

Secondo compito Genetica

- 1 Definizione di Mutazione.
- 2 Quanti e quali tipi di mutazione si conoscono.
- 3 Quali eventi determinano l'insorgenza delle mutazioni cromosomiche.
- 4 Breve descrizione delle mutazioni cromosomiche
- 5 Quali sono i meccanismi genetici alla base delle insorgenze della poliploidia.
- 6 Differenza tra –auto – e –allo- poliploidia.
- 7 Descrivere brevemente la ricombinazione intragenica.
- 8 Definire le principali mutazioni geniche e i loro effetti fenotipici o genetici.
- 9 Definire e descrivere brevemente gli effetti dei mutageni fisici e chimici sulla struttura del DNA e sui cromosomi (mutazioni indotte)

1 Definizione di mutazione: Una mutazione è una modifica permanente del genotipo di una cellula che può o meno manifestarsi nel fenotipo, le mutazioni creano variabilità nel processo evolutivo e sono alla base del miglioramento genetico di piante ed animali.

2 Quali e quanti tipi di mutazione si conoscono: Per prima cosa le mutazioni si possono dividere in base all'origine:

- **Spontanee:** Hanno bassa frequenza e si verificano da errori di replicazione o dall'attivazione di elementi mobili trasponibili causati da fattori interni (costituzione genetica, sesso, età) o da fattori esterni (nutrizione, temperatura, contatto con sostanze particolari).
- **Indotte:** Causate dall'effetto di mutageni, aumentano la frequenza di mutazioni in relazione al tempo di esposizione, le indotte risultano localizzate nello stesso gruppo di associazione e si dimostrano alleliche rispetto a quelle spontanee, in base al tipo di cellule colpite si possono distinguere mutazioni Germinali (**mutazioni germinali** che colpiscono i gameti e possono essere trasmesse alla prole) o Somatiche (**mutazioni somatiche** che colpiscono le cellule somatiche e si esauriscono

nell'individuo. Ma nelle piante non c'è una netta separazione fra linea somatica e linea germinale, questo fa sì che anche le mutazioni somatiche possono essere trasmesse alla generazione filiale la mutazione viene trasmessa attraverso la mitosi alla progenie della cellula colpita in origine = l'individuo sarà un mosaico) ;

Ogni cellula può mutare secondo tre tipologie:

- **Mutazioni geniche/puntiformi:** interessano una o più coppie di basi azotate(Nucleotidi) fino a 50 (cambia la sequenza). Molte mutazioni puntiformi sono probabilmente senza effetto, in tal caso si dice che sono neutre, infatti gran parte del DNA in un genoma eucariotico non codifica prodotti proteici ed è incerto se il cambiamento di una singola base nucleotidica in questa parte silente del DNA possa influire sulla salute di un organismo. Una singola mutazione puntiforme può però avere un notevole impatto sul fenotipo.
- **Mutazioni cromosomiche:** Si parla di mutazioni cromosomiche quando è la struttura di uno o più cromosomi ad essere alterata.
- **Mutazioni genomiche:** variano in numero cromosomico di una cellula. Es. Aneuploidia → Per Aneusomatia (perdita di un cromosoma) numeri diversi di cromosoma.

3 Mutazioni cromosomiche: Riguardano la struttura di un cromosoma e nascono tutte dalla rottura della sequenza di DNA in uno o più punti.

- **Delezioni:** perdita di parte del cromosoma, non possono retromutare ma possono generare pseudodominanza negli eterozigoti e fenomeno di emizigosi negli omozigoti (letalità gametica);
- **Duplicazioni:** raddoppiamento di un tratto cromosomico, possono retromutare alterano i rapporti di Linkage e sono fonte di ulteriore materiale genetico soggetto a mutazione, cioè capace di evolvere verso nuove funzioni.
- **Inversioni:** un cromosoma è rotto in due punti e viene reinserito dopo una rotazione di 180° modificano le relazioni di linkage, possono provocare la perdita di funzione del gene (se il punto di rottura è intragenico)(letalità gametica) oppure alterare la

regolazione dei geni (allontanandoli/avvicinandoli a sequenze regolative) Paracentrica se non comprende il centromero e Pericentrica se comprende il centromero.

