

ZANICHELLI

Simonetta Klein

Il racconto delle scienze naturali

ZANICHELLI

Capitolo 4

La biologia molecolare e le biotecnologie

ZANICHELLI

Sommario

1. Lo studio delle molecole dell'ereditarietà
2. La replicazione del DNA
3. La sintesi delle proteine
4. La regolazione dell'espressione genica
5. La variabilità genetica nei procarioti e negli eucarioti
6. Le biotecnologie
7. Alcune applicazioni delle biotecnologie

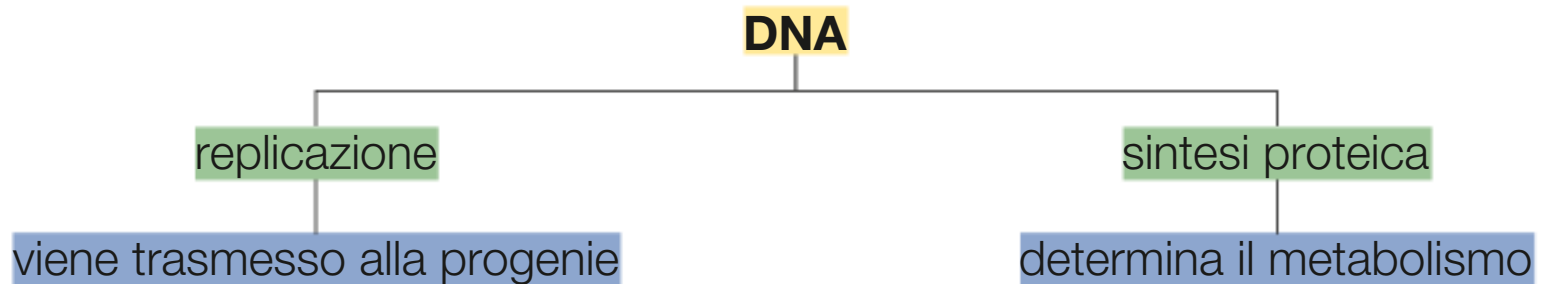
Lo studio delle molecole dell'ereditarietà

Le relazioni che esistono fra le grandi biomolecole (DNA e RNA) e il metabolismo sono alla base dell'**eredità biologica** e sono l'oggetto di studio del ramo della biologia chiamato **biologia molecolare**.

Lo studio delle molecole dell'ereditarietà

Le **funzioni** svolte dal DNA sono molte, ma possono essere sintetizzate in due attività principali:

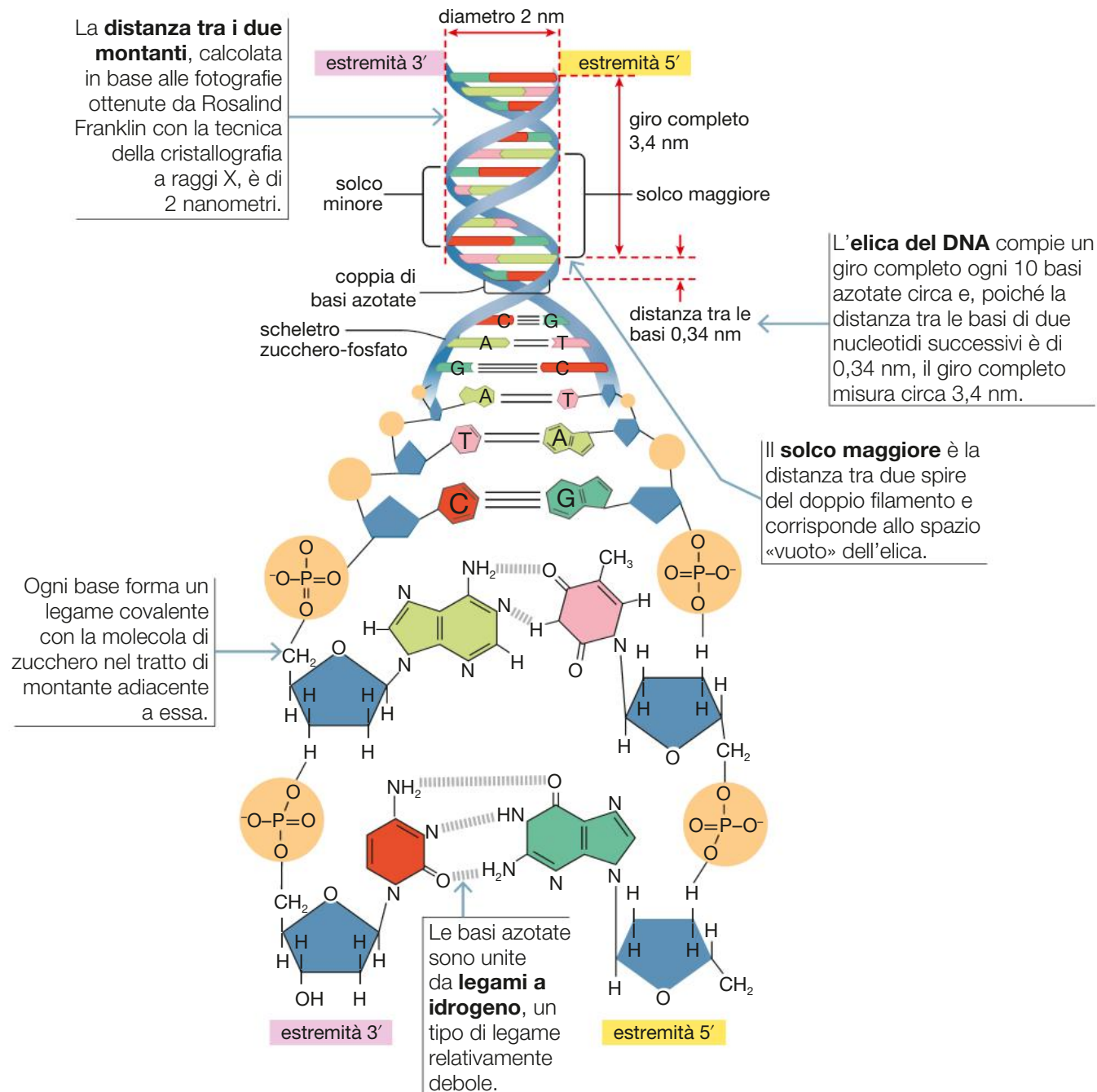
- il DNA presiede al **metabolismo di ogni cellula** perché determina, tramite l'RNA, la sintesi delle proteine;
- Il DNA è la **molecola dell'eredità**, in quanto può duplicarsi per essere trasmesso a tutti i discendenti di generazione in generazione.



Lo studio delle molecole dell'ereditarietà

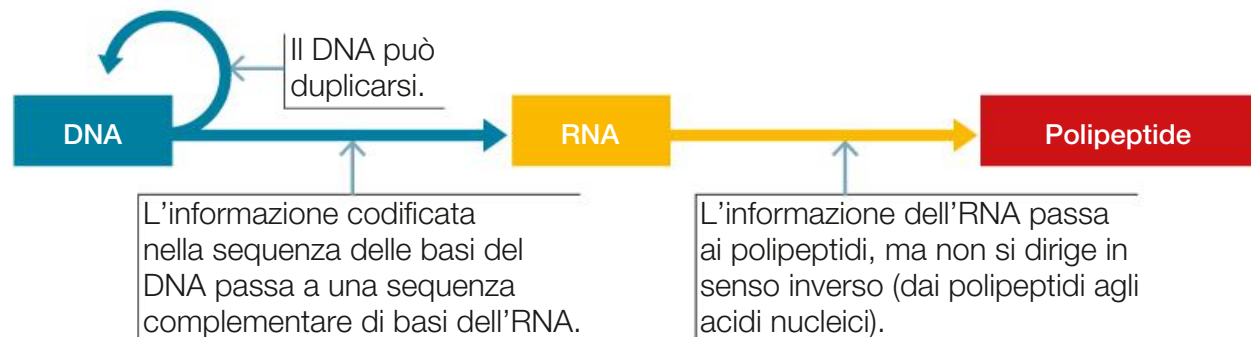
- Dal punto di vista chimico, il DNA e l'RNA sono **acidi nucleici**, polimeri formati da unità di base, i **nucleotidi**.
- I nucleotidi sono uniti da legami fosfodiesterici.
- Nel filamento di DNA si distinguono l'estremità 3', che presenta un —OH libero in 3', e l'estremità 5', che presenta un gruppo fosfato libero in 5'.
- Due filamenti di DNA si dispongono con orientamento antiparallelo: **5' → 3'** l'uno e **3' → 5'** l'altro
- I due filamenti si avvolgono intorno a un asse comune formando una **doppia elica**.
- L'**appaiamento tra le basi azotate** consente la regolarità del diametro dell'elica del DNA.

La **distanza tra i due montanti**, calcolata in base alle fotografie ottenute da Rosalind Franklin con la tecnica della cristallografia a raggi X, è di 2 nanometri.



Lo studio delle molecole dell'ereditarietà

- La funzione del DNA è quella di **conservare le informazioni genetiche** ereditarie in forma codificata.
- L'informazione genetica parte dal DNA, passa per l'RNA ed è convertita in polipeptidi.



- L'espressione genica è quindi costituita da due processi: **trascrizione** (sintesi di RNA da uno stampo di DNA) e **traduzione** (sintesi di un polipeptide da un RNA codificante).

Lo studio delle molecole dell'ereditarietà

- L'**RNA** o acido ribonucleico è un polimero lineare di ribonucleotidi e ha una struttura a singolo filamento.
- L'RNA può essere **codificante** e **non codificante**: il primo contiene le informazioni per sintetizzare la sequenza amminoacidica di una proteina, mentre il secondo svolge altre funzioni.

Tra gli **RNA codificanti** rientrano:

- l'**RNA messaggero** o **mRNA**, che fornisce ai ribosomi le informazioni per la sintesi delle proteine;
- il **genoma dei virus a RNA**, che codifica le proteine e contemporaneamente conserva e trasmette le informazioni genetiche al posto del DNA.

