

Corso di

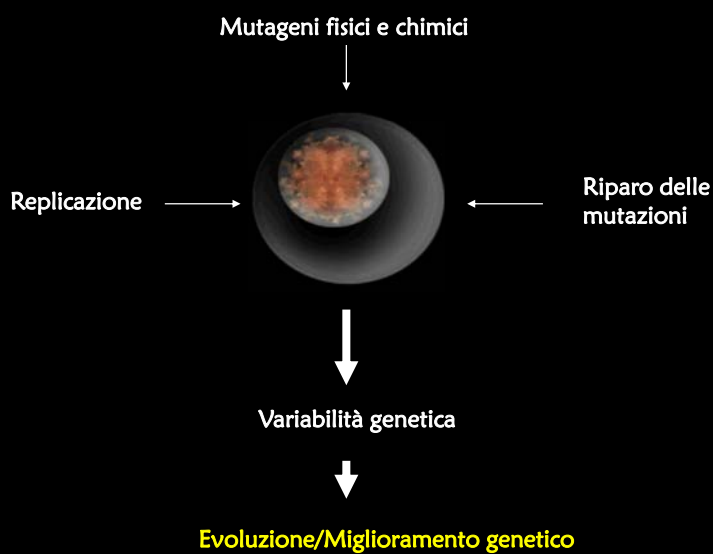
# GENETICA VEGETALE

Giandomenico Corrado

Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e dell'Ambiente

✉: giacorra@unina.it ☎: 081.25.39446

## CENNI SULLA REPLICAZIONE E RIPARO DEL DNA



Mutazione: cambiamento ereditabile del materiale genetico

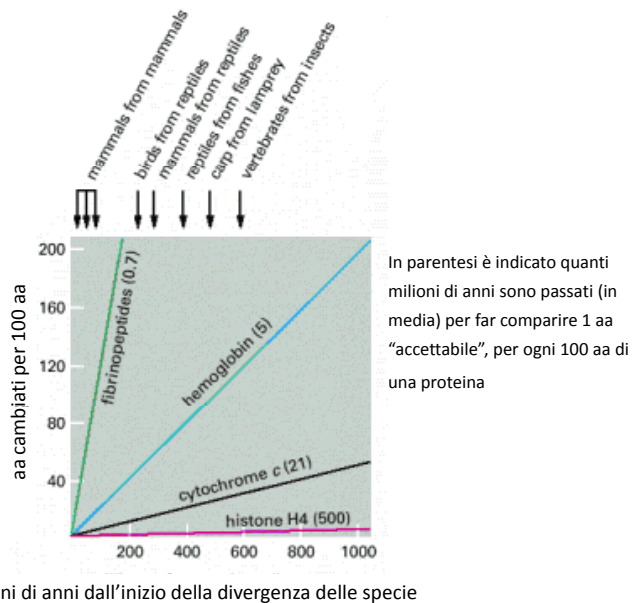
Il tasso di mutazione in una cellula (n di eventi che avvengono in un certo intervallo) riflette la fedeltà della replicazione e l'efficienza dei meccanismi di riparo



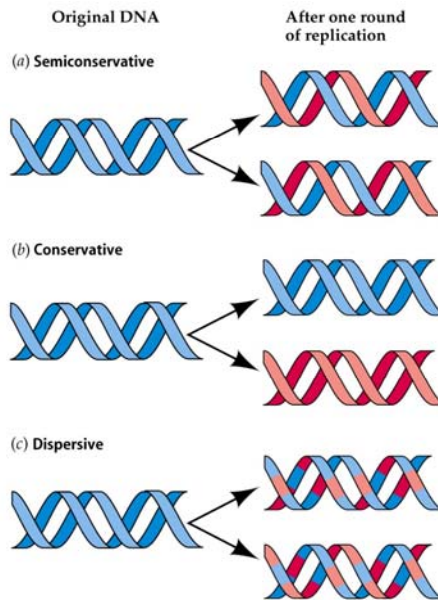
In E. coli il tdm è 1 nt per 10<sup>9</sup> nt ogni divisione cellulare (30')

