

Biologia - Paola Rizzo- Ottobre- Novembre

- Biologia e genetica, a cura di De Leo, Ginelli, Fasano, EdiSes, Napoli II edizione
- **Basi chimiche e organizzazione molecolare della “vita”**
- Le basi dell'organizzazione biologica
- Flusso informazione e regolazione espressione genica
- Funzione cellulare e traffico intracellulare
- Riproduzione e ciclo cellulare
- Biologia della cellula trasformata

BIOLOGIA

Bios logos = studio della vita

Alimentazione: capacità di trasformare le sostanze e di ricavare energia, eliminando i prodotti di rifiuto

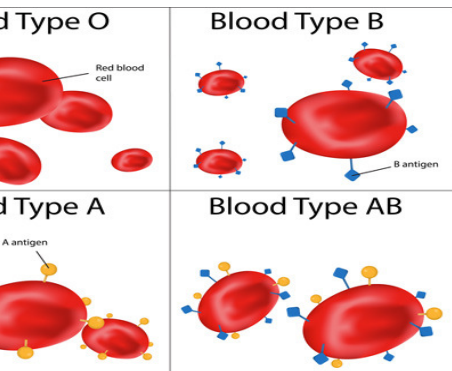
Crescita e cambiamenti: non solo in dimensioni , ma anche differenziandosi e morendo

Movimento

Risposta agli stimoli

Riproduzione : capacità di dare origine ad esseri simili a sé stessi

Perché studiare la biologia



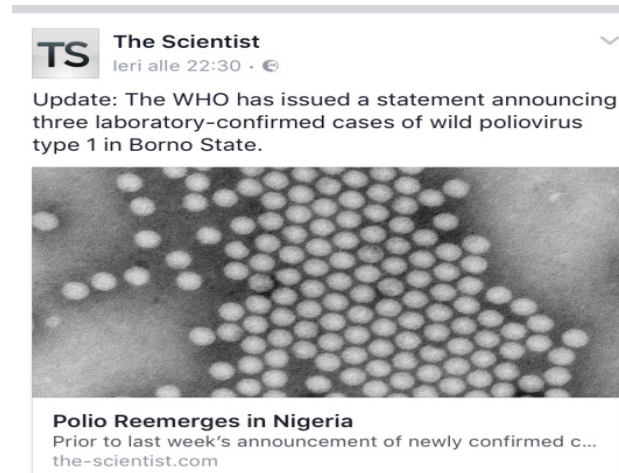
Prerogative delle nostre cellule per migliori approcci terapeutici



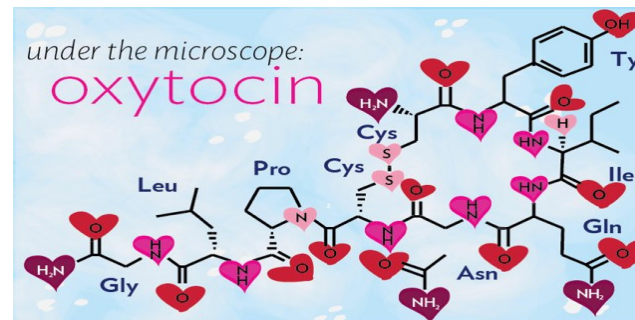
Trust me, I'm a "Biologist" ha aggiunto una nuova foto.



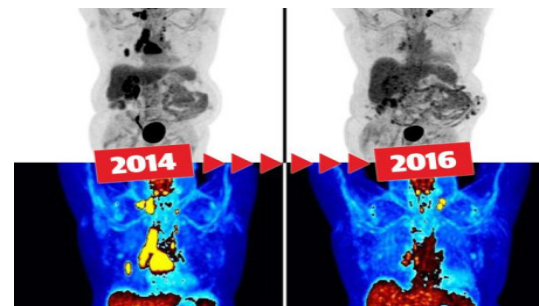
Prevenzione delle malattie genetiche



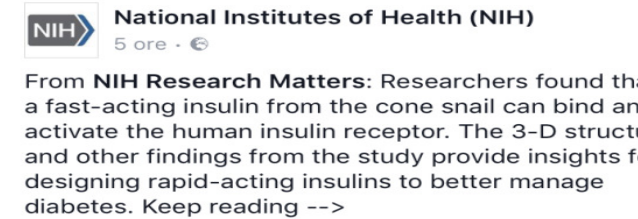
Armi contro il virus



Rapporti tra gli esseri umani

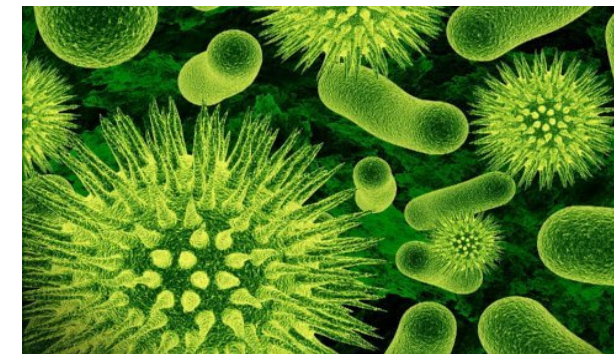


Nuove cure contro il cancro



Cone snail venom reveals insulin insights
A study of a fast-acting insulin from the cone snail provided new insights into how it works. [nih.gov](https://www.nih.gov)

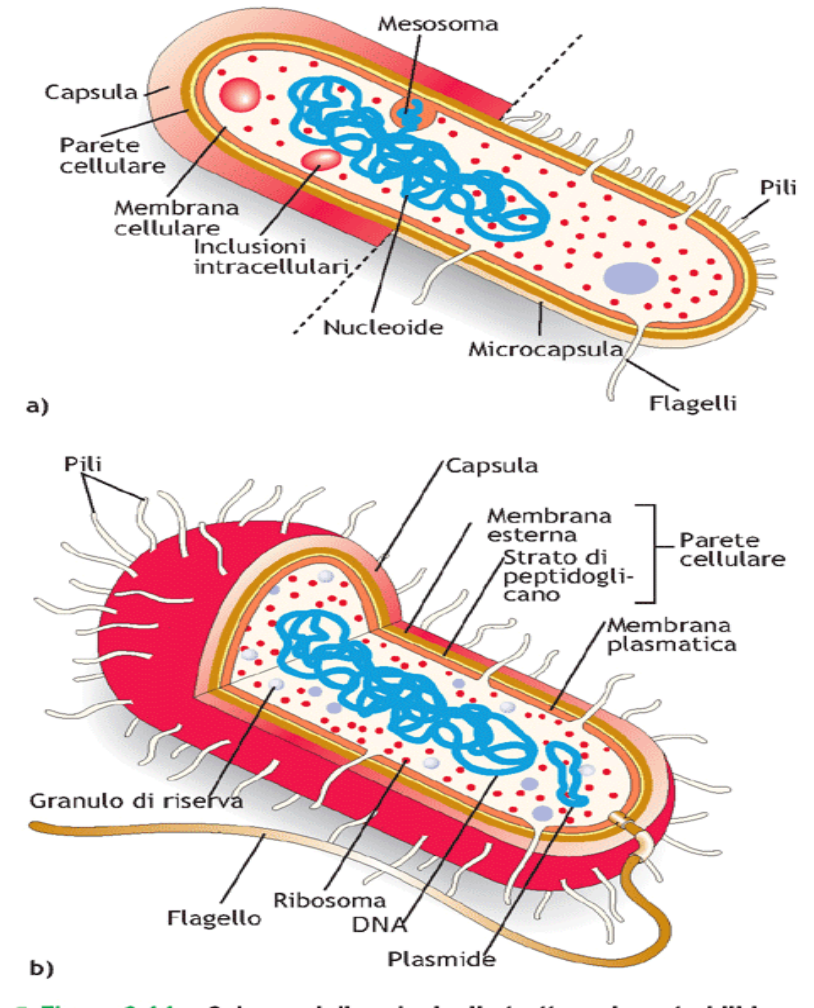
Nuove molecole da usare come farmaci



I batteri, nostri amici e nemici

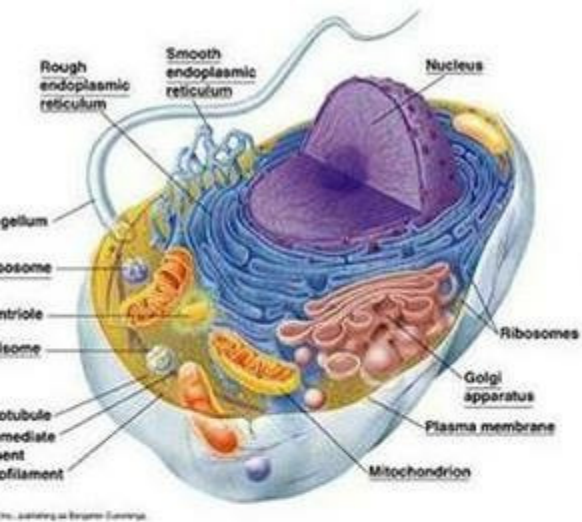
Si stima che vi siano più di 10 milioni – forse 100 milioni – di specie viventi oggi sulla Terra

La maggior parte degli organismi viventi è costituita da singole cellule; altri come noi sono multicellulari in cui gruppi di cellule svolgono funzioni specializzate e sono collegati da sistemi complessi di comunicazione. Ma in tutti i casi, che si tratti di un batterio o di un aggregato di più di 10^{13} cellule che forma un corpo umano, l'intero organismo è stato generato da divisioni cellulari di una singola cellula.

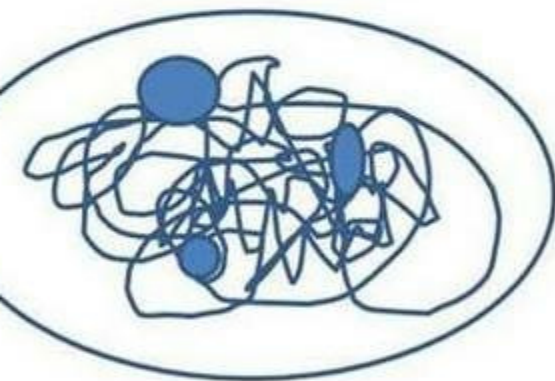


Cellula = unità fondamentale della vita

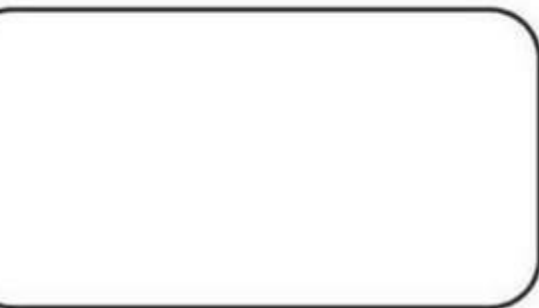
The view of a cell by:



a biologist



a chemist



a physicist

BASI CHIMICHE E ORGANIZZAZIONE MOLECOLARE DELLA “VITA”

La composizione molecolare delle cellule

Composizione chimica approssimativa di un batterio tipico e di una cellula tipica di mammifero

Componente		Percentuale del peso cellulare totale	
		batterio E. coli	cellula di mammifero
H ₂ O		70	70
Ioni inorganici (Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , HCO ₃ ⁻)		1	1
Zuccheri, a.a., nucleotidi, acidi grassi (e precursori) e altre piccole molecole		3	3
Fosfolipidi		2	3
Altri lipidi		-	2
Polisaccaridi	MACROMOLECOLE 80-90% del peso secco	2	2
RNA		6	1,1
DNA		1	0,25
Proteine		15	18
Volume cellulare totale		2 x 10 ⁻¹² cm ³	4 x 10 ⁻⁹ cm ³
Volume cellulare relativo		1	2000

Molecole contenenti carbonio
(molecole organiche)

Proteine, polisaccaridi, DNA e RNA sono macromolecole. I lipidi non sono generalmente classificati come macromolecole.

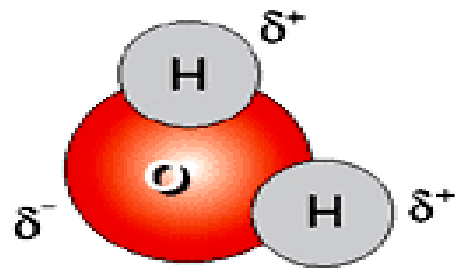


Figura 1.1 La molecola dell'acqua (H₂O).

Caratteristiche dell'H₂O

H₂O è una molecola polare con una carica leggermente negativa (δ⁻) in corrispondenza dell'atomo di ossigeno e una leggermente positiva (δ⁺) in corrispondenza dell'atomo di idrogeno. A causa della loro polarità le molecole di H₂O possono formare **legami idrogeno** (linee tratteggiate).

Questo ponte è il **legame idrogeno**, forte nel tenere insieme le molecole, ma appena un trentesimo della forza del legame covalente fra idrogeno e ossigeno all'interno della molecola.

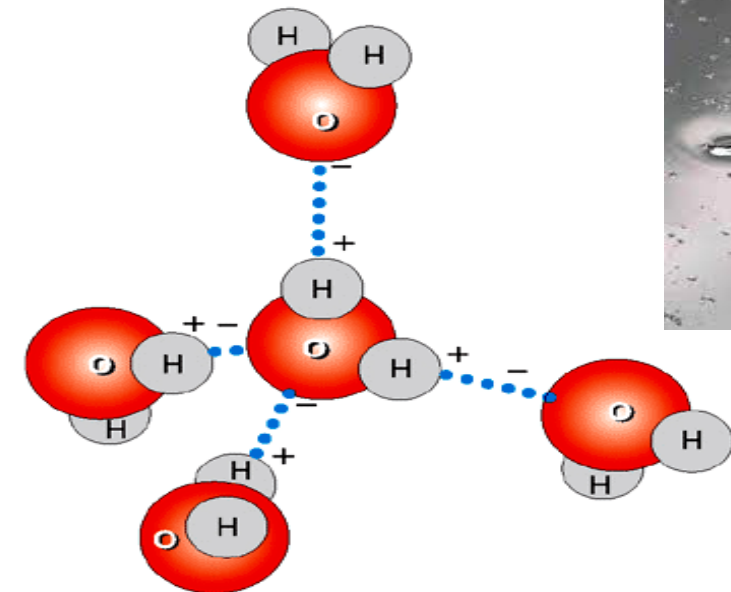
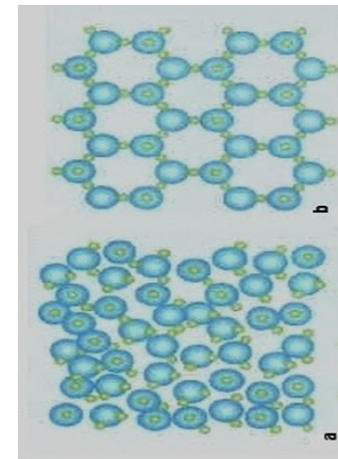
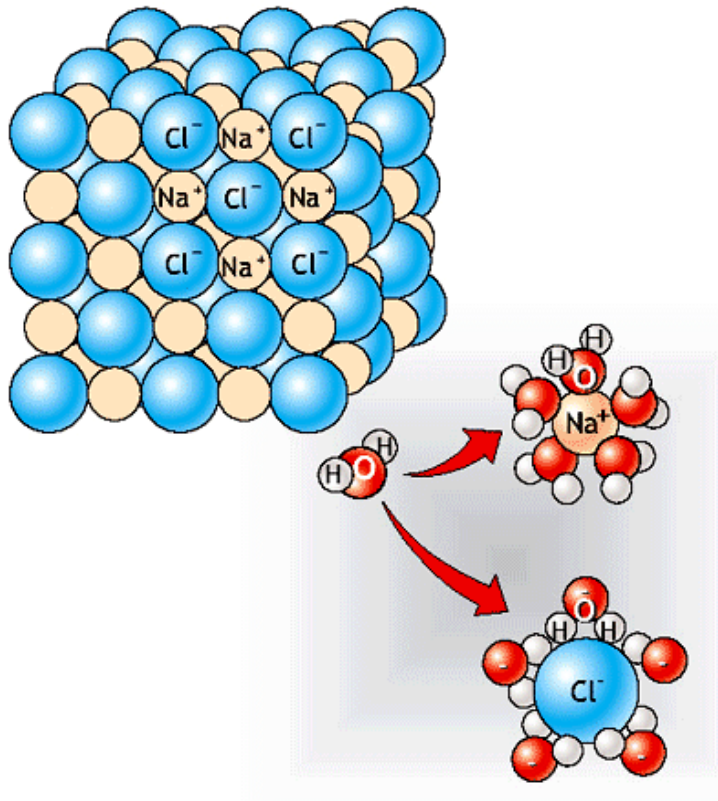


Figura 1.2 I quattro legami idrogeno che possono essere formati da una molecola d'acqua. Lo schema non rispetta la reale disposizione spaziale, tetraedrica, essendo l'ossigeno in ibridazione sp^3 .

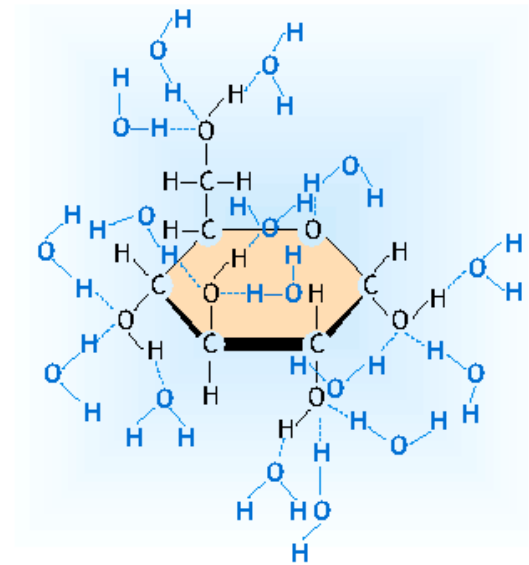
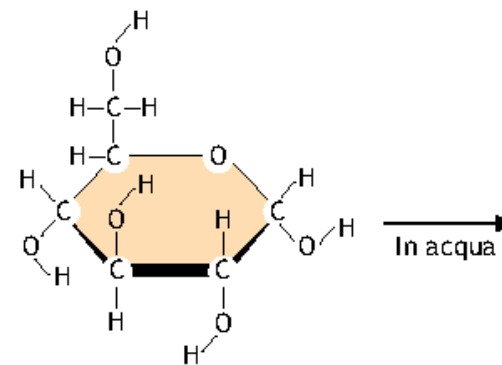
A causa della loro polarità le molecole di H_2O possono formare legami idrogeno anche con altre molecole polari e possono interagire con ioni carichi.



Come risultato di tali interazioni, ioni e molecole polari sono facilmente solubili in H_2O : **IDROFILICHE**

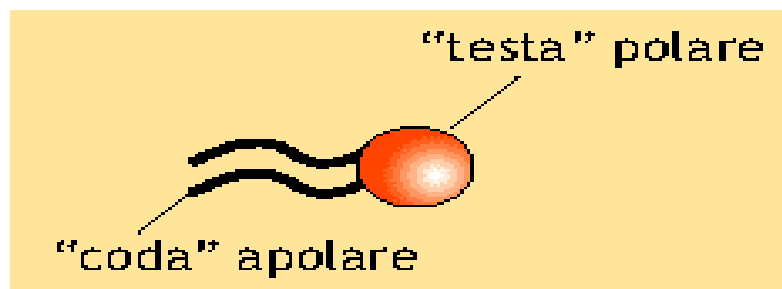


■ **Figura 1.7** Reazione di solvatazione del cloruro di sodio. È stato indicato un numero arbitrario di molecole di acqua intorno a ciascun ione.

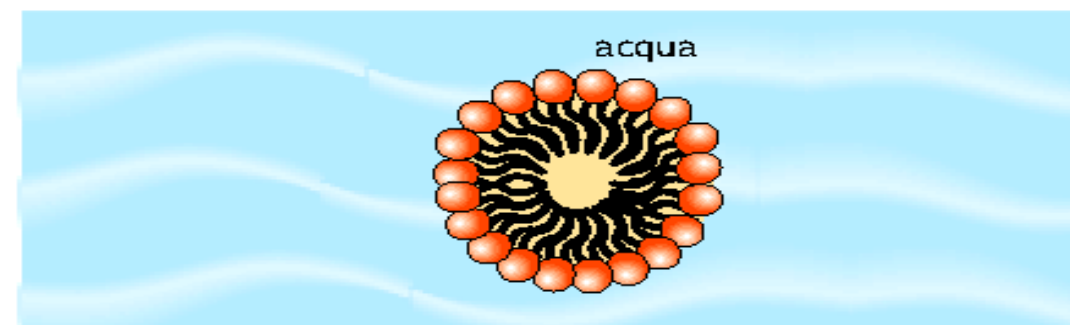
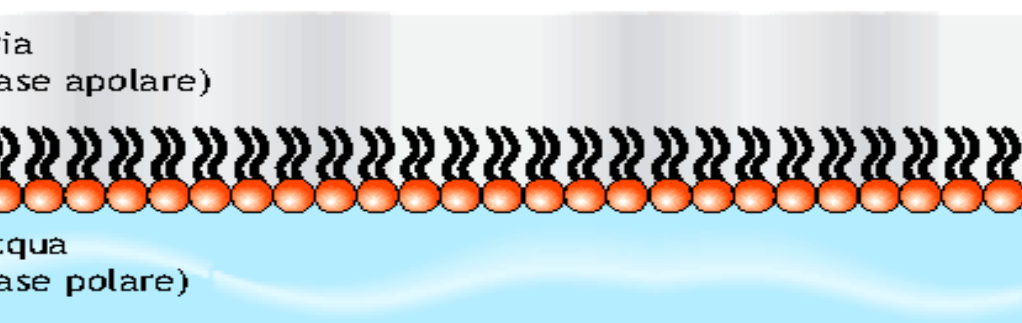


■ **Figura 1.8** Reazione di solvatazione del glucosio. Sono i gruppi alcolici (OH) che possono formare legami idrogeno con le molecole di acqua.

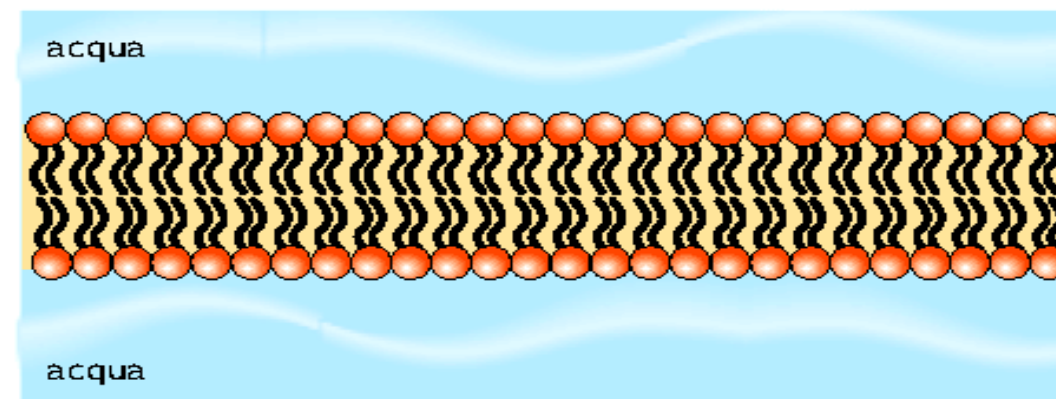
Al contrario, molecole non polari, che non possono interagire con l' H_2O , sono insolubili in un ambiente acquoso: **IDROFOBICHE**. Conseguentemente, le molecole non polari tendono a minimizzare il loro contatto con l' H_2O , riunendosi, invece, strettamente tra loro.



Molecola anfipatica



a)



La composizione molecolare delle cellule

Composizione chimica approssimativa di un batterio tipico e di una cellula tipica di mammifero

Componente		Percentuale del peso cellulare totale	
		batterio E. coli	cellula di mammifero
H ₂ O		70	70
Ioni inorganici (Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , HCO ₃ ⁻)		1	1
Zuccheri, a.a., nucleotidi, acidi grassi (e precursori) e altre piccole molecole		3	3
Fosfolipidi		2	3
Altri lipidi		-	2
Polisaccaridi	MACROMOLECOLE 80-90% del peso secco	2	2
RNA		6	1,1
DNA		1	0,25
Proteine		15	18
Volume cellulare totale		2 x 10 ⁻¹² cm ³	4 x 10 ⁻⁹ cm ³
Volume cellulare relativo		1	2000

Molecole contenenti carbonio
(molecole organiche)

Proteine, polisaccaridi, DNA e RNA sono macromolecole. I lipidi non sono generalmente classificati come macromolecole.

Macromolecole sono polimeri formati da unità ripetute di sostanze semplici che prendono il nome di monomeri.

- 1. Proteine: polimeri di aminoacidi - Legame peptidico**
- 2. Polisaccaridi: polimeri di monosaccaridi - Legame glicosidico**
- 3. Acidi nucleici: polimeri di nucleotidi - Legame fosfodiesterico**
- 4. I lipidi **non** sono macromolecole perché non sono divisibili in maniera simmetrica in parti uguali**

POLISACCARIDI SONO POLIMERI DI MONOSACCARIDI

Monosaccaridi dal greco monos: singolo, sacchar: zucchero

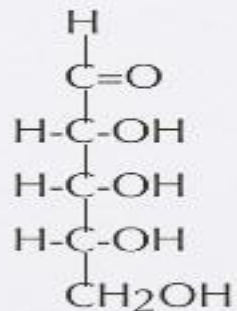
sono composti organici formati da carbonio, idrogeno e ossigeno (**carboidrati**).

riserva energetica e sono componenti delle strutture di sostegno delle piante e delle pareti cellulari. Inoltre sono componenti essenziali degli acidi nucleici

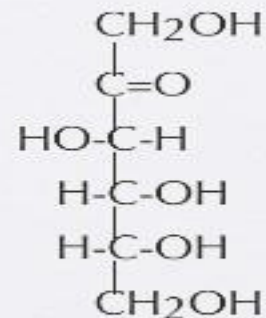
- Sono poliidrossialdeidi o poliidrossichetoni a seconda se il carbonile è **aldeidico o chetonico**

Monosaccharide classifications

Based on location of C=O



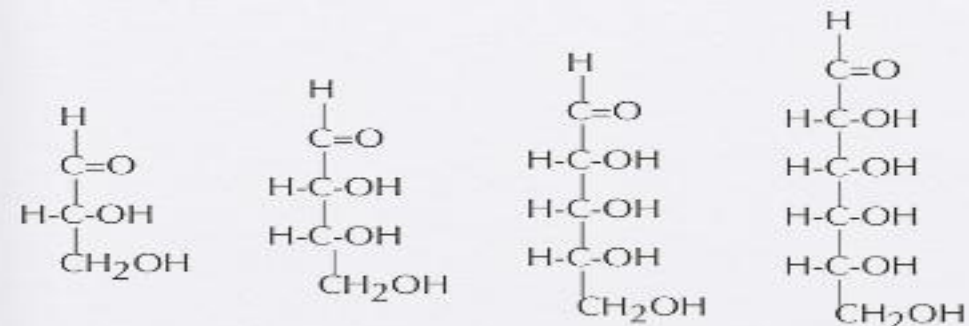
Aldose
aldehyde C=O



Ketose
ketone C=O

Monosaccharide classifications

Number of carbon atoms in the chain



triose

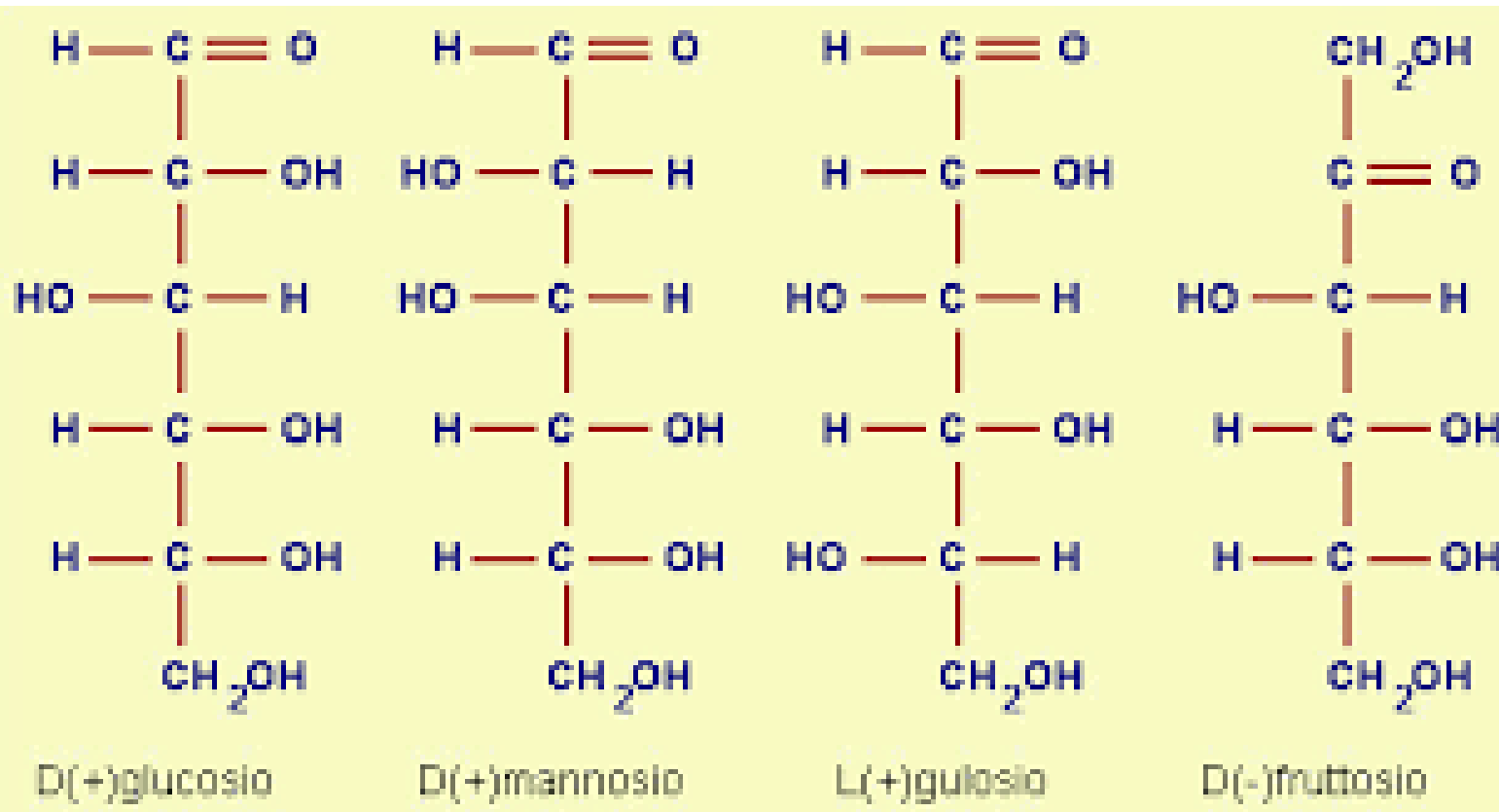
tetrose

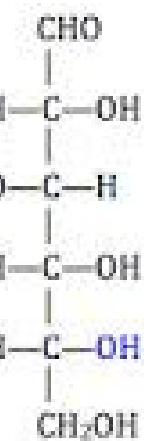
pentose

hexose

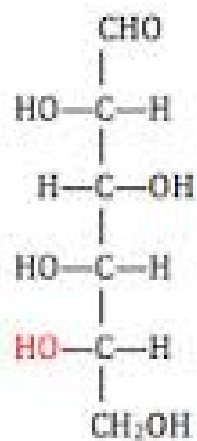
Can be either aldose or ketose sugar.

Monosaccaridi

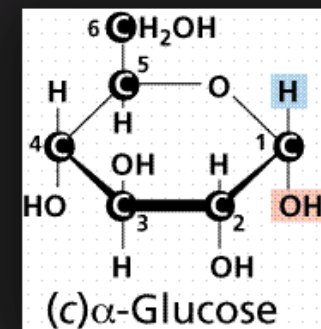
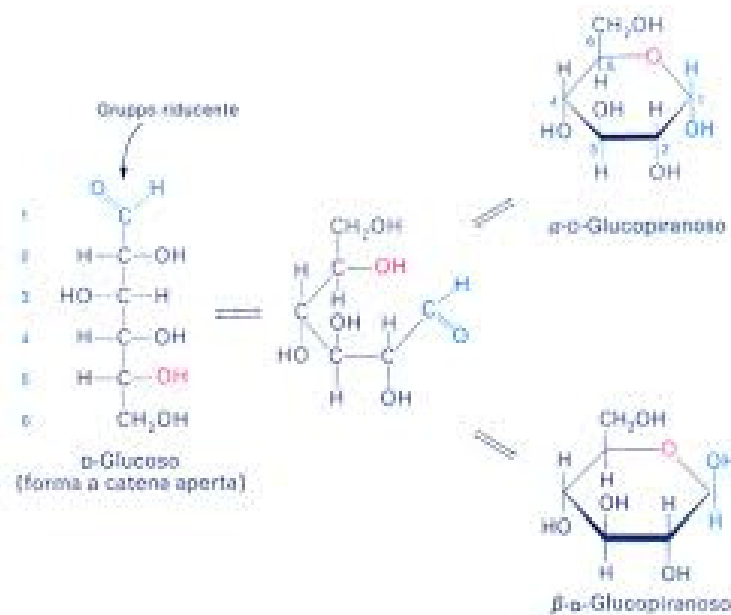




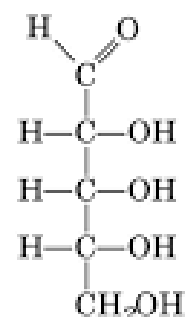
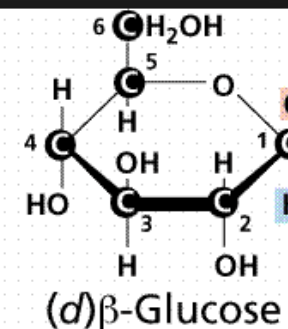
D-Glucose



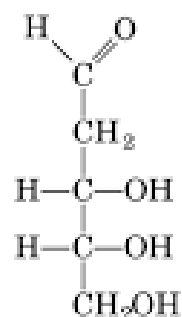
L-Glucose



or

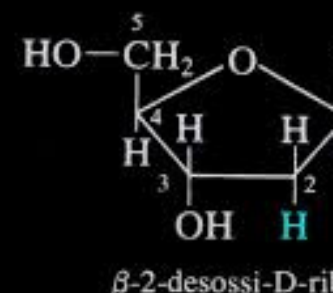


D-Ribosio
un aldopentoso

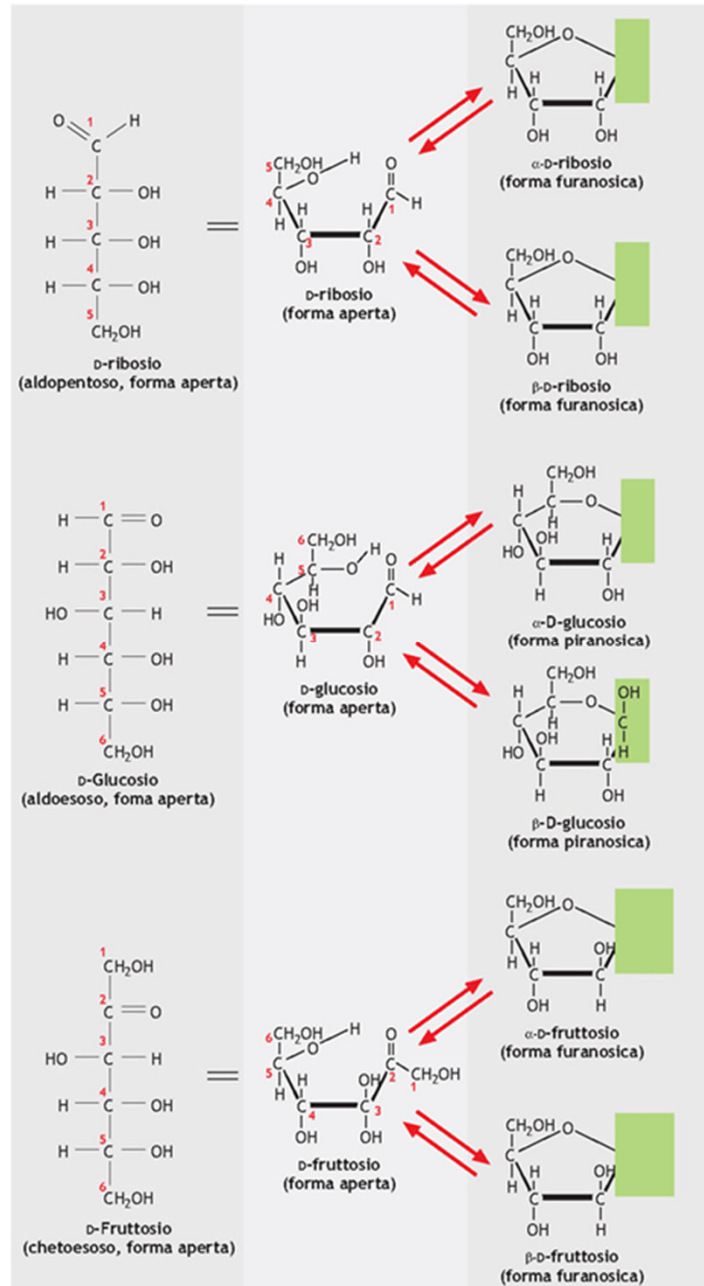


2-desossi-D-Ribosio
un aldopentoso

Carbonio 1:
Carbonio glicosidico



■ **Figura 1.14** La catena carboniosa dei monosaccaridi si ripiega su se stessa e porta il gruppo aldeidico o chetonico in vicinanza di un gruppo alcolico. I due gruppi, reagendo, danno origine a strutture cicliche. L'atomo di carbonio, che legava il gruppo aldeidico o chetonico, è un atomo di carbonio glicosidico, esso risulta asimmetrico e dà origine a due stereoisomeri (forme anomeriche): α e β .