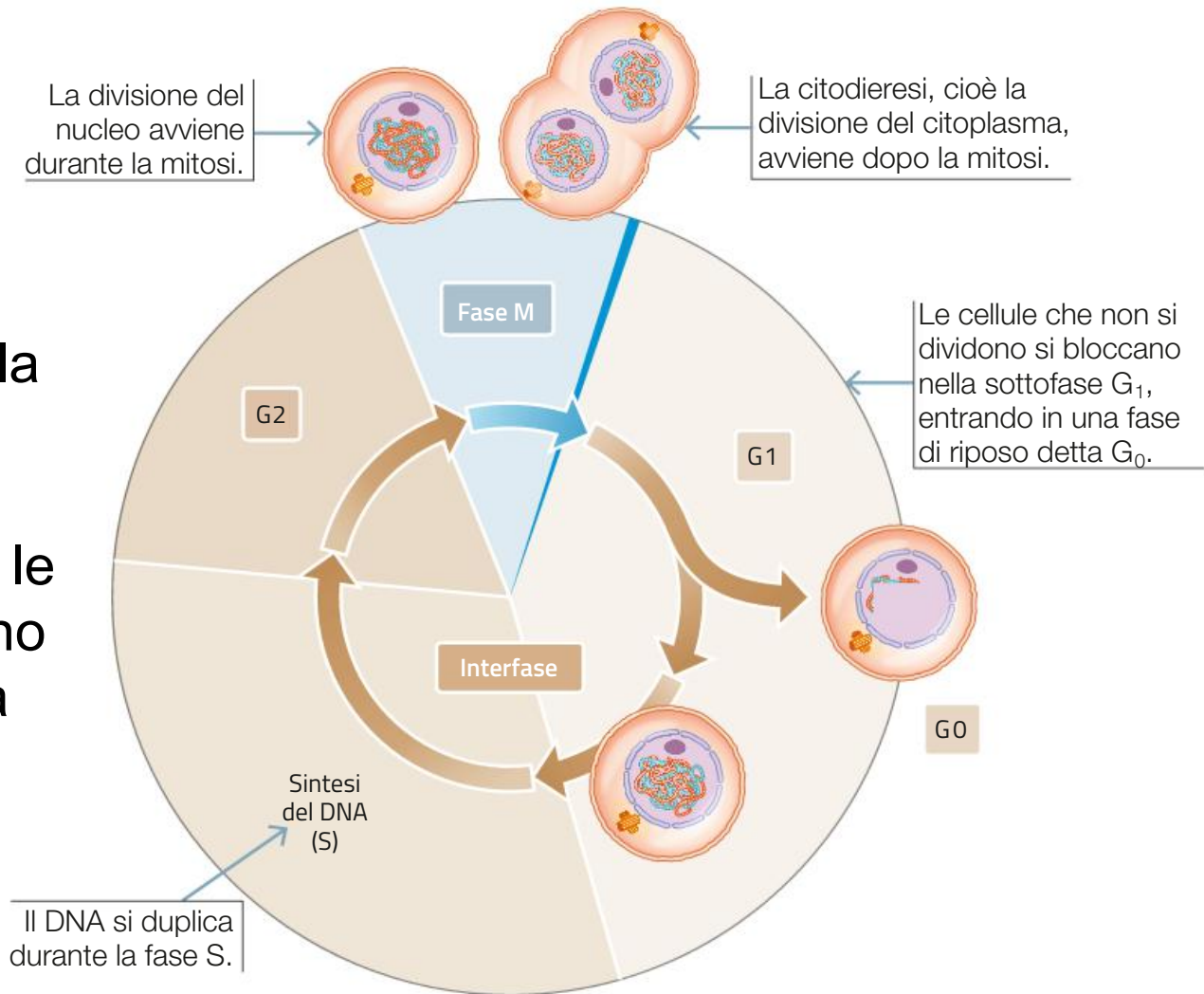
Lo studio delle molecole dell'ereditarietà

Gli RNA non codificanti possono avere ruoli biologici diversi:

- **RNA di trasporto**, o **tRNA**, che lega gli amminoacidi nel citosol e li trasporta al ribosoma per la sintesi proteica;
- **RNA ribosomiale**, o **rRNA**, che è associato alle proteine per formare i ribosomi;
- **microRNA**, o **miRNA**, un gruppo di RNA coinvolti nella regolazione dell'espressione genica;
- **ribozimi**, piccoli RNA con funzione di catalizzatori.

La replicazione del DNA

Ogni volta che una cellula si divide, il genoma della cellula madre viene trasmesso alla progenie, cosicché le cellule figlie ricevano una copia ciascuna del DNA parentale.

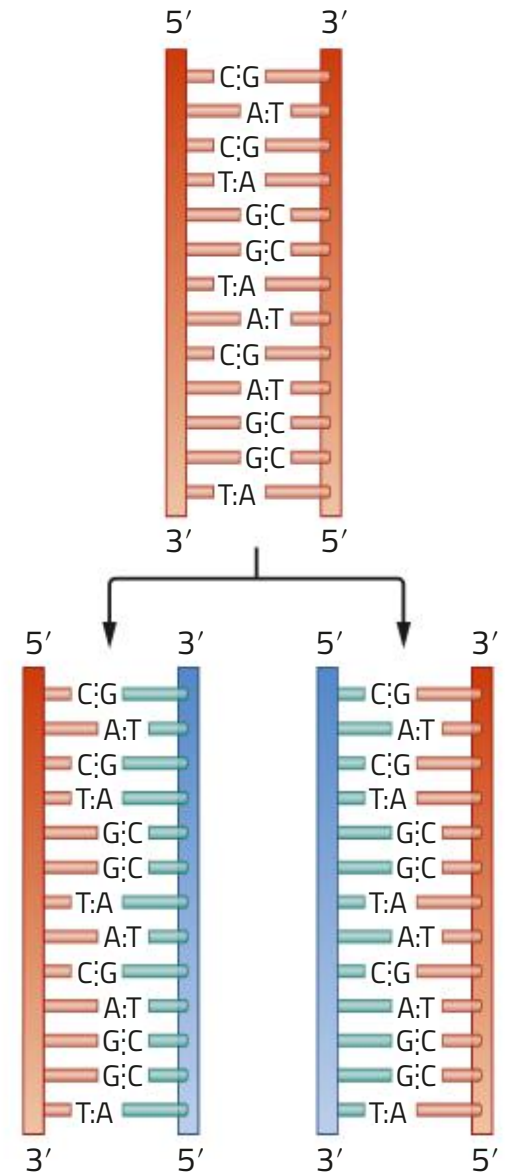


La replicazione del DNA

La replicazione del DNA avviene secondo la **legge di appaiamento delle basi**:

- le due catene appaiate si staccano l'una dall'altra con la rottura dei legami a idrogeno fra le basi azotate;
- ciascuna catena fa da stampo, per cui gli enzimi possono unire i nucleotidi liberi che si trovano nel citosol e formare una nuova catena complementare.

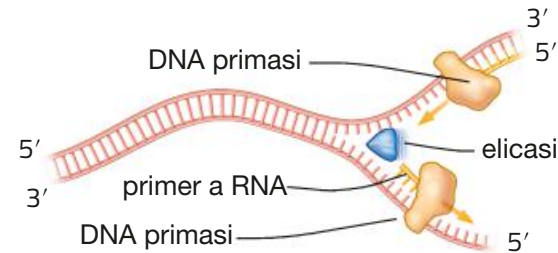
Al termine della replicazione le due copie del DNA sono formate da una catena parentale (che ha avuto il ruolo di stampo) e da una di nuova sintesi.



La replicazione del DNA

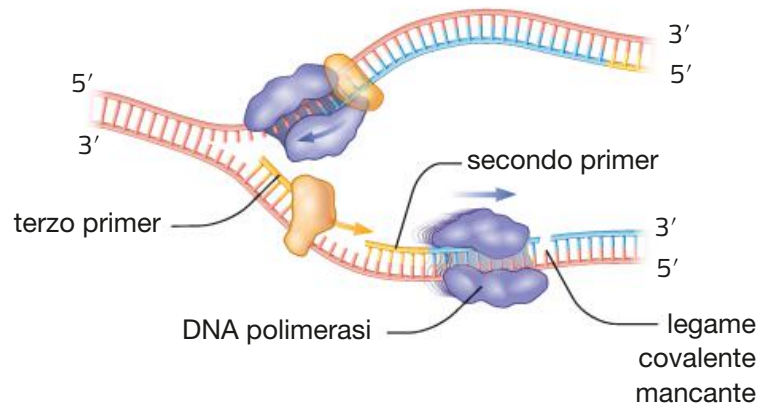
Apertura della bolla di replicazione e sintesi dei primer

La **DNA elicasi** catalizza la separazione delle catene. Questo enzima sfrutta l'energia di una molecola di ATP per scindere i legami a idrogeno fra le basi azotate della doppia elica. Mano a mano che l'elicasi avanza, la forcetta si apre, mettendo a nudo i due filamenti singoli. Su ciascun filamento agisce l'enzima **primasi**, che sintetizza un *primer* a RNA sul quale si lega l'enzima DNA polimerasi.



Sintesi del DNA

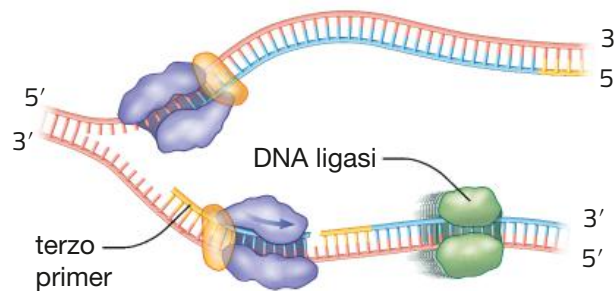
L'enzima **DNA polimerasi** catalizza l'appaiamento di ciascun nucleotide al proprio complementare nella catena stampo e forma il legame fosfodiesterico che unisce tra loro i nucleotidi. Sul *filamento veloce* l'allungamento avviene con continuità perché la DNA polimerasi procede lungo la catena seguendo senza interruzione l'avanzata dell'enzima elicasi; sul *filamento lento* l'allungamento avviene in modo discontinuo perché mentre l'elicasi avanza, la DNA polimerasi procede in senso opposto e sintetizza piccoli tratti chiamati *frammenti di Okazaki*.