Si stima che il tdm sia simile in tutti gli organismi

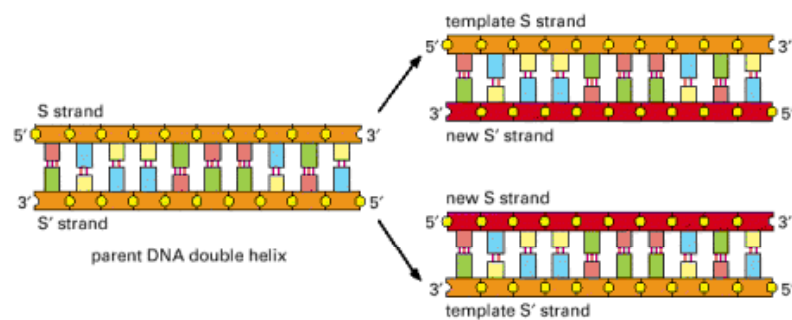
Proteine differenti evolvono in modo differente



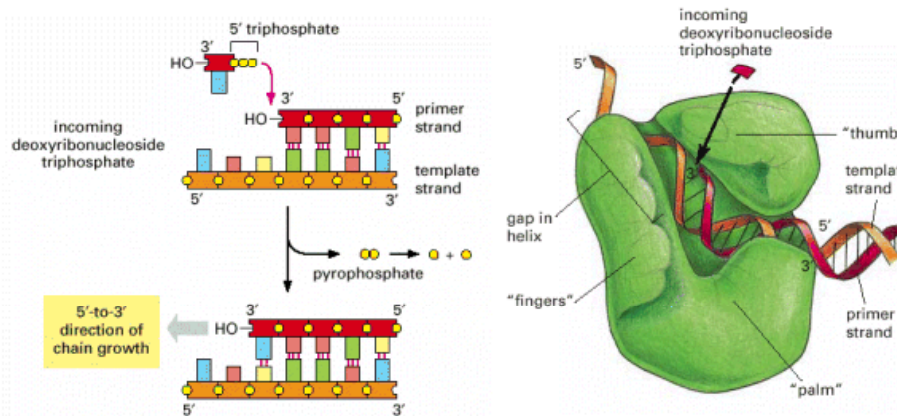
### La replicazione del DNA è semiconservativa



La complementarietà delle basi garantisce la formazione di due molecole figlie “uguali” a quella parentale



## La sintesi del DNA e' catalizzata dalle DNA polimerasi



Tutte le DNA polimerasi estendono la catena solo in direzione 5' → 3'

Punti principali del meccanismo di replicazione del DNA:

- 1) la replicazione del DNA è semiconservativa
- 2) i due filamenti si estendono contemporaneamente a partire dallo stesso punto
- 3) i due filamenti sono antiparalleli
- 4) le DNA pol. estendono la catena solo in direzione 5' → 3'



La replicazione del DNA è discontinua

### DNA REPAIR

Il mantenimento della stabilità genetica in qualsiasi individuo richiede anche una serie di meccanismi per il riparo del DNA

La correttezza della replicazione del DNA è data:

- selezione delle basi da parte delle DNA pol.
- attività esonucleotidica delle DNA pol.
- proteine accessorie (SSB → no str. secondarie)

Anche in condizioni “normali” il DNA va incontro a dei cambiamenti spontanei che, se non corretti, darebbero origine a delle mutazioni:

- forme tautomeriche (transienti) delle basi
- “slippage” delle DNA polimerasi

Oltre agli errori che raramente si verificano nella replicazione i cambiamenti nel DNA sono dovuti anche a danni della molecola causati da diversi fattori estrinseci (mutageni)

