

ZANICHELLI

Valitutti, Taddei, Maga, Macario

Carbonio, metabolismo, biotech

**Chimica organica,
biochimica e biotecnologie**

ZANICHELLI

Capitolo B4

Dal DNA alla genetica dei microrganismi

ZANICHELLI

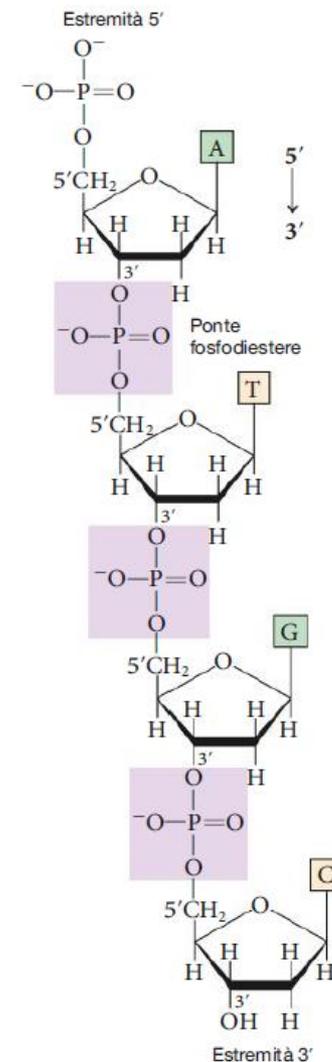
Sommario

1. La struttura della molecola di DNA
2. La struttura delle molecole di RNA
3. Il flusso dell'informazione genetica: dal DNA all'RNA alle proteine
4. L'organizzazione dei geni e l'espressione genica
5. La regolazione dell'espressione genica
6. La struttura della cromatina e la trascrizione
7. L'epigenetica
8. La dinamicità del genoma
9. Le caratteristiche biologiche dei virus
10. La ricombinazione omologa
11. Il trasferimento di geni nei batteri
12. Geni che saltano: i trasposoni

La struttura della molecola di DNA

Le molecole di **acido desossiribonucleico** o **DNA** sono polimeri lineari formati dall'unione di desossiribonucleotidi di quattro tipi diversi: dAMP, dGMP, dTMP e dCMP.

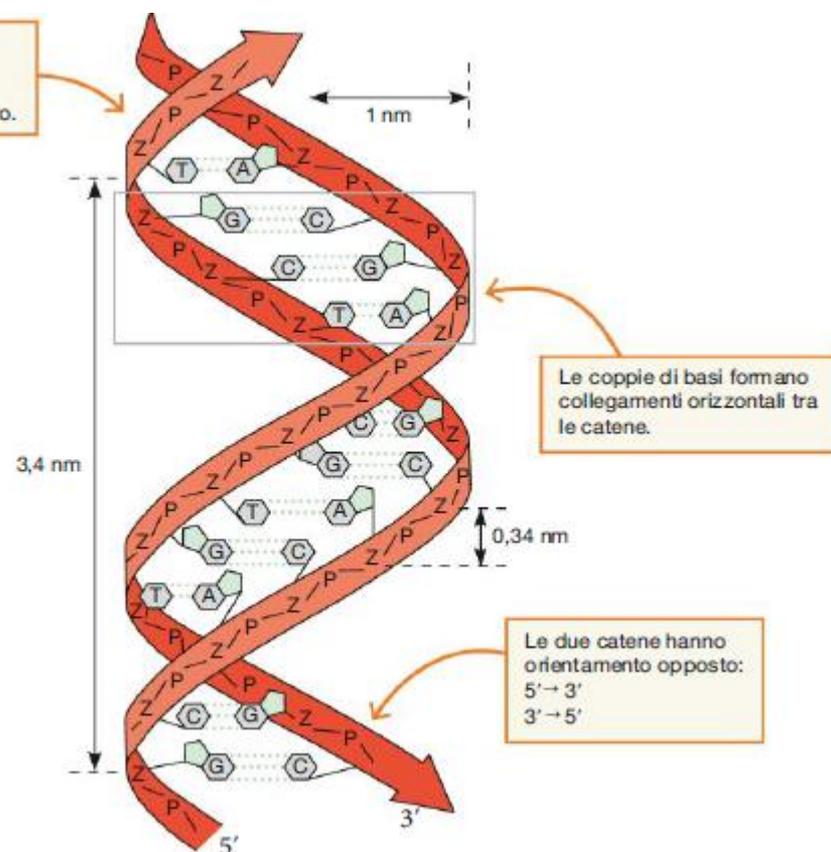
- I gruppi fosfato legati al carbonio C-5 di ciascun nucleotide si legano al gruppo —OH in posizione 3' del desossiribosio di un altro nucleotide mediante un **legame fosfodiester**
- La **sequenza** di un filamento di DNA è la successione delle basi azotate, letta nel senso 5'→3', indicando ciascuna base azotata con la sua sigla (A, G, C, T)



