

Cristina Cavazzuti
Daniela Damiano

Biologia

Terza edizione

Capitolo 4

Il linguaggio della vita

1. La struttura del DNA
2. La sintesi delle proteine
3. Le mutazioni modificano il significato dei geni
4. L'ingegneria genetica manipola il DNA
5. Le applicazioni dell'ingegneria genetica

Lezione 1

La struttura del DNA

1. Il lavoro degli scienziati

Negli anni Venti del Novecento si scoprì che i **cromosomi** sono costituiti sia da *DNA* sia da *proteine*.

Fino alla meta del secolo scorso la maggior parte degli scienziati riteneva che fossero **le proteine e non gli acidi nucleici** le responsabili della trasmissione dei caratteri ereditari.

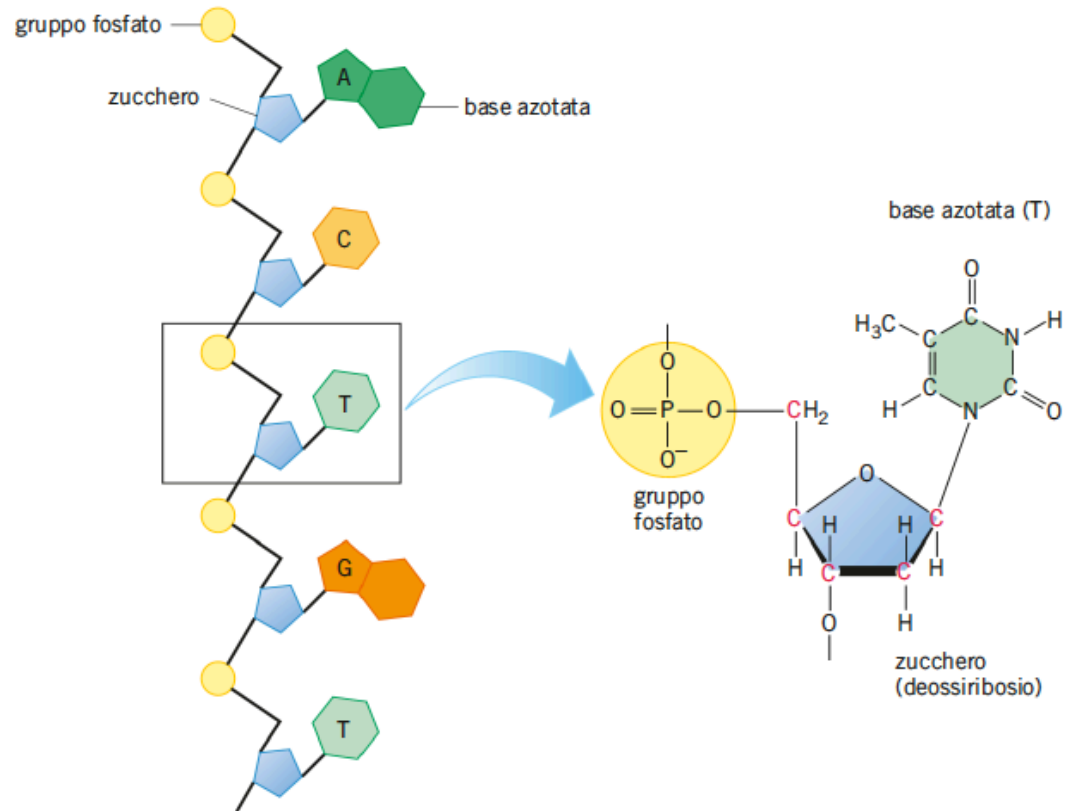
Tra il 1943 e il 1952 diversi esperimenti su batteri e virus consentirono di definire l' esatta **composizione chimica del DNA** e di dimostrare che proprio questa molecola è in grado di custodire e trasmettere le *informazioni che determinano i caratteri ereditari*.

2. La doppia elica

La molecola del DNA è formata da due catene di nucleotidi poste una di fronte all'altra e avvolte intorno a uno stesso asse a formare una **doppia elica**.

I **nucleotidi** sono costituiti da:

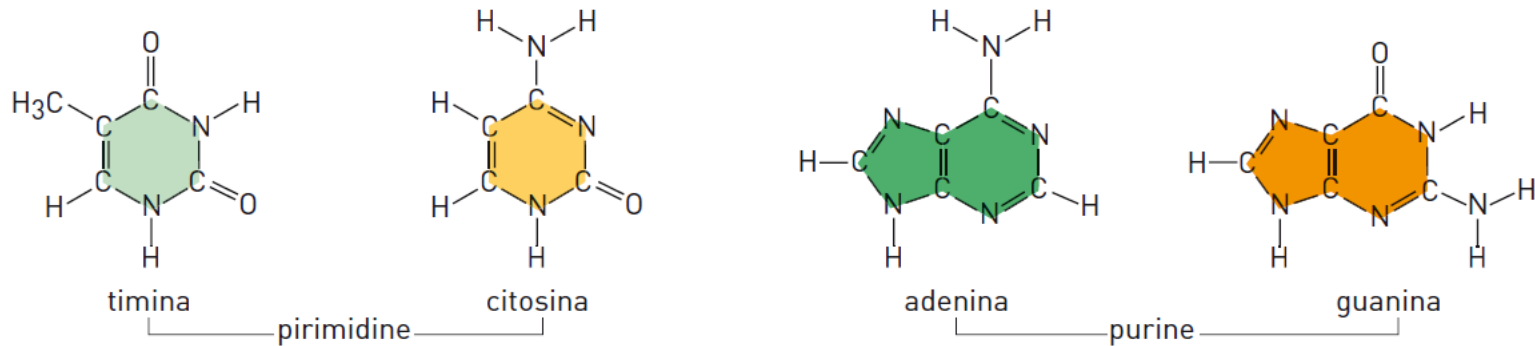
- una base azotata;
- uno zucchero;
- un gruppo fosfato.



2. La doppia elica

Nel DNA ci sono 4 tipi di basi azotate: **adenina** (A), **timina** (T), **citosina** (C) e **guanina** (G). Esse sono simili a due a due:

- *pirimidine*: hanno un solo anello (T e C);
- *purine*: hanno due anelli (A e G).



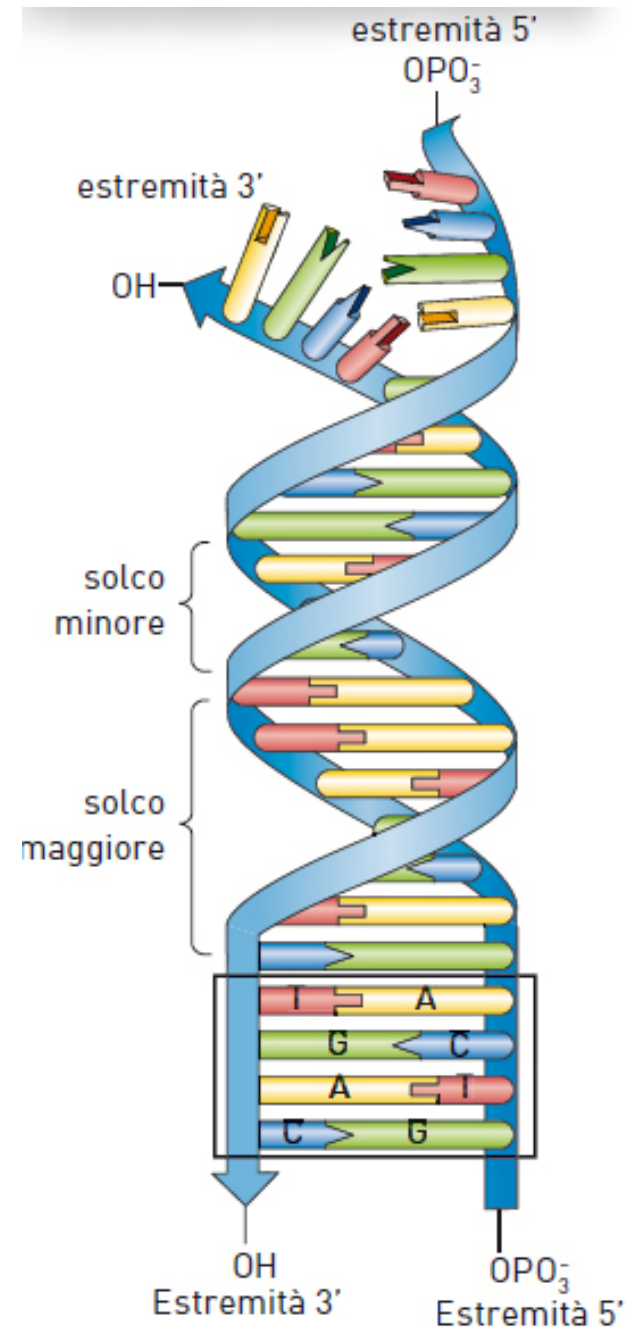
Il modello di Watson e Crick sulla struttura del DNA prevede che le molecole di zucchero e i gruppi fosfato abbiano una funzione di supporto, come i montanti di una scala, e che le basi azotate siano i pioli.

