



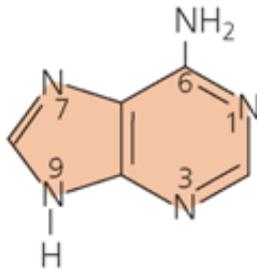
Nucleotidi

Acidi nucleici

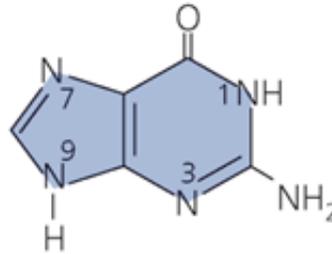
Componenti

Basi

Purine

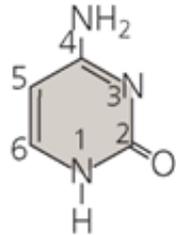


Adenina (A)

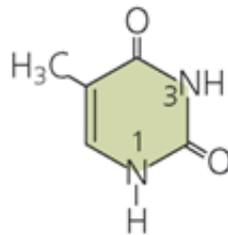


Guanina (G)

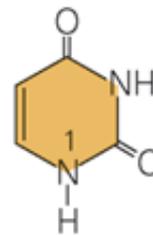
Pyrimidine



Citosina (C)

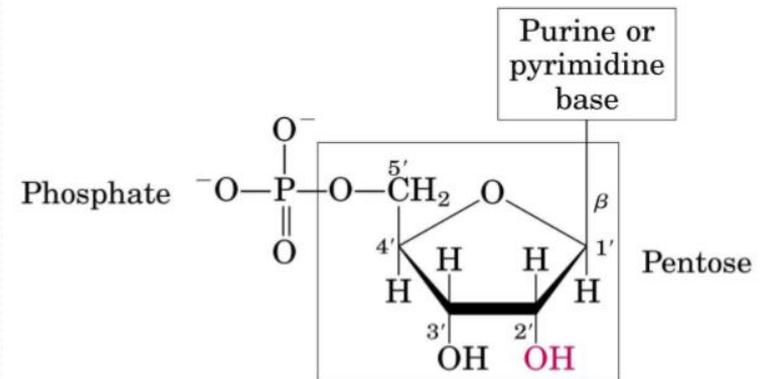


Timina (T)
(DNA)

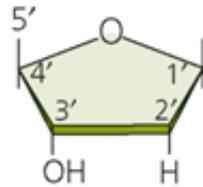


Uracile (U)
(RNA)

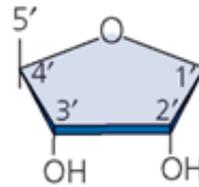
Costituenti dei nucleotidi
=
base + zucchero + fosfato



Zuccheri

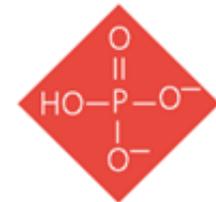


2'-deossiribosio
(DNA)

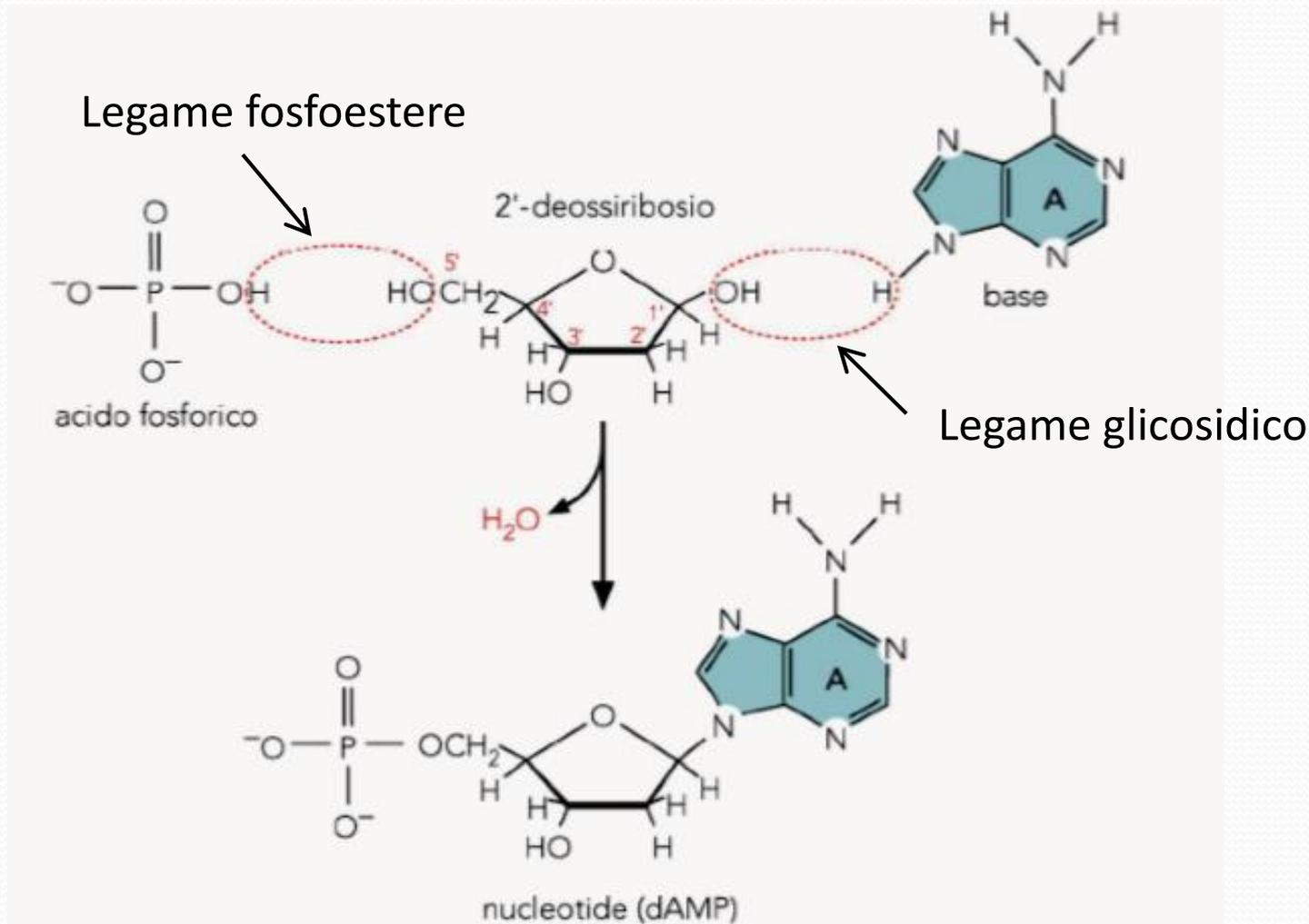


Ribosio
(RNA)

Fosfato



Nucleotidi



Nucleosidi e Nucleotidi

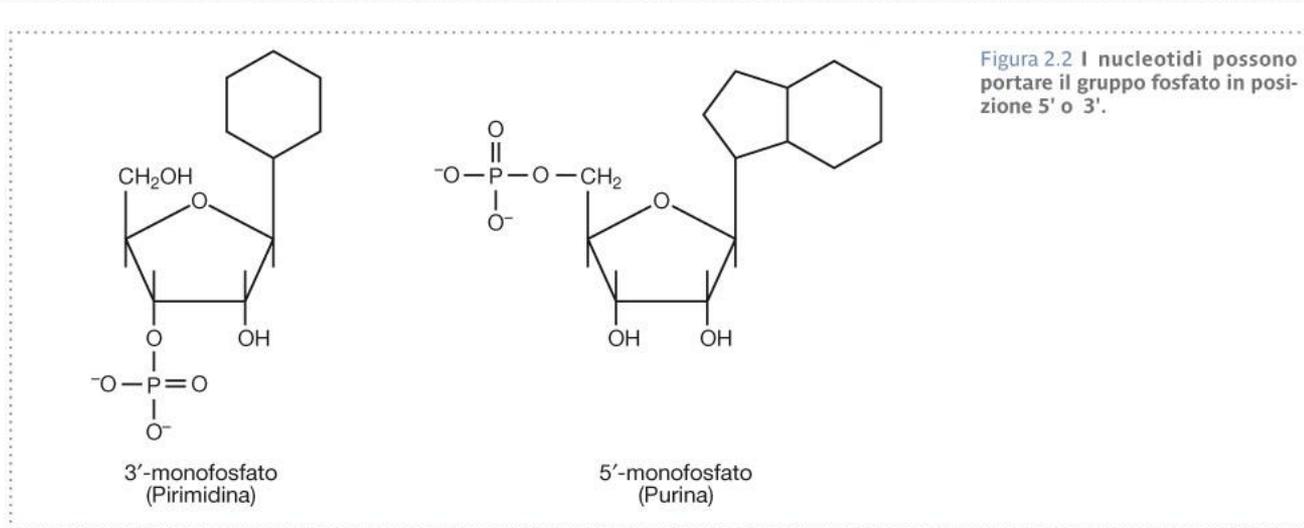


Figura 2.2 I nucleotidi possono portare il gruppo fosfato in posizione 5' o 3'.

Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani **Biologia Molecolare** Copyright 2011 CEA Casa Editrice Ambrosiana

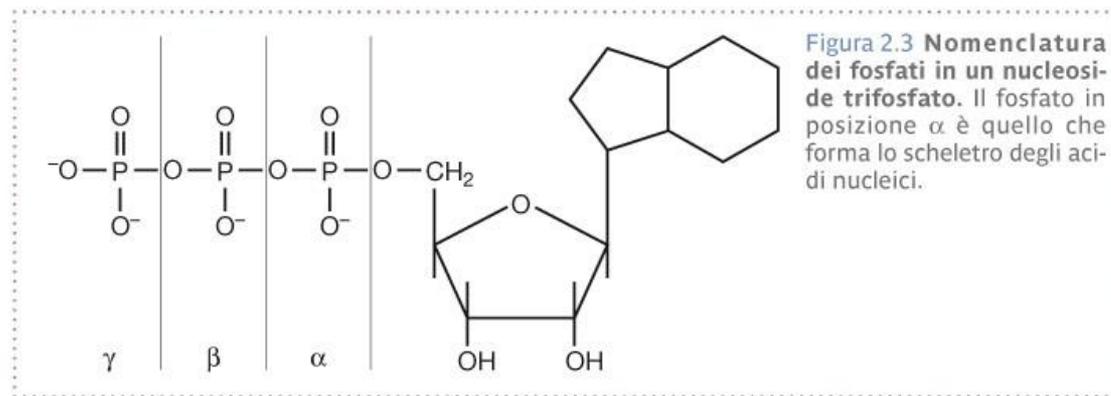


Figura 2.3 Nomenclatura dei fosfati in un nucleoside trifosfato. Il fosfato in posizione α è quello che forma lo scheletro degli acidi nucleici.

Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani **Biologia Molecolare** Copyright 2011 CEA Casa Editrice Ambrosiana

Desossiribonucleotidi e Ribonucleotidi

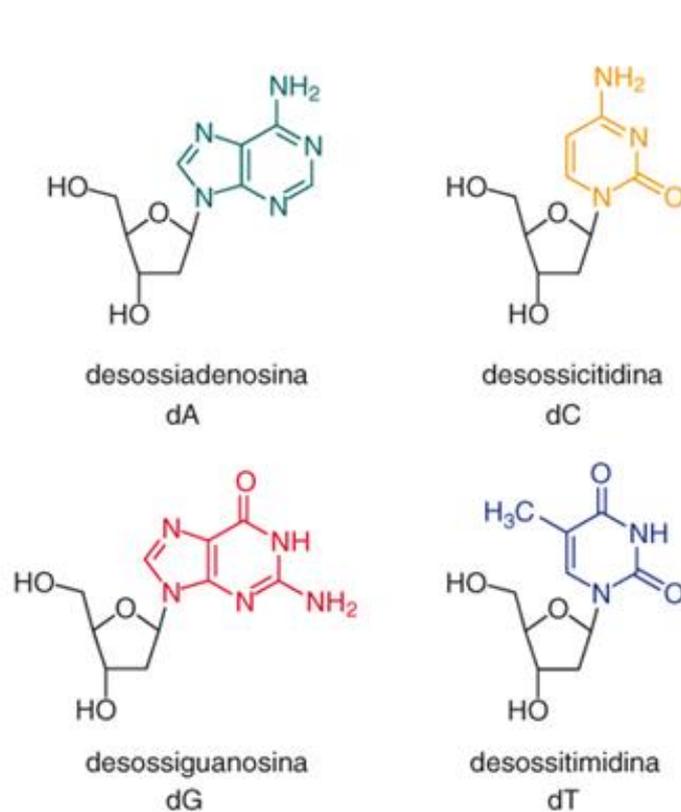


Figura 2.4 Struttura dei desossiribonucleosidi. La presenza del 2-desossiribosio è indicata da una "d" che precede la notazione a una lettera. Nota che il termine timidina (T) spesso è utilizzato indifferentemente al posto di desossitimidina (dT).

