CAPITOLO

14

Dal gene alla proteina

Quattro lettere, parole di tre, nessuno spazio fra l'una e l'altra: con questo alfabeto ogni cellula scrive tutte le sue proteine.

OBIETTIVI

1. Ricostruire il percorso storico dall'ipotesi «un gene, un enzima» al concetto moderno di gene e al dogma centrale.
2. Descrivere la trascrizione e la maturazione dell'mRNA, distinguendo filamento stampo e filamento codificante e rispettando le direzioni 5′ → 3′.
3. Leggere la tabella del codice genetico e spiegarne le proprietà.
4. Descrivere le fasi della traduzione e i livelli di struttura delle proteine.
5. Classificare le mutazioni e prevederne l'effetto sulla proteina, collegandole all'evoluzione e alla salute.

INDICE DEL CAPITOLO

14.1 Dal gene alla proteina 2
14.2 La trascrizione 4
14.3 Il codice genetico 7
14.4 La traduzione 10
14.5 Le mutazioni 14

Scienze naturali 3 · Parte IV · Le basi molecolari della vita e il corpo umano · versione 1.0
Capitolo 14: Dal gene alla proteina · pagine 359–382 del volume completo · estratto per lo studio

Una cellula del fegato e un neurone hanno lo stesso DNA, ma producono proteine diverse. Un cambiamento in una sola «lettera» del DNA può deformare i globuli rossi di una persona per tutta la vita. Gli antibiotici che curano una polmonite batterica non fanno nulla contro il raffreddore. Tre fatti con una spiegazione comune: il modo in cui l'informazione del DNA diventa proteina. In questo capitolo segui quel viaggio, dalla *trascrizione* in RNA alla lettura del *codice genetico*, dalla *traduzione* sui ribosomi al ripiegamento della catena, e vedi che cosa succede quando il messaggio cambia: le mutazioni.

14.1 Dal gene alla proteina

14.1.1 Un gene, un enzima

Agli inizi del Novecento si sapeva che i geni stanno sui cromosomi, non che cosa facessero. Già nel 1902 il medico inglese Archibald Garrod aveva collegato una rara malattia ereditaria, l'alcaptonuria, a una reazione chimica che nell'organismo dei pazienti non avviene. La prova sperimentale arrivò quarant'anni dopo, con la muffa rossa del pane, *Neurospora crassa*.

Nel 1941 George Beadle ed Edward Tatum, all'Università di Stanford, esposero le spore della muffa ai raggi X, che provocano mutazioni. Il fungo normale cresce su un *terreno minimo* (zuccheri, sali e una vitamina), perché sintetizza da solo tutte le altre molecole. Alcuni mutanti, invece, crescevano solo se al terreno si aggiungeva una sostanza precisa: avevano perso la capacità di produrla. Con gli incroci Beadle e Tatum mostrarono che ogni difetto si ereditava come un singolo gene e bloccava una sola reazione di una via metabolica, catalizzata da un enzima. Ne nacque l'ipotesi **«un gene, un enzima»**, premiata con il Nobel per la fisiologia o la medicina nel 1958.

L'ipotesi fu presto corretta. Non tutte le proteine sono enzimi (pensa all'emoglobina o al collagene), e molte sono formate da più catene diverse: l'emoglobina dell'adulto contiene due catene α e due catene β, prodotte da due geni diversi. La formula diventò **«un gene, un polipeptide»**, dove polipeptide indica una singola catena di amminoacidi. Nemmeno questa versione è assoluta: alcuni geni non portano a nessuna proteina, ma a molecole di RNA che lavorano da sole, e negli eucarioti un gene può produrre più polipeptidi diversi. In termini moderni, un gene è un tratto di DNA che viene trascritto in una molecola di RNA funzionale, insieme alle sequenze che ne regolano la trascrizione.

14.1.2 Il dogma centrale

Nel 1958 Francis Crick riassunse in uno schema il flusso dell'informazione nella cellula, e lo chiamò **dogma centrale** della biologia molecolare. L'informazione contenuta nella sequenza

delle basi del DNA viene copiata nel DNA stesso (duplicazione, cap. 13), poi trascritta in una sequenza di basi dell'RNA (**trascrizione**) e infine tradotta in una sequenza di amminoacidi (**traduzione**). Il punto essenziale, nelle parole di Crick, è che una volta passata nella proteina l'informazione non può più uscirne: nessuna cellula ricava la sequenza di un gene dalla proteina (Figura 14.1).

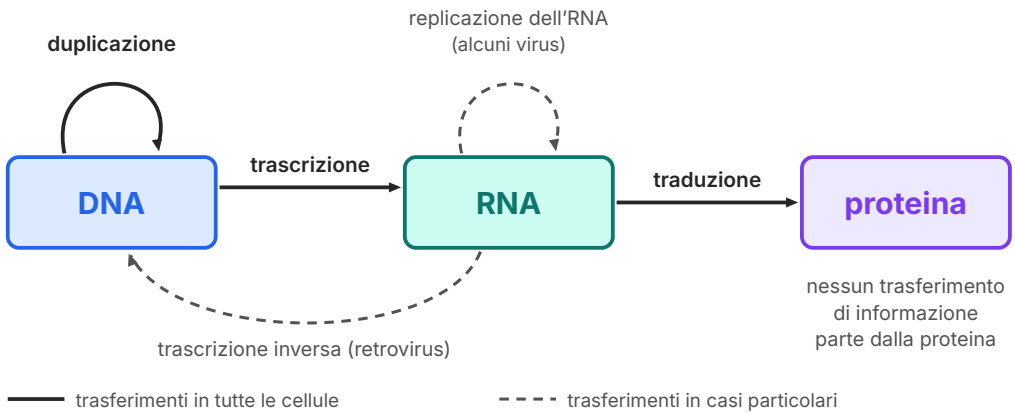


Figura 14.1 Il dogma centrale della biologia molecolare. Le frecce continue indicano i trasferimenti di informazione che avvengono in tutte le cellule; quelle tratteggiate i trasferimenti che si osservano solo in casi particolari, in alcuni virus. Nessuna freccia parte dalla proteina.

Lo schema ha eccezioni, che Crick stesso considerava possibili. Nel 1970 Howard Temin e Satoshi Mizutani e, indipendentemente, David Baltimore scoprirono in alcuni virus a RNA un enzima che costruisce DNA usando come stampo l'RNA: la **trascrittasi inversa**. I virus che la possiedono, come l'HIV, sono i retrovirus (cap. 15). Altri virus a RNA copiano il proprio RNA direttamente in RNA. Nessuna delle due eccezioni contraddice il punto centrale: l'informazione non esce mai dalle proteine.

14.1.3 L'RNA, il messaggero e gli interpreti

DA RICORDARE

Richiamo. Nel volume dello scorso anno (*Scienze naturali 2*, cap. 2) hai visto che DNA e RNA sono polimeri di nucleotidi, formati da uno zucchero, un gruppo fosfato e una base azotata, e nel cap. 13 hai studiato la struttura a doppia elica del DNA. In *Scienze naturali 2*, cap. 3, hai incontrato i ribosomi, che costruiscono le proteine, e il percorso di una proteina di secrezione dal reticolo endoplasmatico ruvido all'apparato di Golgi.

L'RNA differisce dal DNA per tre caratteristiche (Tabella 14.1): lo zucchero è il ribosio, che ha un gruppo –OH in più del desossiribosio; al posto della timina c'è l'uracile (U), che si appaia con l'adenina; la molecola è di norma a singolo filamento, più corta e meno stabile. Un filamento singolo, però, può ripiegarsi su sé stesso quando due suoi tratti hanno basi complementari, e assumere forme tridimensionali precise. Per questo l'RNA, a differenza del DNA, può fare molti mestieri diversi.

Tabella 14.1 DNA e RNA a confronto.

	DNA	RNA
zucchero	desossiribosio	ribosio
basi	A, G, C, T	A, G, C, U
filamenti	due, antiparalleli (doppia elica)	di norma uno, che può ripiegarsi su sé stesso
dove si trova (eucarioti)	nel nucleo (e in mitocondri e cloroplasti)	si forma nel nucleo; agisce nel nucleo e nel citoplasma
funzione	conserva l'informazione ereditaria	la trasporta e la traduce (mRNA, tRNA, rRNA); in parte regola i geni

Alla sintesi delle proteine partecipano tre tipi di RNA. L'**RNA messaggero** (mRNA) porta ai ribosomi la copia di un gene. L'**RNA transfer** (tRNA), una piccola molecola di circa 80 nucleotidi ripiegata a forma di L, è l'«interprete»: riconosce tre basi dell'mRNA e trasporta l'amminoacido corrispondente. L'**RNA ribosomiale** (rRNA), con molte proteine, forma i ribosomi; è proprio l'rRNA, non una proteina, a catalizzare la formazione dei legami peptidici. Molti piccoli RNA, infine, non vengono tradotti e regolano l'attività dei geni (cap. 15).