#### Mutageni

##### Chimici

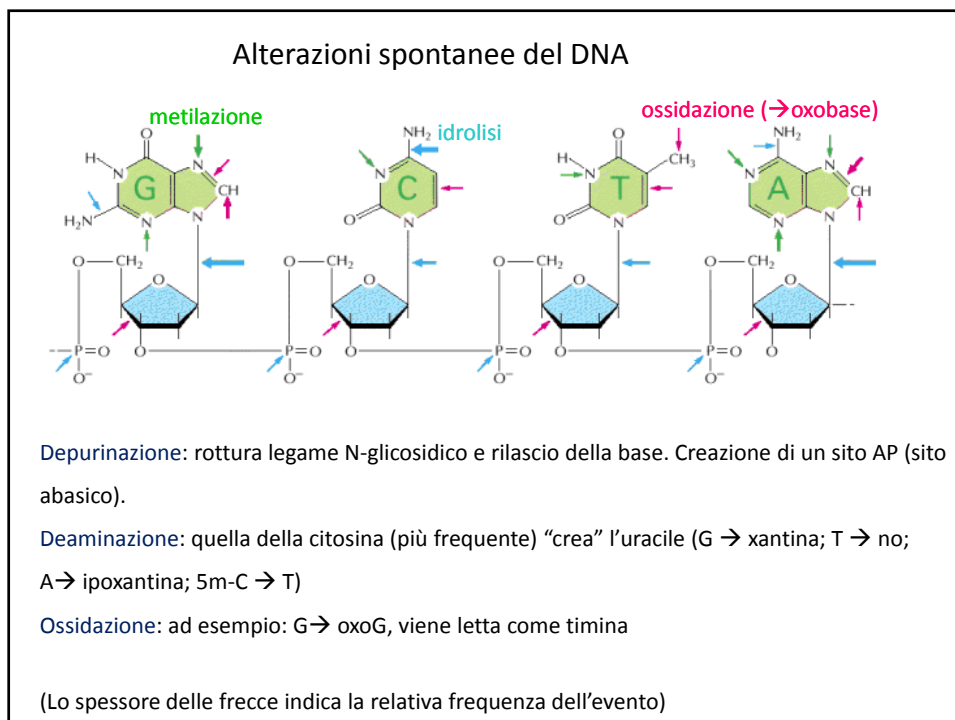
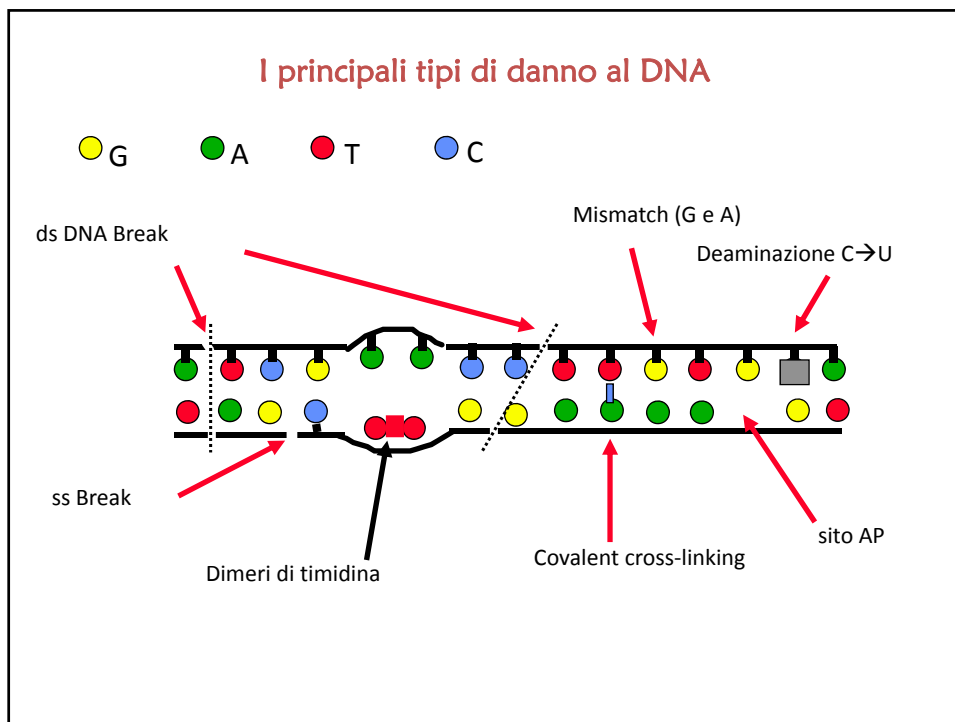
Ag. deaminanti  
 Ag. alchilanti  
 Analoghi delle basi  
 Ag. intercalanti  
 Ag. cross-linking  
 Ag. reattivi con le basi