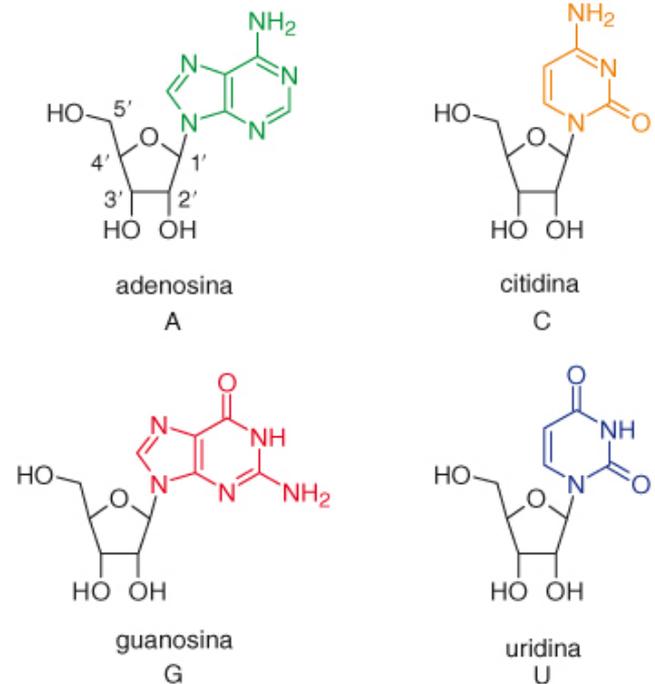


Figura 2.3 Struttura dei ribonucleosidi. Sono mostrate le abbreviazioni a una lettera di ciascun composto. Le stesse abbreviazioni sono utilizzate anche per indicare le relative basi e i corrispondenti nucleotidi nonché, in certi casi, i desossiribonucleosidi.

Ruolo biologico dei nucleotidi

Ruolo energetico

Partecipazione a reazioni enzimatiche
(reazioni accoppiate)

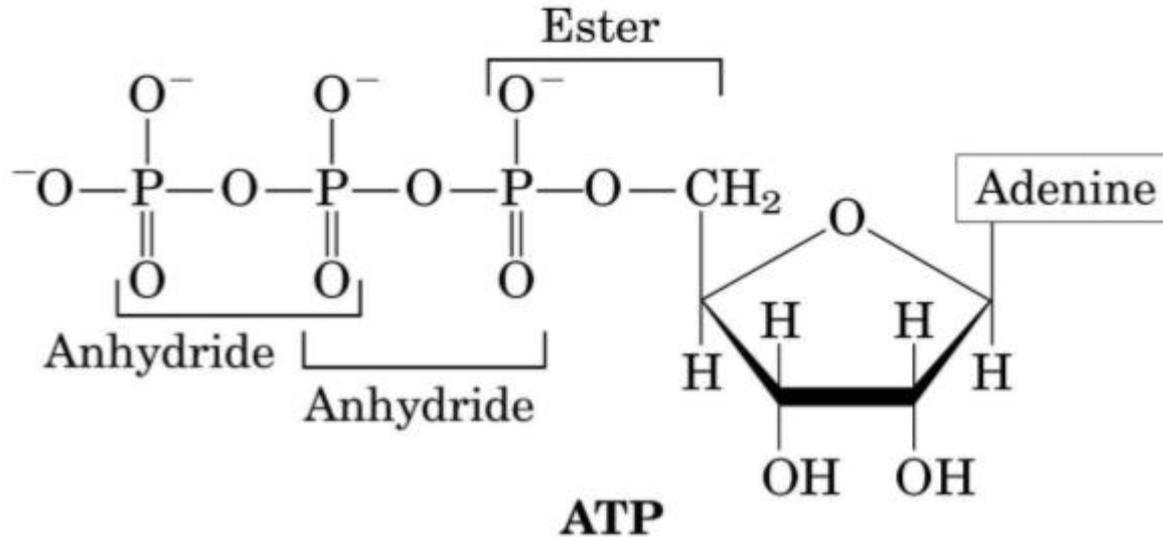
Componenti di cofattori enzimatici

Molecole segnale
(secondi messaggeri, molecole regolatrici)

Componenti base degli acidi nucleici

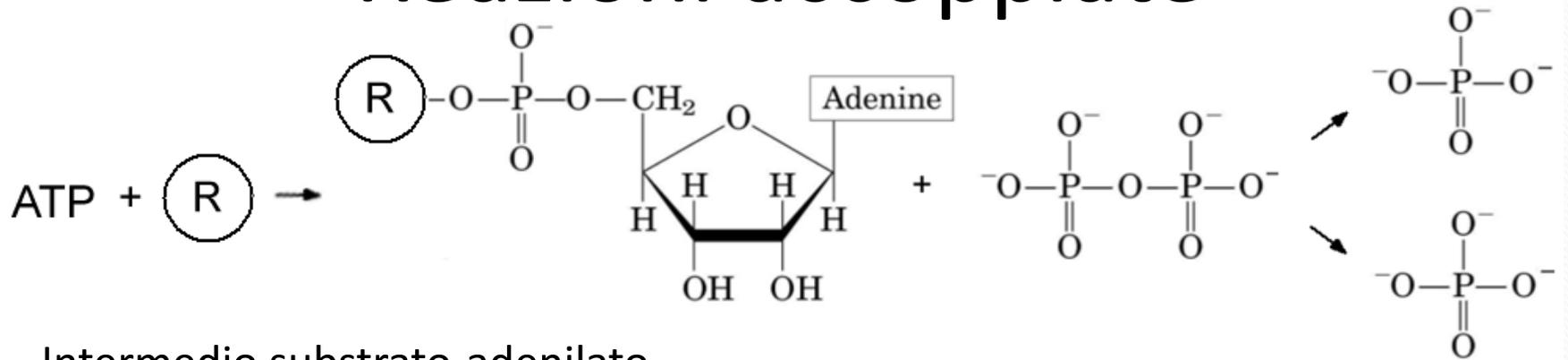
Ruolo Energetico

I legami *fosfoestere* e *fosfoanidridici* nell'ATP



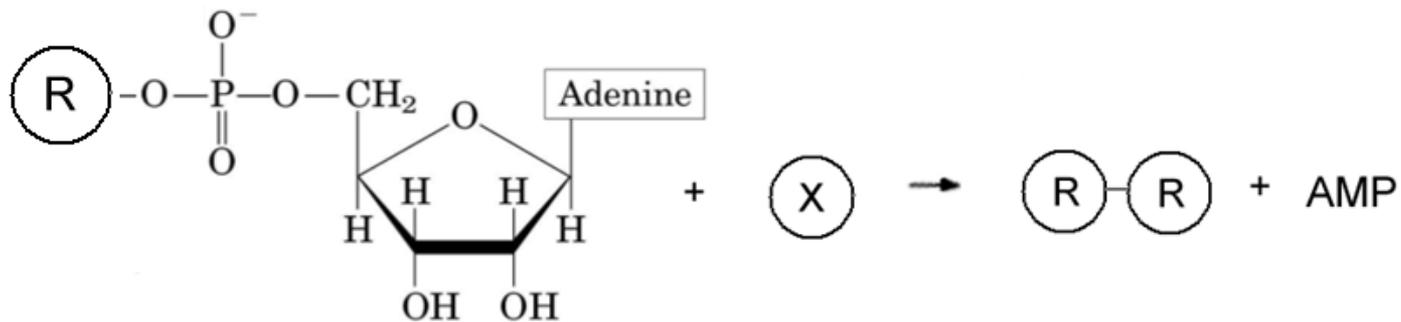
I legami fosfoanidridici conservano un considerevole quantitativo di energia libera

Reazioni accoppiate



Intermedio substrato-adenilato

(usato in molte reazioni metaboliche accoppiate all'idrolisi di ATP)



Intermedi:

Aminoacido-AMP

Glucosio-UDP

Glucosio-ADP

Diacilglicerolo-CDP

sintesi proteica

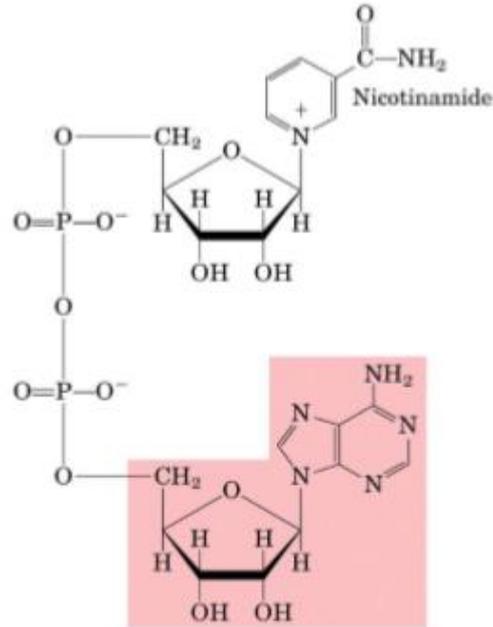
sintesi glicogeno

sintesi cellulosa

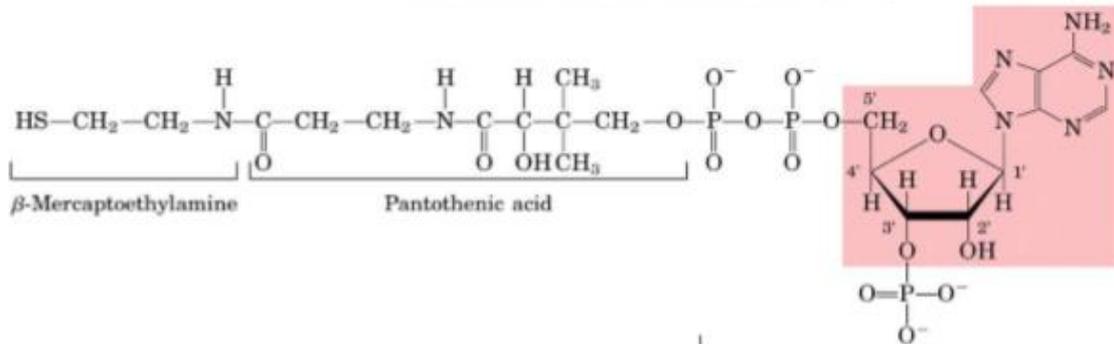
sintesi fosfolipidi

Componenti di alcuni coenzimi

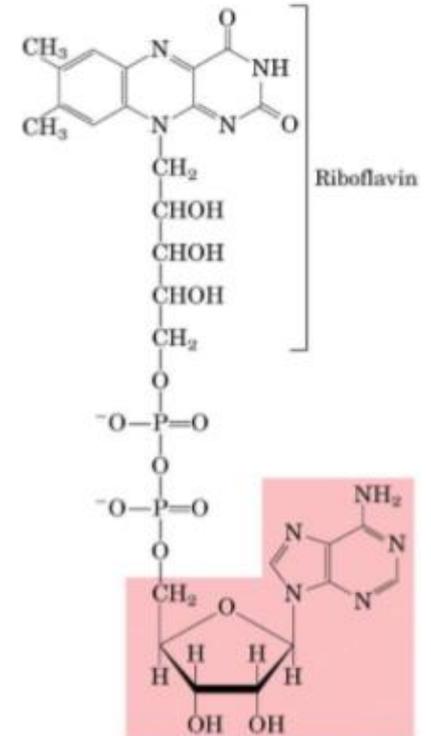
Molti coenzimi contengono una porzione nucleotidica



Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)

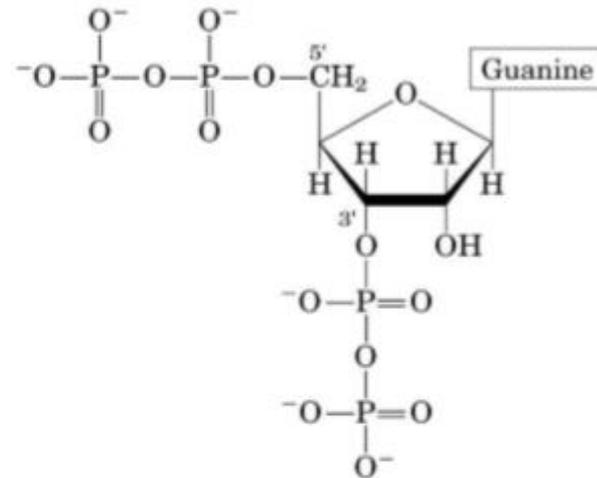
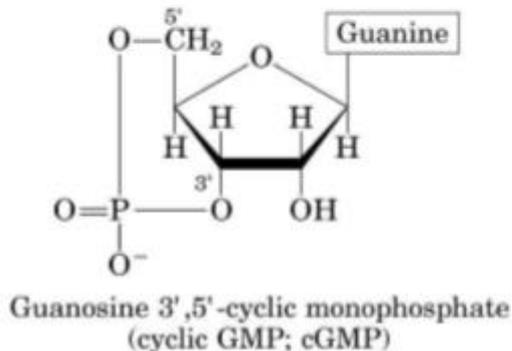
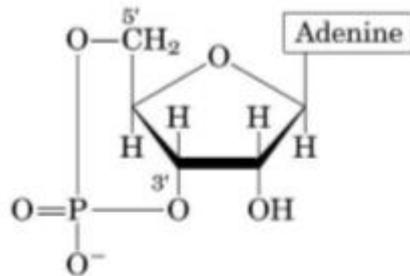


Coenzyme A



Flavin adenine dinucleotide (FAD)

Nucleotidi secondi messaggeri

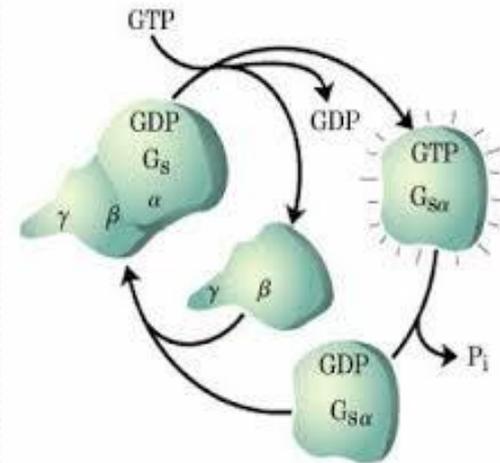


I secondi messaggeri sono molecole segnale prodotte in risposta a determinati stimoli e in grado di attivare vie specifiche