ERRORE FREQUENTE

«Il codice genetico è il DNA di un individuo». No: l'insieme del DNA di un organismo è il suo *genoma*, diverso da specie a specie e, per piccoli dettagli, da persona a persona. Il *codice genetico* è invece la regola di corrispondenza fra triplette di basi e amminoacidi, una specie di dizionario, quasi identico in tutti i viventi. Quando un giornale scrive che «è stato decifrato il codice genetico» di una pianta, intende che ne è stato sequenziato il genoma.

14.2 La trascrizione

14.2.1 Copiare un gene in RNA

La trascrizione è svolta dall'**RNA polimerasi**, un grande complesso enzimatico che apre la doppia elica per un breve tratto, legge uno dei due filamenti e unisce i ribonucleotidi complemen-

tari in un filamento di RNA (Figura 14.2). A differenza della DNA polimerasi (cap. 13), non ha bisogno di un primer. I batteri hanno un solo tipo di RNA polimerasi; gli eucarioti ne hanno tre, e i geni delle proteine sono trascritti dall'RNA polimerasi II.

Il punto di partenza è il **promotore**, una sequenza di DNA a monte del gene, cioè prima del punto di inizio della trascrizione, a cui l'RNA polimerasi si lega. Negli eucarioti la polimerasi ha bisogno di proteine dette fattori di trascrizione (cap. 15), che si legano prima al promotore; in molti promotori, circa 25–30 coppie di basi a monte del punto di inizio, c'è una breve sequenza ricca di T e A, la *TATA box*. Il promotore determina anche quale dei due filamenti verrà letto.

14.2.2 Il filamento stampo e il filamento codificante

Dei due filamenti del gene se ne legge uno solo, il **filamento stampo**. L'RNA polimerasi lo percorre da 3′ a 5′ e costruisce l'RNA in direzione 5′ → 3′, aggiungendo ogni nucleotide all'estremità 3′. L'RNA è complementare e antiparallelo allo stampo: ad A corrisponde U, a T corrisponde A, a G C e a C G. L'altro filamento, il **filamento codificante**, ha la stessa sequenza dell'mRNA, con T al posto di U; per questo le sequenze dei geni si scrivono come filamento codificante, da 5′ a 3′.

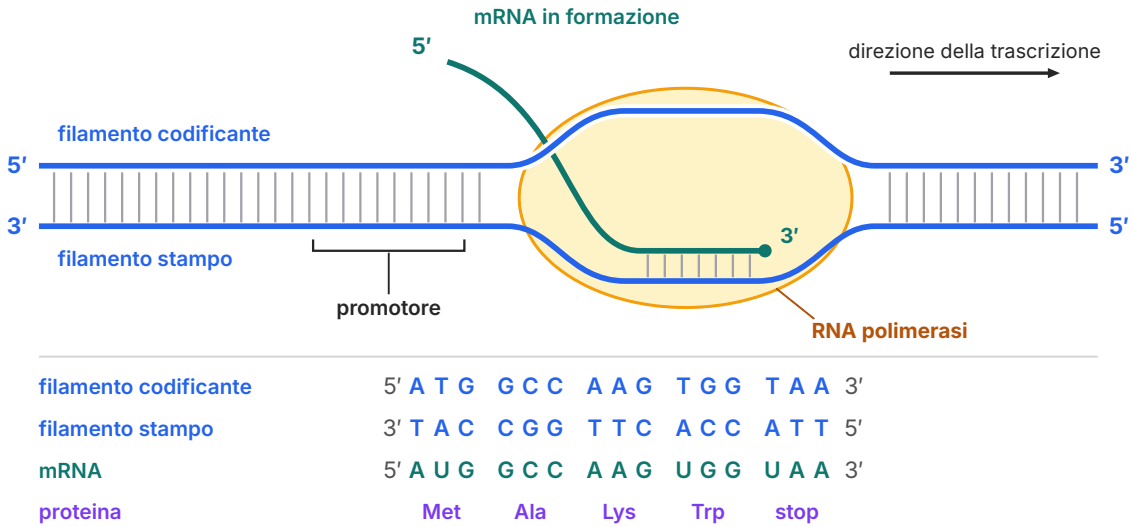


Figura 14.2 La trascrizione (schema non in scala). In alto: l'RNA polimerasi ha aperto la doppia elica e costruisce l'mRNA in direzione 5′ → 3′, leggendo il filamento stampo da 3′ a 5′; dietro la polimerasi la doppia elica si richiude. In basso: le sequenze dei due filamenti di un breve tratto di gene, dell'mRNA trascritto e della proteina corrispondente.

Lungo un cromosoma alcuni geni sono letti su un filamento, altri sull'altro. La trascrizione procede fino a una sequenza di terminazione, dove l'RNA si stacca (nei batteri) o viene tagliato

(negli eucarioti). Molte polimerasi possono trascrivere lo stesso gene una dietro l'altra: così la cellula produce rapidamente molte copie dell'mRNA che le serve.

ESEMPIO SVOLTO

Dal filamento stampo alla proteina

Problema. Il filamento stampo di un breve tratto di gene, scritto da 3′ a 5′, è: 3′-TAC CGT GAT TTC ACT-5′. Scrivi la sequenza del filamento codificante e dell'mRNA, e la sequenza degli amminoacidi (usa il codice genetico della Figura 14.4).

Soluzione. Il filamento codificante è complementare allo stampo e antiparallelo: 5′-ATG GCA CTA AAG TGA-3′. L'mRNA ha la stessa sequenza del filamento codificante, con U al posto di T: 5′-AUG GCA CUA AAG UGA-3′. Si legge l'mRNA da 5′ a 3′, a gruppi di tre basi a partire da AUG: AUG = metionina, GCA = alanina, CUA = leucina, AAG = lisina, UGA = stop.

Risultato. Met-Ala-Leu-Lys; il codone UGA non corrisponde a nessun amminoacido e chiude la catena.

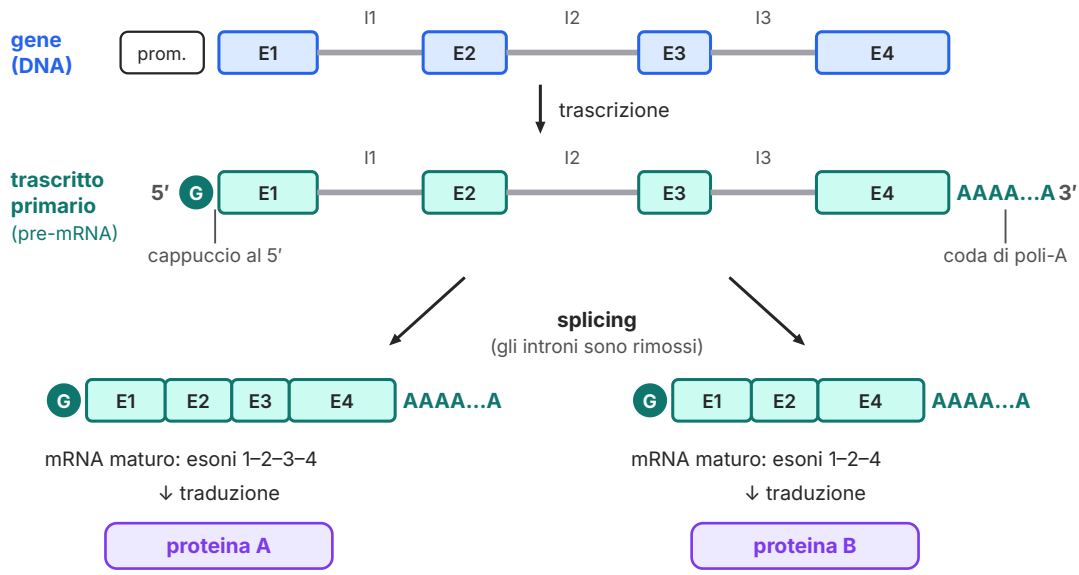
Attenzione. Se lo stampo è scritto da 5′ a 3′, prima di tutto rovescialo: il complementare si scrive allineato e con le estremità opposte.

14.2.3 La maturazione dell'mRNA negli eucarioti

Nei batteri, che non hanno nucleo, i ribosomi cominciano a tradurre l'mRNA quando questo è ancora attaccato alla polimerasi: trascrizione e traduzione sono accoppiate. Negli eucarioti la trascrizione avviene nel nucleo e la traduzione nel citoplasma, e prima di uscire dal nucleo il trascritto primario, o pre-mRNA, viene modificato in tre modi (Figura 14.3):

- all'estremità 5′ viene aggiunto un **cappuccio**, un nucleotide di guanina modificato (metilato) legato in modo insolito, 5′ con 5′. Il cappuccio protegge l'mRNA dalla demolizione e lo fa riconoscere dal ribosoma;
- all'estremità 3′ viene aggiunta una **coda di poli-A**, una serie di circa 200 nucleotidi con adenina, che aiuta l'uscita dal nucleo e rende l'mRNA più stabile nel citoplasma;
- i tratti che non serviranno per la traduzione vengono tagliati via e i tratti rimanenti vengono uniti: è lo **splicing**.

