



Capitolo 2

DNA: il materiale genetico

Domande

- Qual è il materiale genetico, cioè la componente della cellula che ne controlla le caratteristiche morfologiche e biochimiche, e che viene trasmesso alla progenie?
- Che esperimenti hanno permesso di identificarlo?
- Qual è la composizione e struttura del materiale genetico?

In cosa consiste il materiale genetico?

Macromolecole nella cellula:

- Proteine
- Zuccheri
- Grassi
- Acidi nucleici

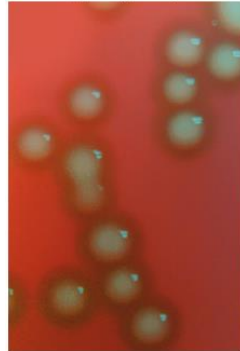
} struttura molto semplice

Streptococcus pneumoniae, o pneumococco

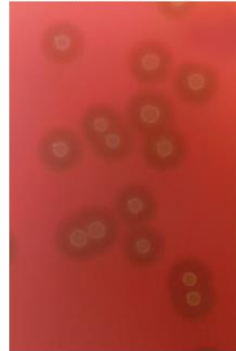
a) Fotografia al microscopio elettronico che mostra singoli batteri



b) Colonie di batteri del ceppo S (liscio)



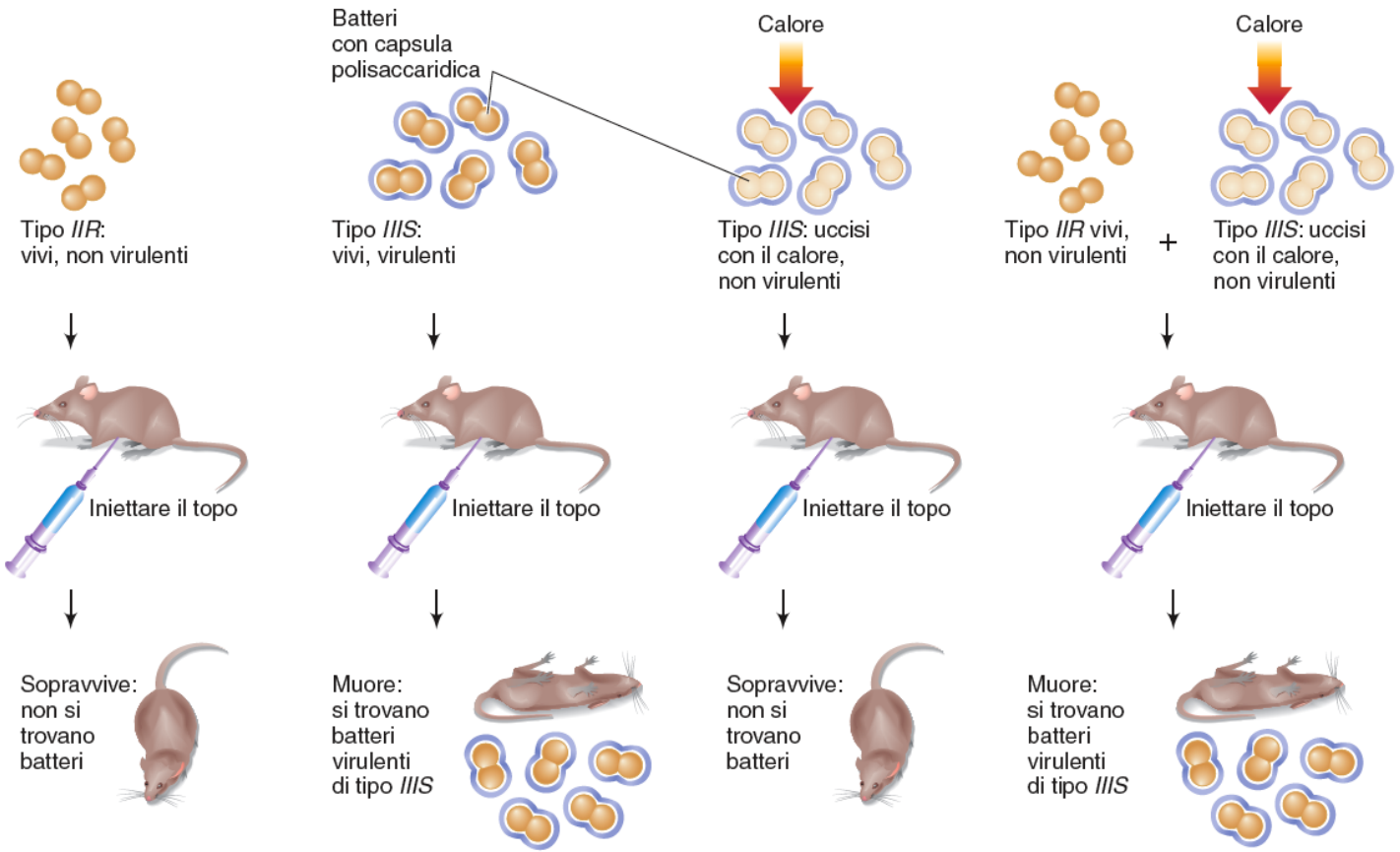
c) Colonie di batteri del ceppo R (rugoso)



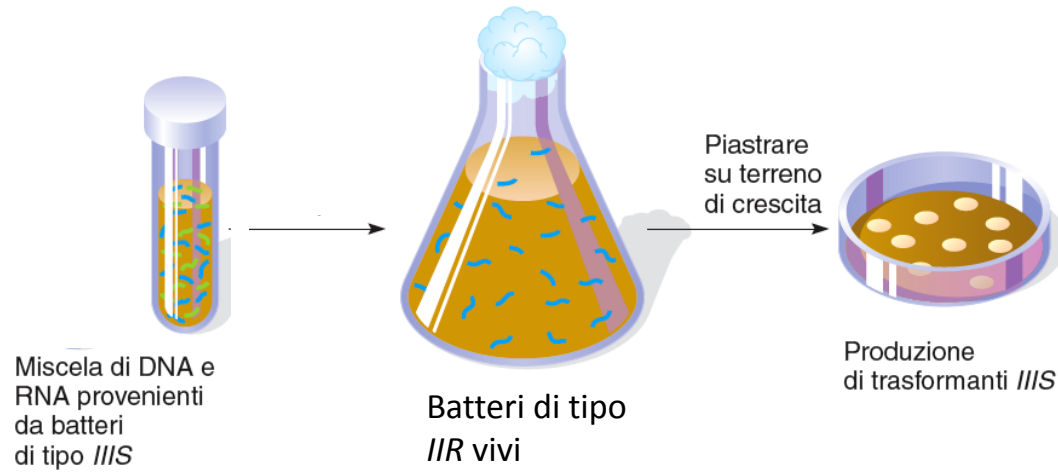
IIR > IIS > IIR

IIIR > IIIS > IIIR

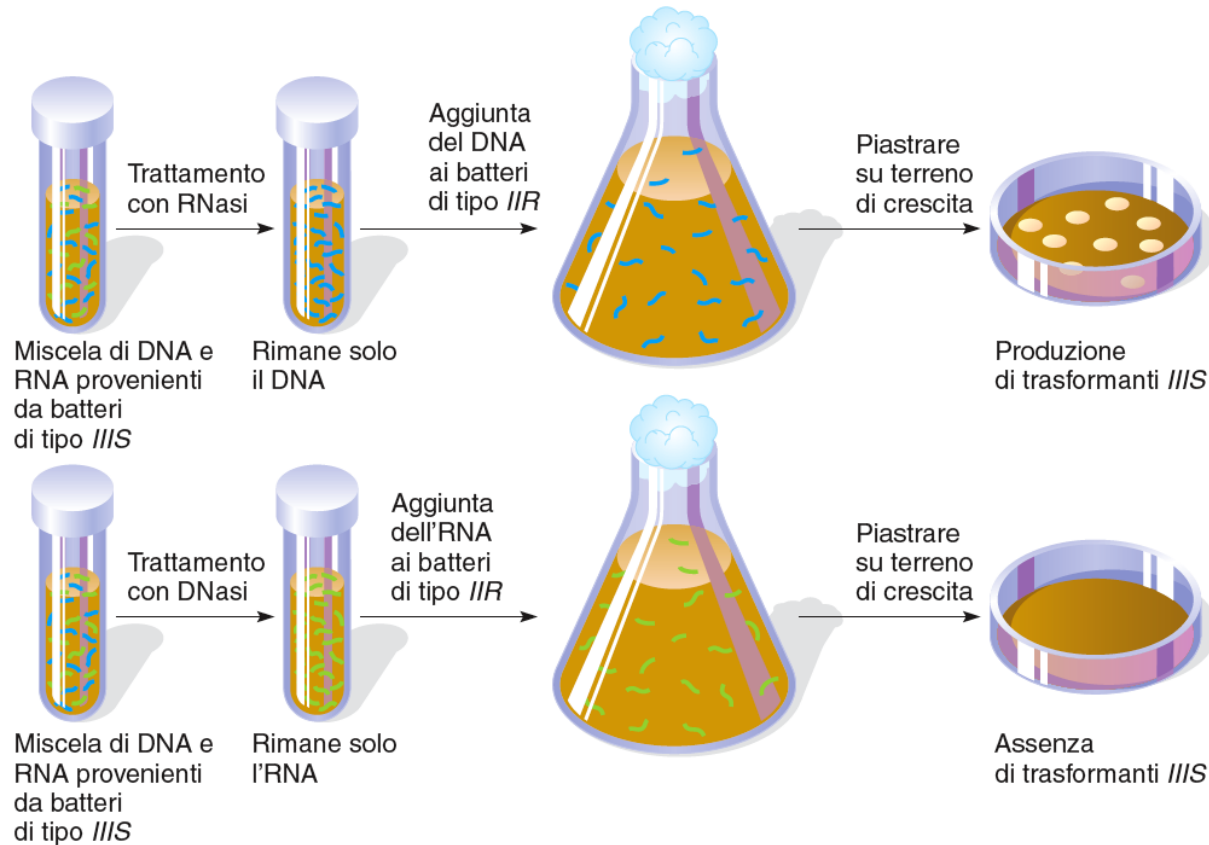
Griffith 1928: principio trasformatante



Avery, MacLeod & McCarthy 1942



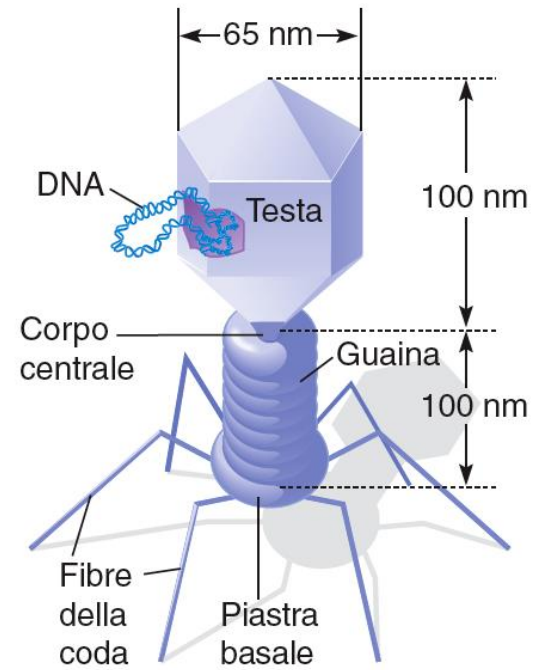
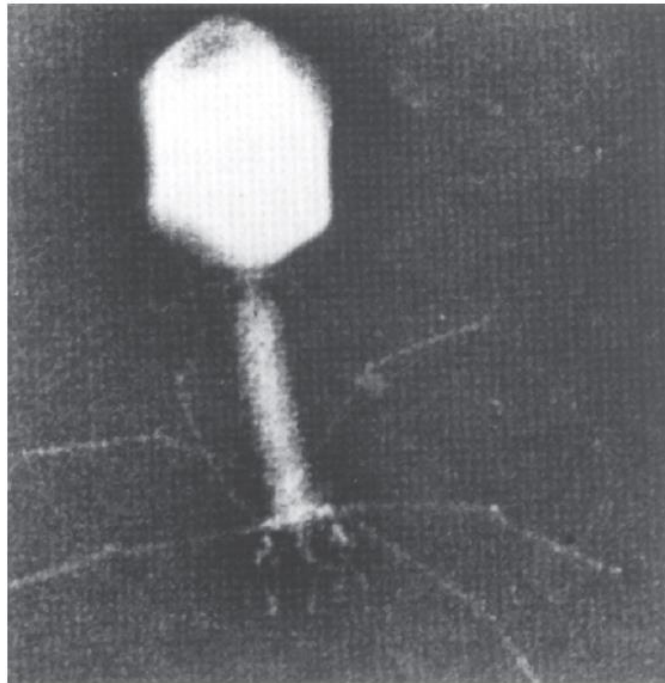
Avery, MacLeod & McCarthy 1942

