



Supplemento del Notiziario

dell'Istituto Superiore di Sanità



Cinquant'anni dalla scoperta del DNA

Alcune ricerche dell'Istituto Superiore di Sanità

Un contributo alla diffusione della cultura scientifica nelle scuole

Volume 16
Numero 2
Supplemento 1
2003

ISSN 0394-9303



Sommario

| | |
|---|----|
| Introduzione | 3 |
| Le "Printemps" del DNA all'Istituto Superiore di Sanità | 5 |
| Il DNA: una struttura in movimento | 7 |
| Il DNA: contributo allo studio del differenziamento cellulare | 9 |
| La scoperta del DNA e i tumori | 12 |
| Danno al DNA: mutazioni e tumori | 15 |
| Ingegneria genetica e nuove strategie di immunoterapia dei tumori | 18 |
| Concorso per il cinquantenario del DNA | 21 |
| Quindici passi per conoscere il DNA | 22 |
| Progetti ISS | 23 |

L'Istituto Superiore di Sanità

è il principale ente di ricerca italiano per la tutela della salute pubblica.
È organo tecnico-scientifico del Servizio Sanitario Nazionale e svolge attività di ricerca, sperimentazione, controllo, consulenza, documentazione e formazione in materia di salute pubblica.
L'organizzazione tecnico-scientifica dell'Istituto si articola in
Dipartimenti, Centri nazionali e Servizi tecnico-scientifici

Dipartimenti

Sanità alimentare ed animale
Malattie infettive, parassitarie ed immunomediate
Farmaco
Biologia cellulare e neuroscienze
Ematologia, oncologia e medicina molecolare
Tecnologie e salute
Ambiente e connessa prevenzione primaria

Centri nazionali

Centro nazionale per la qualità degli alimenti e per i rischi alimentari
Centro nazionale di epidemiologia, sorveglianza e promozione della salute
Centro nazionale trapianti

Servizi tecnico-scientifici

Servizio biologico e per la gestione della sperimentazione animale
Servizio informatico, documentazione, biblioteca ed attività editoriali

Direttore responsabile: Enrico Garaci
Vice Direttore: Franco Piccinno
Redattore capo: Paola De Castro
Redazione: Carla Faralli
Progetto grafico: Eugenio Morassi
Illustrazioni: Cosimo Marino Curianò
Grafici: Massimo Delle Femmine
Impaginazione: Giovanna Morini
Fotografia: Antonio Sesta
Distribuzione: Patrizia Mochi
Versione online (www.iss.it/notiziario):
Simona Deodati, Stefano Guderzo

Istituto Superiore di Sanità
Presidente: Enrico Garaci - *Direttore generale:* Sergio Licheri
Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma
Tel. 0649901 - Fax 0649387118
e-Mail: notiziario@iss.it - **Sito Web:** www.iss.it
Telex 610071 ISTSAN I
Telegr. ISTISAN - 00161 Roma
Iscritto al n. 475/88 del 16 settembre 1988.
Registro Stampa Tribunale di Roma
© Istituto Superiore di Sanità 2003
Numero chiuso in redazione il 14 marzo 2003
Stampa: Tipografia Facciotti s.r.l. - Roma

Introduzione

Enrico Alleva

Laboratorio di Fisiopatologia di Organo e Sistema, ISS



Le doverose celebrazioni del cinquantenario della pubblicazione del “mitico” lavoro degli scienziati James Watson e Francis Crick (Watson JD, Crick FHC. *Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature* 1953;171:737-738) impongono riflessioni al composito universo della ricerca biomedica, inclusa la sua propaggine italiana. Invitiamo perciò i giovani a leggerlo e a discuterlo con i propri insegnanti; i meno giovani, a rileggerlo come spunto di riflessione, meglio se collegiale.

Ma è scopo di questo fascicolo tentare un'operazione ambiziosa, quella di coinvolgere un pubblico di giovani in età scolare, con il duplice obiettivo di diffondere alle giovani generazioni informazioni su quanto è successo nel mondo scientifico nazionale e internazionale (e in particolare nell'Istituto Superiore di Sanità, fondato nel 1934 e quindi già attivo da 19 anni al momento della “scoperta” del DNA) e quello, più egoistico, di indirizzare potenziali talenti giovanili verso l'osservazione e la sperimentazione scientifica: trasmettendo con le informazioni storiche e tecniche anche quella importantissima dose di passione per la scienza così necessaria nelle attività di crescita individuale e collettiva della cultura europea di questo Terzo Millennio.

A loro, e ai loro insegnanti, è infatti principalmente indirizzato questo fascicolo: perché è importante che nel forgiarsi di talenti e di attitudini una quota sufficiente di giovani e giovanissimi si avvicini precocemente ai laboratori e si avvii alla lettura di testi scientifici.

Senza questa opera di diligente osmosi tra mondo della ricerca e mondo della scuola, il primo rischia infatti di svuotarsi, ove non si impegni a stimolare vocazioni nella fase, spesso carica di dubbi, che precede la scelta della facoltà universitaria alla quale iscriversi, a sua volta anche influenzata dalle letture

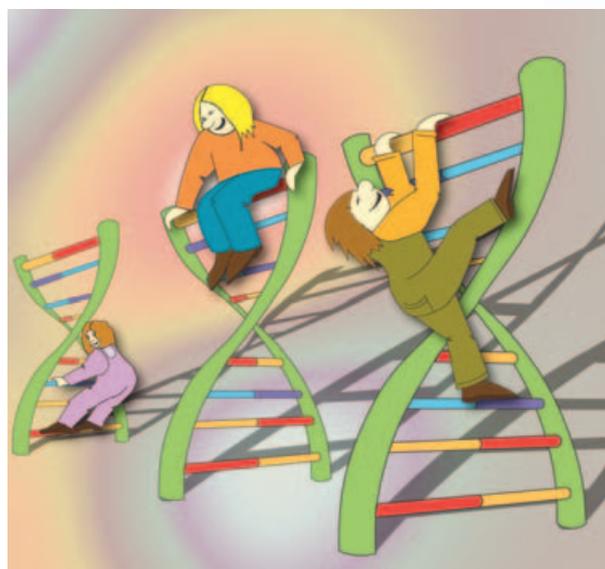
proposte nella scuola dell'obbligo - con le dovute differenze legate al particolare livello scolastico del ragazzo o del bambino.

Certamente la biologia molecolare contemporanea, che tanto deve a quegli anni culminati nella succitata pubblicazione di Watson e Crick del 1953, mette a disposizione della comunità scientifica strumenti analitici estremamente potenti. Questi strumenti permettono oggi a un numero crescente di laboratori di compiere di routine analisi molecolari delle malattie di origine genetica.

Ma all'insegnante, più che al ragazzo, ricordiamo quali sono i rischi di un approccio eccessivamente riduzionista: quello che propone una visione del “gene” immateriale, ma tale comunque da “spiegare” fenomeni, non di rado complessi, come malattie in realtà causate da una moltitudine di determinanti genetici (a partire dalla patologia dei disturbi mentali per arrivare fino ai “geni” per l'aggressività, la criminalità violenta, le capacità intellettuali o addirittura l'imprenditorialità). Tutti spunti cui una di-

“
Scopo del fascicolo
è avvicinare
i giovani
alla ricerca scientifica
”

“
Nel 2003
si “celebra”
il cinquantenario
del DNA
”





Realizzato da Lisa Giombini, Lucrezia Moro e Fabio Piccoli, Liceo Ginnasio "Virgilio" di Roma, 2^a D

vulgazione scientifica massificata ha attratto un pubblico desideroso di acculturarsi, ma sovente a scapito della qualità dell'informazione trasmessa. Ed è proprio compito dei ricercatori più accorti fungere da garanti per arginare le non poche facilonerie divulgative cui le giovani generazioni rischiano di essere esposte.

Oggi arrivare alle strutture del gene è operazione praticabile con crescente facilità. Questo risultato importante, quasi rivoluzionario, permette di legare funzioni biologiche a determinanti genotipici e ha aperto quella fase, solo pochi lustri orsono impensabile, della post-genomica, che segue la descrizione di interi patrimoni genetici e che potrà produrre conoscenze importanti e utili (come esemplificato da alcuni degli esempi selezionati in questo fascicolo) alle diagnosi e potenziale cura di patologie contro le quali la medicina contemporanea non ha ancora a disposizione mezzi risolutivi.

Accanto a strumenti così potenti di analisi e di trasformazione potenziale dei processi più essenziali e caratteristici della materia vivente, mentre celebriamo la biologia e la genetica molecolare mezzo secolo dopo la pubblicazione di Watson e Crick, sorgono interrogativi (se non dilemmi) etici cui la comunità scientifica,

in armonico sentire con la società civile e gli spiriti e le coscienze più sensibili, non può restare indifferente. Tecniche di clonazione, procedure diagnostiche per malattie comunque incurabili, mercificazione a fini assicurativi e di lucro delle vulnerabilità genetiche individuali, sono solo alcuni dei temi che scuotono oggi le coscienze. È davvero importante che anche i giovani ne abbiano sentore.

Infine va ricordato quanto la genetica molecolare abbia contribuito a sfatare miti nefasti della storia recente, quei sottoprodotti di una cultura scientifica razzista e gerarchica che prevedeva "livelli superiori e inferiori" per la comunità di esseri umani abitanti dello stesso pianeta, con le terribili conseguenze che non possiamo non ricordare assieme alle gioiose scoperte biologiche. È infatti proprio con (o meglio per mezzo della) genetica molecolare - e soprattutto della genetica di popolazione - che oggi possiamo orgogliosamente affermare che il concetto di "razza" è scientificamente infondato. Che l'umanità condivide con ogni individuo che la compone una dose comune di determinanti genetiche. E se oggi è possibile distinguere da una caratteristica secondaria del patrimonio genetico umano, quale il colore della pelle o l'altezza media della popolazione, un insieme infinitevole di popoli, altre caratteristiche rendono invece geneticamente omogenea quella umanità che solo una lettura perversa della storia ha voluto suddividere.

Invitiamo con l'occasione di questo fascicolo i giovani alla lettura di due importanti volumi. Il primo è la storia, davvero avvincente, della "scoperta" del DNA: James D. Watson, "La doppia elica: trent'anni dopo", Garzanti, Milano, 1982. Il secondo un'analisi divulgativa della genetica umana contemporanea: Richard C. Lewontin, "La diversità umana", Zanichelli, Bologna, 1987.

Concludiamo con una doverosa precisazione: il fascicolo che segue tocca solo alcuni dei temi coltivati presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che hanno diretta o indiretta connessione tematica con la scoperta di Watson e Crick. Ovviamente limiti di spazio editoriale fanno tralasciare tematiche attuali e importanti come le attività legate ai trapianti e la crescente rilevanza scientifica della

produzione di animali e piante transgeniche. Abbiamo però la ragionevole certezza che un corpo insegnante impegnato e aggiornato saprà comunque trovare spunti utili di informazione e lettura nel cresciuto numero di pubblicazioni a carattere divulgativo oggi offerto dal panorama editoriale italiano su questi temi di scottante attualità.

I ricercatori devono garantire l'informazione di qualità

Le "Printemps" del DNA all'Istituto Superiore di Sanità

Piero Augusto Battaglia

Laboratorio di Biologia cellulare, ISS



La Dott.ssa Maiola non deve aver fatto molta fatica nel recuperare il fascicolo con l'articolo di Watson e Crick sulla struttura a doppia elica del DNA giacente nella sua biblioteca, sembra infatti che non l'abbia letto quasi nessuno tanto poco sono lise o segnate le due pagine di *Nature* che lo contengono.

Come mai l'articolo è stato, al momento della pubblicazione nel 1953, così poco letto?

L'importanza del DNA come elemento unificante di diverse problematiche biologiche ha seguito un lungo processo: esperimenti in diversi campi della biologia sono stati necessari per porlo al centro del pensiero biologico. Maggiore resistenza a seguire nuove strade sperimentali aperte dalla proposta di Watson e Crick sono apparse in Italia e quindi nel nostro Istituto proprio lì dove maggiori erano stati i successi.

Si pensi, ad esempio, al Laboratorio di Parassitologia dell'ISS che usciva appena nel 1953, data della pubblicazione "dell'articoletto", dal successo ottenuto nel 1949: l'eradicazione della malaria dal nostro territorio a cui il laboratorio aveva fortemente contribuito.

Naturalmente ciò non ha impedito che il lavoro sperimentale seguisse alterne vicende e raggiungesse pionieristici risultati: nello stesso laboratorio di Parassitologia, ad esempio, vengono isolati neuropeptidi stimolanti il cardia degli insetti da parte di Nora Fron-

tali. O, d'altra parte, non è stato impedito che venissero presentati, negli anni appena seguenti, programmi di prestigio sui carboidrati da Francesco Pocchiari e i suoi allievi, nello sforzo di comprendere le basi del diabete, senza però raggiungere in questo caso risultati scientifici duraturi.

Tra la fine degli anni cinquanta e i primi anni sessanta, la struttura del DNA raggiunge, a causa delle numerose prove sperimentali a favore (ma più ancora grazie alla capacità del modello funzionale suggerito, di dare spiegazione a vecchi e nuovi problemi biologici) una sua saldezza sperimentale e un suo valore di guida, come mai nessun concetto biologico aveva raggiunto nel corso di tanti anni.