- **Traslocazioni:** cambiamento di posizione di un tratto cromosomico modificano le relazioni di linckage dei geni traslocati, oltre agli effetti delle inversioni (perdita di funzione o regolazione dei geni) (Letalità gametica) possono creare nuovi prodotti genici per fusione, causano semisterilità poiché il 50% dei gameti prodotti da meiosi eterozigote non è vitale. A seguito di inversione o traslocazione abbiamo un effetto fenotipico di posizione, ossia un cambiamento dell'espressione in relazione al cambiamento di posizione nel genoma.

4 Insorgenza della poliploidia: I meccanismi citologici che realizzano la poliploidia sono i disturbi del processo mitotico/meiotico. Nel caso della mitosi (da cellule endoreduplicate) tali disturbi derivano da shock termici, i quali provocano l'aborto della cariocinesi equazionale e dunque la mancanza dell'anafase (aborto mitotico), altro esempio l'uso della colchicina, o coltura in vitro. Nel caso della meiosi invece tali disturbi sono provocati da shock termici, azione di sostanze (c-mitotiche, incroci tra due poliploidi o tra diploidi e poliploidi); questi fattori causano una meiosi particolare, cioè priva di omologia tra i cromosomi, che genera gametofiti non ridotti (maschio sterilità) dalla cui unione si forma il poliploide. E fusione di nuclei (protoplasti).

5 Differenze tra autopoliploidi ed allopoliploidi: negli autopoliploidi la moltiplicazione del genoma avviene per duplicazione di un corredo di base nell'ambito della stessa specie; ciò determina un aumento delle dimensioni dell'organismo, tardività del processo riproduttivo, aumento delle sostanze di riserva, maggiore tolleranza agli stress abiotici e sterilità o fertilità (riacquisibile tramite diploidizzazione). Nell'allopoliploidia si ha invece una nuova specie a partire da due preesistenti, tramite il raddoppiamento del numero cromosomico nell'ibrido interspecifico che rende possibile la meiosi, cioè la rende di nuovo fertile in una nuova specie.

6 Ricombinazione intragenica: si ha ricombinazione intragenica nel caso in cui due mutazioni, che avvengono all'interno di uno stesso gene, siano funzionalmente alleliche ma non strutturalmente alleliche.

7 Mutazioni geniche ed i loro effetti: Riguardano l'ordine di una o poche coppie di basi azotate, per questo sono anche dette puntiformi.

- **Sostituzione:** Una coppia di basi azotate viene sostituita da un'altra coppia di basi; se la sequenza purina-pirimidina resta invariata si parla di transizione, se invece cambia (ovvero purina con pirimidina e viceversa) si parla di trasversione. Gli effetti di questo tipo di mutazioni sono:
 - A) **Mutazioni di senso:** La nuova tripletta codifica un diverso amminoacido.
 - B) **Mutazioni non senso:** La nuova tripletta codifica un segnale di "stop" che blocca la traduzione.
 - C) **Mutazioni sinonime:** La nuova tripletta codifica un amminoacido simile a quello precedente.
 - D) **Mutazioni silenti:** La nuova tripletta codifica lo stesso amminoacido.
- **Inserzione/Delezione:** Viene inserita una coppia di basi in più o Viene persa una coppia di basi. In entrambi i casi si ottiene una mutazione frameshift, cioè la lettura di tutte le triplette seguenti viene completamente alterata.

