

# Flusso dell'informazione e regolazione dell'espressione genica

# Il dogma centrale della Biologia

## Duplicazione

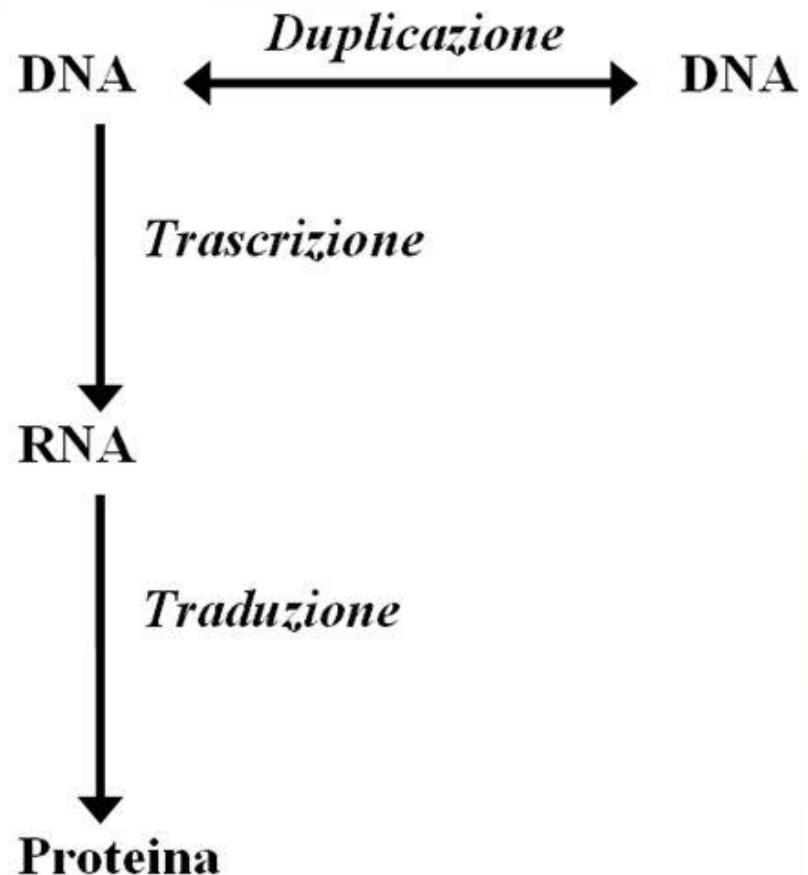
Porta alla formazione di nuove molecole di DNA e al trasferimento di materiale genetico.

## Trascrizione

L'informazione contenuta nel DNA passa alle molecole di RNA.

## Traduzione

Processo finale in cui dall'RNA si arriva alla sintesi delle proteine.

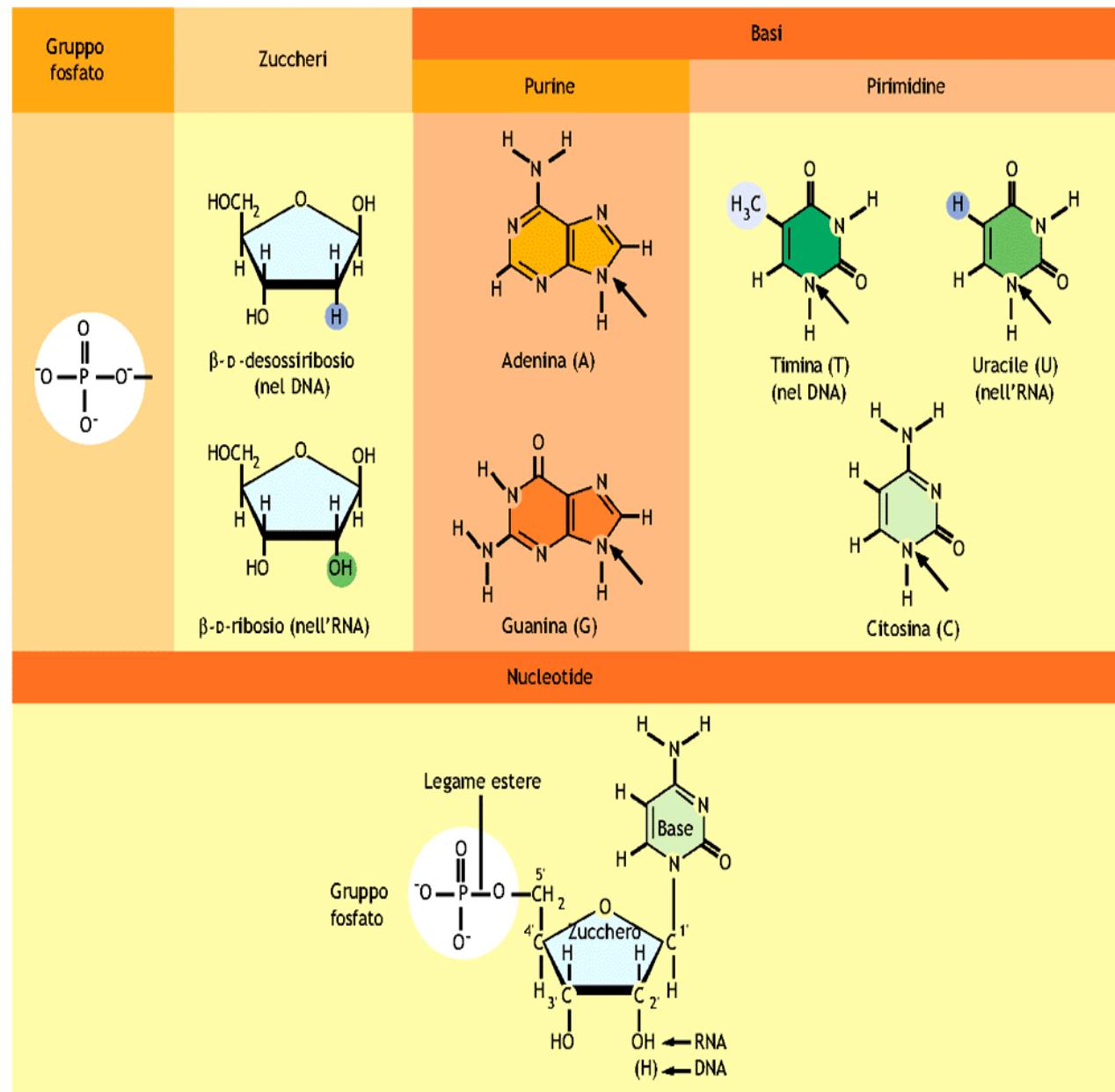
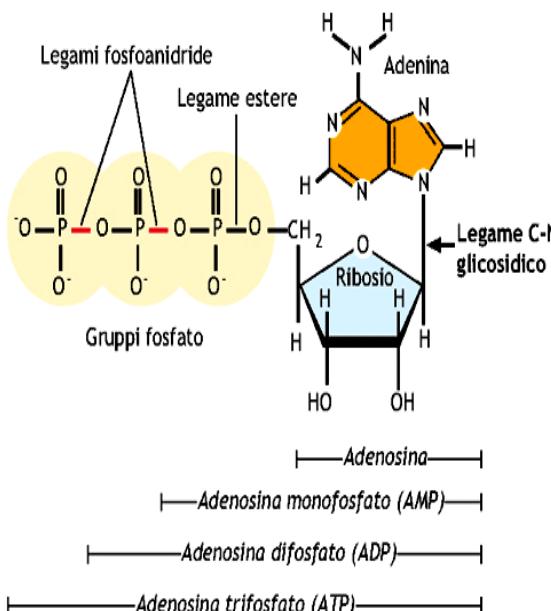


