

ZANICHELLI

Fabio Fanti

**Biologia,
microbiologia
e tecniche di
controllo sanitario**

Capitolo 8

Il DNA e la sintesi proteica

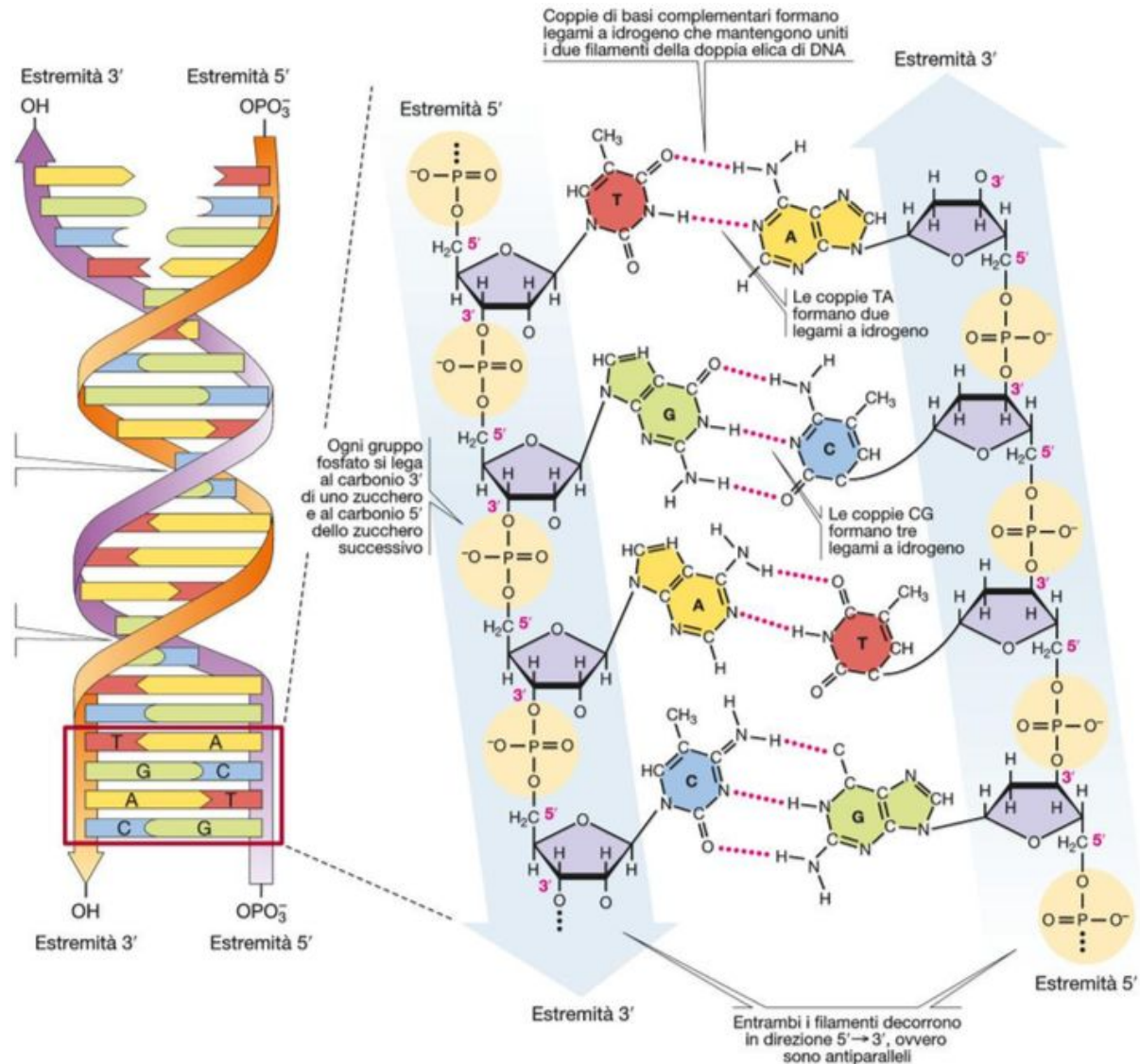
1. Il DNA: custode dell'informazione genetica

Funzioni

- **Trasmissione** dell'informazione genetica (geni) attraverso la **duplicazione**
- **Espressione** dell'informazione genetica attraverso la **trascrizione** e la **sintesi proteica**

Struttura

Polimero formato da due catene di **desossiribonucleotidi complementari, antiparallele, avvolte a doppia elica**



2. Il compattamento del DNA in eucarioti e procarioti

Il DNA umano ha una lunghezza di circa 2 m.

I **nucleosomi** sono le unità costituenti della **cromatina**

Si individuano diversi livelli di spiralizzazione:

I: nucleosomi collegati da un *DNA linker*.

II: condensazione della stringa di nucleosomi a spirale

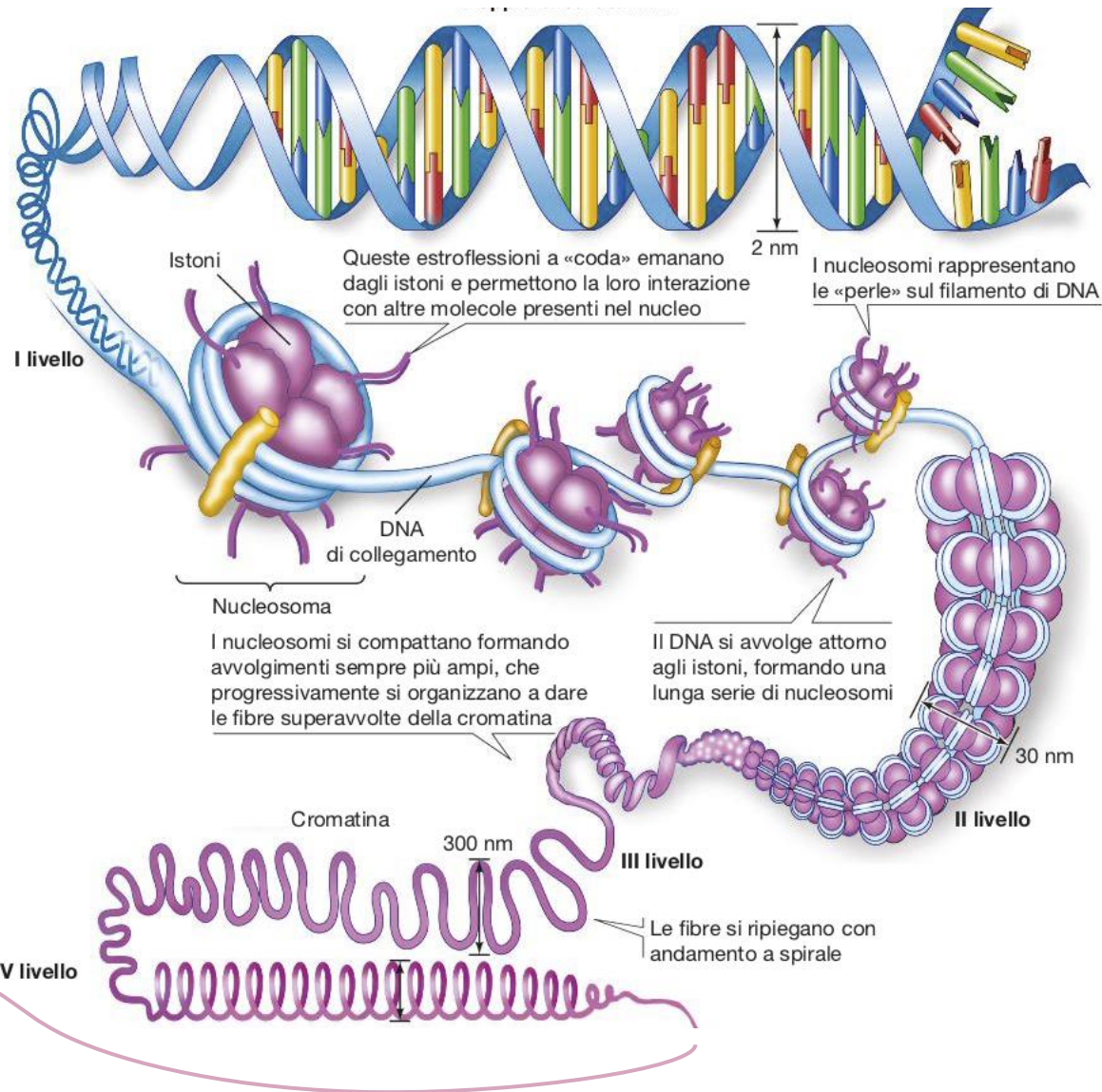
III: *eucromatina*, è possibile la lettura dell'informazione genica

IV: *eterocromatina*, inattiva la trascrizione

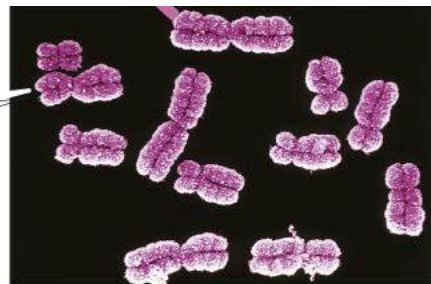
V: *cromosomi*

2. Il compattamento del DNA in eucarioti e procarioti

Nei *Bacteria* sono presenti proteine istone-simili e non si formano nucleosomi. Molti *Archaea* contengono proteine omologhe agli istoni degli eucarioti.



Le anse della spirale si compattano ulteriormente formando un cromosoma



Cromosomi metafasici

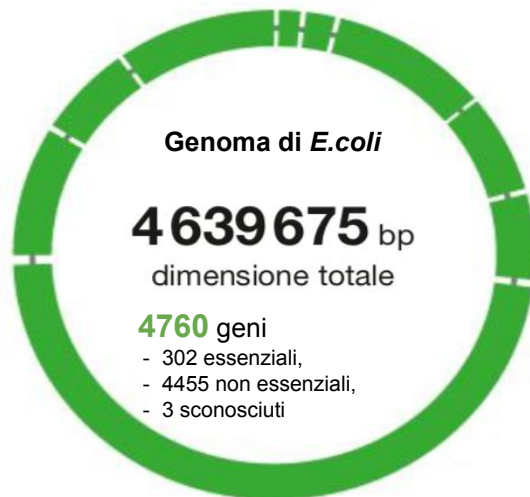
3. Le caratteristiche del cromosoma batterico

I batteri hanno generalmente un cromosoma circolare, con un numero di basi variabile da 0,15 a 13 Mbp.

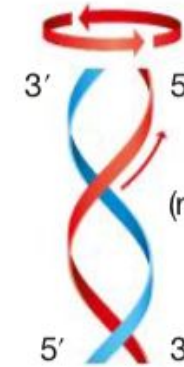
La molecola può essere *rilassata* o *superavvolta*.