8 Descrivere gli effetti dei mutageni: I mutageni hanno il compito di elevare la frequenza di mutazione, essi si possono dividere in mutageni fisici (raggi UV, raggi X, raggi γ , neutroni) e mutageni chimici (analoghi delle basi, agenti modificanti, agenti intercalanti)

- **Raggi UV:** Radiazioni elettromagnetiche che non sono in grado di ionizzare un atomo; restano importanti in quanto le basi del DNA assorbono la luce ultravioletta (254-260 nm), ciò forma legami chimici tra molecole di pirimidina (dimeri di timina). Hanno scarsa penetrazione e per questo si usano per mutare cellule singole o polline; possono indurre solo mutazioni geniche.
- **Radiazioni ionizzanti:** A differenza dei raggi UV possono appunto ionizzare un atomo; le alterazioni di DNA sono dovute

principalmente a rotture di legami a idrogeno tra le basi o dei legami tra zucchero e gruppi fosfato, in particolare:

- A) **Raggi X:** Sono prodotti dalla decelerazione di cariche elettriche in movimento, hanno alta capacità penetrativa.
- B) **Raggi gamma:** Sono emessi da radioisotopi di ^{60}Co e ^{137}Ce , più penetranti dei raggi X
- C) **Neutroni:** Sono più efficienti ma generano ampie mutazioni, di scarso utilizzo. ^{237}U .

Le radiazioni ionizzanti inducono mutazioni geniche o cromosomiche

- **Analoghi delle basi:** Sostanze chimiche con struttura molecolare simile a quella delle normali basi di DNA (timina / S-Bromo -uracile), causano mutazioni geniche di sostituzione;
- **Agenti modificanti:** Modificano direttamente la struttura chimica e le proprietà delle basi (mutazioni di sostituzione)
 - A) **Agenti deaminanti (acido nitroso):** rimuovono gruppi amminici dalle basi, generano mutazioni geniche.
 - B) **Agenti idrossilanti:** Aggiungono gruppi idrossilici alle basi.
 - C) **Agenti alchilanti:** Trasferiscono gruppi alchilici al DNA (cancerogeni).
 - D) **Depurinazione:** Si perde una purina, alla replicazione si aggiunge una base a caso.

- **Agenti intercalanti:** Agiscono per inserzione inserendosi tra basi adiacenti in una o entrambe le eliche del DNA.

9 Differenza tra geni eucarioti e procarioti: Nei geni procarioti il genoma è continuo, cioè formato solo da sequenze codificanti, viene trascritto in mRNA e tradotto in proteine. Nei geni eucarioti invece il genoma è discontinuo cioè formato da sequenze codificanti dette "intron"; al momento della trascrizione si forma un pre-

mRNA che contiene sia introni che esoni, in seguito questi subisce uno “splicing” da cui si eliminano gli introni. Dopo lo splicing si forma un RNA maturo, privo di introni, che viene trasportato nel citoplasma e prodotto in proteine.

10 Perché i mutageni generano chimere: Quando un mutageno colpisce un tessuto non tutte le cellule di quel tessuto subiscono una mutazione e tra quelle mutate si possono verificare mutazioni diverse, per questo motivo si generano delle chimere. Per prevenire la formazione di una chimera si deve colpire con il mutageno lo zigote prima che questi effettui la prima divisione, procedimento difficoltoso in quanto non possiamo sapere quando avverrà la prima divisione; in alternativa si può utilizzare il mutageno sul gametofito maschile.

11 Esperimento di miglioramento genetico: La generazione F (AA) subisce un trattamento mutageno nel passaggio alla generazione F1 (genotipo= Aa), dove le mutazioni sono generalmente recessive se formano una chimera a mosaico. Proseguendo lo sviluppo apicale le cellule mutate divengono progenitrici di linee cellulari che vanno ad occupare un settore, così che in F2 sarà ben visibile una chimera settoriale.

- Se gli organi riproduttivi derivano da una sola cellula iniziale, la segregazione in F2 → (3:1)
- Se le cellule iniziali degli organi riproduttivi sono 2 la segregazione in F2 →
 - | Cellula normale = 4:0
 - | Cellula mutata = 3:1
 - 7:1
- Se le cellule iniziali degli organi riproduttivi sono 3, di cui solo una mutata, la segregazione in F2 → (11:1)
- Se le cellule iniziali degli organi riproduttivi sono 4, di cui solo una mutata, la segregazione in F2 → (15:1)

Il numero di iniziali dipende dal grado di sviluppo del primordio.

