

I virus

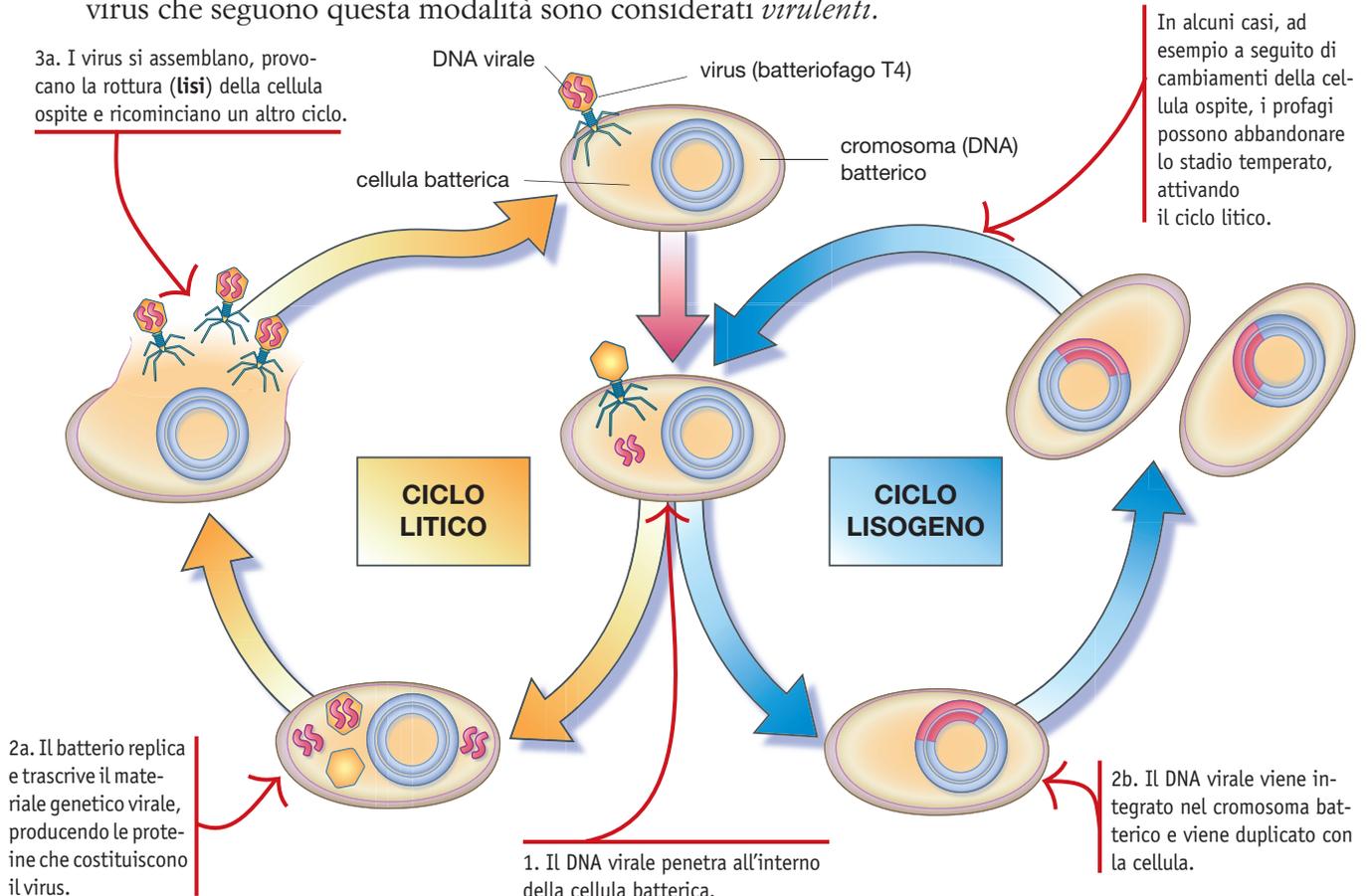
I **virus** non vengono considerati esseri viventi. Ciò è dovuto al fatto che queste particelle microscopiche non sono in grado di svolgere alcuna funzione metabolica e non possono riprodursi autonomamente. Ciononostante i virus sono *entità biologiche* molto comuni che si ritrovano in tutti gli ambienti e gli ecosistemi terrestri.

I virus, per potersi riprodurre, sono costretti a penetrare all'interno di una cellula ospite e a sfruttarne il metabolismo. Per questo motivo essi vengono considerati dei **parassiti intracellulari obbligati**. Le cellule ospiti possono essere sia cellule eucariotiche, sia procariotiche (batteri).

