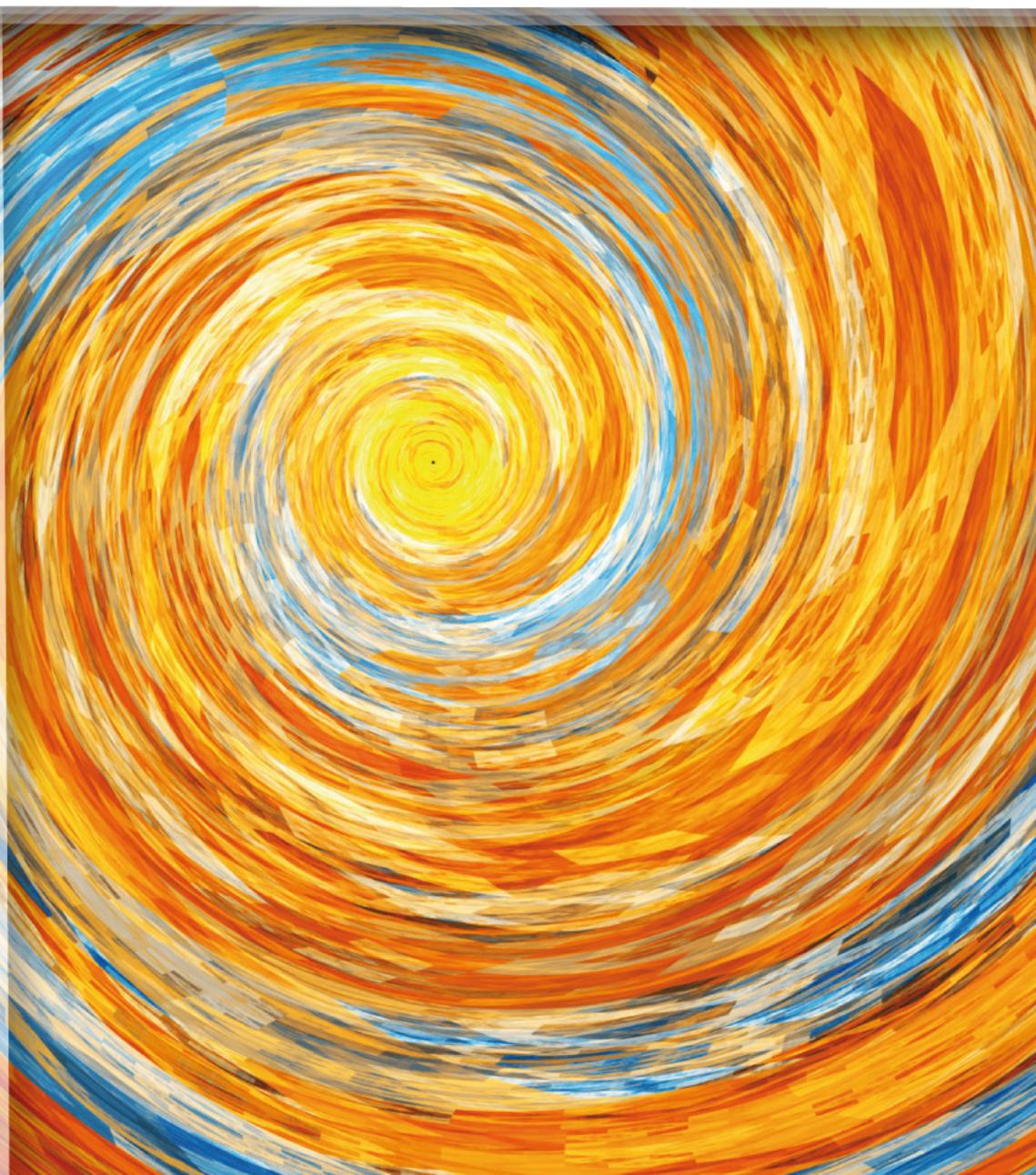


Comprende versione
ebook



Elementi di Biologia e Genetica

P. Bonaldo
C. Crisafulli
R. D'Angelo
M. Francolini
S. Grimaudo
C. Rinaldi
P. Riva
M.G. Romanelli



Paolo Bonaldo, Concetta Crisafulli, Rosalia D'Angelo,
Maura Francolini, Stefania Grimaudo, Carmela Rinaldi,
Paola Riva, Maria Grazia Romanelli

Elementi di Biologia e Genetica



P. Bonaldo, C. Crisafulli, R. D'Angelo, M. Francolini,
S. Grimaudo, C. Rinaldi, P. Riva, M.G. Romanelli

ELEMENTI DI BIOLOGIA E GENETICA

Copyright © 2019 EdiSES s.r.l. – Napoli

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0
2024 2023 2022 2021 2020 2019

Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata

*A norma di legge è vietata la riproduzione,
anche parziale, del presente volume o parte
di esso con qualsiasi mezzo.*

L'Editore

*L'Editore ha effettuato quanto in suo potere
per richiedere il permesso di riproduzione
del materiale di cui non è titolare del
copyright e resta comunque a disposizione
di tutti gli eventuali aventi diritto.*

Fotocomposizione:
doma book di Massimo Di Grazia – Napoli

Stampato presso la:
Tipolitografia Sograte S.r.l. – Zona Ind. Regnano – Città di Castello (PG)

per conto della
EdiSES s.r.l. – Piazza Dante, 89 – Napoli
Tel. 0817441706/07 Fax 0817441705

<http://www.edises.it> e-mail: info@edises.it

ISBN 9788833190389

Autori

Paolo BONALDO

Università degli Studi di Padova

Stefania GRIMAUDO

Università degli Studi di Palermo

Concetta CRISAFULLI

Università degli Studi di Messina

Carmela RINALDI

Università degli Studi di Messina

Rosalia D'ANGELO

Università degli Studi di Messina

Paola RIVA

Università degli Studi di Milano

Maura FRANCOLINI

Università degli Studi di Milano

Maria Grazia ROMANELLI

Università degli Studi di Verona

Per i Capitoli mutuati dal Testo “Biologia e Genetica” – IV Edizione

Autori originali:

Silvana Dolfini, Massimo Malcovati, Maria Luisa Tenchini



Prefazione

Elementi di Biologia e Genetica nasce dall'esigenza di fornire agli studenti uno strumento didattico per i corsi di Biologia e Genetica previsti dai corsi di laurea in ambito sanitario. Il volume fornisce una visione globale, ma al contempo semplice e aggiornata, dei concetti fondamentali della biologia e della genetica, così da permettere una trattazione di queste materie in maniera chiara e lineare.

La volontà di elaborare un volume in modo completo e nel contempo sintetico, deriva dalla consapevolezza, acquisita negli anni, che gli studenti che affrontano un percorso di studi di questo genere spesso sono talmente sopraffatti dalla quantità di notizie da memorizzare, talvolta molto dettagliate, da perdere quasi di vista i concetti più importanti. Per cui l'intento è quello di puntare non tanto alla memorizzazione quanto alla comprensione dei concetti.

Il testo è articolato in 13 capitoli, ciascuno dei quali contiene tabelle e figure esemplificative che rendono ancora più immediata la comprensione degli argomenti affrontati. Inoltre, per creare una connessione tra concetti teorici e le loro applicazioni, in alcuni capitoli sono stati inseriti dei riquadri che, senza interrompere in alcun modo la continuità del discorso principale, approfondiscono tematiche di vario genere.

Difatti, nonostante la trattazione degli argomenti sia stata semplificata, si è mirato comunque a fornire al lettore un quadro completo delle tematiche affrontate.

Il testo, dunque, è stato formulato per soddisfare una platea di studenti molto diversificata, tenendo conto della differente formazione, e ci auguriamo possa essere un valido strumento anche per i Docenti che intendono utilizzare metodi didattici che si discostano da quelli tradizionali.

Gli Autori

Materiale di supporto per i docenti

I docenti che utilizzano il testo a scopo didattico possono scaricare dal sito www.edises.it, previa registrazione all'area docenti, le immagini del libro in formato PowerPoint.