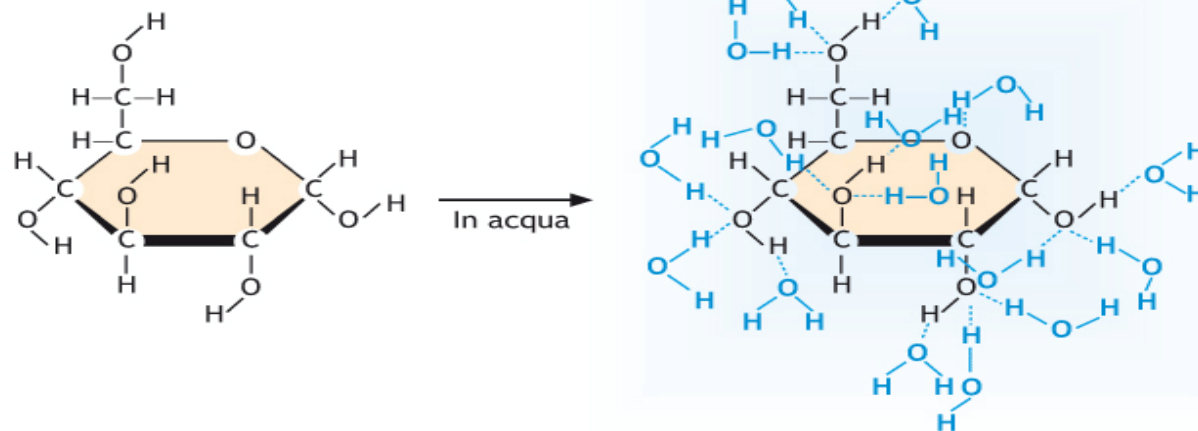


Figura 1.8 Reazione di solvatazione del glucosio. Sono i gruppi alcolici (OH) che possono formare legami idrogeno con le molecole di acqua.

CARIDI

Figura 1.16 Un monosio, in questo caso D-glucosio, può reagire con il suo gruppo glicosidico (che nella figura è in forma α) con il gruppo alcolico di un altro monosio (in questo caso con l'ossigeno in posizione 4 di una seconda molecola di D-glucosio) formando un legame glicosidico (nella figura un **legame α -1 $\rightarrow$ 4-glicosidico**): il composto che si forma è un disaccaride (nella figura il maltosio).

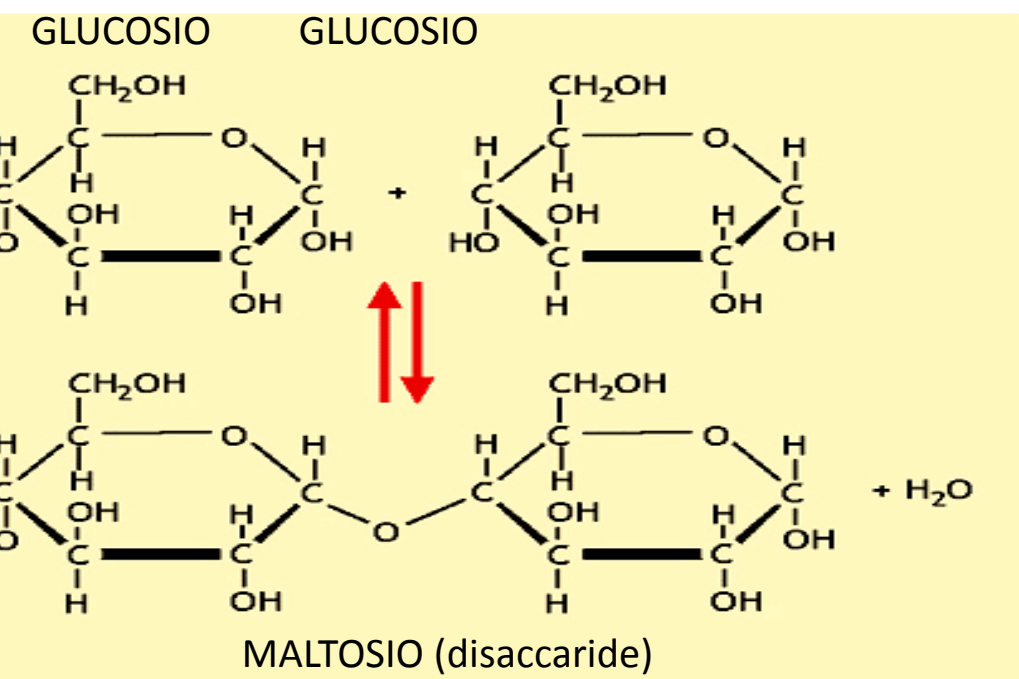
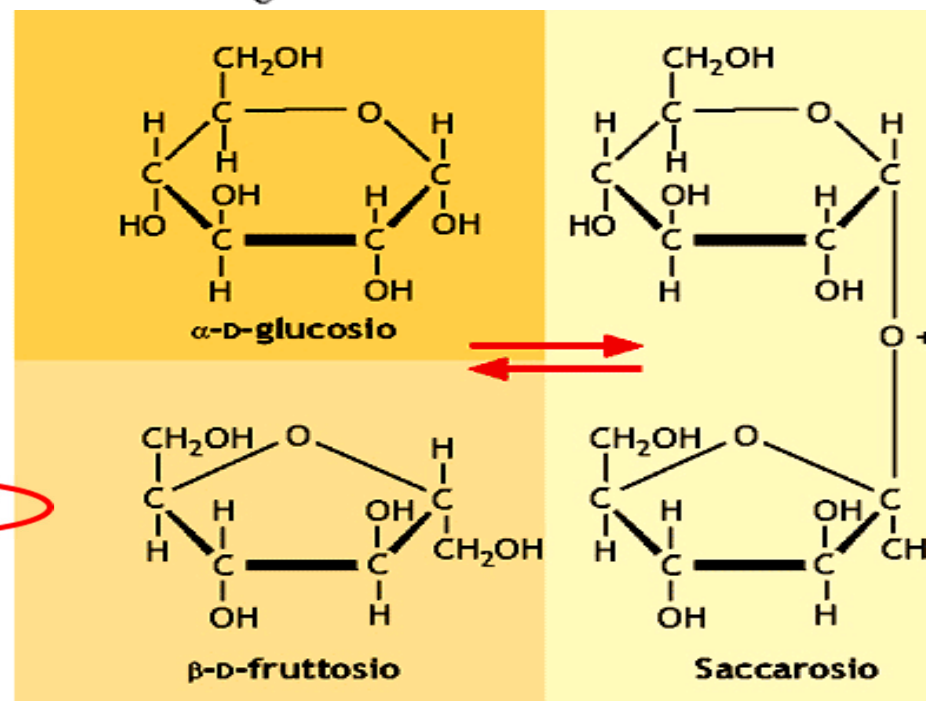


Figura 1.18 Una molecola di saccarosio è formata da glucosio e fruttosio legati tramite i rispettivi gruppi glicosidici (**legame di-glicosidico**).

GLUCOSIO GALATTOSIO



Figura 1.17 Il lattosio è costituito da una unità di galattosio e una unità di glucosio unite mediante un **legame β -1 $\rightarrow$ 4-glicosidico** al carbonio 4 di una unità di glucosio.



Legame glicosidico!!

Polisaccaridi: amilosio e cellulosa

Se il numero di monosaccaridi che si legano è superiore a 100.

Figura 1.20 Amilosio (a) e cellulosa (b) differiscono solo per la conformazione α o β del legame glicosidico.

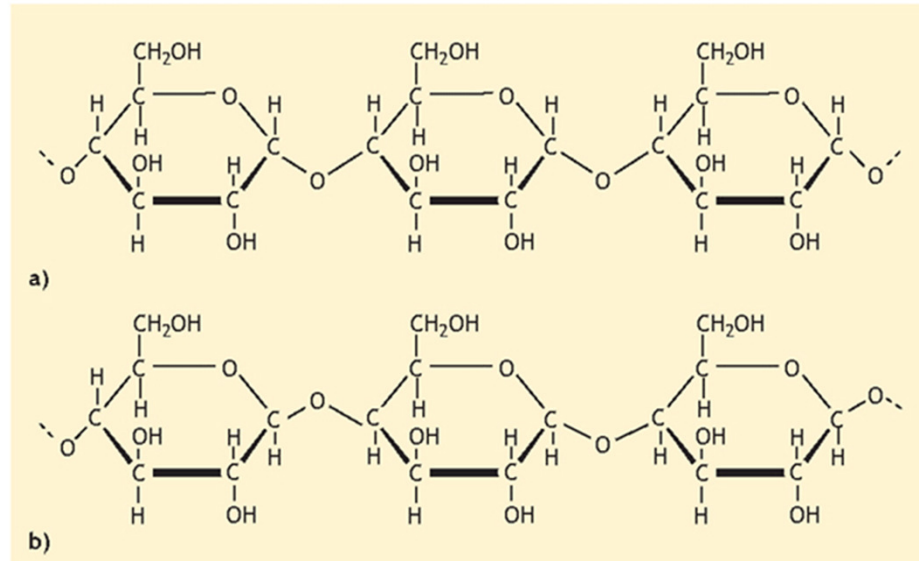
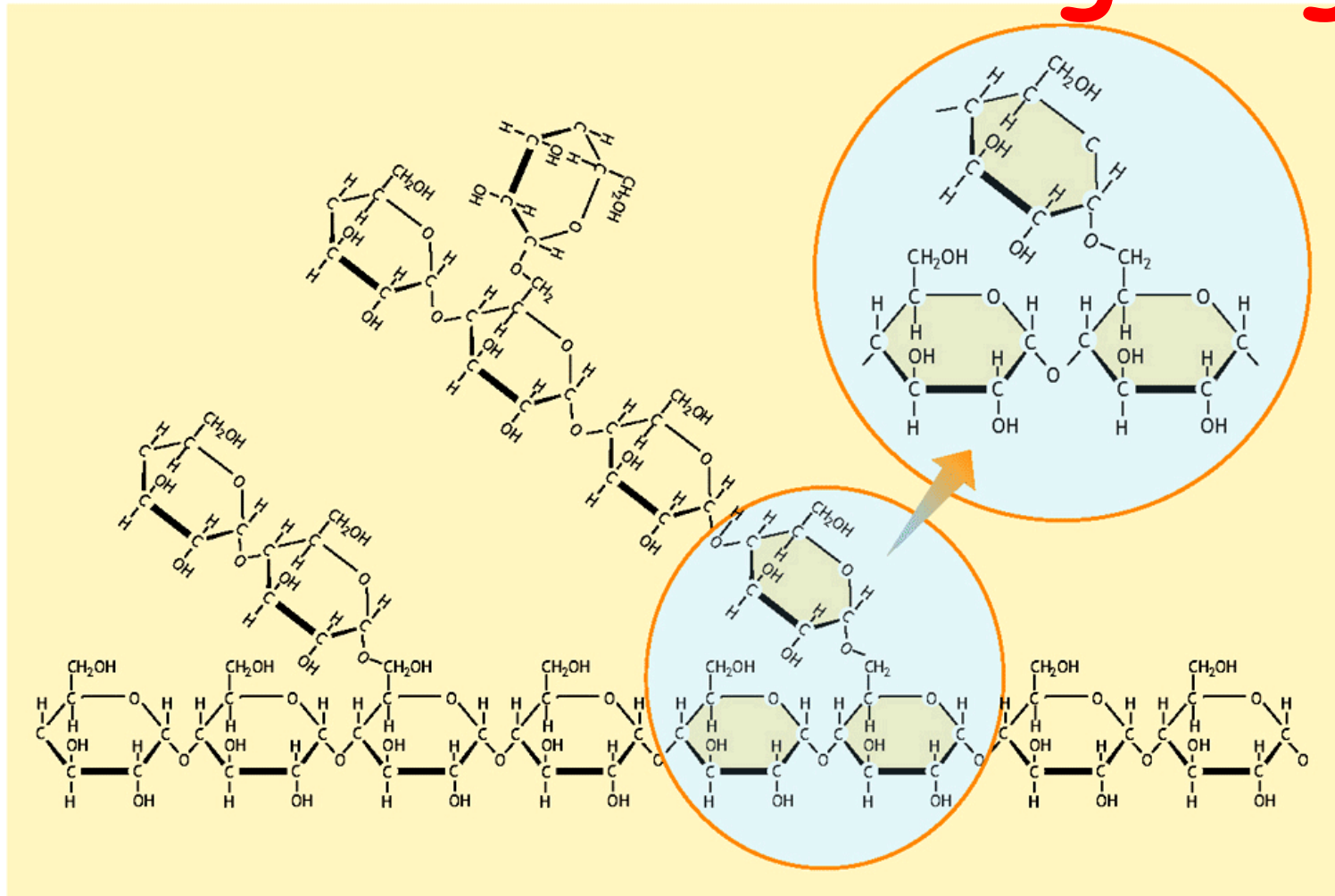


Figura 1.20 Amilosio (a) e cellulosa (b) differiscono solo per la conformazione α o β del legame glicosidico.

Polisaccaridi- glicogeno



■ **Figura 1.21** Frammento di una molecola di glicogeno: le catene sono costituite da unità di glucosio unite da legami α -1 $\rightarrow$ 4-glicosidici. Le ramificazioni si inseriscono sulle catene principali mediante legami α -1 $\rightarrow$ 6-glicosidici.

PROTEINE

proteios = di primaria importanza

1. **Enzimi:** catalizzatori che accelerano la velocità delle reazioni chimiche.
2. **Proteine strutturali:** proteine del citoscheletro, collagene, elastina, cheratina ecc.
3. **Proteine canale:** proteine inserite nella membrana citoplasmatica che consentono il passaggio di molecole e ioni.
4. **Proteine contrattili:** assicurano la motilità delle cellule e degli organismi.
5. **Ormoni proteici e fattori di crescita:** insulina, VEGF (vascular endothelial growth factor)
6. **Proteine di trasporto:** es emoglobina del sangue.
7. **Anticorpi:** principale sistema di difesa degli organismi.
8. **Proteine di deposito:** deposito di materia o di energia (es., ovalbumina, caseina del latte) o di particolari sostanze (la ferritina, deposito di ferro)
9. **Tossine.** Sostanza presente in organismi viventi, o prodotta dalla loro attività metabolica, che ha la proprietà di essere tossica per altri organismi

PROTEINE

Le proteine sono polimeri di **22 amminoacidi**. Ciascun amminoacido consiste di un atomo di carbonio (detto carbonio α) legato ad un gruppo carbossilico (COO^-), ad un gruppo amminico (NH_3^+), ad un atomo di H e ad una variabile catena laterale (R). Le specifiche proprietà chimiche delle differenti catene laterali degli a.a. determinano il ruolo di ciascuno di essi nella struttura e funzione della proteina.

amminoacidi nelle proteine

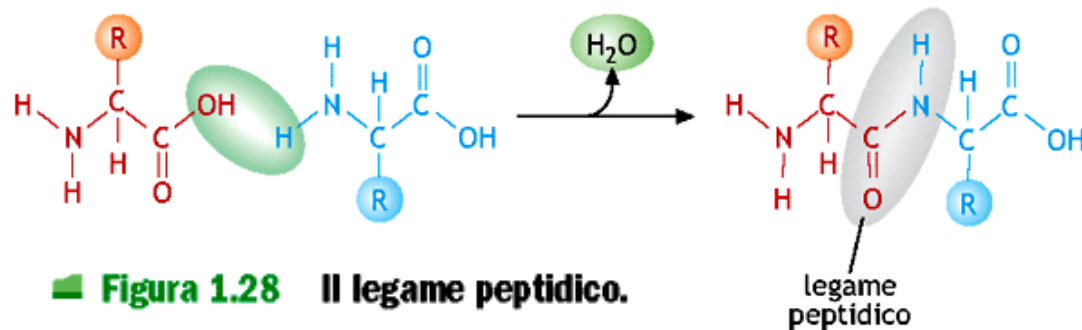
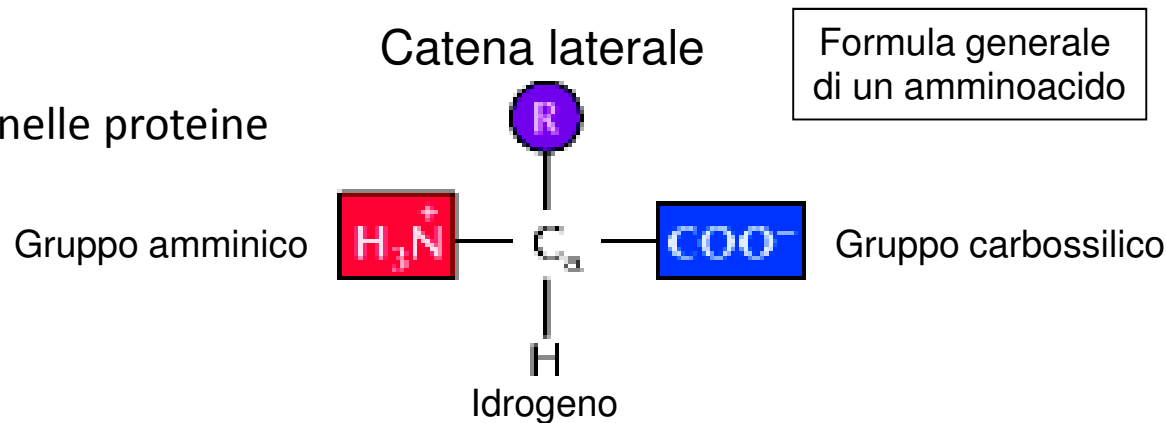


Figura 1.28 Il legame peptidico.

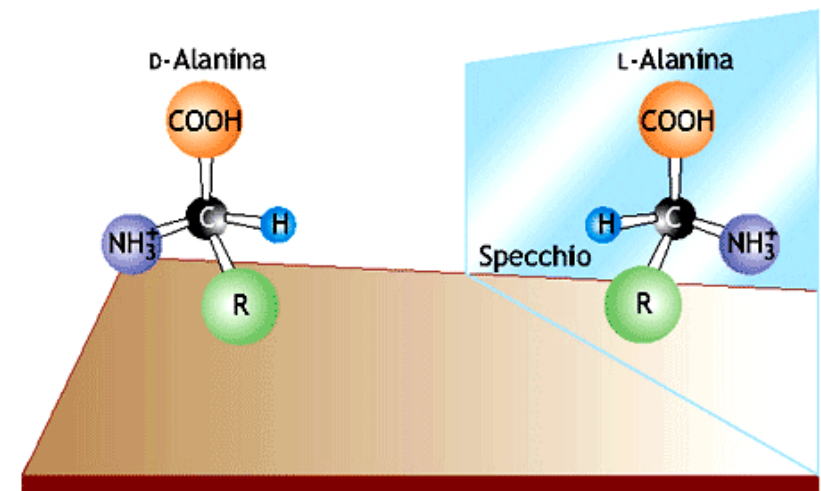


Figura 1.30 Stereochimica degli amminoacidi.

Peptidi: polimeri di amminoacidi con PM inferiore a 5000 (non più di 40-50 aa - peso molecolare medio di un residuo amminoacidico = 110)

In natura i peptidi possono provenire dalla degradazione delle proteine oppure trovarsi in forma libera perché svolgono importanti attività biologiche.

Es.:

Bradichinina

Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Peptide di tipo ormonale. Inibisce le reazioni infiammatorie.

Ossitocina


Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂

Causa la contrazione della muscolatura uterina e la produzione di latte dalle ghiandole mammarie.

Enkefaline

Tyr-Gly-Gly-Phe-Met

Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu

Peptidi cerebrali con attività oppiacea

Proteina	Peso molecolare (dalton)	Numero di amminoacidi	Numero di catene polipeptidiche
Insulina bovina	5733	51	2
Citocromo c	13.000	104	1
Lisozima dall'albume dell'uovo di pollo	13.930	129	1
Mioglobina da cuore di cavallo	16.890	153	1
Chimotripsinogeno bovino	22.000	245	1
Emoglobina umana	64.500	574	4
Sieroalbumina umana	68.500	585	1
DNA polimerasi I di <i>E. coli</i>	109.000	975	1
Immunoglobulina umana (IgG)	149.900	1320	4
Prodotto del gene della fibrosi cistica	170.000	1480	1
Fibrinogeno umano	340.000	2994	6
Apolipoproteina B umana	513.000	4536	1

Tabella 1.3 Struttura di alcune proteine.

Una proteina con PM=100000 ha una massa di 100000 Dalton o 100 kDalton



G. De Leo, S. Fasano, E. Ginelli
 Biologia e Genetica III Ed.
 EdiSES

Classe	Natura chimica del gruppo prostetico
Glicoproteine	Carboidrati
Lipoproteine	Lipidi
Nucleoproteine	Acidi nucleici
Emoproteine	Gruppo eme
Metalloproteine	Ioni metallici
Fosfoproteine	Acido fosforico
Flavoproteine	Nucleotidi flavinici

Tabella 1.2 Classificazione delle proteine coniugate.

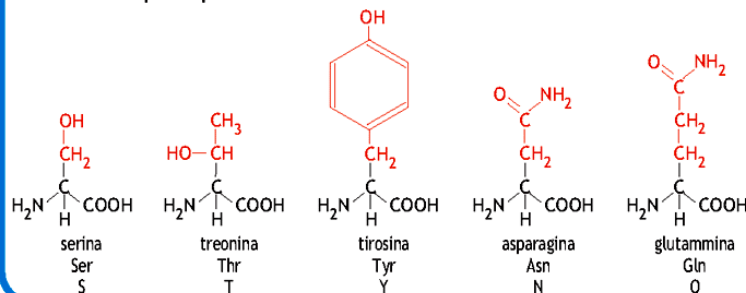


G. De Leo, S. Fasano, E. Ginelli
 Biologia e Genetica III Ed.
Edises

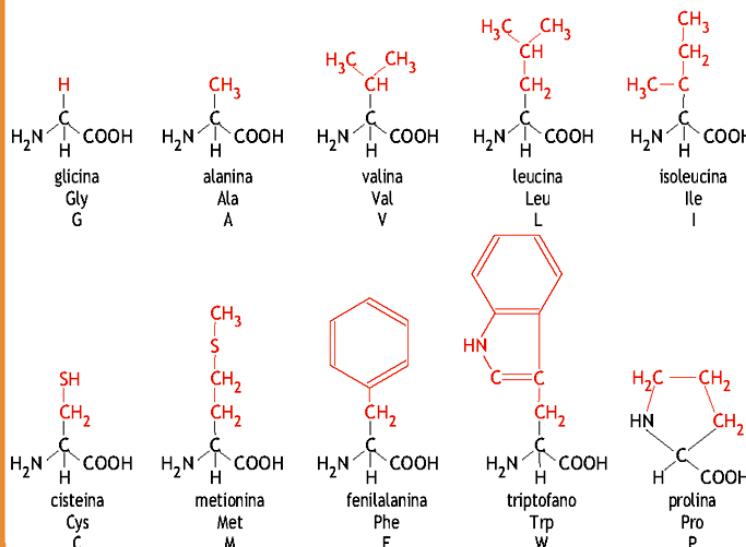
I 20 aminoacidi

Selenocisteina,
Pirrolisina

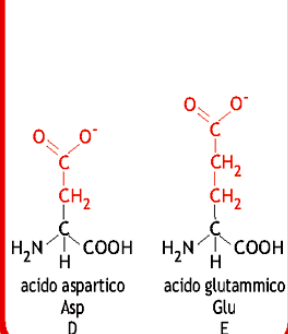
Amminoacidi polari privi di carica



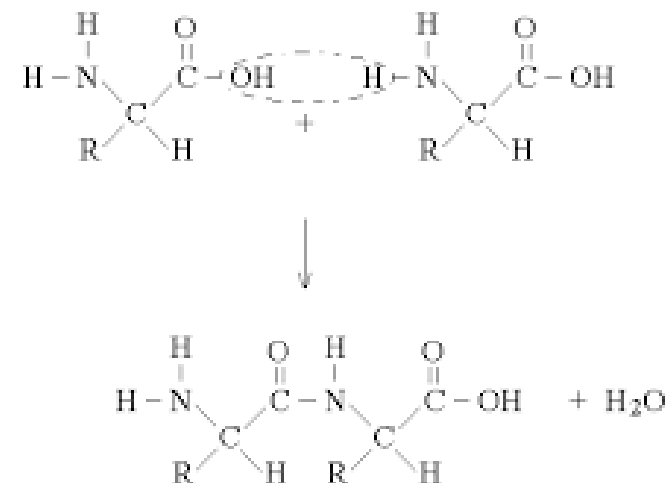
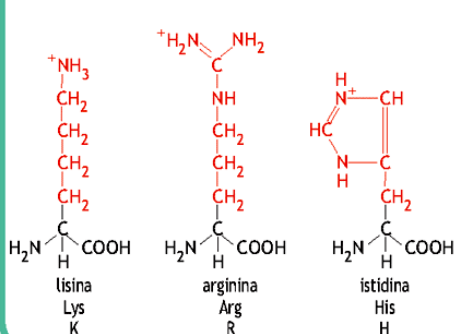
Amminoacidi apolari



Amminoacidi acidi (carichi negativamente)



Amminoacidi basici (carichi positivamente)



PROTEINE

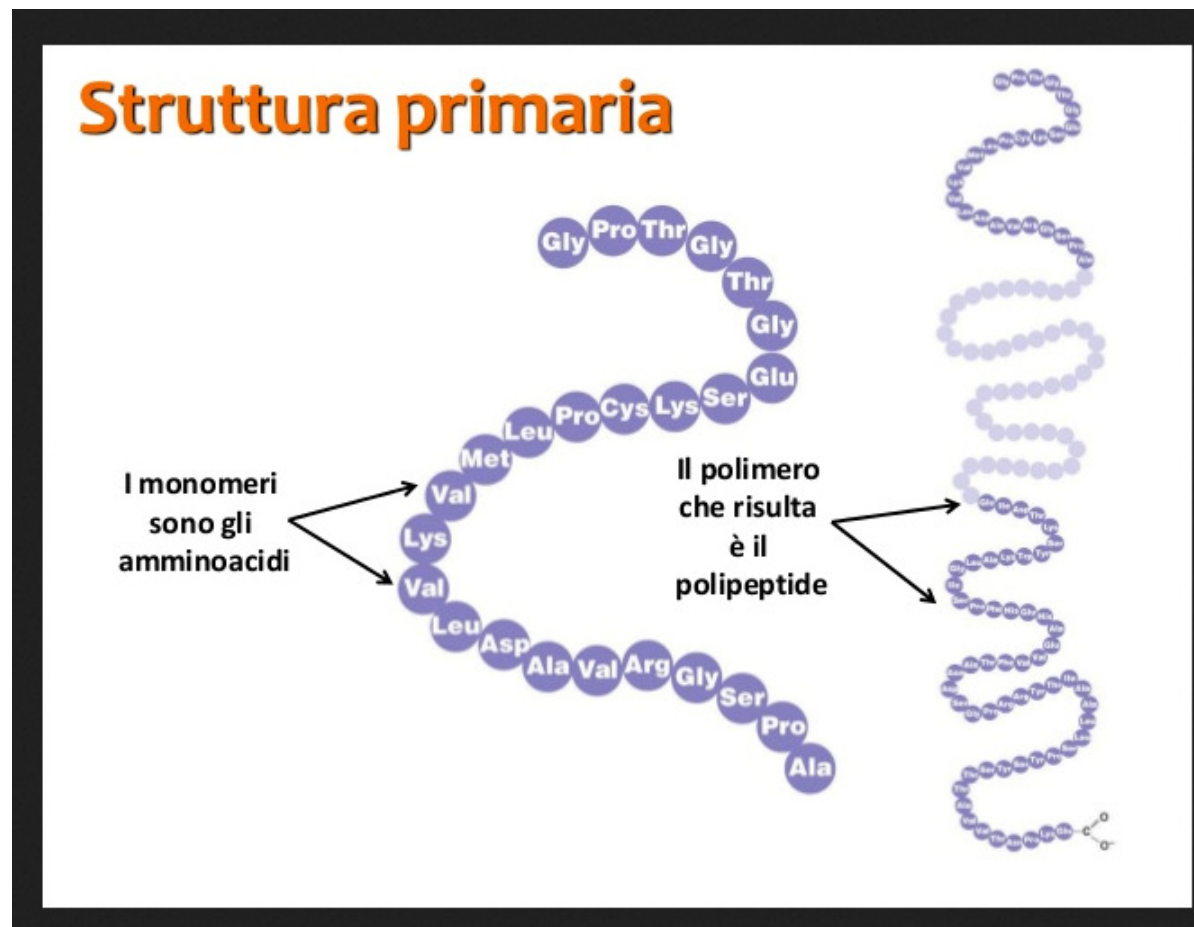
TABELLA: fabbisogno alimentare in a.a. nell'uomo

Essenziali	Non essenziali
Istidina	Alanina
Isoleucina	Arginina ^a
Leucina	Asparagina
Lisina	Aspartato
Metionina	Cisteina
Fenilalanina	Glutammato
Treonina	Glutammina
Triptofano	Glicina
Valina	Prolina
	Serina
	Tirosina

Gli a.a. essenziali devono essere introdotti con la dieta, gli a.a. non essenziali possono essere sintetizzati dalle cellule umane.

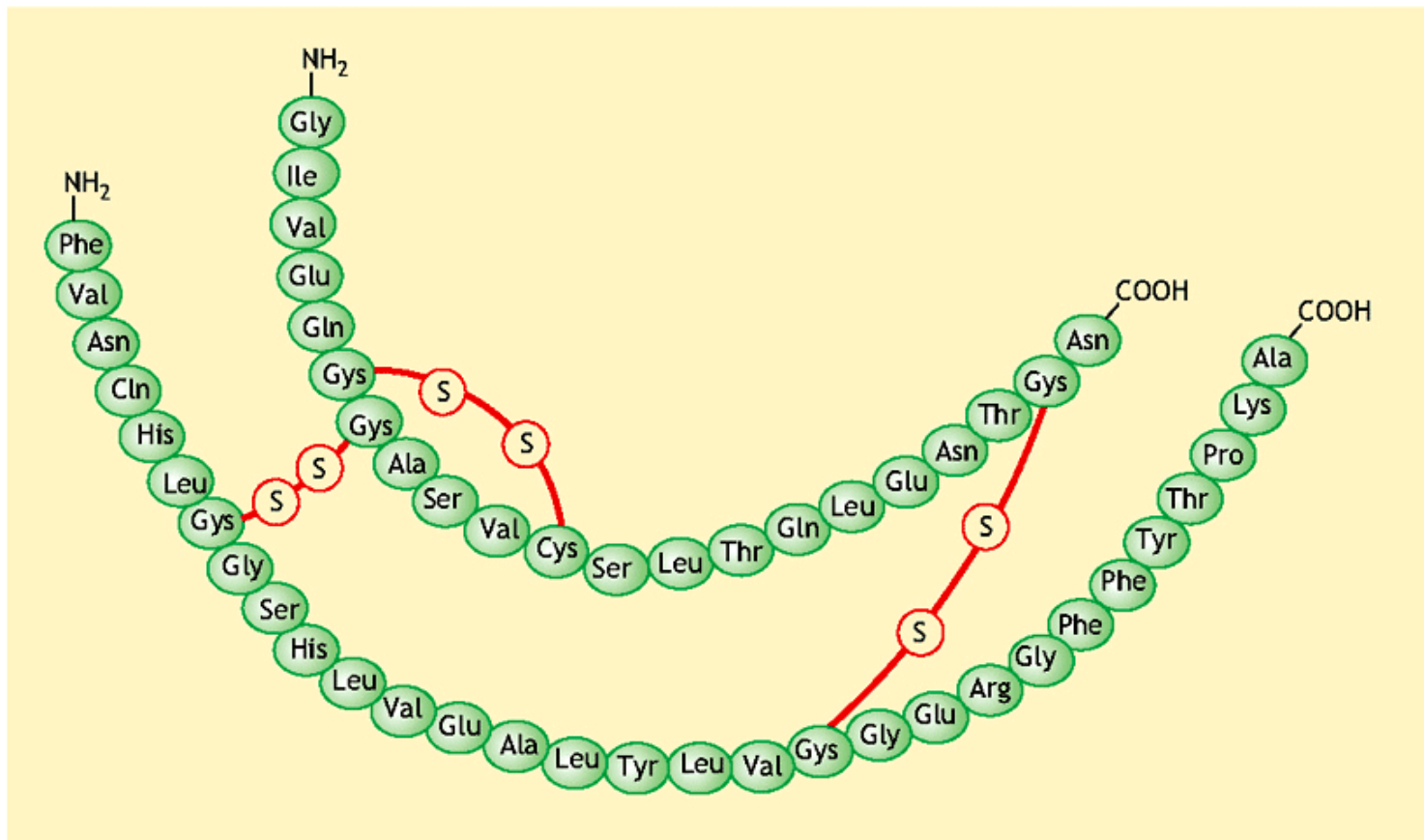
^aSebbene l'arginina sia classificata come a.a. non essenziale, i bambini in crescita devono assumere ulteriore arginina con la dieta.

Struttura primaria: la sequenza di aminoacidi

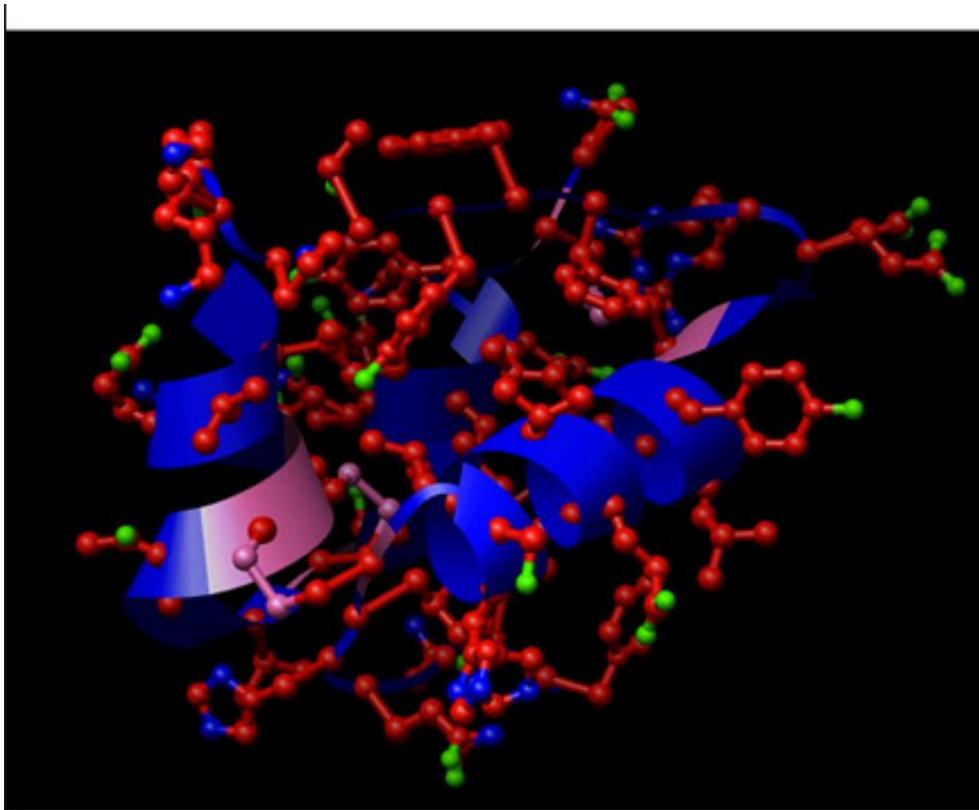


PROTEINE

Fredrick Sanger è stato il primo a determinare, nel 1953, la sequenza completa di una proteina, l'ormone insulina. L'insulina è costituita da 2 catene polipeptidiche, una di 21 e l'altra di 30 a.a. Le catene laterali delle tre coppie di residui di cisteina sono legate da ponti disolfuro, due dei quali connettono le due catene polipeptidiche.



Struttura tridimensionale dell'insulina



La struttura
dell'insulina

rosso: carbonio

verde: ossigeno

blu: azoto

rosa: zolfo

Favorisce la
penetrazione di
glucosio nelle
cellule di muscoli,
cuore, ghiandole
mammarie in
allattamento

STRUTTURA SECONDARIA.

