Elementi do Genetica

1.Introduzione alla genetica

Mario Motto

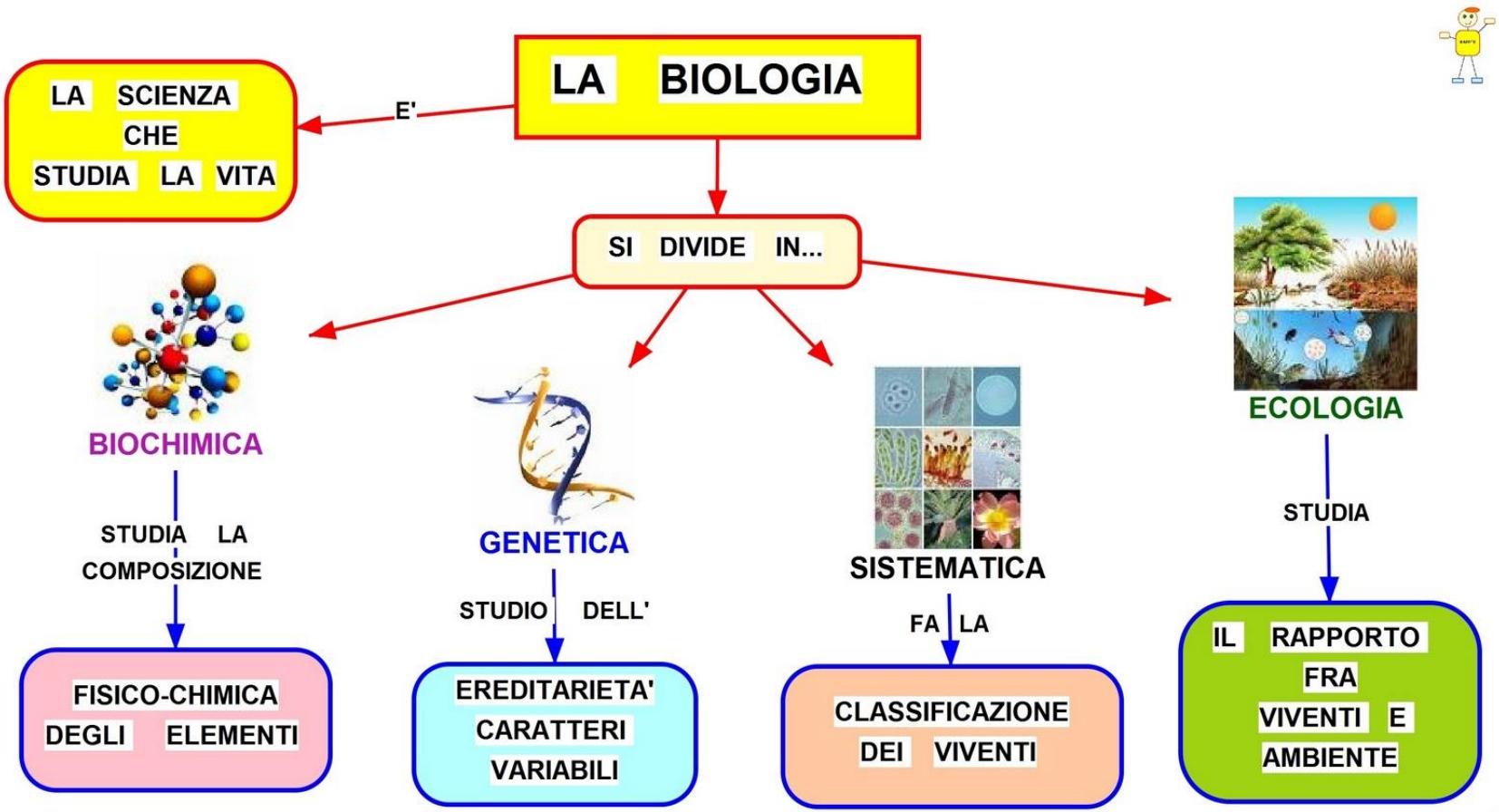
Innocenzo Gasparini APS

La biologia unifica le scienze naturali

- La biologia è la **scienza che studia tutto ciò che riguarda la vita**:

  ----> scienza della vita

- comprende uno spettro molto ampio di branche di studio



GENETICA

➢La **Genetica**, ovvero la scienza dell'eredità, consiste essenzialmente nello studio dell'informazione biologica

STUDIA:

- La **variabilità biologica** degli organismi viventi
- La **trasmissione dei caratteri** da un individuo ad un altro o da una cellula ad un'altra
- Il **ruolo del genoma** (patrimonio genetico), ed in particolare dei geni, nei processi fondamentali della vita (p.e. morfogenesi, sviluppo, metabolismo)

Che cosa studia la genetica ?

CARATTERISTICHE EREDITARIE

- Questa ragazzina deve
  - i suoi capelli rossi,
  - la pelle chiara
  - e le lentiggini

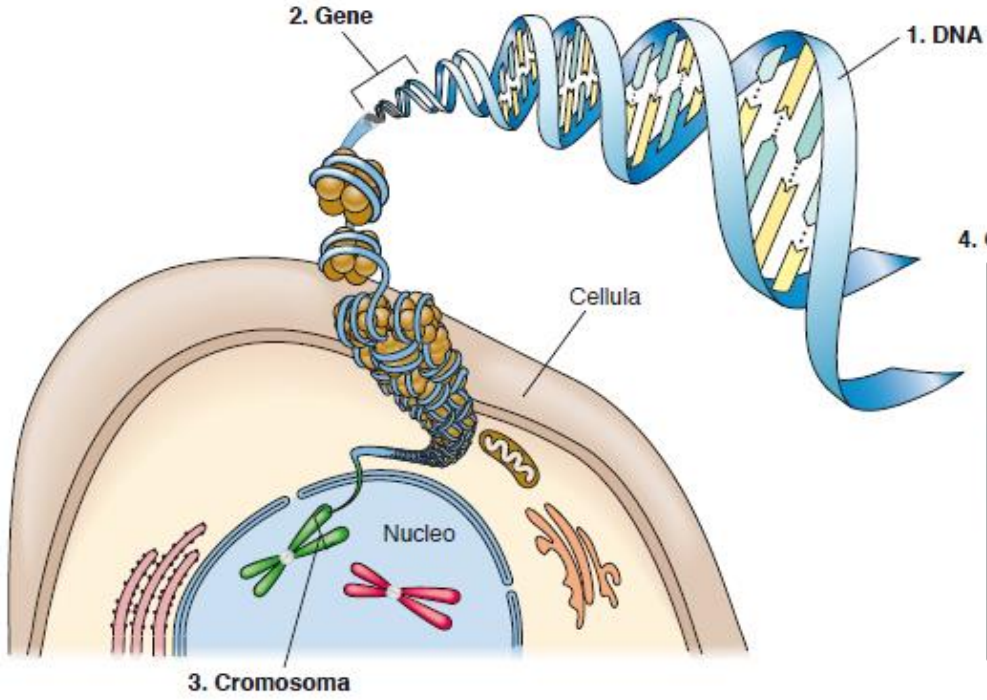
ad una variante del gene ***MC1R;***

questo codifica una proteina (il recettore della melanocortina 1)

- Tale proteina controlla l'equilibrio dei pigmenti nella pelle



I livelli della genetica ?

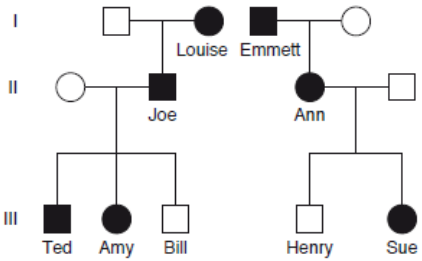


4. Genoma umano (23 paia di cromosomi)





Individuo



Famiglia

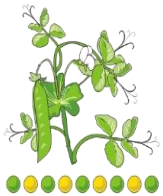


Popolazione

INSEGNAMENTO	**GENETICA DEI MICRORGANISMI E MICROBIOLOGIA APPLICATA**
SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE	**BIO/18**
ANNO DI CORSO	**I**
SEMESTRE	**II**
TOTALE Ore	**32**
MODALITA' DI VERIFICA DEL PROFITTO	**SCRITTO: IN ITINERE E FINALE**

1. OBIETTIVI DELL'INSEGNAMENTO

- L'UF si propone di
  - familiarizzare lo studente sulle leggi fondamentali della trasmissione ereditaria **dei caratteri sia mendeliani che complessi**, incluse le eccezioni del neo-mendelismo
  - comprendere nel contempo il procedimento scientifico che partendo da queste leggi ha permesso di conoscere le basi genomiche, cromosomiche e geniche dei caratteri.
  - conoscere **l'organizzazione morfo-strutturale dei vari sistemi genomici** e le metodologie utilizzate per la loro analisi e mappatura,
  - chiarire i **meccanismi di base del funzionamento dei geni**, per il controllo della loro espressione e della trasmissione ereditaria del materiale genetico.
- Lo studente apprenderà i tipi di mutazione genica, cromosomica e genomica, la loro origine ed il loro effetto fenotipico, nonché la variabilità genetica a livello di popolazioni e di specie ed i processi di base per lo studio dei processi evolutivi



2. PROGRAMMA DELL'INSEGNAMENTO

- **INTRODUZIONE.** Definizione e obiettivi della genetica; sviluppo storico della genetica; concetto di genotipo e fenotipo; diversi modelli di interazione genotipo-fenotipo-ambiente; norma di reazione.
- **BASI FISICHE DELL'EREDITÀ**. Natura del materiale ereditario. Cellule eucariotiche e cromosomi. Mitosi, meiosi. Significato e conseguenze genetiche della meiosi. Cicli biologici di eucarioti e procarioti. Cenni sulla struttura e replicazione del DNA.
- **TRASMISSIONE DEI CARATTERI**.. Eredità mendeliana. Dominanza e recessività a livello formale e molecolare. Concetti di locus, allele, polimorfismo, alleli multipli. Elaborazione statistica della segregazione mendeliana. Interazione tra geni. Epistasi. Geni modificatori. Complementazione. Pleiotrofia. Effetto dell'ambiente. Penetranza. Espressività
- **BASI CROMOSOMICHE DELL'EREDITÀ**. Numero cromosomico. Teoria cromosomica dell'ereditarietà. Determinazione del sesso. Eredità legata al sesso. Estensione dell'analisi degli alberi genealogici ai geni legati al sesso. Identificazione di caratteri legati al sesso. Compensazione del dosaggio dei geni legati al sesso.
- **EREDITÀ CITOPLASMATICA**. Genetica extra-nucleare ed eredità materna: genoma mitocondriale e dei cloroplasti, loro significato biologico-evolutivo.
- **ORGANIZZAZIONE DEL MATERIALE EREDITARIO**. Teoria cromosomica dell'eredità, concatenazione e ricombinazione. Mappatura dei geni in organismi diploidi: distanza di mappa. Mappatura in organismi aploidi: analisi delle tetradi ordinate nei funghi in Neurospora crassa: calcolo della distanza tra un marcatore e il centromero. Concetti sulla natura e l'uso di sonde molecolari. Linkage disequilibrium.

PROGRAMMA DELL'INSEGNAMENTO (CONT.)

- **GENETICA DEI MICRORGANISMI.** Batteri: mutanti e loro selezione. Plasmidi. Batteriofagi: fagi virulenti e temperati. Trasferimento di materiale genetico tra batteri per trasformazione, coniugazione, trasduzione. Funghi.
- **FUNZIONE E STRUTTURA DEL GENE**. L'ipotesi un gene-un enzima. Co-linearità gene-proteina. Il codice genetico: caratteristiche e decifrazione. Universalità. I geni interrotti. Cenni sulla struttura fine del gene negli eucarioti. Regolazione dell'espressione genica - I concetti generali della regolazione.
- **IMPRINTING ed EPIGENETICA**. Introduzione all'epigenetica. Basi molecolari e livelli di regolazione epigenetica. Metilazione del DNA. Codice istonico. Imprinting. Inattivazione del cromosoma X.
- **MUTAZIONE GENICA E CROMOSOMICA.** Mutazioni geniche: base molecolare delle mutazioni e loro frequenza. Reversione e soppressione. Sistemi di riparazione del DNA. Mutazioni cromosomiche: riarrangiamenti, traslocazioni cromosomiche. Euploidia e aneuploidia. Mosaici. Elementi trasponibili.
- **BASI DI GENETICA DELLO SVILUPPO**. Attività genica differenziale in tessuti e nello sviluppo. Controllo genetico dello sviluppo in organismi sperimentali.
- **EREDITÀ DEI CARATTERI QUANTITATIVI**. Variabilità genetica e ambientale, teoria polifattoriale. Ereditabilità. Stima della ereditabilità. Rivoluzione molecolare e mappatura dei QTL. Geni candidati e mappatura per associazione
- **PRINCIPI BASILARI DELLA GENETICA DI POPOLAZIONE**: Struttura genetica delle popolazioni. Equilibrio di Hardy-Weinberg. Polimorfismo delle popolazioni naturali. Variazione delle frequenze geniche: mutazione, selezione, migrazione e deriva genetica. Evoluzione e conservazione di sequenze di DNA.
- **GENOMICA ED EVOLUZIONE MOLECOLARE**. Ambiti della genomica. Definizione della struttura dei genomi. Genomica comparata. Evoluzione molecolare.

3. TESTI CONSIGLIATI:

- Va bene qualsiasi libro di Genetica, i seguenti sono solo degli esempi:
- GENETICA: Un approccio molecolare P- J. Russell - Pearson
- GENETICA Benjamin A. Pierce - Zanichelli
- GENETICA: Principi di analisi formale A.J.F: Griffith, J. Miller, D.Suzuki R. Lewontin, W. Gelbart- Zanichelli
- PRINCIPI DI GENETICA, Snustad-Simmons- EdiSes
- PRINCIPI DI GENETICA,R J Brooker McGraw-Hill
- GENETICA, Binelli Ghisotti

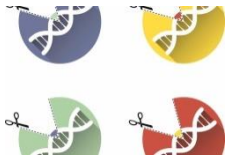
Pietre miliari: un po' di date

- 1856-1863 Esperimenti di Mendel sui piselli: I geni, gli alleli e le regole dell'ereditarietà
- 1900 de Vries, Correns e von Tschermak riscoprono i principi dell'eredità
- 1905-1909 Nascono le parole "genetica" (Bateson) e "gene" (Johannsen)
- 1910-1911 Morgan scopre l'eredità legata al sesso e l'associazione dei geni sui cromosomi
- 1928 Griffith identifica un "principio trasformante"
- 1941 Beadle e Tatum propongono la corrispondenza "un gene un enzima"
- 1944 Avery, MacLeod e McCarthy dimostrano che il principio trasformante è il DNA
- 1953 Watson e Crick propongono il modello della doppia elica
- 1966 Nirenberg e Khorana decifrano il codice genetico

Pietre miliari : un po’ di date (cont.)

- 1977 Gilbert e Sanger sviluppano il metodo di sequenziamento del DNA
- 1980 Chambon dimostra che i geni Eucarioti sono interrotti da introni
- 1986 Mullis sviluppa la PCR, polymerase chain reaction
- 2001 Viene completata la prima sequenza genomica umana
- 2007 Viene depositato presso lo US patent & trademark Office il brevetto n°20070122826, intitolato "Minimal bacterial genome“ ovvero l'essere vivente con il più piccolo corredo genetico, capace di vita propria.

- 2014. Charpentier e Doudna identificano l’enzima che rivoluziona la genetica (CRISPR/Cas9 -Clustered Regularly Inter-spaced Short Palindromic Repeats , CRIPR associted pro tein ‘forbici genetiche’)



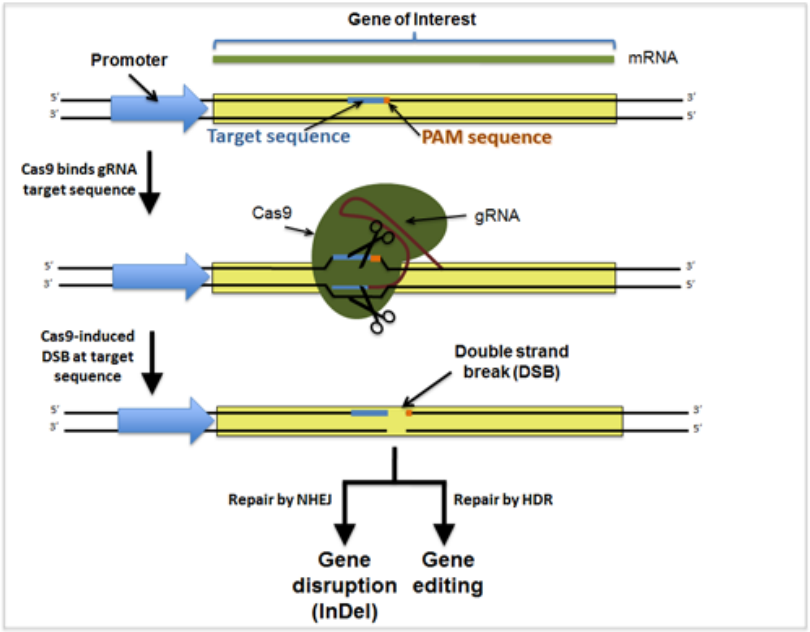
- 2014 Malyshev et al, producono un organismo semi-sintetico con un alfabeto genetico espanso.