Nasce in questi anni (1951) nell'Istituto di Sanità il Centro Internazionale di Chimica Microbiologica, che ha avuto importanza nel costruire in Italia una cultura per lo sviluppo e la produzione autonoma degli antibiotici in un momento storico segnato da scontri durissimi e chiusure tra mondi separati da opposte ideologie. Il Centro ha presentato sempre una notevole apertura a concedere ceppi produttori di antibiotici ai Paesi che li richiedessero. In questo ambito vennero concessi ceppi "alti produttori" di antibiotici, ai ricercatori sovietici, superando l'embargo posto dagli Stati Uniti, permettendo l'uso della terapia antibiotica nell'Unione Sovietica. Il clima cupo in cui queste vicende si svolgevano è ben rappresentato da un film di quegli anni "Il terzo uomo" di Orson Welles, recentemente restaurato.

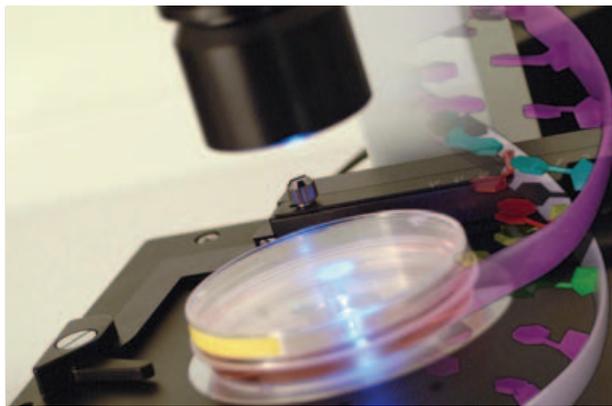
Proprio nel Centro e nel Laboratorio di Fisica dell'ISS appare lo sforzo sperimentale di due gruppi distinti: quello di Giuseppe Sermonti e Giorgio Morpurgo e poi del loro allievo Angelo Carere e quello di Mario Ageno, Gianfranco Donelli e Clara Frontali nel Laboratorio di Fisica.

A Sermonti e Morpurgo, il fatto di avere idee profondamente diverse (l'uno giovanissimo aderente alla repubblica di Salò, l'altro perseguitato razziale) non

**Diversi settori
delle ricerche svolte
in ISS sono direttamente
influenzati
dalla scoperta del DNA**



Realizzato da Giulia Nardinocchi e Michela Piraino, Liceo Ginnasio "Virgilio" di Roma, 2ª A



impedisce di sviluppare un unico e originale approccio alla ricerca sul genoma, che si distingue per autonomia dall'ispirazione coloniale di Chain, Direttore del Centro, che pur tra i tanti meriti, favorisce uno sviluppo del lavoro applicato ai microrganismi fondamentalmente teso a costruire prodotti che possano essere trasferiti e a favorire una gestione dell'organizzazione del lavoro così autoritaria da partorire, in ultima analisi, la "rivolta" degli anni 1969-70.

Sermonti, infatti, sviluppa la genetica dei microrganismi di uso farmaceutico (*Penicilium* e *Streptomyces*) non solo al fine di comprendere quali geni siano coinvolti nella sintesi e nel metabolismo degli antibiotici, per costruire un organismo alto produttore, ma servendosi di questi microrganismi come modello favorevole per la comprensione della struttura e della funzione del genoma.

La costruzione di questo pensiero (a cui collaborerà, negli anni che verranno, il suo allievo Carere) produce come risultati la mappatura del genoma dello *Streptomyces*, la scoperta che questo organismo usa, per molti geni, lo stesso sistema con cui l'*Escherichia coli* regola i suoi geni (*operon*), e che la ricombinazione avviene in questo organismo non con la stessa frequenza lungo tutto il DNA del cromosoma, ma con punti di discontinuità e con punti di alta frequenza di ricombinazione sottolineando così, come il DNA non abbia proprietà uniformi lungo tutta la molecola.

Morpurgo, allievo insieme a Sermonti di Guido Pontecorvo, usa l'*Aspergillo*, una muffa facilmente coltivabile, come modello per comprendere come funziona il genoma di un organismo superiore.

Questo organismo, infatti, grazie al suo ciclo vitale particolare che mima in parte quello di un organismo sessuato, ha una fase in cui i patrimoni genetici di due cellule diverse possono essere fusi in un'unica cellula per risepararsi poi dopo l'assortimento indipendente dei cromosomi. Questa proprietà permetterà a Morpurgo di comprendere, grazie proprio all'*Aspergillo*, il meccanismo di non disgiunzione con cui possono venir persi o acquistati i cromosomi, fenomeno che è alla base, tra l'altro, di numerose malattie umane.

Parallelemente, nel Laboratorio di Fisica, Ageno, Donelli e Frontali, lavorando su un gigantesco virus del *Bacillum megaterium*, si pongono il problema come la testa del virus possa contenere un DNA migliaia di volte più grande. Il problema è affrontato al livello molecolare e al microscopio elettronico per la struttura: nel loro lavoro c'è già l'intuizione di quella che diverrà la moderna topologia del DNA (configurazione del DNA nello spazio) e lo studio dell'interazione tra DNA e proteine.

I due gruppi, però, operano ognuno seguendo i propri strumenti di lavoro teorico e sperimentale, senza alcun punto di incontro. Conseguenza questa più dello stato della ricerca biologica di quel momento, che di altre ragioni.

È soltanto infatti, con la seconda rivoluzione biologica, con l'apparire del metodo dell'ingegneria genetica che per raggiungere uno stesso obiettivo sperimentale convergono nello stesso lavoro tecniche e impostazioni che vengono dalla genetica, dalla biologia cellulare, dalla microbiologia, dallo studio della struttura, fino allora separate e distinte.

Il problema della struttura e della regolazione del genoma, poteva fino alla fine degli anni '60 e ancora nei primi anni '70, essere affrontato con difficili tecniche d'ibridazione molecolare, quali il Cot o il Rot. La difficoltà sperimentale di queste tecniche limitava l'accesso allo studio del genoma a pochi gruppi e a non molte persone. A partire da questi anni, con il metodo dell'ingegneria genetica, ogni gene può essere isolato e studiato da uno studente anche senza forte base teorica e sperimentale, ma in possesso di un protocollo chiaro da eseguire correttamente.

È questa la straordinaria possibilità che ha fatto dell'ingegneria genetica un metodo di lavoro fortemente democratico, allargando da poche centinaia a centinaia di migliaia le persone che lavorano in biologia.

Dalla struttura del DNA all'ingegneria genetica si è così prodotto un profondo cambiamento nell'organizzazione del lavoro scientifico.

Le conseguenze nel pensiero biologico e nell'organizzazione sociale del lavoro sono alla base del lavoro sperimentale che si svolge dal '70 a oggi anche nei nostri laboratori.

Questa straordinaria espansione del numero di coloro che lavorano in biologia, rispetto ai pochi che vi lavoravano un tempo, sembra essere una garanzia per il controllo di esperimenti come la clonazione.

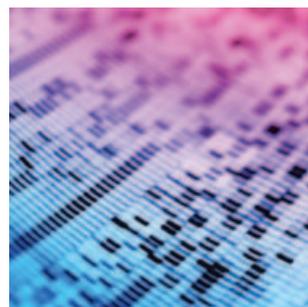
Basterà un allargamento della "base democratica" per garantire che il controllo sia efficace?

Sfide e limiti sono così sempre presenti e tra i pericoli, quello di ridurre tutto il pensiero biologico a diagnosi (quale gene è responsabile di una certa malattia) e di identificare tutta la biologia con la malattia.

Il DNA: una struttura in movimento

Filomena Mazzei

Laboratorio di Fisica, ISS



Nella gran parte dei testi didattici il DNA è rappresentato come una perfetta struttura regolare a doppia elica, così come descritto da Watson e Crick.

Una raffigurazione complessivamente monotona dal punto di vista strutturale. Le basi azotate infatti sono disposte all'interno, ortogonalmente all'asse dell'elica, mentre lo zucchero ed il fosfato costituiscono la parte "visibile" all'esterno della molecola. L'orientamento dei due filamenti è antiparallelo e l'elica è avvolta in senso orario. La struttura è stabilizzata dai legami tra le basi presenti nei due filamenti complementari e da interazioni tra basi successive dello stesso filamento. Questa raffigurazione lascia immaginare che la specificità della sequenza sia "leggibile" solo aprendo la doppia elica.

In realtà la struttura del DNA è molto meno semplice e regolare dell'immagine che siamo abituati a vedere. Piccole variazioni nell'orientamento relativo delle basi, dipendenti dalla sequenza, introducono perturbazioni nella struttura dell'elica che localmente possono determinare una diversa modulazione dei solchi

del DNA, della distanza tra i due filamenti o della interazione tra basi vicine, e costituire motivi strutturali di riconoscimento nell'interazione con le proteine o altri ligandi.

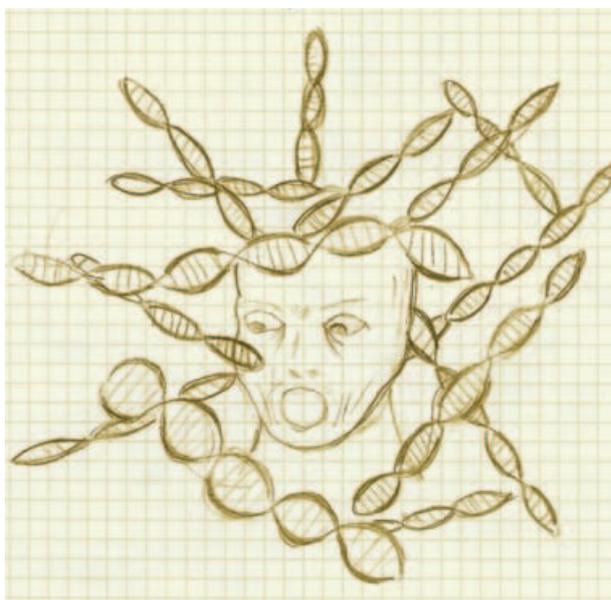
In alcuni casi, la presenza di particolari ripetizioni di basi si traduce macroscopicamente nella formazione di strutture con una curvatura stabile o può dare luogo alla formazione di triple o quaduple eliche.

Deviazioni dalla classica regolare struttura a doppia elica sono anche descritte nel caso di DNA contenenti dei danni alle basi, quali quelli causati dall'esposizione alla radiazione ultravioletta. La formazione del dimero di pirimidina, il danno più frequentemente indotto dall'esposizione all'UV, determina, ad esempio, una distorsione della struttura al sito del danno (una piegatura), riconoscibile dagli enzimi di riparo.

Sono stati fatti diversi tentativi per trovare delle regole per predire la struttura tridimensionale a partire dalla sequenza e quindi dalla conoscenza dell'orientamento delle basi e delle coppie di basi. La possibilità di disporre di oligonucleotidi sintetici e lo sviluppo della diffrazione a raggi X su singolo cristallo ha oggi enormemente aumentato il numero di strutture studiate e più di 1 000 strutture diverse sono depositate presso la banca dati della Rutgers University, rendendo più agevole lo sviluppo di studi di questo tipo.

Ma, il DNA può essere oggi descritto anche considerando la quarta dimensione, ossia il tempo. Il DNA è generalmente immerso in un bagno termico e i suoi elementi strutturali sono sottoposti a un continuo movimento, al quale contribuiscono in modo significativo anche gli urti con le altre molecole presenti in soluzione, l'interazione con le proteine, farmaci e ligandi in genere. Questi movimenti avvengono nel DNA in una scala dei tempi che si estende dai femtosecondi (10^{-15} s) a qualche secondo. Solo per fornire un esempio, le deformazioni nella direzione parallela e perpendicolare all'as-

“
La struttura del DNA è meno regolare della doppia elica con cui di solito viene rappresentata
”



Realizzato da Serguei Charonine, Liceo Ginnasio "Virgilio" di Roma, 2^a I

se principale dell'elica avvengono in tempi dell'ordine dei nanosecondi (10^{-9} s), mentre lo srotolamento di un'elica dovuta alla rottura dei legami idrogeno avviene con tempi 1 000 volte più lunghi. Lo studio dei moti del DNA può contribuire alla comprensione delle reazioni che avvengono in quegli intervalli temporali e può per-

Il DNA può essere descritto considerando anche la quarta dimensione: il tempo

mettere la stima delle dimensioni, della forma e della flessibilità delle molecole.

Per poter studiare i fenomeni che avvengono a tempi così brevi sono necessarie apparecchiature sofisticate tra cui ricordo la risonanza ma-

gnetica nucleare, il *light scattering* dinamico e tecniche di fluorescenza dinamica.

Presso il Laboratorio di Fisica dell'ISS sono studiate con tecniche di fluorescenza le proprietà dinamiche di frammenti di DNA aventi sequenze particolari e le variazioni dovute all'introduzione di modifiche strutturali (danni ossidativi, tagli sul singolo filamento, siti abasici). C'è infatti una crescente evidenza sperimentale che la sequenza del DNA influenzi anche la sua capacità di compiere movimenti intorno all'asse principale o nella direzione a essa perpendicolare, ossia la sua rigidità, parametro che può avere un ruolo rilevante nell'associazione tra regioni distanti del DNA e tra il DNA e le proteine (Figura).