2. La doppia elica

Le basi azotate poste su uno dei due filamenti di DNA si possono appaiare in modo specifico con quelle dell'altro filamento (*complementarietà*).

L'appaiamento di una purina con una pirimidina mantiene costante la distanza tra i due montanti della scala.

La **regola dell'appaiamento complementare** spiega come l'informazione contenuta nel DNA si trasmetta di generazione in generazione.

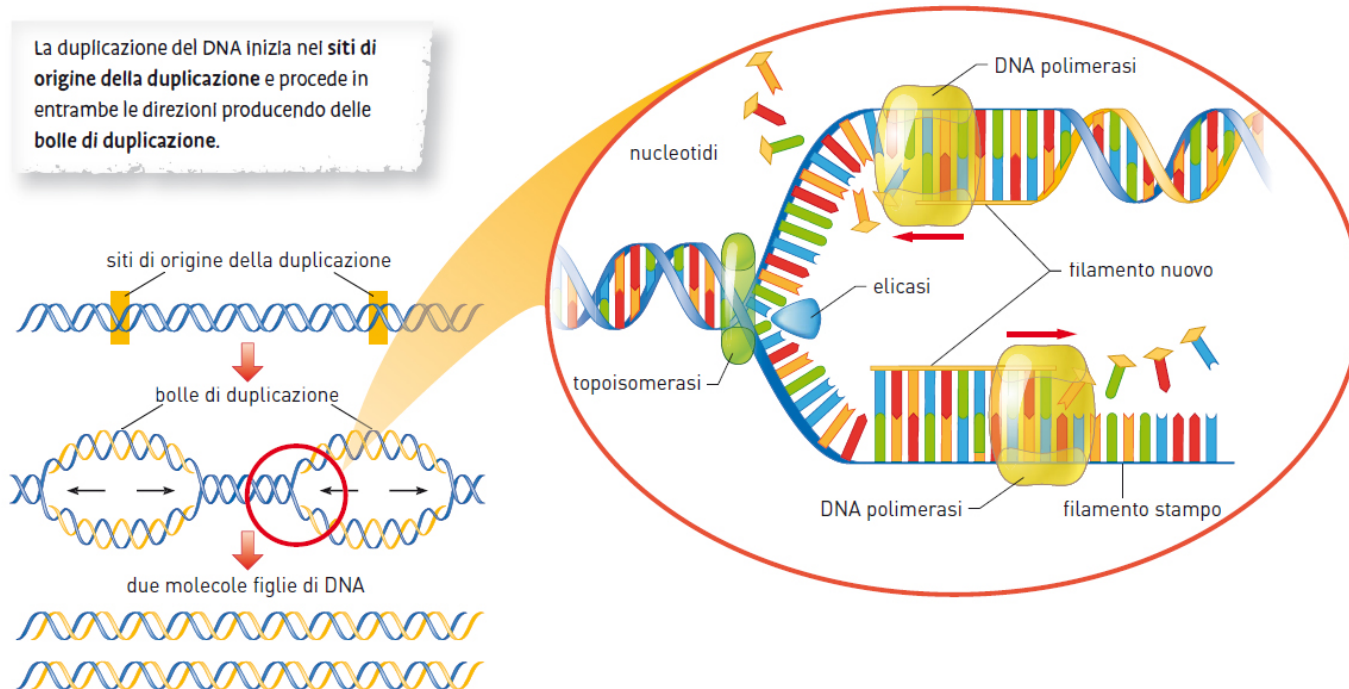


3. La duplicazione del DNA

La duplicazione del DNA è **semiconservativa** e coinvolge una dozzina di enzimi che formano il **complesso di duplicazione**.

Il processo è suddiviso in due fasi principali:

- 1. Divisione della doppia elica:** la doppia elica si despiralizza e la molecola si apre come una cerniera lampo via via che i due filamenti si separano.
- 2. Sintesi dei nuovi filamenti:** ciascuno dei due filamenti funziona come uno stampo per la produzione di un nuovo filamento complementare.



Lezione 2

La sintesi delle proteine

4. Geni e proteine

Il genotipo è la sequenza di nucleotidi del suo DNA.

La base molecolare su cui poggia il fenotipo è costituita dalle proteine.

Beadle e Tatum lavorando sulle muffe del pane ipotizzarono il legame «**un gene – un enzima**», secondo cui la funzione di ogni gene consiste nel dirigere la produzione di uno specifico enzima.

Successivamente l'ipotesi venne riformulata in «**un gene – un polipeptide**».

5. Il dogma centrale della biologia

Il linguaggio dei geni è scritto nella sequenza delle basi azotate lungo la catena di DNA.

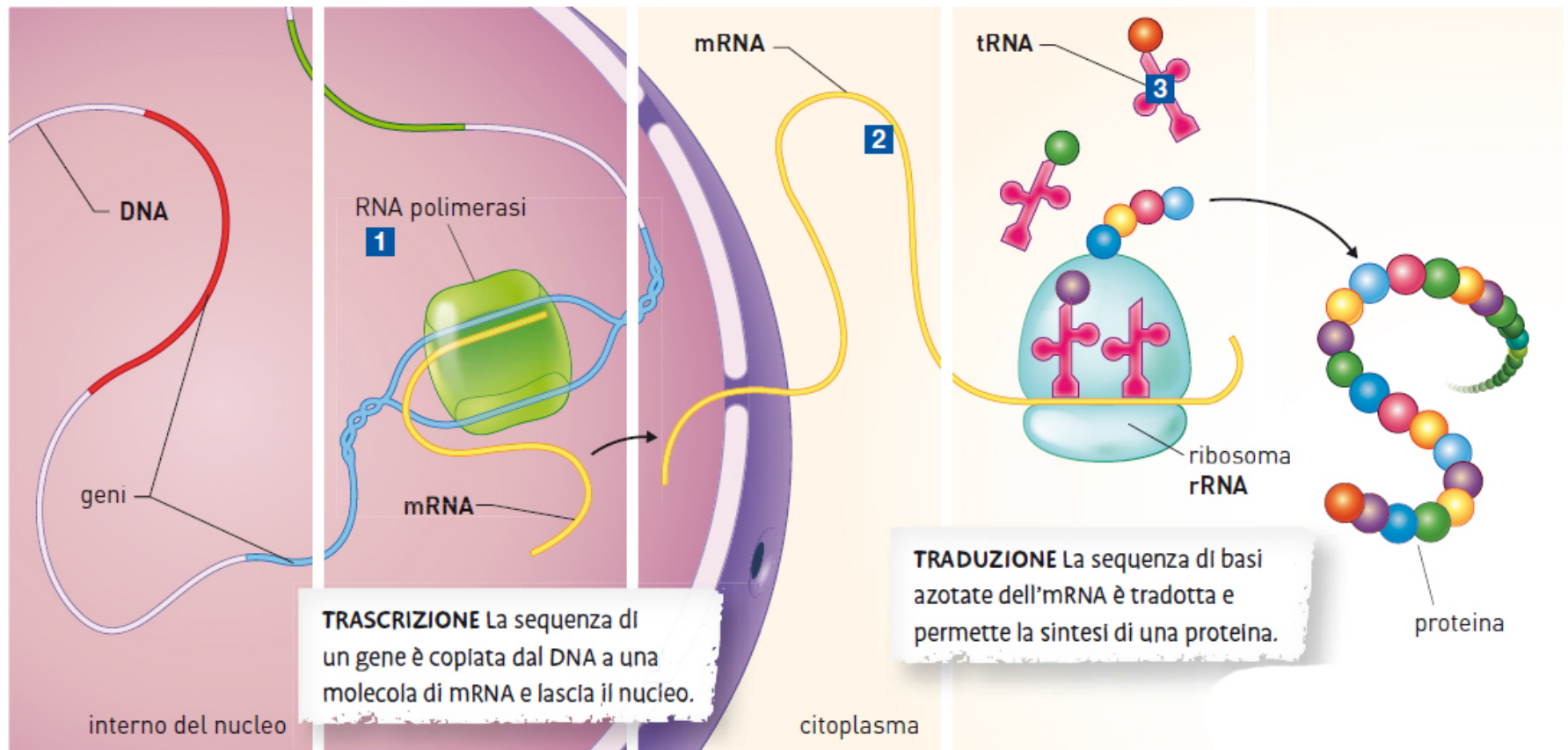
Una **proteina** è invece una lunga catena di amminoacidi.