Editing dei geni: Il sistema CRISPR/Cas

- The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9

J. A. Doudna & E. Carpentier. SCIENCE, 2014 , DOI: 10.1126/science. 1258096

- E' una sorta di "sistema immunitario" che fornisce alle cellule procariotiche resistenza a elementi genetici estranei come batteriofagi e plasmidi.
- Una versione del sistema CRISPR/Cas, CRISPR/Cas9, è stata modificata per fornire un potente e preciso strumento di *editing genetico*, che si può utilizzare, ad esempio, per inattivare geni la cui espressione aberrante scatena fenomeni di cancerogenesi o i nserire geni normali al posto di geni mutati in stadi precoci dello sviluppo o in tessuti adulti



Jennifer Doudna

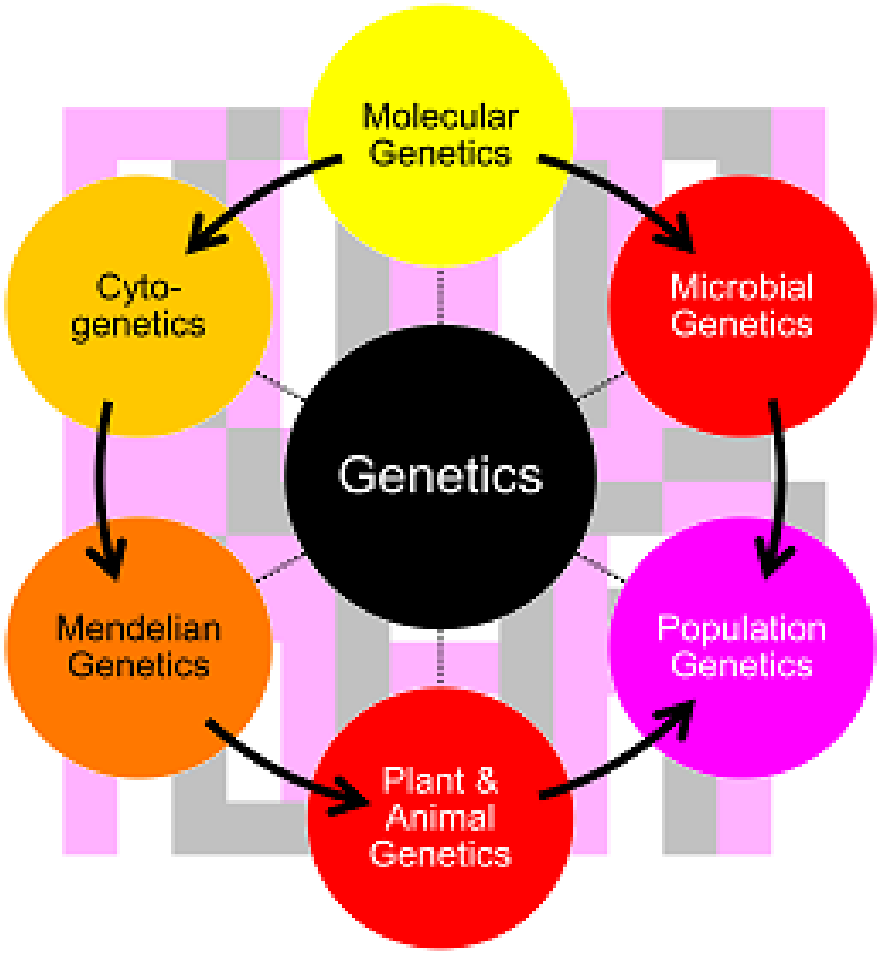


Emmanuelle Charpentier



Branche della genetica

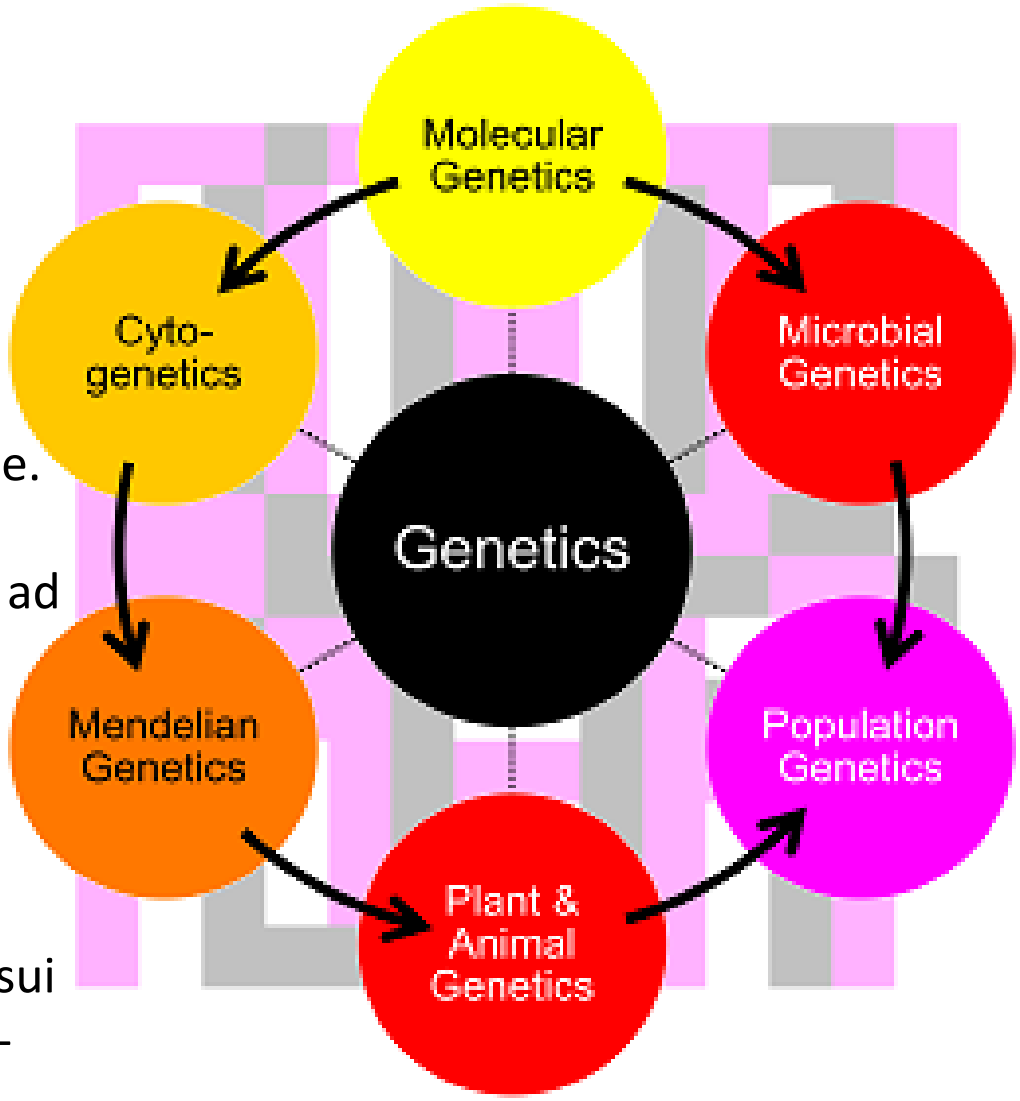
- **Genetica classica** (o di trasmissione): Include i principi fondamentali dell'eredità e il modo in cui i caratteri passano da una generazione all'altra.
- **Genetica molecolare**: riguarda la **natura chimica del gene**, cioè il modo in cui l'informazione genetica viene **codificata, replicata ed espressa.**
- **Genomica**: è la branca più recente .
  - Si prefigge lo scopo di studiare le caratteristiche genetiche di interi genomi.
  - Ciò è possibile attraverso ampie banche dati biologiche (come Ensembl, o NCBI) che raccolgono informazioni su diversi genomi ed un crescente numero di strumenti computazionali messi a disposizione dalla bioinformatica.



Branche della genetica

➢ **Genetica di popolazioni**:

- esplora la composizione genetica di gruppi di individui appartenenti alla stessa specie (popolazioni)
- come questa composizione possa variare nello spazio e nel tempo.

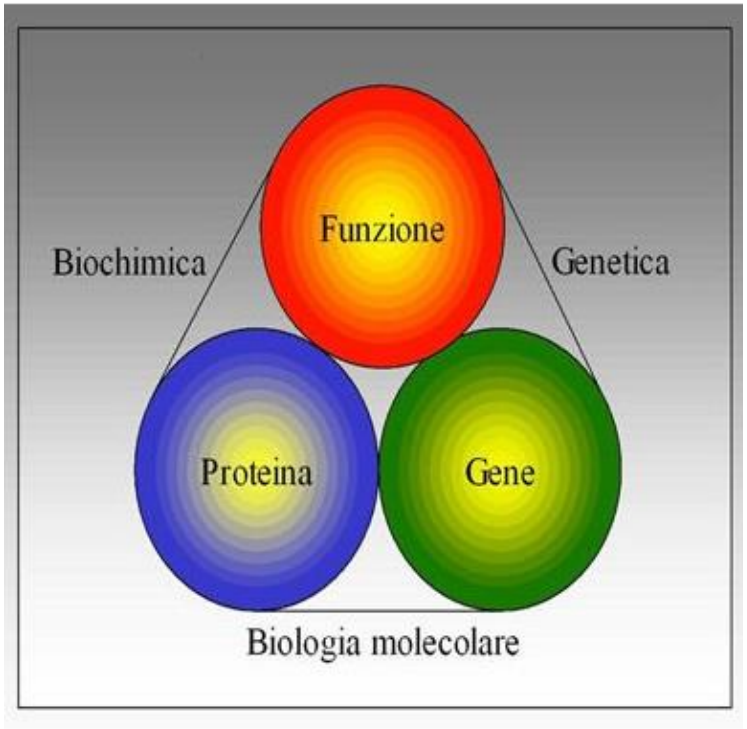


- Consta di due ulteriori sotto-discipline.
  - **genetica quantitativa:** si prefigge di **predire la risposta alla selezione** in base ad informazioni sul fenotipo e le relazioni tra gli individui.

Un recente sviluppo di questa disciplina consiste nell'analisi dei geni alla base di caratteri quantitativi (QTL);

- **genetica ecologica:** è più focalizzata sui temi ecologici; studia prevalentemente le dinamiche delle popolazioni selvatiche

Discipline strettamente correlate



Relazione tra biologia molecolare, genetica e biochimica in un'accezione classica dei relativi campi di studi

- Il confine tra la genetica e le discipline affini, come la **biologia molecolare e la biochimica** non è ben definito ed è destinato ad esserlo sempre meno.
- Una definizione classica vedeva infatti
  - **biologia molecolare** come lo studio dei **processi molecolari di replicazione**, trascrizione, splicing e traduzione del materiale genetico;
  - **biochimica** come lo s**tudio delle sostanze chimiche e del metabolismo** degli esseri viventi;
  - **genetica** come lo studio **dei fenomeni dell'ereditarietà**.
- Tuttavia, oggi molti approcci di genetica molecolare si servono di tecniche e nozioni della biologia molecolare.
- Allo stesso modo, lo studio approfondito del metabolismo (argomento prettamente biochimico) non può esimersi dall'investigare i processi molecolari che lo controllano a livello genico.
- Le tre discipline, dunque, solo idealmente trattano aspetti diversi della biologia: di fatto i **campi di studio sono notevolmente sovrapposti.**

Applicazioni pratiche della genetica

1. La ricerca genetica **(analisi dei mutanti) ci aiuta a capire per es. lo sviluppo, la biologia della cellula, la fisiologia, la biochimica.**

2. **I test genetici predicono la tua probabilità di avere bambini con una malattia ereditaria**
3. **In medicina per individuare malattie ereditarie e loro possibili cure, o produzione di farmaci**
4. **Miglioramento genetico di microrganismi, piante e animali:**
   - quantitativo: maggiori rese produttive
   - qualitativo: p.e. caratteri nutrizionali, resistenza a malattie
5. **I test genetici sono usati in tribunale**

6. **In campo ambientale: identificazione di composti mutageni**
7. **Gli studi genetici aiutano a monitorare i cambiamenti nelle popolazioni naturali**


A chi serve
La genetica
Evoluzione dell'uomo
Diagnosi e cura delle malattie genetiche
Medicina personalizzata
Evoluzione della vita
Produzione di nuovi farmaci e vaccini
Produzioni industriali
Terapia malattie acquisite ed invecchiamento
Piante e animali più produttivi e resistenti
Clonazione, cellule staminali
OGM
Risanamento ambientale
Genetica forense

Quattro cose importanti

- **Variabilità**
- Eredità
- Il pensiero evoluzionista
- La genetica

Variabilità

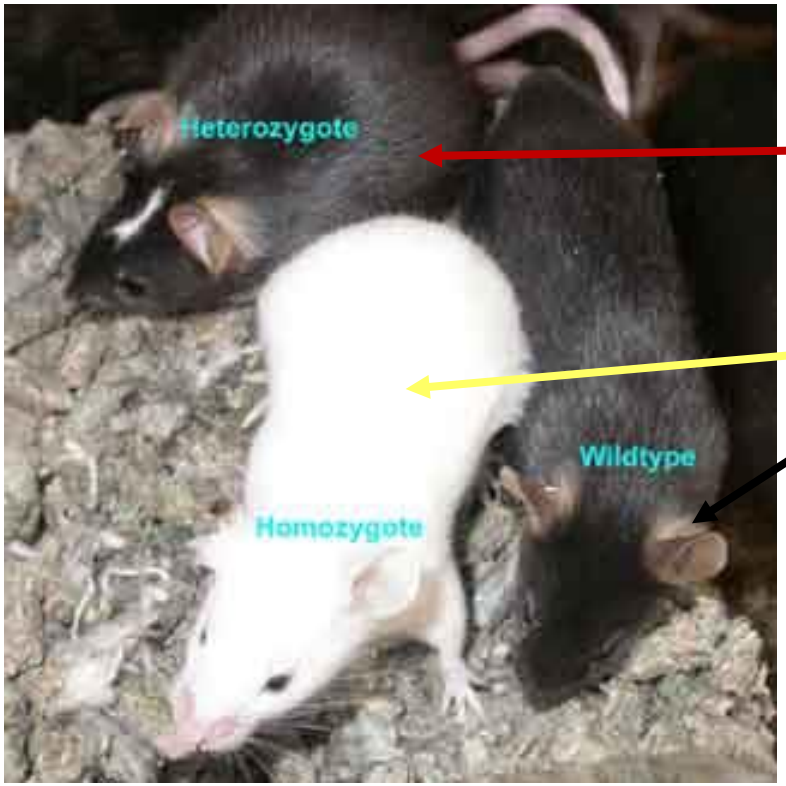








Variabilità



Aa
AA
aa

Fenotipo

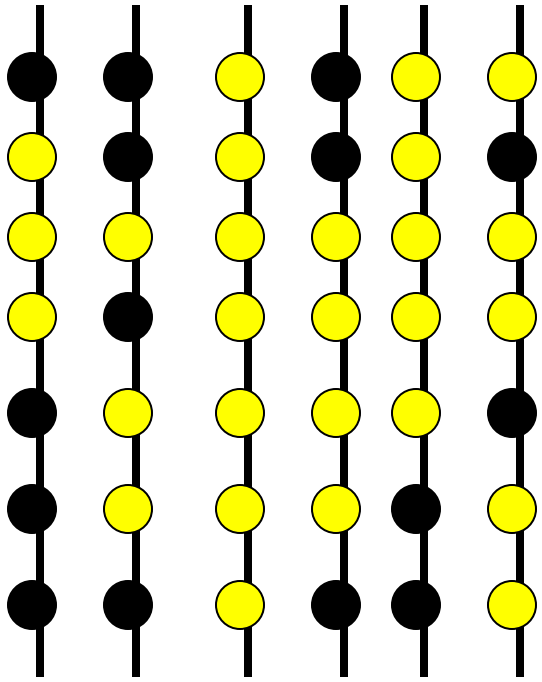
Genotipo

Vocabolario essenziale

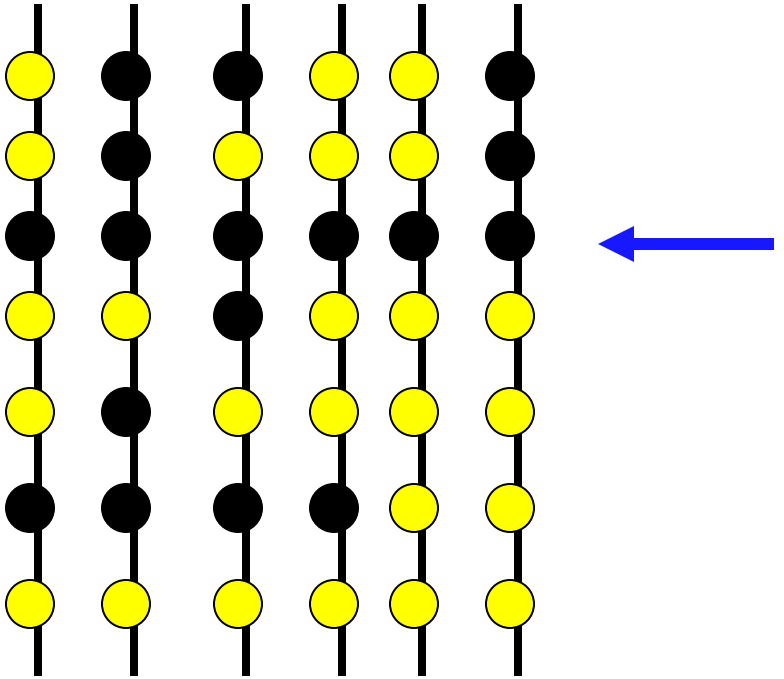
- **Fenotipo**: insieme della caratteristiche visibili di un individuo
- **Genotipo:** insieme delle informazioni genetiche trasmesse dai genitori ai figli
- **Carattere**: una caratteristica fenotipica
- **Gene:** l'unità funzionale della trasmissione genetica
- **Allele:** una delle forme alternative che un gene può avere