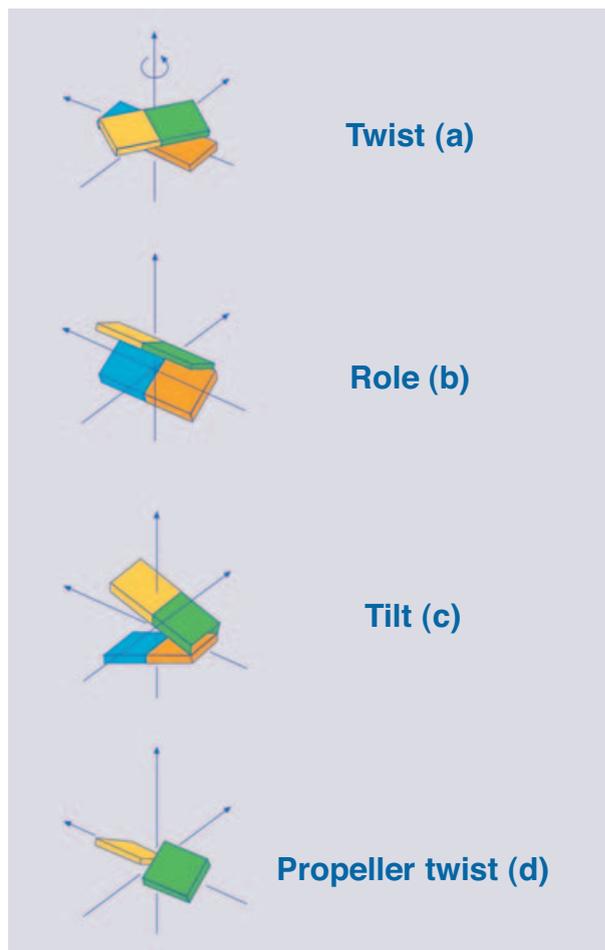
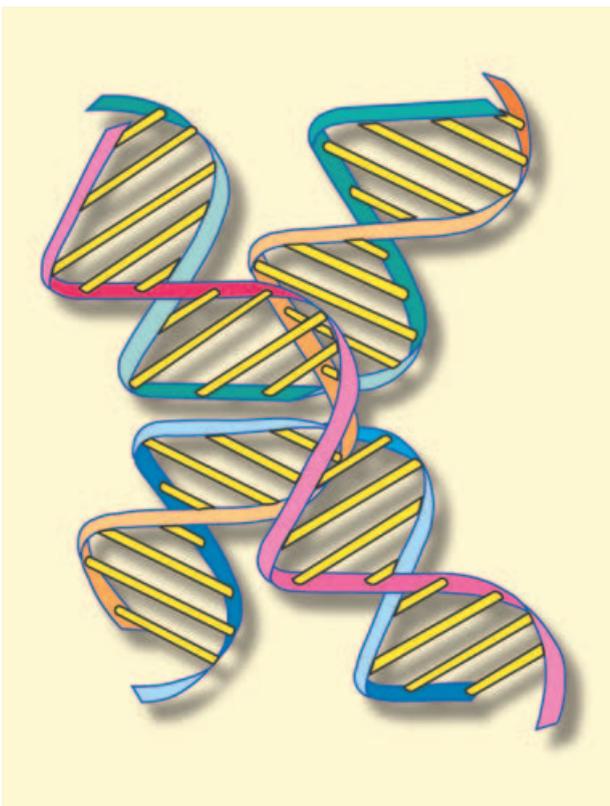


Figura - Principali parametri che descrivono l'orientamento relativo di coppie di basi successive (a-c) e di basi appaiate (d) nel DNA



Attraverso l'applicazione di tecniche di anisotropia di polarizzazione della fluorescenza (FPA) sono studiate le proprietà elastiche del DNA, mentre con la tecnica della Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) dinamica sono studiati gli effetti di possibili deformazioni locali, indotte dalla presenza di un singolo danno, sulla struttura globale del DNA. In entrambi i casi il principio della tecnica si basa sull'eccitazione di un marcatore fluorescente, legato al DNA, con luce laser di opportuna lunghezza d'onda, modulata in frequenza, e sullo studio del decadimento dell'emissione. Recentemente è stato possibile stabilire che un singolo danno ossidativo o lesioni multiple possono modificare la rigidità nella regione del DNA che li contiene, e che questo cambiamento può costituire un segnale per il riconoscimento e il legame dell'enzima di riparo specifico.

Nel Laboratorio di Fisica dell'ISS vengono studiate le proprietà dinamiche del DNA con tecniche di fluorescenza

Il DNA: contributo allo studio del differenziamento cellulare

Giovanna Marziali e Ugo Testa

Laboratorio di Ematologia ed Oncologia, ISS



Gli organismi multicellulari sono costituiti da una molteplicità di tessuti diversi nei quali elementi cellulari sviluppati durante stadi precoci dello sviluppo embrionale acquisiscono progressivamente capacità strutturali e funzionali altamente specializzate. Questo processo di differenziazione cellulare implica lo sviluppo, da parte delle cellule, di programmi di espressione genica differenziale che consentono alle cellule stesse di sviluppare proprietà e caratteristiche differenti a seconda dei vari tessuti.

Il processo di differenziazione cellulare non avviene solo durante la vita embrionale, ma anche durante la vita adulta in quanto le cellule di molti tessuti hanno una vita limitata, molto più breve di quella dell'individuo, e quindi necessitano di essere rimpiazzate da cellule nuove sviluppatesi tramite un processo differenziativo a partire da cellule indifferenziate, note come cellule staminali. Esempi di queste cellule sono rappresentati dalle cellule della mucosa intestinale che vengono rimpiazzate continuamente attraverso nuovi elementi cellulari derivati dalla differenziazione progressiva di cellule staminali presenti nelle cripte intestinali o dalle cellule del sangue che hanno un'emivita breve e devono essere rimpiazzate di continuo da nuovi elementi cellulari prodotti nel midollo osseo.

LA DIFFERENZIAMENTO EMPOIETICA

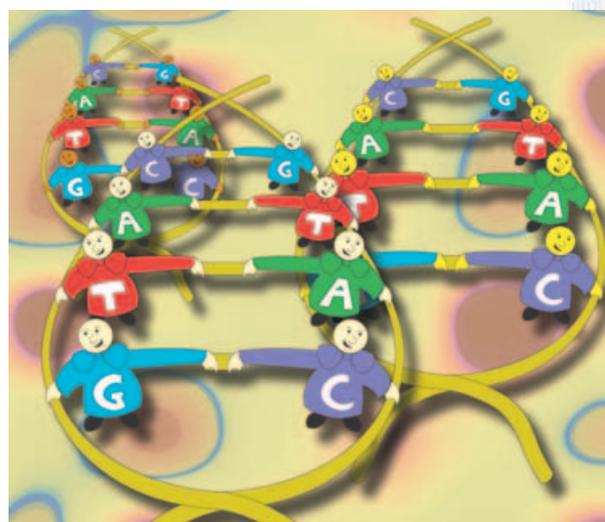
La differenziazione emopoietica rappresenta il modello meglio studiato di differenziazione cellulare. L'emopoiesi viene mantenuta e trae origine a partire da cellule pluripotenti staminali che sono in grado sia di autoreplicarsi sia di differenziare in tutti i vari tipi di cellule del sangue. Le cellule pluripotenti staminali emopoietiche sono anche in grado di generare cellule endoteliali. Queste cellule staminali pluripotenti emopoietiche sono molto rare e non rappresentano più di una cellula su 10^5 cellule di midollo osseo; possono essere identificate in base a studi funzionali e in base alla presenza di antigeni di membrana. Il primo prodotto del differenziamento delle cellule staminali emopoietiche pluri-

potenti è rappresentato da altre cellule staminali pluripotenti con capacità di ripopolamento *in vivo* più limitate rispetto alle cellule madri. Successivamente, queste cellule generano delle cellule figlie che corrispondono ai progenitori multipotenti linfoidi e mieloidi: i primi generano tutti i tipi di cellule linfoidi, linfociti T, B, NK e cellule dendritiche; i secondi generano granulociti, monociti, megacariociti, eritrociti e cellule dendritiche. Successivamente ciascuno di questi due progenitori genera i progenitori commissionati, cioè quelle cellule che sono in grado di genera-

re *in vitro* colonie composte da un solo tipo di cellule: ad esempio, le CFU-G sono quei progenitori in grado di generare *in vitro* colonie composte da granulociti. La differenziazione dei progenitori nelle cellule mature del sangue avviene attraverso una serie di stadi intermedi di differenziazione, rappresentati dai precursori dei vari elementi del sangue, e che rappresentano la maggior parte delle cellule presenti nel midollo osseo.

Lo sviluppo di tecniche di purificazione dei progenitori emopoietici e di coltura *in vitro* di queste cellule in modo da consentirne la differenziazione selettiva lungo una singola linea emopoietica ha fornito uno strumento prezioso e di fondamentale importanza per lo studio della differenziazione emopoietica.

“
Le cellule di molti tessuti hanno vita limitata e quindi devono essere sostituite da cellule nuove
”



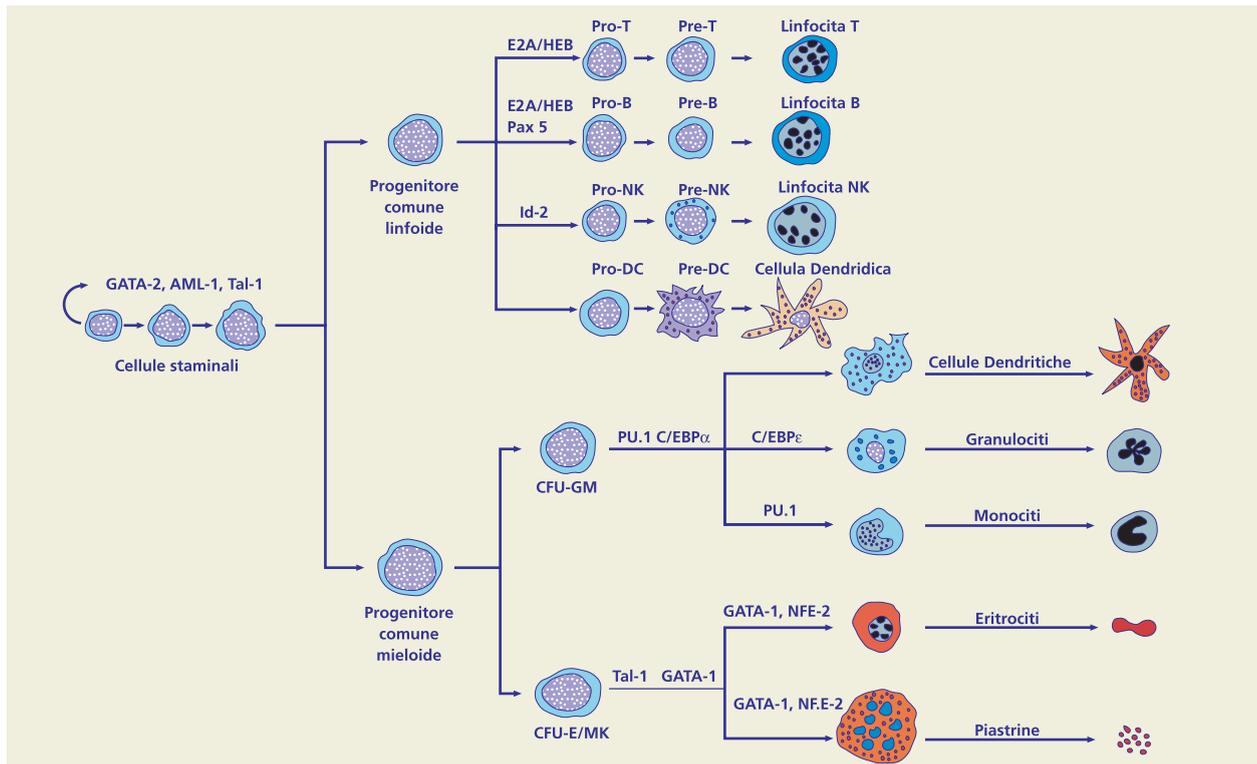


Figura 1 - Ruolo dei fattori trascrizionali nel controllo del differenziamento emopoietico. L'ematopoiesi viene mantenuta da cellule staminali pluripotenti che hanno la proprietà sia di autoreplicare che di differenziare. I primi prodotti del differenziamento di queste cellule sono delle cellule staminali progenitrici multipotenti in grado di generare tutti i tipi di cellule linfoidi e mieloidi. Questo progenitore comune totipotente differenzia in due tipi diversi di progenitori multipotenti: il progenitore linfoidi comune che genera tutti i tipi di cellule linfoidi (linfociti B, linfociti T, linfociti NK e cellule endoteliali di origine linfoidi); il progenitore mieloide comune che genera tutti i tipi di cellule mieloidi (monociti, granulociti, eritrociti, megacariociti e cellule dendritiche di origine mieloide). Nello schema vengono riportati i principali fattori trascrizionali che agiscono a vari stadi del processo differenziativo