La struttura della molecola di DNA

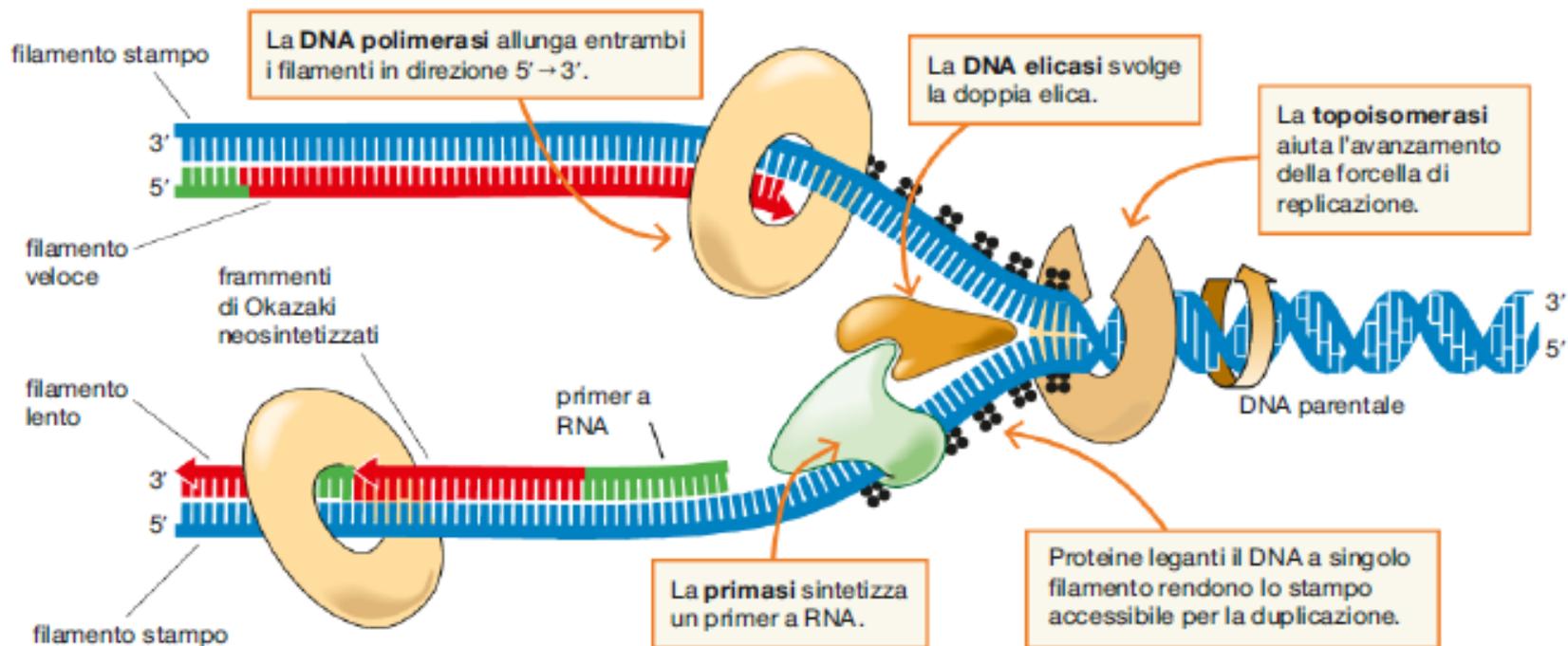
Il DNA è formato da due filamenti antiparalleli, che si associano fra loro formando una **doppia elica**.