Solo se c'è variabilità si può comprendere il rapporto fra fenotipo e genotipo

1. Tipizzazione di molti geni in pazienti e controlli
2. Correlazione fra fenotipi e varianti alleliche

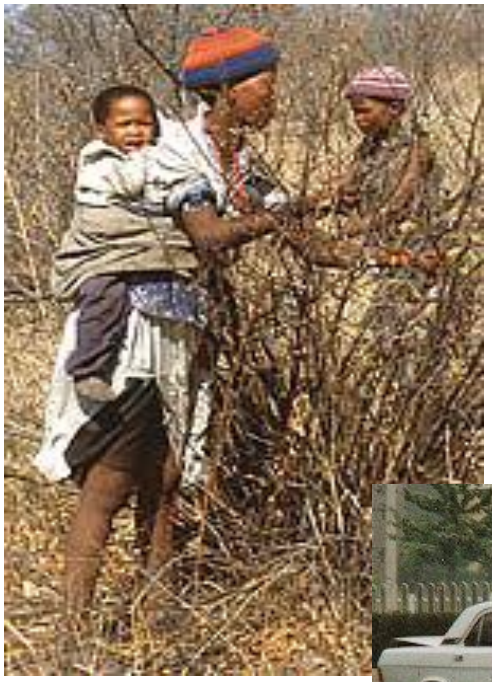


pazienti



controlli

Diversità umana





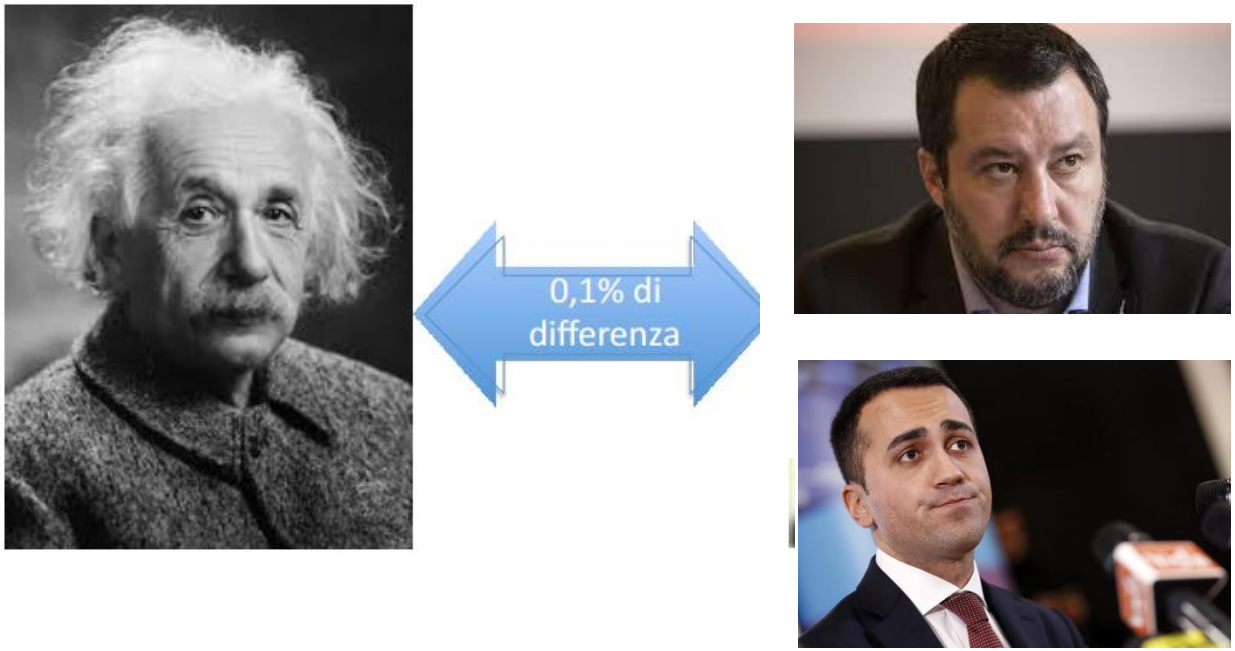


Variabilità genetica

- Il 99.9% del DNA è identico in tutti gli individui
- Lo 0.1% del DNA mostra variabilità



La variabilità genetica



- La **componente genetica individuale** è alla base della:

- **Variabilità fenotipica** (i.e. diverse altezza, colore degli occhi e capelli)
- **Risposta individuale** all'ambiente;
- Diversa **predisposizione allo sviluppo** di malattie complesse;
- Diversa risposta ai farmaci.

Variabilità

- Il punto di partenza per ogni analisi genetica o evoluzionistica

è

l'osservazione che un certo carattere, o complesso di caratteri,

è

variabile o **polimorfico** nei diversi individui

Quattro cose importanti

- Variabilità
- **Eredità**
- Il pensiero evoluzionista
- La genetica

Genetica: lo studio dell'eredità

- Perché la progenie assomiglia ai genitori?





Eredità

- ✓ Genitori e figli si assomigliano
- ✓ Individui imparentati si assomigliano
- ✓ Individui di popolazioni vicine si assomigliano
- ✓ Individui di specie affini si assomigliano

Perché?

- **Ieri:** Perché hanno in comune dei fattori ereditari (geni) che determinano l'eredità di caratteri comuni: **Genetica formale**
- **Oggi**: Perché hanno in comune tratti di DNA ereditati dai genitori: **Genetica molecolare**

L'informazione biologica, fondamentale per vivere, viene codificata da molecole di DNA.

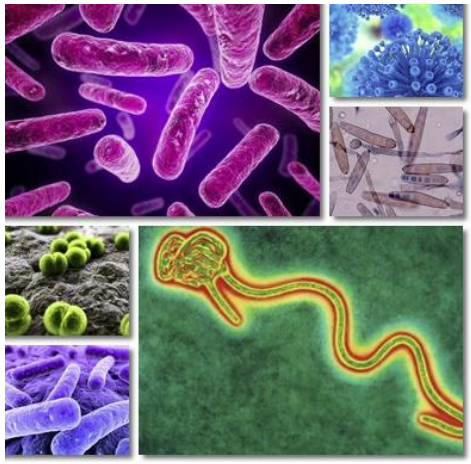
- La **funzione biologica** risiede principalmente nelle molecole proteiche.
- I sistemi biologici complessi nascono da circuiti regolativi che determinano il comportamento dei geni.
- Tutte le **forme viventi sono strettamente correlate.**
- La costruzione modulare del genoma ha permesso la relativamente rapida evoluzione della complessità biologica.
- Le tecniche genetiche permettono la dissezione della complessità biologica.
- La dissezione genetica è il procedimento con cui si identificano i geni che
  - determinano un dato carattere o fenotipo,
  - controllano un processo biologico complesso (la divisione cellulare, lo sviluppo di un organismo)
- La **dissezione genetica** è **possibile** grazie **all'isolamento e allo studio di varianti** geniche aberranti dette mutazioni che producono cambiamenti del fenotipo normale.
- Studiando le mutazioni è stato possibile identificare i geni normali e comprenderne le loro funzioni.

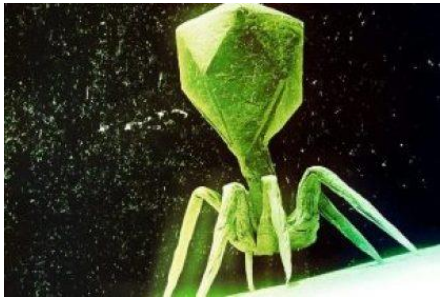
GENETICA: SCIENZA DELL'EREDITARIETÀ

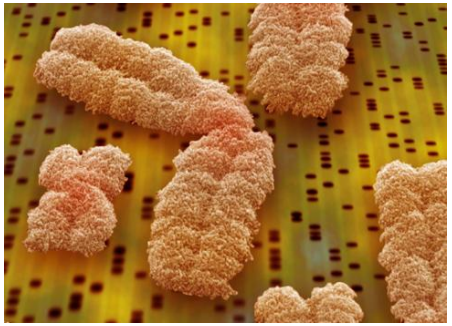
Tutti gli organismi viventi hanno un unico codice

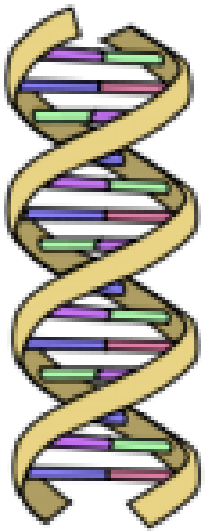






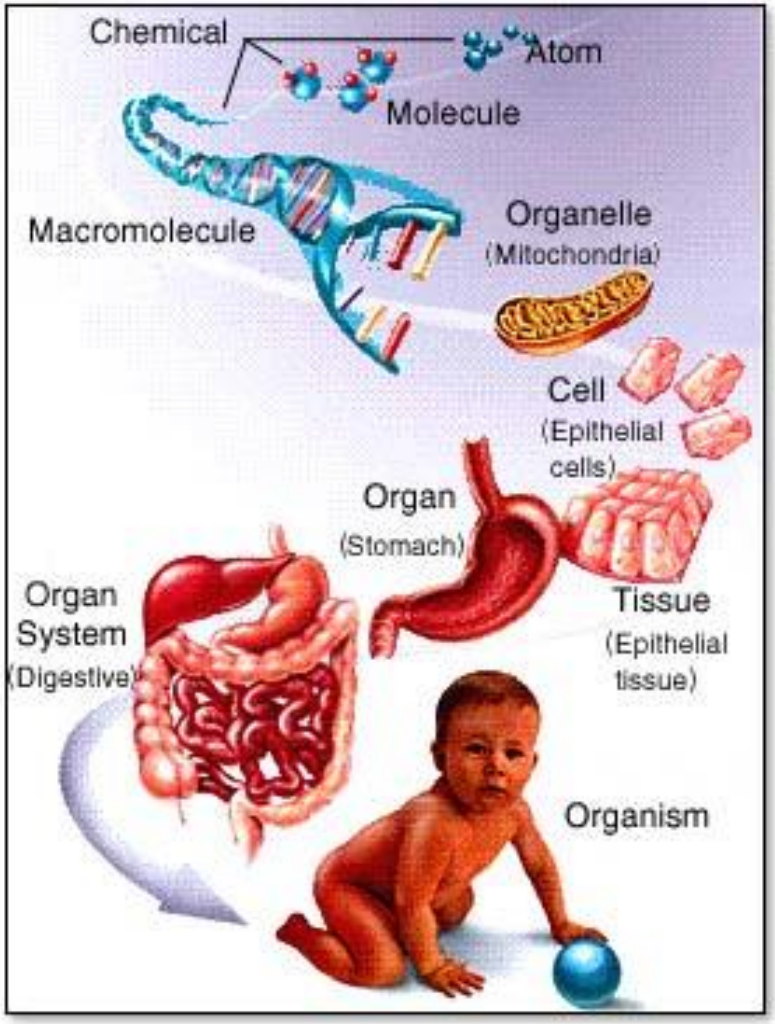




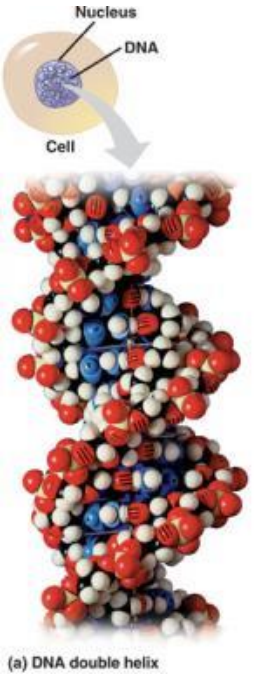


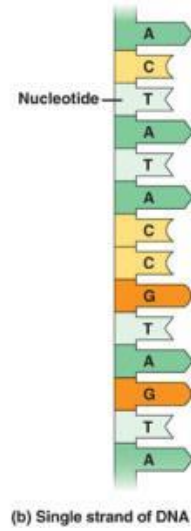
DNA

Organismo biologico contiene un sistema di informazioni: mostra eredità



- **Organismi viventi ereditano I caratteri dai loro genitori via DNA e/o RNA.**
- L'informazione è codificata in sequenze di DNA **chiamate geni,**
- Le unità ereditarie/GenI **sono istruzioni che usano un codice speciale**, unico
- Le istruzioni sono general-mente dirette per la produ-zione di proteine specifiche.
- Il codice genetico è virtual-mente i**dentico** in tutte le speci





(a) DNA double helix (b) Single strand of DNA

- **Informazione è pure scam-biata tra cellule**

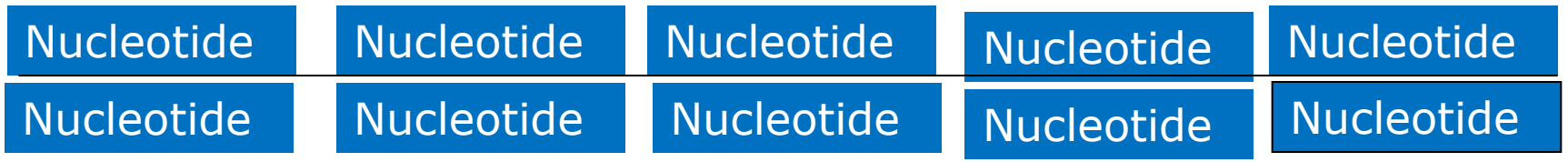
- Gli **ormoni** sono segnali chimici usati per comunicazioni intercellulari

- Segnali fisici possono inoltre essere usati per comunicazioni intercellulari

DNA e RNA sono polinucleotidi

- **DNA e RNA sono polinucleotidi.**
- Sono formati da molecole più piccole chiamate **Nucleotidi**

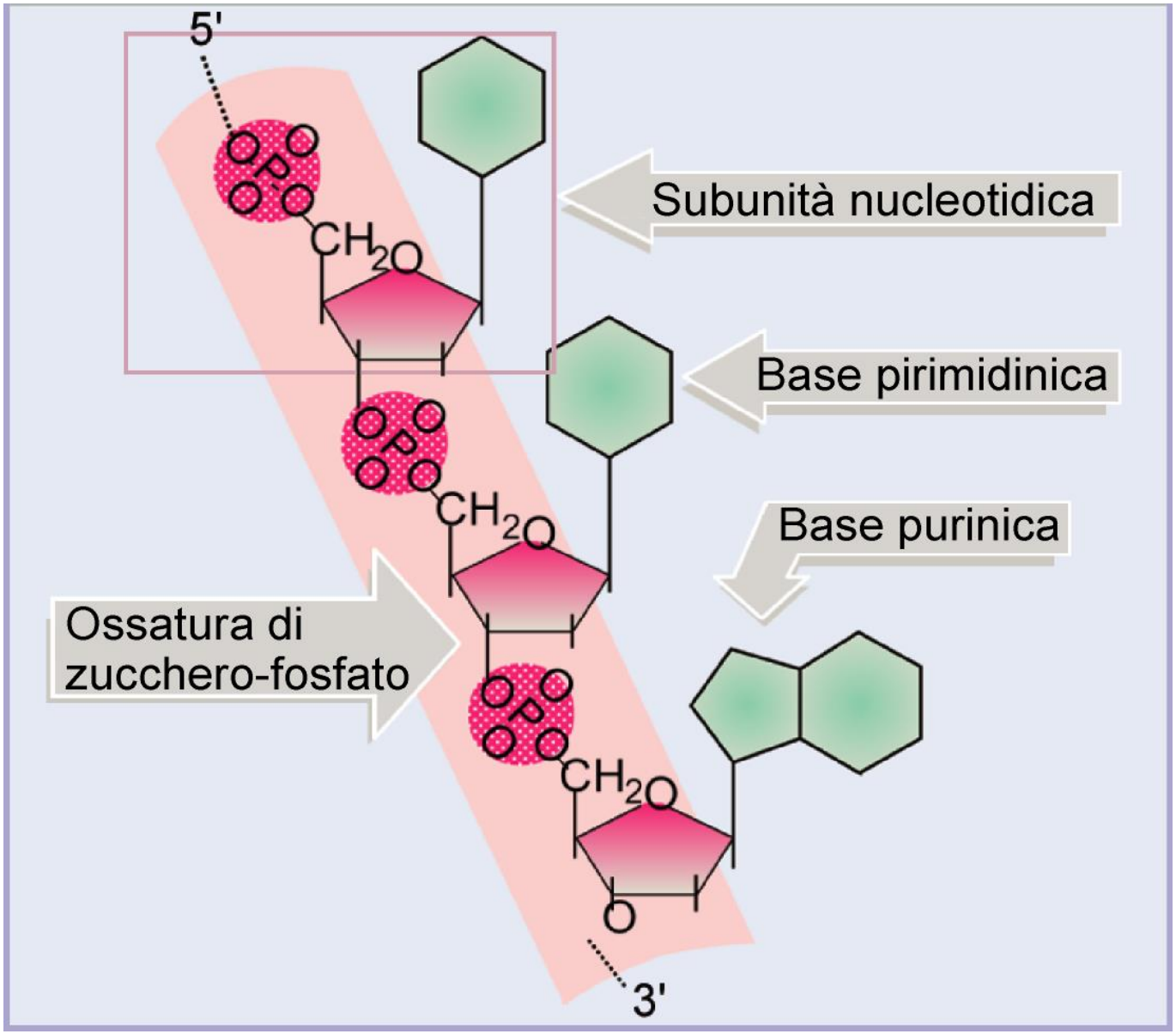
- DNA è formato da due filamenti di nucleotidi:



- RNA è formato da un singolo filamento:



DNA: polinucleotide con una struttura ripetitiva



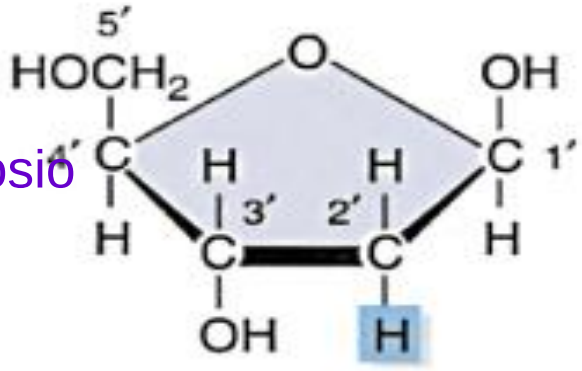
COMPOSIZIONE CHIMICA DEL DNA

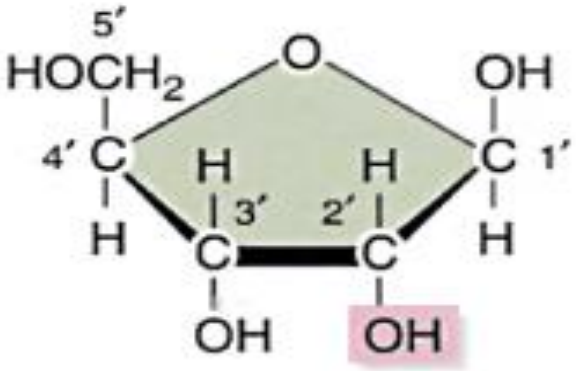
- **Il DNA è un polimero di NUCLEOTIDI**
- **Un nucleotide è costituito da:**

- ZUCCHERO a 5 atomi di carbonio (pentoso): 2-desossi-RIBOSIO
- GRUPPO FOSFATO: Acido fosforico (H_3PO_4)
- BASE AZOTATA: Adenina, Guanina, (purine) Citosina, Timina (pirimidine)

- **2-desossi-Ribosio è uno zucchero a cinque atomi di C a cui manca un gruppo ossidrile (-OH) in posizione 2.**
- **Lo zucchero è in forma chiusa tra il C1 e il C4,**
  - **pertanto il C5 rimane fuori dall'anello.**
  - **Al C1 è legata una delle 4 basi mentre al C5 è legato H_3PO_4**