FATTORI DI TRASCRIZIONE E DIFFERENZIAMENTO EMPOIETICA

Questo complesso scenario di cambiamenti di tipi cellulari osservato durante la differenziazione emopoietica sottintende altrettante complesse modificazioni a livello genico. Pertanto, il differenziamento cellulare implica un diverso spettro d'espressione genica in cellule che hanno differenziato in maniera diversa. Questo programma di regolazione genica necessita di un coordinamento e di un controllo generale che è effettuato fondamentalmente attraverso fattori trascrizionali, in altre parole delle proteine che si legano a sequenze specifiche di DNA, presenti a livello di geni specifici, i geni bersaglio di questi fattori stessi. In seguito a questo legame, batterie di geni bersaglio sono attivati o inibiti nella loro espressione. Durante il differenziamento emopoietico i fattori trascrizionali agiscono in modo sequenziale e l'attività di alcuni di questi fattori è richiesta per le fasi molto precoci dell'emopoiesi (differenziamento delle cellule pluripotenti staminali), mentre l'attività di altri fattori è richiesta a livello del differenziamento dei progenitori e precursori emopoietici (Figura 1). Ad esem-

pio, nelle cellule eritroidi pochi fattori trascrizionali, quali GATA-1, Tal-1, NF-E2, GFI-1B, LMO2 ed EKLF, agiscono in concerto regolando l'espressione di centinaia di geni bersaglio e così determinano lo sviluppo delle cellule eritroidi (Figura 2). La mutazione di uno di questi fattori trascrizionali determina la completa inibizione della differenziazione eritroide o il suo blocco a un determinato stadio differenziativo. A livello dei progenitori linfoidi comuni la scelta differenziativa è dettata da segnali extra e intracellulari: l'interazione di queste cellule con il ligando Delta1 del recettore NOTCH-1 di membrana determina il commissionamento di queste cellule in senso T/NK linfoidi, con inibizione di una possibile differenziazione B linfoidi; successivamente il differenziamento del progenitore comune T/NK linfoidi in senso NK linfocitario richiede l'espressione e gli effetti del fattore trascrizionale Id2, mentre il differenziamento in senso T linfocitario richiede l'espressione e l'azione dei fattori trascrizionali HEB/E2A, Ikaros e c-myb. Infine, il differenziamento B linfoidi del progenitore linfoidi comune richiede l'attività dei fattori trascrizionali E2A, EBF e Pax5.

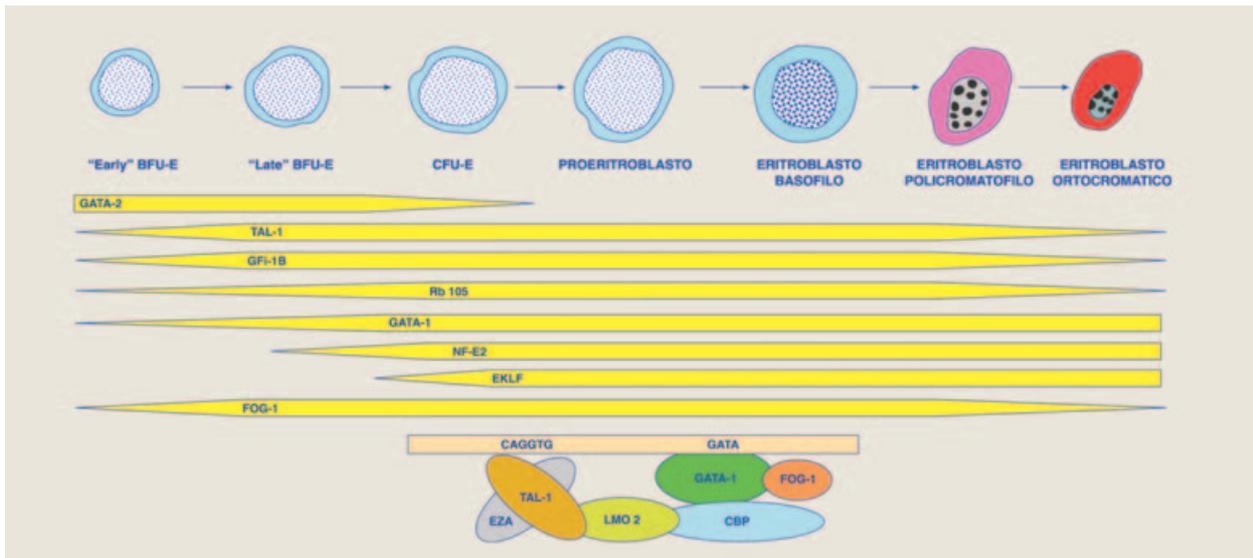


Figura 2 - Rappresentazione schematica del processo differenziativo eritroide e dei fattori trascrizionali che regolano questo processo. Le cellule eritroidi originano a partire da progenitori eritroidi che inizialmente sono rappresentati dalle BFU-E primitive, poi dalle BFU-E tardive e infine dalle CFU-E. I processi differenziativi delle CFU-E si identificano con gli stadi maturativi eritroidi che vengono rinvenuti tramite analisi morfologica degli eritroblasti presenti nel midollo osseo (proeritroblasto→eritroblasto basofilo→eritroblasto policromatofilo→eritroblasto acidofilo). Nel mezzo vengono riportati i principali fattori trascrizionali che agiscono sull'eritropoiesi, indicando gli stadi differenziativi durante i quali questi fattori sono espressi. Infine, in basso, viene mostrato come questi fattori trascrizionali agiscono nel modulare l'espressione di geni bersaglio nelle cellule eritroidi, cioè formando dei complessi multimerici nei quali alcuni di questi fattori interagiscono fra di loro

RUOLO DEI FATTORI TRASCRIZIONALI NF-Y ED ETS-1 NELLA DIFFERENZIAZIONE EMOPOIETICA E DEI COMPLESSI TRASCRIZIONALI MULTIMERICI NELLA DIFFERENZIAZIONE ERITROIDE

Durante il processo differenziativo i fattori di trascrizione hanno un ruolo centrale nel regolare l'espressione di geni bersaglio. Queste proteine agiscono sia attivando l'espressione di geni indispensabili per acquisire specifiche funzioni cellulari che disattivando l'espressione di geni che non devono essere espressi durante il differenziamento di un determinato tessuto.

È facile quindi capire che queste proteine devono essere sottoposte a uno stretto controllo che regoli la loro funzionalità, in quanto l'attivazione sbagliata di un gene potrebbe portare a morte cellulare.

I fattori trascrizionali possono essere regolati attraverso molteplici meccanismi, quali la degradazione proteica, l'attivazione e inattivazione attraverso modificazioni post-traduzionali, localizzazione nucleare e autoinibizione.

Come esempio di controllo di funzionalità di un fattore trascrizionale si può citare NF-Y. Questo fattore di trascrizione è composto da tre subunità A, B e C che devono essere associate tra di loro per rendere attivo il fattore trascrizionale. Durante il differenziamento da monocita a macrofago il fattore NF-Y rapidamente si attiva ed è strettamente necessario per in-

durre numerosi geni che sono essenziali al macrofago per svolgere le sue funzioni. Per evitare l'espressione di questi geni a un errato stadio maturativo la subunità A è assente nel monocita e solo successivamente viene sintetizzata.

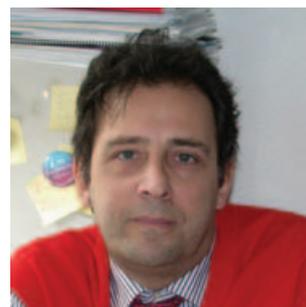
Un altro esempio di regolazione di un fattore di trascrizione durante il differenziamento emopoietico è Ets-1. Durante l'eritropoiesi Ets-1 deve essere inattivato per permettere l'espressione di geni essenziali per una cellula eritroide quale il recettore della transferrina, che serve a fare entrare il ferro negli eritroblasti, e le globine, che sono i costituenti proteici dell'emoglobina. La sua inattivazione avviene tramite l'estruzione dal nucleo, così inibendone la funzione.

Infine, un ulteriore esempio di regolazione di un intero gruppo di fattori trascrizionali è fornito da quei fattori trascrizionali attivi sull'eritropoiesi, quali GATA-1, NF-E2, LMO2, EKLF e Tal-1. Questi fattori presentano una cinetica d'espressione molto simile durante il differenziamento eritroide e agiscono in concerto da un punto di vista sia funzionale che strutturale: essi formano, infatti, un complesso trascrizionale multimerico (Figura 2). In accordo con queste osservazioni, molti studi indicano che la funzione di alcuni di questi fattori trascrizionali richiede più l'integrità di domini della molecola attraverso i quali questi fattori interagiscono con altri fattori trascrizionali, che dei domini attraverso i quali questi fattori si legano al DNA.

La scoperta del DNA e i tumori

Ugo Testa

Laboratorio di Ematologia ed Oncologia, ISS

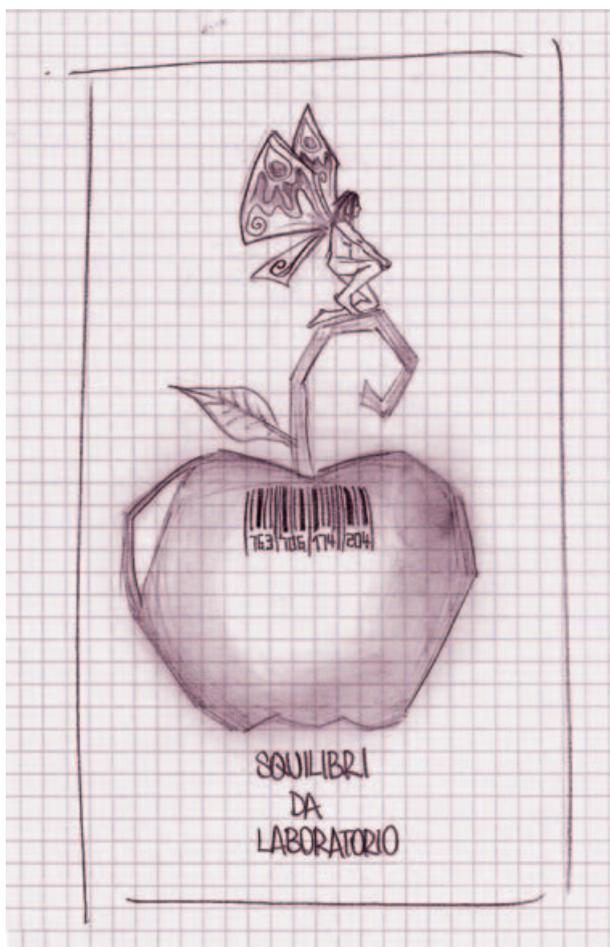


L'idea che il cancro sia una malattia legata a mutazioni a livello di cellule somatiche è nata prima della scoperta della doppia elica del DNA. Questa teoria ha il suo punto d'inizio nei primi anni del XX secolo in seguito a una serie di osservazioni effettuate dall'embriologo Teodoro Boveri che mostravano la presenza di un numero anormale di cromosomi in cellule somatiche cancerose.

La scoperta poi della struttura del DNA ha dato un impulso fondamentale allo studio delle basi genetiche del cancro, in particolare per quanto riguarda gli studi di mutagenesi (agenti mutageni modificano la se-

quenza nucleotidica di alcuni geni e tramite tale meccanismo favoriscono l'insorgere dei tumori) e lo studio delle anomalie di ricombinazione che sono degli eventi chiave nello sviluppo di molte neoplasie (ad esempio, le traslocazioni cromosomiche che determinano la formazione di cromosomi ibridi, dove un cromosoma si viene a trovare giustapposto a un altro cromosoma). Successivamente, l'analisi molecolare di alcune di queste traslocazioni ha mostrato che l'evento di ricombinazione anormale porta in genere alla formazione di un gene di fusione e quindi di una proteina di fusione, cioè una proteina che contiene la sequenza aminoacidica di due proteine diverse. I geni coinvolti in questi eventi di fusione sono implicati nel controllo della proliferazione e differenziazione cellulare.

“
La scoperta della struttura del DNA ha dato impulso allo studio delle basi genetiche del cancro
”



Realizzato da Paolo Castelluccio, Liceo Ginnasio "Virgilio" di Roma, 2ª I

NOZIONI DI BASE SULLE NEOPLASIE

Nelle ultime quattro decadi è stata accumulata una considerevole mole di evidenze in favore della teoria del patologo Boveri secondo cui il cancro è una malattia somatica genetica.

È bene partire dal concetto di base di che cosa è una neoplasia. All'origine della formazione dei tumori avvengono degli eventi in seguito ai quali una cellula perde i meccanismi di controllo della proliferazione cellulare. Quando questa cellula genera cellule figlie che hanno perso come la cellula madre la capacità di avere un controllo normale della proliferazione cellulare la conseguenza è che progressivamente si forma un clone di cellule capaci di andare incontro a espansione indefinitamente. Alla fine di questo processo si ha la formazione di una massa di cellule, chiamata tumore, a partire da questo clone di cellule trasformate. Alcuni tumori non hanno delle conseguenze importanti sul piano della salute poiché il processo di crescita del clone tumorale rimane circoscritto; altri tumori, hanno invece la capacità di svi-

luppate una crescita invasiva e quindi si diffondono in varie sedi anatomiche causando una malattia grave sotto il profilo clinico. I tumori sono in genere causati da mutazioni a livello del materiale genetico, ma esistono due differenze importanti fra i tumori e le malattie su base genetica. La prima differenza è che il cancro è causato solo da mutazioni che avvengono a livello di cellule somatiche, mentre le malattie genetiche sono causate solamente da mutazioni che avvengono nella linea germinale e sono quindi trasmesse ereditariamente. Alcuni individui, tuttavia, hanno mutazioni genetiche ereditarie che, pur non causando di per sé la genesi di un tumore, predispongono allo sviluppo del tumore stesso. La seconda differenza è che un singolo tumore non deriva da una singola mutazione genica, ma dall'accumulo progressivo nel tempo di almeno 3 mutazioni geniche (ma che possono arrivare fino a 20) a livello di geni che sono implicati nel controllo della proliferazione e differenziazione cellulare (Figura 1).

