

CIAO, in questo periodo di tempo ci occuperemo di **GENETICA MOLECOLARE**, ossia di quella branca della genetica che, prendendo le mosse dai contributi di Mendel prima e di Morgan dopo, si prefisse come scopo di indagare su quali fossero i meccanismi molecolari che determinavano la detenzione delle informazioni ed il loro flusso all'interno di un essere vivente e da un essere vivente ad un altro attraverso la riproduzione. Di seguito trovi una tabella in cui in maniera esemplificata ma completa trovi in ordine cronologico la successione degli eventi ed i loro protagonisti. La storia comincia proprio da Mendel e come vedrai si sviluppa per tutto il ventesimo secolo, che non a caso è denominato "il secolo della genetica". Alla tabella seguono degli approfondimenti sui singoli passi di questo lungo cammino. Buona lettura e buon viaggio nell'intrigante mondo della

GENETICA MOLECOLARE

1860	Gregor Mendel pubblica i risultati delle sue ricerche sulla trasmissione dei caratteri ereditari
1869	- Friedrich Miescher scopre un acido debole all'interno dei globuli bianchi, che poi sarà identificato come DNA
1908	Garrod scriveva sugli <i>Errori innati del metabolismo</i> in un modo che sembrava anticipare le scoperte della genetica biochimica contemporanea. Come al solito, solo dopo alcuni decenni le idee di Garrod cominciarono ad esercitare un qualche influsso sulla medicina. Egli ipotizza che nei geni fossero scritte in qualche modo le informazioni relative alla sintesi delle proteine.
1910	Thomas Hunt Morgan suggerì che i geni si trovassero sui cromosomi, in seguito ad osservazioni su <i>Drosophila melanogaster</i>
1913	Alfred Sturtevant utilizzò il fenomeno del <i>linkage genetico</i> e le frequenze di ricombinazione ad esso associate per dimostrare e mappare la disposizione lineare dei geni lungo il cromosoma.
1928	Frederick Griffith pubblicò i risultati del suo lavoro (noto come esperimento di Griffith) sul fenomeno della trasformazione batterica, ipotizzando la presenza di un <i>principio trasformante</i>
1930	Joachim Hammerling studia il ruolo del nucleo e del citoplasma come detentori di informazioni utilizzando l'alga <i>Acetabularia</i>
1941	- Edward Lawrie Tatum e George Wells Beadle dimostrano che i geni codificano per proteine. Formulano il cosiddetto <u>dogma centrale della biologia molecolare</u> .
1944	Oswald Theodore Avery, Colin McLeod e Maclyn McCarty ripresero la trasformazione, isolando ed identificando il DNA come molecola responsabile della trasformazione stessa.
1950	Erwin Chargaff dimostra che i quattro nucleotidi sono presenti nel DNA, in cellule dello stesso organismo, in proporzioni stabili; ma in proporzioni diverse se consideriamo individui diversi (regole di Chargaff).
1952	l'esperimento di Hershey-Chase identificò il DNA come la molecola contenente il materiale genetico dei virus, ulteriore prova del fatto che fosse il DNA la molecola responsabile dell'ereditarietà.
1953	James Watson e Francis Crick completarono la risoluzione del DNA attraverso la <u>cristallografia a raggi X</u> , individuandone la celebre struttura a doppia elica: ogni <u>nucleotide</u> posto su un filamento aveva un nucleotide complementare sull'altro. Tale struttura, oltre a chiarire che l'informazione è contenuta concretamente nelle sequenze di nucleotidi, suggerì immediatamente il meccanismo fisico sottostante la <u>replicazione del DNA</u> .
1958	- L' <u>esperimento di Meselson e Stahl</u> dimostra che per il DNA la <u>replicazione</u> è semiconservativa
1959	Weiss e Gladstone scoprono che il DNA funziona da stampo per la sintesi dell'RNA
1960	Jacob, Meselson ed altri scoprono che l'RNA agisce da messaggero delle informazioni contenute nel DNA ai ribosomi
1961	Nirenberg e Matthei scoprono e sperimentano il codice genetico con il codone UUU che codifica per PHE
1972	Khorana effettua per la prima volta la sintesi chimica di un gene
1979	Ricercatori Genentech mettono a punto il Primo prodotto ricombinante ad uso terapeutico umano, l'ormone della crescita.
1980	Ricercatori della Genentech Produzione dell'insulina umana ricombinante.
1990	Prende il via il Progetto Genoma umano concepito sotto la guida di Watson nel primo esperimento di terapia genetica in una bimba di 4 anni sofferente di una malattia del sistema immunitario Linfociti T vengono prelevati alla bimba e corretti con la sostituzione del gene mal funzionante. Scoperta foglia di magnolia di 20 milioni di anni fa non mineralizzata, di cui si può studiare frammenti di DNA.
1996	Mappa completa del genoma umano.
1997	Nasce Dolly.
oggi	Gli alunni della IIIALST di Fondi studiano con profitto la genetica molecolare

ESPERIMENTO DI GRIFFITH

L'ufficiale medico inglese F. Griffith in quegli anni studiava un batterio in grado di causare la polmonite: lo pneumococco (*Diplococcus pneumoniae*). Nei suoi esperimenti fece uso di due ceppi batterici:

1. Il ceppo S, detto anche *liscio* dal momento che produce colonie lisce e lucenti (grazie alla presenza di una capsula batterica polisaccaridica che avvolge ogni cellula). Questo ceppo è in grado di provocare la polmonite.
2. Il ceppo R, detto anche *rugoso* dal momento che produce colonie dall'aspetto "rugoso" (a causa dell'assenza della capsula batterica). Questo ceppo non è in grado di provocare polmonite. (Di fatto ora sappiamo che il ceppo R deriva da una mutazione di un ceppo S).

