

VITA: ORIGINE & EVOLUZIONE

COLLANA DI MONOGRAFIE BIOLOGICHE
SEZIONE SCIENTIFICA

4

Direttore

Giovanni PARISI

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

Comitato scientifico

Antonio ARIANI

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

Karl J. WITTMANN

MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT WIEN

VITA: ORIGINE & EVOLUZIONE

COLLANA DI MONOGRAFIE BIOLOGICHE
SEZIONE SCIENTIFICA

Negli ultimi decenni la Biologia ha compiuto, a seguito della scoperta della struttura e della funzione genetica del DNA, un decisivo balzo in avanti, che può ben richiamare quel movimento innovatore che si produsse nelle scienze fisiche dopo la scoperta, agli inizi dello scorso secolo, dei quanti di energia.

La moderna teoria del gene che rapidamente si è composta come un corpo di dottrina a sé, ha permesso di chiarire numerosi meccanismi molecolari che sono alla base di fondamentali processi biologici.

L'analisi dei fatti fondamentali che caratterizzano il fenomeno della vita non si esaurisce, però, nella sola indagine intorno allo studio dei meccanismi molecolari che discendono dall'attività dei geni. La prodigiosa diversità delle forme viventi, peculiare carattere del fenomeno vita, ha indotto a cogliere di volta in volta, ai vari livelli dell'organizzazione nella *gerarchia* dei sistemi biologici, fatti essenziali di portata generale comuni a tutto ciò che vive.

Questa Collana di monografie biologiche offre saggi sui temi dominanti della biologia generale, cellulare e molecolare, nonché della genetica nelle sue varie articolazioni comprendente l'ingegneria genetica e le biotecnologie. Arricchiscono la collana in oggetto particolari monografie che illustrano il dibattito scientifico e l'evoluzione delle tecnologie che hanno consentito nel tempo il progresso delle scienze biologiche. Tematiche di fondamentale importanza, uniche nella editoria italiana, che consentono al lettore di rendersi meglio conto di come sia stato possibile pervenire agli attuali livelli di conoscenze in ambito biologico.

La sezione Scientifica persegue l'obiettivo di presentare, in modo scientificamente rigoroso, le più importanti trattazioni e i maggiori risultati ottenuti in ambito biologico.

La sezione Divulgativa predilige volumi di più ampio respiro che illustrano la Biologia in maniera adeguata a qualsiasi lettore o curioso della materia restando fedele a quei pilastri scientifici che pongono le basi della collana. La sezione rappresenta quindi un arricchimento per la collana stessa.

Il Consiglio scientifico, del quale hanno accettato di far parte illustri Studiosi di varie Istituzioni accademiche nazionali e internazionali, e la procedura predisposta per la valutazione dei contributi costituiscono una garanzia di qualità e di rigore scientifico.

Giovanni Parisi

Introduzione alla biologia molecolare

I principali materiali biologici usati nella sperimentazione

Volume secondo





Aracne editrice

www.aracneeditrice.it
info@aracneeditrice.it

Copyright © MMXVII
Giacchino Onorati editore S.r.l. – unipersonale

www.giacchinoonoratieditore.it
info@giacchinoonoratieditore.it

via Vittorio Veneto, 20
00020 Canterano (RM)
(06) 45551463

ISBN 978-88-255-0153-7

*I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica,
di riproduzione e di adattamento anche parziale,
con qualsiasi mezzo, sono riservati per tutti i Paesi.*

*Non sono assolutamente consentite le fotocopie
senza il permesso scritto dell'Editore.*