Indice generale

Capitolo 1

Proprietà generali della materia vivente

- Caratteristiche generali della materia vivente**
 - Complessità specificamente definita
 - Capacità di accrescimento
 - Capacità di autoriprodursi
 - Adattamento all'ambiente
- Approccio sperimentale ai fenomeni biologici**
- Teoria cellulare**
 - Cellule procariotiche e cellule eucariotiche
 - Organismi unicellulari e organismi pluricellulari
- Flusso di materia e di energia nella materia vivente**
 - Forme di energia utilizzate dagli organismi viventi
 - Organismi fototrofi e organismi chemiotrofi
 - Energia all'interno degli organismi viventi
 - Organismi aerobi e organismi anaerobi
 - Organismi autotrofi e organismi eterotrofi

Capitolo 2

Composizione chimica della materia vivente

- 1 Importanza biologica dell'acqua**
 - 1 Acqua come solvente
 - 1 Acqua e membrane biologiche
 - 2 Dissociazione dell'acqua
- 2 Composti del carbonio**
 - 3 Principali classi di composti biologici
 - 5 Carboidrati
 - 5 Lipidi
 - 5 Macromolecole biologiche e informazione biologica
 - 5 Proteine
 - 6 Struttura chimica delle proteine
 - 6 Struttura tridimensionale delle proteine
 - 6 Denaturazione e rinaturazione delle proteine
 - 7 Regolazione dell'attività biologica delle proteine
 - 7 Principale funzione delle proteine: gli enzimi
 - 7 Energia di attivazione delle reazioni chimiche

■ Enzimi	44	■ Struttura della cellula eucariotica	72
■ Vie metaboliche	47	■ Dalla cellula procariotica alla cellula eucariotica	73
■ Acidi nucleici	51		
■ Struttura chimica degli acidi nucleici	51	■ Teoria endosimbiontica sull'origine degli eucarioti	73
■ Acido desossiribonucleico (DNA)	55		
■ Acido ribonucleico (RNA)	59	■ Dogma centrale della Biologia	74
■ Flusso di informazione tra le macromolecole biologiche	62	■ Organizzazione della cellula eucariotica	75
Riquadro 2.1 Superfici complementari tra molecole: la base del riconoscimento biologico	27	■ Nucleo	75
Riquadro 2.2 Principali metodi di separazione delle proteine basati sulle loro proprietà acido-base	39	■ Reticolo endoplasmatico	80
Riquadro 2.3 Palindromi degli acidi nucleici	60	■ Ribosoma: il catalizzatore della sintesi proteica	83
Capitolo 3		■ Via di secrezione: l'apparato del Golgi	83
Cellule procariotica ed eucariotica	63	■ Via di secrezione: la membrana plasmatica e l'esocitosi	85
■ Scoperta della cellula e origine del suo nome	63	■ Endocitosi e compartimento endosomiale	85
■ Teoria cellulare (1839-1855)	63	■ Lisosoma	86
■ Che cosa definisce una cellula	64	■ Mitocondrio	88
■ Membrana cellulare	64	■ Metabolismo ossidativo: il ciclo degli acidi tricarbossilici e la catena di trasporto degli elettroni	91
■ Funzioni della membrana plasmatica	66	■ Perossisoma	93
■ Movimento di molecole attraverso le membrane cellulari	67	■ Citoscheletro	93
■ Citoplasma	69	■ Matrice extracellulare (ECM)	98
■ Dimensione e forma delle cellule	69	■ Giunzioni cellulari	98
■ Origine e classificazione delle cellule	70		
■ Struttura della cellula procariotica	71		
Capitolo 4			
Comunicazioni cellulari	101		
■ Importanza della comunicazione fra cellule	101		

■ Velocità e durata della risposta dipendono dalle vie di segnalazione intracellulari attivate	101	■ tRNA e aminoacil-tRNA sintetasi	129
■ Comunicazione cellulare	101	■ Ribosomi: gli effettori della sintesi proteica	130
■ Comunicazione endocrina	101	■ Traduzione	131
■ Comunicazione paracrina e comunicazione autocrina	102	■ Maturazione post-traduzionale e smistamento delle proteine	135
■ Comunicazione dipendente da contatto o juxtacrina	102	■ Concetto di gene	136
■ Comunicazione neuronale	103	■ Regolazione dell'espressione genica	137
■ Ogni cellula risponde a combinazioni di segnali extracellulari	104	■ Regolazione dell'espressione genica nei procarioti	137
■ Natura chimica del mediatore extracellulare	104	■ Regolazione dell'espressione genica negli eucarioti	140
■ Tre classi di recettori di membrana	105	■ Regolazione post-trascrizionale	143
■ Secondi messaggeri	109	■ Regolazione post-traduzionale	144
■ Relazione fra segnale extracellulare e risposta cellulare	109		
Capitolo 5		Capitolo 6	
Flusso di informazione nella materia vivente	113	Ciclo cellulare, mitosi e meiosi	145
■ Replicazione del DNA	113	■ Ciclo cellulare mitotico	145
■ Trascrizione	121	■ Fasi	145
■ Maturazione dei trascritti	124	■ Punti di controllo	146
■ Maturazione dell'mRNA negli eucarioti	124	■ Meccanismi di controllo	147
■ Maturazione di rRNA e tRNA negli eucarioti	127	■ Mitosi	148
■ Codice genetico	127	■ Profase	148
		■ Prometafase	148
		■ Metafase	148
		■ Anafase	150
		■ Telofase	151
		■ Ciclo cellulare meiotico	151
		■ Meiosi	151

Capitolo

7

Gametogenesi e fecondazione

- Spermatogenesi** 155
 - Spermioistogenesi o spermogenesi 156
 - Controllo ormonale della spermatogenesi 158
- Ovogenesi** 158
 - Ciclo ovarico e ciclo uterino 161
- Fecondazione** 163

Capitolo

9

Genetica mendeliana

- Basi cromosomiche dell'ereditarietà** 177
 - Significato genetico della meiosi 177
- Leggi di Mendel ed estensioni dell'analisi mendeliana** 179
 - Genotipo e fenotipo 179
 - Leggi di Mendel 181
 - Interazione tra alleli 182
 - Reincrocio 185

Capitolo

8

Virus

- Struttura delle particelle virali** 165
- Tropismo virale** 167
- Genoma virale** 167
- Ciclo infettivo dei virus** 168
- Infezione da batteriofagi** 168
 - Ciclo litico dei fagi virulenti 168
 - Lisogenia 170
- Infezione virale nelle cellule eucariotiche** 171
- Retrovirus** 174
- Virus oncogeni** 176

RIQUADRO 8.1 Malattie infettive da virus a RNA: una minaccia costante per l'uomo 173

- Ereditarietà legata al sesso** 186
 - Determinazione del sesso 186
 - Geni localizzati sul cromosoma X: alleli recessivi e dominanti 187
 - Geni legati al cromosoma Y 189
 - Inattivazione del cromosoma X 189
- Analisi mendeliana nell'uomo: ricostruzione degli alberi genealogici** 190
 - Ereditarietà autosomica dominante 191
 - Ereditarietà autosomica recessiva 192
 - Ereditarietà recessiva legata al cromosoma X 192
 - Ereditarietà dominante legata al cromosoma X 192
 - Problemi relativi all'interpretazione di un albero genealogico 194
 - Ereditarietà multifattoriale 195
 - Ereditarietà mitocondriale 197
- Associazione e ricombinazione** 198
 - Geni indipendenti e geni concatenati 198
 - Crossing-over 199

■ Frequenza di crossing-over e frequenza di ricombinazione	201	■ Meccanismi di insorgenza delle mutazioni	216
■ Mappe genetiche	201	■ Conseguenze sull'informazione genetica	220
RIFERIMENTO 9.1 Ereditarietà mendeliana monofattoriale nell'uomo	183	RIFERIMENTO 9.2 Gruppi sanguigni e alleli multipli	183
		RIFERIMENTO 10.1 Mutazioni cromosomiche e genomiche	224
		■ Mutazioni cromosomiche e conseguenze	224
		■ Mutazioni genomiche e conseguenze	224
Capitolo 10		RIFERIMENTO 11.1 Punti caldi di mutazione	218
Cromosomi umani	205	RIFERIMENTO 11.2 Identificazione dei mutageni e carcinogeni ambientali	219
■ Cariotipo umano	205	RIFERIMENTO 11.3 Evoluzioni della FISH	228
■ Morfologia dei cromosomi metafasici	205		
■ Tecniche di colorazione e bandeggi dei cromosomi umani	206		
■ Classificazione e nomenclatura dei cromosomi umani	210	Capitolo 12	
■ Mappatura dei geni sui cromosomi umani	211	Ingegneria genetica e sue applicazioni	231
■ Applicazioni della mappatura dei geni	212	■ Tecniche di analisi del DNA	231
RIFERIMENTO 10.1 Allestimento dei preparati cromosomici	207	■ Enzimi di restrizione	231
RIFERIMENTO 10.2 Diversi tipi di bandeggio	209	■ PCR	234
RIFERIMENTO 10.3 Ibridazione <i>in situ</i>	211	■ Sequenziamento del DNA	238
Capitolo 11		■ Sequenziamento di nuova generazione	240
Mutazione	213	■ Analisi del trascrittoma	243
■ Mutazione genica e sue basi molecolari	214	■ Analisi del proteoma	244
		■ Organismi geneticamente modificati	245
		■ Organismi transgenici	246
		Capitolo 13	
		Polimorfismi	247
		■ Polimorfismi a livello del DNA	249
		■ Impronta molecolare o fingerprinting di un individuo	250