Un **virione** è composto da un involucro proteico contenente del materiale genetico. L'involucro, che può essere formato da uno o più tipi di proteine, è detto **capside**. In alcuni casi il capsido è a sua volta avvolto da una membrana lipoproteica, simile a quella plasmatica, che il virione acquisisce dalla cellula ospite. Il materiale genetico al suo interno può essere costituito da DNA o RNA, a filamento singolo, doppio, lineare o circolare, a seconda del tipo di virus.

I virus sono *parassiti intracellulari obbligati*: per svolgere il loro ciclo riproduttivo, sono costretti ad infettare una cellula. Una volta riconosciuto e agganciato il potenziale ospite, i virus iniettano all'interno della cellula ospite il loro materiale genetico.

a. In alcuni casi, il materiale genetico virale viene duplicato e trascritto per produrre le proteine virali (2a). La cellula ospite crea in questo modo numerose copie del virus. I virioni prodotti portano alla distruzione della cellula, detta **lisi**, la abbandonano e vanno ad infettare altre cellule (3a). Questa modalità riproduttiva viene detta **ciclo litico** e i virus che seguono questa modalità sono considerati *virulenti*.



b. In altri casi, il materiale genetico virale viene integrato all'interno del genoma della cellula ospite dove rimane senza procurare danni (2b). In questo stadio, il virus non è infettivo e viene detto **profago** (o **provirus**, nel caso il virus infetti una cellula eucariotica). Un profago può restare inattivo all'interno del genoma per diversi cicli di divisione cellulare della cellula ospite. Questa modalità di infezione costituisce il **ciclo lisogeno** e i virus che si comportano in questo modo vengono detti *temperati*.

I virus a RNA e i prioni

I **virus** vengono classificati in diversi gruppi e sottogruppi in base al materiale genetico contenuto nel capsido.

Alcuni importanti virus, come quelli che provocano l'influenza umana, contengono all'interno del capsido una molecola di RNA. Il virus dell'influenza infetta la cellula ospite attraverso un meccanismo di endocitosi: esso penetra nel citoplasma formando una vescicola membranosa che si unisce alla membrana virale permettendo la liberazione del capsido e del materiale genetico all'interno della cellula.

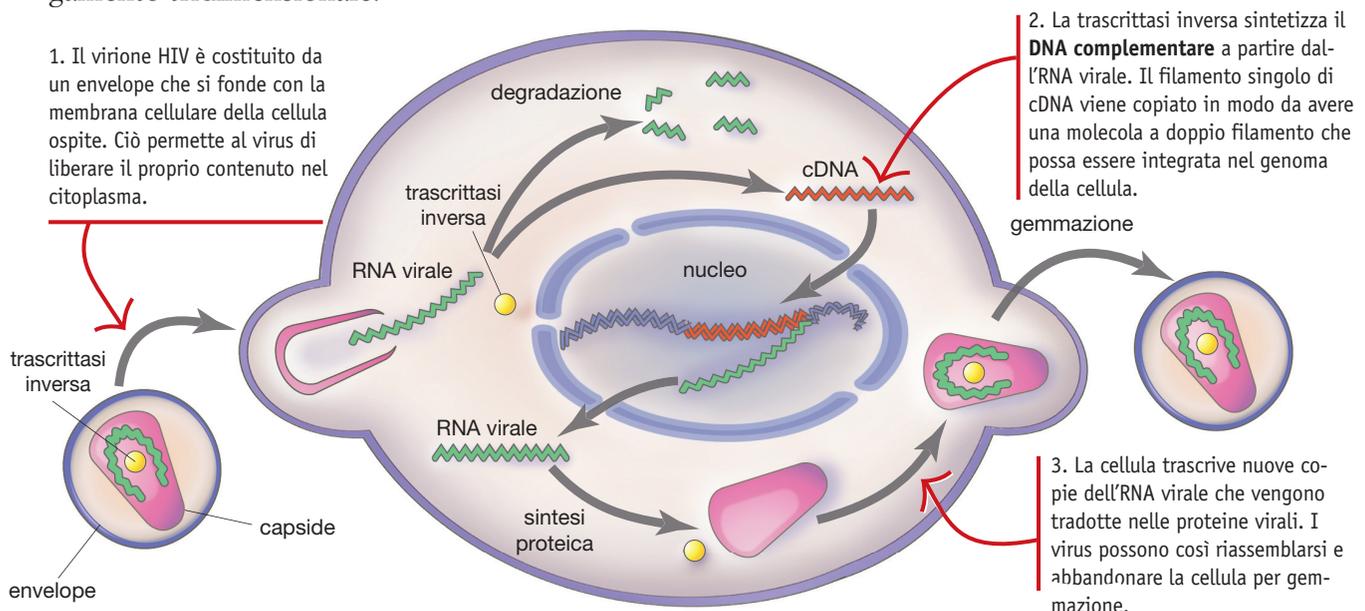
Il capsido contiene un enzima detto **RNA replicasi** (o *RNA polimerasi RNA-dipendente*) in grado di sintetizzare molecole di RNA usando come stampo le molecole di RNA del genoma virale.