##### Fisici

Rad. ionizzanti  
 Rad. UV

##### Biologici

El. genetici mobili



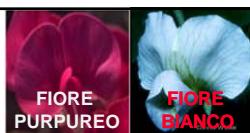
## I meccanismi di riparo del DNA

I meccanismi di riparo possono essere anche inducibili, proprio dagli stessi agenti mutageni (UV)

I meccanismi di riparo sono connessi alla:

- Replicazione del DNA
- meccanismi di ricombinazione cromosomica (avvengono dopo la replicazione del DNA)

In estrema sintesi, la correzione di un errore su un filamento viene eseguita utilizzando l'informazione presente sul cromosoma omologo



ALI  
NORMALI

ALI  
MINIATURA

Le mutazioni sono una fonte importante di variabilità genetica per le specie vegetali

La loro importanza è testimoniata dal fatto che numerose varietà coltivate sono state ottenute a partire da mutanti indotti

Nella genetica vegetale i mutanti sono fondamentali per:

- studi di base (funzione genica)
- miglioramento genetico

-Nei vegetali siamo ancora lontani da meccanismi di mutazione a bersaglio e/o riparazione genica, sebbene questi abbiano una utilità leggermente minore rispetto a quelle per il settore umano ed animale

-Esistono diverse tecniche di laboratorio per creare mutanti, il loro effetto è diverso



### Le mutazioni

Mutante: organismo che presenta un fenotipo ereditabile alterato rispetto ad un controllo

Tutte le mutazioni hanno un effetto sul fenotipo?

Tutte le mutazioni influenzano l'evoluzione di una specie?

Soprattutto nel settore animale, ha molta importanza distinguere le mutazioni somatiche da quelle germinali

- Mutazione in una cellula di tessuto somatico in via di sviluppo  $\Rightarrow$  molte cellule mutate identiche, che tendono ad essere raggruppate  $\Rightarrow$  settore mutante (tanto più grande quanto più precoce è la mutazione)
- Mutazioni somatiche non si trasmettono, ma se il settore mutato dà origine ad un ramo  $\rightarrow$  fiore mutato  $\Rightarrow$  mutazione somatica si trasmette alla progenie
- Mutazione germinale  $\Rightarrow$  gamete mutante  $\Rightarrow$  mutazione trasmessa

### Tutte le mutazioni hanno un chiaro effetto sul fenotipo?

Effetti fenotipici delle mutazioni

- Mutazione  $\Rightarrow$  comparsa di nuovi caratteri

Negli organismi diploidi:

Mutazioni dominanti  $\rightarrow$  si manifestano anche in eterozigoti

recessive  $\rightarrow$  manifeste solo allo stadio omozigote

A secondo dell'effetto fenotipico

- 1) visibili o morfologiche
- 2) biochimiche
- 3) Letali (...non si vedono?)



## Classificazione delle mutazioni

Sulla base del tipo di cambiamento nel materiale genetico le mutazioni si distinguono in:

- 1) geniche o puntiformi → cambiamento della sequenza genica
- 2) cromosomiche → cambiamento di struttura a carico di un cromosoma
- 3) genomiche → cambiamento di numero cromosomico di una specie

## Mutazioni geniche

2 tipi di cambiamenti a livello del DNA

1) sostituzione di basi

Sostituzioni:

- Transizioni ⇒ sostituzione di una base con un'altra di stessa classe chimica (esempio  $A \rightarrow G$ ,  $C \rightarrow T$ , e viceversa)
- Trasversioni ⇒ sostituzione tra basi di tipo opposto (esempio  $A \rightarrow C$ ,  $A \rightarrow T$ , etc)

