

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](mailto: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](http://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

1

1

1

2

2

2

3

5

5

5

6

6

7

7

7

8

## Capitolo

2

### Composizione chimica della materia vivente

11

#### ■ Importanza biologica dell'acqua

12

- Acqua come solvente

12

- Acqua e membrane biologiche

15

- Dissociazione dell'acqua

15

#### ■ Composti del carbonio

16

#### ■ Principali classi di composti biologici

19

- Carboidrati

19

- Lipidi

22

#### ■ Macromolecole biologiche e informazione biologica

26

#### ■ Proteine

29

- Struttura chimica delle proteine

30

- Struttura tridimensionale delle proteine

32

- Denaturazione e rinaturazione delle proteine

36

- Regolazione dell'attività biologica delle proteine

37

#### ■ Principale funzione delle proteine: gli enzimi

43

- Energia di attivazione delle reazioni chimiche

43

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

■ Velocità e durata della risposta dipendono dalle vie di segnalazione intracellulari attivate	101
■ Comunicazione cellulare	101
■ Comunicazione endocrina	101
■ Comunicazione paracrina e comunicazione autocrina	102
■ Comunicazione dipendente da contatto o juxtacrina	102
■ Comunicazione neuronale	103
■ Ogni cellula risponde a combinazioni di segnali extracellulari	104
■ Natura chimica del mediatore extracellulare	104
■ Tre classi di recettori di membrana	105
■ Secondi messaggeri	109
■ Relazione fra segnale extracellulare e risposta cellulare	109

## Capitolo

## 5

## Flusso di informazione nella materia vivente 113

■ Replicazione del DNA	113
■ Trascrizione	121
■ Maturazione dei trascritti	124
■ Maturazione dell'mRNA negli eucarioti	124
■ Maturazione di rRNA e tRNA negli eucarioti	127
■ Codice genetico	127

■ tRNA e aminoacil-tRNA sintetasi	129
■ Ribosomi: gli effettori della sintesi proteica	130
■ Traduzione	131
■ Maturazione post-traduzionale e smistamento delle proteine	135
■ Concetto di gene	136
■ Regolazione dell'espressione genica	137
■ Regolazione dell'espressione genica nei procarioti	137
■ Regolazione dell'espressione genica negli eucarioti	140
■ Regolazione post-trascrizionale	143
■ Regolazione post-traduzionale	144

## Capitolo

## 6

## Ciclo cellulare, mitosi e meiosi 145

■ Ciclo cellulare mitotico	145
■ Fasi	145
■ Punti di controllo	146
■ Meccanismi di controllo	147
■ Mitosi	148
■ Profase	148
■ Prometafase	148
■ Metafase	148
■ Anafase	150
■ Telofase	151
■ Ciclo cellulare meiotico	151
■ Meiosi	151

## Capitolo

## 7

## Gametogenesi e fecondazione 155

- Spermatogenesi 155
  - Spermiostogenesi o spermiogenesi 156
  - Controllo ormonale della spermatogenesi 158
- Ovogenesi 158
  - Ciclo ovarico e ciclo uterino 161
- Fecondazione 163

## Capitolo

## 8

## Virus 165

- 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 oncògeni 176

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

## Capitolo

## 9

## Genetica mendeliana 177

- 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
- 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
- Mappe genetiche 201

**RIQUADRO 9.1** Ereditarietà mendeliana monofattoriale nell'uomo 183

**RIQUADRO 9.2** Gruppi sanguigni e alleli multipli 183

## Capitolo

# 10

## Cromosomi umani 205

- Cariotipo umano 205
  - Morfologia dei cromosomi metafasici 205
  - Tecniche di colorazione e bandeggi dei cromosomi umani 206
  - Classificazione e nomenclatura dei cromosomi umani 210
- Mappatura dei geni sui cromosomi umani 211
  - Applicazioni della mappatura dei geni 212

**RIQUADRO 10.1** Allestimento dei preparati cromosomici 207

**RIQUADRO 10.2** Diversi tipi di bandeggio 209

**RIQUADRO 10.3** Ibridazione *in situ* 211

## Capitolo

# 11

## Mutazione 213

- Mutazione genica e sue basi molecolari 214

- Meccanismi di insorgenza delle mutazioni 216
- Conseguenze sull'informazione genetica 220

## ■ Mutazioni cromosomiche e genomiche 224

- Mutazioni cromosomiche e conseguenze 224
- Mutazioni genomiche e conseguenze 224

**RIQUADRO 11.1** Punti caldi di mutazione 218

**RIQUADRO 11.2** Identificazione dei mutageni e carcinogeni ambientali 219

**RIQUADRO 11.3** Evoluzioni della FISH 228

## Capitolo

# 12

## Ingegneria genetica e sue applicazioni 231

- Tecniche di analisi del DNA 231
  - Enzimi di restrizione 231
  - PCR 234
  - Sequenziamento del DNA 238
  - Sequenziamento di nuova generazione 240
  - Analisi del trascrittoma 243
  - Analisi del proteoma 244
- Organismi geneticamente modificati 245
  - Organismi transgenici 246
- 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
---------------------------	-----

<b>RIQUADRO 12.1</b> Elettroforesi su gel degli acidi nucleici	233
--	-----

<b>RIQUADRO 12.2</b> Progetto 1000 genomi	241
---	-----

<b>RIQUADRO 12.3</b> Sequenziamento dell’esoma: un nuovo metodo per identificare le mutazioni responsabili di malattie genetiche umane	241
--	-----