Nucleotidi molecole segnale

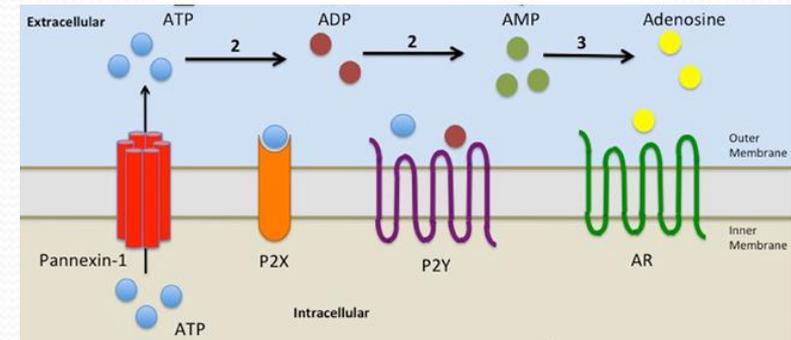
Proteine G

Legano il GTP e lo idrolizzano a GDP
-> cambio conformazionale
trasduzione segnali cellulari

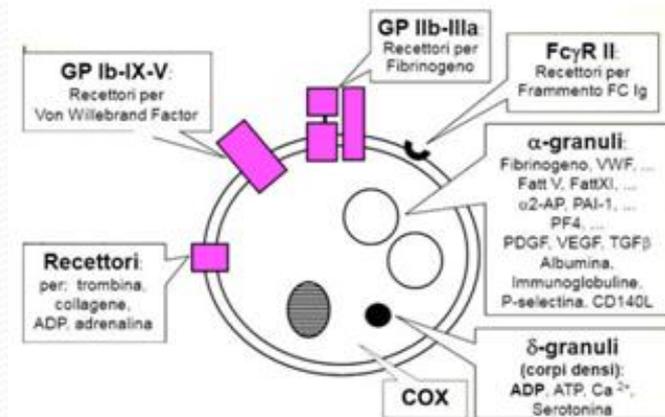


Recettori per nucleotidi purinici

Recettori per ATP e adenosina
-> ruolo come neuromodulatori



Recettori per ADP (recettori P2y)
-> controllo coagulazione





Composizione e struttura chimica del DNA

L'acido nucleico

Scoperto nel 1869 da Miescher

Trovato come un precipitato che si forma quando estratti nucleari sono stati trattati con acido.

Composto da C, N, O, e un alto contenuto di P

Comunemente presente nei nuclei cellulari da cui il nome acido nucleico

The laboratory located in the vaults of an old castle where Miescher isolated nuclein (1879)



Friedrich Miescher
(1844-1895)



Il DNA e l'informazione genetica

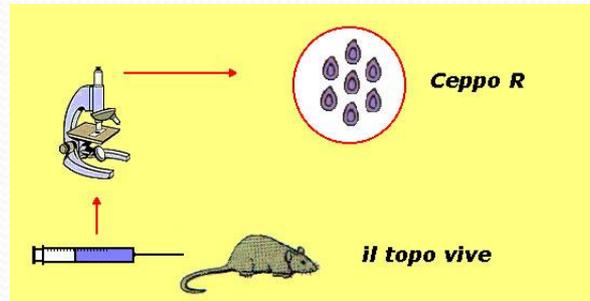
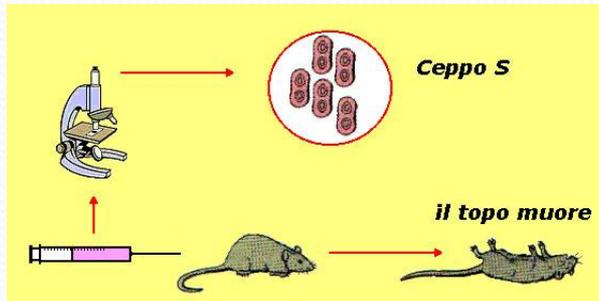
1944 Avery, MacLeod e McCarty identificano il DNA come molecola trasportatrice dell'informazione genetica

1953 Watson e Crick propongono la struttura del DNA

1958 Crick propone il dogma centrale della biologia

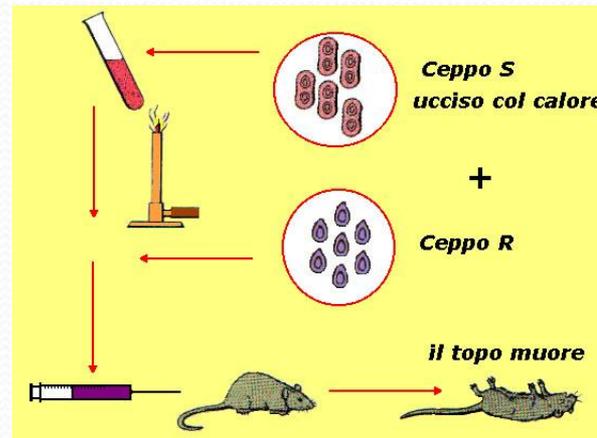
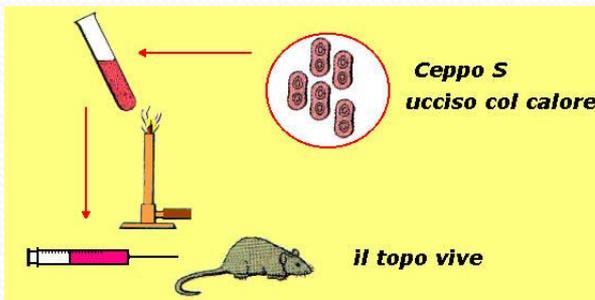
1990 Inizia lo Human Genome Project (Celera Genomics)

L'ipotesi di Avery



Pneumococchi:
Ceppo S
Letale
Ceppo R
Non letale

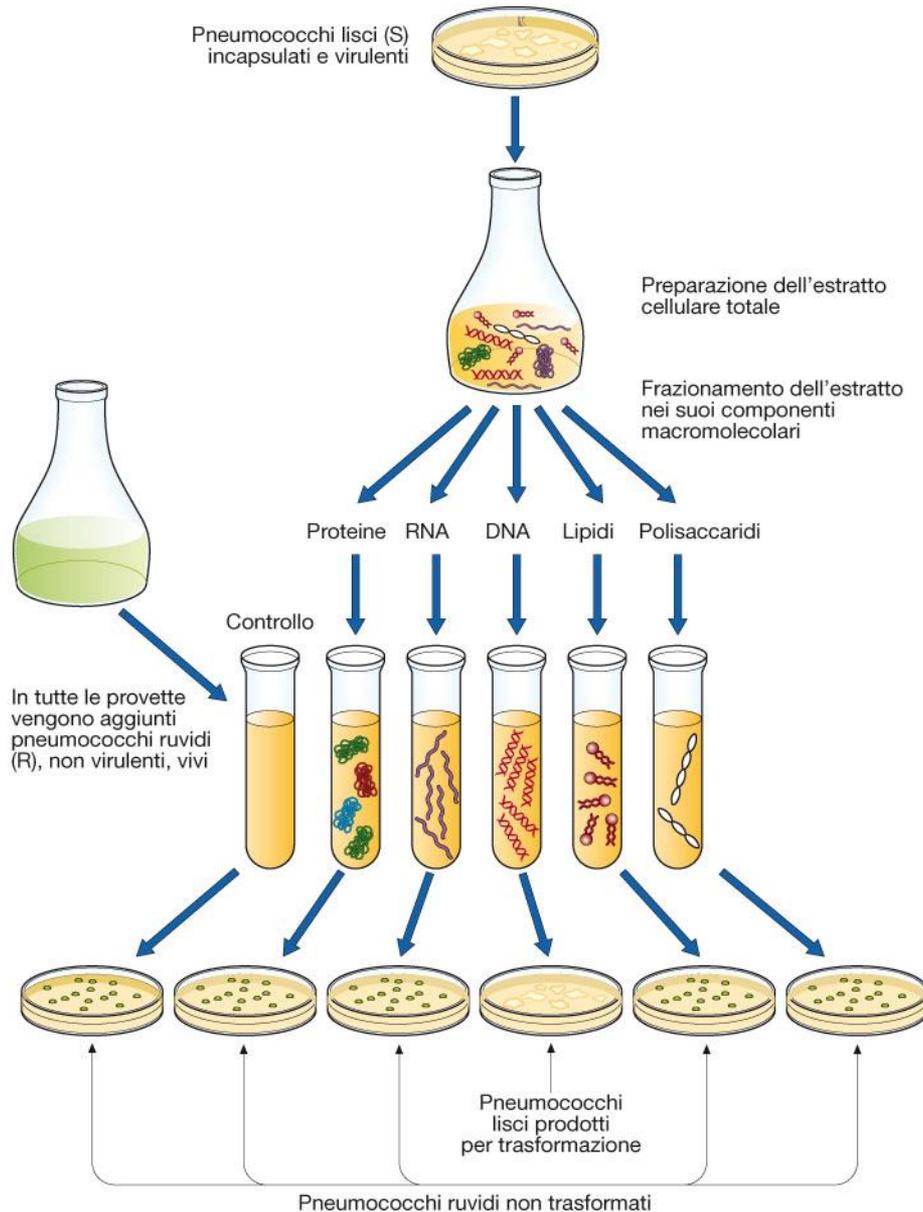
- Un principio "trasformante" converte il ceppo R in S



1930, Oswald Avery at work in the laboratory

Figura 1.10 La "bomba di Avery".

Avery e colleghi, a partire dai Pneumococchi lisci e virulenti, fecero un estratto cellulare che era in grado di trasformare il ceppo ruvido. In seguito purificarono tutte le componenti dell'estratto, che divisero in tubi diversi. Solo il DNA era in grado di trasformare il ceppo di Pneumococco ruvido nel ceppo liscio e patogeno, dimostrando che solo il DNA era il principio trasformante.



Frazionando il materiale cellulare dei ceppi S è stato possibile individuare quale componente fosse in grado di trasformare i ceppi R in S

DNA = Il principio trasformante



La struttura del DNA

Regole di Chargaff

- 1 La composizione in basi del DNA varia da una specie all'altra
- 2 Le molecole di DNA isolate da tessuti diversi hanno la stessa composizione in basi
- 3 La composizione del DNA non si modifica con l'età e lo stato nutrizionale
- 4 In tutte le molecole di DNA la somma dei residui purinici è uguale alla somma dei residui pirimidinici ($A+G = T+C$)



Erwin Chargaff 1940
Per primo misurò accuratamente la percentuale dei quattro nucleotidi nel DNA

Tabella 2.2 Composizione in basi del DNA di varie specie.

FONTE	A	G	C	T	A/T	G/C	G+C	Py/Pu
<i>Escherichia coli</i>	26,0	24,9	25,2	23,9	1,08	0,99	50,1	1,04
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	15,1	34,9	35,4	14,6	1,03	0,99	70,3	1,00
Lievito	31,7	18,3	17,4	32,6	0,97	1,05	35,7	1,00
Bue	29,0	21,2	21,2	28,7	1,01	1,00	42,4	1,01
Maiale	29,8	20,7	20,7	29,1	0,92	1,00	41,4	1,01
Uomo	30,4	19,9	19,9	30,1	1,01	1,00	39,8	1,01

Maurice Wilkins
(1916 - 2004)

Linus Pauling
(1901 - 1994)



Francis Crick
(1916 - 2004)

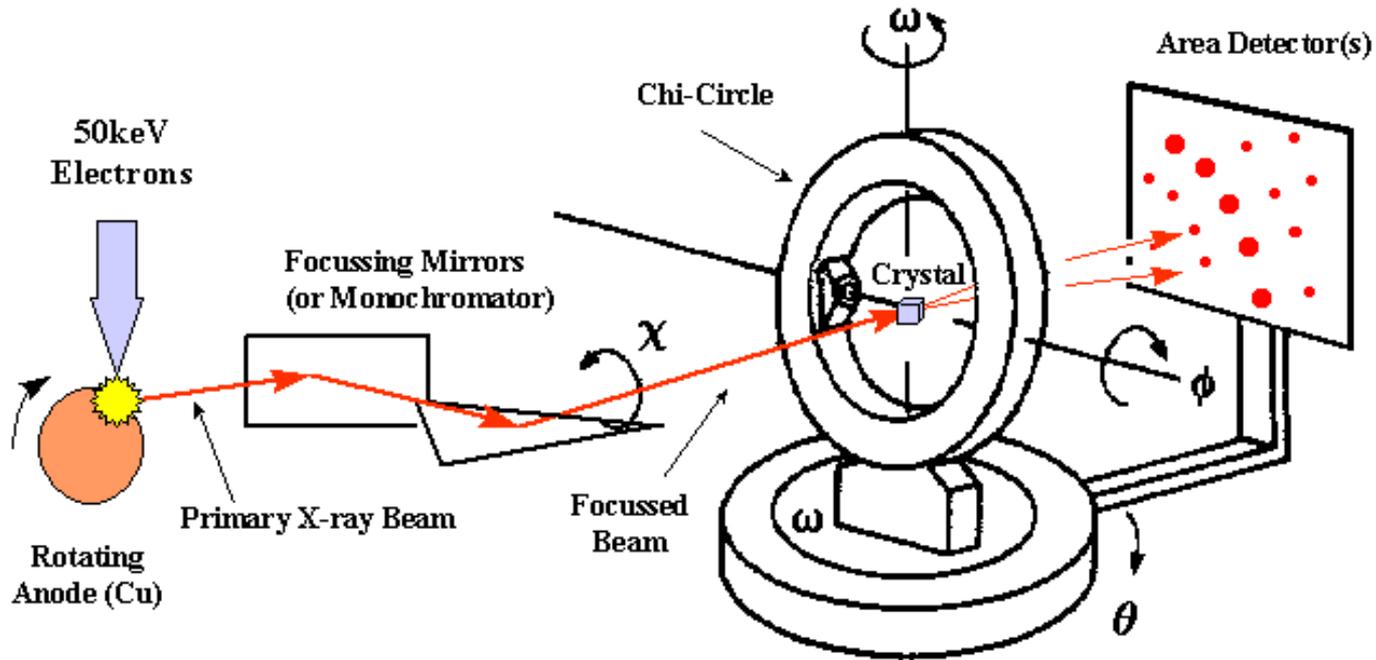
James Watson
(1928 -)



