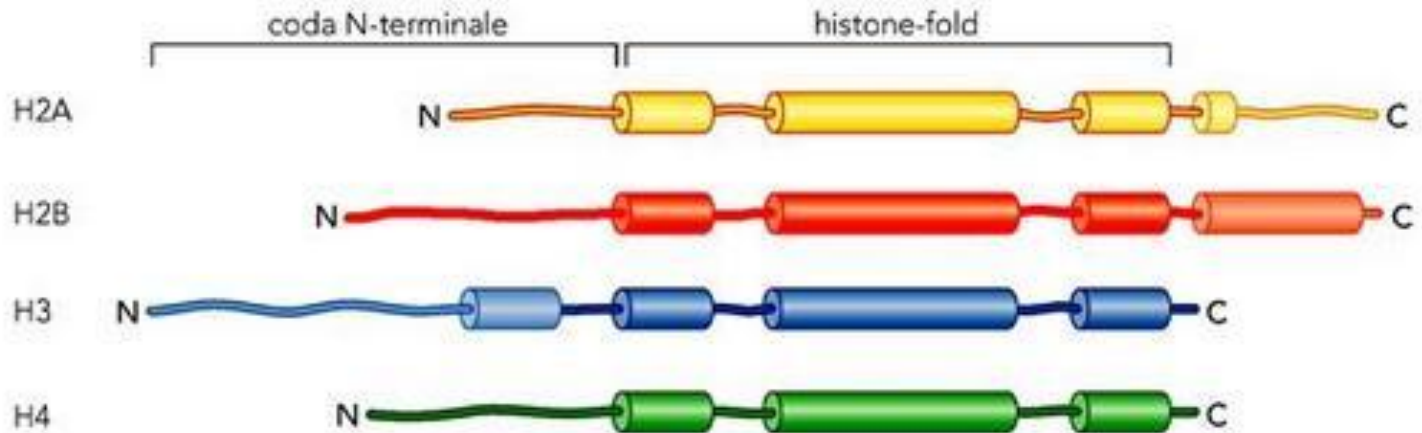


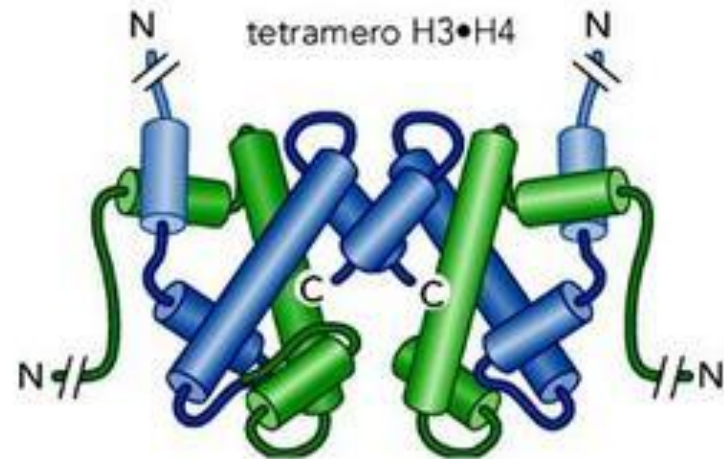
Organizzazione del DNA negli organismi superiori

La cromatina
(DNA + proteine)

Gli istoni



dimero H2A•H2B



Piccole
proteine
basiche
altamente
conservate

Histone Type	Molecular Weight	Number of Amino Acids	Approx. Content of Basic Amino Acids
H1	17,000–28,000	200–265	27% lysine, 2% arginine
H2A	13,900	129–155	11% lysine, 9% arginine
H2B	13,800	121–148	16% lysine, 6% arginine
H3	15,300	135	10% lysine, 15% arginine
H4	11,300	102	11% lysine, 4% arginine

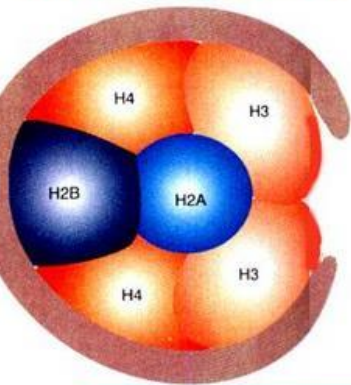
IL NUCLEOSOMA

Il nucleosoma è formato da quattro coppie degli istoni H2A, H2B, H3 e H4 ed un tratto di DNA.

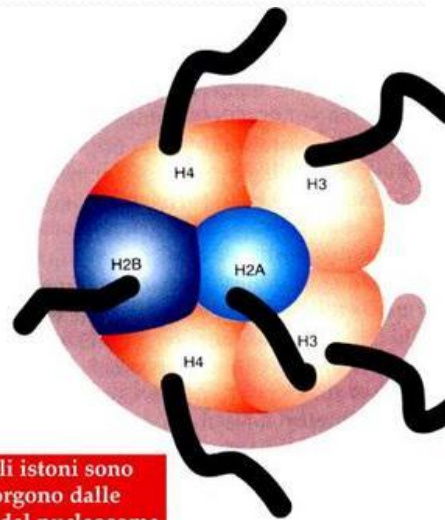
Gli istoni formano spontaneamente tetrameri $(H3/H4)_2$ e dimeri H2A/H2B.

Dall'unione di un tetramero $(H3/H4)_2$ e due dimeri H2A/H2B nasce l'ottamero istonico sul quale si avvolge un tratto di DNA di 146 coppie di basi che costituisce il nucleosoma. Il nucleosoma è l'unità ripetitiva della cromatina eucariotica. Un quinto istone (H1) si lega al DNA che entra e esce dal nucleosoma, stabilizzando la struttura. Il tratto di DNA che collega un nucleosoma ad un altro si chiama linker

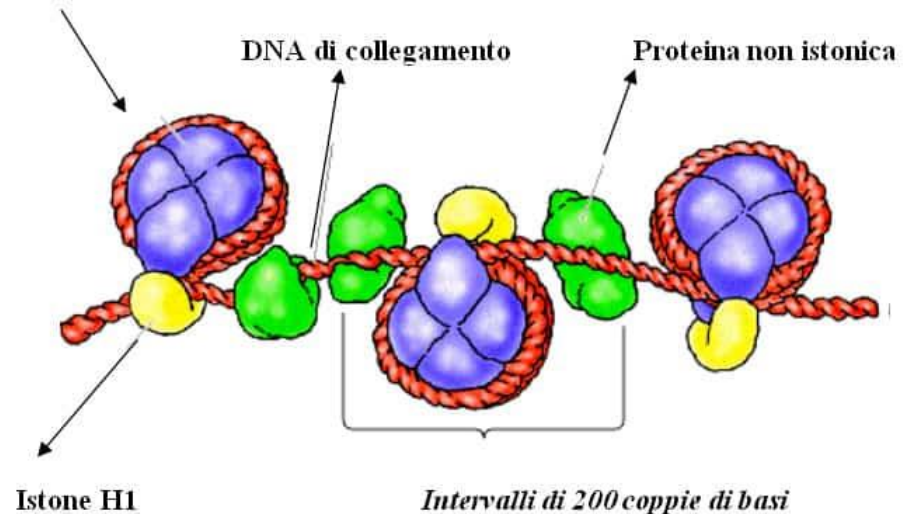
Ci sono due coppie H2A-H2B



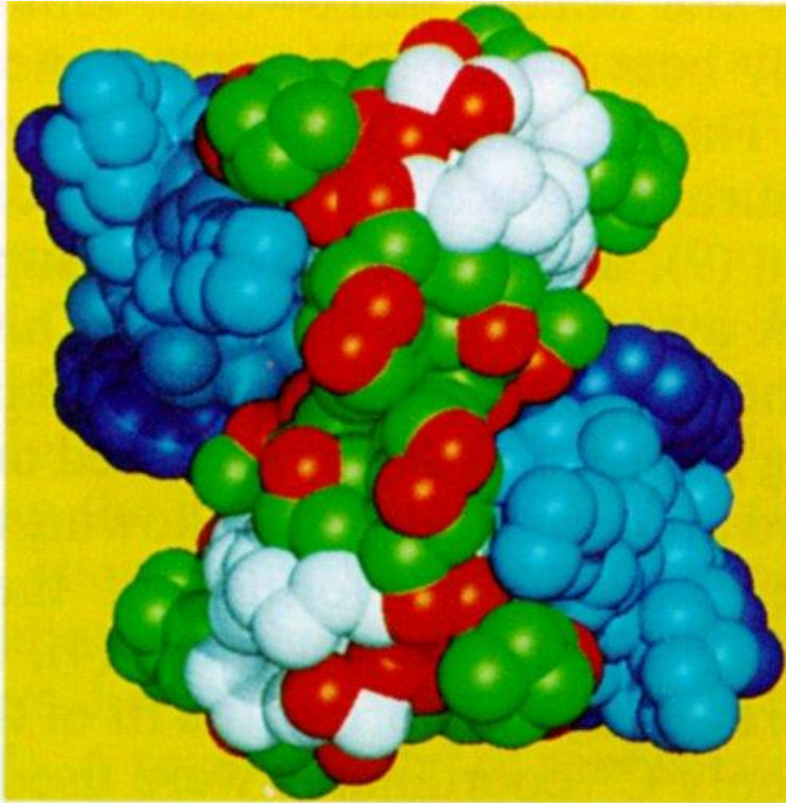
Le estremità N-terminali degli istoni sono ricche di residui basici e sporgono dalle superfici superiore ed inferiore del nucleosoma