Il superavvolgimento:

- è operato dalle *topoisomerasi* (DNA girasi),
- può essere *positivo* o *negativo*.



direzione dell'**avvolgimento** del DNA



(nelle forme A e B del duplex DNA)

DNA destrorso

direzione del
superavvolgimento del DNA



superavvolgimenti
negativi
(sinistrorsi)



DNA non
superavvolto



superavvolgimenti
positivi
(destrorsi)

4. I plasmidi nelle cellule procariotiche

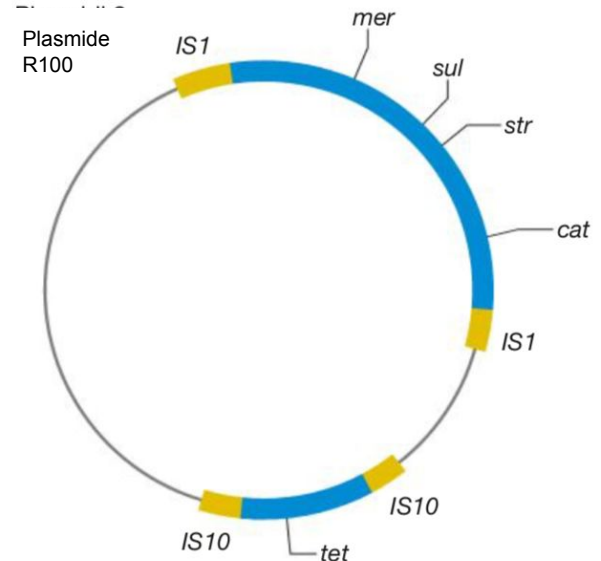
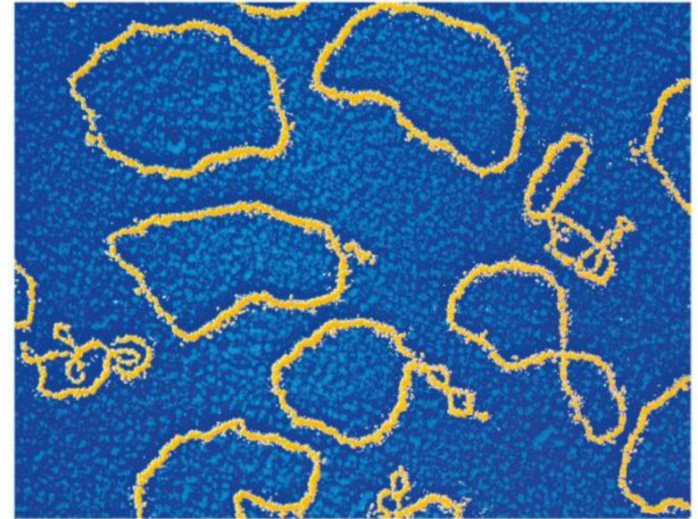
I plasmidi sono piccole molecole circolari (o lineari) di DNA in forma superavvolta e in grado di autoreplicarsi.

Possono controllare l'inizio della loro replicazione e la ripartizione tra le cellule figlie.

Contengono geni non indispensabili alla vita cellulare

Esistono diversi tipi di plasmidi:

- Plasmidi R (resistenza agli **antibiotici**)
- Plasmidi che contengono geni per la **virulenza** (capacità di adesione, produzione di tossine)
- Plasmidi che codificano per **batteriocine**, batteriostatiche o battericide nei confronti di altri batteri.

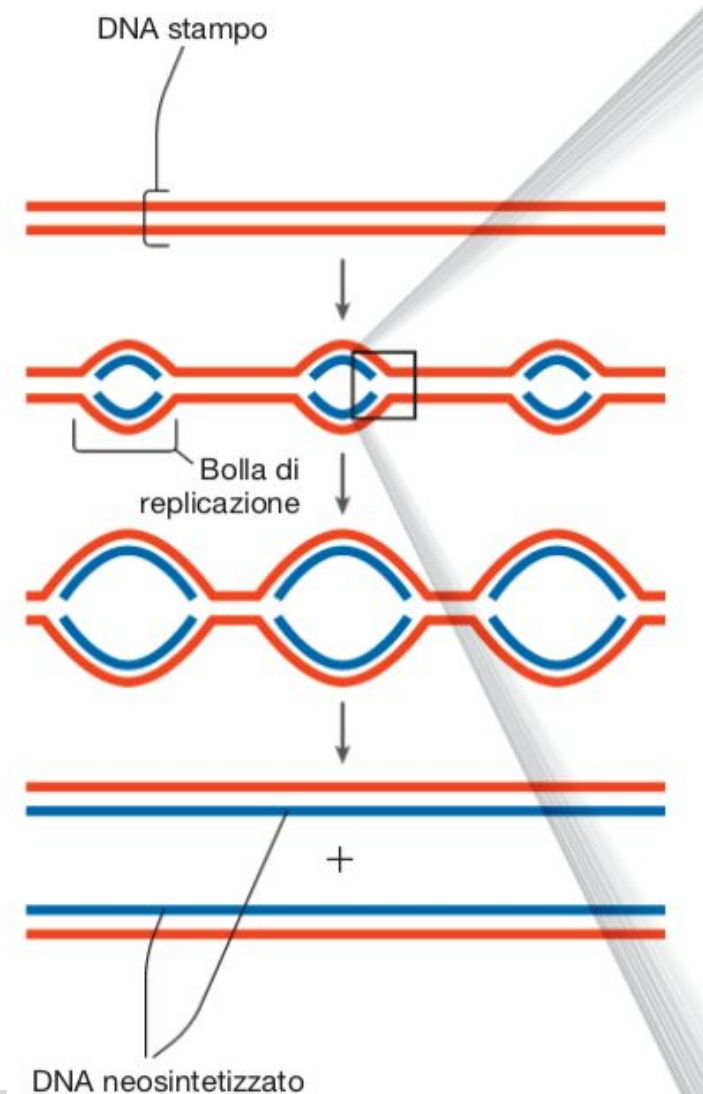


5. La replicazione del DNA: un fenomeno complesso

La replicazione del DNA è un processo **semiconservativo**: ciascuna molecola figlia contiene un filamento nuovo e un filamento della molecola parentale

Il **complesso di replicazione** è l'apparato molecolare che dà il via alla replicazione. Ne fanno parte enzimi specifici e una sequenza di origine (*ori*), presente una sola volta nei procarioti, più volte su ogni cromosoma negli eucarioti.

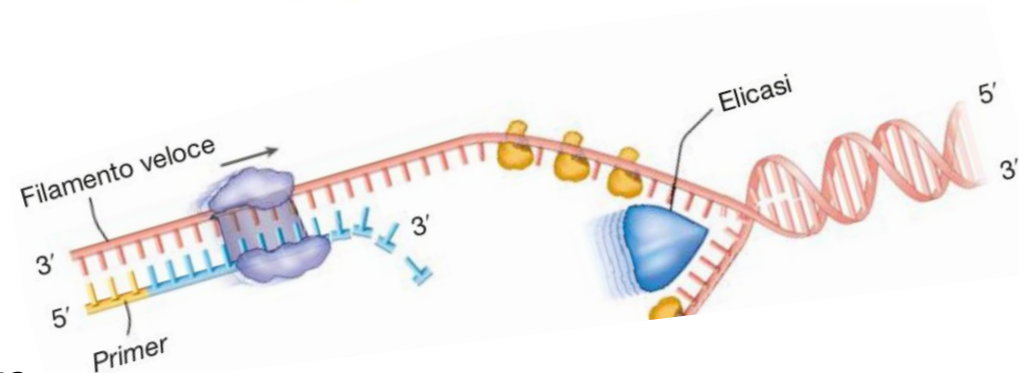
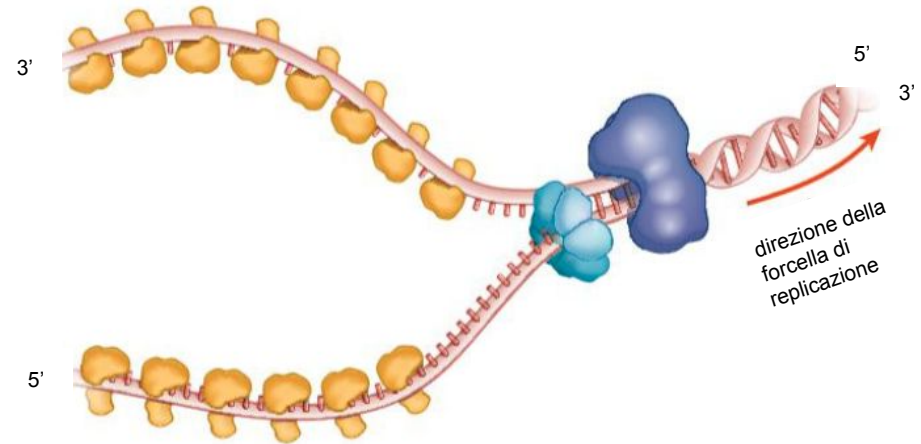
La **bolla di replicazione** è la parte di DNA su cui si sta effettuando la sintesi del nuovo filamento.



5. La replicazione del DNA: un fenomeno complesso

Fasi della replicazione:

1. I filamenti si separano, grazie alle *topoisomerasi*.
2. I filamenti sono allontanati dalle *elicasi*, dando origine a due **forcelle di replicazione**.
3. Ogni filamento costituisce uno stampo per la sintesi del filamento complementare.



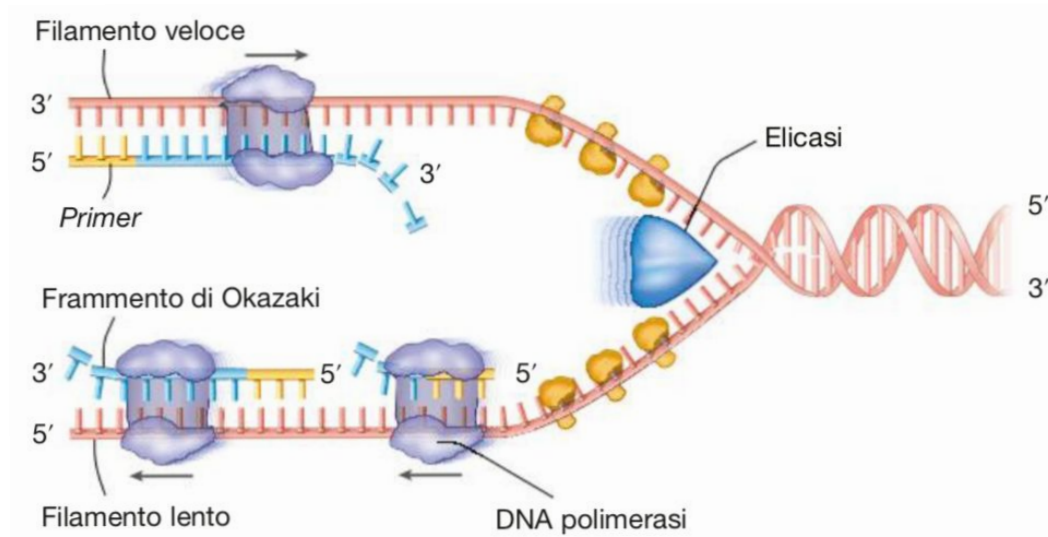
5. La replicazione del DNA: un fenomeno complesso

4. Allungamento della catena:

a. L'enzima *primasi* produce un *primer* di RNA (11-12 nucleotidi)

b. L'enzima *DNA polimerasi* sintetizza un nuovo filamento in direzione $5' \rightarrow 3'$