La replicazione del DNA

La fine della replicazione

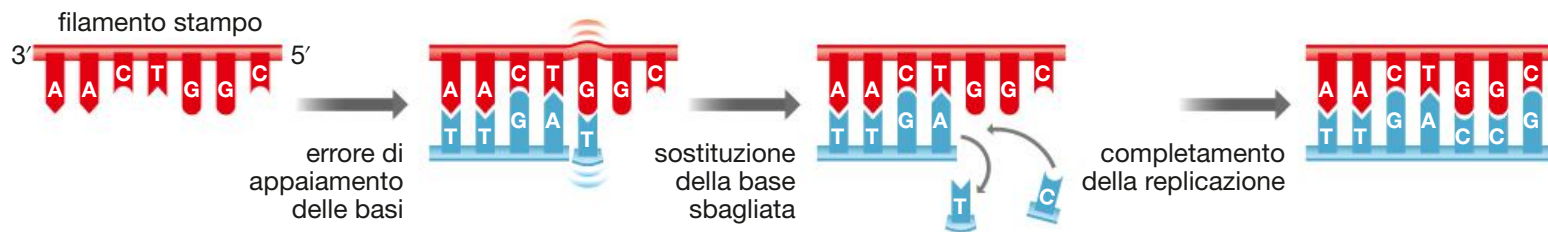
Al termine della replicazione la doppia elica dev'essere completa, non frammentata, pertanto,



i primer sono rimossi e sostituiti con un tratto di DNA. Infine interviene l'enzima **DNA ligasi** che lega i frammenti, catalizzando la sintesi del legame fosfodiestereico. Per fornire energia al processo, viene idrolizzata una molecola di ATP per ogni legame formato tra i nucleotidi.

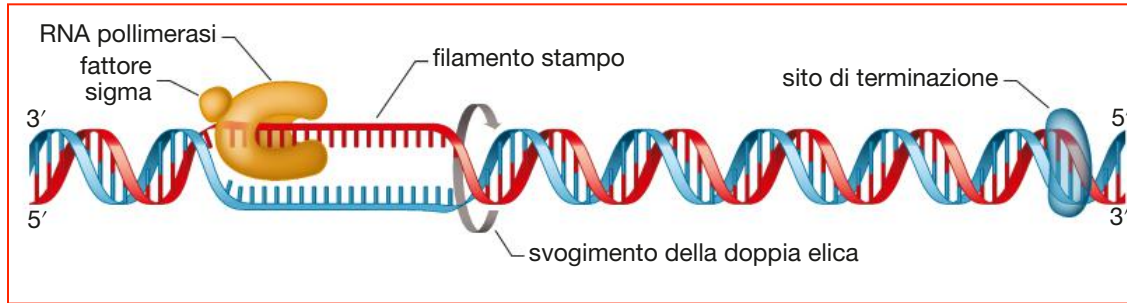
Correzione degli errori

La DNA polimerasi sintetizza il nuovo filamento in direzione $5' \rightarrow 3'$ (il nucleotide all'estremità $5'$ è il primo a essere inserito e quello all'estremità $3'$ è l'ultimo). Inoltre, possiede anche attività *esonucleasica* in direzione $3' \rightarrow 5'$: ciò significa che in caso di inserimento del nucleotide sbagliato, può rimuoverlo e sostituirlo: questo processo è noto come *proofreading* che, in inglese, significa correzione di bozza.

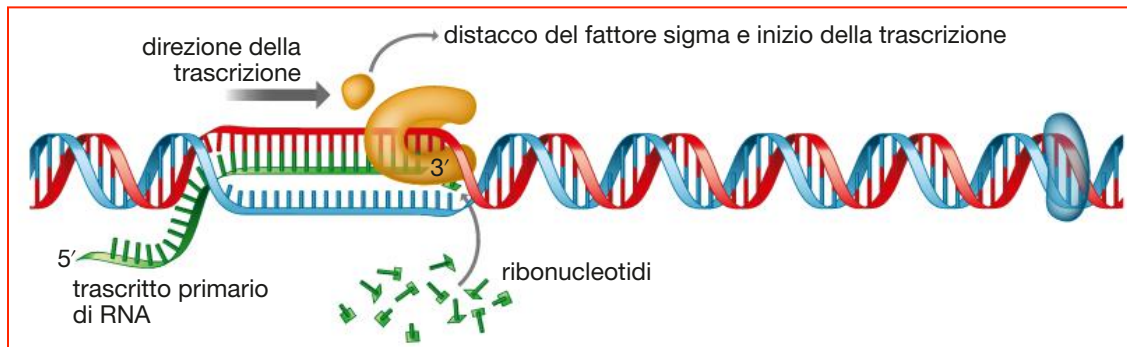


La sintesi delle proteine

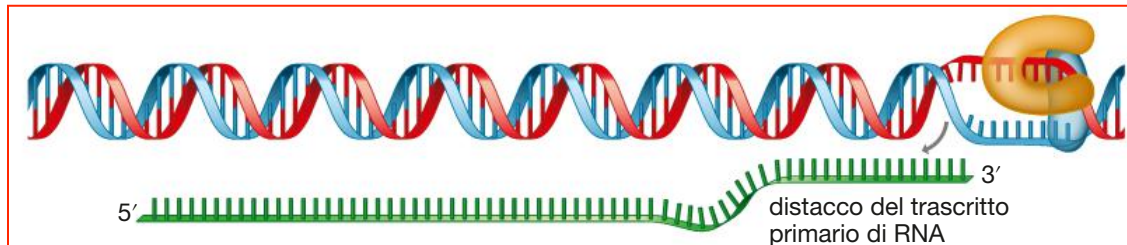
Il processo di sintesi proteica inizia con la **trascrizione**.



Fase di inizio



Fase di allungamento

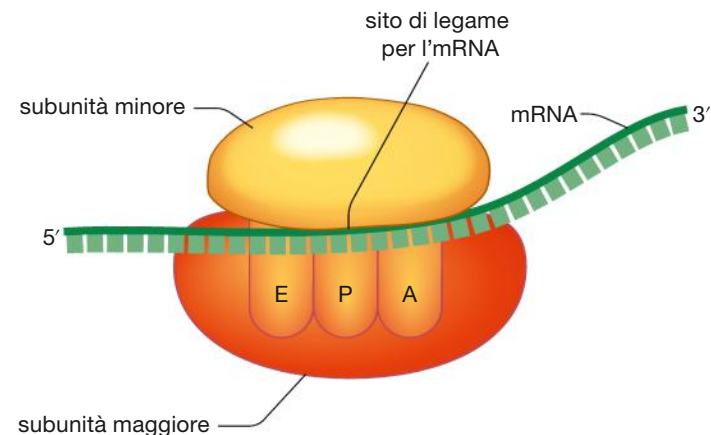


Fase di terminazione

La sintesi delle proteine

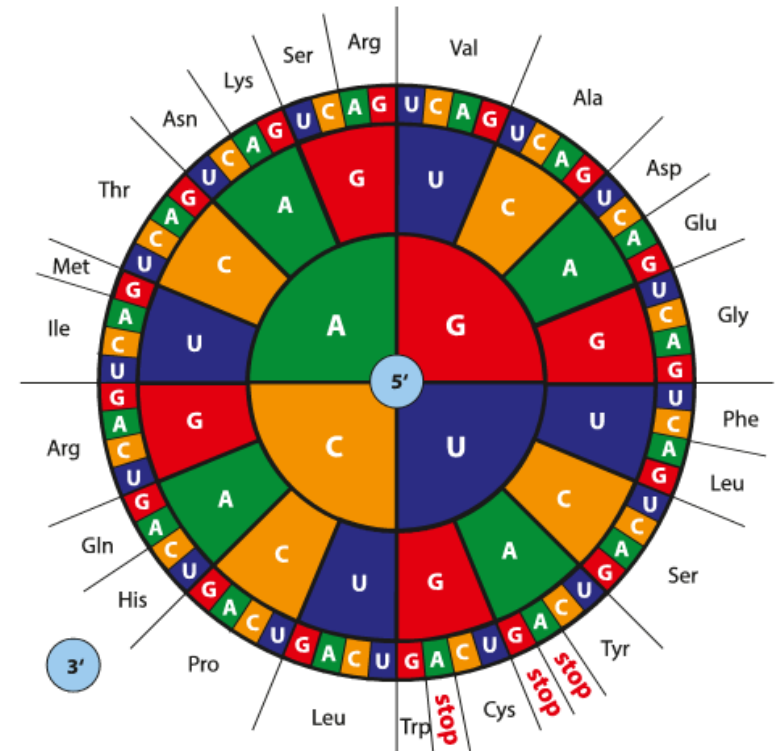
I ribosomi

- Tutte le proteine di cui la cellula dispone sono sintetizzate nei **ribosomi** grazie alle istruzioni presenti nel DNA e veicolate dall'mRNA.
- **Nei procarioti**, i ribosomi sono dispersi nel citosol, mentre **negli eucarioti** possono essere liberi nel citosol o associati al reticolo endoplasmatico ruvido (RER).
- La **struttura del ribosoma** comprende due subunità: la *maggiore* e la *minore*.
- Nei ribosomi avviene la fase di traduzione.



La sintesi delle proteine

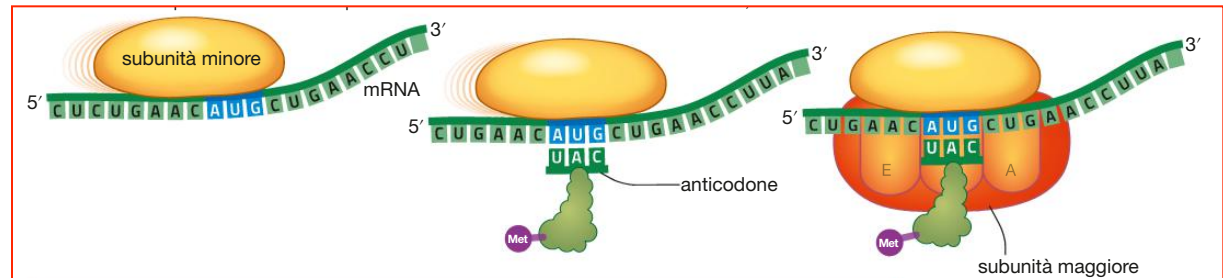
- La **traduzione** è la seconda fase della sintesi proteica. In questa fase, la sequenza nucleotidica dell'mRNA è convertita nella sequenza amminoacidica del polipeptide corrispondente.
- Ogni tripletta nell'mRNA (detta **codone**) corrisponde a un solo amminoacido nella proteina (**regola di conversione**).
- Il complesso di regole di corrispondenza fra codoni e rispettivi amminoacidi è chiamato **codice genetico**, identico in tutti gli organismi viventi.
- Il codice genetico può essere «decodificato» grazie a uno schema che va letto dal cerchio più interno a quello più esterno.