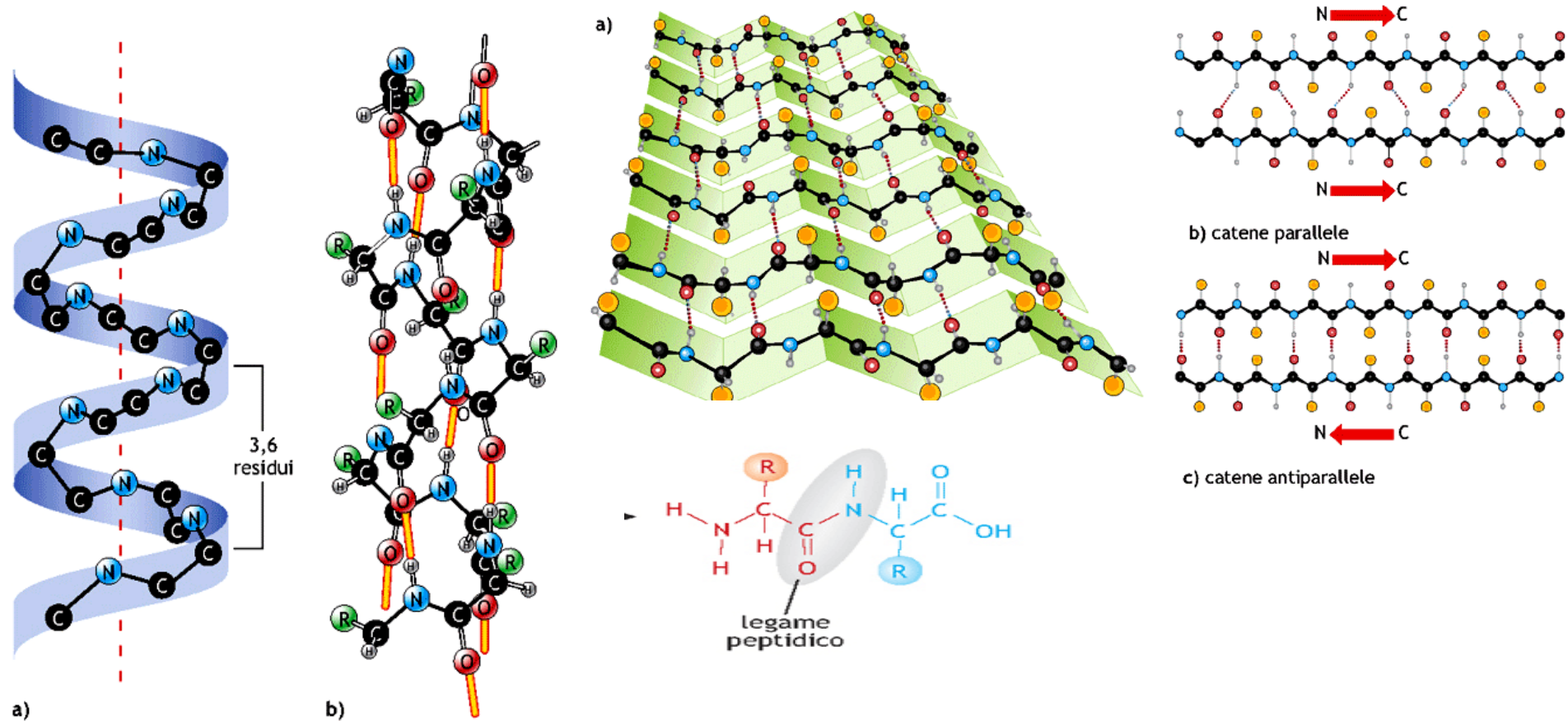
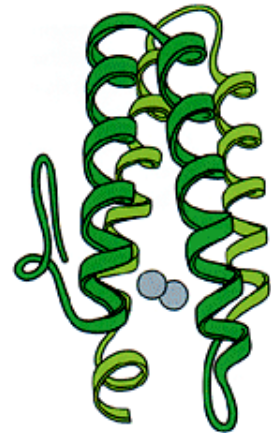


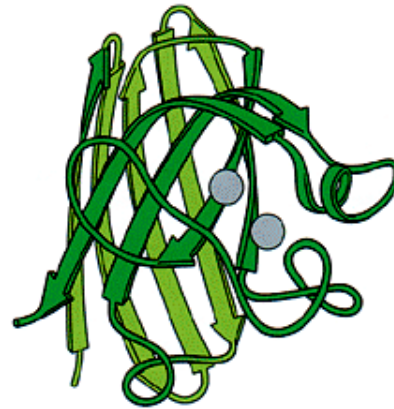
Figura 1.34 Struttura secondaria β di una proteina. (a) Gli atomi adiacenti di ciascuna catena sono localizzati sui ripiegamenti ed i gruppi R sporgono alternativamente al di sopra e al di sotto del piano delle molecole. Legami idrogeno stabilizzano la struttura. Le due catene possono essere parallele (b) o antiparallele (c).

PROTEINE

STRUTTURA TERZIARIA.



Mioemeritrina



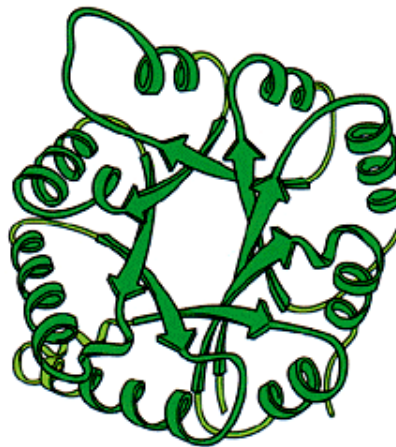
Superossido
dismutasi



Lisozima



Triosofosfato isomerasi
(vista laterale)

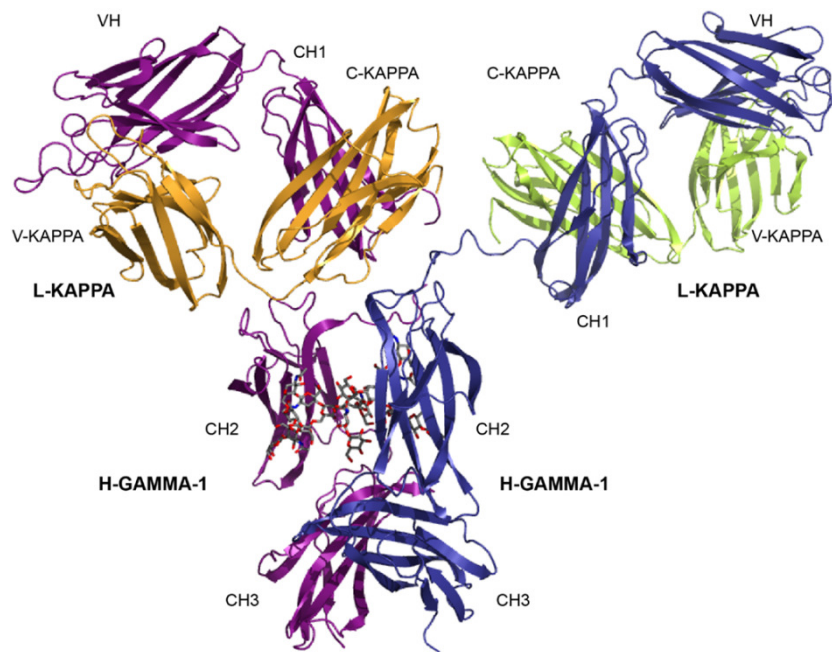


Triosofosfato isomerasi
(vista dall'alto)

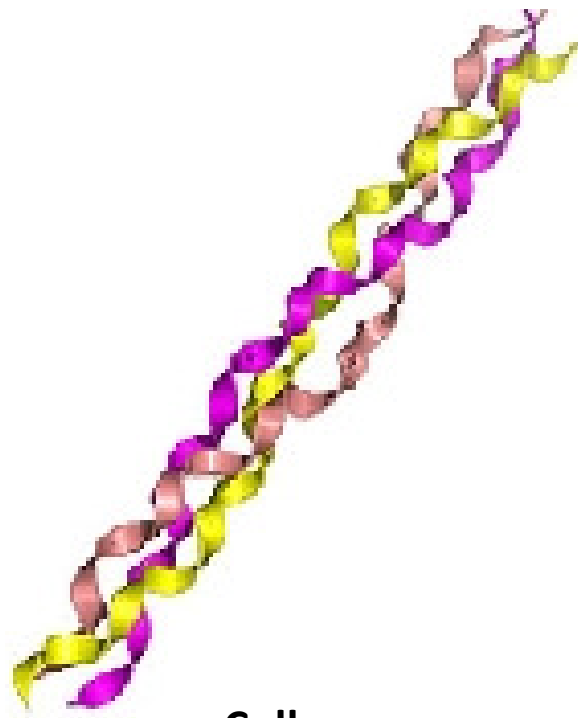
Consiste nel ripiegamento della catena polipeptidica quale risultato delle interazioni tra le catene laterali degli a.a. localizzati nelle differenti regioni della sequenza primaria. In moltissime proteine la combinazione α -elica e β -foglietto, connessi da regioni ad ansa della catena polipeptidica, **si ripiega in strutture compatte globulari** dette domini, che rappresentano le unità di base della struttura terziaria.

■ **Figura 1.35** Andamento della catena polipeptidica nella struttura terziaria di alcune proteine. Le sfere grigie rappresentano ioni metallici presenti in alcune proteine. Per convenzione le regioni ad α -elica sono rappresentate da una spirale, mentre quelle a struttura β da una freccia.

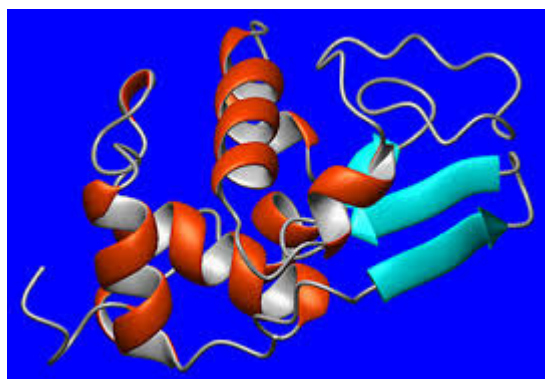
IG



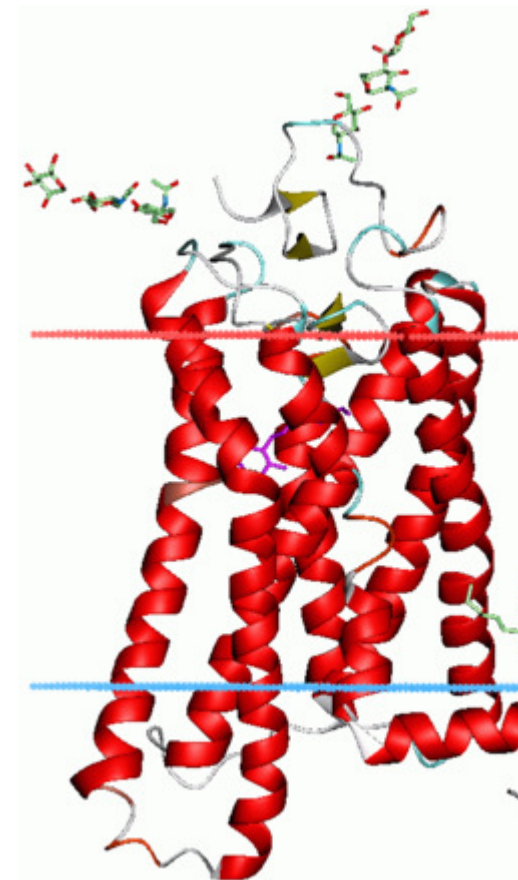
Immunoglobulina



Collagene

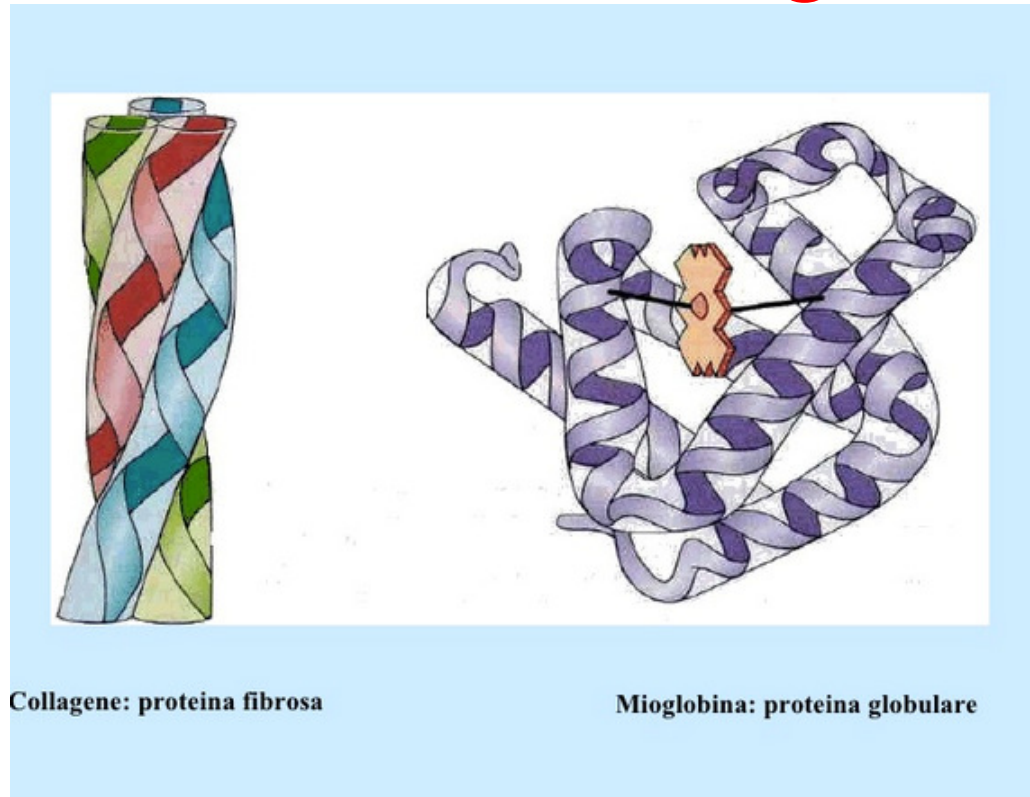


lisozima



rodopsina

Proteine fibrose e globulari



Le proteine fibrose sono proteine lunghe (con un rapporto lunghezza:larghezza superiore a 10), dalla struttura semplice a forma di barra o filamento (un unico tipo do struttura secondaria) **funzione strutturale**

proteine globulari proteine costituite da varie strutture secondarie, nelle quali le catene polipeptidiche tendono avvolgersi su se stesse. Queste proteine assumono una forma globulare o sferica, e sono generalmente solubili in acqua (a differenza delle proteine fibrose)- **enzimi**

PROTEINE

STRUTTURA QUATERNARIA.

Figura 1.38 Struttura quaternaria e domini nella molecola di un anticorpo (IgG).

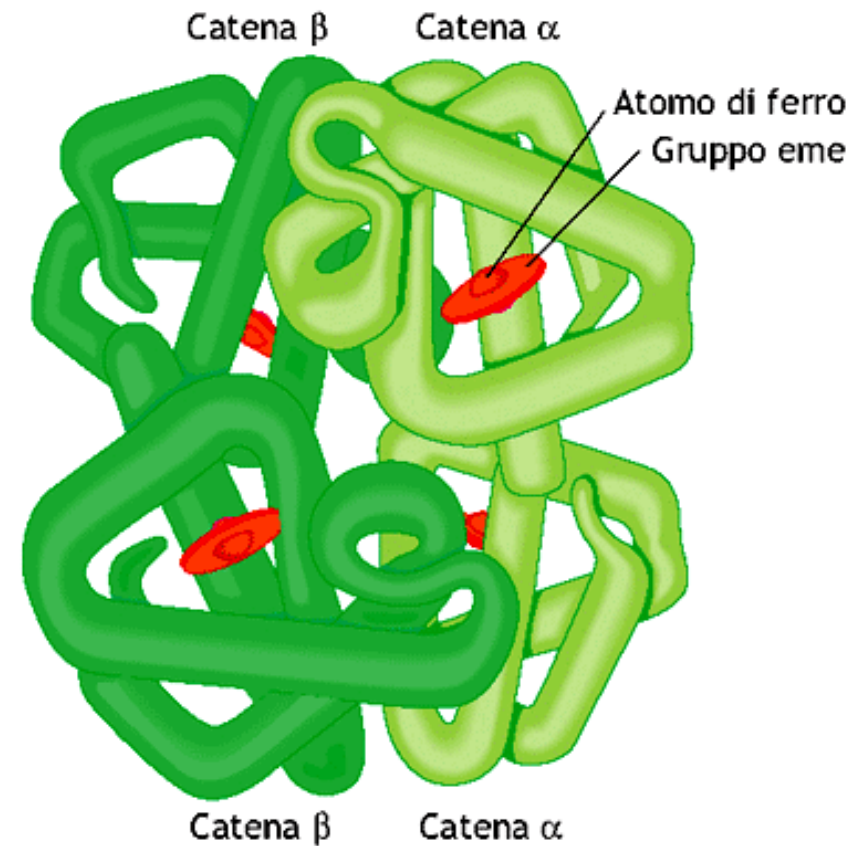
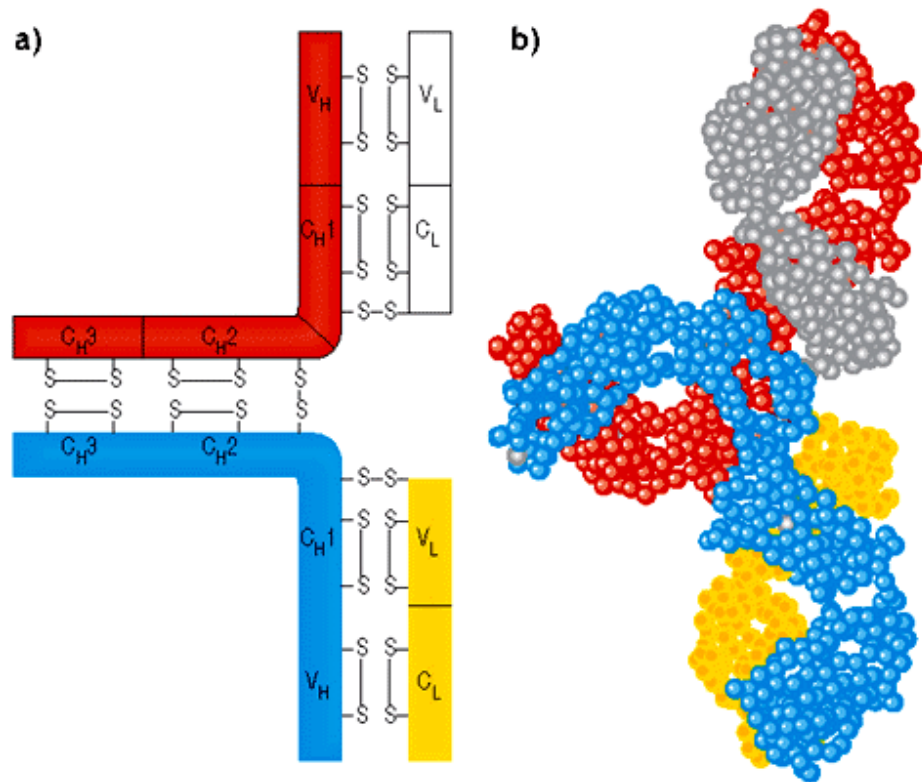
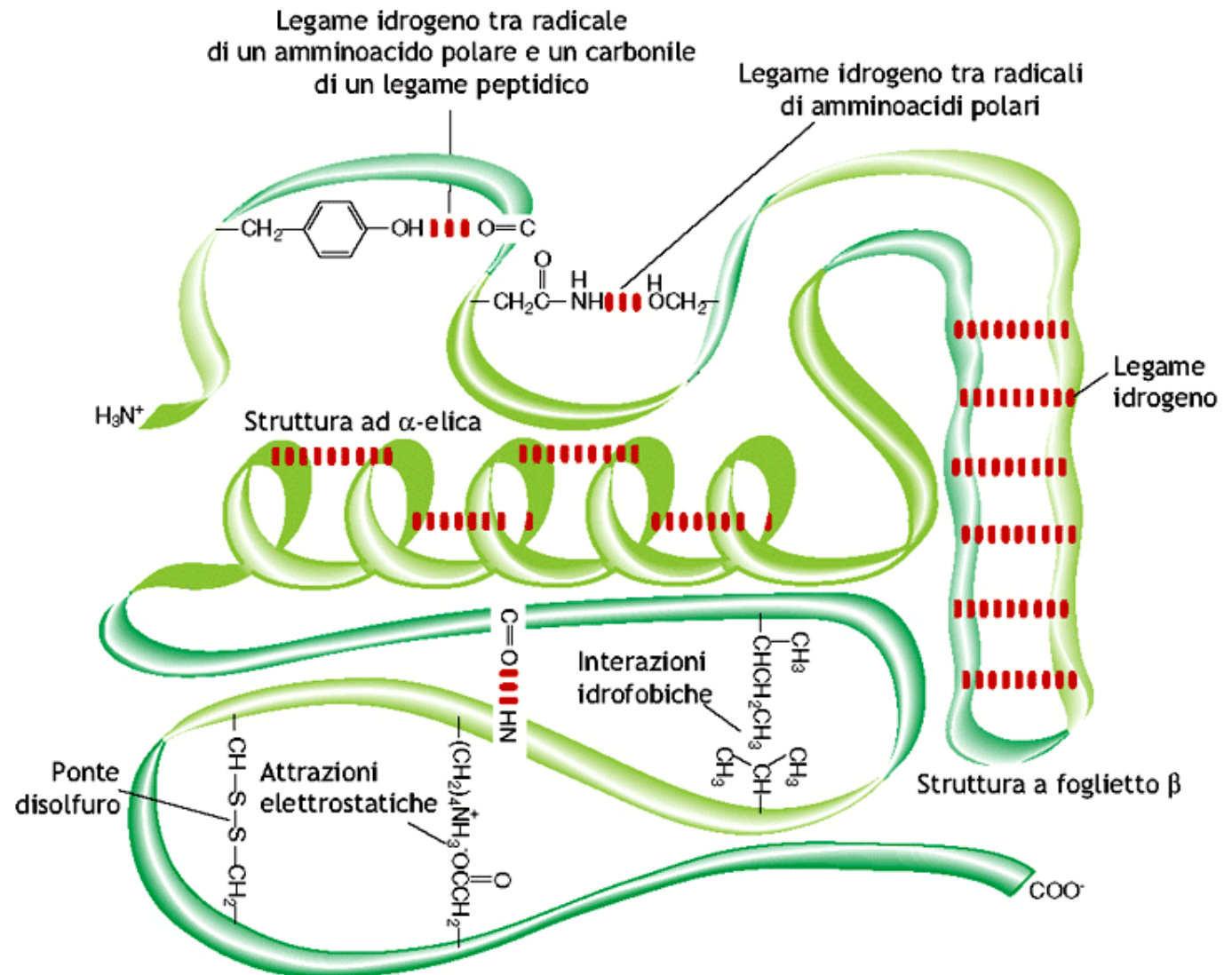


Figura 1.39 Struttura quaternaria dell'emoglobina.

PROTEINE

STRUTTURA TERZIARIA.

Figura 1.36 Le interazioni che stabilizzano la struttura terziaria delle proteine.

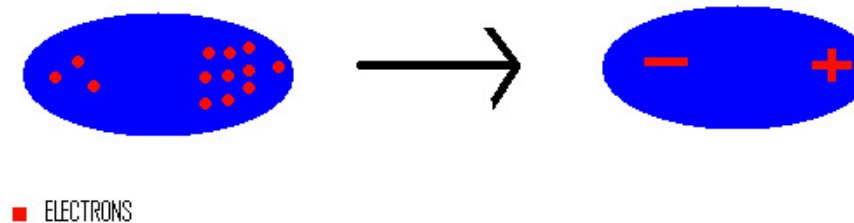


Causes of Van der Waals Forces

Quantum Mechanics strongly emphasizes the constant movement of electrons in an atom through the [Schrödinger Equation](#) and the Heisenberg's Uncertainty Principle. The Heisenberg's Uncertainty Principle proposes that the energy of the electron is never zero; therefore, it is constantly moving around its orbital. The square of the Schrödinger Equation for a particle in a box suggests that it is probable of finding the electron (particle) anywhere in the orbital of the atom (box).

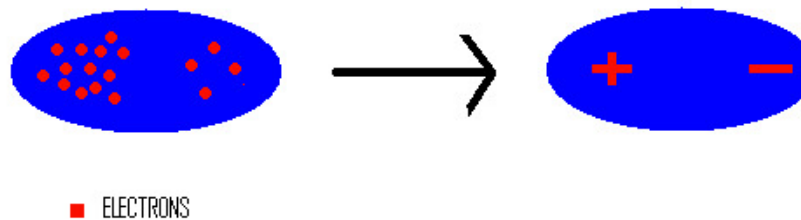
These two important aspects of Quantum Mechanics strongly suggest that the electrons are constantly are moving in an atom, so dipoles are probable of occurring. A dipole is defined as molecules or atoms with equal and opposite electrical charges separated by a small distance.

It is probable to find the electrons in this state:



This is how **instantaneous dipoles** occur. When groups of electrons move to one end of the atom, it creates a dipole. These groups of electrons are constantly moving so they move from one end of the atom to the other and back again continuously. Therefore, the opposite state is as probable of occurring.

Opposite state due to fluctuation of dipoles:



Scanned with CamScanner

Nelle molecole apolari la distribuzione media delle cariche è simmetrica e quindi non esiste alcun momento dipolare totale. Ma, nella casualità del moto può succedere che in un certo istante, solo per un istante, si possa verificare una asimmetria di cariche.

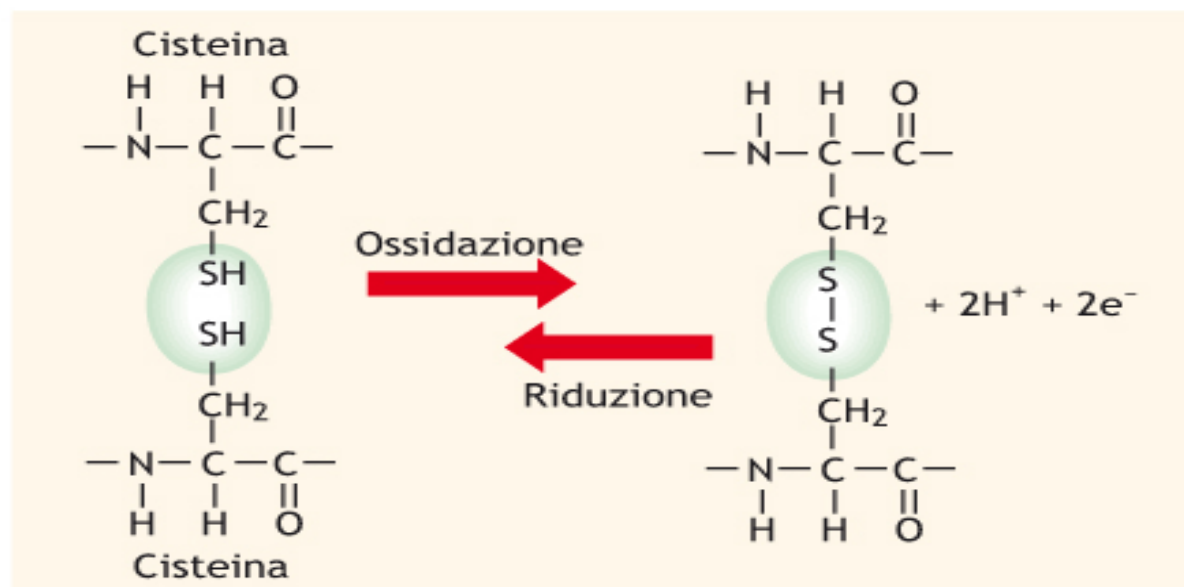
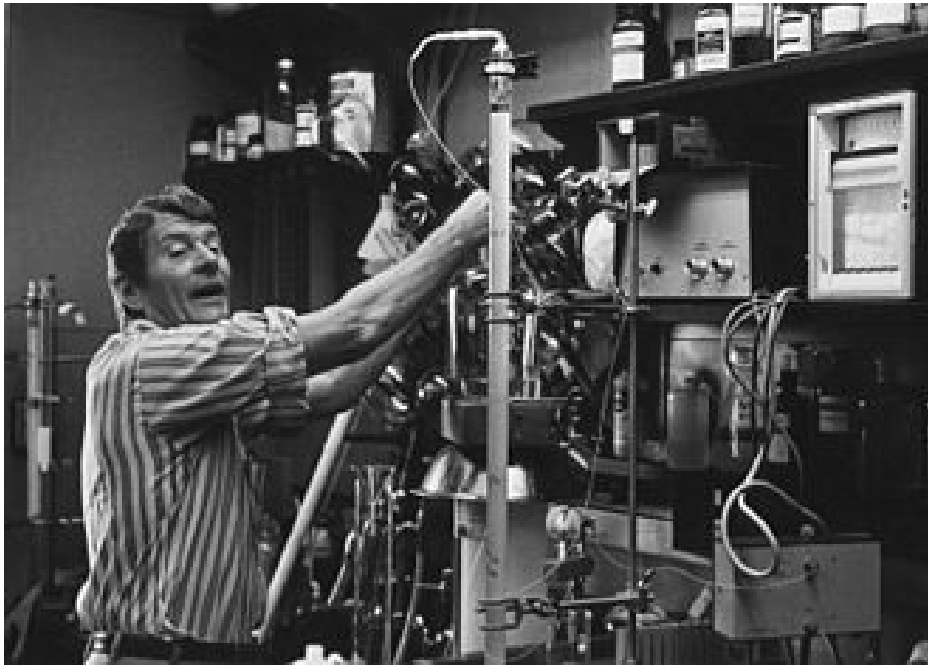


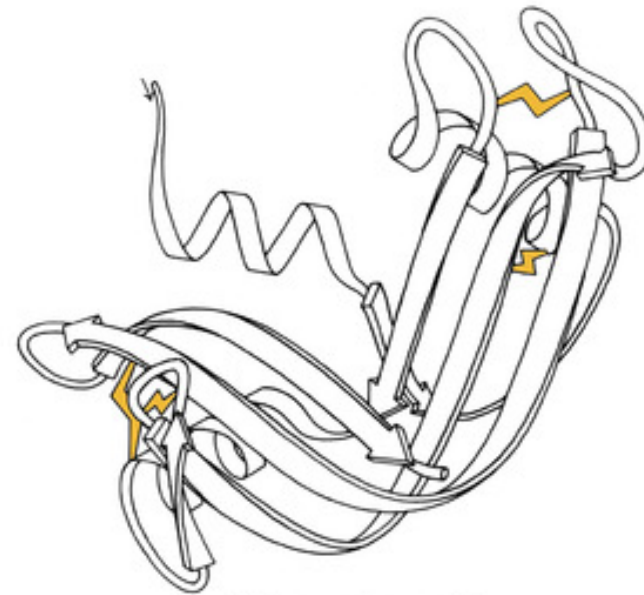
Figura 1.37 Formazione di un ponte disolfuro tra due cisteine.

La struttura primaria determina la struttura secondaria e terziaria

**Christian Anfinsen, Nobel Price
Chemistry 1972**



Esperimenti sulla ribonucleasi

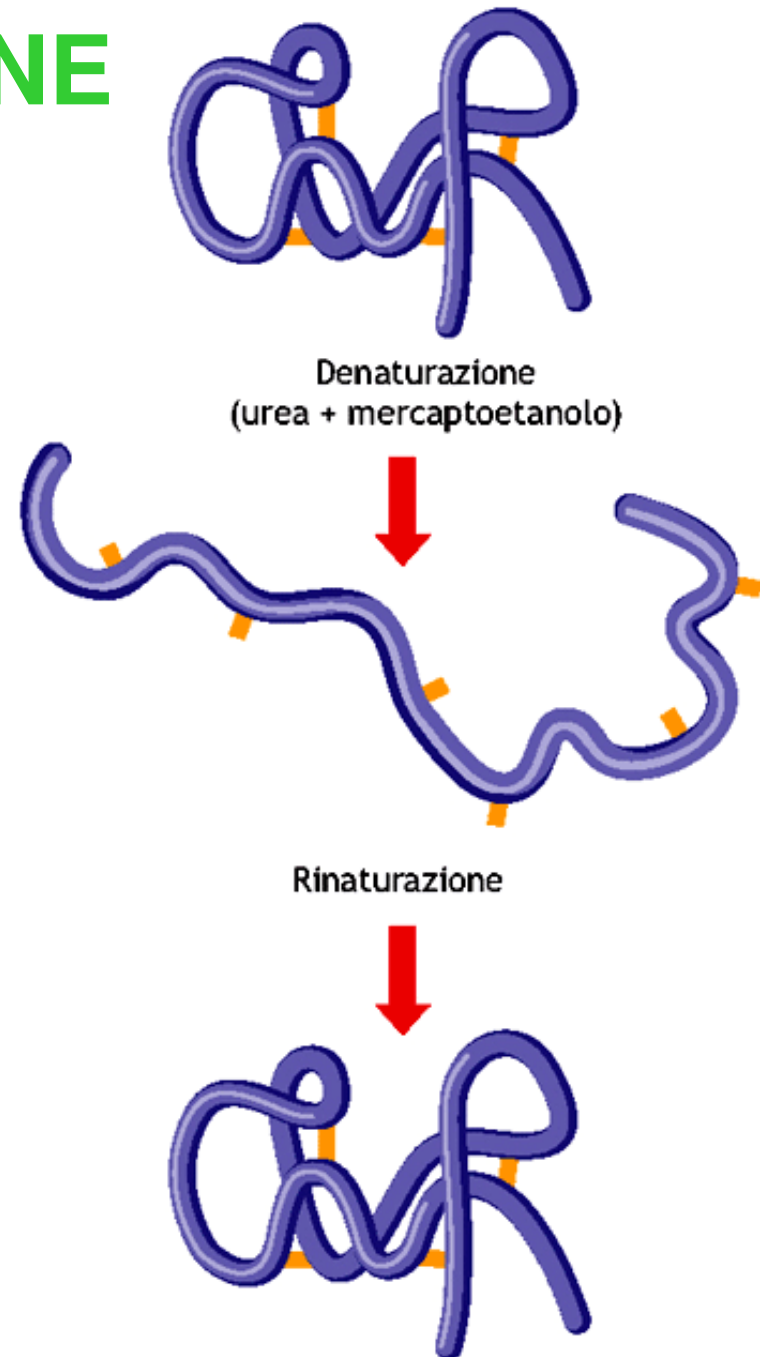


Ribonuclease A

PROTEINE

Denaturazione e Rinaturazione

Oltre che ad essere estese catene di a.a., le proteine acquisiscono distinte conformazioni tridimensionali che sono critiche per la loro funzione. Tali conformazioni tridimensionali delle proteine rappresentano il risultato delle interazioni tra i loro a.a. costitutivi, cosicché la forma delle proteine viene determinata dalla loro sequenza a.a. Ciò fu dimostrato per la prima volta dagli esperimenti di Christian Anfinsen nel corso dei quali distrusse la struttura tridimensionale delle proteine mediante trattamenti, quali il riscaldamento, che rompono i legami non covalenti – un processo noto come denaturazione. A seguito di incubazione in condizioni più blande, le proteine così denaturate spesso ritornano spontaneamente alla loro conformazione nativa, indicando che tali conformazioni sono determinate direttamente dalla sequenza degli a.a.



Driving force in protein folding

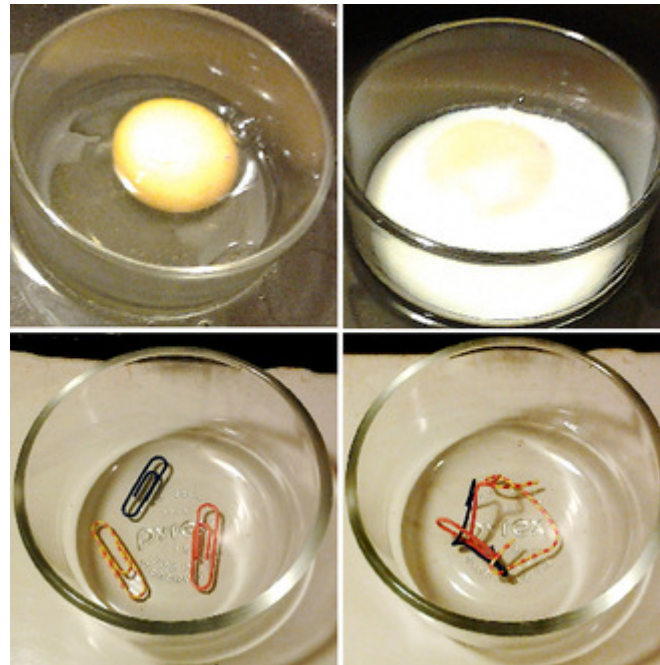
Minimizing the number of hydrophobic side-chains exposed to water is an important driving force behind the folding process. Formation of intramolecular hydrogen bonds provides another important contribution to protein stability. The strength of hydrogen bonds depends on their environment, thus H-bonds enveloped in a hydrophobic core contribute more than H-bonds exposed to the aqueous environment to the stability of the native state

Core loop interactions- Hiroshi Taniuchi



Agenti fisici o chimici (PH, sali) producono cambiamenti irreversibili nelle proteine

- Albumina dell'uovo viene denaturata irreversibilmente dal calore



Yellowstone National Park ha rivoluzionato la biologia : batteri termofili



PCR POLYMERASE CHAIN REACTION

Kary Mullis – premio Nobel 1993
per la chimica

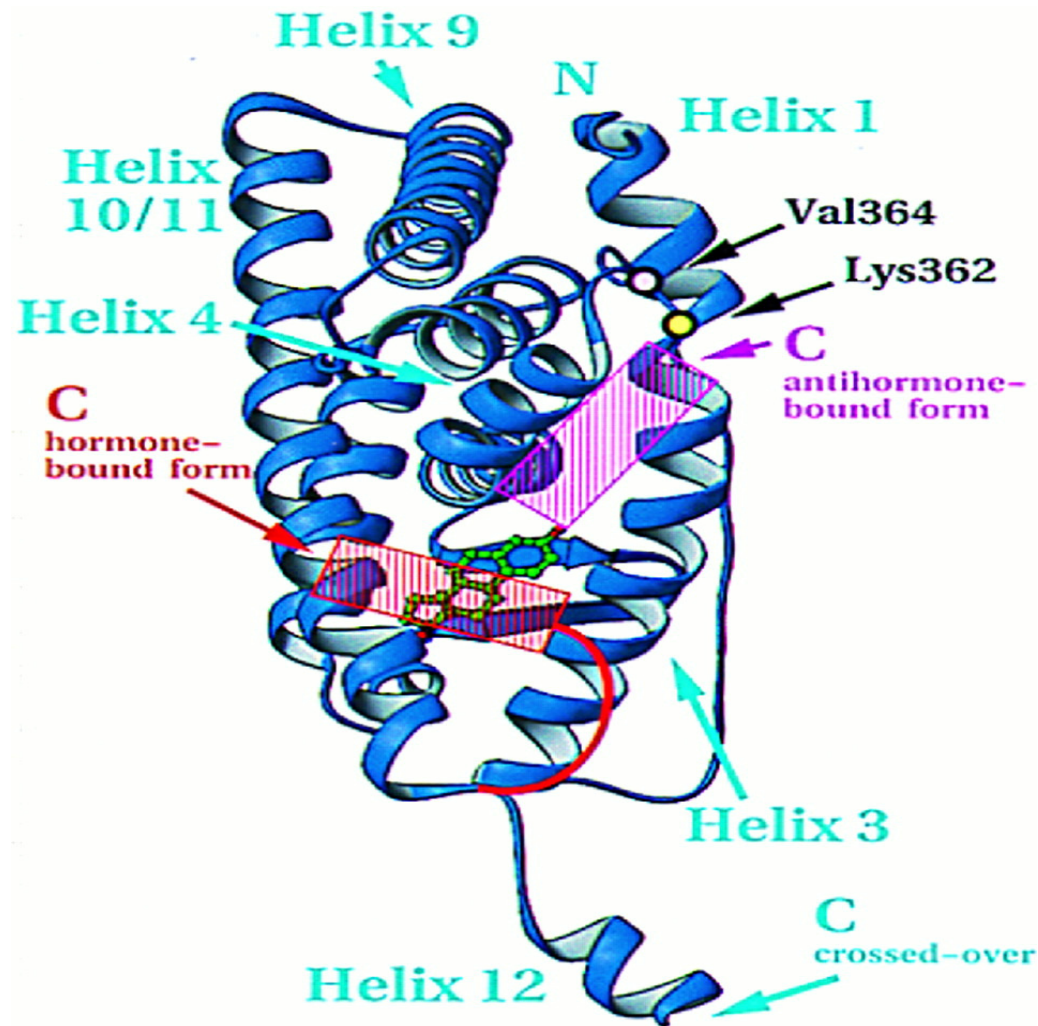
Ciclo Sequenza target

Reazione a catena della polimerasi (ap



Struttura e funzione delle proteine: Il recettore degli estrogeni

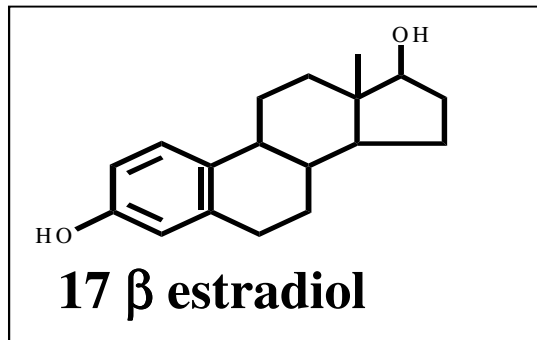
Inferred coactivator-binding surface.



