

Biologia molecolare della cellula

Giacomo Fantoni

Telegram: @GiacomoFantoni

Github: <https://github.com/giacThePhantom/BioMolCellula>

12 marzo 2020

Indice

1	Introduzione	2
1.1	Microscopia	2
1.1.1	Risoluzione	2
1.1.2	Tecniche di microscopia ottica	3
1.2	Storia	3
2	Cellule e genomi	5
2.1	Caratteristiche universali della vita sulla Terra	5
2.1.1	Tutte le cellule conservano la loro informazione ereditaria nello stesso codice chimico lineare (DNA)	5
2.1.2	Tutte le cellule replicano la loro informazione ereditaria mediante polimerizzazione su uno stampo	6
2.1.3	Tutte le cellule trascivono porzioni della loro informazione ereditaria nella stessa forma intermedia (RNA)	6
2.1.4	Tutte le cellule usano proteine come catalizzatori	7
2.1.5	Tutte le cellule traducono RNA nello stesso modo	7
2.1.6	Il frammento di informazione genica che corrisponde ad una proteina è un gene	7
2.1.7	La vita richiede energia libera	8
2.1.8	Tutte le cellule funzionano come fabbriche biochimiche che impiegano le stesse strutture molecolari base	8
2.1.9	Tutte le cellule sono chiuse in una membrana plasmatica attraverso la quale nutrienti e materiali di scarto devono passare	8
2.2	La diversità dei genomi e l'albero della vita	8
2.2.1	Le cellule possono ottenere energia da una varietà di fonti di energia libera	8
2.2.2	Alcune cellule fissano azoto e anidride carbonica per altre	9
2.2.3	La più grande diversità biochimica esiste tra le cellule procariote	9
2.2.4	L'albero della vita possiede tre rami principali: Batteri, Archei ed Eucarioti	9
2.2.5	Alcuni geni evolvono rapidamente, altri sono altamente conservati	9
2.2.6	Nuovi geni sono generati da geni preesistenti	10
2.2.7	La duplicazione genica permette la creazione di famiglie di geni imparentati in una stessa cellula	10
2.2.8	I geni possono essere trasferiti tra organismi	10
2.2.9	Molti geni sono comuni tra tutti i rami primari dell'albero della vita	11
2.2.10	Le mutazioni rivelano la funzione dei geni	11
2.3	Informazione genetica negli eucarioti	11
2.3.1	Le cellule eucariote potrebbero essersi originate come predatori	11

2.3.2	Le moderne cellule eucariote si sono evolute da una simbiosi	11
2.3.3	Gli eucarioti possiedono genomi ibridi	12
2.3.4	I genomi eucarioti sono grandi	12
2.3.5	Il genoma definisce il programma dello sviluppo multicellulare	12
2.3.6	Molti eucarioti vivono come cellule solitarie	12

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Microscopia

I microscopi possono essere divisi in due categorie principali: i microscopi ottici (composti, semplici o a fluorescenza) e i microscopi elettronici. Mentre i primi utilizzano la luce e lenti ingrandenti i secondi utilizzano fasci di elettroni direzionati attraverso campi magnetici. Diverse tecniche di microscopia elettronica includono trascrizione, sezione, freeze fracture e scansione. I microscopi elettronici generano immagini unicamente in bianco e nero e si rende pertanto necessario utilizzare dei falsi colori in un secondo momento, ma hanno come vantaggio una maggiore risoluzione delle immagini. Per un microscopio ottico l'ingrandimento dell'immagine è dato dall'ingrandimento dell'obiettivo moltiplicato per l'ingrandimento degli eye-pieces:

$$M_{microscope} = M_{objective} \cdot M_{eyepieces}$$

1.1.1 Risoluzione

La risoluzione di un immagine è una misura del dettaglio che essa contiene e se attraverso tecniche digitali l'ingrandimento è illimitato la risoluzione no. Si indica con risoluzione la minor distanza tra due punti che possono essere distinti come separati. La risoluzione dipende da parametri dell'utente finale e da parametri fisici.

Parametri fisici

I parametri fisici che determinano la risoluzione sono:

- Il corretto allineamento del sistema ottico del microscopio.
- La lunghezza d'onda della luce (λ): maggiore la lunghezza d'onda minore la risoluzione.
- L'apertura numerica (NA) dell'obiettivo e del condensatore. Questo parametro indica la capacità di un obiettivo di raccogliere luce e risolvere dettagli ad una distanza fissata dall'oggetto. Dipende dall'ingrandimento e dall'indice di rifrazione del medium tra microscopio e oggetto (aria, acqua, olio). Maggiore l'indice di rifrazione maggiore il numero di apertura e maggiore la risoluzione.