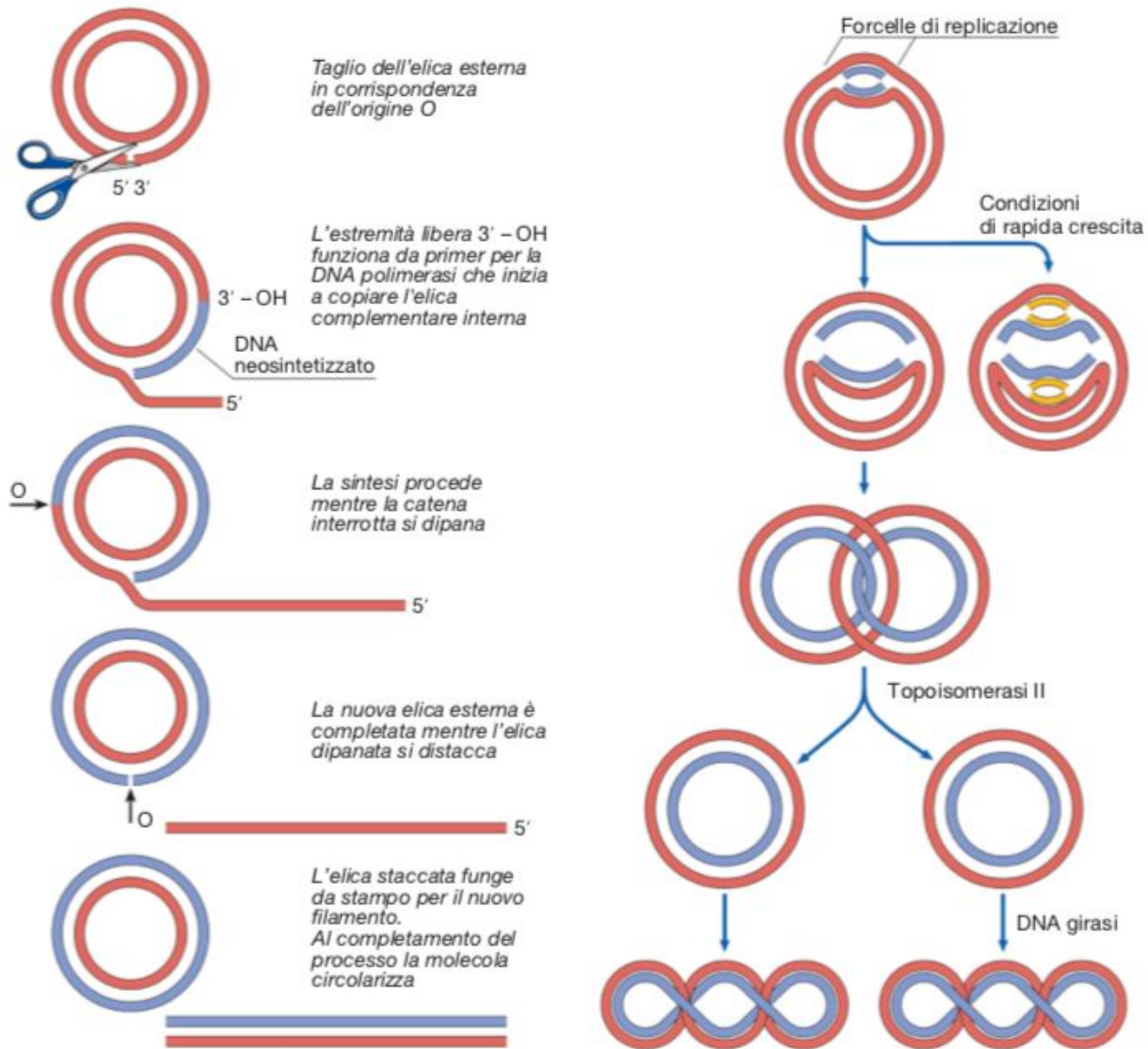
c. Sul filamento opposto la *DNA polimerasi* lavora in modo discontinuo e più lentamente, producendo i *frammenti di Okazaki*.



5. Al termine della replicazione: la *RNasi H* rimuove i primer, la *DNA polimerasi* completa i tratti mancanti, la *DNA ligasi* salda i filamenti.

5. La replicazione del DNA: un fenomeno complesso

La duplicazione del DNA circolare dei plasmidi batterici può avvenire con il meccanismo “a cerchio rotante”.



6. La funzione di telomeri e telomerasi

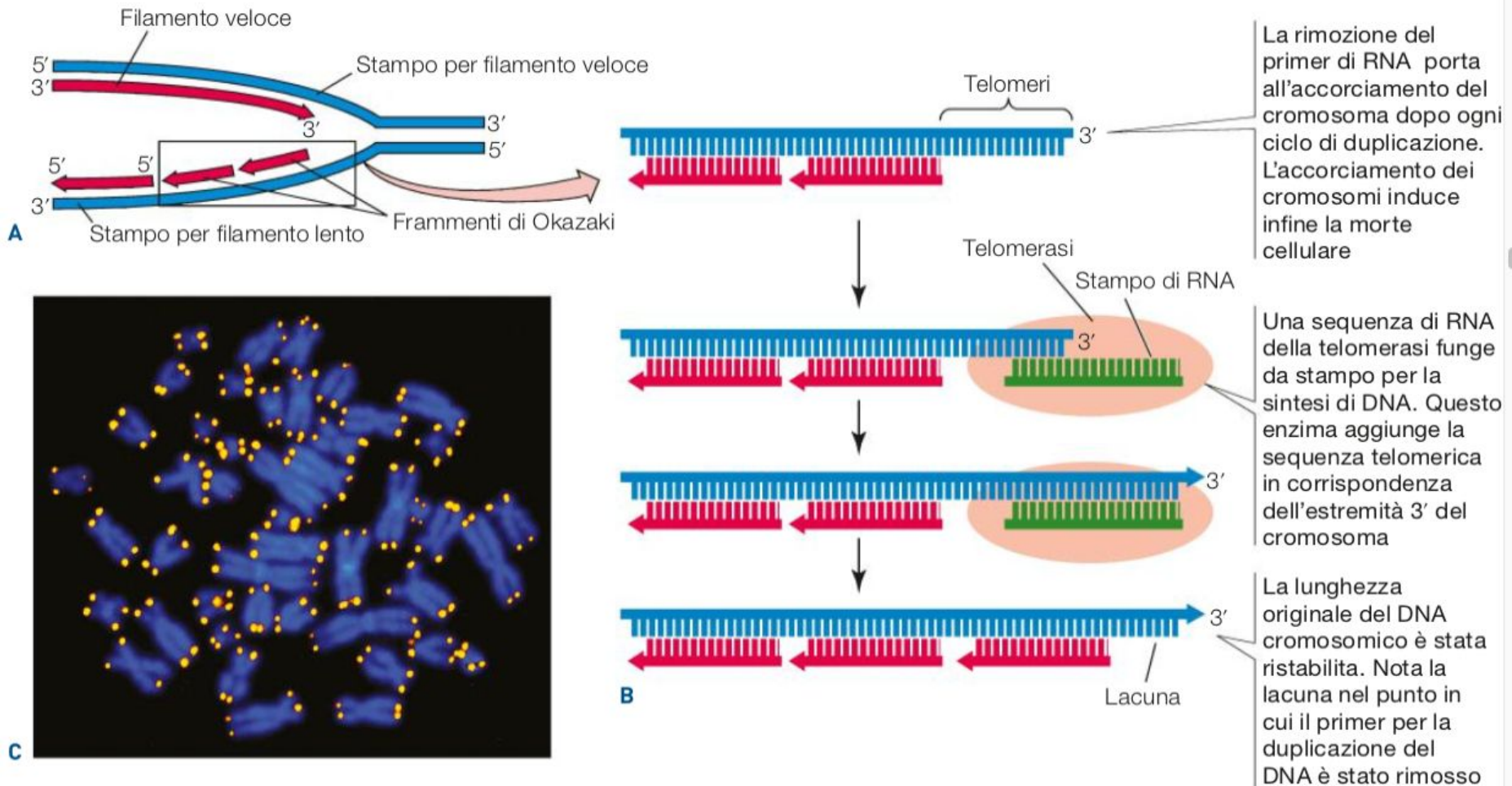
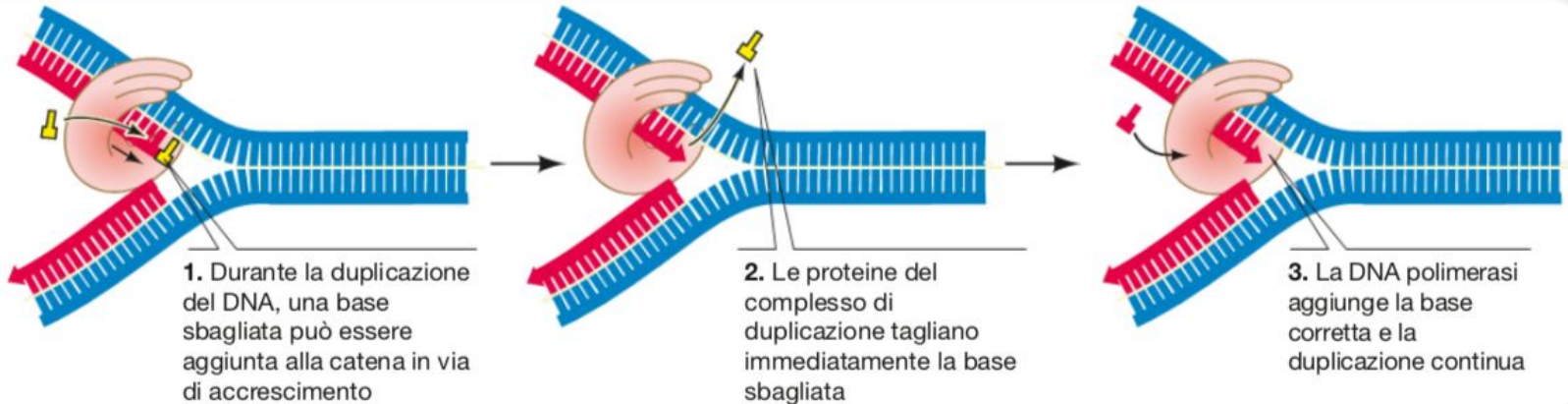


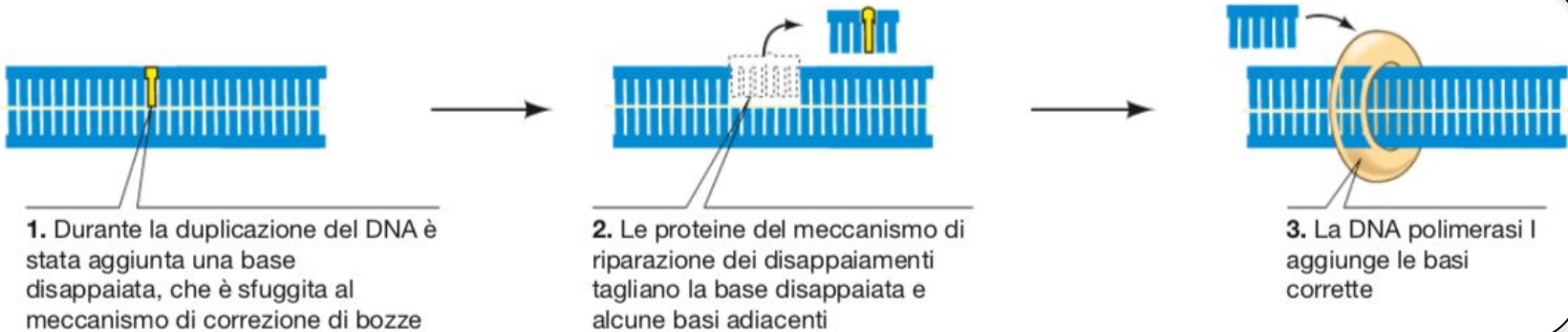
Figura 8.13 I telomeri e la telomerasi. (A) La rimozione del primer di RNA in corrispondenza dell'estremità 3' del filamento lento lascia non replicata una regione di DNA, il telomero. (B) L'enzima telomerasi si lega all'estremità 3' estendendo il filamento lento di DNA. Una sequenza di RNA integrata nell'enzima fornisce lo stampo, cosicché nel suo complesso il DNA non si accorcia. (C) Un colorante fluorescente marca le regioni telomeriche di questi cromosomi umani colorati in azzurro.

