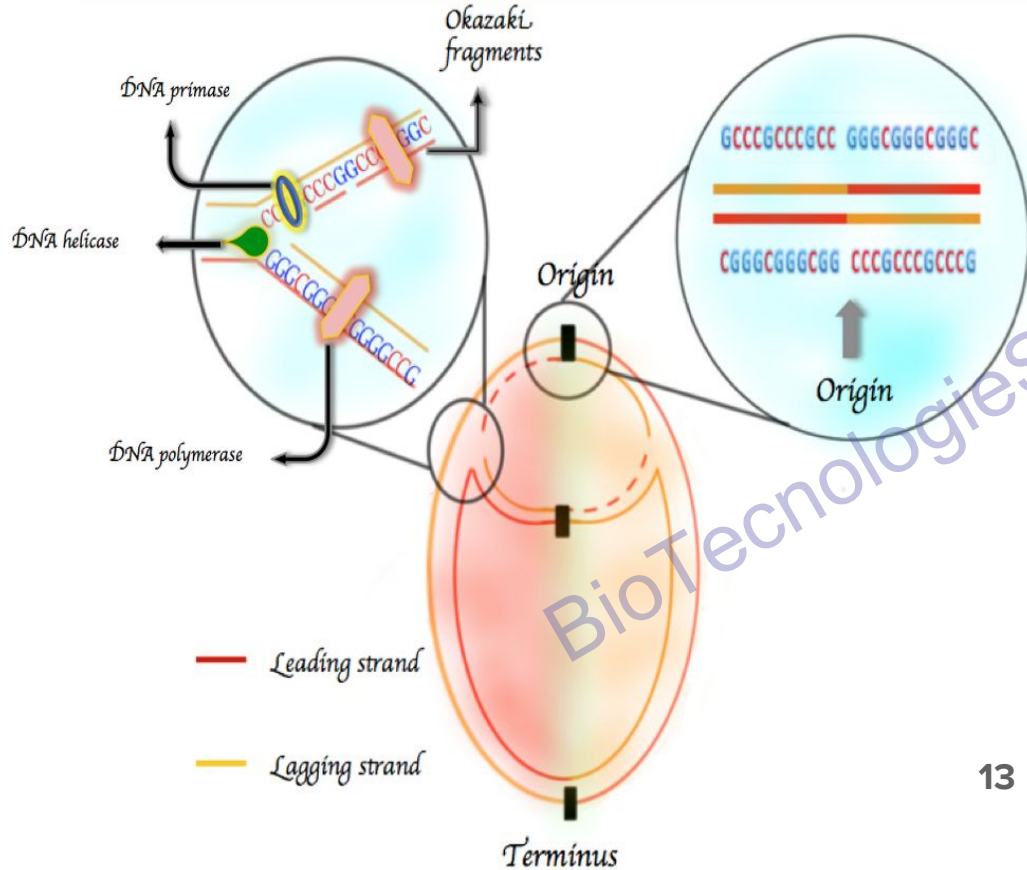


Bacterial Replication Bubble



13

Genetica dei procarioti 1

Il DNA e la sua replicazione.
Il genoma dei procarioti

INDICE

In copertina

Bacterial replication bubble

By Bootan68 - Own work, CC BY-SA 3.0,

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=24912890>

Introduzione

Il DNA e il genoma batterico

La replicazione del DNA nei procarioni

Author credits

Sitografia

Introduzione

BioTechnologySanitarie.it

Introduzione

Questa presentazione è dedicata ai microrganismi con struttura procariote, quindi Batteri e Archeobatteri.

Essi sono presenti da almeno 3,5 miliardi di anni sulla Terra.

Sono sopravvissuti a tutte le estinzioni di massa.

Alcuni vivono in condizioni estreme.

Sono particolarmente agguerriti quando devono superare le avversità: basti pensare alla velocità con cui hanno sviluppato la resistenza agli antibiotici.

Introduzione

Tutto ciò è straordinario considerando che non hanno una riproduzione sessuale con mescolamento di geni e quindi neanche una meiosi che garantisce la variabilità.

Eppure uno scambio di geni deve avvenire e anche velocemente. Questa presentazione descrive il genoma dei procarioti e le modalità di replicazione. Mentre alla regolazione e all'espressione genica è dedicata un'altra pagina del sito.

Introduzione

N.B.

Dal momento che nei procarioti sono compresi sia i Batteri che gli Archeobatteri in questa presentazione verrà utilizzato il termine batterio per indicare genericamente un procariote nel caso in cui non sia necessario distinguere tra gli appartenenti ai due regni. Quando invece è necessario si distinguerà tra Batteri e Archeobatteri.

Introduzione: prerequisiti

Per una piena comprensione della genetica batterica è necessario conoscere:

- la struttura della cellula batterica;
- la struttura molecolare del DNA (anche se viene ricordata in maniera schematica nelle prossime slide);
- struttura e funzioni delle biomolecole.

Il DNA e il genoma batterico

BioTechnologySanitarie.it

Il DNA dei batteri

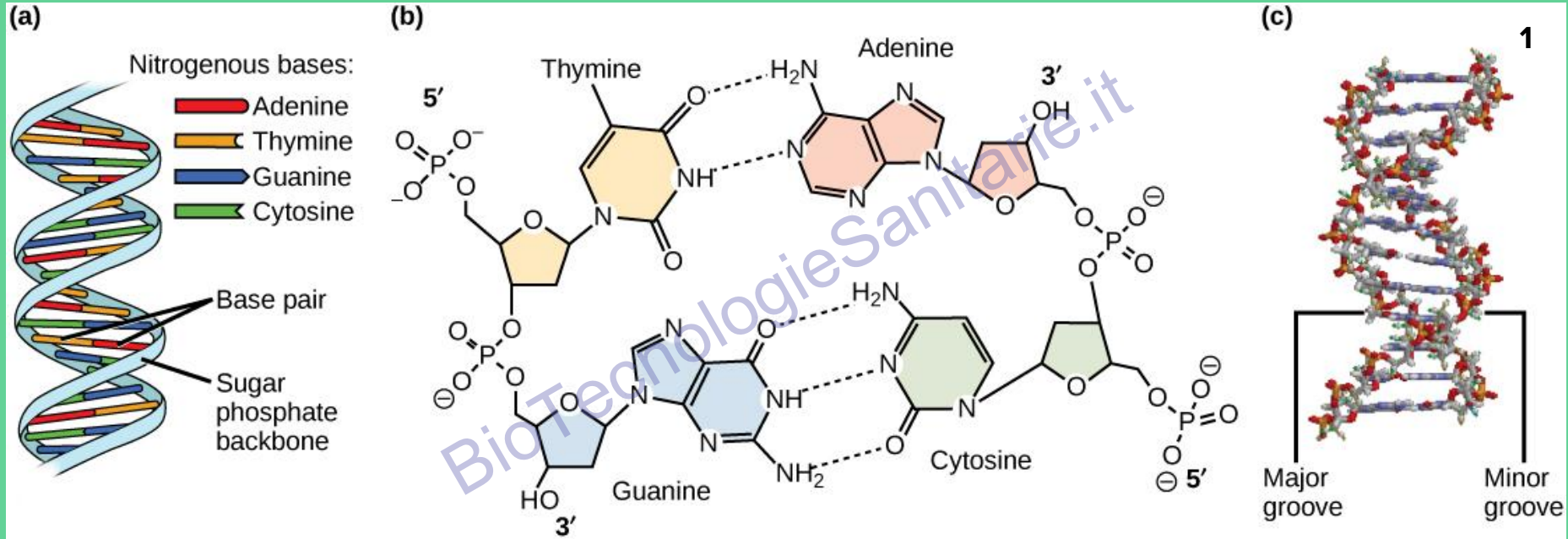
Com'è strutturato il genoma batterico?

Essendo così piccoli i batteri hanno meno geni dell'uomo?

Come fa un batterio a garantire di trasmettere integralmente il suo genoma alle cellule figlie?

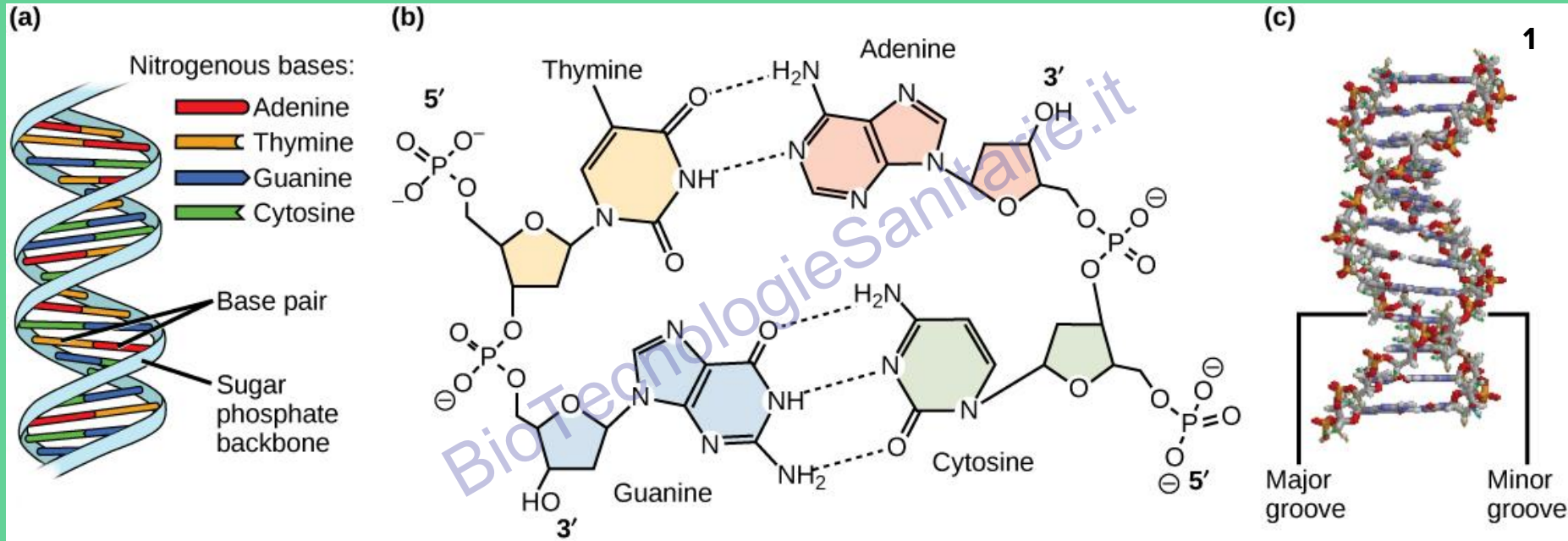
Ci sono differenze tra il genoma dei Batteri e quello degli Archeobatteri?

La molecola del DNA



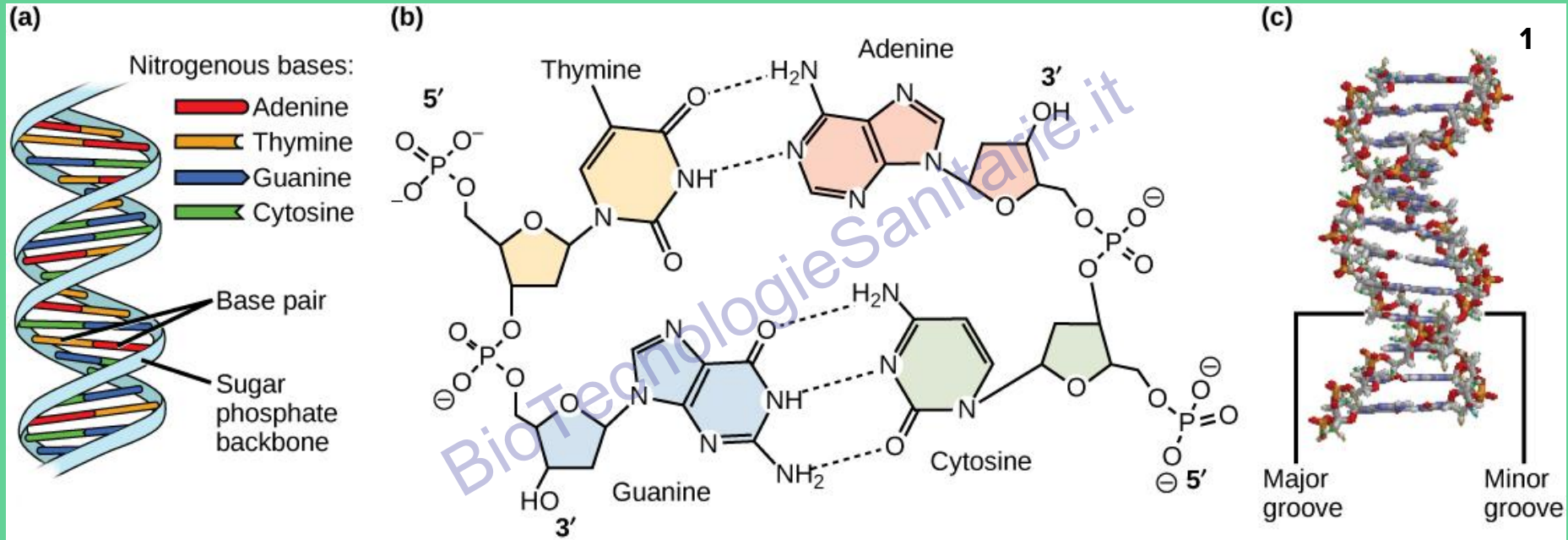
Prima di verificare come è fatto il genoma di un batterio vale la pena fare un ripasso veloce e schematico della struttura del DNA.

La molecola del DNA



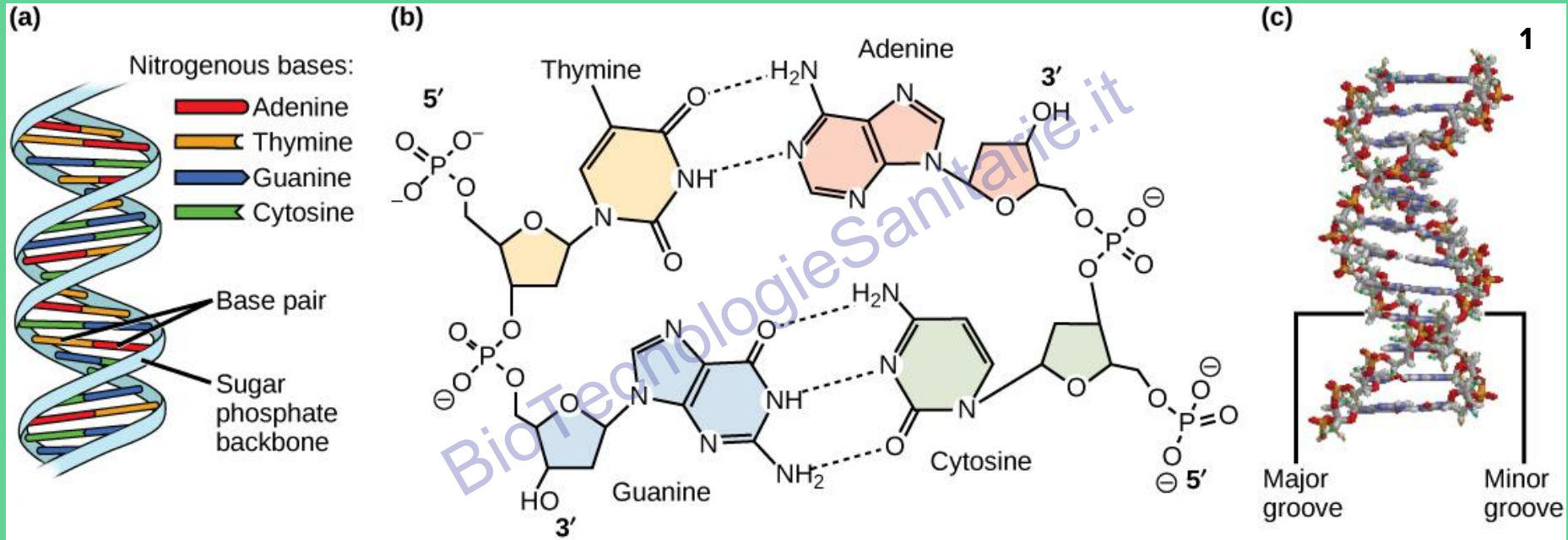
Il DNA è una macromolecola formata da due filamenti polinucleotidici avvolti uno intorno all'altro secondo il modello della **doppia elica** o della **scala a chiocciola**.

La molecola del DNA



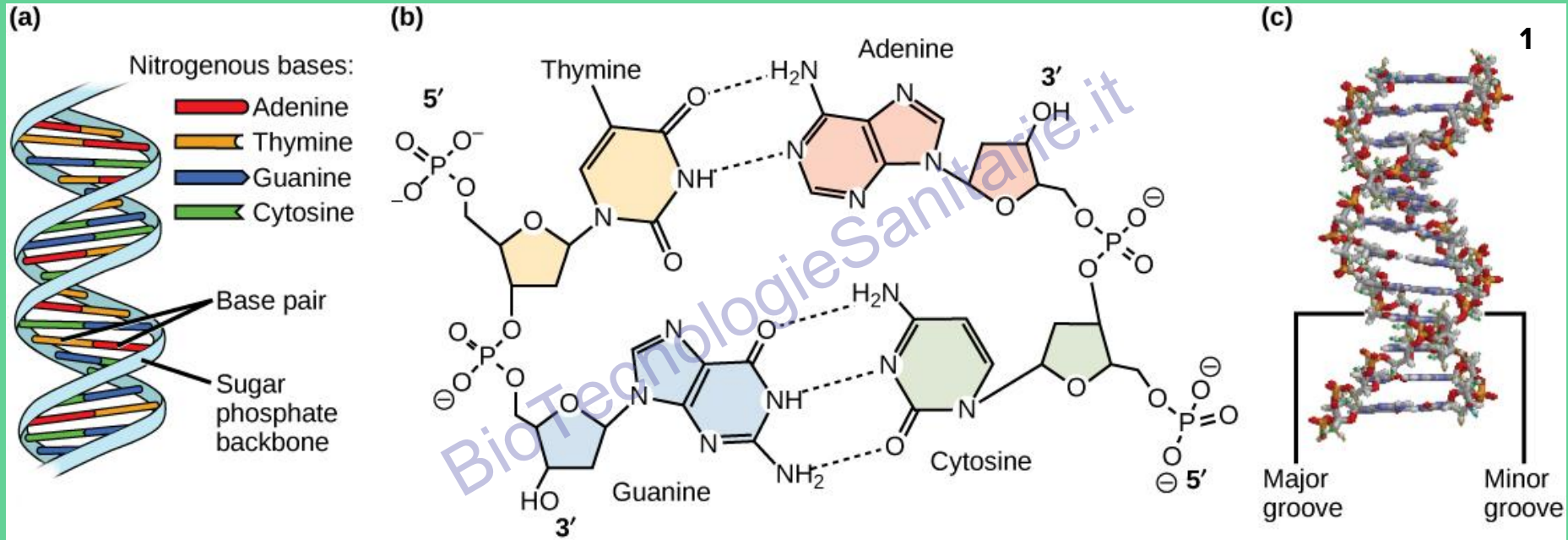
Ricordo che la doppia elica ha delle **eccezioni che riguardano i virus**. Infatti, in qualche caso, il DNA non è bicitenario.

La molecola del DNA



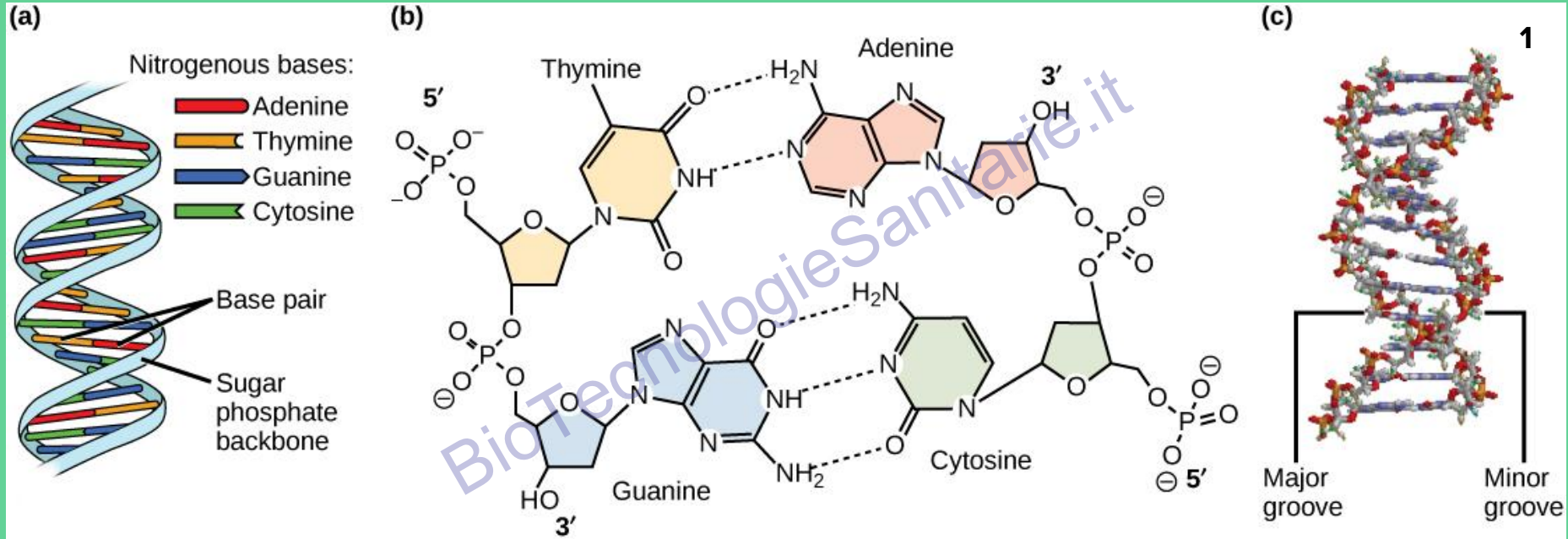
I monomeri del DNA sono i **nucleotidi** formati da: uno zucchero pentoso (desossiribosio) un gruppo fosfato e una base azotata.

La molecola del DNA



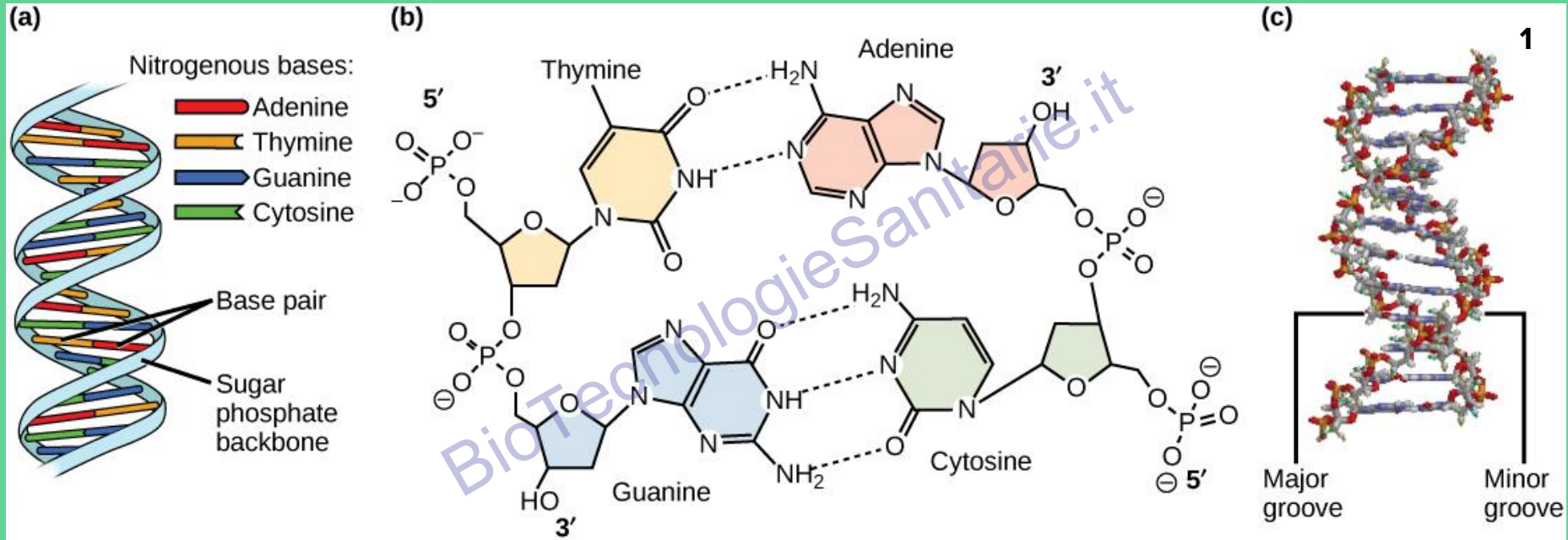
Le basi azotate sono quattro: le **basi pirimidiniche** (citocina e timina) e le **basi puriniche** (adenina e guanina).

