

Scienza Speciale Dna

Le altre due tappe fondamentali nello sviluppo della biologia molecolare
Le tecniche del Dna ricombinante e il ruolo dell'acido poliribonucleico

Quella scoperta così ideologica

GIANCARLO ANGELONI

■ Era la fine di marzo del 1953. James Watson e Francis Crick erano alle prese con la stesura definitiva dell'articolo che la rivista «Nature» avrebbe poi pubblicato nel numero del successivo 25 aprile.

Senza alcun freno all'immodestia, ma dando spazio ai toni familiari, è Watson stesso a raccontare, nel suo libro «La doppia elica», quei momenti: «Poiché la nostra dattilografia del Cavendish non era disponibile, il breve lavoro fu affidato a mia sorella. Ci dedicò volentieri un sabato pomeriggio quando le dicemmo che in questo modo avrebbe partecipato all'avvenimento forse più famoso della storia della biologia dai tempi del libro di Darwin.

Francis e io le stavamo al fianco mentre lei batteva il nostro articolo di novecento parole, che cominciava: «Desideriamo proporre una struttura per il sale dell'acido desossiribonucleico (Dna). Questa struttura presenta caratteristiche nuove, che sono di notevole interesse biologico».

In effetti, l'interesse fu dirompente, come fu drammatico l'impatto non solo per gli orientamenti che hanno segnato il tumultuoso e febbrile sviluppo della genetica moderna durante questi quarant'anni, ma per ciò che — tra mito e realtà — ha saputo colpire, universalmente, l'immaginario collettivo. Prodigiose promesse di vantaggi e di giovamenti per l'umanità, mescolate a paure profonde, ancora oggi inseguono quella lunga figura, ovunque

schematizzata, che si snoda un po' come una scala a chiocciola, un po' come un serpente.

Virtù, certo, della «centralità» di quella molecola, del suo essere punto cruciale di ogni riflessione, scientifica e filosofica, umana e morale, per tutto ciò che tiene insieme la memoria del passato, l'identità del presente, l'enigmistica del futuro. Ma anche, forse, per il modo in cui quella struttura apparve sulla scena scientifica internazionale.

Il genetista Marcello Siniscalco, che già nella sua tesi di laurea, qualche anno prima del 1953, si era occupato di acidi nucleici, oggi commenta: «Fu una scoperta "ideologica" non sperimentale; e tutto

quello che è venuto dopo non ha nulla di così acutamente intuitivo. Ci sono stati, è vero, contributi importanti, a volte importantissimi, che tuttavia rientrano nella linea delle grandi applicazioni».

Tre sono forse i contributi — di idee e di ricerca — che più hanno concorso, in questi quarant'anni, ad ampliare gli orizzonti della genetica moderna. Dalla risoluzione della struttura del Dna è scaturito il codice genetico, cioè quel piccolo «dizionario» che consente di collegare il linguaggio a quattro lettere degli acidi nucleici con il linguaggio a venti lettere delle proteine. È venuta, poi, la tecnologia del Dna ricombinante. Attraverso di essa, come in un mescolamento di carte, è stato possibile

collocare vicine le une alle altre, per mezzo di manipolazioni di laboratorio, molecole di Dna le cui sequenze non erano in natura contigue.

Si è affacciata, infine, un'ipotesi molto affascinante sull'origine della vita, che si basa sull'Rna, cioè la forma depositaria dell'informazione genetica alternativa al Dna. Questo acido nucleico è, peraltro, molto simile al Dna, perché al posto dello zucchero desossiribosio contiene semplice ribosio, e perché, invece della timina, ha un'altra base, l'uracile. In sostanza, si può dire che l'Rna usa lo stesso linguaggio del Dna, ma con un accento differente. Parliamo, allora, da qui, da questa diversa «condenza» della vita.



Qui accanto Francis Crick. Nella foto a sinistra Crick e Watson prendono il caffè. A centro il disegno di Mitra Drivshah. In basso i due scienziati a passeggio e la coppia elica del Dna

Conversazione con Alberto Piazza, autore dell'«atlante» dei geni umani

Il concetto di razza? Una sciocchezza

■ La genetica molecolare ci fa tutti più uguali. E per abbattere il concetto di razza, implicito negli stessi intendimenti che sono o sono stati quelli di una certa biologia e antropologia, propone di riportare il termine alla sua etimologia originaria, quale fu identificata nel 1959 dal filologo Gianfranco Contini: cioè, *horra*, come nel francese antico si indicava un allevamento di cavalli, un deposito di stalloni (e, difatti, anche in italiano è rimasta l'espressione «cavallo di razza»). Insomma, per Alberto Piazza, ordinario di genetica umana all'Università di Torino, il razzismo (putroppo) esiste, ma la razza non si può riferire alla nostra specie.