ANOMALIE MOLECOLARI NELLE LEUCEMIE ACUTE

Le leucemie sono neoplasie delle cellule del sangue e rappresentano forse i tumori meglio studiati da un punto di vista molecolare. Le leucemie sono stati i primi tumori che hanno portato storicamen-

te alla scoperta di traslocazioni cromosomiche specifiche. Allo stato attuale delle conoscenze sono state rinvenute anomalie cromosomiche nel 60-65% delle leucemie acute: queste anomalie sono per lo più rappresentate da traslocazioni cromosomiche e più raramente da inversioni cromosomiche. Entrambe queste anomalie hanno come conseguenza la formazione di proteine di fusione che svolgono un ruolo chiave nel determinare lo sviluppo della leucemia e in particolare esplicano un'azione d'inibizione della differenziazione cellulare. Una delle caratteristiche peculiari delle cellule leucemiche consiste, infatti, nel blocco della differenziazione cellulare a livello di stadi più o meno precoci in base al tipo di leucemia. I geni più frequentemente implicati nelle traslocazioni sono i geni che codificano per i fattori trascrizionali.

In aggiunta a queste lesioni molecolari, che sono specifiche per un determinato tipo di leucemia, sono poi rinvenute nelle cellule leucemiche altre anomalie genetiche, quali mutazioni di recettori di fattori di crescita o mutazioni dei geni RAS o mutazioni di cosiddetti *tumor suppressor*, quali retinoblastoma e p53. Le mutazioni di questi geni conferiscono un vantaggio proliferativo alle cellule leucemiche. La cooperazione fra questi due tipi di geni mutati determina lo sviluppo della leucemia e delle sue caratteristiche.

“
Le leucemie sono i tumori studiati meglio dal punto di vista molecolare
”

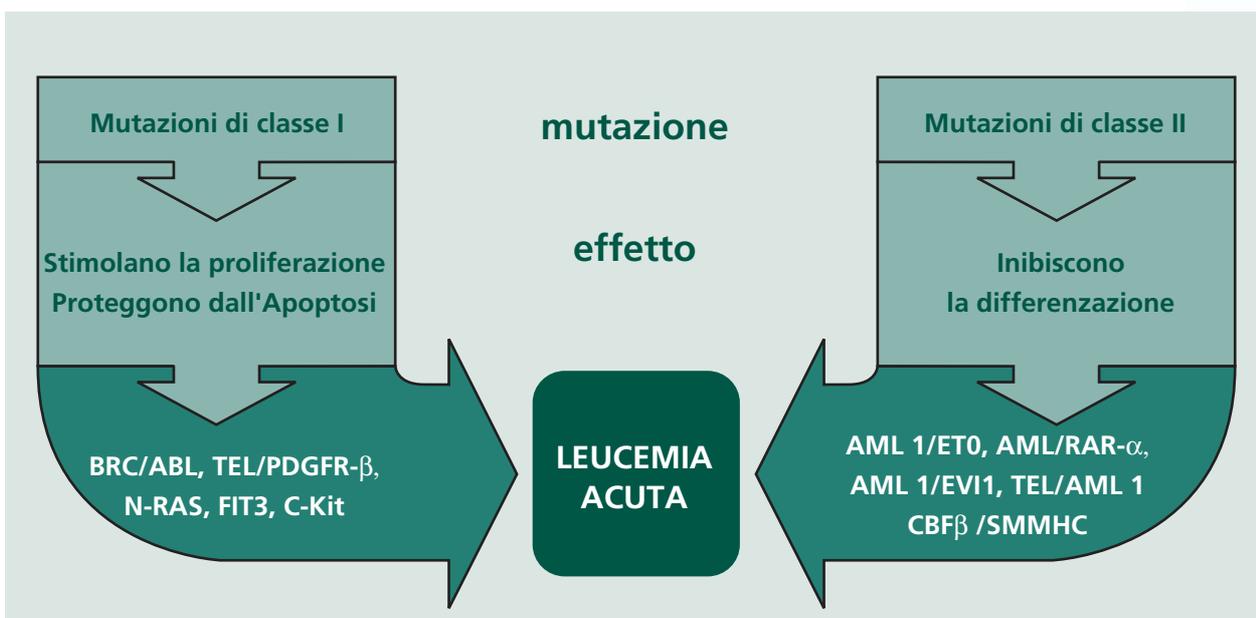


Figura 1 - Due tipi di mutazioni diverse cooperano allo sviluppo delle leucemie acute. In base a questo modello schematico le leucemie derivano dalla cooperazione di due tipi diversi di mutazioni: mutazioni di classe I che hanno come effetto di determinare uno stimolo proliferativo e un'inibizione dell'apoptosi; mutazioni di classe II che determinano un'inibizione della differenziazione. In ogni singola leucemia vengono rinvenute sia mutazioni di classe I che di classe II

LA PROTEINA DI FUSIONE PML/RAR α DETERMINA UN BLOCCO DELLA DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

Esiste una forma particolare di leucemia acuta, nota come leucemia acuta promielocitica, nella quale si ha un blocco della differenziazione cellulare allo stadio di promielocita. In questa leucemia, che è identificata a livello morfologico in base alla presenza di blasti leucemici che contengono numerosi granuli azzurrofilo nel loro citoplasma, è riscontrata quasi costantemente una traslocazione fra i cromosomi 15 e 17 con punti di rottura a livello della sequenza codificante il recettore α dell'acido retinoico sul cromosoma 17 e la sequenza codificante il fattore trascrizionale PML sul cromosoma 15. Il gene di fusione PML/RAR α che ne risulta è trascrizionalmente attivo e codifica una proteina di fusione PML/RAR.

La capacità della proteina di fusione PML/RAR α d'inibire la differenziazione cellulare è stata determinata tramite esperimenti condotti presso il nostro Laboratorio in collaborazione con l'Istituto di Ematologia di Perugia, nei quali il gene PML/RAR α è stato dapprima clonato, poi introdotto in una linea cellulare promonocitaria, denominata U-937. L'espressione di questo gene nelle cellule U-937 ne ha determinato un blocco differenziativo (le cellule non differenziano più in seguito a esposizione ad agenti induttivi del differenziamento quali un derivato della vitamina D3), uno stimolo proliferativo e una ridotta sensibilità a stimoli apoptotici. Queste osservazioni sono state importanti in quanto hanno mostrato con chiarezza che la proteina di fusione PML/RAR, patognomica della leucemia

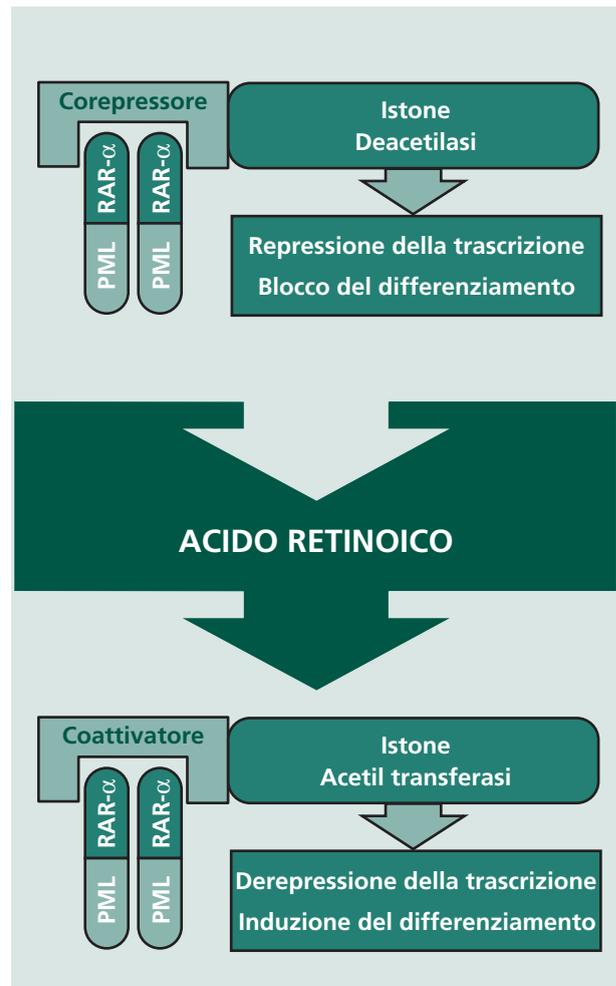


Figura 2 - La proteina di fusione PML/RAR- α blocca il differenziamento cellulare tramite un meccanismo di repressione sulla trascrizione genica, grazie alla formazione di un repressore trascrizionale tramite interazione con un corepressore e con istone deacetilasi. Il trattamento con acido retinoico determina la dissociazione dei corepressori da PML/RAR- α con conseguente trasformazione in un complesso attivatorio trascrizionale tramite interazione con coattivatori ad acetiltransferasi

promielocitica, conferisce da sola alle cellule leucemiche le loro caratteristiche essenziali, in particolare per quanto riguarda il blocco del differenziamento.

È altresì importante notare che queste osservazioni hanno avuto anche delle importanti ripercussioni nello sviluppo di una terapia razionale di questa forma particolare di leucemia acuta. Infatti, in base a una serie di studi, si è arrivati a comprendere che le proteine di fusione PML/RAR α si legano a corepressori trascrizionali che legano a loro volta delle istone deacetilasi; il trattamento con acido retinoico dissocia i corepressori dalla proteina PML/RAR α e la trasforma tramite questo meccanismo in un attivatore con conseguente attivazione dei geni dipendenti dall'acido retinoico (vitamina A, essenziali per la maturazione della linea granulocitaria) (Figura 2).

Danno al DNA: mutazioni e tumori

Eugenia Dogliotti e Margherita Bignami

Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, ISS



La scoperta della struttura del DNA ha posto le basi per la conoscenza dei vari tipi di mutazioni che insorgono nel genoma in seguito alla presenza di danno al DNA. Questo può essere la conseguenza di eventi spontanei o di esposizioni di tipo ambientale. I cancerogeni ambientali e/o i loro metaboliti causano mutazioni attraverso la formazione di addotti covalenti con il DNA che aumentano la probabilità di errori durante il processo di replicazione (Figura). I fotoprodotto indotti da luce UV così come gli addotti ingombranti prodotti dal fumo di sigaretta possono rendere la base modificata “illeggibile” da parte della DNA polimerasi che tenderà a inserire una base errata di fronte alla lesione. La scoperta del sistema di riparazione per i dimeri di pirimidina e gli addotti ingombranti, il *nucleotide excision repair*, ha permesso di capire che la cellula deve essere protetta da questo tipo di danno per evitare l'accumulo di mutazioni nel genoma. La predisposizione a sviluppare tumori della pelle nello *Xeroderma pigmentosum*, una rara sindrome umana con difetti nel *nucleotide excision repair*, costituisce la prova convincente della relazione esposizione al cancerogeno-accumulo di addotti al DNA-aumento delle mutazioni-formazione di tumori. Un altro esempio di questo paradigma è la sindrome *Hereditary Non Polyposis Colon Cancer*. Anche in questo caso i pazienti sviluppano carcinomi del colon retto per

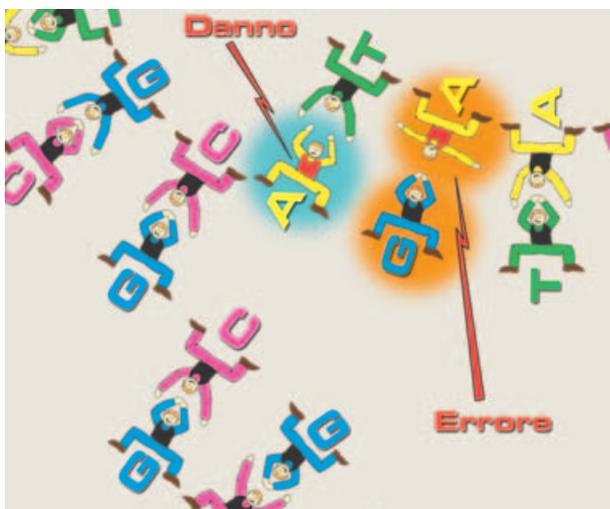


Figura - Danno al DNA ed errori di replicazione

un difetto in un sistema di riparazione del danno al DNA, il *mismatch repair*. L'instabilità genetica conseguente alla mancata riparazione degli errori spontanei della replicazione, probabilmente favoriti dalla presenza di altre lesioni endogene (metilazione, ossidazione), è il fattore causale della predisposizione ai tumori di questa sindrome ereditaria.

QUANTO LE NUOVE TECNOLOGIE DERIVATE DALLA SCOPERTA DEL DNA SONO UTILIZZABILI PER UNA MISURA DI RISCHIO DI TUMORE NELLA POPOLAZIONE NON AFFETTA DA MALATTIE EREDITARIE?