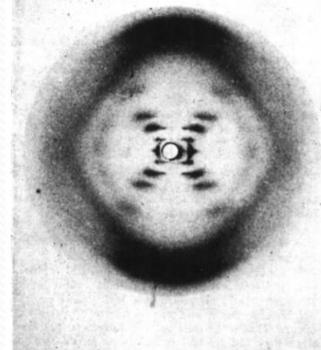
Rosalind Franklin
(1920 - 1958)



Diffrazione dei raggi X di fibre di DNA

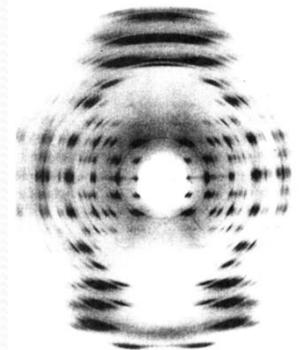


configurazione B



Franklin R.E. & Gosling R., 1953

configurazione A



Wilkins M.H.F., 1956

La catena polinucleotidica

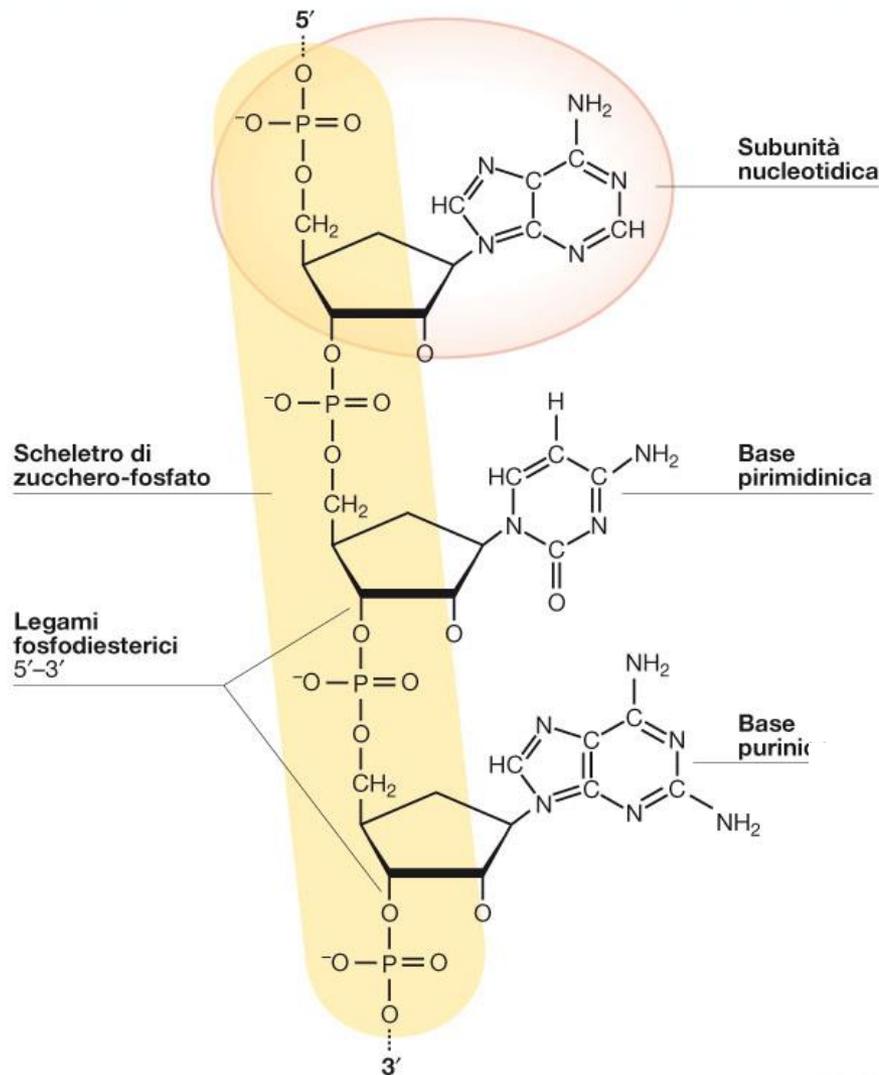
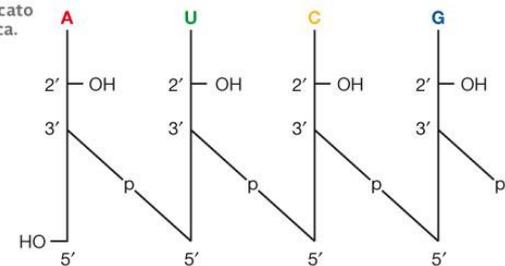


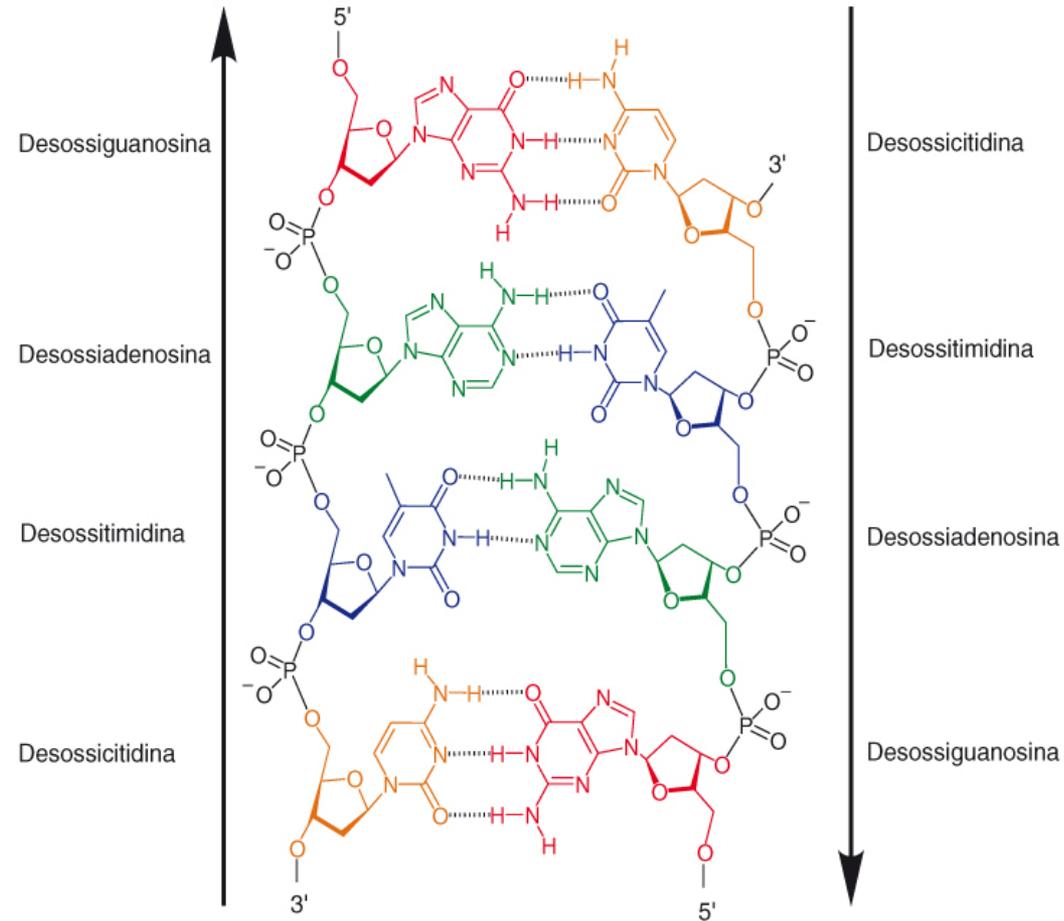
Figura 2.5 Una catena polinucleotidica ha una struttura ripetitiva. Essa consiste di una serie di legami 5'-3' zucchero-fosfato che formano un'impalcatura dalla quale protrudono le basi.

Figura 2.6 Schema semplificato di una catena polinucleotidica.



Il DNA è costituito da due catene poli-nucleotidiche

Figura 2.15 Formazione di legami a idrogeno tra basi complementari in un tratto di DNA a doppia elica. L'interazione tra filamenti polinucleotidici è altamente specifica. La complementarità dipende non solo da fattori geometrici che permettono il corretto incastro tra le basi complementari dei due filamenti, ma anche dalla formazione di specifici legami a idrogeno tra basi complementari. Nota l'orientamento antiparallelo dei due filamenti di un DNA a doppia elica. La geometria delle eliche non impedirebbe un allineamento parallelo, ma tale disposizione non si trova nel DNA.



Il lavoro di Watson e Crick (Nature 1953)

Nature, Vol. 171, p.737, April 25, 1953

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey (1). They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining β -D-deoxyribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furberg's model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furberg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There is a residue on each every 3.4 Å in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent



This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis.

residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-coordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6. If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond

together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally (3,4) that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact. The previously published X-ray data (5,6) on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

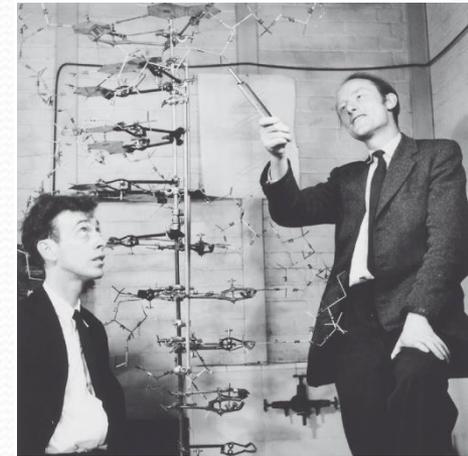
Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at King's College, London. One of us (J. D. W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

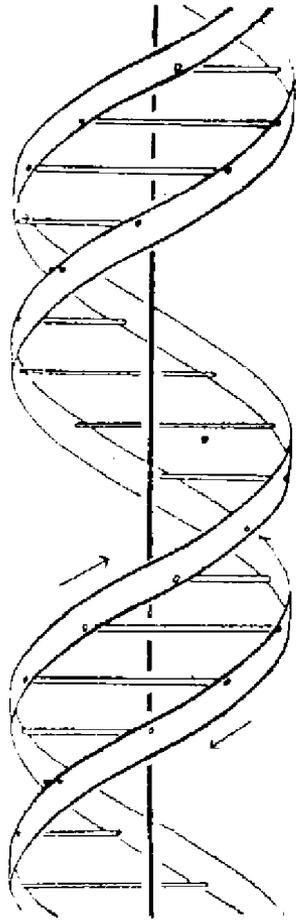
Medical Research Council Unit for the Study of Molecular Structure of Biological Systems, Cavendish Laboratory, Cambridge.

1. Pauling L., and Corey, R. B., Nature, 171, 346 (1953); Proc. U.S. Nat. Acad. Sci., 39, 84 (1953).
2. Furberg S., Acta Chem. Scand., 6, 634 (1952).
3. Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Brawerman, G., and Chargaff, E., Biochim. et Biophys. Acta, 9, 402 (1952).
4. Wyatt, G. R. J. Gen. Physiol., 36, 201 (1952).
5. Astbury, W. T., Symp. Soc. Exp. Biol. 1, Nucleic Acid, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).
6. Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., Biochim. et Biophys. Acta, 10, 192 (1953).