I geni degli eucarioti, infatti, sono quasi sempre *interrotti*. Le sequenze che restano nell'mRNA maturo sono gli **esoni**; quelle trascritte ma poi rimosse sono gli **introni**, scoperti nel 1977 dai gruppi di Richard Roberts e di Phillip Sharp (Nobel 1993). Il gene della β-globina, la catena β dell'emoglobina, ha tre esoni e due introni; altri geni umani ne hanno decine. Lo **splicing** è eseguito dallo *spliceosoma*, un complesso di piccoli RNA e proteine che riconosce le estremità di ogni introne, lo taglia e salda gli esoni adiacenti con la precisione di una singola base: un errore di una lettera sposterebbe la lettura di tutto ciò che segue.



Splicing alternativo: dallo stesso trascritto, unendo esoni diversi, si ottengono mRNA e proteine diversi. Schema non in scala: negli eucarioti gli introni sono spesso molto più lunghi degli esoni. E = esone (resta nell'mRNA maturo); I = introne (viene rimosso).

Figura 14.3 La maturazione dell'mRNA in un gene eucariotico con quattro esoni (schema non in scala). Il trascritto primario riceve il cappuccio al 5′ e la coda di poli-A al 3′; lo splicing rimuove gli introni. Con lo splicing alternativo lo stesso trascritto può dare mRNA maturi diversi, qui uno con tutti gli esoni e uno senza l'esone 3, e quindi proteine diverse.

Con lo **splicing alternativo** la cellula include o salta alcuni esoni, e da un solo gene ottiene più mRNA maturi e più proteine, spesso in tessuti diversi. Nella specie umana riguarda la maggior parte dei geni con più esoni: anche per questo circa 20 000 geni che codificano proteine (cap. 13) producono molte più proteine diverse. Gli introni, dunque, non sono «errori» nel DNA: rendono possibile questa flessibilità e spesso contengono sequenze che regolano il gene.

14.3 Il codice genetico

14.3.1 Parole di tre lettere

L'mRNA è scritto con quattro «lettere», le basi A, U, G, C; le proteine con venti amminoacidi. Il **codice genetico** è la regola che fa corrispondere le sequenze di basi agli amminoacidi. Un semplice conto mostra che una base per amminoacido non basta, perché dà solo 4 combinazioni; nemmeno due basi bastano, perché le coppie possibili sono $4^2 = 16$, meno di 20. Con tre basi le

combinazioni diventano $4^3 = 64$, più che sufficienti. Ogni gruppo di tre basi consecutive dell'mRNA si chiama **codone**.

La prova che i codoni sono triplette arrivò nel 1961 da esperimenti sui virus batterici (vedi il riquadro). Nello stesso anno Marshall Nirenberg e Heinrich Matthaei, ai National Institutes of Health di Bethesda, decifrarono la prima «parola». In un estratto di cellule di *Escherichia coli*, con ribosomi, tRNA ed enzimi ma senza l'mRNA della cellula, aggiunsero un RNA sintetico fatto solo di uracile, il poli-U: si formò una catena di sola fenilalanina. UUU significa quindi fenilalanina. Con RNA sintetici sempre più elaborati, preparati soprattutto da Har Gobind Khorana, entro il 1966 il codice era decifrato; Nirenberg e Khorana ebbero il Nobel nel 1968, con Robert Holley, che aveva determinato la prima sequenza di un tRNA.

APPROFONDIMENTO

Approfondimento · Come si scoprì che il codice è a triplette

Nel 1961 Francis Crick, Sydney Brenner e due collaboratori studiarono un gene del batteriofago T4, usando la proflavina, una sostanza mutagena che, secondo la loro interpretazione, aggiunge o toglie una base. Due aggiunte vicine lasciavano il gene inattivo, ma *tre* aggiunte vicine, o tre eliminazioni, gli restituivano spesso la funzione. La spiegazione più semplice: il gene si legge a gruppi di tre basi a partire da un punto fisso, e con tre basi in più o in meno la lettura sbaglia solo nel breve tratto fra le mutazioni. Il lavoro uscì su *Nature* alla fine del 1961.

14.3.2 Leggere la tabella del codice

Nella Figura 14.4 (e nella Tabella D.1 dell'appendice) l'amminoacido di un codone si trova scegliendo la riga della prima base, la colonna della seconda e, nel riquadro, la riga della terza: GCA, per esempio, è alanina. Dei 64 codoni, 61 sono *codoni di senso*; UAA, UAG e UGA sono *codoni di stop* e chiudono la catena. AUG codifica la metionina ed è anche il *codone d'inizio*: per questo la metionina è il primo amminoacido di quasi ogni catena appena sintetizzata, anche se spesso viene poi rimossa.

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

AUG: metionina e codone d'inizio — codoni di stop (nessun amminoacido)

Figura 14.4 Il codice genetico standard: i 64 codoni dell'mRNA, letti da 5′ a 3′, con gli amminoacidi corrispondenti (abbreviazioni a tre lettere: appendice, Tabella D.2). Prima base a sinistra, seconda in alto, terza a destra. Fonte: NCBI, *The Genetic Codes*, tabella 1.

14.3.3 Le proprietà del codice

Il codice genetico ha alcune proprietà generali, tutte verificate sperimentalmente:

- **è ridondante** (o degenerato): quasi tutti gli amminoacidi corrispondono a più codoni. Leucina, serina e arginina ne hanno sei; solo metionina e triptofano ne hanno uno. I codoni sinonimi differiscono di solito nella terza base (CUU, CUC, CUA e CUG sono tutti leucina), anche perché in terza posizione l'appaiamento fra codone e tRNA è meno rigido, come propose Crick nel 1966;
- **non è ambiguo**: ogni codone corrisponde a un solo amminoacido. GGA è sempre glicina, mai altro;
- **non ha sovrapposizioni né segni di separazione**: i codoni si leggono uno dopo l'altro, senza basi in comune e senza «spazi», a partire dal codone d'inizio;
- **è quasi universale**: è lo stesso in batteri, piante, funghi e animali, uomo compreso. Le eccezioni sono poche: nei mitocondri dei vertebrati UGA codifica il triptofano, AUA la metioni-

na, e AGA e AGG sono codoni di stop; alcuni protisti ciliati leggono UAA e UAG come glutammina. Per questo un gene umano inserito in un batterio può essere tradotto nella proteina giusta, e l'universalità è uno degli argomenti più forti a favore di un'origine comune dei viventi.

Poiché il codice non ha separatori, il significato dipende dal punto da cui si comincia a leggere. Una sequenza si può dividere in triplette in tre modi, spostando l'inizio di una base: sono le tre **finestre di lettura**. Prendi la frase «LEI AMA SUO ZIO» e comincia dalla seconda lettera: «EIA MAS UOZ...» non ha più senso. Il codone d'inizio AUG fissa la finestra giusta; da lì il ribosoma procede di tre basi alla volta, fino al primo codone di stop nella stessa finestra.

14.4 La traduzione

14.4.1 I protagonisti: tRNA e ribosomi

Un codone non somiglia chimicamente al suo amminoacido: serve un adattatore, il tRNA. In un'ansa del tRNA si trova l'**anticodone**, una tripletta complementare al codone; all'estremità 3′ si attacca l'amminoacido. L'appaiamento è antiparallelo: al codone 5′-GGA-3′ (glicina) si appaia l'anticodone 3′-CCU-5′ del tRNA della glicina.

Ogni tRNA viene caricato con l'amminoacido giusto da un enzima, l'**amminoacil-tRNA sintetasi**; ce n'è in genere una per ciascun amminoacido, e usa l'energia dell'ATP. È qui che il codice viene davvero «applicato»: il ribosoma controlla solo l'appaiamento fra codone e anticodone, e inserirebbe senza accorgersene un amminoacido sbagliato.

Il ribosoma è formato da una subunità maggiore e una minore, fatte di rRNA e proteine, che si uniscono sull'mRNA. Fra di esse ci sono tre siti per i tRNA: il **sito A** (amminoacil), dove entra il tRNA carico; il **sito P** (peptidil), dove sta il tRNA che porta la catena in crescita; il **sito E** (*exit*, uscita), da cui il tRNA scarico se ne va (Figura 14.5). I ribosomi dei batteri sono più piccoli di quelli degli eucarioti e diversi in molti dettagli.

14.4.2 Inizio, allungamento, terminazione

La traduzione si svolge in tre fasi.

- **Inizio.** La subunità minore si lega all'mRNA (negli eucarioti riconosce il cappuccio e scorre fino al primo AUG); il tRNA d'inizio, che porta la metionina (nei batteri la formilmetionina), si appaia all'AUG; poi arriva la subunità maggiore, e il tRNA d'inizio occupa il sito P.
- **Allungamento.** Nel sito A entra l'amminoacil-tRNA il cui anticodone si appaia al codone successivo. L'rRNA catalizza la formazione di un legame peptidico: la catena del tRNA nel sito P passa sull'amminoacido appena arrivato. Poi il ribosoma avanza di un codone verso il 3′ (*traslocazione*): il tRNA scarico passa nel sito E ed esce, quello con la catena passa nel sito

P e il sito A si libera. Ogni ciclo consuma energia fornita dal GTP, una molecola simile all'ATP.