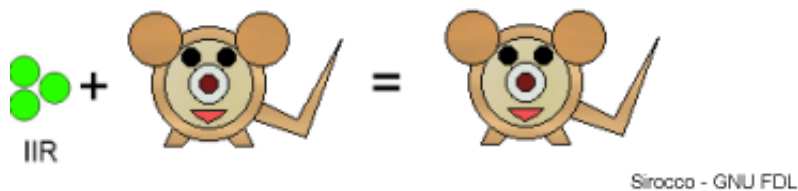
Per quanto riguarda il ceppo S, ne esistono diverse varianti suddivise in base alla composizione chimica della capsula. Griffith, in particolare, studiò le varianti note come IIS e IIIS.

In seguito a mutazioni di batteri IIS si potevano sviluppare batteri R (privi di capsula). I batteri R (detti IIR dal momento che derivano da batteri IIS) possono retromutare (cioè riacquisire, in modo naturale, la capacità di produrre la capsula batterica) e formare pneumococchi di ceppo S: ma solo IIS. Lo stesso discorso vale per i batteri IIIS.

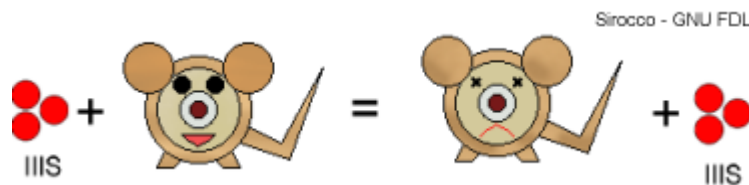
In definitiva IIR non potrà mai retromutare in IIIS e IIIR non potrà mai retromutare in IIS.

Schema dell'esperimento

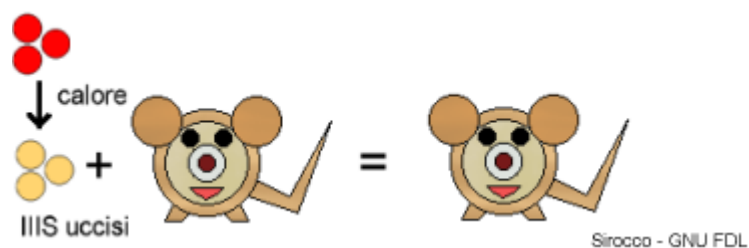
Quando Griffith iniettò batteri IIR in un topo, verificò che la cavia non si ammalava e non era possibile isolare questi batteri dai tessuti dell'animale.



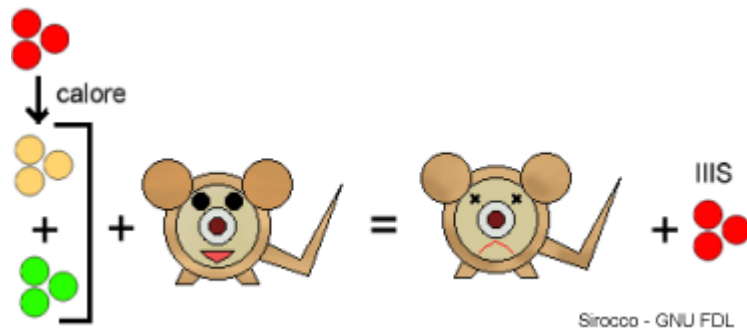
Quando il medico iniettò batteri IIIS in topo, verificò che l'animale si ammalava, moriva ed era possibile isolare questi batteri dai tessuti dello stesso.



Successivamente prese alcuni batteri IIIS e li uccise in seguito a shock termico. Iniettò poi questi batteri morti in un topo e come c'era d'aspettarsi il topo non si ammalò e non fu possibile isolare IIIS dai tessuti dell'animale.



Da ciò si deduce che, per provocare la malattia, è necessaria la *presenza della capsula* e i *batteri capsulati devono essere ovviamente vivi*. A questo punto Griffith preparò una miscela in cui erano presenti batteri vivi IIR e batteri morti IIIS (uccisi da trattamento termico). Iniettò questa miscela in un topo: quello che ci si aspettava era la NON comparsa di malattia nell'animale (dal momento che non sarebbero dovute sussistere le condizioni appena citate). In realtà *il topo si ammalò e morì*; nei suoi tessuti si riscontrarono batteri IIIS.