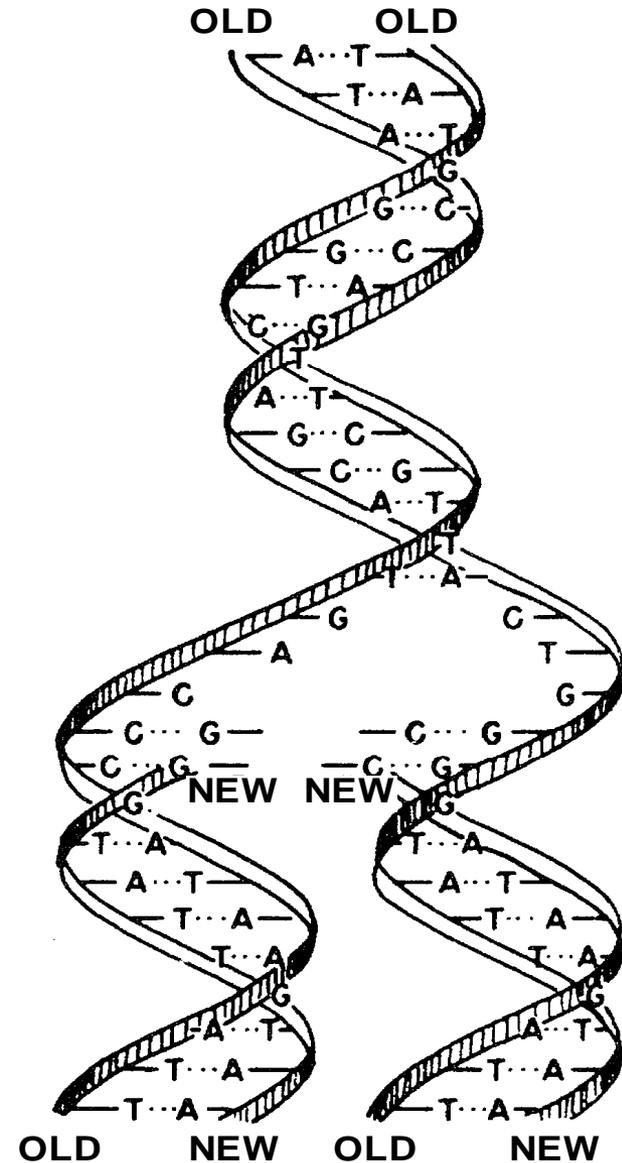


It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Il modello a doppia elica di Crick e Watson suggerisce un meccanismo di replicazione



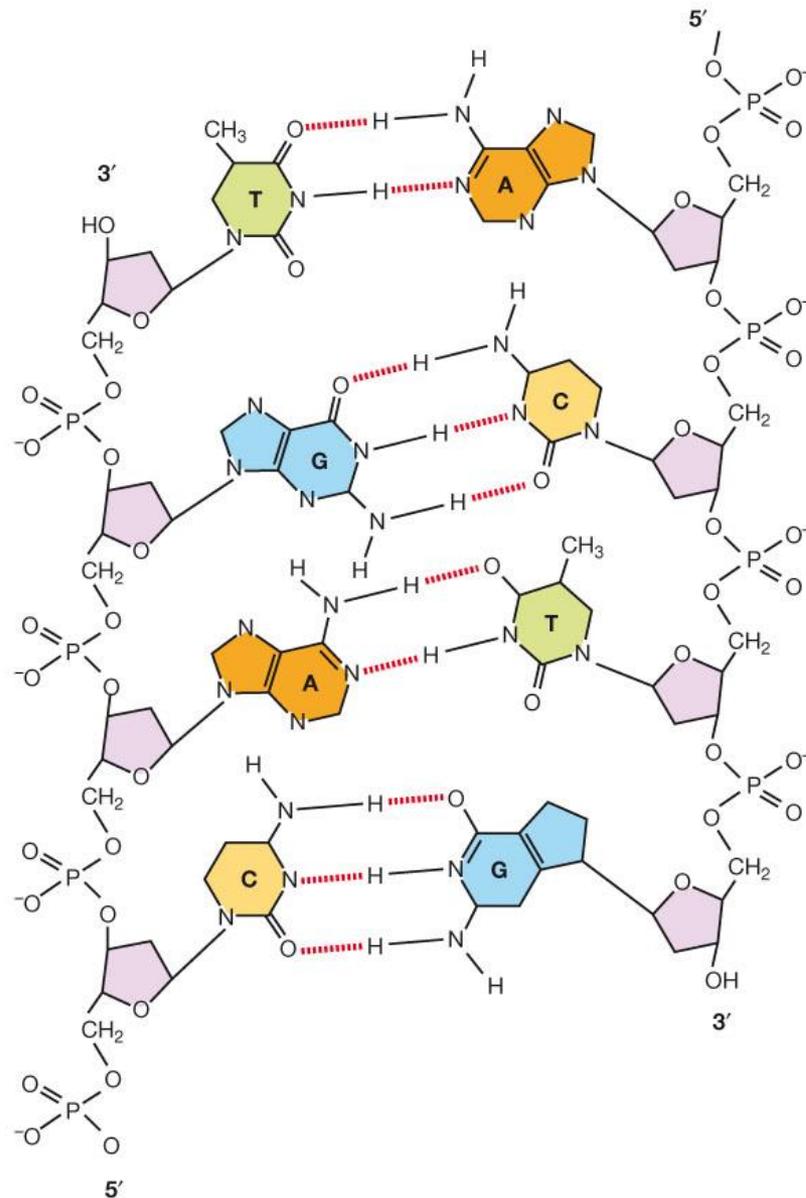
This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis





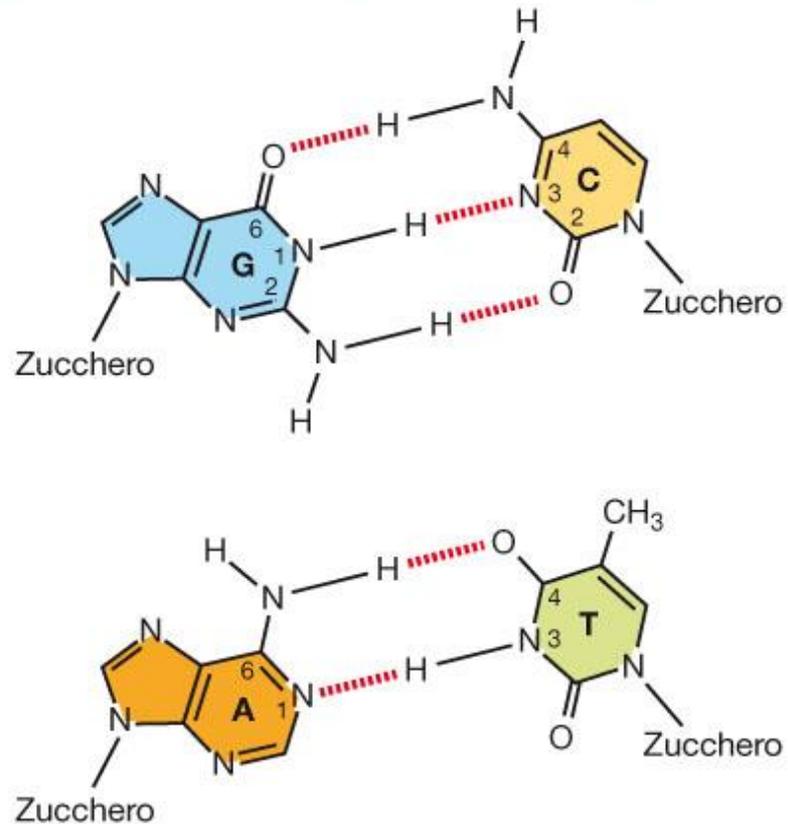
La struttura fisica del DNA

Figura 2.16 Struttura chimica della doppia elica del DNA.

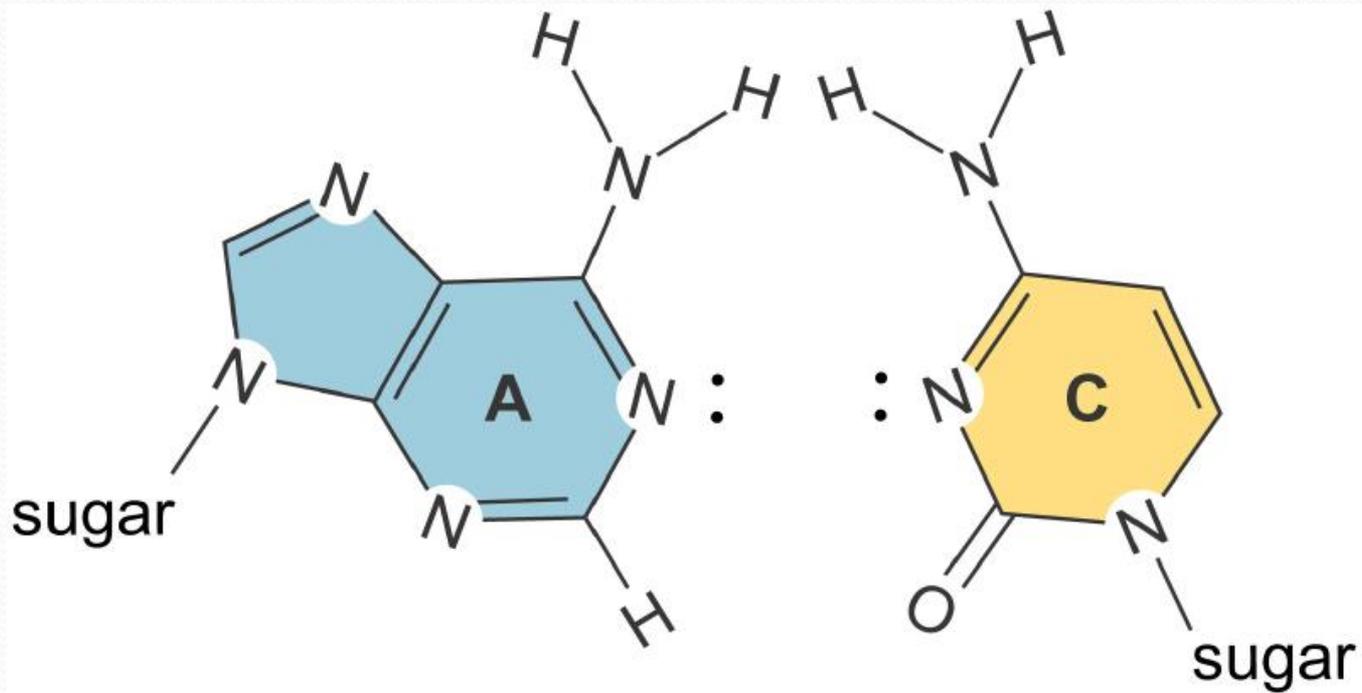


L'appaiamento delle basi implica la formazione di legami idrogeno

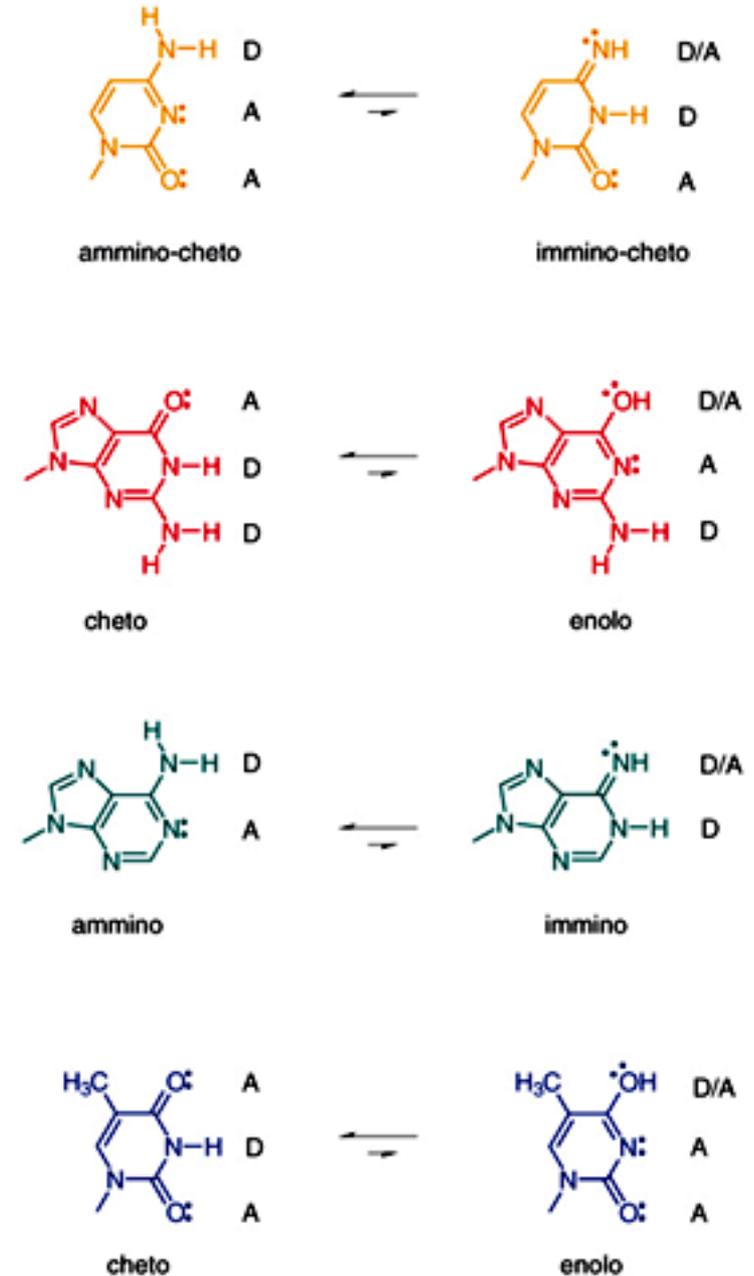
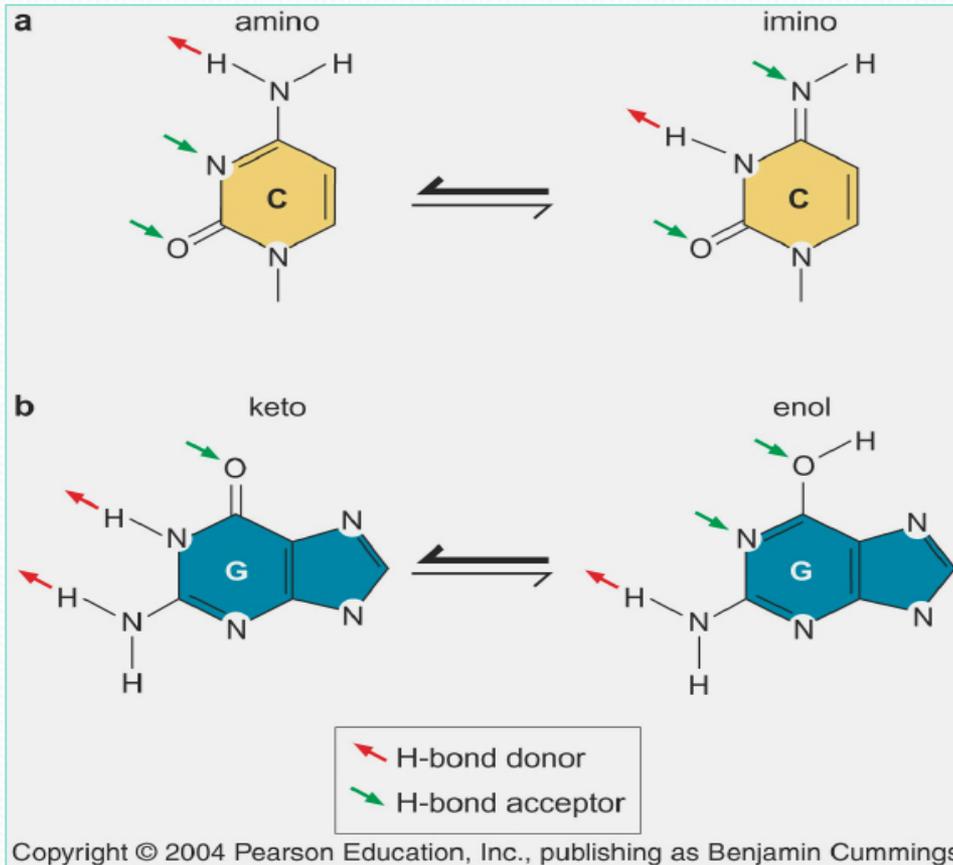
Figura 2.17 Posizione delle coppie di basi nella struttura del DNA.