Le cellule passano dal linguaggio del DNA a quello delle proteine attraverso l' **acido ribonucleico** o **RNA**, che si presenta sotto forma di azotata uracile al posto della timina.

Esistono tre diversi tipi di RNA, ognuno con funzioni specifiche: **mRNA** (messaggero), **tRNA** (di trasporto) e **rRNA** (ribosomiale).

5. Il dogma centrale della biologia

L' **rRNA** con alcune proteine forma i ribosomi, dove si ha la sintesi proteica.
L' **mRNA** si forma a partire da una sequenza stampo di DNA durante la **trascrizione**; si sposta poi nel citoplasma per dirigere la sintesi proteica.
Il **tRNA** permette di passare dagli acidi nucleici agli amminoacidi durante la **traduzione**.



6. Il codice genetico

Il **codice genetico** permette la traduzione dalla sequenza di nucleotidi alla sequenza di amminoacidi.

Esso è stato identificato e decifrato da Marshall Nirenberg nel 1961.

Il codice genetico è organizzato in codoni. Un **codone**, o *tripletta*, è una «parola» di tre lettere (basi azotate) che corrisponde a un amminoacido.

Più codoni insieme formano una «frase» che si traduce in una **proteina**.

Il codice genetico è formato da 64 codoni.

In tutte le specie ogni codone corrisponde allo stesso amminoacido.

Per questo motivo, il codice genetico è detto **universale**.

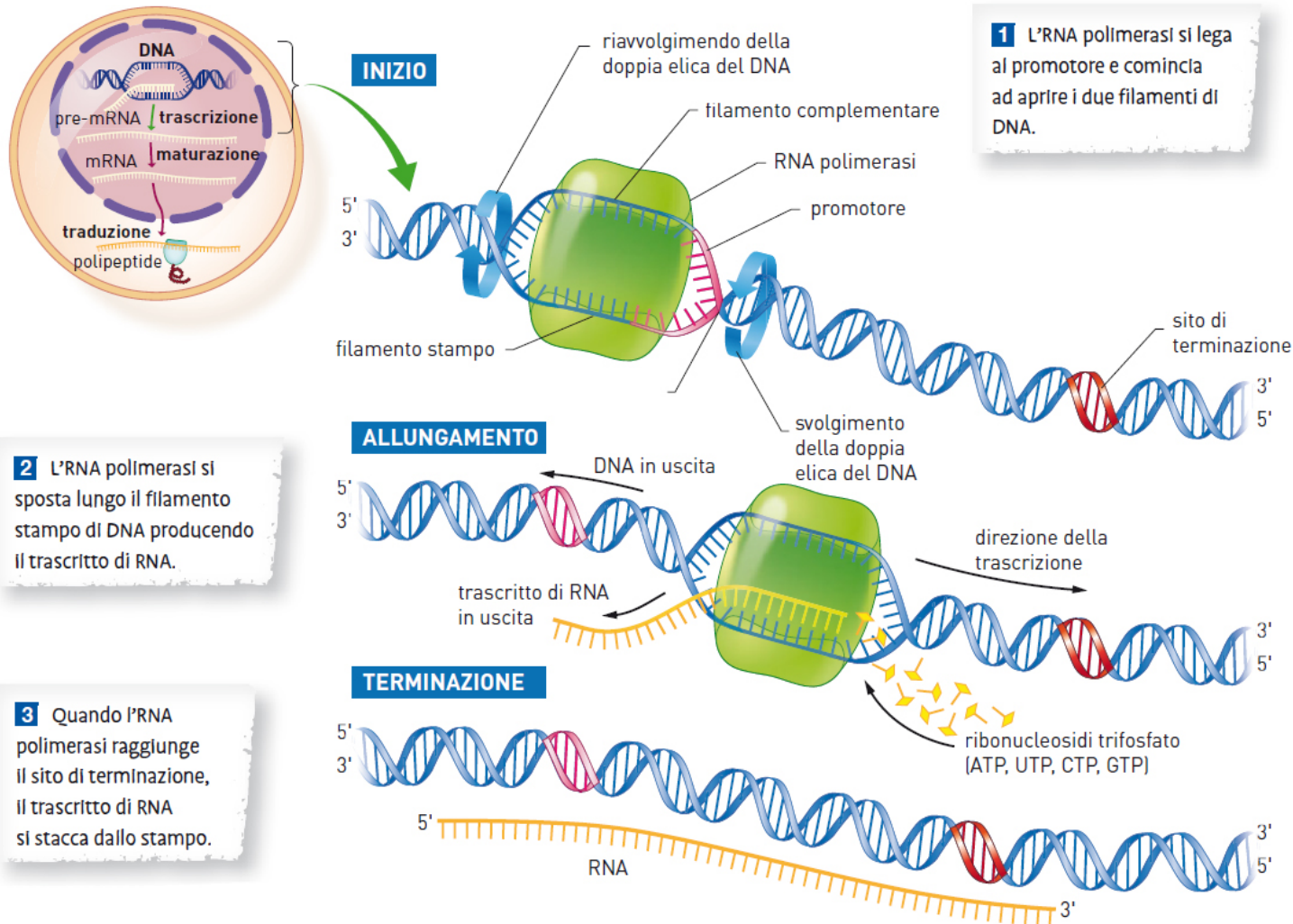
6. Il codice genetico

I codoni sono molti di più rispetto agli amminoacidi. Si dice pertanto che il codice è **ridondante** o degenerato, poiché triplette diverse codificano per lo stesso amminoacido. Il codice però **non è ambiguo**, poiché un dato codone codifica per un solo amminoacido.

		seconda base									
		U	C	A	G						
prima base	U	UUU] fenilalanina Phe	UCU] serina Ser	UAU] tirosina Tyr	UGU] cisteina Cys	U	
		UUC		UCC		UAC		UGC		C	
		UUA] leucina Leu	UCA] STOP	UGA] STOP	A		
		UUG		UCG			UGG] triptofano Trp	G	
	C	CUU] leucina Leu	CCU] prolina Pro		CAU] istidina His	CGU] arginina Arg	U
		CUC		CCC			CAC		CGC		C
		CUA		CCA		CAA] glutammina Gln	CGA	A		
		CUG		CCG		CAG		CGG	G		
	A	AUU] isoleucina Ile	ACU] treonina Thr	AAU] asparagina ASN	AGU] serina Ser	U	
		AUC		ACC		AAC		AGC		C	
		AUA		ACA		AAA] lisina Lys	AGA		A	
		AUG] metionina Met, INIZIO		ACG		AAG		AGG	G
	G	GUU] valina Val	GCU] alanina Ala	GAU] acido aspartico Asp	GGU] glicina Gly	U	
		GUC		GCC		GAC		GGC		C	
		GUA		GCA		GAA] acido glutammico Glu	GGA		A	
		GUG		GCG		GAG		GGG		G	

7. La trascrizione

La **trascrizione** dà origine a una molecola di mRNA da un filamento stampo di DNA. Avviene in tre tappe: *inizio*, *allungamento* e *terminazione*.