Un importante gruppo di virus, quello costituito dai cosiddetti **retrovirus**, mostra un funzionamento molto differente rispetto ai virus a RNA già descritti. Questo gruppo comprende anche il virus HIV, di cui analizziamo il ciclo vitale, che provoca la sindrome di immunodeficienza acquisita (AIDS).

A differenza dei virus a RNA, i virioni retrovirali penetrano all'interno della cellula ospite fondendosi direttamente con la membrana esterna della cellula e liberando direttamente il proprio contenuto nel citoplasma.

I retrovirus possiedono un enzima, la **trascrittasi inversa** (o *DNA polimerasi RNA-dipendente*), in grado di sintetizzare DNA a partire dall'RNA.

I **prioni** sono agenti infettivi di natura proteica che provocano gravi malattie in alcuni animali, tra i quali anche gli esseri umani. Queste proteine presentano una struttura primaria uguale a quella di una proteina della cellula ospite, ma con un anomalo ripiegamento tridimensionale.



■ La genetica dei batteri

I **batteri** sono organismi unicellulari procariotici: il loro materiale genetico è libero all'interno del citoplasma della cellula e non è racchiuso nel nucleo.

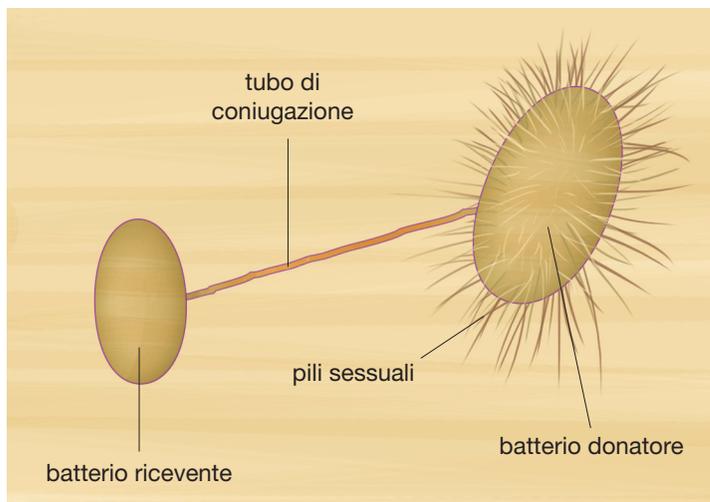
I procarioti si riproducono per via asessuata: ogni cellula pertanto genera cellule geneticamente identiche a se stessa (dette **cloni**).

Nel caso dei batteri si conoscono tre meccanismi di ricombinazione genetica indipendenti dalla fase riproduttiva:

- la **coniugazione**,
- la **trasformazione**,
- la **trasduzione**.

Il più importante processo di ricombinazione genetica per gli organismi procarioti è la **coniugazione batterica**. Tramite questo processo due batteri entrano in contatto e uno o più geni di uno dei due batteri, detto *donatore*, passano all'altro batterio, detto *ricevente*.

La coniugazione inizia con l'emissione da parte del batterio donatore di alcune sottili estroflessioni del citoplasma, chiamate **pili sessuali**.



La **trasformazione batterica** è il meccanismo di ricombinazione genetica che si verifica quando un batterio acquisisce una molecola di DNA presente nell'ambiente.

La **trasduzione** si verifica quando un fago infetta un batterio, si integra nel suo cromosoma e va incontro ad un ciclo litico. In questo caso oltre al DNA del virus alcuni frammenti del DNA batterico possono entrare all'interno del capsido virale e fuoriuscire così all'esterno della cellula ospite.

■ Gli elementi genetici mobili: plasmidi e trasposoni

Si conoscono alcuni processi che permettono ad uno o più geni di spostarsi da un punto ad un altro di uno stesso cromosoma, da un cromosoma ad un altro o, in certi casi, di trasferirsi da una cellula ad un'altra. Ciò avviene grazie a due tipi di **elementi genetici mobili**.

Molti batteri possiedono, oltre al cromosoma principale, altre molecole di DNA più piccole dette **plasmidi**. I plasmidi sono in grado di duplicarsi autonomamente dato che la molecola di DNA circolare che li costituisce possiede un *punto di origine* della duplicazione.

I plasmidi rappresentano degli elementi genetici mobili dato che possono venire trasmessi da un batterio ad un altro tramite il processo di coniugazione. Esistono diversi tipi di plasmidi.