# Repli**c**azione (duplicazione) del DNA



## DNA - RNA

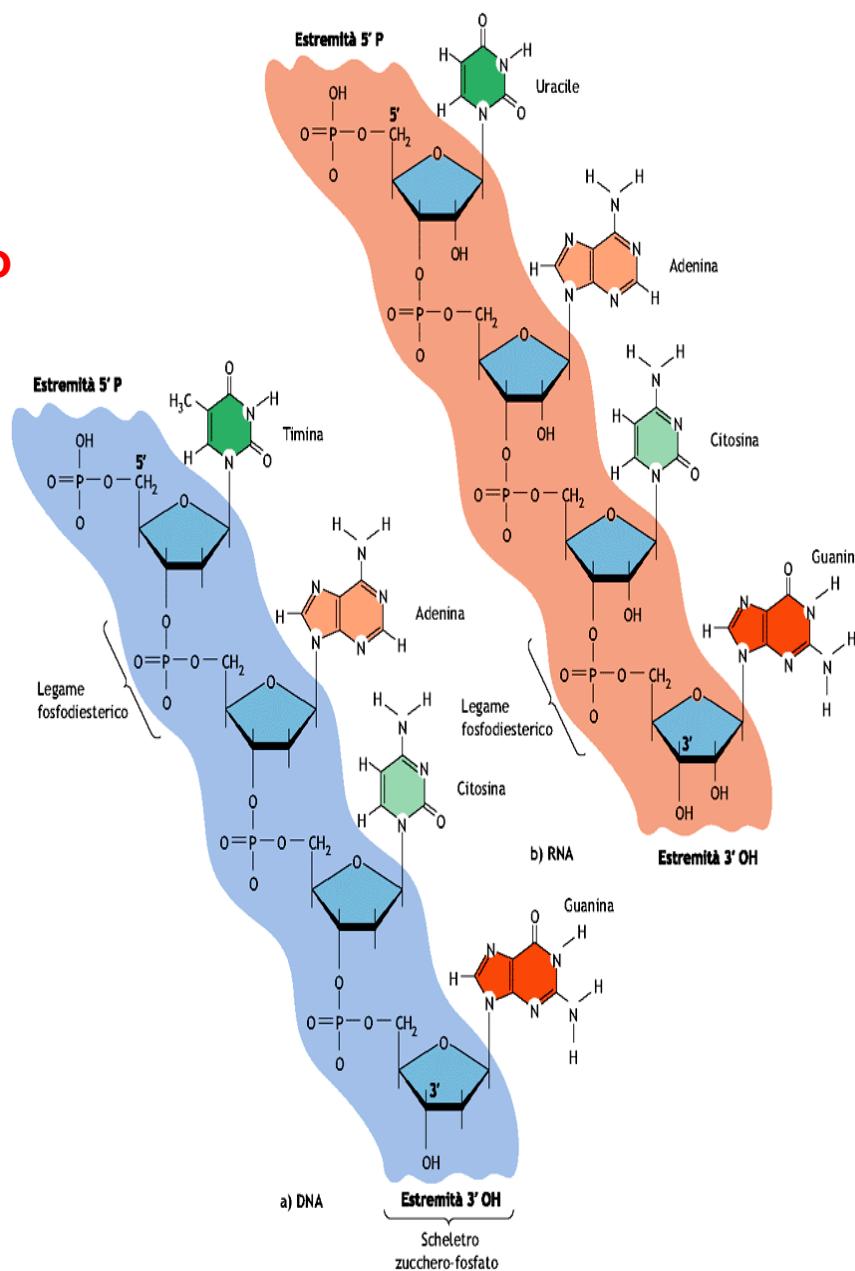
polimeri di nucleotidi che sono costituiti da basi puriniche e pirimidiniche legate a zuccheri fosforilati.



**Figura 1.48 Elementi che costituiscono un nucleotide:** gruppo fosfato; zucchero a 5 atomi di carbonio: D-ribosio (nell'RNA) o D-desossiribosio (nel DNA); basi azotate (le frecce indicano gli atomi di azoto impegnati nel legame con lo zucchero).