I edizione: luglio 2017

Indice

- 9 *Prefazione*
- 13 **Capitolo I**
I Batteri
- 1.1. Introduzione, 13 – 1.2. Lo sviluppo delle conoscenze sui batteri, 13 – 1.3. Louis Pasteur, 17 – 1.4. Robert Heinrich Hermann Koch, 30 – 1.5. Albert Ludwig Sigismund Neisser, 49 – 1.6. Pierre François Olive Rayer, 55 – 1.7. Christian Gottfried Ehrenberg, 59 – 1.8. Charles Louis Alphonse Laveran, 64 – 1.9. Theodor Albrecht Edwin Klebs, 71 – 1.10. Gerhard Henrik Armauer Hansen, 77 – 1.11. Ferdinand Julius Cohn, 84 – 1.12. Forme e dimensioni dei batteri, 91 – 1.13. Struttura della cellula batterica, 99 – 1.14. Colorazione di Gram, 105 – 1.15. Hans Christian Joachim Gram, 111 – 1.16. Theodor Escherich, 115 – 1.17. *Escherichia coli*, 122 – 1.18. Tassonomia microbica e filogenesi, 124 – 1.19. Genofori e cromosomi, 137 – 1.19.1. *Genoforo batterico*, 138.
- 143 **Capitolo II**
I Virus
- 2.1. Introduzione, 143 – 2.2. Lo sviluppo delle conoscenze sui virus, 144 – 2.3. Definizione di Virus, 159 – 2.4. Composizione chimica dei virionin]virioni, 160 – 2.5. Struttura del capsiden]capside, 164 – 2.5.1. *Adenovirus*, 169 – 2.5.2. *Virus del mosaico del tabacco (TMV)*, 170 – 2.5.3. *Vaccinia virusn]Vaccinia virus (VACV o VV)n]VACV*, 172 – 2.6. Classificazione dei virus, 173 – 2.7. Dmitri Iosifovich Ivanovsky, 179 – 2.8. Martinus Willem Beijerinck, 189 – 2.9. Wendell Meredith Stanley, 198 – 2.10. André Michel Lwoff, 208 – 2.11. I batteriofagin]batteriofagi, 217 – 2.11.1. *Colifago T₄*, 233 – 2.11.2. *Il colifago λ*, 234 – 2.11.3. *Colifago φX174*, 235 – 2.12. Frederick William Twort, 236 – 2.13. Félix Hubert d'Hérelle, 241 – 2.14. Genoforo virale, 256 – 2.14.1. *Genoforo costituito da una molecola di DNA*, 260 – *Genoforo circolare costituito da DNA a singolo filamento*, 260 – *Genoforo circolare costituito da DNA a doppio filamento*, 260 – *Genoforo lineare con estremità adesive*, 260 – *Genoforo lineare con ridondanza terminale*, 262 – *Genoforo lineare con permutazione circolare*, 263 – 2.14.2. *Genoforo costituito da una*

molecola di RNA, 266 – *Genoforo costituito da RNA a singolo filamento*, 266 – *Genoforo costituito da RNA a doppio filamento*, 267.

269 **Capitolo III**

Culture di batteri e di virus

3.1. Introduzione, 269 – 3.2. Culture batteriche, 269 – 3.3. Nutrizione batterica, 278 – 3.4. Fattori ambientali che influenzano la crescita batterica, 283 – 3.5. Terreni di coltura, 285 – 3.6. Tecnica della coltura batterica, 290 – 3.7. Isolamento di un tipo particolare di batterio dal suo ambiente naturale, 294 – 3.8. Crescita di popolazioni batteriche, 297 – 3.9. Osservazione dei batteri: preparati a fresco e preparati fissati e colorati, 313 – 3.10. Culture virali, 314 – 3.11. Coltura su monostrati cellulari, 317 – 3.12. Coltura in uova di pollo embrionate, 318 – 3.13. Coltura *in vivo*, 319 – 3.14. Titolazione dei virus, 319 – 3.15. Titolazione dei batteriofagi, 320 – 3.16. Titolazione dei virus]virus animali, 323 – 3.17. Titolazione dei virus vegetali, 324.