7. I meccanismi di riparazione del DNA

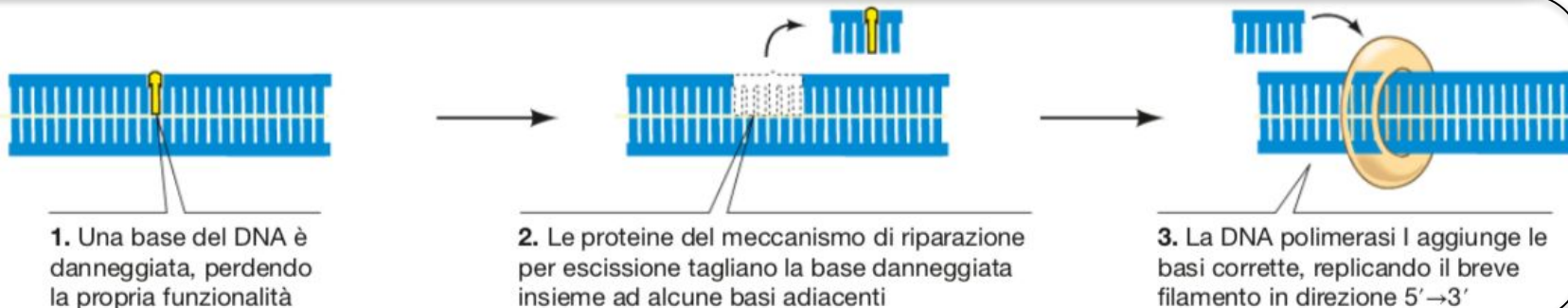
A. Correzione di bozze del DNA



B. Riparazione dei disappaiamenti



C. Riparazione per escissione



8. L'RNA svolge compiti molteplici

Caratteristiche **strutturali** dell'RNA:

- Ribosio al posto del Desossiribosio
- Uracile al posto di Timina
- Struttura a singolo filamento

Caratteristiche **funzionali** dell'RNA:

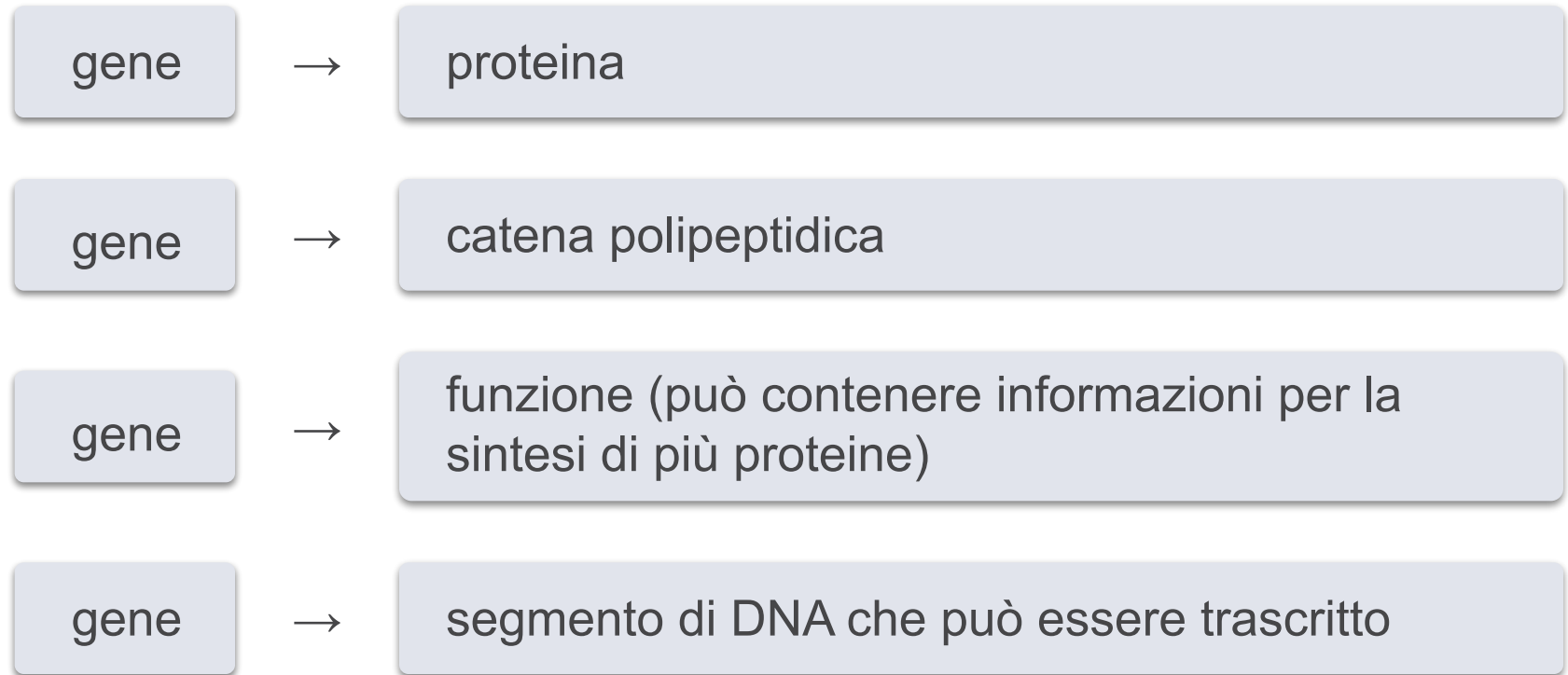
- Trascrizione, trasporto e interpretazione dell'informazione genetica

Tipi di RNA:

- RNA messaggero (**mRNA**), trascrive e trasporta l'informazione genetica
- RNA ribosomiale (**rRNA**), costituisce i ribosomi
- RNA transfer (**tRNA**), lega e trasporta gli aminoacidi
- RNA eterogeneo (**hnRNA**), negli eucarioti, rappresenta il trascritto primario che non ha ancora subito maturazione
- piccolo RNA nucleare (**snRNA**), costituisce lo *spliceosoma*, complesso per la promozione dello *splicing*.

9. I meccanismi della sintesi proteica

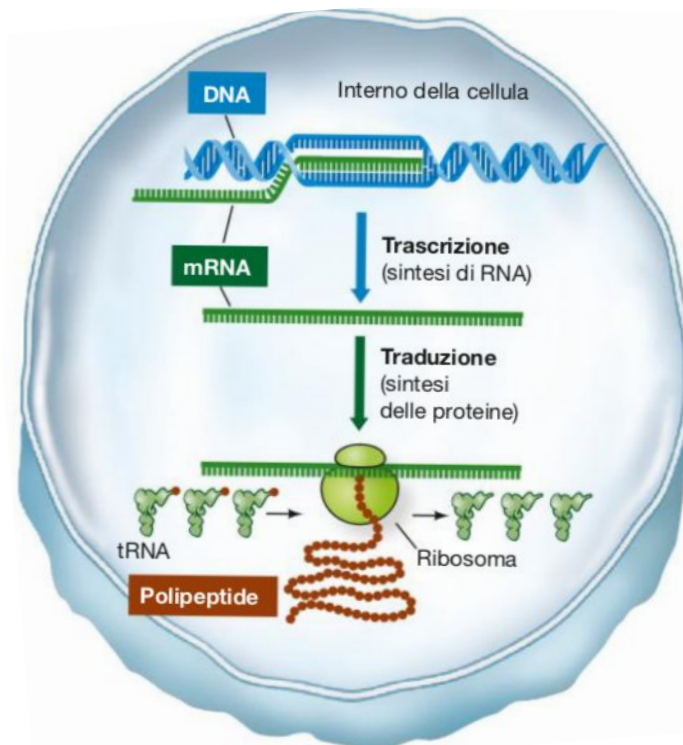
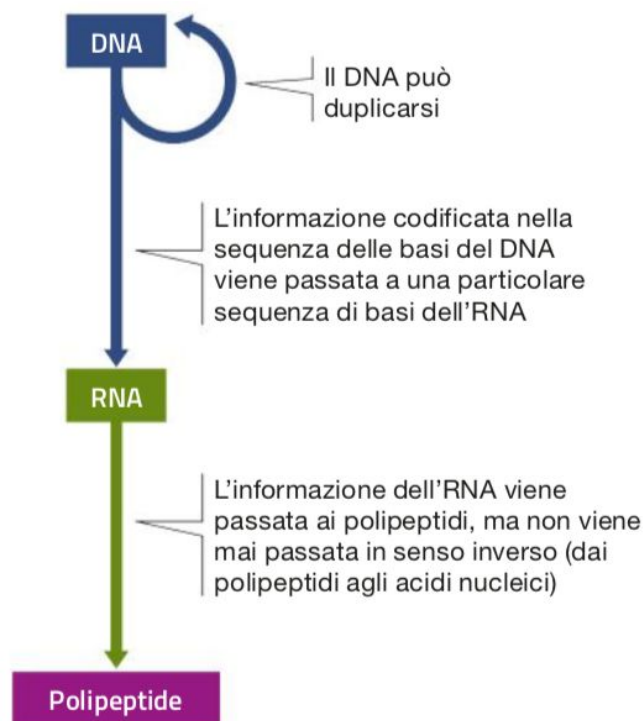
Evoluzione del concetto di gene



9. I meccanismi della sintesi proteica

Il dogma centrale della biologia

Una proteina non contiene più alcuna informazione per la sintesi di altre proteine, RNA o DNA.



Eccezione al dogma

La *trascrittasi inversa* è un enzima, presente nei *retrovirus*, in grado di sintetizzare un filamento di DNA a partire da uno stampo di RNA

10. Le fasi del processo: la trascrizione

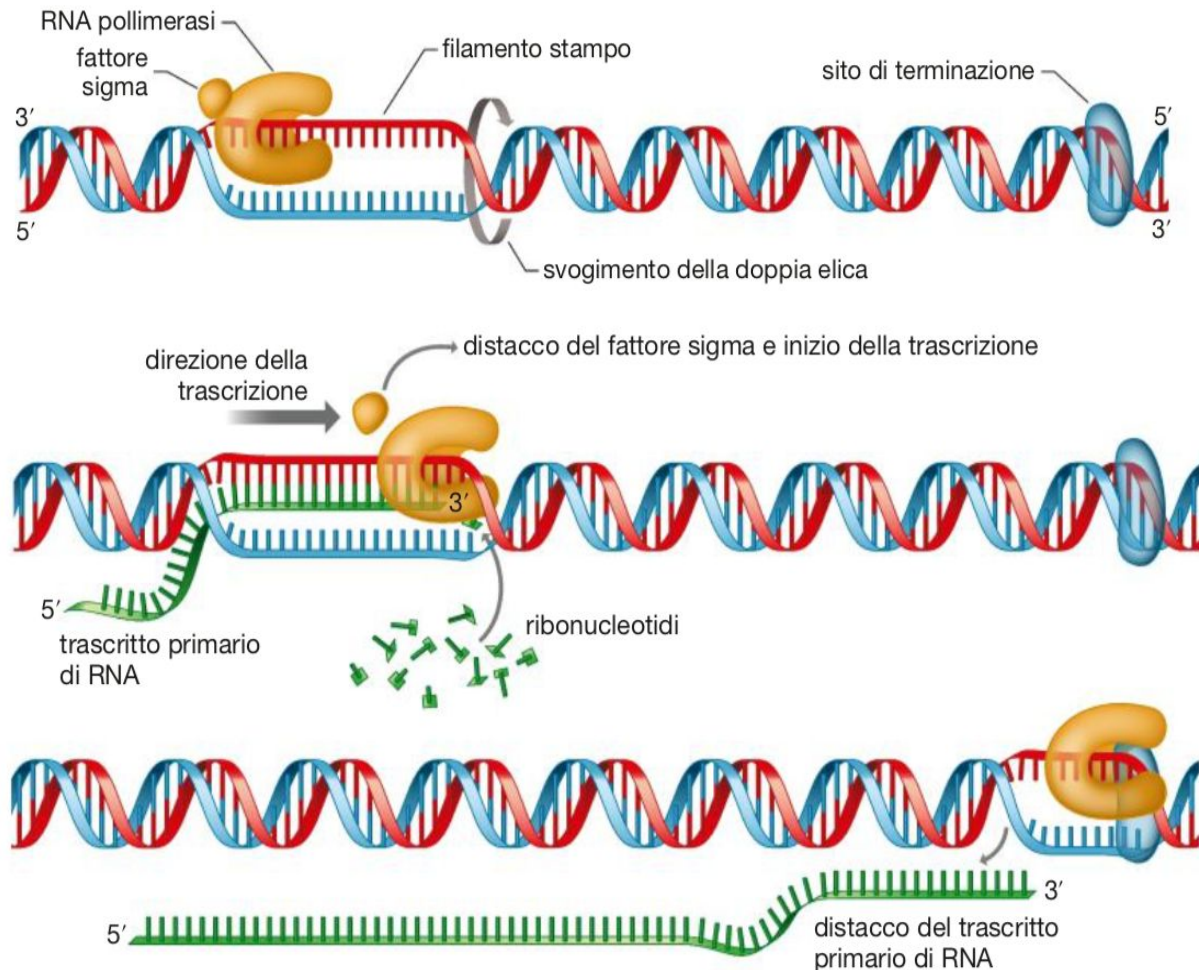
Le informazioni codificate sul DNA sono copiate su un filamento di mRNA.