## Legame fosfodiesterico tra le basi

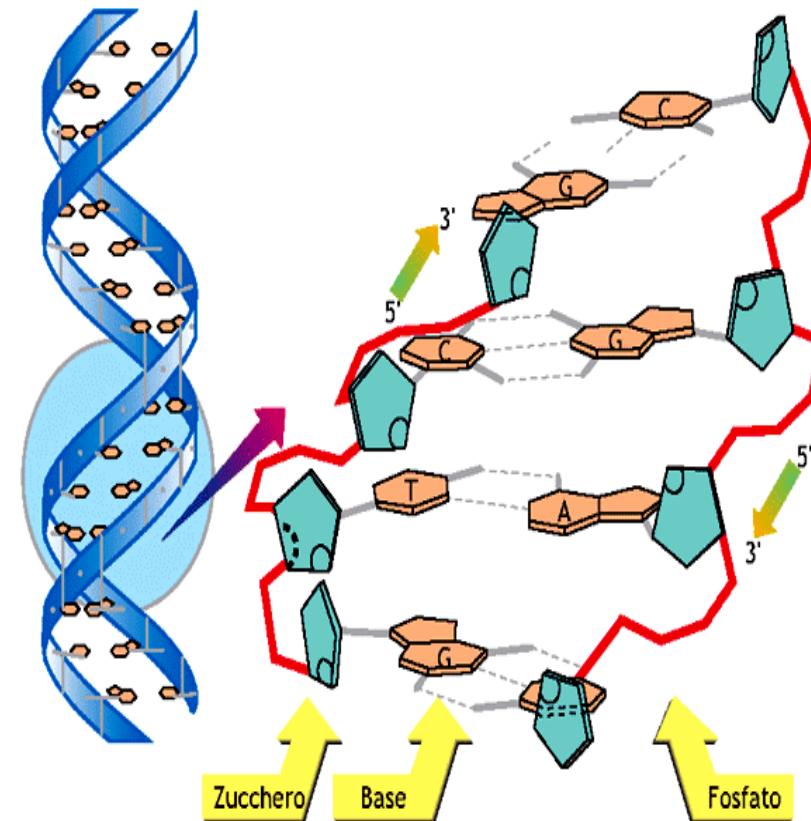


**Figura 1.50 Costruzione di una singola elica.** Gli acidi nucleici sono costituiti da catene lineari di nucleotidi uniti fra loro grazie ad un ponte fosfodiesterico che si instaura tra l'estremità 3'OH del primo nucleotide e l'estremità 5'P del secondo. Un polinucleotide così costituito ha, per convenzione, 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.



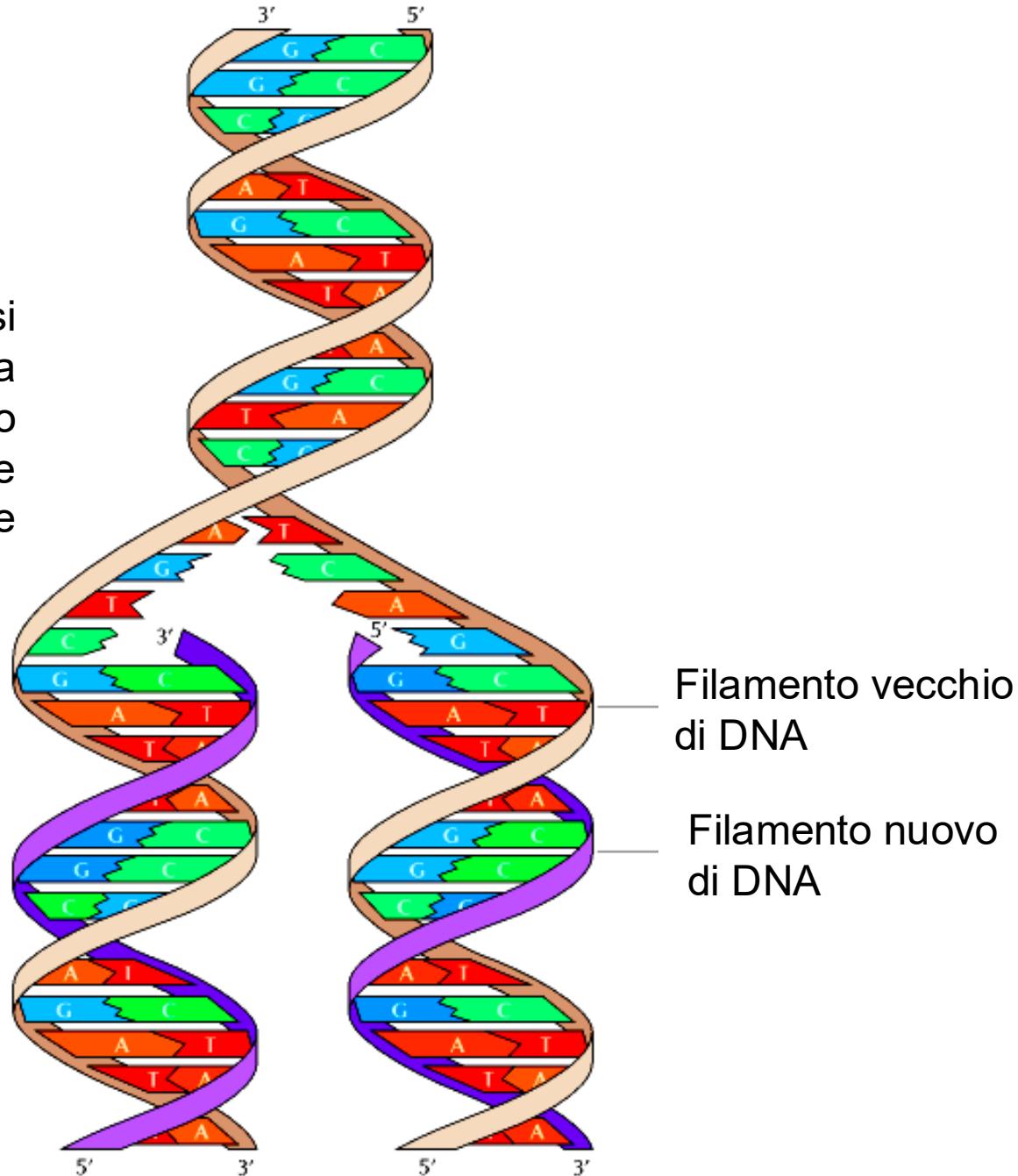
# Antiparallelismo dei filamenti del DNA

■ **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).