Tra i principali collaboratori di Luca Cavalli Sforza, Alberto Piazza ha firmato con lui, e con l'ecologo umano Paolo Menozzi, un volume di grande impegno, «Storia e geografia dei geni umani», che apparirà in autunno presso la Princeton University Press. Un'osservazione che se ne potrà trarre è che nella totalità delle popolazioni, o quasi, tutti i geni che si conoscono sono presenti, anche se con frequenze differenti, e che, di conseguenza, nessun gene singolo è sufficiente a classificare le popolazioni umane in categorie sistematiche. Si vedrà, invece, che gli eventi evolutivamente più importanti, che si rispecchiano nei nostri geni, sono quelli legati a fattori storici, dovuti a grandi movimenti; e questi movimenti — dice Piazza — che sono espansioni di popolazioni, vanno messi in relazione a cambiamenti culturali, l'agricoltura, l'invenzione della ruota, l'addomesticazione del cavallo, la possibilità di spostarsi più rapidamente.

Evidentemente, professor Piazza, la scoperta della struttura del Dna ha molto a che fare con tutto questo...
Già Darwin aveva intuito un difetto di prospettiva, insofferente all'antropologia che, per semplicità, si limitava allo studio dei caratteri esteriori, quando notava che la specie umana è unica e come «una difficile identificazione caratteri di chiara evidenza biologica che separino le razze»; concludendo poi che, una volta accettati i

principi dell'evoluzione, «le discussioni tra chi sostiene l'esistenza di sottospecie o razze morranno di una morte silenziosa cui nessuno farà caso». Darwin, però, non conosceva le leggi del mendelismo; e, pur facendo enormi sforzi per individuare i meccanismi dell'ereditarietà, non riuscì a capire che l'ereditarietà procede per passi discreti, non continui: tanto che nessuno potrà mai dire che, da un padre alto e da una madre bassa, debbano nascere un figlio di statura intermedia.

È l'unità discreta, il gene, discendente perché c'è oppure non c'è, a render conto della natura probabilistica della trasmissione ereditaria. In questo senso, la profecia di Darwin, quella sua luminosa intuizione si è avverata solo molto di recente, quando è stato possibile esaminare i dati molecolari e quelli delle sequenze di Dna. E quale portata può avere il fatto che i fenomeni messi in luce dalla biologia non siano di tipo lineare?

È un capolavoro concettuale l'importantissimo. Dal versante della fisica, espressa classicamente nel suo paradigma galileiano, la biologia può essere vista come una scienza un po' «sporca», che non si risponde ad un problema con un'equazione. In realtà, si tratta di altro. E che nella biologia entra la storia, e il Dna è il depositario di questa storia. Ma la storia evolutiva, l'evoluzione, non è oggetto di esperimento: è qualcosa che possiamo solo decifrare, non ripetere. Qui sta, d'altra parte, l'interesse del paradigma biologico: nel guardare all'interazione tra storia e cultura, ai punti in comune che sono intrinsecabili tra la trasmissione dei geni e la trasmissione della cultura. Se si considera che lo scimpanzé e l'uomo moderno condividono il 98 per cento dei geni, si può ben capire quanto intensa sia stata l'accesa della scintilla culturale in quel due per cento di diversità, dove si è andata notando una polenzialità evolutiva di altissima rilevanza, di cui i dettagli costituiscono il fascino dei nostri tentativi di ricostruzione.

Rna, il grande fratello motore dell'evoluzione

■ Quello in cui viviamo può dirsi il mondo delle proteine. Ma c'è un'ipotesi che circola ormai da una trentina d'anni, e che di recente ha ricevuto il sostegno di importanti indicazioni sperimentali, secondo cui, quando ancora le proteine non esistevano, il mondo era dell'Rna. Sarebbe stato lui il «grande fratello» del Dna, a dare l'incipit. In che modo? Fissiamo qualche fotogramma nel film dell'origine della vita.

Dopo la sfera di fuoco, quindici miliardi di anni fa, in cui non c'era spazio-tempo, né atomi di carbonio, ma solo elio e idrogeno, cominciano a comparire gli elementi più complessi — compresi i cruciali metalli divalenti, come magnesio, zinco, calcio — che poco alla volta andranno ad occupare la tavola di Mendeleev, fino ad allora vuota. Verrà, poi, quattro miliardi e mezzo di anni fa, la formazione del sistema solare; e infine, due miliardi di anni dopo, la comparsa della vita. La vita intesa come sistema capace di replicarsi. Ed è qui che gioca un ruolo fondamentale la conformazione degli acidi nucleici.