Le scoperte fondamentali in questo processo di conoscenza si possono riassumere in queste tre tappe:

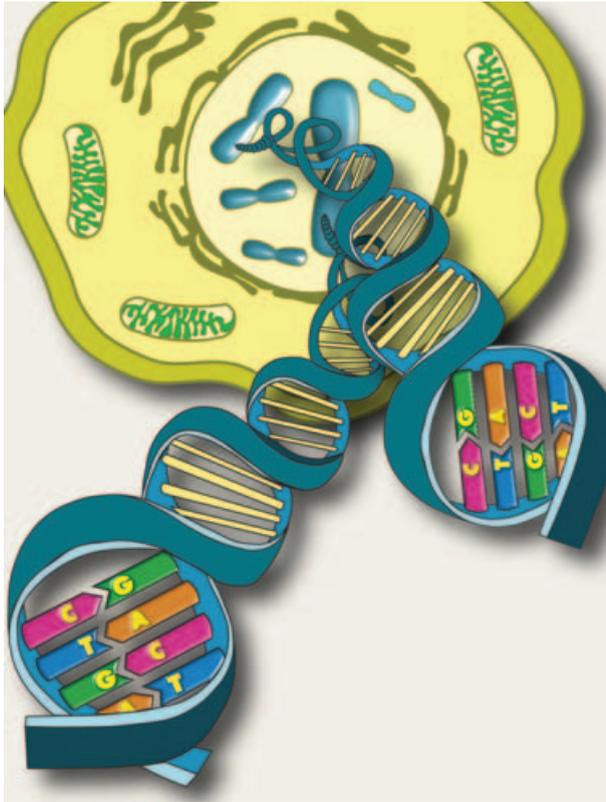
- l'identificazione di cancerogeni chimici presenti nell'ambiente in grado di interagire col DNA e di determinarne delle modificazioni strutturali (i cancerogeni formano degli addotti sul DNA);
- la dimostrazione che questi addotti sono in grado di alterare la sequenza del DNA in alcuni casi in modo specifico (i cancerogeni inducono profili di mutazione specifici lasciando la loro impronta digitale, *fingerprint*, sul DNA);
- la scoperta di mutazioni nei geni rilevanti nel processo di trasformazione neoplastica (oncosoppressori e oncogeni) in tumori umani.

L'analisi dello spettro di mutazioni del gene oncosoppressore p53 nei tumori della pelle, del fegato e del polmone fornisce tre esempi spettacolari di associazione tra cancerogeni ambientali e specifici profili di mutazione in geni rilevanti nel processo di cancerogenesi.

ESPOSIZIONE A LUCE UV E INDUZIONE DI CANCRO DELLA PELLE

Una forte evidenza sperimentale ed epidemiologica associa l'esposizione a radiazioni UV con lo sviluppo di cancro della pelle di tipo non melanocitico. L'a-

“ Il danno al DNA può essere conseguenza di eventi spontanei o di esposizioni ambientali ”



analisi delle mutazioni del gene oncosoppressore p53, frequentemente mutato in questo tipo di cancro, ha permesso di stabilire un'associazione diretta tra esposizione a radiazioni solari e insorgenza del tumore. Lo spettro è infatti caratterizzato da transizioni GC>AT localizzate a siti dipirimidinici e mutazioni tandem CC>TT. Entrambi i tipi di mutazione sono caratteristici delle radiazioni UV. Sebbene il primo tipo di mutazioni sia frequente anche in altre forme di cancro, le mutazioni tandem sono specifiche dei tumori della pelle. È interessante notare che lo spettro di mutazioni del gene p53 in tumori della pelle di pazienti affetti da *Xeroderma pigmentosum* è caratterizzato da una frequenza particolarmente elevata di mutazioni tandem CC>TT, il *fingerprint* dell'esposizione a radiazioni UV.

Nella popolazione generale la variabilità interindividuale nella capacità di riparare i danni da luce UV ha un ruolo nel rischio di cancro della pelle? Due tipi di evidenze sperimentali sostengono l'importanza di efficienti meccanismi di riparazione del DNA nella salvaguardia della stabilità del genoma:

- le mutazioni del gene p53 nei tumori della pelle sono localizzate in specifici "punti caldi" che corrispondono ai siti dove le lesioni indotte da luce UV sono riparate più lentamente;
- studi di popolazione su soggetti affetti da epitelio-ma basocellulare indicano che una minore capaci-

tà di riparazione del danno da luce UV è associata a un più elevato rischio di cancro della pelle nei soggetti giovani.

ESPOSIZIONE AD AFLATOSSINA B1 E INDUZIONE DI EPATOCARCINOMI

L'aflatossina B1 (AFB₁) è un metabolita del fungo *Aspergillus flavus* che contamina alcuni alimenti (ad esempio, riso, noccioline, mais) conservati in modo inadeguato. AFB₁ è uno dei cancerogeni epatici più potenti oggi conosciuti. Questa tossina richiede conversione metabolica a epossido per indurre un'ampia varietà di addotti sul DNA. Una di queste modificazioni, l'addotto AFB₁-formamidopirimidina, è il principale candidato per l'induzione delle mutazioni specifiche indotte da questo cancerogeno che sono prevalentemente trasversioni GC>TA. Studi epidemiologici indicano che l'AFB₁ gioca un ruolo sinergico con l'infezione da parte del virus dell'epatite B (HBV) nell'induzione di carcinomi epatocellulari. Sebbene l'esposizione ad AFB₁ o a HBV aumenti di per sé il rischio di epatocarcinomi (3 e 7 volte rispettivamente), la presenza di entrambi i fattori di rischio aumenta di 60 volte la probabilità di sviluppare la patologia. L'analisi delle mutazioni del gene p53 in epatocarcinomi ha messo in evidenza il *fingerprint* dell'AFB₁, trasversioni GC>TA, che sono localizzate preferenzialmente in un solo "punto caldo", il codone 249. Questa mutazione è stata trovata in più del 50% dei campioni di epatocarcinomi da aree del mondo dove l'esposizione ad AFB₁ è alta e dove è frequente l'infezione da HBV (in particolare, alcune regioni della Cina, India,

“
Fin dagli anni '50
è noto che il fumo
di sigaretta causa
l'insorgenza
di cancro al polmone
”

Sud Africa, Gambia, Mozambico e Senegal). Solo l'1% dei casi HCC da regioni con bassa esposizione ad AFB₁ (in particolare Australia, Europa, Giappone e America) presenta invece questa mutazione. Sperimentalmente è stato osservato che l'AFB₁ si lega al codone 249 ma è reattiva anche verso altri codoni del gene p53. Perché solo le mutazioni del codone

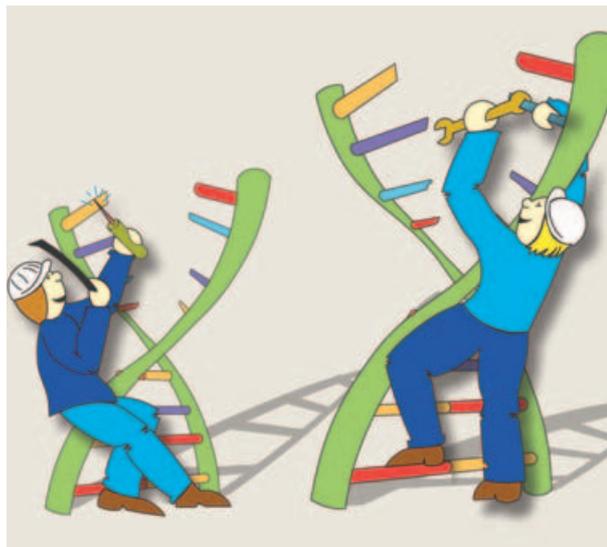
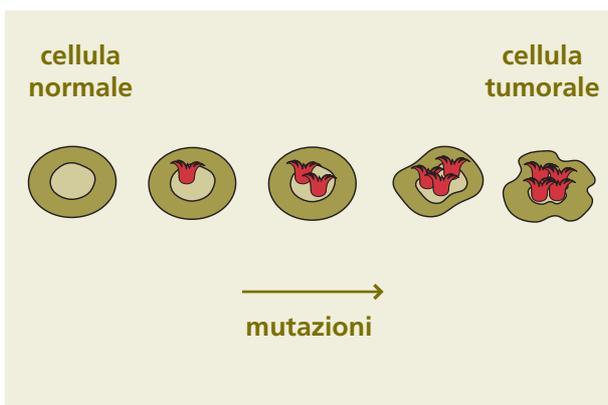
249 siano presenti in epatocarcinomi quando si verifica un'esposizione ad AFB₁ non è chiaro. La mutazione Arg>Ser al codone 249 ha proprietà dominanti-negative in cellule epatiche in coltura, suggerendo che questo mutante possa essere selezionato perché particolarmente deleterio per cellule epatiche.

ESPOSIZIONE A FUMO DI SIGARETTA E INDUZIONE DI TUMORI POLMONARI

L'osservazione che il fumo di sigarette è la principale causa dell'insorgenza del carcinoma del polmone risale agli anni '50. L'incidenza del tumore del polmone, estremamente bassa alla fine della prima guerra mondiale, è infatti cresciuta progressivamente con la produ-

zione di massa delle sigarette, fino a raggiungere ai nostri giorni la prima causa di morte per tumore nel mondo occidentale. La scoperta dell'associazione fumo-tumore ha base quindi strettamente epidemiologica.

Un numero molto elevato di sostanze chimiche, nell'ordine delle migliaia, sono state identificate nel fumo delle sigarette. Gli idrocarburi policiclici aromatici, le ammine aromatiche e i nitroso-composti, incluse le nitrosammine, sono alcune delle classi chimiche coinvolte. Quali sono quelle responsabili dell'induzione dei tumori? Mentre la cancerogenesi di questi composti nei modelli animali è nota dagli anni '70, il chiarimento del loro meccanismo di azione nel processo di cancerogenesi ha dovuto attendere lo sviluppo della tecnologia legata alla manipolazione del DNA. Un esempio in questo senso è costituito dal benzo(a)pirene. Questa sostanza, dopo attivazione metabolica da parte del citocromo P450, è in grado di formare 4 diolepossidi che possono interagire con le basi del DNA, sia guanine che adenine, e formare ben 16 diversi addotti al DNA. Il benzo(a)pirene-7,8-diol-9,10-epossido (BPDE) legato alla guanina in posizione N² ne modifica le proprietà di appaiamento e permette la formazione di accoppiamenti errati G:A che alla replicazione successiva si trasformeranno in mutazioni GC>TA. La presenza di questi addotti al DNA nell'epitelio del polmone di soggetti fumatori dimostra che questi cancerogeni raggiungono nel tessuto bersaglio del processo di trasformazione neoplastica dei livelli tali da modificarne il loro DNA. Nei tumori polmonari sono molto comuni (40% dei casi) le mutazioni nel gene p53. Queste non sono distribuite in maniera casuale ma mostrano dei *fingerprint* specifici che sono diversi tra fumatori e non-fumatori. Lo studio molecolare delle mutazioni del gene p53 nei tumori polmonari di fumatori ha identificato che queste sono preferenzialmente trasversioni GC>TA localizzate in alcune zone "calde" (i codoni 157, 158, 245, 248 e 273). L'analisi a livello della sequenza nucleotidica del gene p53 degli addotti BPDE legati alla guanina in posizione N² ha indicato che queste stesse posizioni sono modificate preferenzialmente dal cancerogeno.



Negli esempi discussi il rilevamento di addotti nel tessuto tumorale e di mutazioni riconducibili all'esposizione al cancerogeno in un gene rilevante nel processo di cancerogenesi formano un quadro complessivo di convincente associazione tra esposizione a cancerogeni ambientali, danno al DNA e formazione di tumori.

QUANTO LA SUSCETTIBILITÀ GENETICA INDIVIDUALE GIOCA UN RUOLO NEL DETERMINARE IL RISCHIO DI TUMORE?

Probabilmente molto. È noto da tempo che sia fattori genetici che ambientali (includendo non solo le esposizioni ambientali ma anche quelle alimentari e voluttuarie) concorrono allo sviluppo dei tumori. Sono stati identificati circa 500 geni coinvolti nella risposta ad agenti ambientali e tra questi sono da menzionare i geni del metabolismo dei cancerogeni, della riparazione del DNA e del ciclo cellulare. È presumibile che più alterazioni genetiche in geni di risposta ambientale a bassa penetranza siano responsabili di genotipi sfavorevoli a più elevato rischio di cancro.

Un gran numero di studi si sta pertanto concentrando sul risequenziamento di questi geni per poter identificare possibili varianti alleliche (polimorfismi), sull'analisi funzionale di queste varianti genetiche per capirne il significato biologico e su studi di popolazione che esaminano la distribuzione dei polimorfismi in relazione al rischio di diverse patologie.

L'avanzamento tecnologico (DNA *chips* e proteomica) è alla base di queste importanti aree di ricerca che permetteranno, attraverso una migliore comprensione della suscettibilità genetica agli agenti ambientali, di migliorare le stime di rischio e la protezione degli individui suscettibili.