<b>RIQUADRO 12.4</b> Bioinformatica	242
-------------------------------------	-----

<b>RIQUADRO 12.5</b> 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
----------------------	-----

<b>RIQUADRO 13.1</b> Calcolo delle frequenze alleliche	255
--	-----

Indice analitico	261
------------------	-----

# Capitolo

# 5

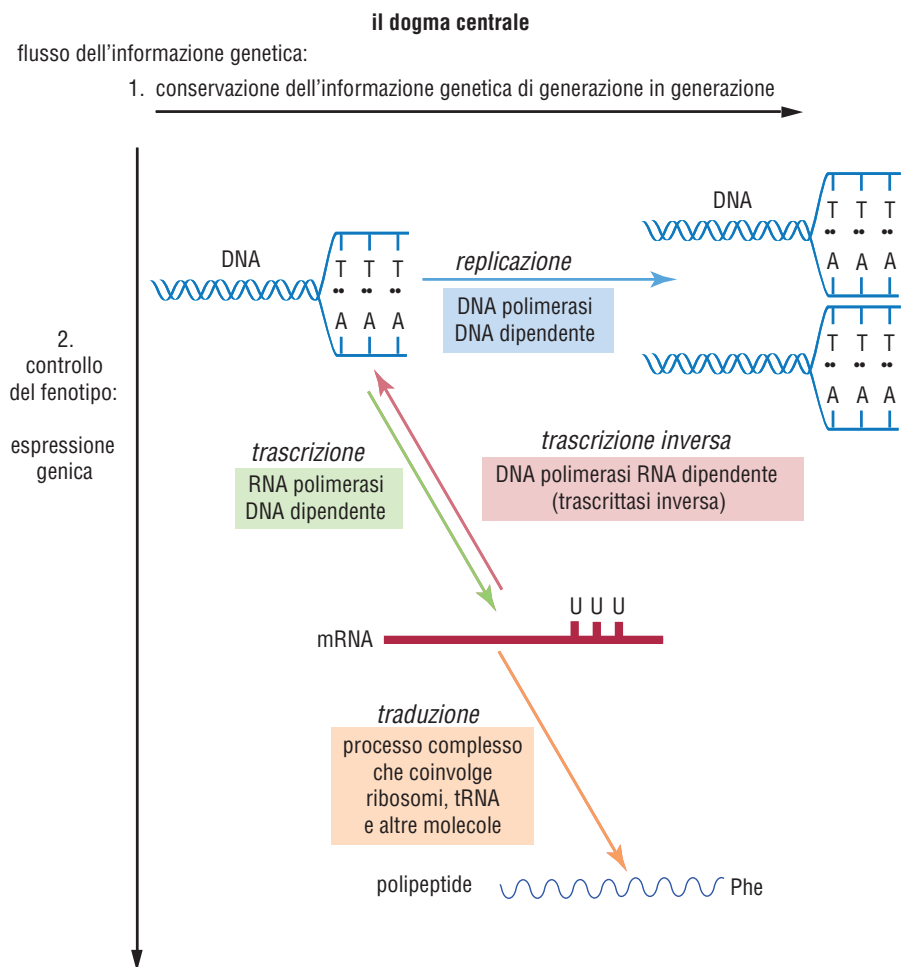
## Flusso di informazione nella materia vivente

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-

ramento 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 avvallesse 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 ( $^{15}\text{N}$ ), 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 ( $^{14}\text{N}$ ), 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

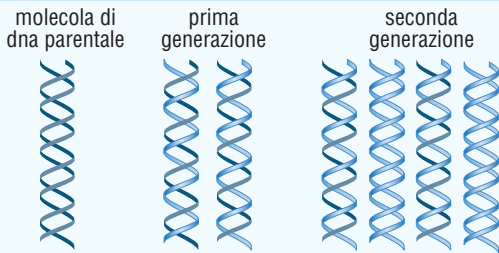
contiene due forche replicative che si spostano in direzioni opposte.

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 forca 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**).

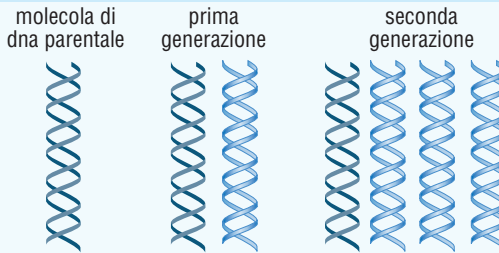
Le **DNA polimerasi** (**Tabella 5.1**) costituiscono gli enzimi effettori del processo replicativo: esse sintetizzano una nuova elica in direzione  $5' \text{P} \rightarrow 3' \text{OH}$ , sfrut-



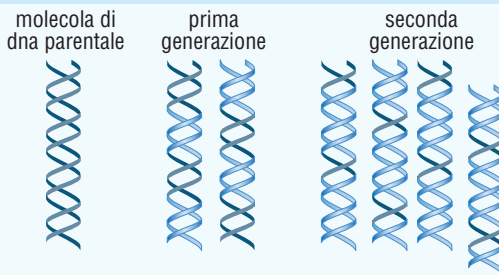
### a) ipotesi 1: replicazione semiconservativa