2) inserzioni o delezioni di basi

- di una singola coppia di nucleotidi
- di due o più coppie di nucleotidi

### Conseguenze funzionali delle mutazioni geniche

Mutazione della sequenza di un gene che codifica per una proteina:

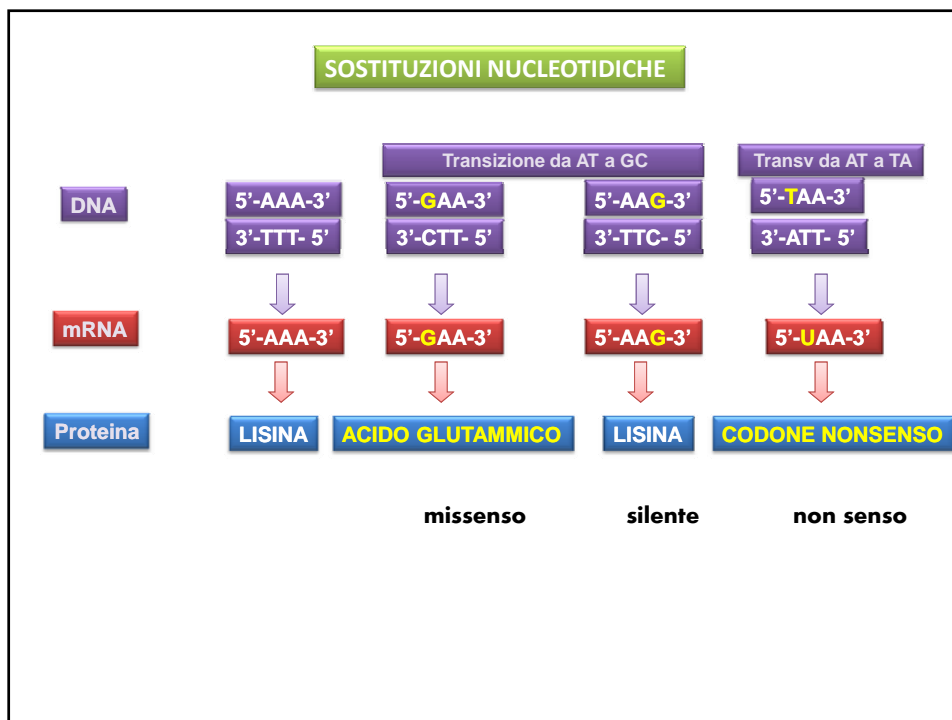
A) in caso di sostituzione

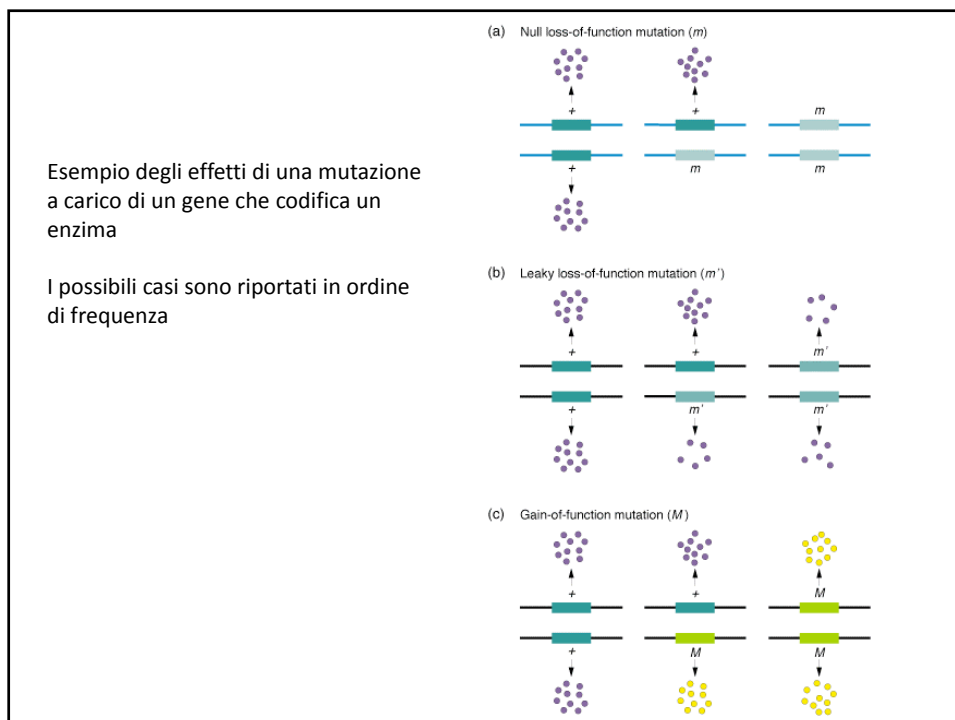
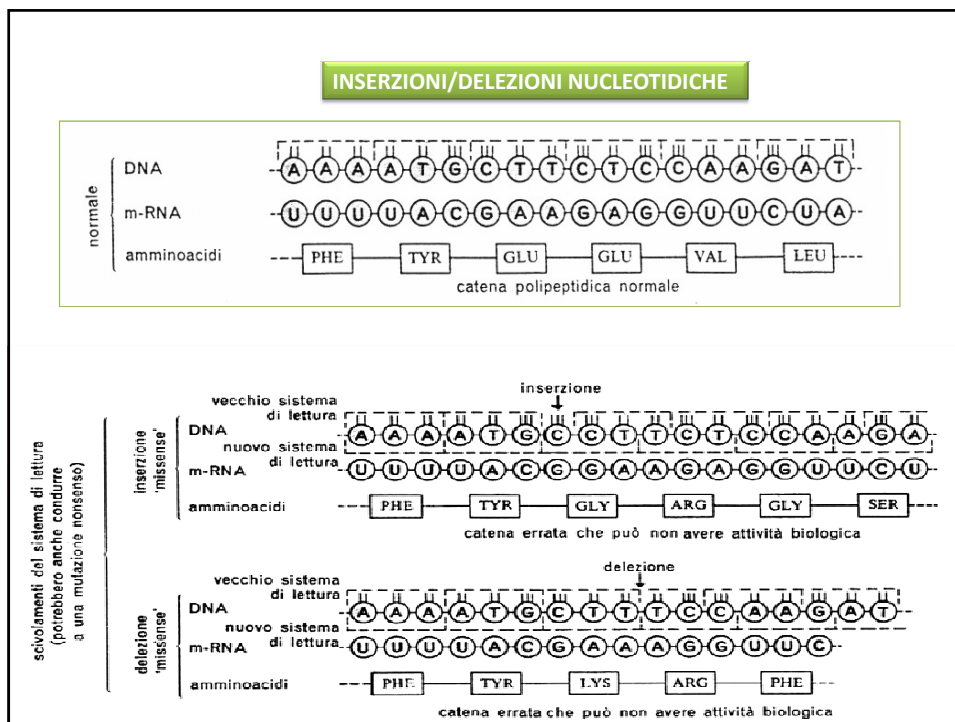
- 1) mutazioni silenti
- 2) mutazioni di senso
  - sinonimica  $\Rightarrow$  sostituzione di aa con funzione simile
  - non sinonimica  $\Rightarrow$  aa chimicamente differenti
- 3) mutazioni non senso (codone di stop)

B) in caso di singola inserzione o delezione

si modifica tutto lo schema di lettura (mutazioni frameshift)  $\Rightarrow$  perdita (di solito quasi completa) di funzione

- Mutazione in sequenze regolatrici: influenzano la quantità del prodotto proteico, ma non la struttura





### Mutazioni cromosomiche

- Mutazioni geniche → non rilevabili con analisi di cromosomi
- Mutazioni cromosomiche → cambiamenti visibili al microscopio

Sono variazioni della struttura cromosomica

- delezioni
- duplicazioni
- inversioni
- traslocazioni



Sono causate dalla rottura della doppia elica in 2 punti diversi del DNA, seguita dal ricongiungimento di estremità spezzate

**E' difficile fare un discorso generale sugli effetti delle mutazioni cromosomiche.**

Molte mut. Crom. alterano l'ordine dei geni, ed hanno quindi un effetto principalmente (ma non solo) durante le divisioni cellulari. Possono essere ben tollerate.