La molecola del DNA



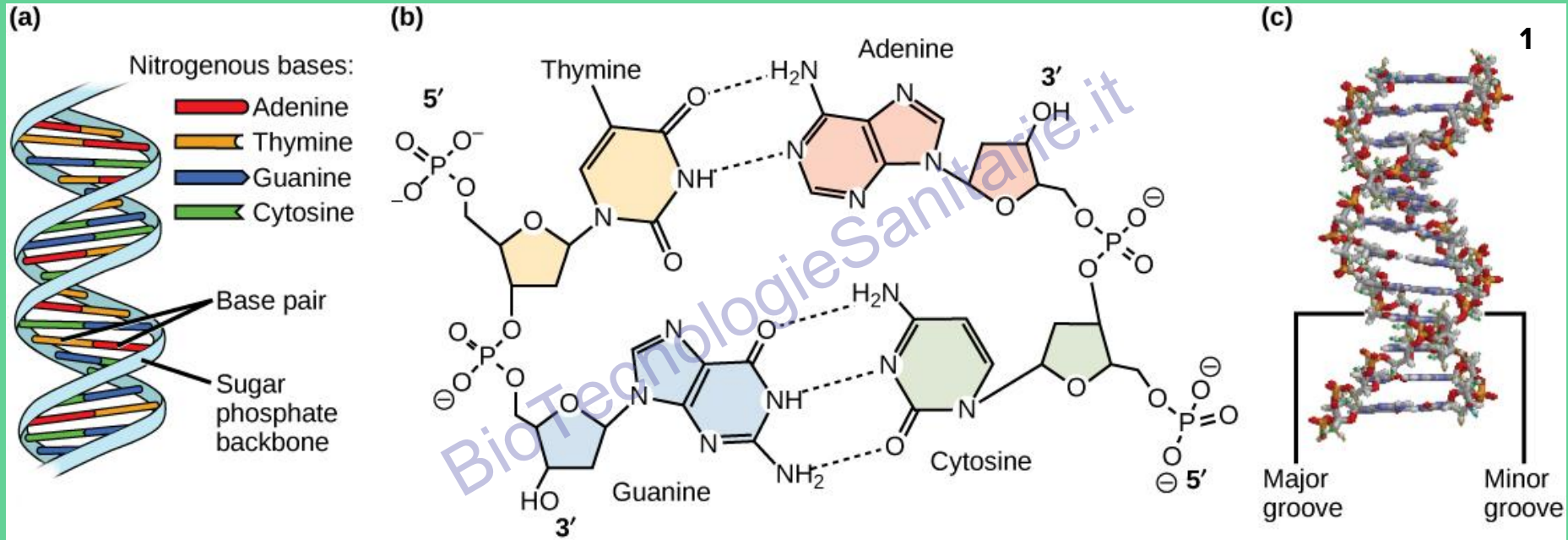
Nella molecola si riconosce una **parte variabile** (i gradini della scala a chiocciola) e una **parte fissa** (laterale).

La molecola del DNA



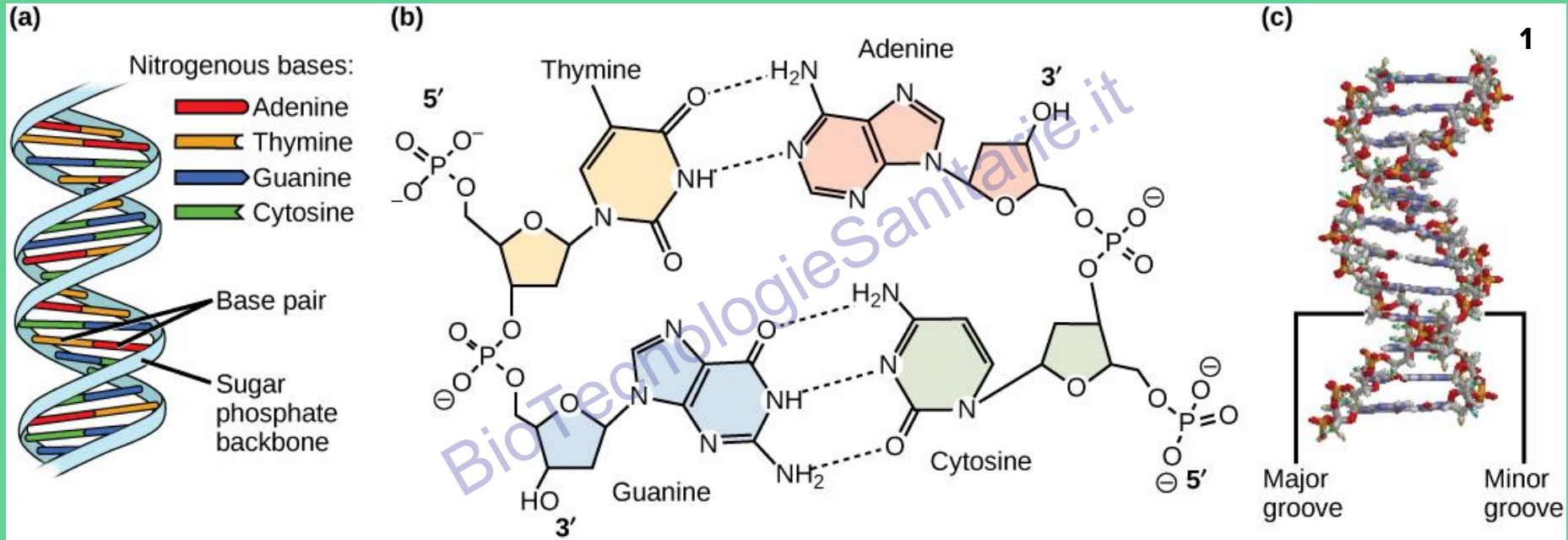
La parte fissa è formata dall'alternanza tra fosfato e zucchero. Il fosfato fa da ponte tra due molecole di desossiribosio.

La molecola del DNA



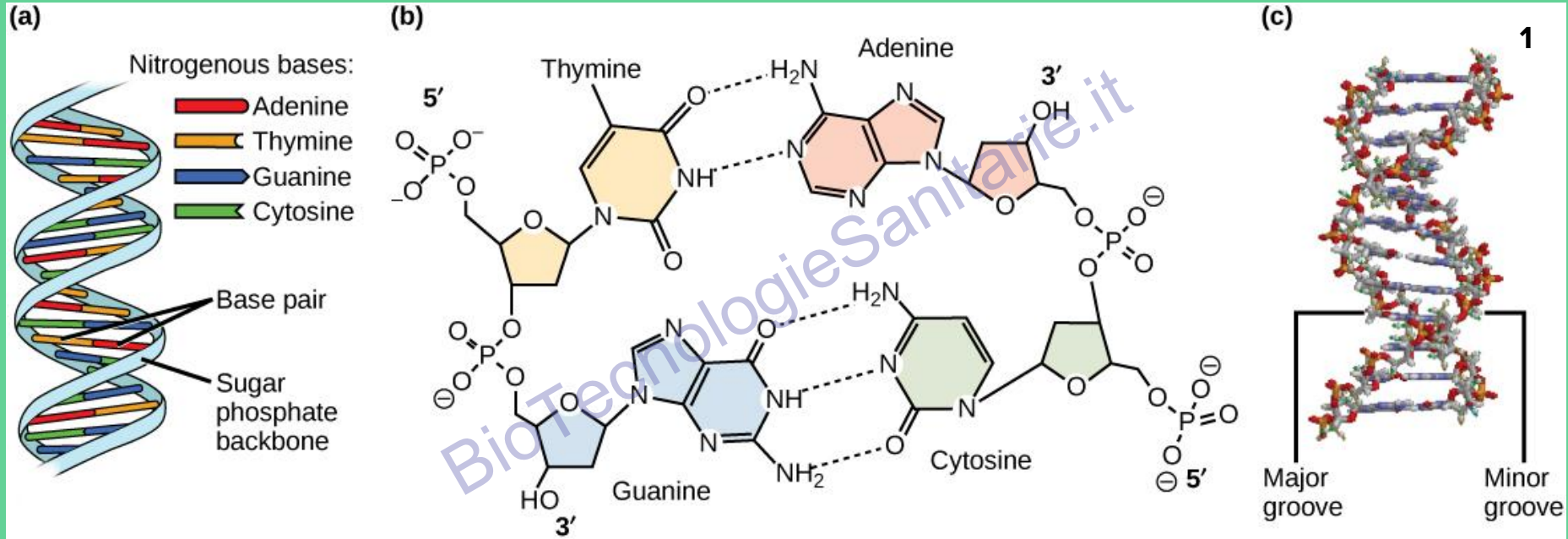
Il fosfato si lega al carbonio 3' dello zucchero che lo precede e al gruppo -OH del carbonio 5' che lo segue (**legami fosfodiesterici**).

La molecola del DNA



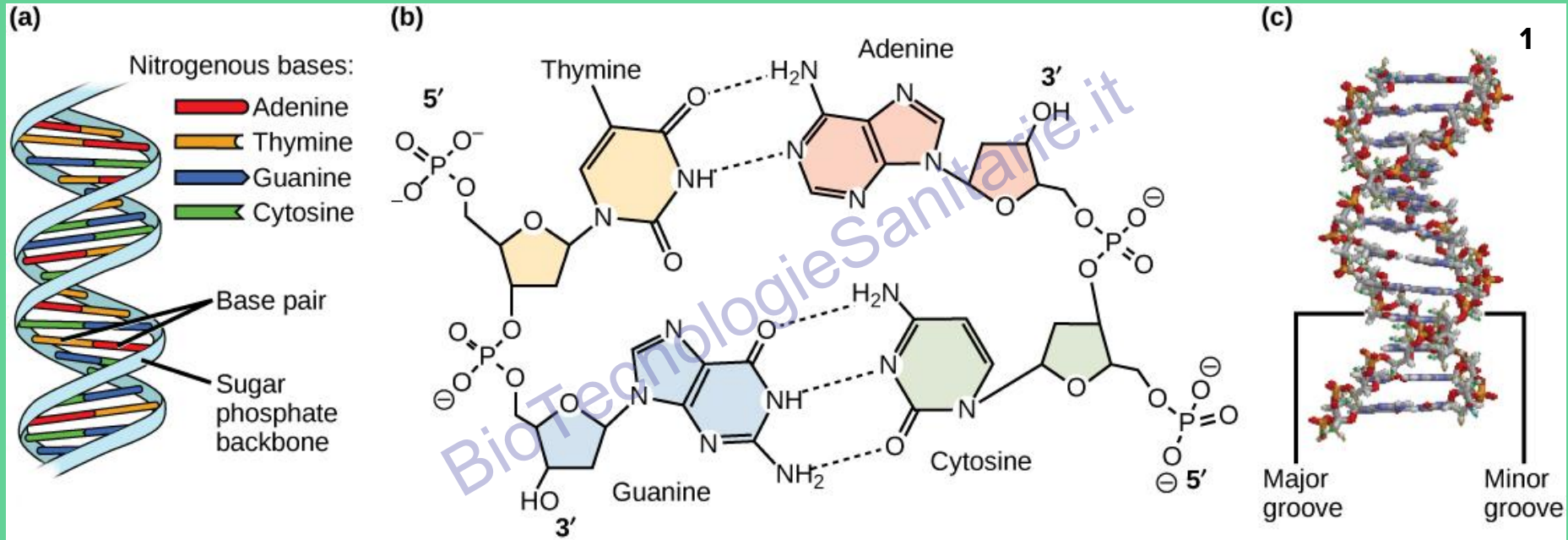
Il desossiribosio invece si lega alla base azotata attraverso un legame glicosidico. In questo modo si forma un filamento polinucleotidico.

La molecola del DNA



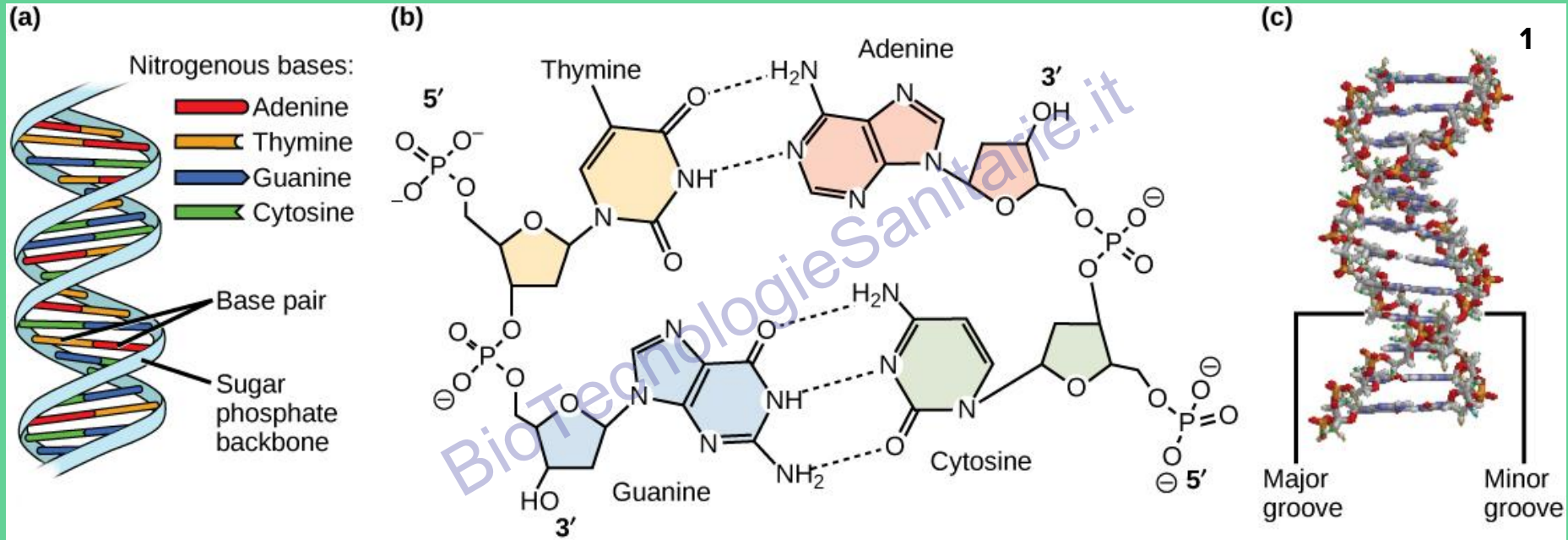
I due filamenti polinucleotidici si legano attraverso legami idrogeno, più deboli, che uniscono le basi azotate.

La molecola del DNA



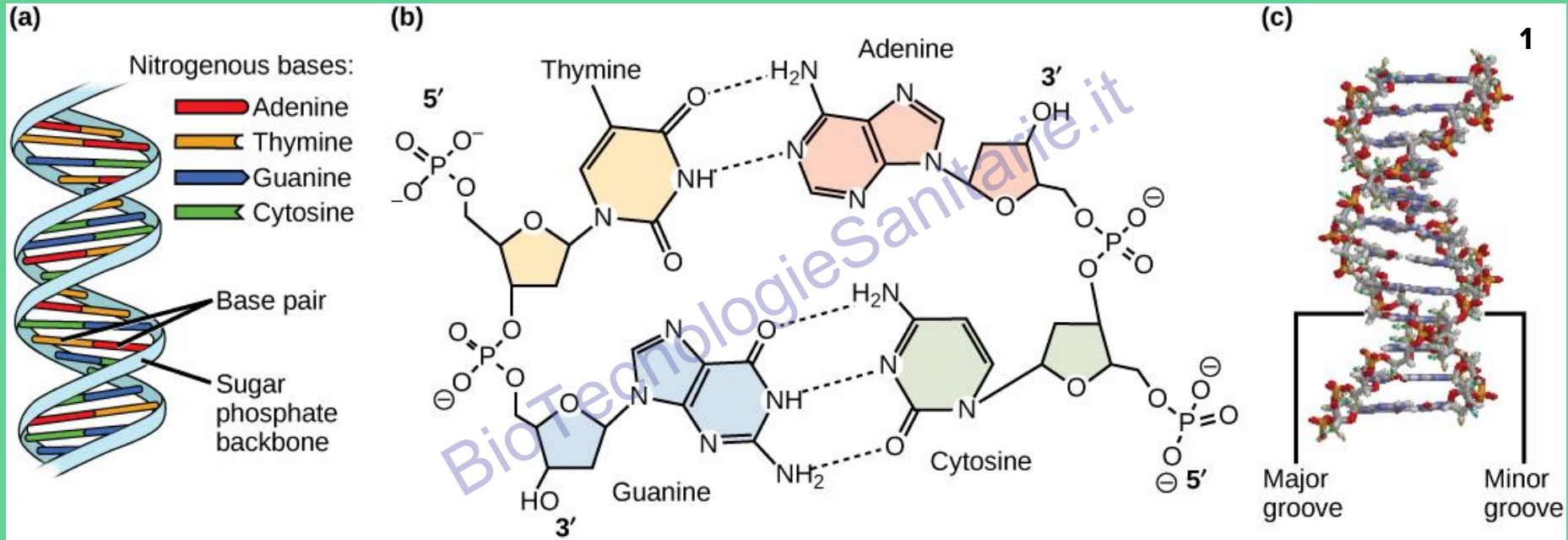
Gli accoppiamenti tra le basi azotate sono vincolati da ragioni steriche e di stabilità molecolare: adenina-timina, guanina-citosina (complementarietà).

La molecola del DNA



Gli accoppiamenti tra le basi azotate sono vincolati: adenina-timina, guanina-citosina (complementarietà).

La molecola del DNA



Le due parti fisse, cioè lo scheletro zucchero-fosfato, sono disposte in direzione 5'-3' ma sono opposte l'una rispetto all'altra (**antiparallele**)

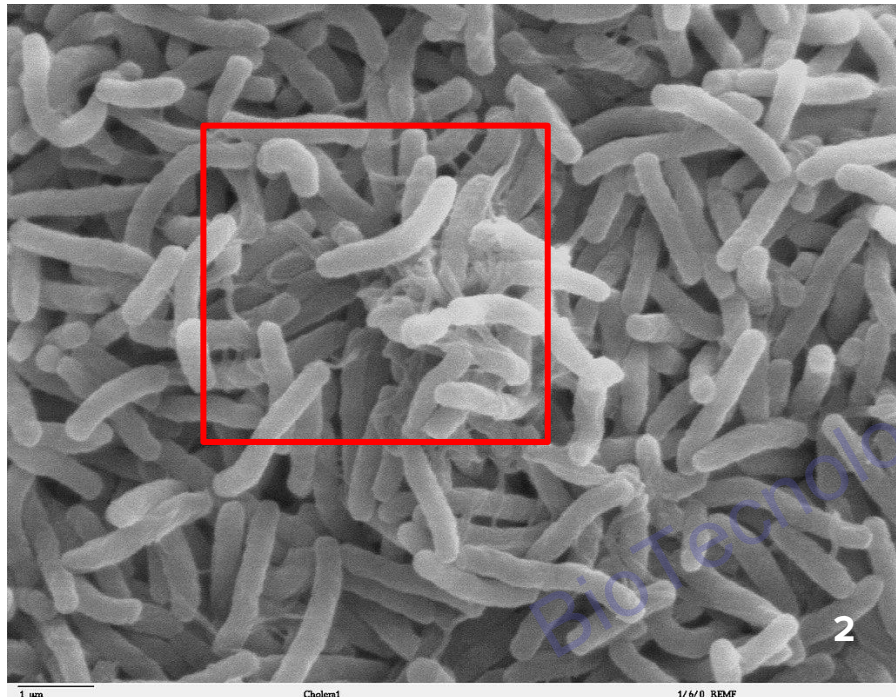
Il genoma batterico: il cromosoma

In una cellula il DNA è associato a proteine per formare i **cromosomi**. Negli eucarioti le proteine sono gli istoni; nei batteri sono sempre proteine basiche ma solo simili agli istoni.

- In un batterio, nella maggioranza dei casi, **il cromosoma è unico e circolare**; quindi i batteri sono **aploidi**.
- Negli eucarioti **i cromosomi sono lineari e a coppie**. Il loro corredo cromosomico è **diploide**.

Ovviamente, data la regola, ci sono anche le debite eccezioni nel mondo dei batteri. Vediamone alcune.

Vibrio cholerae

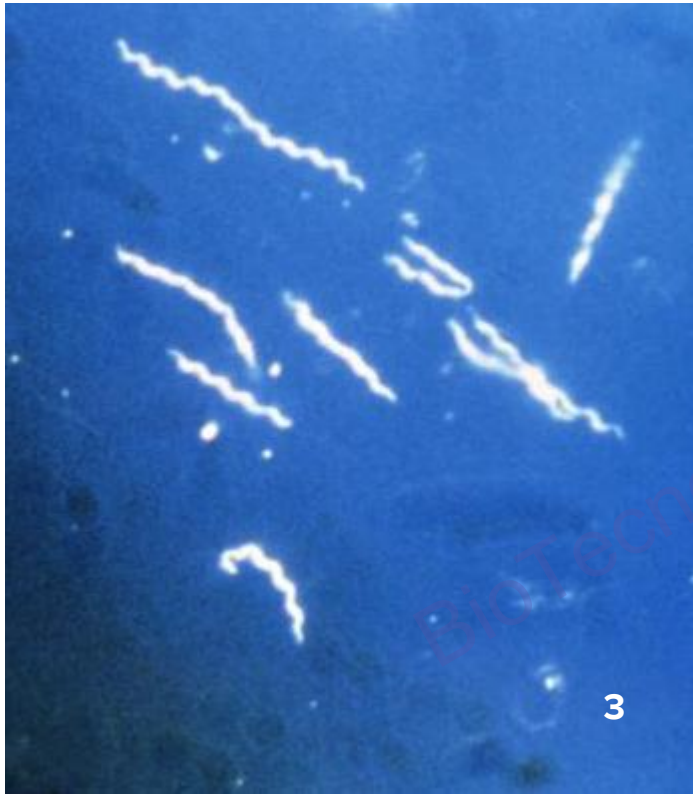


Vibrio cholerae al microscopio a scansione. Il riquadro serve per evidenziare il flagello e il profilo curvo (a virgola) tipico del batterio

Il DNA di Vibrio cholerae

Il vibrione del colera è un batterio **gram-negativo** (Regno Bacteria - Phylum Proteobacteria) responsabile di una malattia a trasmissione oro-fecale: il colera. Ha **due cromosomi circolari**, uno più piccolo dell'altro. Il maggiore contiene i geni per replicazione, trascrizione, traduzione e virulenza. I geni del più piccolo invece non sono tipici del phylum di appartenenza e sono più vicini a quelli di un plasmide.