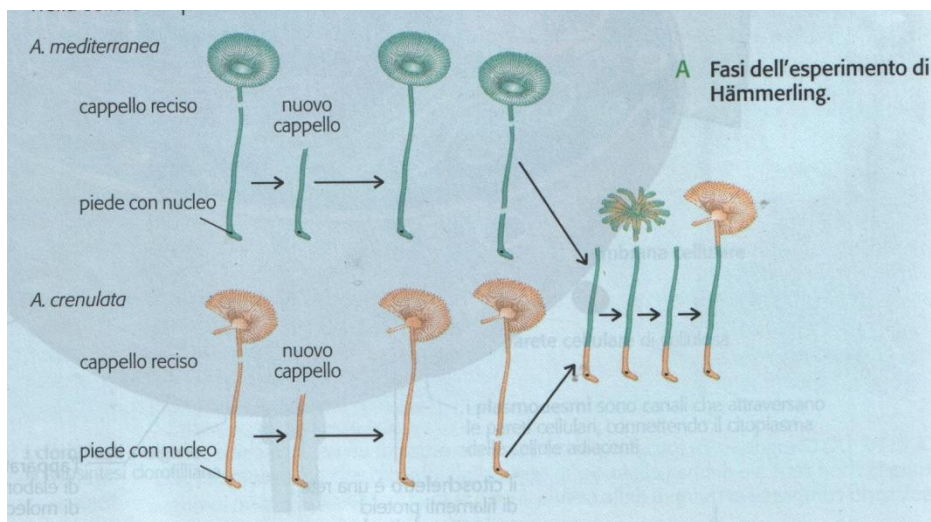


Per spiegare a prima vista questo strano risultato si potrebbe forse pensare che alcuni batteri IIR iniettati siano retromutati in IIS (causando la polmonite), ma questo è da escludere dal momento che nei tessuti dell'animale erano stati isolati batteri IIIS e non IIS. Griffith propose l'unica spiegazione plausibile: alcuni batteri IIR, in seguito all'interazione con batteri morti IIIS si erano trasformati in IIIS.

Evidentemente all'interno dei IIIS morti doveva essere presente *una qualche sostanza* in grado di conferire ai batteri IIR che l'acquisivano la capacità di sintetizzare la capsula polisaccaridica. Questa sostanza è il *materiale genetico*. Griffith chiamò il materiale genetico *principio trasformante*. Erroneamente, come però la stragrande maggioranza degli scienziati suoi contemporanei, riteneva che questa sostanza dovesse essere di natura proteica.

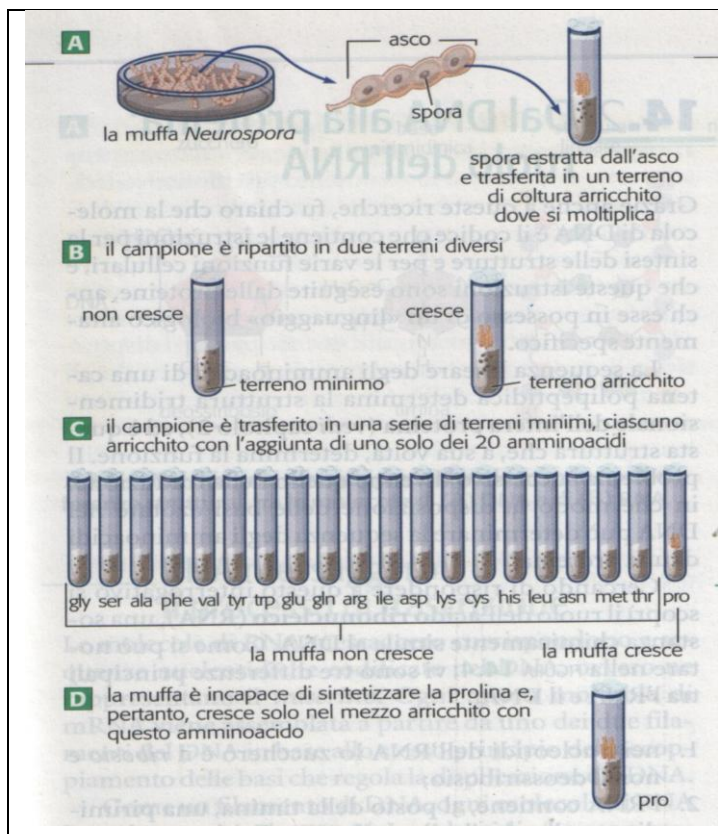
Esperimento di Hammerling

Negli anni '30 dello scorso secolo J.Hammerling studia il diverso ruolo del nucleo e del citoplasma nella determinazione dei caratteri somatici, utilizzando due specie di alghe unicellulari simili tra loro: l'acetabularia mediterranea e l'acetabularia crenulata. I due tipi di alghe erano differenti tra loro per la forma del cappello. In esse il nucleo è posto alla base della cellula, in una zona denominata piede. L'esperimento si svolse in più fasi. Nella prima fase Hammerling recise il cappello di ogni alga osservando che la parte del piede rigenerava la parte mancante, mentre la parte costituita dal cappello e priva del nucleo non era in grado di fare altrettanto. Successivamente dopo aver reciso da ogni tipo di alga il cappello, trapiantò il nucleo della crenulata nel piede della mediterranea ed il nucleo della mediterranea nel piede della crenulata. A questo punto osservò che il piede della crenulata, contenente il nucleo della mediterranea, rigenerava un cappello simile a quello della mediterranea, mentre il piede della mediterranea, contenente il nucleo della crenulata, rigenerava un cappello simile a quello della crenulata. Ripetendo la ricisione per più volte il cappello rigenerato era sempre più simile a quello tipico della forma a cui apparteneva il nucleo. Da questo semplice esperimento egli dedusse che le informazioni genetiche, che guidavano la sintesi della parte recisa erano contenute nel nucleo della cellula e non nel suo citoplasma.