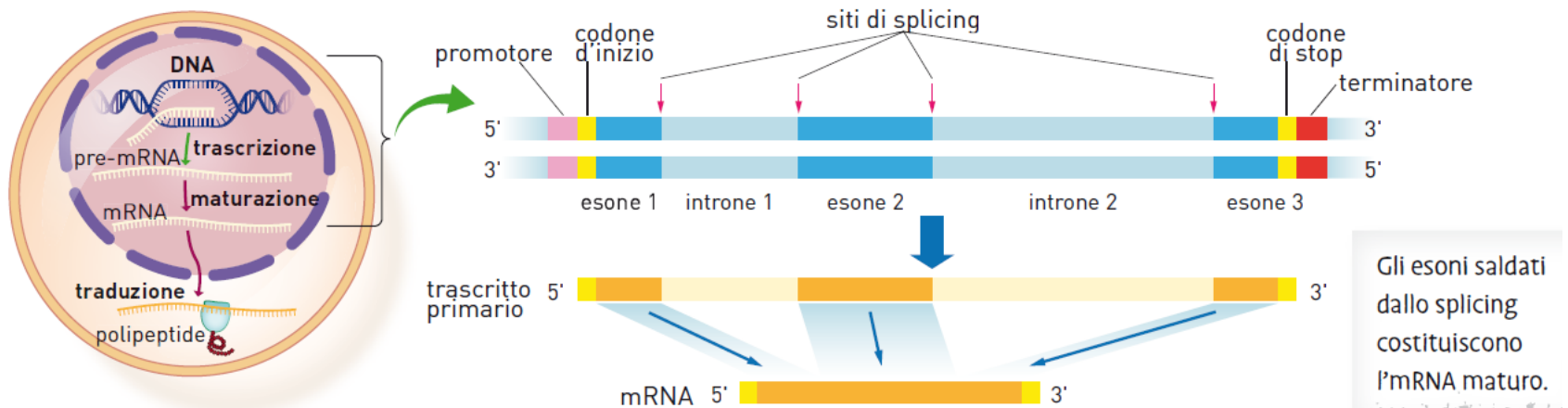
2 L'RNA polimerasi si sposta lungo il filamento stampo di DNA producendo il trascritto di RNA.

3 Quando l'RNA polimerasi raggiunge il sito di terminazione, il trascritto di RNA si stacca dallo stampo.

8. Lo splicing negli eucarioti

Negli eucarioti, prima di uscire dal nucleo l'RNA subisce una rielaborazione che lo trasforma in *mRNA maturo*.

Durante questa operazione, detta **splicing dell' RNA**, alcuni enzimi rimuovono gli **introni** (tratti non codificanti) e saldano gli **esoni** (regioni codificanti). Vengono anche aggiunti all' RNA un *cappuccio* e una *coda*.



Per circa metà dei geni è possibile operare uno *splicing alternativo*, che permette di creare mRNA maturi tra loro diversi.

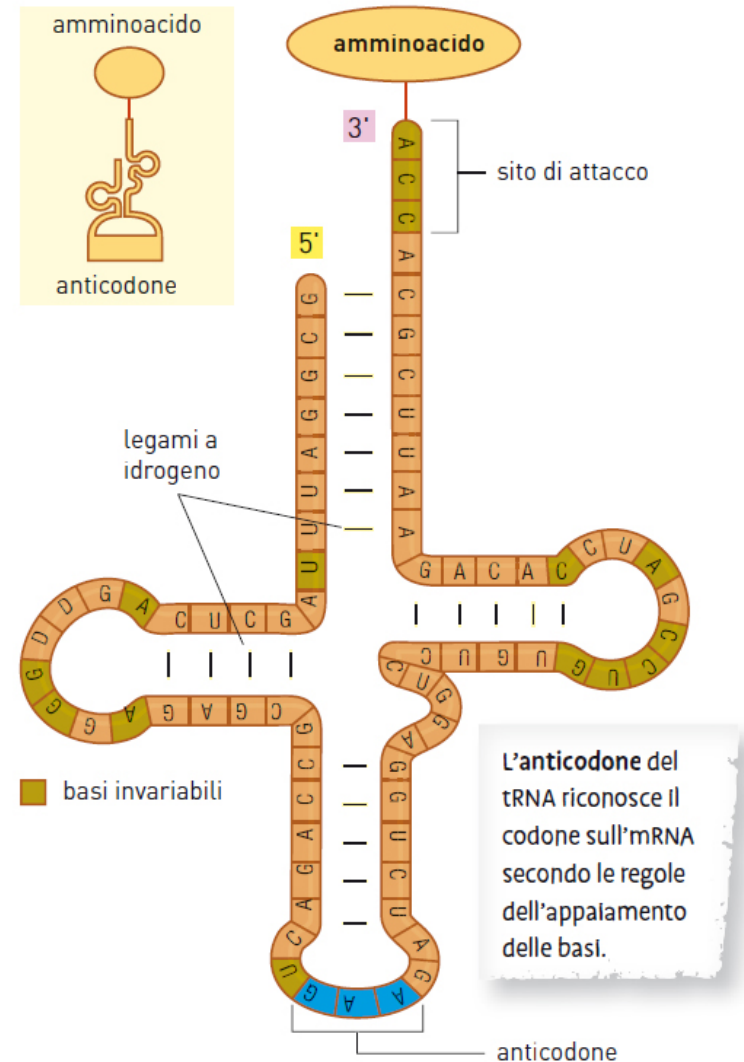
9. I ribosomi e l' RNA di trasporto

I codoni dell' mRNA vengono tradotti negli amminoacidi che costituiscono le proteine grazie all' azione del **tRNA**.

Il tRNA ha una forma ripiegata e porta a una estremità una tripletta di basi chiamata **anticodone**.

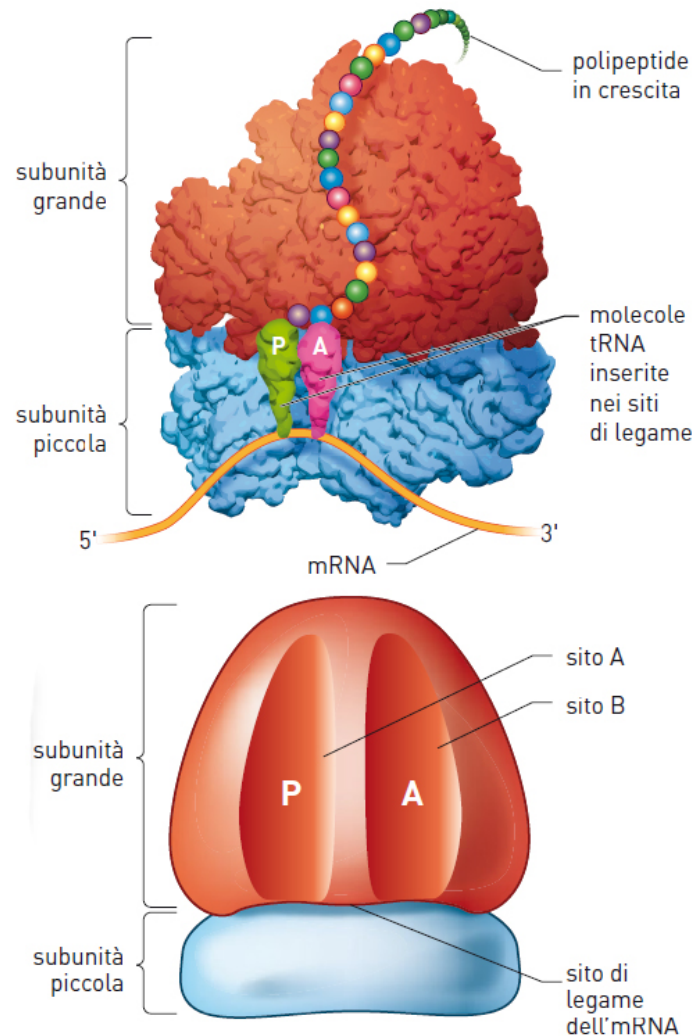
Ciascun anticodone è complementare a uno specifico codone.

Sull' altra estremità si trova un **sito di attacco** per l' amminoacido codificato dal codone, che andrà ad aggiungersi alla catena polipeptidica in crescita nel ribosoma.