Borrelia burgdorferi

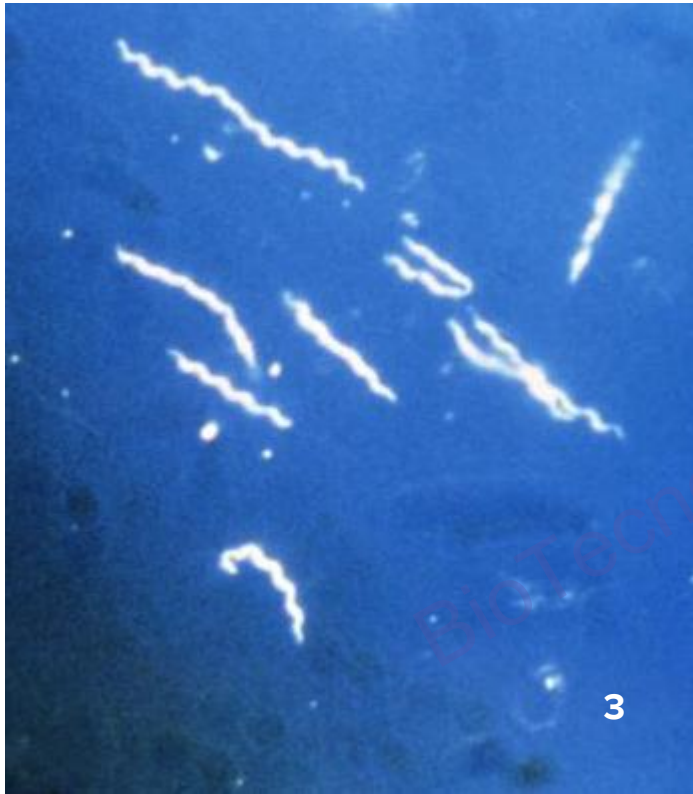


Borrelia b. - Ingrandimento 400x

Il DNA di Borrelia burgdorferi

Borrelia b. è l'agente eziologico della malattia di Lyme. Si tratta di una spirocheta (Regno Bacteria - Phylum Spirochaetes) che infetta le zecche che poi trasmettono l'infezione all'uomo. Il batterio, gram-negativo, ha **un DNA lineare** con le due estremità formate da forcine chiuse.

Borrelia burgdorferi

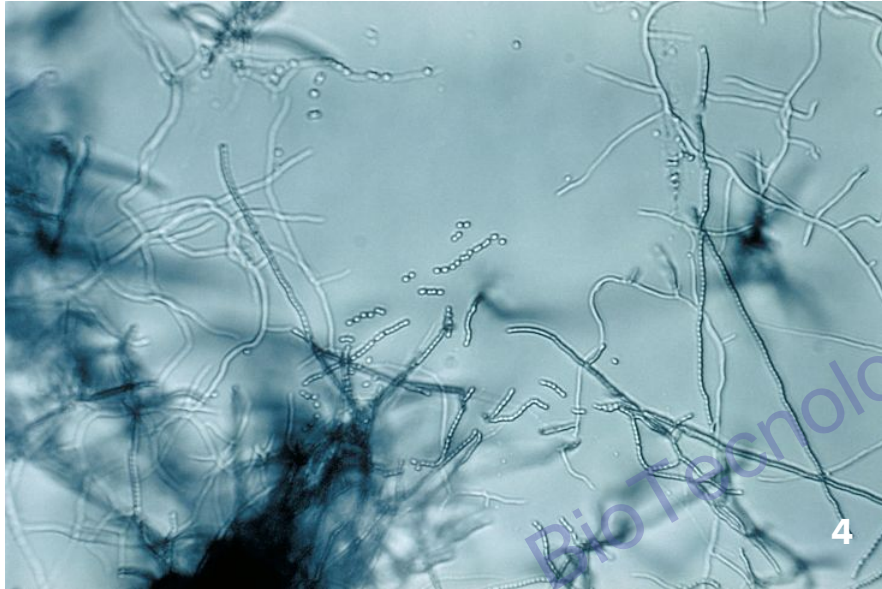


Borrelia b. - Ingrandimento 400x

Il DNA di Borrelia burgdorferi

La Borrelia b. attua diversi meccanismi di trasferimento genico orizzontale tra le cellule della stessa generazione che consentono un notevole vantaggio selettivo. La prenderemo in considerazione quindi anche più avanti.

Streptomyces

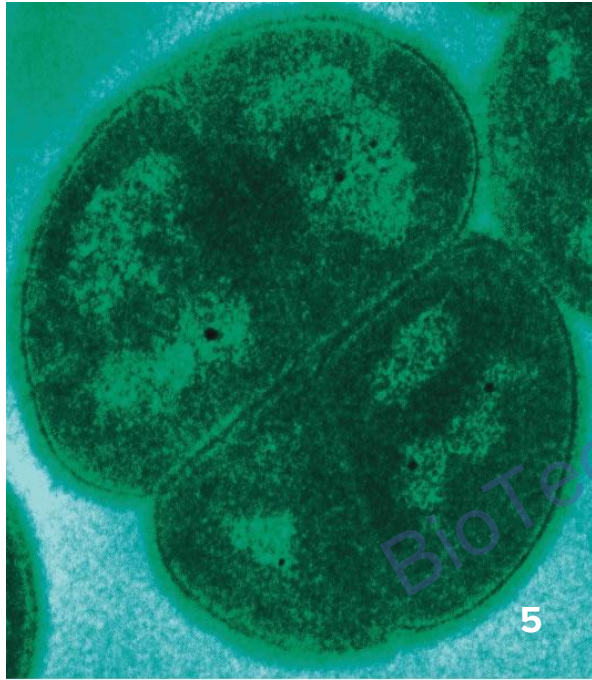


Streptomyces fotografata al
microscopio ottico

Il DNA di Streptomyces

Streptomyces (Regno bacteria - Phylum Actinobacteria) forma, come si può vedere dall'immagine di lato, un micelio molto ramificato, in qualche caso anche pigmentato. Tra i suoi metaboliti secondari va ricordato l'antibiotico streptomycin. Il suo **DNA può essere sia lineare che circolare.**

Deinococcus radiodurans



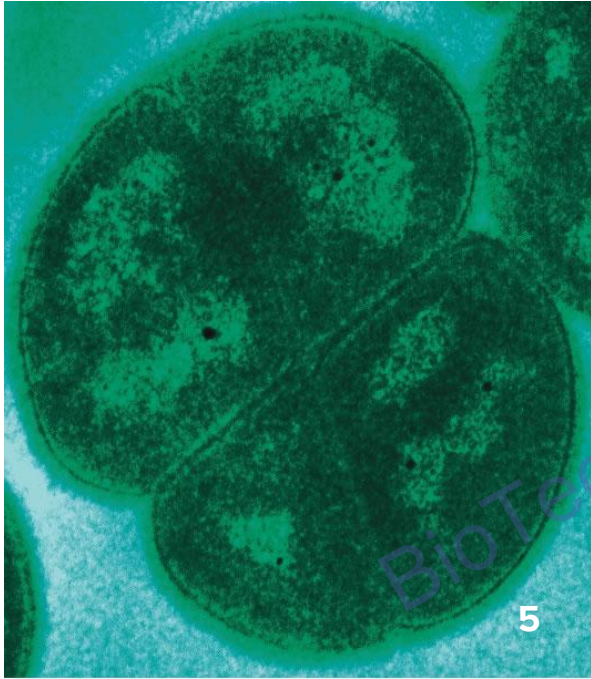
Deinococcus radiodurans fotografato
al microscopio elettronico

Il genoma di *Deinococcus radiodurans*

Deinococcus radiodurans

(Regno Archaea - Phylum Deinococcus-Thermus) è entrato nel Guinness dei primati come “la forma di vita più resistente alle radiazioni nel mondo”. Si tratta di un archeobatterio che in effetti è in grado, dopo essere stato trattato con radiazioni molto elevate e distruttive per la sua struttura cromosomiale, di riassembleare il suo genoma che risulta poi ancora pienamente funzionante.

Deinococcus radiodurans



Deinococcus radiodurans fotografato al microscopio elettronico. Da notare la sua struttura a 4 cellule (tetrate)

Il genoma di Deinococcus radiodurans

È anche in grado di vivere in condizioni estreme di vuoto, acidità, disidratazione e freddo; pertanto è un **poliestremofilo**.

Interessante anche il suo genoma perchè presenta **due cromosomi circolari**, **un megaplasmide** e **un plasmide** per un totale di circa 3195 geni.

Il genoma batterico: i plasmidi

Nella slide precedente dedicata al *Deinococcus radiodurans* ho nominato per la prima volta i **plasmidi**.

I plasmidi sono piccole molecole di DNA extracromosomico a doppio filamento, in genere **chiuse** e quindi **circolari**. Ma non è sempre così per cui ad esempio *Borrelia burgdorferi* ha nella sua cellula 17 plasmidi, alcuni lineari e altri circolari.

I plasmidi sono in grado di **autoreplicarsi in modo indipendente dal cromosoma** e questo è importante nelle pratiche biotecnologiche perché consente la replicazione in vivo dei geni di interesse.

Il genoma batterico: i plasmidi

A proposito della replicazione dei plasmidi, va precisato che mentre i geni specifici per la replicazione sono presenti nel cromosoma quelli che gestiscono l'inizio della replicazione e la suddivisione dei plasmidi nelle cellule figlie sono contenuti nei plasmidi stessi.

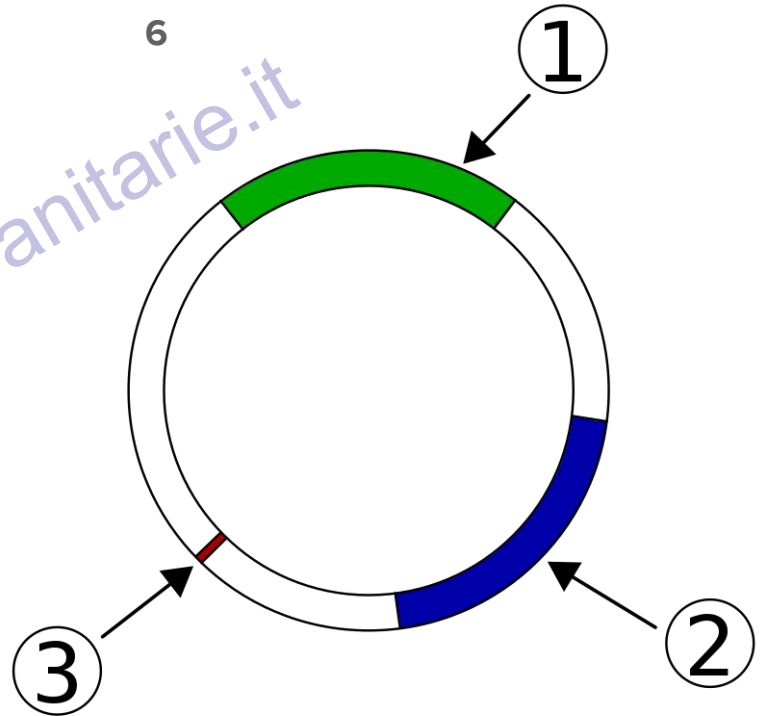
A questo punto è ovvio chiedersi quale tipologia di geni è contenuta in queste piccole molecole di DNA e se sono presenti in tutte le cellule batteriche. La risposta è unica: i geni dei plasmidi non sono legati a funzionalità indispensabili per la vita. Ne consegue che non si trovano in tutte le specie batteriche.

Il genoma batterico: i plasmidi R

L'immagine di lato propone lo schema di un **plasmide R**, indicato in questo modo perché trasferisce le informazioni per la resistenza a 2 antibiotici ① e ②.

Mentre ③ indica l'origine di replicazione.

Ne esistono diversi a seconda della resistenza ai singoli antibiotici.



Il genoma batterico: i plasmidi

Viceversa altri batteri come il già citato *Streptomyces* hanno plasmidi con le informazioni necessarie per la produzione di antibiotici o, più in generale di **batteriocine** cioè molecole ad azione batteriostatica o battericida efficaci contro batteri di specie diverse.

Il genere *Pseudomonas* è noto per i suoi plasmidi grazie ai quali può degradare il naftalene o la canfora. Mentre *Alcaligenes* ha la stessa azione sugli erbicidi.

Molti batteri inoltre dimostrano resistenza ai metalli tossici sempre per i geni presenti nei plasmidi.

Il genoma batterico: i plasmidi

In altri casi i plasmidi sono legati al metabolismo degli zuccheri. Vale per tutti l'esempio degli **enterobatteri** (Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Salmonella, Shigella ... tutti batteri ospiti dell'intestino umano e di altri animali) e il loro utilizzo di lattosio e saccarosio.

Altre funzionalità riguardano le capacità invasive di batteri patogeni (Salmonella e Shigella ad esempio) e, sempre nel campo della virulenza, la produzione di tossine oppure di enzimi specifici come la coagulasi, l'emolisina e le enterotossine di **Staphylococcus**.

Il genoma batterico: i plasmidi

Altro capitolo molto interessante e che verrà ripreso nelle sezioni dedicate alle biotecnologie è la capacità di **Agrobacterium** di indurre tumori nelle piante; il che lo rende un vettore perfetto per il trasferimento di geni di interesse in campo agrario.

C'è da ricordare poi che senza la presenza dei plasmidi il genere **Rhizobium** non potrebbe formare i noduli nelle radici delle leguminose che aprono la strada alla fissazione dell'azoto.

Il genoma batterico: i plasmidi coniugativi

L'elenco delle molteplici funzioni associate ai plasmidi include anche i **plasmidi coniugativi** i cui geni sono in grado di stabilire veri e propri ponti tra cellule batteriche della stessa specie o di specie diverse per lo scambio di geni. L'argomento verrà affrontato più avanti sotto la voce coniugazione.

Esistono anche plasmidi che riescono ad integrarsi nella molecola cromosomica, sono gli **episomi**.

Il genoma batterico: i plasmidi

In genere i plasmidi contengono dall'1 al 5% della totalità dei geni del batterio e il loro numero all'interno della cellula batterica può variare moltissimo. Se sono piccoli possono essere anche un centinaio. Maggiori sono le dimensioni minore sarà il loro numero.

Il genoma batterico

In conclusione **il genoma batterico** non è sempre e solo formato dal **DNA** ma questa molecola può essere affiancata da uno o più **plasmidi**.

Una caratteristica del genoma di un procariote è la possibilità che alcune sequenze possano traslocare da una zona ad un'altra del genoma: sono gli **elementi trasponibili** detti anche **geni saltanti** o **mobili** a seconda della traduzione. In realtà questa è una delle prime definizioni.

Il genoma batterico: elementi trasponibili

Un gruppo di eminenti scienziati nel 2008 ha proposto una nuova definizione di questi elementi genetici mobili.

“Specifici segmenti di DNA che possono inserirsi ripetutamente in uno o più siti o in uno o più genomi”.

Questa nuova definizione comprende **elementi che differiscono per struttura, meccanismi di integrazione ed escissione, siti target e capacità di essere trasferiti da una cellula all'altra**. Ne esistono di diversi tipi. Cominciamo con le sequenze di inserzione.

Il genoma batterico: sequenze di inserzione

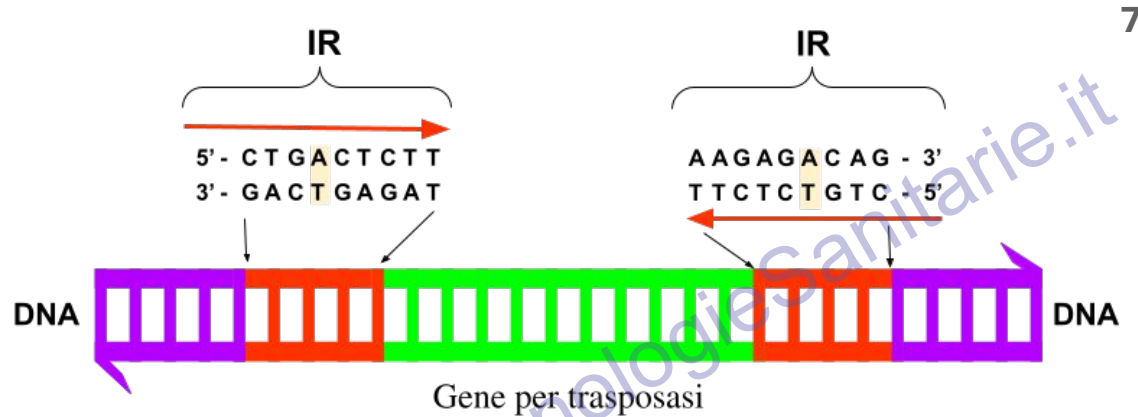
Elementi trasponibili: sequenze di inserzione o IS.

Un elemento IS è una sequenza di DNA di una lunghezza variabile da circa 768 - il più piccolo - a poco meno di 2.500 paia di basi.

Contiene **solo il gene per l'enzima trasposasi** che consente la trasposizione ed è circondato a ciascuna estremità da **sequenze invertite di ripetizioni identiche (IR).**

La prima sequenza di inserzione è stata identificata in Escherichia coli ed è indicata come IS1 e quindi il numero che segue la sigla indica la sequenza cronologica di identificazione.

Sequenza di inserzione



Legenda

DNA verde: gene che codifica per l'enzima trasposasi

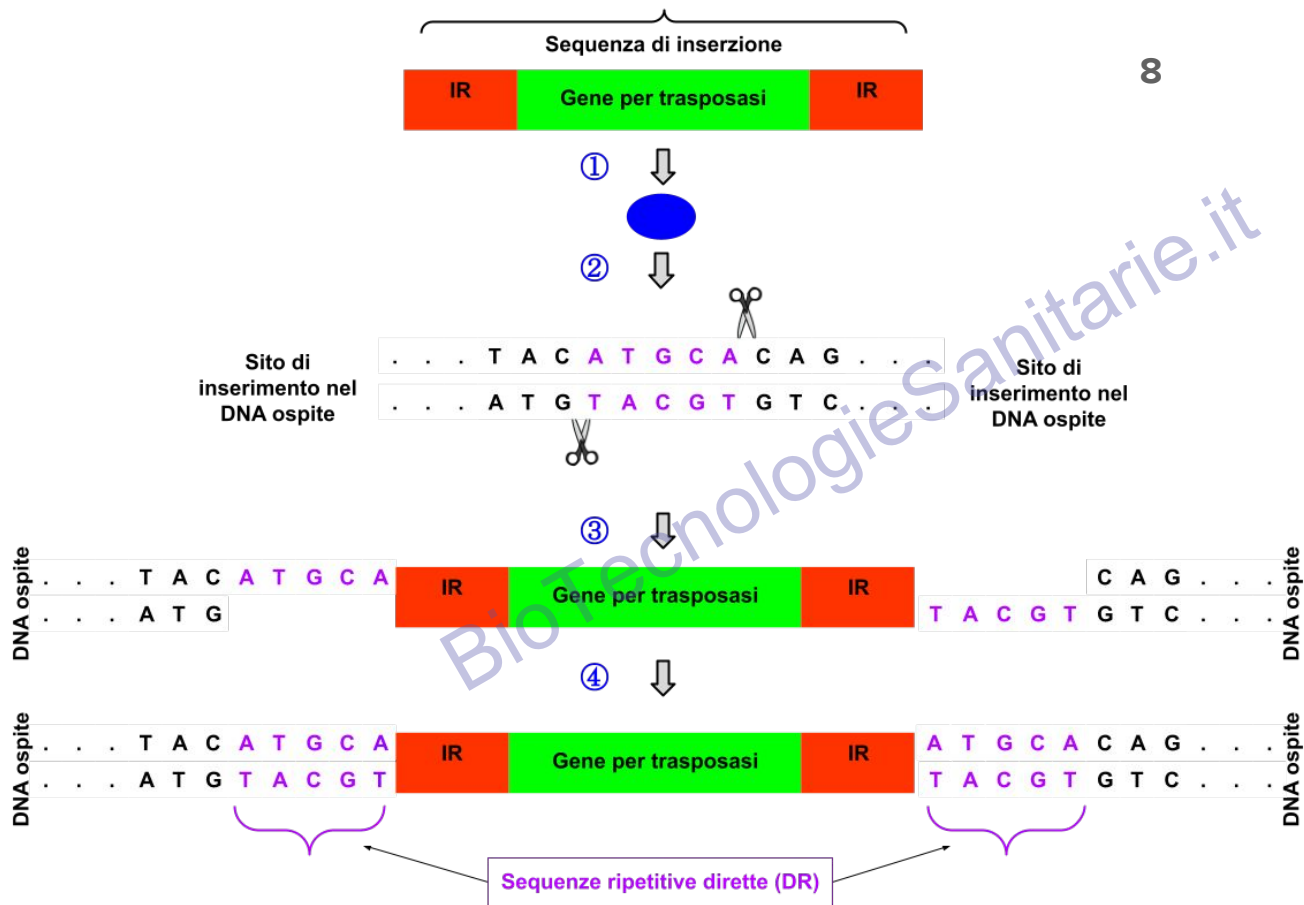
DNA rosso: sequenze ripetitive invertite (IR) di circa 20 paia di basi e specifiche per ogni tipo di sequenza di inserzione. Servono per riconoscere i siti in cui deve avvenire l'inserimento.

DNA viola: sequenze ripetitive dirette (la spiegazione nelle slide successive).

L'**immagine 7** descrive una sequenza di inserzione specifica, **IS50**.

Oltre a quanto già scritto si può aggiungere che se si hanno mutazioni nelle sequenze ripetitive invertite, si verifica la perdita della mobilità di questi geni saltanti a testimonianza di quanto sono importanti. Nella prossima slide vediamo come avviene la trasposizione.

Trasposizione di una sequenza di inserzione



L'immagine 8 descrive le varie fasi in cui si articola la trasposizione di una sequenza di inserzione.

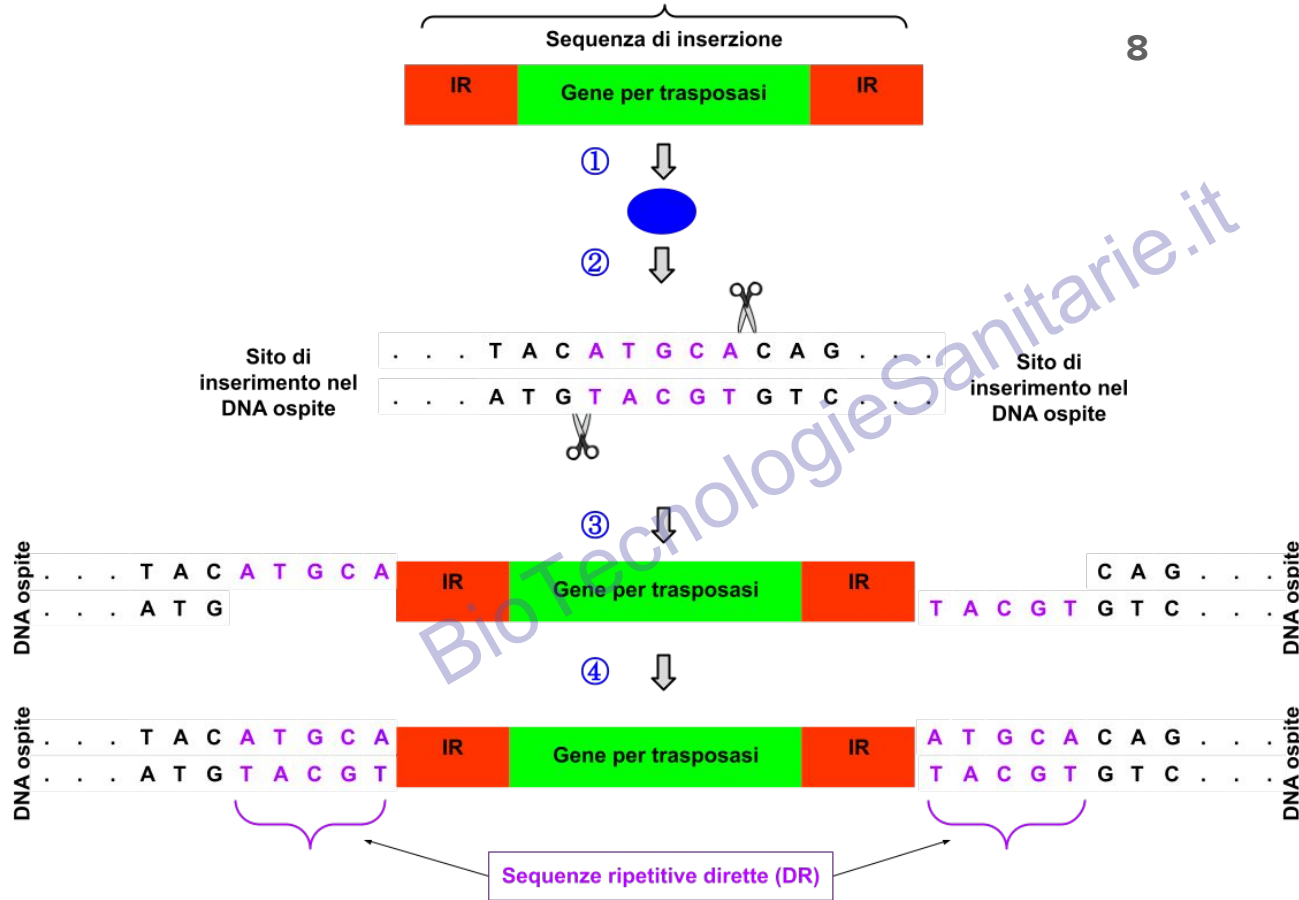
L'elemento trasponibile è rappresentato in modo schematico.