- **Terminazione.** Quando nel sito A arriva un codone di stop, nessun tRNA vi si appaia: vi si lega una proteina, il *fattore di rilascio*, che stacca la catena dall'ultimo tRNA. Le subunità si separano e liberano l'mRNA.

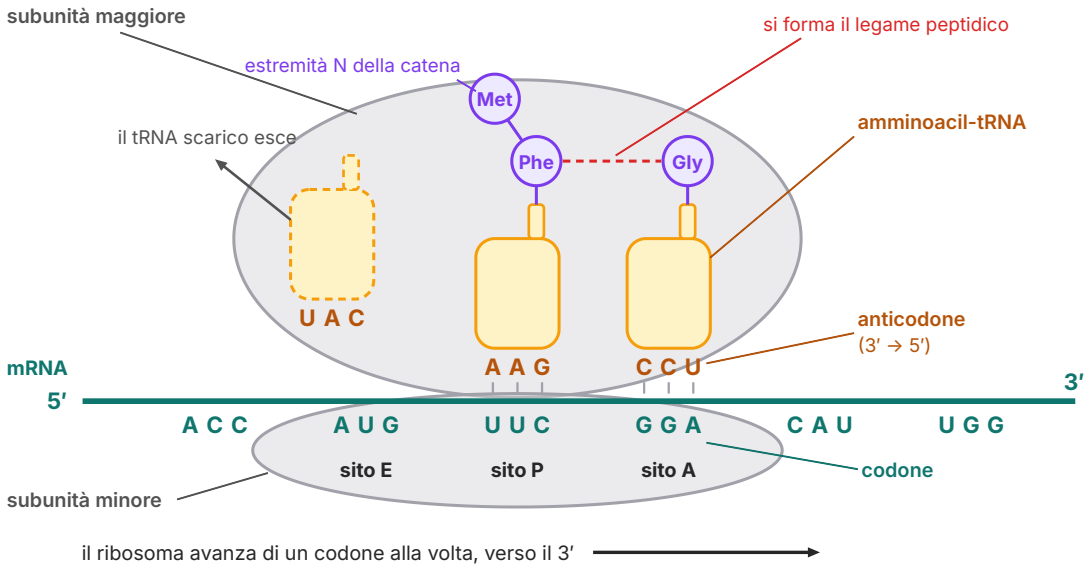


Figura 14.5 La traduzione al ribosoma, durante l'allungamento (schema non in scala). L'mRNA scorre fra le due subunità ed è letto da 5′ a 3′. Nel sito P il tRNA della fenilalanina porta la catena Met-Phe; nel sito A è appena entrato il tRNA della glicina, con l'anticodone 3′-CCU-5′ appaiato al codone GGA; la catena sta per essere trasferita sulla glicina. Il tRNA della metionina, scarico, lascia il sito E.

Due regole valgono sempre: l'mRNA si legge da 5′ a 3′, e la proteina cresce dall'estremità con il gruppo amminico libero (*N-terminale*) verso quella con il gruppo carbossilico libero (*C-terminale*). Su un mRNA lavorano contemporaneamente molti ribosomi, distanziati come perle di una collana, che formano un *polisoma*: da un solo mRNA nascono in poco tempo molte copie della stessa proteina.

ERRORE FREQUENTE

«Il tRNA porta il codone» e «l'mRNA si legge da 3′ a 5′». Il codone sta sull'mRNA; il tRNA porta l'*anticodone*, complementare al codone. L'mRNA si legge sempre da 5′ a 3′: quello che si legge da 3′ a 5′ è il filamento stampo del DNA, durante la trascrizione. Un altro errore è pensare che i codoni di stop codifichino un amminoacido «di chiusura»: ai codoni di stop non si appaia nessun tRNA.

IN SINTESI

filamento stampo (3′ → 5′) → mRNA (5′ → 3′): A → U, T → A, G → C, C → G

filamento codificante (5′ → 3′) = mRNA, con T al posto di U

codone (5′ → 3′) ↔ anticodone (3′ → 5′), appaiati in modo antiparallelo

numero di amminoacidi = numero di codoni dall'AUG all'ultimo codone prima dello stop

COLLEGAMENTI

Salute · Antibiotici e ribosomi. Molti antibiotici bloccano la traduzione nei batteri legandosi ai loro ribosomi: la streptomicina e le tetracicline alla subunità minore, l'eritromicina e il cloramfenicolo alla maggiore. Poiché i ribosomi batterici sono diversi dai nostri, questi farmaci colpiscono i batteri molto più di noi. Non hanno invece alcun effetto sui virus, che usano i ribosomi della cellula ospite: un antibiotico preso per un raffreddore non cura e favorisce i batteri resistenti (cap. 15). Gli antibiotici si usano solo su prescrizione del medico, seguendo le sue indicazioni.

14.4.3 Dove va la proteina

La traduzione delle proteine scritte nei geni del nucleo comincia sempre su ribosomi liberi nel citosol. Se la catena nascente comincia con una breve *sequenza segnale*, il ribosoma si aggancia al reticolo endoplasmatico ruvido e la proteina vi entra mentre viene sintetizzata; da lì segue il percorso verso l'apparato di Golgi e la membrana, i lisosomi o l'esterno della cellula (*Scienze naturali 2*, cap. 3). Le altre proteine restano nel citosol, o raggiungono nucleo, mitocondri e cloroplasti grazie ad altri segnali.

14.4.4 Il ripiegamento: i livelli di struttura delle proteine

Una catena di amminoacidi appena sintetizzata non è ancora una proteina funzionante: deve ripiegarsi nella sua forma tridimensionale. Lo scorso anno hai visto, in un riquadro di approfondimento, che questa forma si descrive con quattro livelli di struttura (Figura 14.6); ora puoi capire quali forze li tengono insieme (cap. 7).

- **Struttura primaria**: la sequenza degli amminoacidi, uniti da legami peptidici, scritta nel gene.
- **Struttura secondaria**: ripiegamenti regolari di tratti della catena, stabilizzati da legami a idrogeno fra il C=O di un legame peptidico e l'N–H di un altro: l'*α-elica*, una spirale destrorsa, e il *foglietto β*, con tratti distesi affiancati (previsti da Linus Pauling e Robert Corey nel 1951).
- **Struttura terziaria**: la forma dell'intera catena, dovuta alle interazioni fra le catene laterali: legami a idrogeno, attrazioni fra gruppi di carica opposta, forze di London e la tendenza dei

gruppi apolari a raccogliersi all'interno, lontano dall'acqua; fra due cisteine si formano anche legami covalenti, i *ponti disolfuro* (–S–S–).

- **Struttura quaternaria**: l'unione di più catene in una sola proteina. L'emoglobina ha quattro catene, due α e due β, ciascuna con un gruppo eme che lega l'ossigeno.

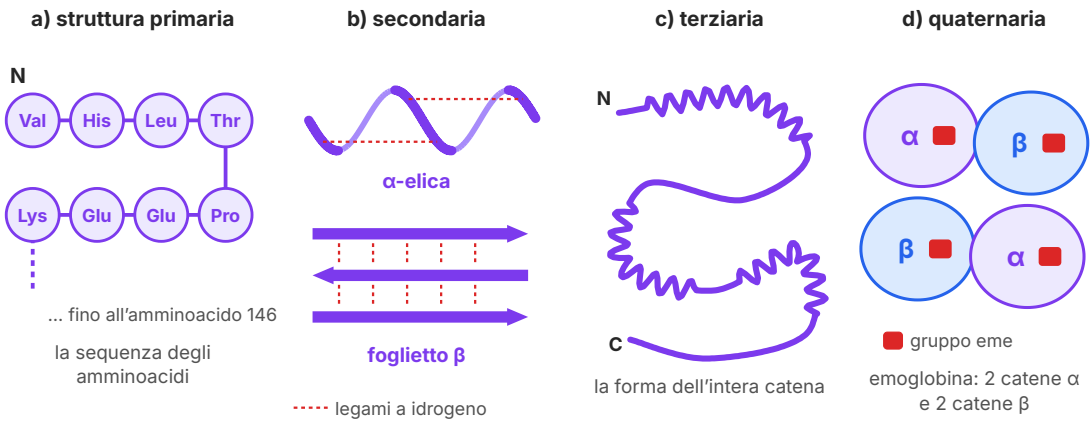


Figura 14.6 I livelli di struttura delle proteine (schema non in scala). a) Struttura primaria: i primi amminoacidi della catena β dell'emoglobina, a partire dall'estremità N (la metionina iniziale è già stata rimossa). b) Strutture secondarie: α-elica e foglietto β, tenuti insieme da legami a idrogeno (in rosso). c) Struttura terziaria: una catena che contiene tratti ad α-elica ripiegata in una forma compatta. d) Struttura quaternaria: l'emoglobina, con due catene α, due catene β e quattro gruppi eme.