 Diagnosi di malattie genetiche a livello del DNA	250
 "Progetto Genoma Umano"	251
Riquadro 12.1 Elettroforesi su gel degli acidi nucleici	233
Riquadro 12.2 Progetto 1000 genomi	241
Riquadro 12.3 Sequenziamento dell'esoma: un nuovo metodo per identificare le mutazioni responsabili di malattie genetiche umane	241
Riquadro 12.4 Bioinformatica	242
Riquadro 12.5 Terapia genica	246



Capitolo	13
Genetica di popolazioni ed evoluzione	253
 Frequenze alleliche e frequenze genotipiche	254
 Legge di Hardy-Weinberg	256
 Fattori evolutivi	257
■ Matrimoni non casuali	257
■ Deriva genetica	257
■ Migrazione	258
■ Mutazione	258
■ Selezione naturale	259
Riquadro 13.1 Calcolo delle frequenze alleliche	255
Indice analitico	261

Capitolo

5

Flusso di informazione nella materia vivente

Il dogma centrale della Biologia prevede che la molecola del DNA sia coinvolta, oltre che nella conservazione dell'informazione genetica di generazione in generazione tramite il processo della replicazione, anche nel controllo del fenotipo attraverso il processo di espressione genica. Quest'ultimo a sua volta consta di un processo di trascrizione, mediante il quale si ottengono molecole di RNA a partire da uno stampo di DNA, seguito da un processo di traduzione, in cui la molecola di RNA messaggero viene tradotta in una sequenza aminoacidica. Il processo di trascrizione da DNA a RNA può essere invertito nel caso in cui intervengano enzimi con attività di trascrittasi inversa che riescono a sintetizzare un DNA copia (cDNA) a partire da una molecola di RNA ([Figura 5.1](#)). Negli eucarioti i processi di replicazione e trascrizione, unitamente a quasi tutti i processi maturativi dei trascritti, avvengono a livello nucleare, mentre la traduzione avviene a livello citoplasmatico; nei procarioti entrambe le fasi dell'espressione genica avvengono nello stesso compartimento e simultaneamente.

■ Replicazione del DNA

Dopo aver proposto il modello strutturale del DNA come doppia elica con disposizione antiparallela dei due filamenti, Watson e Crick conclusero che l'appa-

iamento specifico delle basi nucleotidiche “suggeriva immediatamente il possibile meccanismo di copiatura” che avrebbe portato, alla fine del processo replicativo, a due doppie eliche identiche fra di esse e identiche alla doppia elica di origine. In altre parole, i due scienziati avanzarono immediatamente l'ipotesi che la replicazione, o duplicazione, si avvalesse di un **meccanismo semiconservativo** in cui ciascun filamento della doppia elica originaria svolgesse la funzione di stampo per un filamento di nuova sintesi sfruttando la complementarità fra le basi azotate. Tuttavia la prova sperimentale a suffragio di tale ipotesi si deve agli studi condotti da Meselson e Stahl e pubblicati nel 1958 con i quali si escludevano gli altri due modelli di replicazione possibili in termini teorici: la duplicazione di tipo conservativo, in cui tra le due doppie eliche originate dalla replicazione una conterrebbe i due filamenti originari e l'altra entrambi i filamenti di nuova sintesi, o di tipo dispersivo, in cui le due doppie eliche originate dopo la replicazione conterrebbero, in maniera alternata, tratti di doppia elica originaria e tratti di doppia elica di nuova sintesi ([Figura 5.2a, b, c](#)). In questo esperimento furono utilizzate cellule di *Escherichia coli* fatte crescere su una fonte di azoto pesante (^{15}N), che presentavano un DNA pesante evidenziabile da una banda posta in basso nella provetta quando centrifugate in gradiente di densità. Dopo un ciclo di replicazione in un terreno

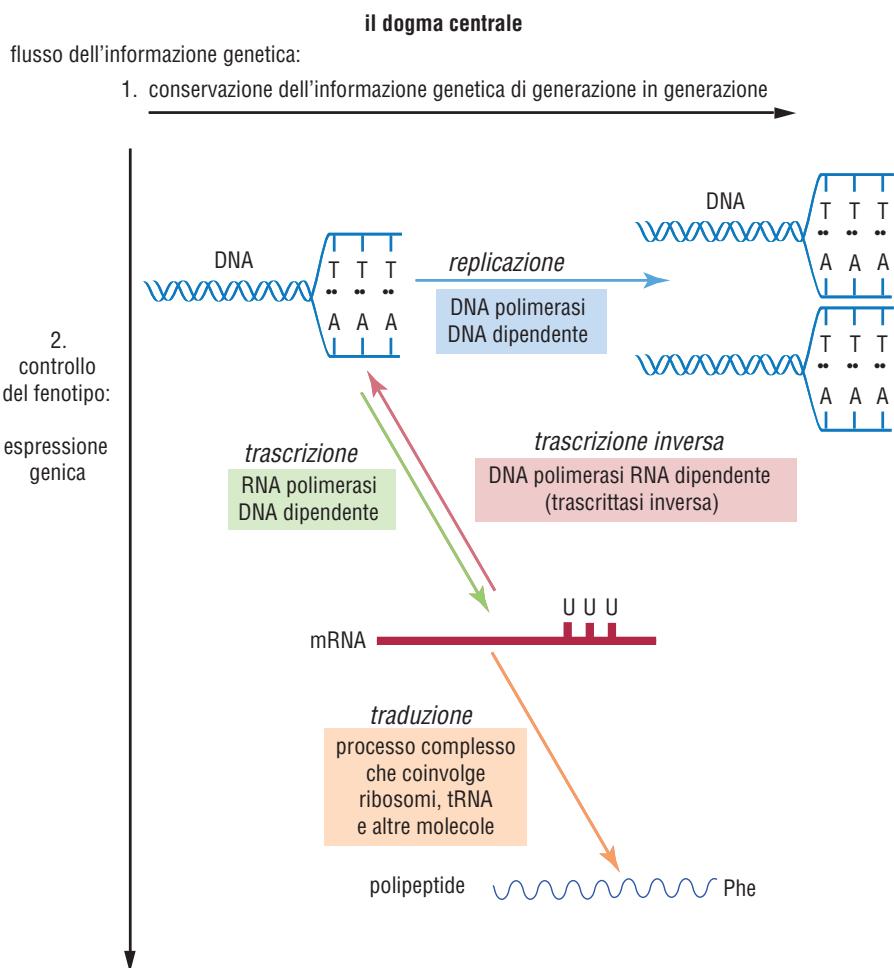


FIGURA 5.1 Flusso dell'informazione secondo il dogma della biologia molecolare.

contenente una fonte di azoto leggero (^{14}N), la centrifugazione del DNA estratto mostrava una unica banda corrispondente a una densità minore rispetto alla precedente, dato che permetteva di escludere il modello conservativo della replicazione. Infine, facendo replicare questi ultimi batteri per un secondo ciclo in terreno con fonte di azoto leggero, la comparsa di una banda più leggera ancora, unitamente al mantenimento della banda corrispondente a densità intermedia, permetteva di escludere anche il meccanismo dispersivo di replicazione del DNA (**Figura 5.2d, e**).

L'apparato replicazionale è un complesso macchinario che richiede un notevolissimo dispendio energetico unitamente all'intervento di numerose proteine. Inoltre, sebbene esistano chiaramente notevoli differenze nella replicazione dei procarioti e degli eucarioti, le tappe fondamentali sono comuni.

La replicazione inizia in siti specifici della molecola di DNA, le origini di replicazione (ricche in A/T) e, a partire da un'origine, essa procede in entrambe le direzioni, generando una bolla di replicazione che

contiene due forche replicate che si spostano in direzioni opposte.

Dal momento che la doppia elica è una struttura stabile, è necessario srotolarla, per rendere disponibili gli stampi, attraverso l'attività di una famiglia di enzimi ATP dipendenti detti **elicasi**; inoltre per stabilizzare questa situazione di “single strand”, termodinamicamente sfavorita, fino a che la copiatura non sarà avvenuta, interverranno una serie di proteine che stabilizzano il singolo filamento (*Single Strand Binding Proteins, SSBP*). La formazione e il progredire della forza replicativa creano nelle regioni limitrofe dei superavvolgimenti (**topoisomeri**) che renderebbero impossibile il prosieguo della replicazione. La risoluzione di tali strutture è affidata a due classi di enzimi che operano introducendo una rottura del singolo o del doppio filamento di DNA in modo temporaneo, le **topoisomerasi I e II** (**Figura 5.3**).