Particella del nucleo del nucleosoma

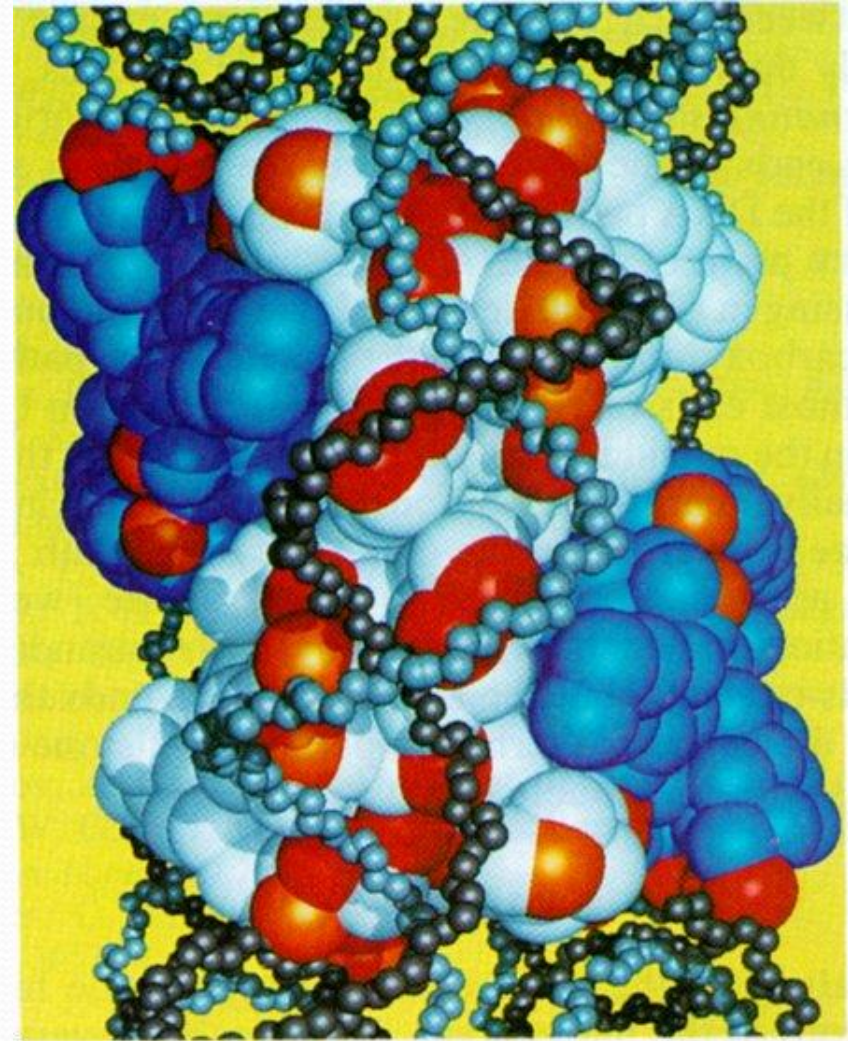


Ottamero istonico



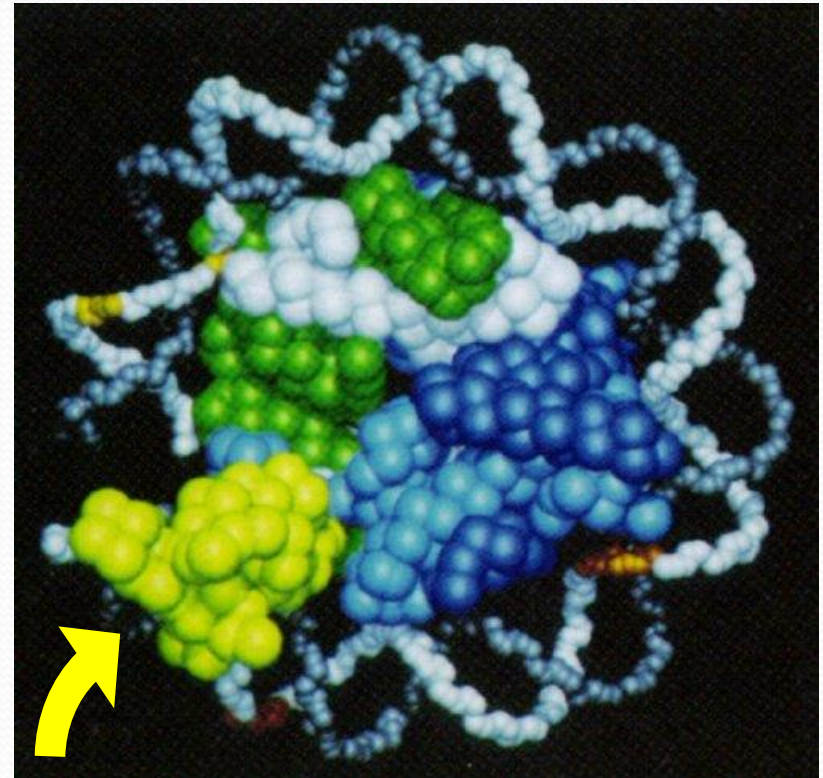
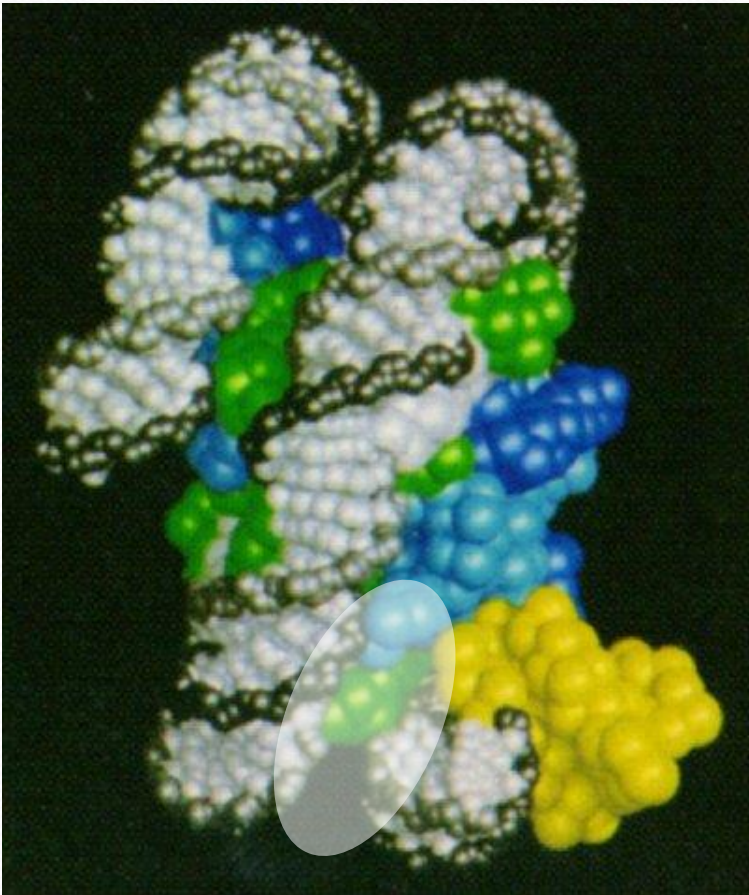
H4	bianco
H3	verde
H2A	blu chiaro
H2B	blu scuro

Arg e Lys (residui basici) sono in rosso



Il DNA si avvolge sull'ottamero con interazioni elettrostatiche

L'istone linker H1

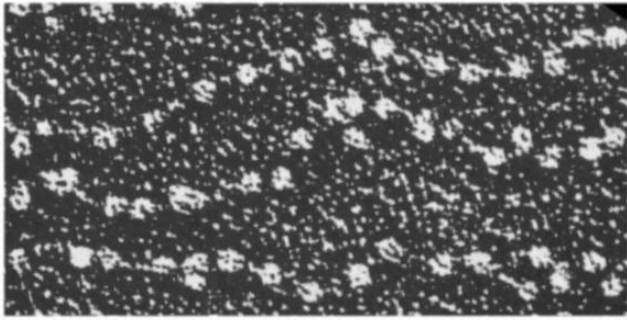


H1/H5 globular protein domain

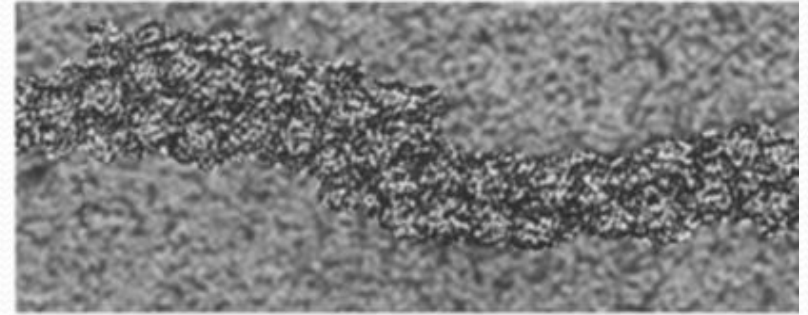
L'istone linker H1 organizza il DNA che entra ed esce dal nucleosoma (fino a 168 - 200 bp)

H1 stabilizza le interazioni tra nucleosomi nella cromatina condensata

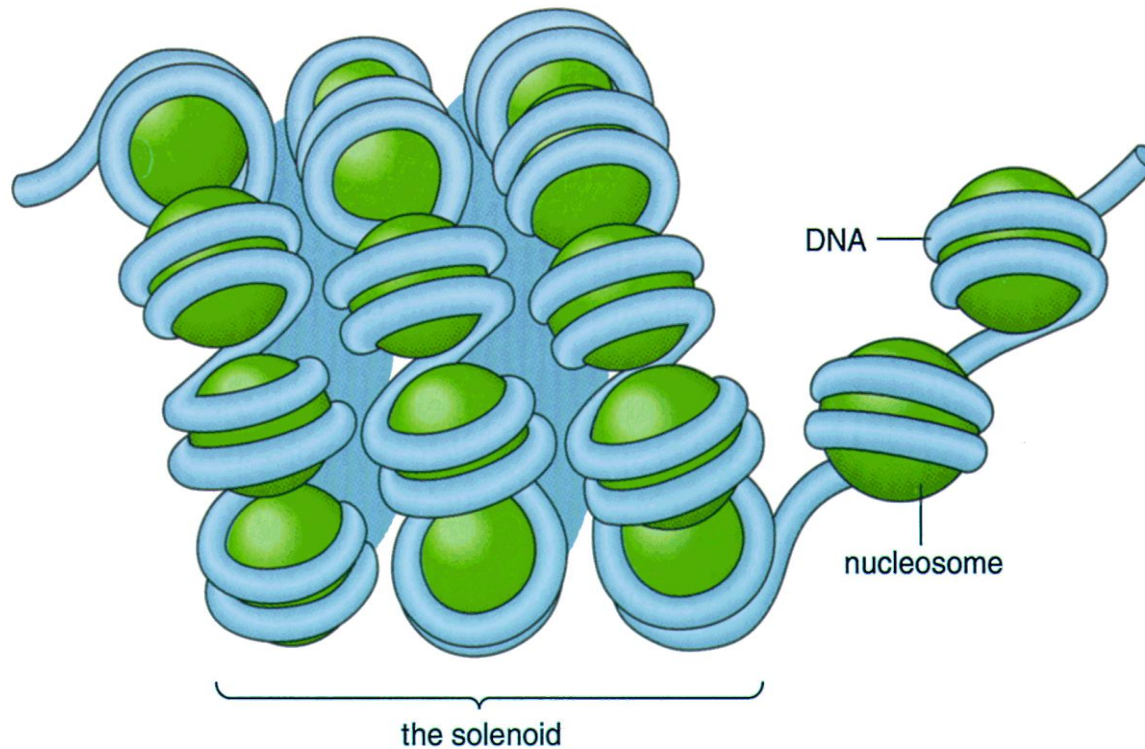
La fibra cromatinica



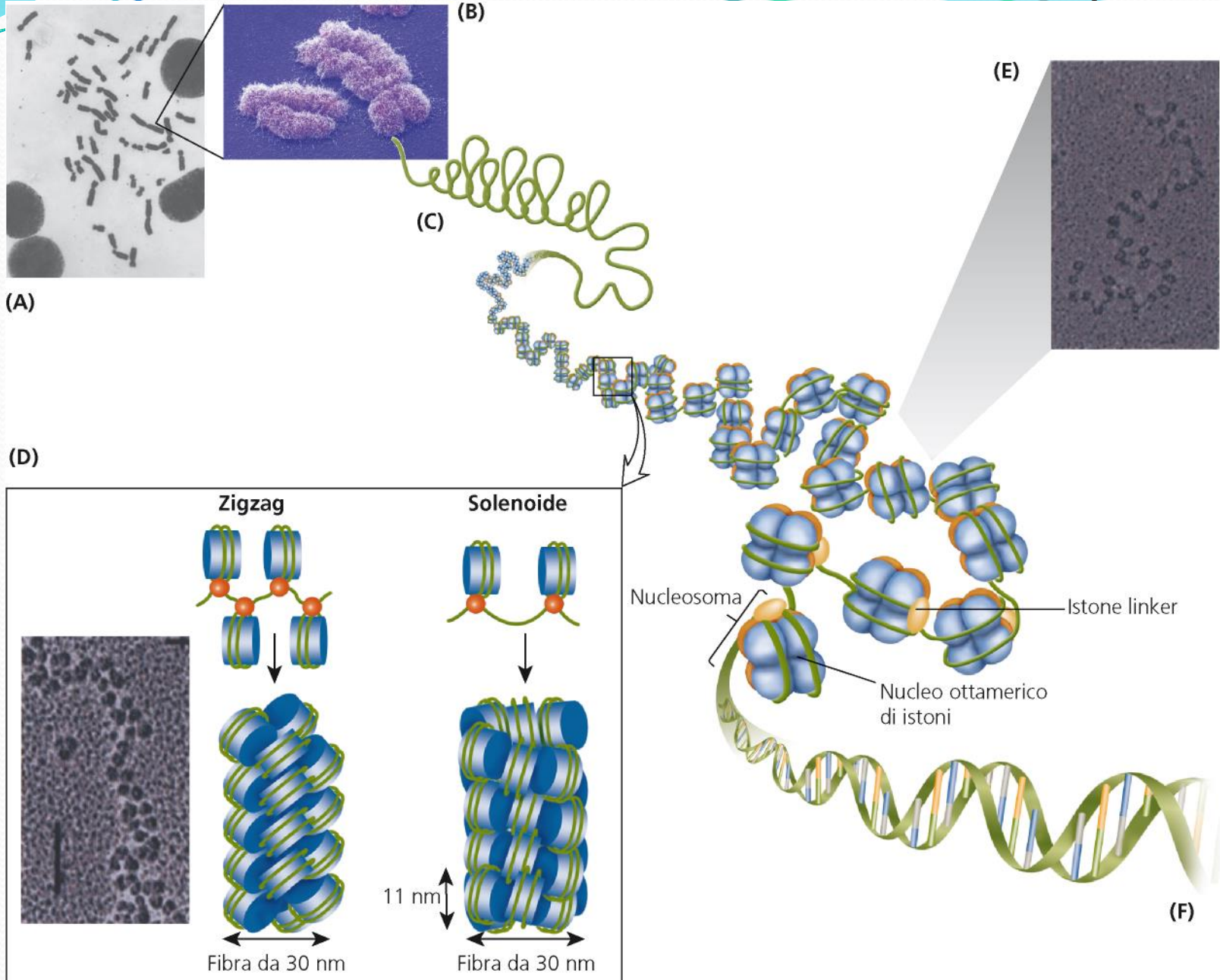
Nucleosomi distesi (11 nm beads)



Fibra cromatinica di 30 nm



Strutture di ordine superiore



Organizzazione della cromatina

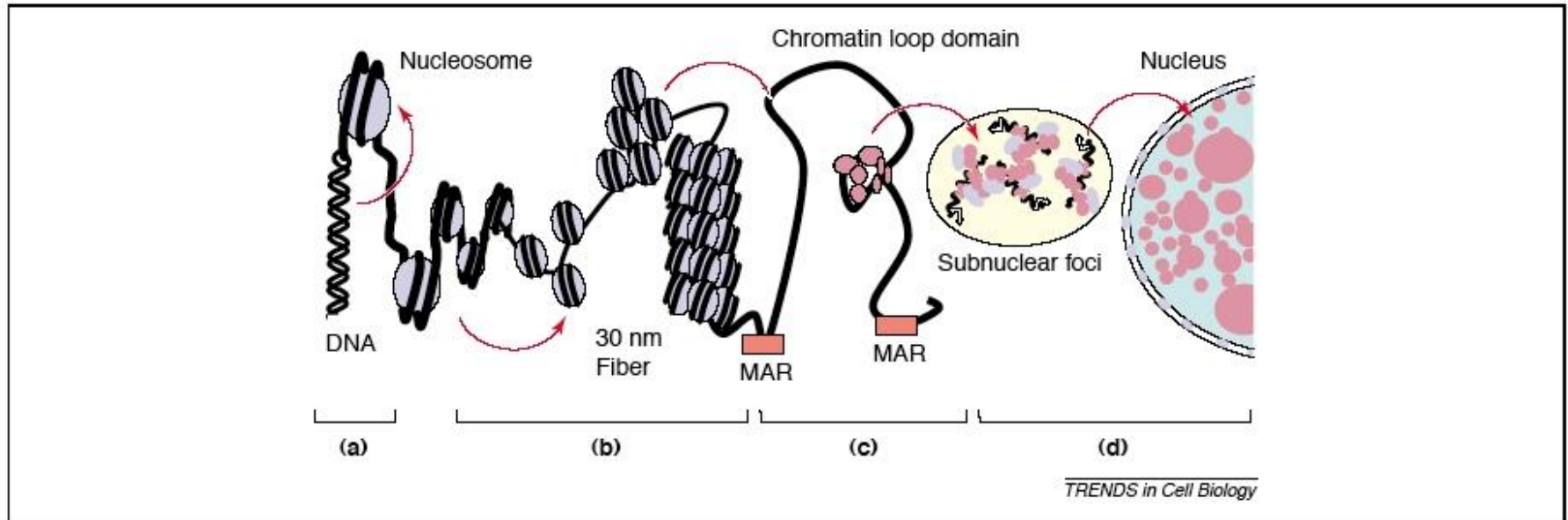


Figure 2. Multiple levels of nuclear organization regulate cellular processes. The primary level of nuclear organization, the ordering of genes, promoter elements and origins provide the genetic potential for physiological control (a). Chromatin structure and nucleosome organization reduce distances between regulatory sequences, facilitate crosstalk between DNA regulatory elements and render elements competent for interactions with positive and negative regulatory factors (b and c) [66]. The components of higher-order nuclear architecture, which include nuclear pores [67], the nuclear matrix and specialized intranuclear domains, contribute to the bidirectional exchange of regulatory information between the nucleus and cytoplasm [68], as well as to the subnuclear distribution and activities of genes and regulatory factors (d) (reviewed in Refs [1,6,12]).

