

CORSO GIORNO 1

DNA

Struttura e funzione degli acidi nucleici

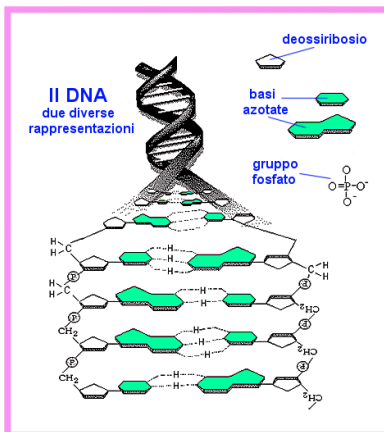
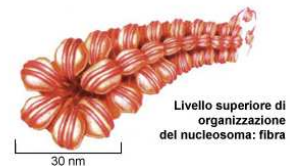
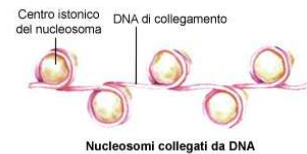
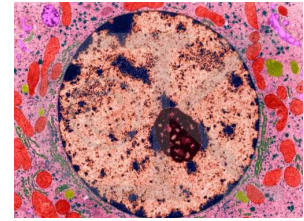
Cominciamo questo breve corso sulle biotecnologie partendo dalle conoscenze basilari che riguardano il DNA, giacché la sua manipolazione è l'essenza stessa delle moderne biotecnologie.

In ogni cellula, anche in quelle non dotate di un vero e proprio nucleo come i batteri, è presente una sostanza nota come "acido desossiribonucleico" o DNA. Nei batteri è poco abbondante, un unico filamento chiuso ad anello, nelle cellule degli animali, delle piante e dei funghi, invece, si presenta in numerosi e lunghi filamenti associati a proteine, la **cromatina**. Il nome deriva dal fatto che l'osservazione

al microscopio mette in evidenza zone di DNA più scure (eterocromatina) e zone più chiare (eucromatina).

Nel legarsi a speciali gruppi di proteine dette **istoni**, il filamento di DNA si compatta e si accorcia, fino a formare quelle strutture ben visibili al microscopio ottico quando la cellula è in divisione, i **cromosomi**.

Anche quando la cellula non è in mitosi vi sono porzioni di DNA condensato (eterocromatina) ma qui la molecola è inattiva mentre porzioni di DNA slegato dagli istoni (eucromatina) sono attive.



Come è fatta una molecola di DNA? Si tratta di una struttura polimerica, cioè una lunga catena di **deossiribonucleotidi**; ciascuno è costituito a sua volta da 3 molecole più semplici: un deossiribosio, monosaccaride a 5 atomi di carbonio con un atomo di idrogeno legato al carbonio C2; un gruppo fosfato e una base azotata, molecola ad anello che può essere di quattro tipi diversi: **adenina A, timina T, guanina G, citosina C**.

Le basi azotate possono essere ad anello doppio, come adenina e guanina, o ad anello singolo come timina e citosina; nel primo caso sono chiamate **purine** e nel secondo caso **pirimidine**.

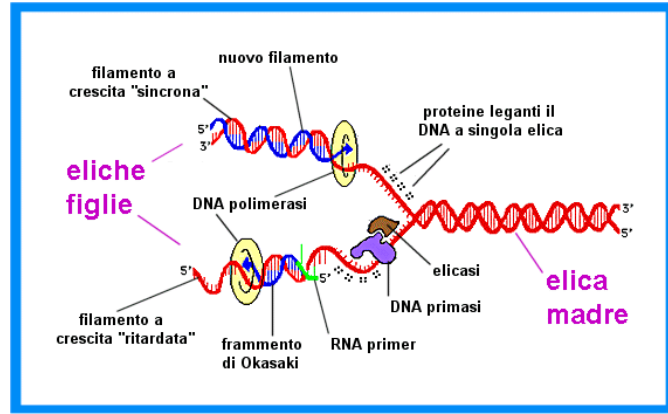
Una base azotata è direttamente legata al monosaccaride, mentre ciascun gruppo fosfato si lega contemporaneamente al C5 di un monosaccaride e al C3 di un altro creando una catena tenuta insieme da forti legami covalenti. Due catene possono fronteggiarsi ed unirsi se si creano deboli legami a idrogeno tra basi azotate che si trovano una di fronte all'altra: gli appaiamenti migliori sono di una purina con una pirimidina: quello tra adenina e timina (**A-T**) con 2 ponti H e quello tra guanina e citosina (**C-G**) con tre ponti H; per questo motivo le coppie sono dette **basi complementari**. Ciò è possibile però solo se il filamento opposto è disposto in senso antiparallelo rispetto al primo. Essi creano una struttura stabile fatta come una scala a pioli che poi si avvolge su se stessa ad alfa-elica.