- Le basi azotate dei due filamenti sono dirette l'una verso le altre all'interno dell'elica
- Lo scheletro zucchero-fosfato (Z-P) è posto all'esterno
- Le coppie che possono formarsi sono A-T (e T-A) e G-C (e C-G).
- Le basi si appaiano grazie a legami a idrogeno



La struttura della molecola di DNA

La replicazione del DNA è **semiconservativa** e la sua esecuzione è affidata all'azione di specifici enzimi, che si uniscono a formare il **complesso di replicazione**.



La struttura della molecola di RNA

Le molecole di **acido ribonucleico** o **RNA** sono polimeri lineari formati dall'unione di ribonucleotidi di quattro tipi diversi: AMP, GMP, CMP e UMP.

- Le catene di RNA sono piuttosto **brevi**
- Le molecole di RNA sono quasi sempre costituite da un **singolo filamento**
- Il ruolo dell'RNA è quello di **anello di collegamento** tra l'informazione chimica contenuta nel DNA, sotto forma di sequenze nucleotidiche, e le proteine, che sono specifiche sequenze di amminoacidi

La struttura della molecola di RNA

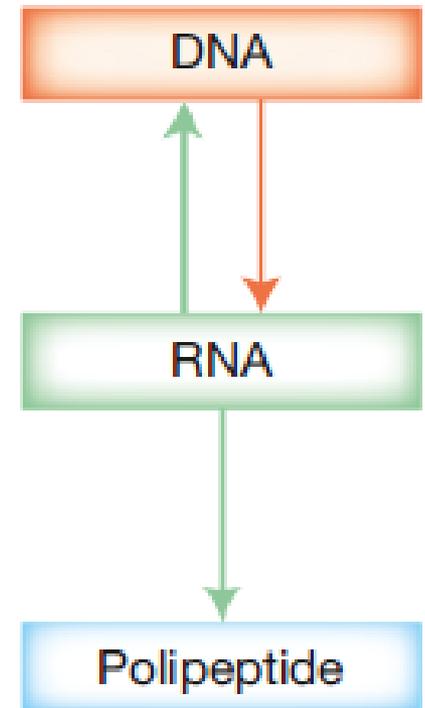
Nelle cellule eucariotiche e procariotiche sono presenti diversi tipi di RNA.

- **RNA messaggero (mRNA)**: fornisce all'apparato della sintesi proteica una copia del messaggio in codice contenuto nel DNA
- **RNA ribosomiale (rRNA)**: è associato al ribosoma, l'apparato che sintetizza le catene polipeptidiche sulla base dell'informazione dell'mRNA
- **RNA transfer (tRNA)**: lega in modo specifico i singoli amminoacidi e li trasporta al complesso ribosoma-mRNA
- **RNA non codificanti (ncRNA)**

Il flusso dell'informazione genetica: dal DNA all'RNA alle proteine

Un **gene** è un segmento di DNA che dirige la sintesi di uno specifico RNA.

- Nella molecola di DNA a ogni **tripletta di basi** corrisponde un amminoacido
- Le basi azotate sono quattro, quindi le possibili triplette sono 4^3 , cioè 64
- 61 triplette codificano per amminoacidi e **3 sono codoni di stop** che arrestano la trascrizione
- Il trasferimento dell'informazione avviene attraverso due processi sequenziali, la **trascrizione** e la **traduzione**



Il flusso dell'informazione genetica: dal DNA all'RNA alle proteine

Trascrizione: avviene nel nucleo e consiste nella sintesi di una molecola di RNA che contiene la stessa sequenza di triplette del gene.

