GIORGIO TECCE, IRENE BOZZONI (*)

Chimica e biologia molecolare (**)

La biologia molecolare è una disciplina nata recentemente, infatti l'inizio dello studio a livello molecolare dei processi biologici si può far risalire a non più di 50-60 anni fa. Come in tutte le discipline giovani, anche nella biologia molecolare, è facile identificare l'importanza del contributo dato da altri campi di indagine nello stabilire nuove impostazioni concettuali e nuovi approcci metodologici. In particolare è stato determinante l'interesse che ricercatori operanti in campi anche non strettamente biologici hanno rivolto allo studio di fenomeni biologici. Un grosso contributo a questo proposito venne dalla pubblicazione del libro di Erwin Schrodinger, *What is life*, nel 1943. Esso ebbe un grosso impatto prevalentemente su fisici e chimici stimolandone l'interesse allo studio di problemi biologici ed in particolare suggerendo che anche la biologia, così come le scienze classicamente definite esatte, potesse essere studiata utilizzando le stesse leggi che si applicano allo studio di fenomeni chimici e fisici.

Per quanto riguarda la fisica e la chimica, il maggior contributo è stato dato alla definizione della struttura di molte macromolecole biologiche. Bisogna sottolineare che l'importanza di questo contributo diventa molto maggiore se si tiene in considerazione il fatto che, attraverso il chiarimento della struttura, si è riusciti spesso a comprendere il ruolo e la funzione di molte macromolecole biologiche.

Nella storia dello sviluppo delle conoscenze scientifiche si è sempre potuto rilevare l'importanza fondamentale dell'interdisciplinarietà. Un esempio di questi giorni ci aiuta ancora più facilmente a dimostrare questo aspetto. Gli avvenimenti contemporanei sono sempre esemplarmente più incisivi di quelli relegati principalmente alla memoria dei libri.

L'esempio è dato dall'attribuzione per l'anno 1989 del Nobel per la chimica a due ricercatori, Thomas Cech e Sidney Altman, che hanno potuto attribuire all'RNA, molecola alla quale venivano assegnate solo funzioni di trasferimento dell'informazione genetica, anche funzioni catalitiche.

(*) Facoltà di Scienze M.F.N., Università di Roma « La Sapienza ».

(**) Relazione presentata al Convegno, « La chimica: storia, fondamenti, prospettive », Roma, Dipartimento di chimica, Università di Roma « La Sapienza », 6-7 Novembre 1989.

Scoperta questa che, come vedremo più avanti, ha rivoluzionato non solo il concetto di enzima, ma che ha aperto nuovi orizzonti alle ipotesi sulla origine e sulla evoluzione delle prime forme viventi.

Tornando al passato, e ripercorrendo brevemente alcune fasi fondamentali per lo sviluppo della biologia molecolare che hanno avuto un contributo rilevante dalla chimica, dobbiamo fermarci agli studi sulla definizione della struttura del DNA, molecola depositaria dell'informazione genetica. Vale la pena sottolineare, anche in questo caso, che il contributo dato alla definizione della struttura dei componenti di base del DNA, cioè dei nucleotidi, e della macromolecola nella sua complessità, non è stato semplicemente un contributo di tipo strutturale, ma ha aiutato a prevedere il meccanismo del funzionamento di questa macromolecola. Dalla identificazione, da parte di F. Miescher nel 1869, della nucleolina, sostanza nucleare non proteica, alla definizione della struttura e funzione del DNA sono passati poco meno di cento anni. Accanto agli studi di genetica classica che a partire dalla prima metà del secolo avevano permesso di dimostrare il ruolo fondamentale del DNA come molecola depositaria e propagatrice dell'informazione genetica, le tappe principali che hanno avuto un contributo dalla chimica, non disgiuntamente dalla fisica, sono state numerose. La fine degli anni trenta avevano visto finalmente la definizione della struttura di nucleosidi e nucleotidi; negli anni cinquanta era stata chiarita la struttura ad α-elica delle proteine; i lavori di Franklin e Wilkins sulla diffrazione ai raggi X del DNA avevano permesso, intorno al 1950, di definire che esso era una molecola elicoidale con lo scheletro dei fosfati all'esterno e le basi all'interno e di misurarne il diametro.

Il rapporto 1:1 tra A e T e tra G e C era stato definito da Chargaff nel 1949, e l'esistenza dei legami idrogeno tra le basi fu chiarito da Gulland nel 1948.

Alla fine del 1952, però, non si era ancora riusciti ad elaborare una struttura definitiva per il DNA. La soluzione fu trovata da Watson e Crick ai quali pervenne, da parte del chimico Donohue, un ultimo e determinante dettaglio, ovvero l'utilizzazione dell'esatta forma tautomerica delle basi.

Come gli stessi autori ricordarono: « Il punto cruciale fu quando chiedemmo a Donohue circa le forme tautomeriche, poiché quando egli ci indirizzò noi potemmo finalmente fare i legami idrogeno... e spiegare il rapporto 1:1 (tra pirimidine e purine) appaiando le basi ». Come già detto il modello di struttura del DNA fatto da Watson e Crick ebbe implicazioni ancora più importanti per quello che riguarda la funzione di questa macromolecola.