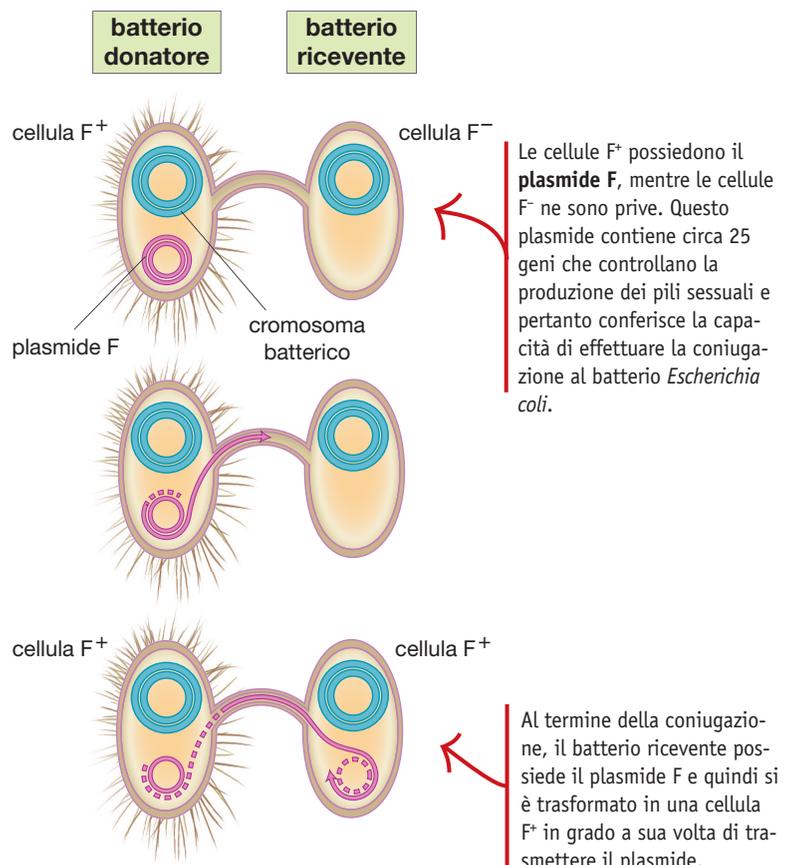
- I **plasmidi F** sono in grado di conferire ad un batterio la capacità di effettuare la coniugazione e quindi di scambiare materiale genetico con altri batteri.
- I **plasmidi R** sono i cosiddetti *fattori di resistenza*, cioè contengono le informazioni per sintetizzare delle proteine in grado di demolire sostanze nocive per il batterio.

I **trasposoni**, o *elementi trasponibili*, sono frammenti di DNA che si spostano all'interno del genoma di una singola cellula: essi possono spostarsi da un punto ad un altro di uno stesso cromosoma o di un cromosoma diverso. Nello spostamento di questi elementi gioca un ruolo fondamentale l'enzima *trasposasi* che viene generalmente codificato dalla sequenza di basi che costituisce il trasposone stesso.



[S. Cohen / SPI]

In questa immagine al microscopio elettronico è riconoscibile la molecola di DNA circolare che costituisce un **plasmide**. Essendo molto più piccole del cromosoma batterico, le molecole di DNA dei plasmidi possono contenere al massimo poche decine di geni.



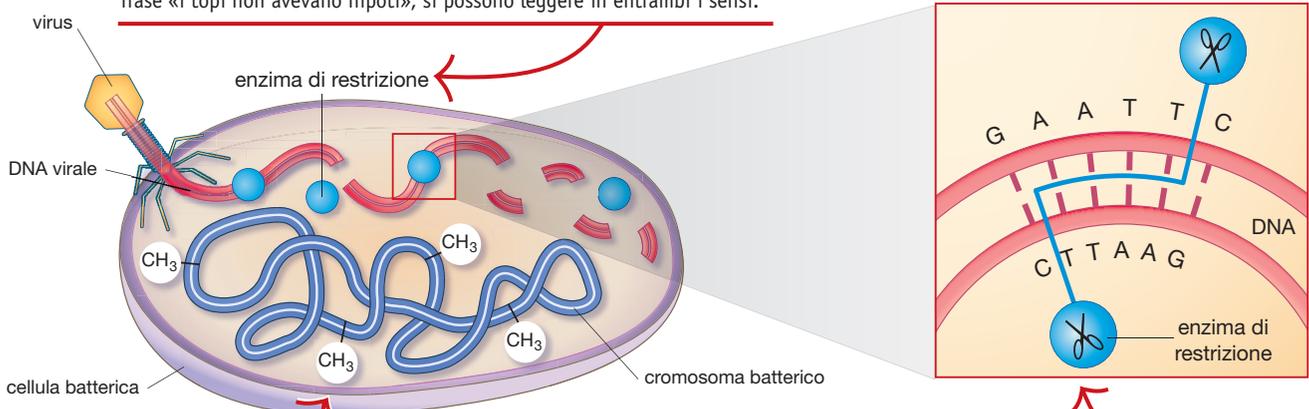
La tecnologia del DNA ricombinante

I biologi hanno sviluppato delle tecniche che permettono di isolare e purificare dei frammenti di DNA da una cellula. Questi frammenti possono poi essere inseriti in una cellula differente da quella di origine, sfruttando dei *vettori* quali virus e plasmidi. Questa tecnologia, che viene chiamata del **DNA ricombinante**, è alla base della cosiddetta *ingegneria genetica*.