325 **Capitolo IV**

Culture di cellule, di tessuti, di organi

4.1. Introduzione, 325 – 4.2. Culture cellulari, 332 – 4.3. Culture di cellule disperse, 334 – 4.4. Culture di tessuti, 339 – 4.5. Culture clonali, 341 – 4.6. Culture *in vitro* di organi embrionali, 342.

347 **Capitolo V**

Alcuni Eucarioti impiegati nella ricerca biologica

5.1. Introduzione, 347 – 5.2. Protozoi, 348 – 5.2.1. *Amoeba proteus*, 351 – 5.2.2. *Paramecium aurelia*, 354 – 5.3. Alghe, 358 – 5.3.1. *Euglena gracilis*, 360 – 5.3.2. *Chlorella vulgaris*, 362 – 5.3.3. *Chlamydomonas eugametos*, 364 – 5.3.4. *Acetabularia mediterranea*, 366 – 5.4. Funghi, 368 – 5.4.1. *Neurospora crassa*, 373 – 5.4.2. *Aspergillus nidulans*, 376 – 5.4.3. *Saccharomyces cerevisiae*, 378 – 5.5. Spermatofite, 380 – 5.5.1. *Zea Mays*, 382 – 5.6. Insetti, 384 – 5.6.1. *Drosophila melanogaster*, 386 – 5.7. Echinodermi, 390 – 5.7.1. *Paracentrotus lividus*, 392 – 5.8. Anfibi, 393 – 5.8.1. *Xenopus laevis*, 396 – 5.9. Mammiferi, 398 – 5.9.1. *Mus musculus*, 400 – 5.9.2. *Porcellino d'India*, 403.

414 *Indice dei nomi*

422 *Indice analitico*

Prefazione

All'inizio del XX secolo la ricerca biologica era essenzialmente centrata sull'analisi morfologica e filogenetica degli organismi viventi e molto meno orientata verso la spiegazione causale dei fenomeni che sono alla base della vita.

Le difficoltà derivanti dalla scarsa disponibilità di una adeguata strumentazione e di un idoneo materiale biologico sul quale si potessero condurre ricerche di ampio respiro, fecero sì che la ricerca biologica procedesse, con non poche difficoltà, nei vari ambiti dottrinari che la caratterizzano. Pur conseguendo importanti acquisizioni, mancava ai biologi la possibilità di indagare molto più a fondo le strutture e le funzioni cellulari, le problematiche inerenti l'ereditarietà dei caratteri e principalmente la natura molecolare della materia vivente.

Tematiche che furono oggetto di studi sempre più accurati soltanto a partire dai primi decenni del Novecento quando si rese disponibile una strumentazione sempre più sofisticata (G. Parisi, *Introduzione alla Biologia molecolare. Parte prima. Elaborazione delle principali tecniche chimico-fisiche che ne consentirono la nascita*, Aracne Editrice) e principalmente quando le ricerche furono eseguite su organismi standard, geneticamente uniformi, che potessero produrre risultati sperimentali ripetibili.

Il rapido sviluppo di discipline emergenti, al confine tra le scienze biologiche e mediche, quali la batteriologia e la virologia, successivamente riunite nella microbiologia, offrì ai biologi una varietà di batteri e di virus che furono scelti come utili modelli per lo studio della struttura, della funzione e della trasmissione dei geni.

Sebbene tali organismi costituissero inizialmente, per la nascente biologia molecolare, dei modelli migliori rispetto ai più complessi eucarioti, le importanti conclusioni che con l'ausilio di quei modelli si cominciarono ad ottenere richiesero, ben presto, una verifica ed una estensione negli organismi eucarioti.

Negli anni Ottanta la notevole mole di dati acquisiti ha posto le basi della moderna Biologia molecolare, un corpo di dottrina che

ha unificato i vari approcci allo studio della organizzazione, della funzione e delle proprietà delle macromolecole responsabili della specificità biologica. Ha fornito, inoltre, solide basi non soltanto alla genetica molecolare, ma in generale a tutta la Biologia nelle sue varie articolazioni.