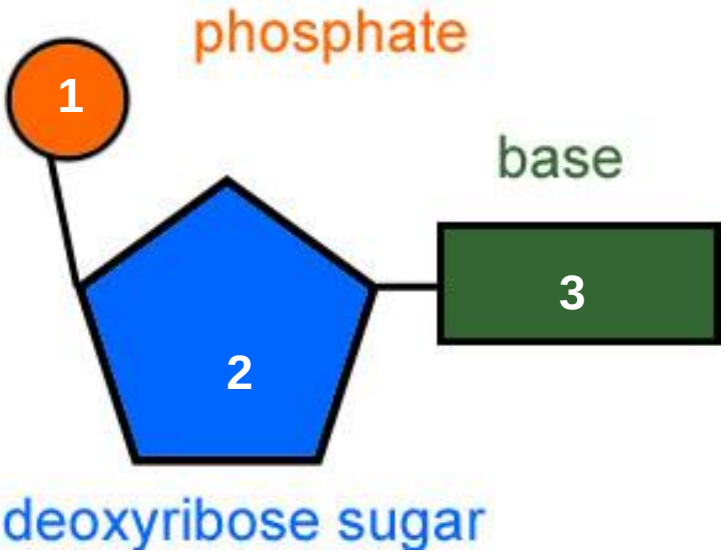
Desossiribosio





Ribosio

Nucleotide



Ogni nucleotide:

1) Acido fosforico

2) Zucchero (desossiribosio)

3) Base azotata (A, C, G, T)

Le basi azotate

Purine

Pirimidine

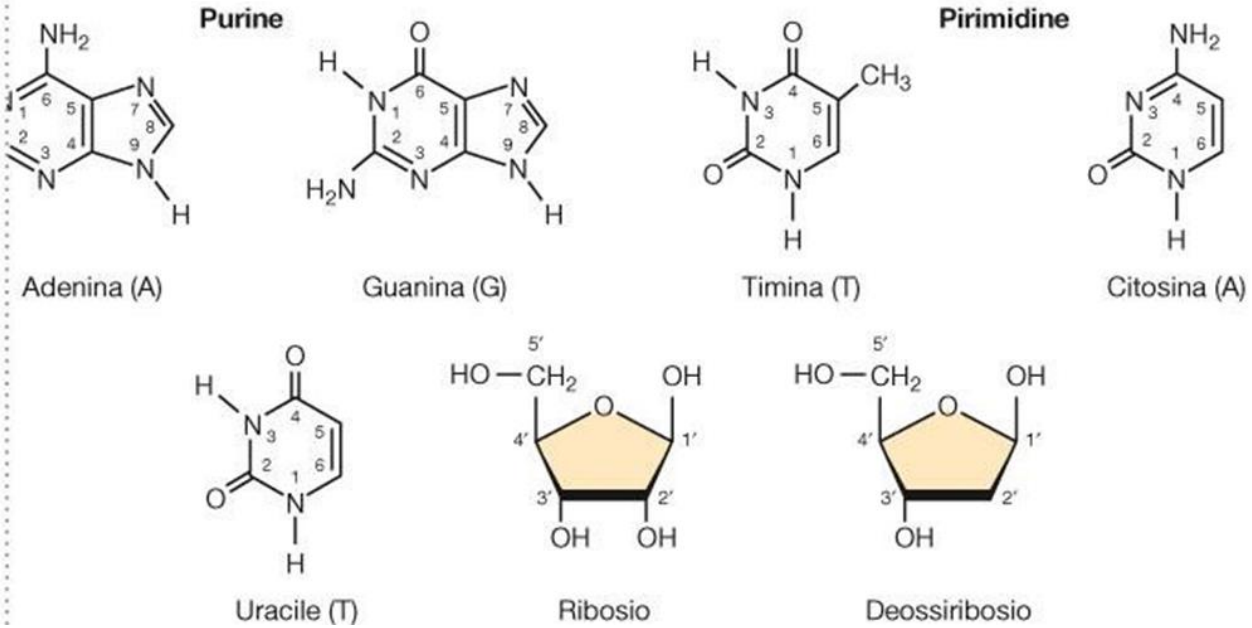


Figura 2.1A **Strutture dei componenti chimici degli acidi nucleici.**

- Le **purine e le pirimidine** sono composti **moderatamente basici :** per questo motivo vengono chiamate basi.
- Le risonanze che coinvolgono numerosi atomi degli anelli delle basi azotate conferiscono alla **maggior parte dei legami** un carattere di parziale doppio legame.
  - Le **pirimidine** sono pertanto **molecole planari**
  - le **purine** presentano solo un **leggero ripiegamento.**

L'informazione biologica fondamentale per vivere è codificata da molecole di DNA

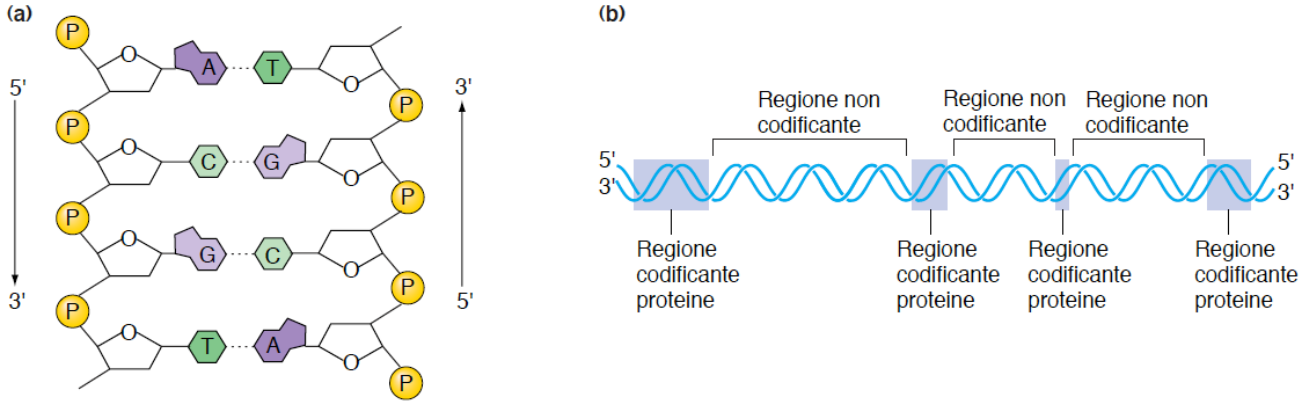
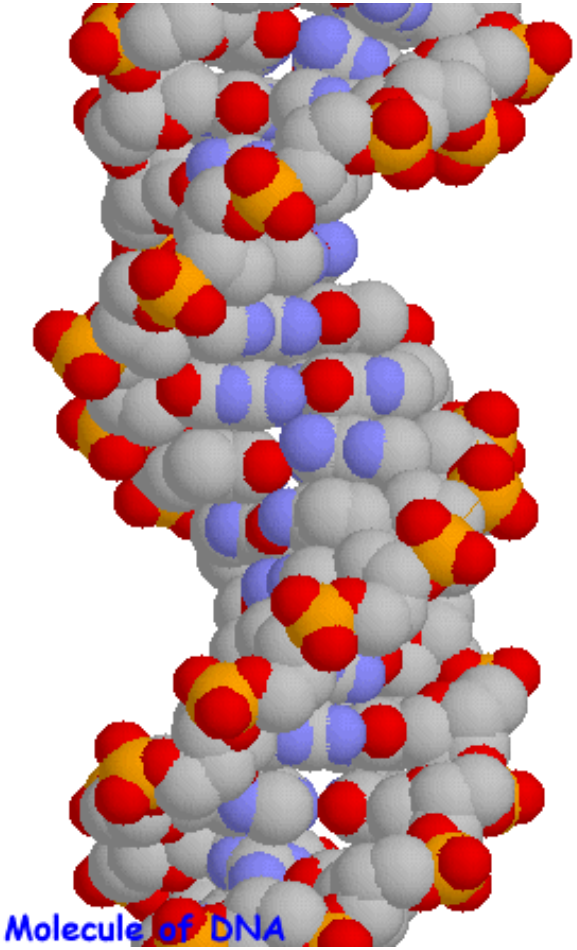
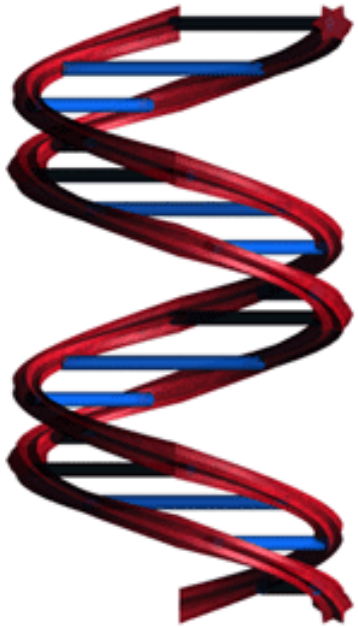


Figura 1.2 Le coppie di basi complementari sono la caratteristica chiave della molecola del DNA. (a) Un singolo filamento di DNA è composto da subunità nucleotidiche, ciascuna delle quali è composta da uno zucchero deossiribosio (rappresentato da un *pentagono bianco*), da un fosfato (rappresentato da un *cerchio giallo*) e da una delle quattro basi azotate-adenina, timina, citosina, guanina (rappresentate con A, T, C o G, color *lavanda* o *verde*). La struttura chimica delle basi permette alla A di appaiarsi strettamente con la T e alla C di legarsi con la G. Il risultato è che A e T formano una coppia di basi complementari, mentre C e G formano l'altra coppia di basi complementari. L'associazione, per mezzo dell'appaiamento delle basi, tra due filamenti complementari di DNA, permette la formazione del DNA a doppia elica. Le *frecce* marcate 5′ e 3′ mostrano che i due filamenti della doppia elica hanno orientamenti opposti relativamente a estremità 5′ e 3′ chimicamente distinte in. **(b)** Lungo la doppia elica di DNA, le regioni codificanti per le proteine sono separate da regioni non codificanti. Nei batteri circa il 90% del DNA codifica per proteine; nell'uomo, la percentuale di DNA codificante per proteine è meno del 5%.

- **La complementarietà molecolare del doppio filamento di DNA**
  - è la proprietà più importante ovvero
  - **è** la chiave per capire come **il DNA si replica, trasmette, muta e immagazzina l'informazione genetica.**

Eredità: il DNA

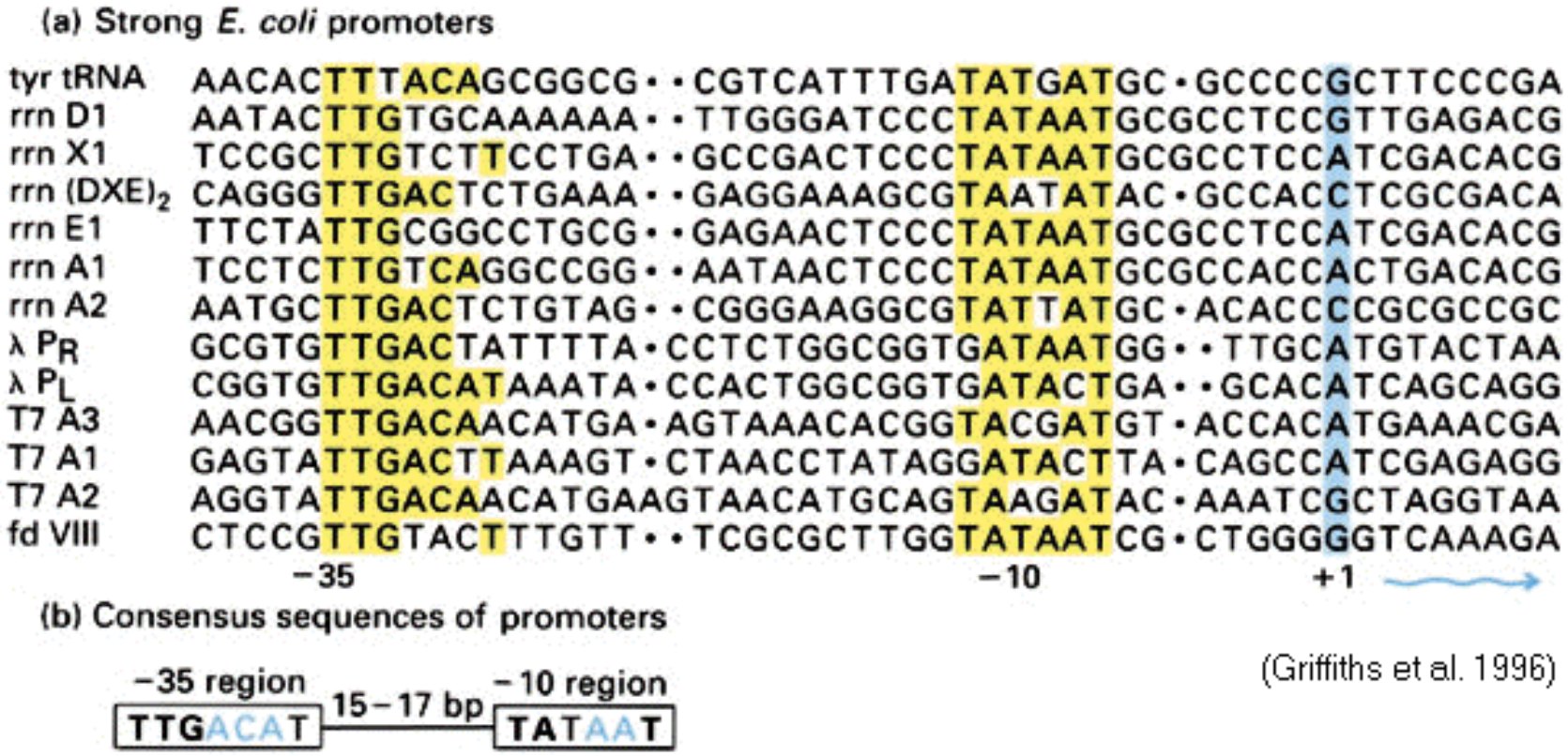




5' - **G T A A T C C T C** - 3'

3' - **C A T T A G G A G** - 5'

Eredità: il DNA



(Griffiths et al. 1996)

- **Il linguaggio genetico** di basi è, per tutti gli organismi, virtualmente lo stesso.
- Le **differenz**e risiedono nel
  - contenuto e nella quantità d'informazione
  - quando e dove tale informazione è espressa, cioè convertita in RNA e poi in proteine.

- All'interno delle cellule di un organismo, le molecole di DNA e i relativi geni sono assemblati in strutture chiamate **Cromosomi**:

  organelli che impacchettano e controllano
  - immagazzinamento,
  - duplicazione,
  - espressione
  - evoluzione del DNA.

- **L'intero patrimonio di cromosomi in ciascuna** cellula di un organismo non è altro che il **genoma** di tale individuo.

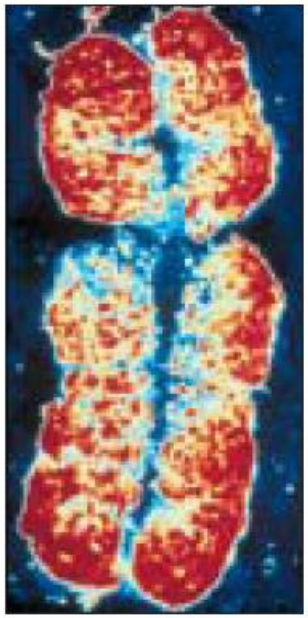
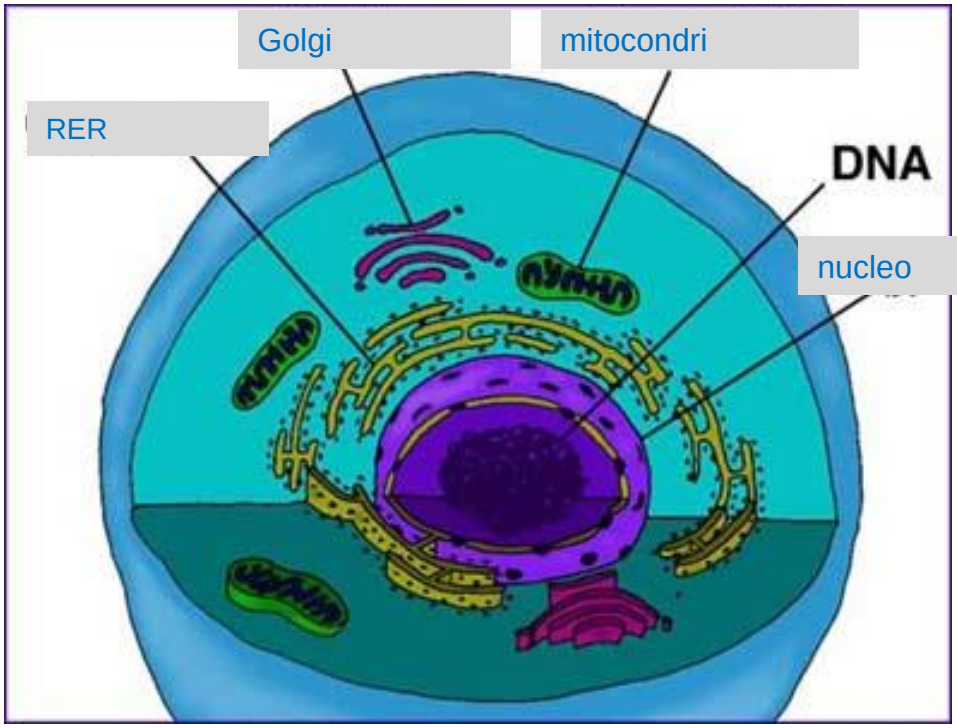
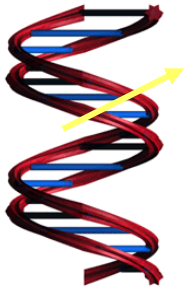


Figura 1.3 Uno dei 24 differenti tipi di cromosomi umani.
Ciascun cromosoma contiene migliaia di geni.

Quanto DNA in una cellula?



5-20 μ



Nell'uomo: 6,0 MLD di paia di basi nei 46 cromosomi
Ogni cromosoma una singola molecola di DNA
1 copia di basi occupa ≈ 0,34 nm di lunghezza sulla molecola di DNA
6 MLD di coppie di basi corrispondono a una molecola di DNA lunga ≈ 2 m
Come è possibile contenere 2 m di DNA in un nucleo di soli 10 μm di diametro?