La cromatina è suddivisa in regioni dove è altamente condensata, (eterocromatina), e in regioni meno condensate (eucromatina).

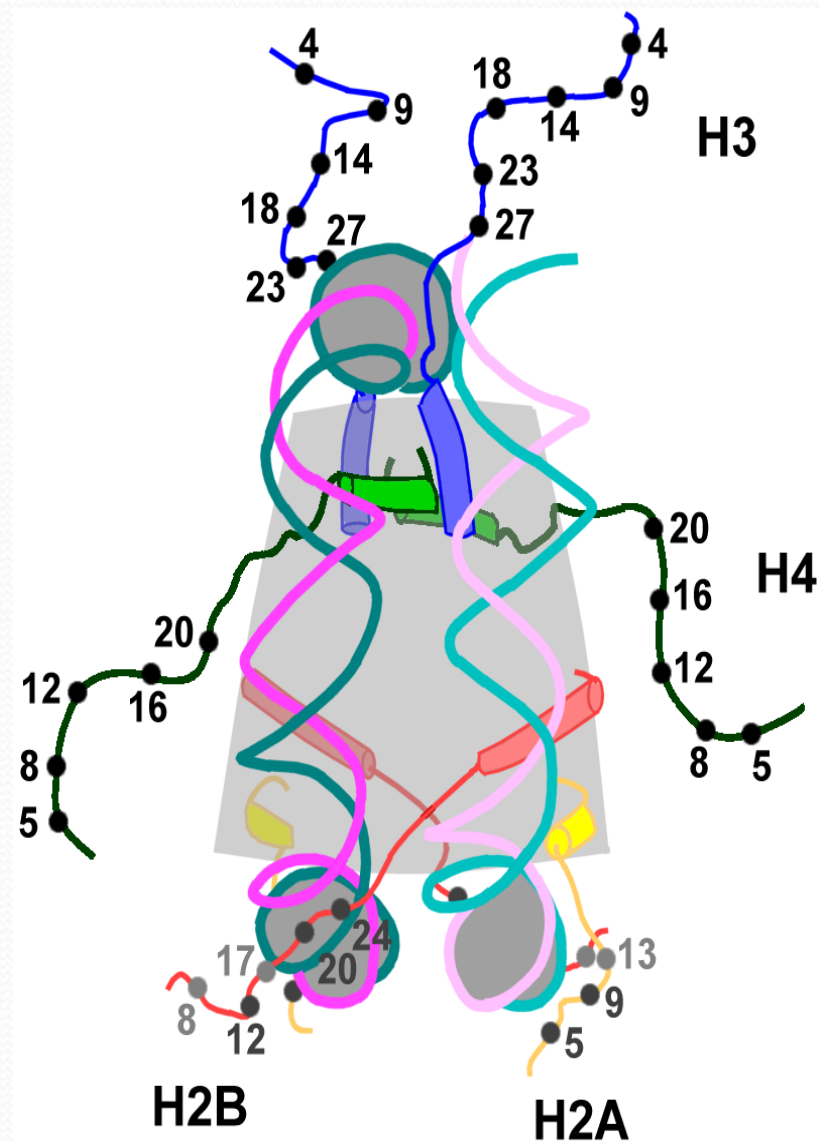
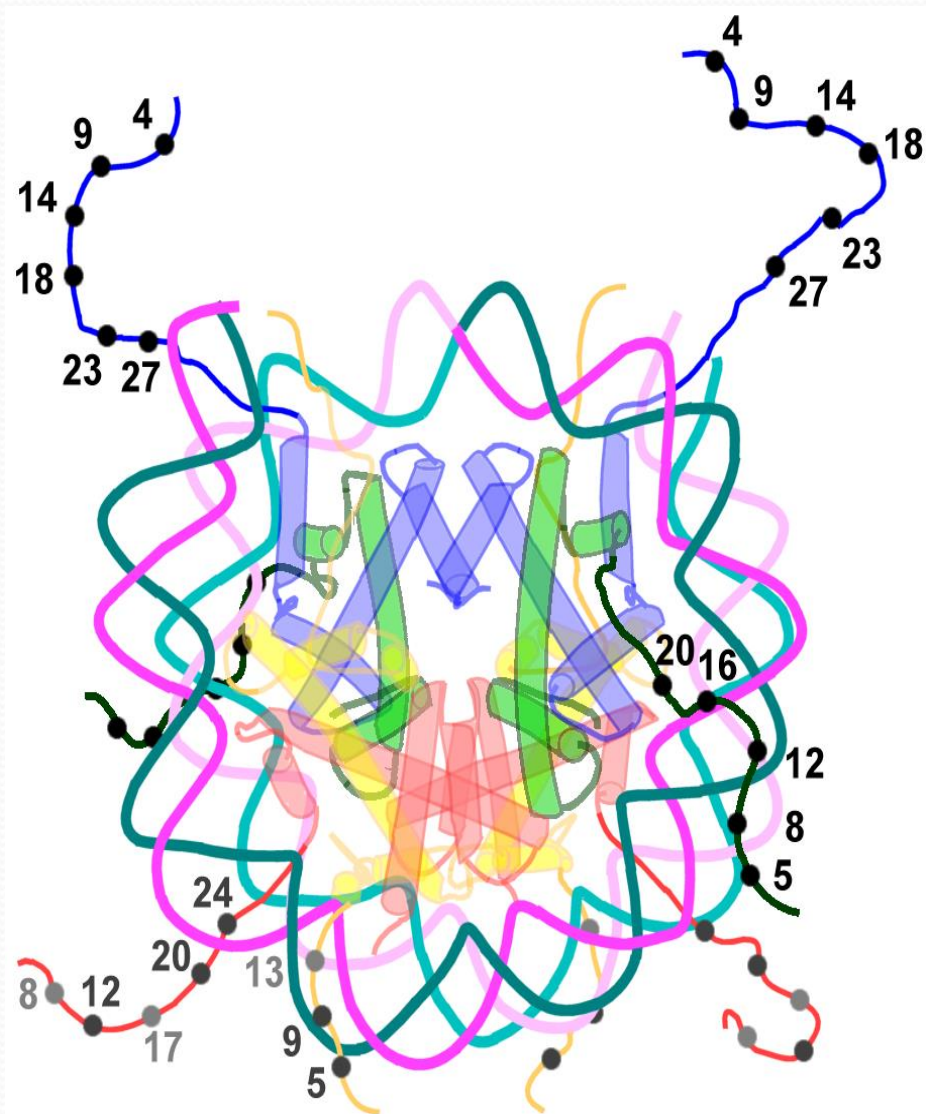
La cromatina è un complesso di DNA, proteine istoniche e non istoniche, la cui unità fondamentale viene definita nucleosoma.

MODIFICHE ISTONICHE

Gli istoni regolano la struttura della cromatina

Modifiche chimiche reversibili a carico degli istoni possono regolare le funzioni della cromatina

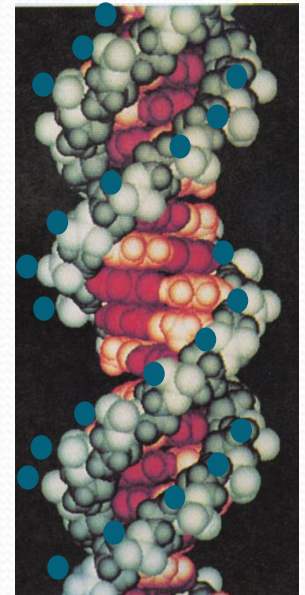
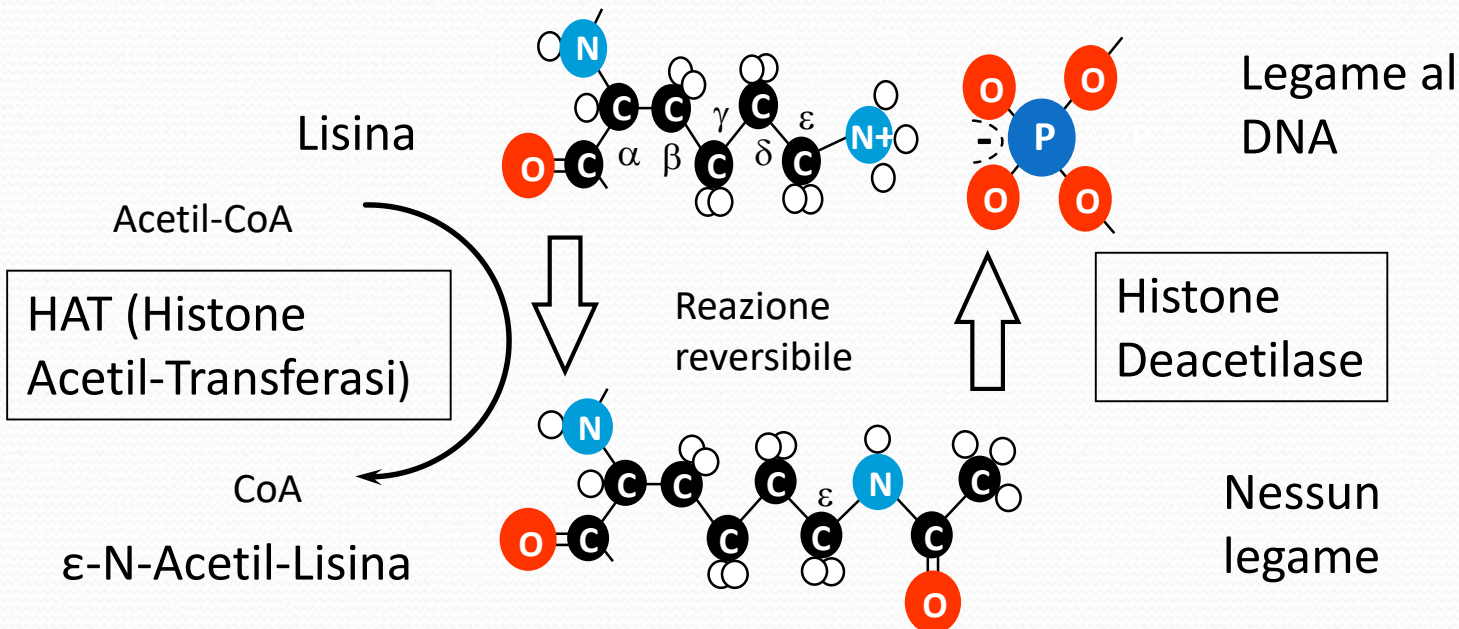
Le code N-terminali



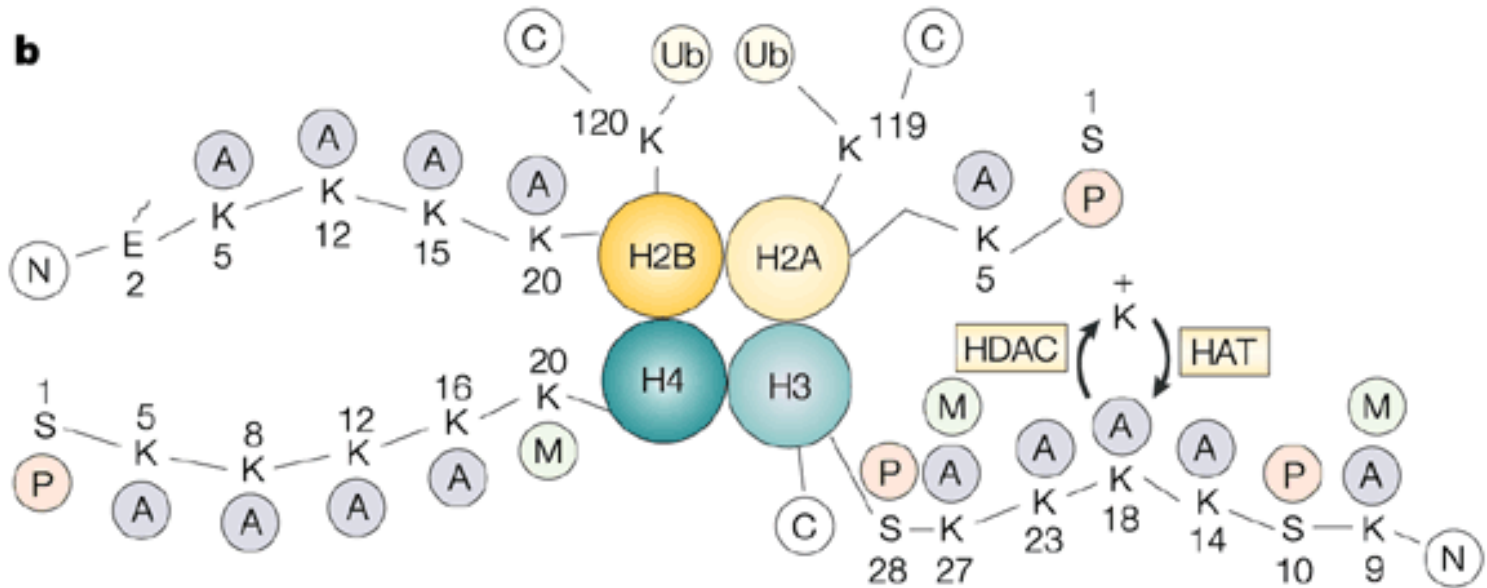
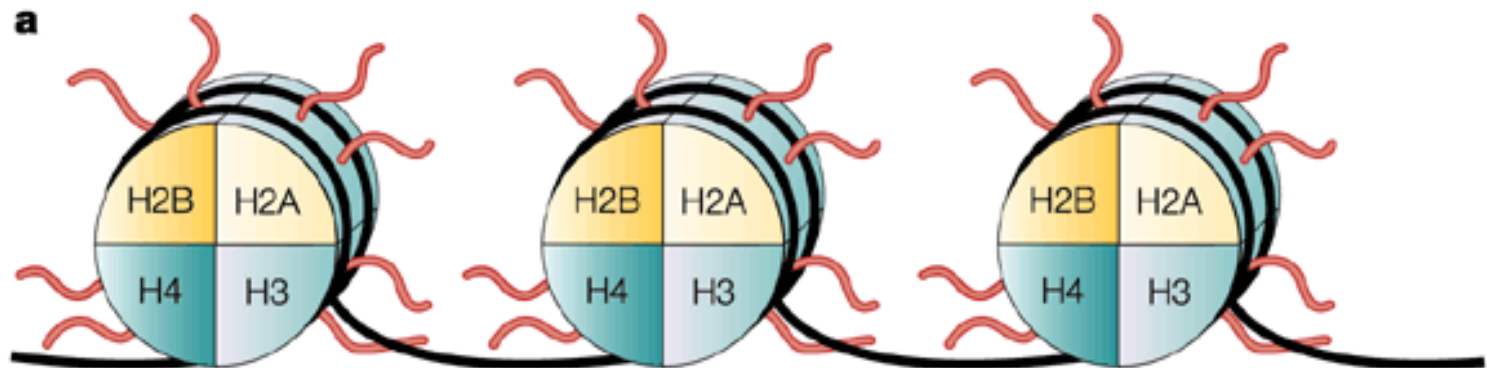
Acetilazione delle lisine conservate

Le code N-terminali degli istoni H4 e H3 ed il loro pattern di acetilazione sono altamente conservati

		5	8	12	16	20	
		Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Me
H4 N-terminus		Ac-S-G-R-G- K -G-G- K -G-L-G- K -G-G-A- K -R-H-R- K -V-L-R-D-					
		+	+	+	+	+	+
		4	9	14	18	23	27
		Me	Ac	Ac	Ac	Ac	Me
H3 N-terminus		A-R-T- K -Q-T-A-R- K -S-T-G-G- K -A-P-R- K -Q-L-A-T- K -A-A-R- K -S-A-P-					
		+	+	+	+	+	+



Modifiche covalenti degli istoni



Modifiche covalenti degli istoni

Sono definite **modifiche epigenetiche** perché modificano e regolano il funzionamento della cromatina e quindi del genoma senza alterare la sequenza del DNA.