① Il gene presente nella sequenza d'inserzione codifica per la **trasposasi** (enzima).

② L'enzima trasposasi catalizza l'escissione dalla posizione nel DNA in cui si trova e, grazie alle estremità ripetitive IR, riconosce il sito di inserimento nel DNA ospite e così riesce a **tagliare i due filamenti del DNA ospite**.

Trasposizione di una sequenza di inserzione

8

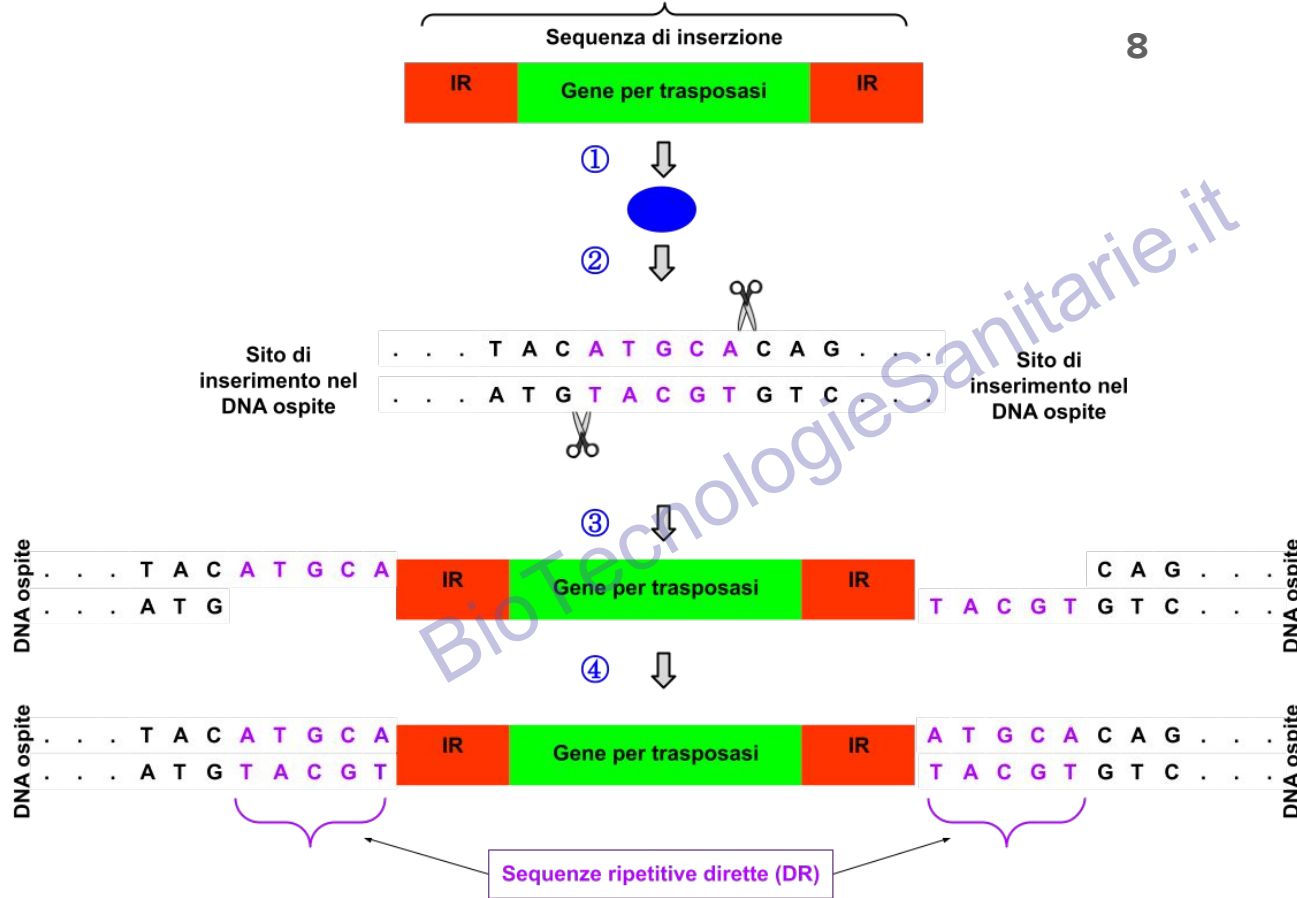


③ Il **taglio** applicato dalla trasposasi nel DNA ospite è **asimmetrico** e quindi si formano delle estremità dette appiccicose (sticky ends). La trasposasi però lascia intatte le sue estremità IR.

④ Una volta che la sequenza di inserzione si è trasferita nel sito del DNA ospite bisogna **colmare le lacune che si sono formate**. A questo provvedono la DNA polimerasi e la ligasi.

Trasposizione di una sequenza di inserzione

8



La conclusione che si può trarre dall'esame delle varie fasi della trasposizione di una sequenza di inserzione è che, a tutti gli effetti, si verifica una **duplicazione di una determinata sequenza di basi azotate del DNA ospite**. Una copia a ciascuna estremità del gene mobile. Queste **sequenze ripetitive sono dirette** e sono indicate in viola nell'immagine 7. In genere sono abbastanza corte, da 2 a 13 paia di basi azotate.

Il genoma batterico: trasposoni composti

Elementi trasponibili: sequenze di inserzione o IS.

Nel cromosoma di un batterio possono essere presenti più copie di un certo tipo di sequenza di inserzione. Per esempio in *Escherichia coli* ne sono state trovate da 6 a 10 copie.

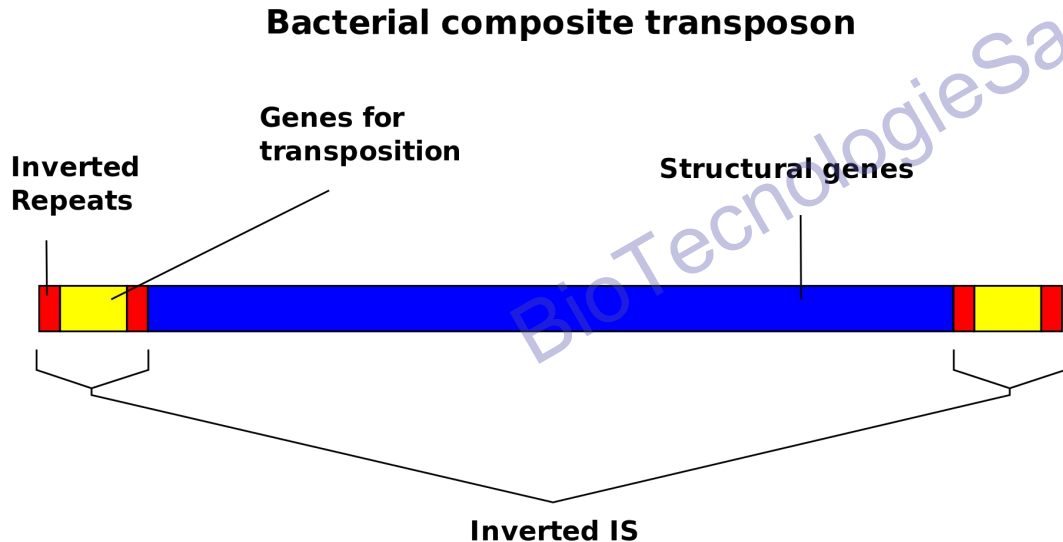
Anche i plasmidi le possono contenere.

Elementi trasponibili: trasposoni composti.

Questo tipo di gene saltante è più complesso perché comprende anche geni che non sono coinvolti direttamente nel meccanismo di trasposizione. Per esempio **i geni legati all'antibiotico-resistenza.**

Il genoma batterico: trasposoni composti

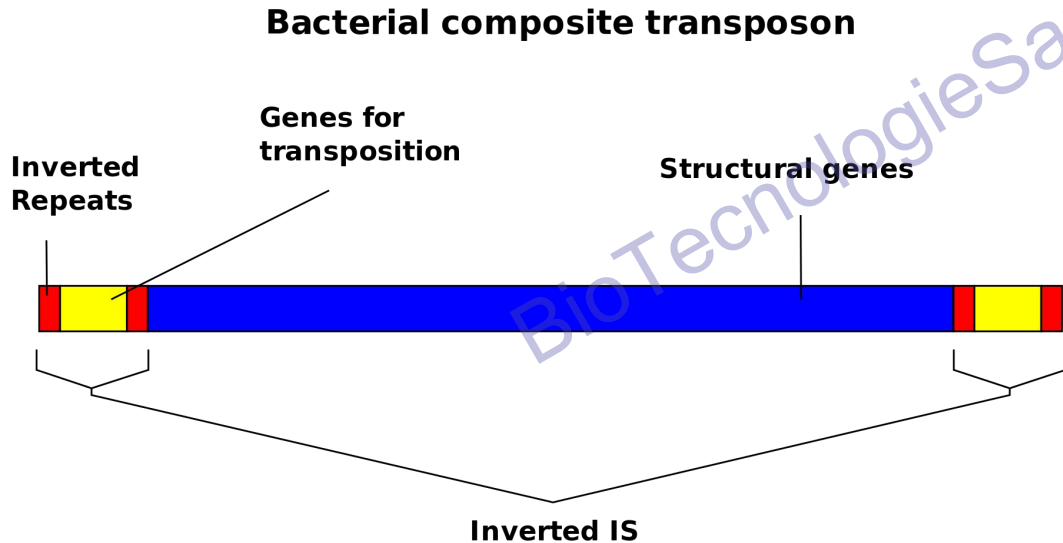
Elementi trasponibili: trasposoni composti.



L'immagine 9 mostra lo schema di uno di questi geni saltanti. In **blu** i geni strutturali (es. geni dell'antibiotico resistenza). In **giallo** e in **rosso** sono schematizzati gli elementi della sequenza di inserzione. Quindi i geni strutturali presentano alle estremità due sequenze di inserzione.

Il genoma batterico: trasposoni composti

Elementi trasponibili: trasposoni composti.



Le sequenze di inserzione garantiscono il meccanismo della trasposizione anche se sembra che non siano indispensabili. Infatti esistono trasposoni senza IS che contengono lo stesso al loro interno i geni per gli enzimi necessari ma senza IR.

Il genoma batterico: trasposoni coniugativi

Elementi trasponibili: trasposoni coniugativi.

Esistono anche trasposoni coniugativi in grado di trasferire geni all'interno di una popolazione batterica durante il fenomeno di coniugazione (di cui ci occuperemo in dettaglio più avanti).

Probabilmente questo fenomeno spiega il motivo della diffusione velocissima dell'antibiotico-resistenza. Basti pensare che dopo meno di 10 anni dalla messa in commercio delle prime formulazioni di antibiotici compariva un ceppo di *Shigella* (enterobatterio quindi appartenente al phylum Proteobacteria) pluri resistente alla penicillina, alla eritromicina e ai sulfamidici.

Il genoma batterico: modalità di trasposizione

Da ricordare anche che la modalità di trasposizione può essere:

- **non replicativa**, il gene mobile si stacca dal sito originario e si sposta verso il sito bersaglio;
- **replicativa**, il gene mobile si replica e una copia rimane nel sito originario mentre l'altra si sposta verso il sito bersaglio.

Il genoma batterico: modalità di trasposizione

In conclusione gli elementi trasponibili o geni saltanti o mobili sono in grado di trasferire geni:

- all'interno dello stesso cromosoma batterico;
- tra il cromosoma e un plasmide;
- tra plasmidi;
- tra cellule batteriche della stessa popolazione.

N.B. se un trasposone si inserisce all'interno di un gene strutturale lo inattiva.

Il genoma batterico: i trasposoni negli eucarioti

Anche gli eucarioti presentano i trasposoni con molte caratteristiche analoghe ma non tutto è completamente noto perchè la maggior parte degli studi è stata effettuata sui procarioti.

Le uniche differenze degne di nota riguardano i seguenti punti:

- se inattivano nel trasferimento un gene strutturale e nel distacco non lo danneggiano questo riprende la sua funzione;
- nelle piante e negli animali, uomo compreso, esistono anche i **retrotrasposoni**. Prima di essere trasferiti hanno bisogno di un passaggio intermedio a RNA. Quindi la sequenza di basi coinvolta viene prima autotrascritta a RNA e poi retrotrascritta a DNA grazie ad una trascrittasi inversa.

Il genoma batterico: confronto tra i DNA

Prendiamo come punto di riferimento il cromosoma di *Escherichia coli*, il batterio più studiato tanto è vero che è preso come modello.

Il suo DNA circolare è formato da circa $4,6 \times 10^6$ bp (base pairs), cioè 4,6 milioni di coppie di nucleotidi per un totale di 4288 geni.

Per precisione le paia di basi sono esattamente 4.639.221.

Se il suo cromosoma avesse una struttura rilassata formerebbe **una circonferenza di circa 1,5 mm.**

Se il DNA venisse completamente srotolato **la sua lunghezza sarebbe poco più di 1 mm.**

Ma il batterio è mediamente lungo da 1 a 2 μm .

Il genoma batterico: confronto tra DNA

Queste cifre ci portano a riflettere su due punti:

1. che differenza c'è tra un batterio e un organismo più evoluto dal punto di vista del numero di paia di basi azotate e del numero di geni?
2. per poter essere contenuto in una cellula di 1 o 2 μm di lunghezza evidentemente il DNA deve subire un compattamento, come negli eucarioti; le modalità sono le stesse?

Il genoma batterico: confronto tra DNA

Punto 1. Iniziamo col ricordare le unità di misura delle coppie di basi azotate o di nucleotidi; anche in italiano le chiamiamo **base pairs** ovvero **bp**. Ma questo vale in riferimento alla doppia elica del DNA. Se ci si riferisce alla singola molecola dell'RNA parleremo solo di **base** o **b**. Esistono diverse unità di misura.

- **kilobase** = 10^3 cioè 1000 nucleotidi; per l'RNA viene indicata come **kb** mentre una sequenza di 1000 coppie di nucleotidi per il DNA è indicata con **kbp**
- **megabase** = 10^6 cioè 1 milione di basi sarà **Mb** o **Mbp**
- **gigabase** = 10^9 cioè 1 miliardo di basi sarà **Gb** o **Gbp**

Quindi bisogna fare particolare attenzione sia quando si legge che quando si scrive.

Il genoma batterico: confronto tra DNA

Punto 1. È evidente quindi che il cromosoma di *Escherichia coli* con i suoi $4,6 \times 10^6$ paia di basi azotate può essere scritto anche come:

4,6 Mb

Tralasciamo la p perché stiamo esaminando un cromosoma, quindi una molecola di DNA.

La quantità di DNA è **100 volte superiore a quella di un tipico virus a DNA (5-300 kb)** ma è solo la millesima parte di quella presente in una cellula somatica umana (**3,1 Gb** che contengono circa **20.000 geni**).

Ricordo che il numero di geni in *Escherichia coli* è 4400.

Questi dati tenderebbero a farci pensare che il numero di basi aumenta con l'aumentare della complessità dell'individuo preso in esame.

Il genoma batterico: confronto tra DNA

Punto 1. Cominciamo con il confrontare il numero di cromosomi prendendo esempi da tutti i regni. Escludo i batteri per ovvi motivi. Cosa deduciamo?

| Organismo | Numero totale di cromosomi |
|-------------------------|----------------------------|
| Uomo | 46 |
| Cane | 78 |
| Gatto | 72 |
| Pesce rosso | 94 |
| Equiseto (felce) | 216 |

| Organismo | Numero totale di cromosomi |
|----------------------------|----------------------------|
| Formica australiana | Femmina 2 Maschio 1 |
| Lievito di birra | 16 |
| Sequoia gigante | 22 |
| Patata | 48 |
| Pomodoro | 24 |

Il genoma batterico: confronto tra DNA

| Organismo | Grandezza del genoma |
|--------------|----------------------|
| Procarioti | 0,5 - 13 Mb |
| Protozoi | 190 Mb |
| Funghi | 12 - 25 Mb |
| Piante | 125 - 120.000 Mb |
| Invertebrati | 97 - 5000 Mb |
| Vertebrati | 400 - 3300 Mb |
| Uomo | 3,055 Gb o 3055 Mb* |

Punto 1. Confrontiamo ora l'intervallo di grandezza del genoma nei vari regni prendendo come termine di paragone il genoma umano. Cosa deduciamo?

* [The complete sequence of a human genome](#)
[31 marzo 2022](#)

Il genoma batterico: confronto tra DNA

| Organismo | Numero di geni |
|--------------|----------------|
| Uomo | 19969* |
| Procarioti | 500 - 10000 |
| Funghi | 2000 - 13000 |
| Piante | 25000 - 60000 |
| Invertebrati | 12000 - 40000 |
| Vertebrati | 20000 - 50000 |

Punto 1. L'ultimo dato su cui si possono fare confronti è quello del numero di geni.

Cosa si può dedurre?

Aggiungiamo ora anche la colonna della slide precedente

* [The complete sequence of a human genome](#)
31 marzo 2022

Il dato si riferisce ai geni codificanti per proteine

Il genoma batterico: confronto tra DNA

| Organismo | Grandezza del genoma | Numero di geni |
|--------------|----------------------|----------------|
| Procarioti | 0,5 - 13 Mb | 500 - 10000 |
| Funghi | 12 - 25 Mb | 2000 - 13000 |
| Piante | 125 - 120.000 Mb | 25000 - 60000 |
| Invertebrati | 97 - 5000 Mb | 12000 - 40000 |
| Vertebrati | 400 - 3300 Mb | 20000 - 50000 |
| Uomo | 3,055 Gb o 3055 Mb | 19969 |

Punto 1. Quasi tutti si aspettano di trovare nell'uomo il maggior numero di geni e in effetti era anche l'idea dei ricercatori ma il sequenziamento del DNA e gli studi di genomica hanno dimostrato una realtà molto diversa. Un invertebrato o una pianta possono avere molti più geni dell'uomo. E ci sono vertebrati in posizione inferiore rispetto all'uomo nella scala evolutiva che hanno un numero di geni molto più alto (come il topo o un pesce).

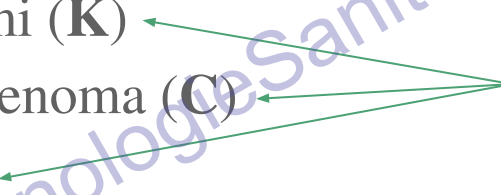
Il genoma batterico: confronto tra DNA

| Organismo | Numero di cromosomi | Grandezza del genoma | Numero di geni |
|---|---------------------|----------------------------|------------------------|
| Procarioti Escherichia coli | 1 1 | 0,5 - 13 Mb 4,6 Mb | 500 - 10000 4288 |
| Funghi Lievito di birra | 32 (diploide) | 12 - 25 Mb 12,5 Mb | 2000 - 13000 6000 |
| Piante Arabidopsis thaliana | 5 | 125 - 120.000 Mb 115 Mb | 25000 - 60000 25000 |
| Invertebrati Moscerino della frutta | 8 | 97 - 5000 Mb 132 Mb | 12000 - 40000 13767 |
| Vertebrati Pesce palla | 21 | 400 - 3300 Mb 300 Mb | 20000 - 50000 30000 |
| Uomo | 46 | 3,055 Gb o 3055 Mb | 19969 |

Il genoma batterico: paradossi della genomica

Punto 1.

Dall'analisi della tabella nella slide precedente appare evidente che la complessità di un organismo non è correlata

- al numero dei cromosomi (**K**)
 - alla grandezza del suo genoma (**C**)
 - al numero dei geni (**N**)
- Paradossi della genomica**
- 

In realtà ciò che è importante è la **densità genica** che registra il numero di geni per milioni di paia di basi o megabase. In altre parole non tutto il DNA è codificante. Nella slide successiva vengono proposti alcuni esempi dell'ultima tabella ma con qualche dato in più.

Il genoma batterico: densità genica

| Organismo | Grandezza del genoma | Percentuale codificante | Numero di geni | Densità genica stimata (N. geni/Mb) |
|---------------------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Procarioti Escherichia coli | 190 Mb 4,6 Mb | 88 | 500 - 10000 4288 | 932,2 |
| Funghi Lievito di birra | 12 - 25 Mb 12,5 Mb | 70 | 2000 - 13000 6000 | 480 |
| Piante Arabidopsis thaliana | 125 - 120.000 Mb 115 Mb | 29 | 25000 - 60000 25000 | 217,4 |
| Vertebrati Pesce palla | 400 - 3300 Mb 300 Mb | 15 | 20000 - 50000 30000 | 100 |
| Uomo | 3,055 Gb o 3055 Mb | 1,3 | 19969 | 6,5 |

Il genoma batterico: densità genica

Punto 1.

La tabella della slide precedente toglie ogni dubbio.

Mano a mano che saliamo nella scala evolutiva diminuisce la percentuale codificante e questo è testimoniato dalla diminuzione della densità genica.

In un batterio le regioni codificanti possono arrivare a coprire fino al 90% del genoma mentre nelle specie più evolute le percentuali si fermano anche al di sotto del 2% come nell'uomo.

Il genoma dei batteri è molto più piccolo e compatto rispetto a quello degli eucarioti e abbiamo già visto che è **alloggiato in genere in un unico cromosoma** circolare (pur con le eccezioni che abbiamo già esaminato per Batteri e Archeobatteri) e che **alcuni geni possono essere presenti nei plasmidi**.

Il genoma batterico: densità genica

Punto 1.

Da ricordare che la stragrande maggioranza dei geni codifica per proteine; molto limitata la percentuale di geni destinata alla sintesi dei vari RNA che quindi non ha bisogno della traduzione ma solo della trascrizione. E questo è un dato comune a procarioti ed eucarioti.

Un'altra grande differenza tra il genoma procariotico e quello eucariotico è la distribuzione degli introni. Da annotare subito l'assenza di introni nel regno Bacteria. Quindi in un genoma batterico la sequenza di nucleotidi che caratterizza un gene non viene interrotta da sequenze non codificanti, gli introni appunto.

La presenza degli introni nell'uomo spiega come mai la lunghezza media di un gene è 27000 paia di basi mentre in un batterio è solo 1000 paia.

Il genoma batterico: densità genica

Punto 1.

Rimane da valutare la situazione degli introni nel regno Archaea. Gli Archeobatteri hanno molte similitudini con i Batteri ma anche notevoli differenze, tra cui gli introni. Allo stato attuale delle conoscenze introni sono stati individuati nei geni legati alla sintesi di t-RNA e di r-RNA e di pochi geni codificanti per proteine. Il che avvicina molto più gli archeobatteri agli eucarioti rispetto ai batteri.