Le **DNA polimerasi** (**Tabella 5.1**) costituiscono gli enzimi effettori del processo replicativo: esse sintetizzano una nuova elica in direzione $5'\text{P} \rightarrow 3'\text{OH}$, sfrut-

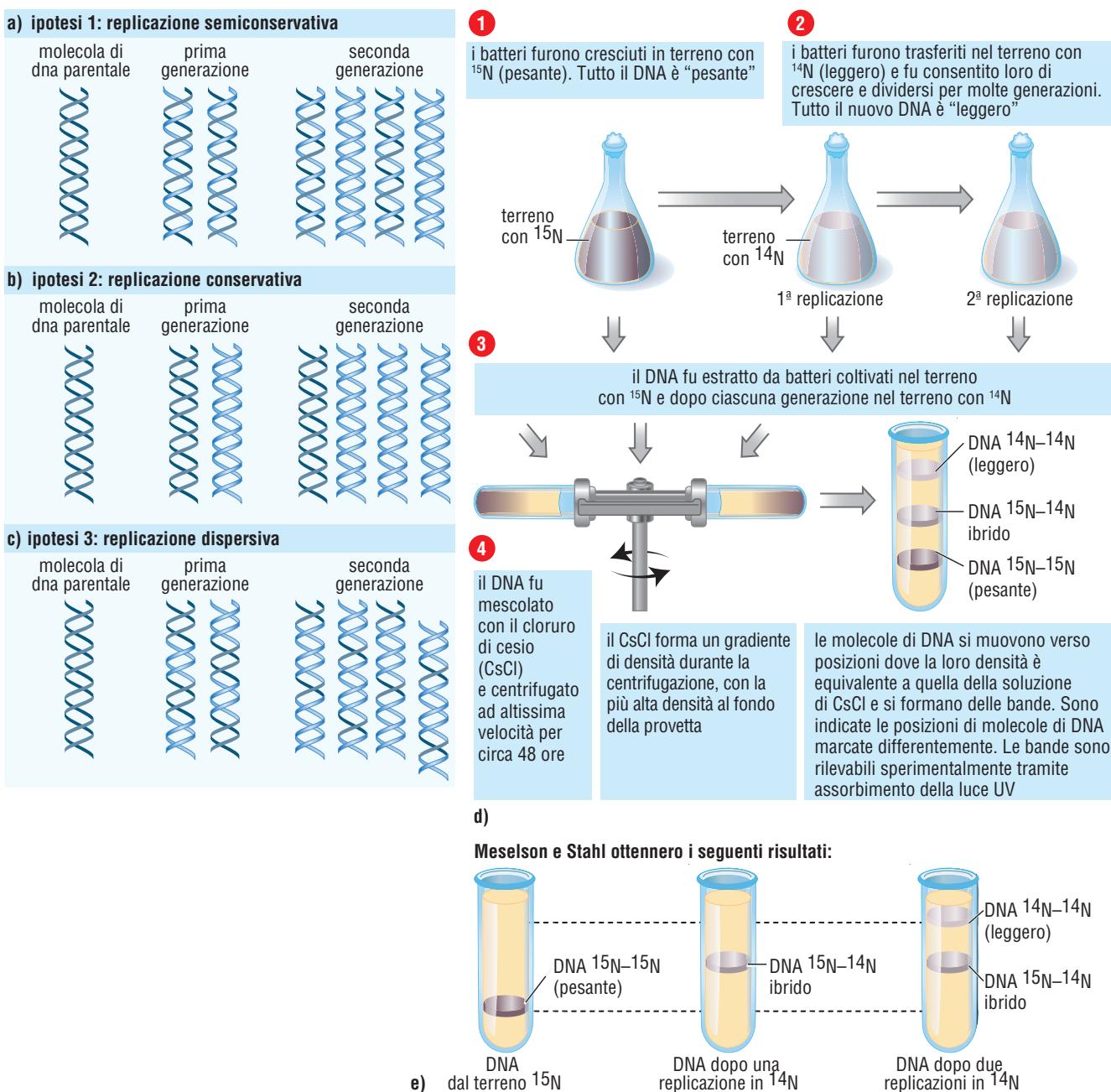


FIGURA 5.2 Modelli di replicazione e l'esperimento di Meselson e Stahl. L'organizzazione attesa dei filamenti di DNA vecchi (blu scuro) e neosintetizzati (blu chiaro), dopo una e due generazioni secondo (a) il modello semiconservativo; (b) il modello conservativo o (c) il modello dispersivo. (d) Meselson e Stahl fecero crescere per molte generazioni il batterio *Escherichia coli* in un terreno contenente azoto pesante (^{15}N). Alcune cellule furono quindi trasferite in terreno contenente azoto leggero (^{14}N). Il DNA fu estratto dalle cellule cresciute solo in terreno con ^{15}N e da cellule trasferite per una o due generazioni, in terreno con ^{14}N . (e) La densità delle molecole in ogni gruppo è coerente con il quadro di marcatura atteso se il DNA viene replicato secondo il modello semiconservativo.

tando il meccanismo di complementarità con i nucleotidi della semielica stampo che, al contrario, viene letta dal 3' al 5'. I substrati delle DNA polimerasi sono i desossiribonucleotidi trifosfato e l'idrolisi del pirofosfato fornisce l'energia necessaria alla forma-

zione dei legami fosfodiesteri del polinucleotide (Figura 5.4). Dal momento che le DNA polimerasi non sono in grado di iniziare *de novo* la sintesi del DNA, è necessario che venga fornito un innesco che renda disponibile il terminale 3'OH su cui continua-

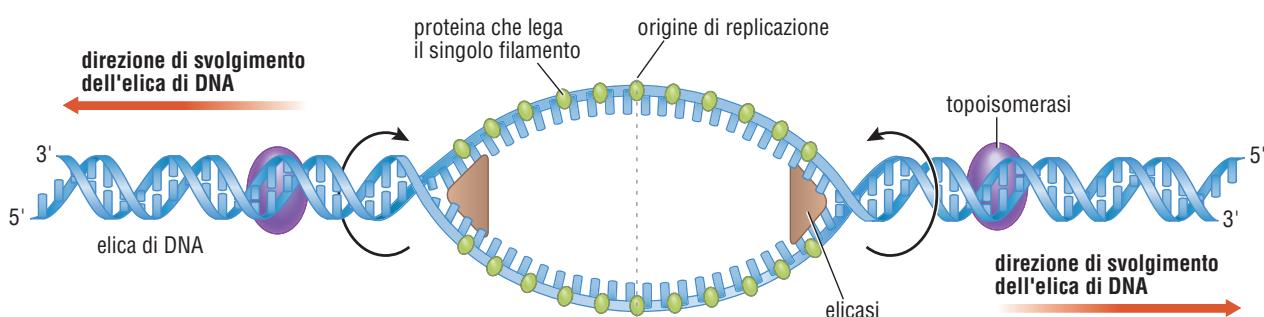


FIGURA 5.3 Separazione dei filamenti di DNA durante la replicazione. I filamenti di DNA si separano a livello dell'origine di replicazione grazie all'azione di una DNA elicasi ATP dipendente che crea una "bolla di replicazione" con una forca di replicazione a forma di Y a ognuna delle due estremità della bolla. Le proteine che legano il singolo filamento si dispongono sui due filamenti singoli per evitare la riformazione dell'elica. Lo svolgimento dei filamenti determina la formazione di superavvolgimenti a valle della forca replicativa. Gli enzimi topoisomerasi eliminano questi superavvolgimenti operando tagli, svolgimenti e rigiunzioni dei filamenti appaiati.