Lunghezza del genoma umano



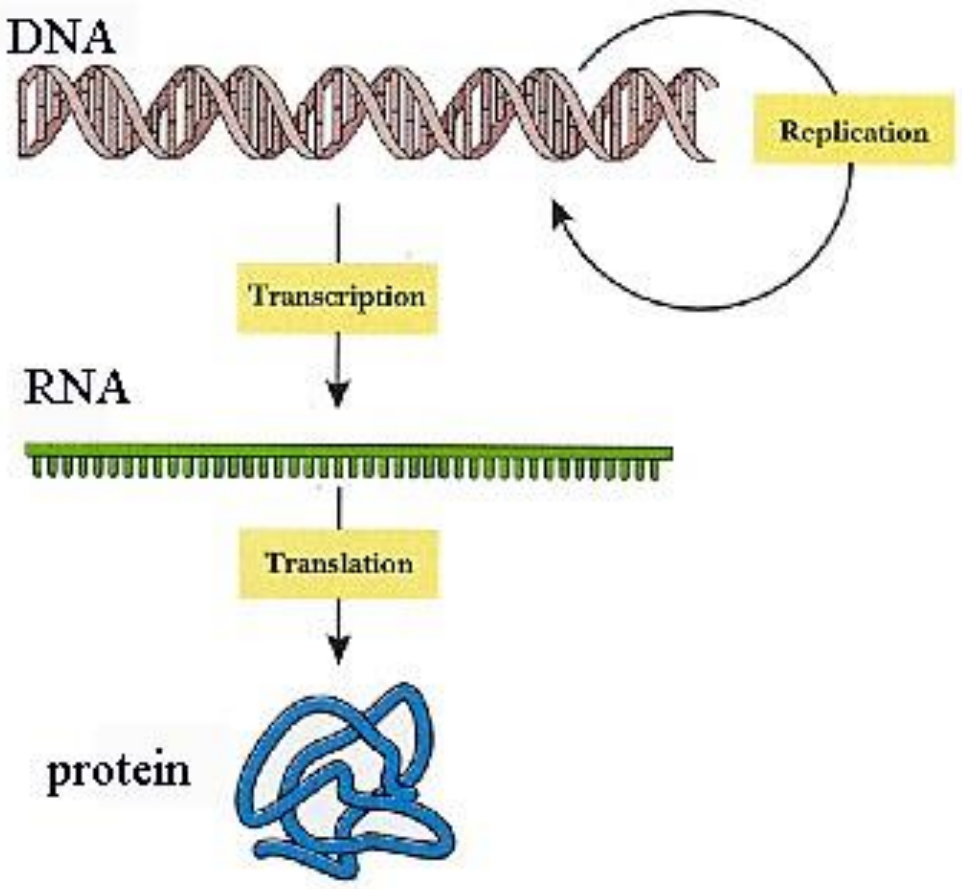
La mappa illustra le distanze che il genoma umano occuperebbe se fosse stampato con questi caratteri

La funzione biologica risiede principalmente nelle molecole proteiche

- Le proteine sono dei grandi polimeri composti da centinaia a migliaia di subunità aminoacidiche legate in fila in una lunga catena;
- ciascuna catena si ripiega in una conformazione tridimensionale specifica dettata dalla stessa sequenza di AA

- Ci sono 20 differenti AA e l'informazione genetica contenuta nella sequenza di DNA è chiamata, secondo un codice genetico, ordine degli aminoacidi in una sequenza proteica

Il DNA fa l'RNA, l'RNA fa le proteine, e mai viceversa



- Più precisamente: **l'informazione biologica procede**, con pochissime eccezioni,
  - dal DNA all'RNA e
  - dall'RNA alle proteine

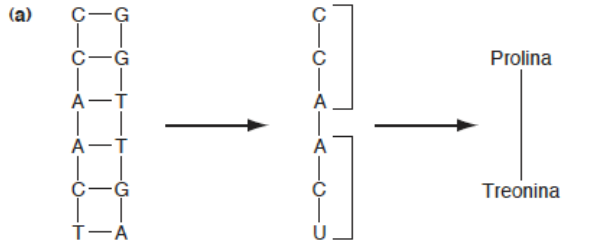
I virus a RNA costituiscono un'eccezione al dogma centrale

- sintesi di RNA da RNA : filamento di RNA complementare



- sintesi di DNA da RNA: trascrizione inversa (retrovirus).





(b) Seconda lettera

Prima lettera	U	C	A	G	Terza lettera
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys	U
	UUA Leu UUG Leu		UAA Stop UAG Stop	UGA Stop UGG Trp	A G
C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro	CAU His CAC His CAA Gln CAG Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg CGG Arg	U C A G
A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile	ACU Thr ACC Thr ACA Thr ACG Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys AAG Lys	AGU Ser AGC Ser AGA Arg AGG Arg	U C A G
	AUG Met				
G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly	U C A G

Figura 1.6 L'RNA è una molecola intermedia nel processo di conversione dell'informazione contenuta nel DNA in proteine, attraverso il codice genetico. (a) La sequenza lineare di basi del DNA è copiata, attraverso la complementarietà, nella sequenza lineare di basi dell'RNA. Le basi dell'RNA sono lette tre alla volta, cioè come triplette, per codificare le subunità aminoacidiche delle proteine. **(b)** Il codice genetico determina la relazione tra le triplette di RNA e le subunità aminoacidiche delle proteine. (*Nota bene*: questa tabella utilizza un'abbreviazione a tre lettere per indicare ciascuno dei 20 aminoacidi).

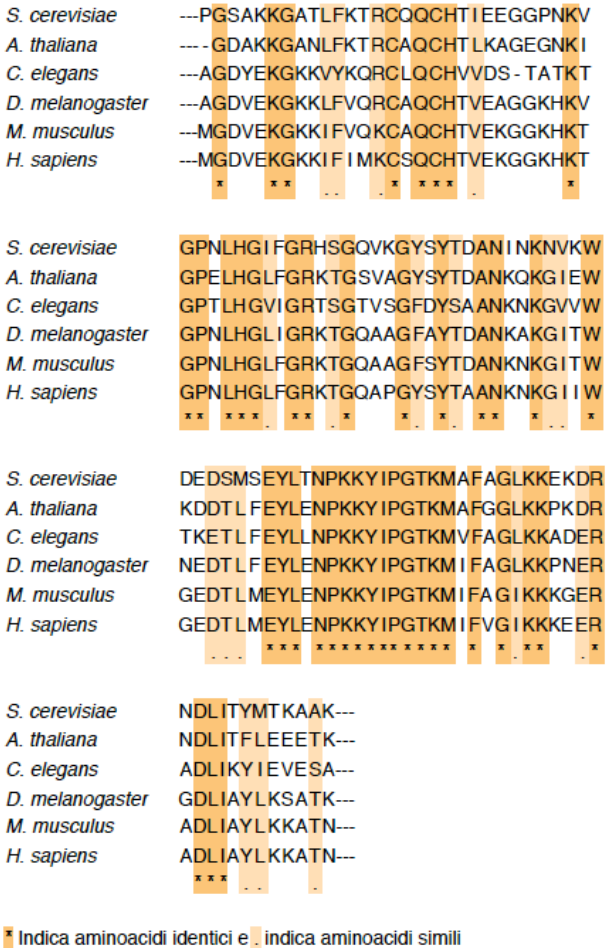


Figura 1.7 Il confronto fra prodotti genici di specie diverse fornisce l'evidenza di una relazione tra gli organismi viventi. Questa figura mostra la sequenza aminoacidica di porzioni equivalenti del citocromo C in sei specie differenti: *Saccharomyces cerevisiae* (lievito), *Arabidopsis thaliana* (una pianta selvatica da fiori), *Caenorhabditis elegans* (un nematode), *Drosophila melanogaster* (il moscerino della frutta), *Mus musculus* (il topo) e *Homo sapiens* (l'uomo). Vedere la Figura 1.4 per il nome degli aminoacidi. I citocromi sono una famiglia di molecole contenenti un gruppo eme, che ha il compito di donare e accettare elettroni durante la respirazione cellulare e la fotosintesi. Il citocromo C è la molecola più abbondante e più stabile fra tutti i citocromi; la sua struttura e la sua funzione sono conservate durante l'evoluzione. Come mostra il disegno, ci sono molte similitudini fra i sei differenti tipi di organismi. Non è rappresentato il citocromo C dei batteri, la cui sequenza mostra similitudini significative anche se meno pronunciate con gli altri citocromi C della figura.

I sistemi complessi nascono dall'interazione DNA-proteine e proteine-proteine

- Interazioni dinamiche tra DNA, proteine e altri tipi di molecole, nonché le interazioni tra cellule e tessuti

- Queste complesse reti interattive costituiscono sistemi biologici che funzionano:
  - sia all'interno di singole cellule
  - sia tra gruppi di cellule di un organismo.

- **Sistema Biologico**:
  - qualsiasi rete complessa di molecole che interagiscono,
  - o gruppi di cellule che funzionano in maniera coordinata secondo una segnalazione dinamica

Diagramma della conversione dell'informazione biologica da una a tre ed infine a quattro dimensioni

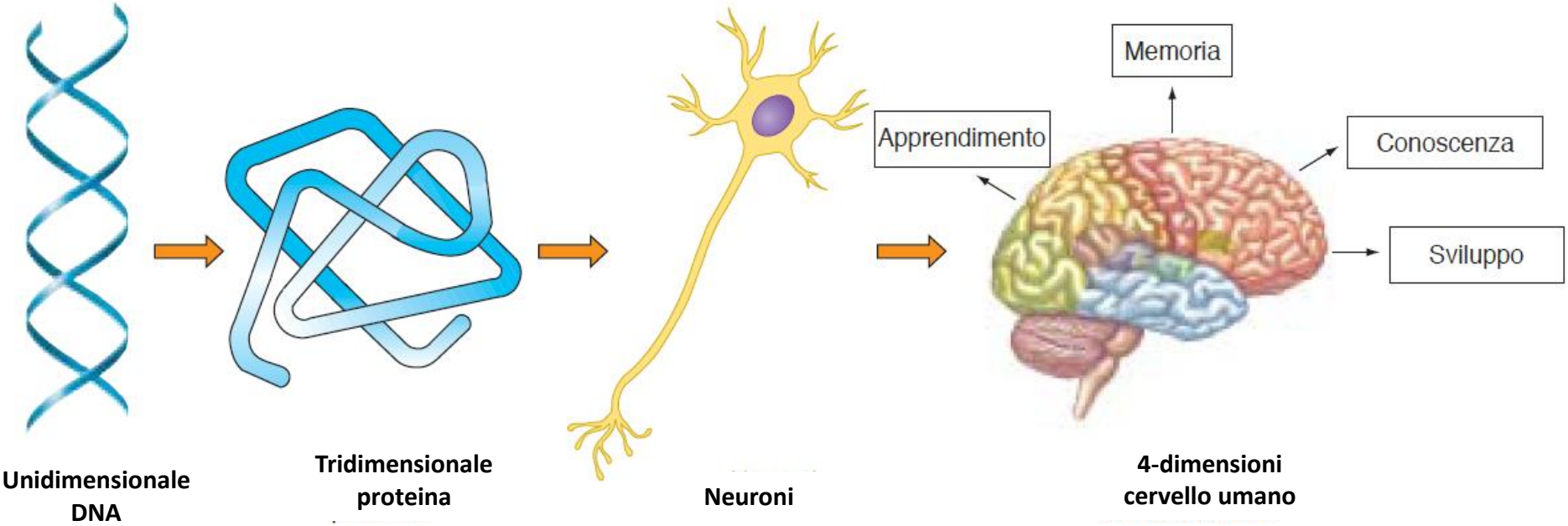


Figura 1.5 Diagramma della conversione dell'informazione biologica da una a tre e infine a quattro dimensioni.

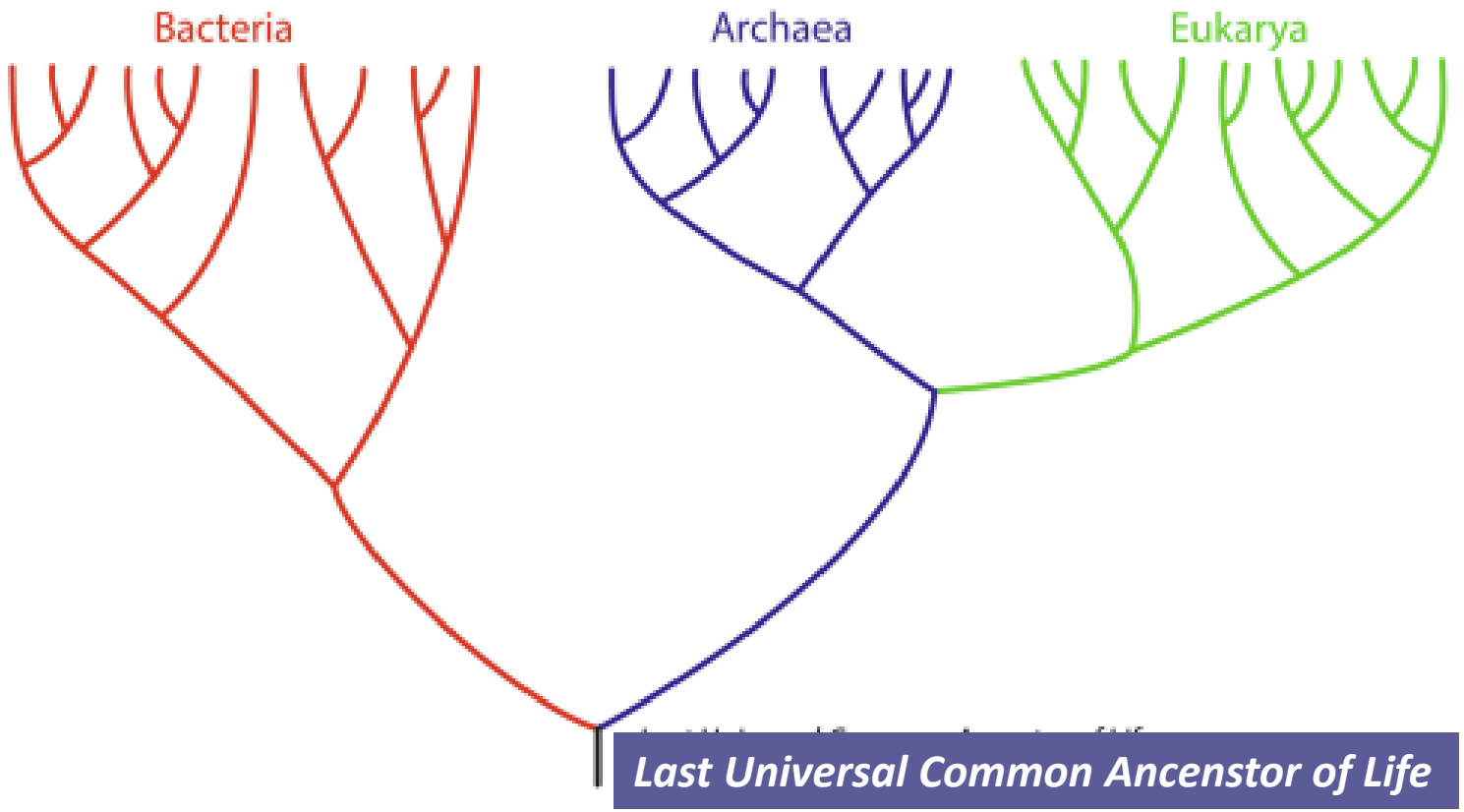
Tutti gli organismi viventi sono strettamente correlati

- Gli organismi viventi discendono dal primo essere nato dopo un formidabile evento di specializzazione molecolare

- L'evidenza di **un'origine comune per** tutte forme viventi risiede nella loro **sequenza nucleotidica**

- Tutti gli organismi viventi utilizzano essenzialmente lo stesso arbitrario codice genetico secondo il quale
  - varie triplette, formate dalle 4 lettere dell'alfabeto del DNA o dell'RNA,
  - codificano le 20 lettere dell'alfabeto degli AA.

L' albero universale della vita con i tre rami che rappresentano i tre gruppi principali nei quali si classificano gli organismi noti: batteri, archei ed eucarioti



- The tree of life is the inheritance pathway of the translation system, based on 16S rRNA sequences.
- The Last Universal Ancestor of Life (LUCA) is indicated

Luca viveva in un ambiente estremo, simile a una sorgente idrotermale



- Confrontando fra 6 milioni di geni appartenenti *a microrganismi unicellulari attualmente viventi,* si sono trovati circa **300 antichissimi geni probabilmente** appartenuti a Luca (Last Universal Common Ancestor)

.

- Partendo da questi pochi dati, si è quindi riuscitI a ricostruire il metabolismo e l'habitat in cui viveva.
- **Il ritratto genetico di Luca indica che il nostro antenato**
  - viveva in assenza di ossigeno e a temperature relativamente elevate.
  - 'Mangiava' CO_2, N e H per alimentare il suo metabolismo,
  - sfruttava anche metalli come il Fe e altri elementi come il Se.
  - il suo 'stile di vita' ricorda quello di alcuni microrganismi dei giorni nostri, come i batteri del genere *Clostridium* e gli archeobatteri metanogeni.

Weiss et al., 2016, NATURE MICROBIOL, 1 :1-8

Tutti gli organismi viventi sono strettamente correlati

- Il vantaggio della scoperta della parentela e dell'unità a tutti i livelli dell'informazione biologica non è banale.

- Questo, infatti, significa che in molti casi
  - la manipolazione sperimentale di organismi conosciuti
  - come organismi modello può chiarire i processi complessi nell'uomo.

(a)



(b)



Figura 1.8 Gli occhi degli insetti e dell'uomo hanno un'origine comune. **(a)** Occhio di un moscerino e **(b)** occhio umano.