9. I ribosomi e l' RNA di trasporto

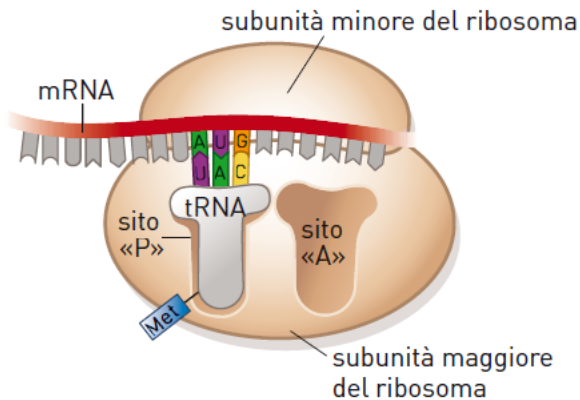
La traduzione avviene nei **ribosomi**, piccole strutture formate da due subunità, ciascuna costituita da proteine e da una grande quantità di **rRNA**.



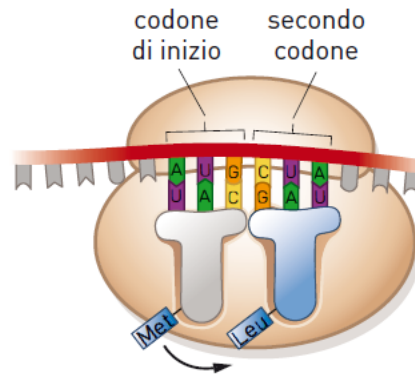
10. Le tre fasi della traduzione

La **traduzione** inizia con l'assemblaggio del ribosoma intorno all'mRNA, sul quale si appaiano i tRNA che trasportano gli amminoacidi e che portano alla formazione del polipeptide.

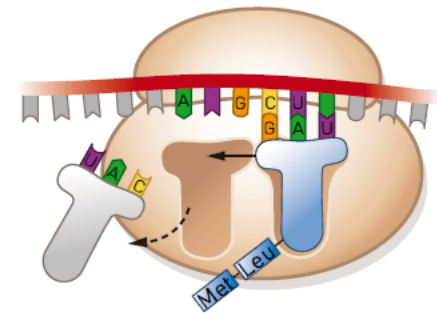
Avviene in tre tappe: *inizio*, *allungamento* e *terminazione*.



A La subunità minore del ribosoma si lega all'mRNA; il tRNA con la metionina si lega al codone d'inizio AUG nel sito P. La subunità maggiore si unisce e completa il ribosoma.

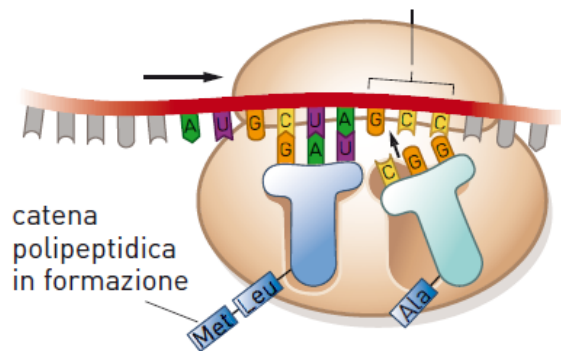


B Un tRNA con un altro amminoacido arriva nel sito A e si lega al secondo codone dell'mRNA; la metionina si lega al nuovo amminoacido.

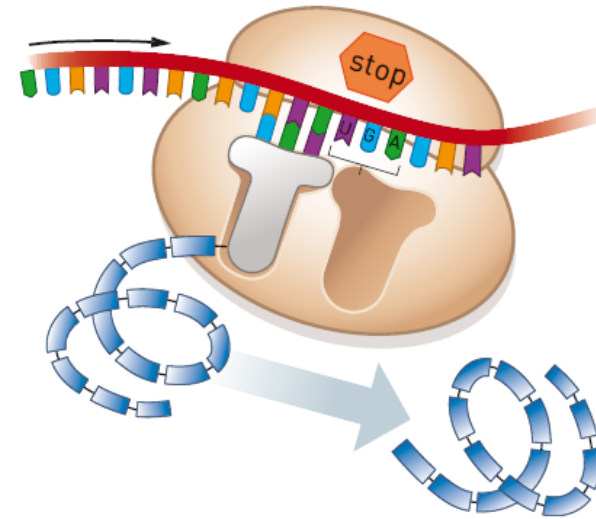


C Il tRNA che legava la metionina lascia il sito P; il ribosoma scorre e sposta il tRNA dal sito A al sito P.

10. Le tre fasi della traduzione



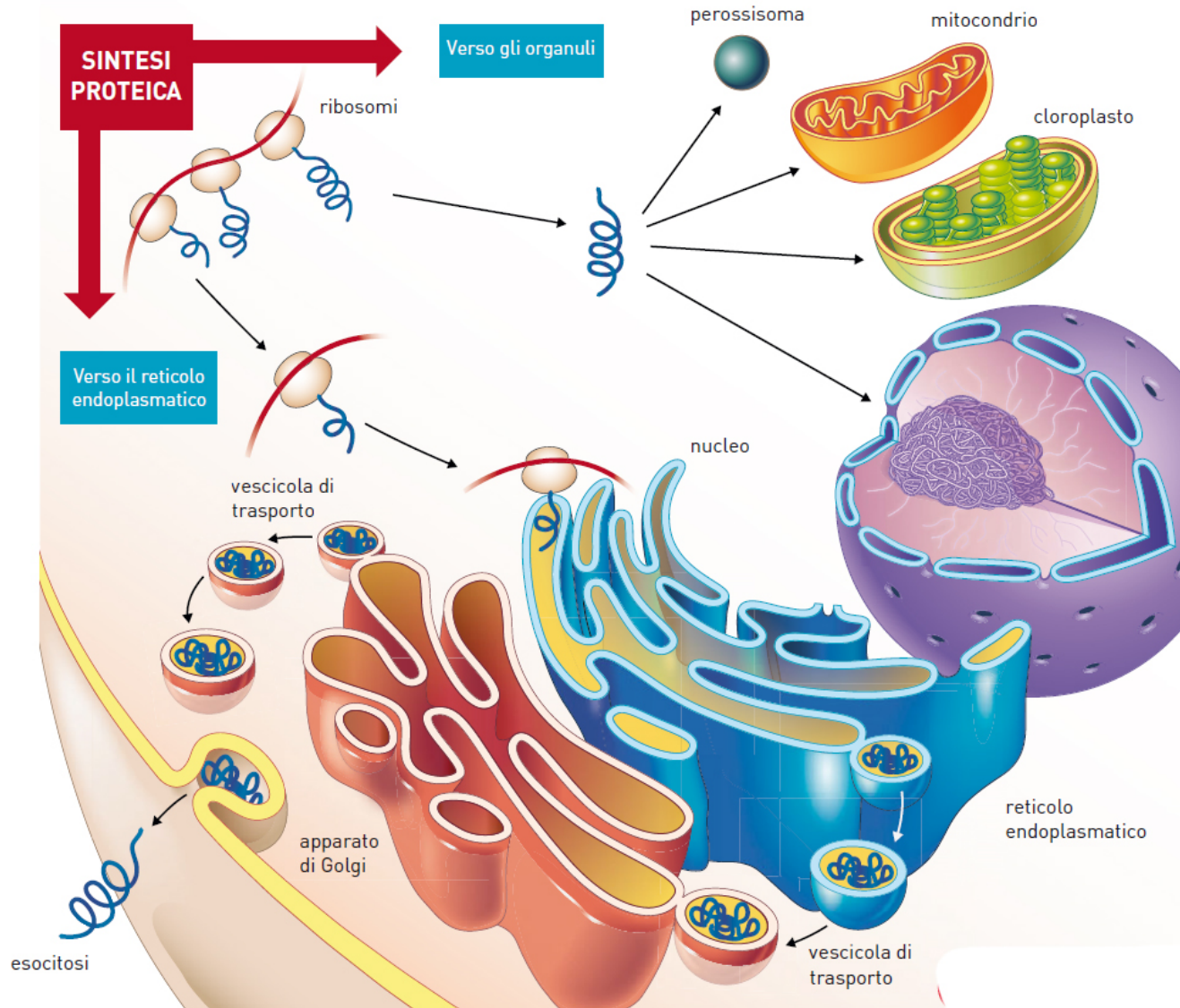
D Il sito A è libero e viene occupato da un nuovo tRNA con un altro amminoacido; il secondo amminoacido si lega al terzo, il ribosoma si sposta e il processo continua.