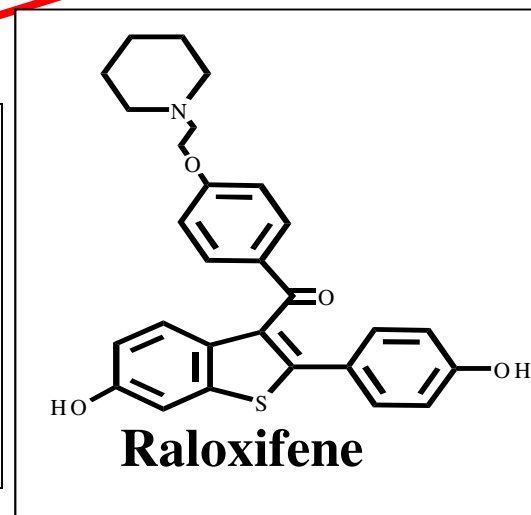
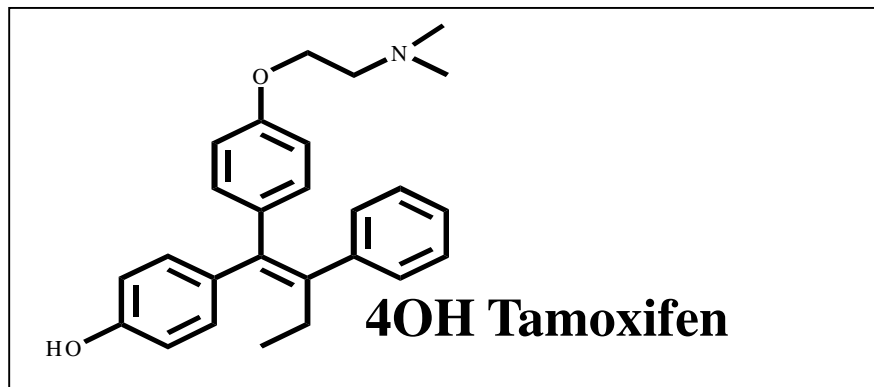
David M. Tanenbaum et al. PNAS 1998;95:5998-6003

PNAS

Selective Estrogen Receptor Modulators



ER α / ER β



Struttura e funzione delle proteine: HTH motivi e regolazione espressione genica

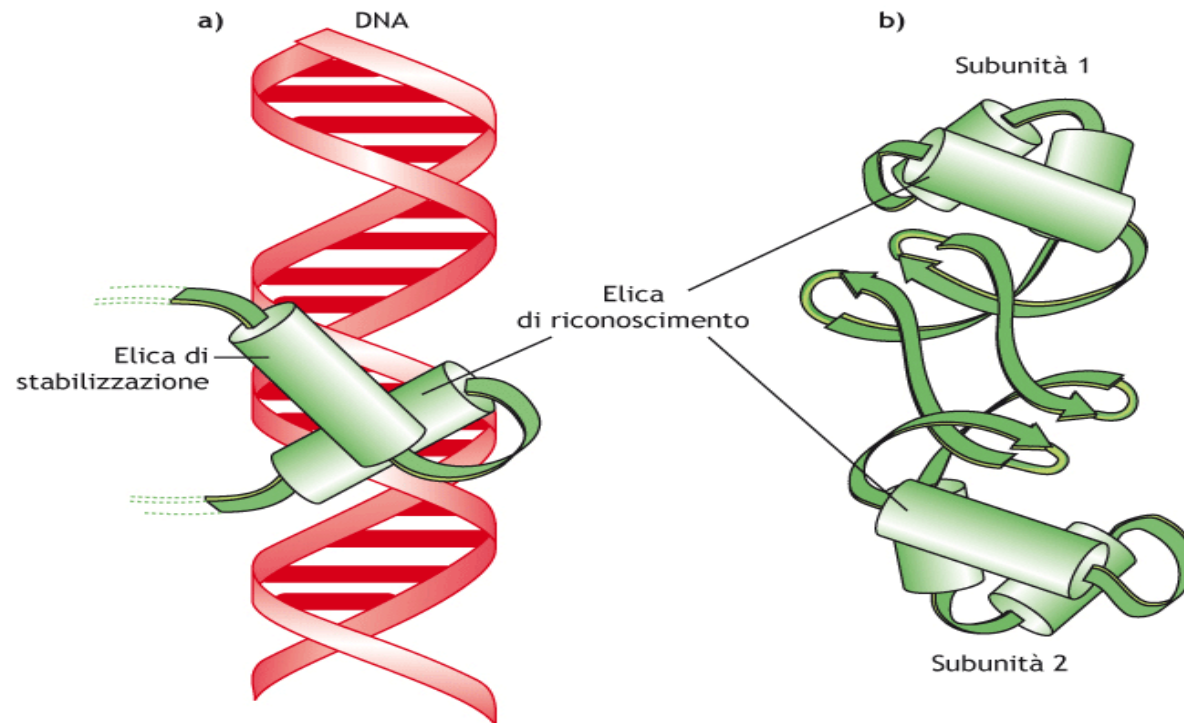


Figura 1.1.1.2 (a) Interazione del motivo HTH con il solco maggiore del DNA. (b) Organizzazione di un dimero funzionale di due motivi HTH.

Struttura e funzione delle proteine: sito attivo enzima

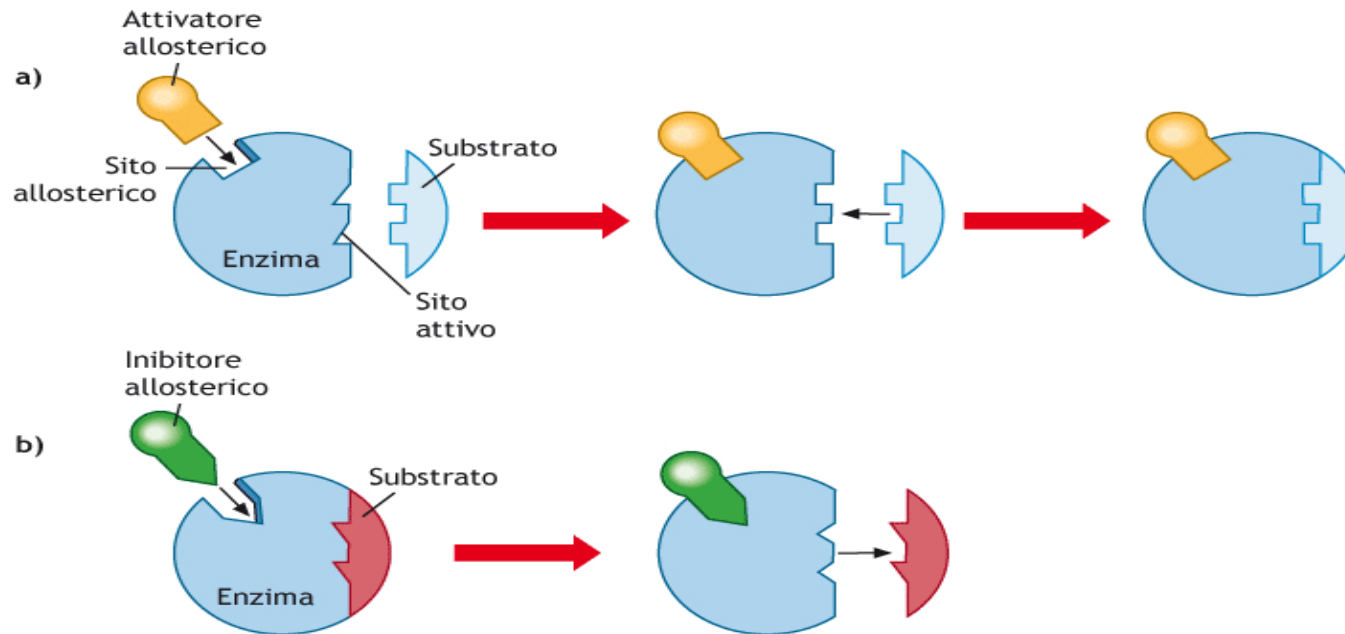


Figura 1.41 Regolazione dell'attività di una proteina allosterica. (a) Un attivatore, riconoscendo e legando un sito specifico dell'enzima, il sito allosterico, induce una modificazione conformazionale che permette all'enzima di legare il substrato. (b) Al contrario un inibitore, legando il sito allosterico, induce una modificazione conformazionale nell'enzima che perde affinità per il substrato.

Struttura e funzione delle proteine: fosforilazione

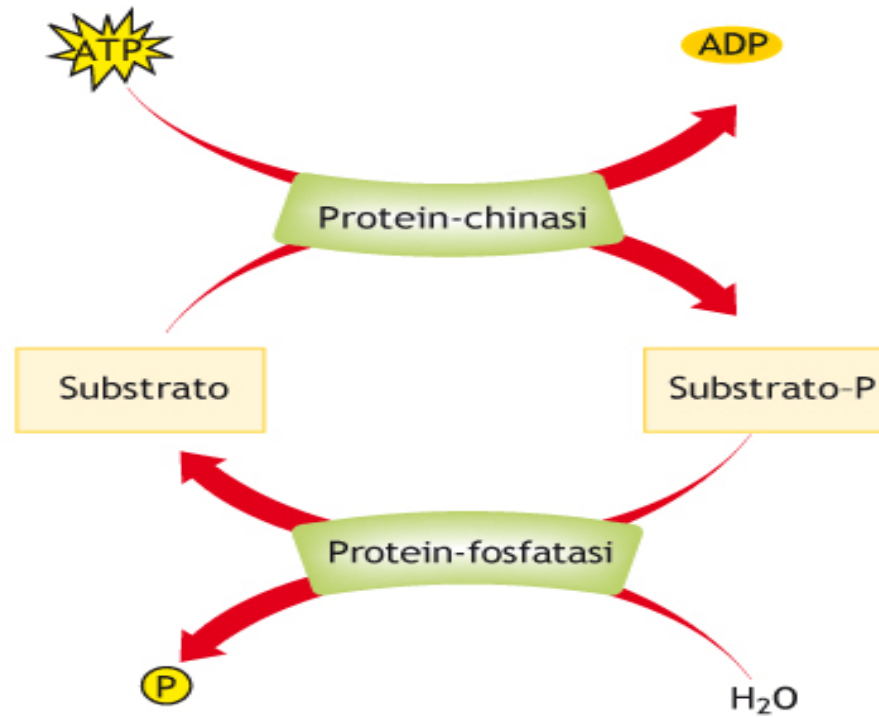
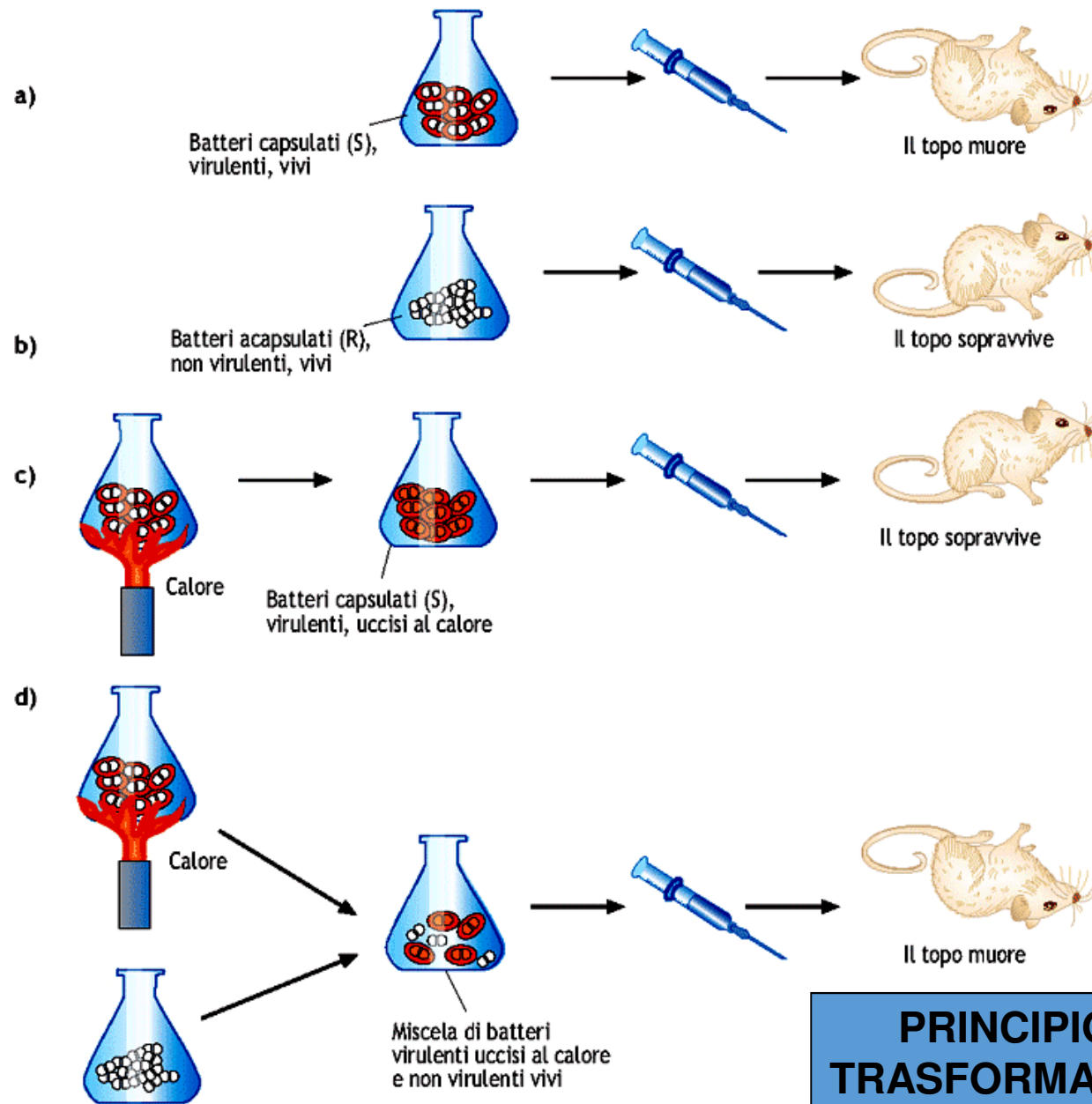


Figura I.42 Regolazione dell'attività di una proteina per modificazione covalente.

ACIDI NUCLEICI

Il DNA è il depositario dell'informazione genetica.



Esperimento di Griffith, 1928.

Nonostante il DNA fosse noto sin dal 1869, la sua identificazione come materiale genetico è avvenuta solo nel 1944 ed è intimamente legata agli studi sulla virulenza del microrganismo, il *Diplococcus pneumoniae*, o più semplicemente pneumococco, che causa la polmonite nei mammiferi. I pneumococchi possono esistere in 2 varietà:

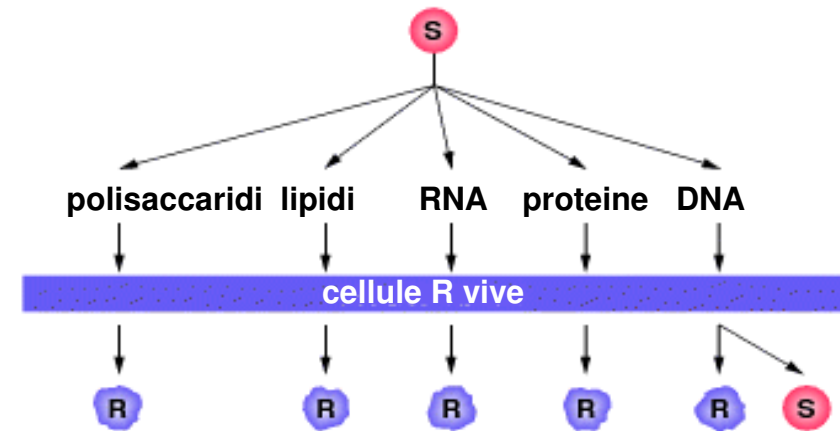
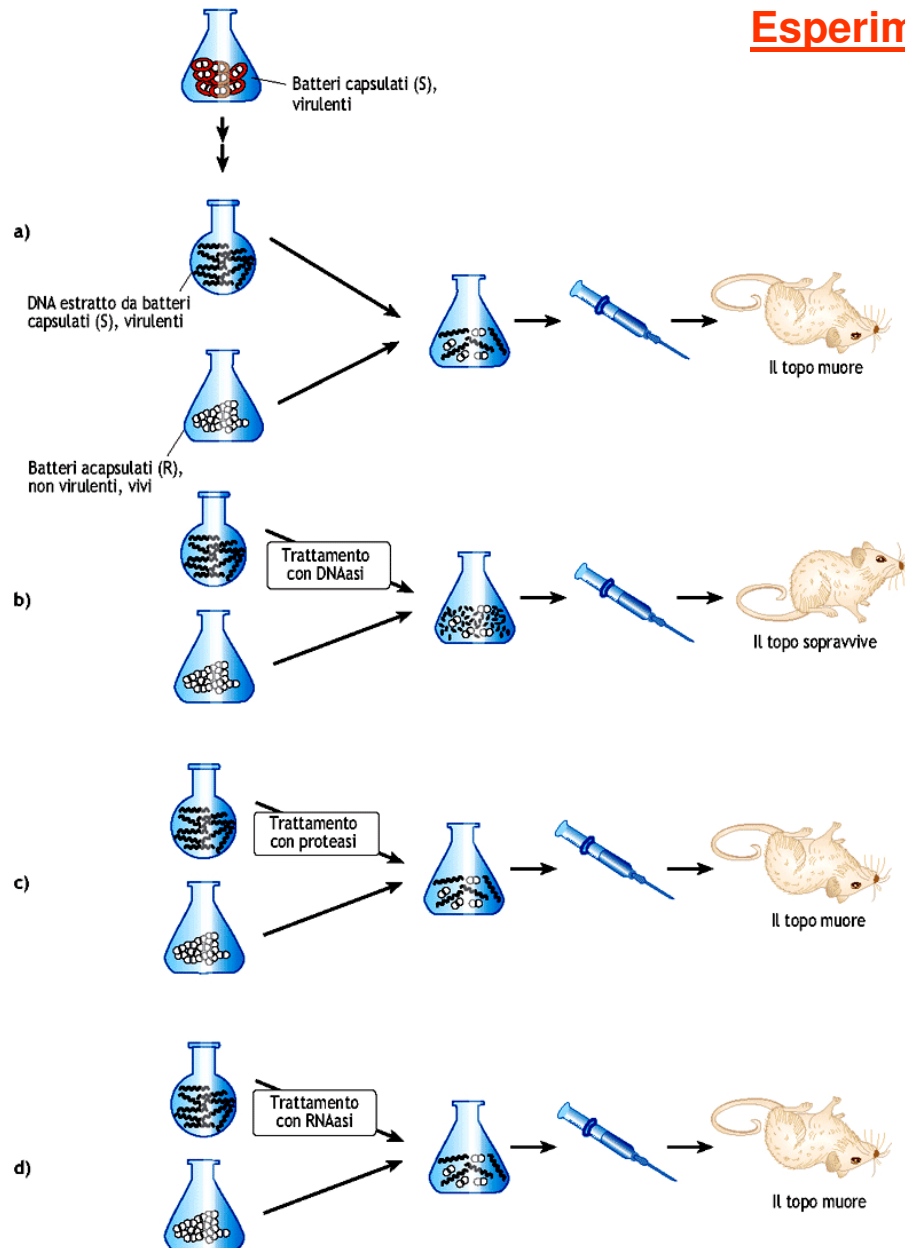
- 1) **virulenti (ceppo S)**, provvista di una capsula polisaccaridica di rivestimento che ne impedisce la fagocitosi;
- 2) **non virulenti (ceppo R)**, sprovvista di capsula.

**PRINCIPIO
TRASFORMANTE**

ACIDI NUCLEICI

Il DNA è il depositario dell'informazione genetica.

Esperimento di O. Avery, C. MacLeod, M. McCarty, 1944



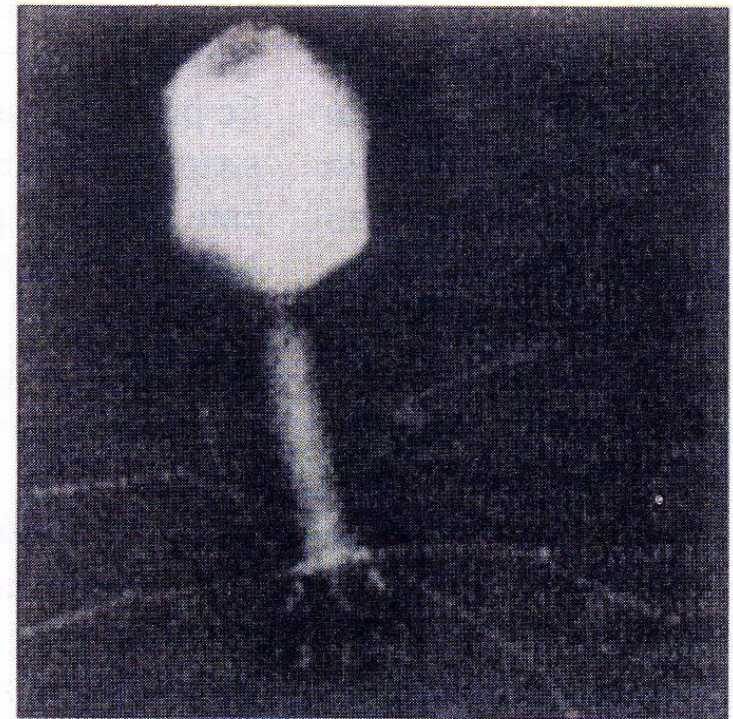
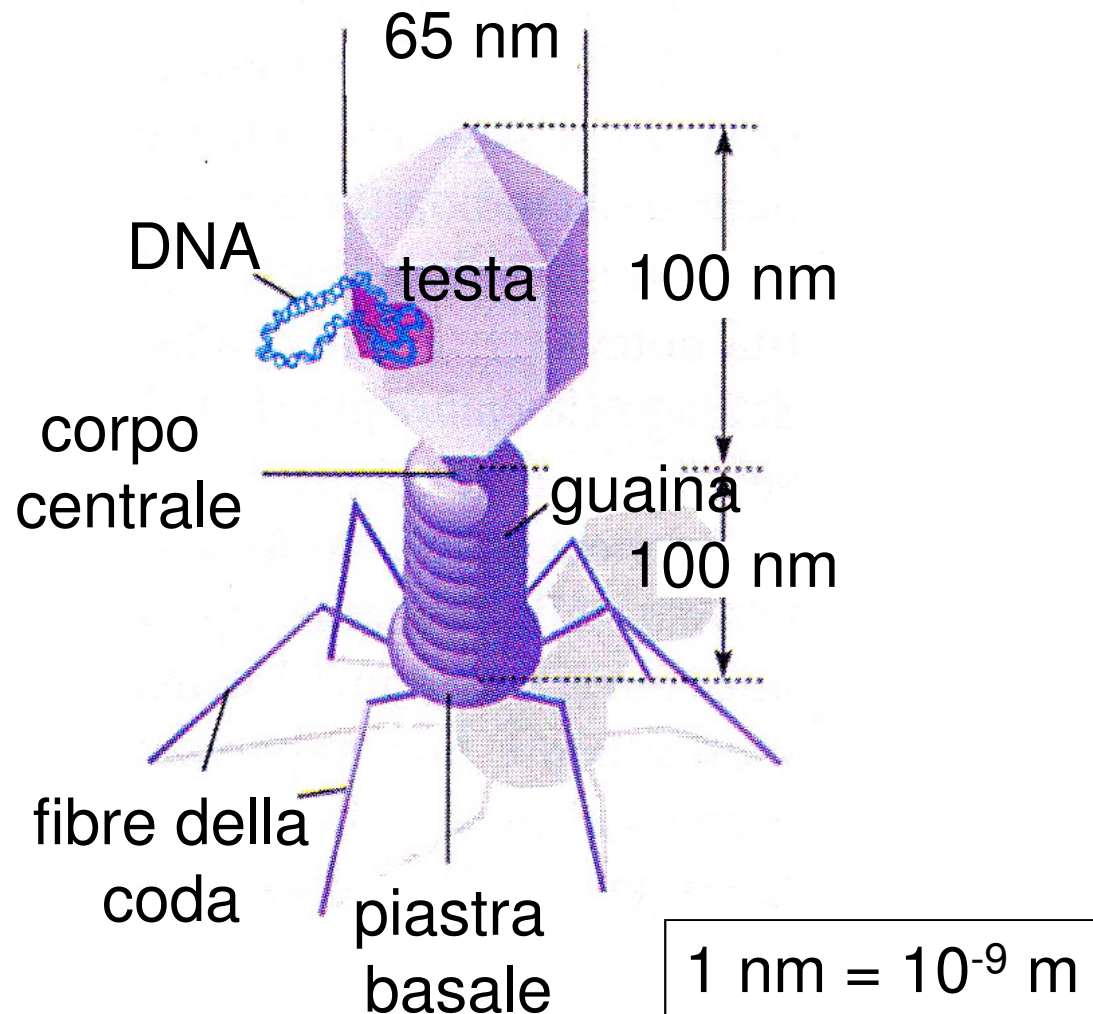
Stabilirono che il principio trasformante era il DNA, purificandolo da estratti batterici e al tempo stesso dimostrando che l'attività del principio trasformante veniva eliminata dalla digestione enzimatica del DNA ma non dalla digestione delle proteine.

ACIDI NUCLEICI

Il DNA è il depositario dell'informazione genetica.

Esperimento di Hershey e Chase, 1953

Alfred Harshey e Martha Chase stavano studiando nel 1953 un batteriofago chiamato T2.

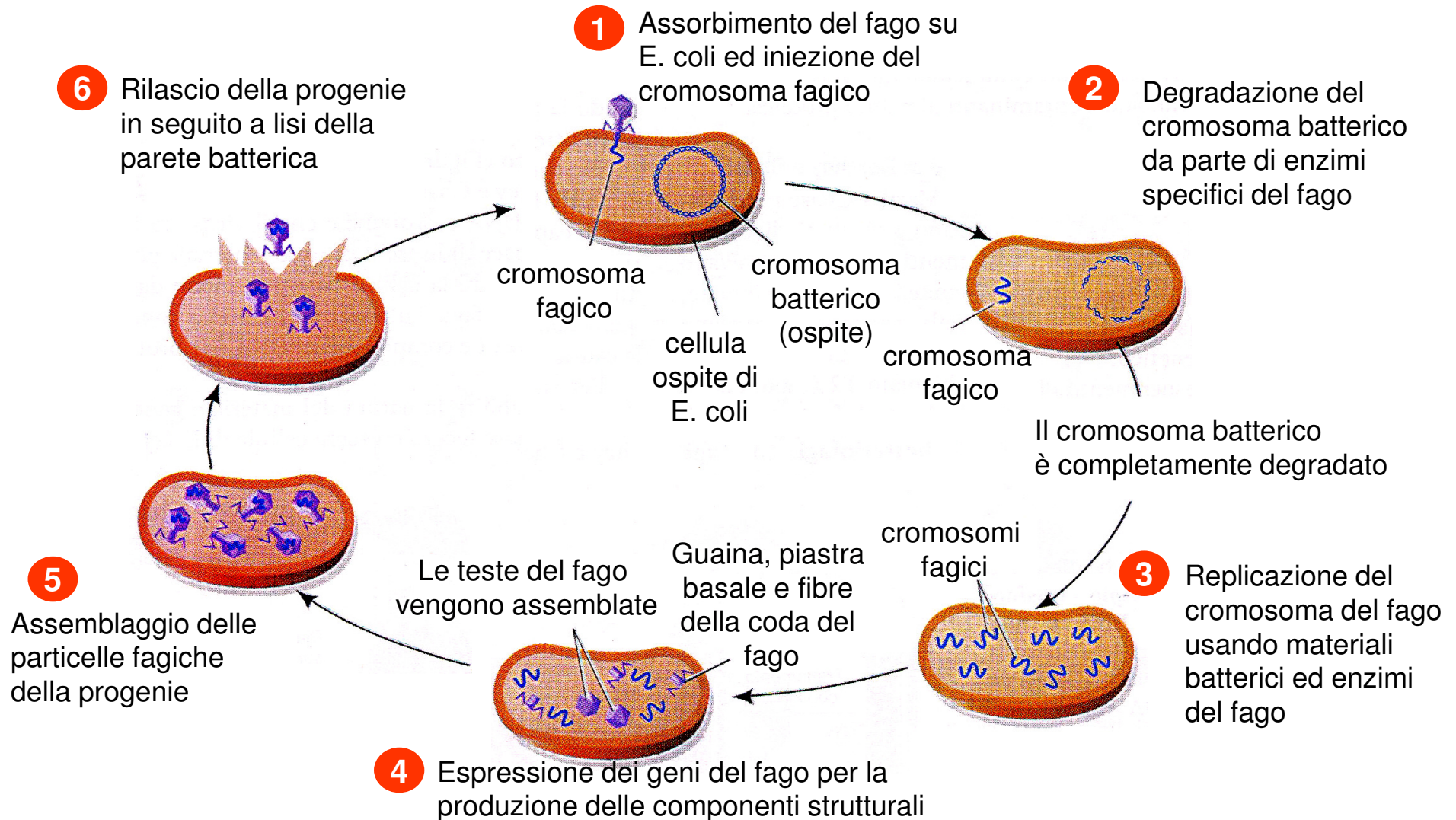


Fotografia al M.E. del batteriofago T2

ACIDI NUCLEICI

Il DNA è il depositario dell'informazione genetica.

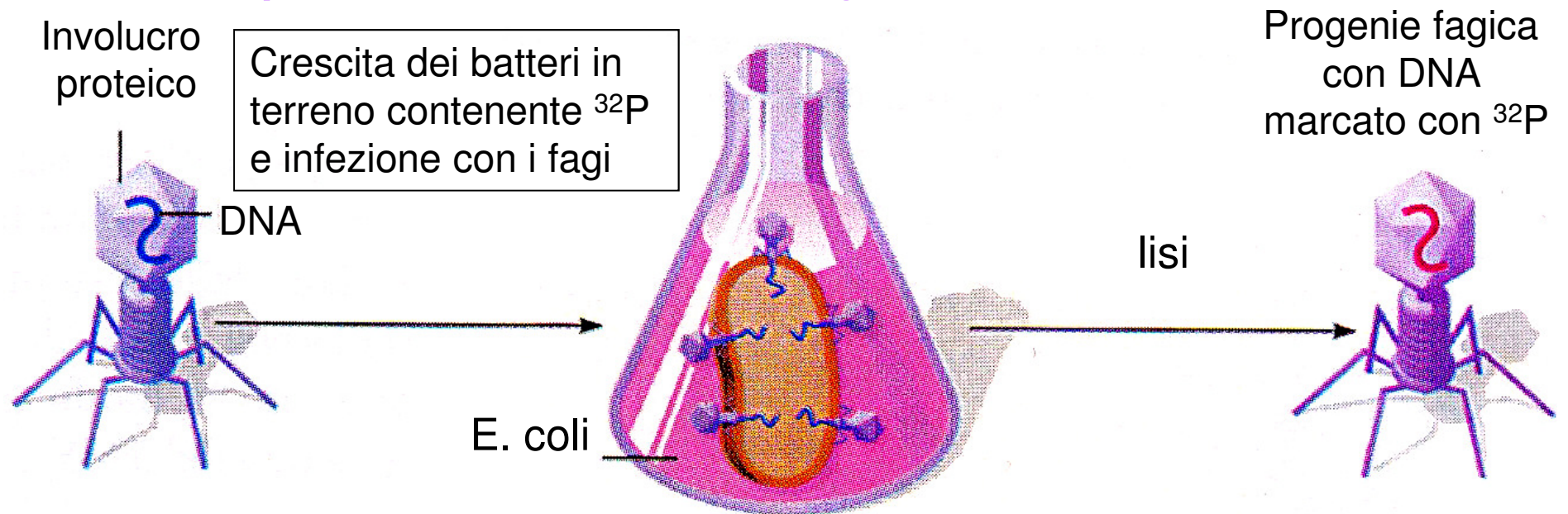
Hersey e Chase sapevano che il virus T2 era costituito soltanto da DNA e proteine e che il virus era in qualche modo capace di usare il proprio materiale genetico per riprogrammare la cellula ospite per farle produrre nuovi fagi. Tuttavia, non erano a conoscenza di quale dei due componenti, DNA o proteine, fosse la causa.



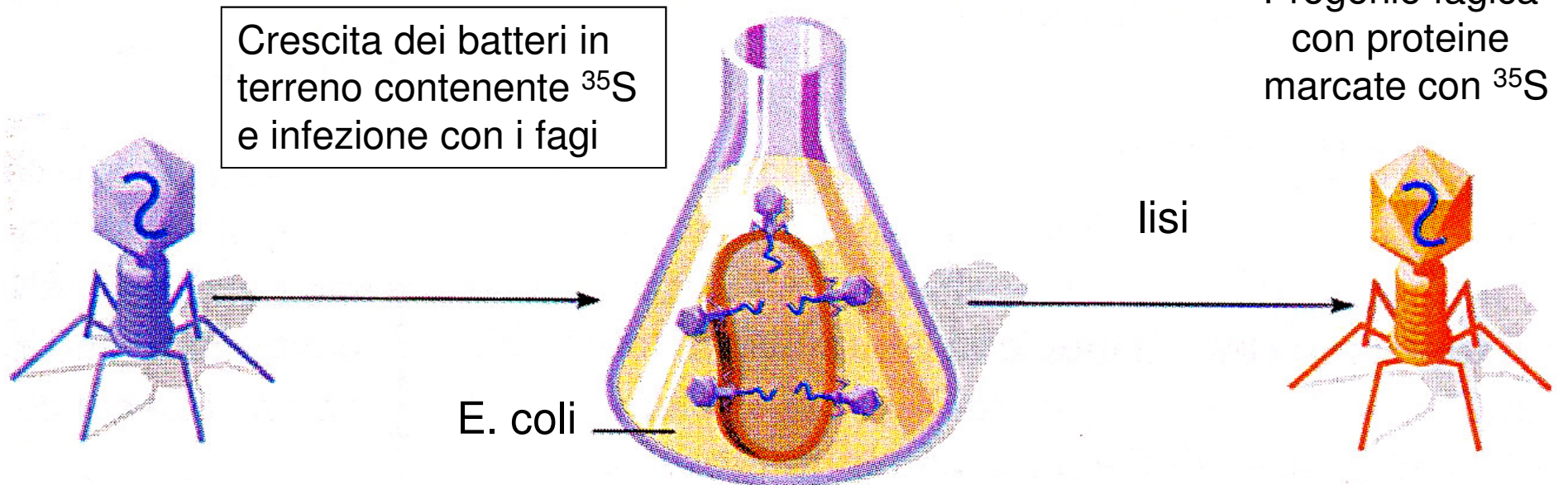
ACIDI NUCLEICI

Esperimento di Hershey e Chase, 1953

Il DNA è il depositario dell'informazione genetica.



Fago T2



ACIDI NUCLEICI

Il DNA è il depositario dell'informazione genetica.

Esperimento di Hershey e Chase, 1953

Usarono gli isotopi radioattivi del fosforo e dello zolfo per marcare rispettivamente il DNA e le proteine virali. Ciò fu possibile in quanto le proteine virali sono ricche di zolfo ma mancano di gruppi fosfato, mentre il DNA presenta una situazione opposta.

Gli esperimenti mostrarono che solo il DNA virale entra nella cellula batterica e, inoltre, questa molecola deve contenere le informazioni capaci di indirizzare la cellula verso la produzione del DNA e delle proteine di tipo virale.

po è un [atomo](#) di uno stesso [elemento chimico](#), e quindi con lo [numero atomico](#) Z , ma con differente [numero di massa](#) A , e quindi [massa atomica](#) M . La differenza dei numeri di massa è dovuta ad un diverso numero di [neutroni](#) presenti nel nucleo dell'atomo a parità di [numero atomico](#).