Si svolge grazie all'enzima **RNA polimerasi**.

- 1. Inizio:** la RNA polimerasi si lega alla sequenza iniziale, detta promotore, e inizia a svolgere i filamenti di DNA
- 2. Allungamento:** la RNA polimerasi legge il filamento stampo e inizia la sintesi dell'mRNA aggiungendo nucleotidi in direzione $5' \rightarrow 3'$
- 3. Terminazione:** la RNA polimerasi giunge al sito di terminazione, si stacca dal filamento stampo e libera l'mRNA

Il flusso dell'informazione genetica: dal DNA all'RNA alle proteine

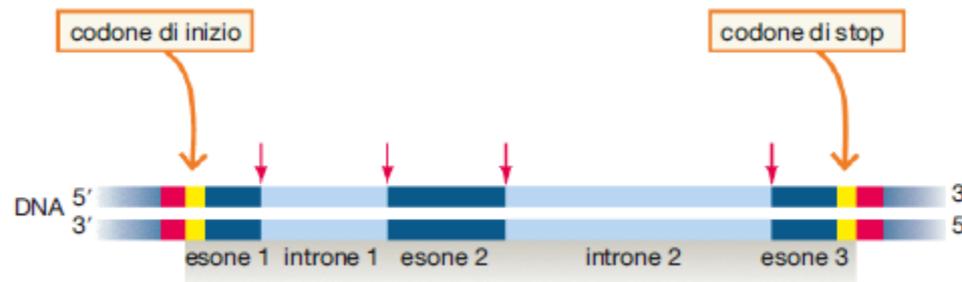
Traduzione: avviene nei ribosomi. Ogni tripletta contenuta nel mRNA è un **codone** e la corrispondenza tra codoni e amminoacidi costituisce il **codice genetico**.

- 1. Inizio:** si forma il complesso di inizio in corrispondenza del codone AUG (amminoacido **metionina**) dell'mRNA e le due subunità del ribosoma si uniscono
- 2. Allungamento:** l'mRNA scorre in direzione 5'; il tRNA libero si sposta e viene rilasciato quando il ribosoma si sposta di un codone lungo l'mRNA
- 3. Terminazione:** quando nel ribosoma entra uno dei tre codoni di stop, un fattore di rilascio lega l'mRNA e causa la separazione del polipeptide dal ribosoma

L'organizzazione dei geni e l'espressione genica

Espressione genica: sequenza di eventi che porta alla produzione di una molecola funzionale.

Negli eucarioti un singolo gene può portare alla produzione di più proteine. Questo avviene perché la maggior parte degli organismi eucariotici possiede **geni interrotti**.



I geni presenti nel genoma non sono espressi sempre e comunque, ma solo in specifici momenti della vita della cellula: **regolazione dell'espressione genica**.

La regolazione dell'espressione genica

Affinché la RNA polimerasi possa trascrivere in maniera precisa, è necessario che sulla molecola di DNA siano presenti speciali sequenze regolatrici:

- i **promotori**, che determinano il punto di inizio della trascrizione e sono posizionati sempre a monte del gene
- i **terminatori**, che segnalano il punto in cui la trascrizione di quel particolare gene deve terminare

La sequenza di DNA compresa tra un promotore e il suo terminatore è detta **unità trascrizionale**.

I **fattori trascrizionali** sono proteine regolatrici che reprimono o inducono l'espressione differenziale dei geni.

La regolazione dell'espressione genica

Nei procarioti, i geni che svolgono funzioni correlate sono organizzati in unità trascrizionali dette **operoni**.

Ogni operone contiene due sequenze regolatrici:

1. un **promotore** a cui si lega l'RNA polimerasi
2. un **operatore** che si trova nelle vicinanze del promotore e lega un fattore di trascrizione

Gli operoni sono di due tipi:

- **inducibili** (il repressore è normalmente legato all'operatore e blocca la trascrizione)
- **reprimibili** (l'operatore normalmente non è legato dalla sua specifica proteina repressore)

La regolazione dell'espressione genica

L'operone *lac* di *Escherichia coli* è un esempio di **operone inducibile**.