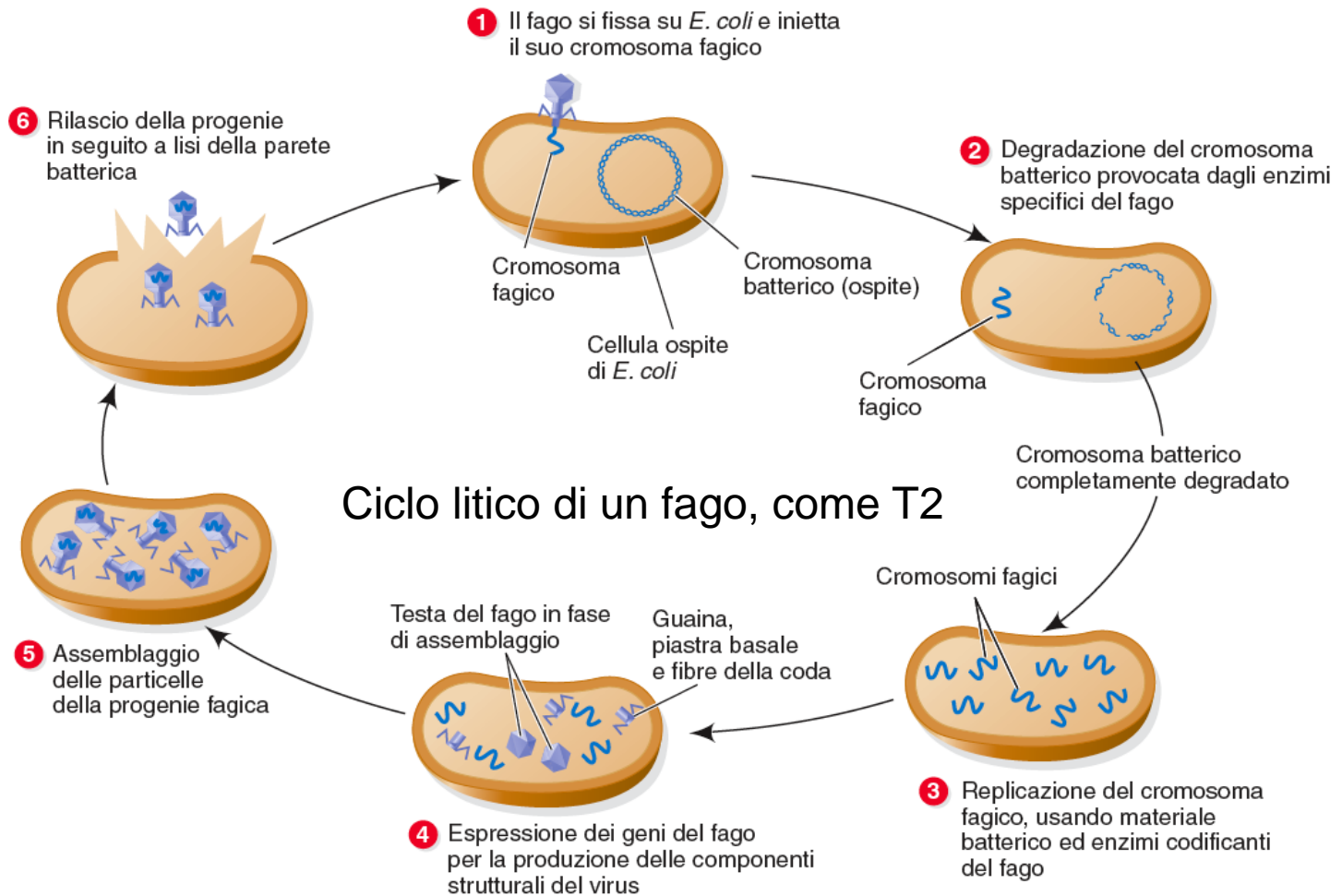




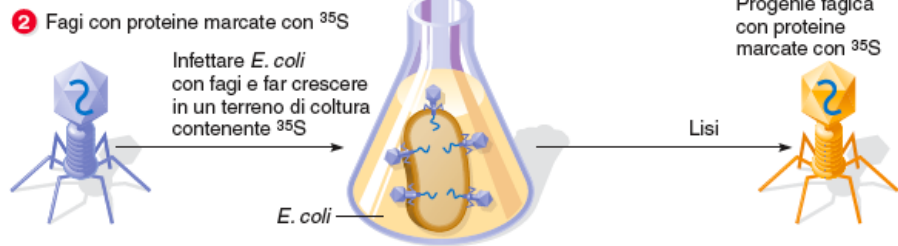
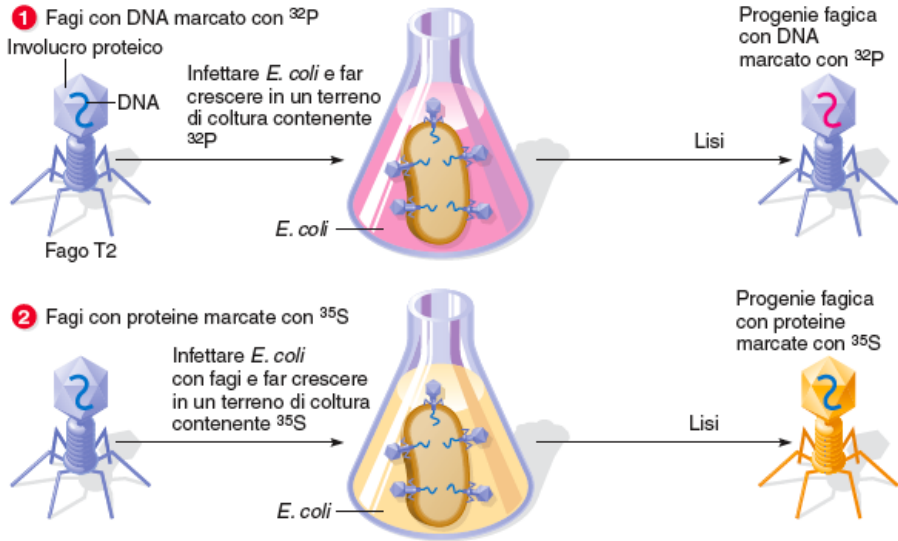
Hershey & Chase 1953

Il batteriofago T2

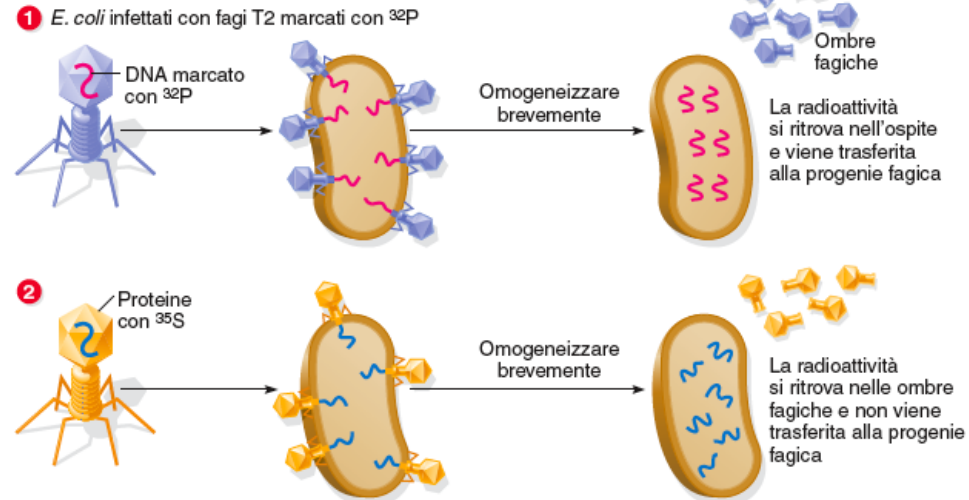




a) Preparazione dei batteriofagi T2 marcati radioattivamente

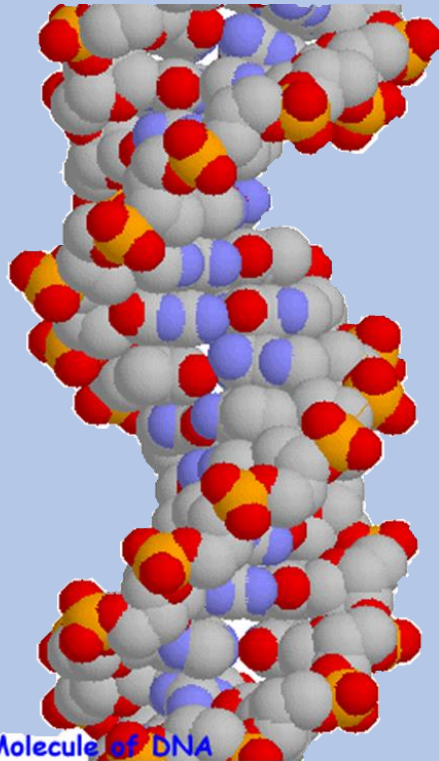


b) L'esperimento che dimostrò che il DNA è il materiale genetico di T2

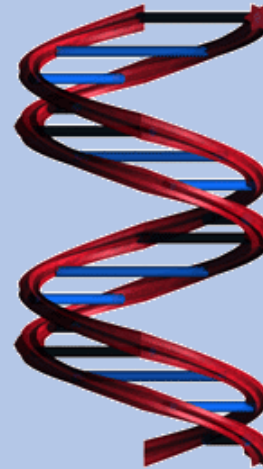


Eredità: il DNA

Composizione e struttura



©Rothamsted Experimental Station, 1997, 1998

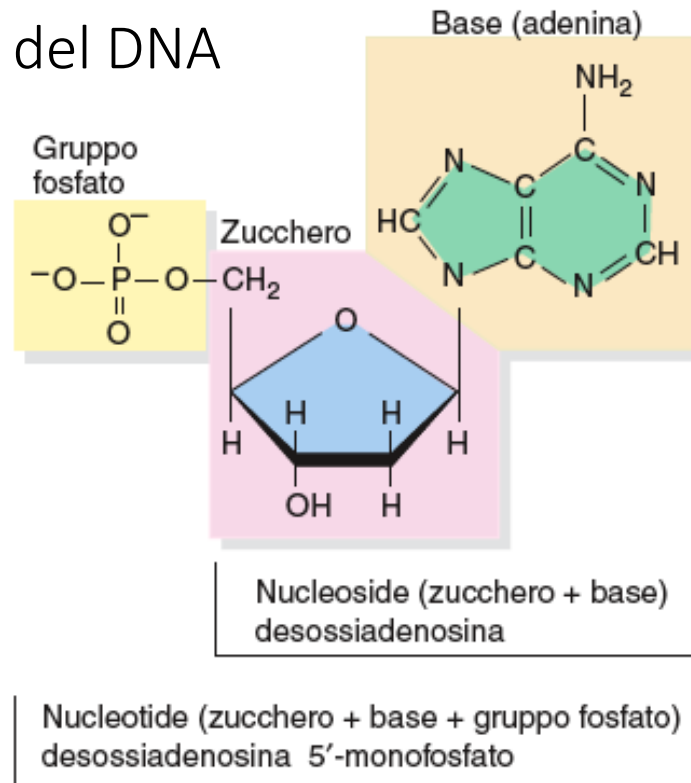


5' - GTAATCCTC - 3'
| | | | | | | |
3' - CATTAGGAG - 5'