1.1.2 Tecniche di microscopia ottica

Microscopia a cambio di fase

Nella microscopia a cambio di fase viene sfruttato lo shift di fase della luce quando attraversa il corpo che si vuole osservare. L'interpretazione dello shift dà origine a diverse possibili considerazioni sull'oggetto.

Microscopia a fluorescenza

La microscopia a fluorescenza sfrutta il fenomeno della fluorescenza: certe molecole, quando colpite da certe lunghezze d'onda, si eccitano. Successivamente quando la molecola ritorna dallo stato eccitato a quello basale emette a sua volta un'onda luminosa di lunghezza d'onda maggiore di quella con cui era stata colpita (legge di Stokes). Per questa tecnica vengono tipicamente utilizzate delle proteine come GFP (green fluorescent protein), YFP, CFP tipicamente estratte da organismi (nel caso della GFP da una medusa) che permettono pertanto la loro codifica nel DNA della cellula. Queste proteine vengono aggiunte ad una proteina in modo da riuscire ad osservarne il comportamento. Si deve prestare attenzione al fatto che per massa o struttura questa aggiunta potrebbe creare una variazione in comportamento della proteina oggetto di studio. I fattori essenziali per la microscopia a fluorescenza sono:

- Eccitazione di alta intensità.
- Filtri di eccitazione e emissione appropriati.
- Autofluorescenza minima nell'oggetto di studio.
- Utilizzo di un olio di immersione non fluorescente.
- Antifade reagents.

Questa tecnica permette pertanto di osservare proteine in cellule vive a differenza dell'antibody staining. Un'importante applicazione è l'immunoistochimica.

FRET La tecnica FRET si utilizza per determinare la prossimità di due diverse proteine: si attaccano ad esse due molecole fluorescenti tali che l'emissione della prima eccita la seconda, che a sua volta emette luce. Se questo accade si è dimostrato che le due proteine sono vicine.

Photobleach Questa tecnica viene utilizzata per mostrare la velocità di movimento di una proteina della cellula: si trova una cellula di controllo e quella oggetto di studio entrambe con la proteina fluorescente. La seconda viene sottoposta ad un raggio ad alta potenza (photoactivation) che distrugge la parte fluorescente della proteina. Si osserva ora la velocità con cui la luminescenza torna nella zona colpita, confrontandola con la cellula di controllo e si crea il grafo di velocità di movimento della proteina.

1.2 Storia

Mendel è considerato il padre della genetica moderna. Fu un monaco benedettino che visse nell'800 che introdusse la quantificazione in biologia. I suoi esperimenti riguardanti piante di piselli hanno osservato che prendendo due linee pure con un fenotipo diverso e incrociandole nella prima generazione si ottenevano piante con un solo fenotipo. Successivamente incrociando tra di loro piante della

prima generazione osservò una ricomparsa dell'altro fenotipo in rapporto di 3 a 1. Mendel associò questa scoperta alla presenza di due alleli, uno dominante e uno recessivo che determinavano il fenotipo. Successivamente determinò anche che due caratteri vengono trasmessi in modo indipendente. Nel 1871 viene scoperto il DNA grazie al lavoro di Miescher che chiama nucleina in quanto si trova nel nucleo della cellula. Il suo lavoro riguardava l'estrazione delle cellule da bende impregnate di pus, ricche pertanto di materiale cellulare. Dall'estrazione della nucleina, ricca di fosforo e acida, notò che la sua concentrazione era lineare con il numero di cellule e le cellule che si dividevano molto ne possedevano di più.

Dal 1909 gli esperimenti di Morgan gli valsero il premio Nobel per le sue scoperte riguardanti il ruolo dei cromosomi nell'ereditarietà. Riconobbe infatti che la sede dell'informazione genetica sono i cromosomi, isolati dalla *Drosophila*, utilizzata a causa dei suoi grandi cromosomi. Riuscì pertanto a confermare che i geni sono depositati nei cromosomi nel nucleo della cellula, che sono organizzati in una lunga riga nei cromosomi, che tratti dipendenti l'uno dall'altro corrispondono a geni che sono in siti vicini sui cromosomi e scoprì il fenomeno del crossover.

Nel 1928 Griffith studiò lo *Streptococcus Pneumoniae*, un patogeno presente in due varianti con diversa patogenicità: Rough (R) e Smooth (S). Se la variante S viene iniettata in un topo questo muore, mentre con R non muore. Dopo aver ucciso il patogeno di tipo S e averlo iniettato in un topo sano, questo non si ammalava, ma unendo a S morto un agente R vivo il topo, iniettato con la combinazione, moriva. Viene pertanto ipotizzato il passaggio orizzontale di materiale genetico.