Viene copiato un solo segmento del genoma, a partire da un singolo **filamento stampo**, e ne vengono realizzate diverse copie.

La trascrizione si articola in tre fasi:

1. **inizio**
2. **allungamento**
3. **terminazione**

Nei procarioti, il filamento di RNA prodotto rappresenta il **trascritto primario** e definitivo. Negli eucarioti si verifica lo **splicing**, in cui gli introni sono eliminati, originando così il trascritto maturo.



11. Il codice genetico: un ponte fra due linguaggi

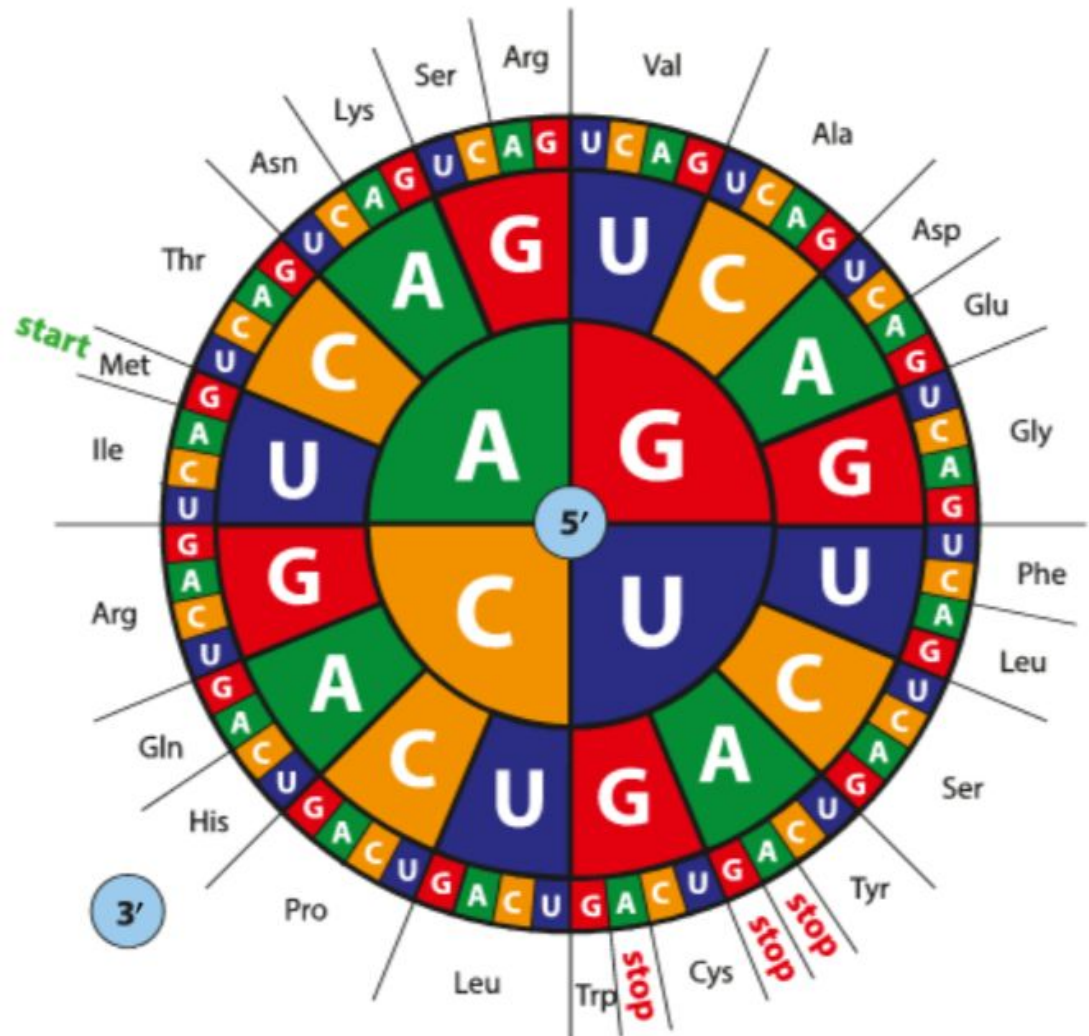
Le proteine sono formate da aminoacidi. In natura ne esistono circa 20 tipi.

- Se ogni base venisse tradotta in un aminoacido potrebbero essere codificati solo 4 tipi di aminoacido (4^1)
- Con 2 basi per un aminoacido si avrebbero 4^2 (16) combinazioni
- Con 3 basi per un aminoacido si ottengono 4^3 (64) combinazioni: più che sufficienti per specificare i 20 aminoacidi.

11. Il codice genetico: un ponte fra due linguaggi

Una tripletta di basi
(**codone**)
codifica per un
aminoacido
(**Codice a triplette**)

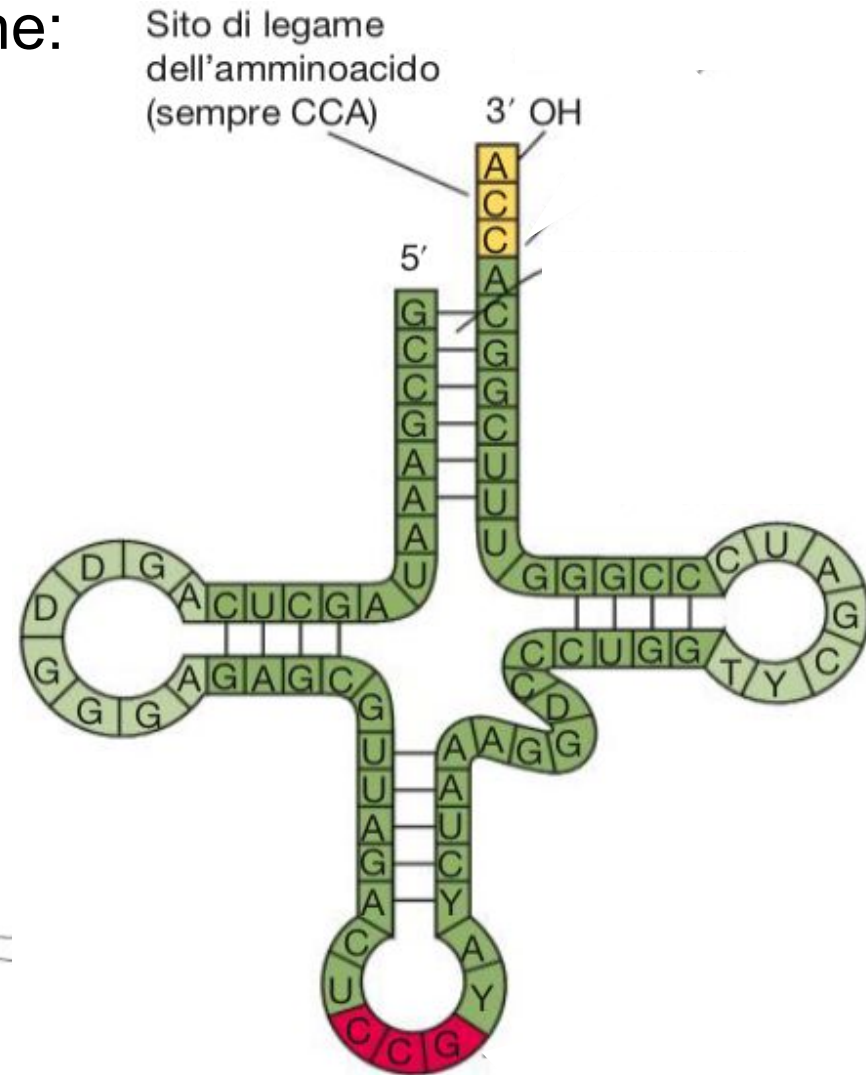
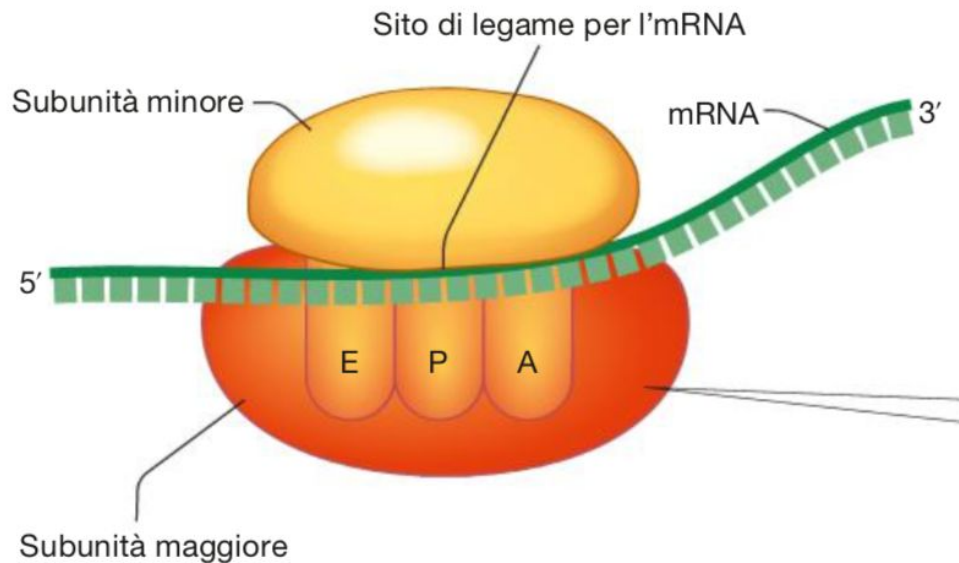
Il codice genetico è
degenerato
(o ridondante)
e **universale**



12. Le fasi del processo: la traduzione

Strutture coinvolte nella traduzione:

- ribosomi
- aminoacidi
- tRNA
- ATP
- enzimi

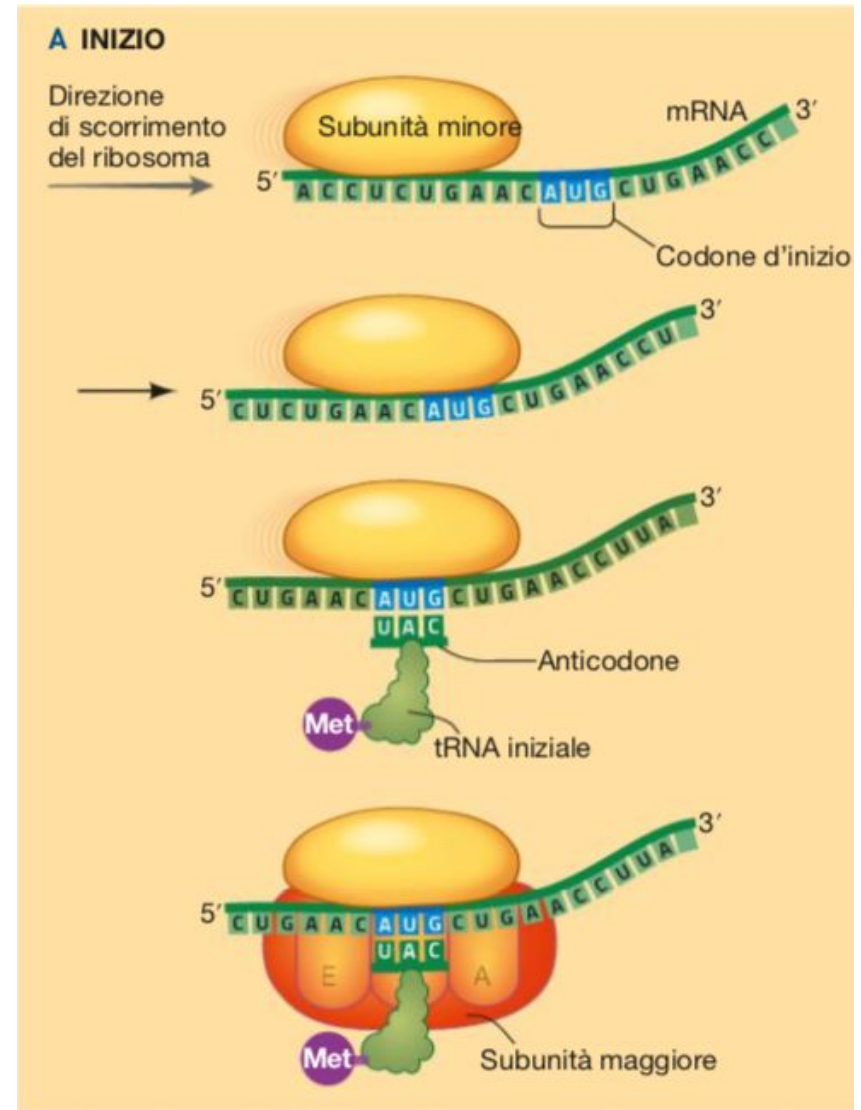


12. Le fasi del processo: la traduzione

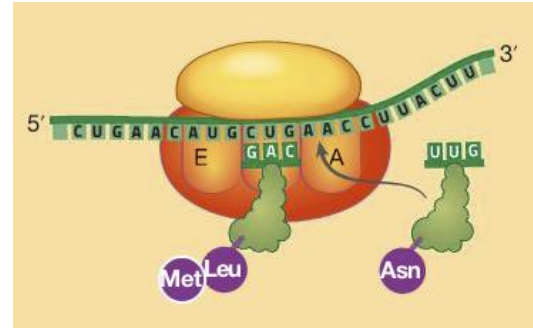
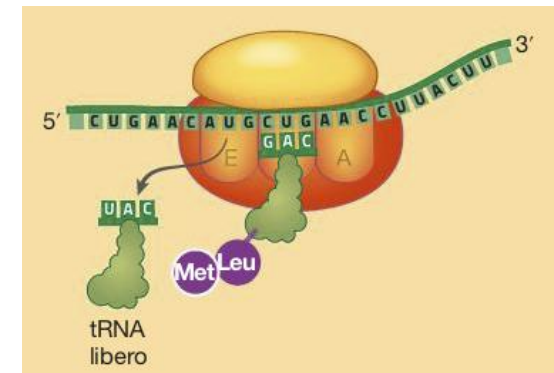
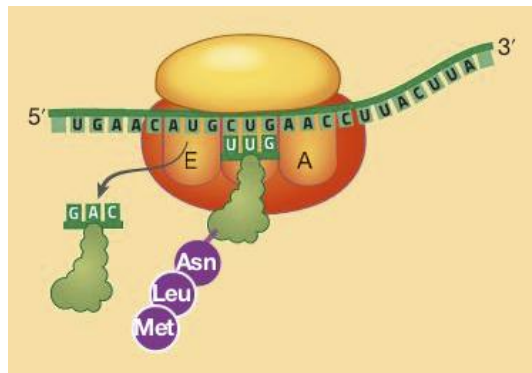
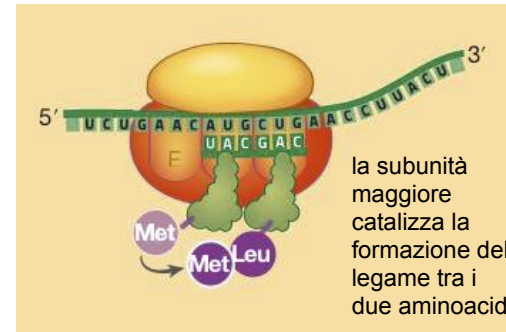
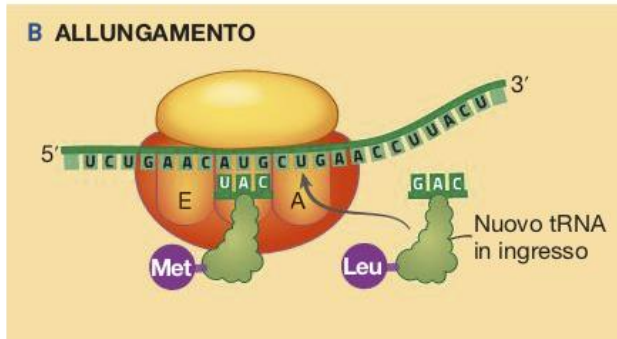
Fasi:

- A. Inizio
- B. Allungamento
- C. Terminazione

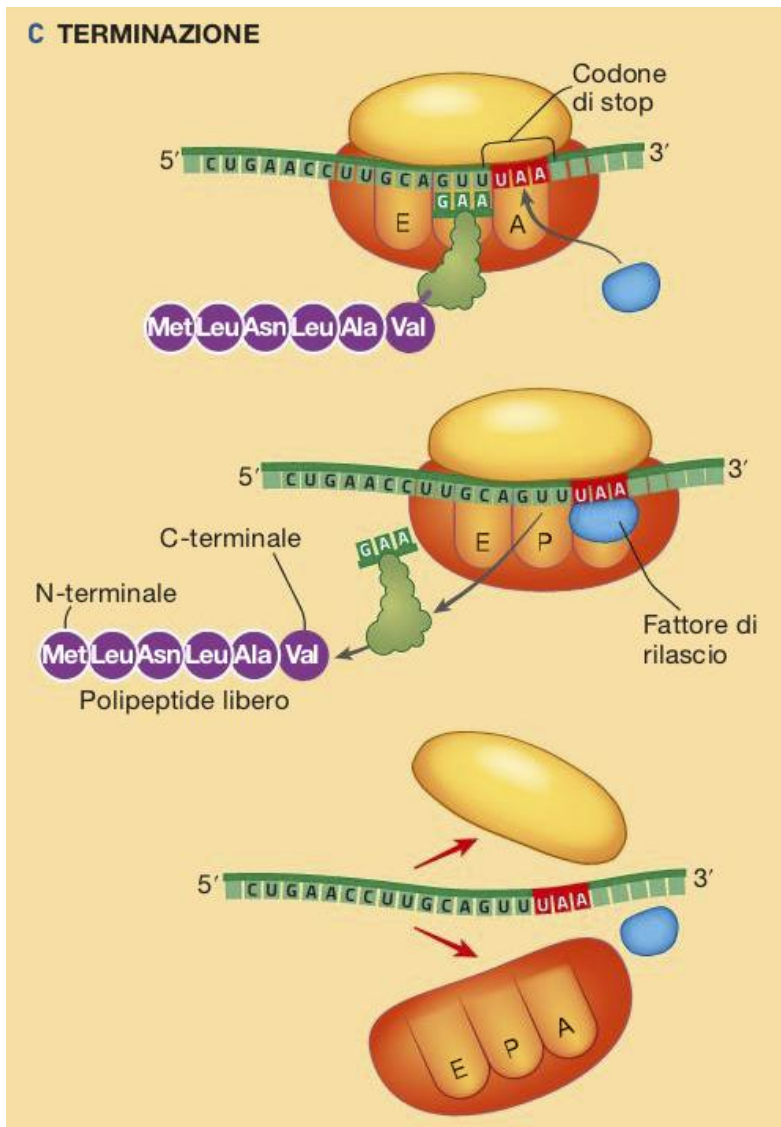
Nella fase di inizio viene posizionato il primo aminoacido: metionina negli eucarioti, formilmetionina nei procarioti



12. Le fasi del processo: la traduzione

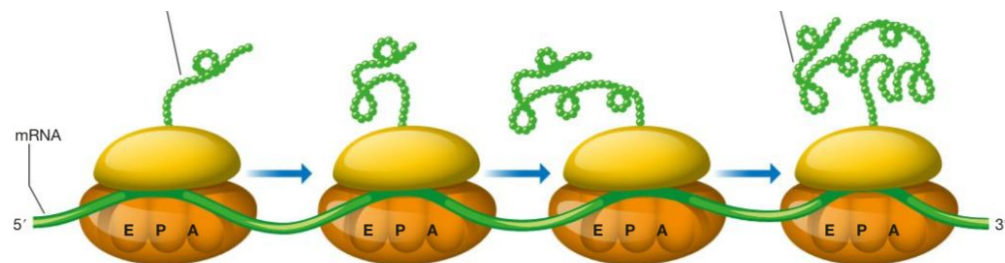


12. Le fasi del processo: la traduzione



Il processo non porta alla formazione di una singola proteina: via via che il ribosoma si sposta sul mRNA, un secondo ribosoma inizia la traduzione e così via.

Polisoma: insieme dei ribosomi che scorrono su un filamento di mRNA



13. Sintesi proteica: analogie e differenze fra i viventi

| | Batteri | Archebatteri | Eucarioti |
|--|--|---|--|
| RNA polimerasi | Un solo tipo. 4 subunità + 1 per riconoscimento promotori | Un solo tipo. 12 subunità | 3 tipi. 12 o più subunità |
| Introni | Assenti | Raramente presenti | Presenti |
| Splicing | Assente | Presente, ma con processo diverso dagli eucarioti | Presenti |
| Capping + PoliA | Assente | | Presente |
| Splicing alternativo | Assente | | Presente. Permette la codifica di proteine diverse da uno stesso gene. |
| Aminoacido di inizio | f - Metionina | | Metionina |
| Sequenza di inizio (prima di AUG) | Shine - Dalgarno: AGGAGG, (riconosciuta da ribosoma 16S) | | Kozak (riconosciuta da ribosoma 40S) |
| mRNA | Policistromico (un filamento porta informazione da geni diversi) | | Monocistromico |
| Tempi e spazi | La traduzione avviene immediatamente dopo la trascrizione, nel citoplasma. | | La traduzione è successiva al processo di maturazione dell'mRNA, e avviene nel nucleo. |

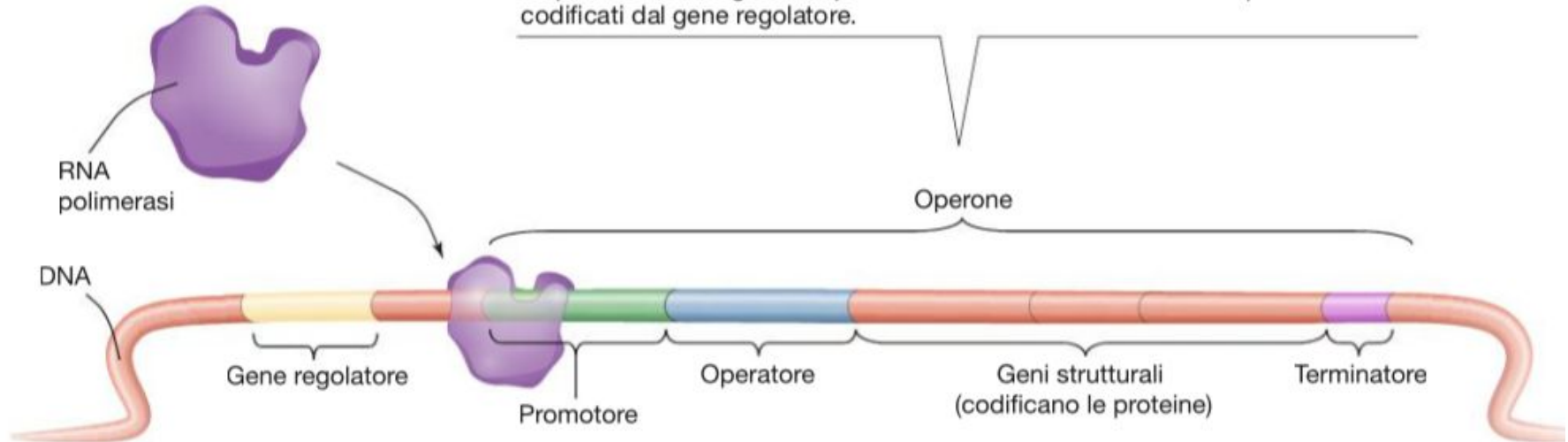
14. La regolazione dell'espressione genica nei procarioti

I geni che codificano per gli enzimi prodotti da una cellula procariote possono essere:

- sempre attivati (geni **costitutivi**, 60-80%)
- regolati (geni **non costitutivi**) attraverso meccanismi di:
 - **Induzione** (prodotti se necessario)
 - **Repressione** (non più prodotti quando non necessario)

14. La regolazione dell'espressione genica nei procarioti

Il promotore, che precede l'operatore, è il punto di attacco dell'RNA polimerasi. L'operatore è il luogo in cui possono attaccarsi l'attivatore o il repressore, codificati dal gene regolatore.