Esperimento di Beadle e Tatum

Due biologi statunitensi Beadle e Tatum accertarono che i geni controllano le reazioni biochimiche e quindi esiste una relazione tra geni ed enzimi, riprendendo l'ipotesi formulata da Garrod nel 1908. Per dimostrare questo fecero un esperimento sul fungo *Neurospora crassa*, la comune muffa che cresce sul pane. Questo organismo è molto semplice: per vivere richiede essenzialmente un substrato formato da carboidrati e poche altre sostanze nutritive, quali Sali minerali. Partendo da tali semplici sostanze, le spore di *Neurospora* riescono a costruire gli enzimi necessari alla decomposizione delle molecole organiche presenti nel loro substrato. Non essendo necessarie al loro sviluppo sostanze proteiche, è chiaro che gli aminoacidi che formano gli enzimi di cui si servono vengono sintetizzati da esse stesse. Ciò vuol dire che nel loro bagaglio di informazioni sono presenti anche quelle relative alla sintesi degli aminoacidi. Una prova di ciò è costituita dal fatto che ponendo le spore di *Neurospora* in un terreno minimo, ossia in un terreno di coltura in cui sono presenti solo zuccheri e Sali minerali, esse non hanno problemi a svilupparsi e a completare il loro ciclo vitale. Beadle e Tatum trattarono con i raggi X delle spore normali, notando che esse non erano in grado di svilupparsi su un terreno minimo, al contrario di quanto accadeva con le spore non trattate con i raggi X. Tali spore trattate non avevano problemi a svilupparsi su terreni minimi a cui erano stati aggiunti aminoacidi. Ciò significa che il trattamento con i raggi X aveva determinato la perdita della informazione relativa alla sintesi di uno o più aminoacidi. Per verificare tale ipotesi essi prepararono 20 piastre di coltura diverse in ognuna delle quali oltre al terreno minimo era stato aggiunto un tipo di aminoacido. In tal modo notarono che le spore attecchivano e si sviluppavano solo nella piastra che conteneva l'amminoacido prolina. Ciò voleva dire che l'irraggiamento con i raggi X aveva prodotto un danno sul sito dove era contenuta l'informazione relativa alla sintesi dell'amminoacido Prolina. Successivamente i nostri eroi isolarono gli enzimi coinvolti nella sintesi della prolina e determinarono quale enzima specifico mancava per ottenere la sintesi della prolina, utilizzando lo stesso procedimento: allestirono dei terreni di coltura minimi, ognuno dei quali era arricchito da un enzima. Le spore attecchivano e si sviluppavano solo sulla piastra che conteneva il giusto enzima. Alla luce di questi risultati Beadle e Tatum formularono l'ipotesi "un gene - un enzima". Essi suggerirono che ogni reazione biochimica venisse controllata da uno specifico gene e che la funzione primaria dei geni - e quasi certamente la loro unica funzione- fosse quella di determinare la configurazione delle molecole proteiche. Nel giro di pochi anni si accumularono gli esempi, tratti da una grande varietà di organismi, di mutanti privi di uno specifico enzima, o forniti di una sua forma modificata. La natura della relazione tra geni ed enzimi è oggi conosciuta abbastanza dettagliatamente e verrà discussa più avanti.