### b) ipotesi 2: replicazione conservativa



### c) ipotesi 3: replicazione dispersiva



1

i batteri furono cresciuti in terreno con  $^{15}\text{N}$  (pesante). Tutto il DNA è "pesante"

2

i batteri furono trasferiti nel terreno con  $^{14}\text{N}$  (leggero) e fu consentito loro di crescere e dividersi per molte generazioni. Tutto il nuovo DNA è "leggero"

3

il DNA fu estratto da batteri coltivati nel terreno con  $^{15}\text{N}$  e dopo ciascuna generazione nel terreno con  $^{14}\text{N}$

4

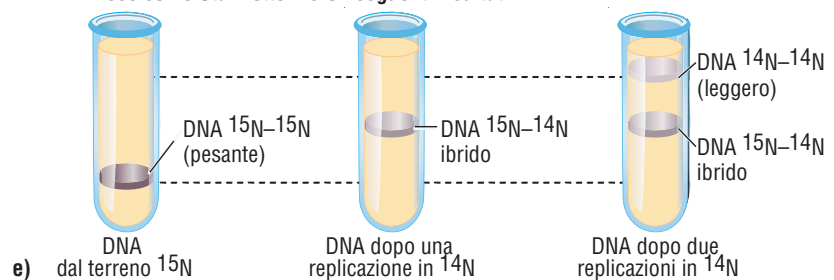
il DNA fu mescolato con il cloruro di cesio ( $\text{CsCl}$ ) e centrifugato ad altissima velocità per circa 48 ore

il  $\text{CsCl}$  forma un gradiente di densità durante la centrifugazione, con la più alta densità al fondo della provetta

le molecole di DNA si muovono verso posizioni dove la loro densità è equivalente a quella della soluzione di  $\text{CsCl}$  e si formano delle bande. Sono indicate le posizioni di molecole di DNA marcate diversamente. Le bande sono rilevabili sperimentalmente tramite assorbimento della luce UV

d)

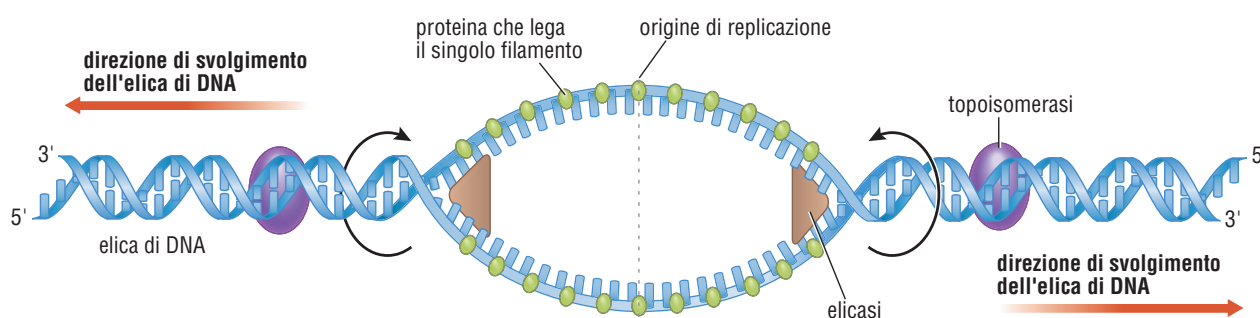
Meselson e Stahl ottennero i seguenti risultati:



**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 ( $^{15}\text{N}$ ). Alcune cellule furono quindi trasferite in terreno contenente azoto leggero ( $^{14}\text{N}$ ). Il DNA fu estratto dalle cellule cresciute solo in terreno con  $^{15}\text{N}$  e da cellule trasferite per una o due generazioni, in terreno con  $^{14}\text{N}$ . (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 fosfodiesterici 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-