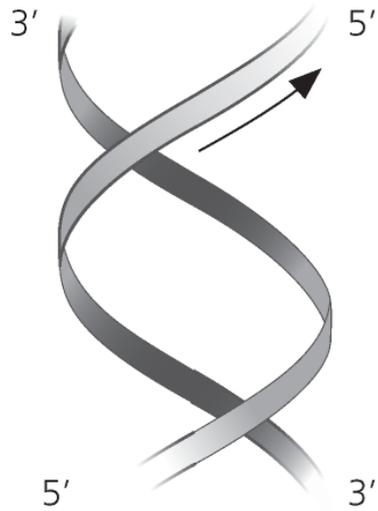


A:C incompatibility

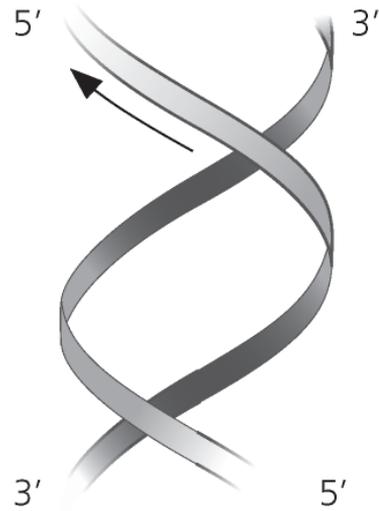


Forme tautomeriche





destrorsa



sinistrorsa



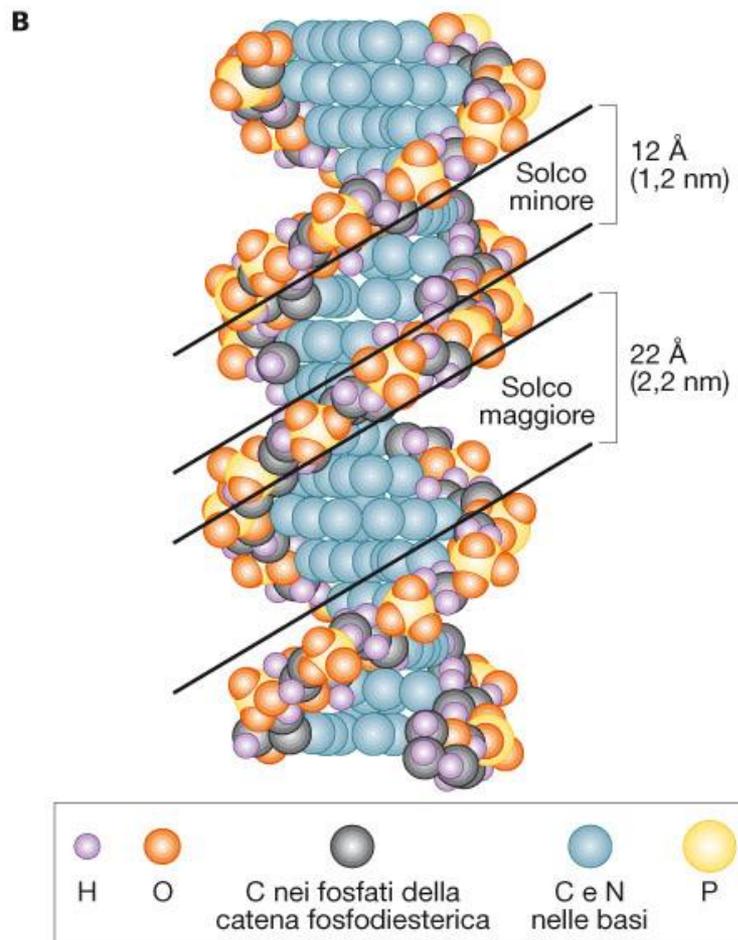
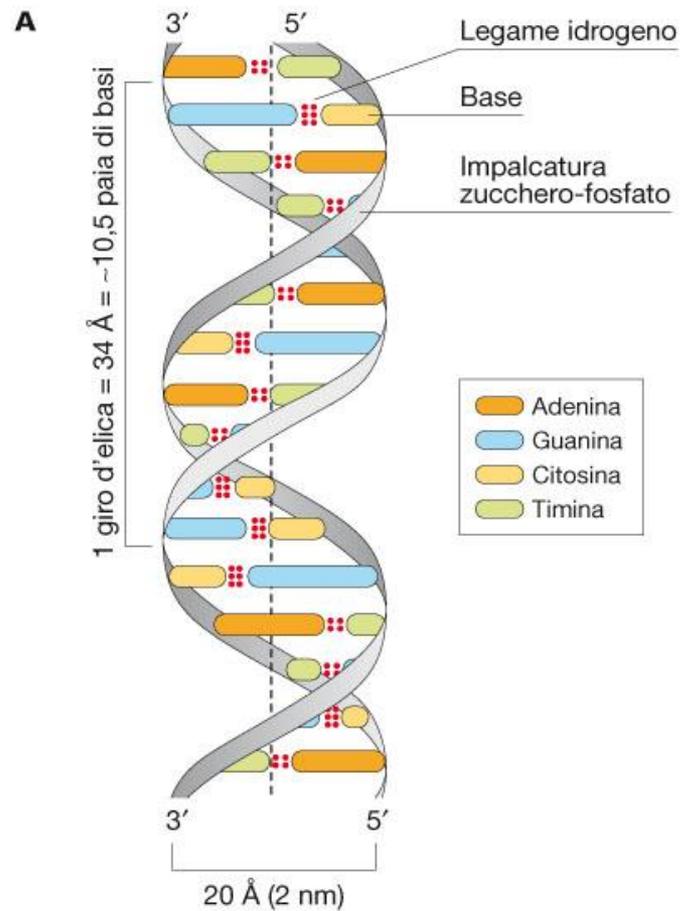


Figura 2.15 Struttura a doppia elica regolare del DNA.

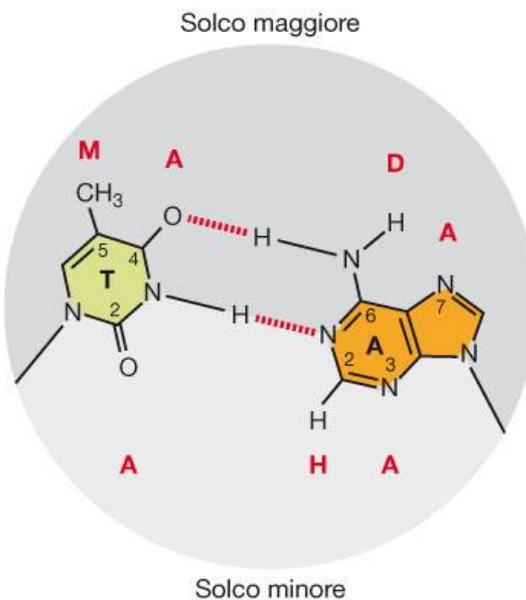
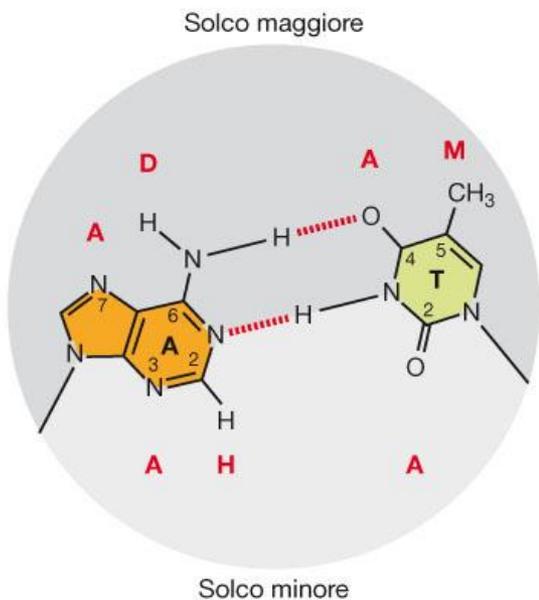
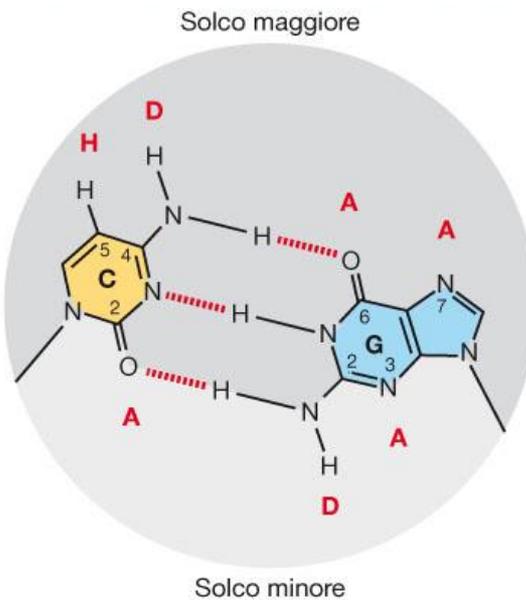
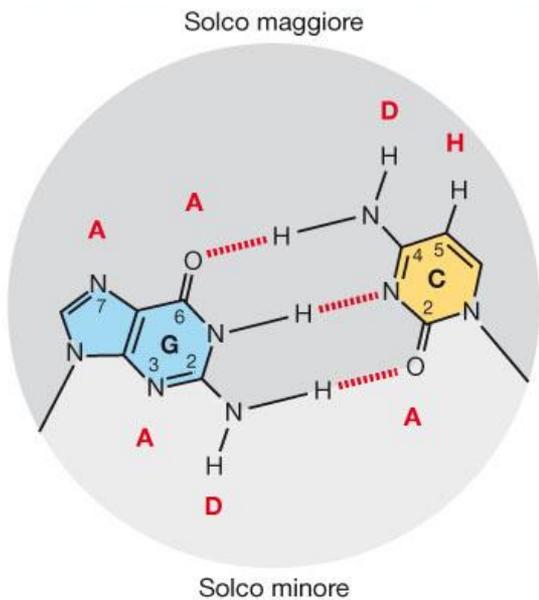


Figura 2.18 I due solchi della struttura del DNA.

A: accettore di legami idrogeno; D: donatore di legami idrogeno; H: idrogeni non polari; M: gruppi metilici. Si noti la posizione di legame delle basi con gli zuccheri, spostata rispetto all'asse centrale delle basi appaiate. Questa posizione crea un'asimmetria nella molecola generando i due solchi di dimensioni diverse.

Il solco maggiore è ricco di informazioni

Il contorno delle basi è esposto nei solchi del DNA creando, in particolare nel solco maggiore, una superficie di contatto, ricca di interazioni di van der Waal così come donatori e accettori di legami idrogeno, che permette di identificare la coppia di basi

Tabella 2.3 Energie di impilamento delle coppie di basi.