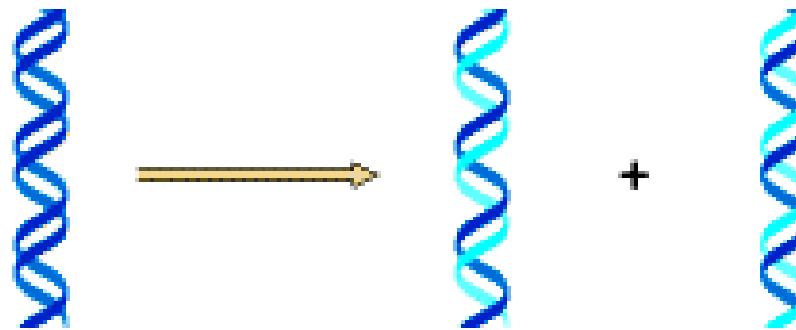
## Replicazione semiconservativa del DNA

I due filamenti di DNA parentale si separano e ciascuno serve da stampo per la sintesi di un nuovo filamento figlio che avviene mediante accoppiamento delle basi.

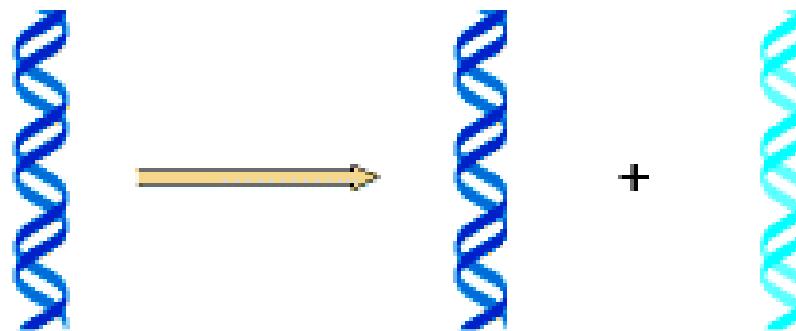


## Modelli di replicazione del DNA

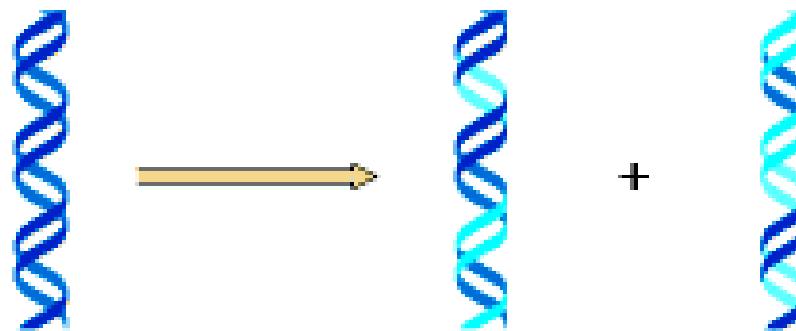
Semiconservativo



Conservativo



Dispersivo

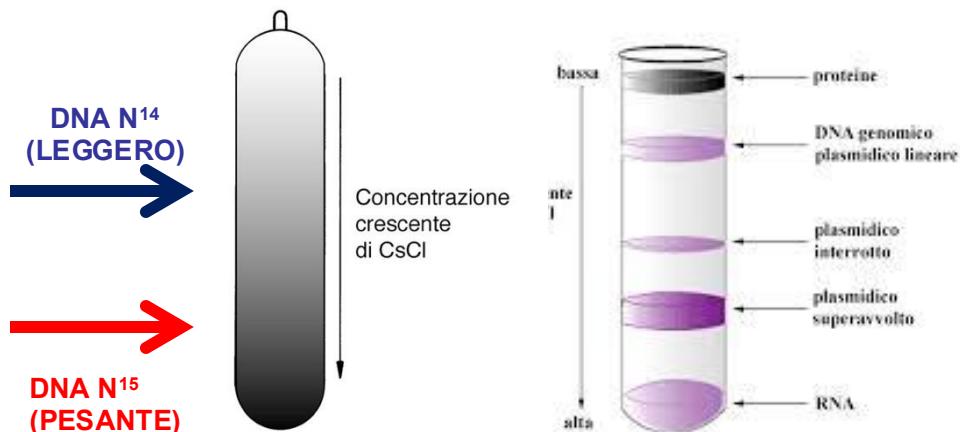


- L'azoto-15 ( $N^{15}$ ) viene usato per tracciare l'azoto nei processi biologici e chimici, come nell'esperimento di **Meselson e Stahl** per dimostrare la **replicazione semiconservativa del DNA**.
- L'azoto-14 ( $N^{14}$ ), con 7 protoni e 7 neutroni, per un totale di 14 particelle nel nucleo (numero di massa), è **l'isotopo più comune**
- L'azoto-15 ( $N^{15}$ ) è un **isotopo stabile dell'azoto**, con 7 protoni e 8 neutroni. È più pesante del più comune isotopo  $N^{14}$ .

## Centrifugazione gradiente di densità

- Mezzi comunemente usati:
  - Saccarosio (**analisi dei ribosomi**);
  - Cloruro di cesio 6 M (**analisi del DNA**).
- Gradiente di densità corrisponde al gradiente di concentrazione di saccarosio o cloruro di cesio.
- Si prepara il gradiente prima (saccarosio- concentrazione dipende dalla densità di ciò che si vuole separare ) oppure si forma durante la centrifugazione (cloruro di cesio).
- Ultracentrifugazione: fino a 1.000.000 g / 3- 24 ore
- Dopo la centrifugazione le molecole/virus/organelli non si troveranno sul fondo della provetta ma si posizioneranno nel gradiente in base alla loro densità (densità= massa / volume) (molecole con densità minore si posizioneranno nella zona del gradiente a concentrazione più bassa- più in alto nella provetta).