Attualmente ci sono molti studi in corso su questo tema e potrebbe essere necessario un aggiornamento nei prossimi anni.

Il genoma batterico: superavvolgimento del DNA

Punto 2.

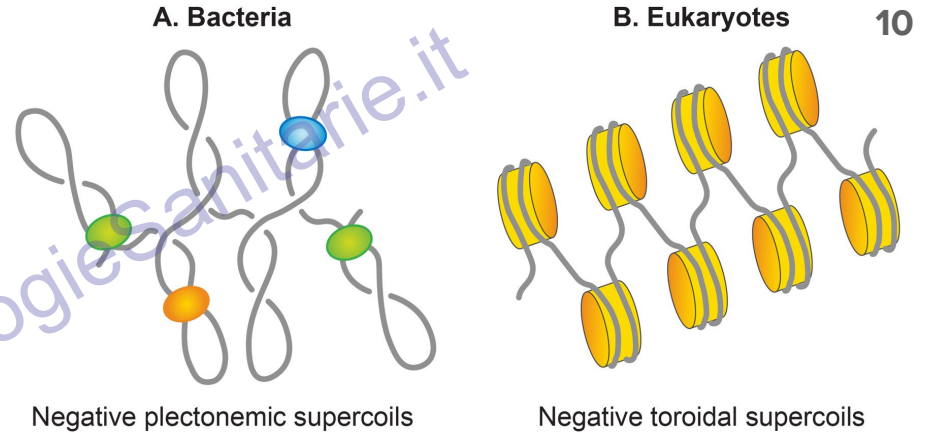
Rispondiamo ora al secondo quesito: per poter essere contenuto in una cellula di 1 o 2 μm di lunghezza evidentemente il DNA deve subire un compattamento, come negli eucarioti; le modalità sono le stesse? Gli studi portati avanti in diversi centri di ricerca e con l'utilizzo di strumenti sempre più sofisticati hanno dimostrato che **anche il DNA batterico subisce un compattamento** ma con qualche variazione rispetto agli eucarioti che va sottolineata perché comporta differenze nella replicazione e nella sintesi proteica.

Il genoma batterico: superavvolgimento del DNA

Punto 2.

Gli **eucarioti** avvolgono il loro DNA intorno a proteine basiche dette istoni con le quali formano i nucleosomi.

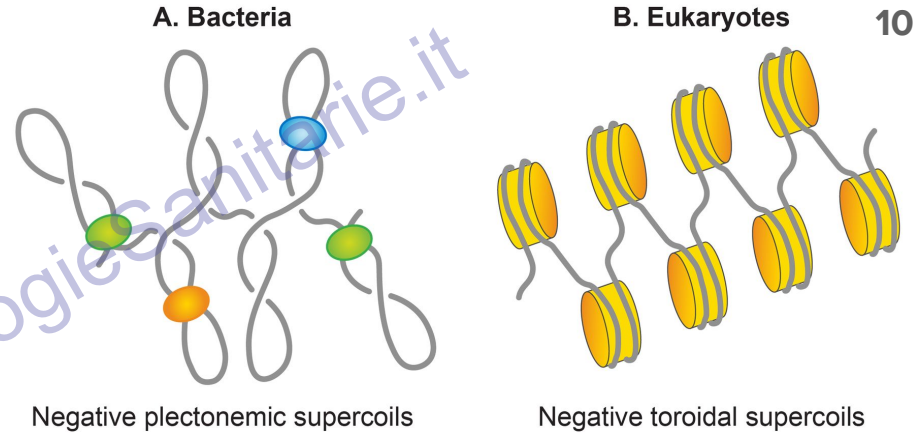
I **procarioti** non formano nucleosomi. Il loro DNA prende contatto con proteine simil-istoniche (proteine associate ai nucleoidi = NAP) che nel disegno sono rappresentate dalle palline colorate.



Il genoma batterico: superavvolgimento del DNA

Punto 2.

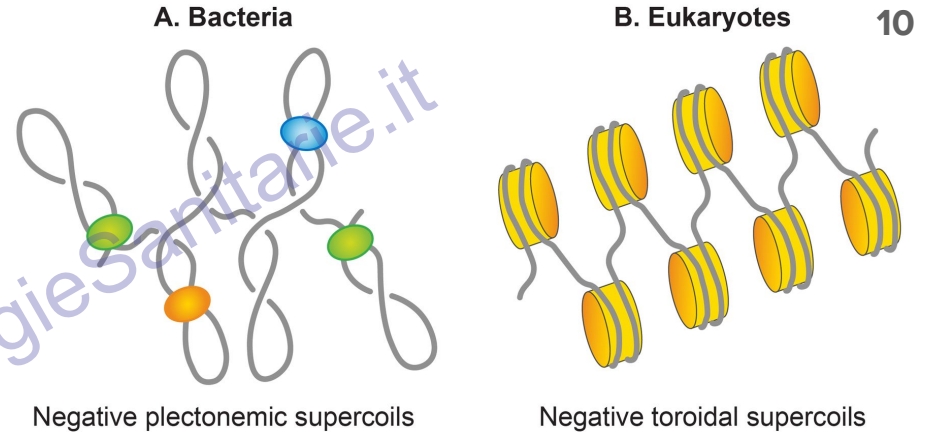
Nei batteri e negli eucarioti il compattamento avviene per **superavvolgimento in senso negativo** cioè in senso opposto a quello in cui si avvolge il DNA. Solo negli Archaea termofili si verifica un superavvolgimento in senso positivo che li protegge da rotture della molecola. Ma ora osserviamo meglio la figura perché c'è un'altra differenza da sottolineare.



Il genoma batterico: superavvolgimento del DNA

Punto 2. Negli **eucarioti** il superavvolgimento si presenta in una forma toroidale, cioè l'asse della doppia elica è avvolto intorno ad un cilindro come un solenoide.

Nei **procarioti** invece il superavvolgimento si presenta in una forma diversa in quanto l'asse della doppia elica è avvolto su se stesso e forma anse plectonemiche. È un po' come quando si attorciglia un elastico. Le anse sembrano collegate alla membrana citoplasmatica.



Il genoma batterico: superavvolgimento del DNA

Punto 2. Quindi il **nucleoide** di una cellula batterica è la zona in cui troviamo il DNA superavvolto cioè compattato al punto da poter stare all'interno della cellula che è decisamente più piccola. Ma chi si occupa dell'inserimento o della rimozione dei superavvolgimenti? abbiamo imparato che la molecola del DNA è una struttura altamente dinamica in qualsiasi essere vivente e che risponde ad esigenze funzionali interne e a variazioni ambientali esterne. Le **topoisomerasi** (DNA girasi) sono gli enzimi che regolano i superavvolgimenti. Le analizzeremo nelle prossime slide.

La replicazione del DNA nei procarioti

BioTechnologySanitarie.it

La replicazione del DNA batterico

La replicazione del DNA batterico segue il modello semiconservativo ipotizzato da Watson e Crick che fu verificato alla fine degli anni '50 del secolo scorso con un brillante esperimento condotto da Matthew Meselson e Franklin Stahl su *Escherichia coli*. Niente di nuovo sotto il sole. Ma rispetto agli eucarioti delle differenze ci sono. Se non altro perché il cromosoma batterico è per lo più circolare.

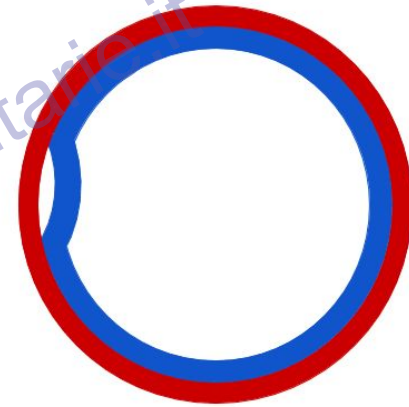
Inoltre sono numerosi gli enzimi impegnati in questo processo che anche nei batteri avviene efficacemente, in velocità e accuratezza, garantendo il passaggio del genoma e dei geni che contiene da una generazione cellulare alla successiva. Ma gli enzimi sono gli stessi?

La replicazione del DNA batterico

Seguiamo il processo prendendo come punto di riferimento Escherichia coli perché ormai sappiamo che è un modello nel campo della microbiologia e il processo di replicazione è quindi noto.

La replicazione è bidirezionale e parte da un'origine di replicazione.

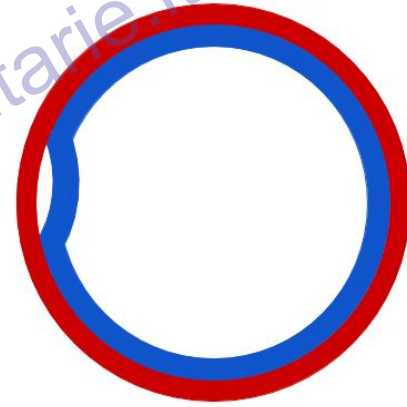
In altre parole la replicazione avviene in due direzioni (che si allontanano) partendo da un punto di origine.



La replicazione del DNA batterico

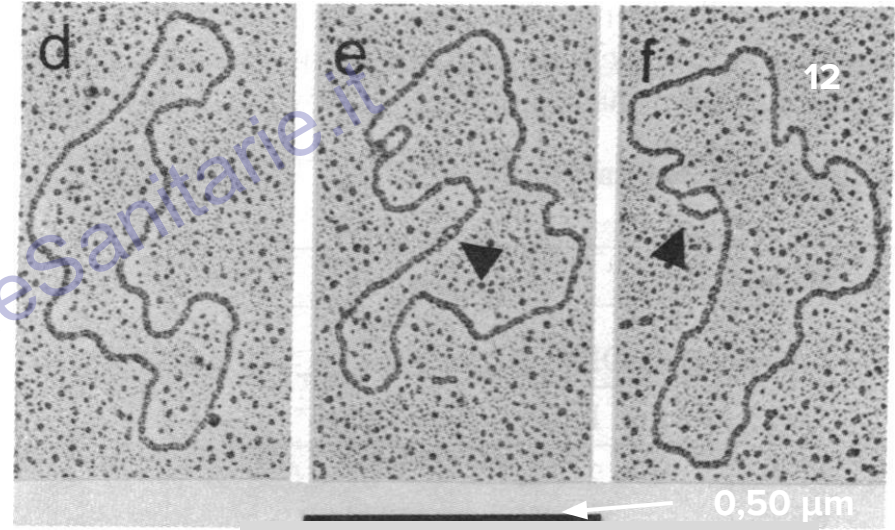
Si formano così 2 nuove molecole di DNA identiche, ciascuna delle quali contiene un filamento stampo della molecola originale, indicato nella gif animata da linee continue, e un nuovo filamento, indicato invece da linee tratteggiate.

Nelle slide successive andremo ad analizzare le varie fasi (**inizio**, **allungamento** e **terminazione**).



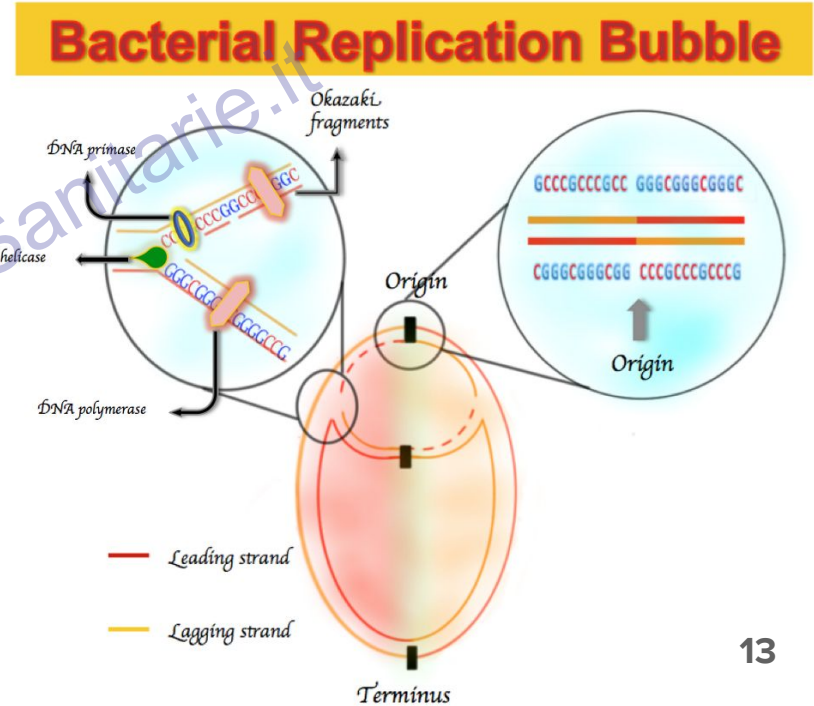
La replicazione del DNA batterico

La figura 12 è formata da fotografie scattate al microscopio elettronico che immortalano le fasi iniziali della replicazione. In realtà non è il cromosoma batterico, sono **plasmidi** ma riescono lo stesso a far capire cosa succede. Sappiamo che le modalità di replicazione sono analoghe. Tutti e tre i plasmidi non sono superavvolti ma sono rilassati. Mentre la molecola d non si sta replicando le frecce nella e e poi nella f (soprattutto nella f) indicano l'inizio della replicazione: la **formazione della bolla di replicazione**.



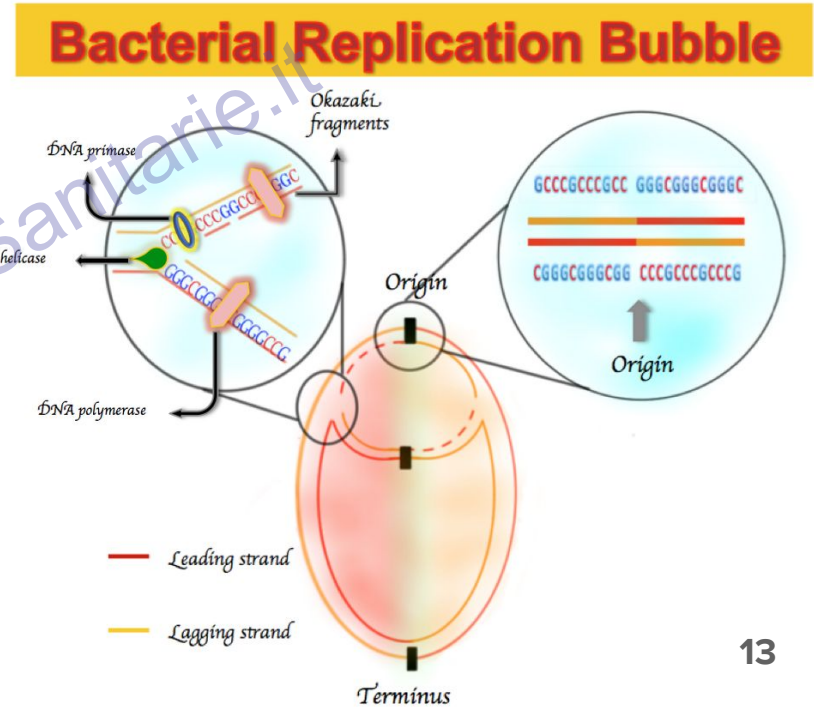
La replicazione del DNA batterico: **inizio**

Inizio. La figura 13 evidenzia la formazione della bolla di replicazione con un disegno. Ogni cromosoma o plasmide ha **una sola origine di replicazione (oriC)**, cioè una sequenza specifica di basi azotate che devono essere riconosciute da proteine che legandosi ad essa determinano l'apertura della doppia elica e la formazione della bolla.



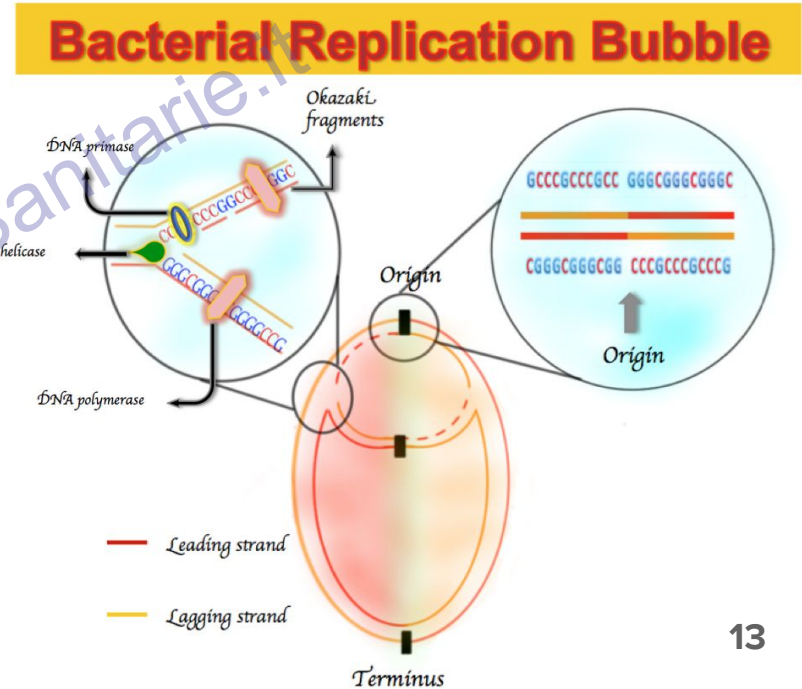
La replicazione del DNA batterico: **inizio**

Inizio. A ciascuna estremità della bolla si forma una struttura che assomiglia ad una Y (**forca o forcella di replicazione**) su cui va ad agire l'**enzima elicasi** che taglia i ponti ad idrogeno tra le basi azotate per separare i due filamenti parentali di DNA. Il taglio però produce un avvolgimento molto stretto e una notevole tensione a monte della forcella.



La replicazione del DNA batterico: **inizio**

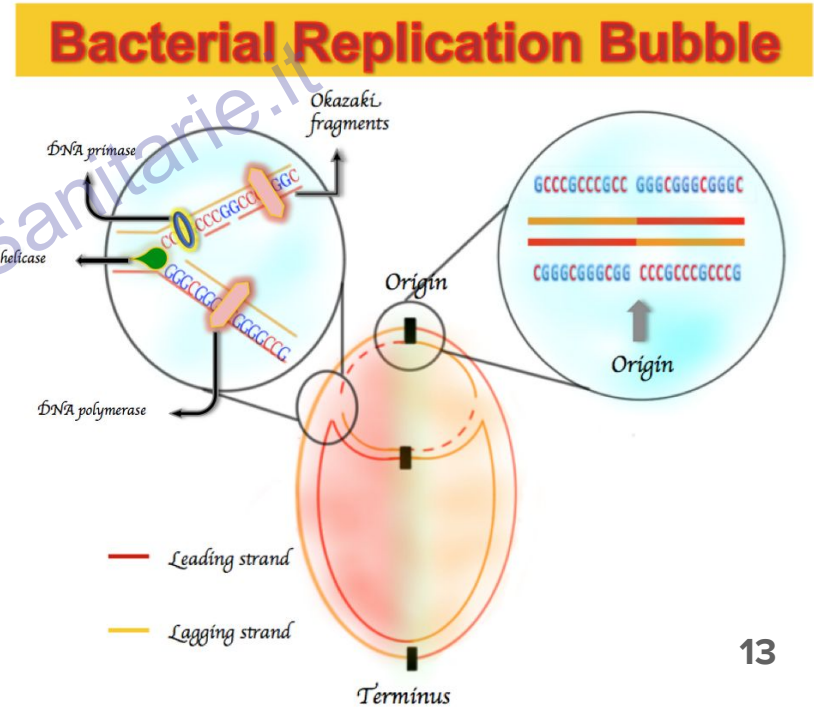
Inizio. A questo punto interviene la **topoisomerasi**, un altro enzima che, agendo sui due filamenti della doppia elica, ne provoca la rottura, la rotazione necessaria per diminuire la tensione e la successiva unione delle estremità separate. L'enzima non è indicato in questa immagine, lo vedremo all'opera in un figura successiva.



La replicazione del DNA batterico: **inizio**

Inizio.

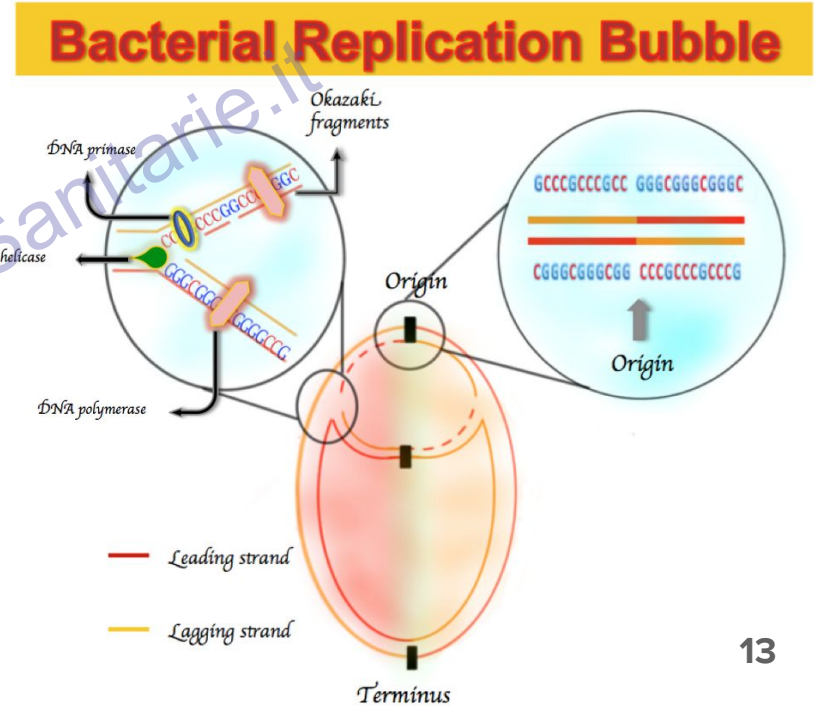
Nel frattempo in prossimità della forcella, a valle, si legano proteine specifiche che impediscono che si verifichi il naturale accoppiamento tra basi azotate complementari; in altre parole impediscono che si riuniscano i filamenti parentali nella doppia elica.



La replicazione del DNA batterico: **inizio**

Inizio. Le due forcelle di replicazione procedono lungo la doppia elica in direzione opposta.

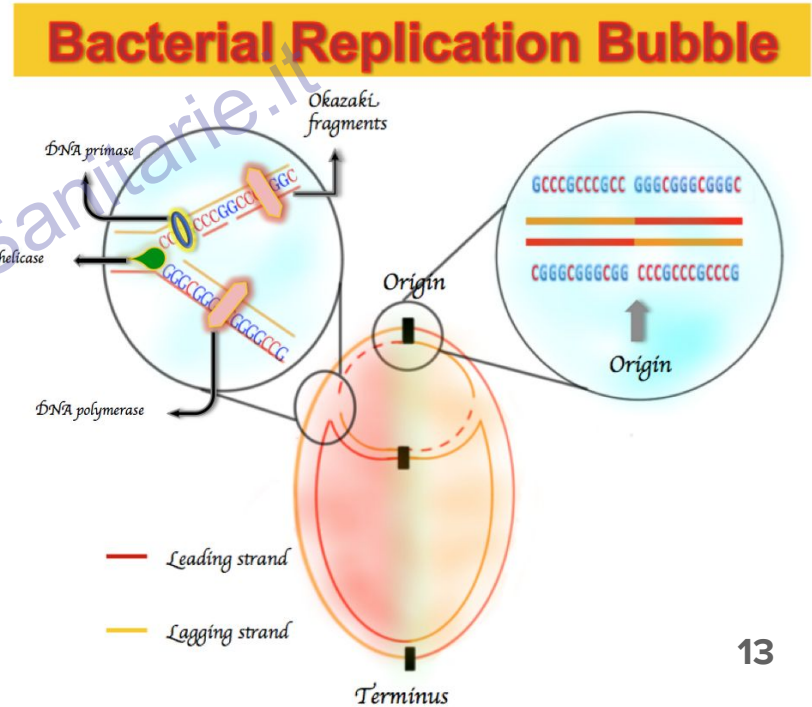
A questo punto i **filamenti parentali**, ormai distesi, possono servire da stampo per la sintesi di nuovi filamenti polinucleotidici, complementari a quelli parentali. Il processo è affidato alle **DNA polimerasi**. Bisogna usare il plurale perché in *E. coli* ne esistono diverse.