Le cellule in cui viene inserito il frammento di DNA possono anche appartenere ad una specie differente da quella da cui proviene il DNA. Le cellule o gli organismi modificati in modo da contenere geni appartenenti a specie differenti vengono detti **transgenici**.

UNITÀ 4. Dalla genetica alle biotecnologie

La maggior parte degli enzimi di restrizione agisce in corrispondenza di sequenze di riconoscimento palindrome, ovvero sequenze di basi che, come la frase «i topi non avevano nipoti», si possono leggere in entrambi i sensi.



Le sequenze di riconoscimento presenti sul cromosoma batterico vengono protette attraverso un processo di **metilazione** del DNA (aggiunta di gruppi metile $-CH_3$)

L'enzima di restrizione *Eco* RI taglia il DNA in corrispondenza della sequenza di basi GAATTC complementare alla sequenza palindroma CTTAAG.

Gli enzimi che effettuano la «digestione» del DNA sono chiamati **enzimi di restrizione**.

Attualmente si conoscono numerosi enzimi di restrizione, ciascuno dei quali riconosce una specifica sequenza di basi del DNA, detta *sequenza di riconoscimento* o **sito di restrizione**, generalmente composta da 4-6 basi.

Dato che le sequenze di riconoscimento si trovano in punti casuali della molecola di DNA, i frammenti che si producono usando un enzima di restrizione presentano lunghezze differenti.

L'**elettroforesi su gel** è una tecnica di laboratorio che permette di separare i diversi frammenti in base alle loro dimensioni ed eventualmente anche di individuare e isolare un particolare frammento.

Tutte le cellule possiedono un enzima in grado di unire tra loro, tramite un legame covalente, i frammenti di DNA. Questo enzima viene chiamato **DNA ligasi** e interviene durante la duplicazione del DNA per unire i frammenti di Okazaki che si formano sul filamento lento.

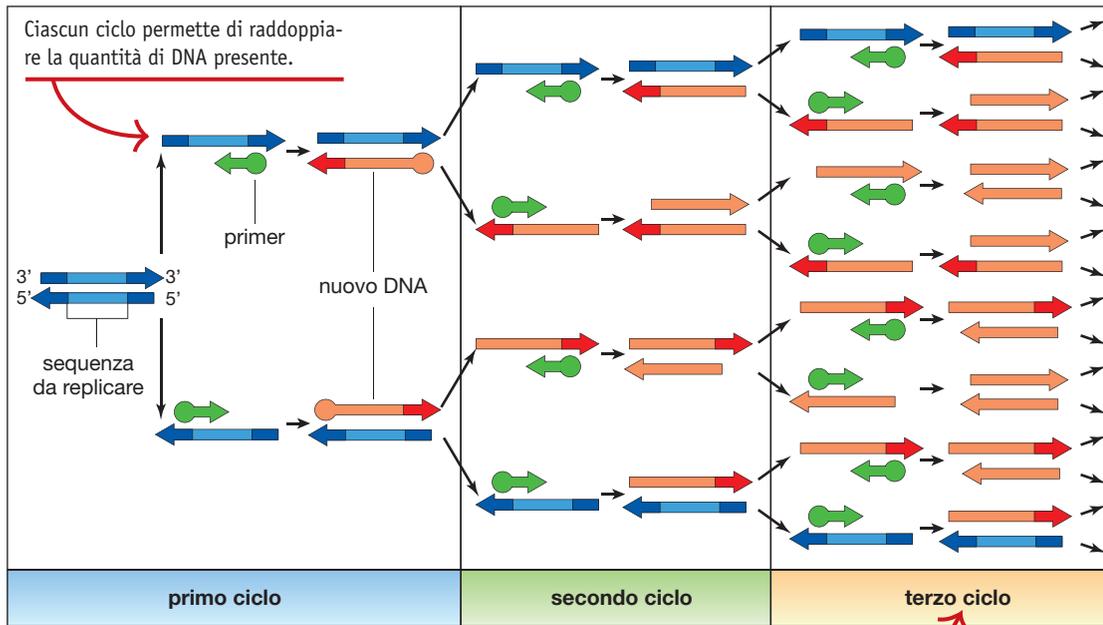
Agli inizi degli anni Settanta del secolo scorso, i biologi riuscirono a isolare la DNA ligasi e ad utilizzarla per unire frammenti di DNA ottenuti tramite gli enzimi di restrizione.