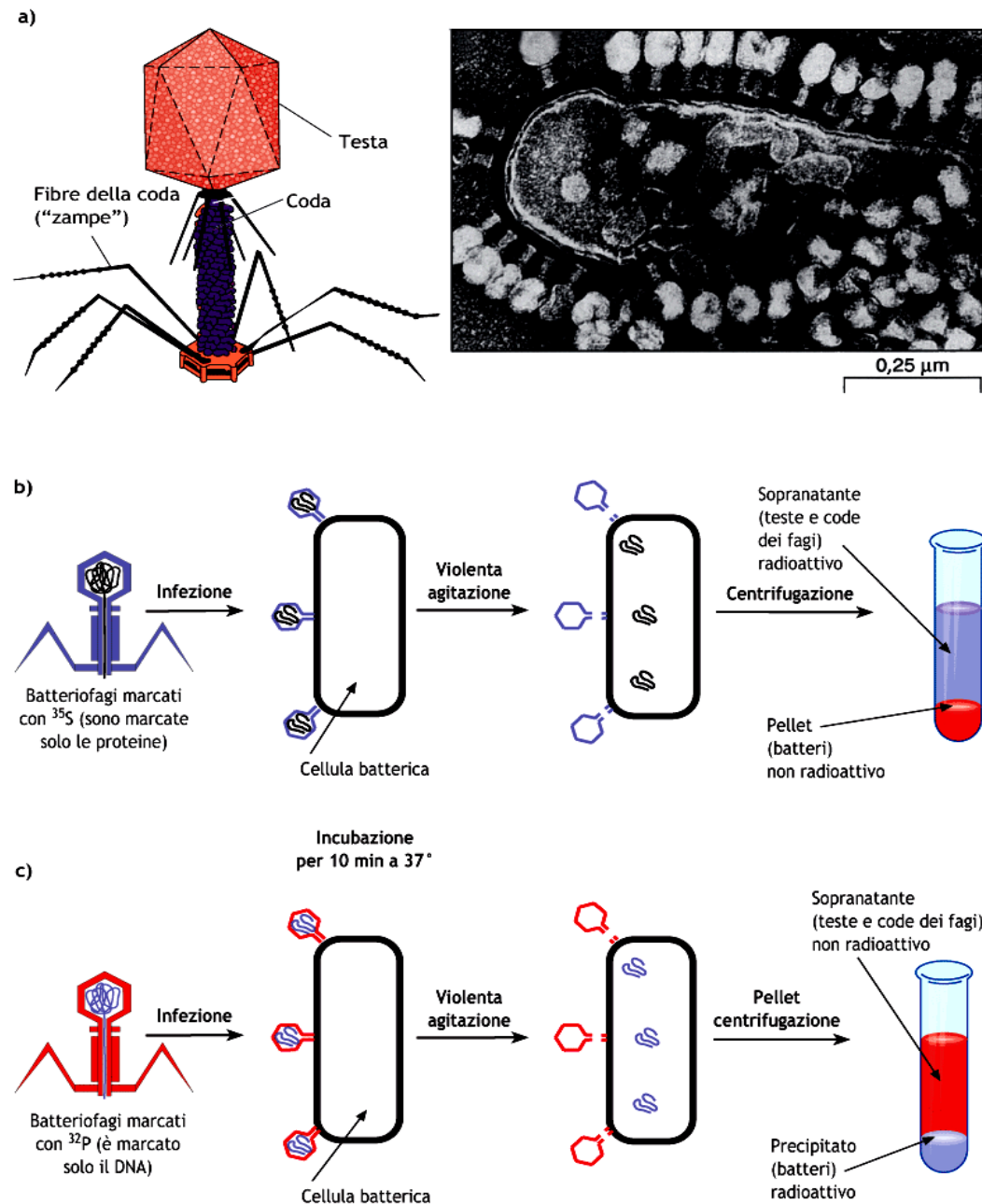
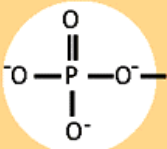
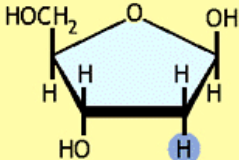
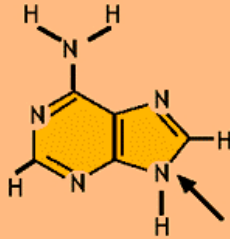
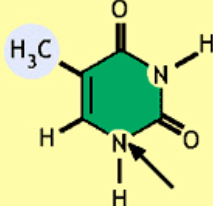
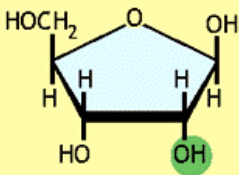
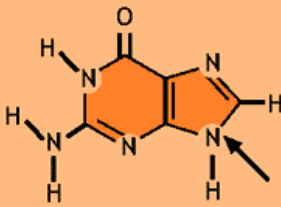
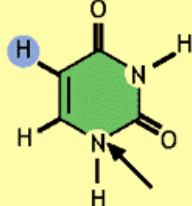
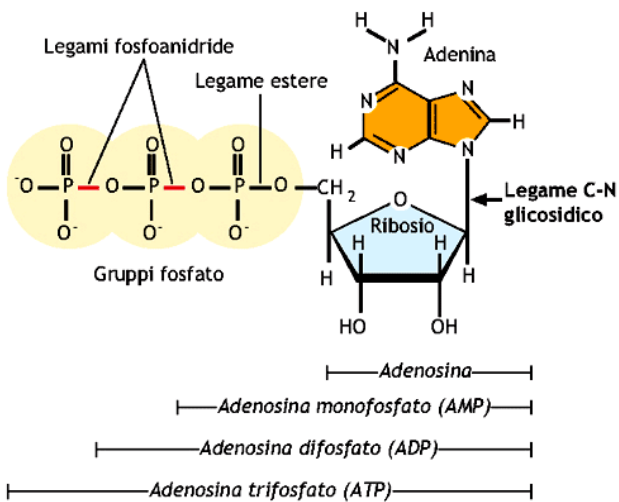
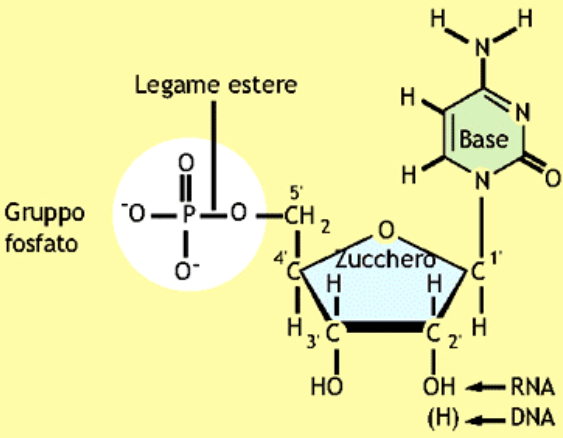


FIGURA 1.46 Esperimento di Hershey e Chase – dimostrazione che è il DNA del fago che viene inserito nel batterio nel momento dell'infezione. (a) Struttura di un fago della serie T4 e relativa immagine al ME; (b) infezione di batteri da parte di fagi che hanno le proteine del capsido marcate con ^{35}S . Dopo centrifugazione, il pellet che contiene i batteri non è radioattivo; (c) infezione di batteri da parte di fagi che hanno il DNA marcato con ^{32}P . Dopo centrifugazione, il pellet che contiene i batteri è radioattivo.

ACIDI NUCLEICI

DNA ed RNA

DNA ed RNA sono polimeri di **nucleotidi** che sono costituiti da **basi puriniche** e **pirimidiniche** legate a **zuccheri fosforilati**.

Gruppo fosfato	Zuccheri	Basi	
		Purine	Pirimidine
	 β-D-desossiribosio (nel DNA)	 Adenina (A)	 Timina (T) (nel DNA)
	 β-D-ribosio (nell'RNA)	 Guanina (G)	 Uracile (U) (nell'RNA)
Nucleotide			
			
			

ACIDI NUCLEICI

DNA ed RNA

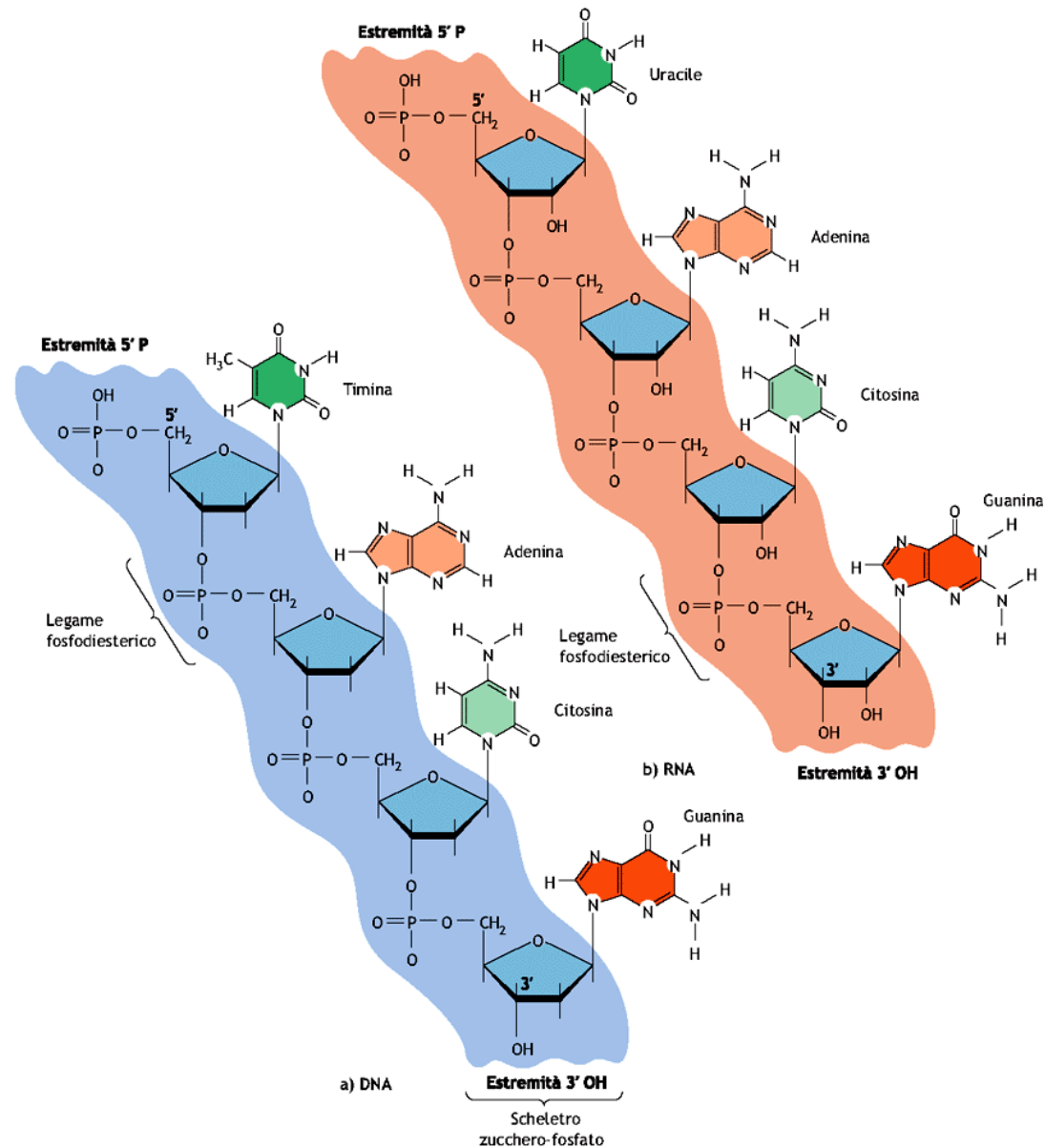


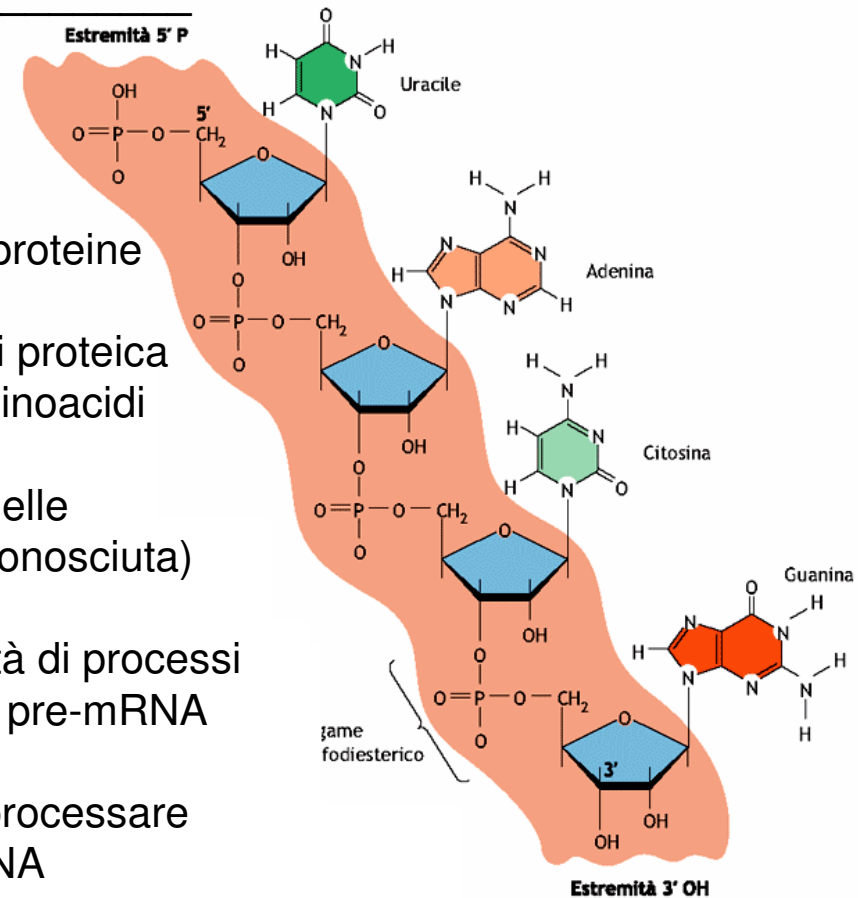
Figura 1.50 Costruzione di una singola elica. Gli acidi nucleici sono costituiti da catene lineari di nucleotidi uniti fra loro grazie ad un ponte fosfodiesterico che si instaura tra l'estremità 3'OH del primo nucleotide e l'estremità 5'P del secondo. Un polinucleotide così costituito ha, per convenzione, una polarità 5'P → 3'OH. Sia nel DNA che nell'RNA, lo scheletro è rappresentato dal regolare alternarsi di molecole di zucchero e di acido fosforico, da cui sporgono le basi azotate.

ACIDI NUCLEICI

Tabella: i tipi principali di RNA prodotti nelle cellule

RNA

RNA	Funzione
rRNA	RNA ribosomali, formano la struttura base dei ribosomi e catalizzano la sintesi proteica
mRNA	RNA messaggeri, codificano per proteine
tRNA	RNA transfer, centrali nella sintesi proteica come adattatori fra mRNA e amminoacidi
scRNA	RNA citoplasmatici, componenti delle ribonucleoproteine (SRP l'unica conosciuta)
snRNA	piccoli RNA nucleari, in una varietà di processi nucleari, compreso lo splicing dei pre-mRNA
snoRNA	piccoli RNA nucleolari, usati per processare e modificare chimicamente gli rRNA
microRNA	circa 21-22 nt, coinvolti nell'espressione genica in piante e animali



DNA

ACIDI NUCLEICI

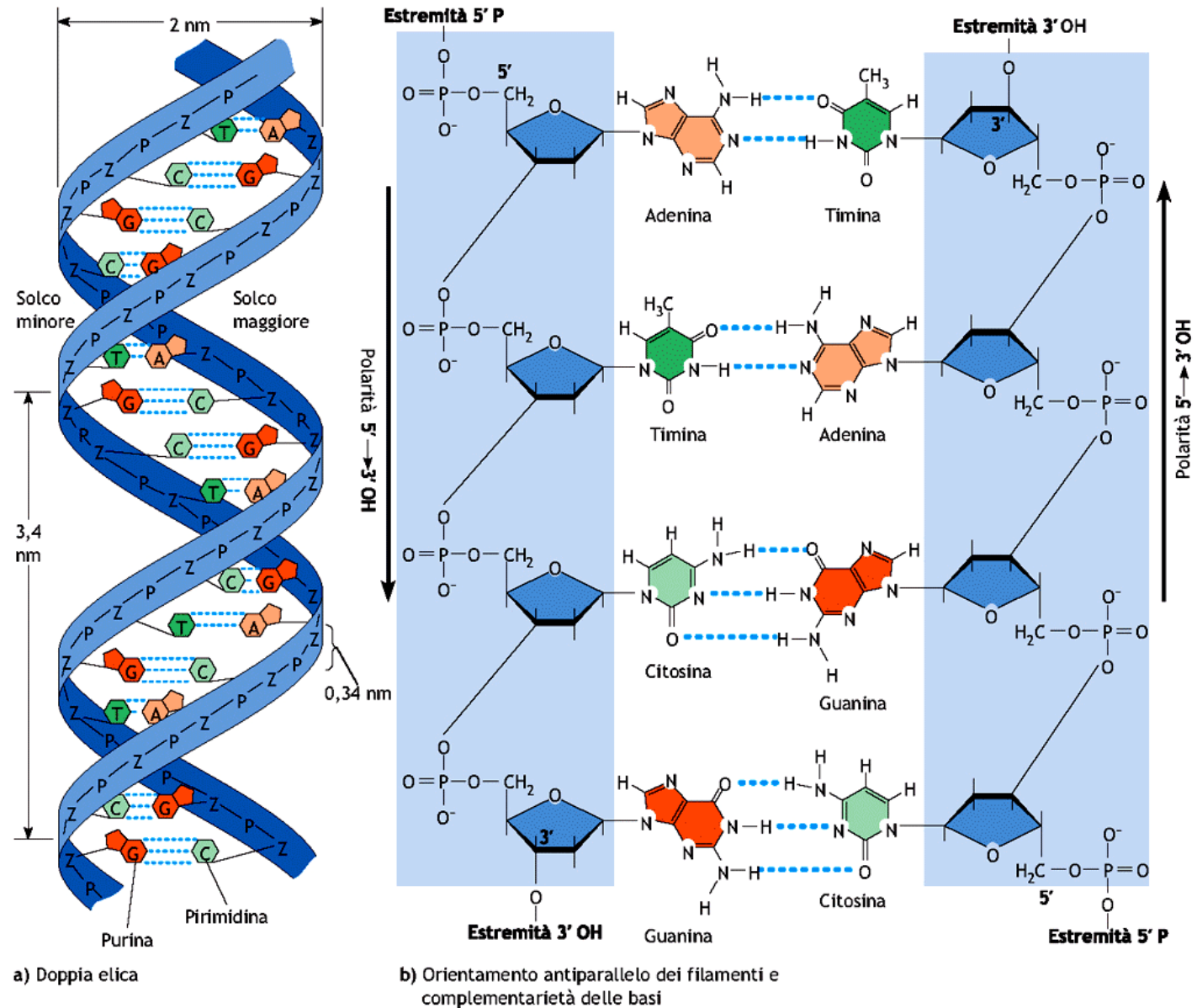
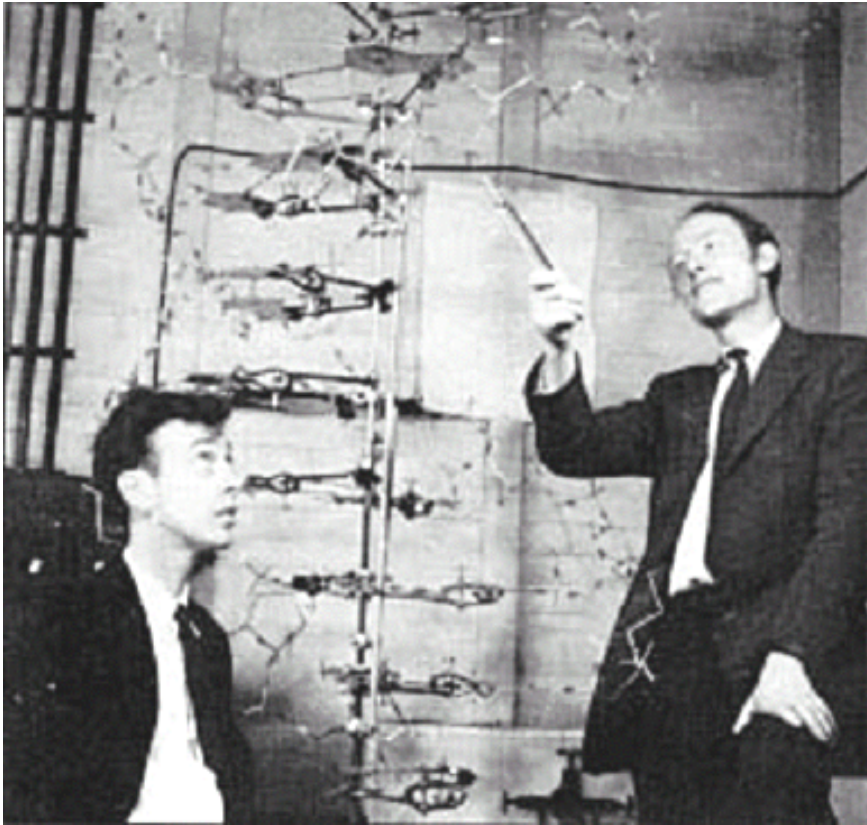


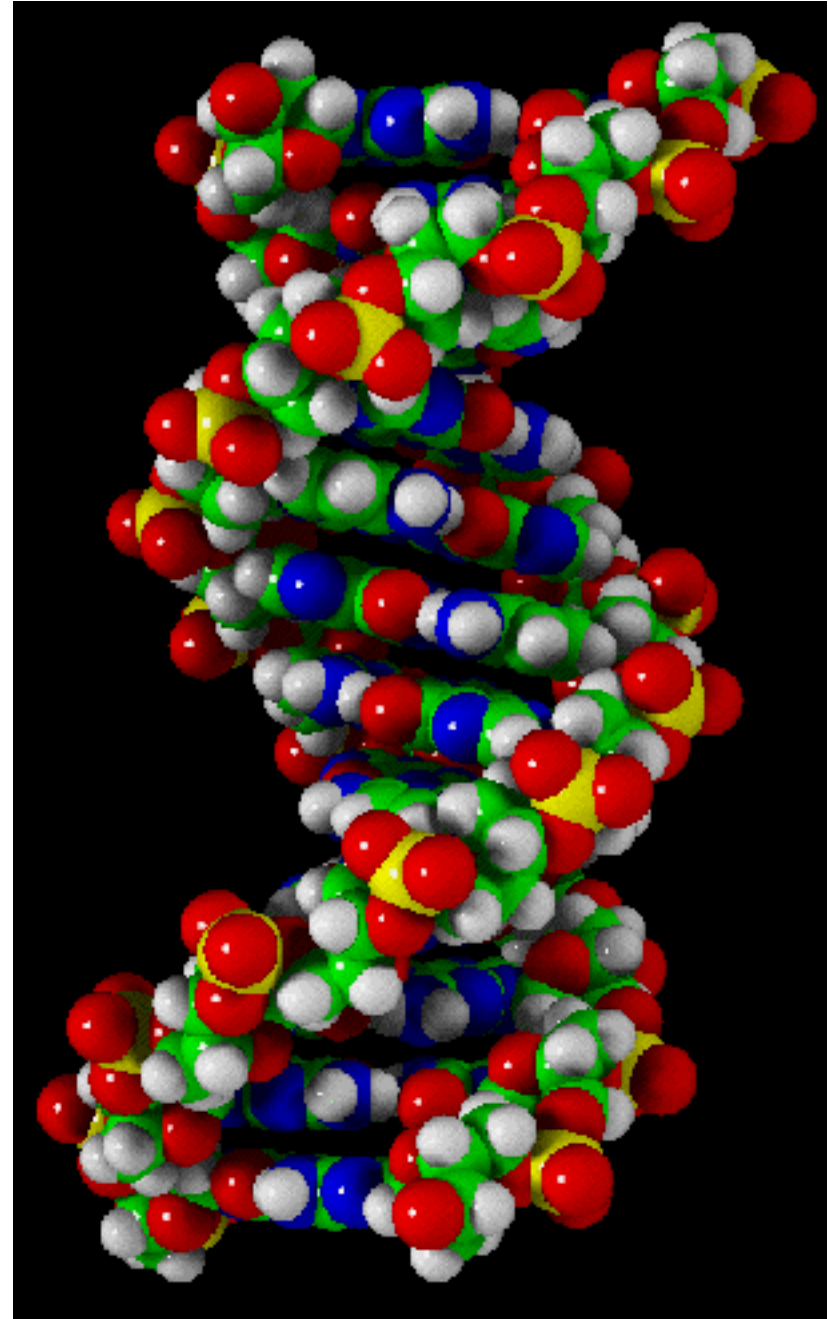
Figura 1.51 Le due eliche del DNA sono complementari e antiparallele. I legami idrogeno che si instaurano fra le basi complementari sono indicati dalle linee tratteggiate in blu. Gli accoppiamenti canonici nel DNA prevedono le coppie A=T e C≡G. Nei tratti a doppia elica dell'RNA, la coppia A=T è sostituita dalla coppia A=U. Inoltre, le due eliche (che hanno polarità 5'P → 3'OH) decorrono in direzione opposta (antiparallelismo).

DNA

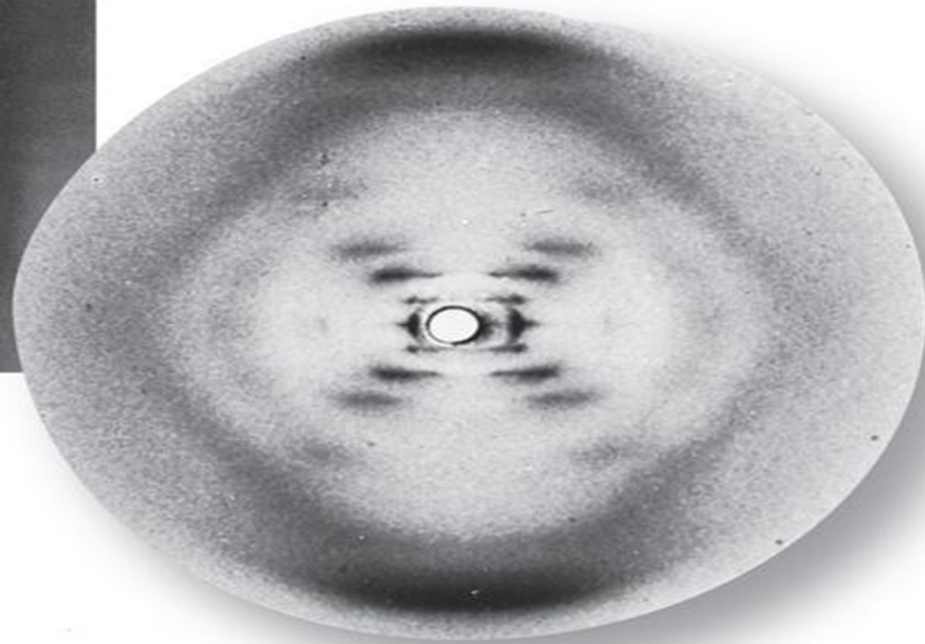
ACIDI NUCLEICI



La scoperta della struttura del DNA avvenne alla Cambridge University nel **1953**, da parte dell'americano **James D. Watson**, ed un inglese, **Francis H. Crick**. Il loro modello per la struttura del DNA era principalmente basato su studi di diffrazione dei raggi X, ottenuti da Maurice Wilkins e Rosalind Franklin.

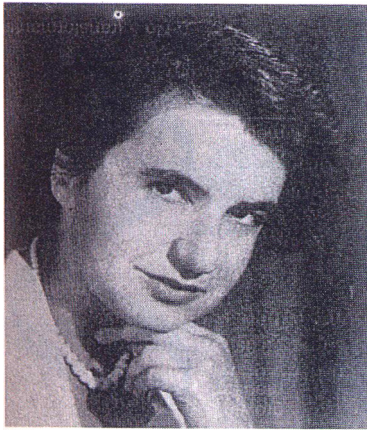


Rosalind Franklin: Dark Lady of DNA

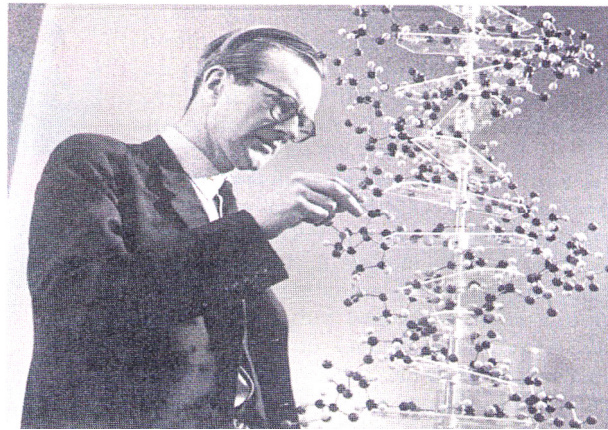


DNA

ACIDI NUCLEICI

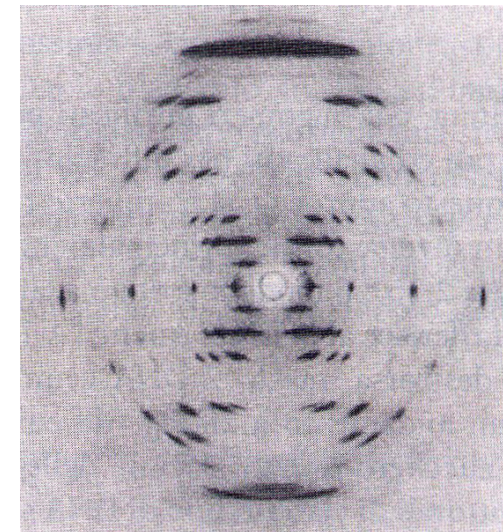
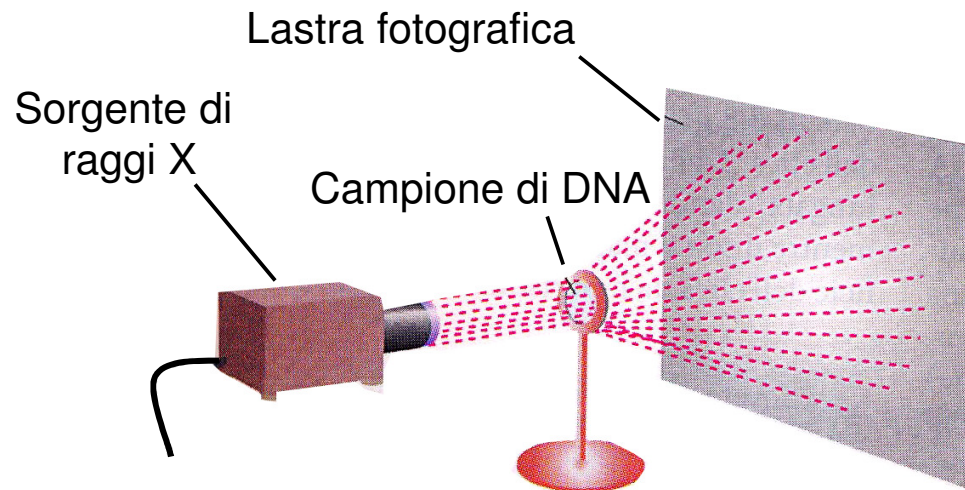


Rosalind Franklin



Maurice Wilkins (ricevette nel '62 il premio Nobel con Watson e Crick)

Analizzando la fotografia Franklin ottenne delle informazioni sulla struttura atomica della molecola. In particolare, concluse che il DNA era una struttura ad elica che presentava due periodicità distintive di 0,34 nm e 3,4 nm lungo l'asse della molecola.

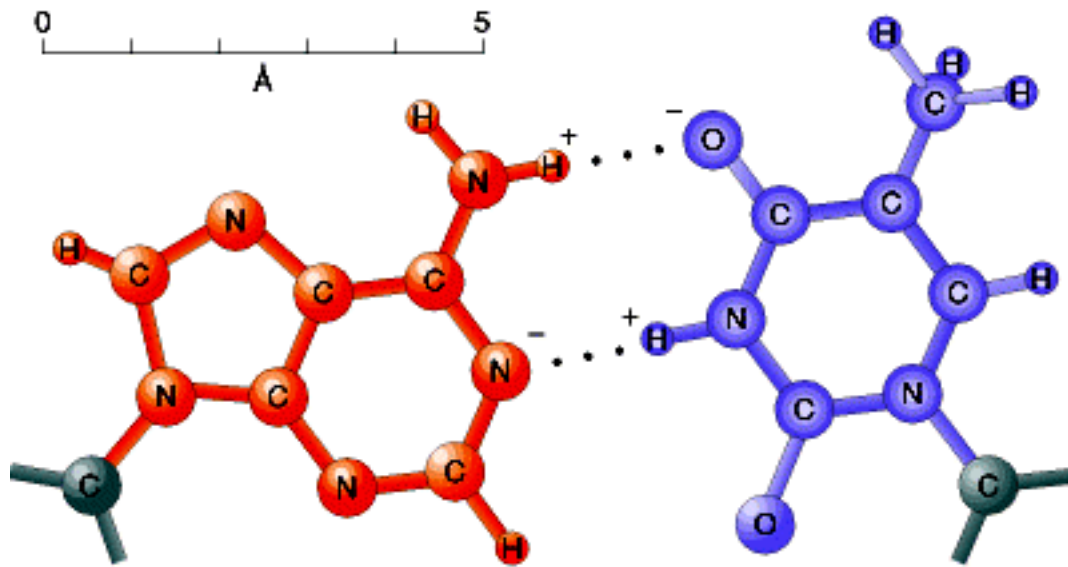


Schema di diffrazione dei raggi X

Analisi del DNA mediante diffrazione dei raggi X. Un fascio parallelo di raggi X viene diretto su un arrangiamento regolare e ripetuto di atomi. Il raggio viene diffratto dagli atomi secondo uno schema che è caratteristico del peso atomico e della disposizione spaziale degli atomi nella molecola. I raggi X diffratti sono registrati su una lastra fotografica.

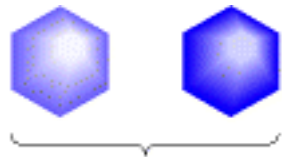
DNA

ACIDI NUCLEICI

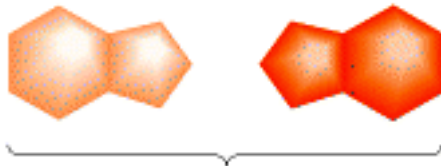


adenina

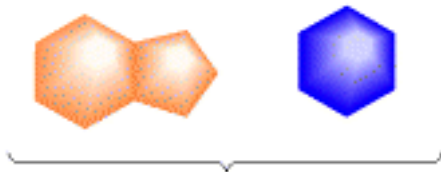
timina



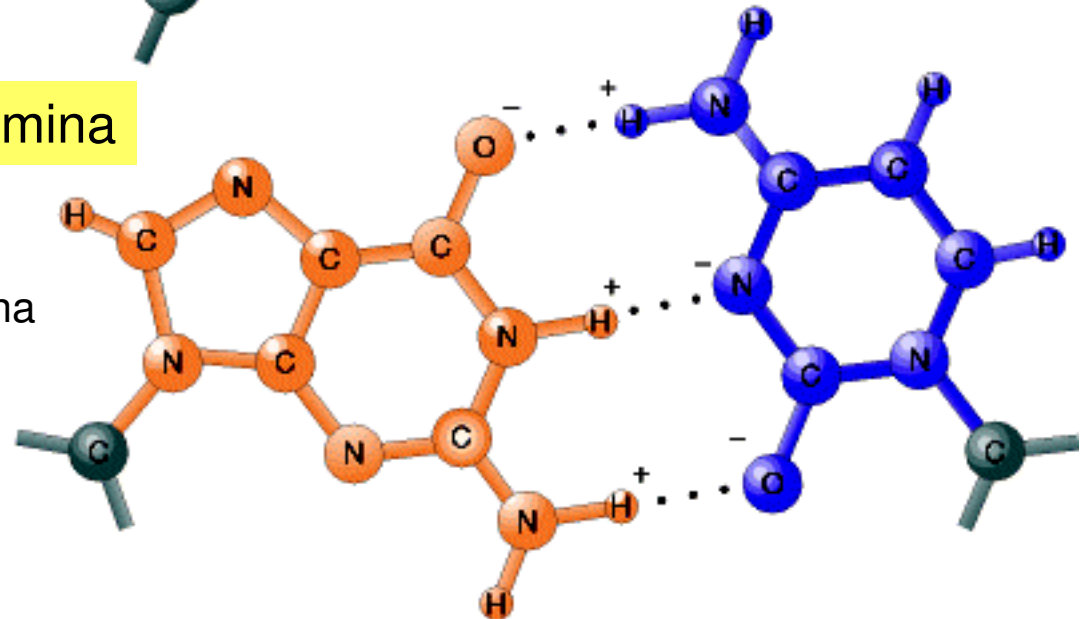
pirimidina + pirimidina
DNA troppo sottile



purina + purina
DNA troppo grosso



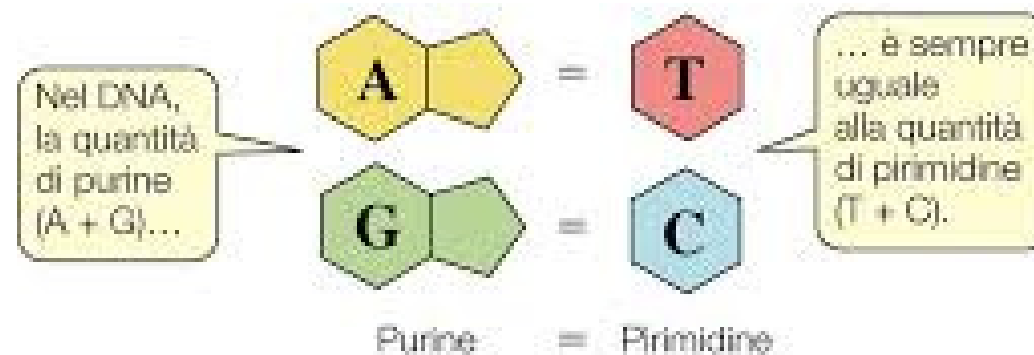
purina + pirimidina
spessore del DNA compatibile con l'analisi ai raggi X



guanina

citosina

Regola di Chargaff



La regola di Chargaff:

la quantità di A è uguale alla quantità di T

la quantità di G è uguale alla quantità di C

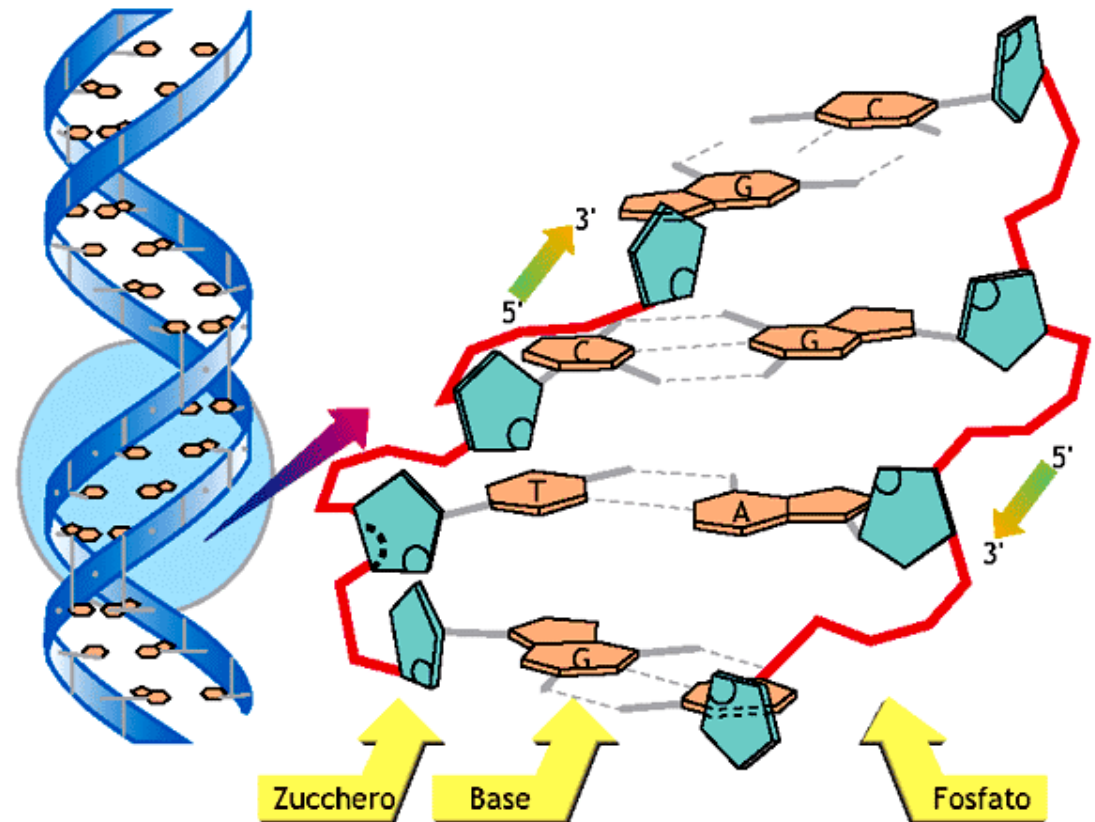
la quantità di G+A è uguale alla quantità di C+T



ACIDI NUCLEICI

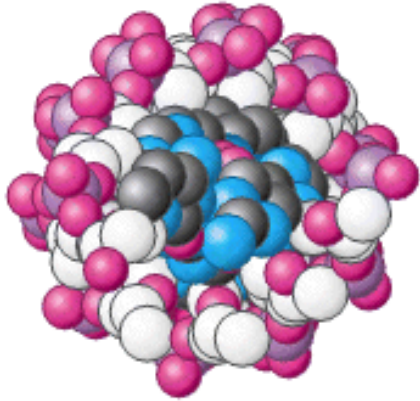
DNA

■ **Figura 1.52** L'antiparallelismo consente la formazione di legami idrogeno fra le basi complementari. Grazie all'orientamento antiparallelo delle due eliche, le basi azotate si trovano nella giusta posizione per formare legami idrogeno corretti (notare la posizione del legame C-N glicosidico rispetto al piano del foglio).