Dice il professor Glauco Tocchini-Valentini, direttore dell'Istituto di biologia cellulare del Cnr, di Roma: «Una prima cosa da considerare è che, mentre il Dna, con la sua doppia elica, è una struttura rigida, l'Rna, in generale, consiste di un solo filamento che si raggrupola su se stesso, come una proteina, formando così cavità che possono assumere una grande varietà di forme. C'è poi da dire che, stando a quell'ipotesi secondo cui le uniche molecole importanti per la vita erano all'inizio costituite solo da Rna, lo stesso doveva valere, evidentemente, per gli enzimi: insomma, di necessità, anche i catalizzatori delle reazioni chimiche erano composti ai primordi di Rna».

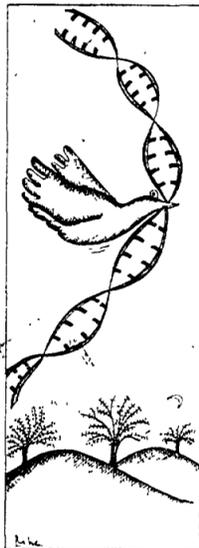
A questa teoria, cui si è molto interessato in passato lo stesso Crick, si opponeva però un ostacolo che sembrava insormontabile. Le basi dell'Rna — si diceva — non hanno la «versatilità» degli aminoacidi, perché, contrariamente ad essi, non possiedono quelle catene laterali che rendono possibile la chimica della catalisi. Ma ecco la sorpresa. Nel 1981, dall'Università del Colorado, a Boulder, il ricercatore Thomas Cech annunciò di aver scoperto una molecola di Rna, che chiama ribozima (in seguito verranno individuati altri ribozimi), capace di funzionare come enzima. E sarà per questo lavoro che Cech riceverà più tardi il premio Nobel.

La scoperta americana riaccende l'ipotesi di un mondo primordiale dell'Rna, anche se evidentemente non tutto è chiarito. Resta quanto meno da capire chi svolga nei ribozimi la funzione delle catene laterali delle proteine. E qui una possibile risposta si trova proprio in quella particolare struttura raggomitolata dell'Rna, in cui si vengono a creare nicchie e cavità. «E in alcune di queste nicchie — precisa Tocchini-Valentini — che vanno a collocarsi specificamente i metalli divalenti. Il magnesio, ad esempio, coordina intorno a sé da sei ad otto molecole di acqua; e sarà questa acqua attivata l'elemento centrale della catalisi».

Ma c'è di più. «È molto probabile — aggiunge — che sia direttamente l'Rna, contenuto nei ribozimi, e non le proteine di questi corpuscoli cellulari, a catalizzare la sintesi della catena proteica. L'Rna dei ribozimi sarebbe, quindi, un «relitto» ma un relitto funzionante, del mondo passato. È per ciò che tutte le tecnologie di questo tipo rivestono oggi un enorme interesse, non solo per capire i meccanismi che hanno operato nelle fasi primordiali della

vita, ripercorrendo così all'indietro le strade dell'evoluzione, ma perché esse consentono di compiere «esperimenti darwiniani» direttamente in provetta, in quanto non occorre sapere la chimica di un'interazione, dato che l'interazione viene ottenuta utilizzando la selezione stessa. Infatti, grazie alla peculiarità di una struttura raggomitolata in cui le cavità si insinuano, è possibile selezionare, da una popolazione di molecole di Rna, quelle che riconoscono una data molecola specificamente; ad esempio, una molecola che funzioni nel sistema nervoso dell'uomo come neurotrasmettitore».

E perché, allora, nel corso dell'evoluzione, l'Rna avrebbe dovuto fare un po' del suo posto al «grande fratello» e alle proteine? «Perché — risponde Tocchini-Valentini — il Dna è più stabile e meno soggetto a degradazioni. Negli acidi l'Rna si rompe a pezzi, il Dna no. Quanto alle proteine, perché esse in generale sono migliori catalizzatori dell'Rna. Ci sono, però, molti enzimi proteici che utilizzano i metalli divalenti come la Rna; contengono, cioè, dei siti, anch'essi delle cavità, dove i metalli si fissano e coordinano l'acqua, che mette in moto la catalisi».