Fra la fine degli anni Cinquanta e l'inizio dei Sessanta Christian Anfinsen mostrò che un enzima denaturato in provetta, la ribonucleasi, riprendeva da solo forma e attività una volta eliminata la causa della denaturazione: l'informazione per la forma è contenuta nella struttura primaria (Nobel per la chimica 1972). Nella cellula molte proteine si ripiegano con l'aiuto di altre proteine, gli *chaperon*, che impediscono alle catene appena nate di aggregarsi. Calore, acidi e alcuni solventi rompono le interazioni deboli della struttura terziaria e la proteina perde forma e funzione: è la denaturazione (*Scienze naturali 2*, cap. 2).

ESPERIENZA DI LABORATORIO

La forma conta: denaturare l'albume

Obiettivo. Osservare come calore, acidi e alcol modificano la forma delle proteine dell'albume.

Materiale. Un uovo; 6 provette con portaprovette; cilindro graduato da 10 mL; aceto bianco (acido acetico al 5 % circa); alcol etilico al 70 %; bollitore elettrico e becher per il bagnomaria; becher con acqua e ghiaccio; termometro; un foglio nero.

1. Mescola l'albume con 3 volte il suo volume di acqua in cui hai sciolto un pizzico di sale (così la soluzione resta limpida) e metti 4 mL della soluzione in ciascuna di 6 provette numerate.
2. Provetta 1: nessun trattamento (**controllo**). Provetta 2: + 2 mL di acqua (controllo della diluizione). Provetta 3: + 2 mL di aceto. Provetta 4: + 2 mL di alcol.
3. Provetta 5: 5 minuti in un bagnomaria di acqua appena bollita (80–90 °C circa). Provetta 6: 5 minuti in acqua e ghiaccio.
4. Confronta le provette su sfondo nero, registra la limpidezza in una tabella e osserva se la provetta 5, raffreddata, torna limpida.

Sicurezza. Occhiali e guanti. L'uovo crudo può contenere batteri: lava mani e banco, non assaggiare nulla. L'alcol è infiammabile: nessuna fiamma, bollitore lontano dall'alcol. Attenzione all'acqua calda. Smaltimento: le soluzioni nel lavandino con molta acqua, i gusci nell'umido.

Risultato atteso. Le provette 1, 2 e 6 restano limpide; le 3, 4 e 5 si intorbidano o formano fiocchi bianchi, perché le proteine denaturate si aggregano. Raffreddata, la provetta 5 resta torbida: qui la denaturazione non si inverte.

Domande. A che cosa servono le provette 1 e 2? Quali livelli di struttura altera il calore, e quale no? Perché l'albume non torna limpido, mentre la ribonucleasi di Anfinsen riprendeva la sua forma?

14.5 Le mutazioni

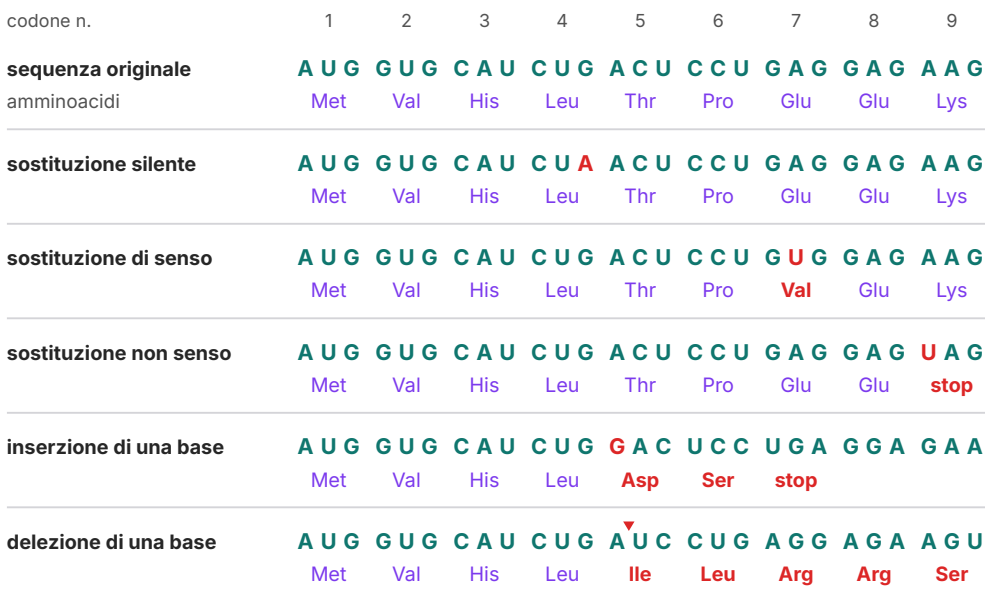
Lo scorso anno hai definito la mutazione come un cambiamento del materiale genetico, origine dei nuovi alleli (*Scienze naturali 2*, cap. 8). Ora puoi descriverla a livello molecolare e prevederne l'effetto sulla proteina. Le mutazioni si classificano in base all'estensione del cambiamento: possono riguardare una o poche basi di un gene, un tratto di cromosoma o il numero dei cromosomi.

14.5.1 Le mutazioni puntiformi

Una **mutazione puntiforme** cambia una singola coppia di basi, o pochissime. Il tipo più comune è la **sostituzione** di una base con un'altra. Il suo effetto sulla proteina dipende da dove cade e dal nuovo codone che si forma (Figura 14.7):

- **mutazione silente**: il nuovo codone è sinonimo del vecchio e codifica lo stesso amminoacido, per esempio CUG → CUA, leucina in entrambi i casi. La proteina non cambia; per la ridondanza del codice, molte sostituzioni della terza base sono silenti;
- **mutazione di senso** (o missenso): il nuovo codone codifica un amminoacido diverso. L'effetto va da nullo a gravissimo, a seconda dell'amminoacido sostituito e della sua posizione nella proteina;
- **mutazione non senso**: il nuovo codone è un codone di stop. La catena si interrompe in anticipo e la proteina, accorciata, di solito non funziona.

Le **inserzioni** e le **delezioni** aggiungono o tolgono una o più basi. Se il numero di basi aggiunte o tolte non è un multiplo di tre, tutti i codoni a valle vengono letti in una finestra sbagliata: è una *mutazione con scorrimento della finestra di lettura* (in inglese *frameshift*). Da quel punto in poi la sequenza degli amminoacidi cambia completamente, e di solito un codone di stop compare presto. Se invece si perdono esattamente tre basi, si perde un solo amminoacido e la finestra resta quella giusta: la variante più frequente della fibrosi cistica è la delezione di tre basi che toglie una fenilalanina, la numero 508, a una proteina di membrana chiamata CFTR.



mRNA dell'inizio del gene della β-globina umana (HBB); in rosso le basi mutate e gli amminoacidi cambiati.

Figura 14.7 Gli effetti delle mutazioni puntiformi sui primi nove codoni dell'mRNA della β-globina umana (sequenza di riferimento NCBI NM_000518.5). La sostituzione di senso GAG → GUG nel codone 7 è quella reale dell'anemia falciforme; le altre mutazioni sono esempi costruiti sulla stessa sequenza. In rosso le basi mutate e gli amminoacidi cambiati; nella delezione il triangolo rosso segna il punto in cui manca la C del quinto codone.

14.5.2 Un caso esemplare: l'anemia falciforme

Lo scorso anno hai incontrato l'anemia falciforme come malattia autosomica recessiva, frequente in zone d'Italia dove in passato c'era la malaria, perché gli eterozigoti ne sono in parte protetti (*Scienze naturali 2*, cap. 8). Nel gene della β-globina, al posto della tripletta GAG del filamento codificante c'è GTG: nell'mRNA il codone GAG, acido glutammico, diventa GUG, valina. Nella numerazione tradizionale della catena, che non conta la metionina iniziale perché viene rimossa, è il sesto amminoacido.

Una sola sostituzione su 146 amminoacidi cambia il comportamento della proteina. L'acido glutammico è carico e idrofilo, la valina è apolare: sulla superficie dell'emoglobina S forma una zona idrofobica che, quando l'ossigeno è scarso, si incastra in una tasca idrofobica di un'altra molecola. Le molecole si uniscono in lunghe fibre rigide che deformano i globuli rossi a falce; le cellule deformate si rompono facilmente e ostruiscono i capillari. Un cambiamento nel DNA modifica la struttura primaria, poi la superficie della proteina, poi la forma della cellula e infine la salute della persona.

ESEMPIO SVOLTO

Prevedere l'effetto di una mutazione

Problema. Il filamento codificante di un tratto di gene è 5′-ATG AAA TGG CTT GGA TAA-3′. Prevedi l'effetto sulla proteina di tre mutazioni: a) l'ultima G della tripletta TGG diventa A; b) l'ultima T della tripletta CTT diventa C; c) si perde la prima A della tripletta AAA.