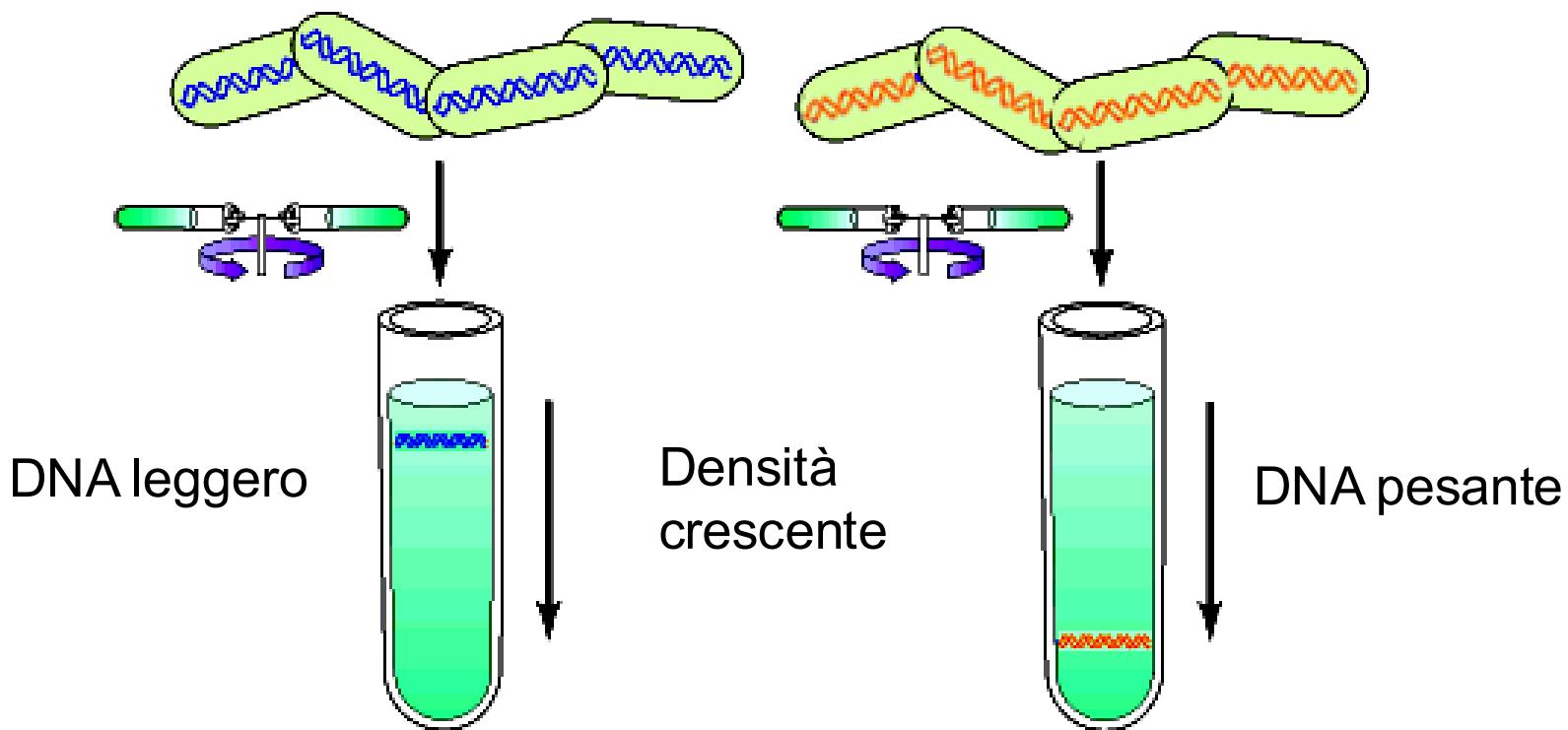
# Gradiente di cloruro di cesio (usato nell'esperimento di Meselson e Stahl)