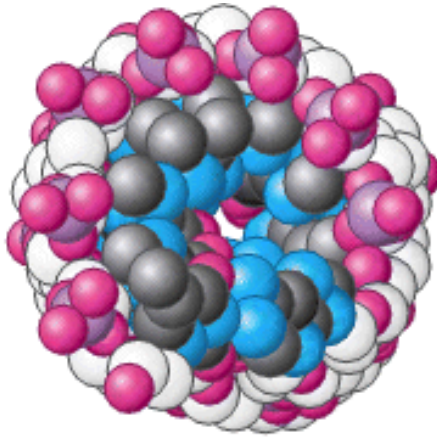
DNA

ACIDI NUCLEICI



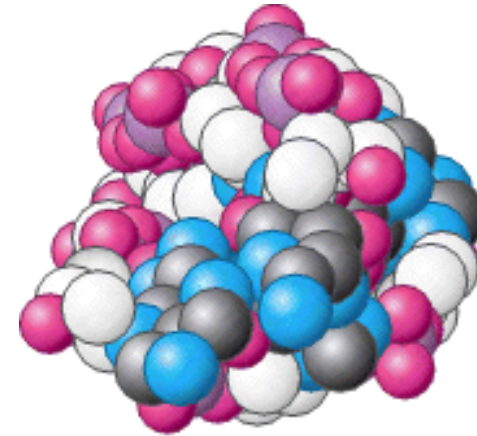
FORMA B

È fisiologica



FORMA A

E' la sperimentale (disidratata)



FORMA Z (sinistrorsa)

E' fisiologica in alcuni tratti del DNA

ACIDI NUCLEICI

DNA

Sequenze palindromiche

5'CGACGTTACCTTG---CAAGGTAAGGTAA3'
3'GCTGAAATGGAAC---GTTCCATTCCA TT5'

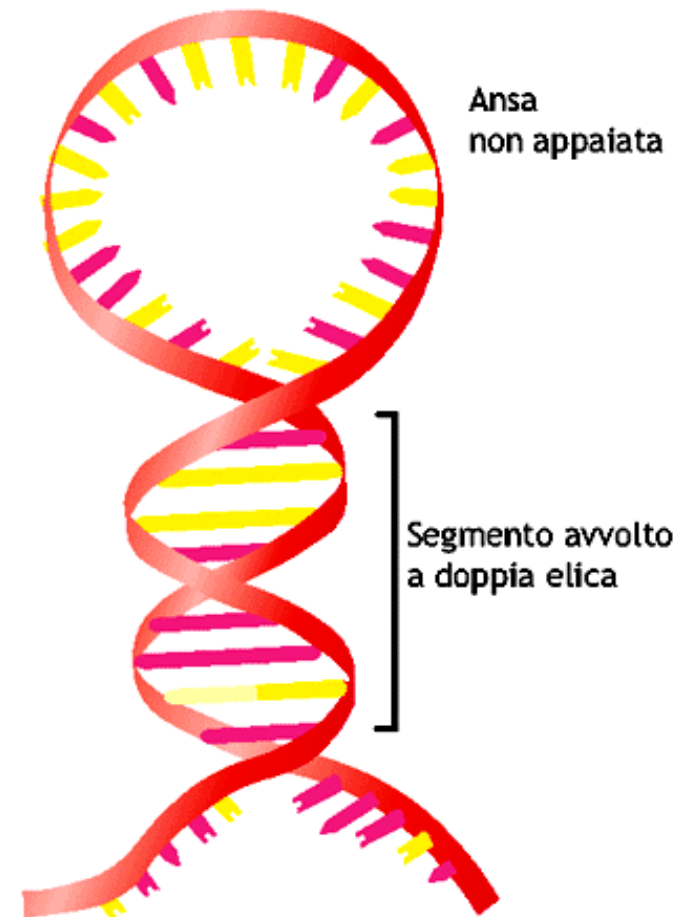
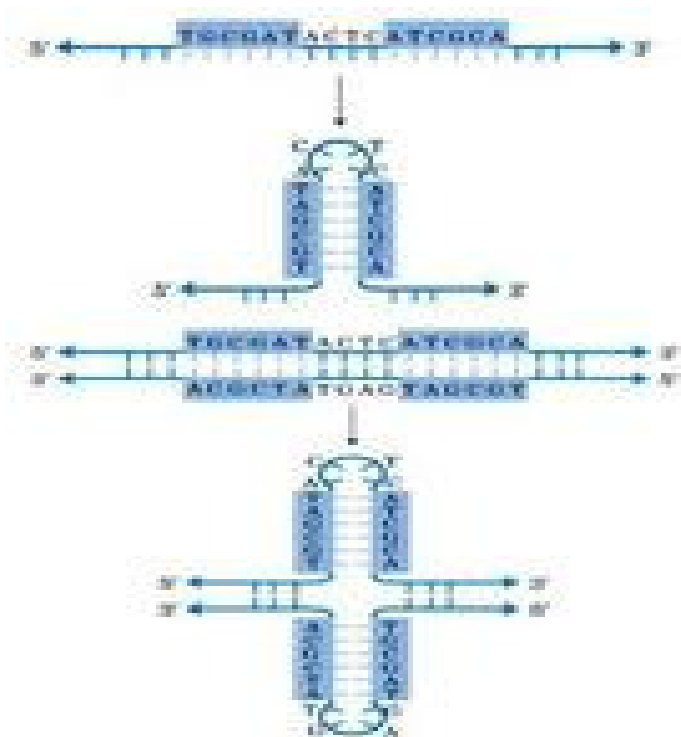
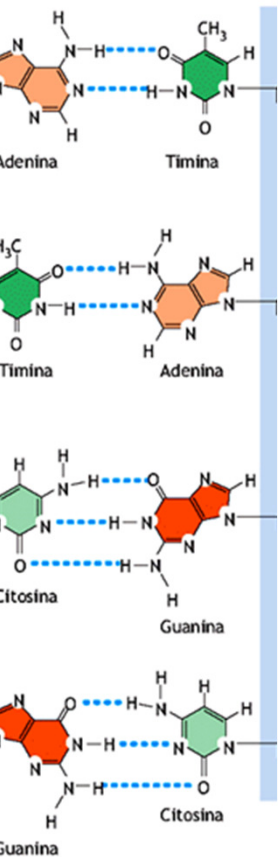


Figura 1.54 Sequenze palindromiche. Segmenti complementari all'interno di una singola elica, si osserva in questo caso la formazione di un'ansa non appaiata.

**I topi non avevano nipoti è una
palindrome**

DNA

ACIDI NUCLEICI



dei filamenti e
si

legami idrogeno che si instaurano f
prevedono le coppie A=T e C=G
(che hanno polarità 5'P → 3'OH).

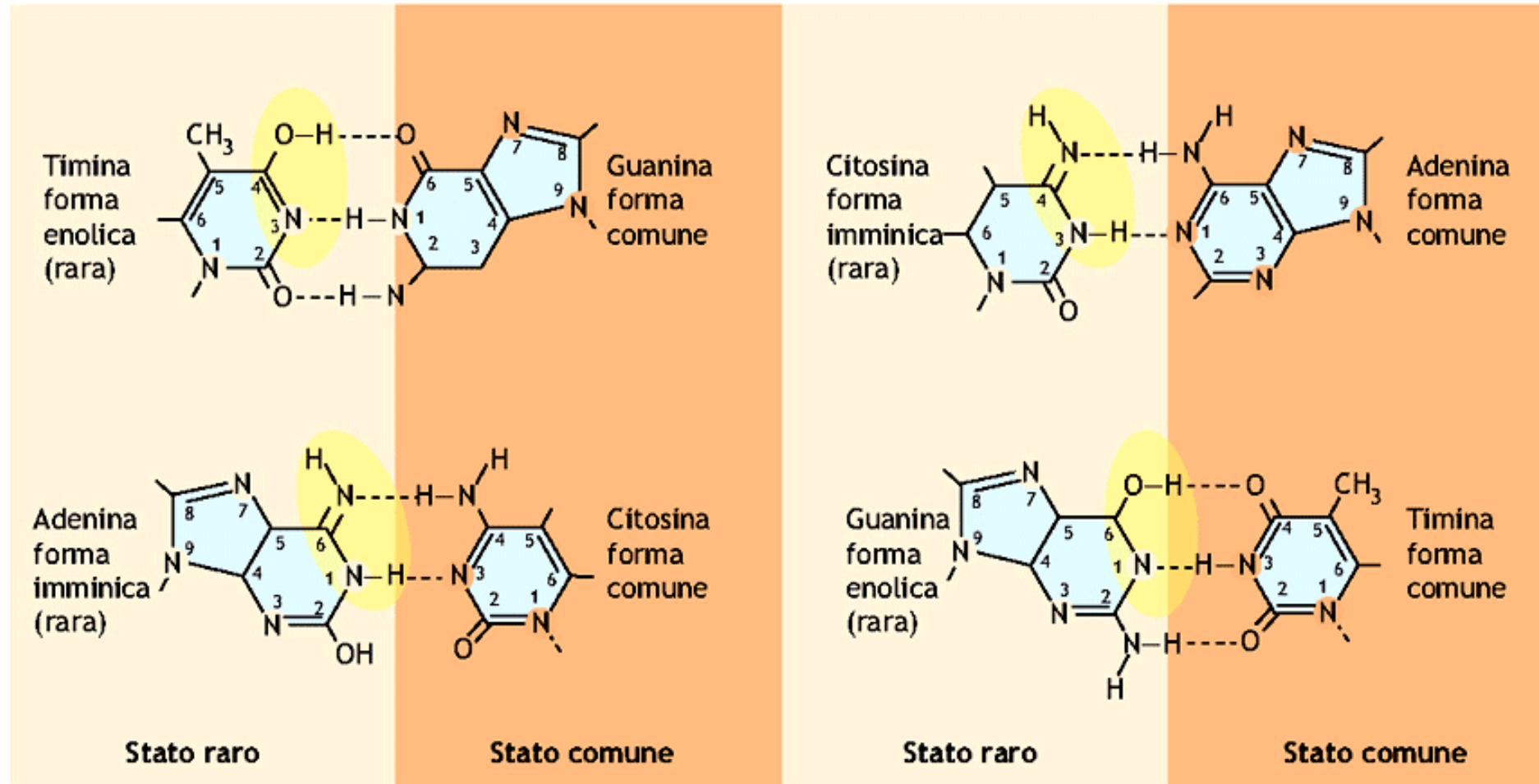
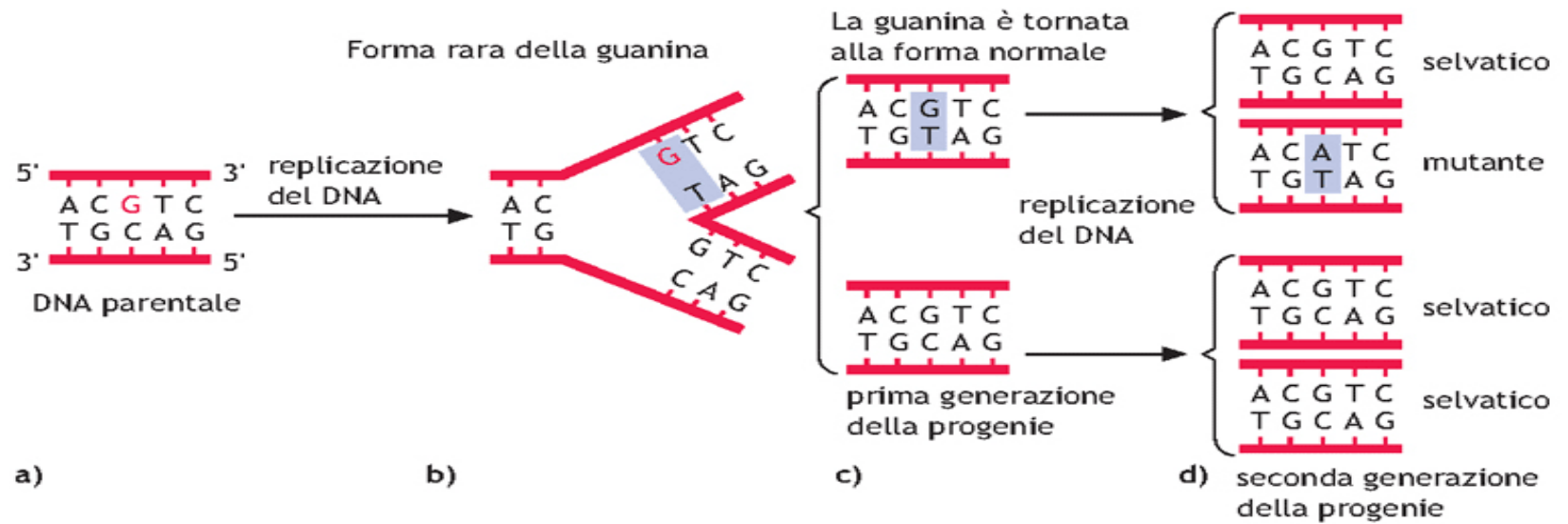


Figura 1.55 Forme tautomeriche delle basi e coppie non canoniche. La capacità di formare legami idrogeno risulta invertita in seguito ai cambiamenti tautomerici. La conseguenza è la formazione di coppie non canoniche guanina-timina e adenina-citosina, normalmente non permesse.

Figura 11.15 Insorgenza di una mutazione per la presenza di una forma tautomerica. Il pallino rosso indica la guanina in forma tautomerica.



The Nobel Prize in Chemistry 2015

The Royal Swedish Academy of Sciences has decided to award the Nobel Prize in Chemistry for 2015 to

Tomas Lindahl

Francis Crick Institute and Clare Hall Laboratory,
Hertfordshire, UK

Paul Modrich

Howard Hughes Medical Institute and
Duke University School of Medicine,
Durham, NC, USA

Aziz Sancar

University of North Carolina,
Chapel Hill, NC, USA

“for mechanistic studies of DNA repair”

The cells' toolbox for DNA repair

The Nobel Prize in Chemistry 2015 is awarded to **Tomas Lindahl, Paul Modrich and Aziz Sancar** for having mapped, at a molecular level, how cells repair damaged DNA and safeguard the genetic information. Their work has provided fundamental knowledge of how a living cell functions and is, for instance, used for the development of new cancer treatments.

Each day our DNA is damaged by UV radiation, free radicals and other carcinogenic substances, but even without such external attacks, a DNA molecule is inherently unstable. Thousands of spontaneous changes to a cell's genome occur on a daily basis. Furthermore, defects can also arise when DNA is copied during cell division, a process that

utilises nucleotide excision repair to correct defects caused by mutagenic substances, among other things.

Paul Modrich has demonstrated how the cell corrects errors that occur when DNA is replicated during cell division. This mechanism, *mismatch repair*, reduces the error frequency during DNA replication by about a thousandfold. Congenital defects in mismatch repair are known, for example, to cause a hereditary variant of colon cancer.

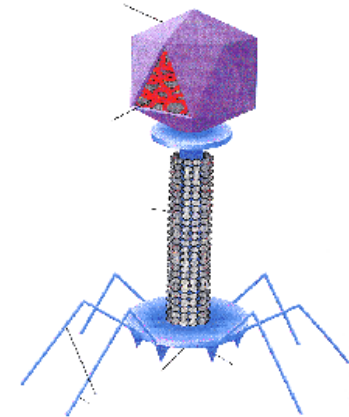
The Nobel Laureates in Chemistry 2015 have provided fundamental insights into how cells function, knowledge that can be used, for instance, in the development of new cancer treatments.

ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento

Una delle più sorprendenti caratteristiche di virus, cellule batteriche e cellule eucariotiche, è l'enorme discrepanza esistente tra la lunghezza del loro DNA e lo spazio, estremamente limitato, in cui tale DNA deve essere accolto.

Per es: il DNA del **batteriofago T4** ha una lunghezza di 60×10^{-6} metri, mentre la testa ha un diametro pari a 80×10^{-9} metri. Il DNA per essere contenuto nella testa deve essere ridotto di 1000 volte.



Una cellula di **Escherichia coli**, di dimensioni pari a $1 \text{ nm} \times 1 \text{ nm} \times 4 \text{ nm}$, contiene tutto il proprio programma genetico in una singola molecola di DNA le cui dimensioni, in forma completamente distesa, corrispondono a circa 1 mm ; vale a dire che la molecola del DNA è circa 250 volte più lunga della cellula che la contiene.



Il nucleo di una **cellula somatica umana** dal diametro medio di circa $5 \text{ }\mu\text{m}$, contiene una quantità di DNA (3×10^9 nucleotidi per cellula aploide) che, in forma completamente distesa, avrebbe una lunghezza pari a $1,7 \text{ metri}$, cioè 350.000 volte superiore al diametro del suo contenitore.



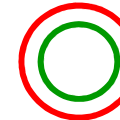
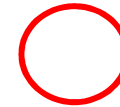
ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento

Il DNA dei cromosomi dei virus e dei plasmidi

I cromosomi virali hanno una notevole eterogeneità per quanto riguarda forma e dimensioni del DNA. In rapporto alla forma del DNA i cromosomi possono essere distinti in alcune classi principali:

1. Cromosomi circolari a filamento unico dove gli estremi 5' e 3' sono saldati covalentemente.
2. Cromosomi circolari a doppia elica in cui le estremità 5' e 3' di ciascuno dei due filamenti sono saldate ad anello chiuso.
3. Cromosomi lineari a filamento unico
4. Cromosomi lineari ad estremità tronche
5. Cromosomi lineari ad estremità coesive che possono circularizzare.



ABC

UVZ

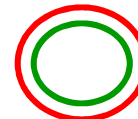


ABC

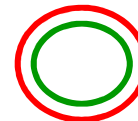
A'B'C'



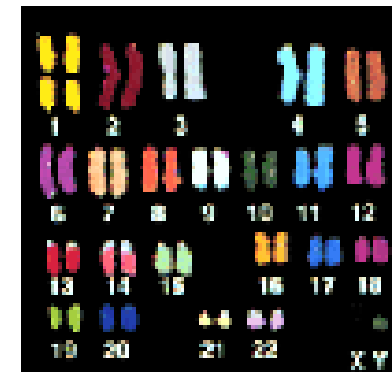
Il DNA dei cromosomi batterici circolari a doppia elica



Il DNA dei cromosomi mitocondriali e cloroplastici



Il DNA dei cromosomi degli eucarioti è costituito da una struttura lineare



ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento negli eucarioti

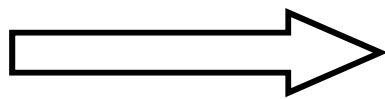
Cromatina

La lunghezza totale del DNA esteso di una cellula umana è di quasi 2 metri e deve adattarsi ad un nucleo che ha un diametro di soli 5-10 μm .

I complessi tra DNA eucariotico e proteine si chiamano **cromatina**.

Le proteine principali della cromatina sono gli **istoni**.

1. H1
2. H2A
3. H2B
4. H3
5. H4

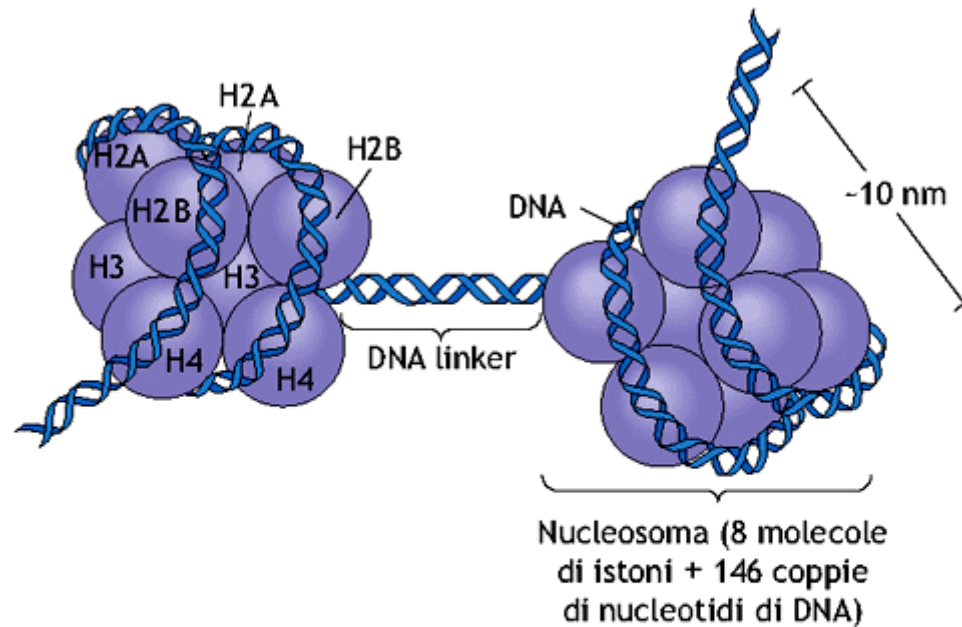


contengono un'alta % di aminoacidi basici, come lisina e arginina, che facilitano il legame alla molecola di DNA carica negativamente. I legami che si creano tra il DNA e gli istoni sono diversi: idrogeno, ionico, forze di Van der Waals.

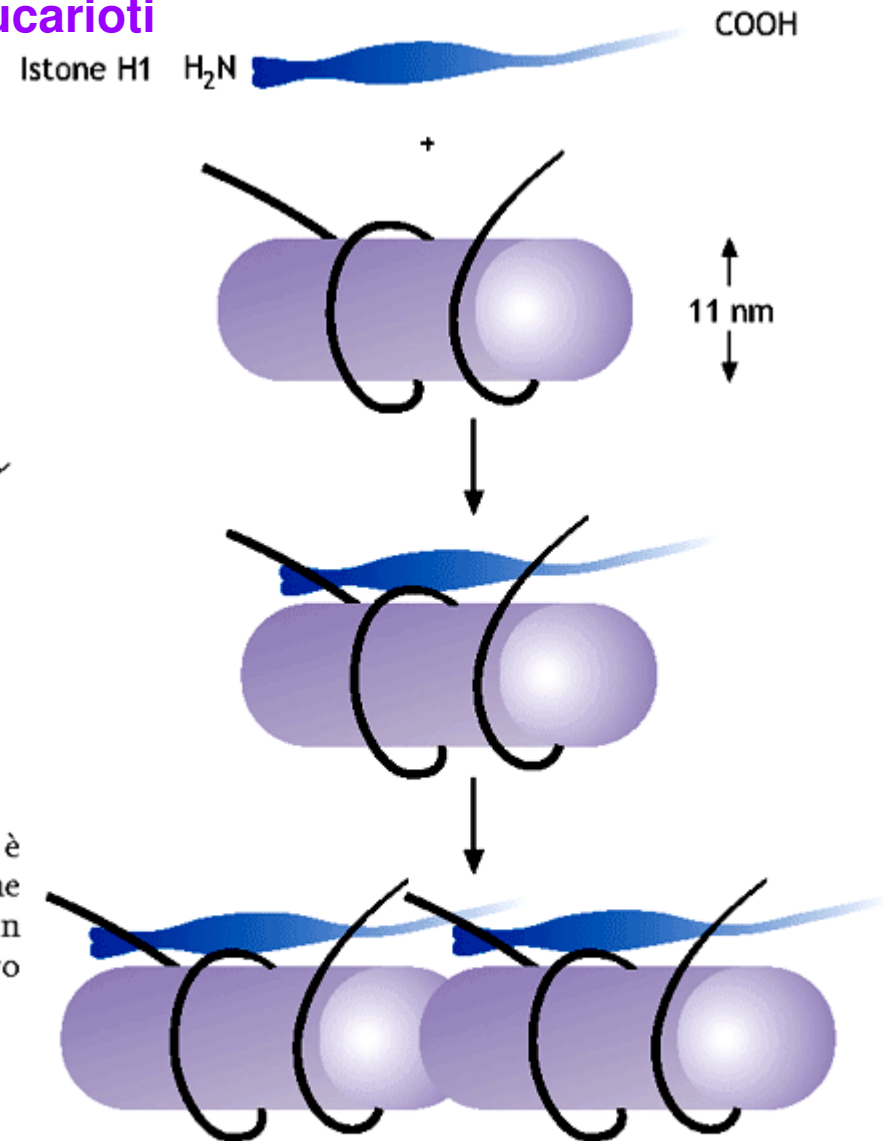
ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento negli eucarioti

Cromatina



■ **Figura 1.59 Struttura del nucleosoma.** Ogni nucleosoma è costituito da un ottamero di istoni (due copie per ciascun istone H2A, H2B, H3, H4) associato a circa 146 coppie di nucleotidi con un tratto di DNA linker di circa 50 coppie di nucleotidi. Il diametro del nucleosoma, detto anche “perla”, è di circa 10 nm.

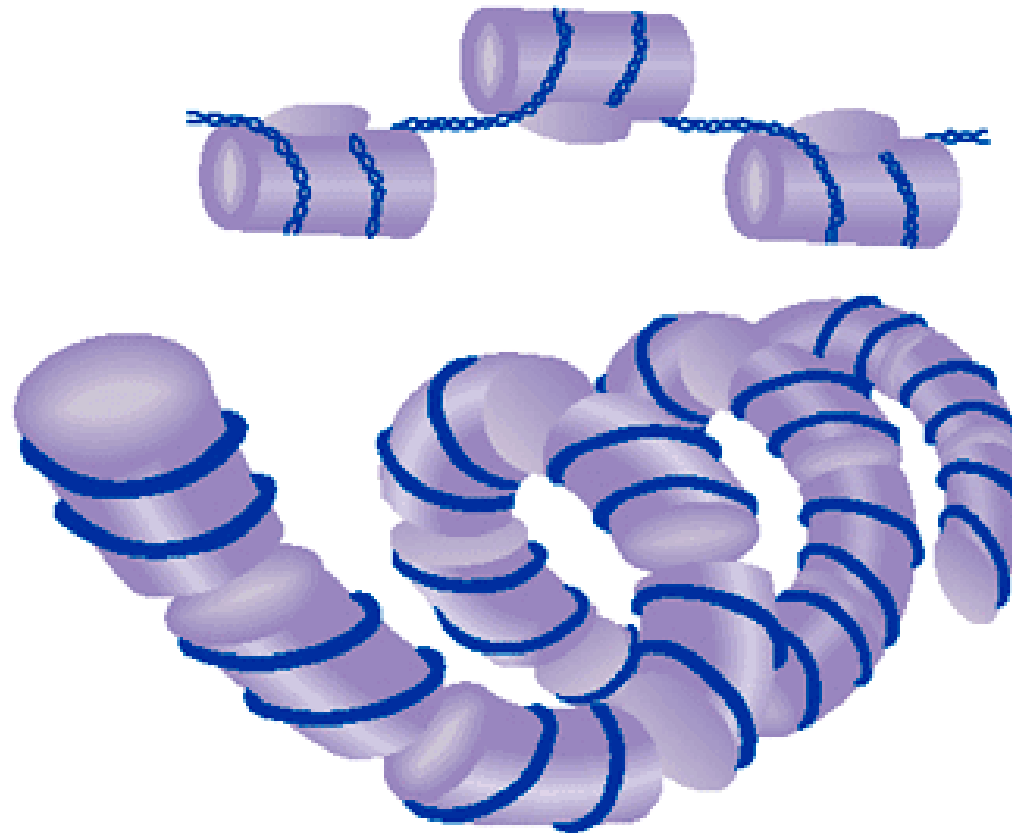


■ **Figura 1.60 Istone H1.** L'istone H1 svolge un ruolo essenziale nella successiva fase di compattamento del DNA che prevede l'avvicinamento delle “perle”. Ciò avviene grazie ad un legame testa-coda fra i vari istoni H1.

ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento negli eucarioti

Cromatina



■ **Figura 1.61** La fibra di 30 nm: il solenoide. L'avvicinamento delle perle fa sì che si formi una struttura nella quale i nucleosomi sono impacchettati a formare un'elica irregolare a zig zag.

ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento negli eucarioti

Cromatina

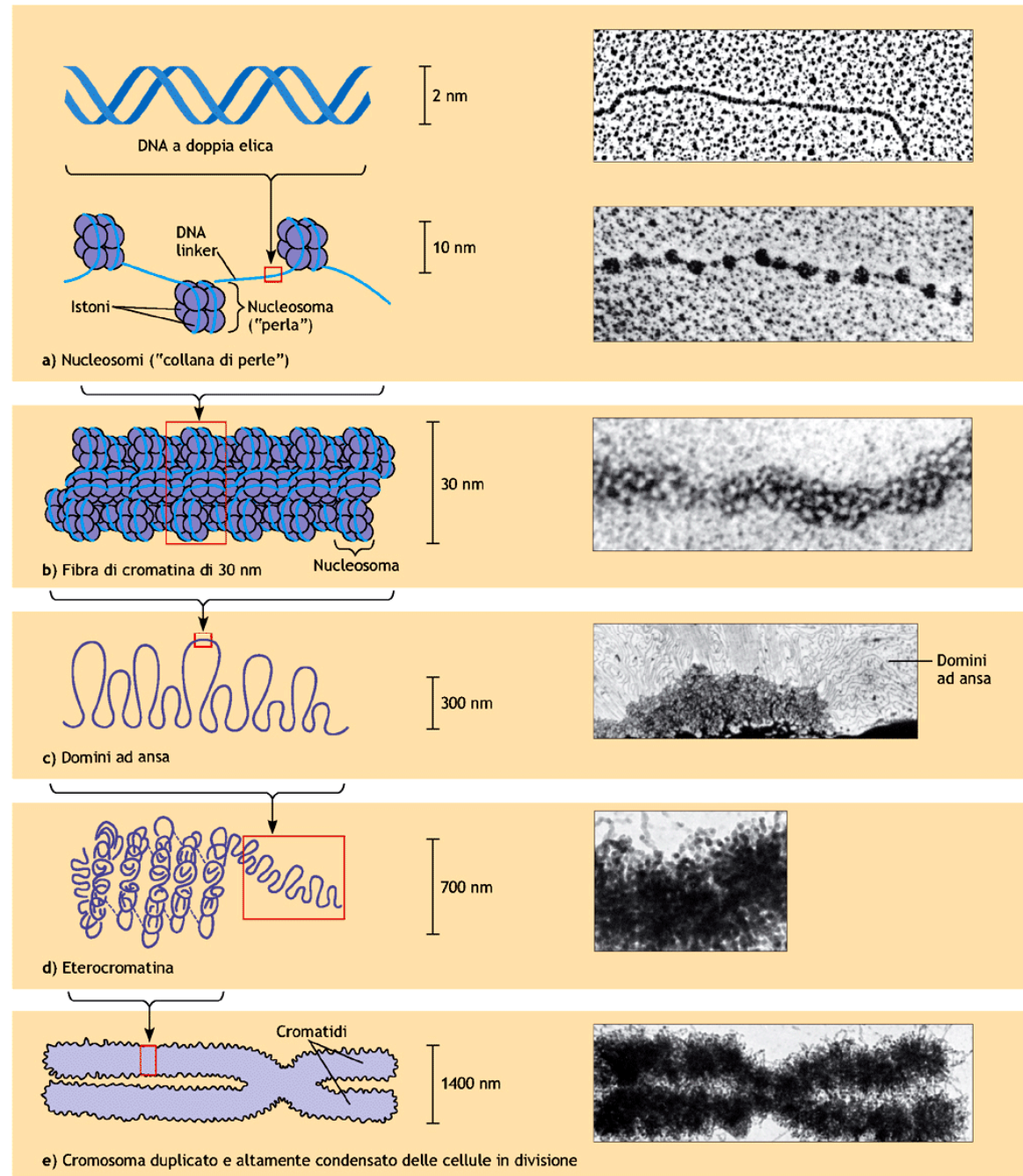
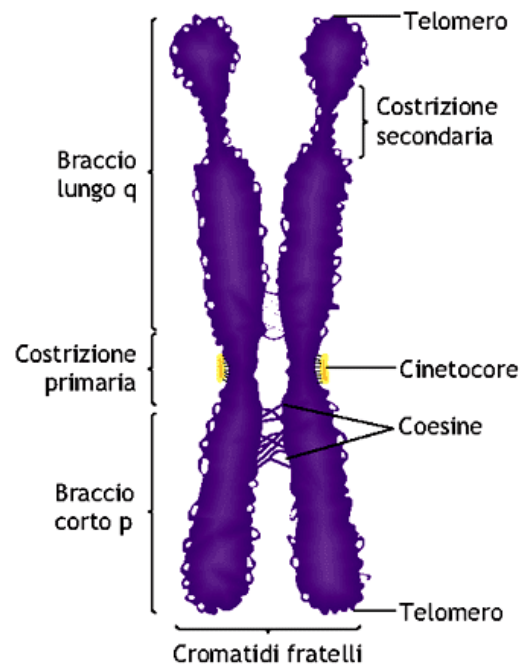


Figura 1.62 Le diverse fasi di compattamento del DNA negli eucarioti. Disegni ed immagini al ME mostrano come a partire da DNA nudo si arrivi al cromosoma metafase. (a) la doppia elica del DNA e la successiva formazione della "collana di perle"; (b) la fibra cromatinica di 30 nm; (c) domini ad ansa; (d) formazione di superanse; (e) il cromosoma metafase, duplicato ed altamente condensato.

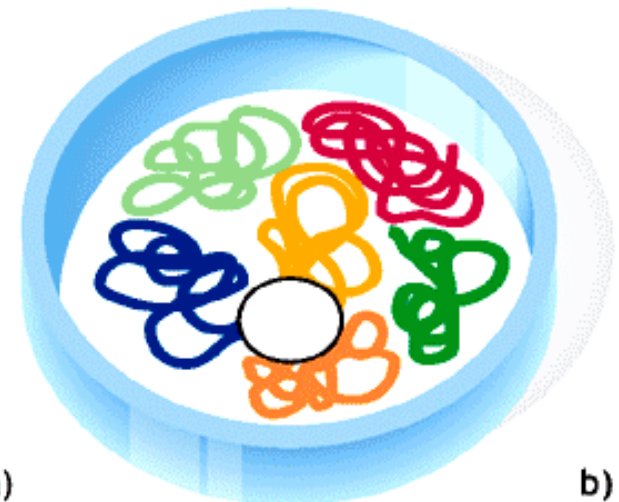
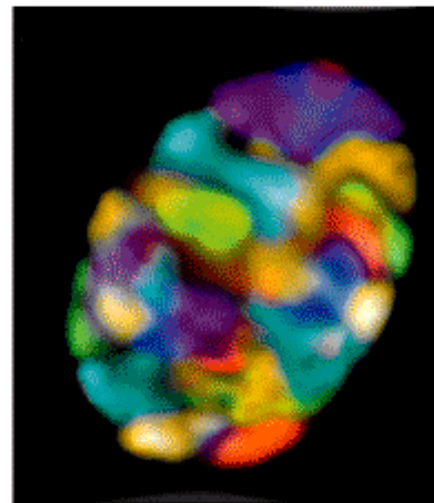
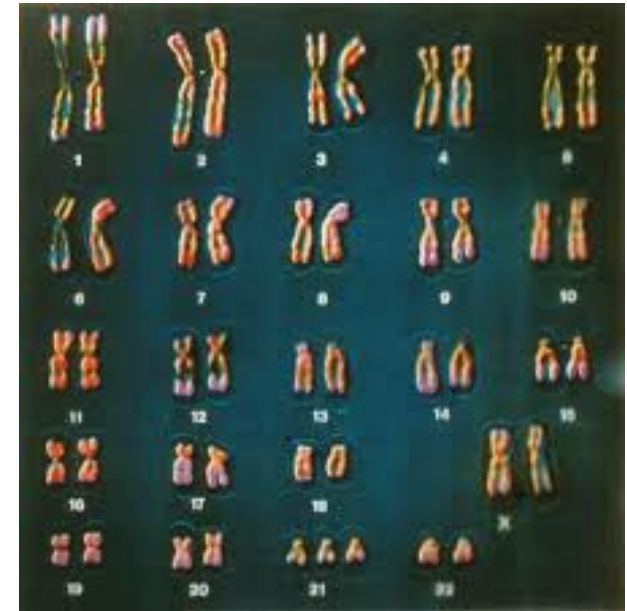
ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento negli eucarioti



■ **Figura 1.70 Il cromosoma metafasico.** Il cromosoma metafasico è la forma massimamente compattata della cromatina. È evidente un centromero che identifica un braccio corto (p) ed un braccio lungo (q), le estremità telomeriche e le costrizioni secondarie. Le proteine che tengono uniti i cromatidi fratelli sono dette coesine.