A cosa serve il DNA

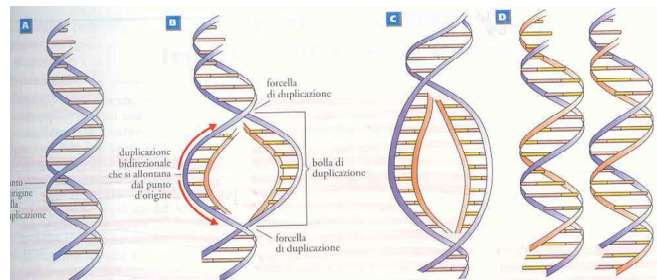
1. La duplicazione

Ogni cellula si riproduce creando una copia esatta di se stessa in un processo noto come mitosi; alle due cellule serve un adeguato patrimonio di citoplasma ed organuli e serve tutto il corredo cromosomico della cellula madre. Per questo, prima di ogni mitosi le cellule provvedono alla **duplicazione** del proprio DNA, un processo lento ma molto preciso, che richiede l'intervento di nucleotidi liberi e di enzimi specializzati.

La duplicazione prende il via in più punti del filamento contemporaneamente, detti **bolle di duplicazione**, dove i legami H tra le basi azotate vengono spezzati da un enzima detto **elicasi**. Si crea una struttura a Y detta **forcella di duplicazione**. Sui filamenti ora separati giunge l'enzima **DNA-polimerasi** che dispone i nucleotidi liberi presenti nel nucleo cellulare nel corretto ordine dettato dalla sequenza di basi azotate esistente sul filamento. L'enzima rispetterà rigorosamente il criterio della **complementarietà delle basi** opponendo A laddove trova T e C laddove trova G.



Il processo di duplicazione procede sempre nella stessa direzione su entrambi i filamenti, ma mentre uno viene copiato in modo continuo e sequenziale, l'altro deve attendere che si apra una porzione sufficiente della doppia elica e verrà quindi copiato "a pezzi"; i frammenti costruiti di volta in volta sono noti come **"frammenti di Okazaki"** e verranno legati insieme da un apposito enzima **DNA-ligasi**. La duplicazione del DNA è **semiconservativa** in quanto ogni filamento nuovo viene costruito e legato ad uno di quelli vecchi.



A cosa serve il DNA

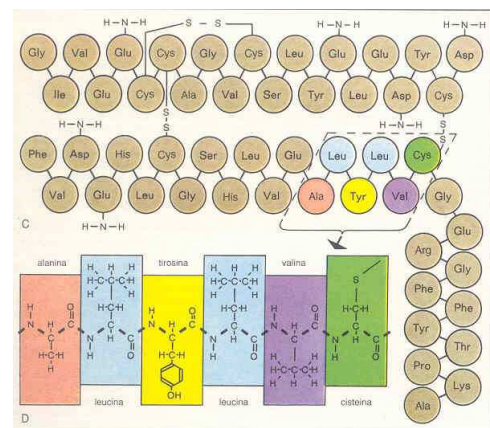
2. La sintesi di proteine

La seconda funzione svolta dal DNA, fondamentale per l'esistenza della cellula, è quella di presiedere alla **sintesi delle proteine**. Tutto ciò che un organismo è, ogni sua caratteristica somatica e metabolica, dipende dalle sue proteine. Cambiare una proteina può fare la differenza tra avere i capelli ricci o lisci, gli

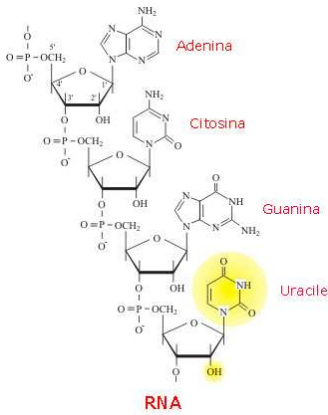
occhi azzurri o marroni, essere sani o avere un'anemia grave. Molte sono le funzioni svolte dalle proteine nella cellula: strutturali, di trasporto, contrattili, enzimatiche, di difesa...