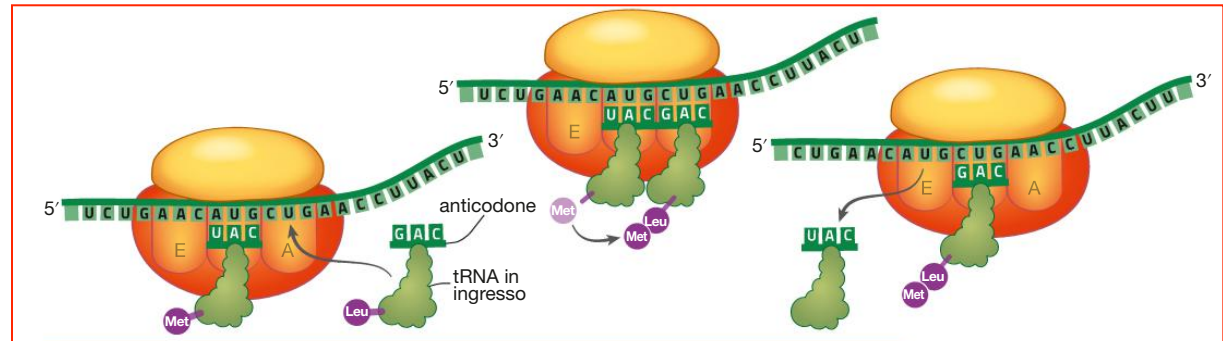
La sintesi delle proteine

Le fasi della **traduzione**.

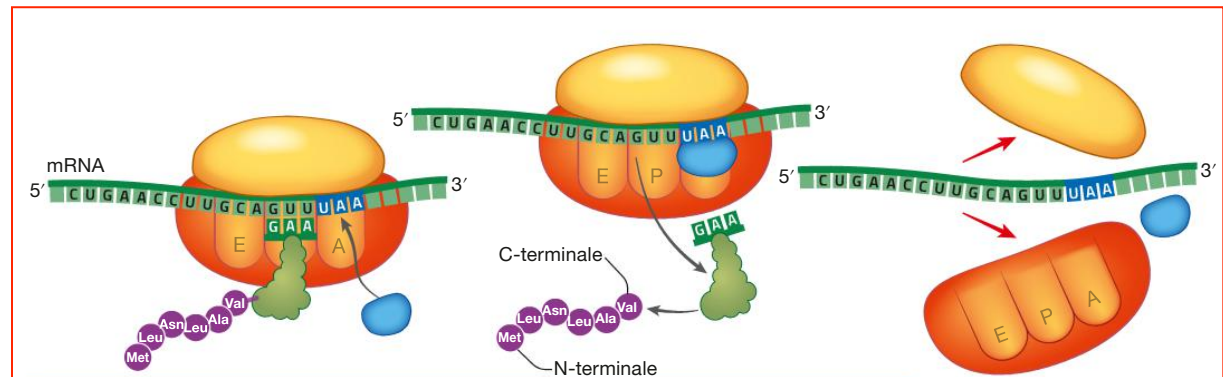
Fase di inizio



Fase di allungamento



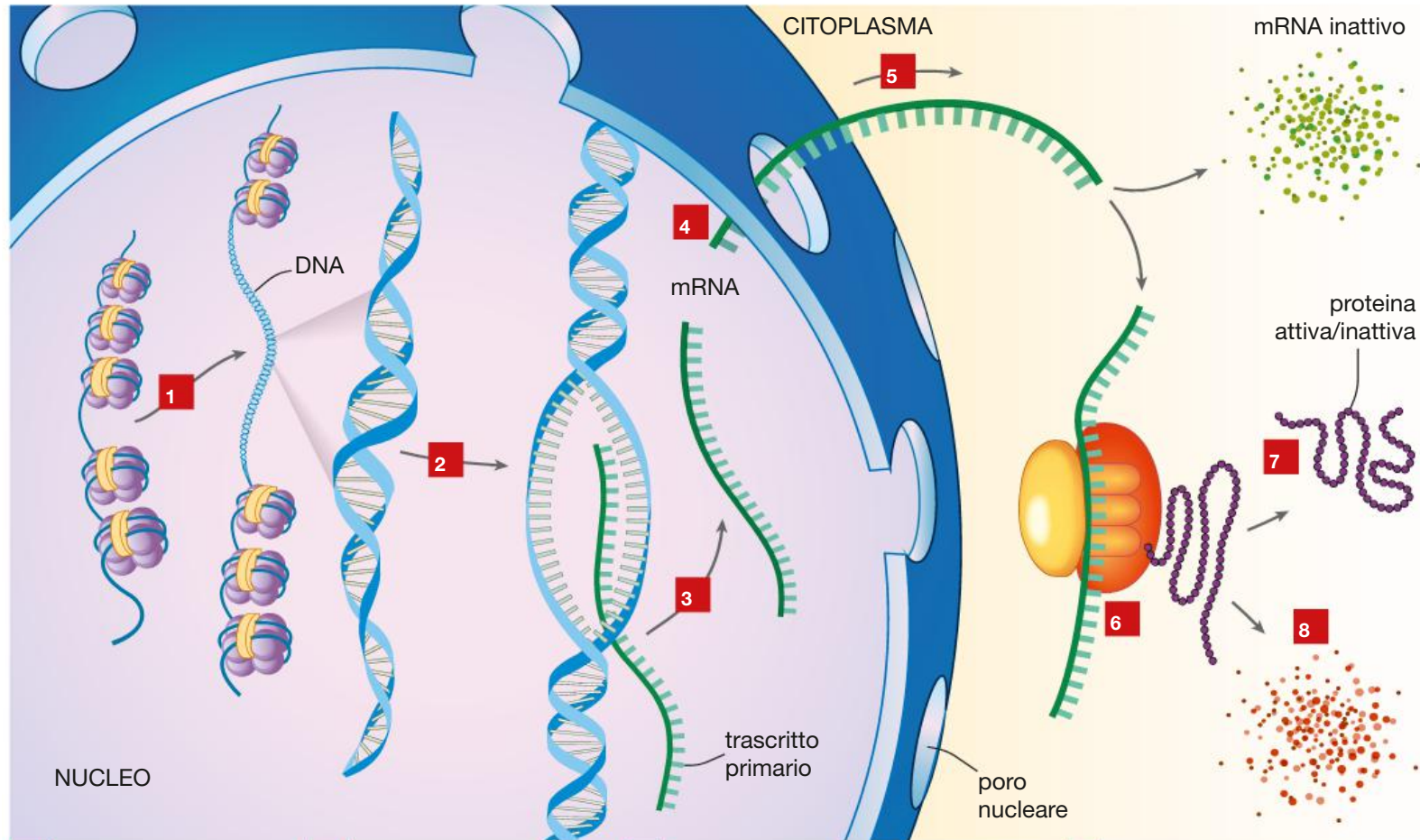
Fase di terminazione



La regolazione dell'espressione genica

- **Regolazione dell'espressione genica:** in una cellula, la sintesi proteica inizia solo quando una proteina è necessaria all'organismo e viene interrotta quando la proteina è in eccesso o inutile.
- **Nei procarioti,** il DNA si trova insieme all'mRNA e ai ribosomi nel citoplasma: trascrizione e traduzione sono contemporanee e i ribosomi scorrono sull'mRNA mentre il messaggero viene sintetizzato.
- **Negli eucarioti,** la regolazione dell'espressione genica può verificarsi a più livelli rispetto ai procarioti.

La regolazione dell'espressione genica



1 Rimodellamento della cromatina

3 Controllo della maturazione

5 Controllo della stabilità dell'mRNA

7 Controllo post-traduzionale dell'attività proteica

2 Controllo trascrizionale

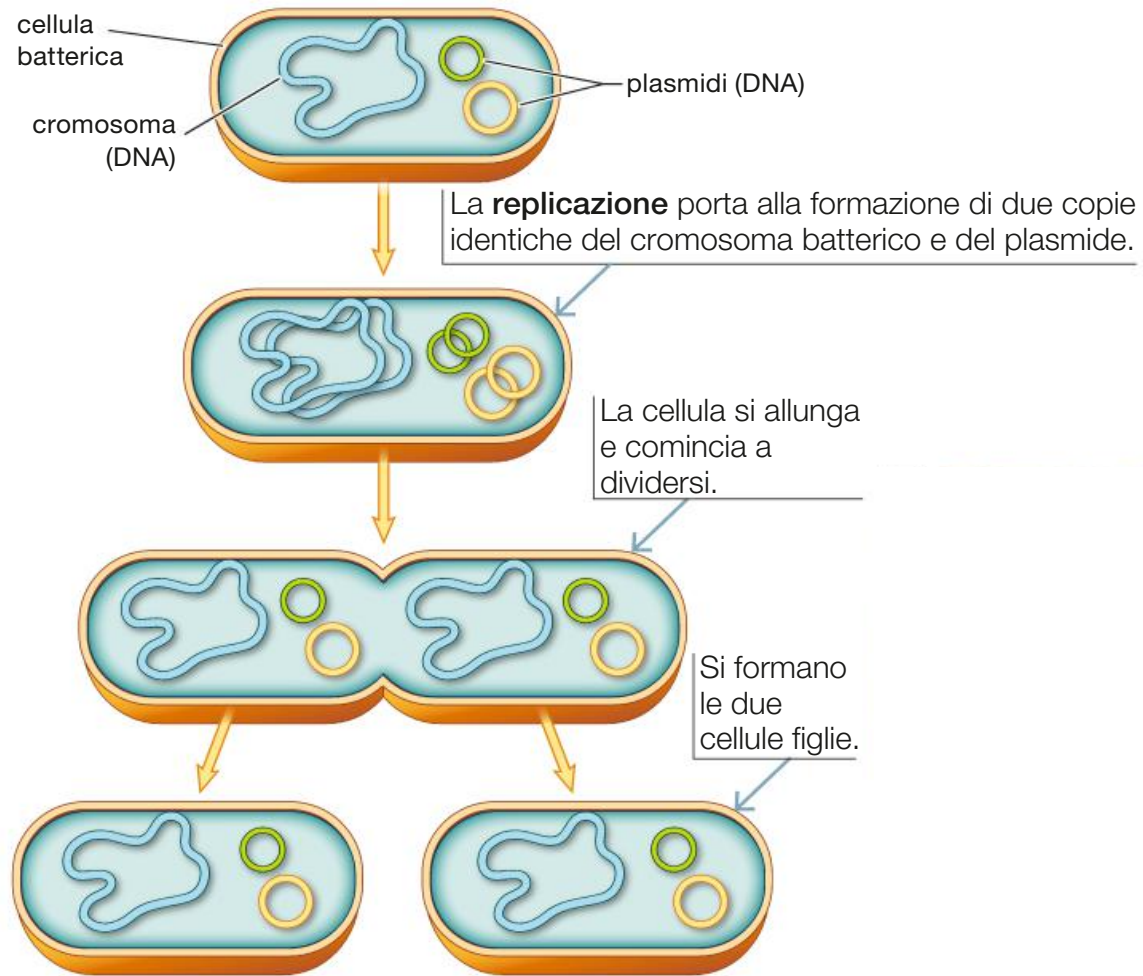
4 Controllo del trasporto

6 Controllo della traduzione dell'mRNA

8 Degradazione della proteina

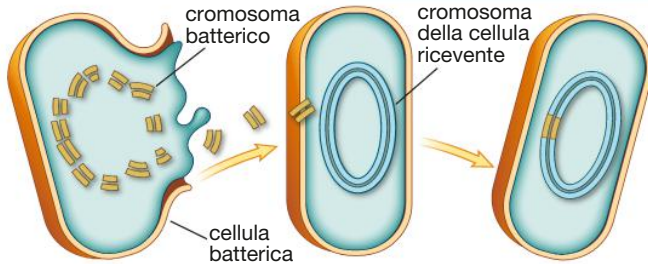
La variabilità genetica nei procarioti e negli eucarioti