Gli stessi autori riuscirono a spiegare, attraverso la complementarietà G-C e A-T, il concetto di stampo e di riproducibilità nel trasferimento dell'informazione codificata dalla sequenza nucleotidica lungo la molecola di DNA: « Se solo specifici accoppiamenti di basi possono essere formati, ne deriva che data la sequenza di basi su una catena, la sequenza sull'altra catena è determinata automaticamente... non è sfuggito alla nostra attenzione che l'appaiamento specifico che abbiamo postulato suggerisce immediatamente un possibile meccanismo di ricopiatura del materiale genetico » (*Nature*, *171*, 737-740, 1953).

Oltre a suggerire un modello di duplicazione del DNA, Watson e Crick presentarono anche un'ipotesi per l'instaurarsi di mutazioni: le mutazioni spontanee possono essere dovute ad una base occasionalmente presente in una delle sue forme tautomeriche meno probabili, che porta ad un appaiamento non canonico. Le ipotesi di Watson e Crick, basate tutte sull'analisi della struttura del DNA, hanno anticipato di circa dieci anni, e forse hanno anche ispirato, gli esperimenti che hanno portato alla definizione del meccanismo di replicazione del DNA, della trascrizione e della decifrazione del codice genetico.

Se ci avviciniamo ai nostri giorni possiamo presentare altri due contributi rilevanti della chimica alla biologia molecolare: la sintesi chimica e il sequenziamento del DNA.

La prima fu raggiunta con successo da Khorana con la sintesi chimica di un gene (Nobel per la chimica nel 1968) e il secondo messo a punto da Maxam e Gilbert nel 1977 (Nobel per la chimica nel 1980). Ambedue queste metodologie hanno avuto grosse ricadute sia in campo applicativo che nella ricerca di base.

In campo applicativo si può facilmente capire l'importanza della possibilità di sintetizzare artificialmente dei geni codificati per ottenere proteine d'interesse biotecnologico per mezzo di organismi semplici; per quanto riguarda la ricerca di base è importante ricordare il contributo che l'utilizzazione di queste tecnologie ha portato alla identificazione di molti meccanismi di base che regolano l'espressione genetica e processi quali lo sviluppo e il differenziamento cellulare, oltre ad aver permesso lo studio a livello molecolare dei meccanismi evolutivi di differenziazione tra specie.

A questo proposito bisogna ricordare che da qualche anno è operativo un programma mondiale di sequenziamento del genoma umano che ha come scopo di fornire una topografia particolareggiata della localizzazione dei geni e della loro distribuzione nei cromosomi. Questo si pensa sarà di notevole aiuto per lo studio delle malattie genetiche e per la comprensione di come sia strutturata l'informazione genetica nell'uomo. Con questi esempi ed applicazioni interessanti, che si stanno estendendo sempre più, e che tendono ormai ad essere accomunate sotto il nome di biotecnologie, potremmo continuare molto a lungo, anche se dobbiamo dire che queste applicazioni sono ormai divenute familiari a molti.

Invece, a conclusione di questa breve relazione, vorrei descrivere l'importanza pratica e concettuale della recente scoperta, di cui prima riferivo, delle proprietà catalitiche dell'RNA.

Fino a pochi anni fa esisteva la convinzione che i meccanismi generali del funzionamento del materiale genetico fossero stati completamente chiariti e potessero essere semplicemente riassunti nel paradigma: il DNA conserva e propaga l'informazione genetica, l'RNA ne permette l'espressione. Gli acidi nucleici erano quindi visti solo come molecole informazionali in contrapposizione alle proteine molecole funzionali che catalizzano ciascuna alcune migliaia di quelle reazioni chimiche sulle quali si basa il metabolismo cellulare. Questo schema dicotomico è stato sovvertito dalla scoperta che l'RNA può fungere da enzima.

L'RNA ribosomale precursore del protozoo *T. thermophila* è in grado di catalizzare le rotture e saldature che portano alla riduzione in lunghezza della molecola necessaria alla formazione dell'RNA maturo.

Il meccanismo con cui questo avviene è in tutto simile a quello di un enzima: a) la reazione è accelerata di molti ordini di grandezza; b) la struttura tridimensionale della molecola è cruciale ai fini dell'attività enzimatica; c) il meccanismo d'azione implica che i due substrati restino molto vicini e con uno speciale orientamento spaziale. Inizialmente l'unica differenza con un enzima classico era che questo « ribozima » sembrava in grado di agire solo su se stesso. Poco tempo dopo i primi esperimenti è stato dimostrato che il « ribozima » era però anche capace di agire su substrati esterni, come per esempio sintetizzare o scindere corti oligoribonucleotidi.

Questo risultato aveva profonde implicazioni poiché la polimerizzazione dell'RNA costituisce un requisito necessario per la duplicazione di geni fatti di RNA. Due impostazioni concettuali, una di tipo funzionale e l'altra di tipo evolutivo, molto radicate nel pensiero scientifico moderno sono state perciò rivoluzionate da questi risultati: 1) non si può presumere che dietro ogni attività catalitica della cellula vi sia una proteina (si potrebbe per esempio assumere che nel ribosoma il componente ad attività catalitica sia l'RNA e non le proteine); 2) il dibattito su quale sia stata la prima macromolecola « vivente » che vedeva in lizza solo DNA e proteine viene ora ad essere sovvertito con l'introduzione dell'RNA e la risoluzione del problema a suo favore. Poiché proteine ed acidi nucleici sono interdipendenti si pensava che essi avessero dovuto evolversi insieme.

La scoperta che l'RNA può fungere da catalizzatore oltre che da molecola informazionale suggerisce che quando ebbe origine la vita l'RNA possa aver svolto tutte le funzioni necessarie, riproduzione e attività biosintetiche, senza la presenza di DNA e proteine.