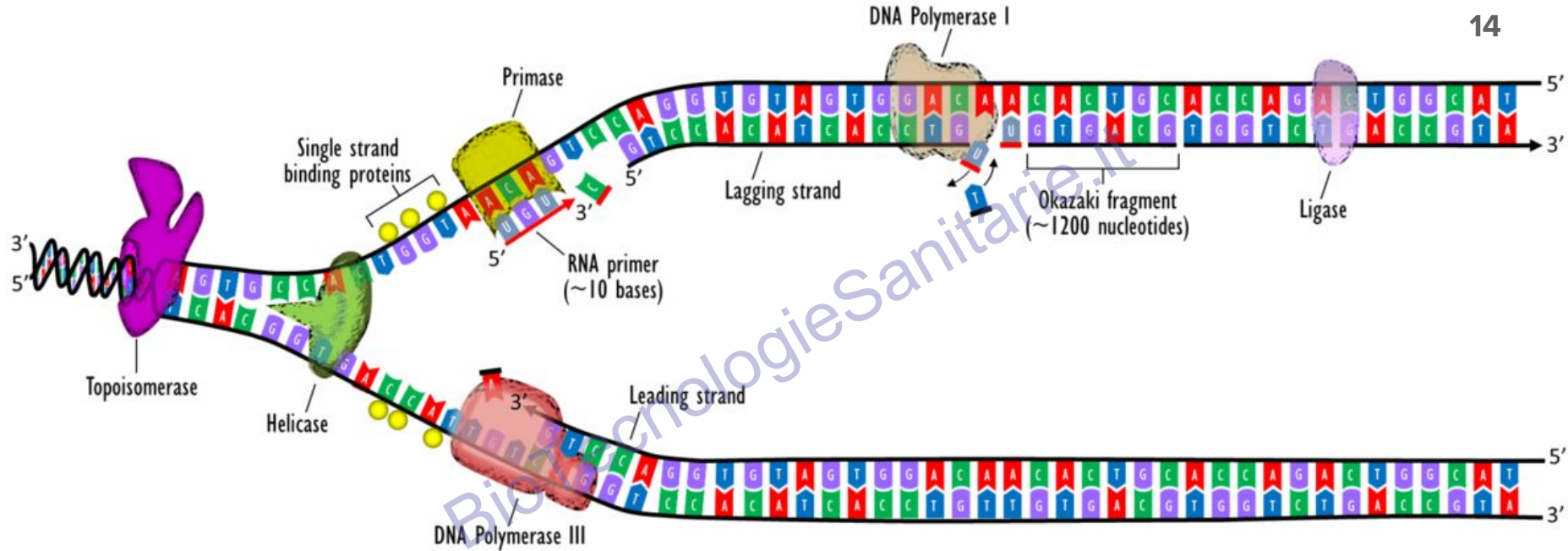
La replicazione del DNA batterico: **inizio**

Inizio. Tra le diverse DNA polimerasi coinvolte sembra che le più importanti siano la **DNA polimerasi III (DNA pol III)** e la **DNA polimerasi I (DNA pol I)**.

In ogni caso le DNA polimerasi non riescono a iniziare la sintesi, possono solo aggiungere nucleotidi alla estremità 3' di una catena già presente. Per questo motivo nella fase iniziale interviene l'**enzima primasi** che catalizza la sintesi di un **primer**.

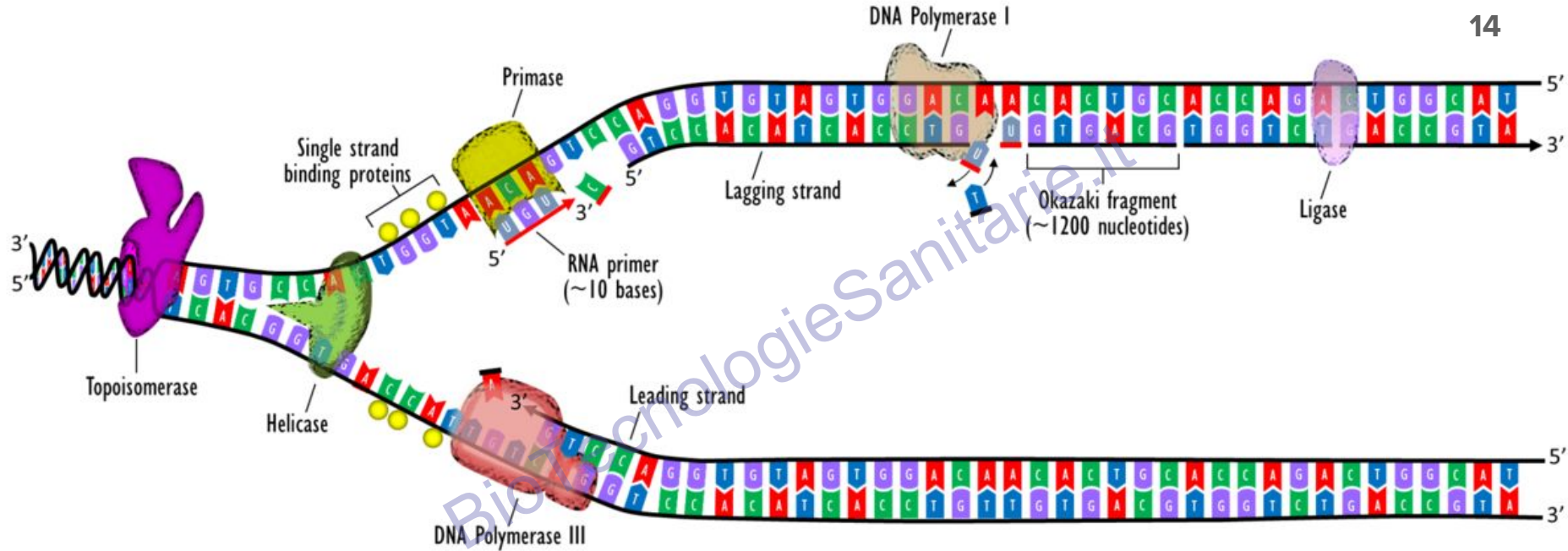


La replicazione del DNA batterico: **inizio**



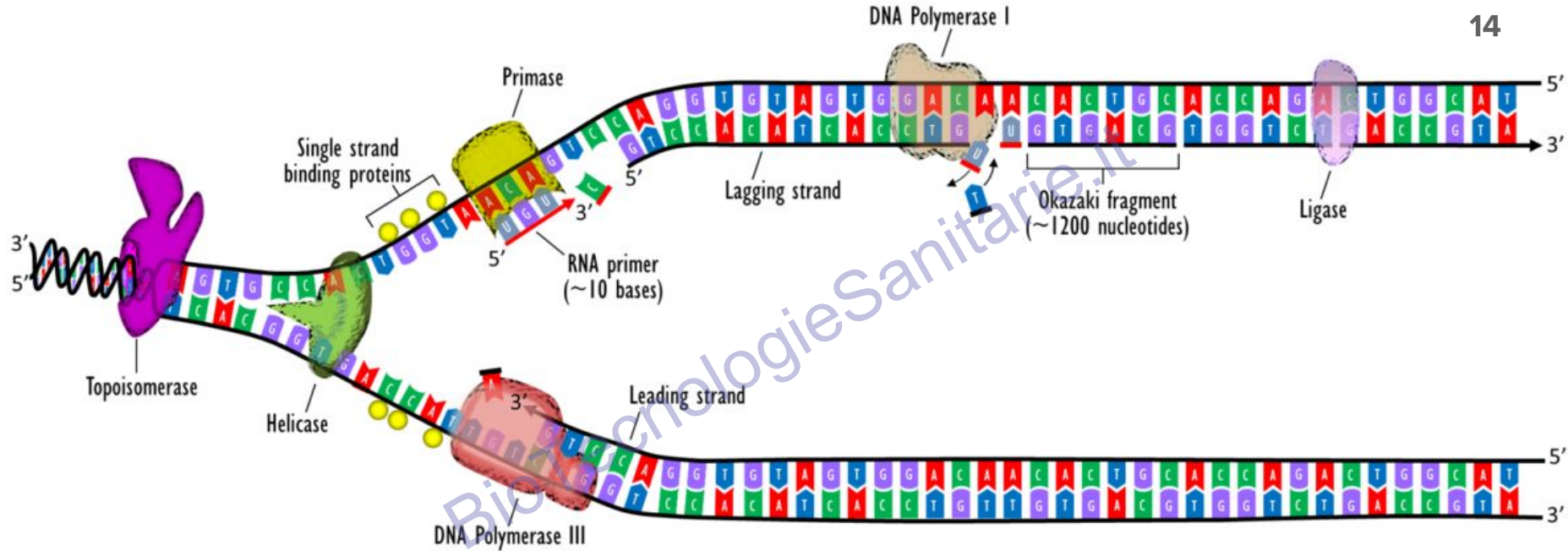
Inizio. Abbandoniamo la figura 13 e osserviamo attentamente la figura 14. **N.B.** Rappresenta solo una delle due forcelle di replicazione. Riconosciamo la topoisomerasi e la elicasi al lavoro. Le single strand binding protein sono le proteine che si legano al filamento disteso per evitare l'appaiamento tra i due filamenti parentali appena separati (SSBP).

La replicazione del DNA batterico: **inizio**



Inizio. Tutto è organizzato al meglio e strutturato in modo che il processo sia continuo e preciso. Fissiamo ora l'attenzione sul **primer**. L'indicazione sul disegno ci dice che è una sequenza di RNA di circa 10 basi azotate. L'enzima primasi catalizza la sua sintesi trasferendo un nucleotide dietro l'altro in modo complementare alle basi esposte sul filamento parentale di DNA.

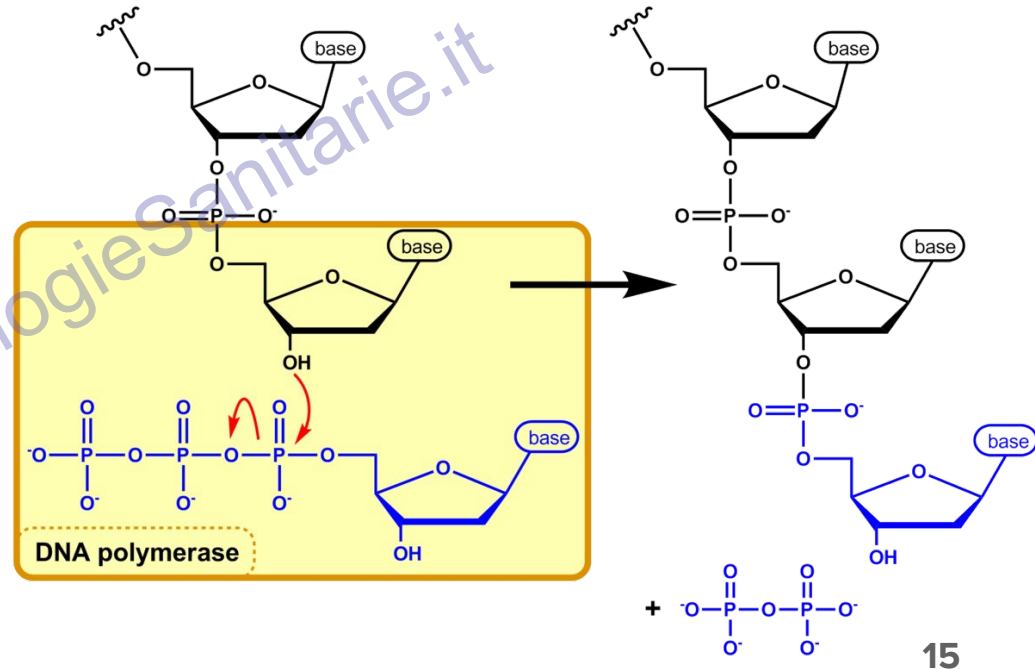
La replicazione del DNA batterico: **inizio**



Inizio. Il disegno è realizzato molto bene e indica con precisione che la **DNA polimerasi III** può, ora, aggiungere il nucleotide all'estremità libera 3' della catena di RNA. La seguente slide mostra come avviene questa aggiunta. Dall'**inizio** passiamo alla seconda fase, l'**allungamento**.

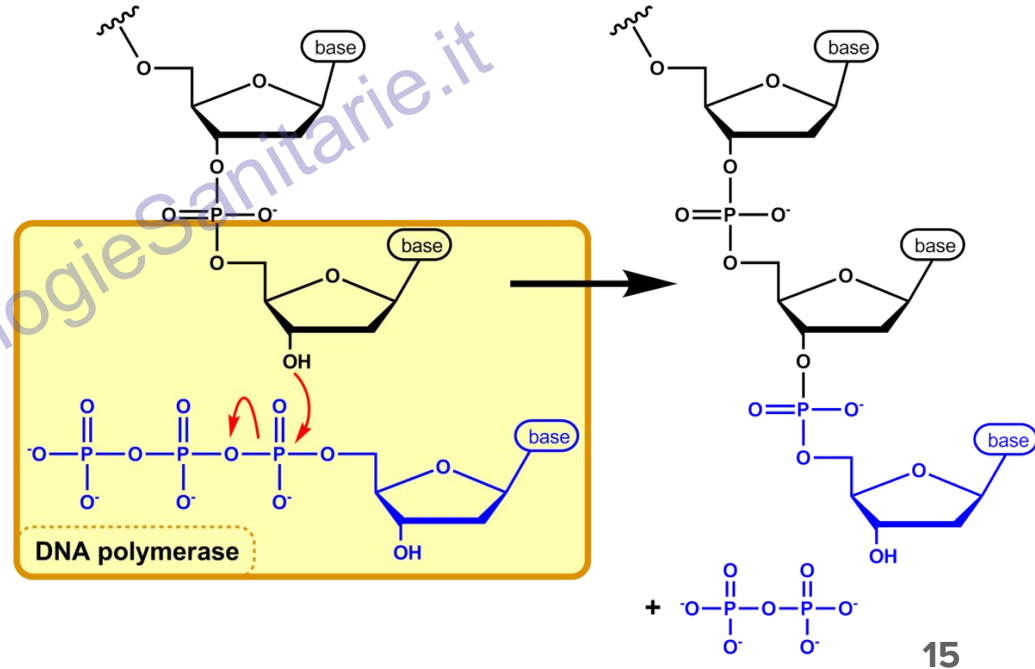
La replicazione del DNA batterico: allungamento

Allungamento. La figura 15 si legge seguendo la freccia da sinistra verso destra. I mattoni di costruzione dei nuovi filamenti vengono scelti dalla DNA polimerasi III tra molecole note come **nucleosidi trifosfato** (in blu a sinistra). Ognuno di essi è composto da una delle basi azotate che già conosciamo come componenti degli acidi nucleici, da uno zucchero pentoso (base + zucchero = nucleoside) e da tre gruppi fosfato.



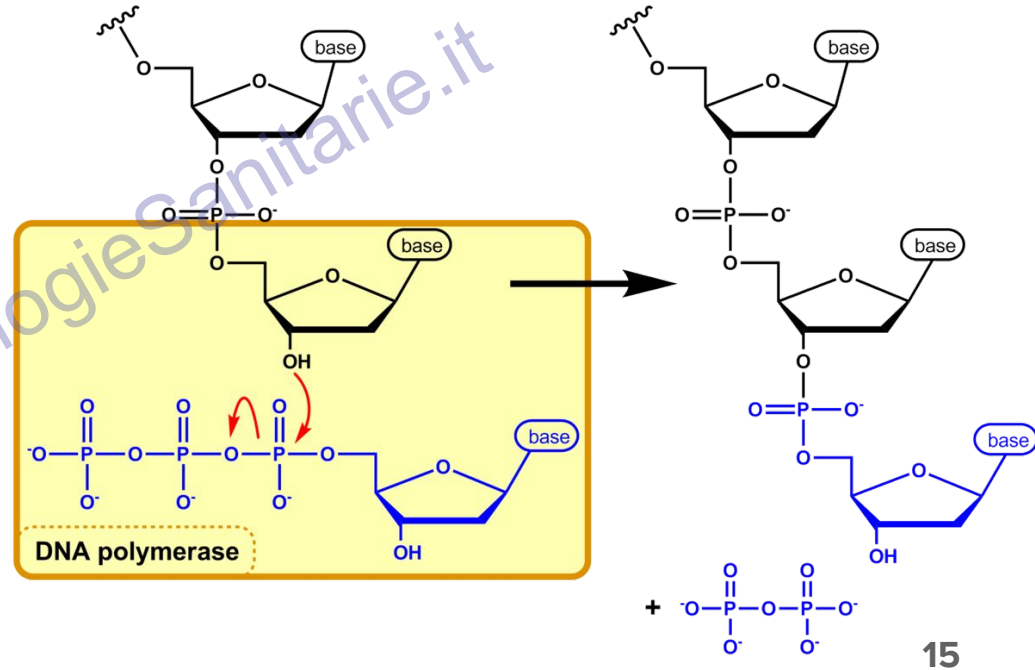
La replicazione del DNA batterico: allungamento

Allungamento. La DNA polimerasi III, chiamata d'ora in poi **DNA pol III** per brevità, sceglie il nucleoside trifosfato in base alle regole della complementarietà ma deve avere a disposizione, per completare l'operazione, un gruppo ossidrilico libero in posizione 3'. L'intero processo comporta la liberazione di due gruppi fosfato (PP_i), il pirofosfato, che verrà poi idrolizzato a fosfato inorganico.

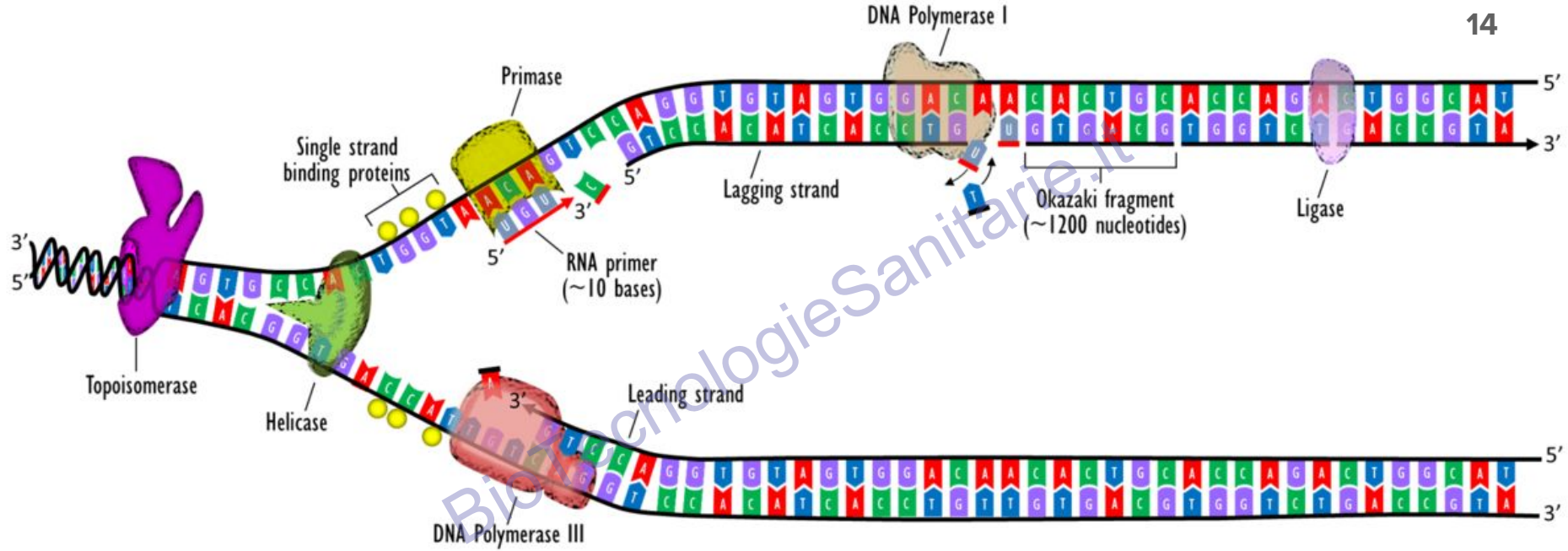


La replicazione del DNA batterico: allungamento

Allungamento. In questo modo abbiamo spiegato come la DNA pol III aggiunge il suo primo nucleotide all'RNA primer dando il via alla nascita effettiva del nuovo filamento. L'allungamento avviene però sempre nello stesso modo, nucleotide dopo nucleotide, rispettando la lettura dello stampo. La velocità di allungamento è pari a 500 nucleotidi al secondo.

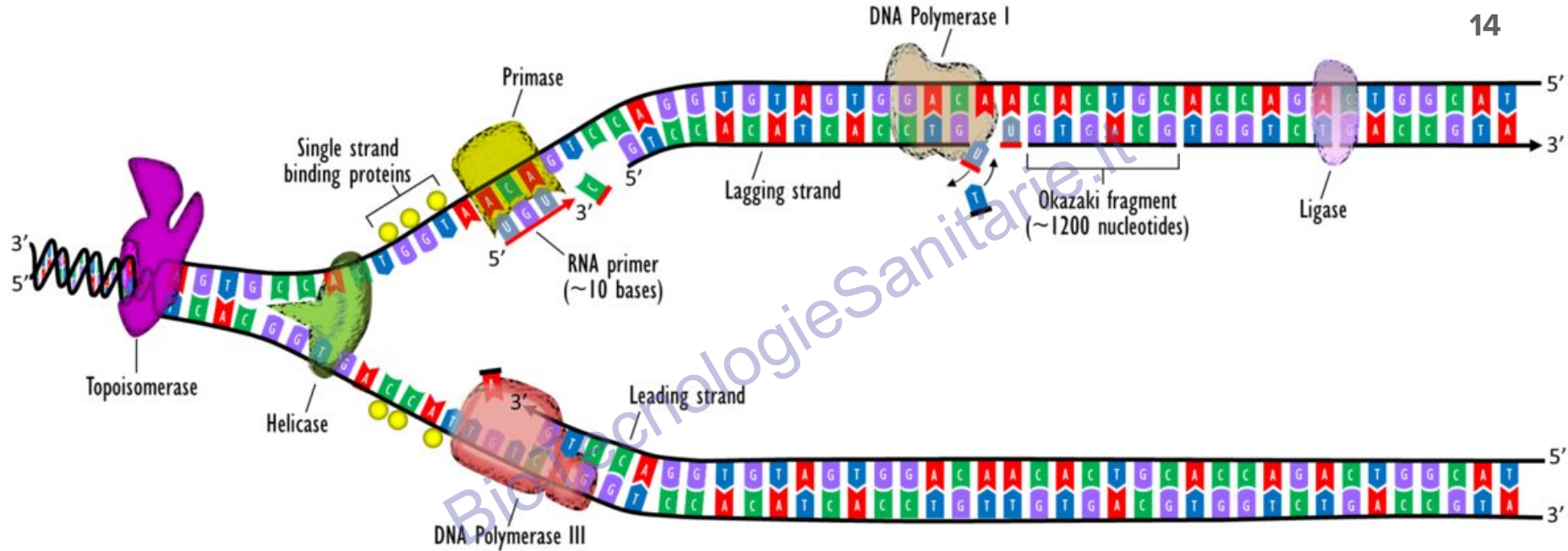


La replicazione del DNA batterico: allungamento



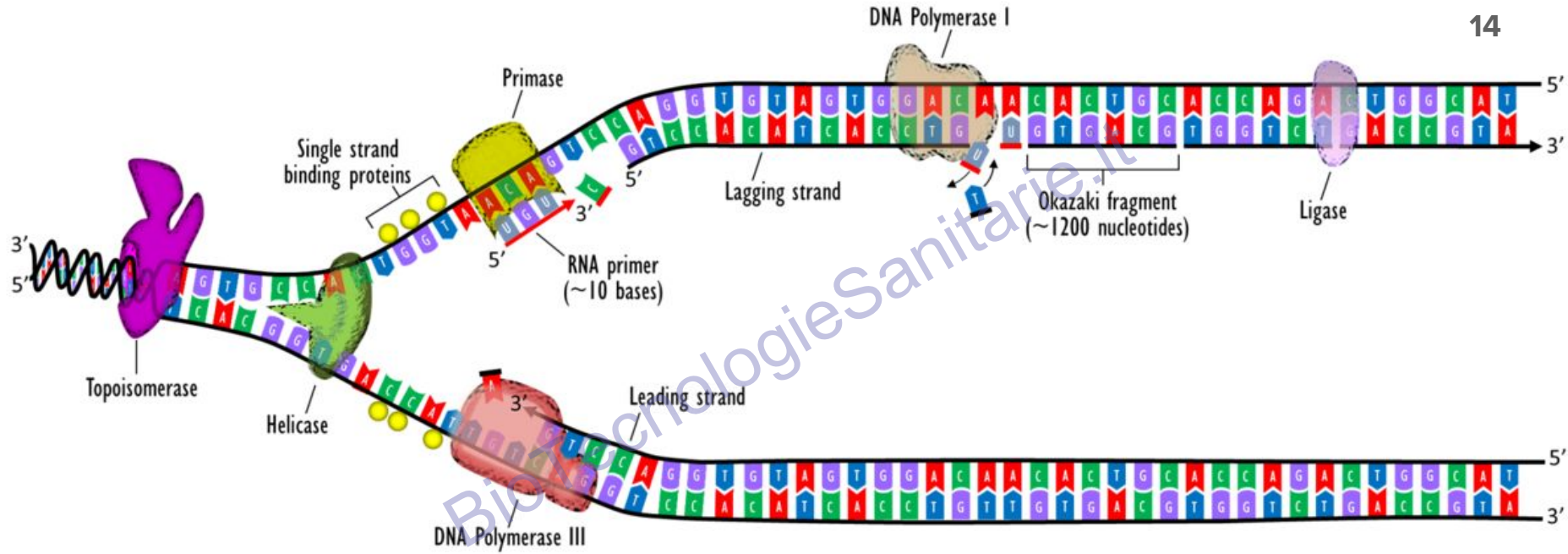
Allungamento. La figura 14 ci aiuta a capire meglio la formazione dei due nuovi filamenti. La DNA pol III che copia il filamento parentale 5' - 3' (in basso), dal momento che lavora in direzione 5' - 3', va verso la forcella di replicazione e forma il nuovo filamento in modo continuativo. Avanza verso la forcella mentre questa contemporaneamente continua a separare i filamenti parentali.