Ingegneria genetica e nuove strategie di immunoterapia dei tumori



Paola Rizza, Maria Ferrantini, Imerio Capone e **Filippo Belardelli**

Laboratorio di Virologia, ISS

La scoperta del DNA e delle tecniche di manipolazione genetica hanno fornito, in questi ultimi decenni, un potente strumento per il progredire delle conoscenze in tutti i settori della ricerca biomedica. In particolare, l'avvento delle tecniche di ingegneria genetica ha permesso di studiare e comprendere più a fondo quali sono i meccanismi che inducono l'insorgenza dei tumori, al fine di individuare strategie idonee per combatterli.

Verso la fine degli anni '70, i risultati di un insieme di studi nei modelli animali (tumori sperimentali del topo) avevano portato alla progressiva comprensione dell'importanza del sistema immunitario nel controllo dell'insorgenza e della progressione di tumori. Inoltre, studi su pazienti portatori di tumori indicavano lo sviluppo preferenziale di alcuni tipi di neoplasie in soggetti che mostravano scarse difese immunitarie, cioè immunodepressi. Più di recente, sono stati identificati dei marcatori presenti sulle cellule tumorali, denominati antigeni tumorali o tumore-associated, che contraddistinguono le cellule malate da quelle sane e che sono dei potenziali bersagli per il sistema immunitario. La scoperta di risposte immuni contro tali antigeni in pazienti oncologici ha fornito una solida base scientifica per lo sviluppo di nuove terapie basate sull'uso di sostanze, denominate citochine, che agiscono sul sistema immunitario (immunoterapia). Attualmente gli interferoni (IFN) di tipo I, in particolare l'IFN- α , rappresentano le citochine più ampiamente utilizzate nell'uomo per la terapia di alcuni tumori. Gli IFN di tipo I sono stati scoperti alla fine degli anni '50 come una miscela

di sostanze naturali prodotte dalle cellule in risposta alle infezioni virali e dotate di una potente attività antivirale. Solo di recente sono state individuate nuove attività potenzialmente importanti per lo sviluppo di applicazioni cliniche in campo oncologico.

Verso la metà degli anni '70, quando presso l'ISS sono iniziati i primi studi sull'attività biologica degli IFN, suscitava scetticismo da parte di ampi settori della comunità scientifica il fatto che preparazioni di queste citochine, prodotte mediante la stimolazione di colture cellulari con virus e successive fasi di purificazione, esercitassero effetti biologici aggiuntivi a quelli classici di inibizione della replicazione virale. Una svolta determinante per chiarire in modo inequivocabile la specificità delle molte attività biologiche degli IFN è stata possibile solo in seguito all'avvento dell'ingegneria genetica. L'isolamento dei diversi geni che codificano per gli IFN (clonaggio) e il loro inserimento in microrganismi per l'espressione proteica ha permesso, infatti, di produrre queste citochine su

Le tecniche di ingegneria genetica hanno permesso di studiare i meccanismi dell'isorgenza dei tumori

vasta scala e di caratterizzarne le proprietà biologiche. Già da diversi anni, citochine ricombinanti, quali gli IFN, l'IL-2 o il GM-CSF, sono prodotte in batteri e usate in protocolli di immunoterapia di pazienti oncologici. Le tecniche di ingegneria genetica hanno inoltre rivoluzionato gli approcci della ricerca sperimentale, permettendo, ad esempio, di valutare gli effetti del trasferimento di alcuni geni, inclusi quelli per alcune citochine, in cellule tumorali. Idealmente, il trasferimento genico di una determinata sostanza all'interno di una cellula maligna a scopo terapeutico (terapia genica) può alterare il comportamento della stessa cellula in modo da modificarne

la capacità proliferativa o di invasione, oppure può provocare la produzione di sostanze (quali le citochine) che agiscono sulle cellule del sistema immunitario dell'ospite in modo tale da innescare un processo di rigetto del tumore.

Una linea di ricerca sviluppata all'Istituto dal nostro gruppo è stata quella di trasferire geni per gli IFN di tipo I in cellule tumorali di topo o umane al fine di studiare in sistemi sperimentali il comportamento delle cellule geneticamente modificate e producenti le citochine. I primi esperimenti utilizzando l'IFN- α , sono stati condotti in modelli di tumori sperimentali nel topo. Le cellule di un particolare tipo di tumore, ad esempio una eritroleucemia o un adenocarcinoma, sono state geneticamente modificate introducendo il gene che codifica per l'IFN- α , attraverso l'uso di vari vettori (agenti che fungono da "navetta" per il trasporto del gene all'interno della cellula). Questa manipolazione rende le cellule capaci di produrre l'IFN- α . Tali cellule, inoculate in topi immunocompetenti, dotati cioè di un sistema immunitario funzionale, si comportavano diversamente rispetto alle cellule tumorali parentali non modificate. Infatti, queste ultime formavano una massa tumorale nel sito di inoculo, mentre le cellule tumorali producenti IFN- α non attecchivano, cioè venivano rigettate. Inoltre, gli animali che erano stati inoculati con le cellule geneticamente modificate risultavano protetti da un secondo inoculo con le cellule tumorali parentali. Questa osservazione dimostrava che l'effetto della produzione di IFN- α da parte delle cellule tumorali non era tanto quello di modificare la capacità intrinseca di tali cellule di proliferare, quanto invece quello di stimolare nei

topi una risposta protettiva in grado di conferire immunità al tumore. La Figura 1 mostra uno schema esemplificativo del modello sperimentale descritto.

Tale sperimentazione ha dimostrato attività nuove e potenzialmente importanti di IFN- α : la capacità di indurre un'immunità contro patogeni e tumori attraverso meccanismi diversi, che includono l'attivazione di cellule del sistema immunitario, quali i linfociti, e di particolari cellule dell'organismo denominate cellule dendritiche (DC), che svolgono un ruolo fondamentale nella presentazione degli antigeni ai linfociti e quindi nell'induzione di una risposta immune protettiva. L'insieme di questi risultati ha portato il nostro gruppo a considerare tali citochine come adiuvanti (sostanze che potenziano la risposta immune) per lo sviluppo di vaccini contro il cancro.

L'obiettivo di un vaccino antitumorale è quello di provocare l'attacco del tumore da parte dei sistemi di difesa dell'organismo. A differenza della maggior parte dei vaccini contro le malattie infettive, la vaccinazione contro il cancro è generalmente terapeutica, cioè diretta ad attivare risposte difensive in un organismo già portatore di tumore. Le ricerche miranti allo sviluppo di vaccini contro il cancro non hanno finora portato a un trasferimento clinico corrente in pazienti oncologici. In generale, si può sostenere tuttavia che un avanzamento sostanziale delle prospettive di realizzazione di vaccini antitumorali è stato possibile grazie a due tipi di ricerche condotte in questi ultimi 15 anni: le ricerche che hanno portato all'identificazione di nuovi antigeni tumorali nell'uomo, fornendo nuovi reagenti per lo sviluppo di vaccini antitumorali; il complesso di sperimentazione su cellule tumorali geneticamente modificate per la produzione di citochine, che

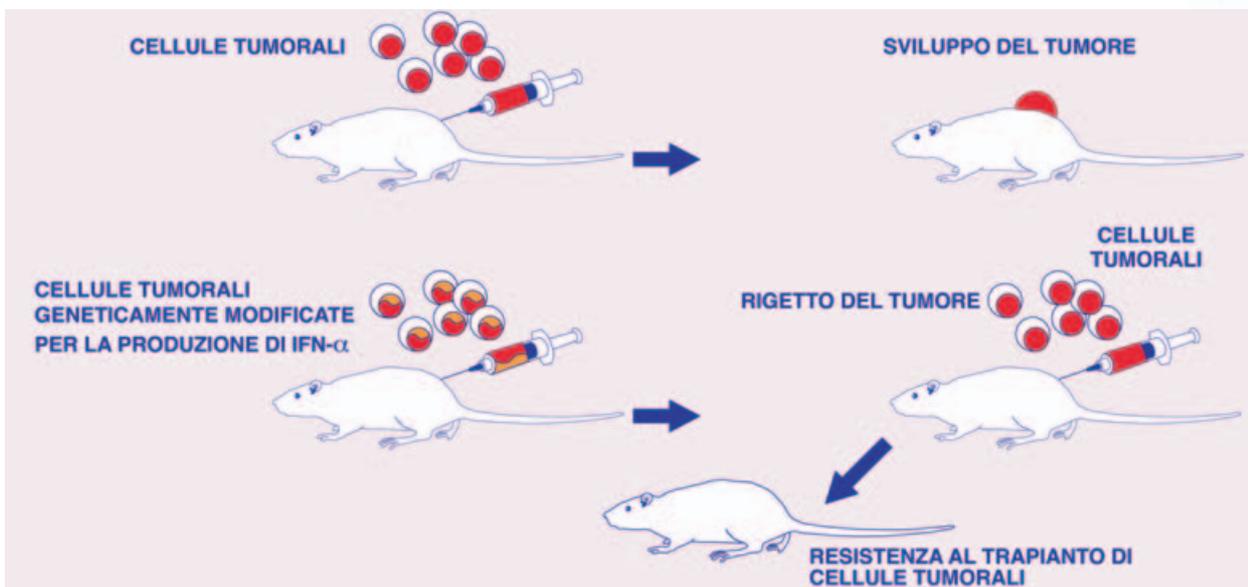


Figura 1 - L'inoculo di cellule tumorali producenti IFN- α genera nei topi uno stato di immunità al tumore

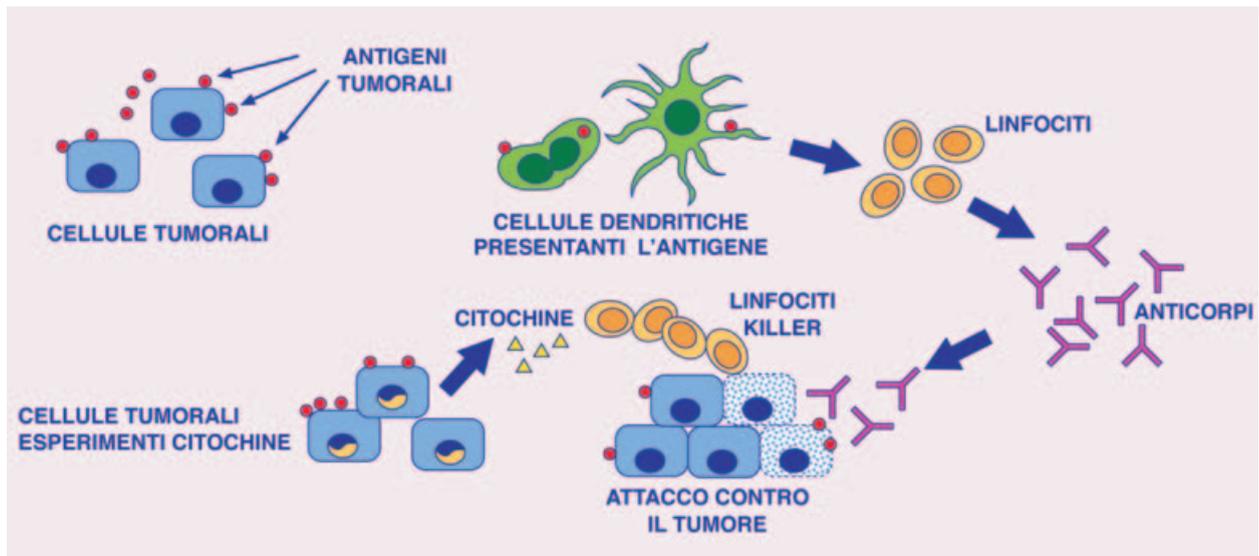


Figura 2 - Lo schema mostra i meccanismi immunologici innescati da alcuni vaccini anti-tumorali: vaccini costituiti da cellule tumorali o da antigeni tumorali o da cellule dendritiche "caricate" con antigeni tumorali

ha permesso di comprendere come il sistema immunitario può essere orientato verso una risposta protettiva contro i tumori.

Nella Figura 2 sono illustrati i meccanismi immunologici che dovrebbero essere innescati da un vaccino antitumorale. Vaccini costituiti da cellule tumorali modificate attraverso le tecniche di ingegneria genetica, per la produzione di sostanze in grado di manipolare la risposta immunitaria, quali alcune citochine, sono già stati sperimentati nell'uomo in studi clinici preliminari. Altri tipi di vaccini terapeutici sviluppati recentemente si basano sull'impiego degli antigeni tumorali come potenziali bersagli contro cui scatenare il sistema immunitario. Risposte efficaci sono state ottenute contro diversi tipi di tumori in modelli sperimentali, mediante vaccinazione con microrganismi non patogeni geneticamente modificati per contenere l'antigene tumorale di interesse.

I risultati finora disponibili indicano la necessità di considerare l'associazione tra più strategie per aumentare l'efficacia dei diversi approcci vaccinali finora sperimentati. In questo senso, l'uso di citochine ad attività adiuvante, in grado cioè di potenziare la risposta immunitaria, appare particolarmente promettente per lo sviluppo di protocolli di vaccinazione antitumorale nell'uomo. In tale ambito, il nostro gruppo, sulla base di risultati di ricerche precliniche condotte in ISS soprattutto in questi ultimi 15 anni, ha recentemente promosso l'avvio di uno studio clinico di vaccinazione di pazienti con melanoma mediante l'uso di antigeni tumore-associati in combinazione con IFN- α , utilizzato in questo protocollo per la prima volta come adiuvante del vaccino stesso. Un altro approccio di emergente interesse è costituito dall'uso di DC del pa-

ziente portatore del tumore, caricate con antigeni tumorali o geneticamente modificate per esprimere l'antigene tumorale di interesse. In particolare, studi condotti dal nostro gruppo in modelli preclinici hanno dimostrato l'efficacia di vaccini cellulari costituiti da DC preparate mediante l'uso di IFN nella stimolazione di una risposta immune protettiva, aprendo nuove prospettive di utilizzo di queste preparazioni per la vaccinazione terapeutica in pazienti oncologici.