12 Trasposoni negli eucarioti

- **Classe I:** Retrotrasposoni → Si mobilitano attraverso un RNA intermedio in un processo di “copia e incolla”. Aumentano l’ampiezza dei genomi, facendo insorgere mutazioni geniche e cromosomiche e formando nuovi alleli (simili ai retrovirus)

- **Classe II:** Trasposoni → Si mobilizzano attraverso un processo “taglia e cuci”. sono responsabili dell’insorgenza di mutazioni geniche e cromosomiche e della formazione di nuovi alleli.

13 Importanza di mutazioni somatiche nei vegetali: Mentre negli animali è presente solo la riproduzione sessuale, dunque solo le mutazioni germinali possono essere trasmesse alla prole. Nelle piante non esiste una netta distinzione tra linea somatica e linea germinale; questo perché le cellule somatiche dei vegetali sono totipotenti, cioè sono in grado di differenziarsi e riprendere l’attività riproduttiva. Tale caratteristica rende le piante facilmente utilizzabili negli esperimenti genetici sulle mutazioni.

14 Promotori: I promotori sono regioni di DNA, costituiti da specifiche sequenze di consenso, alla quale si lega la RNA polimerasi; i promotori dunque attivano la trascrizione di un gene. Fattori di trascrizione:

- **TATA BOX:** serve a specificare il sito di inizio della trascrizione, è riconosciuto da un fattore di inizio della trascrizione (collocato 20 o 30 nucleotidi prima)
- **CAAT:** favorisce la trascrizione
- **GC:** sta all’interno e all’esterno, vi si lega la RNA polimerasi II.



15 Meccanismi di riparazione del DNA:

- **Correzione diretta:**
- **Correzione delle bozze:** (DNA polimerasi attività 5' 3')

Attività esonucleasica 3'→5' Il nucleotide scorretto viene exciso dall’attività esonucleasica dell’enzima che si muove in senso inverso e viene

sintetizzata la regione mancante. Negli eucarioti tale riparazione è localizzata in altre proteine.

- **Fotoriattivazione:** di dimeri di pirimidina o timina da raggi UV dunque da luce. La riparazione degli errori della timina vengono riparati anche al buio tramite escissione.
- **Riparazione da DNA glicosilasi:** DNA glicosilasi rimuove la base danneggiata lasciando un sito AP, una endonucleasi AP rompe l'impalcatura del filamento di DNA, una esonucleasi per l'escissione rimuove il pezzo di DNA, la polimerasi sintetizza il nuovo DNA. La ligasi salda l'interruzione.
- **La riparazione SOS:** è un sistema che permette al DNA di replicarsi ugualmente anche in presenza di una sequenza nucleotidica alterata o danneggiata, sebbene ciò avvenga a spese della fedeltà della replicazione stessa (error-prone) ovvero insorgenza di nuove mutazioni. Il sistema è costituito da numerosi geni (17) di cui risultano molto importanti i geni *lexA*, *recA* e *umuDC*. In breve, *lexA* codifica per il repressore di tutti i geni del sistema, le proteine *UmuDC* permettono alla DNA polimerasi, bloccata al sito della lesione, di continuare ad inserire nucleotidi seppur in maniera errata, e *recA* codifica per una proteina che promuove la degradazione del repressore *LexA* e l'attivazione del complesso *UmuCD*. In questo caso il sistema di riparazione per escisione è inattivo.

16 Chimere: Possiamo dividerle in due gruppi

- **Chimere nucleari (citologiche, genetiche)**
- **Chimere citoplasmatiche (mod. plastidi)**

Le chimere citologiche sono per lo più Periclinari → mutazione di uno degli strati (L1, L2, L3), se varia solo lo strato L1 sono dette Istologiche, reduplicazioni, perforazioni, traslocazioni.

Riproduzione agamica perché il polline avrà il gene normale.