Le biotecnologie inaugurano la grande industria della vita

■ Dopo il 1953, l'ingegno che consentì di svelare il «disegno» del Dna, ne aguzzò degli altri. Definiva una volta per sempre il fatto che i geni fossero composti di Dna, c'era ancora tutto da scoprire. Nulla, o quasi, si sapeva della molecola; e così, nei vent'anni successivi, il più grosso impegno fu messo nell'accumulare conoscenze che consentissero di trattare il Dna sotto l'aspetto biochimico. Si formò una nuova, vivacissima disciplina, la biologia molecolare; e da essa, come un'affiliazione a vocazione tecnico-applicativa, scaturì l'ingegneria genetica, quando ormai l'indagine biochimica si fece tanto approfondita da rendere possibile la sintesi manipolare del Dna.

Che cosa successe a partire da quel momento? Quali furono i nuovi scenari? Il direttore dell'Istituto di ricerche di biologia molecolare, un centro a Pontedera, vicino Roma, che si avvale del finanziamento della Merck Sharp & Dohme e della Sigma Tau, oltre che di un contributo del governo italiano — è, per il ruolo che svolge in un settore di competenze che è tra ricerca di base e ricerca applicativa, un utile interlocutore.

«Ciò che accadde intorno alla metà degli anni Settanta — risponde Cortese — è che la possibilità di manipolare il Dna decretò in qualche modo la fine del mistero di questa molecola. Si chiuse, emblematicamente, un cerchio: e la pietra miliare di questo processo fu quando si riuscì per la prima volta a clonare il Dna che codifica per l'emoglobina umana. Nacque, insomma, una tecnologia del Dna, verso cui si rivolsero gli interessi di grandi gruppi industriali, che oggi delimitano la «matura», perché assai solida base. Vale forse un esempio per tutti: quello dell'eritropoietina, un ormone complesso quanto l'insulina, anch'essa ottenuta già da tempo per via biotecnologica, ma che, contrariamente ad essa, si ritrova nei liquidi biologici in quantità che si possono definire quasi infinitesime. Se si pensa che l'eritropoietina promuove la sintesi dei globuli rossi, e trova quindi indicazione nel trattamento delle anemie, si può capire allora quale fu l'impatto su larghi settori della medicina, quando una decina di anni fa, si riuscì a produrre questo ormone per mezzo della tecnologia del Dna».

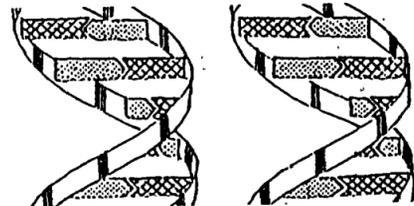
Per capire quale sia stato il successo scientifico (e la spinta commerciale) di quella tecnologia del Dna, che Cortese delimita «matura», basterà riportare un dato neppure troppo aggiornato: alla fine del 1989, negli Usa, si trovavano nella fase di sviluppo clinico o di registrazione, presso la Food and drug administration, ben 104 farmaci e vaccini. La sola eritropoietina ha un fatturato annuo di un miliardo e mezzo di dollari.

Ma, ora, che cosa batte alla porta? «La tecnologia del futuro — dice Cortese — è la manipolazione del Dna «in vivo», cioè la terapia genica. Quella

di tipo somatico, che non cambia il patrimonio genetico, ma solo il fenotipo, e quella germinale. Quest'ultima è giunta alle soglie della fattibilità, tanto che si applica alle piante. Così, in via ipotetica, perché sappiamo tutti quali sono i problemi principalmente di ordine etico che queste tecniche sollevano, non è azzardato affermare che, in questi anni Novanta, si potrebbe riuscire ad introdurre cambiamenti nel patrimonio genetico dell'uomo».

Diverso è il discorso per la terapia genica somatica. «In questo campo — aggiunge Riccardo Cortese — c'è un notevole investimento in tutto il mondo, allo scopo di trovare gli strumenti per trasformare delle possibilità di laboratorio in prodotti e risultati che abbiano una controparte commerciale. Ma qual è l'ordine degli investimenti per affrontare, in modo congruo, attraverso la terapia genica tutte le malattie genetiche, che nel loro complesso, fortunatamente, sono rare? Gli esperimenti pilota, compiuti sull'uomo in questo campo, hanno avuto successo, ma hanno mostrato anche una grande complessità di problemi. Diverso sarebbe il discorso se si trovasse una sorta di «chiave universale», capace di aprire, per molte o per tutte le malattie genetiche, ogni tipo di serratura».

Insomma, la terapia genica non approderà a Wall Street? «No, non lo penso, perché — risponde Cortese — le compagnie che sono orientate verso questo tipo di ricerche hanno grande credito a Wall Street. La mia valutazione, comunque, è che occorreranno ancora dieci anni di sviluppo perché ciò possa accadere. Bisognerà che ai grossissimi passi avanti nella ricerca corrispondano reali benefici economici».