Nel 1943 Avery conferma che il DNA è la molecola responsabile del trasferimento genetico orizzontale utilizzando lo stesso agente di Griffith riuscì a separare in coltura l'estratto cellulare nelle varie componenti molecolari: proteine, DNA, lipidi e polisaccaridi. Trattando le cavi con queste molecole separatamente scoprì che il responsabile della trasmissione genica orizzontale era il DNA.

Nel 1952 Hershey e Chase marcarono DNA con P^{32} e le proteine con S^{35} dei virus batteriofagi (che replicano il proprio DNA attraverso batteri fino a farli esplodere). Durante l'infezione di questi virus sull'*Escherichia coli*, separati tramite frullazione e con il loro materiale estratto attraverso lisi si nota come la maggior parte conteneva P^{32} , determinando il DNA come la molecola responsabile dell'infezione.

Nel 1953 Watson e Crick riuscirono a determinare la struttura del DNA e a formulare il dogma centrale della biologia molecolare: Il passaggio da DNA a mRNA può avvenire anche in senso contrario



Figura 1.1: Il dogma centrale della biologia molecolare

nel caso dei retrovirus.

Nel 1996 Mello e Fire evidenziarono l'importanza dell'RNA e del microRNA, vincendo il premio Nobel per la scoperta dell'interferenza dell'RNA e la proprietà dell'RNA a doppio filamento di interferire e spegnere l'espressione genica. Il microRNA è un RNA con 20-22 nucleotidi a singolo filamento, scoperto prima nelle piante che lo usano per difendersi dalle infezioni virali. L'RNA a doppio filamento fa in modo che il gene codificante la proteina corrispondente venga silenziato in modo che non esprima la proteina.

Capitolo 2

Cellule e genomi

Tutti gli esseri viventi sono fatti di cellule e queste unità di materia vivente hanno in comune lo stesso macchinario che svolge le stesse funzioni di base. Si nota pertanto il contrappunto tra enorme differenza tra gli individui se osservati all'esterno ma una straordinaria somiglianza nei meccanismi fondamentali.

2.1 Caratteristiche universali della vita sulla Terra

Ciascuna specie presente sulla Terra è diversa e si riproduce fedelmente producendo una progenie che appartiene alla stessa specie. L'organismo genitore passa l'informazione che specifica in modo dettagliato le caratteristiche che la progenie avrà. Questo fenomeno, detto ereditarietà è ciò che distingue la vita da altri processi. L'organismo vivente inoltre consuma energia libera per creare e mantenere la sua organizzazione che spinge un sistema complesso di processi chimici nel modo specificato dall'informazione ereditaria. Sia che l'organismo sia costituito da una singola cellula o da raggruppamenti di cellule specializzate collegati da sistemi complessi di comunicazione è stato generato da divisioni cellulari di una singola cellula. La singola cellula è perciò il veicolo dell'informazione ereditaria che definisce la specie e include il meccanismo necessario alla sua copia.

2.1.1 Tutte le cellule conservano la loro informazione ereditaria nello stesso codice chimico lineare (DNA)

Tutte le cellule viventi sulla Terra conservano le loro informazioni sotto forma di molecole a doppio filamento di DNA, lunghe catene polimeriche accoppiate senza ramificazioni, formate sempre dagli stessi quattro tipi di monomeri, con nomi derivati da un alfabeto a quattro lettere (A, C, G, T). Questi monomeri sono attaccati in una lunga sequenza lineare che codifica l'informazione genica. Essendo il DNA una struttura utilizzata da tutte le cellule viventi il DNA di un essere umano è leggibile, copiabile e interpretabile da una cellula batterica (e viceversa). Utilizzando metodi chimici si può leggere la sequenza completa di monomeri in qualunque molecola di DNA e decifrare così l'informazione ereditaria contenuta in qualsiasi organismo.