Soluzione. L'mRNA è 5′-AUG AAA UGG CUU GGA UAA-3′, che codifica Met-Lys-Trp-Leu-Gly. a) Se la terza base del codone UGG diventa A, si forma UGA, un codone di stop: mutazione non senso, la catena si ferma a Met-Lys. b) CUU → CUC: entrambi codificano la leucina, mutazione silente. c) Togliendo una A l'mRNA diventa AUG AAU GGC UUG GAU AA…: Met-Asn-Gly-Leu-Asp…, con la finestra di lettura spostata da quel punto in poi.

Risultato. a) non senso, proteina tronca; b) silente, proteina invariata; c) scorrimento della finestra di lettura, tutti gli amminoacidi a valle cambiano e il codone di stop originale non viene più letto nella finestra giusta.

14.5.3 Mutazioni cromosomiche e genomiche

Le **mutazioni cromosomiche** modificano la struttura di un cromosoma e coinvolgono spesso molti geni. Un tratto può andare perduto (*delezione*), essere copiato due volte (*duplicazione*), reinserirsi capovolto (*inversione*) o spostarsi su un cromosoma non omologo (*traslocazione*). La perdita di una parte del braccio corto del cromosoma 5 causa la sindrome del «cri du chat»; una traslocazione fra i cromosomi 9 e 22, il cromosoma Philadelphia, si trova nelle cellule della leucemia mieloide cronica. Le duplicazioni contano nell'evoluzione: una copia del gene conserva la funzione, l'altra può accumulare mutazioni e acquistarne una nuova.

Le **mutazioni genomiche** cambiano il numero dei cromosomi. Le aneuploidie, con un cromosoma in più o in meno, nascono da una non-disgiunzione nella meiosi, come la trisomia 21 (*Scienze naturali 2*, cap. 6). La *poliploidia*, cioè più di due serie complete di cromosomi, è rara negli animali ma frequente nelle piante: il grano duro, della pasta, è tetraploide (28 cromosomi, quattro serie di 7); il grano tenero, del pane, è esaploide (42 cromosomi, sei serie di 7) (*Scienze naturali 2*, cap. 10).

14.5.4 Le cause delle mutazioni

Molte mutazioni sono **spontanee**: errori della duplicazione sfuggiti alla correzione e alla riparazione (cap. 13), o alterazioni chimiche spontanee delle basi. Altre sono provocate dai **mutageni**. I fotoni ultravioletti hanno abbastanza energia (cap. 4) da unire con legami covalenti due basi pirimidiniche vicine sullo stesso filamento, spesso due timine: il *dimero di timina* deforma l'elica e ostacola duplicazione e trascrizione. Le radiazioni ionizzanti (cap. 3) possono spezzare i filamenti del DNA. Fra i mutageni chimici ci sono molte sostanze del fumo di tabacco, come il benzo[a]pirene, che nell'organismo diventa una molecola capace di legarsi alle basi.

Una *mutazione somatica* colpisce una cellula del corpo e passa solo alle cellule che ne derivano: può contribuire a un tumore, ma non ai figli. Una *mutazione germinale* avviene nelle cellule che formano i gameti e può essere ereditata. Solo le mutazioni germinali sono la materia prima dell'evoluzione: l'unica fonte di alleli nuovi su cui agiscono selezione naturale e deriva genetica (*Scienze naturali 2*, cap. 10).

ERRORE FREQUENTE

«Le mutazioni avvengono quando servono» e «le mutazioni sono sempre dannose». Le mutazioni sono casuali rispetto ai bisogni dell'organismo. Nel 1943 Salvador Luria e Max Delbrück mostrarono che i batteri resistenti a un virus batterico compaiono nelle colture già prima del contatto con il virus, con frequenze molto variabili da una coltura all'altra, come previsto da mutazioni casuali. L'ambiente non crea le mutazioni utili: seleziona quelle già presenti. E molte mutazioni sono neutre, molte dannose, alcune vantaggiose in un certo ambiente, come l'emoglobina S negli eterozigoti dove c'è la malaria.

14.5.5 Mutazioni e tumori

Un tumore nasce quando una cellula accumula mutazioni somatiche che le permettono di dividersi senza controllo. I proto-oncogeni stimolano la divisione; certe mutazioni li trasformano in **oncogeni** sempre attivi, come un acceleratore bloccato (per esempio forme mutate dei geni *RAS*). Gli **oncosoppressori** frenano la divisione o eliminano le cellule danneggiate, e smettono di funzionare quando entrambe le copie sono inattivate: *TP53* è mutato in una larga parte dei tumori umani, e una copia mutata ereditata di *BRCA1* o *BRCA2* aumenta il rischio di alcuni tu-

mori della mammella e dell'ovaio. Di solito servono più mutazioni accumulate negli anni: per questo il rischio cresce con l'età e con l'esposizione ai mutageni.

COLLEGAMENTI

Educazione alla salute · Ridurre le mutazioni evitabili. Il fumo di tabacco, attivo e passivo, è la principale causa evitabile di tumori. Proteggersi dal sole (ombra nelle ore centrali, indumenti, creme solari usate secondo le indicazioni, niente lampade abbronzanti) riduce i danni da UV nelle cellule della pelle e il rischio di melanoma. La vaccinazione contro il papillomavirus umano (HPV), offerta in Italia a ragazze e ragazzi, previene gran parte dei tumori del collo dell'utero, e gli screening scoprono presto alcune lesioni. Per ogni dubbio, rivolgiti al medico.

SINTESI

- Beadle e Tatum (1941) mostrarono con i mutanti di *Neurospora* che ogni gene controlla un enzima; l'idea diventò «un gene, un polipeptide», e oggi un gene è un tratto di DNA trascritto in un RNA funzionale.
- Il dogma centrale (Crick, 1958) descrive il flusso dell'informazione DNA → RNA → proteina; la trascrizione inversa dei retrovirus è un'eccezione al verso DNA → RNA, ma l'informazione non esce mai dalle proteine.
- L'RNA ha ribosio, uracile e un solo filamento; mRNA, tRNA e rRNA collaborano alla sintesi delle proteine.
- Nella trascrizione l'RNA polimerasi si lega al promotore, legge il filamento stampo da 3′ a 5′ e sintetizza l'RNA da 5′ a 3′; l'mRNA ha la sequenza del filamento codificante, con U al posto di T.
- Negli eucarioti il pre-mRNA riceve un cappuccio al 5′ e una coda di poli-A al 3′, e lo splicing rimuove gli introni e unisce gli esoni; con lo splicing alternativo un gene produce più proteine. Nei procarioti trascrizione e traduzione sono accoppiate.
- Il codice genetico è a triplette: 64 codoni, 61 di senso e 3 di stop (UAA, UAG, UGA); AUG codifica la metionina ed è il codone d'inizio. È ridondante, non ambiguo, senza sovrapposizioni e quasi universale.
- Nirenberg e Matthaei (1961) decifrarono il primo codone: il poli-U produce polifenilalanina.
- Le amminoacil-tRNA sintetasi caricano ogni tRNA con il suo amminoacido; l'anticodone del tRNA si appaia al codone in modo antiparallelo.
- Nella traduzione il ribosoma legge l'mRNA da 5′ a 3′ usando i siti A, P ed E; la catena cresce dall'estremità N alla C, e un fattore di rilascio la stacca al codone di stop.
- La catena si ripiega nelle strutture secondaria, terziaria ed eventualmente quaternaria, stabilizzate da legami a idrogeno, interazioni ioniche, forze di London, effetto idrofobico e ponti disolfuro.
- Le mutazioni puntiformi possono essere silenti, di senso, non senso o con scorrimento della finestra di lettura; l'anemia falciforme nasce dalla sostituzione GAG → GUG (acido glutammico → valina) nella β-globina.
- Le mutazioni cromosomiche e genomiche cambiano la struttura o il numero dei cromosomi; mutageni fisici (UV, radiazioni ionizzanti) e chimici (fumo) aumentano la frequenza delle mutazioni, che sono casuali rispetto ai bisogni dell'organismo; le mutazioni di oncogeni e oncosoppressori possono portare ai tumori.