I **procarioti** si riproducono per **scissione binaria**, una *modalità asessuata* che consiste: nella replicazione del DNA; nell'allungamento della membrana cellulare; nella formazione di una strozzatura che divide la cellula madre in due cellule figlie (dette *cloni* perché geneticamente identiche).

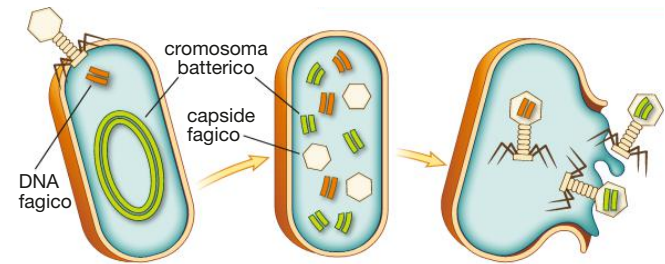


La variabilità genetica nei procarioti e negli eucarioti

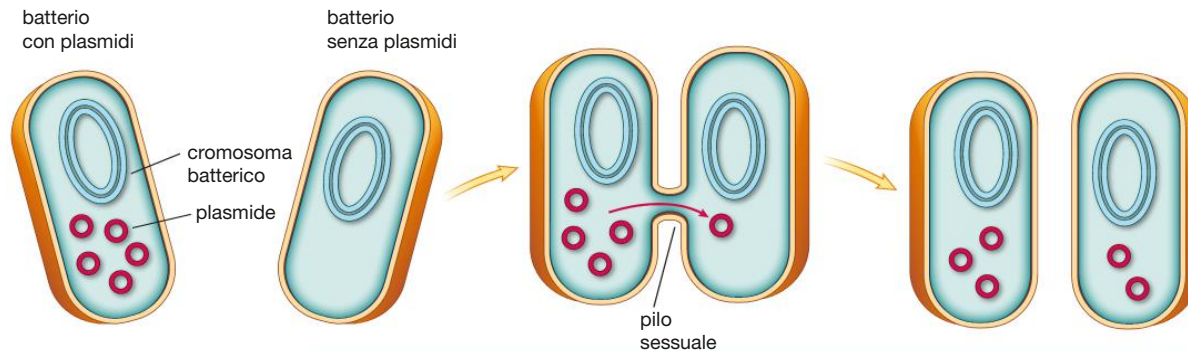
I batteri ottengono la **resistenza a un antibiotico** o la **capacità di produrre nuove sostanze** con tre meccanismi.



Trasformazione batterica



Trasduzione batterica

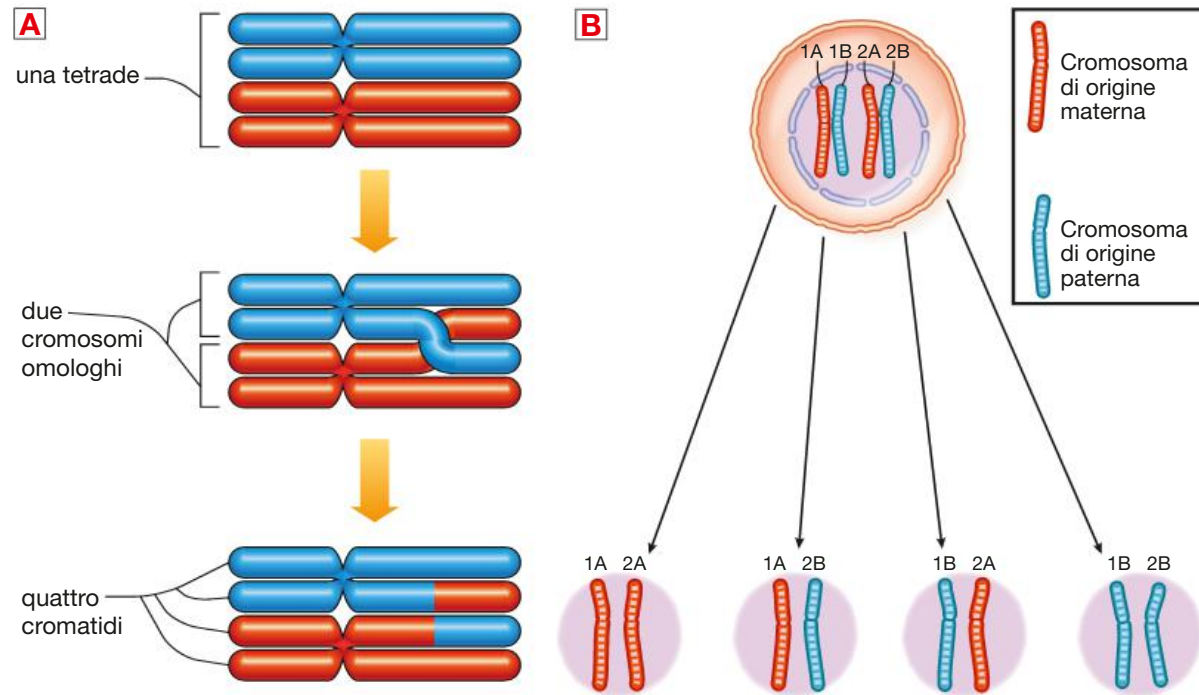


Coniugazione batterica

La variabilità genetica nei procarioti e negli eucarioti

- La **riproduzione asessuata** negli eucarioti si basa sulla mitosi e consente la colonizzazione rapida di un ambiente.
- La **riproduzione sessuata**, invece, aumenta la variabilità all'interno della specie incrementando le probabilità che almeno parte della popolazione sopravviva a eventuali condizioni avverse.
- La riproduzione sessuata si basa su cellule aploidi, i **gameti**, che derivano da cellule progenitrici diploidi, grazie al processo di **meiosi**.
- Durante il processo di meiosi, il **crossing over** e l'**assortimento indipendente** rimescolano l'assetto del DNA e garantiscono così un aumento della **variabilità genetica**.

La variabilità genetica nei procarioti e negli eucarioti



- A.** Il **crossing-over** è uno scambio di materiale genetico tra due cromosomi omologhi.
- B.** Con l'**assortimento indipendente** ciascun gamete riceve soltanto uno dei cromosomi omologhi di ciascuna coppia assortiti in modo casuale.

La variabilità genetica nei procarioti e negli eucarioti

Esistono due modalità di variabilità genetica comuni a procarioti ed eucarioti: la **trasposizione** e le **mutazioni**.

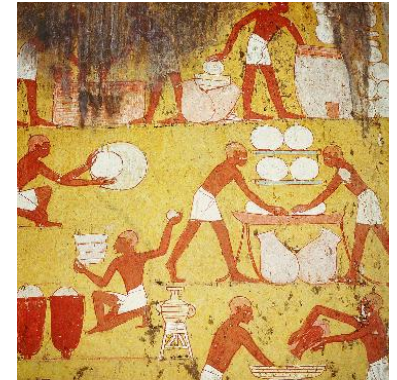
I **trasposoni** sono sequenze di DNA capaci di spostarsi nel genoma attuando una **ricombinazione genetica** mediante un meccanismo di «taglia e incolla» simile a quello del crossing-over meiotico. Questi tratti di DNA si inseriscono in punti casuali del genoma.

Le **mutazioni** sono variazioni stabili ed ereditabili della struttura del materiale genetico (DNA e RNA). Una mutazione può essere *genetica* (interessa un singolo gene) o *genomica* (interessa il cariotipo dell'organismo).

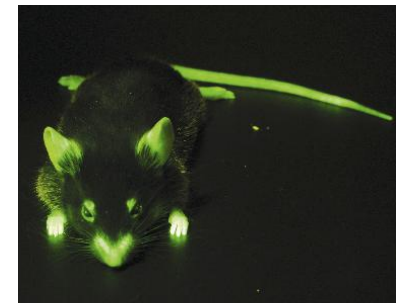
Le biotecnologie

Le **biotecnologie** sono tutte le tecniche che usano organismi viventi o loro parti per la produzione di beni (alimenti, farmaci ecc.) e servizi (diagnostica, medicina forense ecc.).

Le **biotecnologie tradizionali** consistono nell'utilizzo di esseri viventi selezionati in base al **fenotipo**.