In questo volume si descrive una varietà di organismi che sono di particolare interesse negli studi biologici.

È stato deliberatamente scelto di descrivere solo una parte del materiale sperimentale resosi nel tempo disponibile alla ricerca biologica.

La scelta è stata, in un certo qual senso arbitraria, pur avendo una sua logica:

- a) gli organismi scelti sono tra quelli che più frequentemente costituiscono l'oggetto della ricerca biologica, sia in quanto largamente studiati, sia perché spesso offrono al ricercatore eccezionali possibilità d'indagine;
- b) gli organismi scelti hanno cicli vitali, che sono abbastanza rappresentativi del gruppo sistematico cui appartengono.

Il non aver incluso nella trattazione altri organismi non significa che essi siano soggetti privi d'interesse o infruttuosi per lo studio della Biologia.

Lo scopo che ci si è proposto è stato quello di fornire al lettore alcune utili notizie circa i più comuni organismi impiegati nella ricerca biologica, di modo che, nell'affrontare lo studio dei fenomeni più generali e fondamentali che sono alla base dei sistemi viventi, possa essere in grado di considerarli in relazione a determinati organismi.

Parte integrante del volume è anche la trattazione delle colture di batteri, e di virus, nonché di cellule, di tessuti e di organi di eucarioti.

Nella stesura del presente volume ci si è proposti non soltanto di trattare problematiche di natura concettuale e di fornire una guida alle fonti di informazione bibliografica, senza, peraltro, trascurare l'aspetto storico dello sviluppo della biologia, in quanto non si può pensare ad uno sviluppo scientifico svincolato dagli uomini che l'hanno operato. Solitamente le uniche notizie sulla vita dei grandi scienziati del passato, che si trovano nei comuni manuali, sono limitate agli anni di nascita e di morte.

Come per i precedenti volumi non posso esimermi dal ringraziare tutti coloro e primi tra tutti alcuni miei Colleghi, che hanno contribui-

to, con le loro domande e con appassionate discussioni, ad indurmi a scrivere questo volume. Devo, infine, ringraziare ancora una volta mia moglie per aver criticamente revisionato il testo dedicandomi tanta parte del suo tempo.

Giovanni Parisi

I Batteri

Vi è la prova perentoria che esistono delle malattie trasmissibili contagiose, infettive, la cui causa risiede essenzialmente e unicamente nella presenza di organismi microscopici.

Louis Pasteur (1878)

1.1. Introduzione

Buona parte delle importanti acquisizioni della moderna biologia si deve allo studio dei batteri, i quali costituiscono modelli relativamente semplici di esseri viventi e presentano il grosso vantaggio di riunire in una stessa cellula tutte le funzioni indispensabili alla vita.

I batteri costituiscono, dunque, un materiale estremamente utile per un primo approccio allo studio di numerosi problemi biologici di carattere generale. Naturalmente i risultati di tali studi richiedono un'ampia verifica, che comporta il successivo impiego di più complessi modelli, scelti tra le piante e gli animali. Alla relativa semplicità della loro organizzazione cellulare i batteri aggiungono numerosi altri vantaggi: facilità dell'analisi genetica, crescita in coltura sotto condizioni controllate, cicli di sviluppo abbastanza semplici, tempi di riproduzione generalmente brevi. Tutti questi vantaggi fanno dei batteri degli eccellenti materiali, molto utili per la ricerca biologica.

1.2. Lo sviluppo delle conoscenze sui batteri

Usando i suoi artigianali microscopi, nel diciassettesimo secolo, Antonie van Leeuwenhoek (1632–1723) è stato il primo studioso ad osservare numerosi organismi unicellulari, tra questi alcuni batteri, che genericamente denominò *animalculi*.