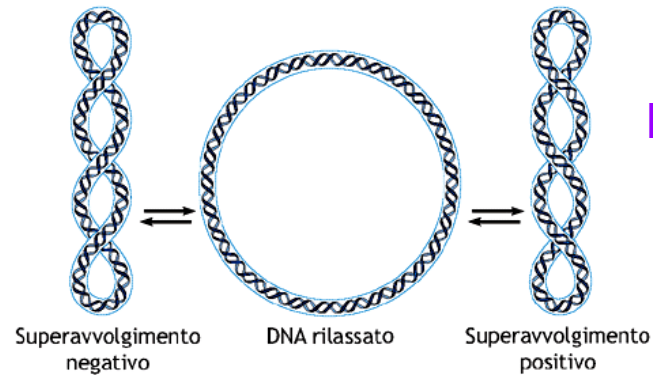
Cromosoma



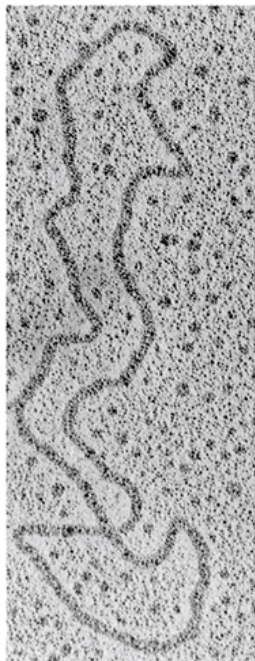
■ **Figura 1.71 I territori dei cromosomi ed i possibili ripiegamenti della cromatina in domini funzionali.** (a) I territori sono cellula e tessuto specifici e possono cambiare durante il differenziamento di una stessa cellula. (b) Schema riportante quanto raffigurato in (a): la cromatina ripiegata occupa zone discrete del nucleo e determina superfici di contatto tra i diversi tratti di “cromosomi” diversi.

ACIDI NUCLEICI

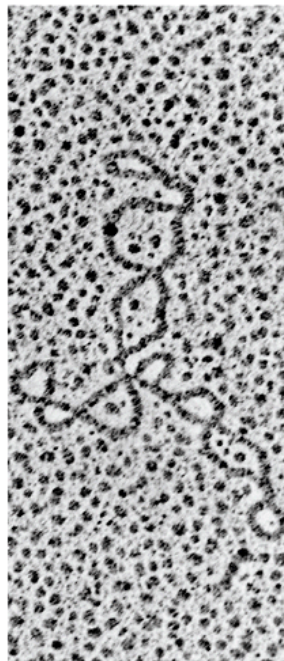
DNA: strategie di compattamento nei procarioti



a)



b)



c)

Figura 1.57 DNA circolare in forma rilassata e superavvolta. Le possibili forme del DNA, rilassata e superavvolta positivamente o negativamente, sono mostrate in un disegno (a); immagini ottenute al microscopio elettronico a trasmissione del DNA del fago PM2 in forma rilassata (b) e superavvolta (c).

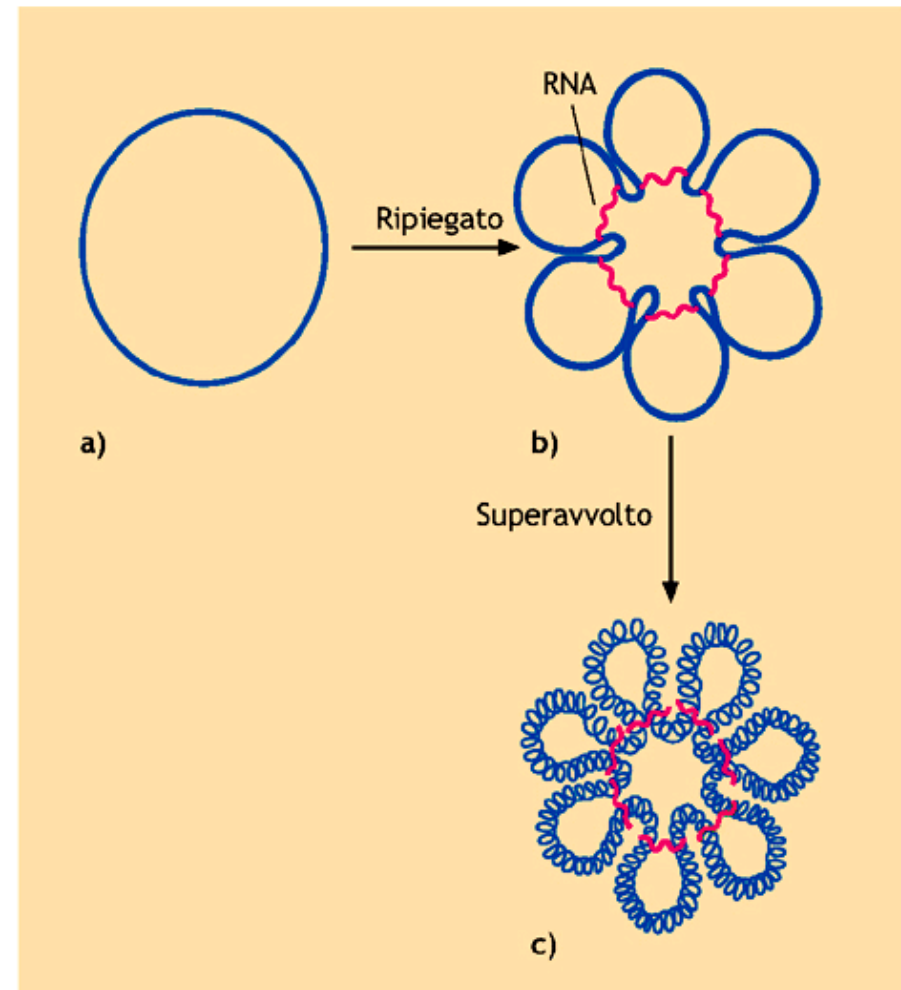


Figura 1.58 Compattamento del DNA di *E. coli*. DNA circolare nudo (a); DNA organizzato in anse (circa 50) la fibra presenta uno spessore di 2 nm, le anse sono mantenute alla base da brevi segmenti di RNA (b); le fibre che costituiscono le anse sono superavvolte intorno a proteine di tipo istonico, HLP, a formare una fibra di 12 nm di spessore.

ACIDI NUCLEICI

DNA: strategie di compattamento negli eucarioti

Cromatina

L'entità della condensazione della cromatina varia durante il ciclo vitale della cellula. Nelle cellule in interfase (che non si dividono) la maggior parte della cromatina, denominata **eucromatina**, è relativamente decondensata e distribuita per tutto il nucleo. Durante questa fase del ciclo cellulare, i geni sono trascritti e il DNA viene replicato in preparazione della divisione cellulare. La maggior parte della cromatina nei nuclei interfasicci appare nella forma di fibre da 30 nm, organizzate in grandi anse che contengono da 50 a 100 kb di DNA. I geni che sono attivamente trascritti sono in uno stato maggiormente decondensato che rende il DNA più facilmente accessibile all'apparato trascrizionale. La struttura della cromatina è quindi intimamente correlata al controllo dell'espressione genica negli eucarioti.

Circa il 10% della cromatina interfaseica, detta **eterocromatina**, è in uno stato molto condensato che rassomiglia molto a quello della cromatina durante il processo di mitosi. L'eterocromatina è trascrizionalmente inattiva e contiene sequenze di DNA altamente ripetute, come quelle presenti nei centromeri e nei telomeri.



Eterocromatina

Nucleolo

Eucromatina

Modifiche istoni alterano le loro interazioni con il DNA.

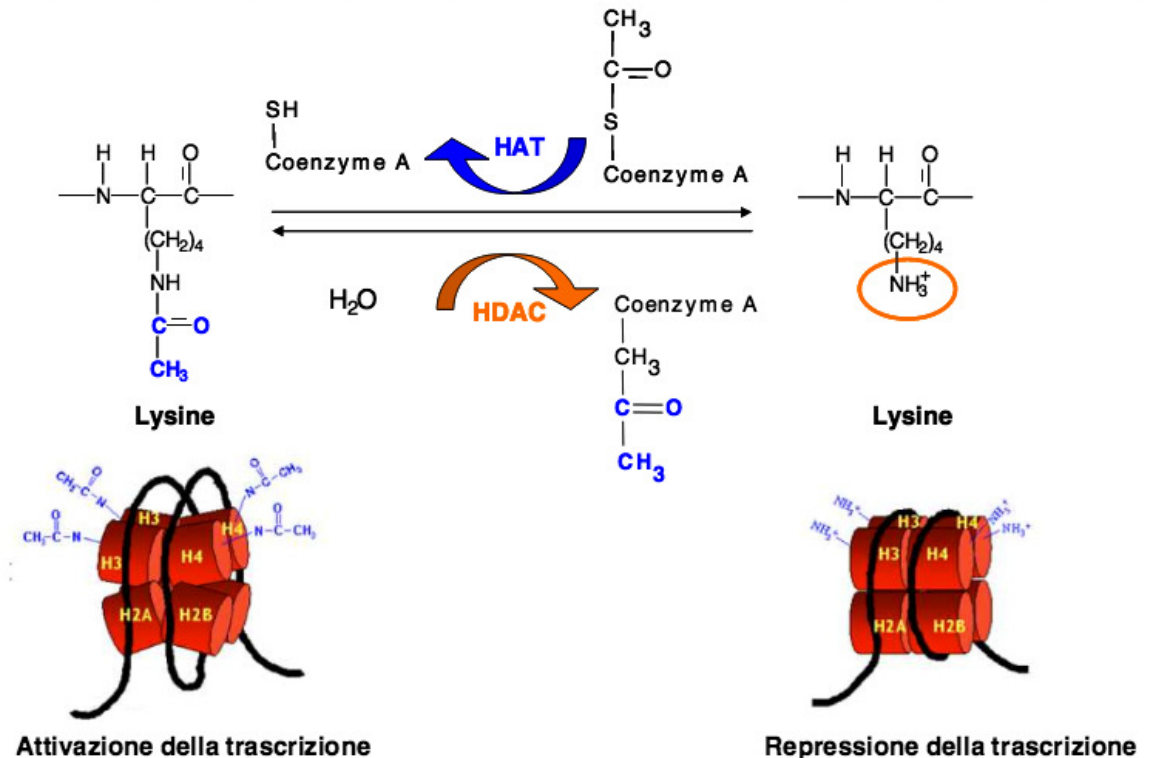
•Acetilazione

•Metilazione

•Fosforilazione

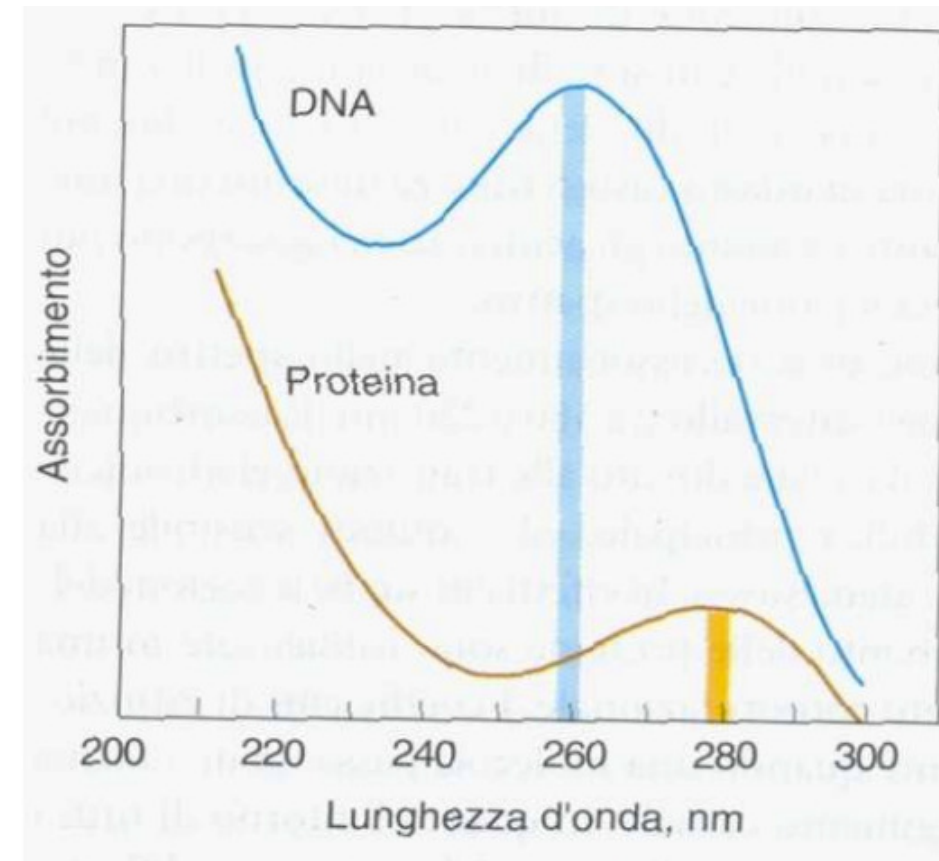
•Glicosilazione

•Ubiquitinazione



**“Melting” del DNA:
Assorbanza relativa a 260 nm**

NA doppio filamento	1.00
NA singolo filamento	1.37
asi libere	1.67



Denaturazione del DNA

- È possibile seguire la denaturazione del DNA a 260 nm.
- Basi accoppiate ed impilate assorbono meno nell'UV di quelle "separate" - **effetto ipercromico**.
- La temperatura corrispondente a metà dell'aumento osservato nell' A_{260} è definita come "**temperatura di *melting***", T_m o temperatura di fusione del DNA.
- **Il valore di T_m varia con il rapporto GC/AT** - un maggior contenuto di GC conduce ad una T_m più alta.

ACIDI NUCLEICI

DNA: proprietà fisiche

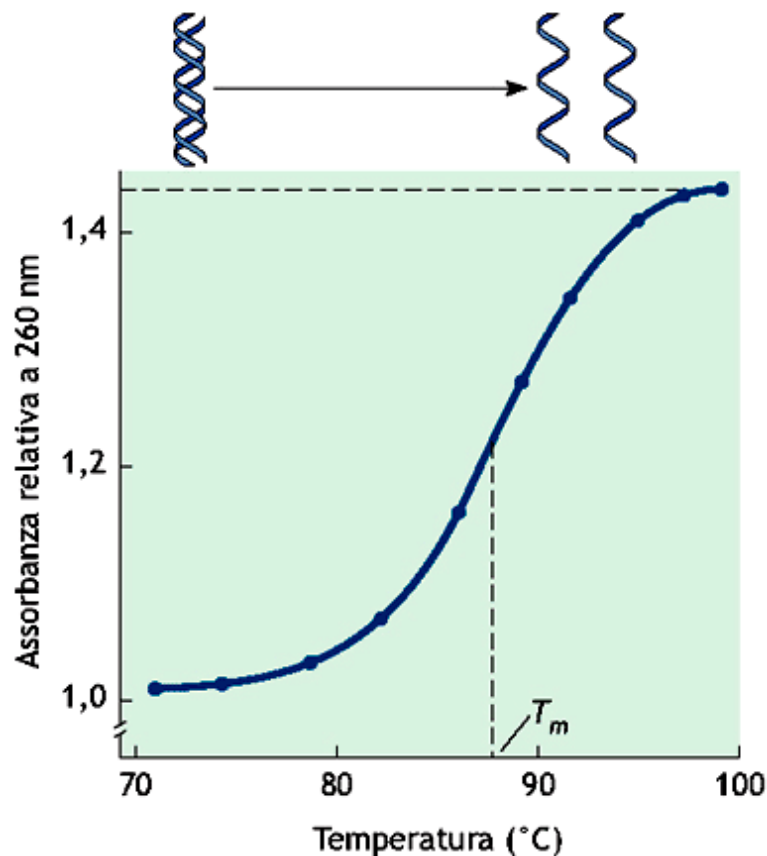


Figura 1.65 Profilo di denaturazione termica del DNA. Un DNA a doppia elica in soluzione (DNA nativo) presenterà un certo valore di assorbanza che aumenterà con l'aumentare della temperatura, delineando un andamento sigmoide (effetto catastrofico). La conversione da doppio a singolo filamento è parallela all'incremento dell'assorbimento della luce a 260 nm. Si definisce T_m il valore della temperatura alla quale si osserva il 50% di aumento dell'assorbanza.

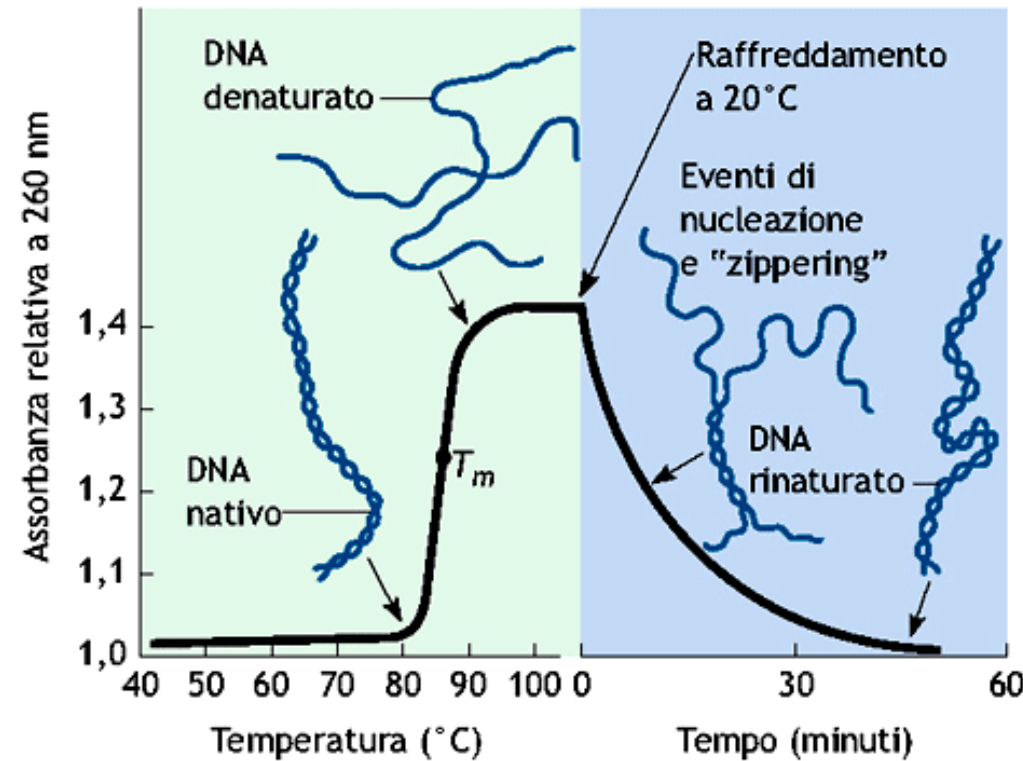
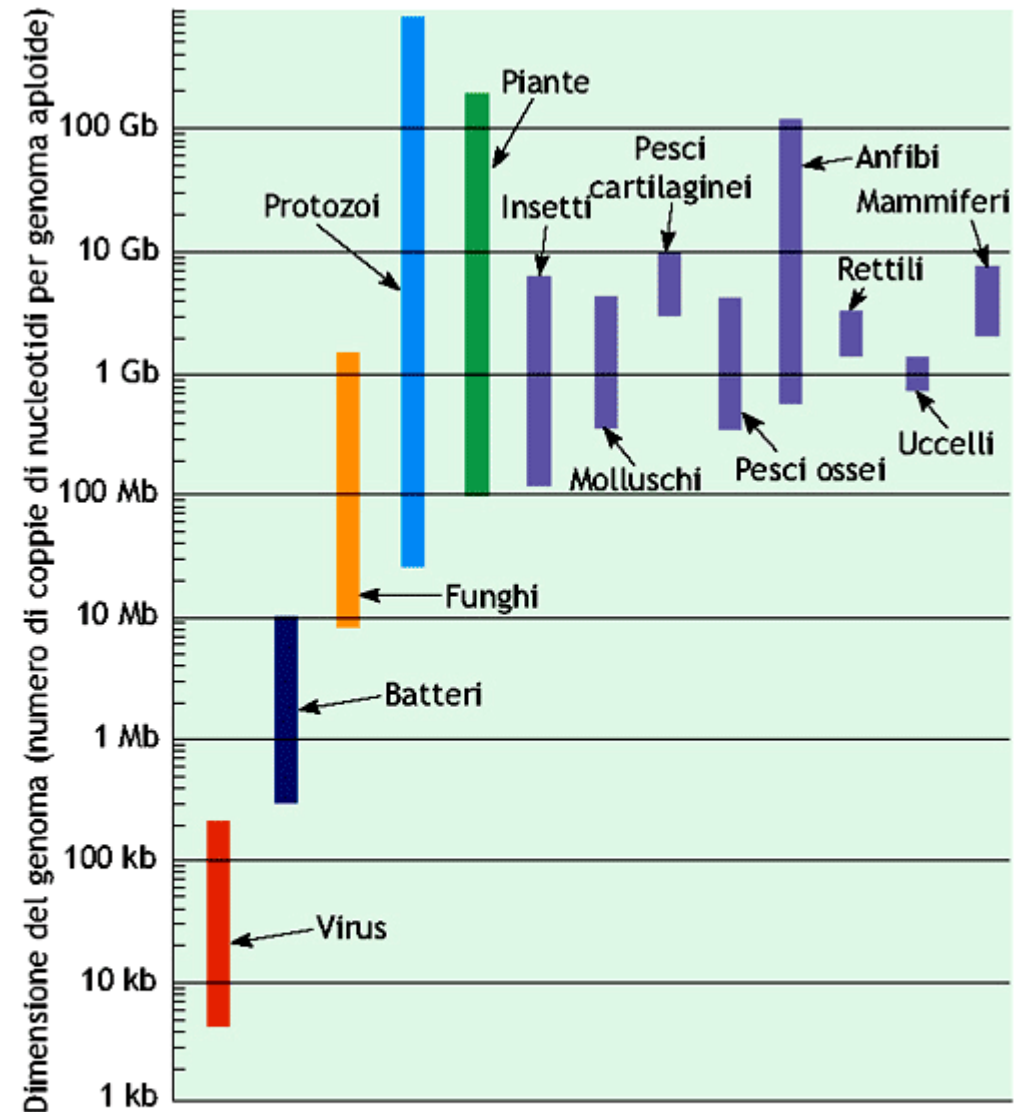


Figura 1.66 Denaturazione e rinaturazione del DNA. Riscaldando lentamente una soluzione di DNA nativo (a doppia elica), il DNA fonde, cioè le due eliche si separano. Quando la soluzione viene raffreddata si osserva una riassociazione delle due eliche con una cinetica che dipende dalla concentrazione iniziale del DNA e dalla sua lunghezza. I due filamenti si "urtano" e quando collidono i tratti complementari c'è l'inizio della "nucleazione" e il successivo "zippering" delle basi complementari.

ACIDI NUCLEICI

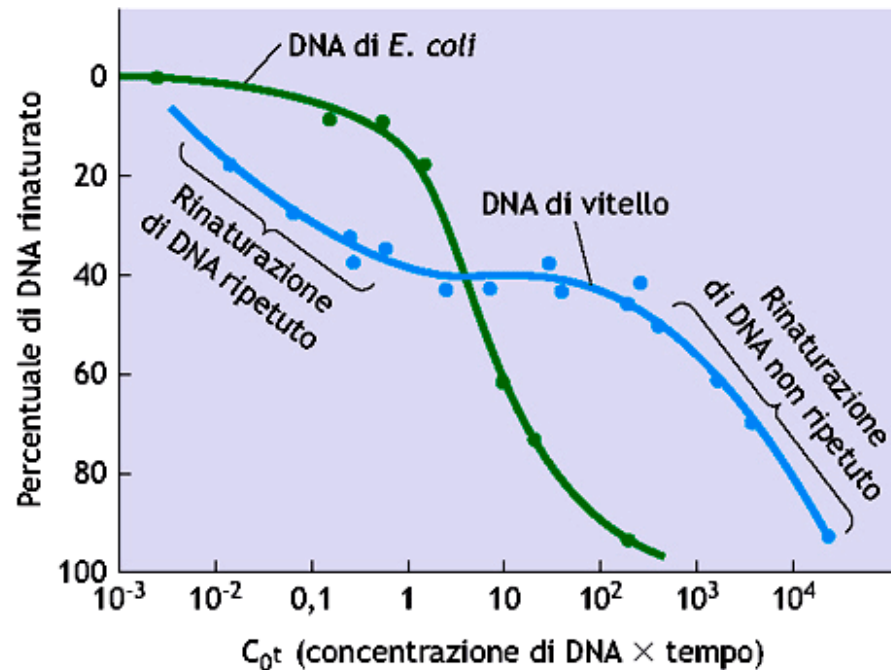
Grandezza e complessità del genoma



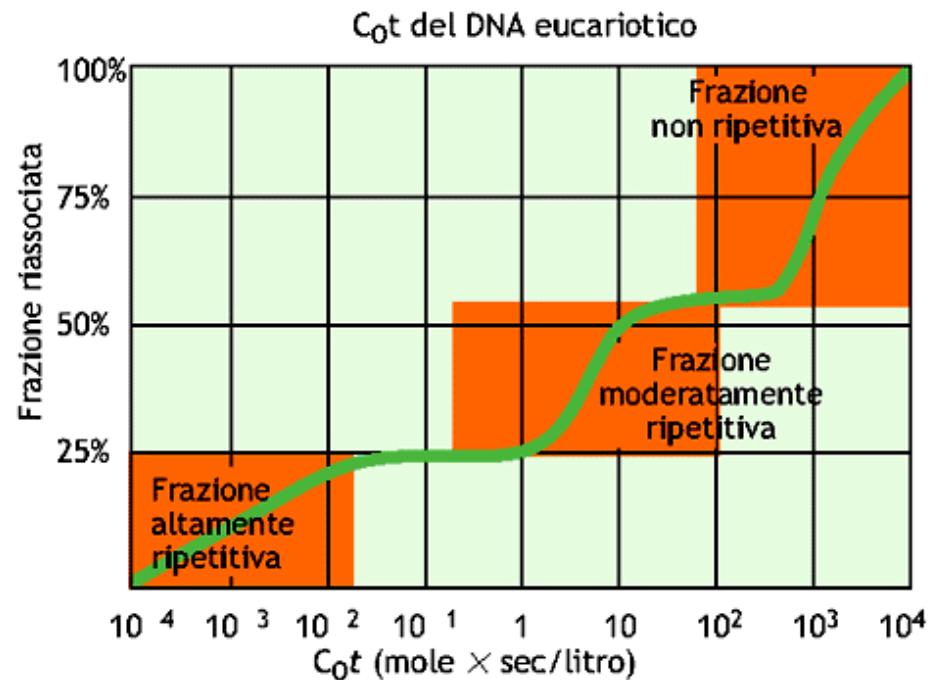
■ **Figura 1.67 La dimensione del genoma.** È evidente la grande variabilità che esiste quando si parla di dimensioni del genoma in organismi diversi. In viola sono mostrate le dimensioni del genoma aploide di vari gruppi appartenenti al regno animale.

ACIDI NUCLEICI

Grandezza e complessità del genoma

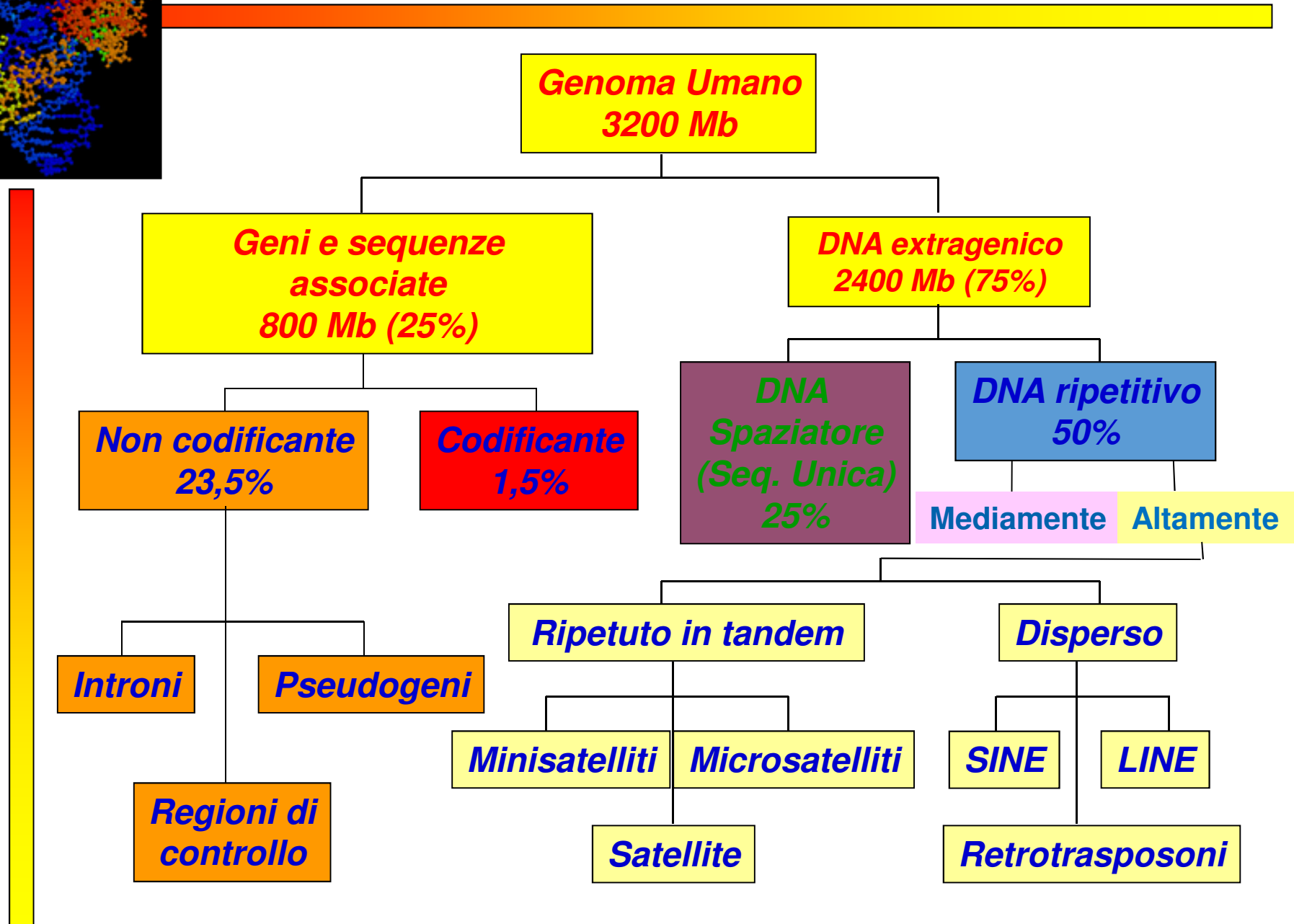
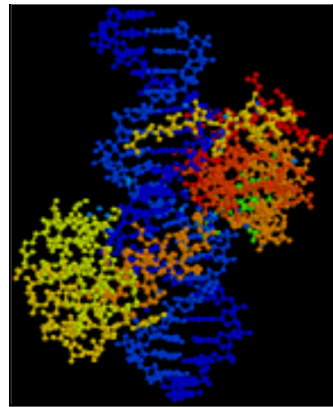


■ **Figura 1.68** Curve di C_0t . Confronto fra le curve di rinaturazione di DNA estratto da cellule di vitello e di *E. coli*. La frazione che si rinatura rapidamente è quella costituita da sequenze ripetute.



■ **Figura 1.69** Curva di C_0t del DNA eucariotico. Circa il 25% del DNA eucariotico è costituito da sequenze altamente ripetute, il 30% da sequenze mediamente ripetute e la restante parte da DNA a singola copia.

Le classi del DNA



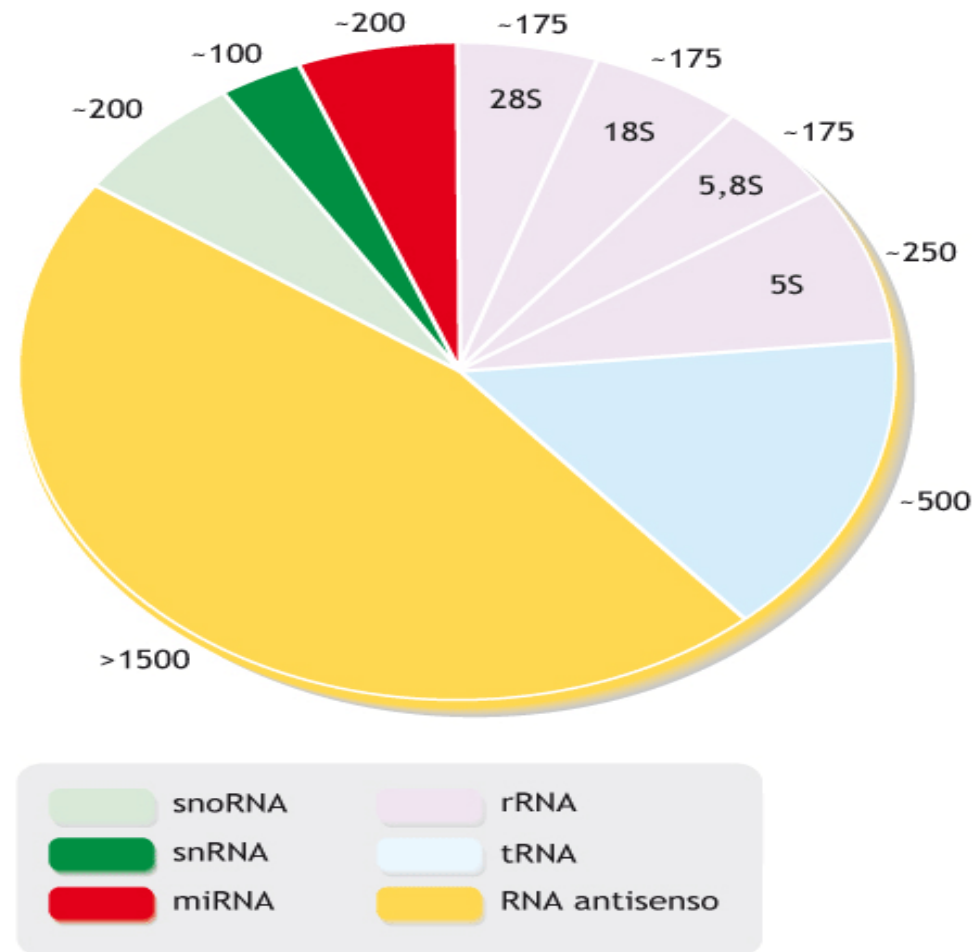


Figura 1.1.3.3 Il 5-10% dei geni nucleari sono “RNA-genes”.

Sequenze Geniche : circa 30000 oggi noti

Sequenze geniche uniche:

(copie singole per corredo aploide)

Circa il 50% dei geni totali.