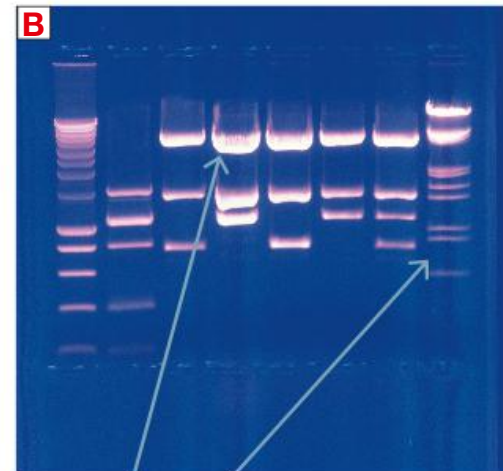
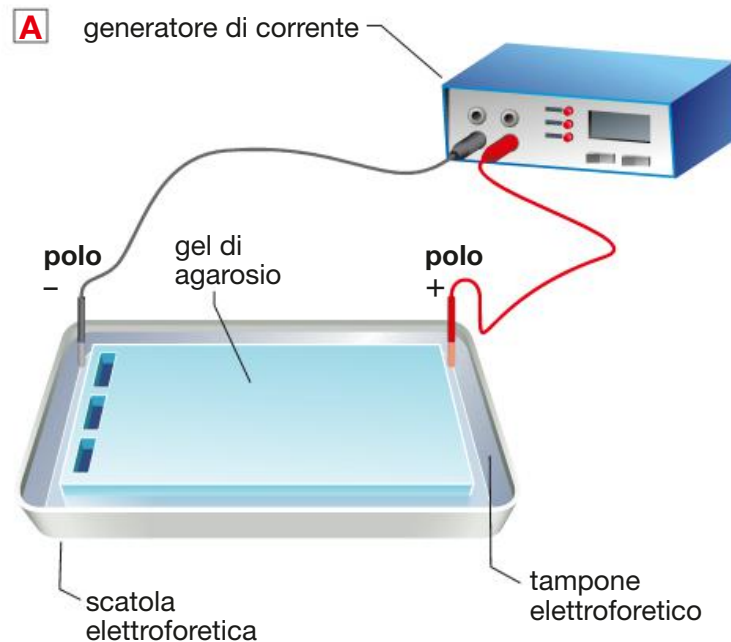


Le **biotecnologie moderne** consistono nell'uso di organismi viventi, come colture cellulari, o nell'utilizzo di proteine; in tal caso la scelta degli esseri viventi non è sulla base del fenotipo ma del loro **genotipo**.



Le biotecnologie

L'elettroforesi su gel. È una tecnica per isolare le biomolecole, che permette di separare frammenti di DNA o proteine in base alle loro dimensioni, sfruttando un campo elettrico.

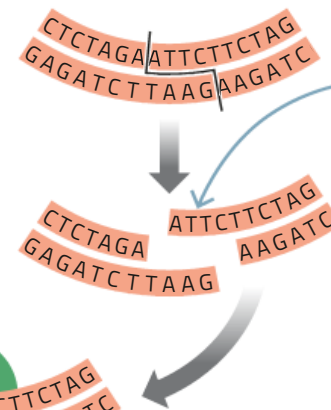
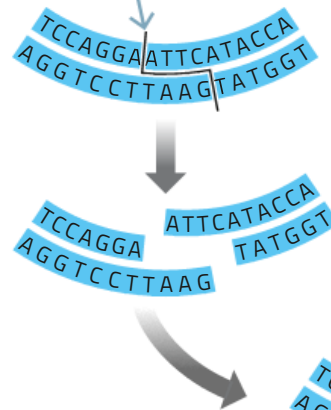


Per visualizzare le bande si usa una sostanza fluorescente intercalante, che è planare e idrofobica e quindi si inserisce tra una coppia di basi azotate e la successiva del DNA.

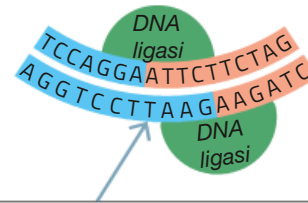
Le biotecnologie

Gli enzimi di restrizione.
Sono enzimi che scindono il DNA in corrispondenza di specifiche sequenze rompendo il legame fosfodiesterico. La sequenza nucleotidica che viene riconosciuta e tagliata dall'enzima è detta **sito di restrizione**.

L'enzima taglia i due filamenti di DNA in corrispondenza di due diversi punti di una sequenza di riconoscimento palindroma.



I filamenti separati sono provvisti di «estremità coesive» a singolo filamento.

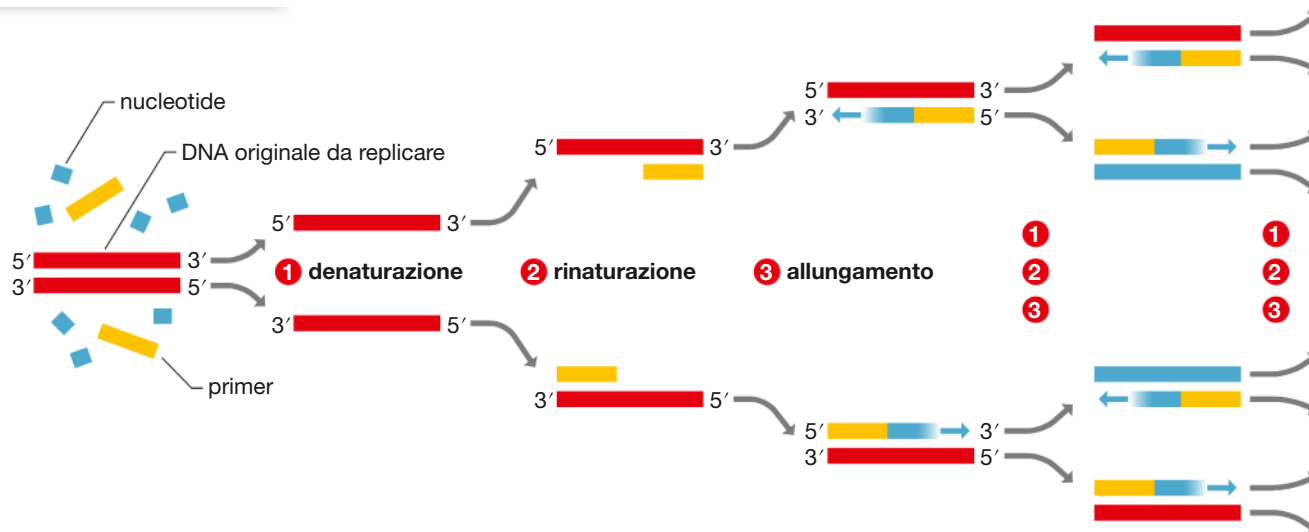


Le estremità coesive possono unirsi mediante legami a idrogeno alle estremità adesive di altri frammenti di DNA; le risultanti molecole di **DNA ricombinante** possono essere unite per mezzo della DNA ligasi.

Le biotecnologie

La tecnologia del DNA ricombinante. Consiste nel tagliare sequenze di DNA di origine diversa in siti specifici per poi legarle insieme a formare una nuova molecola di DNA che verrà trasferita nel genoma di altre cellule.

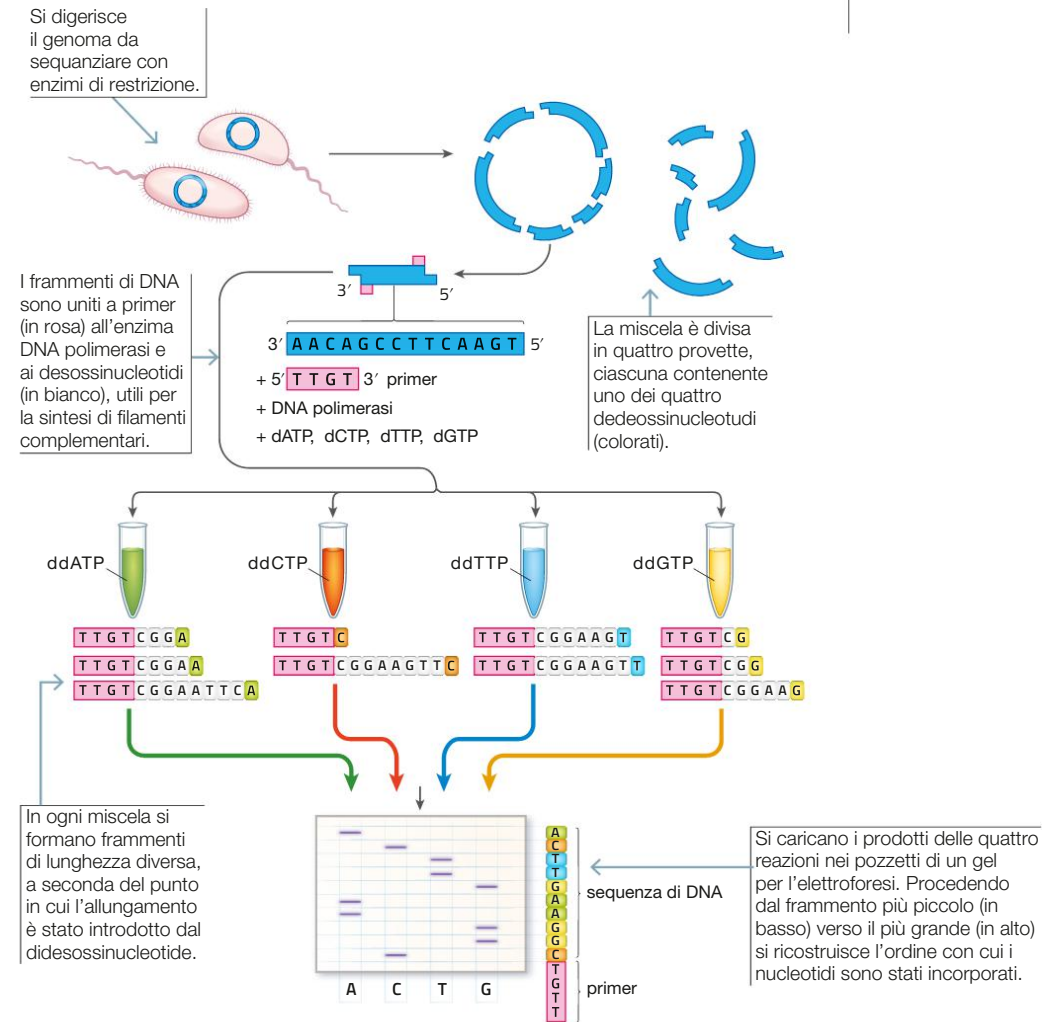
La PCR o reazione a catena della polimerasi. È una tecnica che ha lo scopo di amplificare il DNA, cioè produrre molte copie a doppio filamento di una specifica sequenza.



