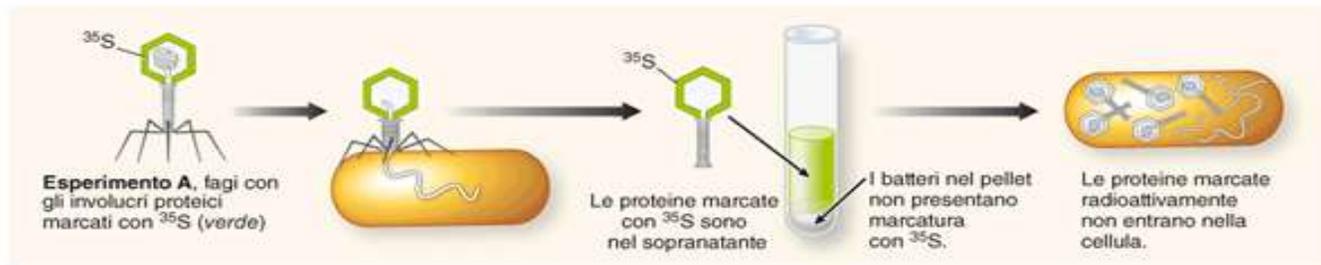
COLLEGARE Spiegare come questo esperimento supporta le scoperte precedenti di Avery, McLeod e McCarty che i geni sono composti da acidi nucleici.

ESPERIMENTO CHIAVE

Il materiale genetico dei virus batterici (fagi) è costituito dal DNA o dalle proteine?

SVILUPPARE UN'IPOTESI: Il DNA è il materiale genetico dei virus batterici.

EFFETTUARE ESPERIMENTI: Hershey e Chase produssero popolazioni fagiche che avevano o il DNA o le proteine marcati radioattivamente. In entrambi i casi, infettarono i batteri con i fagi e determinarono se il DNA o le proteine venivano iniettati nelle cellule batteriche per dirigere la formazione di nuove particelle virali.



RISULTATI E CONCLUSIONI: I ricercatori riuscirono a separare gli involucri proteici dei fagi marcati con l'isotopo radioattivo ^{35}S (a sinistra) dalle cellule batteriche infettate senza interferire con la riproduzione del virus. Invece, non riuscirono a separare il DNA virale marcato con il radioisotopo ^{32}P (a destra) dalle cellule batteriche infettate. Questo dimostrò che il DNA virale entra nelle cellule batteriche ed è richiesto per la sintesi di nuove particelle virali. Pertanto, il DNA è il materiale genetico dei fagi.

Fonte: Hershey, A.D. and M. Chase (1952) Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *The Journal of General Physiology* 36(1): 39-56.



Figura 13.5 La cristallografia ai raggi X fu determinante per individuare la struttura del DNA (A) È possibile determinare la posizione degli atomi in una sostanza chimica cristallizzata in base al *pattern* di diffrazione dei raggi X che la attraversano.

Il pattern del DNA è altamente regolare e ripetitivo. (B) Rosalind Franklin, sulla destra, e a sinistra la sua celebre «foto 51» della diffrazione che permise ad altri scienziati di individuare la struttura a doppia elica del DNA.