Infine, risultati di potenziale interesse per lo sviluppo di vaccini profilattici contro il cancro, in grado cioè di prevenire l'insorgenza del tumore, sono stati ottenuti in sistemi sperimentali mediante vaccinazione a DNA, cioè lo stesso materiale genetico che utilizza l'organismo per "fabbricare" l'antigene contro cui si vuole generare una risposta protettiva.

L'identificazione di nuovi antigeni tumore-associati e la comprensione dei meccanismi tumorali di evasione dal controllo immunologico offriranno, parallelamente al progredire delle conoscenze dell'immunologia di base, ulteriori possibilità per lo sviluppo di vaccini contro il cancro. Il progresso della ricerca di nuovi interventi terapeutici per la lotta contro il cancro sta ricevendo attualmente un grande impulso dalla recente invenzione di un potente dispositivo tecnologico: i *microarray* a DNA, noti anche come *chip* genici. Questi strumenti di ricerca stanno contribuendo a farci capire che cosa accade a livello molecolare in caso di malattia e nel contempo stanno facilitando la scoperta di nuovi farmaci e di antigeni tumorali. L'applicazione di questo mezzo di indagine in campo oncologico genererà nuove conoscenze che saranno cruciali per l'individuazione di nuovi reagenti e modalità d'intervento e per la loro traduzione in applicazioni cliniche innovative.



Concorso per il cinquantenario del DNA

Perché un Concorso?

Abbiamo pensato di organizzare un Concorso per celebrare i cinquant'anni della scoperta del DNA, e ci è sembrato che questo *Notiziario* fosse il canale più adatto a ospitarlo dal momento che è espressamente dedicato agli attuali sviluppi della ricerca biomedica nel settore della genetica molecolare e alla diffusione tra i giovani delle informazioni storiche e tecniche sul DNA, raccontate dai ricercatori di questo Istituto. L'obiettivo del concorso è quello di coinvolgere - ancora una volta - insegnanti e studenti in una iniziativa volta a favorire la comunicazione con il mondo della ricerca

Chi può partecipare?

Il Concorso è diretto agli studenti degli istituti di istruzione secondaria superiore

Cosa si deve fare?

I ragazzi dovranno descrivere iconicamente (con un disegno o una vignetta) o verbalmente (con un breve racconto, un articolo giornalistico o una poesia/filastrocca) un aspetto che considerano significativo relativamente alle pratiche dell'ingegneria genetica (cioè di quell'insieme di tecniche che comprendono manipolazione genetica, clonazione, DNA ricombinante). L'elaborato deve essere prodotto individualmente o in gruppi di max 2/3 persone. L'elaborato non dovrà superare una pagina (formato A4) e dovrà essere realizzato interamente in classe (max due ore di tempo)

Quando scade il Concorso?

Gli elaborati dovranno essere **inviati** entro e non oltre il **10 maggio 2003**

A chi e come deve essere inviato il materiale?

Gli elaborati realizzati in una stessa classe saranno raccolti dall'insegnante-promotore che li invierà a:

Segreteria per le Attività Culturali
All'attenzione della Dott.ssa Cecilia Bedetti
Istituto Superiore di Sanità
Viale Regina Elena, 299
00161 Roma

Chi valuterà i lavori?

Gli elaborati saranno esaminati e selezionati da una commissione costituita dal gruppo di coordinamento del progetto "Le biotecnologie in medicina: un'analisi interattiva tra scuola e istituti di ricerca" e da ricercatori dell'Istituto Superiore di Sanità

Chi vince?

Saranno premiati i cinque elaborati che saranno indicati come i migliori tra quelli selezionati tenendo conto: a) della significatività dell'aspetto relativo alle pratiche dell'ingegneria genetica preso in considerazione; b) dell'originalità del progetto grafico o testuale

Cosa si vince?

Agli autori degli elaborati prescelti sarà offerta ospitalità per una intera giornata nei laboratori dell'ISS dove sono impiegate le metodologie della genetica molecolare. In alternativa si potrà ricevere libri di argomento scientifico

Che ne sarà degli elaborati?

I cinque elaborati prescelti e tutti quelli che la commissione avrà selezionato saranno inclusi in un volume didattico del quale è prevista la pubblicazione

A chi rivolgersi per avere informazioni?

Maria Cristina Barbaro, Anna Bertini
tel. 06 49903348; e-Mail: c.barbaro@iss.it; a.bertini@iss.it
Cecilia Bedetti tel. 06 49902405; e-Mail: cbedetti@iss.it

Quindici passi per conoscere il DNA

Milena Bandiera¹, Maria Cristina Barbaro², Cecilia Bedetti² e Anna Bertini²

¹Dipartimento di Biologia, Università degli Studi "Roma Tre", Roma

²Segreteria per le Attività Culturali, ISS

La storia della molecola depositaria dell'informazione genetica - il DNA - è lunga e segnata da profonde trasformazioni teoriche e tecniche, che rappresentano i fondamenti della genetica moderna. Nella tabella che segue sono presentati alcuni momenti cruciali, selezionati prestando particolare attenzione alle acquisizioni che riguardano direttamente il DNA o che sono rilevanti per le applicazioni in campo medico.

| | |
|-----------|---|
| 1900-1906 | Hugo De Vries, Karl Correns, Eric Tschermak e William Bateson "Riscoprono" le leggi di Mendel consolidando i fondamenti concettuali dell'ereditarietà dei caratteri |
| 1902 | Archibald Garrod Studia e illustra errori metabolici congeniti, quali l'alcaptonuria, ma ne attribuisce l'ereditarietà alle proteine |
| 1944 | Oswald Avery, Colin MacLeod e Maclyn McCarty Dimostrano che il fattore trasformante, trasmissibile e responsabile della capacità dei batteri di causare la polmonite nel topo, è DNA |
| 1952 | Erwin Chargaff L'attenzione dei ricercatori è concentrata sul DNA. Chargaff rileva che, nella molecola del DNA, la quantità di adenina è uguale a quella di timina; la quantità di citosina uguale a quella di guanina Maurice Wilkins e Rosalind Franklin Mediante cristallografia a raggi X rivelano la struttura ripetuta della molecola di DNA |
| 1953 | James Watson e Francis Crick Basandosi su dati sperimentali, elaborano un modello che rappresenta la conformazione della molecola di DNA |
| 1958 | Matthew Meselson e Franklin Stahl Illustrano il processo di replicazione "semiconservativa" del DNA |
| 1972 | Paul Berg e colleghi Mediante l'uso degli enzimi di restrizione costruiscono la prima molecola di DNA ricombinante: sono legati insieme segmenti di DNA derivati da organismi diversi a realizzare combinazioni di geni inedite in natura |
| 1974 | Sono condotti in vari laboratori esperimenti mirati a introdurre molecole di DNA ricombinante in cellule in coltura |
| 1977 | Frederick Sanger, Alan Maxam e Walter Gilbert Mettono a punto e utilizzano metodologie che consentono di sequenziare il DNA |
| 1980 | Mark Skolnick, Ray White, David Botstein, Ronald Davis Definiscono la mappa dei marcatori del genoma umano |
| 1982 | È immesso sul mercato il primo farmaco ottenuto mediante DNA ricombinante, l'insulina |
| 1985 | Kary Mullis Mette a punto la tecnica "PCR" (Polymerase Chain Reaction) che, partendo da una esigua quantità di DNA, consente di ottenere in tempi brevi notevoli quantità di molecole uguali |
| 1990 | Su proposta, tra gli altri, di Renato Dulbecco parte il progetto Genoma Umano (Human Genome Project) con l'obiettivo di definire l'intera sequenza del genoma umano |
| 1982 | French Anderson Ottenua l'autorizzazione della FDA (Food and Drug Administration), pratica la prima terapia genica infondendo una bimba affetta da grave carenza immunitaria, con i suoi linfociti, precedentemente prelevati e trattati con un vettore virale contenente il gene "sano" |
| 1990 | Il progetto Genoma Umano si conclude: il consorzio pubblico internazionale di ricerca e la Celera Genomics pubblicano su <i>Nature</i> e <i>Science</i> versioni identiche delle sequenze genomiche complete |

Due progetti ISS per la diffusione della cultura scientifica

“Aspetti scientifici ed etici delle biotecnologie in medicina: un’analisi interattiva tra scuola e Istituti di ricerca” e **“Il metabolismo della conoscenza nei giovani: una sperimentazione interattiva tra scuole e istituti di ricerca”**, sono due progetti che l’Istituto Superiore di Sanità ha promosso con il contributo finanziario del Ministero dell’Istruzione dell’Università e della Ricerca (MIUR), nell’ambito della Legge n. 6/2000 per la diffusione della cultura scientifica, con l’obiettivo di avviare momenti di incontro tra il mondo della scuola e quello della ricerca in campo biomedico. Con questa finalità, l’Istituto Superiore di Sanità organizza brevi corsi di aggiornamento per insegnanti sia sulle tecniche di genetica molecolare e loro applicazioni in medicina, sia sulla microbiologia, sia sulla metodologia didattica di apprendimento per problemi che deriva dal Problem-Based Learning (PBL).

Per informazioni: Maria Cristina Barbaro e-Mail c.barbaro@iss.it; Anna Bertini e-Mail anna.bertini@iss.it



Riassunto - Cinquant’anni dalla scoperta del DNA. Alcune ricerche dell’Istituto Superiore di Sanità. Un contributo alla diffusione della cultura scientifica nelle scuole

Questo fascicolo rappresenta uno dei tanti contributi realizzati in occasione delle celebrazioni dei cinquant’anni dalla scoperta della struttura a doppia elica del DNA. Nel 1953, infatti, veniva pubblicato su *Nature* il famoso contributo di James Watson e Francis Crick “Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid” che segnò una svolta epocale nel mondo della ricerca scientifica, non soltanto nel settore specifico della biologia molecolare. Il fascicolo si rivolge alle scuole per diffondere tra i giovani e gli insegnanti alcune informazioni su attività svolte presso questo Istituto, direttamente influenzate dalla scoperta di Watson e Crick. Le ricerche descritte sono raccontate da alcuni ricercatori dell’Istituto Superiore di Sanità (ISS) con l’obiettivo di informare gli insegnanti e di stimolare i giovani ad avvicinarsi con passione al mondo della ricerca, prendendo spunto da quanto viene svolto presso l’ISS ai fini della tutela della salute pubblica. Si presentano in particolare alcune problematiche inerenti il differenziamento cellulare, l’associazione tra la scoperta del DNA e i tumori, il danno al DNA, l’ingegneria genetica e l’immunoterapia. Questo fascicolo contiene, inoltre, un utile schema cronologico dei principali avvenimenti che hanno segnato l’evoluzione della scoperta del DNA. A conclusione si presenta il bando di un concorso a premi rivolto agli studenti degli istituti di istruzione secondaria che dovranno realizzare un disegno o scrivere un racconto riguardanti i temi dell’ingegneria genetica.

Summary - Fifty years from the discovery of DNA. Some research of the Istituto Superiore di Sanità as a contribution to the diffusion of scientific culture in schools

This issue is one of the many contributions realized on the occasion of 50th anniversary of the discovery of the “Double Helix” structure of DNA. In 1953, in fact, the famous paper “Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid” by James Watson and Francis Crick’s was published in *Nature*, thus setting a milestone in the whole world of scientific research, not only in the field of molecular biology. This issue is devoted to schools to spread, among students and teachers, information directly or indirectly connected to Watson and Crick’s discovery. The topics here discussed are directly associated to the safeguard of public health that is the main objective of the Istituto Superiore di Sanità (the Italian National Institute of Health). They are told by the very researchers of the ISS with the objective to inform teachers and at the same time involve and stimulate students for a better approach to scientific research. Among the different research activities carried out at the ISS, this issue includes the following topics: cell differentiation, DNA and tumours, DNA damage, genetic engineering, immunotherapy. A useful chronological scheme of the main scientific events related to DNA is also included as a reference guide to students and teachers. Finally, a DNA competition for high school students is launched: students producing the best short story or drawing related to genetic engineering will be granted a special price.



Segnaliamo alcuni siti per essere aggiornati su iniziative e progetti per la diffusione della cultura scientifica

**Ministero dell’Istruzione,
dell’Università e della Ricerca**
www.miur.it

Farescienza: divulgazione delle scienze della vita
www.farescienza.it

Dai National Institutes of Health
<http://science-education.nih.gov/>

Dolan - DNA Learning Centre
www.dnafb.org



Istituto Superiore di Sanità

Viale Regina Elena, 299
00161 Roma
tel. +39 0649901

Il **Notiziario**
è a disposizione
per accogliere commenti
e suggerimenti
dei suoi lettori

Redazione del **Notiziario**

e-Mail: notiziario@iss.it
tel. +39 0649902944-2946
fax +39 0649902253

<http://www.iss.it/notiziario>