Le biotecnologie

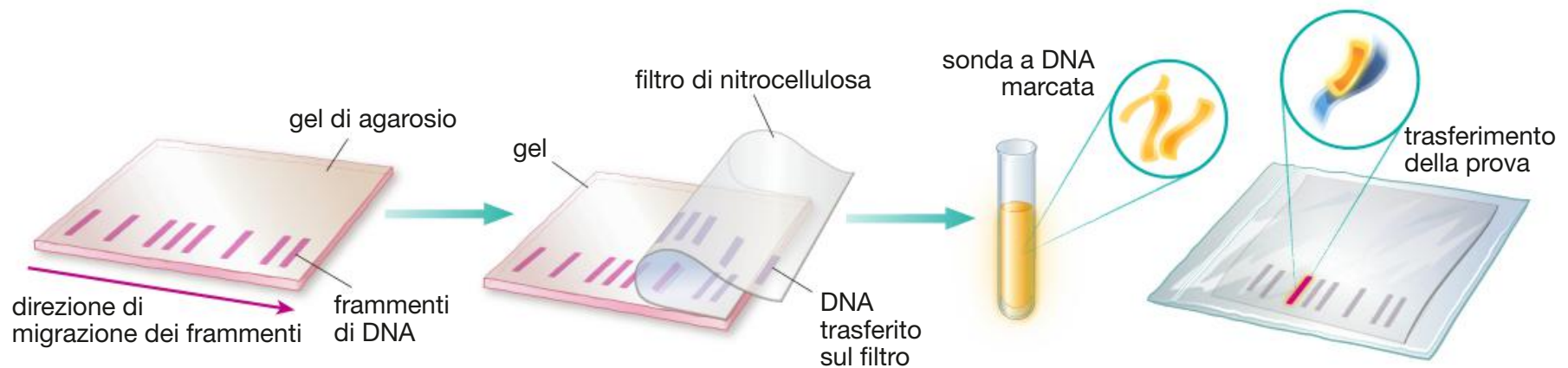
Il sequenziamento del DNA. Consente di determinare la sequenza nucleotidica di un tratto o di un intero genoma.

Con il metodo Sanger è possibile ottenere tanti frammenti di DNA che differiscono per una sola base e possono essere separati e poi riordinati per ricavare la sequenza completa del DNA di partenza.



Le biotecnologie

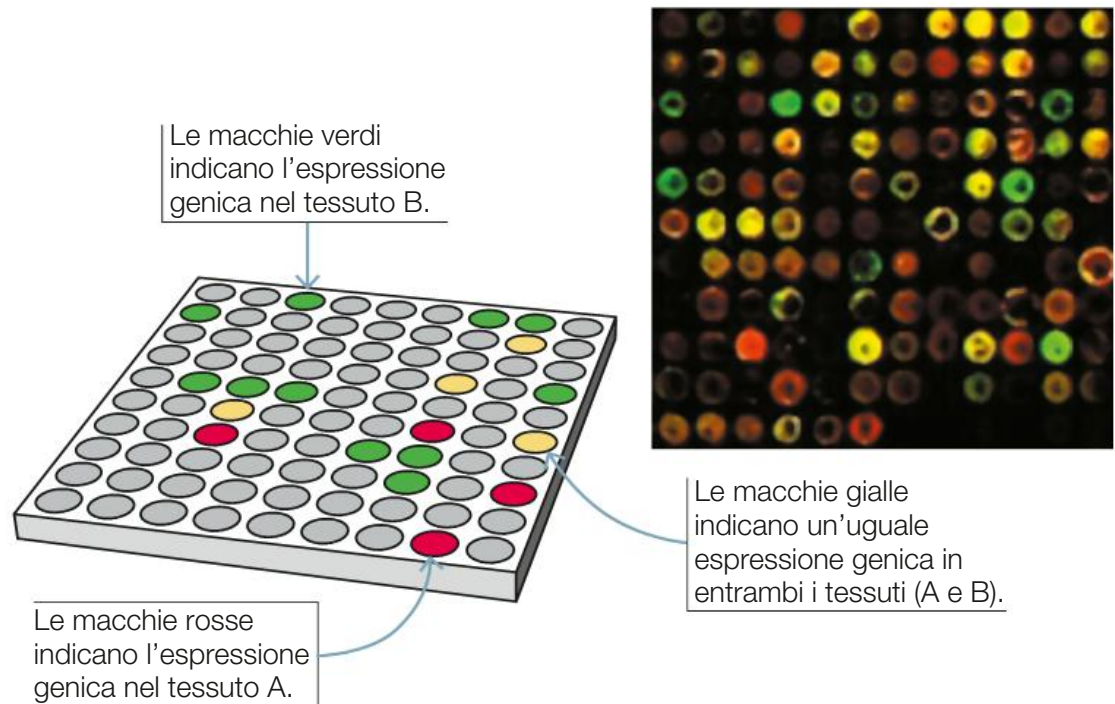
Le sonde di DNA e il *Southern blotting*. Per identificare la sequenza di basi di un frammento di restrizione all'interno di un campione complesso si può appaiarlo a un filamento complementare, chiamato **sonda**, di cui si conosce la sequenza. L'uso di sonde è impiegato in ambito diagnostico per individuare geni mutati e non funzionali.



Le biotecnologie

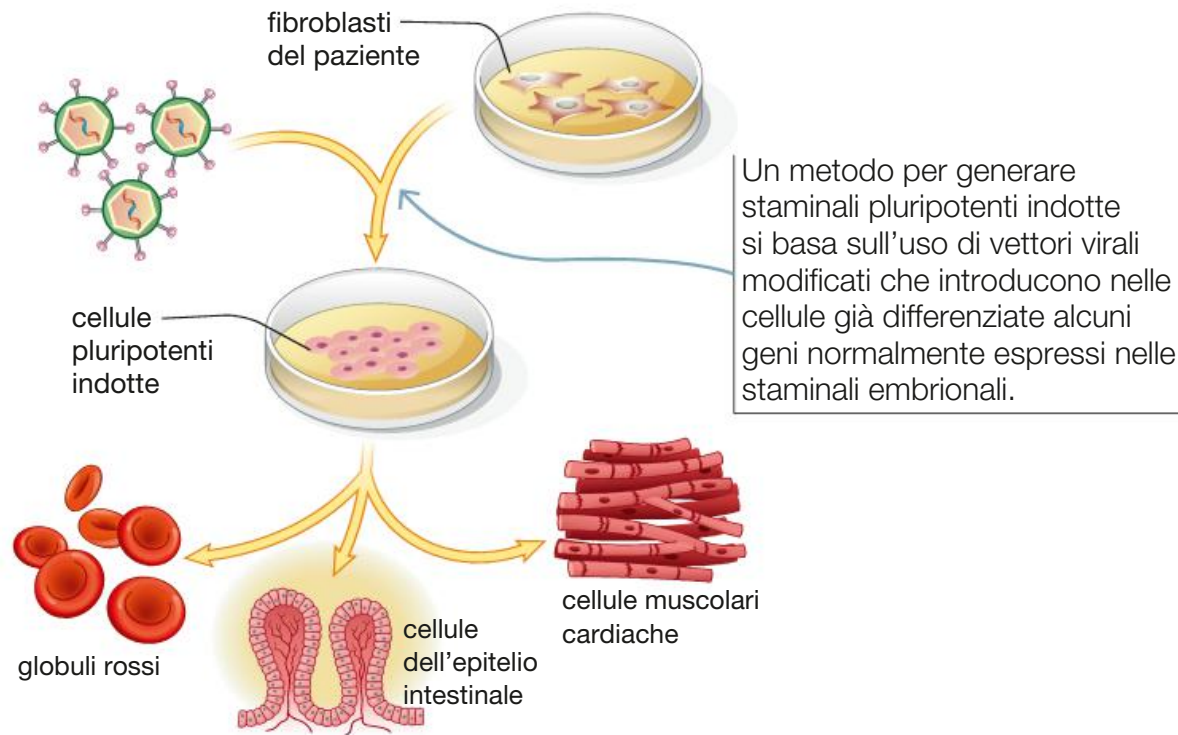
I microarray di DNA. Per poter studiare al meglio i processi fisiologici delle cellule e per capire in che modo insorgano le malattie, i ricercatori hanno bisogno di analizzare l'RNA e le proteine prodotti in un certo momento e in un preciso tessuto. Per farlo usano il **microarray di DNA**.

Questa tecnica sfrutta dei *chip a DNA*, cioè superfici solide (plastica, vetro o chip siliconici) a cui sono fissate specifiche sequenze di DNA in determinati punti.



Le biotecnologie

Le cellule staminali pluripotenti indotte. Sono cellule indifferenziate, che non hanno, cioè, le caratteristiche specifiche di alcun tessuto, ma possono dividersi indefinitamente per mitosi.



Le biotecnologie

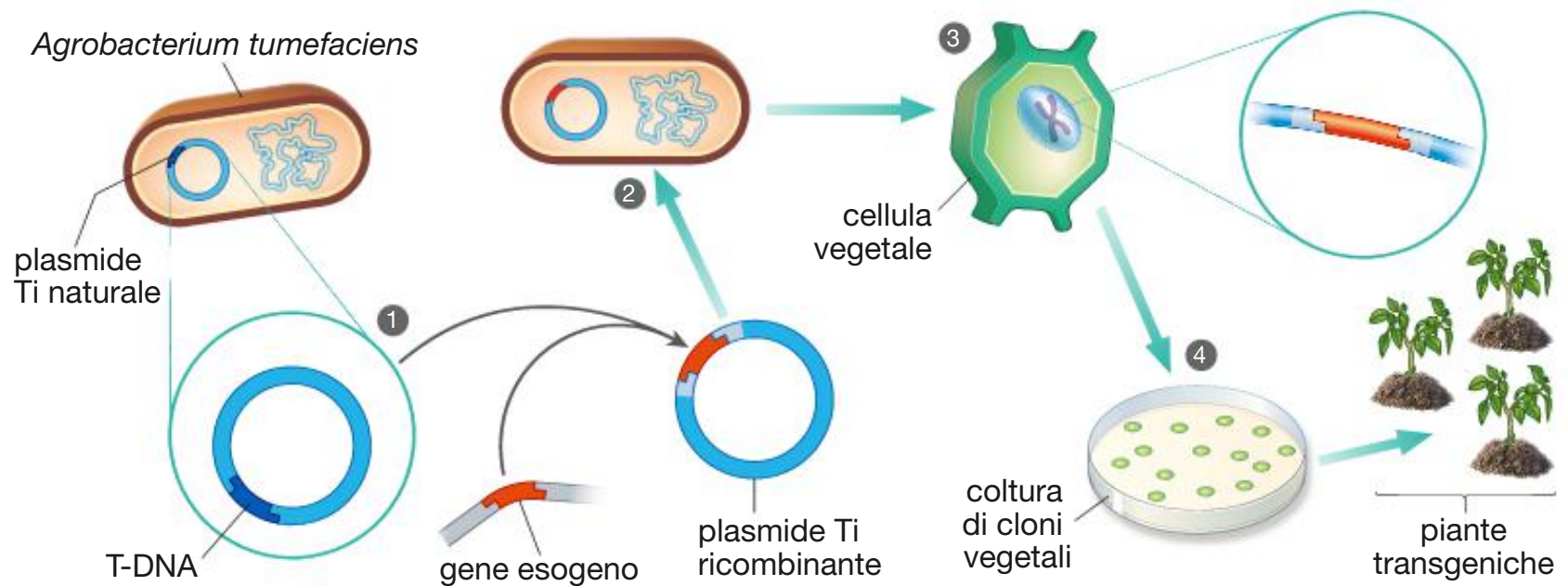
La produzione di OGM. La sigla **OGM** indica gli **organismi geneticamente modificati**, ovvero tutti gli organismi con assetto genetico modificato mediante tecniche di ingegneria genetica.