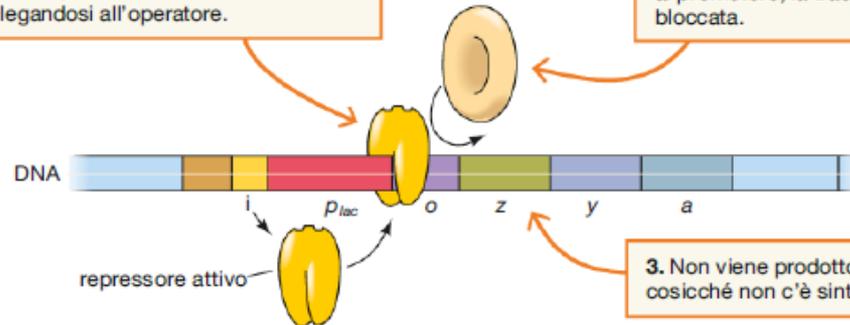
A In assenza di lattosio, la produzione di enzimi si mantiene bassa

B Se nell'ambiente è disponibile lattosio, un suo metabolita (l'allolattosio) si lega al repressore e lo inibisce.

A Lattosio assente

1. Il repressore inibisce la trascrizione legandosi all'operatore.

2. L'RNA polimerasi non può legarsi al promotore; la trascrizione è bloccata.



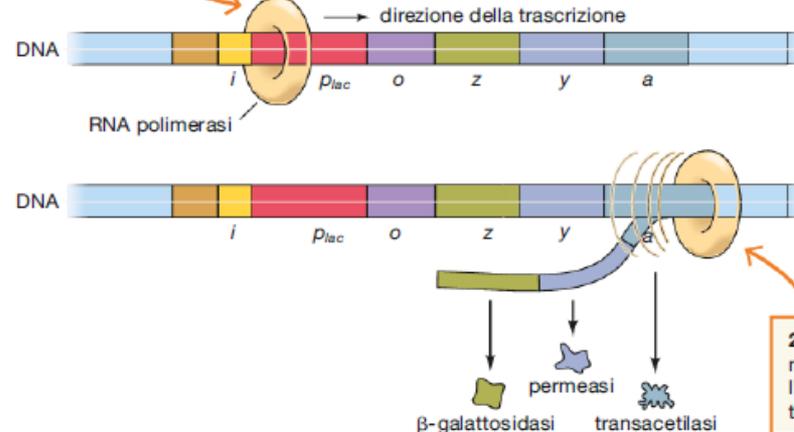
3. Non viene prodotto mRNA, cosicché non c'è sintesi degli enzimi.

B Lattosio presente

1. L'allolattosio induce la trascrizione, legandosi al repressore, che di conseguenza non può legarsi più all'operatore. L'RNA polimerasi si lega al promotore.

induttore (allolattosio)

repressore inattivo



2. Quando il repressore non è legato all'operatore, l'RNA polimerasi può trascrivere i geni per gli enzimi.

La regolazione dell'espressione genica

Negli **eucarioti** la regolazione dell'espressione genica è un processo che comprende un controllo a diversi livelli.

1. Regolazione pre-trascrizionale: comprende i meccanismi attraverso i quali la cellula regola l'accessibilità del genoma

2. Regolazione trascrizionale: permette o meno la trascrizione di un gene e regola la quantità di trascritto prodotto

3. Regolazione post-trascrizionale: comprende i meccanismi attraverso i quali un trascritto va incontro a traduzione e origina una proteina

4. Regolazione post-traduzionale: la proteina prodotta può essere attiva o inattiva, oppure può essere degradata

La struttura della cromatina e la trascrizione

Studiando la struttura della cromatina, si è visto che nel nucleo il DNA è presente in due stati di condensazione differenti:

- l'**eucromatina** è la forma più aperta ed è tipica dei geni attivamente trascritti
- l'**eterocromatina** è invece la forma più condensata in cui la trascrizione genica è repressa

La compattazione della cromatina avviene grazie a proteine chiamate **istoni**.