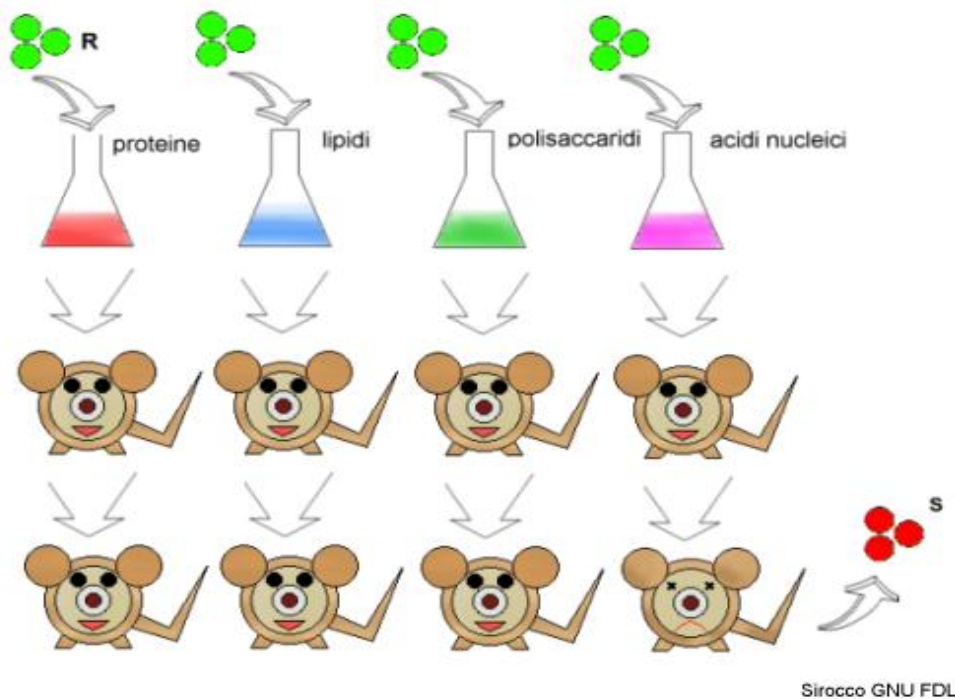
▲ 14.1 (A) Beadle e Tatum estrassero le spore dagli aschi dei corpi fruttiferi (ascocarpi) della muffa *Neurospora* (Capitolo 35). Queste spore provenivano dall'incrocio di ceppi normali e di ceppi esposti a raggi X per aumentare il tasso di mutazione. (B) In seguito ogni spora venne posta e lasciata crescere in un terreno di coltura contenente tutto ciò di cui *Neurospora* necessita per il suo accrescimento e arricchito con gli aminoacidi che la muffa generalmente sintetizza da sola. Poi una parte della muffa venne trasferita in un terreno con un minimo di nutrienti e privo di aminoacidi. La mancata crescita in questo tipo di terreno rivelava l'incapacità di questa muffa, dovuta a mutazione, di sintetizzare alcuni degli aminoacidi essenziali: tramite questo procedimento vennero isolati i mutanti. (C) In seguito, la muffa mutante (che cresceva nel terreno arricchito ma non in quello minimo) fu posta in terreni minimi diversi, ciascuno contenente uno solo dei 20 diversi aminoacidi; in tal modo, poterono individuare quale enzima era affetto da mutazione in questo ceppo della muffa. (D) In questo esempio, una muffa che ha perso la capacità di sintetizzare l'amminoacido prolina non può sopravvivere in un terreno che ne è carente. A questo punto Beadle e Tatum cercarono di scoprire quale enzima della sequenza biochimica per la sintesi della prolina fosse inattivo, dimostrando così che la variazione di un singolo gene determinava la variazione di un singolo enzima.

Esperimento di Avery, McLeod e McCarty

L'**esperimento di Avery** (Oswald Theodore Avery) e dei suoi colleghi Colin MacLeod e Maclyn McCarty risale al 1943 e rappresenta una delle esperienze fondamentali per l'avanzamento delle conoscenze nel campo della genetica e della biologia molecolare. Essi presero le mosse dall'esperimento di Griffith e riuscirono a dimostrare che il cosiddetto *principio trasformante* (ovvero il portatore di informazioni geniche) scoperto nel 1928 da Griffith in seguito al suo famoso esperimento era il DNA. Nel suo esperimento Griffith assistette alla trasformazione dei ceppi innocui del pneumococco che causava la polmonite nei topi in forma lieve e non mortale, in ceppi virulenti che invece causavano una infezione grave e dagli esiti letali. Egli, per spiegare tale evento ipotizzò l'esistenza di un fattore trasformante non meglio identificato. Sulla base dei dati in loro possesso Avery e coll. Si procurarono una coltura di pneumococchi di tipo *S*. A questo punto lisò le cellule (cioè ne ruppe la parete e la membrana cellulare) in modo da ottenere una soluzione nella quale era disciolto il materiale contenuto nei batteri, il cosiddetto *estratto cellulare* o *lisato cellulare*. (ricorda che il significato del termine "Lisi" è rottura)



Il materiale genetico doveva presumibilmente essere uno dei diversi tipi di macromolecole biologiche presenti nei batteri: (proteine, polisaccaridi, acidi nucleici - ovvero DNA e RNA - e lipidi). Avery e colleghi riuscirono a separare l'estratto cellulare nelle varie componenti macromolecolari appena citate. Successivamente cercarono di capire quali di queste sostanze erano effettivamente in grado di trasformare batteri *R* innocui in batteri *S* virulenti. Le cavie sopravvivevano quando trattate con tutte le biomolecole tranne gli acidi nucleici: il materiale genetico doveva essere quindi DNA e/o RNA.



Per capire quale delle due sostanze fosse, divisero l'estratto contenente l'acido nucleico in due aliquote: una venne trattata con l'enzima ribonucleasi (RNasi) che degrada selettivamente l'RNA e non il DNA, l'altra venne invece trattata con desossiribonucleasi (DNasi) che degrada selettivamente il DNA e non l'RNA.

Ciò che si osservò era la trasformazione dei batteri *R* in batteri *S* solo in seguito all'aggiunta dell'aliquota trattata con RNasi. Il materiale genetico doveva allora essere necessariamente il DNA.