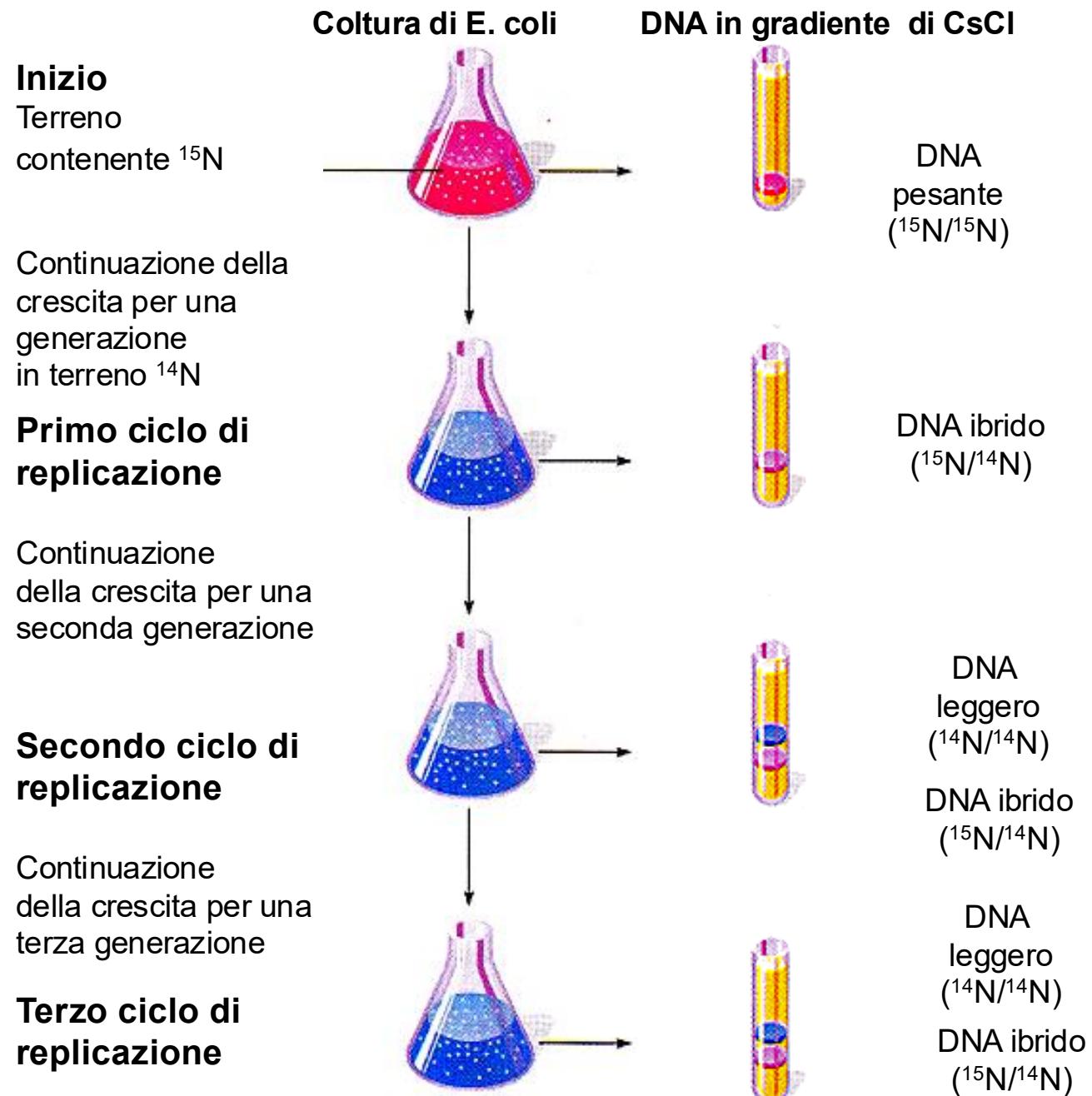
6M CsCl  
100.000g

## Esperimento di M. Meselson e F. Stahl, 1958

- 1) il DNA in *Escherichia coli* venne marcato con isotopi che ne alteravano la densità.  
(Batteri cresciuti in un mezzo contenente  $^{14}\text{N}$  e batteri cresciuti in un mezzo contenente  $^{15}\text{N}$ )
- 2) Estrazione del DNA e centrifugazione in una soluzione di CsCl (Cloruro di cesio)

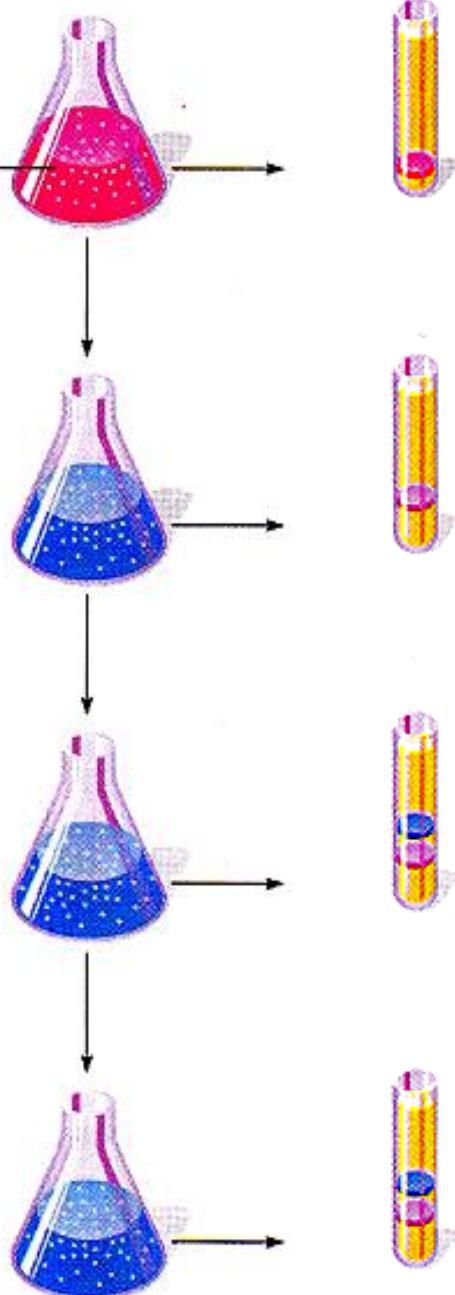


# Esperimento di M. Meselson e F. Stahl, 1958



## Coltura di E. coli

## DNA in gradiente di CsCl



DNA pesante  
( $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ )

DNA ibrido  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$

DNA  
leggero  
( $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ )

DNA ibrido  
( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ )

DNA  
leggero  
( $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ )

DNA ibrido  
( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ )

Replicazione  
conservativa

Replicazione  
semiconservativa

Replicazione  
dispersiva

Si formano 2 bande  
in centrifugazione  
(non osservato)

Si forma 1 banda  
in centrifugazione  
(osservato)

Si forma 1 banda  
in centrifugazione  
(osservato)

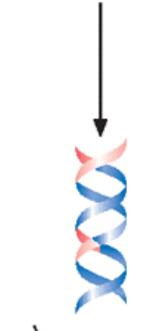
*Escherichia coli*:  
crescita in terreno  
contenente  $^{15}\text{N}$   
(banda "pesante")

Prima replicazione in  
terreno contenente  
 $^{14}\text{N}$

Risultati attesi alla  
I generazione  
(banda "intermedia")

Seconda replicazione in  
terreno contenente  $^{14}\text{N}$

Risultati attesi alla  
II generazione  
(banda "intermedia" +  
banda "leggera")



Si formano 2 bande  
in centrifugazione  
(osservato)

Si forma 1 banda  
in centrifugazione  
(non osservato)