2.1.2 Tutte le cellule replicano la loro informazione ereditaria mediante polimerizzazione su uno stampo

I meccanismi che rendono possibile la vita dipendono dalla struttura della molecola di DNA a doppio filamento. Ciascun monomero nel DNA, detto nucleotide, è composto da uno zucchero (deossiribosio) con un gruppo fosfato attaccato e una base che può essere adenina (A), guanina (G), citosina (C) o timina (T). I nucleotidi creano una catena polimerica composta da un'ossatura ripetitiva zucchero-fosfato con una serie di basi che sporgono da un lato. Essendo l'unità zucchero-fosfato asimmetrica la catena ha una polarità che determina l'ordine di lettura. Il polimero di DNA viene esteso aggiungendo monomeri ad una estremità. Essendo la base uguale per tutti in teoria qualsiasi base può essere aggiunta in qualsiasi momento. Essendo che nella cellula vivente il DNA viene sintetizzato su uno stampo formato da un filamento preesistente di DNA le basi che sporgono dal filamento esistente si legano a basi del filamento che viene sintetizzato, secondo una regola rigida definita da strutture complementari delle basi: A si lega a T e C a G. Questi accoppiamenti di basi mantengono i nuovi monomeri in posizione e controllano la scelta del nuovo monomero da aggiungere. In questo modo si crea una struttura a doppio filamento composta da due catene complementari di nucleotidi e un'ossatura con polarità inversa. I nucleotidi di ciascun filamento si uniscono tra di loro attraverso legami covalenti, mentre con i corrispettivi nell'altro con legami ad idrogeno. I due filamenti si avvolgono l'uno sull'altro formando la struttura a doppia elica. Essendo i legami tra le basi deboli i due filamenti possono separarsi in modo da fornire lo stampo per una nuova replicazione. Questo processo di replicazione del DNA avviene con ritmi, controlli e molecole ausiliarie diverse, ma le basi sono universali: il DNA è il depositario dell'informazione e la polimerizzazione a stampo è il modo con cui l'informazione viene copiata e propagata.

2.1.3 Tutte le cellule trascrivono porzioni della loro informazione ereditaria nella stessa forma intermedia (RNA)

Si rende necessario esprimere le informazioni del DNA in modo da guidare la sintesi di altre molecole nella cellula. Anche questo processo è universale e produce principalmente RNA e proteine. Il processo inizia con una polimerizzazione su stampo detta trascrizione, in cui segmenti del DNA sono usati come stampo per la sintesi di molecole più corte di acido-ribonucleico o RNA. In seguito durante la traduzione queste molecole dirigono la sintesi di proteine. Nell'RNA l'ossatura è formata da ribosio e la timina viene sostituita dall'uracile (U). Durante la trascrizione i monomeri dell'RNA sono allineati e scelti per la polimerizzazione su un filamento stampo di DNA. Il risultato è un polimero che rappresenta una parte dell'informazione genetica della cellula. Lo stesso segmento di DNA può essere utilizzato per la sintesi di molti trascritti identici di RNA. Si noti pertanto come se il DNA rimane unico e stabile per la cellula l'RNA è monouso e prodotto in massa. Questi trascritti sono intermedi nel trasferimento dell'informazione genetica: servono soprattutto da RNA messaggero (mRNA) che guida la sintesi di proteine secondo le istruzioni conservate nel DNA. Le molecole di RNA possiedono anche strutture caratteristiche che possono conferire capacità chimiche specializzate. Essendo a filamento singolo possono ripiegarsi all'indietro su se stesse per formare legami deboli tra le basi, situazione che avviene quando segmenti della sequenza sono localmente complementari. La forma viene pertanto dettata dalla sequenza e può permettere alla molecola di essere scelta selettivamente e di catalizzare modificazioni chimiche cruciali per alcuni dei processi più antichi e fondamentali della cellula.

2.1.4 Tutte le cellule usano proteine come catalizzatori

Anche le proteine sono lunghe catene polimeriche non ramificate formate dall'unione in serie di monomeri comuni a tutti gli esseri viventi. Portano un'informazione sotto forma di una sequenza lineare di simboli. Dopo l'acqua sono l'elemento più presente nella cellula. I monomeri sono detti amminoacidi e ne esistono 20, sono tutti formati dalla stessa struttura centrale standard che permette la formazione di catene a cui è attaccato un gruppo laterale che determina il carattere chimico specifico. Ciascuna molecola proteica o polipeptide si ripiega in una forma tridimensionale precisa con siti reattivi sulla sua superficie. Questi polimeri di amminoacidi si legano con alta specificità ad altre molecole e agiscono da enzimi che catalizzano reazioni in cui vengono rotti o creati legami covalenti e dirigono pertanto la maggioranza dei processi chimici. Hanno anche funzione strutturale, motile, di rilevazione segnali, che viene determinata in base alla sequenza di amminoacidi creata dalla sequenza genica. Il circuito a feedback di catalizzazione del processo di duplicazione del DNA da parte delle proteine, che viene poi utilizzato per produrre proteine e RNA è alla base del comportamento autocatalitico e capace di autoriprodursi degli organismi viventi.