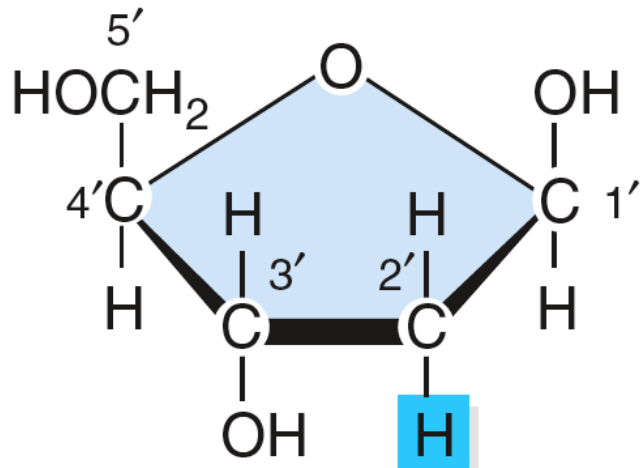
Acidi nucleici: DNA e RNA

polimeri costituite dal legame di *monomeri*

Nucleotide del DNA

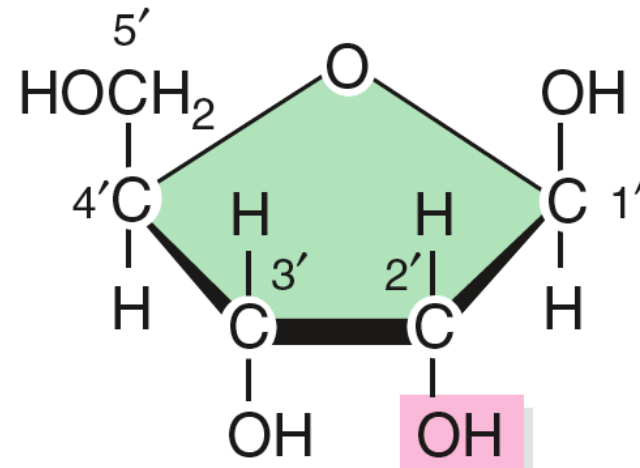


DNA

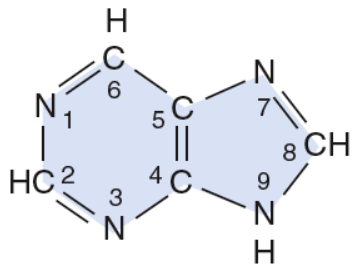


Desossiribosio

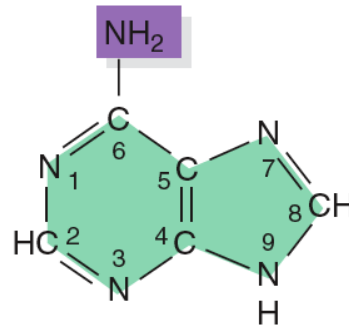
RNA



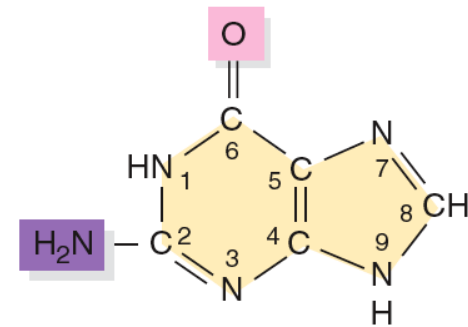
Ribosio



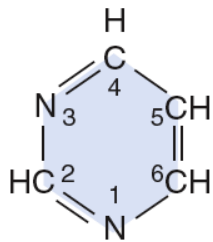
Purina
(composto progenitore)



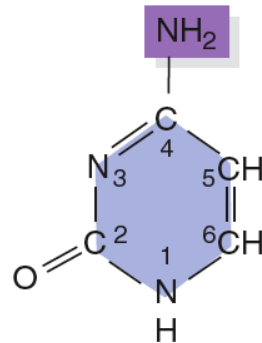
Adenina (A)



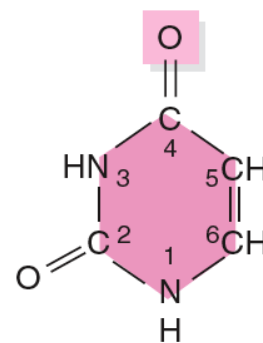
Guanina (G)



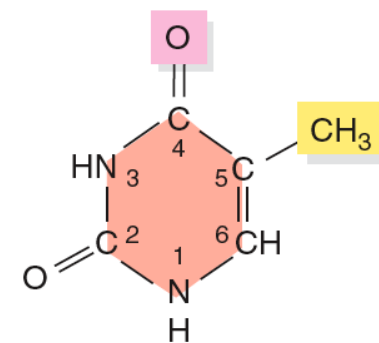
Pirimidina
(composto progenitore)



Citosina (C)

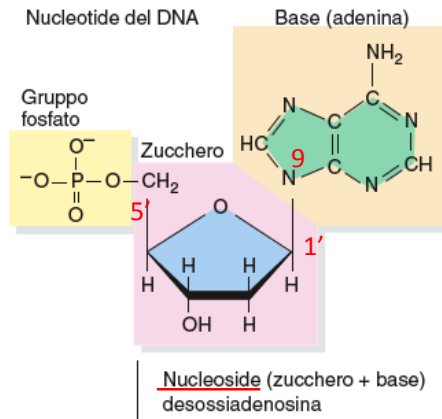


Uracile (U)
(nell'RNA)

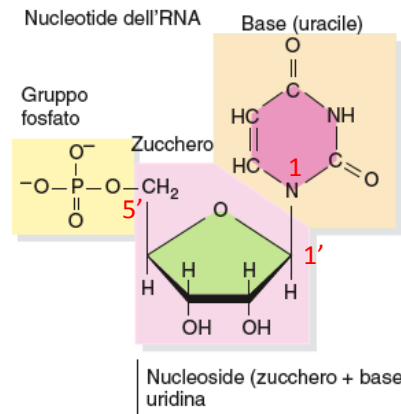


Timina (T)
(nel DNA)

a) Nucleotidi del DNA e dell'RNA

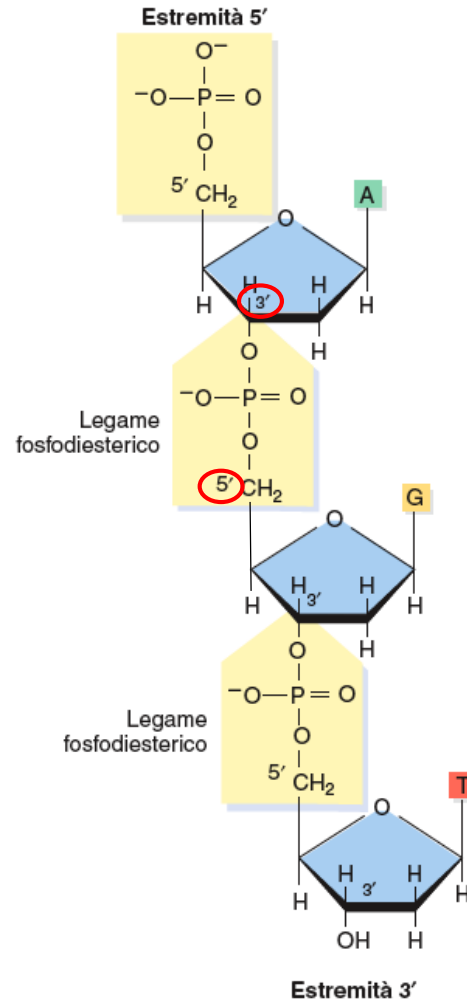


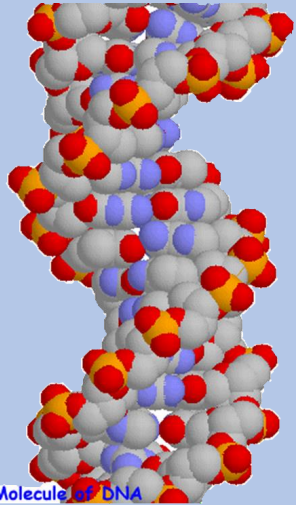
**Nucleotide (zucchero + base + gruppo fosfato)
desossiadenosina 5'-monofosfato**



**Nucleotide (zucchero + base + gruppo fosfato)
uridina 5'-monofosfato o acido uridilico**

b) Catena polinucleotidica di DNA





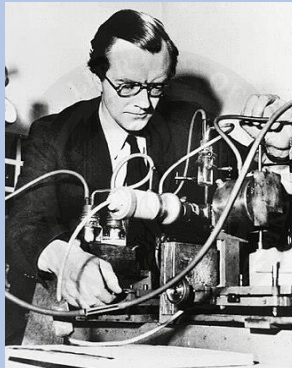
Come si è arrivati a capire la struttura del DNA?



Jim Watson



Francis Crick



Maurice Wilkins



Rosalind Franklin



Jim Watson e Francis Crick nel 1953

Rapporti quantitativi fra le basi del DNA

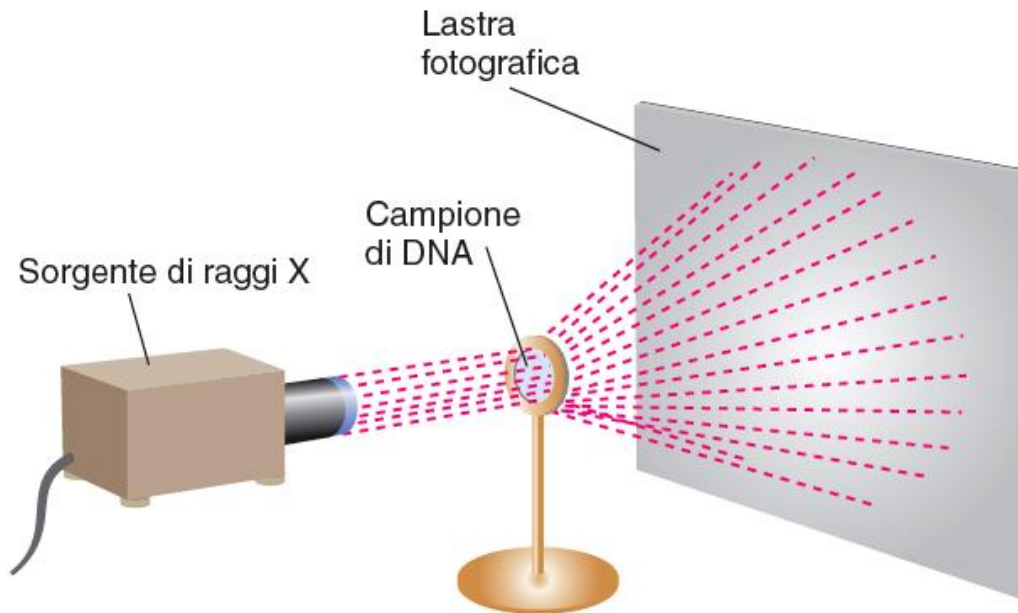
Tabella 2.2 Composizione in basi del DNA da vari organismi

Origine del DNA	Percentuale della base nel DNA				Rapporti		
	A	T	G	C	A/T	G/C	(A + T) / (G + C)
Uomo (sperma)	31,0	31,5	19,1	18,4	0,98	1,03	1,67
Mais (<i>Zea mays</i>)	25,6	25,3	24,5	24,6	1,01	1,00	1,04
<i>Drosophila</i>	27,3	27,6	22,5	22,5	0,99	1,00	1,22
Nucleo di <i>Euglena</i>	22,6	24,4	27,7	25,8	0,93	1,07	0,88
<i>Escherichia coli</i>	26,1	23,9	24,9	25,1	1,09	0,99	1,00