TABELLA 5.1 Classificazione delle DNA polimerasi procariotiche ed eucariotiche

Enzimi	Direzione della sintesi	DNA polimerasi procariotiche ed eucariotiche	
		Attività exonucleasica	Funzioni possibili
<i>Procariotici</i>			
Polimerasi I	5' → 3'	3' → 5' 5' → 3'	Riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesto; riparazione del DNA
Polimerasi II	5' → 3' 5' → 3'	3' → 5'	Riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesto; riparazione del DNA
Polimerasi III	5' → 3'	3' → 5'	Enzima principale della replicazione
Polimerasi IV	5' → 3'	?	{ Enzimi che polimerizzano nonostante esista un danneggiamento del DNA
Polimerasi V		?	
<i>Eucariotici</i>			
Polimerasi α	5' → 3'	3' → 5'	Enzima principale della replicazione (assieme alla polimerasi δ); riparazione del DNA
Polimerasi β	5' → 3'	Nessuna	Riparazione del DNA
Polimerasi γ	5' → 3'	3' → 5'	Enzima della replicazione dei mitocondri
Polimerasi δ	5' → 3'	3' → 5'	Enzima principale della replicazione (assieme alla polimerasi α)
Polimerasi ε	5' → 3'	3' → 5'	Riparazione del DNA
Polimerasi ζ	5' → 3'	?	{ Enzimi che polimerizzano nonostante esista un danneggiamento del DNA
Polimerasi η	5' → 3'	?	

re la polimerizzazione. Tale innesco è costituito da un breve frammento di RNA primer (5-14 ribonucleotidi) che viene sintetizzato a opera di una particolare RNA polimerasi, detta **DNA primasi**, e dovrà in seguito essere rimosso. Dal momento che l'attività polimerasica delle DNA polimerasi si svolge sempre in direzione 5' → 3' su uno stampo 3' → 5', con il procedere della forca replicativa i due filamenti si vengono a trovare in due situazioni diverse: quello che si sta replicando nella stessa direzione dell'avanzamento della forca replicativa potrà continuare la replicazio-

ne in maniera continua (filamento guida o *leading chain*); quello che invece si replica in direzione opposta rispetto all'avanzamento della forca si replica per frammenti (filamento ritardato o *lagging chain*) dal momento che periodicamente verrà reinserito un primer a opera della primasi su cui poi la polimerasi aggiungerà 100-2000 nucleotidi. Quando il frammento neosintetizzato incontrerà il precedente, si renderà necessaria la rimozione del primer e la sua sostituzione con le corrispondenti sequenze 2 desosiribonucleotidiche. La rimozione è affidata all'attivi-

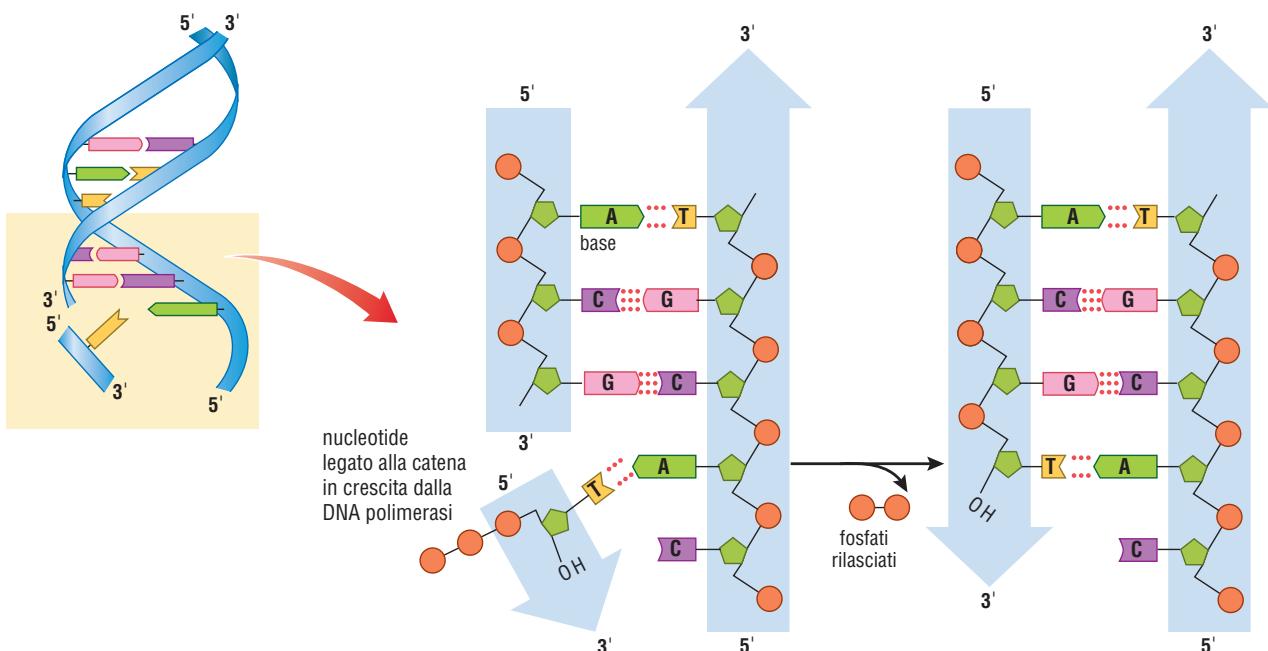


FIGURA 5.4 Visione semplificata della replicazione del DNA. Un nucleotide alla volta viene aggiunto all'estremità 3' della catena nascente.

tà 5'P esonucleasica della DNA polimerasi I nei batteri o, negli eucarioti, all'attività di una particolare RNasi capace di riconoscere l'ibrido DNA/RNA degradando quest'ultimo (RNasi H), mentre la sostituzione è affidata alle DNA polimerasi. I frammenti, chiamati **frammenti di Okazaki** dal nome del loro scopritore, verranno infine saldati a opera di una **ligasi** (**Figura 5.5**).

Come abbiamo detto, la replicazione del DNA è bidirezionale per cui partendo da una origine di replicazione, il filamento guida in una direzione è ritardato nella direzione opposta (**Figura 5.6a**). Inoltre, mentre i cromosomi batterici essendo circolari si replicano a partire da un'unica origine di replicazione (**Figura 5.6b**), i cromosomi eucariotici, lineari e di dimensioni molto maggiori, si replicano a partire da diverse decine di migliaia di origini di replicazione che vanno in coalescenza e la porzione di DNA che si replica a partire da una origine di replicazione viene definita replicone (**Figura 5.6c, d**).

Altro problema connesso alla replicazione negli eucarioti è quello che riguarda le estremità libere dei cromosomi, i telomeri. A ogni ciclo di replicazione la rimozione del primer a opera dell'RNasi H comporta l'inevitabile accorciamento del telomero nell'elica in ritardo (**Figura 5.7**). Tuttavia, dal momento che le sequenze telomeriche sono costituite da DNA mini-

satellite, altamente ripetuto e non codificante, tale perdita è tollerata dalla cellula anche se sembra correlata ai meccanismi di senescenza cellulare. Per contro, i citotipi che si replicano un numero illimitato di volte sia in ambito fisiologico (precursori della linea germinale, cellule delle lame basali degli epitelii e degli endoteli) che in ambito patologico (cellule con fenotipo neoplastico) necessitano di meccanismi di allungamento dei telomeri dal momento che le continue replicazioni porterebbero all'erosione anche delle sequenze subtelomeriche. In queste cellule è attiva la **telomerasi**, un complesso ribonucleoproteico costituito da: una molecola di RNA denominata **TERC** (*Telomerase RNA Component*), la cui sequenza nucleotidica, ricca in C/A è perfettamente complementare alle sequenze ripetute ricche in T/G, delle estremità telomeriche del DNA; una componente proteica con attività di transcriptasi inversa denominata **TERT** (*Telomerase Reverse Transcriptase*) che usa come stampo la molecola di RNA contenuta all'interno del suo sito catalitico. In seguito all'attività della telomerasi verrà allungata l'elica stampo su cui sarà poi costruito e prolungato un nuovo primer la cui successiva rimozione non porterà all'erosione del telomero (**Figura 5.8**).

Per quanto il processo di replicazione sia dotato di notevole fedeltà, accade che ci siano errori di appaiamento