La costruzione modulare del genoma ha permesso l'evoluzione relativamente rapida della complessità biologica

- La **duplicazione seguita dalla divergenza** sta alla base della formazione di nuovi geni con nuove funzioni
- Le **duplicazioni, seguite dai riarrangiamenti all'interno del genoma,** possono permettere ai vecchi geni di continuare a funzionare e alle nuove combinazioni di esoni di generare nuovi geni

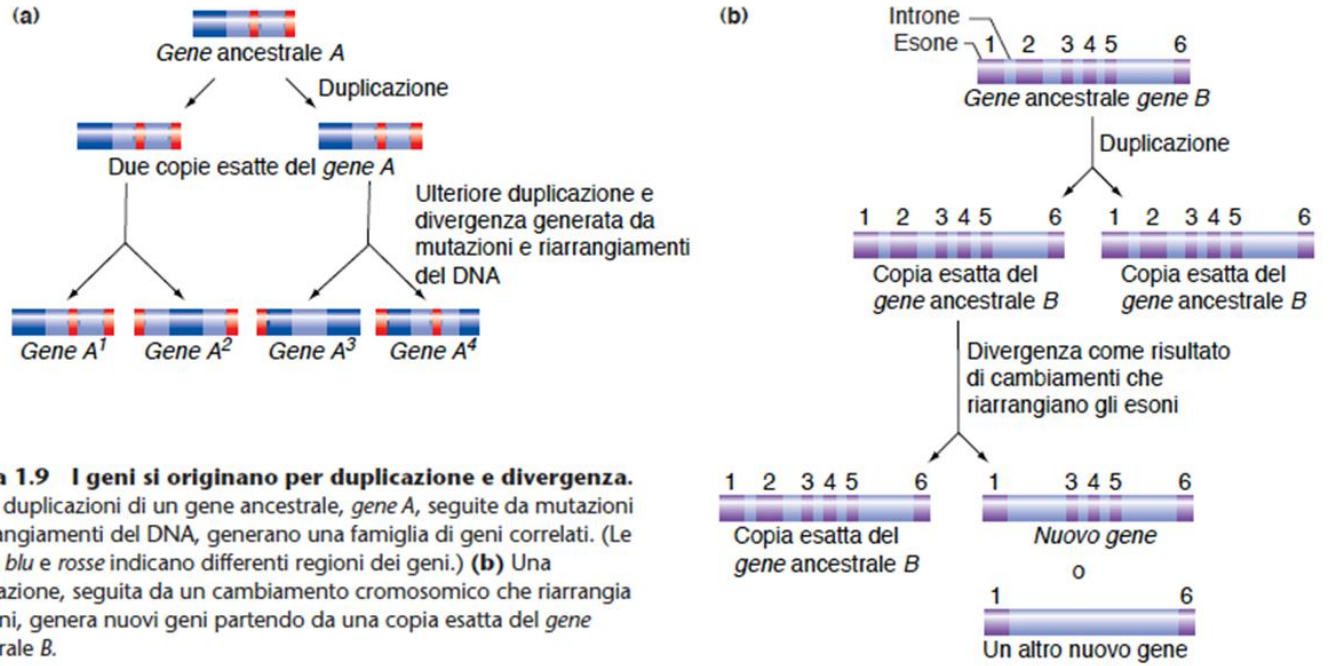


Figura 1.9 I geni si originano per duplicazione e divergenza. **(a)** Le duplicazioni di un gene ancestrale, *gene A*, seguite da mutazioni e riarrangiamenti del DNA, generano una famiglia di geni correlati. (Le bande *blu* e *rosse* indicano differenti regioni dei geni.) **(b)** Una duplicazione, seguita da un cambiamento cromosomico che riarrangia gli esoni, genera nuovi geni partendo da una copia esatta del *gene* ancestrale *B*.

La dissezione della complessità biologica può essere effettuata con tecniche genetiche

- La logica usata in una dissezione genetica è abbastanza semplice:

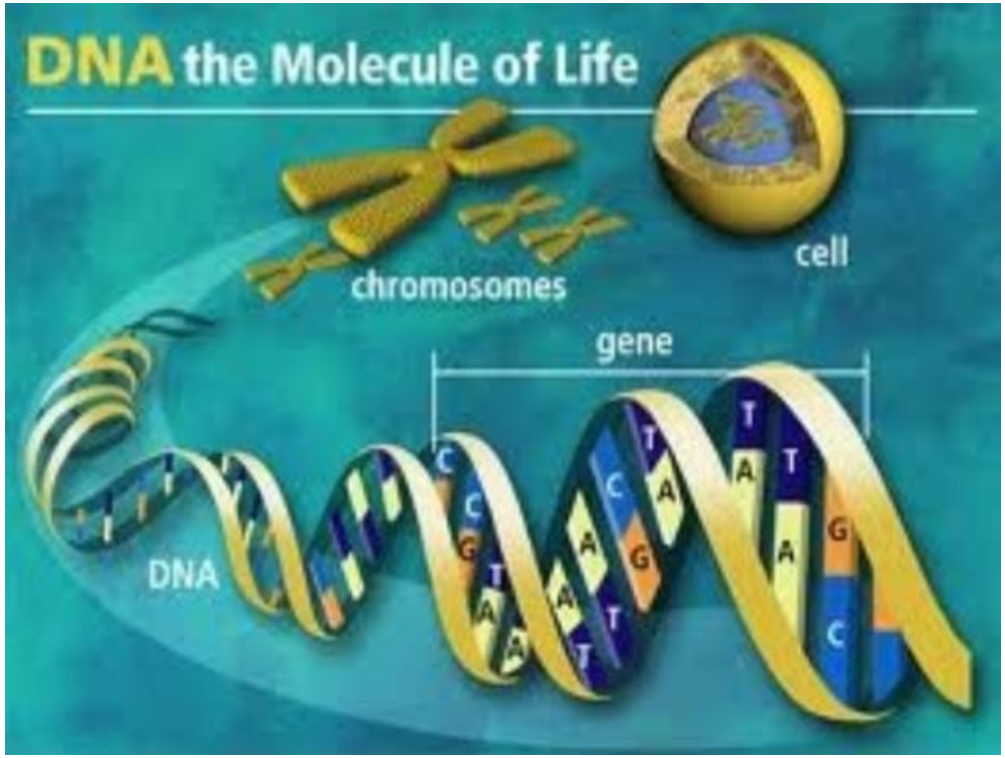
  inattivare un gene e osservarne le conseguenze

- Il passaggio dall'analisi delle singole unità all'analisi dei sistemi complessi è la maggiore sfida della biologia moderna.

- La genetica fornisce mezzi unici per affrontare questa sfida, rendendo possibile isolare i numerosi geni che dettano la diversità delle proteine che generano i sistemi complessi.

Ingegneria genetica:

- E' una tecnologia *in vitro del* DNA utilizzata per:
  - isolare geni da un organismo
  - manipolare gli stessi in laboratorio come desiderato
  - inserirli in altre cellule o sistemi per specifici caratteri.
  - E' altresi denominata con il termine di clonaggio genico (**gene cloning).**



- Le tecnologie del DNA ricombinante hanno permesso di modificare geneticamente vari organismi, sviluppando molti prodotti di interesse commerciale



Figura 1.2

Quattro cose importanti

- Variabilità
- Eredità
- **Il pensiero evoluzionista**
- La genetica

Diversità Genetica ed Evoluzione

- La **diversità delle forme di vita e l'adattamento sono prodotti dell'evoluzione**
  - questa quindi è semplicemente un cambiamento genetico che si verifica nel corso del tempo.

- L'evoluzione è un processo a due tempi:
  - in un primo tempo le differenze ereditate emergono casualmente
  - successivamente, la proporzione di individui con particolari caratteristiche aumenta o diminuisce.

- La **variabilità genetica è pertanto il fondamento di ogni cambiamento evolutivo**
  - **in ultima analisi è alla base di ogni forma di vita conosciuta**

- La genetica, quindi lo studio della variabilità genetica, è essenziale per comprendere il passato, il presente e il futuro di vita

L’origine del pensiero evoluzionista

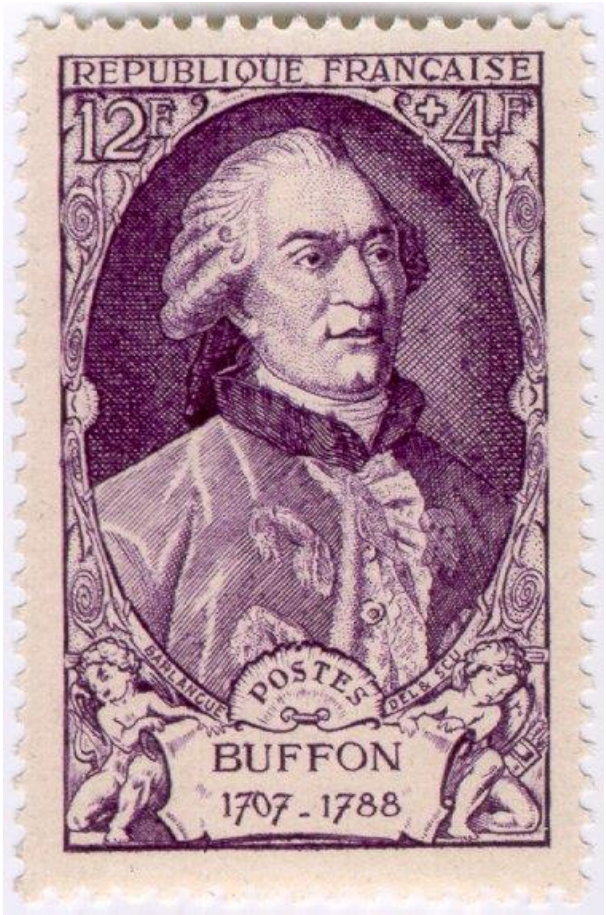
- Tutti gli esseri creati
- La grande catena degli esseri (Ray 1690)



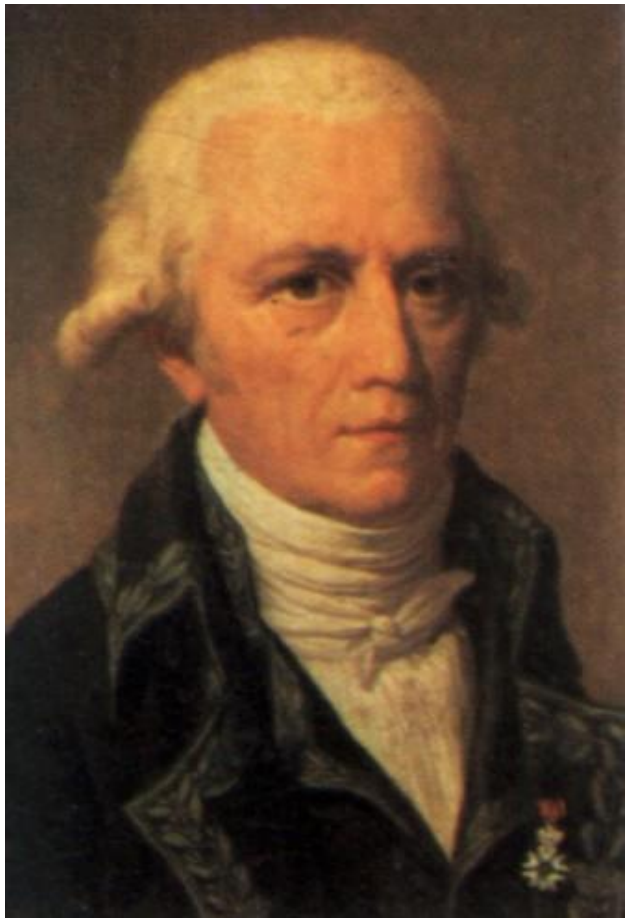


L’origine del pensiero evoluzionista

- Tutti gli esseri creati
- La grande catena degli esseri (Ray 1690)
- Teoria uniformitaria: gli stessi processi agiscono nel presente e nel passato (Hutton 1788)
- I geologi scoprono che le rocce hanno età diverse (Buffon 1788)



L’origine del pensiero evoluzionista



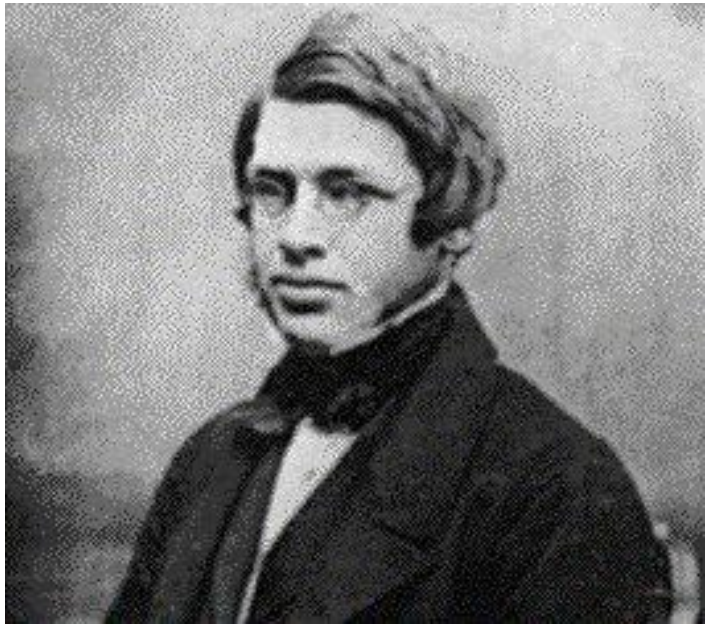
Lamarck (1809):

- La vita sorge spontaneamente dalla materia inanimata.
- Organismi diversi discendono da antenati comuni.
- L’ambiente guida il cambiamento da forme viventi semplici a forme complesse.
- L’uso e il disuso alterano la morfologia

L’origine del pensiero evoluzionista



- Malthus (1789): Lotta per l’esistenza
- Wallace (1858): Selezione naturale



L’origine del pensiero evoluzionista

Darwin (1859): L’Origine delle specie per selezione naturale:

1. Tutti gli organismi discendono con modifiche da antenati comuni
2. Le modifiche dipendono principalmente dall’azione della **selezione naturale** su una variabilità preesistente.

↓

Mortalità differenziale
Fertilità differenziale



L’evoluzione come fatto e come teoria

- Ci sono diverse teorie evoluzionistiche, che differiscono per il ruolo
  - **assegnato al caso**
  - **alla selezione naturale**
- Ma che gli organismi siano discesi da antenati comuni attraverso cambiamenti evolutivi **è un fatto, che le varie teorie cercano di spiegare**

Il contesto ecologico del cambiamento evolutivo

- Distribuzione spaziale delle risorse
- Distribuzione degli individui
- Tasso di crescita della popolazione
- Rapporti fra preda e predatore
- Parassitismo
- Commensalismo
- ecc.



Fattori abiologici
Fattori biologici

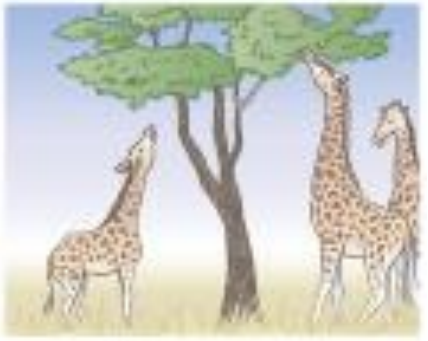
A) **Secondo la teoria della selezione naturale applicata all'evoluzione delle giraffe, un antenato di questi animali che possedeva un collo corto produce una prole sovrabbondante.**



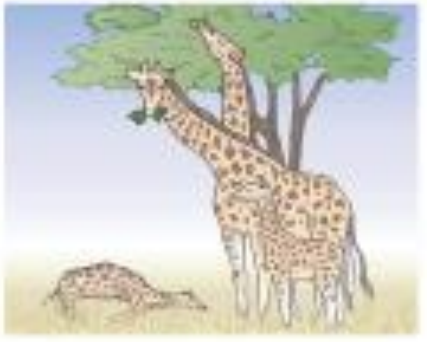
B) **La popolazione di giraffe presenta al suo interno individui con una lunghezza del collo variabile. Gli individui con il collo più lungo iniziano a brucare le foglie degli alberi e trovano quindi nuova fonte di nutrimento. Gli individui con il collo corto non possono farlo**



C) **Le giraffe con il collo lungo si riproducono in misura maggiore rispetto a quelle con il collo corto, in quanto sono meglio adattate all'ambiente in cui vivono.**



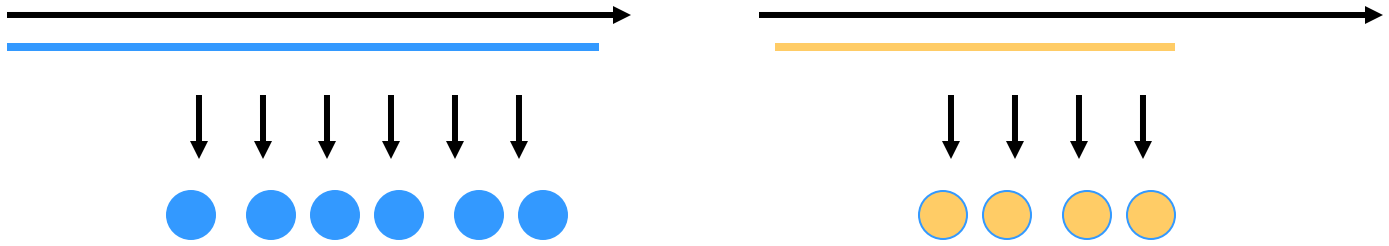
D) **Le giraffe con il collo lungo trasmettono alla propria prole i loro caratteri. Dopo più generazioni la popolazione è composta da un numero maggiore di individui con il collo lungo**



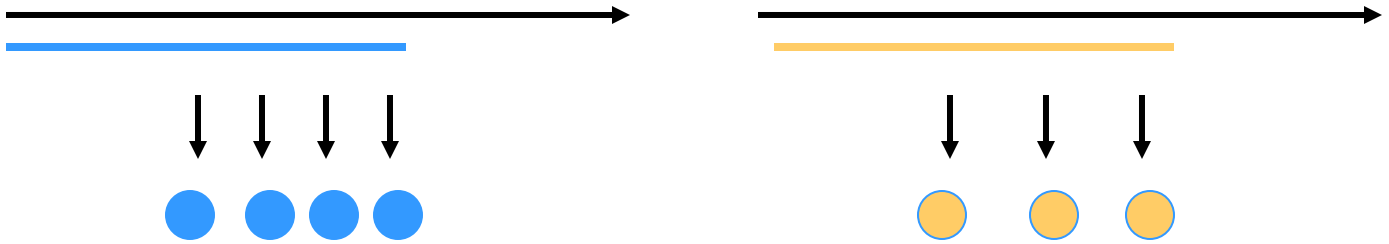
Il contesto ecologico del cambiamento evolutivo

In un certo contesto ambientale:

(a) **Mortalità differenziale**: X vive più a lungo di Y e perciò lascia più discendenti



(b) **Fertilità differenziale**: nello stesso lasso di tempo X si riproduce più efficacemente di Y e perciò lascia più discendenti



Evoluzione darwiniana

1. Esiste una **variabilità**
2. Questa variabilità è, almeno in parte, ereditaria
3. Nel contesto ambientale in cui si trovano, individui diversi hanno **fertilità o mortalità diverse**
4. Le **caratteristiche degli individui che lasciano più discendenti** si diffondono nella popolazione: **adattamento**