I frammenti di DNA si riappaiano grazie al fatto che gli enzimi di restrizione agiscono in corrispondenza di sequenze di basi palindrome, creando pertanto delle estremità (chiamate *estremità coesive*) che presentano sequenze complementari.

Le tecniche di analisi del DNA

Uno dei campi di applicazione che ha maggiormente beneficiato delle moderne biotecnologie è sicuramente quello dell'investigazione criminale e giudiziaria. L'analisi del DNA si è infatti rivelata uno straordinario strumento per la caratterizzazione e l'identificazione individuale.

La tecnica applicata in questi casi è la determinazione dell'**impronta genetica**. Per analogia con la tecnica delle impronte digitali essa viene anche chiamata *DNA fingerprint*.



La ripetizione del ciclo, fino a 50 volte, porta alla produzione di una gran quantità di copie della sequenza scelta per la cosiddetta **amplificazione**.

La tecnica della *reazione a catena della polimerasi* (*Polymerase Chain Reaction* o **PCR**) viene utilizzata per individuare un frammento specifico di DNA e per produrne delle copie.

A partire da materiale organico contenente DNA (quale capelli, sangue ecc.), è possibile determinare la cosiddetta impronta genetica (o DNA fingerprint) che può venire confrontata con altre di cui si è in possesso.

Il problema principale di questa tecnica è rappresentato dal fatto che circa il 99,9% del genoma umano è costituito da sequenze di basi uguali in tutti gli esseri umani. Le **ripetizioni brevi in tandem** (STR), ovvero dei tratti di DNA situati in regioni non codificanti, presentano grande variabilità.

■ L'ingegneria genetica in campo medico

La scoperta della tecnologia del DNA ricombinante suggerì immediatamente ai biologi la possibilità di utilizzare i batteri come delle «fabbriche» di proteine, che potessero essere utilizzate nella cura delle malattie umane.

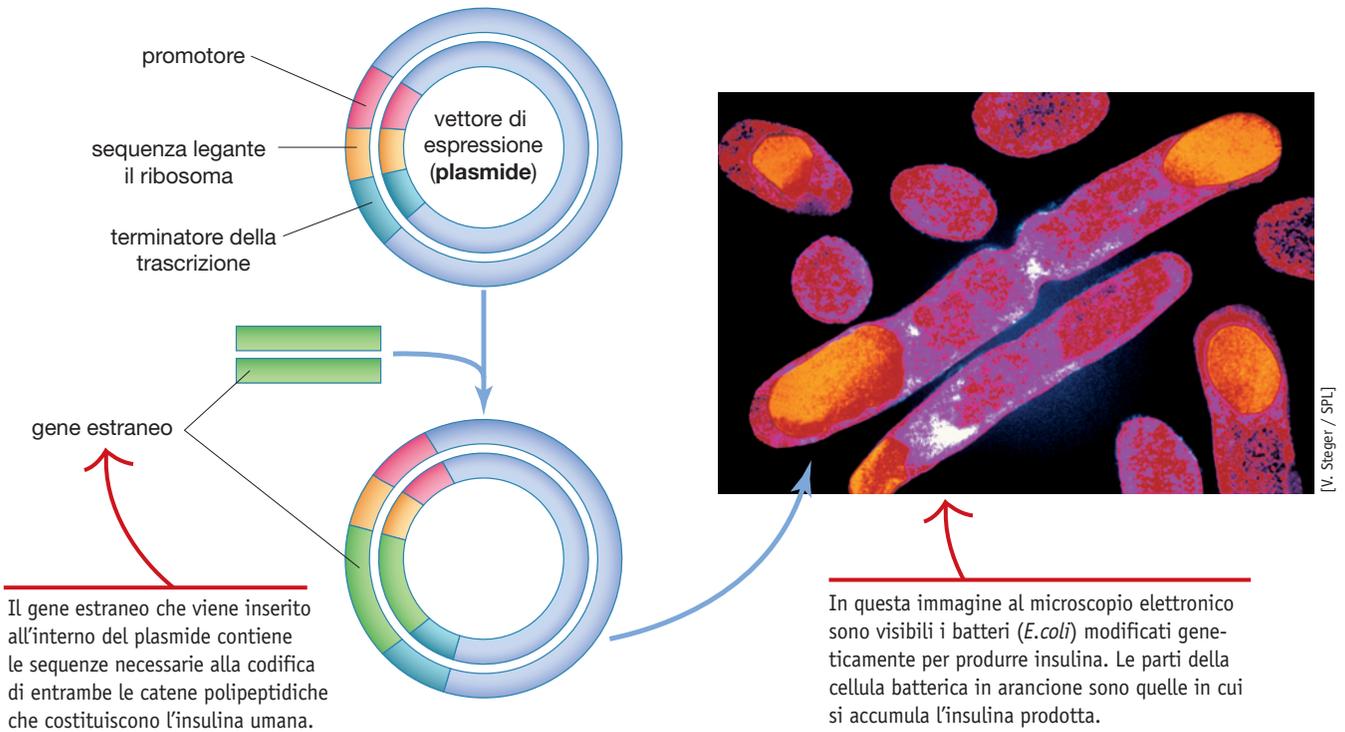
Perché un batterio produca una proteina umana, esso deve essere modificato con l'inserimento di un vettore, generalmente un plasmide R.