# L'enzima coinvolto nella replicazione del DNA è la DNA polimerasi

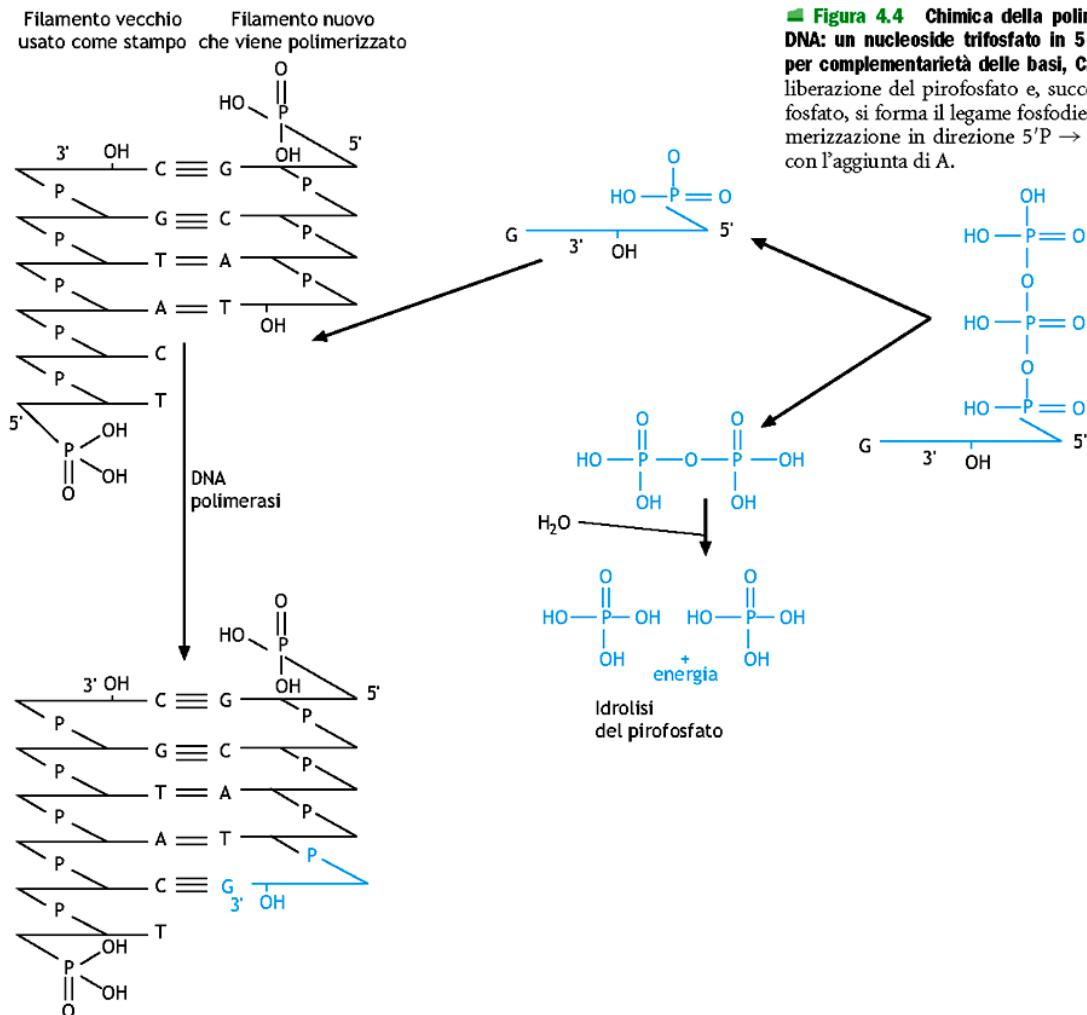


Figura 4.4 Chimica della polimerizzazione del DNA: un nucleoside trifosfato in 5' (G) riconosce, per complementarietà delle basi, C. In seguito alla liberazione del pirofosfato e, successivamente del fosfato, si forma il legame fosfodiesterico. La polimerizzazione in direzione 5'P → 3'OH continua con l'aggiunta di A.

Tutte le DNA polimerasi note hanno due proprietà fondamentali in comune che hanno implicazioni fondamentali per la replicazione del DNA:

1. sintetizzano DNA soltanto in direzione 5'-3', aggiungendo dNTP al gruppo 3' ossidrile di una catena in crescita;
2. non sono capaci di iniziare la sintesi di DNA catalizzando la polimerizzazione di dNTP liberi ma hanno bisogno di un filamento primer preformato che forma legami idrogeno con lo stampo.

# Repli**c**azione del DNA- enzima DNA polimerasi

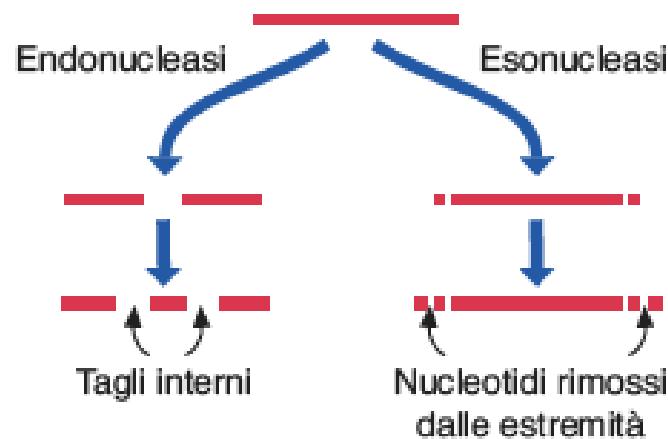
## DNA Polimerasi procariotiche ed eucariotiche

Enzimi	Direzione della sintesi	Attività esonucleasica	Funzioni possibili
<b>Procarioti</b>			
Polimerasi I	$5' \rightarrow 3'$	$5' \rightarrow 3'$ $3' \rightarrow 5'$	riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; <b>riparazione del DNA</b>
Polimerasi II	$5' \rightarrow 3'$	$5' \rightarrow 3'$ $3' \rightarrow 5'$	riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; <b>riparazione del DNA</b>
Polimerasi III	$5' \rightarrow 3'$	$3' \rightarrow 5'$	enzima principale della replicazione
<b>Eucarioti</b>			
Polimerasi $\alpha$	$5' \rightarrow 3'$	$5' \rightarrow 3'$	enzima principale della replicazione (con la Polimerasi $\delta$ ); <b>riparazione del DNA</b>
Polimerasi $\beta$	$5' \rightarrow 3'$	nessuna	<b>riparazione del DNA</b>
Polimerasi $\gamma$	$5' \rightarrow 3'$	$3' \rightarrow 5'$	enzima principale della repl. nei mitocondri e cloroplasti
Polimerasi $\delta$	$5' \rightarrow 3'$	$3' \rightarrow 5'$	enzima principale della replicazione (con la Polimerasi $\alpha$ )
Polimerasi $\epsilon$	$5' \rightarrow 3'$	$3' \rightarrow 5'$	<b>riparazione del DNA</b> ; può cooperare con le Polimerasi $\alpha$ e $\delta$ nei meccanismi principali della replicazione