Il sopracitato esperimento non convinse tutti gli scienziati dell'epoca. Vi era infatti in quel periodo la convinzione diffusa (tra l'altro insita nello stesso Griffith) che il materiale genetico dovesse essere di natura proteica. Sia il DNA che le proteine sono dei polimeri. Nel caso delle proteine i monomeri (le unità base che ripetute danno il polimero) sono i 20 amminoacidi. Nel caso del DNA i monomeri sono solamente i 4 deossiribonucleotidi. Dal momento che l'informazione genetica doveva essere contenuta in queste macromolecole lineari, e considerata la grande differenza genetica tra le varie specie, pareva più sensato che il materiale genetico fosse natura proteica: in questo modo, rispetto agli acidi nucleici, sarebbero state possibili molte più combinazioni tra i vari monomeri e di conseguenza l'informazione contenuta dalla macromolecola sarebbe stata maggiore. In questo senso, pur non tralasciando l'importanza dell'evidenza sperimentale, non si può dire che l'esperimento di Avery, MacLeod e McCarty fosse la prova definitiva. Solo una decina di anni più tardi (1953) Hershey e Chase dimostrarono che il materiale genetico è costituito da DNA.

Le regole di Chargaff

Le **regole di Chargaff** derivano dagli studi condotti dal chimico austriaco Erwin Chargaff relativi al DNA contenuto nelle cellule di diversi organismi. In particolare le regole mostrano dei particolari rapporti tra le quattro basi azotate del DNA (adenina, guanina, timina e citosina). Tali regole affermano che:

- tra le basi puriniche (A+G) e le basi pirimidiniche (T+C) contenute nel DNA di una cellula esiste un rapporto specifico di 1 a 1,... Il rapporto è costante in tutte le specie, ma per specie diverse le percentuali delle varie basi saranno anch'esse diverse. Questo rispecchia la diversità genetica delle diverse specie.
- in una molecola di DNA a doppio filamento la % di adenina eguaglia quella di timina; e la concentrazione di citosina quella di guanina (%A = %T; %C = %G).¹. Questo vale per il DNA estratto dalle cellule di tutti gli organismi, anche se considerando organismi diversi le percentuali avranno valori diversi. Questa semplice regola è stata uno degli elementi essenziali che hanno permesso la formulazione del modello di DNA da parte di James Watson e Francis Crick. Grazie anche a questa regola si è dedotto come le corrette forme di appaiamento delle basi tra i due filamenti del DNA.

ESPERIMENTO DI HERSHEY e CHASE

Anche se Avery aveva dimostrato che il responsabile del flusso di informazioni era il DNA, tale tesi non convinceva la comunità scientifica che continuava a preferire l'ipotesi che il detentore dell'informazione fossero le proteine. Alfred Hershey e Martha Chase sono due scienziati che hanno lavorato, come altri prima di loro, sull'effettivo valore del DNA all'interno di un organismo e che il materiale genetico di quest'ultimo sia costituito da acido desossiribonucleico piuttosto che da proteine.

Il loro saggio provò definitivamente la teoria sopra indicata e nel 1953 venne approvata.

A quei tempi i due scienziati lavoravano con un virus, chiamato fago, che era in grado di infettare i batteri, nel loro caso si trattava del batterio *escherichia coli*; il fago preso in considerazione era il T2 (del quale si sapeva già che la sua testa era composta esclusivamente da DNA protetta da un involucro proteico).

Furono preparate due colture di batteri in parallelo:

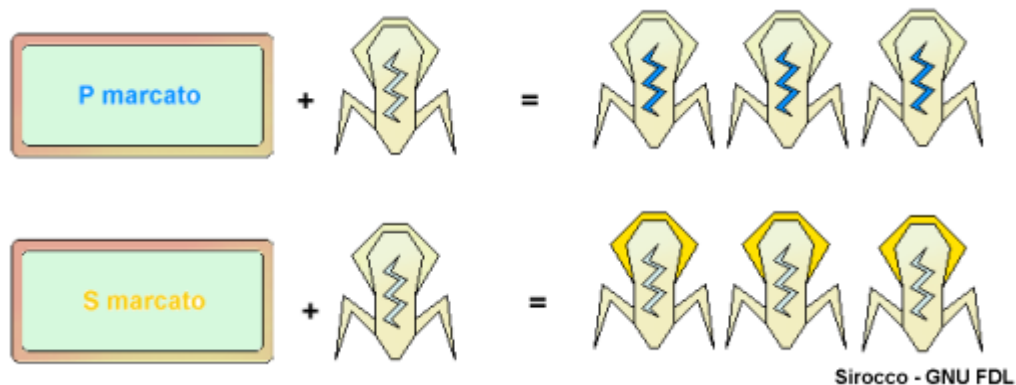
- nel terreno della prima venne introdotto fosforo marcato radioattivamente (³²P).
- nel terreno della seconda venne introdotto zolfo marcato radioattivamente (³⁵S).

I batteri delle due colture metabolizzarono da una parte il fosforo marcato e dall'altra lo zolfo marcato introducendo questi atomi radioattivi nelle biomolecole presenti all'interno delle cellule. In particolare:

- Il fosforo marcato si troverà in gran parte negli acidi nucleici; non sarà presente invece in quantità significative nelle proteine.
- Lo zolfo marcato si troverà nelle proteine e non si troverà nei nucleotidi.