E L'allungamento procede finchè nel sito A si trova un codone di stop. A tale tripletta non corrisponde alcun amminoacido e la traduzione si conclude: il polipeptide è rilasciato e il ribosoma si divide nelle due subunità.

10. Le tre fasi della traduzione

Le proteine assemblate seguono poi percorsi differenti.



Lezione 3

Le mutazioni modificano il significato dei geni

11. I vari tipi di mutazioni

Una **mutazione** è un cambiamento nella sequenza di nucleotidi del DNA di un organismo che compromette la funzionalità di un gene produttore di una determinata proteina.

Le mutazioni possono essere di due tipi:

- **mutazioni somatiche**: avvengono durante la mitosi delle cellule di un tessuto e non sono ereditate dalla prole;
- **mutazioni della linea germinale**: si verificano durante la formazione dei gameti e, in seguito alla fecondazione, sono trasmesse al nuovo individuo. Queste mutazioni determinano le malattie genetiche.

11. I vari tipi di mutazioni

Le mutazioni possono essere spontanee o provocate da agenti di natura chimica o fisica chiamati **agenti mutageni**.

Nonostante all'interno del nucleo delle cellule si trovino *enzimi di riparazione*, un certo numero di errori può sfuggire.

A livello molecolare è possibile distinguere tre tipologie di mutazioni:

- **mutazioni geniche o puntiformi**, che riguardano un solo nucleotide;
- **mutazioni cromosomiche**, che interessano la struttura di un cromosoma;
- **mutazioni genomiche**, che coinvolgono il numero complessivo dei cromosomi.

12. Le mutazioni geniche

Le **mutazioni geniche** implicano variazioni a livello di un singolo nucleotide del DNA e non sempre hanno effetti sul fenotipo, ossia sono *silenti*.

Si ha una **mutazione per sostituzione** quando nel filamento in formazione viene aggiunto un nucleotide sbagliato al posto di quello corretto.

Si parla di *mutazione di senso* se la funzionalità della proteina viene alterata, di *mutazione non senso* se la proteina è non funzionante.

Si ha invece una **mutazione per inserzione** o **per delezione** quando viene aggiunto un nucleotide in più o in meno al filamento in formazione.

Questo errore provoca uno *scorrimento della finestra di lettura* del codice genetico. Di conseguenza, gli amminoacidi della proteina, dal punto della mutazione in avanti, sono errati.

12. Le mutazioni geniche

Mutazioni per sostituzione (A) e per delezione (B)

sequenza del DNA di un gene normale

T A C T T C A A A C T C C G T

mRNA

A U G A A G U U U G A G G C A

polipeptide

Met Lys Phe Glu Ala

mutazione silente

T A C T T C A A A C T T C G T

A U G A A G U U U G A A G C A

Met Lys Phe Glu Ala

mutazione di senso

T A C T T C A A A C A C C G T

A U G A A G U U U G U U G G C A

Met Lys Phe Val Ala

mutazione non senso

T A C A T C A A C C G C G T A

A U G U A G U U G G C G C A U

Met STOP

La tripletta CTC del DNA diventa CTT, nell'mRNA sarà trascritto GAA e non GAG: entrambi codificano per lo stesso amminoacido perciò non ci sarà nessun cambiamento.

La tripletta CTC del DNA diventa CAC, nell'mRNA sarà trascritto GUG e non GAG: si avrà la valina, apolare e idrofobica, invece dell'acido glutammico, polare e idrofilo.

La tripletta TTC del DNA diventa ATC, nell'mRNA invece che AAG sarà trascritto UAG, un codone di stop: la sintesi proteica si arresta e non si produce nessuna proteina.

A

sequenza del DNA di un gene normale

T A C T T C A A A C C G C G T

mRNA

A U G A A G U U U G G C G C A

polipeptide

Met Lys Phe Gly Ala

delezione di una base

T A C T T C A A C C G C G T A

A U G A A G U U G G C G C A U

Met Lys Leu Ala His

Un'inserzione o una delezione causano uno scorrimento della finestra di lettura e tutti gli amminoacidi dopo la mutazione sono differenti.

B

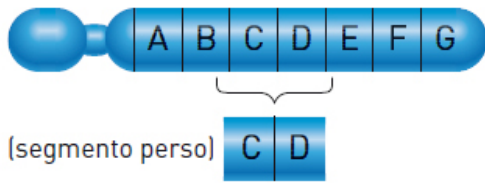
13. Le mutazioni cromosomiche

Le **mutazioni cromosomiche** o *aberrazioni* riguardano la struttura di un cromosoma. Possono essere di quattro tipi:

- **delezione**, in cui si perde una parte del cromosoma e, pertanto, una parte delle informazioni genetiche;
- **uplicazione**, quando una parte del cromosoma viene raddoppiata;
- **inversione**, in cui si ha la rottura in due punti del cromosoma che si salda, di conseguenza, con un segmento ruotato di 180°;
- **traslocazione**, quando un pezzo di cromosoma si stacca e va a inserirsi su un altro cromosoma.

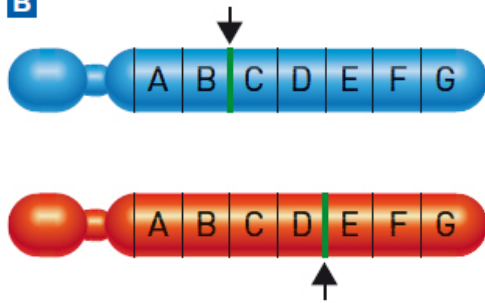
13. Le mutazioni cromosomiche

A



La **delezione** è la perdita di un segmento cromosomico.

B



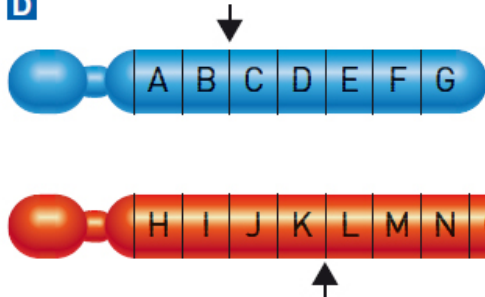
La **duplicazione** e la **delezione** si verificano quando cromosomi omologhi si rompono in diversi punti e si riuniscono, scambiandosi i segmenti.

C



L'**inversione** consiste nel reinserimento di un segmento rotto in modo invertito.