Gli istoni possono essere modificati da **enzimi** che modificano il grado di condensazione della cromatina o aggiungono gruppi metile, rendendola o no trascrivibile.

L'epigenetica

L'**epigenetica** studia l'effetto che le modificazioni ereditarie agli istoni e al DNA producono sul fenotipo delle generazioni successive.

Le modificazioni epigenetiche non cambiano l'informazione genetica (la sequenza del DNA), ma solo la sua **accessibilità** (la possibilità che una certa informazione venga espressa).

Esempi di **modificazioni epigenetiche ereditarie** sono:

- le modificazioni degli istoni
- la metilazione del DNA

La dinamicità del genoma

L'informazione genetica è regolata in modo molto **dinamico** per esprimere i geni e trasmetterli alle generazioni successive.

Esiste anche un intenso scambio di materiale genetico tra organismi diversi (**flusso genico orizzontale**), rappresentato in particolare da:

- **virus** che rimescolano la loro informazione genetica con quella della cellula che infettano
- **plasmidi** nelle popolazioni batteriche
- **trasposoni** che possono interrompere geni o causare la ricombinazione tra regioni cromosomiche diverse

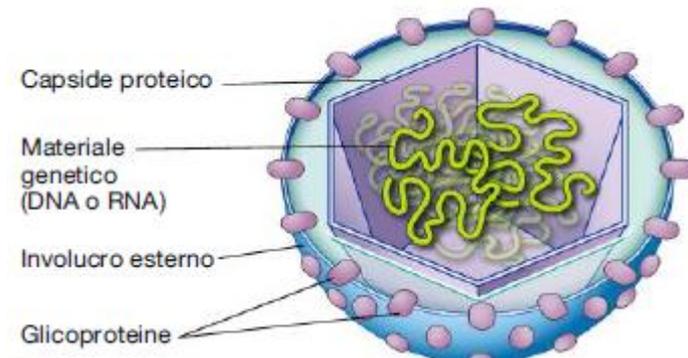
Le caratteristiche biologiche dei virus

I virus sono **parassiti endocellulari obbligati**



hanno bisogno di una cellula ospite per potersi riprodurre

- Non hanno una struttura cellulare
- Il genoma può essere costituito da uno o più filamenti di **DNA** o di **RNA**
- Il genoma dei virus è più piccolo di quello dei procarioti, perché la maggior parte delle **funzioni metaboliche** viene offerta dalla cellula infettata.
- Hanno **dimensioni molto piccole** (50 nm-100 nm)



Le caratteristiche biologiche dei virus

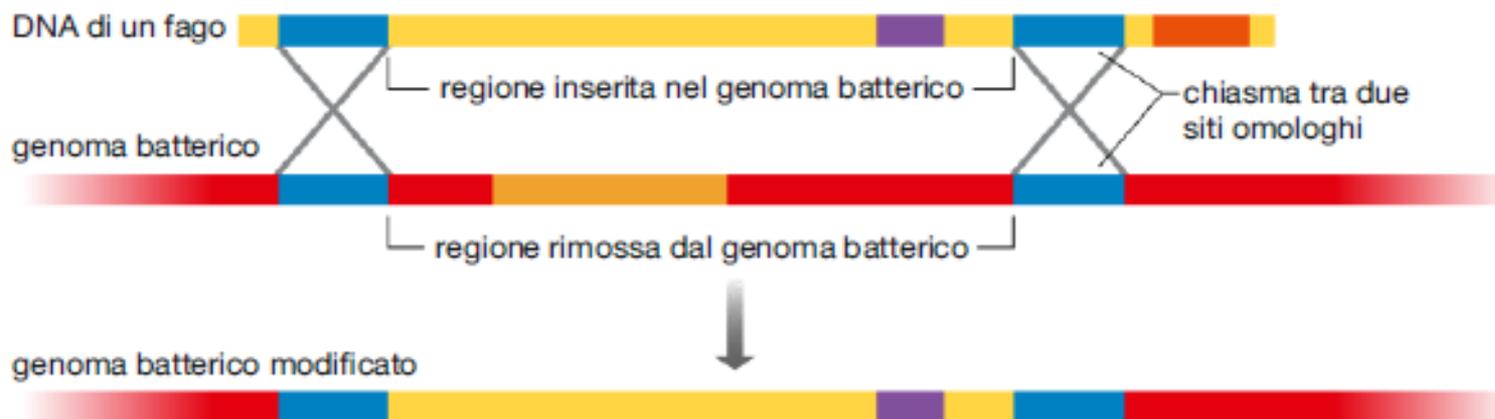
Il **ciclo vitale di un virus** può essere distinto in cinque fasi.