Le modifiche sono apportate da specifici fattori proteici (writers) e rimosse da altri specifici fattori proteici (erasers)

Le modifiche vengono lette da appositi fattori proteici (readers)

Acetilazione e metilazione delle lisine delle code istoniche (H3 e H4) sono coinvolte nel controllo e la regolazione della trascrizione

H4K16ac -> favorisce la trascrizione

H3K4me3 -> attivazione trascrizionale

H3K27me3 -> inattivazione trascrizionale

H3K9me-> inattivazione trascrizionale

La fosforilazione degli istoni è coinvolta in altri processi nucleari

H2A.X (S139) -> riparo del DNA

H3 (S10) -> stabilità cromosomi e divisione cellulare

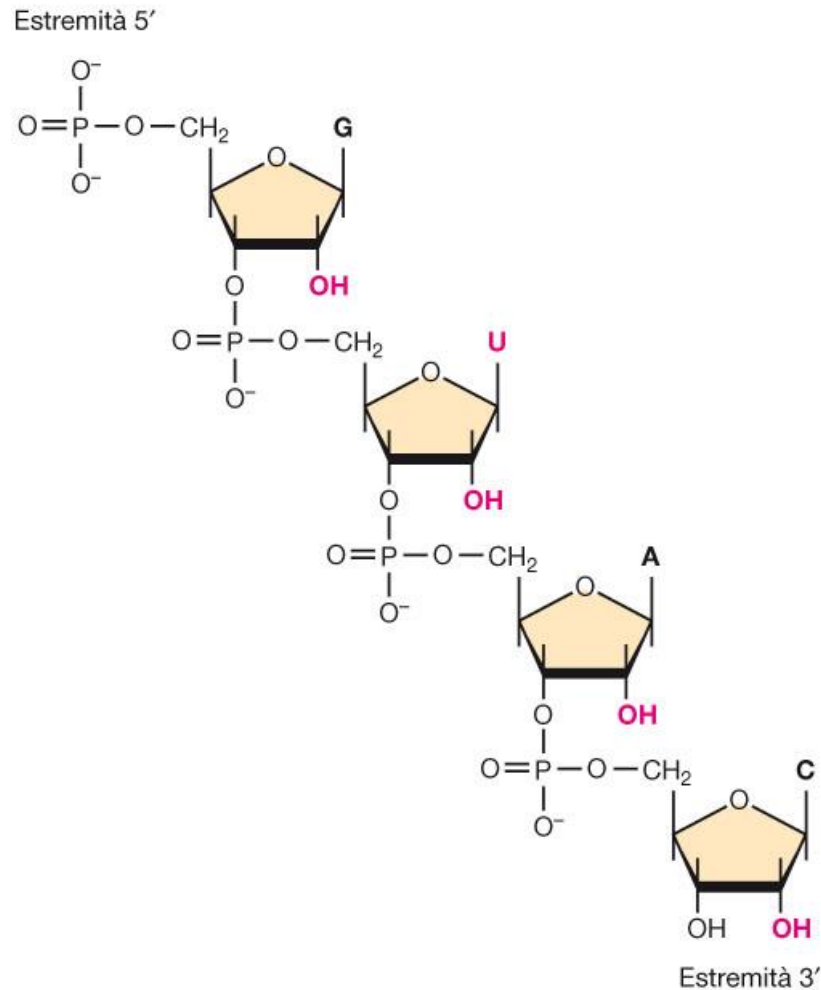
H2B (S14) -> apoptosi



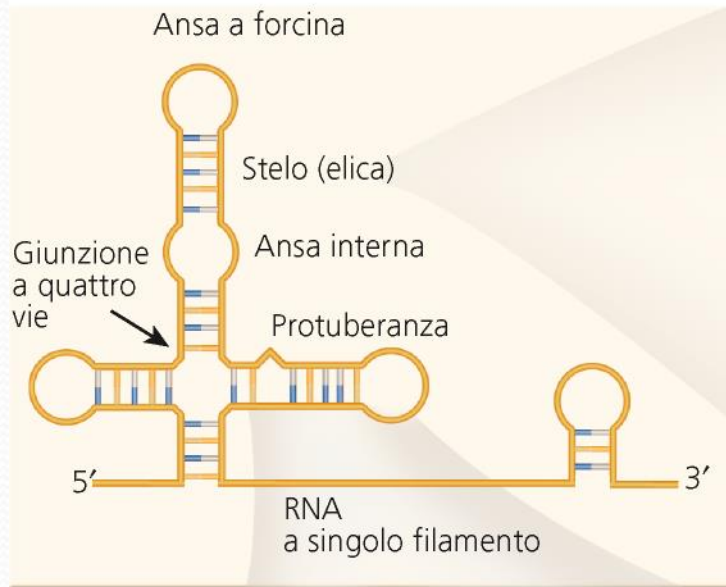
STRUTTURA DELL'RNA

RNA acido nucleico a singolo filamento

Figura 2.47 **Struttura chimica dell'RNA.** Come si vede, sono presenti i gruppi OH nella posizione 2' dello zucchero e l'uracile al posto della timina.



Strutture secondarie nell'RNA

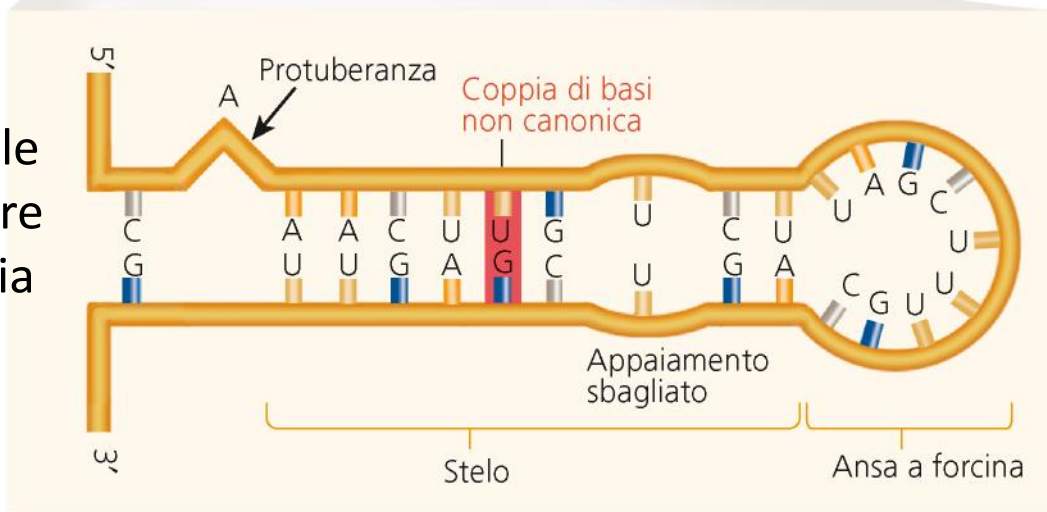


Scanalatura secondaria

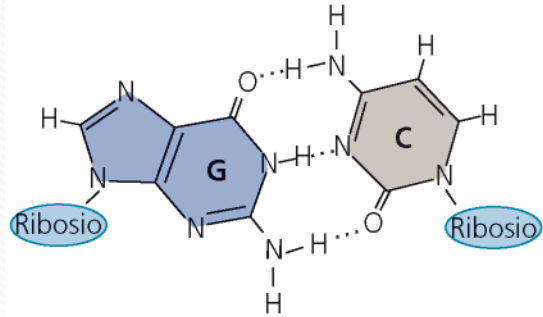
Scanalatura principale

Una doppia elica di RNA

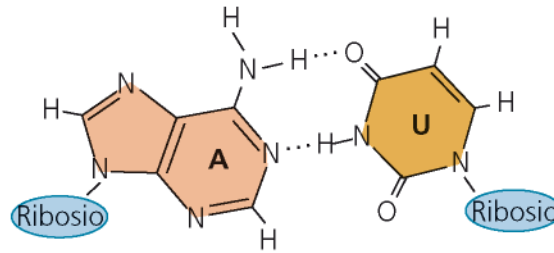
L'RNA è una molecola flessibile e tende a formare strutture a doppia elica



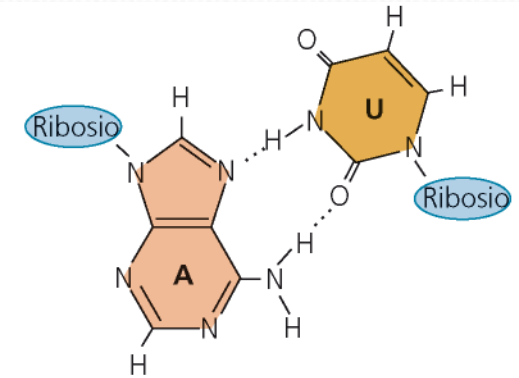
Appaiamenti di basi canonici e non canonici