2.1.5 Tutte le cellule traducono RNA nello stesso modo

La traduzione dell'informazione genica è un processo complesso. L'informazione contenuta in un mRNA è letta in gruppo di tre nucleotidi alla volta: ciascuna tripletta di nucleotidi (codone) codifica un singolo amminoacido. Questa codifica porta a ridondanza in quanto ci sono 64 codoni ma 20 amminoacidi. Il codice è letto dal tRNA (RNA transfer). Ogni tipo di tRNA possiede ad un'estremità un amminoacido specifico e all'altra estremità una sequenza di tre nucleotidi (anticodone) che gli permette tramite l'accoppiamento di basi di riconoscere un gruppo di codoni nell'mRNA. Per la sintesi proteica una successione di molecole di tRNA cariche degli amminoacidi deve legarsi all'mRNA e gli amminoacidi devono essere uniti per espandere la catena proteica e i tRNA liberati dal loro carico devono essere rilasciati. Questo insieme di processi viene eseguito dal ribosoma formato da due catene principali di RNA detto rRNA (RNA ribosomiale) e da un gran numero di proteine diverse. Questa struttura si attacca ad un'estremità dell'mRNA e si sposta lungo di essa catturando molecole di tRNA cariche e mettendo insieme gli amminoacidi in modo da formare una nuova catena proteica.

2.1.6 Il frammento di informazione genica che corrisponde ad una proteina è un gene

Le molecole di DNA contengono le specifiche per migliaia di proteine. Sequenze speciali nel DNA servono come punteggiatura, indicando dove l'informazione di ciascuna proteina inizia e finisce. Ogni segmento del DNA è trascritto in una molecola di mRNA, codifica di diverse proteine. Tali segmenti sono i geni. Le molecole di RNA trascritte possono essere processate in modi diversi in modo da generare un insieme di versioni alternative di una proteina. Oltre a questo alcune parti sono trascritte in RNA con funzioni catalitiche, strutturali o regolatorie. Un gene viene pertanto definito come il segmento della sequenza di DNA corrispondente a una singola proteina o un insieme di proteine varianti o a una singola molecola di RNA catalitica, strutturale o regolatoria. L'espressione dei geni è regolata in base alla necessità della proteina o RNA che producono. Questo avviene grazie a lunghezze di DNA regolatorio che intramezzano la sequenza che legano delle proteine che controllano il tasso della trascrizione. In questo modo il genoma della cellula determina la natura delle proteine e quando devono essere prodotte.

2.1.7 La vita richiede energia libera

Una cellula vivente è un sistema chimico dinamico che opera lontano dall'equilibrio chimico. Affinchè una cellula cresca deve prendere dall'ambiente energia e materiali per far avvenire le reazioni. Questo consumo di energia è ciò che tiene la cellula in vita. L'energia è anche fondamentale per la propagazione dell'informazione genetica. Il processo che guida la formazione dei legami che determinano le molecole all'interno della cellula richiede energia per formare legami abbastanza forti da resistere a pressioni esterne.

2.1.8 Tutte le cellule funzionano come fabbriche biochimiche che impiegano le stesse strutture molecolari base

Siccome tutte le cellule creano DNA, RNA e proteine, devono contenere e manipolare una collezione simile di zuccheri semplici, nucleotidi e amminoacidi e altre sostanze come l'ATP (adenina trifosfato) per la sintesi di DNA e RNA e come trasportatore di energia libera.

2.1.9 Tutte le cellule sono chiuse in una membrana plasmatica attraverso la quale nutrienti e materiali di scarto devono passare

Un'altra caratteristica universale è che ogni cellula è rinchiusa da una membrana citoplasmatica che agisce da barriera selettiva e permette alla cellula di concentrare i nutrienti e di conservare i prodotti delle sintesi, escretendo i materiali di scarto. Le molecole che formano la membrana sono anfipatiche, ovvero formate da una parte idrofobica e una idrofila. Queste molecole poste in acqua si aggregano spontaneamente in modo da avvicinare tra di loro (e allontanare dall'acqua) la parte idrofobica. Tali tipi di molecole, come i fosfolipidi si aggregano in acqua per formare vescicoli a bistrato. Tipicamente la coda idrofobica è costituita da polimeri di idrocarburi e dimostra perfettamente la tendenza della cellula di formare molecole le cui proprietà chimiche causano un auto-assemblamento nella struttura necessaria alla cellula. Naturalmente il confine della cellula deve poter permettere il passaggio di alcuni elementi e sono pertanto presenti proteine di trasporto di membrana il cui compito di trasportare le molecole che entrano ed escono dalla cellula.

2.2 La diversità dei genomi e l'albero della vita

Il successo degli organismi viventi li ha portati ad occupare qualsiasi luogo sulla Terra. La maggior parte di questi organismi rimane però microscopica e invisibile all'occhio nudo.