- 1. Adesione:** il virus si attacca alla membrana plasmatica attraverso le proteine cellulari dette **recettori**
- 2. Penetrazione:** il virus entra nella cellula e rilascia il proprio genoma all'interno della cellula infetta
- 3. Espressione** dei geni virali e **replicazione del genoma.**
- 4. Assemblaggio** dei capsidi, all'interno dei quali verranno inseriti i genomi virali.
- 5. Rilascio** delle nuove particelle virali all'esterno delle cellula.

La ricombinazione omologa

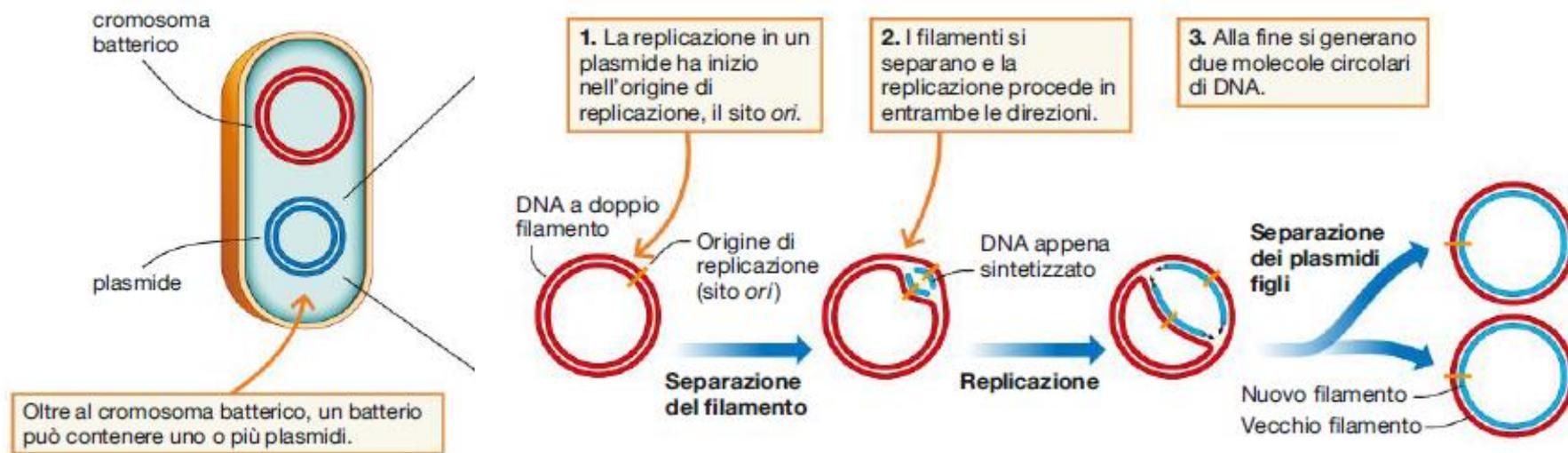
Il meccanismo principale con cui un segmento di DNA può essere incorporato all'interno di un frammento di DNA più grande è la **ricombinazione omologa**.