Sebbene la scoperta dei batteri suscitasse notevole interesse, nei duecento anni successivi non si registrarono sostanziali progressi nel loro studio. In quegli anni i batteri, ai quali furono attribuiti vari nomi, erano considerati da alcuni biologi come appartenenti al regno animale, da altri, invece, al regno vegetale.

Nei primi decenni del diciannovesimo secolo, benché fossero stati scoperti vari batteri, si era ancora lungi da una loro organica trattazione.

Nel 1809, ad esempio, il botanico tedesco Johann Heinrich Friedrich Link (1767–1851) scoprì il batterio di forma bacillare che denominò *Polyangium vitellinum*, attualmente attribuito all'ordine dei mixobatteri; nel 1823, a sua volta, l'italiano Bartolomeo Bizio (1791–1862) scoprì il batterio di colore rosso che denominò *Serratia marcescens*.

Soltanto nel 1828 Christian Gottfried Ehrenberg (1795–1876), naturalista tedesco, conìò per queste specifiche forme microscopiche il generico nome di *bacterium* derivato dal greco βακτήριον (bastone).

A seguito di quelle sporadiche scoperte, la batteriologia nacque nella seconda metà del diciannovesimo secolo essenzialmente ad opera di Louis Pasteur (1822–1895) e Robert Koch (1843–1910; Nobel per la Medicina nel 1905).

Pur senza disconoscere i grandissimi meriti di Pasteur (studi sul carbonchio, sulla setticemia, sulla febbre puerperale, scoperta dei batteri della fermentazione lattica, dello stafilococco, dello streptococco,



Figura 1.1. Johann Heinrich Friedrich Link a sinistra; Bartolomeo Bizio a destra.

ecc.), il titolo di *padre della batteriologia* spetta, però, a Koch: il quale elaborò metodi di *fissazione dei batteri* su vetrini da microscopio mediante etanolo, dove per fissazione si intende l'uccisione dei batteri e la loro immobilizzazione sul vetrino da microscopio, onde poterli comodamente studiare. Naturalmente occorre procedere in modo che le strutture batteriche non vengano alterate. Ma il contributo più importante di Koch è, forse, consistito nell'ideazione di una tecnica che ha consentito lo sviluppo di ceppi puri di batteri, in altre parole colonie formate da un unico tipo di batterio. Scopritore del bacillo della tubercolosi, del vibrione del colera, del batterio della febbre tifoide, Koch inaugurò l'epoca d'oro della batteriologia medica. Durante tale periodo due centri mondiali di batteriologia sorgevano a Parigi e a Berlino, facenti capo rispettivamente a Pasteur e a Koch. La scuola tedesca di Koch concentrò i suoi sforzi sull'isolamento, la coltivazione e la caratterizzazione degli agenti delle più importanti malattie infettive dell'uomo.

In pochi anni si giunse all'individuazione nel 1879, ad opera di Albert Ludwig Sigismund Neisser (1855–1916), della *Neisseria gonorrhoeae*, l'agente eziologico della gonorrea o blenorragia. Nel 1880 Karl Joseph Eberth (1835–1926) descrisse *Salmonella typhi* (sierotipo di *Salmonella enterica*), un bacillo che sospettò essere la causa della febbre tifoide. Nel 1883 il patologo Theodor Albrecht Edwin Klebs (1834–1913)

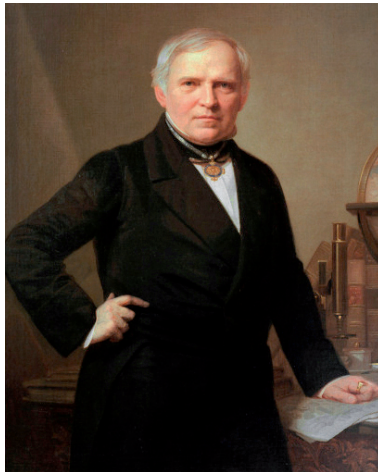


Figura 1.2. Christian Gottfried Ehrenberg.