L'*insulina* è l'ormone che regola la quantità di glucosio presente nel sangue. Essa è necessaria per la cura del diabete ed è stata una delle prime proteine prodotte utilizzando i **batteri transgenici**.

In alcuni casi anziché inserire nuovi geni in una cellula potrebbe rivelarsi utile rimuoverne altri. Sebbene non sia fisicamente possibile rimuovere un tratto di DNA dal genoma, l'ingegneria genetica permette di inattivare un gene e quindi di annullare il suo effetto. La tecnologia più efficace a questo scopo sfrutta un fenomeno detto **interferenza da RNA**.

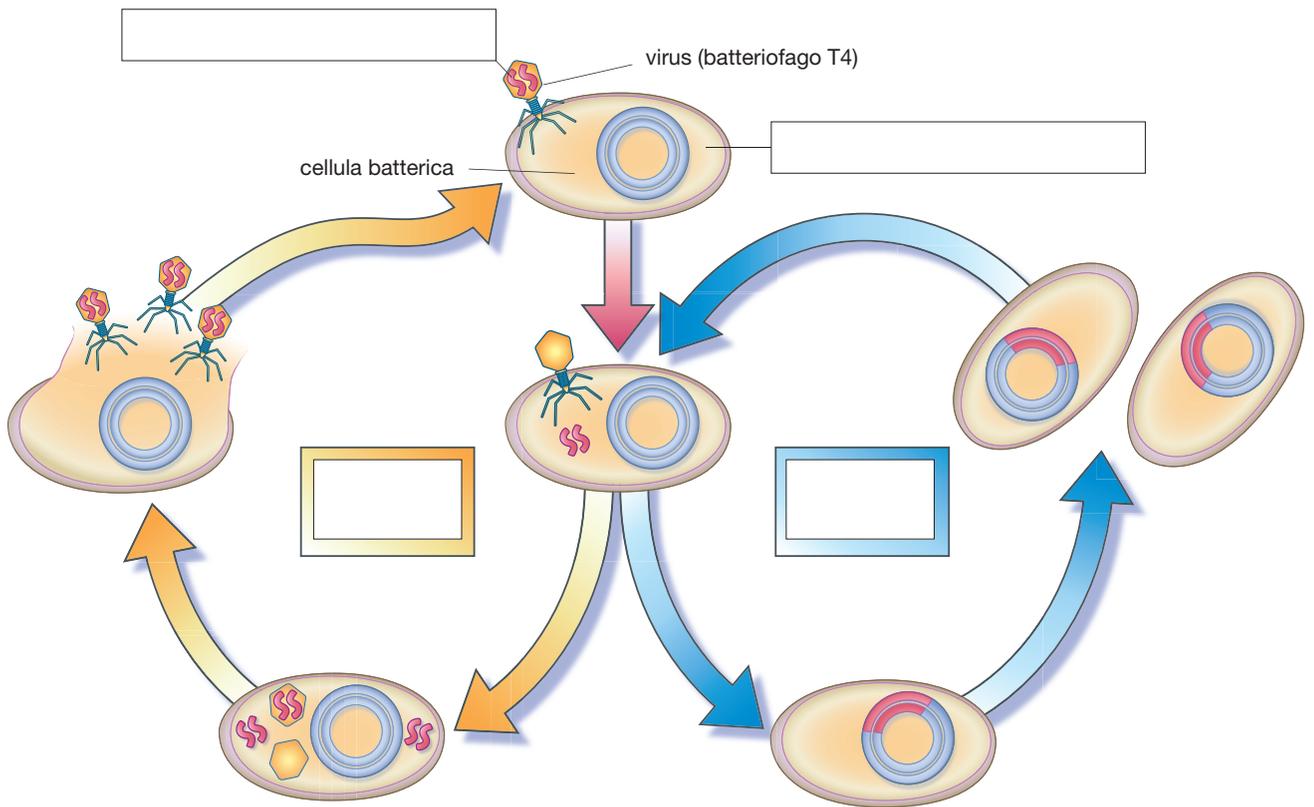
UNITÀ 4. Dalla genetica alle biotecnologie

Per terapia genica si intende qualsiasi metodo atto a curare una malattia ereditaria tramite l'inserimento nelle cellule della persona malata di un gene estraneo che sostituisce un gene non funzionante. La terapia genica attualmente più praticata è quella che agisce sulle cellule somatiche di un individuo affetto da una determinata malattia genetica.