2.2.1 Le cellule possono ottenere energia da una varietà di fonti di energia libera

Alcuni organismi come animali, funghi e molti batteri ottengono energia cibandosi di altri organismi viventi o dei prodotti chimici organici che producono, chiamati organotrofi. Altri la ottengono dal mondo non vivente e si dividono in due categorie: quelli che raccolgono l'energia dalla luce solare (fototrofi) e quelli che la ottengono da sistemi inorganici ricchi di essa (litotrofi). Gli organismi organotrofi non potrebbero esistere senza questi due. Gli organismi fototrofi includono batteri, alghe e piante, i litotrofi sono microscopici e vivono in condizioni impossibili per l'uomo. Alcuni litotrofi ottengono energia da reazioni aerobiche, altri da reazioni anaerobiche.

2.2.2 Alcune cellule fissano azoto e anidride carbonica per altre

La maggior parte della materia che compone le proteine è composta di idrogeno, carbonio, azoto, ossigeno, zolfo e fosforo, molto presenti in ambienti non viventi, ma non in una forma chimica facilmente incorporata in molecole biologiche. Una gran quantità di energia è necessaria per guidare le reazioni che usano le molecole inorganiche di N_2 e CO_2 per fissare N e C e renderli disponibili agli organismi. Pertanto classi di cellule sono specializzate per fare questo lavoro. Si nota pertanto come le cellule viventi possano variare infinitamente in aspetti della loro biochimica.

2.2.3 La più grande diversità biochimica esiste tra le cellule procariote

Gli organismi viventi, in base alla loro struttura cellulare possono essere divisi in eucarioti e procarioti. Gli eucarioti mantengono il proprio DNA all'interno di una membrana intracellulare chiamata il nucleo, mentre i procarioti non possiedono questo compartimento. La maggior parte delle cellule procariote sono piccole e vivono principalmente come individui indipendenti o in comunità vagamente organizzate. Possiedono tipicamente un rivestimento protettivo spesso detto parete cellulare sotto il quale si trova una membrana plasmatica che contiene un singolo compartimento citoplasmatico che contiene tutte le molecole necessarie per la vita. Vivono in una varietà di nicchie ecologiche e sono molto vari nelle loro capacità biochimiche.

2.2.4 L'albero della vita possiede tre rami principali: Batteri, Archei ed Eucarioti

La classificazione delle cose viventi dipende da somiglianze comuni, che, come mostrato da Darwin, suggerisce un antenato comune relativamente recente. I procarioti sono classificati in termini della loro biochimica e necessità nutrizionali. L'analisi genomica fornisce un modo più semplice e diretto di determinazione di relazioni evolutive. La sequenza di DNA di un organismo definisce la sua natura in maniera esaustiva e permette una facile comparazione con le informazioni corrispondenti in altre forme viventi e pertanto una determinazione immediata della loro distanza evolutiva. Questo ha permesso la distinzione dei procarioti in batteri e archei e come la prima cellula eucariota si sia generata da una cellula archea penetrata in un batterio antico.

2.2.5 Alcuni geni evolvono rapidamente, altri sono altamente conservati

Sia durante la conservazione che la copiatura dell'informazione genetica ci possono essere degli errori che alterano la sequenza nucleotidica creando delle mutazioni. Pertanto quando una cellula si divide le sue figlie sono spesso non del tutto uguali tra di loro. Questa mutazione può essere del tutto ininfluenza, migliorare la cellula o causare seri problemi. Questi cambiamenti possono essere mantenuti grazie alla selezione naturale ed è immediato notare come il terzo tipo di mutazione raramente verrà propagato. Alcune parti del genoma possono cambiare più facilmente: un segmento di DNA che non codifica proteine e non ha significativi ruoli regolatori può cambiare ad un tasso limitato unicamente dalla frequenza degli errori casuali, mentre un gene che codifica una proteina essenziale o una molecola di RNA genera quasi sempre una cellula che viene eliminata. Geni di quest ultimo tipo sono detti altamente conservati. Questi sono i geni da osservare se si vogliono determinare le relazioni tra gli organismi più lontani. La classificazione nei tre domini si basa sull'analisi delle componenti di rRNA dei ribosomi.

2.2.6 Nuovi geni sono generati da geni preesistenti

Il materiale dell'evoluzione sono sequenze di DNA preesistenti e l'innovazione può accadere in molti modi:

- Mutazione intragenica: un gene casuale può essere modificato da cambiamenti nella sua sequenza di DNA attraverso errori che accadono principalmente nel processo della replicazione del DNA.
- Duplicazione genica: un gene esistente può essere accidentalmente duplicato in modo da creare un paio di geni identici all'interno della cellula che possono successivamente divergere.
- Mescolamento dei segmenti di DNA: due o più geni esistenti possono rompersi e raggrupparsi creando un gene ibrido consistente di un segmento che prima apparteneva a geni diversi.
- Trasferimento intracellulare orizzontale: un segmento di DNA può essere trasferito dal genoma di una cellula ad un'altra.