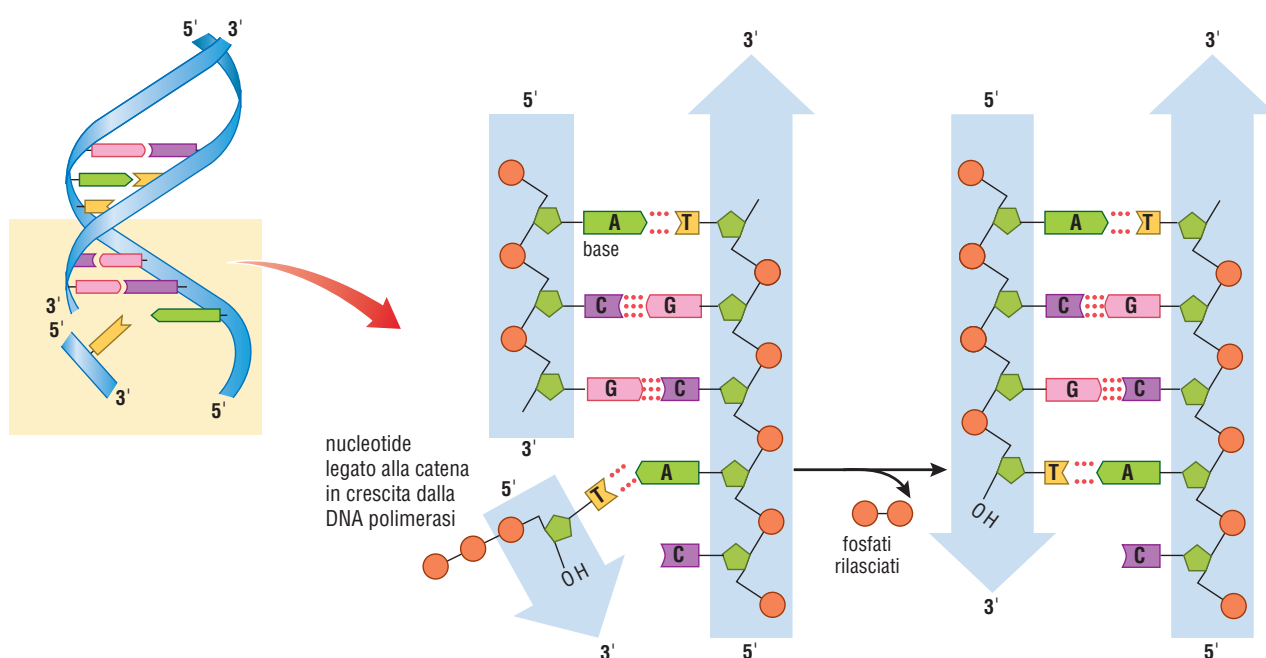
**FIGURA 5.3** Separazione dei filamenti di DNA durante la replicazione. I filamenti di DNA si separano a livello dell'origine di replicazione grazie all'azione di una DNA elicasa ATP dipendente che crea una "bolla di replicazione" con una forca di replicazione a forma di Y a ognuna delle due estremità 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 esonucleasica	Funzioni possibili
<i>Procariotici</i>			
Polimerasi I	5' → 3'	3' → 5' 5' → 3'	Riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; riparazione del DNA
Polimerasi II	5' → 3'	3' → 5'	Riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; 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	5' → 3'	?	
<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 desossiribonucleotidiche. 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.

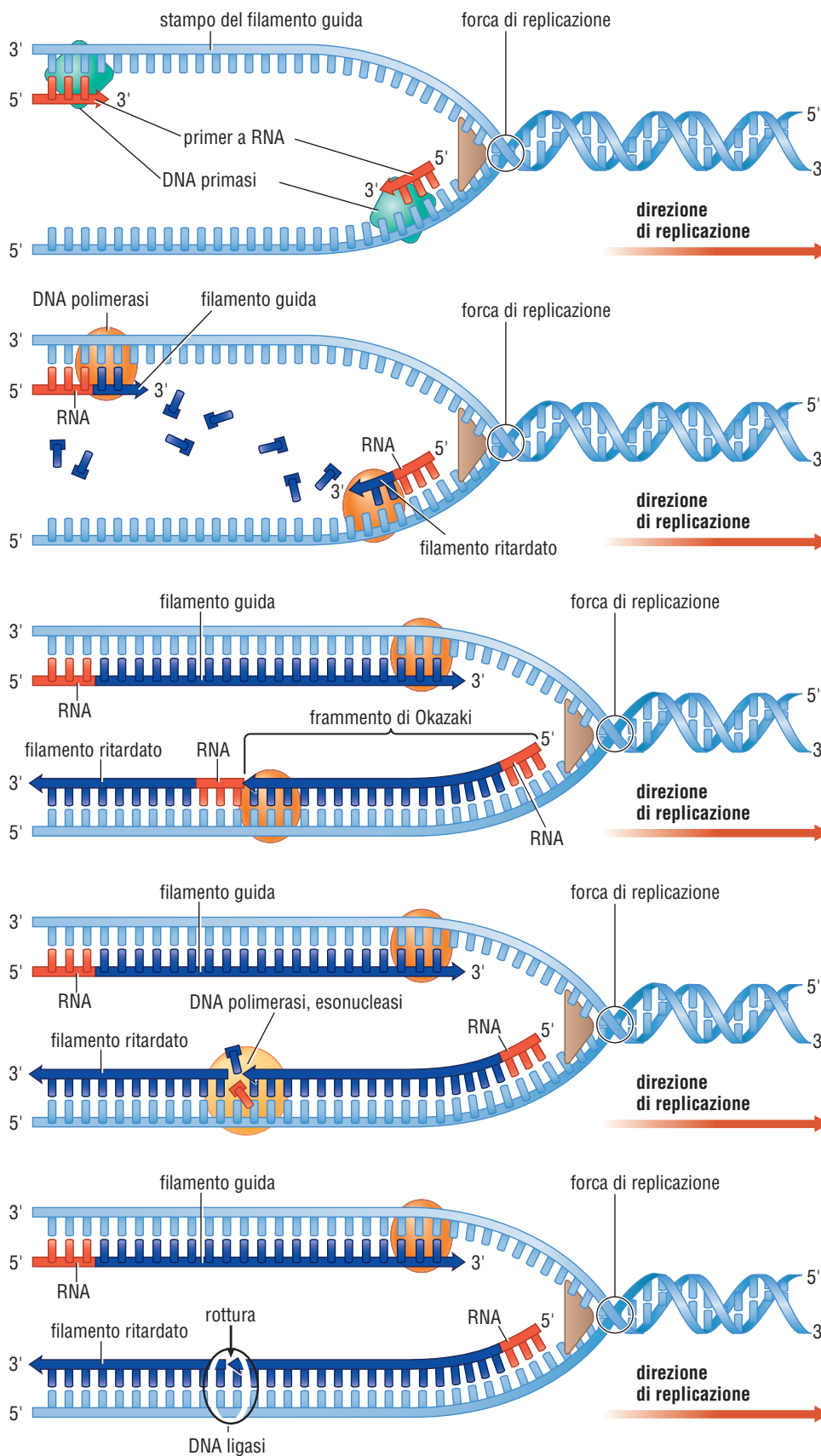
tà 5'P esonucleasica della DNA polimerasi I nei batteri o, negli eucarioti, all'attività di una particolare RNasi capace di riconoscere l'ibrido DNA/RNA degradando quest'ultimo (RNasi H), mentre la sostituzione è affidata alle DNA polimerasi. I frammenti, chiamati **frammenti di Okazaki** dal nome del 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 lamine basali degli epiteli e degli endoteli) che in ambito patologico (cellule con fenotipo neoplastico) necessitano di meccanismi di allungamento dei telomeri dal momento che le continue repliche 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 trascrittasi 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