Tipo di dinucleotide (5'–3')-(3'–5')	Energia di impilamento (kcal/mole/coppia impilata)
(GC)-(GC)	–14,59
(AC)-(GT)	–10,51
(TC)-(GA)	–9,81
(GG)-(CG)	–9,69
(GG)-(CC)	–8,26
(AT)-(AT)	–6,57
(TG)-(CA)	–6,57
(AG)-(CT)	–6,78
(AA)-(TT)	–5,37
(TA)-(TA)	–3,82

Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani **Biologia Molecolare** Copyright 2011 CEA Casa Editrice Ambrosiana

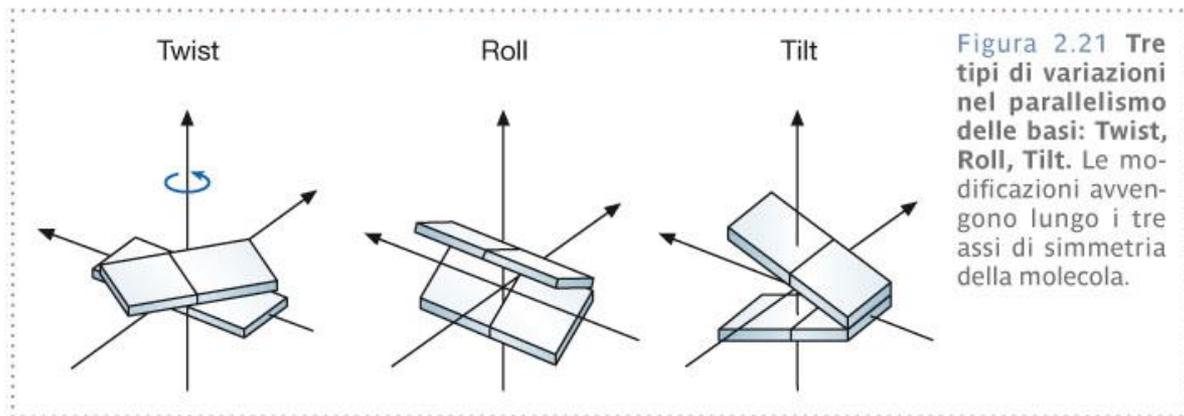


Figura 2.21 Tre tipi di variazioni nel parallelismo delle basi: Twist, Roll, Tilt. Le modificazioni avvengono lungo i tre assi di simmetria della molecola.

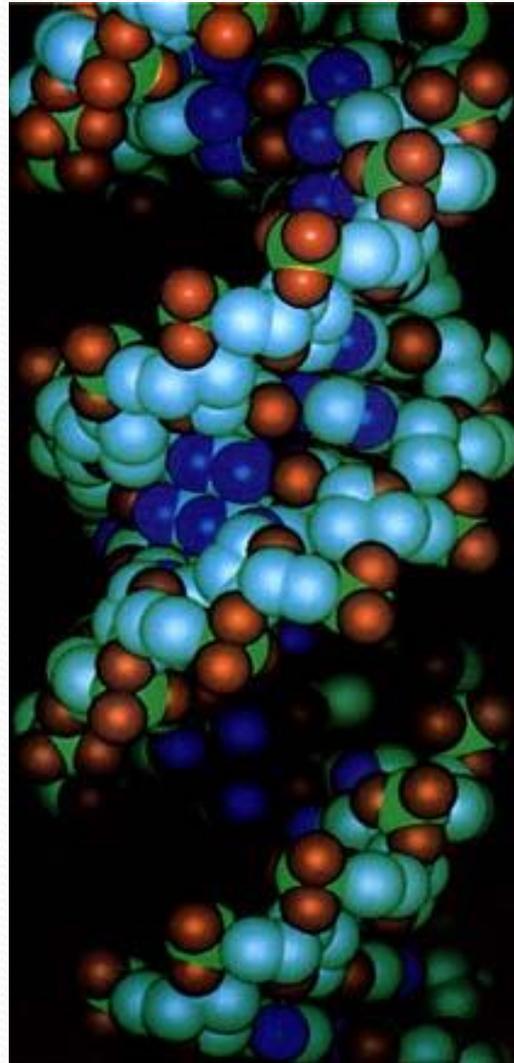
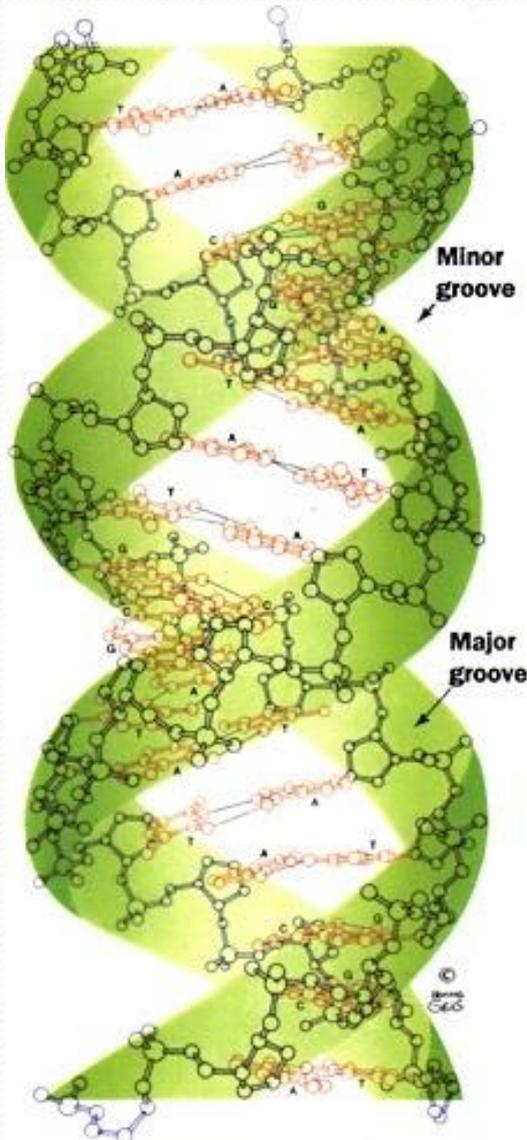
Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani **Biologia Molecolare** Copyright 2011 CEA Casa Editrice Ambrosiana

Impilamento delle basi

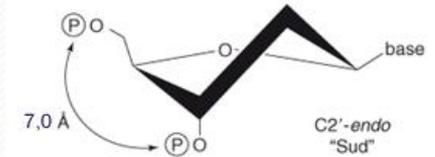
La struttura del DNA (B)

- Il DNA ha una forma ad elica regolare, diametro 20Å, passo 34Å
- Legami idrogeno tra le basi
- L'impilamento delle basi è determinato da interazioni idrofobiche
- Ogni coppia è ruotata di 36°
- Solchi maggiore (22Å) e minore (12Å)
- Avvolgimento ad elica (elica destrorsa)

DNA forma A (bassa umidità)



Forma B



Forma A

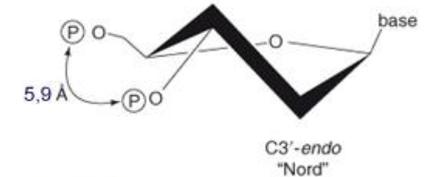
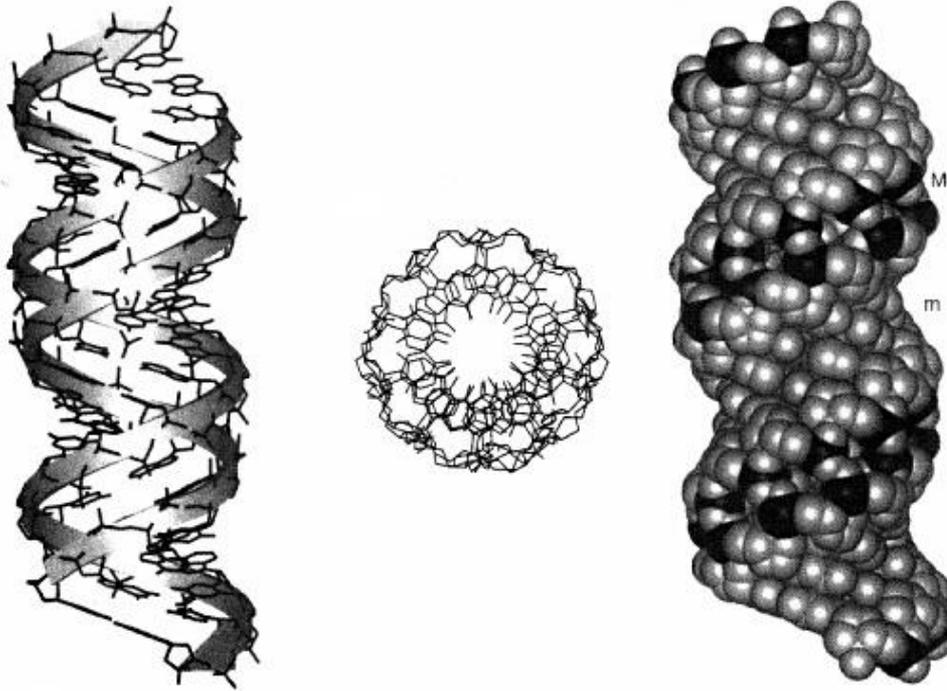
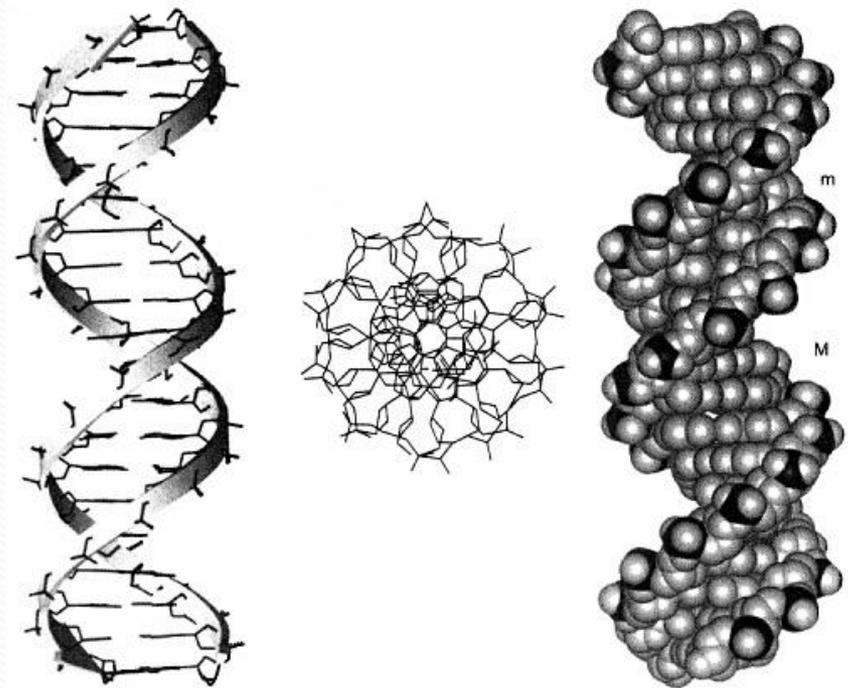


Figura 2.6 Conformazioni preferenziali degli zuccheri pentosi. Le due conformazioni mostrate producono variazioni nell'orientamento relativo della base (rispetto allo zucchero) e della distanza tra i gruppi fosfato (P) 3' e 5'. Queste differenze finiscono per modificare la conformazione complessiva del complesso della doppia elica.