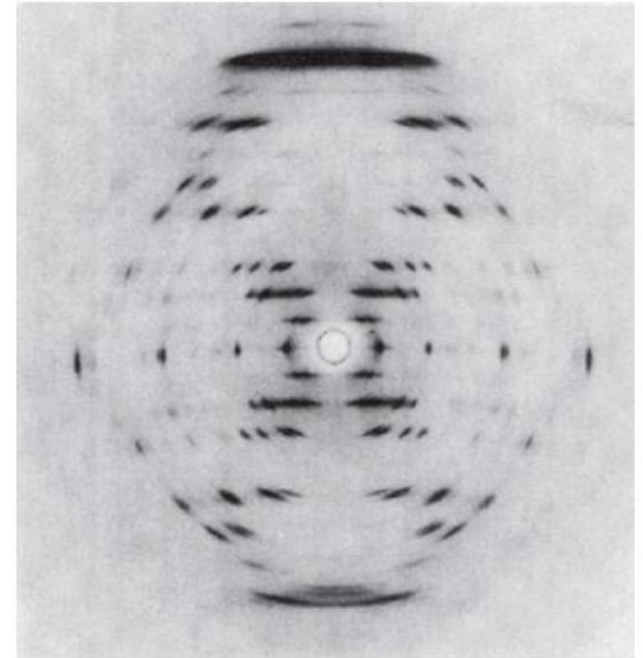
Regole di Chargaff:

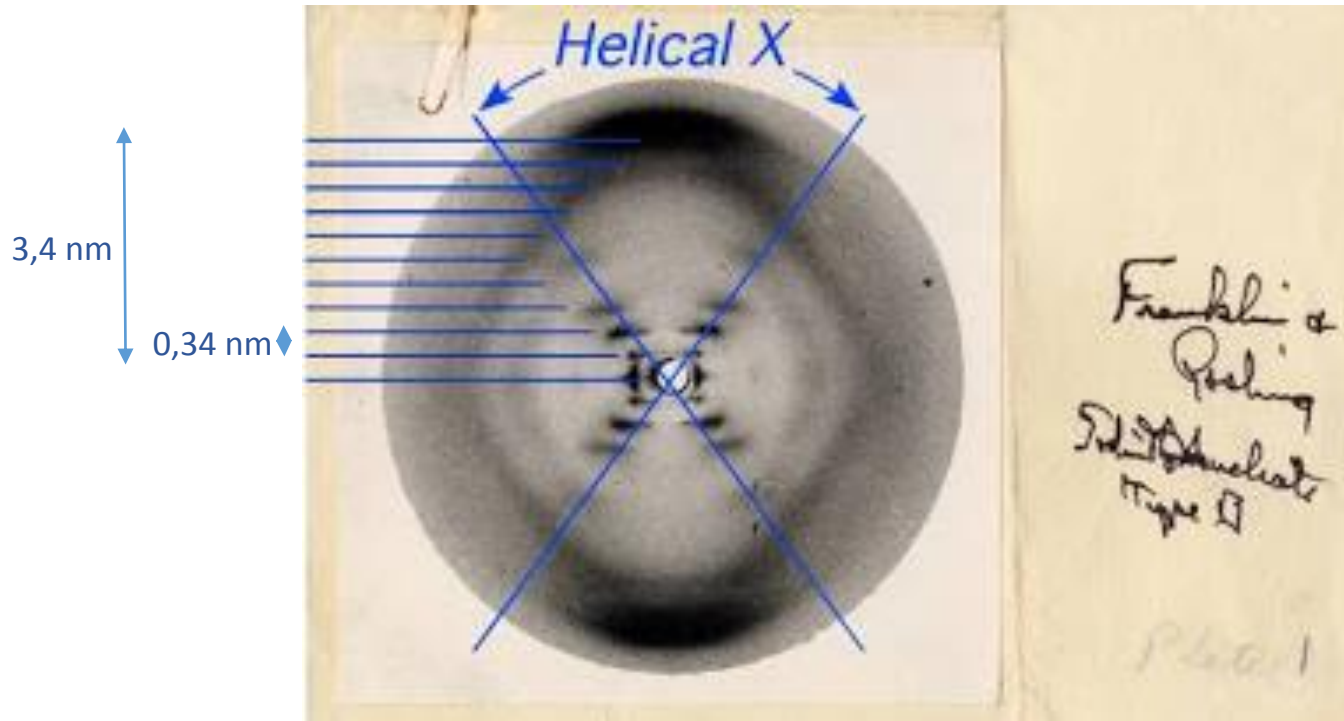
- La quantità di A=T e la G=C
- Il rapporto A/T = 1 e il rapporto G/C = 1 nei diversi organismi
- Il rapporto (A+G)/(C+T) = 1
- Il rapporto (A+T)/(G+C) (indicato anche come %GC) varia dipendendo degli organismi.

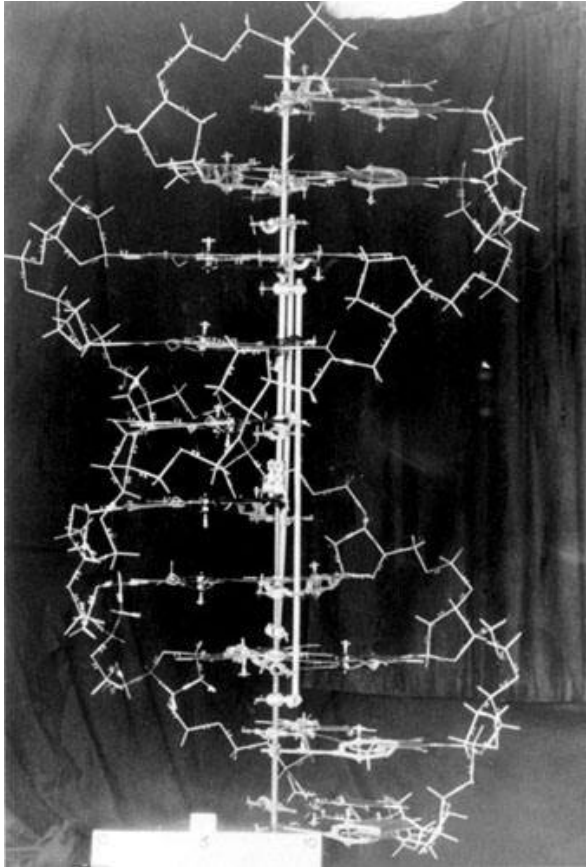
Metodo di diffrazione dei raggi X



Spettro di diffrazione dei raggi X





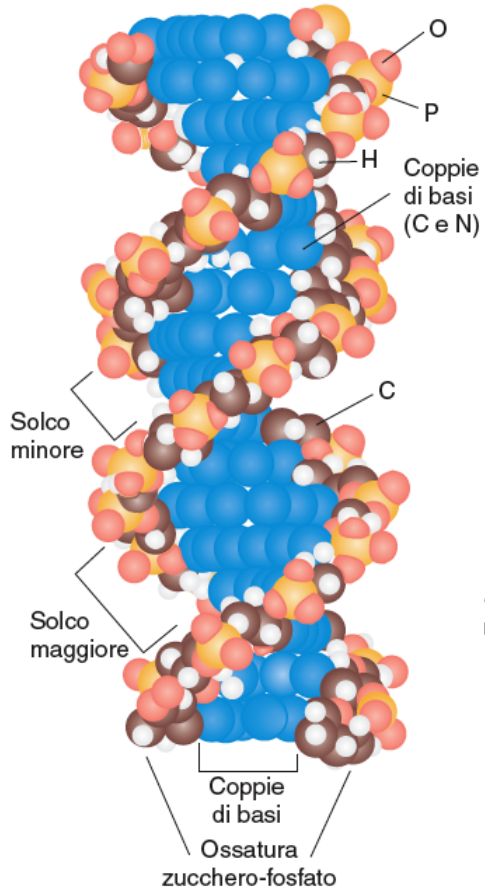


Jim Watson e Francis
Crick nel 1953

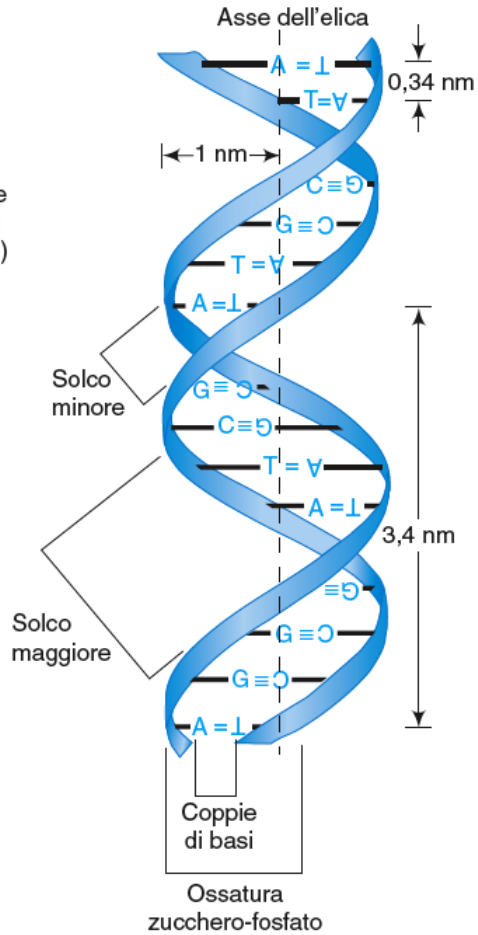


Watson, Crick and Wilkins Nobel Prize award 1962

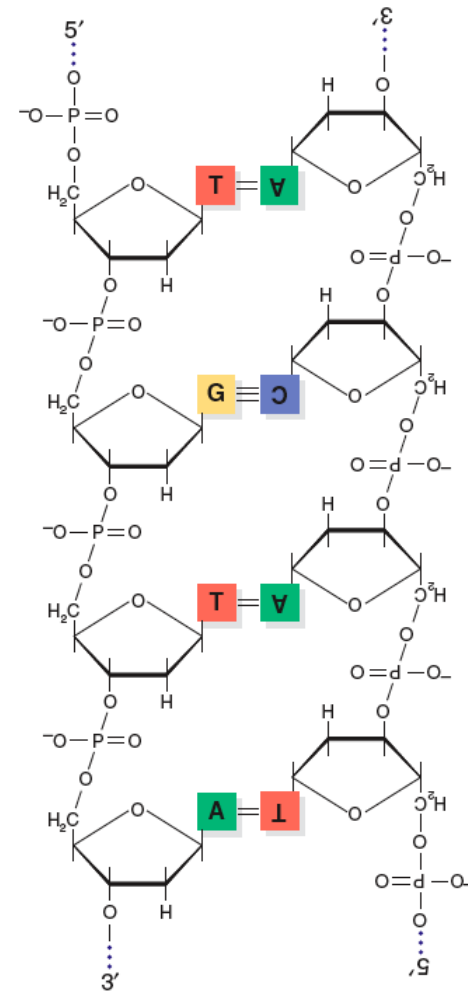
a) Modello molecolare



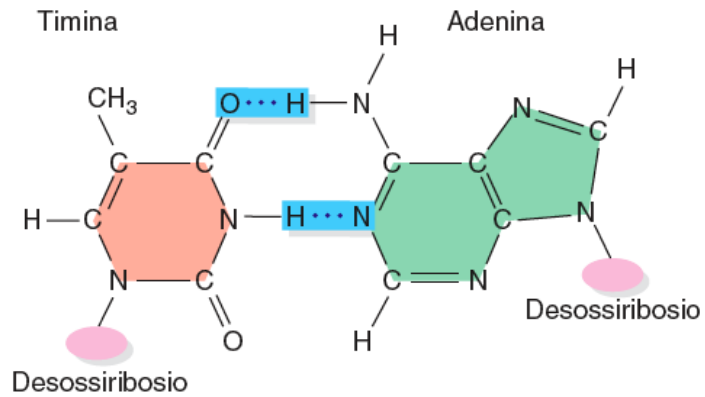
b) Diagramma stilizzato



c) Struttura chimica

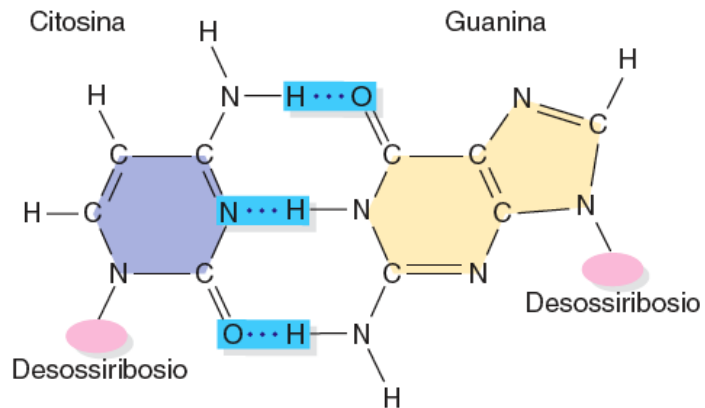


- a) Coppia di basi adenina-timina
(si appaiano mediante la formazione
di due legami idrogeno)