Sequenze geniche mediamente ripetute:

(da poche decine fino a 10^3 - 10^5 volte)

RNA ribosomiali

RNA transfer

proteine istoniche

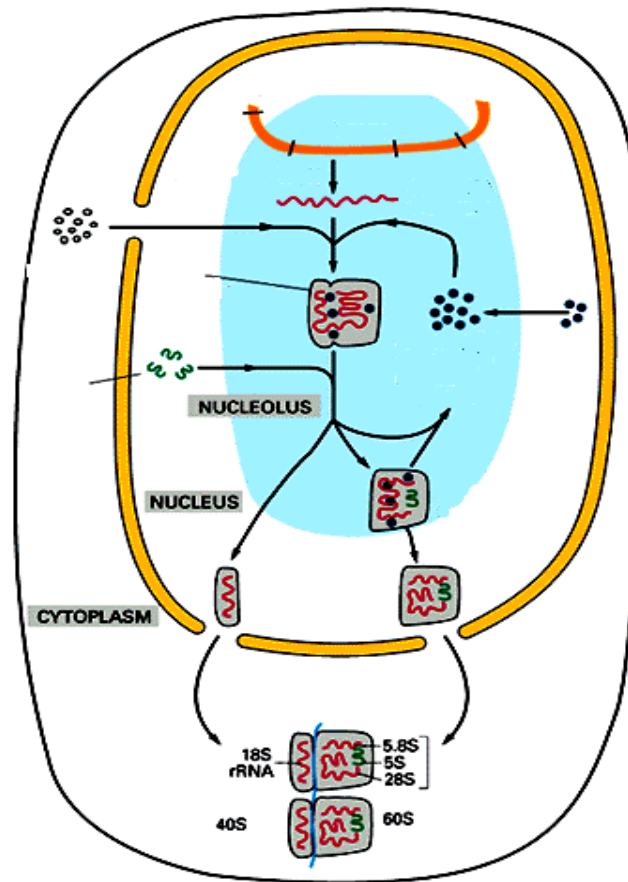
ubiquitina

famiglie geniche (gruppi di geni non identici
più o meno strettamente correlati)

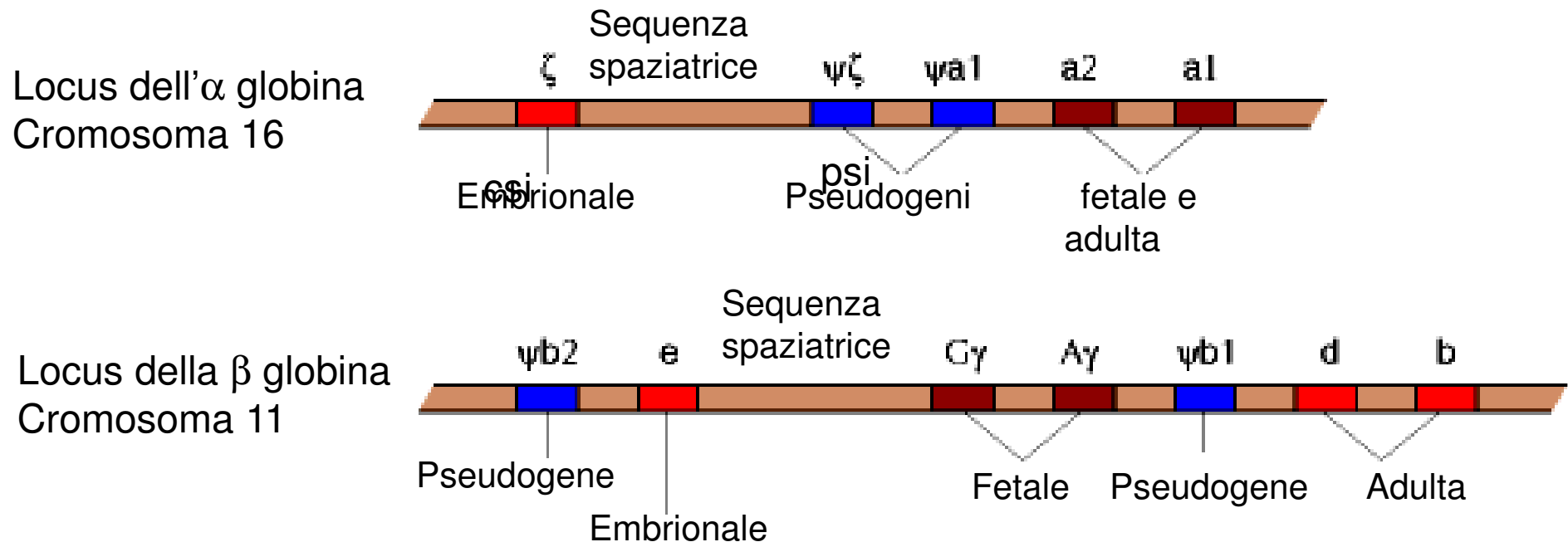
sequenze mediamente ripetute (da poche decine fino a 10^3 - 10^5 volte)

RNA ribosomali (ripetuti in tandem-cioè testa-coda)

Le anse di cromatina contenenti i geni per gli RNAr provengono da 10 cromosomi separati - 13-14-15-21-22 contenute nel nucleolo (5S sul cromosoma 1)



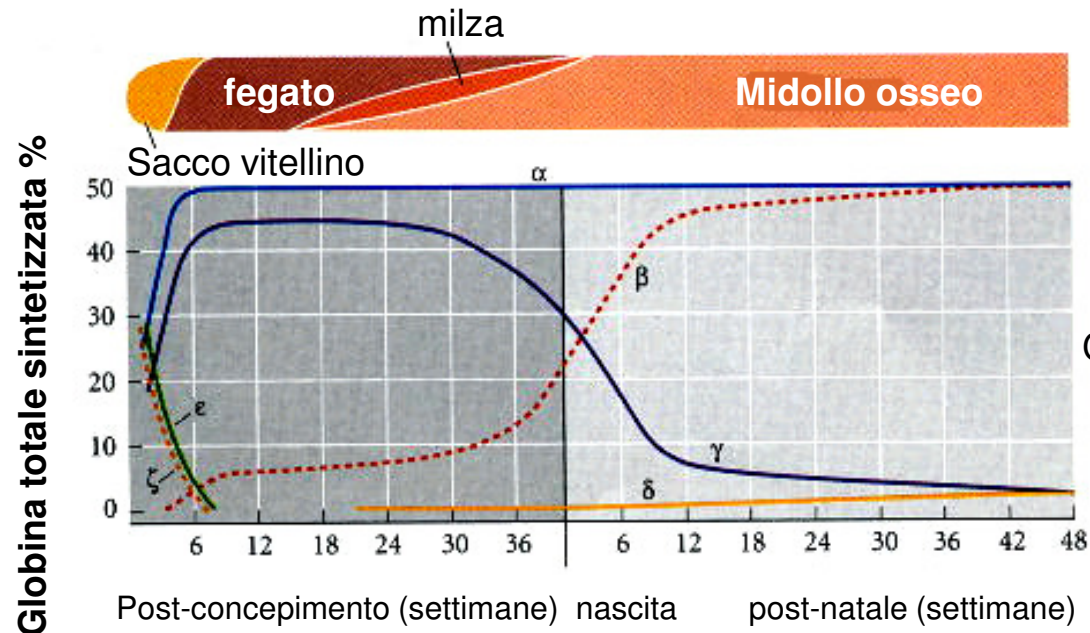
sequenze mediamente ripetute: famiglie geniche (gruppi di geni non identici ma più o meno strettamente correlati).



Costituite da sequenze di DNA simili tra loro e localizzati in punti diversi del genoma. Es., gruppo di geni che codifica per catene polipeptidiche che entrano nella composizione di proteine che trasportano l'ossigeno: la alfa-globina e la beta-globina. Inoltre, membri distinti di una famiglia di geni possono essere trascritti in tessuti diversi o a stadi diversi dello sviluppo. Es., le subunità α e β dell'emoglobina sono entrambe codificate da famiglie di geni nel genoma umano, e membri diversi di questa famiglia sono espressi nei tessuti embrionali, fetali e adulti.

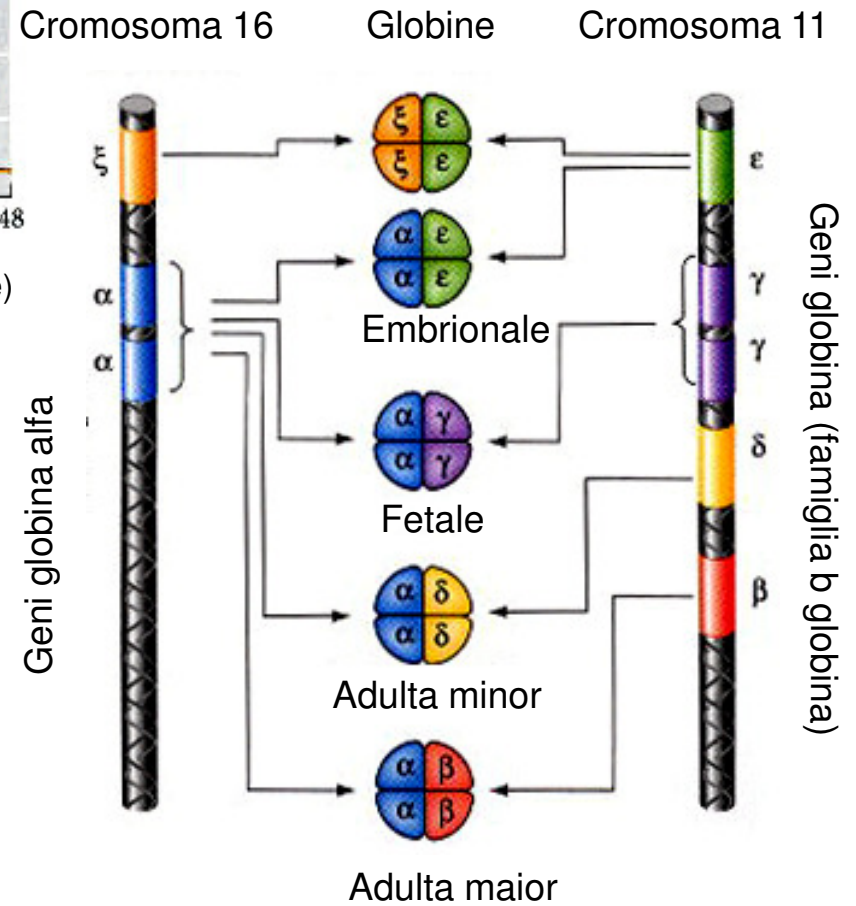
Si pensa che le famiglie di geni si siano originate per duplicazione di un gene ancestrale originale e che i diversi membri della famiglia si siano diversificati come conseguenza di mutazioni durante l'evoluzione.

Siti di eritropoiesi

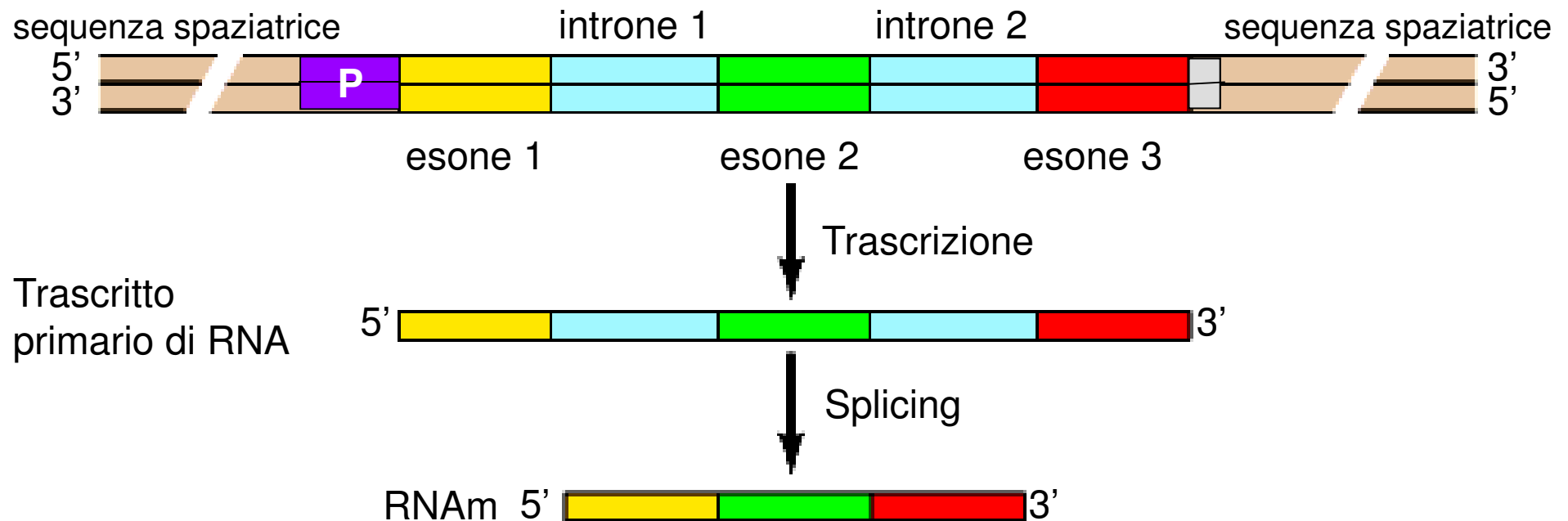


Le emoglobine umane

Le emoglobine embrionali e fetali hanno maggiore affinità per l'ossigeno

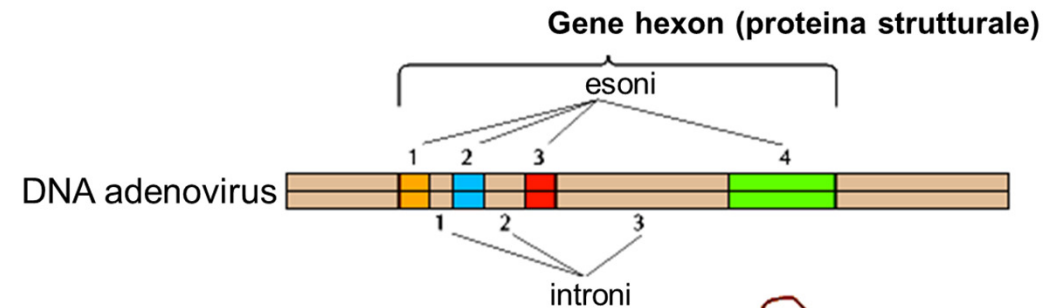
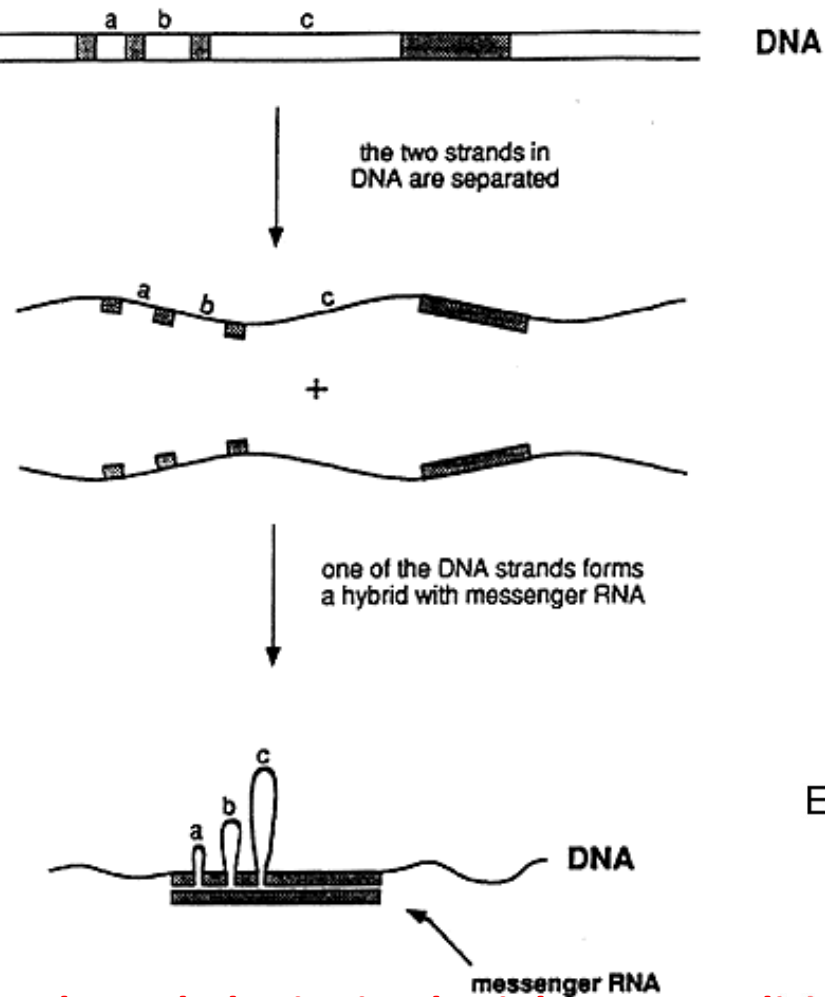


Sequenze geniche (porzione del genoma che codifica per una proteina o per l'RNA è chiamato gene) =
sequenza codificante, ESONI + **frazione non codificante: INTRONI e PROMOTORE**

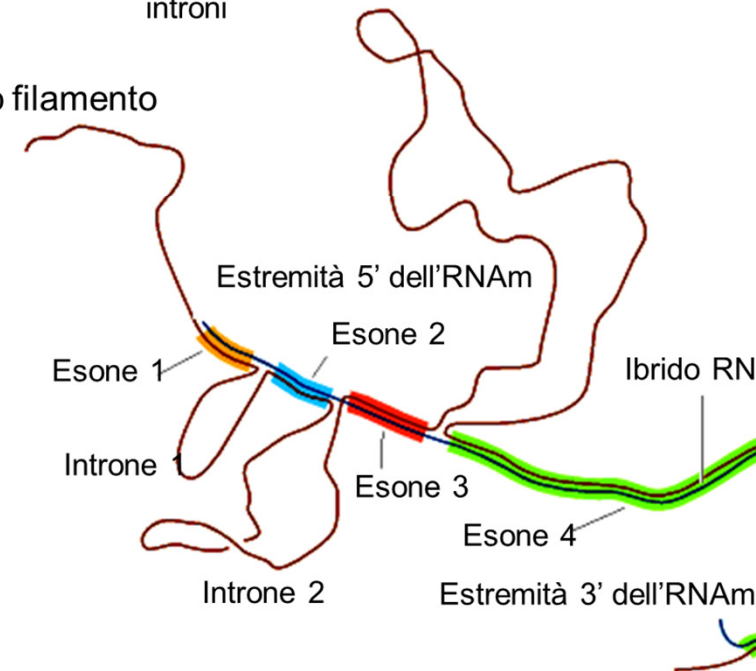


In termini molecolari un gene può essere definito come un segmento di DNA che è espresso per produrre un prodotto funzionante, che può essere sia un RNA (ad es. ribosomale e transfer) o un polipeptide. Una parte del DNA che non codifica negli eucarioti è composto da lunghe sequenze di DNA che si trovano fra i geni (sequenze spaziatrici).

La scoperta degli introni, 1977 avvenne studiando la sintesi dell'albumina, la principale proteina dell'albume, che viene prodotta solo nelle cellule dell'ovidotto delle galline ovaiole



DNA a singolo filamento



P. Sharp e R Roberts utilizzarono l'adenovirus perché il suo genoma è piccolo e gli RNAm sono prodotti in alta quantità. Esaminarono al microscopio elettronico gli ibridi RNA-DNA.

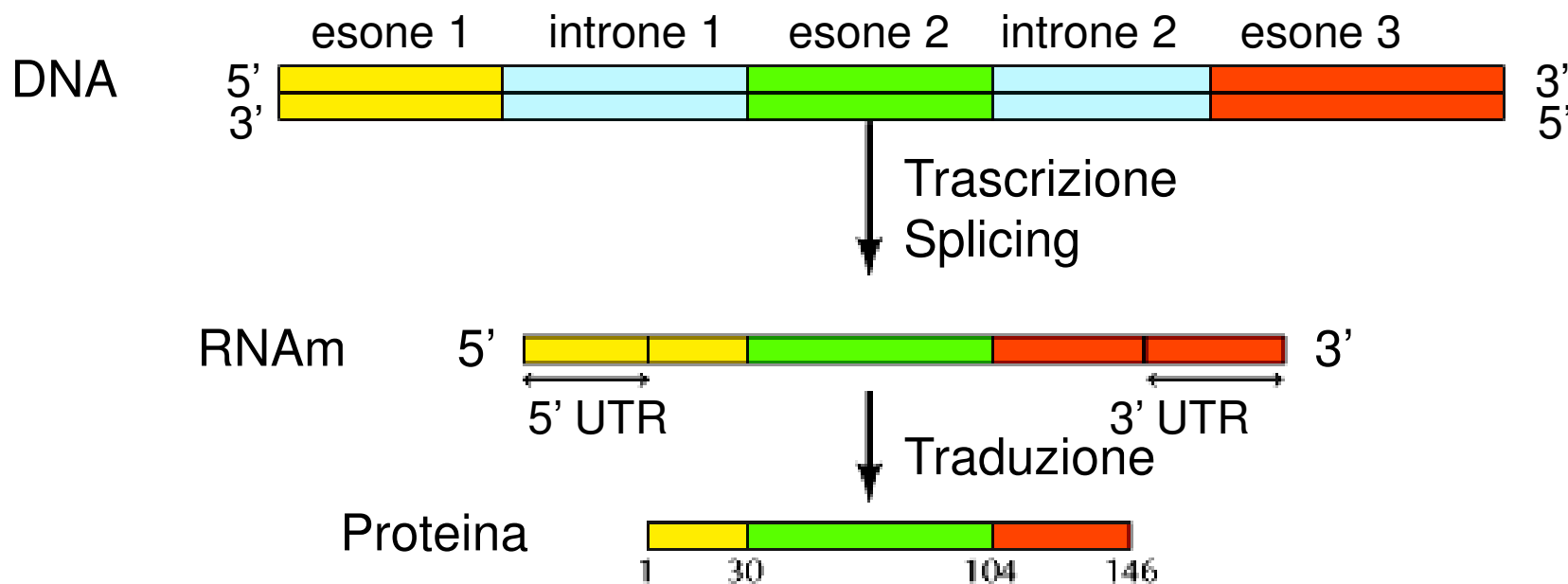
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1993
Richard J. Roberts, Phillip A. Sharp

Significato degli introni.

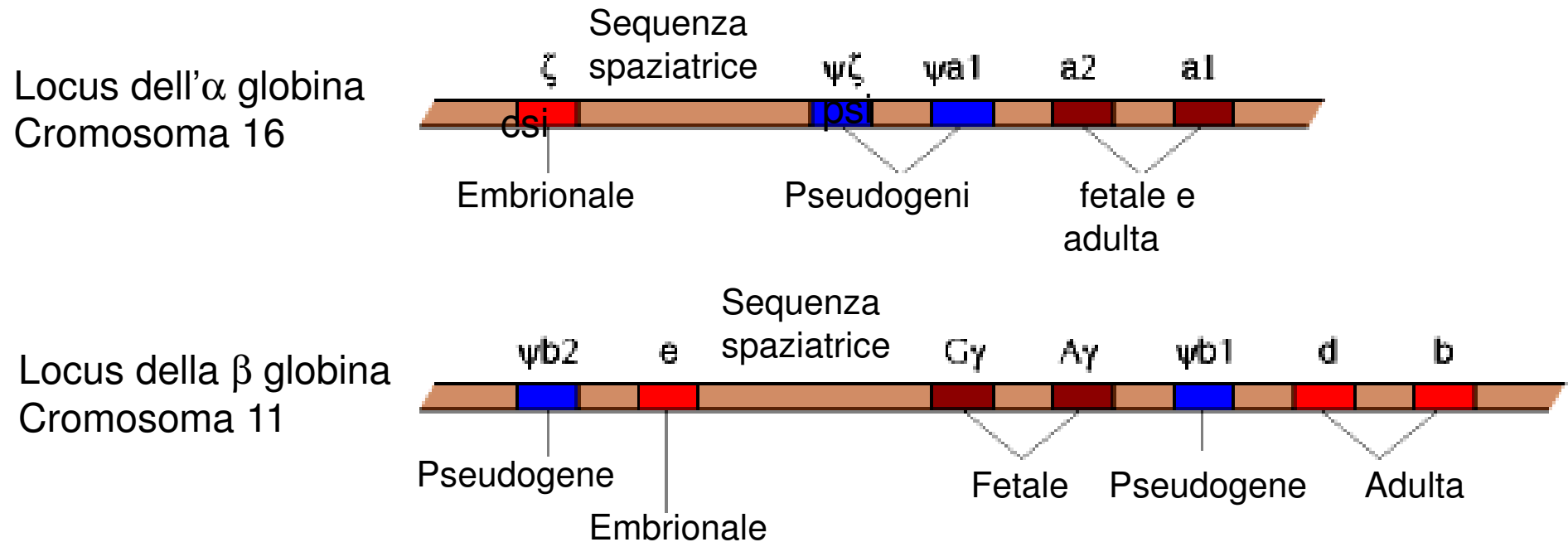
presenti nella maggior parte degli eucarioti complessi, anche se non sono universali. **Quasi tutti i geni degli istoni ad es., sono p**
ni ed è chiaro quindi, che gli introni non sono necessari per la funzione dei geni nelle cellule eucariotiche. Inoltre, gli introni no
o nella maggior parte degli eucarioti semplici come ad es, i lieviti.

sa che gli introni rappresentino ciò che rimane di sequenze che avevano avuto importanza nell'evoluzione. In particolare, gli int
bero avere aiutato ad accelerare l'evoluzione facilitando la ricombinazione fra regioni che codificano (esoni) geni diversi (proce
ome il rimescolamento degli esoni). E' infatti stato dimostrato che alcuni geni sono delle chimere di esoni derivati da parecchi a

microRNA sono intronici

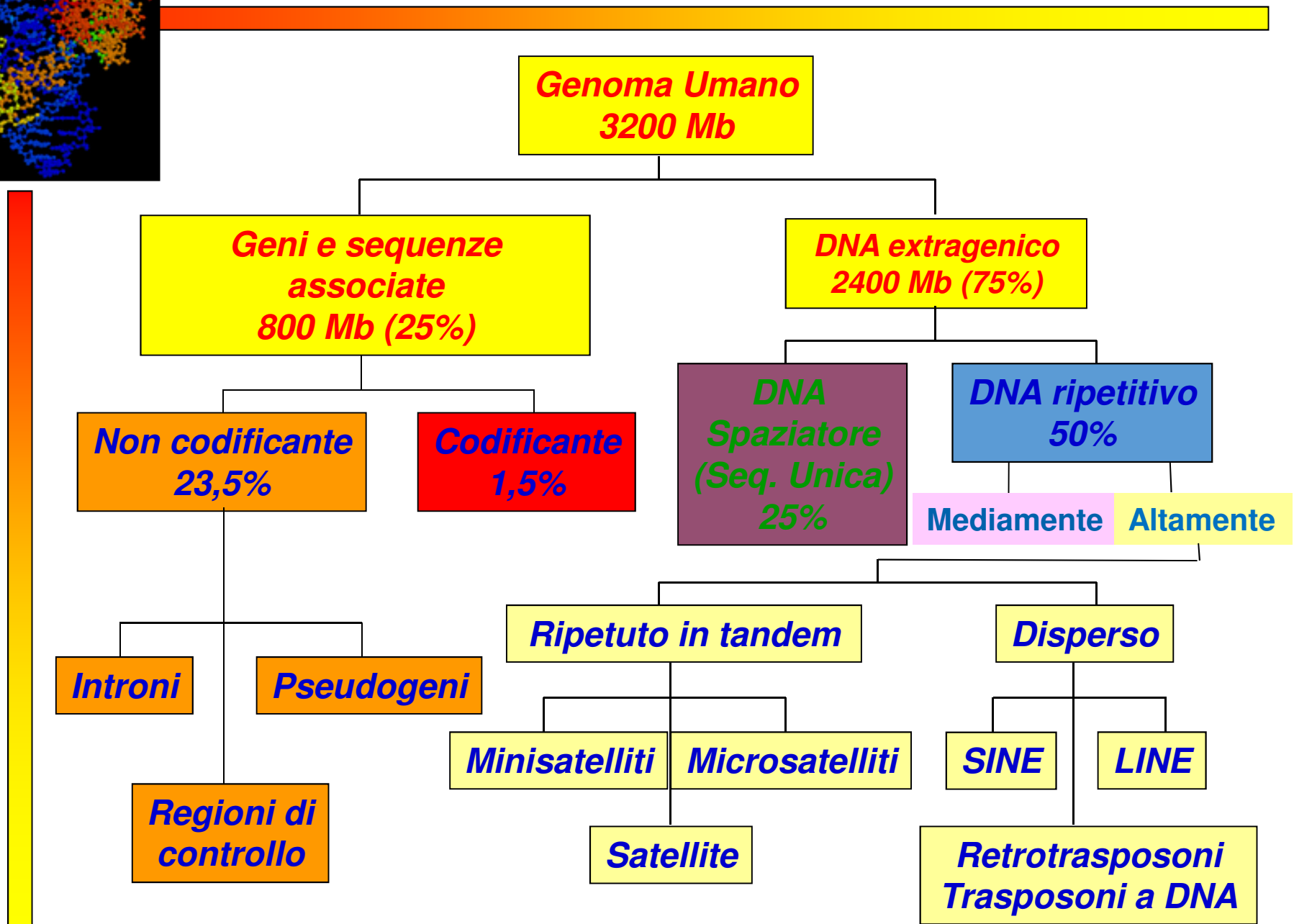
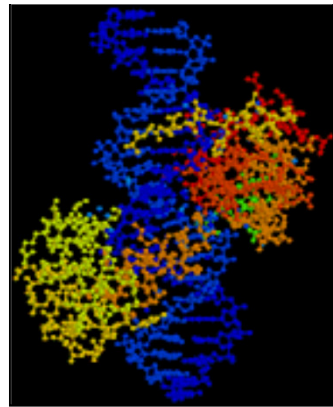


Sequenze mediamente ripetute (da poche decine fino a 10^3 - 10^5 volte) :pseudogeni (i relitti gen



Alcune mutazioni inattivarono i geni: **Pseudogeni=geni che hanno perso la capacità di esprimere il loro prodotto.**

Le classi del DNA



Sequenze non geniche

Sequenze uniche:

(copie singole per corredo aploide)

sequenze spaziatrici

Sequenze mediamente ripetute:

(da poche decine fino a 10^3 - 10^5 volte)

la maggior parte inattive dal punto di

vista trascrizionale; molto eterogenee

raggruppate in cluster o intersperse.

Sequenze altamente ripetute:

(10^5 - 10^7)

la maggior parte inattive dal punto di

vista trascrizionale; molto eterogenee

raggruppate in cluster (ripetute in tandem):

satelliti

minisatelliti

microsatelliti

o intersperse:

SINE

LINE

Elementi retrovirus simili - LTR

Trasposoni a DNA

Sequenze altamente ripetute:
(10^5 - 10^7)

la maggior parte inattive dal punto di
vista trascrizionale; molto eterogenee;
raggruppate in cluster: *satelliti*
minisatelliti
microsatelliti

1. Satellite

Unità da 5 a 200 bp
Segmenti lunghi fino a
qualche centinaio
di chilobasi

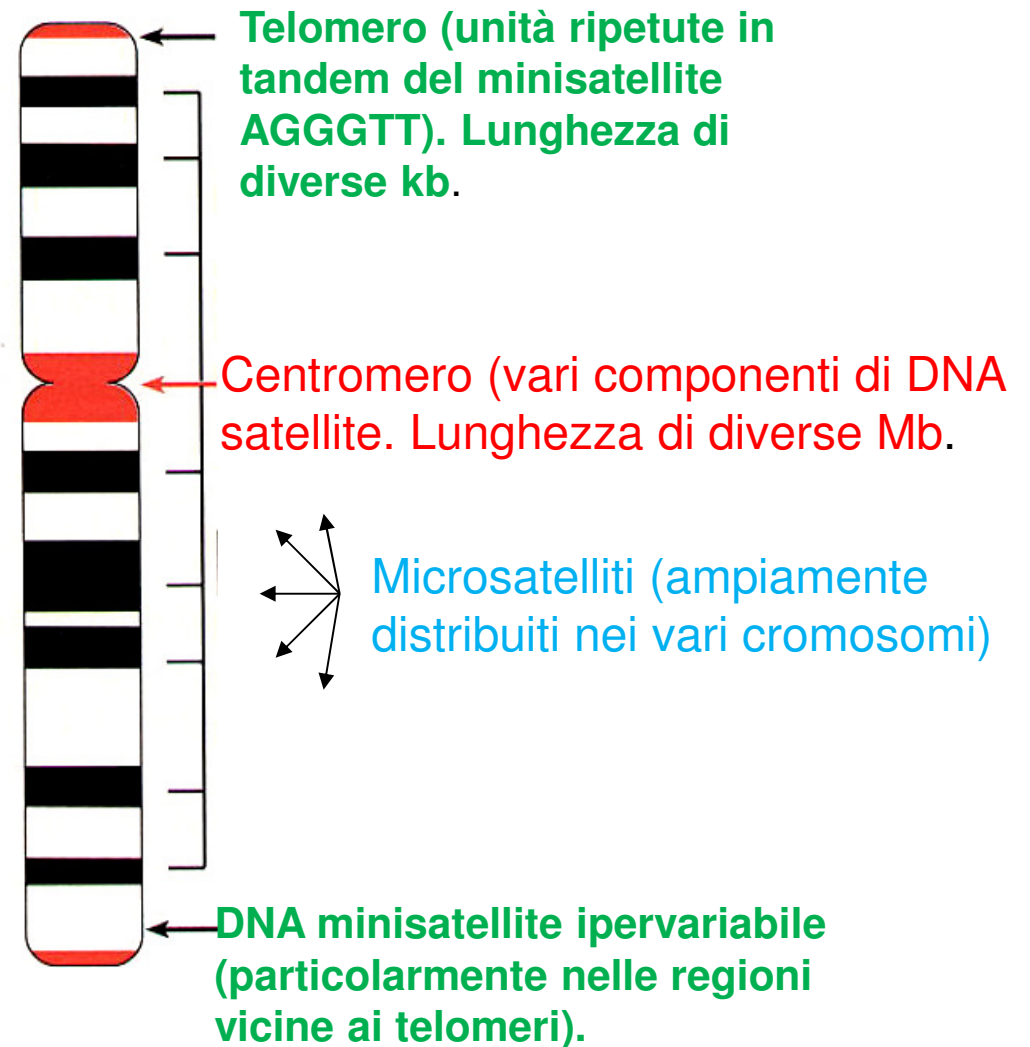
2. Minisatelliti

Unità da 2 fino a 5 bp
Segmenti lunghi fino a 25 kb

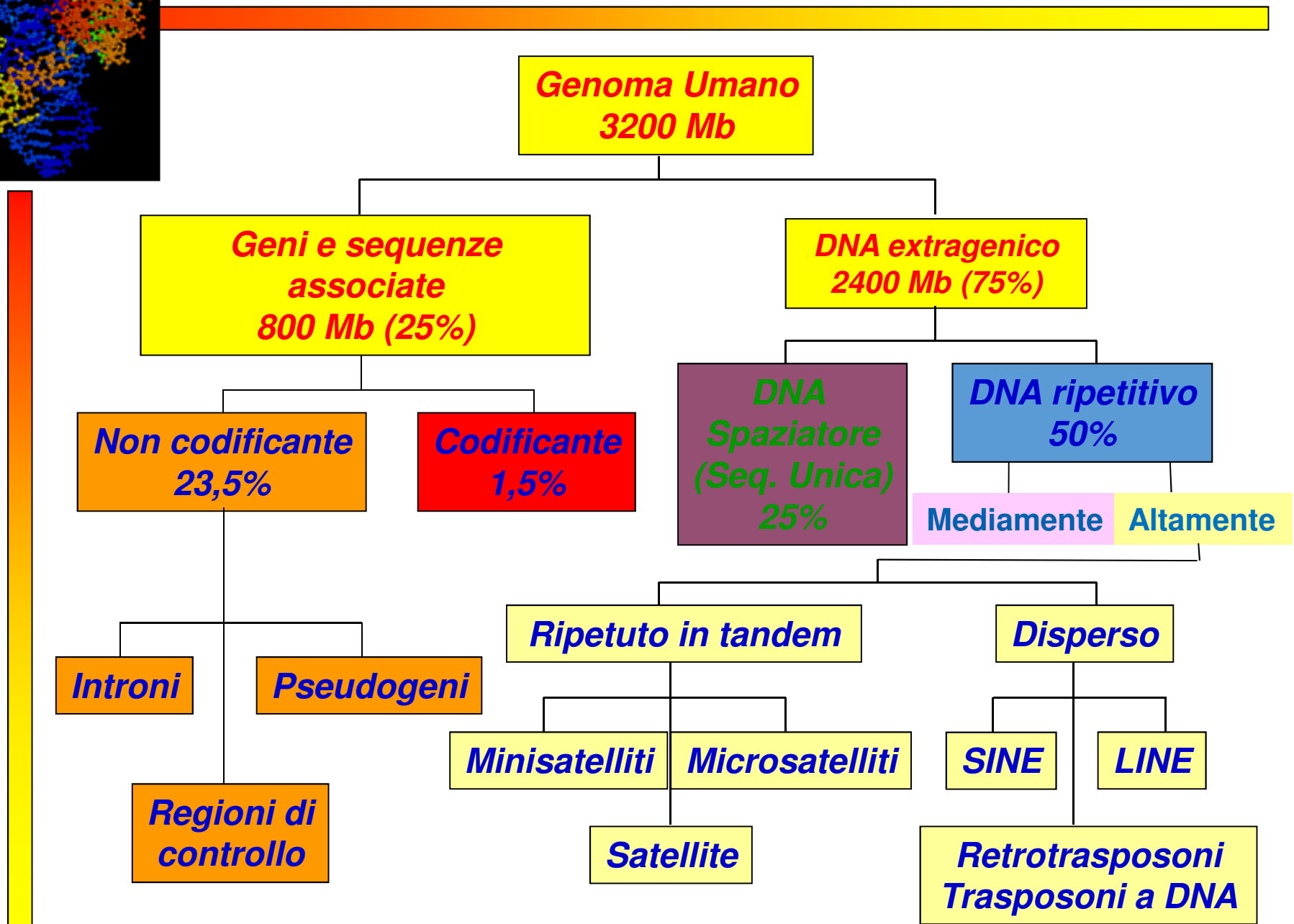
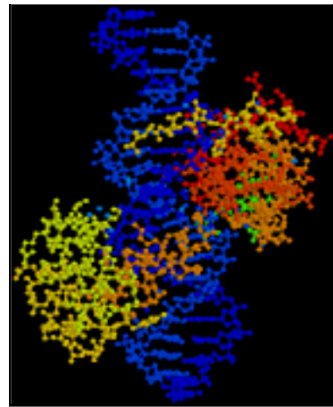
3. Microsatelliti

Unità < 4bp
Segmenti lunghi fino 150 pb

- a) **DNA satellite:** sequenze lunghe
- b) **DNA minisatellite:** sequenze medie
- c) **DNA microsatellite:** sequenze corte



Le classi del DNA



Sequenze altamente ripetute: (10^5 - 10^7)

SINE (short interspersed elements, brevi elementi sparsi 13% genoma). Sono principalmente sequenze *Alu*. Le sequenze *Alu* sono lunghe circa **300 pb** e nel genoma ne esistono circa 1,3 milioni . **Sono trascritte ma non codificano proteine. Significato sconosciuto**

.

LINE (long interspersed elements, lunghi elementi sparsi, 21%). Sono lunghe **circa 6000 pb** e sono ripetute circa 1000000 volte nel genoma. **Sono trascritte e alcune codificano per proteine la cui funzione non è conosciuta nella fisiologia della cellula.**

Sequenze altamente ripetute (10^5 - 10^7) intersperse: *SINE LINE*

Sia le SINE che le LINE sono esempi di elementi trasponibili, cioè retrotrasposoni, e la loro trasposizione è mediata dalla trascrizione inversa. L'RNA trascritto da una SINE o LINE viene ricopiato in una molecola di DNA da parte di una trascrittasi inversa presente nella cellula, e questa nuova copia a DNA dell'elemento ripetuto si integra successivamente in un nuovo sito nel genoma.