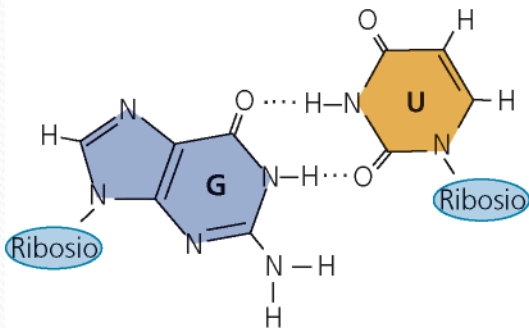
CG Watson-Crick



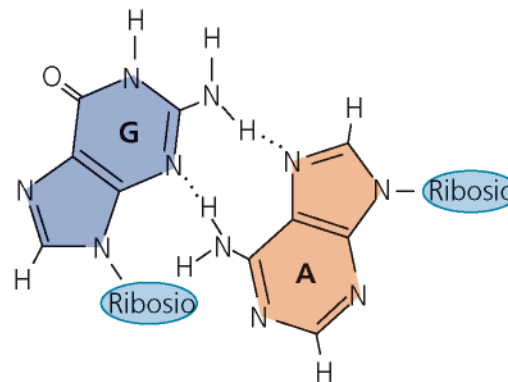
AU Watson-Crick



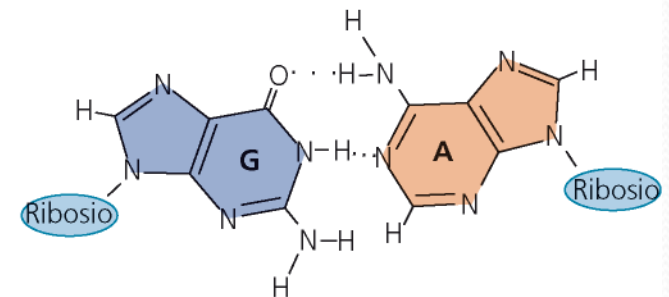
AU Hoogsteen inversa



GU tentennante



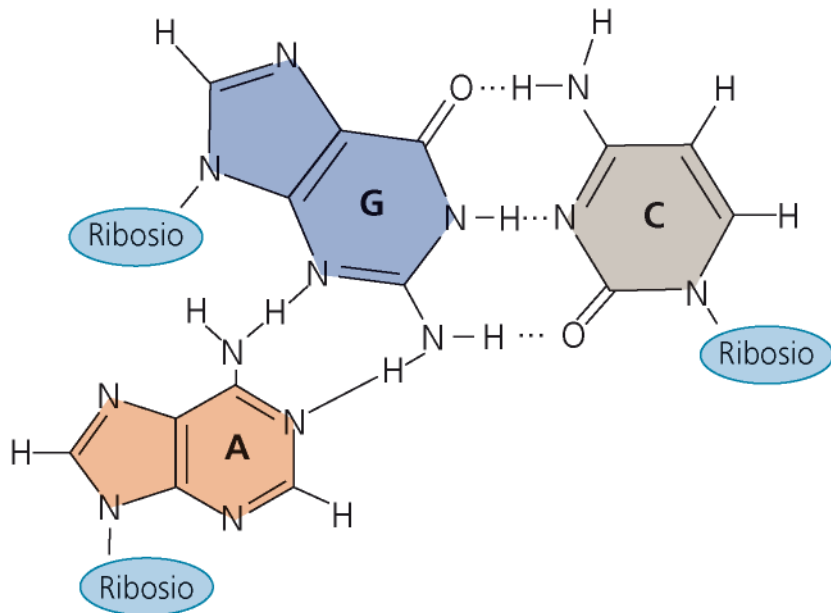
GA troncata



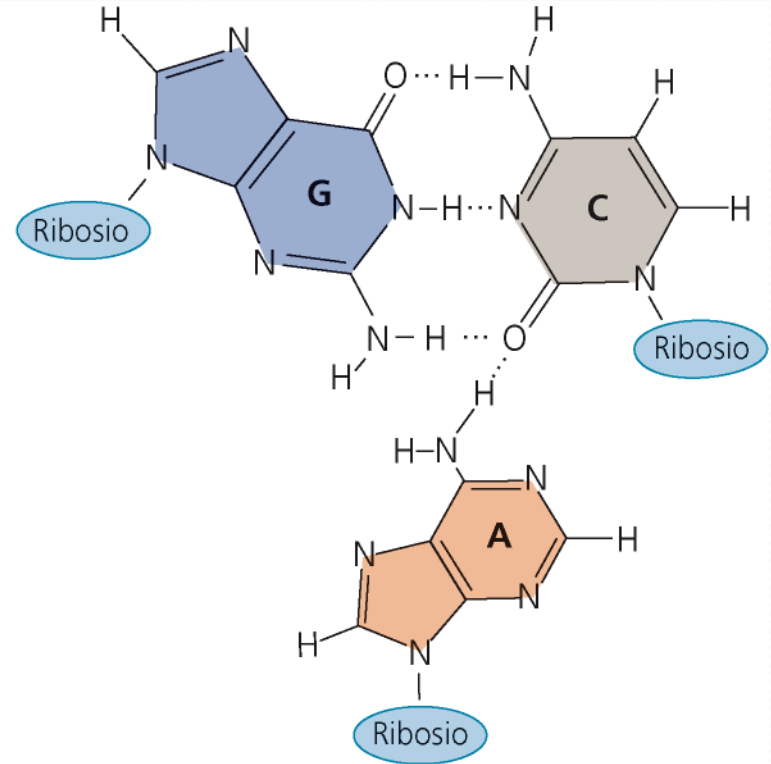
GA immino

Nell'RNA sono possibili vari tipi di appaiamento, canonici e non canonici, che consentono alla molecola di assumere diverse conformazioni

Appaiamenti di basi non canonici

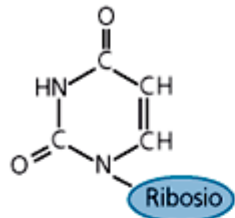


AGC ammino N3, N1-ammino;
Watson-Crick

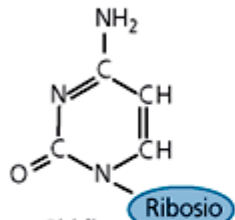


ACG ammino-carbonile;
Watson-Crick

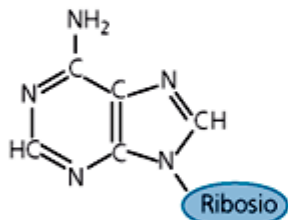
Nucleosidi con basi normali



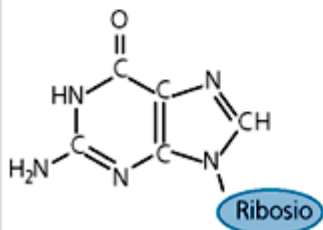
Uridina



Citidina



Adenosina

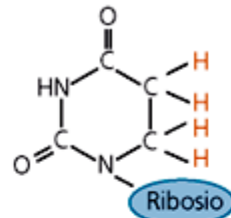


Guanosina

Nucleosidi con basi modificate



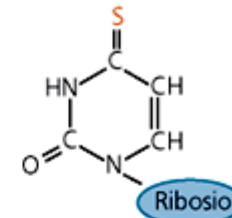
Ribotimidina (T)



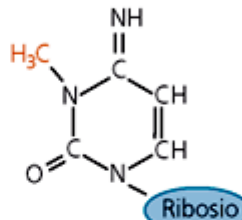
Diidrouridina (D)



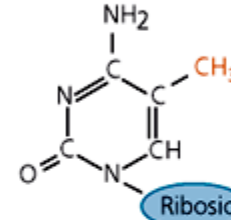
Pseudouridina (Ψ)



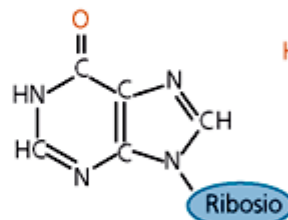
4-Tiouridina



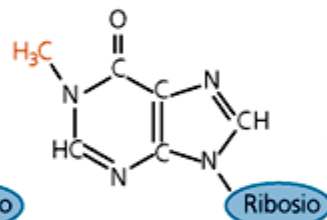
3-Metilcitidina



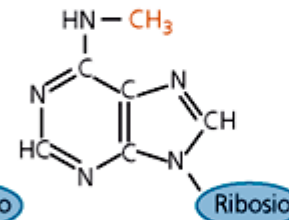
5-Metilcitidina



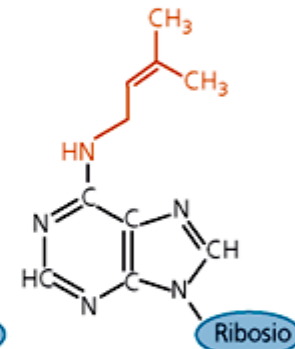
Inosina (I)



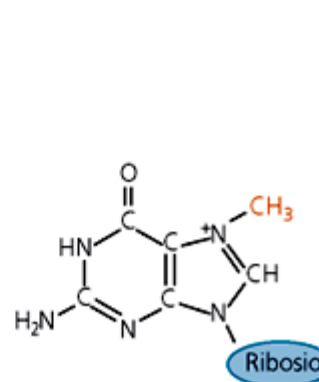
1-Metilinosina (MI)



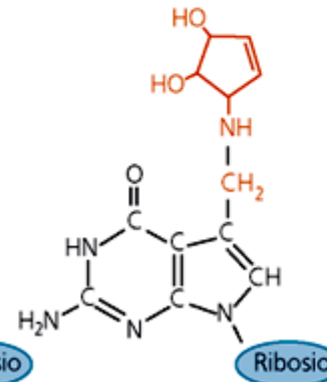
N⁶-Metiladenosina (m⁶A)



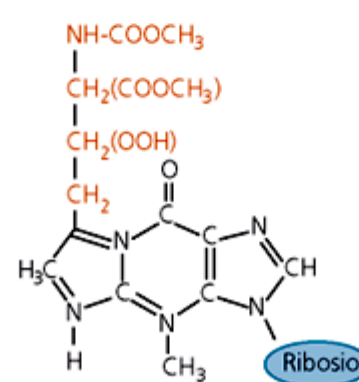
N⁶-Isopenteniladenosina



7-Metilguanossina (MG)



Queuosina (Q)



Wyosina (Y)

L'RNA è particolarmente di ricco di basi modificate che lo rendono più versatile

RIPIEGAMENTO DELL'RNA

L'RNA può assumere numerose strutture secondarie e terziarie che, in maniera analoga a quella delle proteine, sono influenzate dalla sequenza primaria.

(anse, pseudonodi, motivi ad A minore, motivi a tetraansa, motivi a cerniera di ribosio, motivi a piega K ecc.)

Un esempio di RNA strutturato è rappresentato dal t-RNA

L'RNA può inoltre costituire complessi con proteine (complessi ribonucleoproteici) che svolgono ruoli e funzioni importanti nella cellula (esempio i ribosomi, strutture dove avviene la sintesi delle proteine)

Struttura di un t-RNA

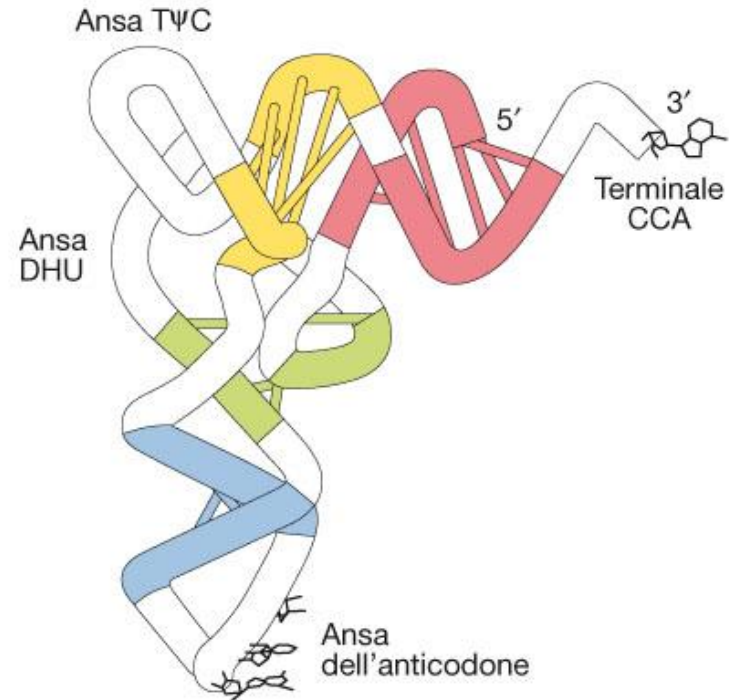
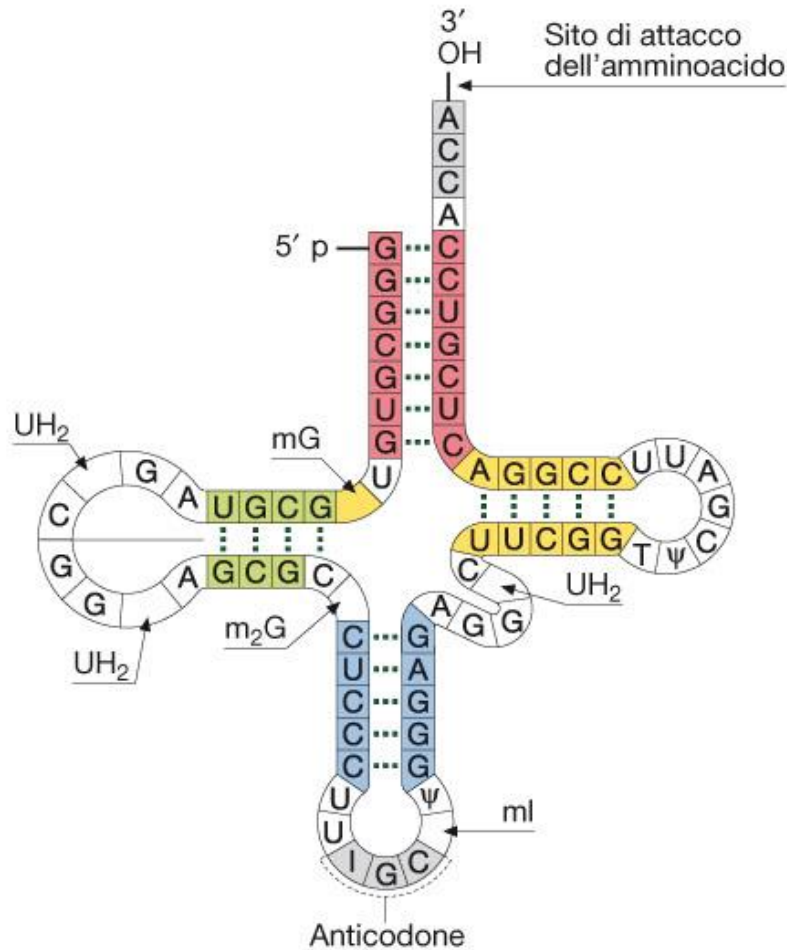


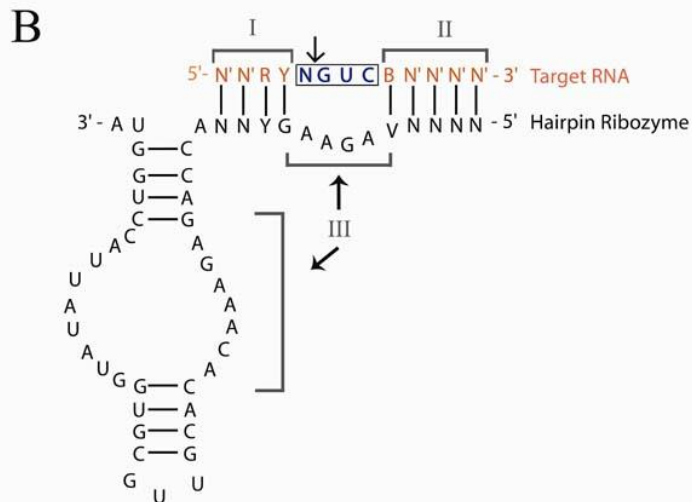
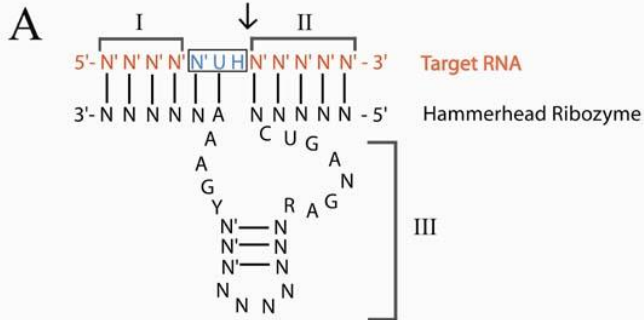
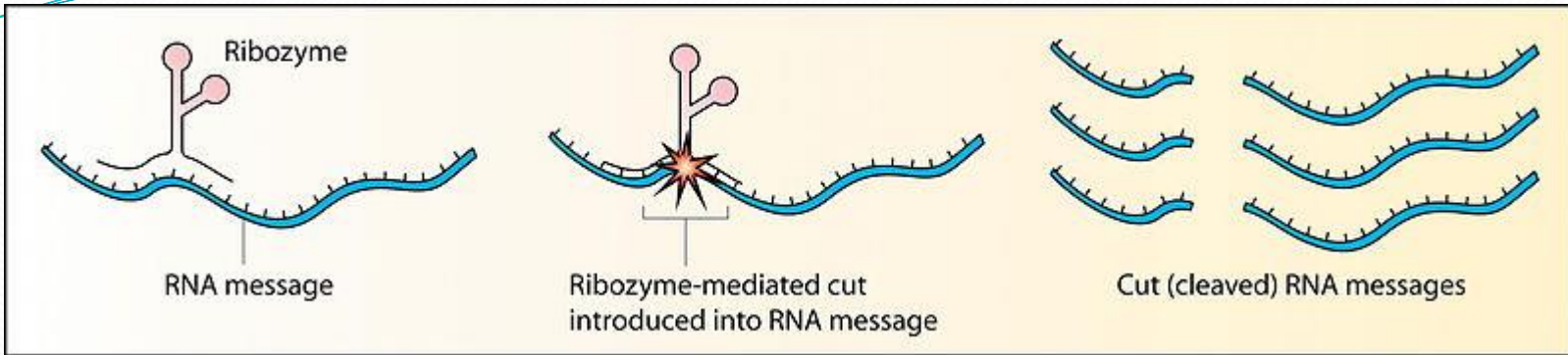
Figura 2.55 **Struttura tridimensionale del tRNA.** La struttura a trifoglio ha ripiegamenti ulteriori, con accoppiamento di loop distanti e formazione di una struttura a L. I colori aiutano a riconoscere

nella struttura a L i domini presenti nella struttura a trifoglio. Si noti che le basi dell'anticondono in viola sono protese all'esterno dell'ansa.