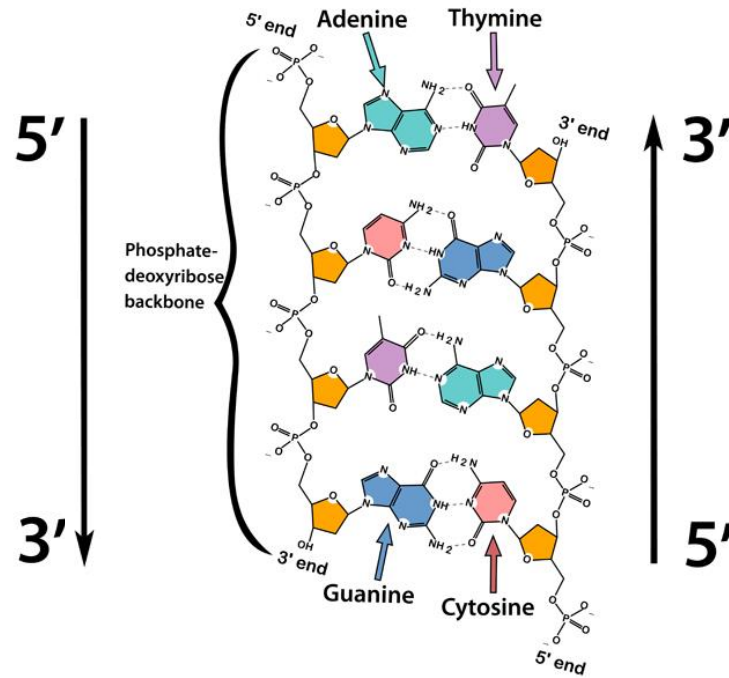


DNA, appaiamento
fra le basi:
T-A, C-G

- b) Coppia di basi guanina-citosina
(si appaiano mediante la formazione
di tre legami idrogeno)



Orientamento della doppia elica



Nucleotide

Nucleotide

Search

Advanced

Help

FASTA

Send to

Change region shown

Customize view

Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region, exons 1, 2 and partial cds

GenBank: DQ659148.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

>DQ659148.1 Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region, exons 1, 2 and partial cds

```
GGCATGAAAGTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAAC
CTCAAACAGACACCATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGT
GAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAAGCCCTGGGCAGGTTGGTATCAAGGTTACAAGACAGGTTTAAGGAG
ACCAATAGAACTGGGCATGTGGAGACAGAGAAGACTCTTGGGTTTCTGATAGGCACTGACTCTCTCTGC
CTATTGGTCTATTTTCCCACCCTTAGGCTGCTGGTGGTCTACCCTTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCCT
TTGGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATGGGCAACCCTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAGAAAGTGCT
CGGTGCCTTTAGTGATGGCCTGGCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTTGCCACACTGAGTGAGCTG
CACTGTGACAAGCTGCACGTGGATCCTGAGAACTTCAGGGTGAGTCTATGGGACCCTTGATGTTTTCTTT
CCCCTTCTTTTCTATGGTTAAGTTCATGTCATAGGAAGGGGAGAAGTAACAGGGTACAGTTTAGAATGGG
AAACAGACGAATGATT
```

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Articles about the HBB gene

First Description of Hb San Diego (<i>HBB</i>: c.328G>A) in a Chinese F; [Hemoglobin. 2019]

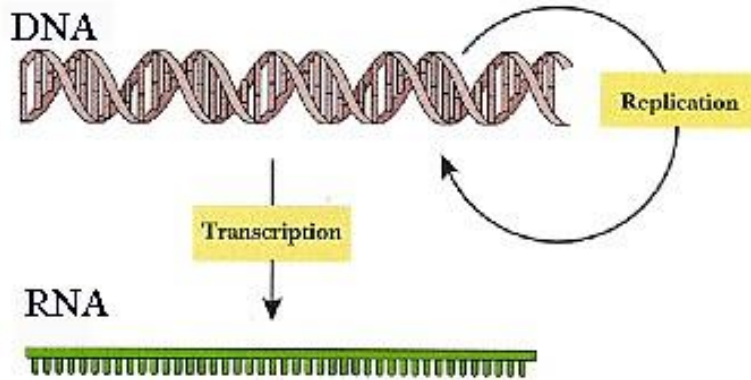
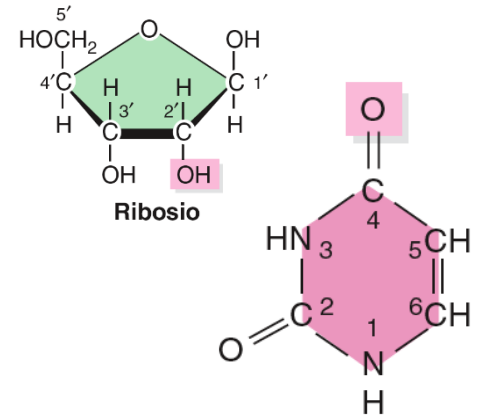
Computational Analysis of Protein Structure Changes as a Result of N [Biomed Res Int. 2019]

A Novel Human β -Globin Gene Variant [Hb London-Ontario, <i>HBB</i>: [Hemoglobin. 2019]

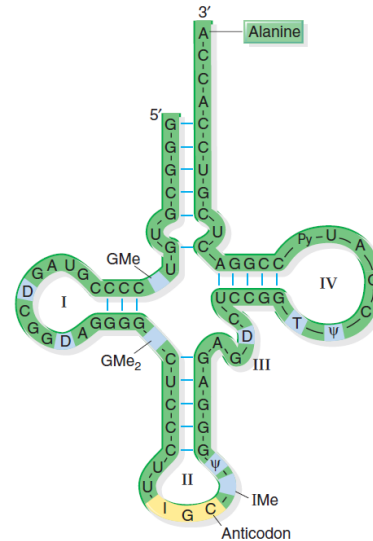
See all...

Struttura dell'RNA

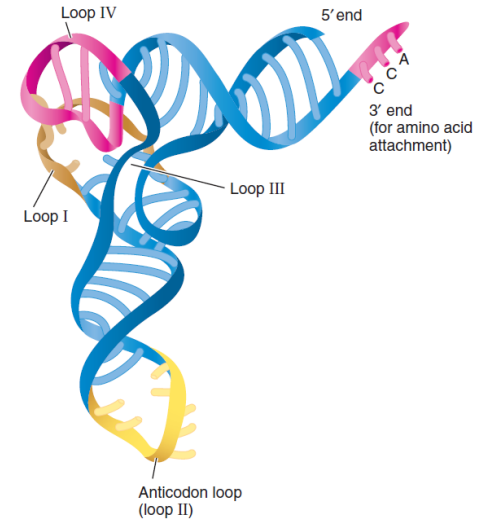
- Zucchero ribosio
- Base uracile (U)
- Elica singola



a) Cloverleaf model of tRNA



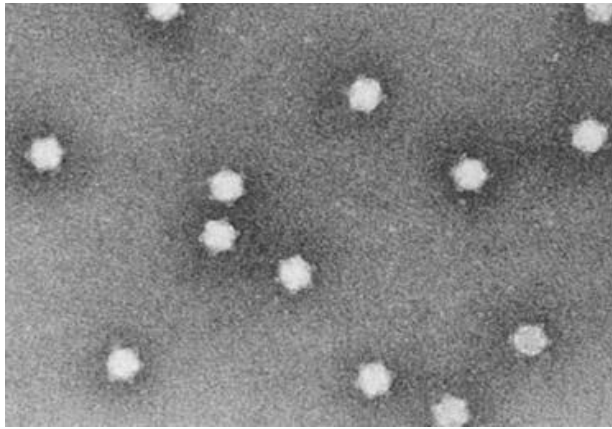
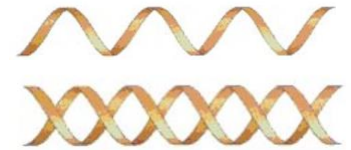
b) Schematic of the three-dimensional L-shaped structure of a tRNA, here yeast phenylalanine tRNA



L'organizzazione del DNA

Genomi virali

- DNA (batteriofagi e herpesvirus) o RNA (a singolo o doppio filamento)
- Cromosoma virale circolare o lineare
- Un singolo cromosoma o un genoma segmentato



Particelle fagiche di $\Phi X174$

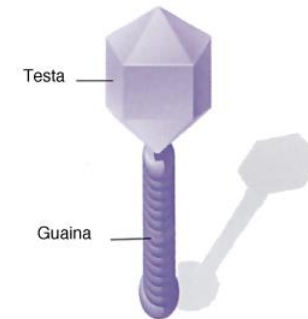
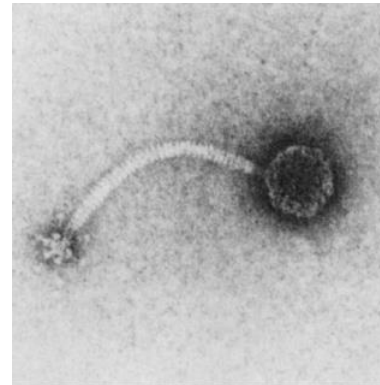
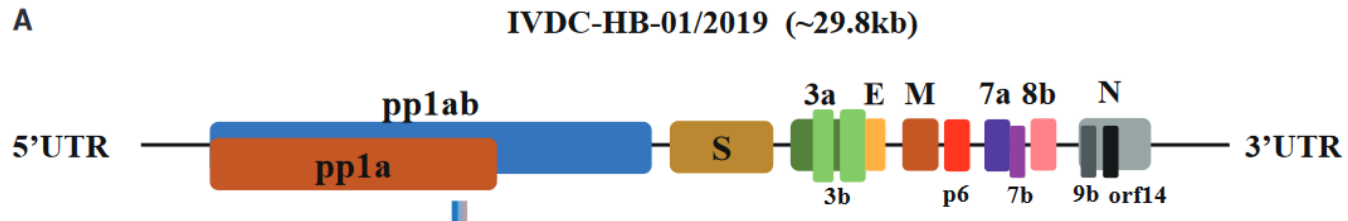


Foto e schema di fago λ

Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China

Aiping Wu,^{1,7,9} Yousong Peng,^{2,9} Baoying Huang,^{3,9} Xiao Ding,^{1,7,9} Xianyue Wang,^{1,7} Peihua Niu,³ Jing Meng,^{1,7} Zhaozhong Zhu,² Zheng Zhang,² Jiangyuan Wang,^{1,7} Jie Sheng,^{1,7} Lijun Quan,⁴ Zanzian Xia,^{5,8} Wenjie Tan,^{3,*} Genhong Cheng,^{6,*} and Tajjiao Jiang^{1,7,*}