scoprì la causa eziologica della difterite individuando il batterio *Corynebacterium diphtheriae*. Nel 1884 Albert Fraenkel (1848–1916) segnalò il coinvolgimento dello *Streptococcus pneumoniae*, allora chiamato *Diplococcus pneumoniae lanceatus*, nell'eziologia della polmonite; al tempo stesso Theodor Escherich (1857–1911) dettagliatamente descrisse il *Bacterium coli*, successivamente denominato *Escherichia coli*. Nel 1887 Anton Weichselbaum (1845–1920) isolò la *Neisseria meningitidis*, agente eziologico della meningite. Nel 1889 Emil Adolf von Behring e Kitasato Shibasaburo (1853–1931) isolarono il bacillo del tetano, precisamente il *Clostridium tetani*.

In quello stesso anno August Anton Hieronymus Gärtner (1848–1934) scoprì la *Salmonella enteritidis*.

Il sopra citato elenco di contributi, che portarono alla scoperta di batteri patogeni per l'uomo, volutamente limitati soltanto ad alcune importanti patologie, in una più dettagliata rassegna comprenderebbe anche i lavori di numerosi altri studiosi che scoprirono vari streptococchi e stafilococchi.

La scuola francese di Pasteur concentrò, invece, i suoi sforzi su ricerche tendenti a delucidare i meccanismi relativi alla guarigione, alla immunità e allo sviluppo delle malattie infettive negli animali.

Nel 1837 Pierre François Olive Rayer (1793–1867) scoprì che la fatale malattia infettiva degli equini, nota come morva, era contagiosa e



Figura 1.3. Kitasato Shibasaburo.

trasmissibile anche all'uomo. L'agente eziologico di questa patologia, causata dal batterio *Burkholderia mallei*, sarà individuato, però, soltanto nel 1882 da Johann Wilhelm Schütz (1839–1920) e Friedrich August Johannes Löffler (1852–1915).

Negli anni 1878–1880 Charles Louis Alphonse Laveran (1845–1922; Nobel per la Medicina nel 1907) indagò su alcuni Protozoi patogeni, scoprendo il ruolo dei plasmodi come agenti eziologici di talune malattie quali la malaria e le tripanosomiasi, un gruppo di patologie dovute all'azione di Protozoi del genere *Trypanosoma*.

Nel 1878, infine, Charles–Emmanuel Sédillot (1804–1883), in una comunicazione all'*Accadémie Nationale de Médecine* di Parigi, su suggerimento del lessicografo e linguista Maximilien–Paul Littré (1801–1881) introdusse il termine *microbo* che, nella sua più ampia accezione, si riferiva a tutti gli organismi microscopici (batteri, muffe, virus, Protozoi e, talvolta, anche a piccoli parassiti pluricellulari).

Interessante è anche citare alcuni importati contributi di altri batteriologi quali, ad esempio, il norvegese Gerhard Henrik Armauer Hansen (1841–1912) che, nel 1873, individuò il *Mycobacterium leprae*, ossia l'agente eziologico della lebbra, e l'americano Walter Reed (1851–1902) che nel 1900 svelò la patogenesi della febbre gialla.

I rapidi e grandiosi sviluppi della batteriologia, ai quali si è appena fatto cenno, furono tali da imprimere ben presto un nuovo orientamento alla medicina. Feconda di risultati, la batteriologia si è sviluppata fino agli anni Quaranta dello scorso secolo essenzialmente come batteriologia medica, isolandosi quasi completamente dal resto della biologia. Venuto finalmente a cadere un così lungo isolamento, definendosi quale scienza biologica al di là dei limiti delle sue applicazioni in campo medico, la batteriologia ha ricevuto nei successivi decenni un ulteriore notevole sviluppo, per cui sin da allora fu difficile immaginare un fondamentale problema biologico, alla cui soluzione non potesse dare un contributo fondamentale.