RNA CATALITICO RIBOZIMI

RIBOZIMI



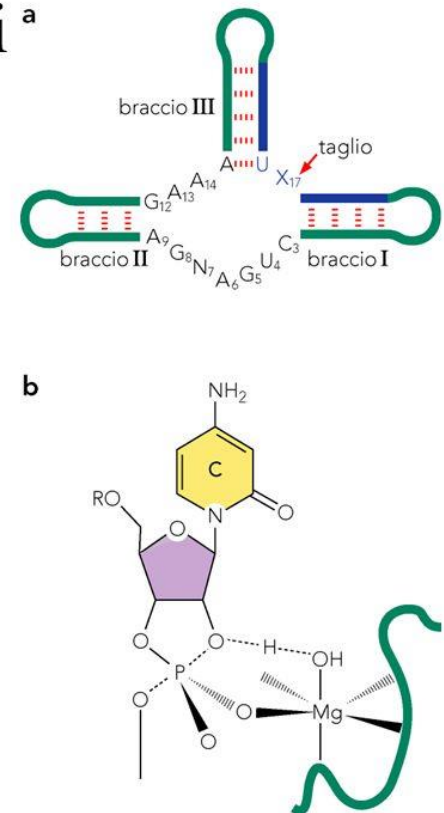
Ribozimi ^a

La possibilità di fare strutture secondarie e la reattività del 2'OH permettono all'RNA di avere attività enzimatica, generalmente di tagliare RNA

RNasi P, processa tRNA

Ribonucleoproteine: RNA splicing

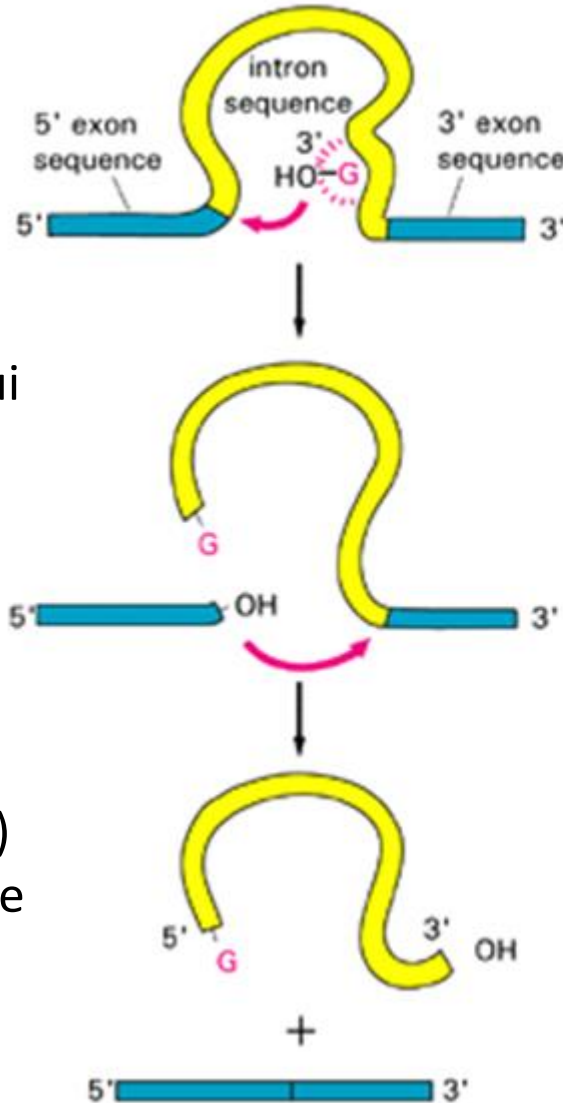
Ribonucleasi Hammerhead: tratti di RNA che tagliano sequenze contigue



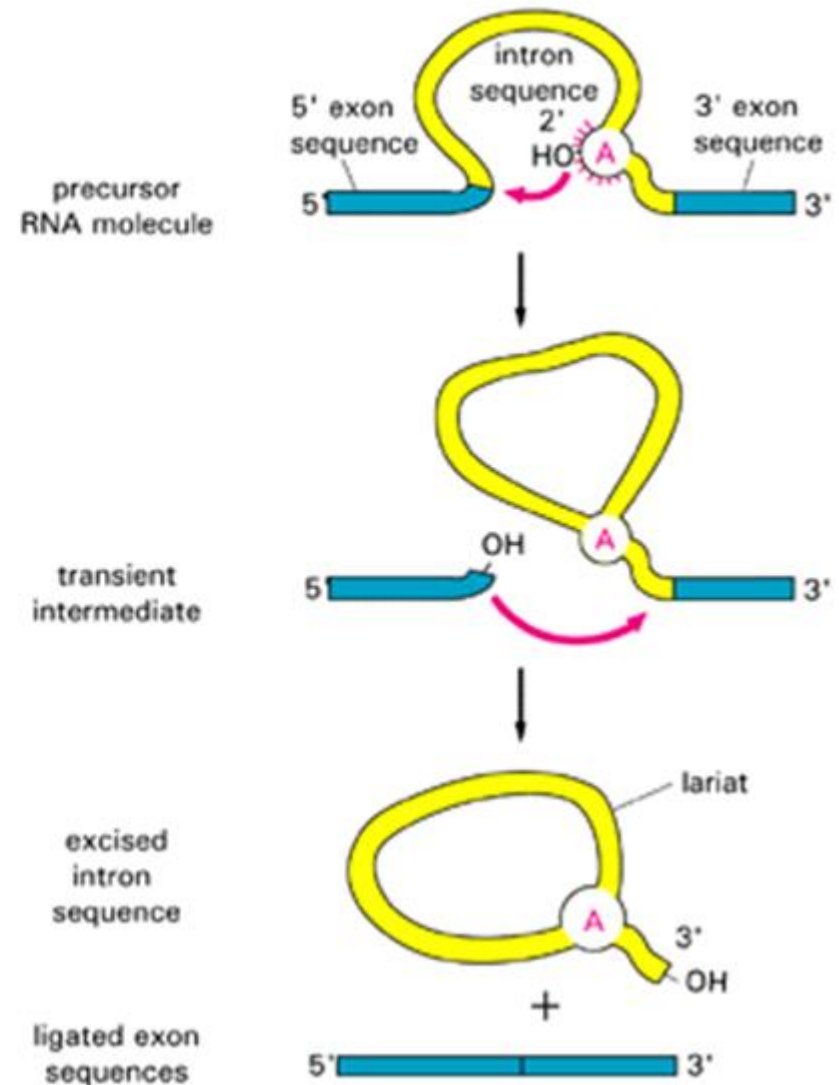
AUTOSPLICING

L'RNA è in grado di catalizzare reazioni di autosplicing in cui parte di una sequenza interna (introne) viene rimossa e le estremità delle porzioni confinanti (esoni) vengono risigillate

Group I self-splicing intron sequences



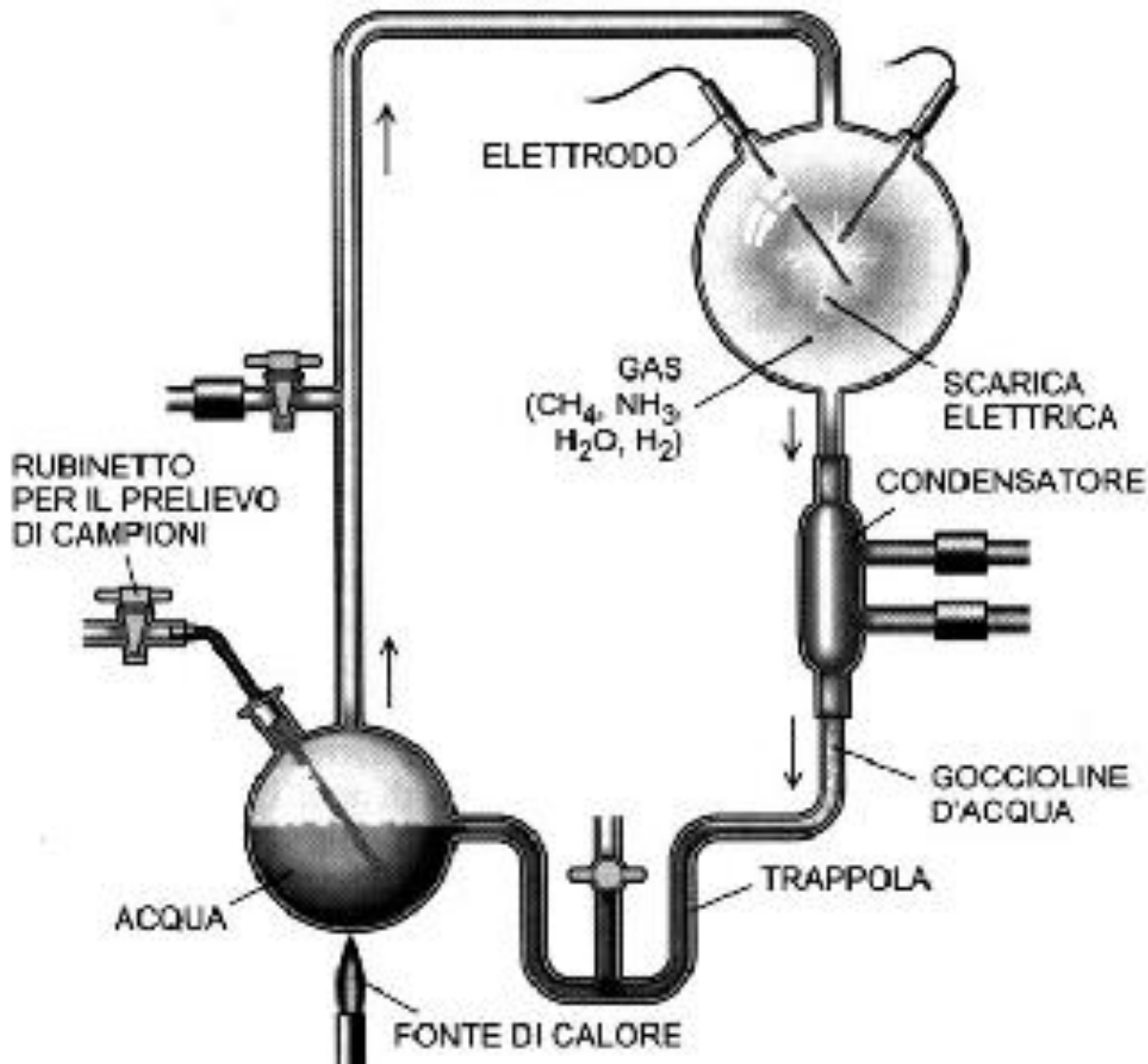
Group II self-splicing intron sequences





IL MONDO A RNA

ESPERIENZA DI MILLER



Carboxylic Acids

Formic, Acetic, Propionic, Straight and branched C4 - C10, Glycolic, Lactic, Succinic

Purine and Pyrimidine Bases

Adenine, Guanine, Xanthine, Hypoxanthine, Cytosine, Uracil

Sugars

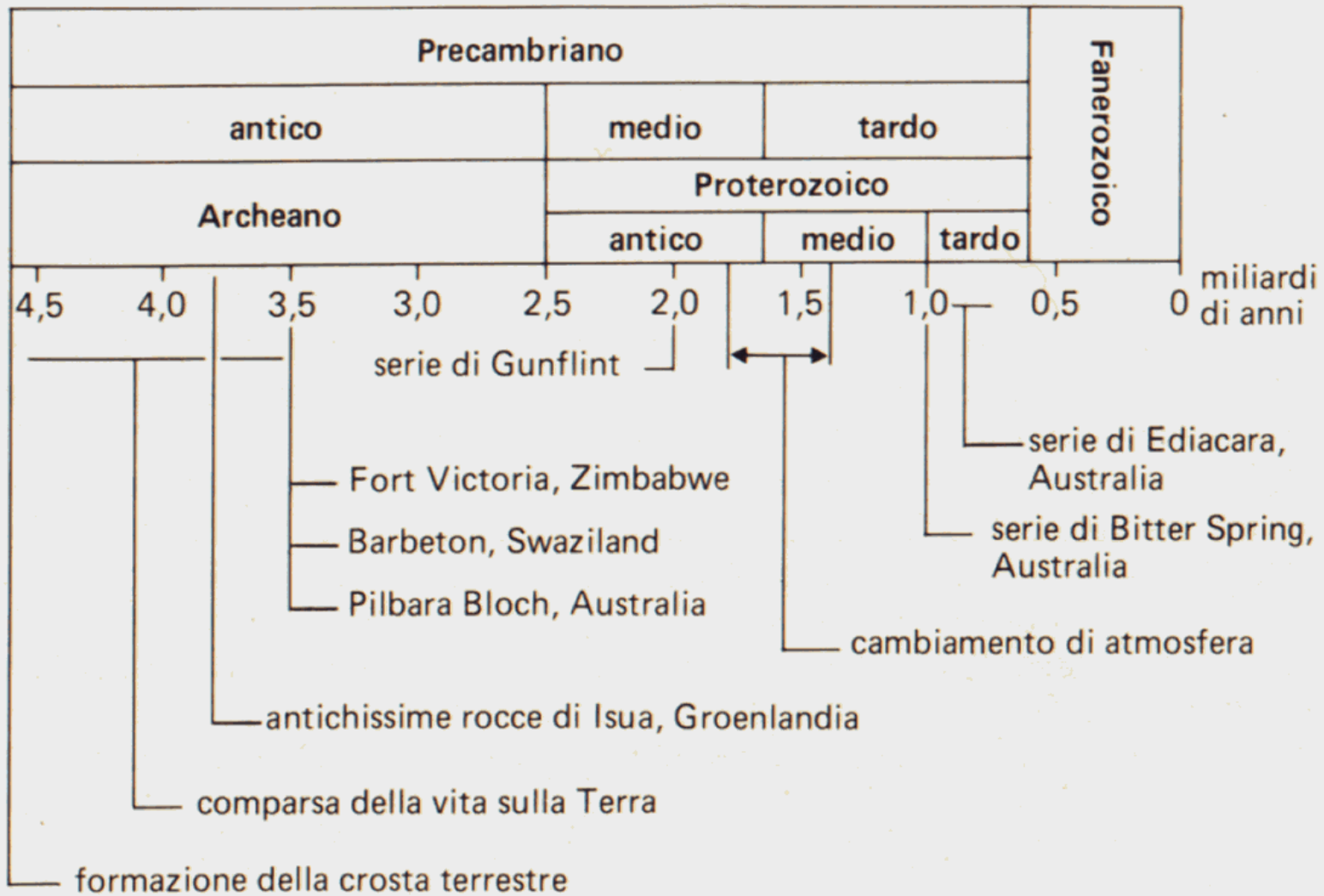
Pentoses (especially ribose), hexoses, both straight and branched chain