Perché avvenga, è necessario che le due molecole di DNA abbiano dei tratti di sequenza identici (cioè omologhi).



Il trasferimento di geni nei batteri

La **trasformazione batterica** si basa sui plasmidi, molecole di DNA separate dal cromosoma batterico che contengono alcune informazioni genetiche accessorie.

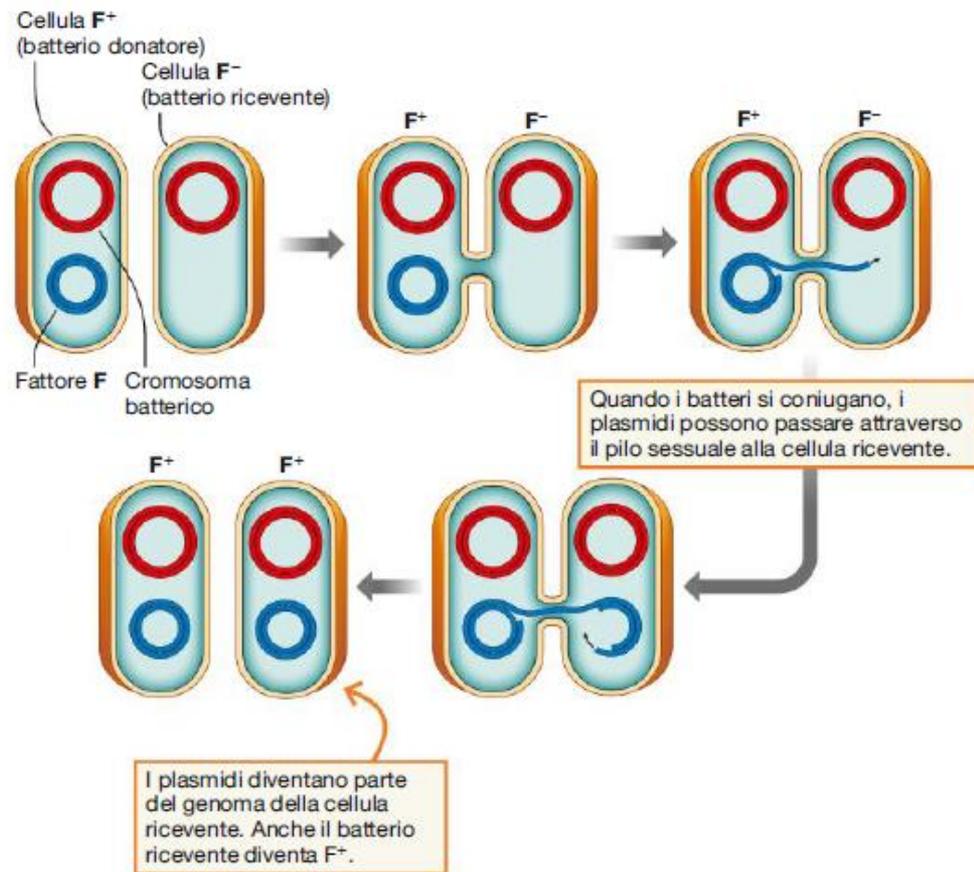


I plasmidi possono passare facilmente da un batterio all'altro.

Il trasferimento di geni nei batteri

La **coniugazione batterica** richiede l'unione fisica tra due cellule attraverso un **pilo sessuale**, che mette in comunicazione il citoplasma delle due cellule.

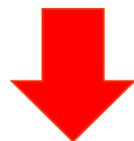
In questo modo si ha lo **scambio di geni** tra due batteri appartenenti alla stessa popolazione.



Geni che saltano: i trasposoni

Un meccanismo di rimescolamento genico presente sia nei procarioti sia negli eucarioti è la **trasposizione genica**.

È mediato da sequenze di DNA mobili chiamate **trasposoni**...



... in grado di spostarsi autonomamente da un sito cromosomico a un altro, all'interno della **stessa cellula**

I trasposoni operano sui cromosomi in due modi:

1. interruzione genica
2. ricombinazione omologa