1.3. Louis Pasteur

Pasteur nacque a Dôle, nel dipartimento del Giura, il 27 dicembre 1822. Il padre, Jean–Joseph, era stato sottufficiale negli eserciti napoleonici e decorato della Legion d'onore dall'Imperatore in persona. Al

momento della nascita di Louis era titolare di una piccola conceria che gli permetteva di vivere con la sua famiglia in una modesta agiatezza. Pasteur iniziò gli studi presso l'*Ecole Primaire* del collegio di Arbois. Nel 1838, il padre lo iscrisse al collegio Barbet di Parigi affinché seguisse studi classici, ma fu un completo insuccesso. Il giovane studente si sentiva talmente spaesato che si ammalò e il padre, nonostante la lunghezza e le difficoltà del viaggio in diligenza, dovette venire a cercarlo per riaccompagnarlo a casa.

Rientrato ad Arbois, dove la sua famiglia si era trasferita già dal 1827, Pasteur vi rimase per pochi mesi per poi essere internato, nel 1839, nel Collegio Reale di Besançon dove si diplomò in lettere e in scienze nel 1840 e più tardi, nel 1842, in scienze matematiche all'Università di Digione. Nell'ottobre 1842 ritornò a Parigi per la seconda volta con la ferma volontà di diventare allievo della *Ecole Normale Supérieure*, ma ritenne di non esserne ancora *degn*o perché risultò quindicesimo nella classifica degli idonei. Volle, pertanto, perfezionare la sua preparazione seguendo i corsi del liceo *Saint-Louis* frequentando, al tempo stesso, assiduamente la Sorbona e in particolar modo i corsi di Jean Baptiste Dumas (1800–1884), succeduto dal 1832 a Joseph Louis Gay-Lussac (1778–1850) alla cattedra di Chimica. Alla fine dell'anno scolastico 1843 ottenne al liceo *Saint-Louis* due menzioni di lode e un premio, essendosi classificato sesto in fisica. Risultato quarto al concorso di



Figura 1.4. Louis Pasteur.

ammissione all'*Ecole Normale Supérieure* fu ammesso a frequentarla. Qui fu prima aggregato di fisica e poi aggregato preparatore.

Il 23 agosto 1847 sostenne la sua tesi di dottorato sulla polarizzazione rotatoria dei liquidi, cominciando e proseguendo negli anni a venire gli studi, che lo renderanno famoso, sull'asimmetria molecolare. In particolare studiò il dimorfismo molecolare, ossia la capacità di alcune sostanze, come lo zolfo, di cristallizzare in due sistemi differenti; inoltre lavorò sul problema dell'isomeria degli acidi tartarici e dei loro derivati, fissando i solidi principi che sono tuttora alla base di una nuova disciplina, la *stereochimica*.

Per acquistare pratica nella cristallografia, Pasteur si servì di un campione di acido tartarico racemico (dal latino *racemus* = grappolo di uva), un sottoprodotto della lavorazione del vino, fornitogli dal proprietario di un impianto vinicolo. In questo campione, otticamente inattivo, Pasteur osservò due tipi di cristalli: un tipo era identico ai cristalli del sale sodico ammonico dell'acido (+)-tartarico $\text{Na}^+\text{OOC}(\text{CHOH})_2\text{COO}^-\text{NH}_4^{+1}$. L'altro tipo di cristalli era l'immagine speculare non ricopribile dei cristalli del primo tipo. Con l'aiuto di un microscopio, Pasteur separò meccanicamente i due tipi di cristalli e ne determinò, in soluzione acquosa, il potere rotatorio specifico. Il risultato fu che i cristalli del primo tipo erano effettivamente il sale sodico ammonico dell'acido (+)-tartarico. Quelli del secondo tipo risultarono essere levogiri, con potere rotatorio specifico identico, in valore assoluto, a quelli del primo tipo: essi erano il sale sodico ammonico dell'acido (-)-tartarico.