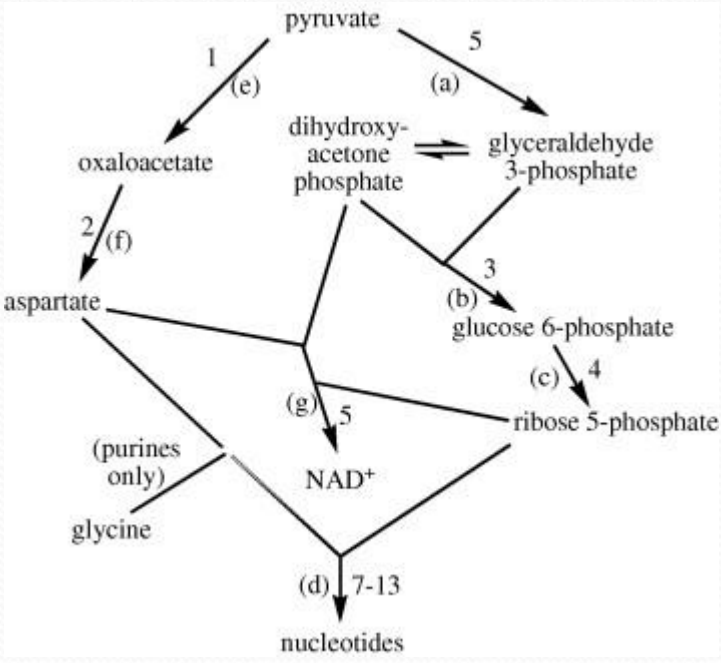
Amino Acids

Glycine, Alanine, 2-Aminobutyric, Valine, Leucine, Isoleucine, Proline, Aspartic, Glutamic, Serine, Threonine

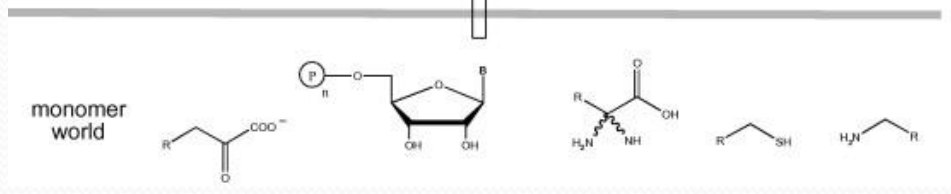
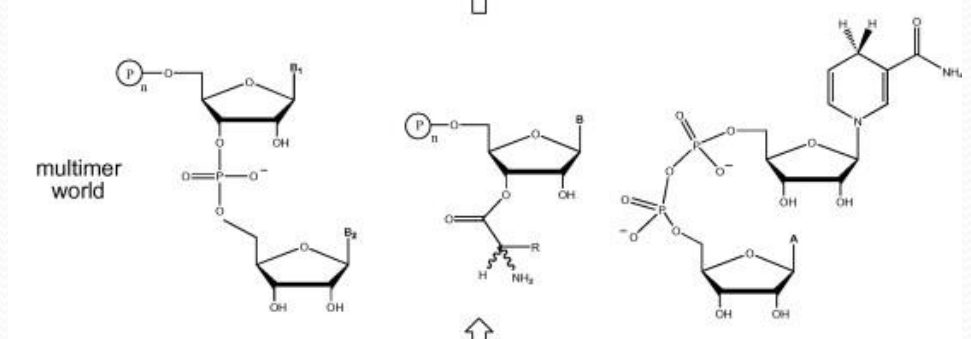
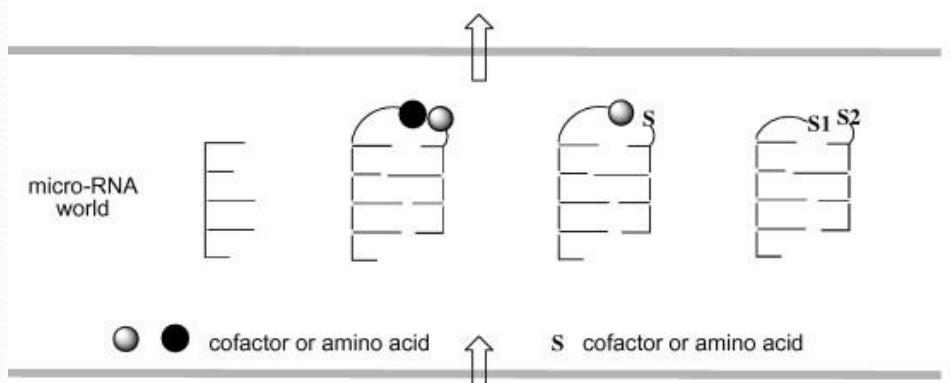
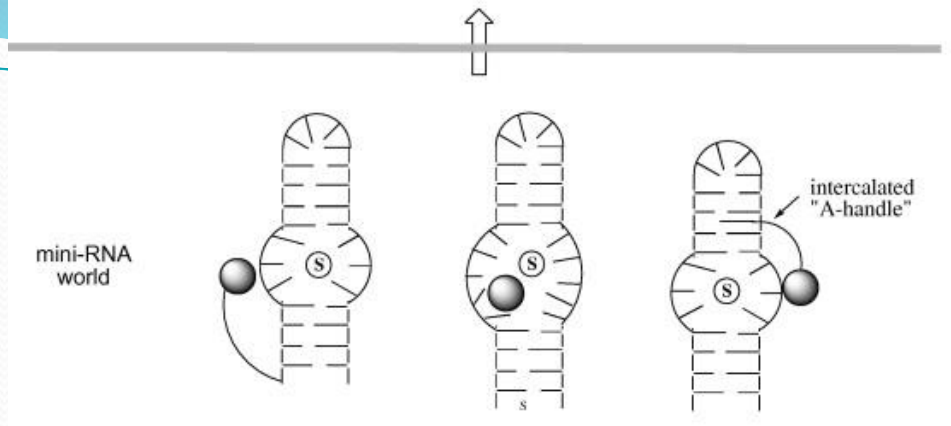
Miscellaneous

Formaldehyde, HCN





macromolecular RNA World



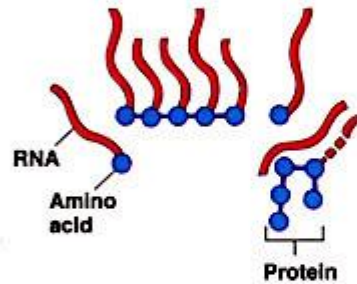
154 Proposed RNA world origins



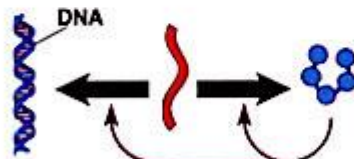
[A] RNA forms



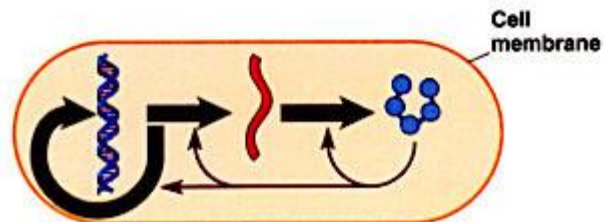
[B] Ribozymes catalyze RNA replication



[C] RNA catalyzes protein synthesis



[D] RNA encodes both DNA and protein



[E] Proteins catalyze cell activities



IL CODICE GENETICO

IL DOGMA CENTRALE

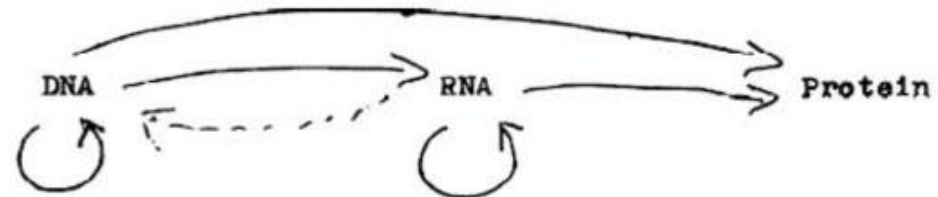
Figura 3.1 Schema originale di F. Crick che descrive per la prima volta il "dogma centrale".

Ideas on Protein Synthesis (Oct. 1956)

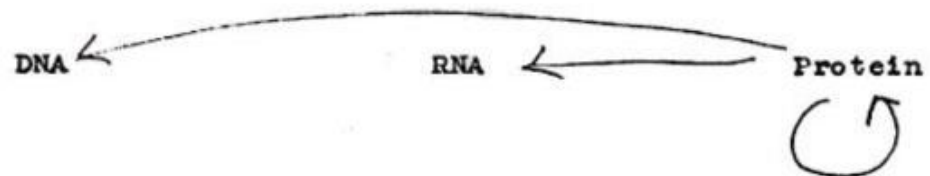
The Doctrine of the Triad.

The Central Dogma: "Once information has got into a protein it can't get out again". Information here means the sequence of the amino acid residues, or other sequences related to it.

That is, we may be able to have



but never

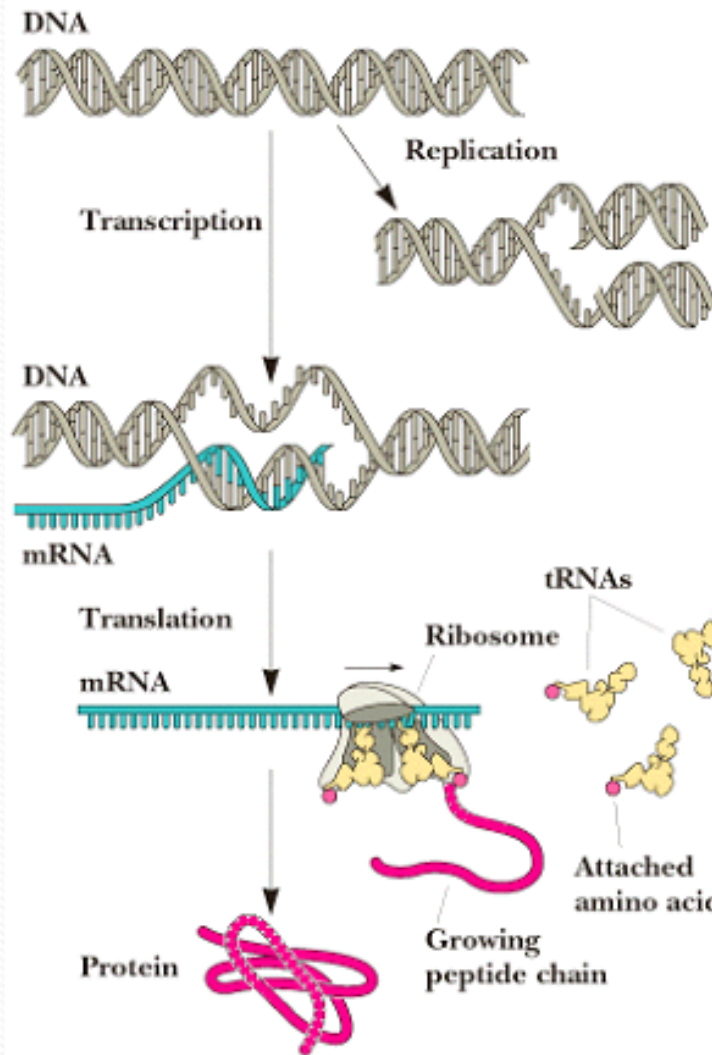


where the arrows show the transfer of information.

Figura 1

Dogma centrale della biologia

1956 Francis Crick



Replication

DNA replication yields two DNA molecules identical to the original one, ensuring transmission of genetic information to daughter cells with exceptional fidelity.

Transcription

The sequence of bases in DNA is recorded as a sequence of complementary bases in a single-stranded mRNA molecule.

Translation

Three-base codons on the mRNA corresponding to specific amino acids direct the sequence of building a protein. These codons are recognized by tRNAs (transfer RNAs) carrying the appropriate amino acids. Ribosomes are the "machinery" for protein synthesis.