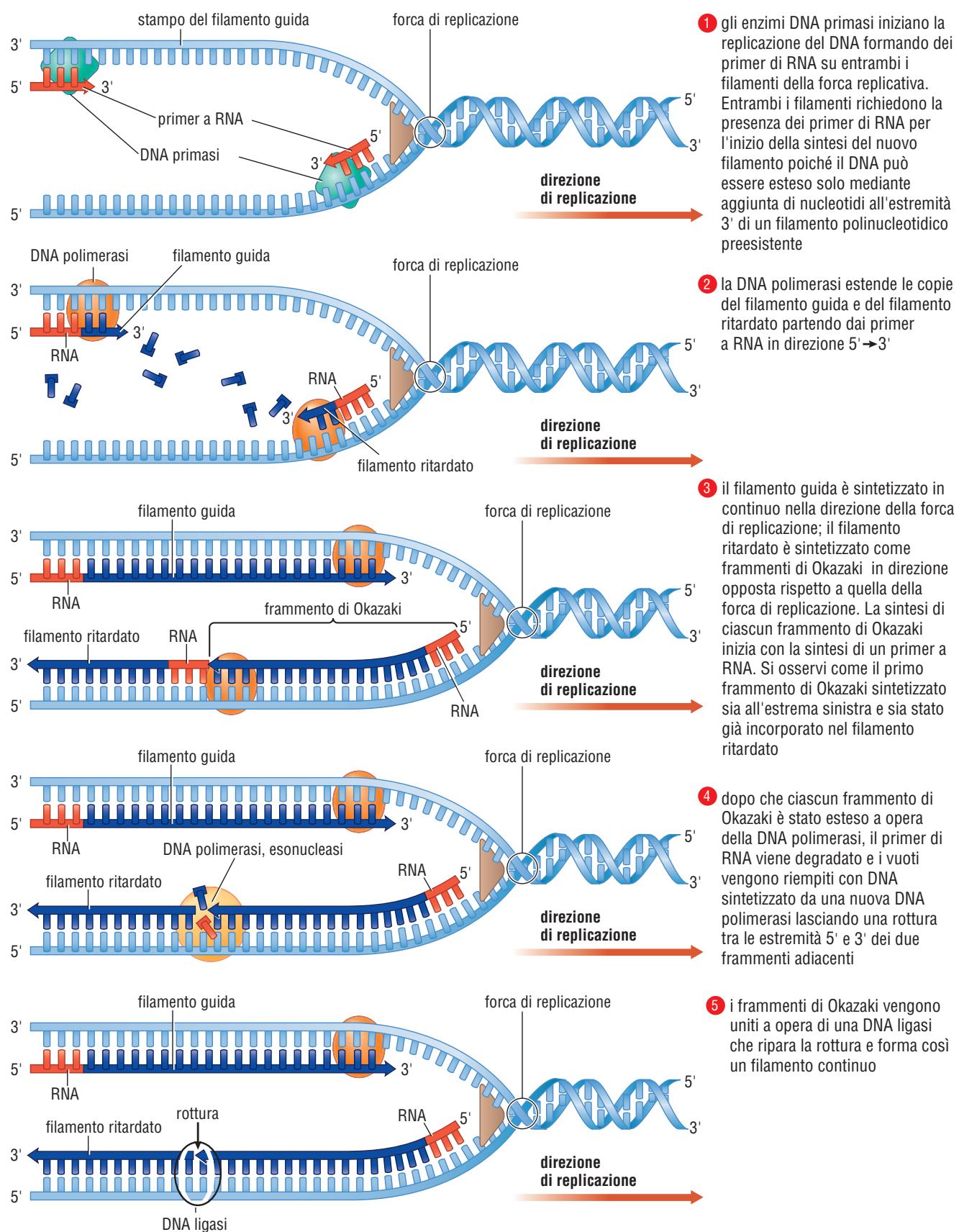


FIGURA 5.5 Panoramica sulla replicazione del DNA.

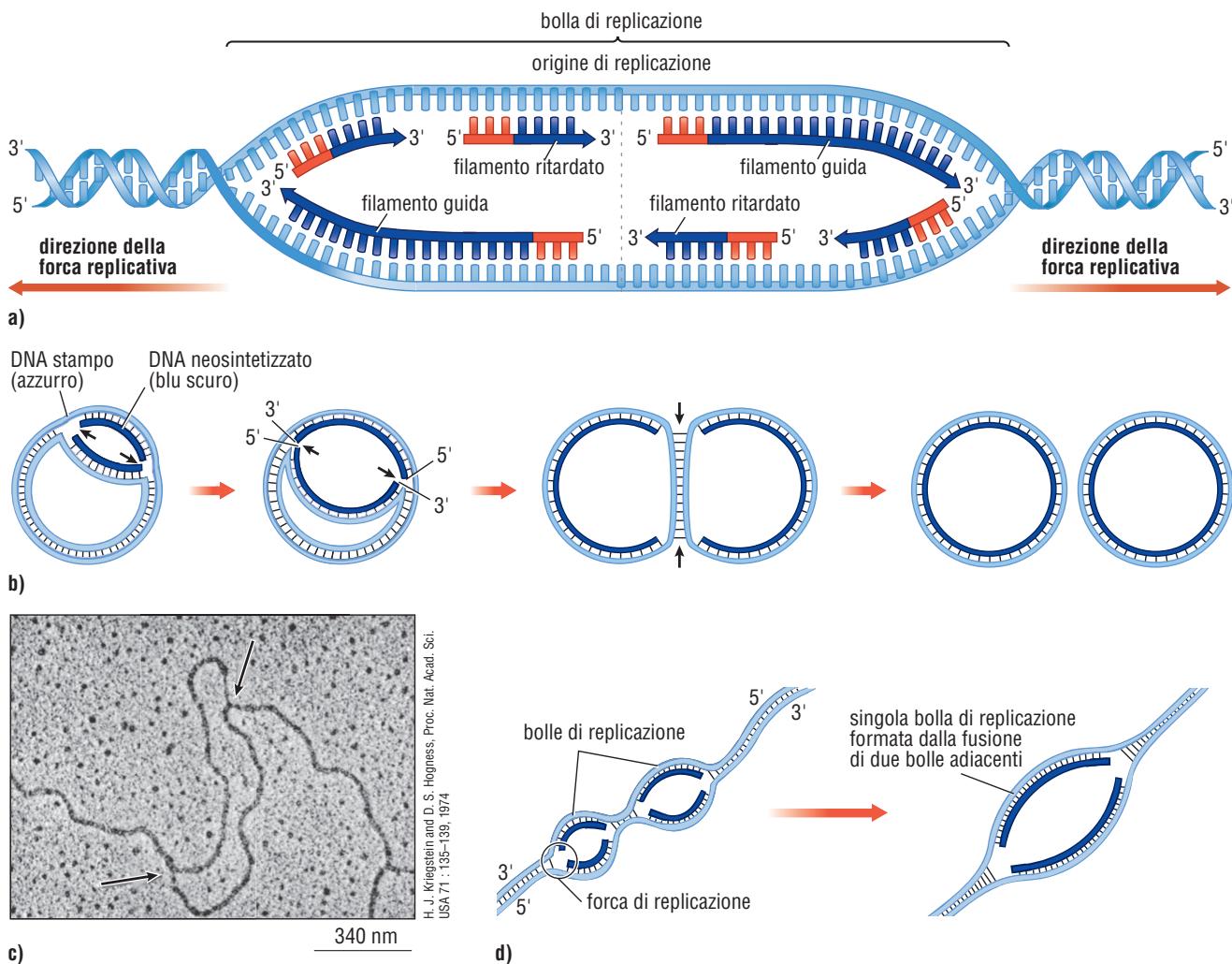


FIGURA 5.6 La replicazione del DNA è bidirezionale nei procarioti e negli eucarioti. **(a)** Sintesi del filamento guida e del filamento ritardato a livello delle due forche replicate di una bolla di replicazione. **(b)** La maggior parte dei plasmidi e dei cromosomi batterici ha una sola origine di replicazione. La sintesi del DNA inizia in quel punto e procede in entrambe le direzioni, con la formazione di due forche di replicazione (frecce nere) che percorrono il cerchio e infine si incontrano per formare due cromosomi. **(c)** Fotografia al MET che mostra due forche di replicazione (frecce nere) in un segmento di un cromosoma eucariotico che è stato parzialmente replicato. **(d)** I cromosomi eucariotici presentano origini di replicazione multiple. La sintesi del DNA procede in entrambe le direzioni a partire da ciascuna origine, fino a quando le bolle di replicazione adiacenti si incontrano.

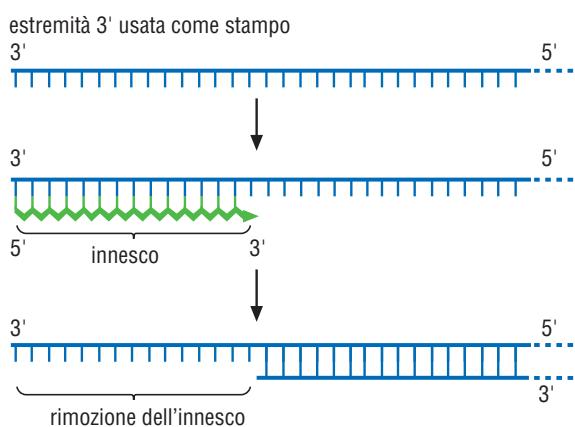


FIGURA 5.7 Il problema dei telomeri: dopo la rimozione dell'innesto non vi è alcun gruppo 3' → OH disponibile come punto di inizio.