1 gli enzimi DNA primasi iniziano la replicazione del DNA formando dei primer di RNA su entrambi i filamenti della forca replicativa. Entrambi i filamenti richiedono la presenza dei primer di RNA per l'inizio della sintesi del nuovo filamento poiché il DNA può essere esteso solo mediante aggiunta di nucleotidi all'estremità 3' di un filamento polinucleotidico preesistente

2 la DNA polimerasi estende le copie del filamento guida e del filamento ritardato partendo dai primer a RNA in direzione 5' → 3'

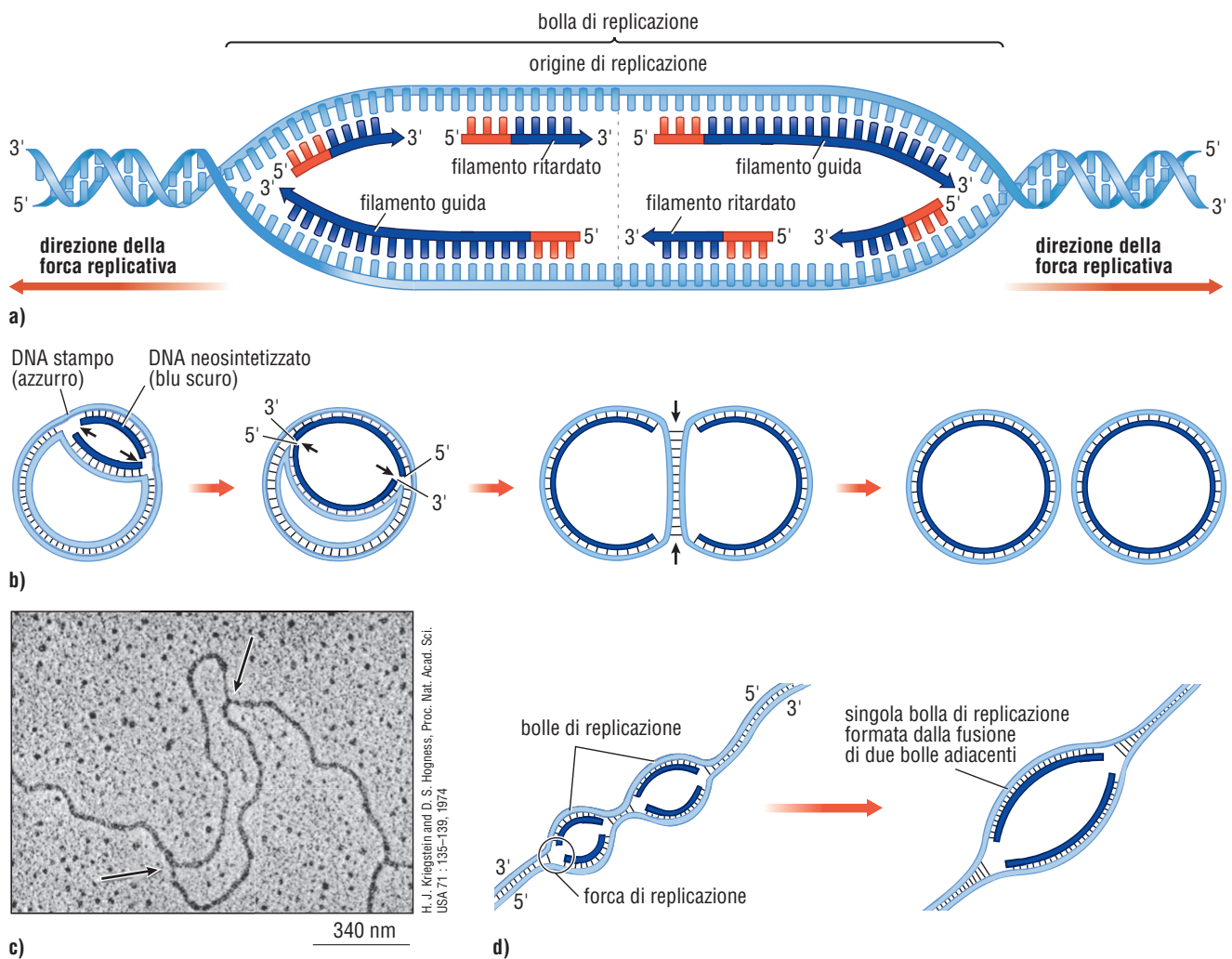
3 il filamento guida è sintetizzato in continuo nella direzione della forca di replicazione; il filamento ritardato è sintetizzato come frammenti di Okazaki in direzione opposta rispetto a quella della forca di replicazione. La sintesi di ciascun frammento di Okazaki inizia con la sintesi di un primer a RNA. Si osservi come il primo frammento di Okazaki sintetizzato sia all'estrema sinistra e sia stato già incorporato nel filamento ritardato