A questo punto i ricercatori infettarono parallelamente le due colture batteriche con il fago T2.

Dal momento che i nucleotidi e gli amminoacidi utilizzati nella sintesi del DNA e delle proteine virali sono quelli presenti all'interno della cellula infettata, ne risulta che i fagi sviluppati dall'infezione nella prima coltura avranno un DNA marcato radioattivamente, mentre quelli sviluppati dall'infezione della seconda coltura avranno il rivestimento proteico esterno marcato radioattivamente.



Successivamente Hershey e Chase separarono le due colture di batteri dai loro terreni e le utilizzarono per infettare una nuova generazione di *escherichia coli* cresciute normalmente:

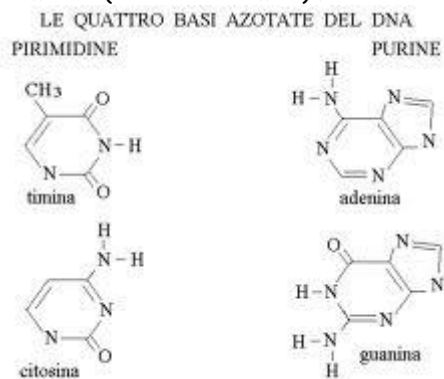
- Nel caso in cui i fagi infettanti avessero il DNA marcato, in seguito all'infezione gran parte della radioattività veniva misurata *all'interno* delle cellule batteriche colpite (e nel DNA di una parte dei nuovi fagi sviluppatasi in seguito a questa infezione).
- Nel caso in cui i fagi infettanti avessero il rivestimento proteico marcato la radioattività veniva misurata solamente *all'esterno* delle cellule batteriche colpite (e non era presente sul rivestimento proteico dei nuovi fagi sviluppatasi in seguito a questa infezione).

Per determinare se la radioattività provenisse dall'interno o dall'esterno delle cellule fu utilizzato il seguente processo: dopo un certo tempo dall'inizio dell'infezione, il terreno di coltura veniva posto in un omogenizzatore. La conseguente agitazione provocava il distacco del rivestimento proteico dei virus dalla membrana cellulare (in questo caso si parla di "ombre fagiche" poiché questi rivestimenti proteici non contengono il DNA che è già stato iniettato nella cellula). Il tutto veniva poi centrifugato: la parte cellulare (contenente eventualmente il DNA marcato) rimaneva sul fondo della provetta, mentre i rivestimenti proteici distaccati dalle membrane cellulari rimanevano in sospensione. A seconda di dove si misurava la maggiore radioattività era possibile dedurre se la molecola marcata si trovasse o meno all'interno della cellula.

1953, Watson e Crick scoprono la "doppia elica"

La storia della scoperta della struttura del DNA da parte di Jim Watson e Francis Crick è allo stesso tempo molto istruttiva e un po' diseducativa. È talmente nota che è diventata un film e che è stata raccontata da tanti oltre che naturalmente dai due protagonisti stessi. Tutti sono d'accordo che Watson e Crick hanno compiuto una scoperta geniale, ma anche che l'hanno ottenuta senza fare neppure un esperimento, utilizzando dati ottenuti da altri e mettendo insieme tante informazioni già disponibili, se non a tutti, perlomeno a molti altri ricercatori.

Alla metà del ventesimo secolo si sapeva già che il DNA era un polimero di nucleotidi e che ogni nucleotide era formato da una base azotata, da uno zucchero a 5 atomi di carbonio e da un gruppo fosforico. Le basi azotate potevano essere di due tipi: le purine (Adenina e Guanina) e le pirimidine (citosina e timina).



Una giovane e molto brillante ricercatrice, Rosalind Franklin, aveva compiuto ricerche sulla struttura del DNA utilizzando un procedimento del tutto nuovo: i diffrattogrammi ai raggi X. Le immagini a raggi X avevano fornito alcune informazioni, che nel 1952 erano già state ampiamente divulgate tra gli addetti ai lavori:

- 1) la molecola del DNA era smisuratamente più lunga che spessa, una specie di cilindro, o di spaghetti, con una sezione di circa 2 nm (nanometri, pari a 10^{-9} metri, ossia un milionesimo di millimetro),
- 2) la molecola aveva una struttura ripetitiva, con due periodicità ben distinguibili: c'era nella molecola un "modulo" che si

ripeteva ogni 0.34 nm e un "modulo" che si ripeteva ogni 3.4 nm.

Inoltre, Linus Pauling aveva di recente utilizzato la diffrattografia a raggi X per proporre un modello della struttura di una proteina, il collagene. Una particolare disposizione di macchie sul diffrattogramma era stata da lui interpretata, correttamente, come il segno di una struttura elicoidale (la alfa-elica). Una analoga disposizione di macchie sui diffrattogrammi della Franklin (helical cross) aveva convinto Crick che anche il DNA dovesse essere una molecola elicoidale. Però, quanti filamenti di DNA c'erano nell'elica? Una valutazione della densità atomica aveva indotto la Franklin ad asserire che c'erano troppi atomi per un filamento solo: dovevano essercene almeno due disposti in direzione antiparallela.