Un **operone** è un sistema costituito da:

- un promotore,
- un operatore,
- uno o più geni strutturali,
- un gene regolatore.

codifica per un

REPRESSORE

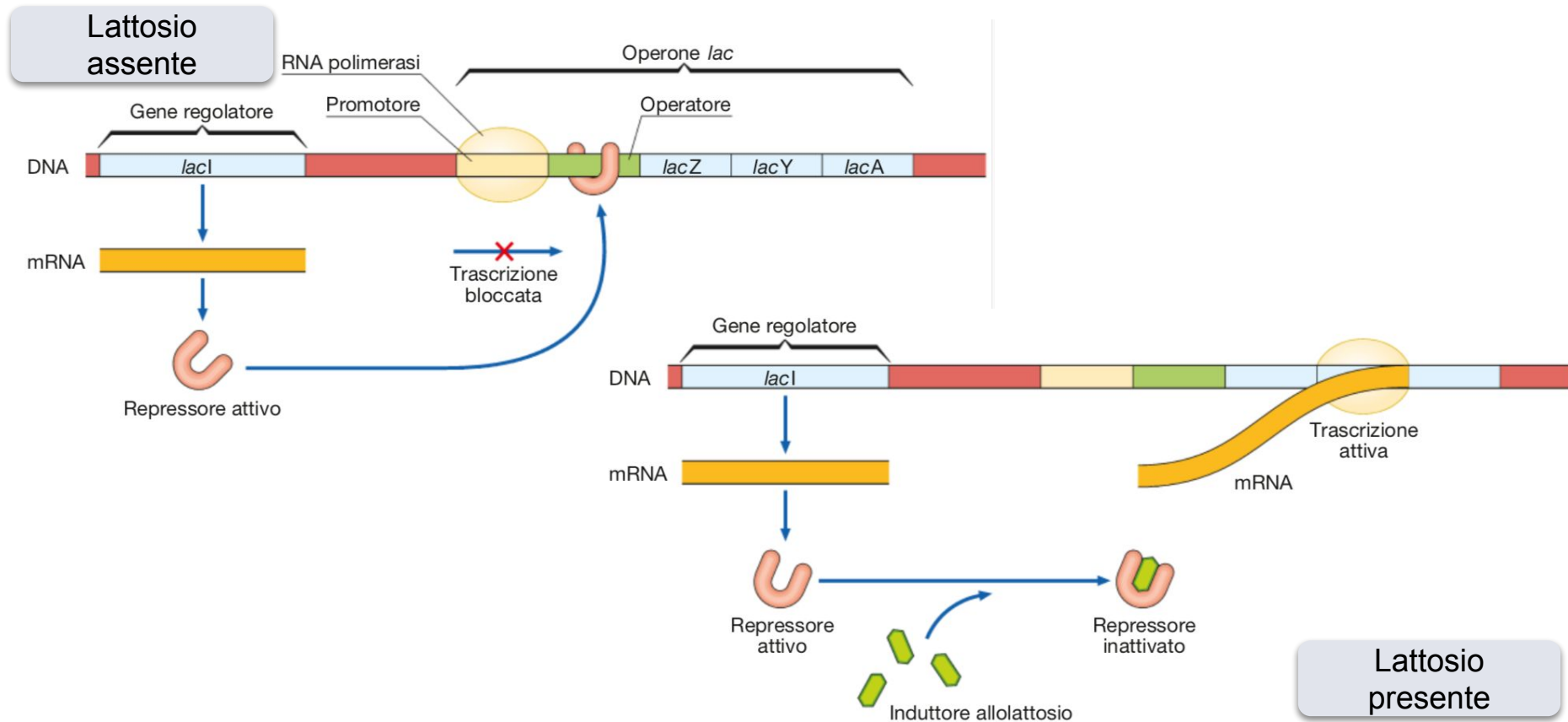
inattivato da un
INDUTTORE (in enzimi
inducibili)

attivato da un
CO-REPRESSORE (in
enzimi reprimibili)

14. La regolazione dell'espressione genica nei procarioti

Operoni inducibili: *lac*

regolano la produzione di enzimi coinvolti nelle vie cataboliche



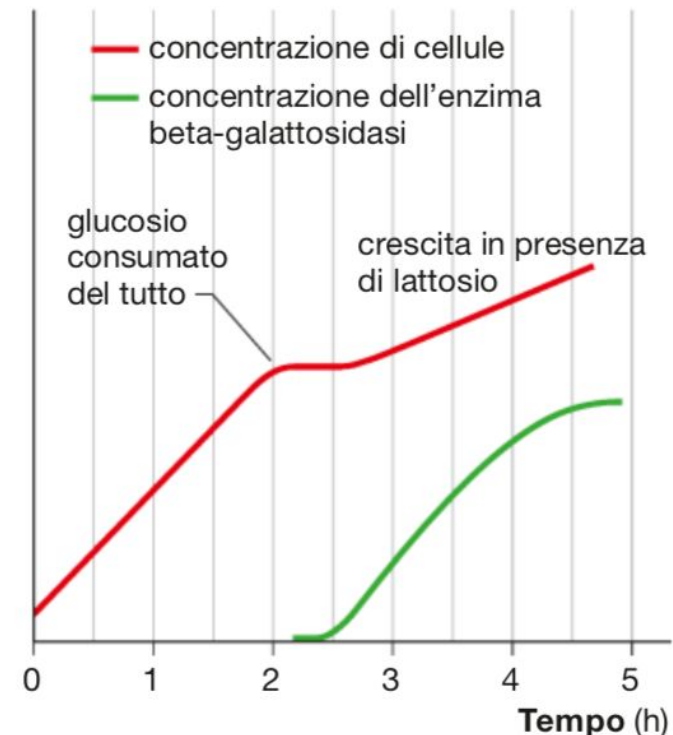
14. La regolazione dell'espressione genica nei procarioti

Andamenti normali e diauxici in *E. coli*

- In un mezzo contenente esclusivamente **glucosio** presenta un periodo di latenza nella crescita molto breve.
- In un mezzo contenente esclusivamente **lattosio** presenta un periodo di latenza nella crescita più lungo.
- In un mezzo misto un periodo di latenza separa due fasi di crescita esponenziale (*diauxica*).

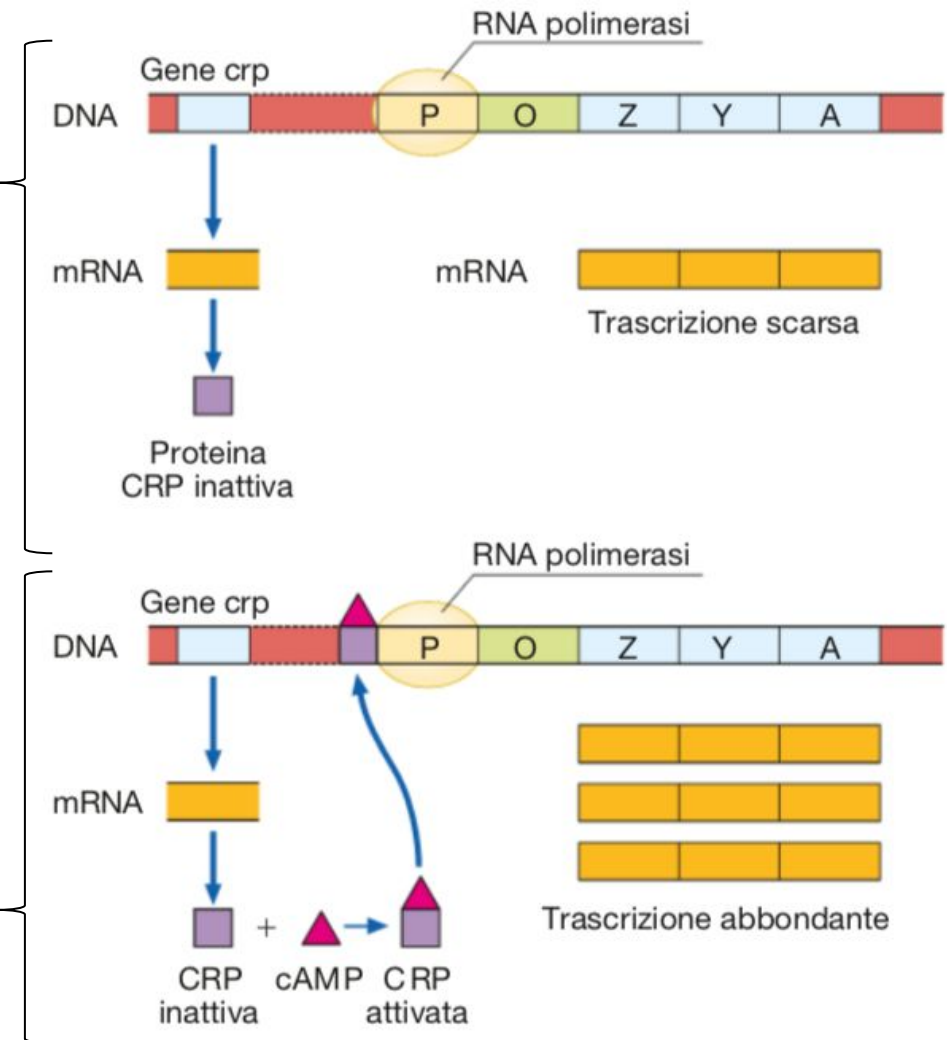
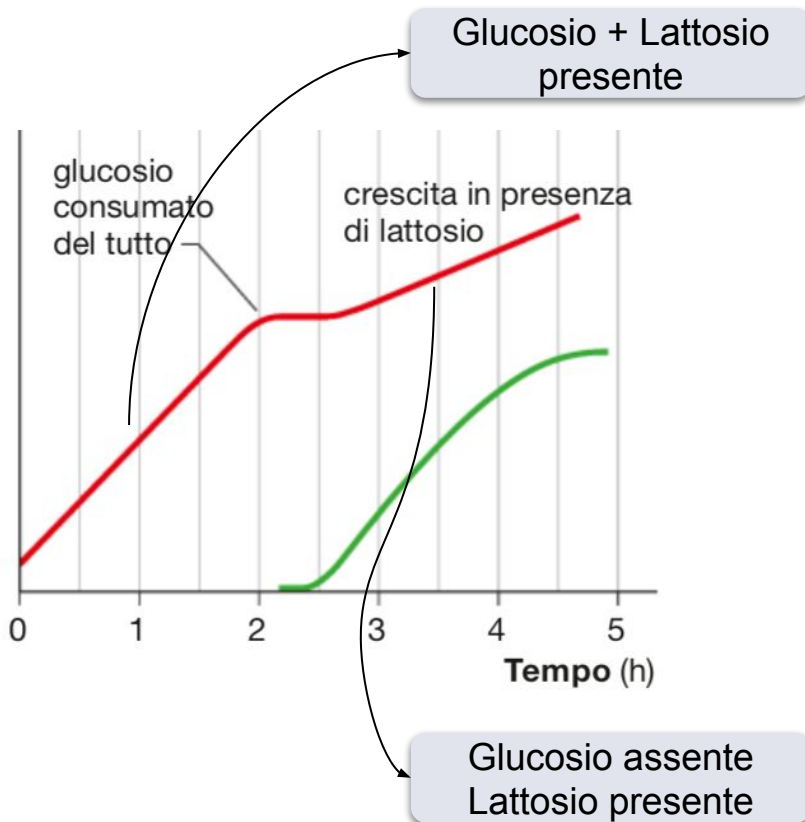
Combinazioni di zuccheri che danno luogo ad andamenti normali e diauxici di crescita in *Escherichia coli*

| Zuccheri non diauxici con il glucosio | Zuccheri diauxici con il glucosio |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| Glucosio | Arabinosio |
| Mannosio | Xilosio |
| Fruttosio | Maltosio |
| Mannitolo | Lattosio |