4 dopo che ciascun frammento di Okazaki è stato esteso a opera della DNA polimerasi, il primer di RNA viene degradato e i vuoti vengono riempiti con DNA sintetizzato da una nuova DNA polimerasi lasciando una rottura tra le estremità 5' e 3' dei due frammenti adiacenti

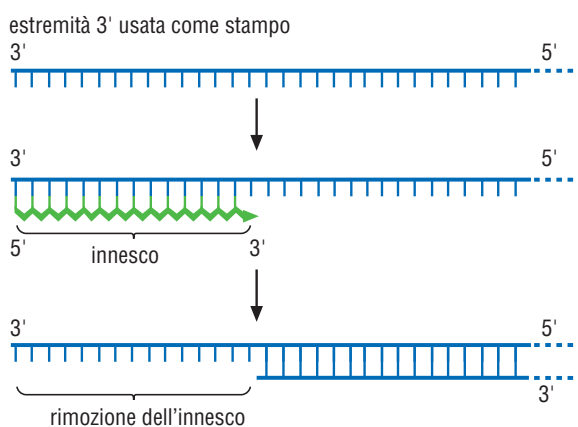
5 i frammenti di Okazaki vengono uniti a opera di una DNA ligasi che ripara la rottura e forma così un filamento continuo

**FIGURA 5.5** Panoramica sulla replicazione del DNA.

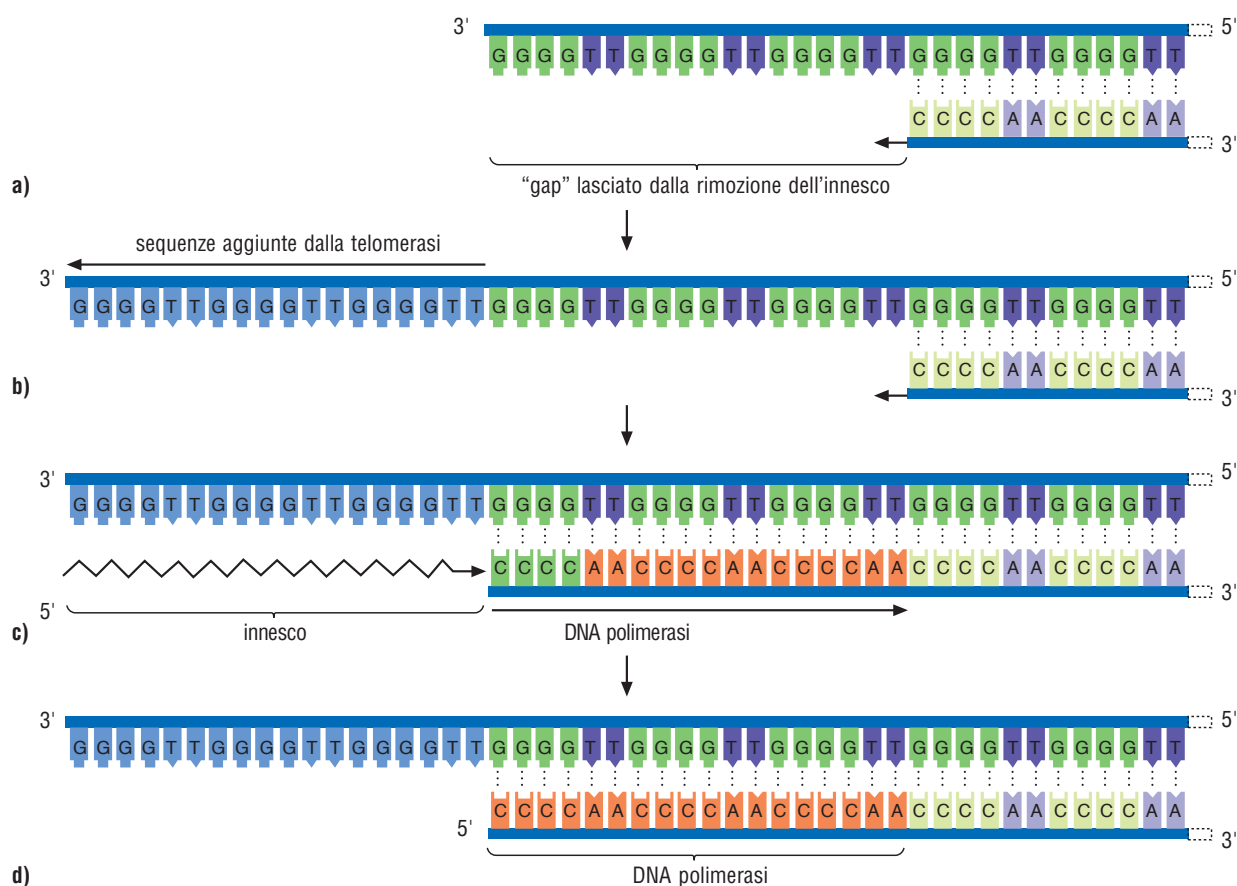




**FIGURA 5.6** La replicazione del DNA è bidirezionale nei procarioti e negli eucarioti. **(a)** Sintesi del filamento guida e del filamento ritardato a livello delle due forche replicative di una bolla di replicazione. **(b)** La maggior parte dei plasmidi e dei cromosomi batterici ha una sola origine di replicazione. La sintesi del DNA inizia in quel punto e procede in entrambe le direzioni, con la formazione di due forche di replicazione (freccie nere) che percorrono il cerchio e infine si incontrano per formare due cromosomi. **(c)** Fotografia al MET che mostra due forche di replicazione (freccie 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.

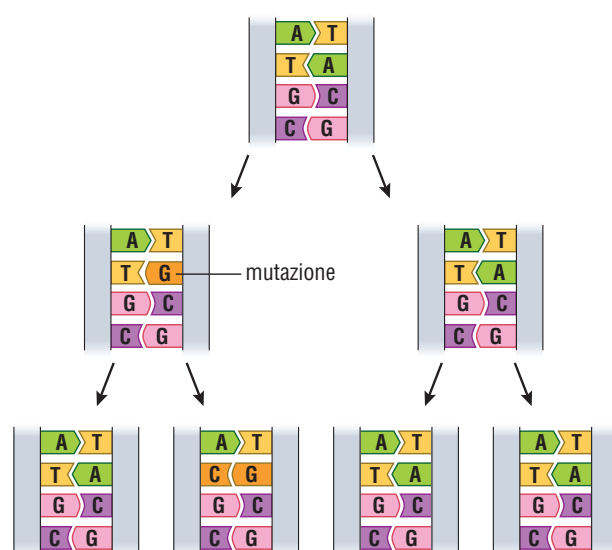