D

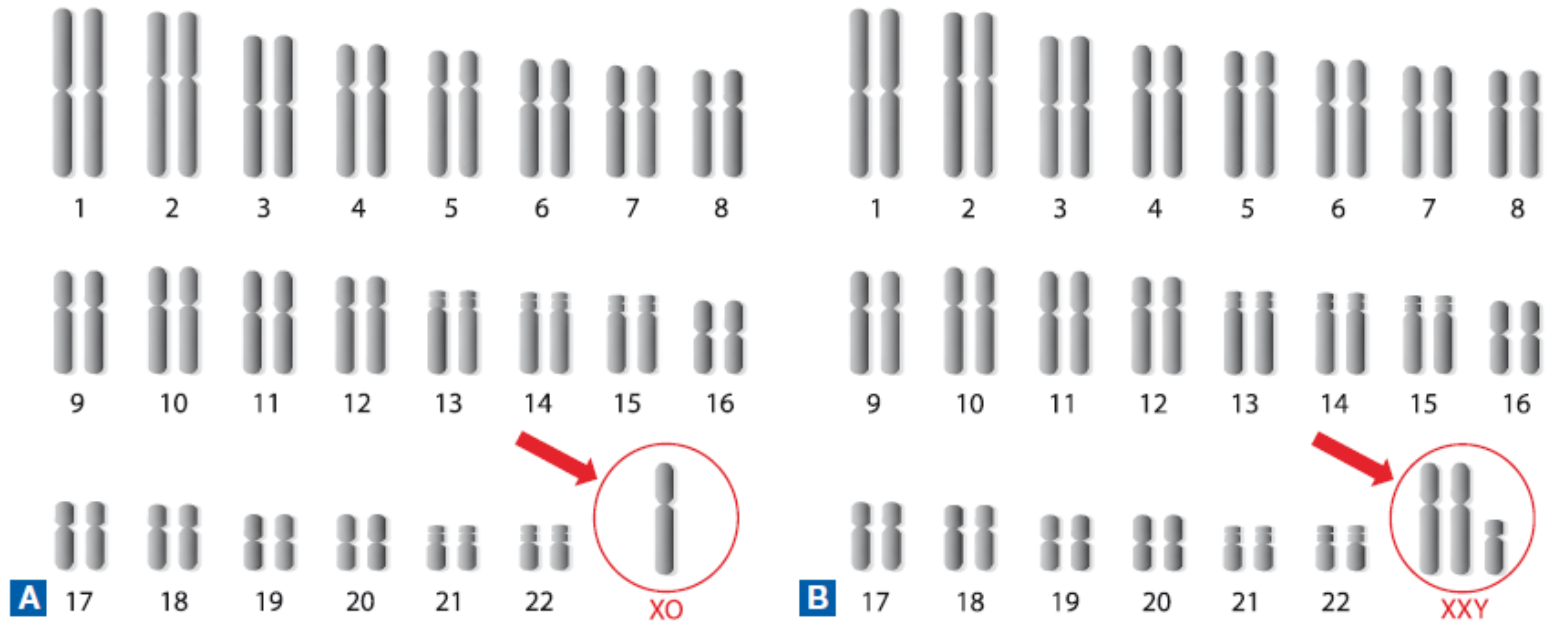


La **traslocazione** reciproca si verifica quando cromosomi non omologhi si scambiano frammenti.

14. Le mutazioni genomiche

Le **mutazioni genomiche** si riscontrano quando il numero di cromosomi è maggiore o minore rispetto al numero normale.

Questa condizione è detta **aneuploidia** e può causare, per esempio, la sindrome di Turner (A) o di Klinefelter (B).



Nelle piante sono piuttosto frequenti le anomalie cromosomiche dette **poliploidie**, in cui il corredo cromosomico invece di essere diploide ($2n$) è $3n$, $4n$ o persino $6n$ o $8n$.

Lezione 4

L'ingegneria genetica manipola il DNA

15. Origine delle biotecnologie

La **selezione artificiale** ha permesso di ottenere varietà diverse di piante e razze eterogenee di animali.



Il teosinite è una piante selvatica che cresce in Messico, da cui ha avuto origine il mais.

Zea mays è il mais attuale con pannocchie ricche di chicchi, che non si staccano dall'asse della pannocchia e che sono più grossi.



Le razze canine derivano tutte dal lupo e sono ottenute facendo incrociare gli individui che presentavano le caratteristiche desiderate.

Le tecniche di manipolazione di organismi viventi a beneficio degli esseri umani prendono il nome di **biotecnologie**.

15. Origine delle biotecnologie

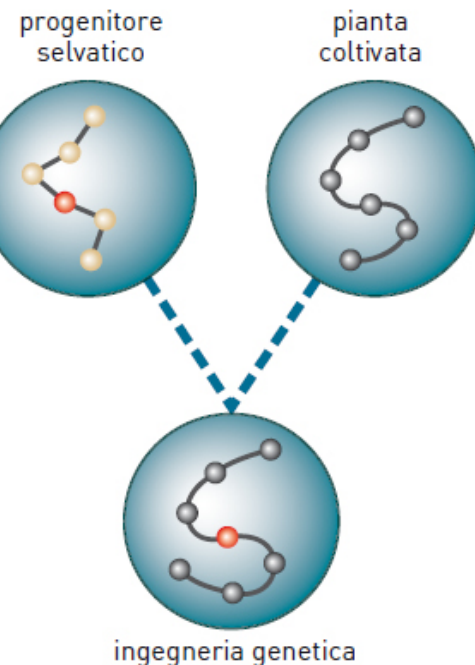
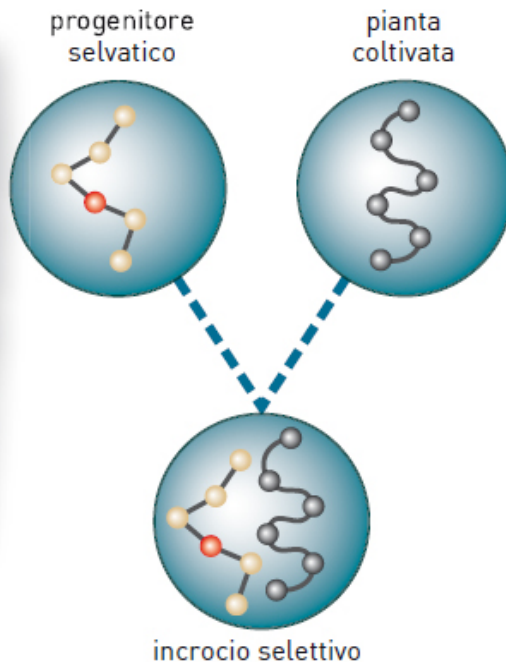
Grazie alla biotecnologia è stato possibile ricavare da alcune muffe degli antibiotici in grado di curare un certo numero di malattie.

Nel 1928 Fleming chiamò *penicillina* la sostanza in grado di impedire la crescita dei batteri.

Oggi i biotecnologi operano trasferendo da un organismo all'altro singoli geni per ottenere nuovi organismi con caratteristiche vantaggiose. Si parla di **tecnologia del DNA ricombinante** o **ingegneria genetica**.

L'incrocio selettivo:

- lavora sull'organismo intero e su gruppi di geni;
- spesso il cambiamento genetico non è ben caratterizzato al primo incrocio;
- solitamente avviene tra organismi della stessa specie.



L'ingegneria genetica:

- permette di trasmettere un singolo gene in modo mirato;
- opera a livello di singola cellula;
- permette di lavorare tra specie, generi e anche domini diversi.

16. La ricombinazione genica nei batteri

Gli scienziati hanno acquisito molte informazioni utili per manipolare il DNA studiando i meccanismi con cui i batteri introducono nel loro cromosoma modifiche ereditabili, **ricombinazione genica**.

Questo processo può avvenire in tre modi differenti:

- **coniugazione**, in cui due batteri entrano in contatto attraverso un pilo sessuale e si ha un trasferimento di DNA dal donatore al ricevente;
- **trasformazione**, in cui un batterio acquisisce frammenti di DNA dall' ambiente;
- **trasduzione**, in cui si ha trasferimento di DNA tra batteri mediato da un virus.

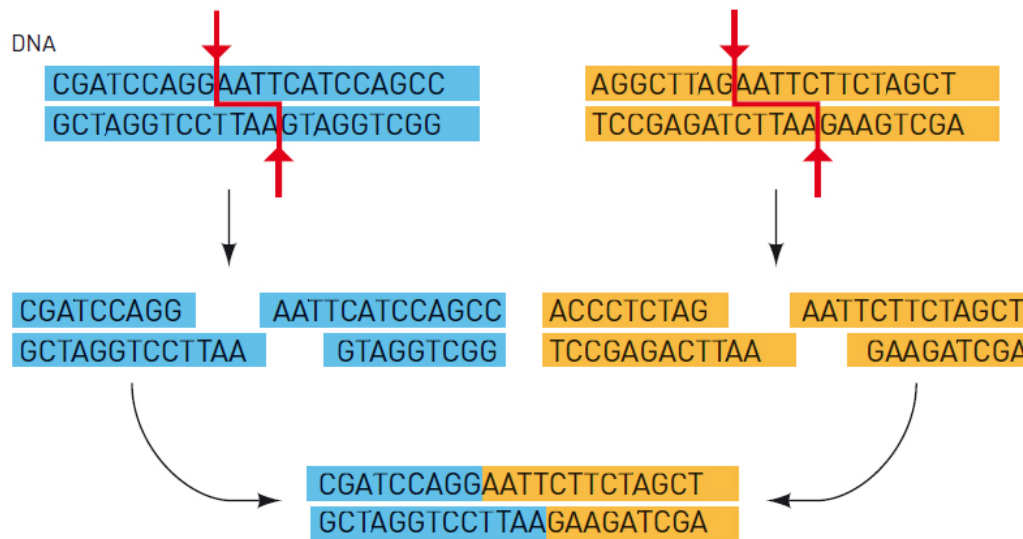
La maggior parte dei batteri possiede dei **plasmidi**, piccole molecole circolari di DNA. I plasmidi possono duplicarsi autonomamente e trasferirsi su un altro batterio, modificandone le caratteristiche.