### Delezioni

- Perdita di una regione di un braccio cromosomico ⇒ 2 rotture ed eliminazione di un segmento → senza centromero ⇒ si perde



Gli effetti dipendono dalla grandezza della delezione

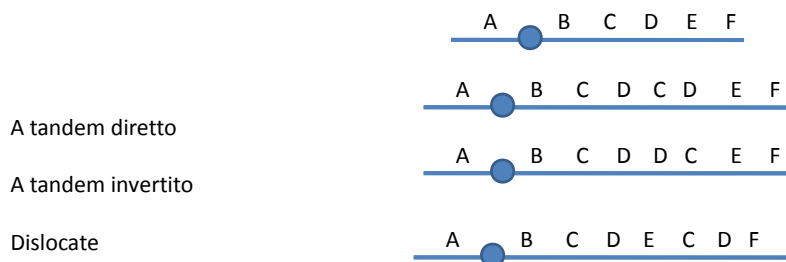
- Può essere piccola e intragenica ⇒ inattiva il gene, in genere non reversibile ⇒ non è visibile citologicamente, ma si individua ad esempio sequenziando
- Può essere multigenica ⇒ conseguenze più gravi, in relazione alla dimensione e alla posizione del genoma in cui si realizzano:
  - omozigote ⇒ letale se comprende geni o seq strutturali (come di solito accade)
  - eterozigote ⇒ alla meiosi si formano gameti normali e gameti deficitari, incapaci poi di essere funzionalmente attivi (problemi a fecondare e a formare gametofiti funzionali)

Le delezioni possono non essere vitali se c'è l'espressione degli alleli recessivi deleteri presenti sull'altro cromosoma (non mutato)

### DUPLICAZIONI

Si verificano quando uno o più segmenti cromosomici sono presenti in copie ripetute (sullo stesso cromosoma)

sullo stesso cromosoma: duplicazioni intracromosomiche  
 su cromosomi non omologhi: duplicazioni intercromosomiche



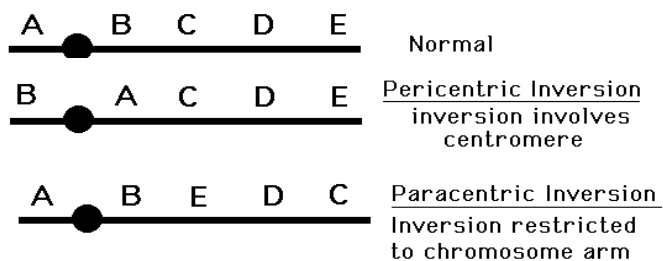
Ben tollerate (effetti quantitativi)  
 Si originano da crossing-over ineguali

### INVERSIONI

Portano ad un cambiamento dell'ordine dei geni su un cromosoma

Sono pericentriche o paracentriche a seconda se il frammento invertito comprende o no il centromero

Sono riconoscibili in meiosi, spesso tollerate anche in eterozigosi



## TRASLOCAZIONI

Spostamenti di segmenti cromosomici tra due cromosomi NON OMOLOGHI

Traslocazione semplice

Traslocazione reciproca (più frequente)

La traslocazione può dare origine a due cromosomi eucentrici (hanno un solo centromero) o a due cromosomi aneucentrici (uno dicentrico, l'altro acentrico) a seconda se la traslocazione coinvolge la regione del centromero.

I dicentrici sono letali dominanti

Di solito le traslocazioni derivano dalla singola rottura di due cromosomi non omologhi. La differenza tra semplice e reciproca deriva se uno dei due frammenti cromosomici si perde in quanto non viene saldato (con i meccanismi di riparo) all'altro cromosoma.



TR aneucentrica



TR eucentrica



Esempi di traslocazioni reciproche