**FIGURA 5.7** Il problema dei telomeri: dopo la rimozione dell'innesco non vi è alcun gruppo  $3' \rightarrow OH$  disponibile come punto di inizio.

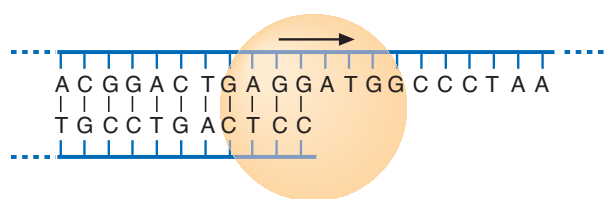


**FIGURA 5.8** Meccanismo indiretto della telomerasi. **(a)** Il "gap" lasciato dalla rimozione dell'innesco iniziale. **(b)** La telomerasi estende il filamento stampo. **(c)** Il filamento allungato viene usato come stampo. **(d)** Rimozione del nuovo innesco.

mento che, inevitabilmente, si conservano nelle repliche 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 esonucleasica 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-

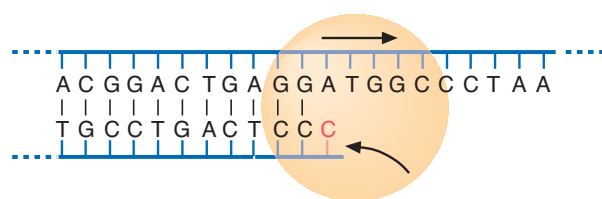


**FIGURA 5.9** Il meccanismo di replicazione del DNA è alla base della perpetuazione di una mutazione (arancione) che verrà trasmessa alle generazioni cellulari successive.



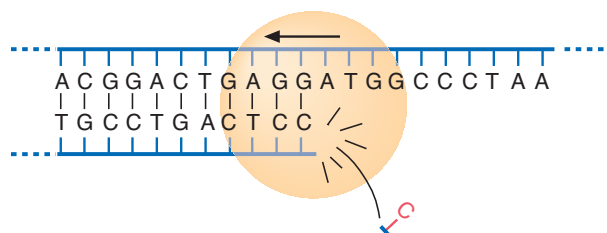
l'enzima sintetizza in direzione 5'→3' sino a quando l'ultimo nucleotide aggiunto risulta appaiato correttamente

a)



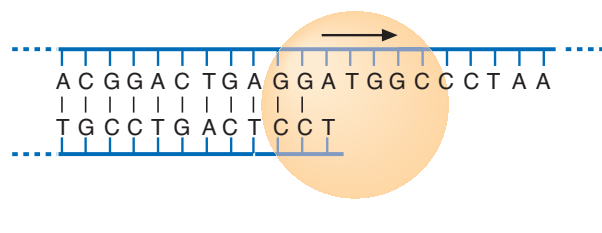
l'enzima aggiunge un nucleotide errato

b)



l'enzima agisce come esonucleasi in direzione 3'→5' per rimuovere il nucleotide errato

c)



l'enzima riprende la sua attività come polimerasi in direzione 5'→3'

d)