Anch'esse sono costituite da una struttura polimerica: si tratta di **catene di aminoacidi**, molecole organiche esistenti in 20 tipologie diverse. Gli aminoacidi sono costituiti da una parte comune con la quale si legano gli uni agli altri con legame peptidico C-N tra carbonio e azoto, e da una parte variabile detta radicale R che li differenzia l'uno dall'altro.

La semplice catena polipeptidica costituisce la struttura primaria della proteina, la quale poi si avvolge su se stessa in vari modi grazie ad ulteriori legami che si creano tra ossigeni e idrogeni presenti sulla catena (strutture secondarie) e tra gruppi R (strutture terziarie). Spesso una proteina, per assumere la sua struttura biologicamente attiva deve poi unirsi ad altre catene polipeptidiche e ad altri ioni creando la struttura quaternaria.



Affinché proceda alla sintesi delle proteine, che avviene di per sé fuori dal nucleo, la cellula deve però servirsi, oltre che del proprio DNA, anche di un altro acido nucleico, il RNA o acido ribonucleico.

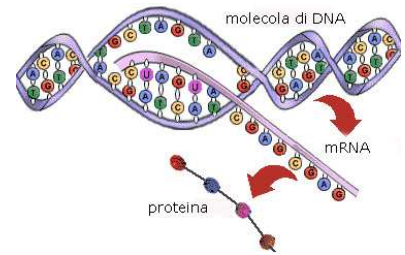


Il **RNA** ha una struttura analoga a quella del DNA, con alcune significative differenze: il monosaccaride è il **ribosio**, sempre a 5 atomi di carbonio ma con un gruppo OH legato al C2, non ha mai la timida ma al suo posto vi è l' **uracile**, con struttura molecolare analoga, che è complementare all'adenina. Si presenta inoltre sempre a **filamento singolo**.

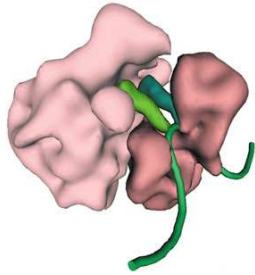
Il RNA è sintetizzato nel nucleo direttamente dallo stampo di DNA che ad esso si riferisce e che codifica in modo complementare la sequenza nucleotidica da cui esso deve essere formato.

Esistono tre tipi diversi di RNA, ciascuno con un preciso compito nel processo di sintesi proteica:

Il RNA messaggero o **m-RNA** è trascritto a partire da un segmento di DNA ad opera dell'enzima RNA-polimerasi che si serve di ribonucleotidi liberi presenti nel nucleo; ogni tre basi azotate presenti sul mRNA costituiscono un **codone**. Una volta trascritto esso esce dal nucleo attraverso i pori della sua membrana e raggiunge il citoplasma dove incontra il secondo tipo di RNA detto



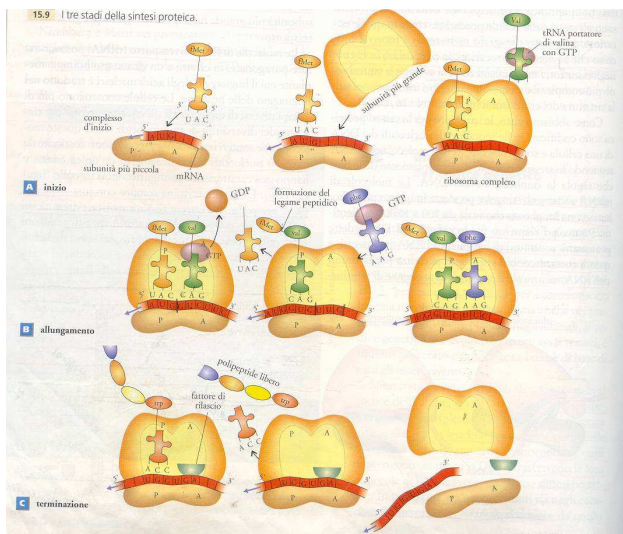
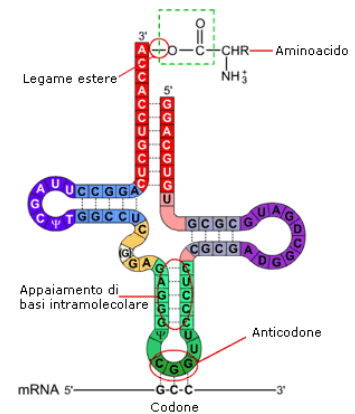
RNA-ribosomiale. Si tratta di due lunghi filamenti singoli associati a molecole proteiche che creano due piccoli gomiti; essi sono le subunità maggiore e minore di un corpuscolo detto **ribosoma**, le quali si aprono e si richiudono accogliendo al proprio interno il filamento di m-RNA.