Ognuno di questi cambi lascia delle tracce caratteristiche ed è chiaro come siano avvenuti tutti.

2.2.7 La duplicazione genica permette la creazione di famiglie di geni imparentati in una stessa cellula

Una cellula duplica il suo intero genoma ogni volta che si divide, ma può accadere che la duplicazione abbia degli errori con una conservazione di segmenti originali e duplicati in una singola cellula. Una volta che un gene viene così duplicato, una delle coppie è libera di mutare e specializzarsi in una funzione diversa. Diverse iterazioni danno origine a famiglie di geni che possono essere trovati nello stesso genoma. Attraverso questo processo gli individui di una specie possiedono diverse varianti di un gene primordiale. Si chiamano ortologi quei geni che si trovano in due specie diverse e derivano dallo stesso gene ancestrale nell'ultimo antenato comune, mentre si chiamano paraloghi quei geni che sono risultati da una duplicazione genica in un singolo genoma e probabilmente hanno ora funzioni differenti. Entrambi si classificano come geni omologi.

2.2.8 I geni possono essere trasferiti tra organismi

I procarioti forniscono un buon esempio di trasferimento orizzontale dei geni da una specie di cellule all'altra. I segni più ovvi derivano da sequenze virali (dei batteriofagi). I virus sono piccoli pacchetti di materiale genetico evoluti come parassiti sui processi biochimici e riproduttivi della cellula. Non sono organismi viventi ma servono come vettori per il trasferimento di geni. Un virus si replica in una cellula, emerge da essa con un involucro protettivo e penetra, infettandola, un'altra cellula, che può essere anche di un'altra specie. Spesso la cellula infettata può morire, ma alcune volte il DNA virale potrebbe persistere nell'host per molte generazioni come un passeggero innocuo come plasmide o come sequenza inserita nel genoma regolare. Nei viaggi i virus possono recuperare frammenti di DNA dal genoma della cellula host e trasportarli in un'altra. Questi scambi sono comuni in procarioti ma rari in eucarioti di specie diverse. Molti procarioti possono recuperare anche DNA non virale dall'ambiente. Attraverso questi metodi batteri e archei possono acquisire geni da cellule vicine facilmente. Gli scambi orizzontali hanno un analogo tra gli eucarioti nell'attività sessuale.

2.2.9 Molti geni sono comuni tra tutti i rami primari dell'albero della vita

La sequenza di un gene permette di capire la sua funzione, confrontandola con un database preesistente. Data la sequenza genomica di organismi rappresentativi per archei, batteri e eucarioti e considerando gli scambi orizzontali si nota come i geni in comune sono principalmente quelli del sistema di traduzione, trascrizione e trasporto di amminoacidi.

2.2.10 Le mutazioni rivelano la funzione dei geni

L'analisi dei geni dipende da due approcci complementari: genetica e biochimica. La prima comincia con uno studio dei mutanti: si trova un organismo in cui il gene è alterato e si esaminano gli effetti sulla struttura e prestazioni. La biochimica analizza invece la funzione delle molecole. Combinando le due è possibile trovare quelle molecole la cui produzione dipende da un dato gene determinando allo stesso tempo il ruolo delle molecole nelle operazioni dell'organismo. La biologia molecolare ha permesso un rapido progresso in quanto si possono testare le contribuzioni dei geni all'attività del loro prodotto costruendo geni artificiali che combinano parte di un gene e parte di un altro. Gli organismi possono essere ingegnerizzati per produrre l'RNA o la proteina specificata dal gene in grandi quantità.

2.3 Informazione genetica negli eucarioti

Le cellule eucariote sono più grandi ed elaborate rispetto alle cellule procariote, come i loro genomi. La dimensione maggiore è accoppiata con radicali differenze strutturali e funzionali. Inoltre le cellule eucariote formano organismi multicellulari che arrivano a livelli di complessità maggiori.

2.3.1 Le cellule eucariote potrebbero essersi originate come predatori

Per definizione le cellule eucariote mantengono il proprio DNA nel nucleo. L'involucro nucleare, un doppio strato di membrana circonda il nucleo e separa il DNA dal citoplasma. Sono circa 1000 volte più voluminose rispetto ai procarioti e possiedono un citoscheletro elaborato, un sistema di filamenti proteici nel citoplasma che forma, insieme ad altre proteine un sistema strutturale e motile. Esiste una serie di membrane simile alla membrana citoplasmatica che racchiudono diversi spazi nella cellula, molti dei quali riguardano digestione e secrezione. Non hanno una parete cellulare gli organismi procarioti unicellulari sono chiamati protozoi e possono cambiare la loro forma e intrappolare altre cellule e piccoli oggetti attraverso fagocitosi. Una delle ipotesi sull'origine delle cellule eucariote riguarda una cellula primordiale predatrice. I movimenti rapidi erano necessari alla caccia e il nucleo necessario alla protezione del genoma rispetto ai movimenti del citoscheletro.