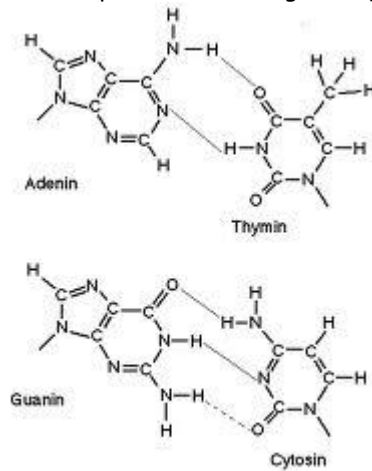
Il biochimico americano Edwin Chargaff aveva dimostrato che la composizione in basi del DNA poteva variare moltissimo da specie a specie, ma che obbediva sempre ad una regola fondamentale: la concentrazione della purina adenina era sempre uguale a quella della pirimidina timina, e la concentrazione della purina guanina era sempre uguale a quella della pirimidina citosina, quindi le concentrazioni totali di purine e quella di pirimidine erano sempre uguali (50%). Watson e Crick ragionarono che la regola di Chargaff poteva essere spiegata se ad ogni adenina (su un filamento) fosse legata, con legami idrogeno, una timina (sull'altro filamento) e che lo stesso avvenisse tra guanina e citosina.

A questo punto, Watson decise che tutte le informazioni disponibili dovevano essere combinate in un modello "fisico" (o meglio "fai da te"), cioè una costruzione di fili di ferro e sagome di cartone, come sapeva aveva fatto Pauling per il suo collagene.

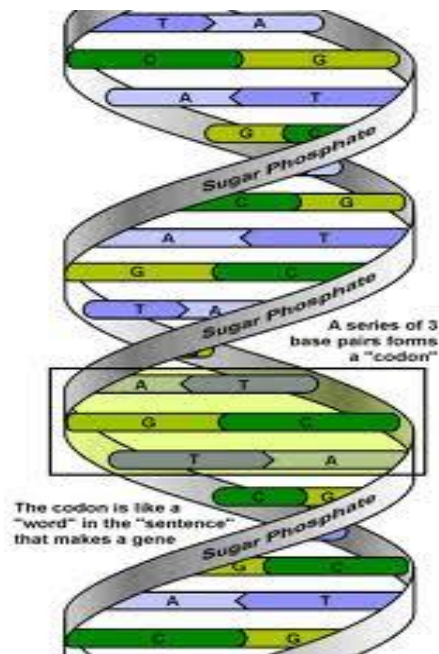
Watson ipotizzò che i filamenti di DNA dovevano essere due per molecola, che lo scheletro zucchero fosfato doveva trovarsi all'esterno del cilindro, e che le basi, impaccate come un mazzo di carte dovevano stare all'interno del cilindro. Ma come interagivano tra loro le basi azotate dei due filamenti? Si sapeva che i legami idrogeno, sensibili al calore, giocavano un ruolo importante nella struttura del DNA: esposta a 70-80°C una soluzione di DNA molto viscosa perdeva la sua viscosità; a quelle temperature i legami chimici covalenti sono stabili e gli unici legami che si rompono sono i legami-idrogeno.

Rimaneva da dimostrare che adenina e timina (e guanina e citosina) potessero formare tra loro i legami idrogeno necessari per l'ipotetico legame.

Watson riuscì presto a visualizzare la possibilità di due legami idrogeno tra adenina e timina e di tre legami idrogeno tra guanina e citosina: quello doveva essere il collante che teneva assieme i due filamenti del DNA! Il fatto che davanti ad ogni purina stava una pirimidina e viceversa, permetteva al DNA di avere una dimensione costante: infatti due pirimidine avrebbero avuto una sezione molto più stretta di due purine, che sono grandi quasi il doppio.



Con filo di ferro, sagome di cartone e moltissima pazienza, Watson e Crick costruirono modelli su modelli, sino a che tutte le informazioni disponibili non furono soddisfatte. Quando ebbero messo insieme la "doppia elica", di 2 nm di diametro, con le basi appaiate distanziate di 0.34 nm, il passo dell'elica pari a 10 coppie di basi (3.4 nm), e le due eliche antiparallele (cioè con i legami zucchero-fosfato in direzione 3'-5' su una elica e 5'-3' sull'altra), capirono che "era troppo bella per non essere vera".



L'unica vera invenzione era la complementarietà tra due eliche antiparallele, ma l'insieme del modello costituiva una novità assoluta! Un tale modello apriva la strada anche alla risoluzione di un aspetto che fino ad ora non abbiamo considerato: nella struttura della molecola del DNA deve essere presente anche una caratteristica che permetta a questa molecola di avere la capacità di auto duplicarsi, ossia di copiare se stessa. La struttura a doppia elica suggerisce il meccanismo di replicazione del DNA...Tale meccanismo "semiconservativo" fu dimostrato sperimentalmente da Meselson e Stahl nel 1958.

Watson, Crick e Wilkins furono insigniti del Premio Nobel per la Medicina nel 1962. Rosalind Franklin era già morta di leucemia da alcuni anni.