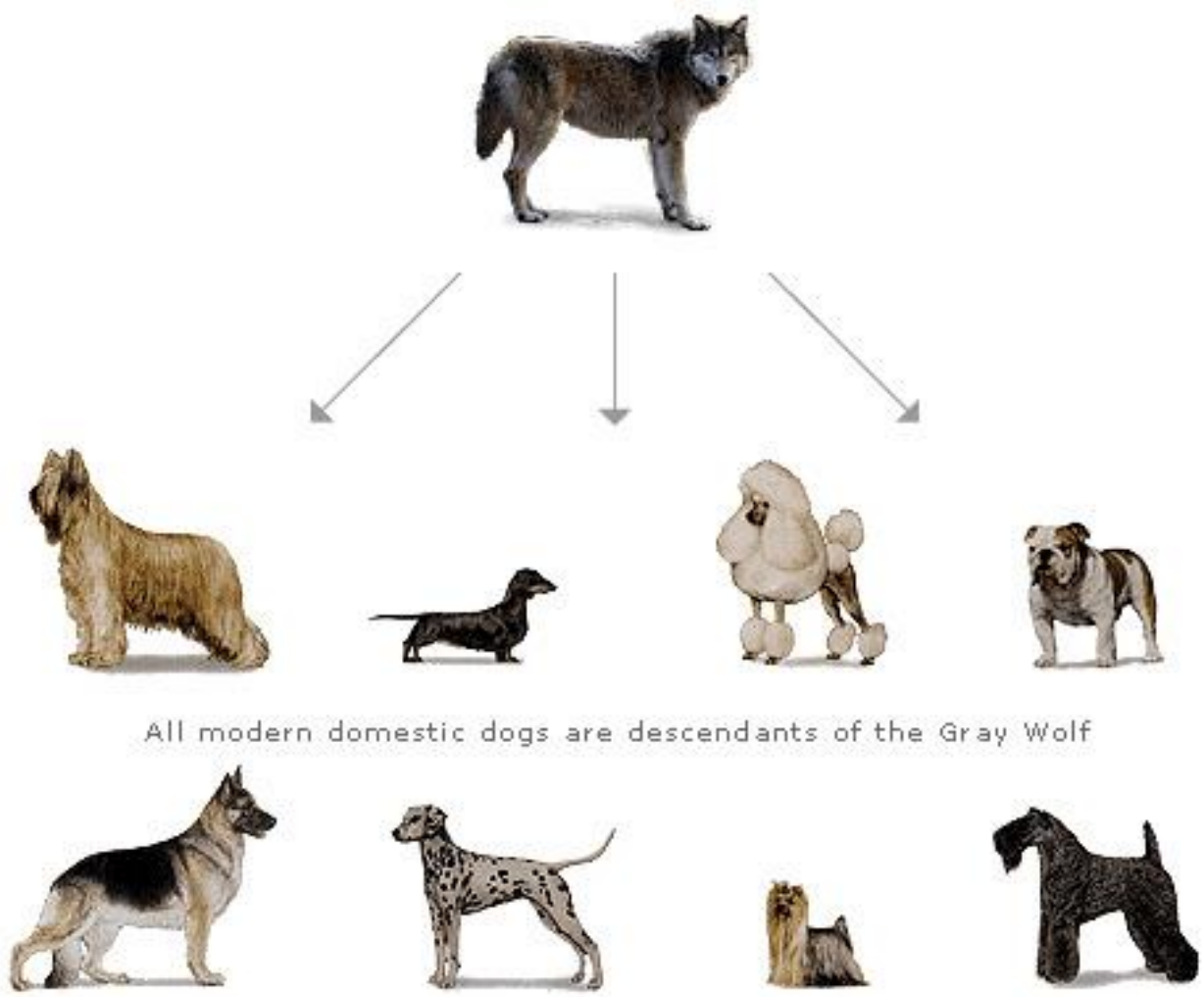
Evoluzione darwiniana: la sintesi moderna

- L'evoluzione **è il cambiamento delle caratteristiche genetiche di una popolazione,** per **effetto della**
  - **selezione naturale,**
  - **o del caso,**
  - **o di tutti e due**

- E allora:

- **Solo le popolazioni, non gli individui possono evolvere**
- **la genetica evoluzionistica studia le popolazioni**

Selezione artificiale



Quattro cose importanti

- Variabilità
- Eredità
- Il pensiero evoluzionista
- **La genetica**

- **Studia i meccanismi che controllano la trasmissione e le caratteristiche individuali da una generazione all'altra:**

  cioè la base biologica delle somiglianze e differenze tra gli individui.

- **Centrale nelle scienze biologiche:**

  consente di organizzare le evidenze derivate da altre discipline in uno schema generale che delinea l'unità dei viventi

Genetica

L'uomo ha iniziato ad occuparsi di genetica circa 10.000 anni fa, all'epoca dell'invenzione dell'agricoltura e della domesticazione degli animali

Da allora ha continuato a selezionare intuitivamente varietà animali e vegetali più produttive e resistenti, modificandone profondamente le caratteristiche

Per molti millenni tuttavia le leggi secondo le quali si trasmettono i caratteri ereditari sono rimaste sconosciute

Ancora a metà '800 la maggior parte degli studiosi credevano sia nell'ereditarietà dei caratteri acquisiti, che nella miscelazione dei caratteri (blending inheritance), teoria seconda la quale i caratteri dei genitori si mischierebbero nei figli come latte e caffé si mischiano nel caffelatte

Lo stesso Darwin non aveva sull'argomento idee molto chiare

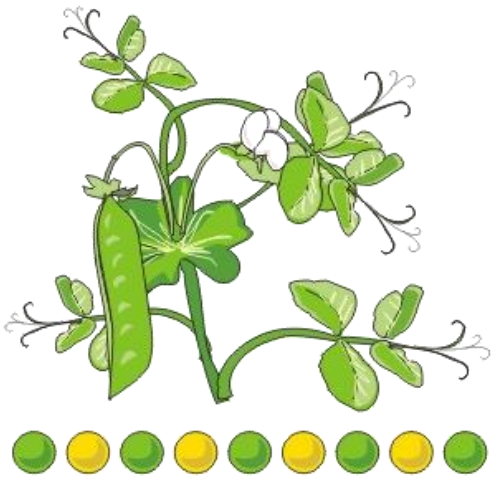
Stato della genetica ai primi dell'800

- **Cosa** è ereditato?
- **Come** è ereditato?
- Qual è il ruolo del **caso** nell'ereditarietà?

Gregor Mendel

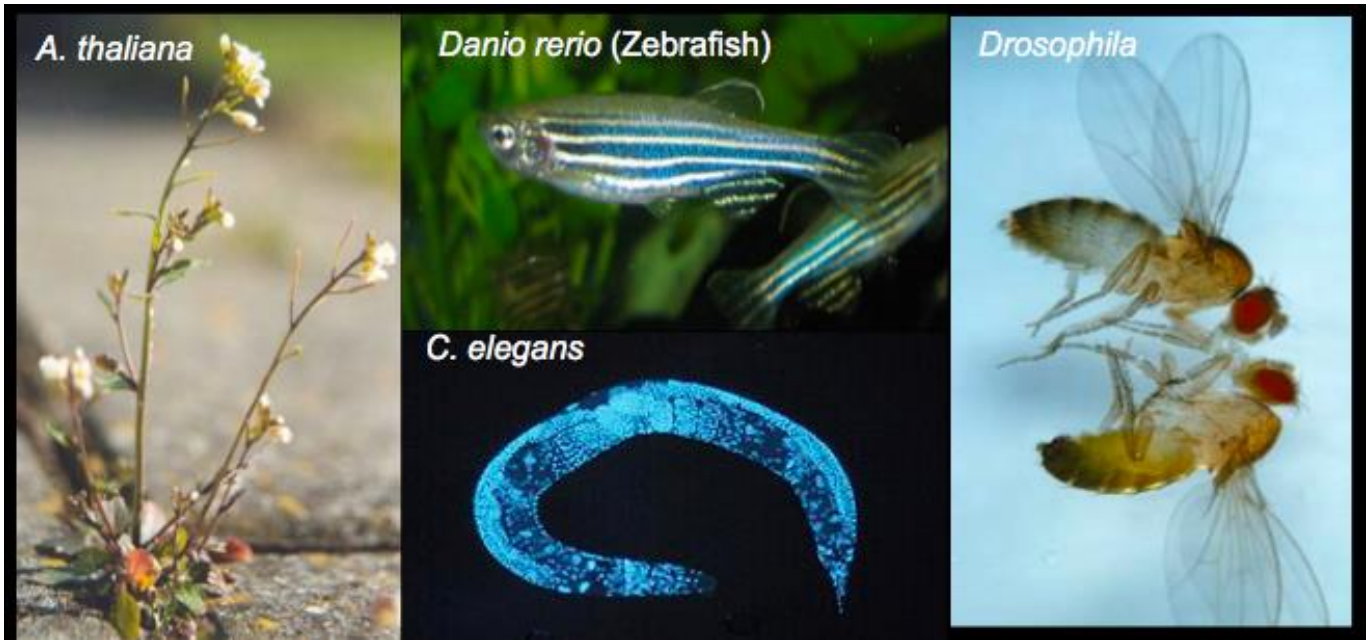
Gregor Johann Mendel
(22 luglio 1822 –6 gennaio 1884)
è stato un biologo e
un frate agostiniano ceco,
considerato,
per le sue osservazioni sui
caratteri ereditari, il precursore
della moderna genetica.





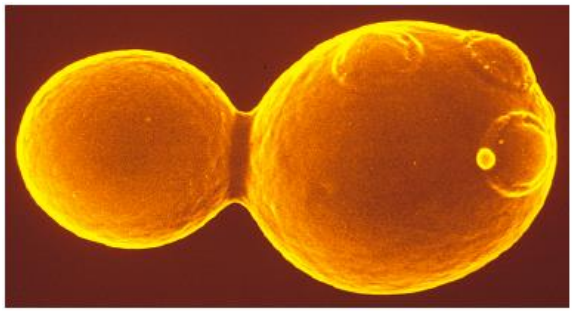
Gli organismi modello in Genetica e nella ricerca di base

- Un **organismo modello è una specie studiata per delucidare i fenomeni biologici generali.**
- Di solito: deve avere breve ciclo vitale, numerosità della progenie, dimensioni ridotte e essere facilmente manipolabile e allevabile.
- I risultati sperimentali ottenuti sull'organismo modello possono fornire informazioni anche sugli altri organismi, come ad esempio la specie umana. Infatti, i meccanismi biologici fondamentali (metabolismo, regolazione dei geni, sviluppo embrionale) e i geni che li determinano sono conservati nel corso dell'evoluzione.



Organismi modello:

-ciclo vitale breve
- progenie numerosa
- facile gestione sperimentale
- variabilità genetica



a) *Saccharomyces cerevisiae* (lievito di birra)



b) *Drosophila melanogaster* (moscerino della frutta)



c) *Caenorhabditis elegans* (nematode)



d) *Arabidopsis thaliana* (pianta erbacea appartenente alla famiglia delle Brassicaceae)

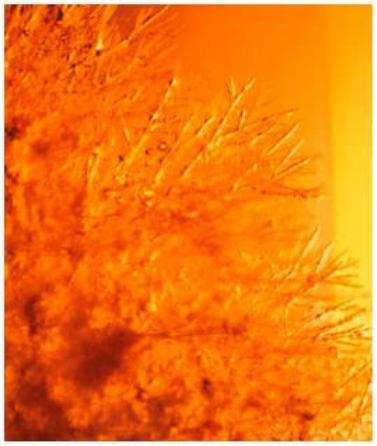


e) *Mus musculus* (topo)



f) *Homo sapiens* (uomo)

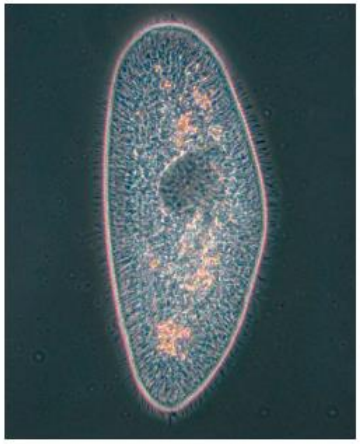
Organismi modello



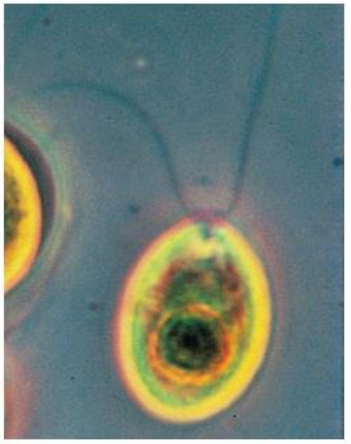
g) *Neurospora crassa* (muffa rosa del pane)



h) *Tetrahymena* (protozoo)



i) *Paramecium* (protozoo)



j) *Chlamydomonas reinhardtii* (alga verde)



k) *Pisum sativum* (pisello odoroso)



l) *Zea mays* (mais)



m) *Danio rerio* (pesce zebra)

Figura 1.4 *(continuazione)*

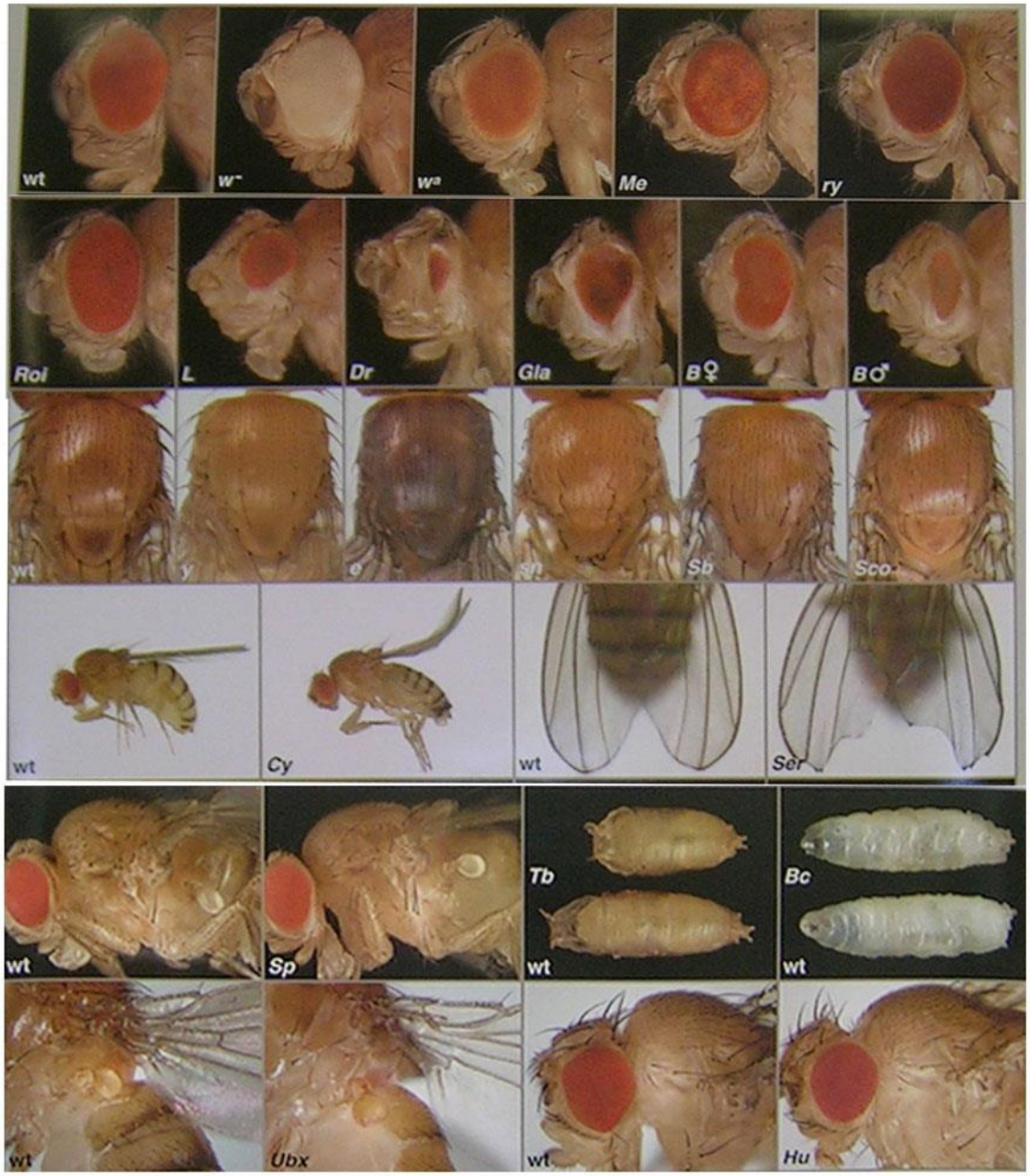
La Drosophila : il primo organismo modello