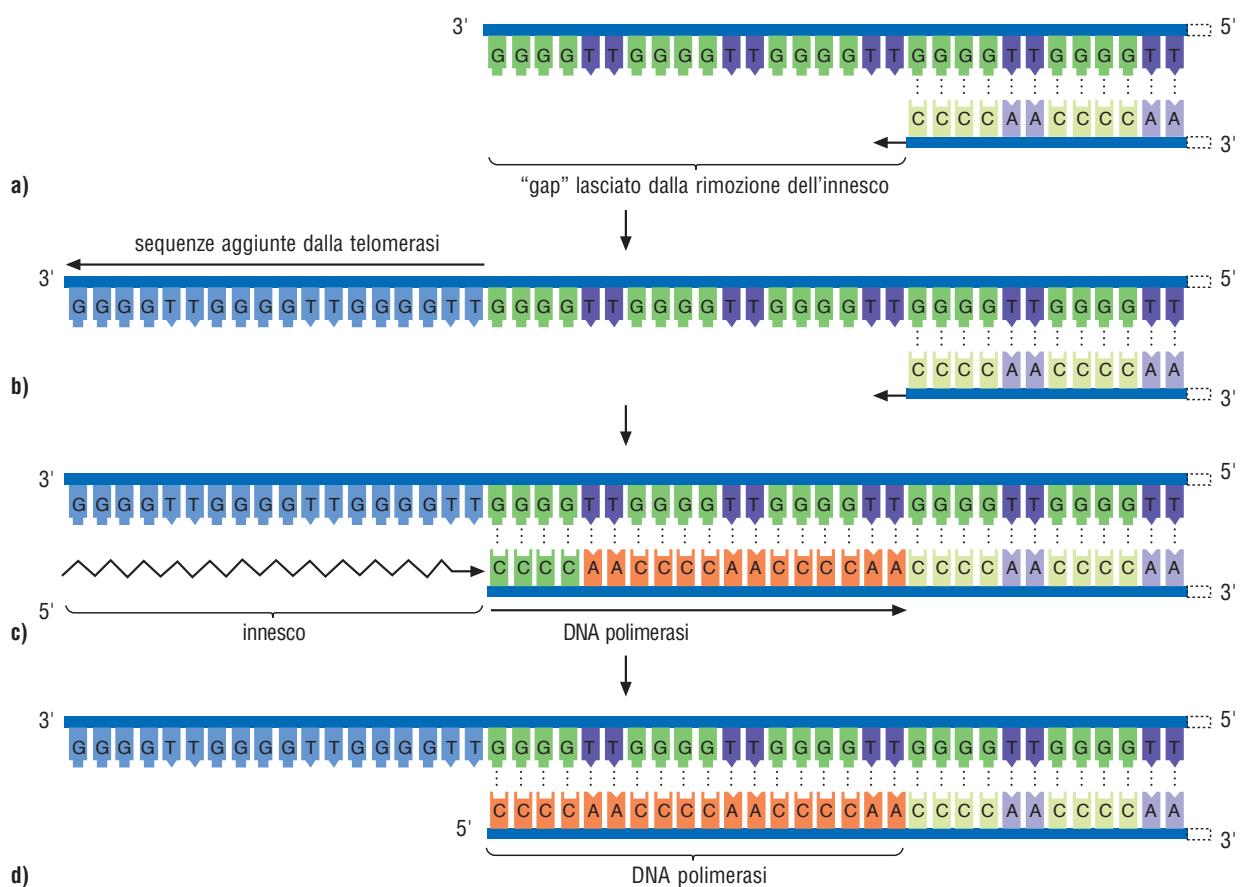


FIGURA 5.8 Meccanismo indiretto della telomerasi. **(a)** Il “gap” lasciato dalla rimozione dell’innesto iniziale. **(b)** La telomerasi estende il filamento stampo. **(c)** Il filamento allungato viene usato come stampo. **(d)** Rimozione del nuovo innesto.

mento che, inevitabilmente, si conservano nelle replicazioni successive: se la sostituzione nucleotidica avviene in una cellula somatica, si presenterà nel clone cellulare da essa derivato; se la sostituzione avviene in un precursore della linea germinale, verrà trasmessa alla progenie (**Figura 5.9**). Nella cellula si sono evoluti efficienti sistemi di riparo che abbassano sensibilmente il tasso di mutazione e si stima che “solo” un errore su un miliardo di nucleotidi non venga corretto. Il primo di questi sistemi è attivo durante la replicazione ed è riconducibile all’attività 3’OH exonucleasica posseduta dalla maggior parte delle DNA polimerasi (**TABELLA 5.1**). Questa attività di correzione di bozze si esplica in caso di errato appaiamento per cui il nucleotide errato viene rimosso prima che la polimerasi riprenda la sua attività polimerizzante incorporando il nucleotide corretto (**Figura 5.10**). Un secondo sistema di riparo interviene invece dopo la replicazione, essendo in grado di riconoscere le distorsioni dell’elica derivanti dall’ap-

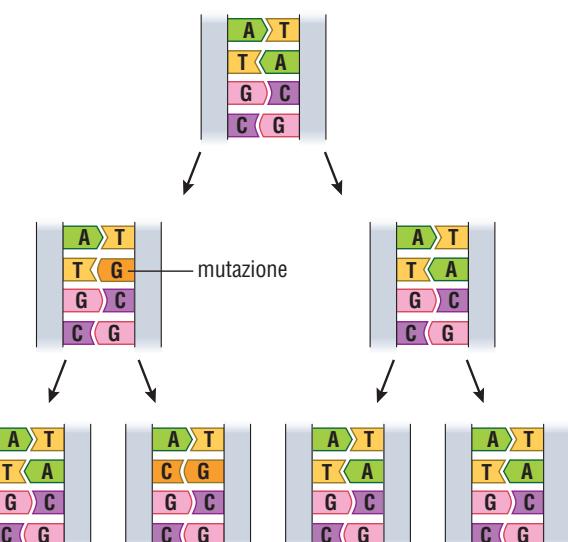


FIGURA 5.9 Il meccanismo di replicazione del DNA è alla base della perpetuazione di una mutazione (arancione) che verrà trasmessa alle generazioni cellulari successive.

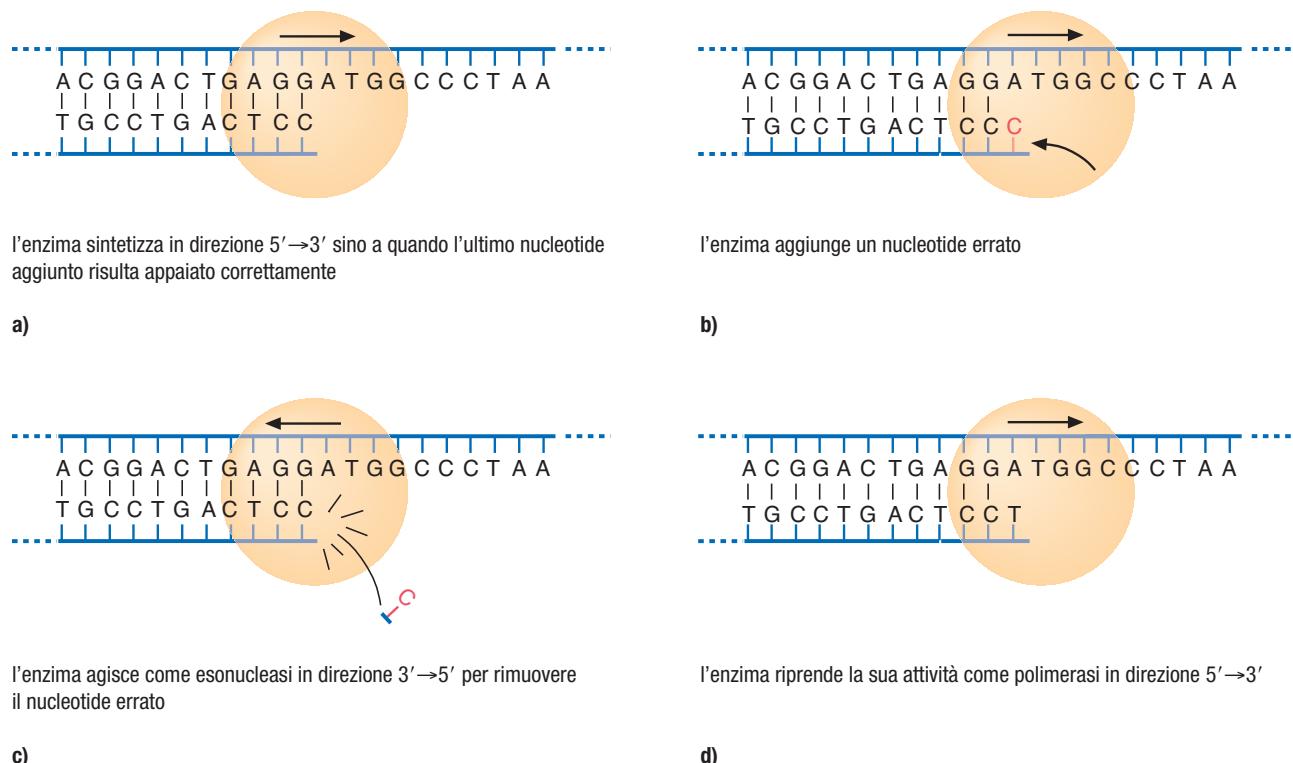


FIGURA 5.10 Attività di “correzione di bozze” delle DNA polimerasi.

paialimento errato, e prevede l’escissione del tratto contenente l’errore prima di un nuovo intervento della DNA polimerasi (*mismatch repair*).