¹Center for Systems Medicine, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China



L'organizzazione del DNA

Genomi procarioti

- Singolo cromosoma circolare di DNA a doppio filamento
- A volte, piccoli tratti di DNA extracromosomico (plasmidi)
- Da 5.000 a 5.000.000 di paia di basi
- Cromosoma superavvolto

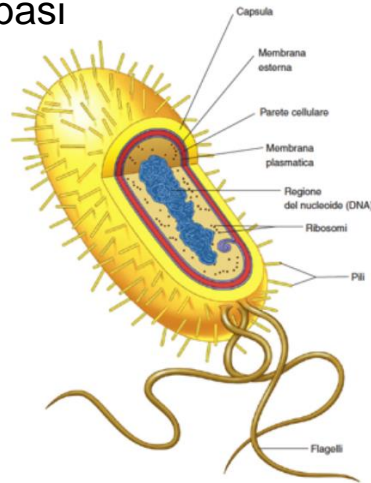
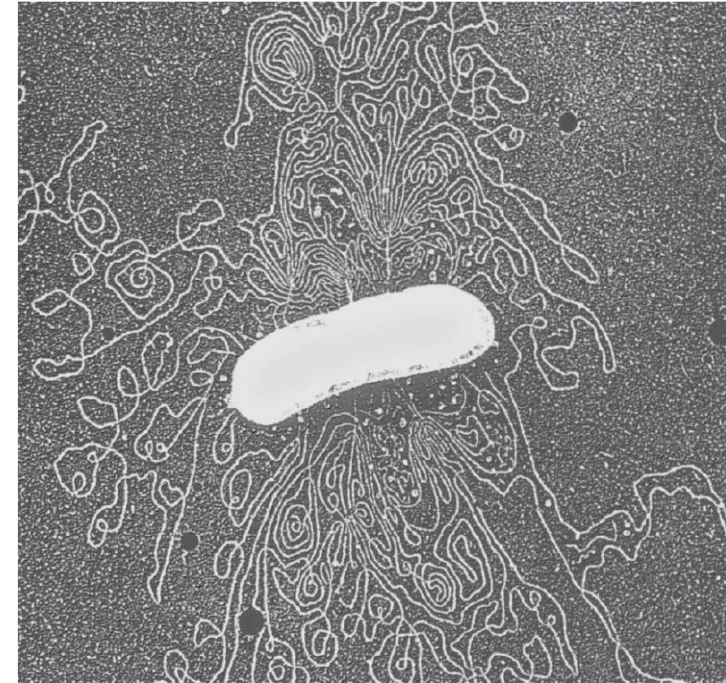


Figura 1.6
Cellula procariote. Schema della sezione trasversale.

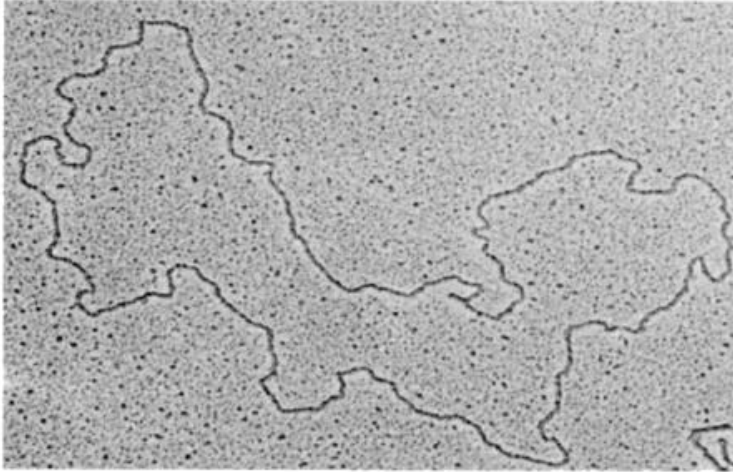
Figure 2.15 Chromosome released from a lysed *E. coli* cell.



Genetica: A Molecular Approach Russell Se, © 2010 Pearson Education, Inc.

Superavvolgimenti: la doppia elica si avvolge intorno al proprio asse

a)



DNA rilassato

b)



DNA superavvolto
(stesso ingrandimento)

a) DNA lineare con 20 giri



b)



Molecola di DNA
circolare
rilassata

c) DNA lineare con 20 giri di cui due non avvolti



d)



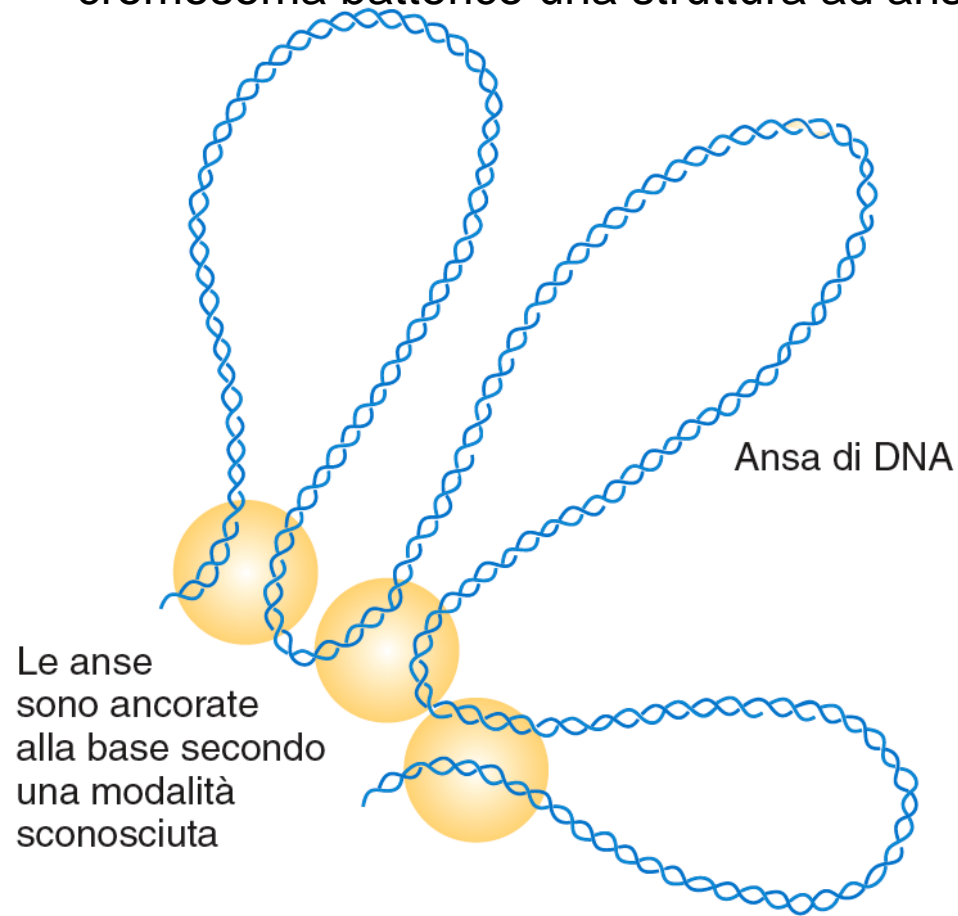
e)



DNA superavvolto
con 20 giri di elica
e 2 giri di superelica

Gli enzimi **topoisomerasi** avvolgono e svolgono le molecole di DNA in tutti gli organismi

Ulteriori superavvolgimenti conferiscono al cromosoma batterico una struttura ad anse



Struttura del DNA negli Eucarioti

- Più sono complessi più DNA è contenuto nelle loro cellule?
- O no?

Il valore C rappresenta il contenuto di DNA di ogni cellula espresso in coppie di basi (bp)

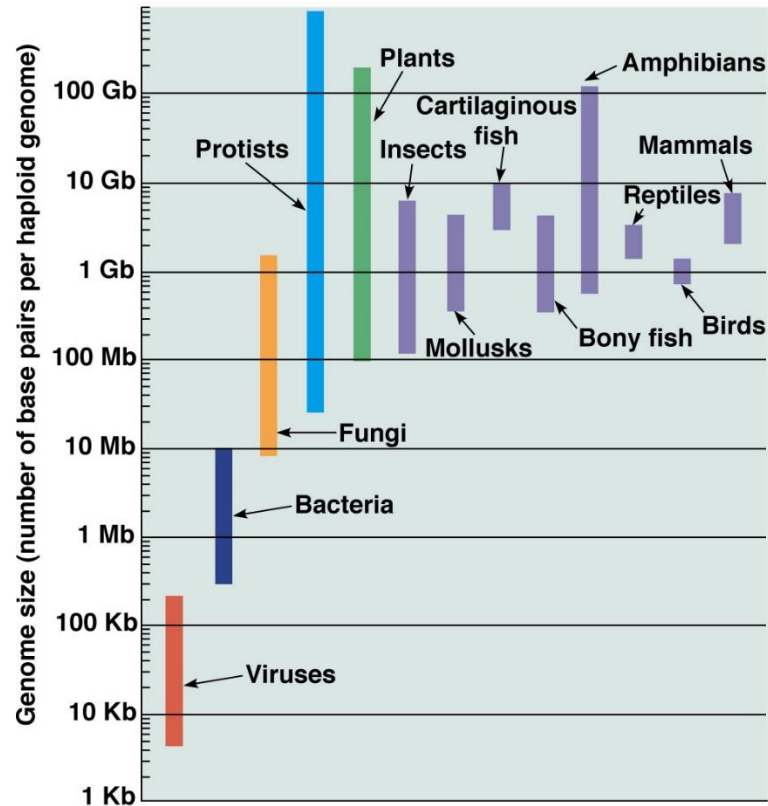
Pare di no

Paradosso del valore C

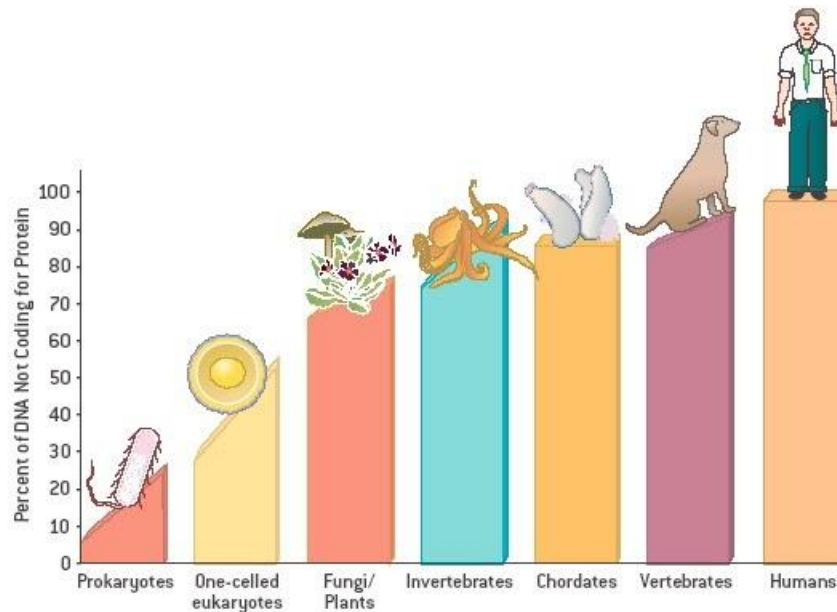
Tabella 2.4 Contenuto di DNA aploide, o valore C, in alcune specie	
Specie	Valore C (bp)
Virus e fagi	
λ (batteriofago)	48.502 ^a
T4 (batteriofago)	168.900
Virus della leucemia felina (virus del gatto)	8448 ^a
Virus della scimmia (SV40)	5243 ^a
Virus dell'immunodeficienza umana-1 (HIV-1, agente eziologico dell'AIDS)	9750
Virus del morbillo (virus dell'uomo)	15.894
Batteri	
<i>Bacillus subtilis</i>	4.214.814 ^a
<i>Borrelia burgdorferi</i> (spirocheta della malattia di Lyme)	910.724 ^a
<i>Escherichia coli</i>	4.639.221 ^a
<i>Helicobacter pylori</i> (batterio che causa l'ulcera gastrica)	1.667.867 ^a
<i>Neisseria meningitidis</i>	2.272.351 ^a
Archei	
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.664.970 ^a
Eucarioti	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (lievito gemmante; lievito di birra)	13.105.020 ^a
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (lievito)	14.000.000
<i>Lilium formosanum</i> (giglio)	36.000.000.000
<i>Zea mays</i> (mais, granoturco)	5.000.000.000
<i>Amoeba proteus</i> (ameba)	290.000.000.000
<i>Drosophila melanogaster</i> (moscerino della frutta)	180.000.000
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematode)	97.000.000
<i>Danio rerio</i> (zebrafish)	1.900.000.000
<i>Xenopus laevis</i> (rospo Africano)	3.100.000.000
<i>Mus musculus</i> (topo)	3.454.200.000
<i>Rattus rattus</i> (ratto)	3.093.900.000
<i>Canis familiaris</i> (cane)	3.355.500.000
<i>Equus caballus</i> (cavallo)	3.311.000.000
<i>Homo sapiens</i> (uomo)	3.400.000.000

^aQuesti valori C sono derivati dalla sequenza completa del genoma; tutti gli altri sono stime basate su altre misurazioni.