La replicazione del DNA batterico: allungamento



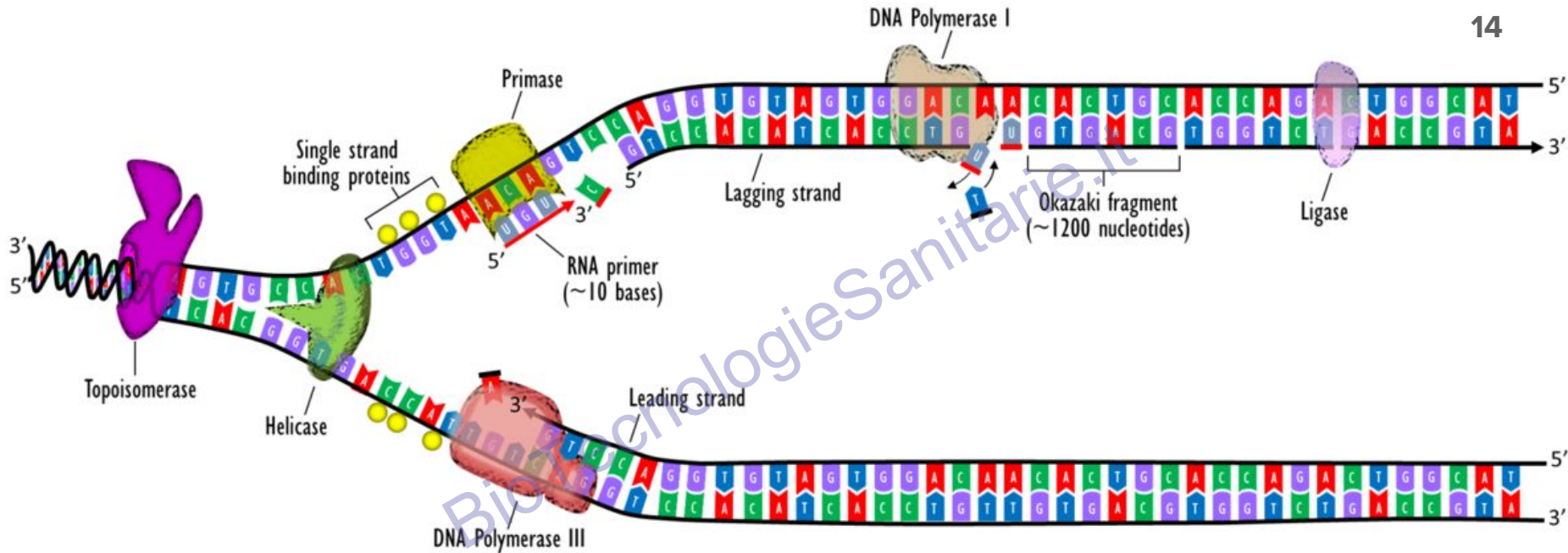
Allungamento. I due filamenti, quello nuovo e quello parentale, non solo rispettano la complementarità tra basi ma anche l'antiparallelismo. Il nuovo filamento in via di formazione prende il nome di **filamento guida** (leading strand). In questo caso basta un solo primer, quello che si è formato all'inizio subito dopo l'apertura della forcella di replicazione.

La replicazione del DNA batterico: allungamento



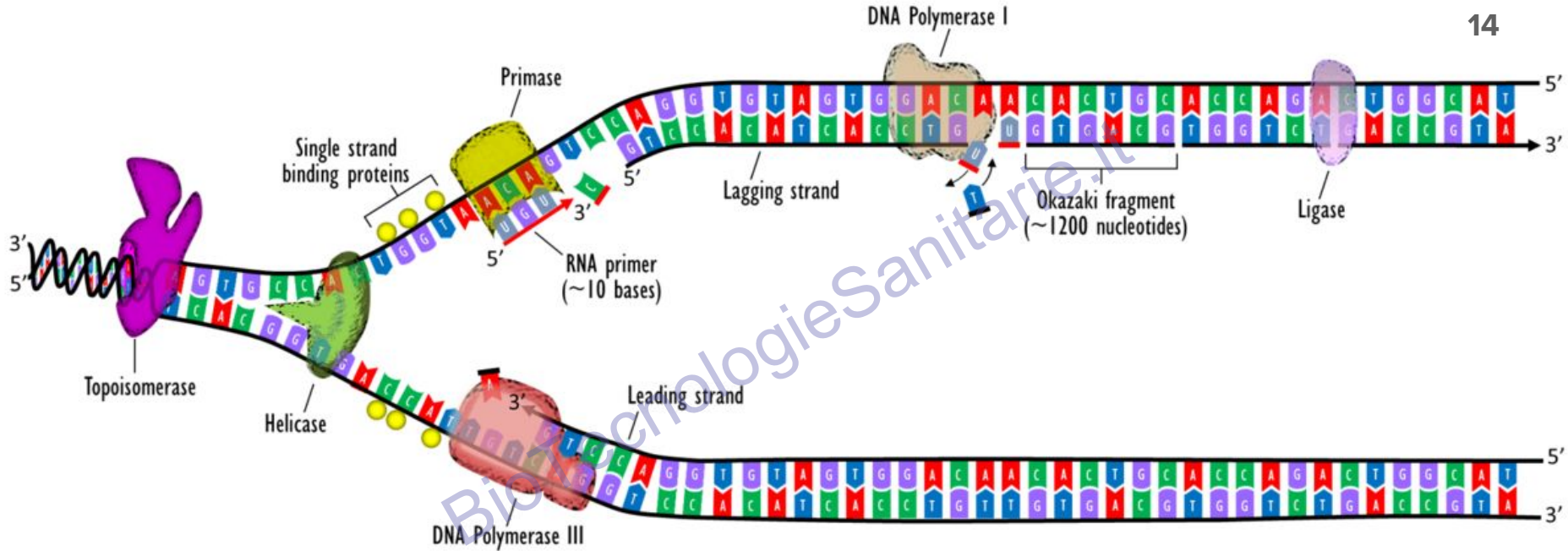
Allungamento. Diversa la situazione che si crea per la DNA pol III che copia il filamento parentale 3' - 5' (in alto). Ricordiamo che anche qui l'enzima deve rispettare la sua direzione di lavoro, 5' - 3'. Quindi la DNA pol III deve allontanarsi dalla forcella di replicazione. Vediamo perché. L'enzima aggiunge il primo nucleotide all'estremità 3' dell'RNA primer e poi prosegue secondo la freccia rossa ma ...

La replicazione del DNA batterico: allungamento



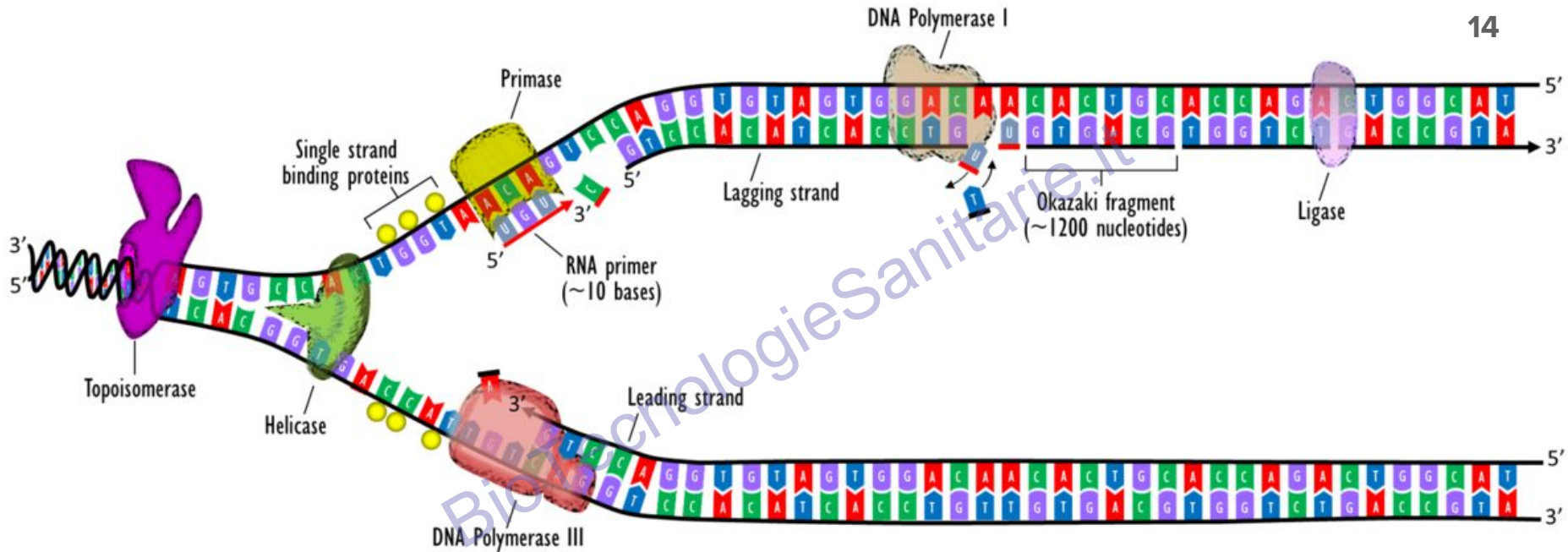
Allungamento. ... ma nel frattempo l'elicasi continua a separare i due filamenti parentali della doppia elica. Questo significa che sarà necessario formare un altro RNA primer, più vicino del precedente alla forcella di replicazione che accoglierà un'altra polimerasi pronta a formare un altro tratto di nuovo filamento. Il secondo nuovo filamento, quindi, viene sintetizzato in tanti frammenti.

La replicazione del DNA batterico: allungamento



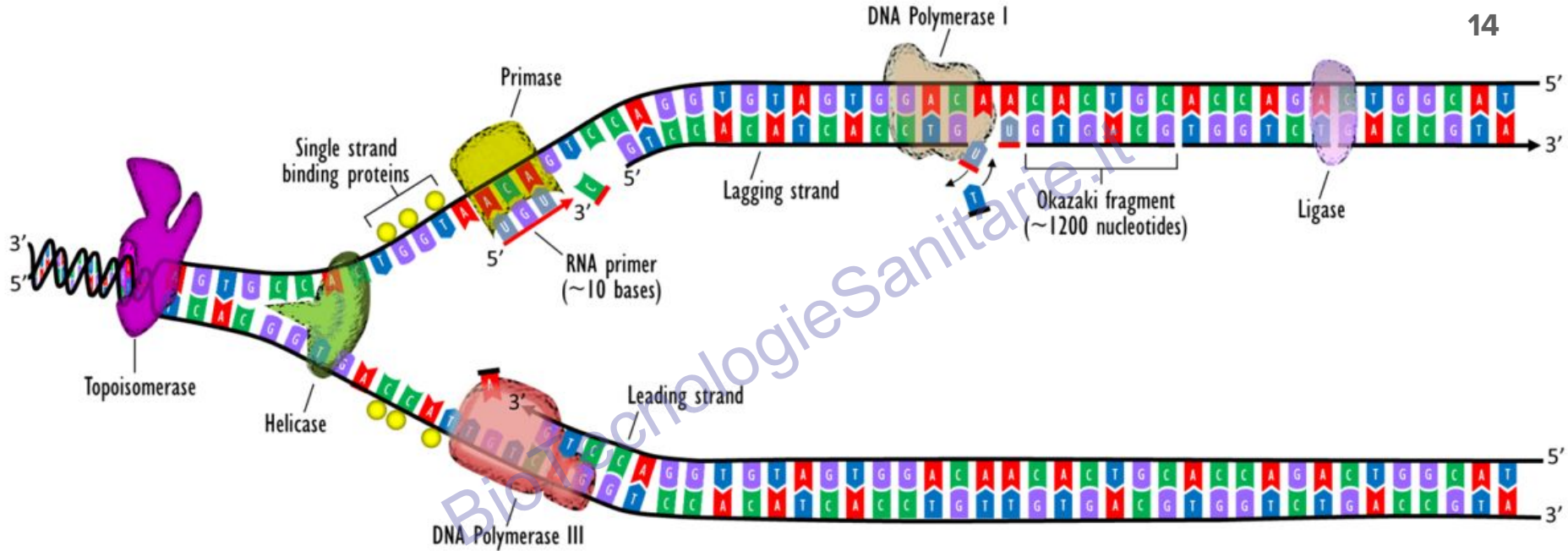
Allungamento. Sono i **frammenti di Okazaki**, dal nome dello scienziato che li ha scoperti. Sono in genere di una lunghezza variabile da 1000 a 2000 nucleotidi in *E. coli*. E sono preceduti da altrettanti RNA primer. Il nuovo filamento è più lento nella velocità di sintesi e prende il nome di **filamento ritardato** (lagging strand).

La replicazione del DNA batterico: allungamento



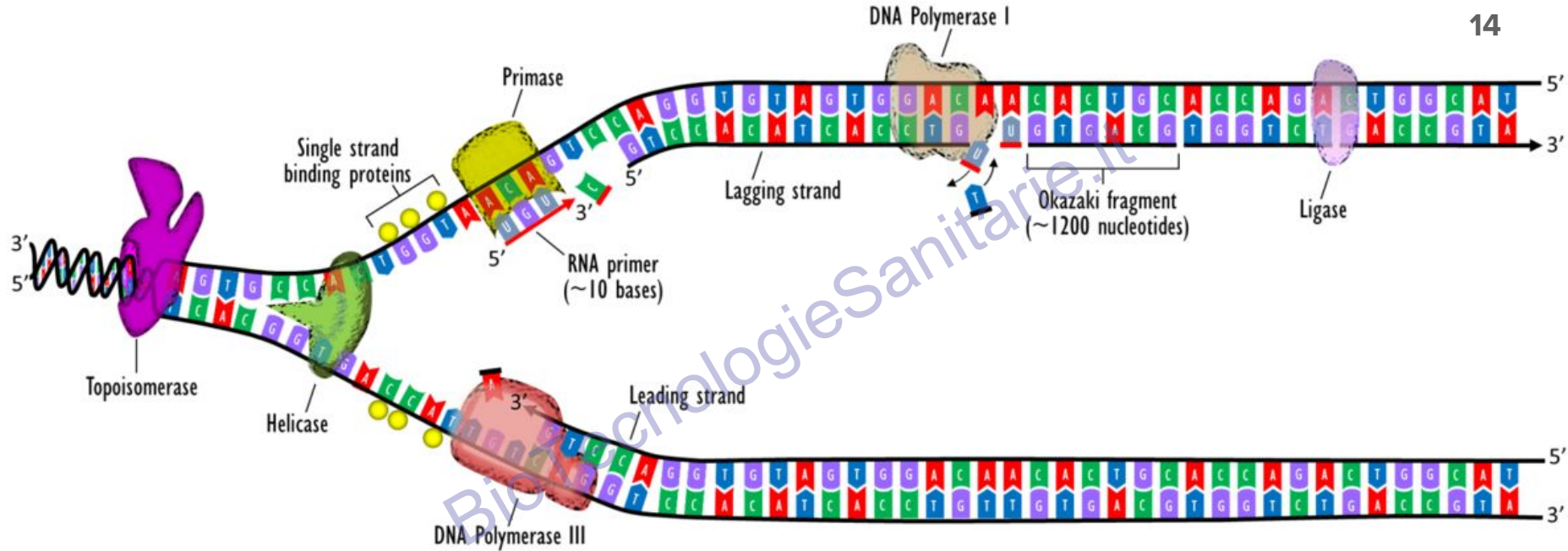
Allungamento. Il tutto è comunque una macchina perfetta. Mentre la DNA pol III sintetizza il nuovo frammento, la **DNA pol I** sostituisce i nucleotidi dell'RNA primer a valle con nucleotidi di DNA. Ma questo enzima non è in grado di legare l'ultimo nucleotide del frammento di Okazaki su cui sta lavorando al primo del successivo frammento. A questo pensa l'enzima **ligasi**.

La replicazione del DNA batterico: allungamento



Allungamento. Tutti gli enzimi che partecipano alla replicazione semiconservativa del DNA costituiscono l'**apparato di replicazione del DNA**. Il grado di efficienza raggiunto è determinato dalle interazioni proteina-proteina. Per esempio la primasi ha un ruolo fondamentale perché controlla l'avanzamento della forcella e il posizionamento del primer su tutti e due i filamenti.

La replicazione del DNA batterico: allungamento



Allungamento. Considerando che gli enzimi sono molto più voluminosi dei filamenti di DNA si può facilmente immaginare quanto sia ingombrante l'apparato di replicazione del DNA. Per questo motivo è il DNA a muoversi al suo interno piuttosto che l'inverso. Straordinario, vero? Ma la straordinarietà dei batteri e delle cellule eucariote non si esaurisce qui.

Replicazione DNA batterico: riparazione dei danni

Allungamento.

Le DNA polimerasi sono dei veri e propri factotum. Mentre aggiungono un nucleotide dietro l'altro controllano il lavoro fatto e se l'appaiamento delle basi azotate non è corretto sono in grado di sostituire il nucleotide sbagliato. Infatti alcune DNA polimerasi hanno anche la capacità di scindere enzimaticamente le catene polinucleotidiche di DNA.

Replicazione DNA batterico: riparazione dei danni

Allungamento.

In uno dei tanti sistemi di riparazione del DNA chiamato **escissione (rimozione) delle basi (BER)** sono in gioco minimo 3 enzimi:

- una endonucleasi che taglia i legami fosfodiesteri coinvolti;
- una DNA polimerasi che usa il filamento stampo per inserire il nucleotide giusto;
- una DNA ligasi che forma nuovamente i legami fosfodiesteri.

Replicazione DNA batterico: riparazione dei danni

Allungamento.

Gli errori durante la replicazione sono $1/100.000$ ma nell'intero DNA si riducono a $1/10.000.000.000$ (1 su 10 miliardi) a replicazione completata. Provate a calcolare quanto è più basso il tasso di errore per capire il livello di efficienza di questa molecola. Gli errori nel DNA sono mutazioni ma è bene ricordare che le mutazioni non si verificano solo in seguito alla replicazione dell'acido nucleico. Il DNA è sottoposto, infatti, ad attacchi fisici e chimici più volte al giorno. Gli attacchi chimici possono nascere sia nell'ambiente esterno all'organismo che in quello interno.

Replicazione DNA batterico: riparazione dei danni

Allungamento.

Tutto ciò è oggetto di altre presentazioni.

Per il momento sono disponibili:

- le mutazioni, i relativi agenti chimici e fisici e le conseguenze a livello umano (xenobiotici e mutagenesi)
- i meccanismi di riparazione del DNA nelle cellule eucariote

La replicazione del DNA batterico: termine

Termine. Ritorniamo ora alla replicazione del DNA con la fase terminale che avviene grazie a precise sequenze nucleotidiche (una per ciascuna forcella) e all'attivazione di una proteina (Tus) che impedisce ad ogni forcella di proseguire nella direzione non di sua competenza. In realtà l'arresto avviene automaticamente ma l'apparato molecolare funziona come ulteriore controllo. Le due nuove copie di DNA, ciascuna delle quali conserva un filamento vecchio appaiato con il filamento nuovo, hanno inizialmente l'aspetto di due anelli interconnessi. La separazione dei due anelli è a carico della topoisomerasi 2.

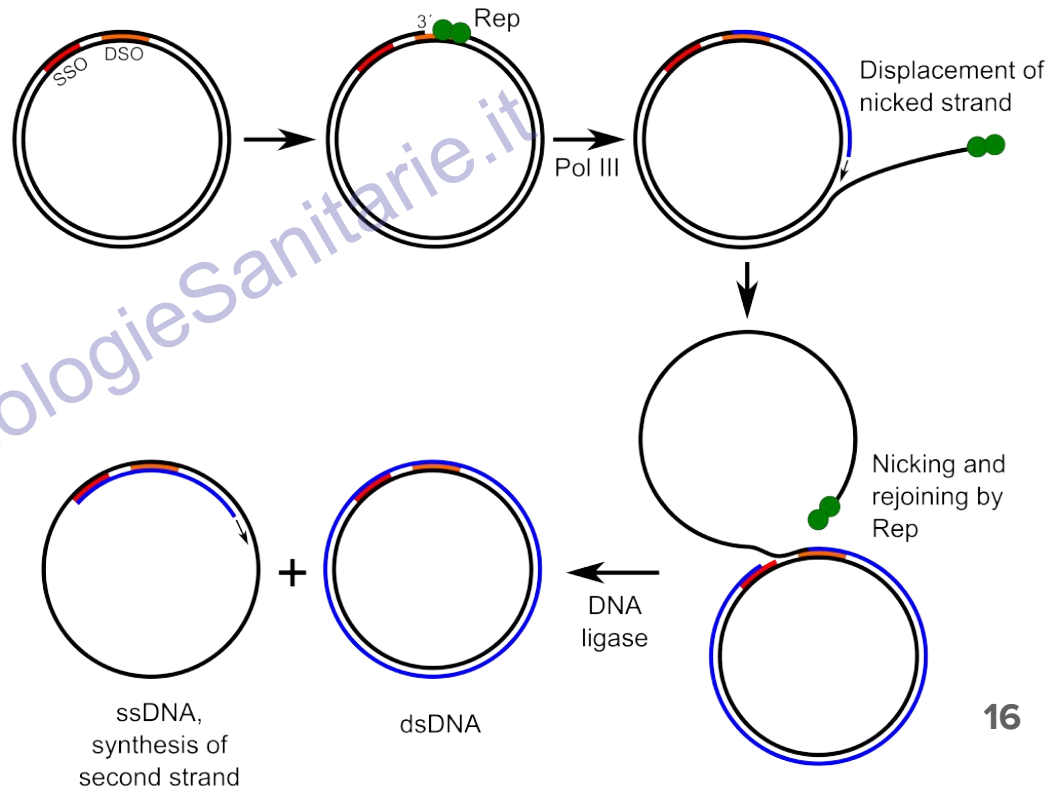
La replicazione del DNA batterico

La modalità di replicazione del DNA batterico che abbiamo appena esaminato viene chiamata **Teta** come l'ottava lettera dell'alfabeto greco ma ne esistono anche altre.