Trascrizione

La trascrizione è il processo di biosintesi di una molecola di RNA a singolo filamento a partire da uno dei filamenti del DNA che funge da stampo. Gli effettori del processo di trascrizione sono le **RNA polimerasi**, enzimi che, utilizzando come substrati i ribonucleotidi trifosfato, sintetizzano il poliribonucleotide in direzione 5' → 3' sull’elica stampo di DNA che viene letta in direzione 3' → 5'. Anche questi enzimi, come le DNA polimerasi, ricavano l’energia per la formazione dei legami fosfodiesteri dall’idrolisi del pirofosfato dei nucleotidi substrati ma, a differenza delle DNA polimerasi, sono in grado di iniziare *de novo* la sintesi dell’RNA per cui il primo ribonucleotide mantiene i tre fosfati al 5' e metterà l’OH al 3' a disposizione per la polimerizzazione (Figura 5.11). Ogni unità trascrizionale inizia a partire dal nucleotide +1, identificato grazie al promotore che sta a monte

di esso, e si interrompe in corrispondenza di specifiche sequenze di terminazione che determinano il distacco dell’RNA polimerasi dall’elica stampo. La sequenza del **promotore**, che non viene trascritta, è fondamentale per l’aggancio dell’RNA polimerasi e per il riconoscimento del filamento che deve essere trascritto. Infatti, come mostra la Figura 5.12, nella molecola di DNA il filamento trascritto può essere l’uno o l’altro in relazione alla posizione della regione del promotore.

Affinché inizi la trascrizione nei procarioti l’RNA polimerasi tetramerică (**apoenzima**) deve interagire con una **subunità σ**, che è in grado di riconoscere le sequenze consensus poste a -10 e -35 del promotore (lungo in genere una quarantina di nucleotidi), costituendo l’**oloenzima** (Figura 5.13). La trascrizione si arresta in corrispondenza delle sequenze di terminazione funzionali al distacco dell’RNA polimerasi dallo stampo. Il trascritto per un mRNA procariotico è caratterizzato da una **sequenza leader** al 5', che è fondamentale per il riconoscimento e il posizionamento della subunità minore del ribosoma all’inizio della traduzione, e da una sequenza trailing al 3'. Fra queste due sequenze si trova la sequenza codificante

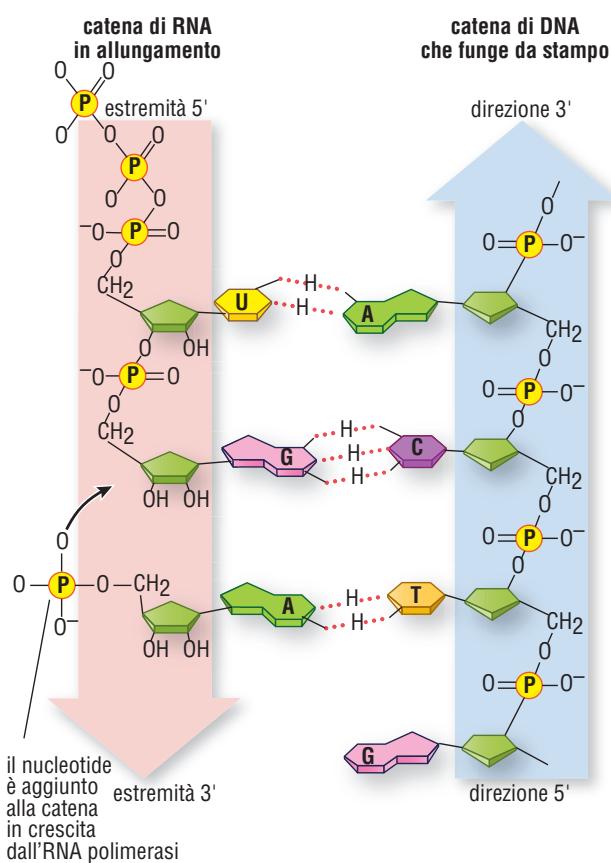


FIGURA 5.11 Una visione molecolare della trascrizione. I nucleosidi trifosfati entranti si appaiano per complementarietà con le basi del filamento di DNA che funge da stampo (a destra). L'RNA polimerasi idrolizza due gruppi fosfato (non mostrato) da ciascun nucleotide e lega il gruppo fosfato rimasto all'estremità 3' della catena di RNA in allungamento mediante un legame covalente. Così l'RNA, come il DNA, viene sintetizzato in direzione 5' → 3'.

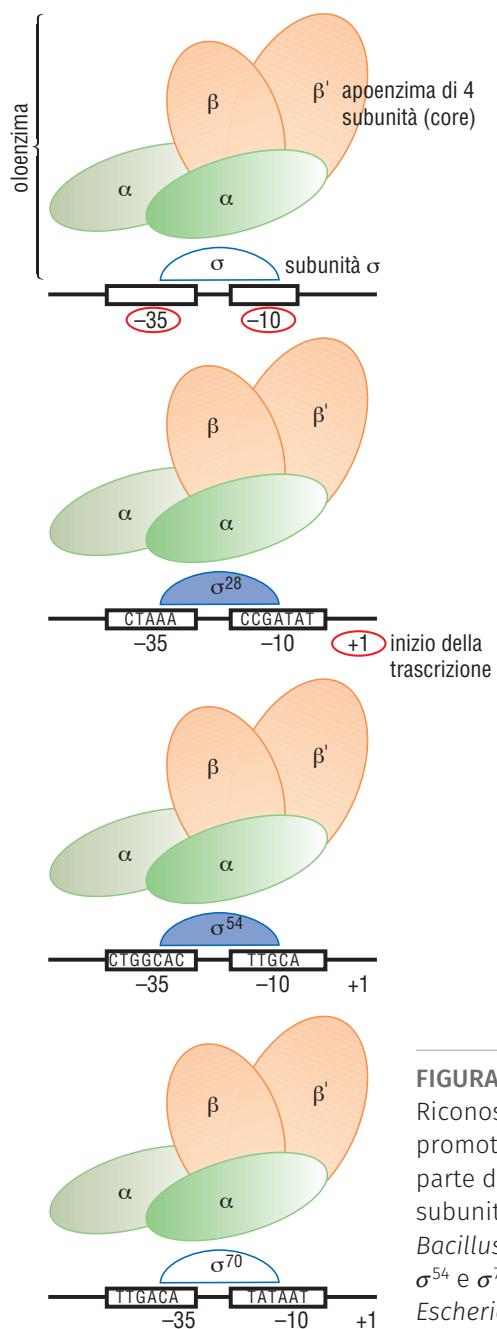


FIGURA 5.13
Riconoscimento di promotori diversi da parte di alcune subunità σ . σ^{28} da *Bacillus subtilis*, σ^{54} e σ^{70} da *Escherichia coli*.

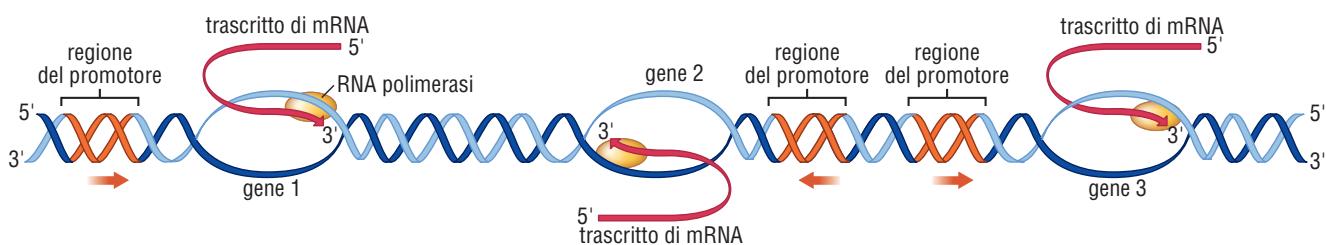


FIGURA 5.12 Il filamento stampo per un gene può essere il filamento non stampo per un altro gene. Solo uno dei due filamenti è trascritto per un dato gene, ma il filamento opposto può essere trascritto per un gene vicino. Ciascun trascritto inizia dal suo promotore (in arancione). La freccia arancione associata a ciascun promotore indica la direzione della trascrizione.

Elementi di Biologia e Genetica

Accedi all'**ebook** e ai
contenuti digitali ➤ **Espandi le tue risorse** ➤ con un libro che **non pesa** e si **adatta**
alle dimensioni del tuo **lettore**



All'interno del volume il **codice personale** e le istruzioni per accedere alla versione **ebook** del testo e agli ulteriori servizi.
L'accesso alle risorse digitali è **gratuito** ma limitato a **18 mesi dalla attivazione del servizio**.