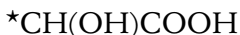
Consequentemente Pasteur stabilì che il tartrato di sodio e di ammonio, otticamente inattivo, era una miscela di due differenti tipi di cristalli e la differenza di rotazione, osservata in soluzione, non era caratteristica dei cristalli ma delle molecole e propose che le molecole formanti i cristalli fossero *immagini speculari l'una dell'altra*. come lo erano i cristalli stessi².

1. L'acido (+)-tartarico era già stato scoperto e si sapeva che era destrogiro. Il fenomeno dell'attività ottica, precisamente il fenomeno della rotazione del piano di polarizzazione della luce nel passaggio attraverso soluzioni di composti chimici, era stato scoperto nel 1813 nel *Collège de France* dal fisico Jean-Baptiste Biot (1774-1862).

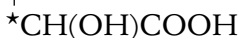
2. Quasi esattamente 100 anni più tardi, nel 1949, Johannes Martin Bijvoet (1892-1980), usando la diffrazione dei raggi X, stabilì la reale distribuzione nello spazio degli atomi di sodio e di rubidio nel tartrato dell'acido (+)-tartarico e determinò per la prima volta la configurazione assoluta di una sostanza otticamente attiva.

La risoluzione della miscela racemica, che portò alla scoperta del fenomeno più generale dell'enantiomeria, costituì la base per la formulazione, nel 1874, della struttura tetramerica del carbonio da parte di Jacobus Henricus van't Hoff (1852–1911; Nobel per la Chimica nel 1901) e di Joseph Achille Le Bel (1847–1930).

Nelle sue mirabili ricerche, Pasteur scoprì anche un altro isomero inattivo, l'acido mesotartarico, un altro costituente della serie degli acidi tartarici, esempio classico dei composti che hanno due atomi di carbonio asimmetrici equivalenti:



|



Nel 1848 fu chiamato dapprima ad insegnare fisica nel liceo di Digione e successivamente, nel 1849, nominato professore supplente di chimica nell'Università di Strasburgo, diventò titolare di quell'insegnamento nel 1852. Qui incontrò e sposò, il 29 maggio 1849, Marie Laurent (1826–1910), la figlia del rettore dell'università, dalla quale ebbe cinque figli, solo due dei quali giunsero all'età adulta.

Nel 1854, nominato preside della facoltà di Scienze dell'Università di Lilla, diede inizio alle sue famose ricerche sulla fermentazione delle bevande alcoliche e sui metodi per l'annientamento dei batteri talvolta presenti nei vini e nella birra.

In particolare, riconoscendo che le cause dell'alterazione della birra e del vino erano identiche, Pasteur ritenne che l'azione del calore fosse il miglior mezzo di preservazione. Tenuto conto che la birra era una bevanda ad alto contenuto di anidride carbonica e che il riscaldamento avrebbe determinato la perdita di questo gas, propose che la birra fosse dapprima imbottigliata e poi riscaldata a $50^{\circ}\text{--}55^{\circ}\text{C}$. A questo modo la birra non soltanto non avrebbe perduto il suo contenuto di anidride carbonica, ma addirittura non ne sarebbe stata impedita del tutto la fermentazione. Tale processo oggi è noto come *pastorizzazione*.

Alcuni anni più tardi, Joseph Lister (1827–1912), un importante chirurgo britannico, avvalendosi delle ricerche di Pasteur, il quale aveva dimostrato che la fermentazione di alcuni liquidi era legata a batteri in essi presenti e che, in genere, i batteri potevano essere eliminati in tre modi: mediante il passaggio dei liquidi contenenti i batteri attraverso i pori più stretti dei filtri, mediante l'ebollizione a 100°C , oppure utilizzando sostanze per loro tossiche; mise a punto