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

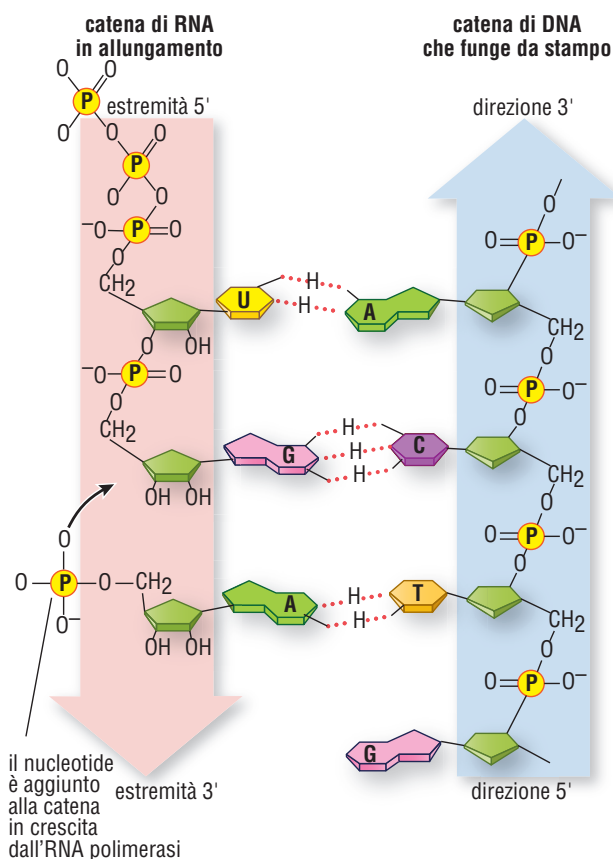
paio errato, e prevede l'escissione del tratto contenente l'errore prima di un nuovo intervento della DNA polimerasi (*mismatch repair*).

## Trascrizione

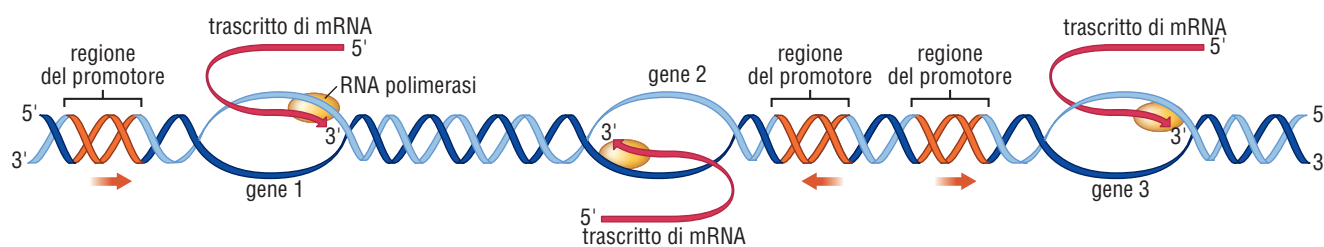
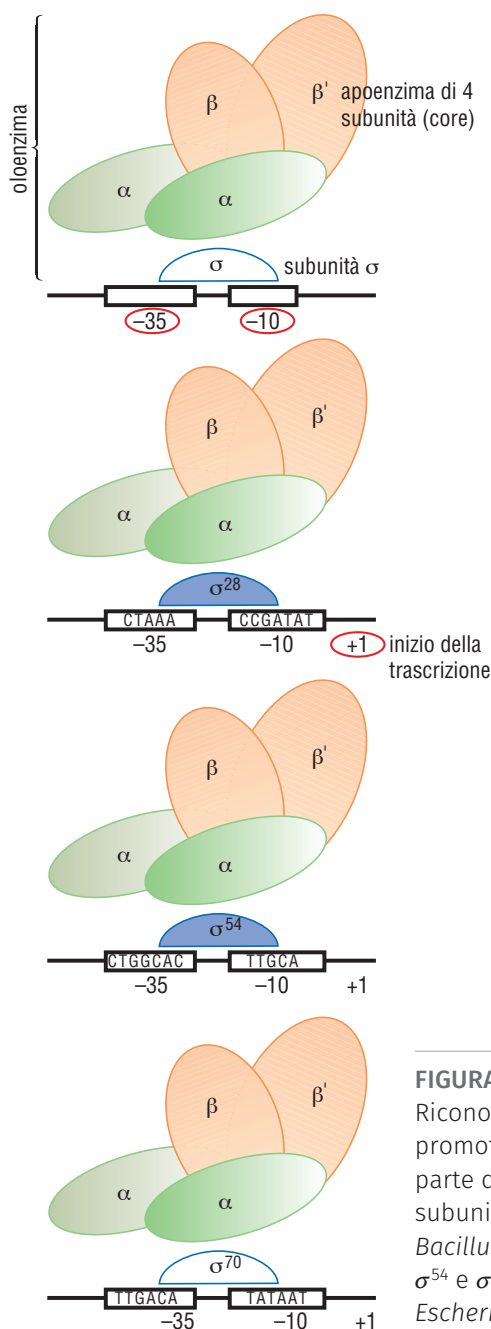
La trascrizione è il processo di biosintesi di una molecola di RNA a singolo filamento a partire da uno dei filamenti del DNA che funge da stampo. Gli effettori del processo di trascrizione sono le **RNA polimerasi**, enzimi che, utilizzando come substrati i ribonucleotidi trifosfato, sintetizzano il 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 fosfodiesterici 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 manterrà 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 tetramerica (**apoenzima**) deve interagire con una **subunità  $\sigma$** , 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 complementarità 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  $5' \rightarrow 3'$ .



**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**.