2.3.2 Le moderne cellule eucariote si sono evolute da una simbiosi

Tutte le cellule eucariote contengono i mitocondri, piccoli corpi nel citoplasma incapsulati in un doppio strato di membrana che consumano ossigeno e intrappolano energia dall'ossidazione di molecole nutritive come gli zuccheri per produrre la maggior parte dell'ATP. Sono simili in dimensioni ai piccoli batteri e possiedono il proprio genoma nella forma di una molecola di DNA circolare, i propri ribosomi e il proprio rRNA. È generalmente accettato che si sono originati da una forma di batterio aerobico fagocitato da una cellula ancestrale anaerobica. Sfuggendo alla digestione questi batteri si sono evoluti in simbiosi con la cellula fagocitante e la sua progenie, ricevendo protezione

e nutrimento in cambio di energia. Recenti analisi genomiche suggeriscono che la prima cellula eucariota si sia formata rispetto a una cellula archea fagocitata da un batterio aerobico. La maggior parte delle cellule eucariote di piante e alge contengono anche un'altra classe di membrane chiamate i cloroplasti che svolgono la fotosintesi che come i mitocondri possiedono il proprio genoma. Si sono quasi certamente generati come batteri simbiotici fotosintetici, acquisiti da cellule eucariote che avevano già i mitocondri. Una cellula eucariota equipaggiata con i cloroplasti non necessita di predare in quanto riceve nutrimento dalla fotosintesi e pertanto hanno perso la capacità di muoversi, scambiandola con la formazione di una parete cellulare protettiva. I funghi, come le cellule animali possiedono mitocondri ma non cloroplasti e una spessa parete esterna che limita la loro abilità di muoversi rapidamente o di fagocitare altre cellule. Si sono evoluti in spazzini, nutrendosi degli scarti di altre cellule o delle cellule stesse morte.

2.3.3 Gli eucarioti possiedono genomi ibridi

L'informazione genetica degli eucarioti ha un'origine ibrida: dall'ancestrale cellula archea anaerobica e dal batterio che vi si è adattato come simbiote. La maggior parte dell'informazione è conservata nel nucleo, ma una piccola quantità rimane all'interno del mitocondrio e nei cloroplasti. Quando il DNA di mitocondri e cloroplasti è separato dal DNA nucleare e analizzato e sequenziato si nota come siano versioni degeneri e ridotte dei corrispondenti genomi batterici. La ragione di questo è che molti geni si sono spostati da essi al DNA del nucleo che mostra pertanto chiare prove dell'origine batterica.

2.3.4 I genomi eucarioti sono grandi

La selezione naturale ha favorito mitocondri con piccoli genomi, mentre il genoma nucleare sembra essersi ingrandito, probabilmente la dimensione maggiore era un vantaggio nella vita predatoria. Grazie all'accumulazione di segmenti di DNA derivati dagli elementi trasportabili parassitici il genoma della maggior parte degli eucarioti è molti ordini di grandezza maggiore rispetto ai batteri e agli archei. Questa maggiore disponibilità porta ad avere più geni e maggior parti di DNA non codificante (98% per gli esseri umani). Molto del DNA non codificante è quasi certamente inutile, ma una parte svolge l'attività di regolare l'espressione dei geni adiacenti, cruciale per la formazione di sistemi multicellulari complessi.

2.3.5 Il genoma definisce il programma dello sviluppo multicellulare

Le cellule in piante e animali sono estremamente varie, ma comunque derivano tutte dalla stessa cellula e contengono per la maggior parte copie identiche dello stesso genoma. Le differenze risultano dal modo in cui le cellule fanno uso selettivo delle proprie istruzioni geniche secondo gli indizi che ricevono dall'ambiente sviluppante. La cellula si comporta come una macchina multifunzione con sensori e abilità di esprimere diversi insiemi di geni secondo la sequenza di segnali che riceve. Il genoma in ogni cellula è grande abbastanza da accomodare le informazioni per l'intero sistema multicellulare, di cui viene usata un'unica parte. Un numero di geni codifica proteine che regolano l'attività di altri geni detti regolatori di trascrizione e si legano, direttamente o indirettamente al DNA regolatorio adiacenti ai geni da controllare. Le cellule sono inoltre in grado di inviare segnali con i propri vicini, pertanto lo stesso sistema di controllo governa ogni cellula, con diverse conseguenze in base ai messaggi scambiati. Il risultato è un preciso insieme di cellule in stati diversi.

2.3.6 Molti eucarioti vivono come cellule solitarie