ESERCIZI

Comprendere e ricordare

1. ● Beadle e Tatum lavorarono con mutanti di *Neurospora crassa* che:
   A. crescevano più velocemente del ceppo normale sul terreno minimo
   B. non riuscivano a produrre DNA
   C. crescevano sul terreno minimo solo se si aggiungeva una sostanza precisa
   D. avevano perso tutti gli enzimi di una via metabolica

2. ● L'RNA polimerasi:
   A. sintetizza l'RNA in direzione 5′ → 3′, senza bisogno di un primer
   B. sintetizza l'RNA in direzione 3′ → 5′
   C. legge entrambi i filamenti del gene contemporaneamente
   D. ha bisogno di un primer di DNA per cominciare

3. ● L'mRNA di un gene ha la stessa sequenza, con U al posto di T:
   A. del filamento stampo
   B. del promotore
   C. dell'anticodone del tRNA
   D. del filamento codificante

4. ● I codoni che corrispondono a un amminoacido sono:
   A. 64
   B. 61
   C. 20
   D. 3

5. ● Dire che il codice genetico è ridondante significa che:
   A. quasi tutti gli amminoacidi corrispondono a più di un codone
   B. un codone può corrispondere a più amminoacidi
   C. i codoni si sovrappongono di una base
   D. è uguale in tutti gli organismi

6. ● Durante l'allungamento, il tRNA che porta la catena in crescita si trova nel sito:
   A. A
   B. E
   C. P
   D. di inizio della subunità minore

7. ●● Quando un codone di stop arriva nel sito A del ribosoma:
   A. vi si appaia un tRNA che porta l'ultimo amminoacido
   B. il ribosoma torna indietro fino all'AUG
   C. l'mRNA viene immediatamente demolito
   D. vi si lega un fattore di rilascio e la catena si stacca

8. ●● Una sostituzione che trasforma il codone di un amminoacido in un codone di stop è una mutazione:
   A. silente
   B. non senso
   C. di senso
   D. con scorrimento della finestra di lettura

9. ●● Il grano tenero, con 42 cromosomi formati da sei serie di 7, è un esempio di:
   A. traslocazione
   B. aneuploidia
   C. poliploidia
   D. duplicazione di un gene

Vero o falso

10. ●● Il tRNA porta il codone corrispondente all'amminoacido che trasporta.

11. ● Nei batteri un mRNA può cominciare a essere tradotto prima che la sua trascrizione sia finita.

12. ● Gli introni sono errori del DNA, privi di qualsiasi funzione.

13. ● Grazie allo splicing alternativo, uno stesso gene può portare a proteine diverse.

14. ●● Il codice genetico è identico in tutti gli organismi e in tutti gli organuli.

15. ●● Le mutazioni compaiono quando l'organismo ne ha bisogno per adattarsi all'ambiente.

Applicare

16. ● Il filamento stampo di un tratto di gene, scritto da 3′ a 5′, è 3′-TAC AAA CCG TGG ATT-5′. Scrivi il filamento codificante, l'mRNA e la sequenza degli amminoacidi.

17. ●● Un mRNA ha la sequenza 5′-AUG CCA GUC UAU UAG-3′. Scrivi, da 3′ a 5′, gli anticodoni dei tRNA che partecipano alla sua traduzione e gli amminoacidi che trasportano. Perché per l'ultimo codone non c'è un anticodone?

18. ●● La regione codificante di un mRNA maturo, dal codone d'inizio al codone di stop compresi, è lunga 1041 nucleotidi. Quanti amminoacidi ha la catena appena sintetizzata? Quanti legami peptidici contiene?

19. ●● a) Quante «parole» diverse si possono scrivere con 4 basi se ogni parola è lunga 1 base? E se è lunga 2 basi? E 3 basi? b) Immagina una forma di vita con 6 basi diverse e 20 amminoacidi: quale sarebbe la lunghezza minima dei codoni? Giustifica le risposte.

20. ●●● Un mRNA ha la sequenza 5′-AUG CAA UGG CUA GGU UAA-3′. Classifica e descrivi l'effetto sulla proteina di queste sostituzioni: a) la terza base del secondo codone diventa G; b) la terza base del terzo codone diventa A; c) la prima base del quinto codone diventa A; d) la prima base del quarto codone diventa U.

21. ●●● L'mRNA 5′-AUG GCU AGC UUA GGC AAA UGA-3′ codifica un breve peptide. a) Scrivi la sequenza degli amminoacidi. b) Elimina la G subito dopo AUG e traduci la nuova sequenza. c) Nella sequenza ottenuta in b), inserisci una C fra la nona e la decima base e traduci di nuovo. Che cosa mostra il confronto fra a), b) e c)?

22. ●●● Nel gene della β-globina i codoni 6, 7 e 8 (contando la metionina iniziale) hanno nel filamento codificante la sequenza 5′-CCT GAG GAG-3′. a) Scrivi il filamento stampo, l'mRNA e gli amminoacidi. b) Nell'emoglobina S la seconda base del codone 7 è T invece di A; nell'emoglobina C la prima base dello stesso codone è A invece di G. Scrivi i nuovi codoni dell'mRNA e gli amminoacidi corrispondenti, e classifica le due mutazioni.

Leggere dati e figure

Tabella 14.2 Crescita di tre classi di mutanti di *Neurospora* su terreno minimo con diverse aggiunte (dati schematizzati sul modello degli esperimenti degli anni Quaranta; + crescita, – nessuna crescita).

Mutanti	nessuna aggiunta	+ ornitina	+ citrullina	+ arginina
ceppo normale	+	+	+	+
classe I	–	+	+	+
classe II	–	–	+	+
classe III	–	–	–	+

23. ●●● La Tabella 14.2 riporta la crescita di tre classi di mutanti che non producono l'amminoacido arginina. Sapendo che ornitina e citrullina sono precursori dell'arginina, ricostruisci l'ordine della via metabolica e indica quale passaggio è bloccato in ogni classe. Spiega perché il risultato è un argomento a favore dell'ipotesi «un gene, un enzima».

24. ● Usa la Figura 14.4. a) Quali amminoacidi corrispondono a un solo codone? b) Quali a sei codoni? c) Quanti codoni iniziano con le basi GC, e che cosa hanno in comune?

25. ●● Osserva la Figura 14.7. a) Perché la sostituzione silente non modifica la proteina? b) Perché l'inserzione di una base produce un codone di stop già al settimo codone, mentre nella sequenza originale lì c'è acido glutammico? c) Quale delle mutazioni mostrate ritieni più dannosa per la funzione della proteina, e perché?

26. ●● Osserva la Figura 14.5. a) Quale amminoacido verrà aggiunto subito dopo la glicina, e quale sarà l'anticodone del tRNA che lo porta (da 3′ a 5′)? b) Dopo la prossima traslocazione, quale tRNA si troverà nel sito E e quale nel sito P? c) Quale estremità della catena si trova sulla metionina?

Indagare e argomentare

27. ●●● «Un gene, un enzima»: spiega perché questa formula è stata corretta prima in «un gene, un polipeptide» e poi abbandonata come regola assoluta. Usa almeno tre esempi del capitolo.

28. ●●● Molte sostituzioni nella terza base di un codone non cambiano la proteina, mentre quasi tutte quelle nella prima base la cambiano. Spiega il fenomeno con la tabella del codice e con la proprietà del codice che ne è responsabile.

29. ●● Una persona ha preso molto sole per anni senza protezione e ha sviluppato un tumore della pelle. Spiega, con i concetti del capitolo, come gli UV possono aver contribuito al tumore, e se il rischio può essere trasmesso ai suoi figli attraverso le mutazioni presenti nel tumore.

30. ●●● Progetta un esperimento, sul modello dell'esperienza di laboratorio, per stabilire a quale temperatura le proteine dell'albume cominciano a denaturarsi. Indica la variabile indipendente, la variabile dipendente e come la misuri, le variabili da tenere costanti, il controllo e le norme di sicurezza.

PER APPROFONDIRE

- [ALB] B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*: i capitoli su come le cellule leggono il genoma, con la trascrizione, lo splicing, il codice genetico e il ribosoma descritti in dettaglio.
- [CAM] L. A. Urry et al., *Campbell Biology*: il capitolo sull'espressione genica, dal gene alla proteina, con molte figure e un'ampia trattazione delle mutazioni.

Glossario del capitolo

Amminoacil-tRNA sintetasi
Enzima che lega a ogni tRNA l'amminoacido corrispondente al suo anticodone, usando l'energia dell'ATP.

Anticodone
Tripletta di basi del tRNA complementare a un codone, al quale si appaia in modo antiparallelo.

Codice genetico
Regola di corrispondenza fra i 64 codoni dell'mRNA e i 20 amminoacidi (più i segnali di stop); è ridondante, non ambiguo e quasi universale.

Codone
Tripletta di basi consecutive dell'mRNA che corrisponde a un amminoacido o a un segnale di stop.

Dogma centrale
Schema del flusso dell'informazione genetica proposto da Crick (1958): DNA → RNA → proteina; l'informazione passata nelle proteine non torna agli acidi nucleici.

Esone / introne
Tratti di un gene eucariotico: gli esoni restano nell'mRNA maturo, gli introni vengono trascritti ma rimossi con lo splicing.

Filamento stampo / filamento codificante
Il filamento stampo è quello letto dall'RNA polimerasi; il filamento codificante è l'altro, che ha la stessa sequenza dell'mRNA con T al posto di U.

Finestra di lettura
Modo in cui una sequenza di basi viene suddivisa in codoni; è fissata dal codone d'inizio AUG.

Mutazione puntiforme
Mutazione che cambia una singola coppia di basi o pochissime: sostituzione (silente, di senso, non senso), inserzione o delezione.

Oncogene / oncosoppressore
Un oncogene è la forma mutata e iperattiva di un gene che stimola la divisione cellulare; un oncosoppressore è un gene che la frena, e la cui inattivazione favorisce i tumori.