Scarsa correlazione fra dimensioni del genoma e complessità dell'organismo



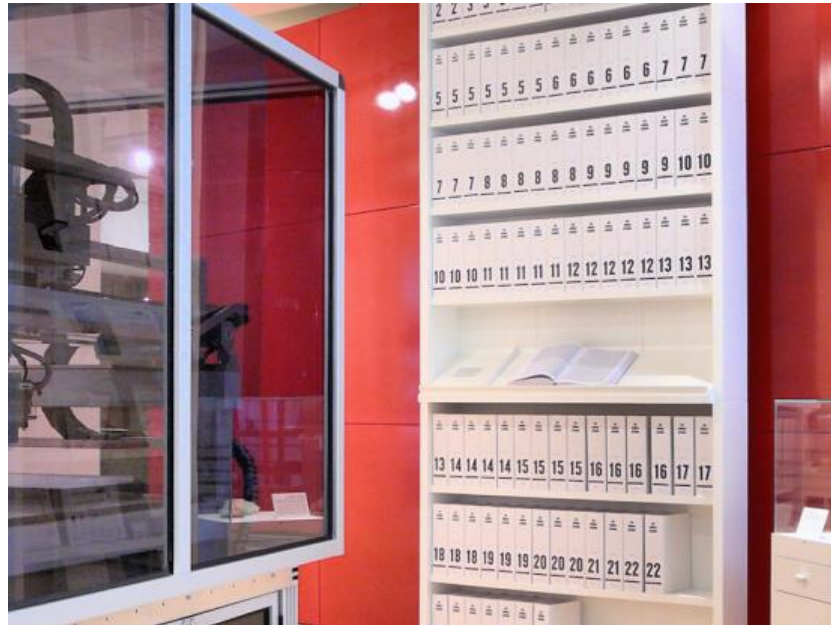
C'è, invece, una correlazione fra frazione del genoma non codificante e complessità dell'organismo



NONPROTEIN-CODING SEQUENCES make up only a small fraction of the DNA of prokaryotes. Among eukaryotes, as their complexity increases, generally so, too, does the proportion of their DNA that does not code for protein. The noncoding sequences have been considered junk, but perhaps it actually helps to explain organisms' complexity.

Genome size

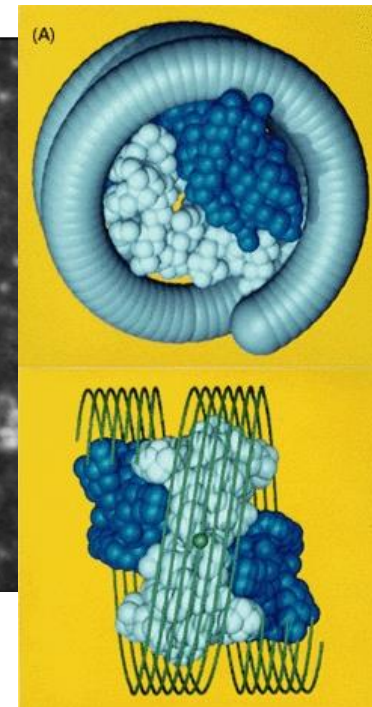
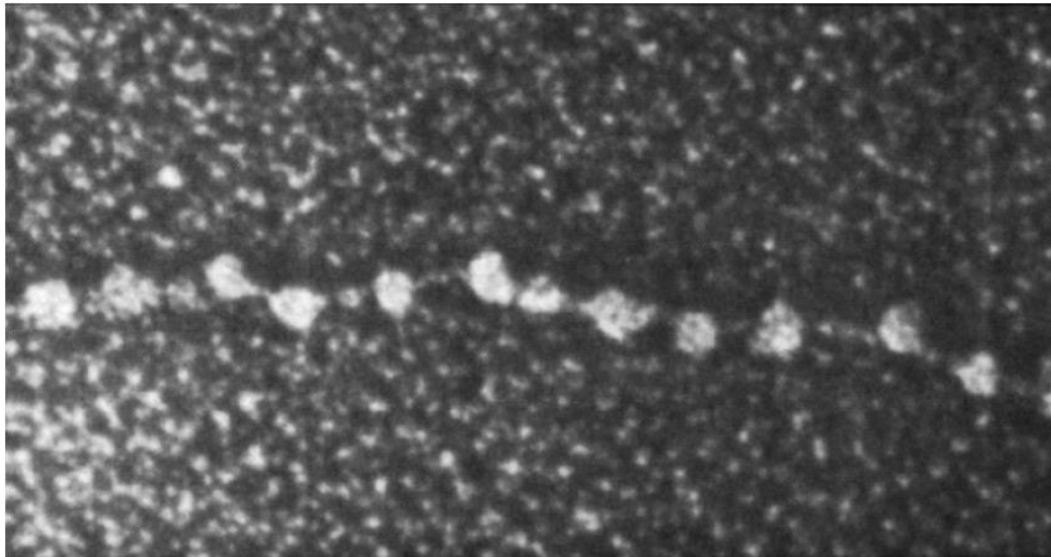
The human DNA: 3 billion genetics bases (or letters)



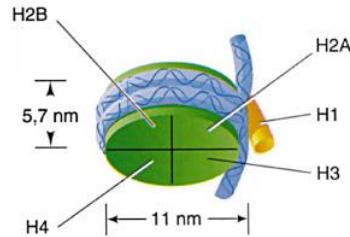
Typing the genome 8h/day

50 years

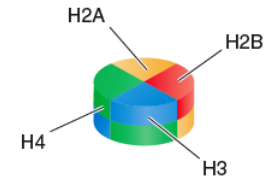
Il cromosoma degli Eucarioti



Cromatina: il complesso del DNA e delle proteine che costituiscono il cromosoma



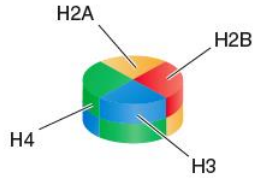
a) Nucleo istonico



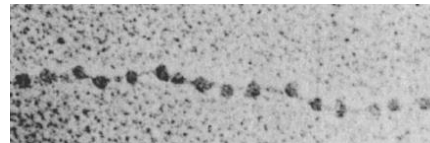
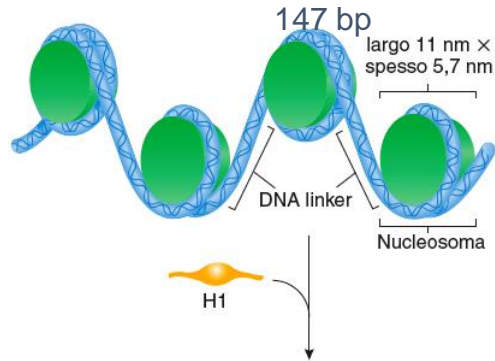
1. **Istoni**: proteine basiche, ruolo importante nell'impacchettamento della cromatina, uguali in tutte le cellule di un organismo

2. **Proteine non istoniche**: acide, diverse nei diversi tessuti di un organismo

a) Nucleo istonico

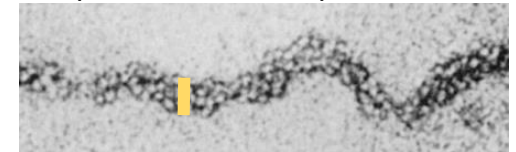


b) Struttura di base dei nucleosomi nella cromatina a "filo di perle"

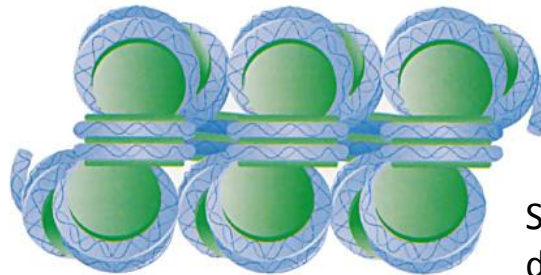
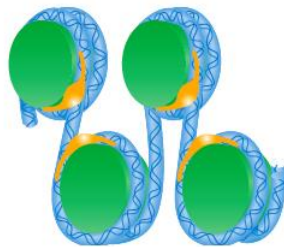


Cromatina distesa (filo di perle)

Cromatina impacchettata (fibra di 30 nm)

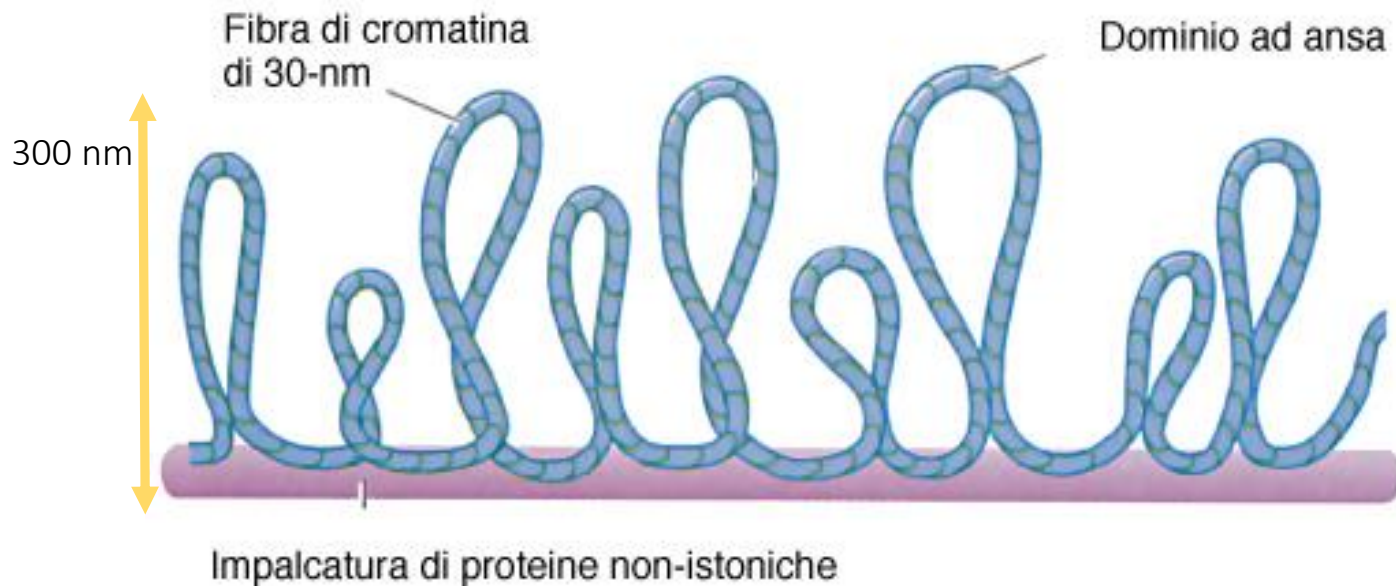


c) Condensazione della cromatina mediante il legame di H1



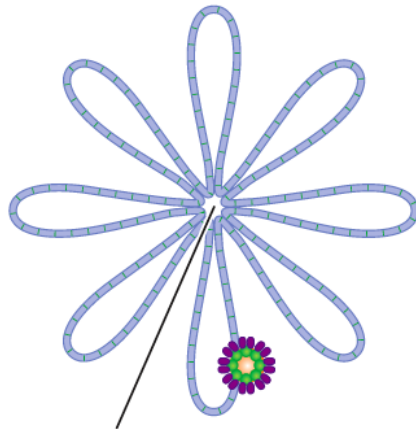
Schema di impacchettamento dei nucleosomi