14. La regolazione dell'espressione genica nei procarioti

Repressione da catabolita

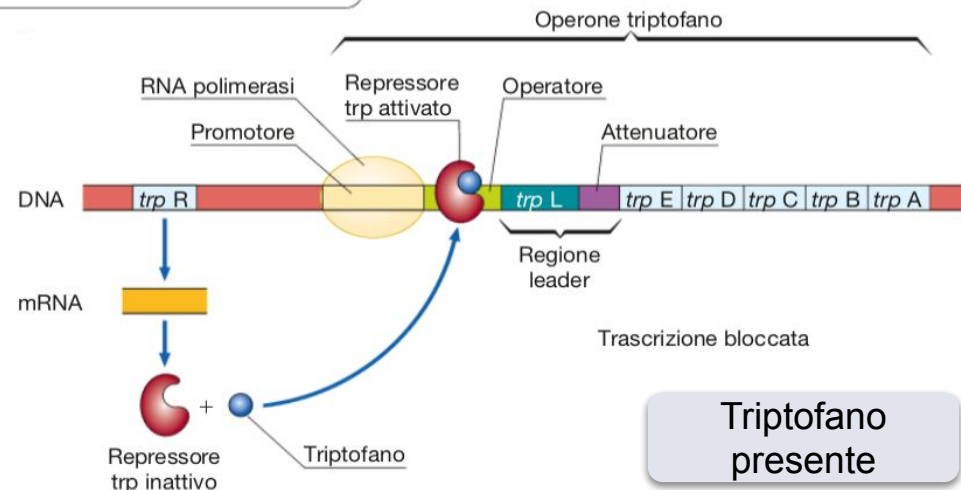
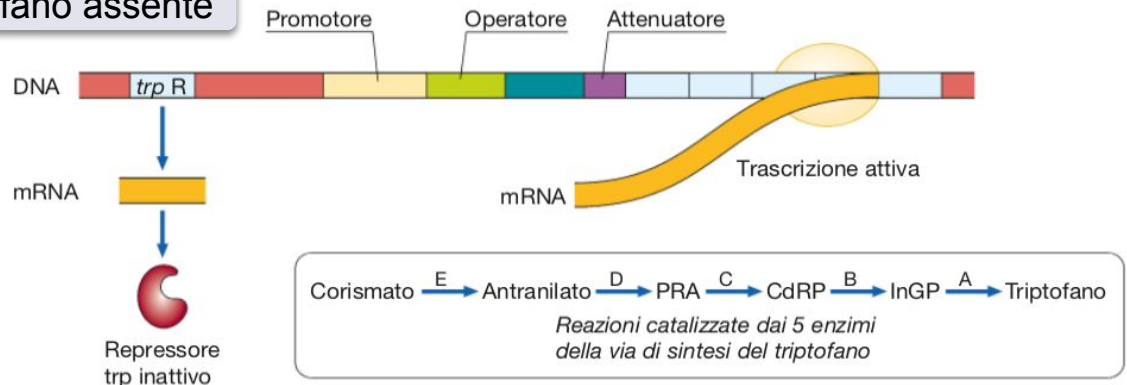


14. La regolazione dell'espressione genica nei procarioti

Operoni reprimibili: *trp*

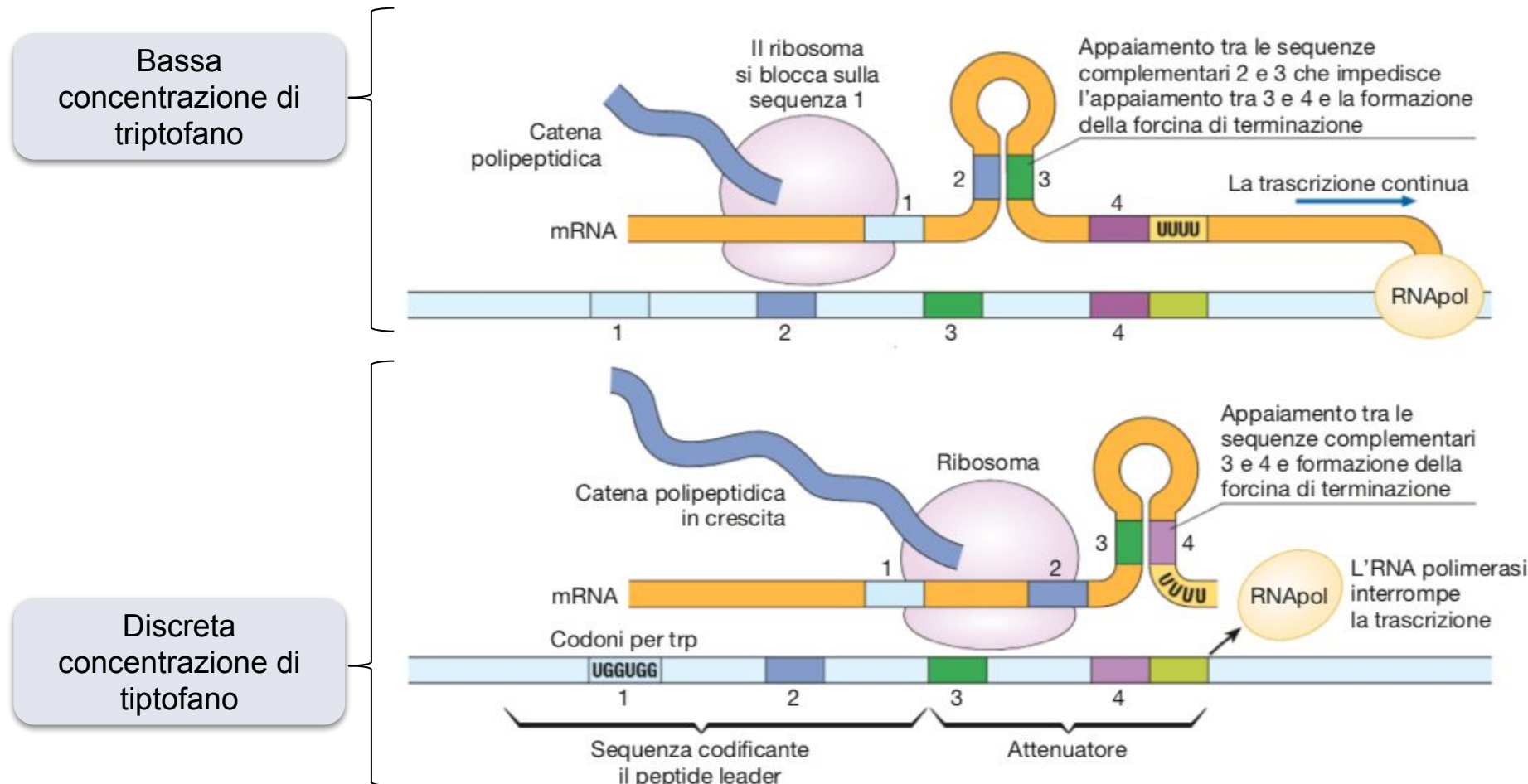
regolano la produzione di enzimi coinvolti nelle vie anaboliche

Triptofano assente

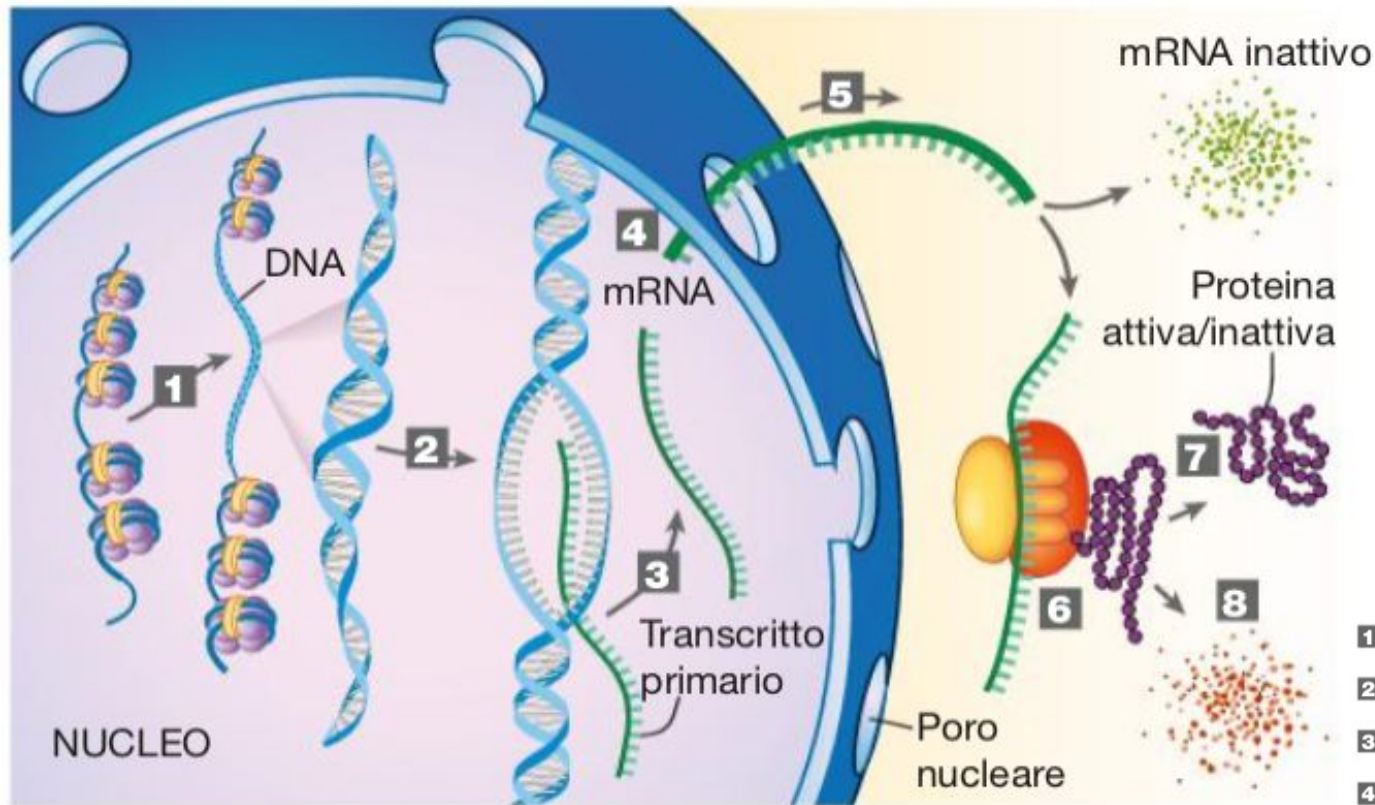


14. La regolazione dell'espressione genica nei procarioti

Controllo di attenuazione



15. La regolazione dell'espressione genica negli eucarioti



- 1** Rimodellamento della cromatina
- 2** Controllo trascrizione
- 3** Controllo della maturazione
- 4** Controllo del trasporto
- 5** Controllo della stabilità dell'mRNA
- 6** Controllo della traduzione dell'mRNA
- 7** Controllo post-traduzionale dell'attività proteica
- 8** Degradazione della proteina