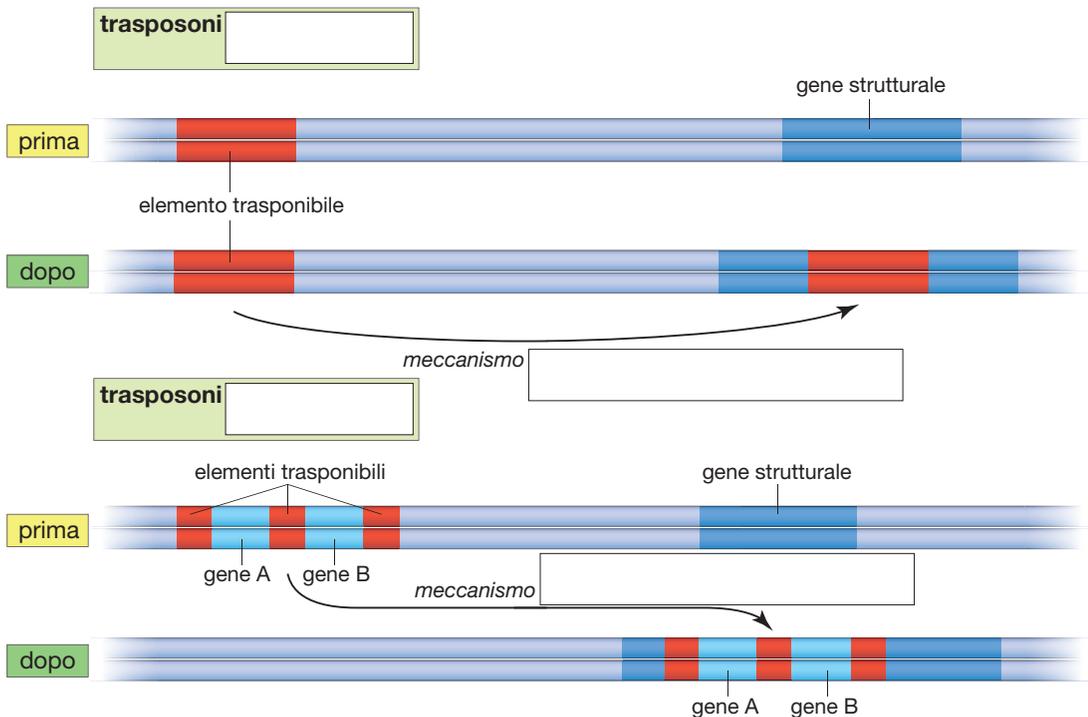


UNITÀ 4. Dalla genetica alle biotecnologie

1 Completa la figura sui cicli virali:



2 Completa la figura sui trasposoni.



3 Completa le seguenti frasi scegliendo i termini corretti tra quelli indicati nei corrispondenti riquadri.

A. I virus sono intracellulari obbligati dato che per sono costretti a infettare una cellula. Essi sono costituiti da un involucro proteico detto contenente del materiale genetico costituito da DNA o In alcuni casi all'esterno può essere presente anche una membrana simile a quella plasmatica, detta

patogeni, parassiti, entità, ricombinarsi, nutrirsi, riprodursi, envelope, capside, fago, proteine, RNA

B. I virus a RNA contengono un enzima detto RNA in grado di sintetizzare molecole di RNA partendo da molecole di RNA usate come stampo. Queste molecole di RNA vengono poi tradotte dai della cellula ospite che costruisce così le proteine del e degli enzimi virali.

messaggero, trascrittasi, replicasi, RNA, DNA, mitocondri, ribosomi, capside, profago

C. La batterica è il meccanismo di ricombinazione che si verifica quando un batterio acquisisce una molecola di DNA presente nell'ambiente. In molti casi questo DNA proviene da un altro procarote che è stato distrutto dall'infezione di un virus che ne ha provocato la

coniugazione, trasduzione, trasformazione, litica, lisi, genetica

D. I sono piccole molecole di DNA presenti nel citoplasma delle cellule batteriche accanto al cromosoma principale di forma Essi rappresentano degli elementi genetici dato che possono essere trasmessi da un batterio ad un altro tramite il processo di

trasposoni, plasmidi, virus, lineare, circolare, quadrata, infettivi, mobili, trasduzione, trasfezione, coniugazione

E. La tecnica della o PCR permette di amplificare alcune specifiche regioni del DNA. A tale scopo il DNA viene in modo che i filamenti si separino completamente; vengono quindi aggiunti gli enzimi e i necessari alla sintesi e due che permettono di iniziare la duplicazione. Questo ciclo viene poi ripetuto un numero elevato di volte.

tecnologia del DNA ricombinante, reazione a catena della polimerasi, duplicato, denaturato, silenziato, nucleotidi, batteri, plasmidi, sonde, primer, RNA antisense