Le proteine non-istoniche legano la fibra di 30 nm formando dei domini ad ansa



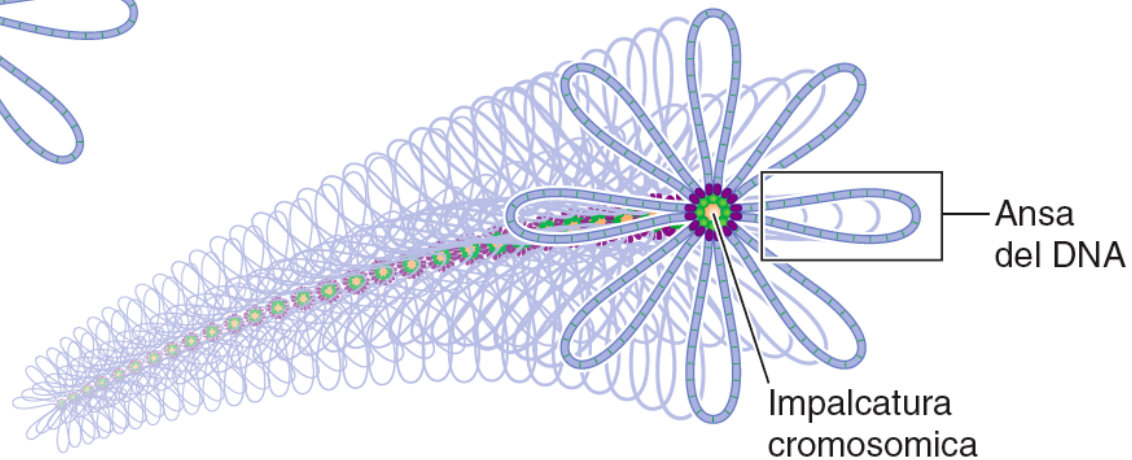
Sezione trasversale della fibra cromatinica da 300 nm

a) Domini ad ansa di fibre di cromatina da 30 nm ancorate all'impalcatura cromosomica



Altre componenti non istoniche dell'impalcatura

b) Modello di una sezione del cromosoma metafasico



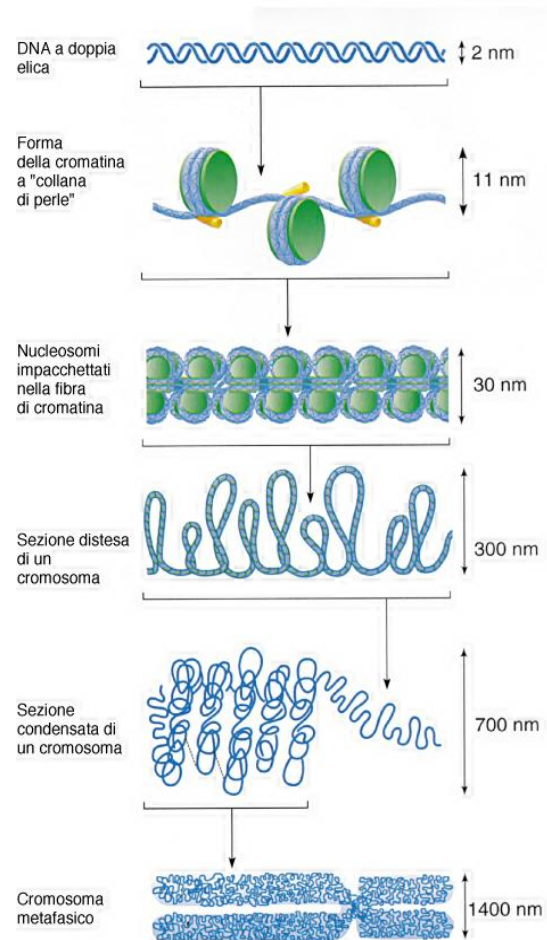
Ansa del DNA

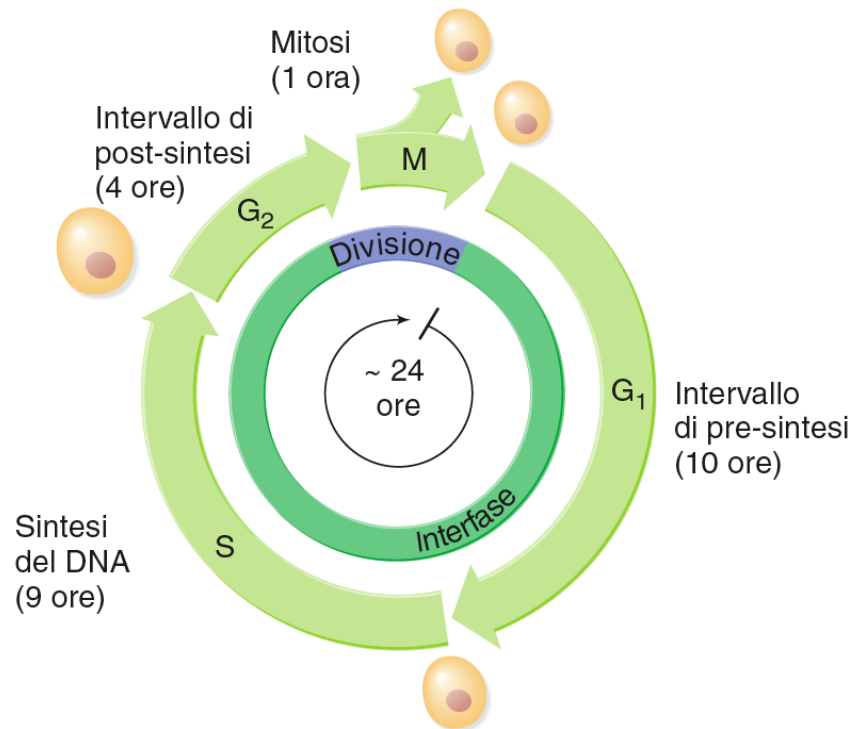
Impalcatura cromosomica

Riassumendo:

Figura 2.31

Rappresentazione schematica dei diversi ordini di impacchettamento della cromatina, alla base del cromosoma metafasico altamente condensato.





Eucromatina: regioni cromosomiche in cui si alternano condensazione e decondensazione

Eterocromatina: regioni cromosomiche che rimangono in fase densa durante tutto il ciclo cellulare

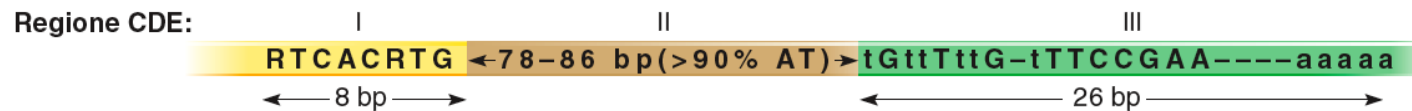
- *Eterocromatina costitutiva:* centromeri e telomeri
- *Eterocromatina facoltativa*



Due regioni specializzate

1. Sequenze **centromeriche**: interagiscono con le fibre dei microtubuli

Sequenze CEN del lievito



Sequenza consenso dei centromeri del lievito *Saccharomyces cerevisiae*. R = purina. Le coppie di basi presenti in 15 su 16 dei 16 centromeri sono altamente conservate e sono indicate con caratteri maiuscoli. Le coppie di basi presenti in 10-13 dei 16 centromeri sono conservate e sono indicate con caratteri minuscoli. Le posizioni non conservate sono indicate da trattini.

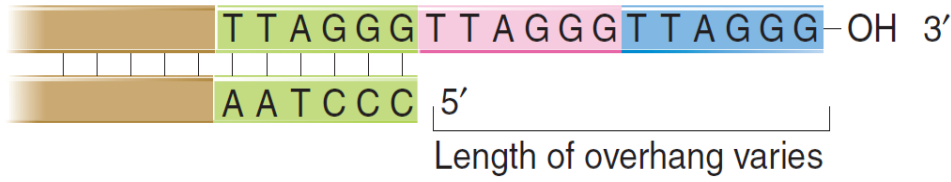


Due regioni specializzate

2. Sequenze **telomeriche**: spesso a contatto con la membrana nucleare

Figure 2.25a Human simple telomeric repeat sequences

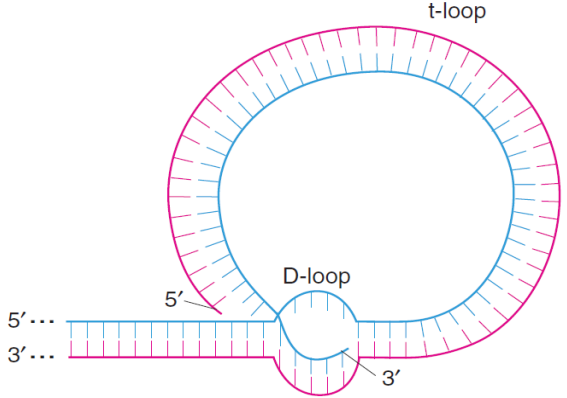
a) Human simple telomeric repeat sequences



©Genetica: A Molecular Approach Russell 3e, © 2010 Pearson Education, Inc.

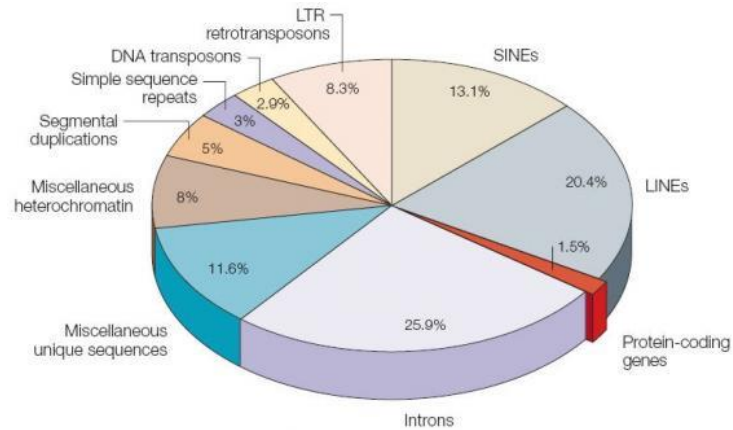
Sequenze ripetute

b) t-loop model for telomeres



©Genetica: A Molecular Approach Russell 3e, © 2010 Pearson Education, Inc.

Regioni di DNA a sequenza unica e a sequenza ripetuta



Ripetizioni in tandem (SSR, duplicazioni di segmenti: 8%) o disperse (SINES, LINEs: 33.5%)

http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/home.shtml

Sintesi 2

- Abbiamo visto quattro esperimenti che hanno dimostrato come il materiale genetico sia rappresentato da acido nucleico: Griffith, Avery e coll., Hershey e Chase, Fraenkel-Conrat e Singer
- Il DNA è a doppia elica in tutti gli organismi (Watson & Crick), ma eucarioti e procarioti differiscono per numero e struttura dei cromosomi
- Non c'è una relazione fra contenuto di DNA nelle cellule e apparente complessità dell'organismo
- All'interno dei cromosomi eucarioti il DNA è associato a proteine (con cui forma la cromatina) e condensato in una struttura compatta