Molto interessante è la **replicazione del cerchio rotante (rolling circle replication)** che è tipica dei plasmidi e di alcuni virus a DNA circolare a singolo filamento e che è stata vista durante il processo di coniugazione tra due batteri, di cui ci occuperemo a breve. Il prodotto finale sono numerose molecole circolari.

Replicazione DNA batterico: rolling circle r.

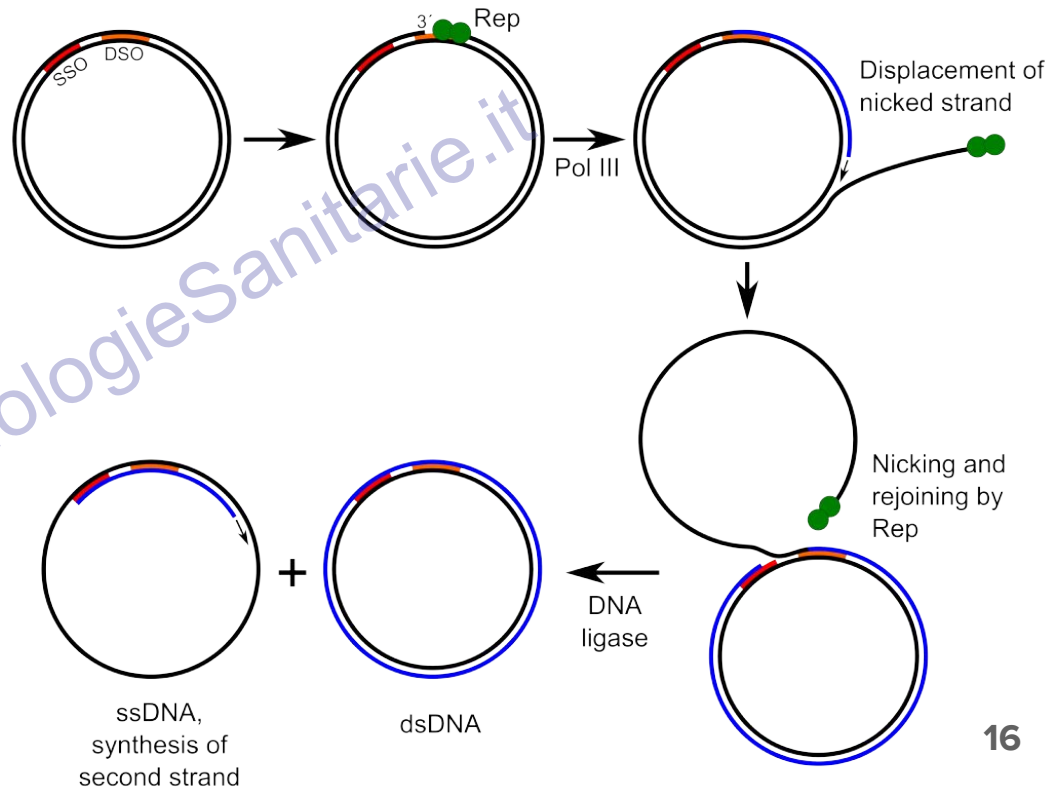
Seguiamo lo schema di lato relativo ad un plasmide per capire il processo. Si parte da una molecola di DNA circolare a doppio filamento (in alto a sinistra). Se il DNA è quello di un virus è a filamento singolo, viene raddoppiato. Tutto ha inizio con la codifica da parte del plasmide di una **proteina Rep** che a tutti gli effetti dà origine al processo perché si lega all'origine del doppio filamento (**double-strand origin o DSO**).



Replicazione DNA batterico: rolling circle r.

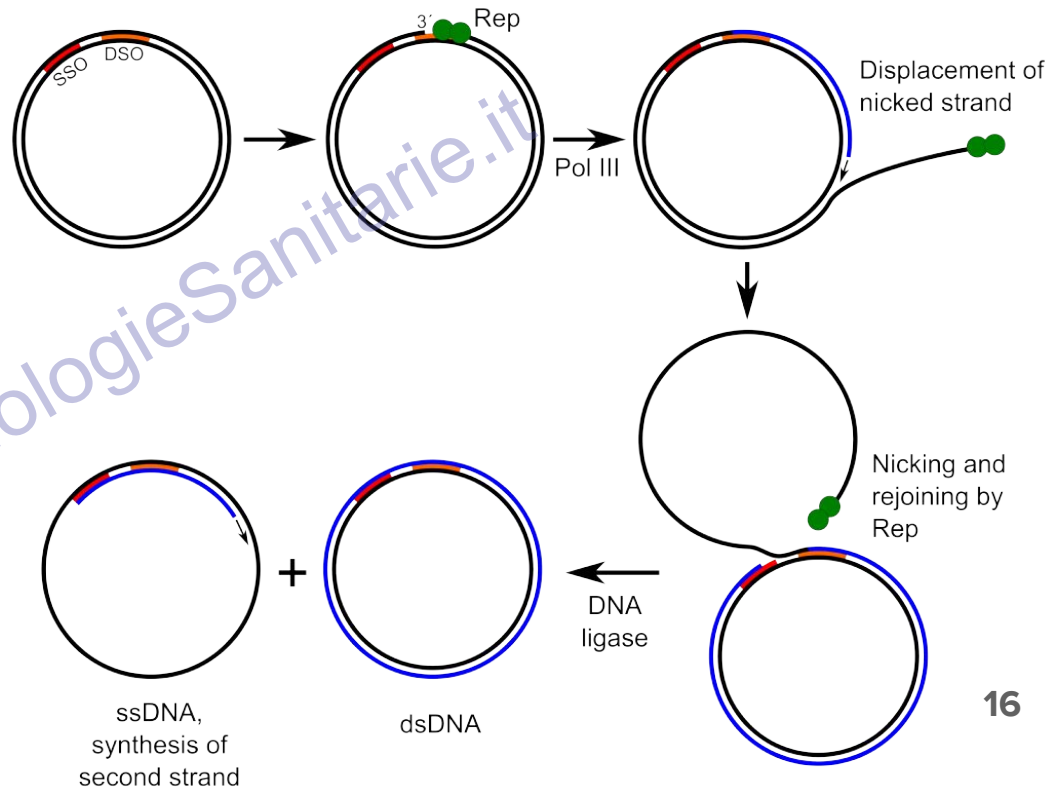
La proteina Rep taglia uno dei filamenti ottenendo un'estremità 3' con il gruppo ossidrile libero e una estremità 5' con il gruppo fosfato a cui si lega la proteina Rep.

L'estremità 3' viene subito sfruttata per produrre il primer su cui potrà cominciare a lavorare la DNA pol III che va a copiare le basi via via esposte del filamento non tagliato che fa quindi da stampo. In questo modo si forma il filamento guida.



Replicazione DNA batterico: rolling circle r.

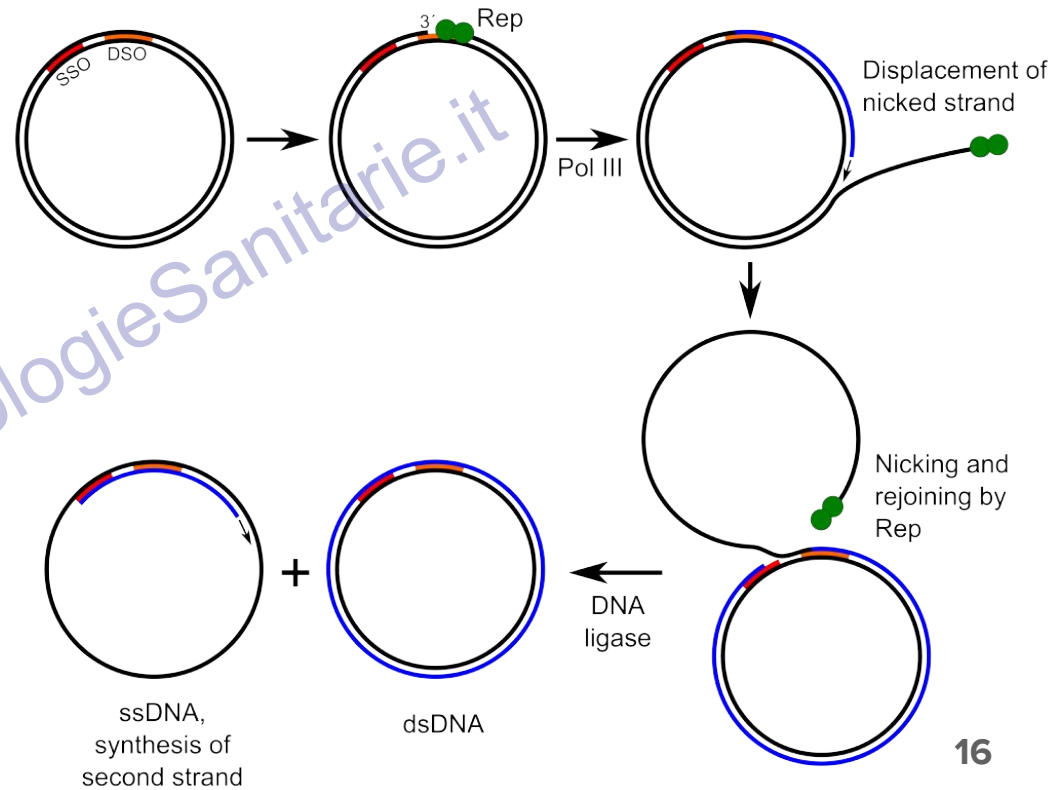
Il filamento guida è colorato in blu nel disegno. Mentre la DNA pol III procede nel suo lavoro, il filamento tagliato, dalla parte dell'estremità 5' legata alla proteina Rep, viene dislocato (spostato) come filamento singolo (terza immagine in alto). Quando la DNA pol III arriva al punto DSO le due estremità 3' e 5' si legano di nuovo e si forma una molecola di DNA a doppio filamento (dsDNA) + il filamento dislocato.



Replicazione DNA batterico: rolling circle r.

La dsDNA è una molecola a doppia elica formata da un filamento vecchio (nero) e da uno nuovo (blu).

Il filamento dislocato può rimanere come DNA lineare ma può richiudersi anch'esso e in questo caso può riattivare un processo analogo al precedente. La proteina Rep si legherà questa volta ad un punto diverso, l'origine del singolo filamento (SSO), come si può vedere nell'ultima immagine in basso a sinistra in cui il filamento in blu in via di formazione sarà il filamento ritardato.



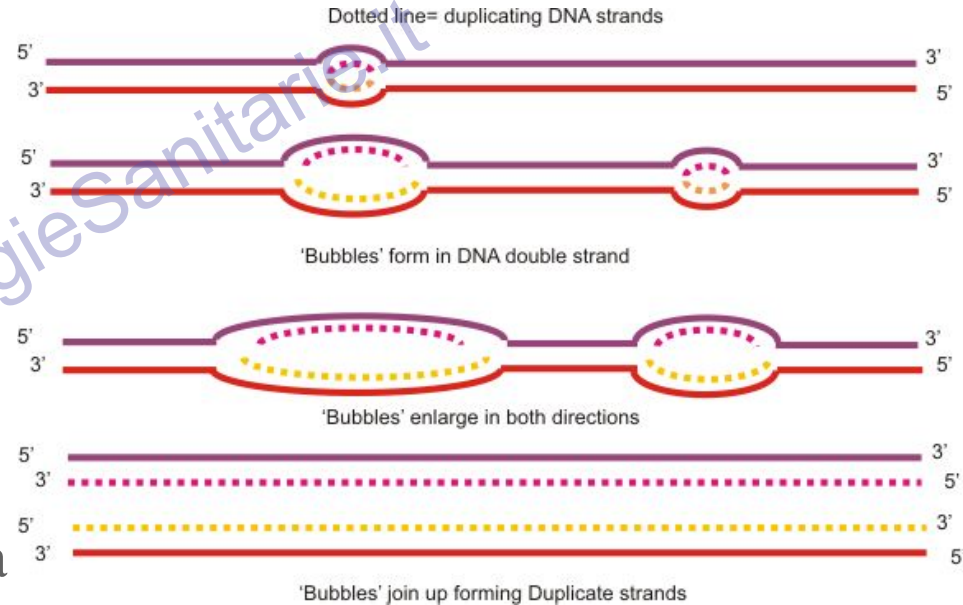
Replicazione DNA: procarioti vs eucarioti

Completiamo questa sezione dedicata alla replicazione del DNA batterico evidenziando le differenze fino ad ora emerse nelle ricerche tra procarioti ed eucarioti. Tra gli eucarioti scegliamo la cellula umana per marcare meglio queste differenze.

① La prima cosa su cui bisogna ragionare è la diversa struttura cromosomiale. I procarioti sono caratterizzati da una singola bolla di replicazione in cui si aprono due forcelle di replicazione. La situazione in una cellula umana è diversa perché contiene 46 cromosomi per una lunghezza totale di DNA di 2 m circa.

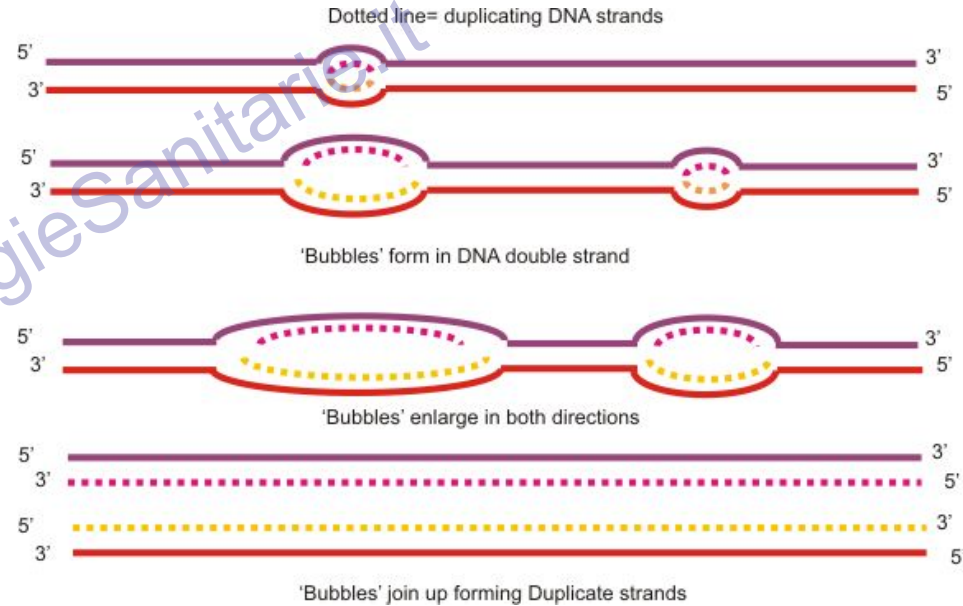
Replicazione DNA: procarioti vs eucarioti

① Se ogni cromosoma iniziasse la sua replicazione a partire da un'estremità, ci vorrebbero 800 ore per completare il processo. Circa 33 giorni. Questo tempo sarebbe in netta contrapposizione con il riciclo dell'epidermide o delle cellule intestinali che impiegano pochi giorni a rinnovare i propri tessuti. La situazione reale è presentata nella figura di lato.



Replicazione DNA: procarioti vs eucarioti

① La figura va letta dall'alto verso il basso. Nei cromosomi umani esistono circa 20.000 origini di replicazione separate da sequenze di basi di lunghezza variabile. Non tutte le origini di replicazione si attivano contemporaneamente. Il processo è regolato da proteine specifiche. Quando si attivano le bolle di replicazione esse danno origine a due forcelle che si espandono in modo **bidirezionale**. Le bolle finiscono per confluire una nell'altra.



Replicazione DNA: procarioti vs eucarioti

- ① Quindi mentre nei procarioti si forma una sola bolla di replicazione negli eucarioti se ne possono formare molte di più a seconda della lunghezza complessiva del DNA che si deve replicare.
- ② Nei Batteri le DNA polimerasi note sono 5 e vengono numerate dalla I alla V. Negli Archaea almeno tre: la PolB1, la PolB2 e la PolB3.
Nell'uomo le DNA polimerasi individuate fino ad oggi sono 13 di cui le prime cinque sono quelle maggiormente studiate e sono indicate con le lettere dell'alfabeto greco: α , β , γ , δ , ϵ . La γ è stata trovata solo nei mitocondri. Le altre 4 tutte nel nucleo ma solo 3 sono coinvolte nella replicazione, probabilmente la β è impiegata solo nei processi di riparazione del DNA con attività di esonucleasi.
- ③ La velocità di allungamento è di 500 nucleotidi al secondo nei batteri e di 50 nucleotidi al secondo nelle cellule umane.

Replicazione DNA: procarioti vs eucarioti

Non ci sono ulteriori particolari differenze nello schema della replicazione del DNA sia che avvenga nelle cellule procariote che nelle cellule eucariote.

Sono molto più evidenti nella sintesi proteica perché bisogna tener conto della diversa morfologia cellulare e delle modalità di espressione dei geni. Infatti le informazioni contenute nel genoma devono poter essere utilizzate dalle cellule. Questo è l'argomento di una pagina successiva.

Author credits

| | |
|---|--|
| 1 | Struttura del DNA - https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Figure_14_02_03abc.jpg |
| 2 | Vibrio cholerae al microscopio a scansione - Copyrighted free use, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=197609 |
| 3 | Borrelia burgdorferi - Di Photo Credit:Content Providers(s): CDC - This media comes from the Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL), with identification number #6631.Note: Not all PHIL images are public domain; be sure to check copyright status and credit authors and content providers.العربية Deutsch English македонски slovenščina +/-Cropped and uploaded originally to (http://en.wikipedia.org/wiki/Image: Borrelia_image.jpg), Pubblico dominio, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4393667 |
| 4 | Streptomyces - Pubblico dominio, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=716469 |

Author credits

| | |
|----------|---|
| 5 | <p>Dinococcus radiodurans - Di Credit: TEM of D. radiodurans acquired in the laboratory of Michael Daly, Uniformed Services University, Bethesda, MD, USA. http://www.usuhs.mil/pat/deinococcus/index_20.htm - Copy at en:Image:Deinococcus.jpg, uploaded by en:user:Statkit1, taken from www.ornl.gov/ORNLReview/v34 The Oak Ridge National Laboratory (Higher version, current from: http://genome.gsc.riken.go.jp/hgmis/graphics/slides/images/YGG-00-0076_web.jpg), Pubblico dominio, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=157172</p> |
| 6 | <p>Esempio di plasmide R - By Original: Magnus Manske Vector: Pixelsquid - Own work based on: Example plasmid.png, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=97420000</p> |
| 7 | <p>Sequenza di inserzione - Disegno di Loretta Sebastiani</p> |
| 8 | <p>Trasposizione di una sequenza di inserzione - Disegno di Loretta Sebastiani</p> |

Author credits

| | |
|-----------|---|
| 9 | Trasposone composito - By Jacek FH - self-made, based on Image:Composite transposon.jpg, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2680364 |
| 10 | Unità di base dell'organizzazione genomica nei procarioti e negli eucarioti - By Subhash C. Verma, Zhong Qian, Sankar L. Adhya - doi:10.1371/journal.pgen.1008456 Verma SC, Qian Z, Adhya SL (2019) Architecture of the Escherichia coli nucleoid. PLoS Genet 15(12): e1008456., CC BY 4.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=84998333 |
| 11 | Gif animata che mostra la replicazione bidirezionale di un cromosoma batterico - By Catherinea228 - Own work, CC BY-SA 4.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=59320465 |
| 12 | Fotografie al microscopio elettronico di plasmidi all'inizio della replicazione in vitro - https://www.researchgate.net/figure/Electron-micrographs-of-2-pm-plasmid-DNA-molecules-replicating-arrowhead-in-vitro_fig1_242904340 |
| 13 | Bacterial replication bubble - By Bootan68 - Own work, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=24912890 |

Author credits

| | |
|-----------|---|
| 14 | Replicazione del DNA nei procarioti - https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_Replication_in_prokar_yotes.png |
| 15 | Allungamento del DNA - https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=14825501 |
| 16 | Schema della replicazione del DNA a cerchio rotante - By Tobias Vornholt - Own work, CC BY-SA 4.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=39652309 |
| 17 | Bolle di replicazione negli eucarioti - https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_bubbles2.png |

Sitografia

| | |
|----------|--|
| 1 | Deinococcus radiodurans: genoma https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99018/ |
| 2 | Genetica dei procarioti - www.dsv.unisi.it/sites/st15/files/allegatiparagrafo/07-04-2016/lezione_6.pdf |
| 3 | Transposable elements - https://microbiologynotes.org/transposable-elements/ |
| 4 | Virologia di base - https://www.unife.it/medicina/dietistica/insegnamenti/microbiologia-igiene-e-radioprotezione/modulo-di-microbiologia-e-microbiologia-clinica/a-a-2015-2016/virologia-base |
| 5 | Genetica dei procarioti - www.dsv.unisi.it/sites/st15/files/allegatiparagrafo/04-03-2016/genpro_1.pdf |

Sitografia

| | |
|-----------|--|
| 6 | Genomi - https://docente.unife.it/silvia.fuselli/dispense-corsi/2.BAG_2015_Genomi.pdf |
| 7 | https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome |
| 8 | Corso di biologia molecolare - www.dir.uniupo.it/pluginfile.php/158165/mod_resource/content/1/lezione_1.pdf |
| 9 | Genoma Escherichia coli - https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse#!/prokaryotes/167/ |
| 10 | Topologia del DNA. Struttura terziaria - https://moodle2.units.it/pluginfile.php/161197/mod_resource/content/1/6-Topologia%20del%20DNA%20BS.pdf |
| 11 | Cenni di genomica microbica/batterica - https://elearning.unimib.it/pluginfile.php/589685/mod_folder/content/0/LEZIONE%2032%20-%20genomica%20microbica_batterica_TG_O.pptx.pdf?forcedownload=1 |

Sitografia

| | |
|-----------|---|
| 12 | The complete sequence of human genome - https://www.science.org/doi/10.1126/science.abj6987 |
| 13 | https://www.nature.com/scitable/topicpage/genome-packaging-in-prokaryotes-the-circular-chromosome-9113/ |
| 14 | https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17338437/#:~:text=Abstract,through%20modulatory%20effects%20on%20transcription. |
| 15 | Principles and concepts of DNA replication in Bacteria, Archaea and Eukarya - https://cshperspectives.cshlp.org/content/5/7/a010108.full |
| 16 | Replicazione e ricombinazione del DNA - www.mantorlab.unimi.it/mantorlab/sito/Teaching_files/Lezione%209-%20Replicazione%20e%20ricombinazione%20DNA.pdf |
| 17 | Evolution of replicative DNA polymerases in archaea and their contributions to the eukaryotic replication machinery https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4104785/ |

Sitografia

18

When DNA Polymerases Multitask: Functions Beyond Nucleotidyl Transfer -

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2021.815845/full>

BioTechnologieSanitarie.it