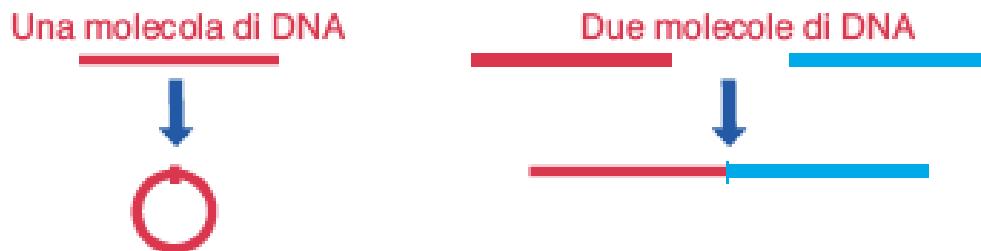
### A DNA polimerasi



### B Nucleasi



### C Ligasi



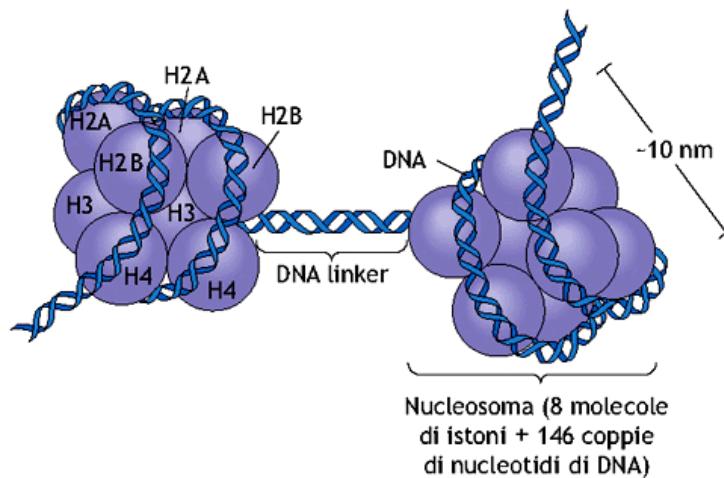
**FIGURA 12.1** Attività delle DNA polimerasi (A), nucleasi (B) e ligasi (C).

# Enzimi coinvolti della duplicazione del DNA (procarioti)

- Elicasi
- Topoisomerasi
- Primasi (RNA polimerasi- non ha bisogno di un innesco)
- DNA Polimerasi III
- DNA Polimerasi I
- Ligasi

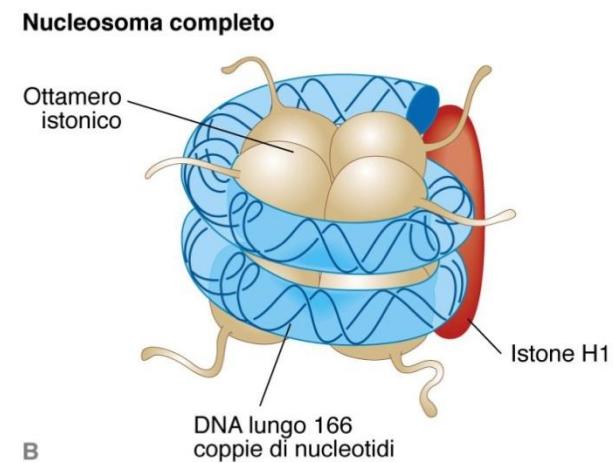


## Il nucleosoma è l'unità fondamentale della cromatina



**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.

## L'istone H1 stabilizza il nucleosoma

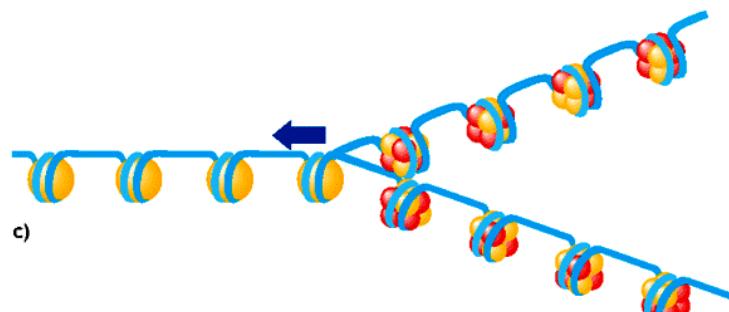
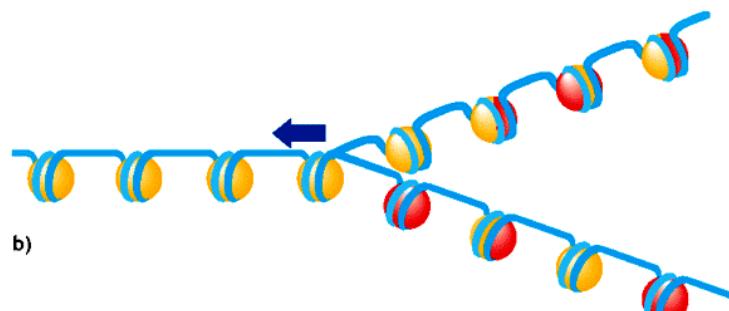
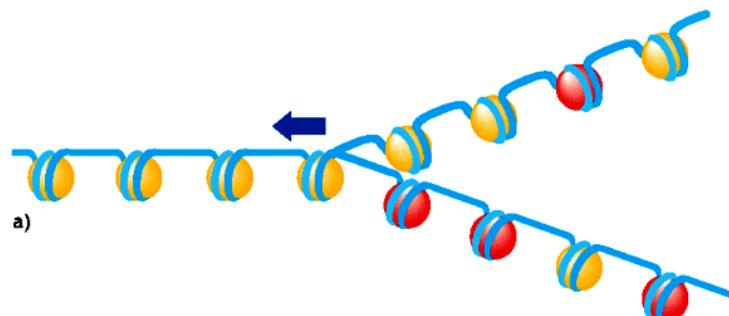


**FIGURA 1.60** Istone H1. L'istone H1 svolge un ruolo essenziale nella successiva fase di compattamento del DNA che prevede l'avvicinamento delle “perle”. Ciò avviene grazie ad un legame testa-coda fra i vari istoni H1.



G. De Leo, S. Fasano, E. Ginelli  
Biologia e Genetica, IV ed.  
EdiSES Università

## Negli eucarioti i nucleosomi si duplicano secondo una modalità conservativa degli ottameri



Istone vecchio  
Istone nuovo