Esistono due tipi di OGM:

- gli **organismi knock-out**, nei quali un gene è stato silenziato, cioè reso incapace di esprimersi;
- gli **organismi transgenici**, che esprimono uno o più geni esogeni, aggiunti artificialmente al patrimonio genetico originario.

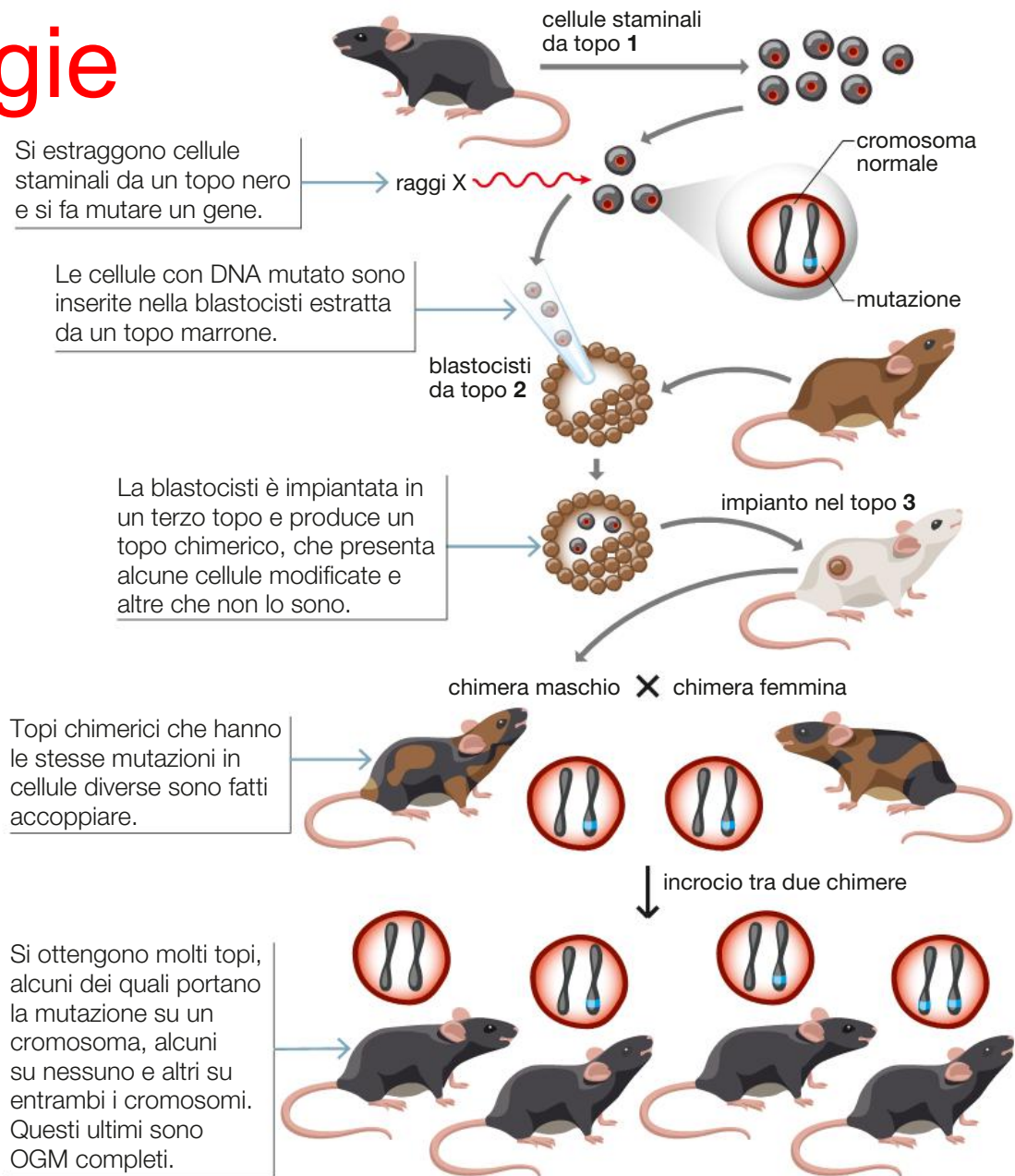
Le biotecnologie

La tecnica per produrre una **pianta** geneticamente modificata sfrutta la capacità del batterio *Agrobacterium tumefaciens* di infettare le cellule vegetali.



Le biotecnologie

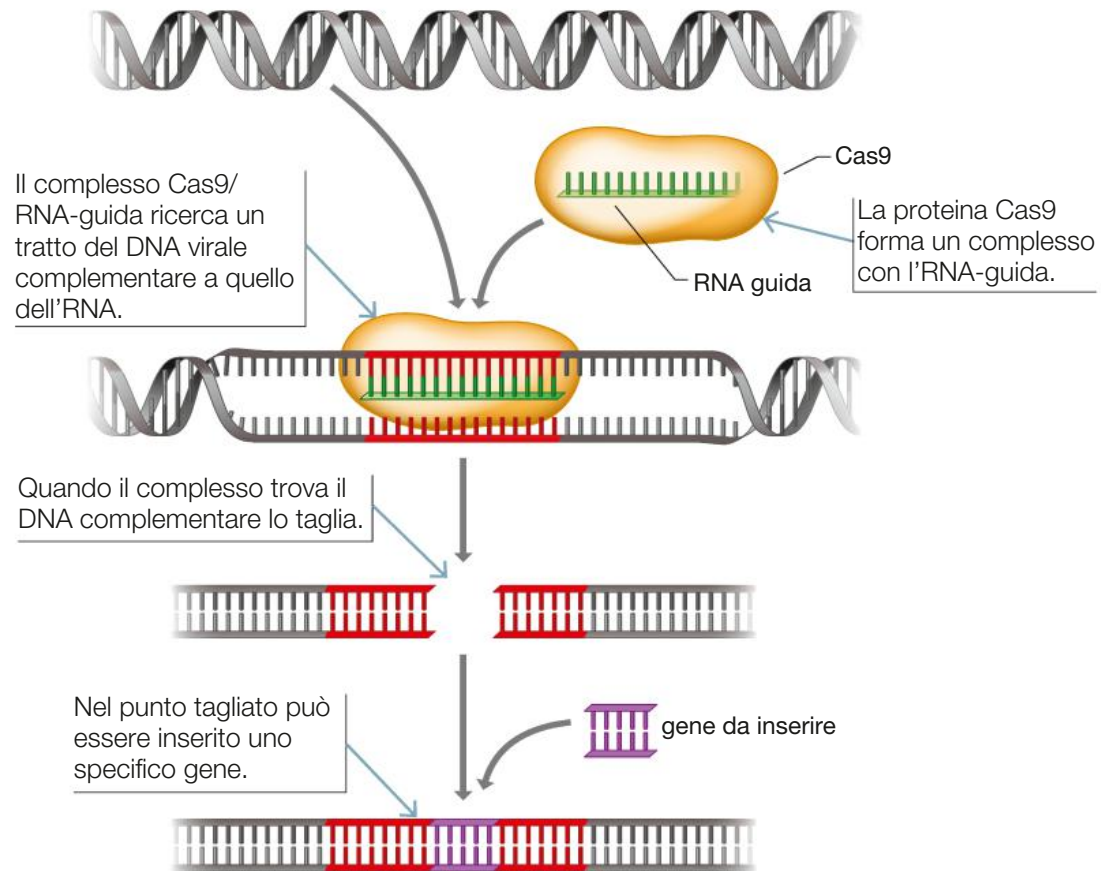
In relazione agli **animali**, per produrre OGM si agisce sulle cellule staminali embrionali. Le cellule sono isolate, modificate e inserite in un embrione allo stadio precoce di blastocisti.



Le biotecnologie

Il sistema CRISPRCas9.

Un altro metodo per produrre OGM è l'**editing genetico**, cioè la correzione puntuale di sequenze specifiche del genoma. Per ottenere questo obiettivo si usa il sistema CRISPR/Cas9, una tecnica, basata su una serie di enzimi tipici dei batteri.



Alcune applicazioni delle biotecnologie

Le biotecnologie e l'ambiente. Le biotecnologie hanno un ruolo chiave nel **biorisanamento**, cioè la bonifica di un ambiente inquinato da parte di microrganismi specifici.

Le principali tecniche di biorisanamento sono:

- la **biostimolazione**, che consiste nell'aggiungere nutrienti per stimolare la crescita di microbi già presenti;
- la **bioaugmentation**, che consiste nell'aggiungere dall'esterno batteri solitamente non presenti nell'ambiente da bonificare, ma capaci di risanarlo.

Nel settore alimentare. In campo agroalimentare le biotecnologie sono utilizzate principalmente per la produzione di piante e animali con peculiarità nutritive o di resistenza a determinate condizioni ambientali.

Alcune applicazioni delle biotecnologie

In ambito biomedico. Le biotecnologie contribuiscono allo sviluppo di **sistemi diagnostici** e di **terapie specifiche**, come la produzione di farmaci proteici da OGM.

Un'altra possibile applicazione delle biotecnologie alla medicina è la **terapia genica**, che ha lo scopo di sostituire un gene difettoso di un individuo malato con una copia integra, inserita nelle cellule attraverso un vettore.

Gli alberi filogenetici. Le informazioni derivanti da sequenziamento del DNA combinate con quelle ottenute a partire dall'esame dei caratteri condivisi forniscono relazioni filogenetiche molto accurate e dettagliate.