Promotore
Sequenza di DNA a monte di un gene a cui si lega l'RNA polimerasi (negli eucarioti con i fattori di trascrizione) per iniziare la trascrizione.

RNA messaggero (mRNA)
RNA che porta ai ribosomi la copia della sequenza di un gene da tradurre in proteina.

RNA polimerasi
Enzima che sintetizza l'RNA in direzione 5′ → 3′ leggendo il filamento stampo del DNA, senza bisogno di primer.

RNA ribosomiale (rRNA)
RNA che, insieme a proteine, forma i ribosomi e catalizza la formazione del legame peptidico.

RNA transfer (tRNA)
Piccolo RNA ripiegato che trasporta un amminoacido e lo inserisce nella catena appaiando il suo anticodone al codone dell'mRNA.

Splicing
Rimozione degli introni dal trascritto primario e unione degli esoni, eseguita dallo spliceosoma.

Splicing alternativo
Splicing che unisce combinazioni diverse di esoni dello stesso trascritto, producendo mRNA e proteine diversi da un solo gene.

Traduzione
Sintesi di una catena di amminoacidi sui ribosomi, secondo la sequenza dei codoni di un mRNA.

Trascrittasi inversa
Enzima di alcuni virus a RNA, come i retrovirus, che sintetizza DNA usando come stampo l'RNA; è un'eccezione al verso DNA → RNA del dogma centrale.

Trascrizione
Sintesi di una molecola di RNA complementare al filamento stampo di un gene, catalizzata dall'RNA polimerasi.

Soluzioni

1. C. Erano mutanti «nutrizionali»: senza la sostanza aggiunta non crescevano, perché non riuscivano più a sintetizzarla.

2. A. Come la DNA polimerasi aggiunge i nucleotidi all'estremità 3′, ma comincia senza primer.

3. D. Il filamento codificante non viene letto; l'mRNA, complementare allo stampo, ne riproduce la sequenza.

4. B. 64 codoni in tutto, meno i 3 codoni di stop.

5. A. Per esempio la leucina ha sei codoni; la risposta D descrive invece l'universalità.

6. C. Il sito P (peptidil) ospita il tRNA legato alla catena; il sito A riceve il tRNA carico, il sito E quello scarico.

7. D. Nessun tRNA si appaia ai codoni di stop; il fattore di rilascio fa staccare la catena e le subunità si separano.

8. B. La catena si interrompe in anticipo.

9. C. Ha sei serie complete di cromosomi (esaploide); l'aneuploidia riguarda un singolo cromosoma in più o in meno.

10. F. Il tRNA porta l'anticodone, complementare al codone dell'mRNA.

11. V. Nei procarioti non c'è nucleo: i ribosomi si legano all'mRNA mentre è ancora in trascrizione.

12. F. Gli introni vengono rimossi con lo splicing, ma permettono lo splicing alternativo e spesso contengono sequenze che regolano il gene.

13. V. Includendo o escludendo alcuni esoni si ottengono mRNA maturi e proteine diversi.

14. F. È *quasi* universale: per esempio nei mitocondri dei vertebrati UGA codifica il triptofano e AUA la metionina.

15. F. Le mutazioni sono casuali rispetto ai bisogni dell'organismo (Luria e Delbrück, 1943); l'ambiente seleziona quelle già presenti.

16. Filamento codificante 5′-ATG TTT GGC ACC TAA-3′; mRNA 5′-AUG UUU GGC ACC UAA-3′; Met-Phe-Gly-Thr, poi stop.

17. Anticodoni (3′ → 5′): UAC (Met), GGU (Pro), CAG (Val), AUA (Tyr). UAG è un codone di stop: nessun tRNA vi si appaia, vi si lega un fattore di rilascio. Peptide: Met-Pro-Val-Tyr.

18. 1041 : 3 = 347 codoni; l'ultimo è lo stop, quindi 346 amminoacidi (il primo è la metionina) e 346 − 1 = 345 legami peptidici. (Se poi la metionina viene rimossa, la proteina matura ne avrà 345.)

19. a) $4^1 = 4$, $4^2 = 16$, $4^3 = 64$ parole: solo con 3 basi si superano i 20 amminoacidi. b) $6^1 = 6 < 20$, mentre $6^2 = 36 \geq 20$: basterebbero codoni di 2 basi.

20. Sequenza originale: Met-Gln-Trp-Leu-Gly. a) CAA → CAG: glutammina in entrambi i casi, mutazione silente. b) UGG → UGA: codone di stop, mutazione non senso; il peptide si riduce a Met-Gln. c) GGU → AGU: glicina → serina, mutazione di senso. d) CUA → UUA: leucina in entrambi i casi, mutazione silente anche se cade nella prima base (la leucina ha sei codoni).

21. a) Met-Ala-Ser-Leu-Gly-Lys. b) AUG CUA GCU UAG…: Met-Leu-Ala, poi stop: la delezione sposta la finestra di lettura e fa comparire uno stop prematuro. c) AUG CUA GCU CUA GGC AAA UGA: Met-Leu-Ala-Leu-Gly-Lys. Un'inserzione vicina a una delezione ripristina la finestra: cambiano solo gli amminoacidi compresi fra le due mutazioni. È la logica degli esperimenti di Crick e Brenner.

22. a) Stampo 3′-GGA CTC CTC-5′; mRNA 5′-CCU GAG GAG-3′; Pro-Glu-Glu. b) Emoglobina S: GAG → GUG, acido glutammico → valina; emoglobina C: GAG → AAG, acido glutammico → lisina. Sono entrambe sostituzioni di senso nello stesso codone (il sesto amminoacido nella numerazione tradizionale, senza la metionina).

23. Precursore → ornitina → citrullina → arginina. Classe I: bloccato il passaggio precursore → ornitina (cresce con qualunque dei tre composti). Classe II: bloccato ornitina → citrullina (cresce con citrullina o arginina). Classe III: bloccato citrullina → arginina (cresce solo con arginina). Ogni classe ha un solo difetto, ereditato come un singolo gene, che blocca una sola reazione catalizzata da un enzima.

24. a) Metionina (AUG) e triptofano (UGG). b) Leucina, serina e arginina. c) Quattro: GCU, GCC, GCA e GCG, che codificano tutti l'alanina: differiscono solo nella terza base.

25. a) CUG e CUA codificano entrambi la leucina, per la ridondanza del codice. b) L'inserzione di una G sposta la finestra di lettura: da lì le basi si raggruppano in modo diverso e la tripletta UGA, che nella sequenza originale era divisa fra due codoni, viene letta come codone di stop. c) Di solito le più dannose sono la non senso e quelle con scorrimento della finestra, che troncano la catena; ma anche una sola sostituzione di senso, come nell'emoglobina S, può avere effetti gravi se cambia un amminoacido importante.

26. a) Il codone successivo è CAU, istidina; l'anticodone è 3′-GUA-5′. b) Nel sito E il tRNA della fenilalanina, ormai scarico; nel sito P il tRNA della glicina, che porterà la catena Met-Phe-Gly. c) L'estremità N.

27. Traccia: la formula originale nasce da Beadle e Tatum. Va corretta perché non tutte le proteine sono enzimi (emoglobina, collagene, anticorpi) e perché molte proteine sono formate da più catene prodotte da geni diversi (emoglobina: catene α e β) → «un gene, un polipeptide». Non è assoluta perché alcuni geni producono RNA non tradotti (tRNA, rRNA, piccoli RNA regolatori) e perché lo splicing alternativo permette a un gene di produrre più polipeptidi.

28. Traccia: nella tabella i codoni sinonimi stanno quasi sempre nello stesso riquadro, cioè hanno le prime due basi uguali e differiscono nella terza (per esempio GCU, GCC, GCA, GCG: alanina). È la ridondanza del codice, favorita anche dall'appaiamento meno rigido fra codone e anticodone in terza posizione. Contando tutte le possibili sostituzioni nei 61 codoni di senso, circa due terzi di quelle in terza posizione sono silenti, contro meno del 5 % di quelle in prima posizione.

29. Traccia: i fotoni UV hanno abbastanza energia da unire due basi pirimidiniche vicine (dimeri di timina); se il danno non viene riparato, la duplicazione può introdurre mutazioni. Nelle cellule della pelle si accumulano così mutazioni somatiche, che possono colpire oncogeni e oncosoppressori; dopo più mutazioni una cellula può diventare tumorale. Sono mutazioni somatiche, non presenti nei gameti: non si trasmettono ai figli.

30. Traccia: variabile indipendente la temperatura del bagnomaria (per esempio 40, 50, 60, 70, 80 °C, misurata con il termometro); variabile dipendente la torbidità, giudicata con una scala fissa su sfondo nero o misurata con un colorimetro se disponibile; costanti la concentrazione e il volume della soluzione, il tempo di immersione, il tipo di provette; controllo una provetta a temperatura ambiente; più prove per ogni temperatura. Sicurezza: occhiali, guanti, attenzione all'acqua calda, igiene per l'uovo crudo.