17. Gli strumenti del biotecnologo

Con gli **enzimi di restrizione** si può ritagliare una parte di DNA da inserire su un altro organismo. Per unire i frammenti si utilizza l'enzima **DNA ligasi**. Ogni enzima riconosce specifiche sequenze di coppie di basi e taglia il DNA in un punto preciso, detto **sito di restrizione**.

1 L'enzima **EcoRI** (si legge *eco erre uno*) estratto dal batterio *E. coli* riconosce la sequenza GAATTC e la taglia tra la G e la A.

EcoRI taglia in corrispondenza delle frecce rosse



2 Il taglio è sfalsato e i due frammenti risultanti presentano un tratto a filamento singolo alle estremità. Queste estremità sono chiamate **estremità coesive** (*sticky ends*) perché si possono combinare, attraverso la formazione di legami a Idrogeno, con qualunque sequenza a esse complementare.

3 I frammenti di DNA tagliati con lo stesso enzima di restrizione si riconosceranno secondo la regola dell'appaiamento complementare delle basi e saranno saldati dall'enzima **DNA ligasi**.

18. L'ingegneria genetica

Le conoscenze sul DNA e la scoperta degli enzimi di restrizione hanno permesso lo sviluppo della **tecnologia del DNA ricombinante** o *ingegneria genetica*.

Si sono così potuti ottenere **organismi geneticamente modificati, OGM**.
Se gli organismi donatore e ricevente appartengono a specie diverse, l'OGM si definisce *transgenico*.

I passaggi per realizzare una molecola di DNA ricombinante sono:

1. tagliare il gene di interesse;
2. inserire il gene in un vettore;
3. trasferire il vettore nella cellula ospite;
4. clonare la cellula con il gene utile;
5. far esprimere il gene per ottenere la proteina di interesse.

19. Il DNA fingerprinting

Tutti gli esseri umani hanno uno 0,5% del DNA che li rende unici. Questa variabilità si trova nelle *sequenze microsatellite* che sono usate per costruire l' **impronta genetica**.

La tecnica del **DNA fingerprinting** consente di tracciare l' impronta genetica di un individuo analizzando 13 regioni del genoma che contengono microsatelliti.

Per confrontare fra loro diversi campioni di DNA si utilizza l' **elettroforesi**, una tecnica che permette di separare le macromolecole (proteine o acidi nucleici) in base alla loro lunghezza.

Lezione 5

Le applicazioni dell'ingegneria genetica

20. Le applicazioni in agricoltura

Con le tecniche dell'ingegneria genetica si ottengono piante resistenti ai parassiti, al gelo, agli erbicidi o con migliori proprietà nutritive.

Le applicazioni biotecnologiche in campo agroalimentare si indicano col termine ***green biotechnology***.

Per modificare geneticamente una pianta si utilizza il batterio *Agrobacterium tumefaciens* che riesce a infettare alcune piante, trasferendo alle cellule il proprio DNA. In questo modo, con l'aggiunta dei geni che si desidera riprodurre, si sono prodotte varietà vegetali transgeniche resistenti ai virus e utili per una migliore alimentazione, come il *golden rice*.



21. L'ingegneria genetica e la medicina

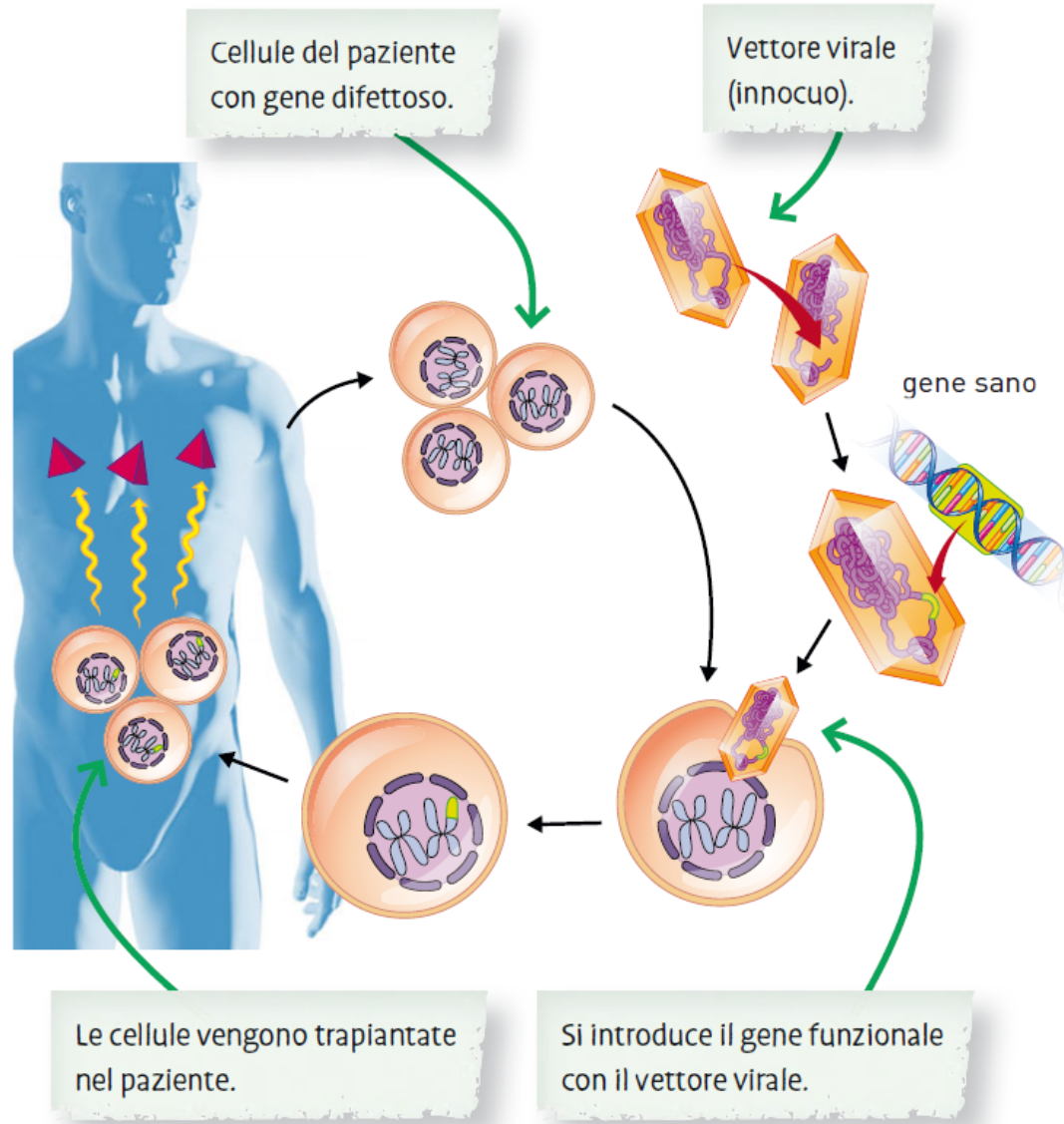
Le tecniche del DNA ricombinante consentono di produrre **farmaci biotech**.

Il primo farmaco prodotto con la tecnica del DNA ricombinante è stato l'ormone insulina, mediante l'utilizzo di cellule di *Escherichia coli*.

Una conquista importante delle biotecnologie sono i **vaccini**, di cui il primo è stato quello contro l'epatite B, ottenuto mediante clonazione ed espressione dell'antigene del virus nel *Saccharomyces cerevisiae*.

La ricerca sulla **terapia genica** interviene direttamente sui geni per curare le malattie genetiche. All'interno di virus resi innocui viene inserito il gene sano. I virus vanno poi collocati all'interno di cellule umane da impiantare nell'organismo malato, con l'intento di sostituire il gene difettoso con quello sano.

21. L'ingegneria genetica e la medicina



22. Animali transgenici e clonazione

L'ingegneria genetica consente di produrre **mammiferi transgenici**, in cui un gene estraneo di interesse viene inserito in una cellula uovo appena fecondata.

La **clonazione** è invece la generazione di un nuovo individuo a partire da una cellula somatica dello stesso individuo, in modo da ottenere una copia geneticamente identica a quella di partenza.

Nel 1997 fu clonato il primo mammifero da un individuo adulto. Si trattava di una pecora, Dolly.