Replicazione



Trascrizione



RNA

Traduzione



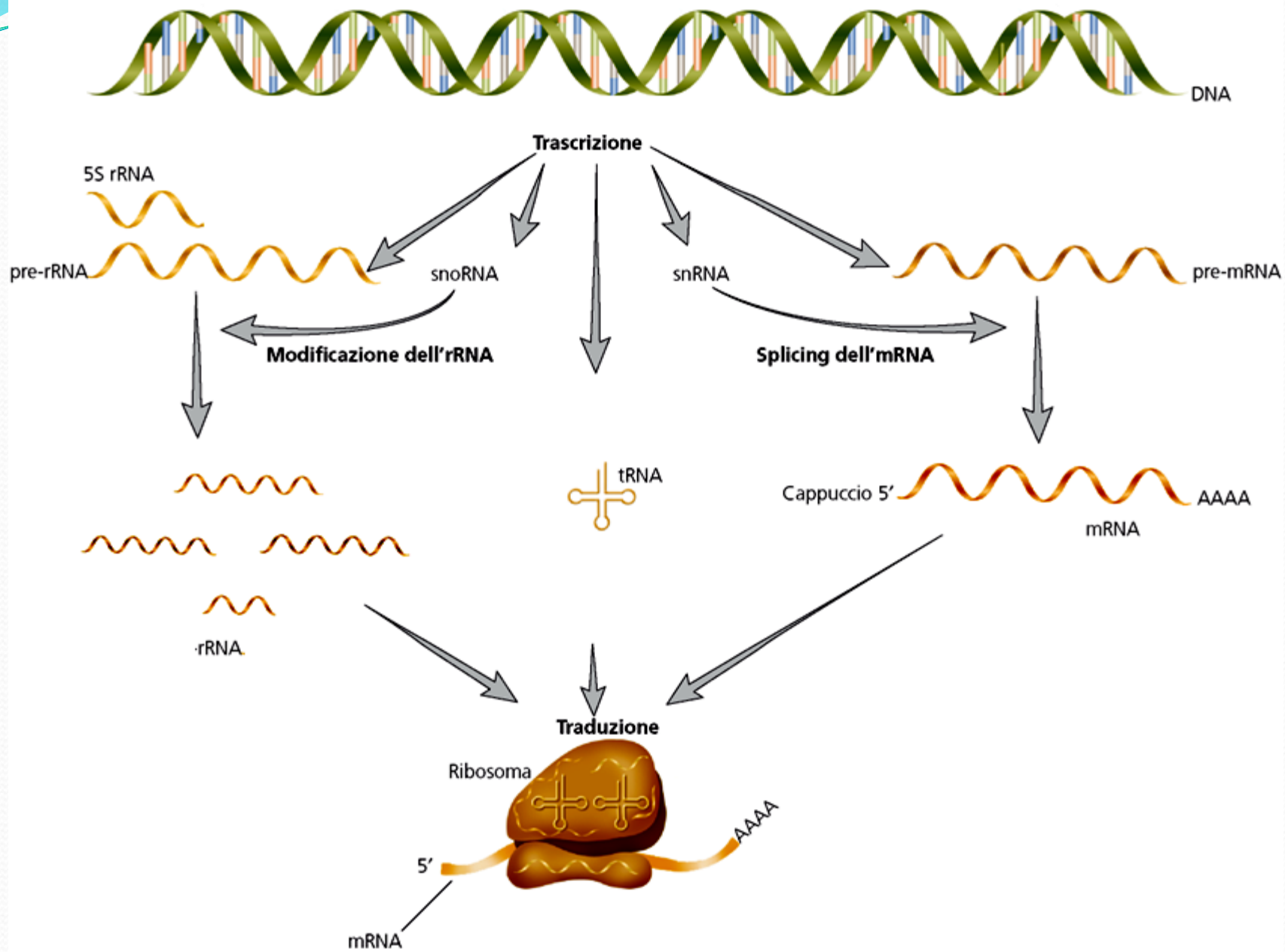
PROTEINA



Trascrizione inversa



Replicazione





Codone di inizio

Codoni

Met - Gly - Leu - Ser - Asp - Gly - Trp - His - Leu

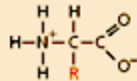
La metionina
è tagliata
durante o dopo
la traduzione

mRNA

Proteina

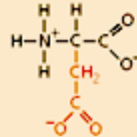


Amminoacido generale

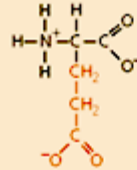


Acidi

Acido L-aspartico (Asp) (D)

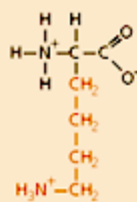


Acido L-glutammico (Glu) (E)

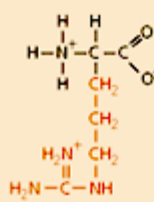


Basici

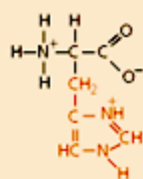
L-Lisina (Lys) (K)



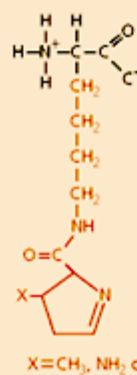
L-Arginina (ARG) (R)



L-Istidina (His) (H)

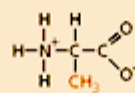


L-Pirrolisina (Pyr)

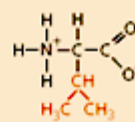


Non polari

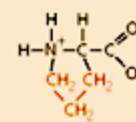
L-Alanina (Ala) (A)



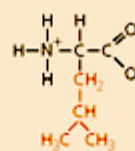
L-Valina (Val) (V)



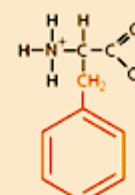
L-Prolina (Pro) (P)



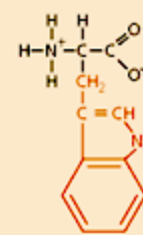
L-Leucina (Leu) (L)



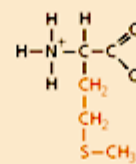
L-Fenilalanina (Phe) (F)



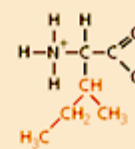
L-Triptofano (Trp) (W)



L-Metionina (Met) (M)

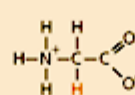


L-Isoleucina (Ile) (I)

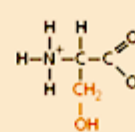


Polarì (privi di carica)

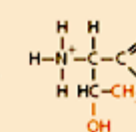
L-Glicina (Gly) (G)



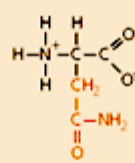
L-Serina (Ser) (S)



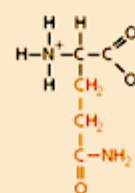
L-Treonina (Thr) (T)



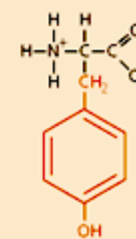
L-Asparagina (Asn) (N)



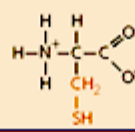
L-Glutammina (Gln) (Q)



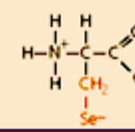
L-Tirosina (Tyr) (Y)



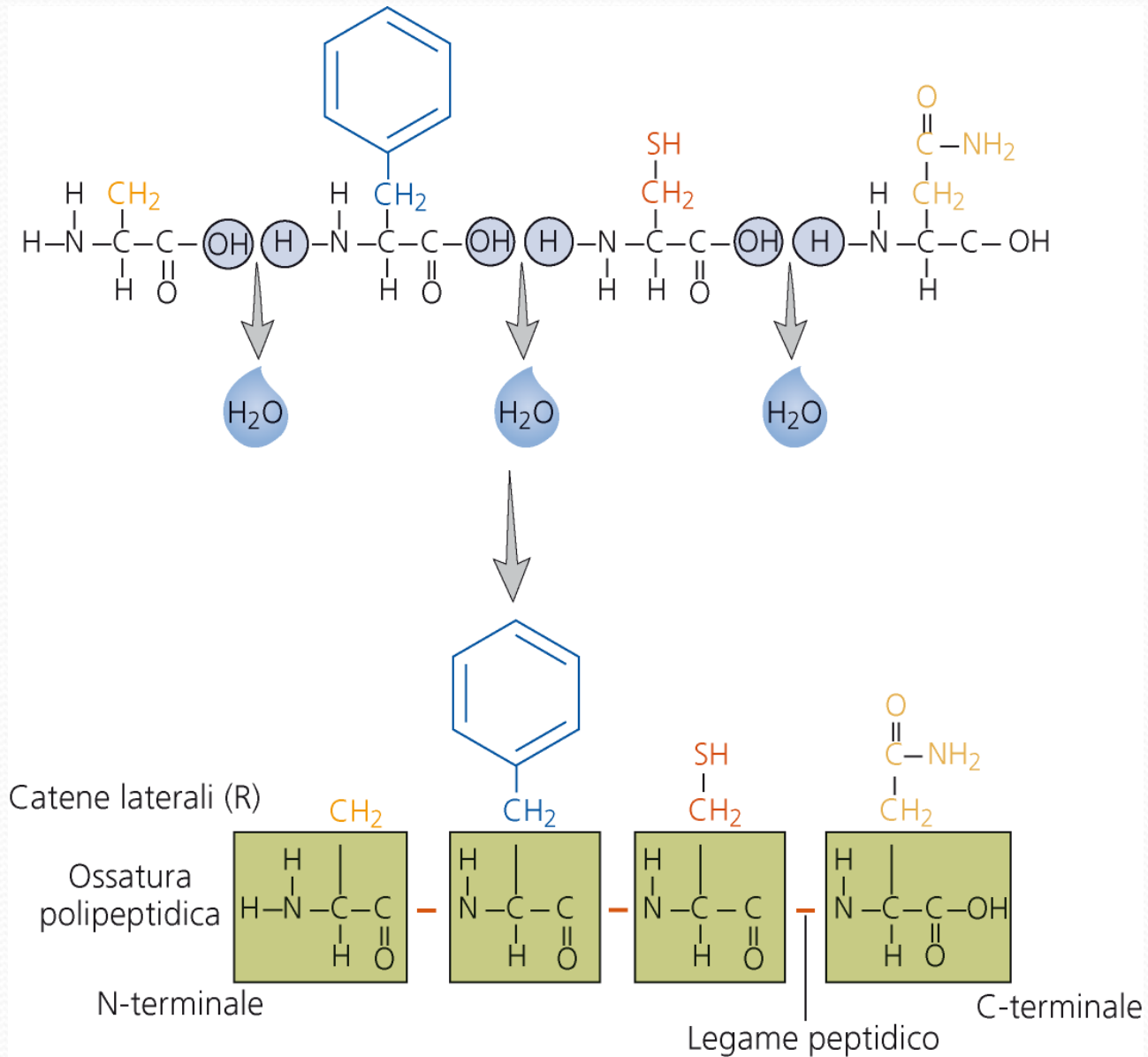
L-Cisteina (Cys) (C)



L-Selenocisteina (Sel)



La catena polipeptidica



I CODONI

Sequenza originale

ATG CTG CTC TGT GCC GCC ...
Met Leu Leu Cys Ala Ala ...

1 Nucleotide rimosso

ATG CTC TCT GTG CCG CC ...
Met Leu Ser Val Pro Pro ...

2 Nucleotidi rimossi

ATG CTT CTG TGC CGC C...
Met Pro Leu Cys Arg ...

3 Nucleotidi rimossi

ATG CTC TGT GCC GCC ...
Met Leu Cys Ala Ala ...

} Risultano in proteine non funzionali (mutazione "frame shift")

} Risulta solo nella delezione di un amminacido (ma la proteina può essere ancora funzionale)

Figura 3.2 Le mutazioni *frame-shift* (alterata fase di lettura) dimostrano che il codice è letto a triplette da un punto di inizio prestabilito. Inserzioni o delezioni che alterano la fase di lettura hanno come conseguenza una proteina completamente alterata, mentre doppi o tripli mutanti che ripristinano a valle la fase di lettura generano proteine con una regione mutata, ma con la maggior parte della proteina WT.

IL CODICE GENETICO

		Seconda posizione				
		U	C	A	G	
Prima posizione (estremità 5')	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU UCC Ser UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* Stop UAG* Stop	UUU Cys UUC UGA* Stop UUG Trp	U C A G
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CUC CUA Gln CUG	CUU Arg CUC CUA CUG	U C A G
	A	AUU Ile AUC AUA AUG° Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GAA GGG	U C A G

Figura 3.9 Rappresentazione del codice genetico universale usato dalla maggior parte degli organismi viventi. È evidente la degenerazione per cui un amminoacido è codificato da più di un codone.

IL CODICE – codon usage

		Seconda posizione				
		U	C	A	G	
Prima posizione (estremità 5')	U	UUU Phe (GAA) ^o UUC UUA Leu (UAA) UUG	UCU UCC Ser (UGA) UCA UCG	UAU Tyr (GUA) UAC UAA* Stop UAG* Stop	UUU Cys (GCA) UUC UGA UUG Trp (UCA)	U C A G
	C	CUU CUC Leu (UAG) CUA CUG	CCU CCC Pro (UGG) CCA CCG	CAU His (GUG) CUC CUA Gln (UUG) CUG	CUU CUC Arg (UCG) CUA CUG	U C A G
	A	AUU Ile (GAU) AUC AUA Met (CAU) ^o AUG	ACU ACC Thr (UGU) ACA ACG	AAU Asn (GUU) AAC AAA Lys (UUU) AAG	AGU Ser (GCU) AGC AGA Stop AGG Stop	U C A G
	G	GUU GUC Val (UAC) GUA GUG	GCU GCC Ala (UGC) GCA GCG	GAU Asp (GUC) GAC GAA Glu (UUC) GAG	GGU GGC Gly (UCC) GAA GGG	U C A G

Figura 3.12 Codice genetico e variazioni nel codice dei mitocondri. In verde sono evidenziate le differenze tra il codice mitocondriale e il codice "universale". La colorazione in grigio rappresenta i gruppi di codoni che sono riconosciuti da un singolo tRNA. Tra parentesi è indicato il relativo anticodone. Si noti che ci sono quattro codoni di stop.

Evoluzione del codice genetico

Figura 3.13 **Evoluzione del codice genetico.** Il codice genetico si è evoluto per rendere massima l'efficienza della traduzione e per minimizzare gli effetti delle mutazioni: le transizioni (più frequenti) in tutte e tre le posizioni del codone producono cambiamenti meno drastici delle trasversioni (meno frequenti).