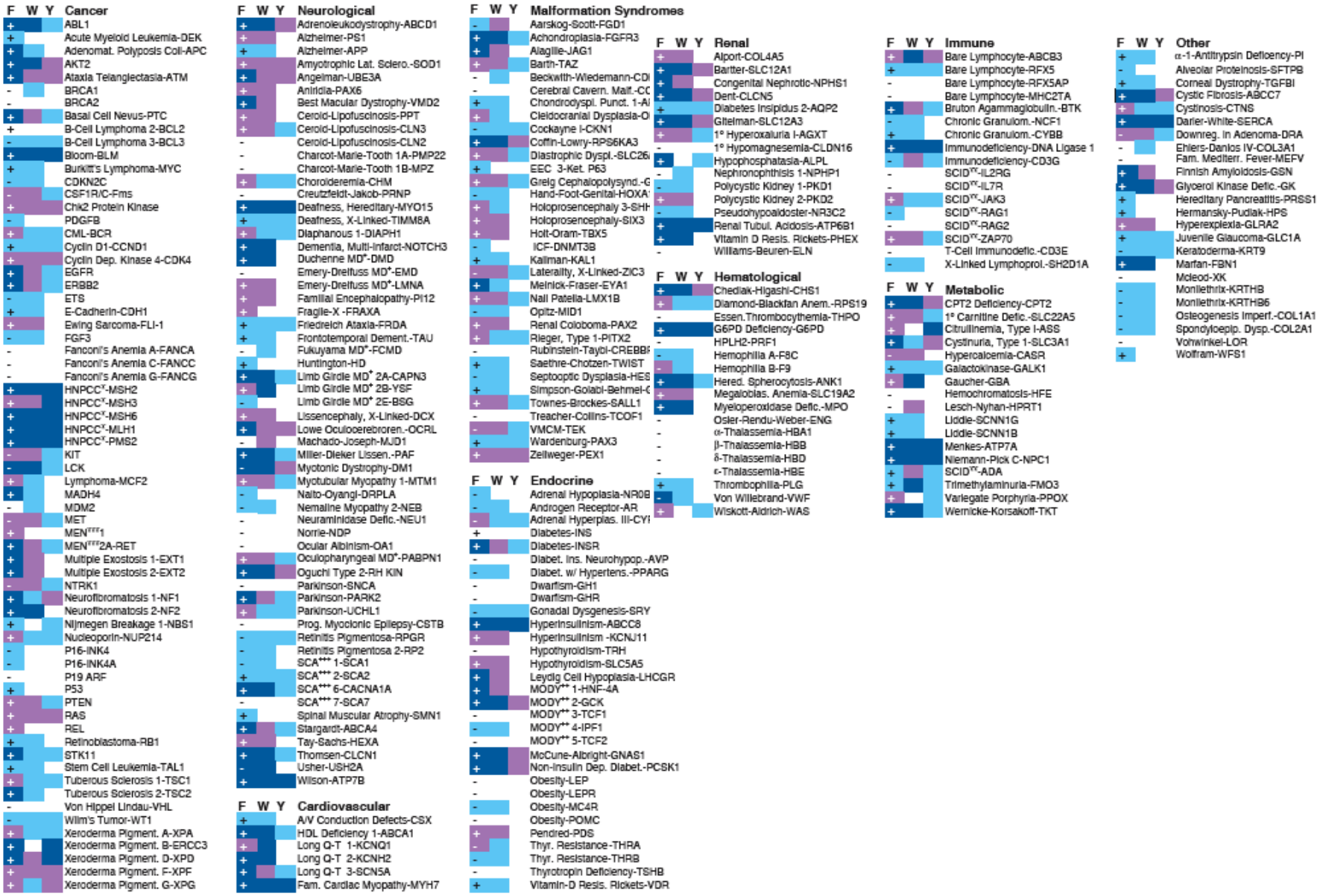
- La Drosophila diviene il principale organismo modello per studi di genetica, biologia dello sviluppo, genomica

- Notevole impatto su aspetti biomedici applicativi

Le numerose varianti fenotipiche in *Drosophila*



Genoma di *Drosophila*:165 milioni di coppie di basi, circa 17.684 geni codificanti proteine



La *Drosophila m.* e le malattie genetiche umane

Il 75% circa dei geni umani che provocano malattie ha un corrispondente omologo in Drosophila

Resource

A Systematic Analysis of Human Disease-Associated Gene Sequences In *Drosophila melanogaster*

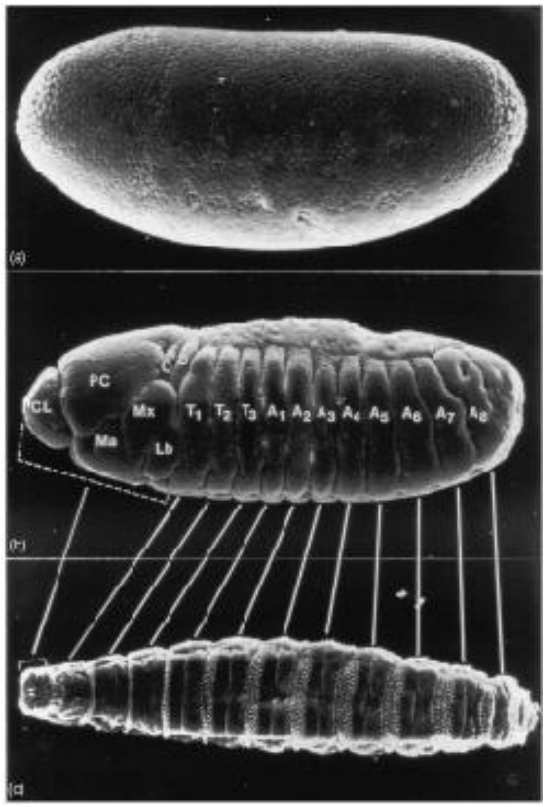
Lawrence T. Reiter,[1] Lorraine Potocki,[3] Sam Chien,[2] Michael Gribskov,[1,2] and Ethan Bier[1,4]

[1]Section of Cell and Developmental Biology, University of California San Diego, La Jolla, California 92093-0349, USA; [2]San Diego Supercomputer Center, University of California San Diego, La Jolla, California 92093, USA; [3]Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas 77030, USA

We performed a systematic BLAST analysis of 929 human disease gene entries associated with at least one mutant allele in the Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database against the recently completed genome sequence of *Drosophila melanogaster*. The results of this search have been formatted as an updateable and searchable on-line database called Homophila. Our analysis identified 714 distinct human disease genes (77% of disease genes searched) matching 548 unique *Drosophila* sequences, which we have summarized by disease category. This breakdown into disease classes creates a picture of disease genes that are amenable to study using *Drosophila* as the model organism. Of the 548 *Drosophila* genes related to human disease genes, 153 are associated with known mutant alleles and 56 more are tagged by *P*-element insertions in or near the gene. Examples of how to use the database to identify *Drosophila* genes related to human disease genes are presented. We anticipate that cross-genomic analysis of human disease genes using the power of *Drosophila* second-site modifier screens will promote interaction between human and *Drosophila* research groups, accelerating the understanding of the pathogenesis of human genetic disease. The Homophila database is available at http://homophila.sdsc.edu.

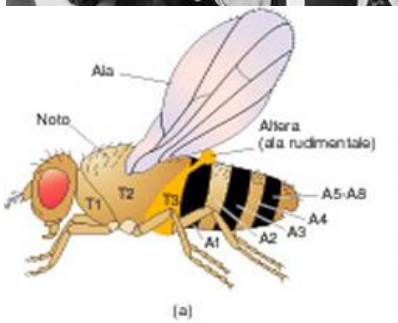
Il controllo genetico dello sviluppo in Drosophila

Premio Nobel per la Medicina nel 1995





Il lavoro pionieristico Ed **Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard ed Eric Wieschaus.**









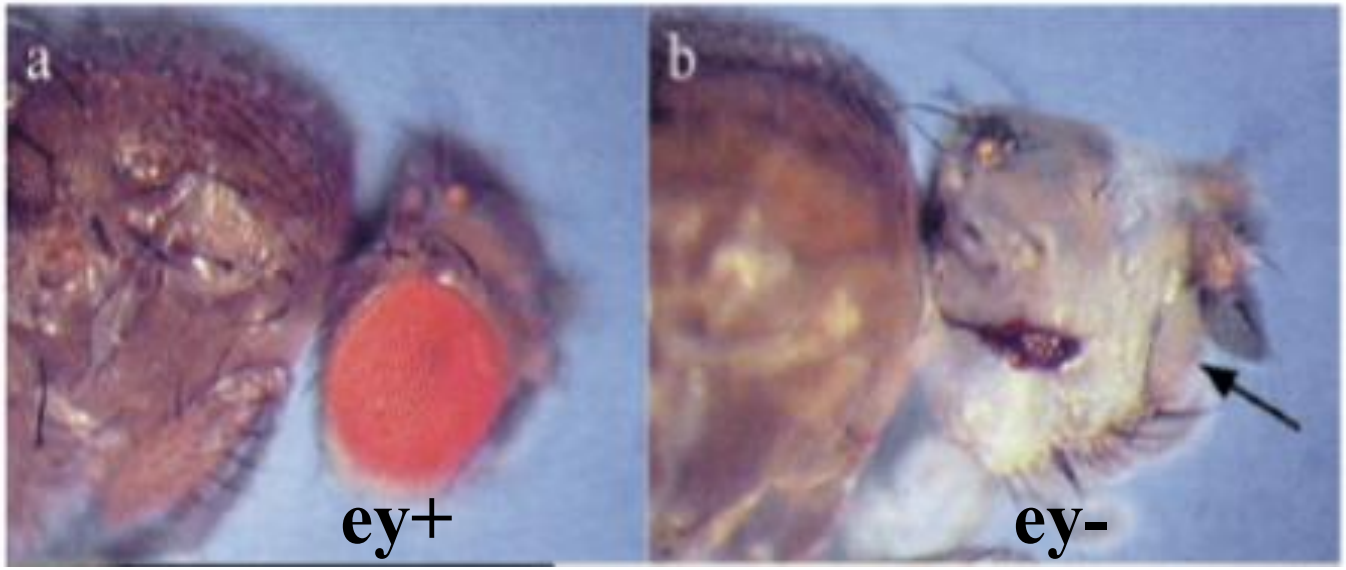
- Questo lavoro di **ricerca di base ha aperto la strada a:**
- **isolamento** e alla caratterizzazione funzionale di geni simili in altri organismi
- **studio dei meccanismi** di regolazione dell'espressione genica che controllano lo sviluppo nei vertebrati e nella specie umana

Il gene *HOX D13* e l'evoluzione degli arti



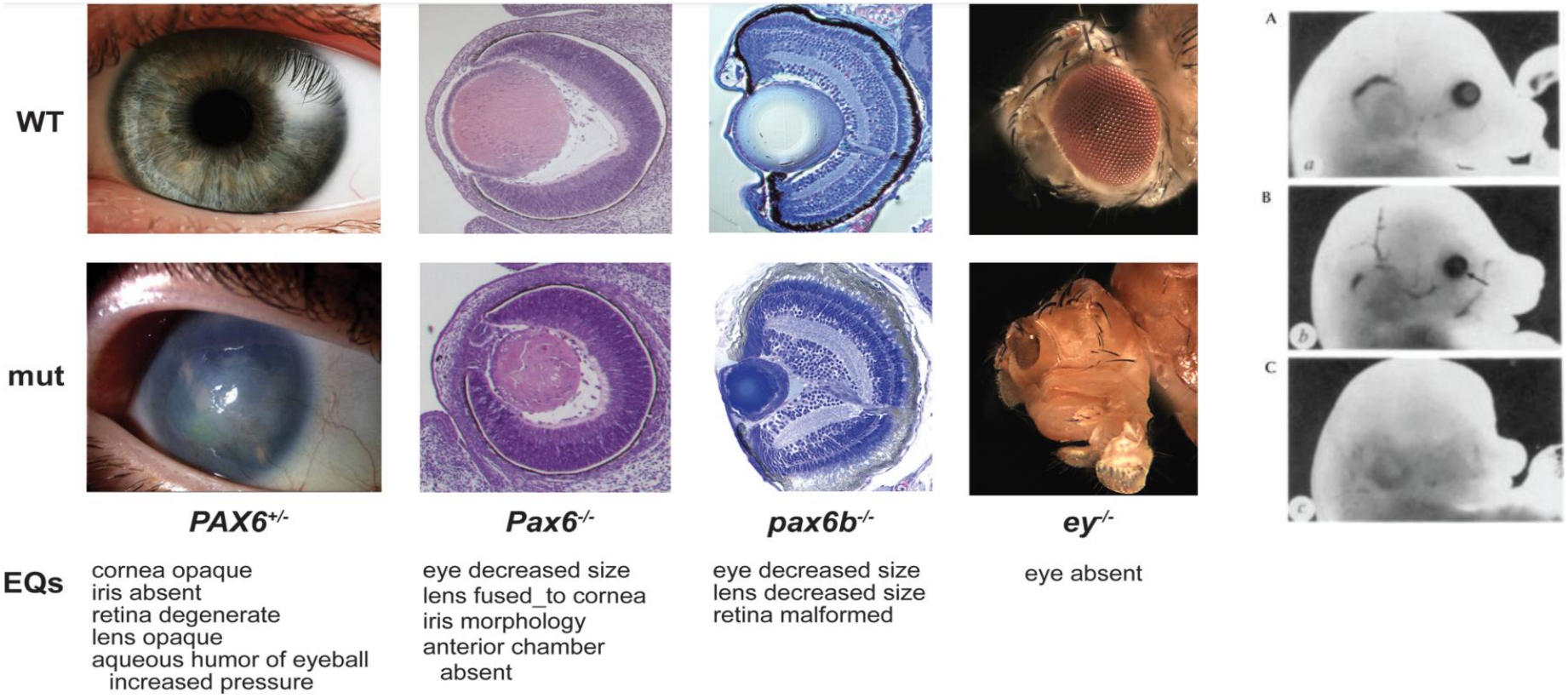
Mutation in the HOX D13 gene.

Il gene omeotico *eyeless* (*Pax6*): un "master gene" che controlla il differenziamento degli occhi in Drosophila



- *eyeless(TF*) è in **grado di dare il via al programma d'espressione genica** specifico per la **formazione dell'occhio** anche in cellule che normalmente non danno vita all'occhio
- è capace di superare il programma di determinazione e differenziamento in esse presente.

PAX6: una famiglia di geni conservati evolutivamente

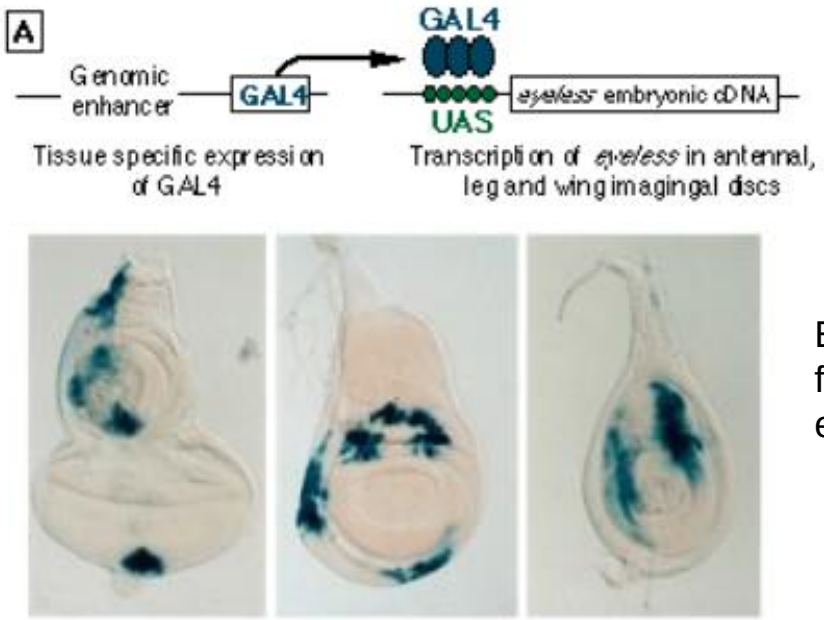


- **Pax 6 è un gene regolatore (master gene) che in organismi diversi controlla gli eventi di sviluppo che** portano al differenziamento e alla proliferazione **cellulare necessari per i normali processi di neurogenesi e oculogenesi.**
- Il risultato è inatteso in quanti l'occhio dei vertebrati è considerato evolutivamente separato da quello composto degli insetti, in quanto questi due tipi di occhi sono completamente diversi a livello morfologico.

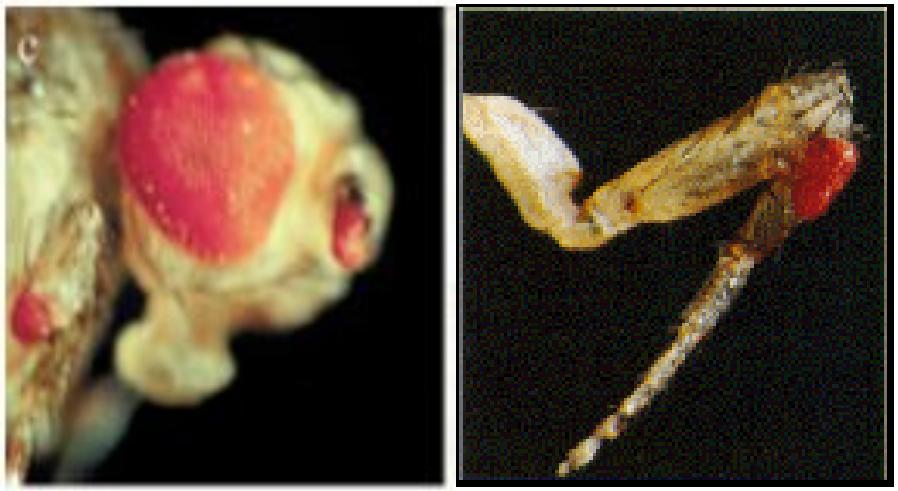
Cosa accade se in Drosophila *eyeless* viene espresso in territori cellulari diversi da quelli che danno origine all'occhio?



L'espressione ectopica del gene *eyeless* induce la formazione di occhi in altre strutture del corpo



Evidenze sperimentali indicano che i fotorecettori degli occhi ectopici siano elettricamente attivi in seguito a illuminazione



La Drosophila e l'orologio biologico



Nobel per la Medicina 2017: Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash e Michael W. Young

- L' **orologio biologico interno** permette agli organismi di **adattarsi al ritmo della giornata**,
- Esso regola funzioni cruciali come il comportamento, i livelli ormonali, il sonno, la temperatura corporea e il metabolismo.

- Nel 1984, **Jeffrey Hall e Michael Rosbash**, (Università Brandeis di Boston) insieme a **Michael Young** (Università Rockefeller di New York), hanno identificato il **gene *period*** e
  - dimostrato che esso controlla il ritmo biologico quotidiano
  - tale gene codifica una proteina che si accumula nelle cellule durante la notte e viene degradata durante il giorno.
  - In seguito, hanno individuato altri geni come ***timeless*** e ***doubletime*** e chiarito i meccanismi genetico-molecolari che controllano il funzionamento dell'**orologio biologico**.
- I **geni sono conservati** anche in altri organismi e
- **Pertanto il sistema è universale :** funziona in modo analogo nelle cellule di tutti gli organismi multicellulari, piante, animali ed esseri umani.

Enabling Technologies

Genomics	Gene Expression	Metabolic Path Eng.	Protein Engineering	Micro-Biology	Bio-Engineering	Fermentation



Further Building On:

Platform Technologies

Control & Manipulate	Directed Evolution	Protein Engineering	Cell Systems
Digitize & Analyze	Functional Genomics	Protein Function	Chemo Genomics
Discover	Genomic Sequencing	Protein Structure	Protein & Cell Signaling
	Genome	Proteome	Life Networks

Sintesi

- Senza variabilità non si fa genetica
- La genetica studia la trasmissione ereditaria delle caratteristiche biologiche
- Cose da ricordare sulla cellula
  - DNA, RNA, proteine
  - Cellula eucariote e procariote
  - Cromosomi
  - Mitosi e meiosi
- **Niente ha senso in biologia se non viene interpretato in chiave evoluzionistica**