Il terzo tipo di RNA è detto "di trasporto" ovvero **t-RNA** : ha una forma che ricorda un trifoglio, con occhielli creati da ponti idrogeno che si formano lungo la catena nucleotidica; molto

importanti sono due zone della molecola: l'estremità lineare alla quale sta legato un aminoacido e l'occhiello inferiore che reca una sequenza di tre basi azotate detta anticodone: ad ogni anticodone corrisponde un t-RNA che reca uno specifico aminoacido e solo quello.

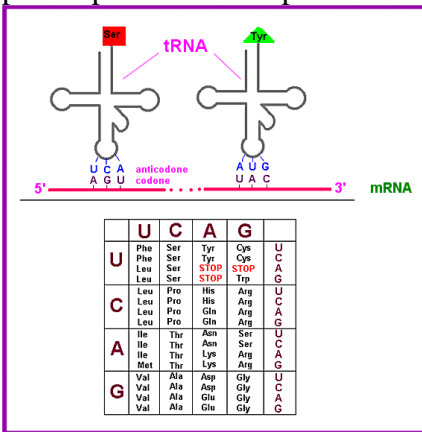
La corrispondenza tra anticodone (uguale alla sequenza nucleotidica presente nel DNA) e aminoacido è la chiave che è nota come codice genetico: il suo significato ci sarà più chiaro se vediamo come si svolge il **processo di sintesi proteica**.



Consideriamo il mRNA che è uscito dal nucleo e si è legato alla subunità minore del ribosoma: un t-RNA con l'anticodone complementare al primo codone del messaggero andrà a legarsi a questo in una zona del ribosoma detta sito P. La subunità maggiore chiuderà a questo punto il ribosoma e renderà disponibile un posto detto sito A, accanto al sito P, per l'arrivo di secondo tRNA. Esso, con l'anticodone complementare al secondo codone del messaggero, si posiziona nel sito P affiancando il proprio aminoacido a quello precedente. Un enzima realizza il legame peptidico cominciando a costruire la futura proteina. Il primo t-RNA si allontana, il messaggero slitta in avanti di una posizione lasciando libero il sito A che viene occupato da un altro t-RNA: un terzo aminoacido si legherà ai

lasciando libero il sito A che viene occupato da un altro t-RNA: un terzo aminoacido si legherà ai

primi due, il secondo t-RNA si allontana e così il processo di allungamento va avanti di codone in codone fino all'ultimo che costituisce il segnale di STOP in quanto nessun t-RNA ha l'anticodone corrispondente. Il complesso ribosoma/messaggero si disintegra e la nuova catena polipeptidica è pronta per essere completata ed utilizzata.



La corrispondenza codone-anticodone – aminoacido è dunque il **codice genetico**: poiché esistono 20 diversi aminoacidi in natura, l'unica corrispondenza valida tra basi azotate e aminoacidi è $4^3=64$; esistono dunque codoni diversi che codificano per lo stesso aminoacido (codice ridondante) ma anche tre codoni di arresto.

Dire che il DNA è il depositario delle informazioni genetiche significa che nella sequenza dei suoi nucleotidi è codificata l'esatta sequenza delle proteine della cellula; una diversa sequenza crea una diversa proteina e tante sequenze diverse corrispondono ad un organismo di una specie diversa. Dunque **biodiversità** è differenza di sequenze nucleotidiche nel DNA.

Possiamo ora chiarire che **cos'è un gene**: è quella sequenza nucleotidica posta lungo un filamento di DNA la quale codifica per una determinata catena polipeptidica.

Si potrebbe pensare che più geni possiede una cellula, più l'organismo di cui fa parte è complesso ed evoluto. Ciò in parte è vero perché lungo la scala evolutiva la quantità di DNA e di geni va crescendo, ma ciò non avviene in maniera proporzionale. Il segreto della complessità di un organismo sta piuttosto nel modo in cui l'informazione genetica e l'espressione che porta ai suoi prodotti viene poi regolata.

Tale complesso argomento esula però dagli obiettivi del nostro corso...