I pionieri italiani che lanciarono la nuova scienza

■ La fine degli anni 40 ed i primissimi anni 50 sono segnati, in un susseguirsi rapidissimo di eventi, dalla dimostrazione che il Dna è il portatore della informazione ereditaria, alla elucidazione della struttura della doppia elica, al chiarimento del processo di replicazione perfettamente coerente con quella struttura e già previsto da Watson e Crick. In Italia l'attenzione per questi argomenti era all'epoca molto forte ma limitata ad un gruppo relativamente esiguo di studiosi che avevano forti e frequenti contatti con l'estero ed in particolare con gli Stati Uniti e la Gran Bretagna. In particolare, a Roma si era formato un gruppo interdisciplinare di biologi e fisici coordinato da Graziosi (biologo) e Cortini (fisico) che si occupava di virus batterici (i «fagi») e di cui faceva parte Enrico Cafè autore di una delle primissime

tesi di Biologia molecolare (il termine allora non esisteva), nel 1951, proprio sul Dna del fago.

Fra Milano e Pavia esisteva un altro gruppo che gravitava in parte sull'Istituto sierologico milanese dove lavorava Luigi Luca Cavalli Sforza, in parte sulla Università di Pavia dove Adriano Buzzati Traverso, titolare di una delle prime cattedre di Genetica del nostro paese, aveva già raccolto un certo numero di giovani ricercatori brillanti e moderni, il seme da cui sarebbe nata una parte determinante della genetica e biologia molecolare italiana. Mi racconta Enrico Cafè che è ora ordinario di Genetica alla seconda Università di Roma (Torvergata), che le prime notizie su quanto stava avvenendo gli furono date, in una riunione amichevole nel corso di Cavalli Sforza, da Visconti di Modrone

che veniva dagli Stati Uniti dove aveva lavorato con Delbruck, uno dei fondatori della genetica del fago.

Visconti di Modrone espone allora i dati recenti di Hershey e Chase che avevano definitivamente dimostrato il ruolo di portatore della informazione genetica del Dna proprio utilizzando un ingegnoso sistema sperimentale basato sul fatto che i fagi infettano i batteri iniettando il proprio materiale ereditario che poi vi si riproduce utilizzando lo hardware della cellula ospite. Il racconto di Visconti suscitò un grandissimo interesse per cui la notizia della scoperta della struttura del Dna pervenuta pochi mesi dopo non colse impreparati gli studiosi italiani che del resto conoscevano Watson.

Questi infatti era stato presentato alla comunità scientifica italiana da Renato Dul-

becco come uno dei migliori allievi di un altro studioso di fago, Salvador Luria, ed aveva tenuto poco tempo prima un'appiudito seminario a Roma su invito di Franco Graziosi. Bisogna dire che le notizie della soluzione di alcuni dei maggiori problemi della genetica e dei rapidi progressi della genetica molecolare, se stimolarono un numero crescente di giovani ricercatori italiani ad entrare in questo campo non raggiunsero la massa dei biologi italiani se non dopo un certo tempo.

Si può anzi affermare che l'utilità euristica delle nuove metodologie di indagine fu per un certo periodo guardata con diffidenza da molti sia per l'impostazione ancora di tipo descrittivo che molta biologia italiana allora conservava, sia anche per l'entusiasmo riduzionista dei neonati genetisti molecolari. Del resto la stessa genetica era allora rappresen-

tata in Italia da sole tre cattedre i cui titolari (Buzzati Traverso, Barigozzi, Montalenti) possono essere a buon diritto considerati i fondatori di questa disciplina nel nostro paese. Infatti, se si scorrono i primi volumi degli Atti dei Congressi annuali della Associazione genetica italiana si vede che, a parte alcuni lavori pubblicati nei primi anni 50 da embriologi interessati agli acidi nucleici, bisogna aspettare gli anni 60 per trovare una presenza consistente degli studi molecolari. Da allora, per fortuna, molta acqua è passata sotto i ponti ed ora le idee propagate da un gruppo sparuto di giovani entusiasti sono diventate patrimonio di molti ed hanno fatto sì che il nostro paese non sfigurò fra quelli più sviluppati in uno dei campi di ricerca più interessanti (forse anche più pericolosi) di questo secolo.

In regalo con **AVVENIMENTI** in edicola

IL POSTER DELL'EUROPA

La carta geografica del continente con i nuovi Stati e i nuovi confini

Per gli studenti, per gli insegnanti, per tutti i cittadini d'Europa