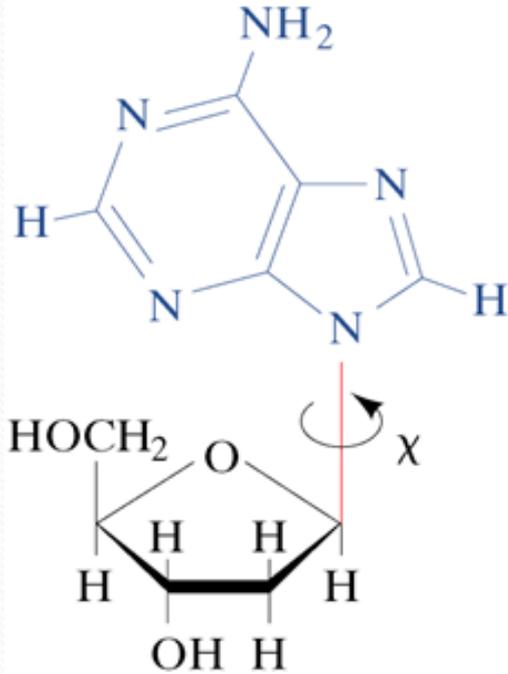
Canonical A DNA



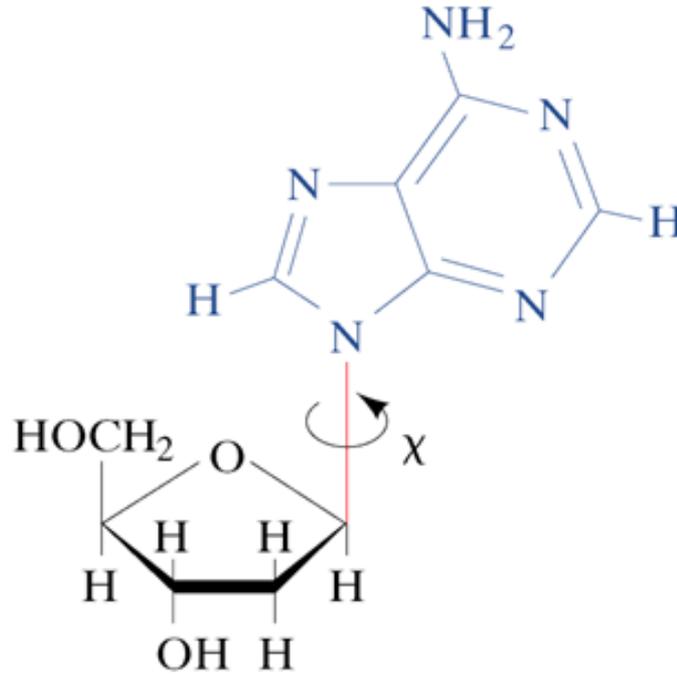
Canonical B DNA



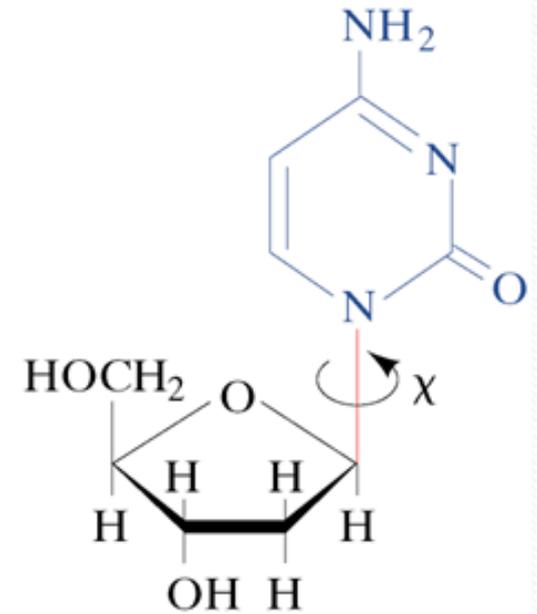
DNA forma Z



sin-Adenosina



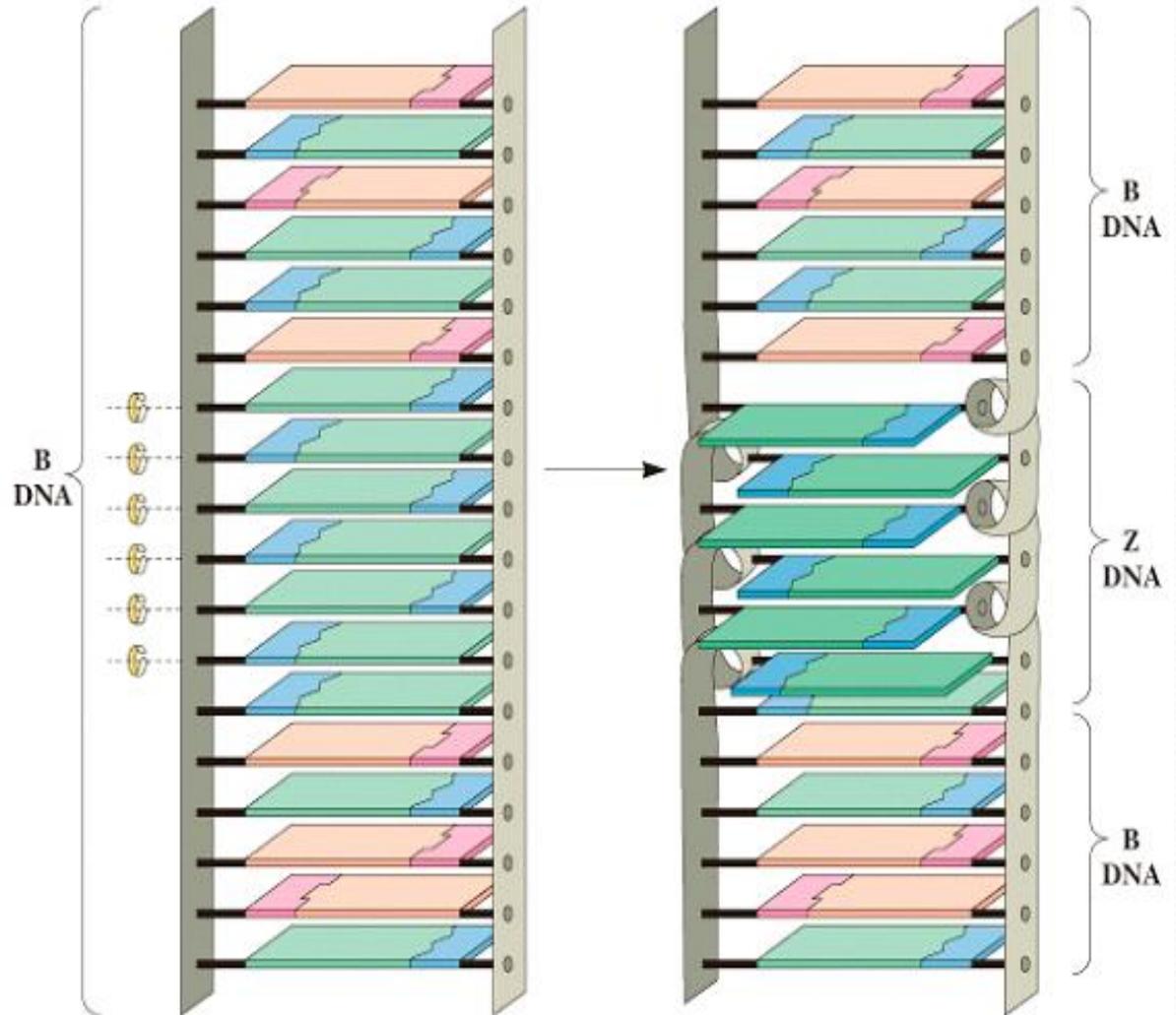
anti-Adenosina



anti-Citidina

Struttura Z del DNA

- Tipica in regioni di DNA ricche in G:C
- G in conformazione sin-
- C in conformazione anti- ma con il nucleotide ruotato di 180°



Struttura Z del DNA

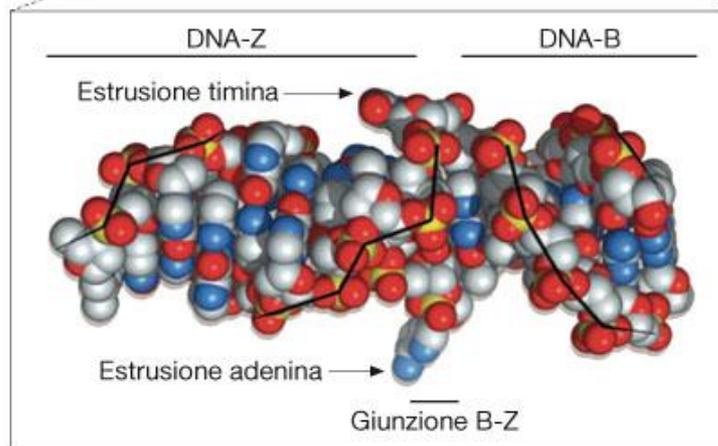
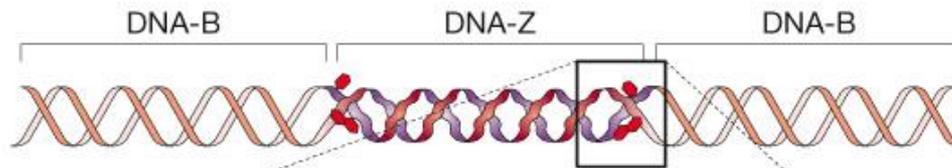
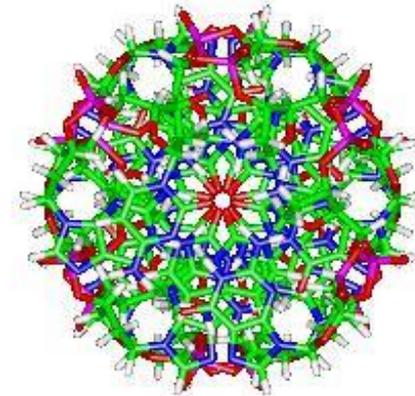
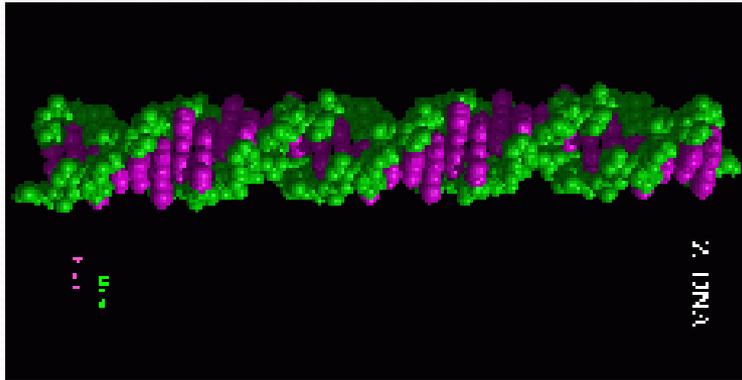
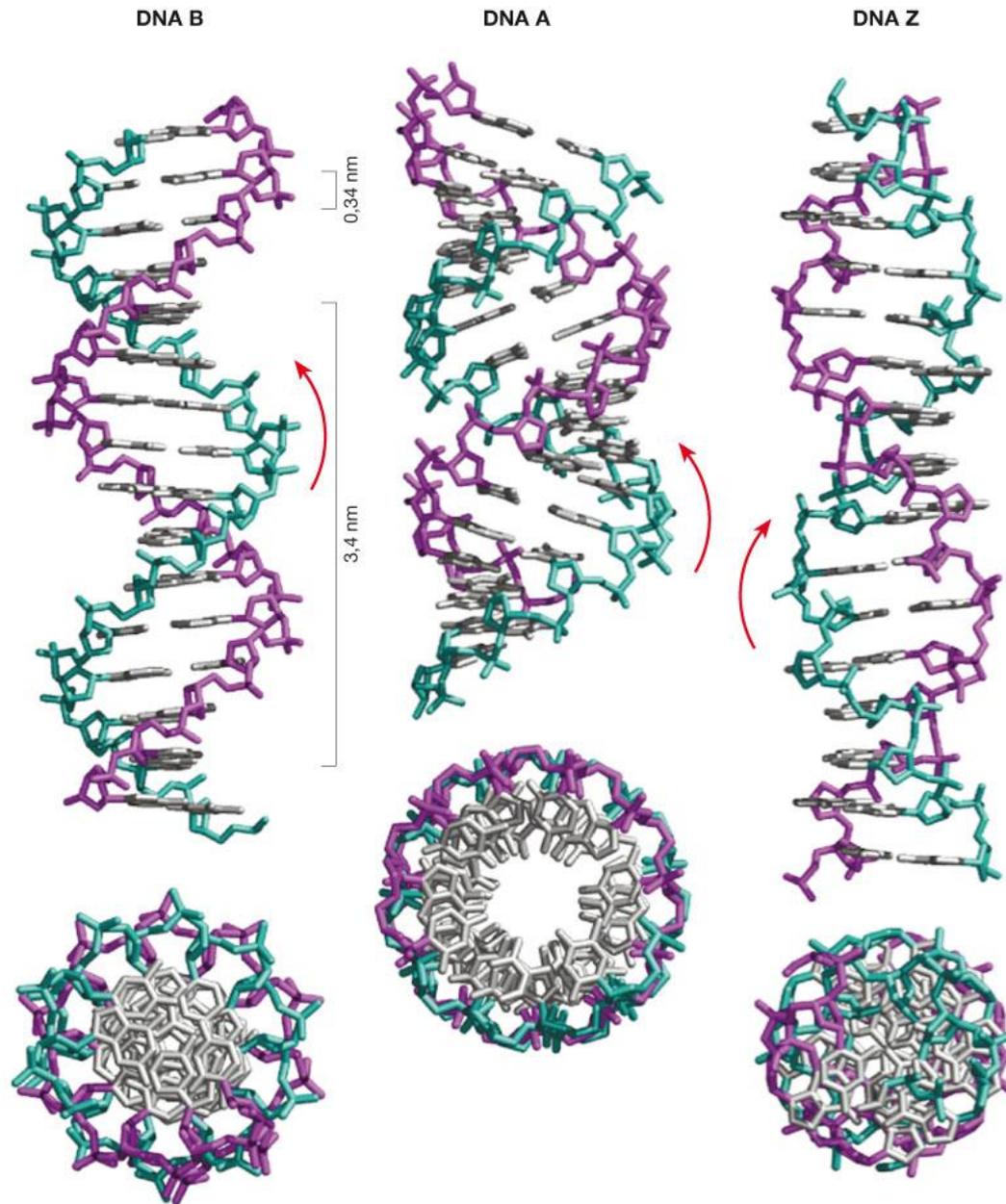


Figura 2.24 Inserimento di un tratto di DNA Z tra due tratti di DNA B.

Proprietà	DNA A	DNA B	DNA Z
Senso di rotazione dell'elica	Destrorsa	Destrorsa	Sinistrorsa
Diametro dell'elica	22 Å	20 Å	18 Å
Paia di basi per giro d'elica	10,9	10 A	12
Distanza tra le coppie di basi	2,6 Å	3,4 Å	3,7 Å
Inclinazione delle basi rispetto all'asse	20°	6°	7°
Conformazione del legame glicosidico	Anti	Anti	Sin (purine) Anti (pirimidine)
Morfologia generale	Corto e largo	Più lungo e sottile	Allungato e sottile
Solco maggiore	Estremamente stretto e molto profondo	Largo e di profondità intermedia	Appiattito sulla superficie dell'elica
Solco minore	Molto largo e poco profondo	Stretto e di profondità media	Estremamente stretto e molto profondo
Posizione dell'asse dell'elica	Solco maggiore	Attraverso le coppie di basi	Solco minore

Figura 2.22 Tre diverse possibili strutture di DNA: B, A e Z.



Confronto tra le
forme B, A e Z
del DNA



Strutture del DNA dipendenti dalla sequenza

Sequenze ripetute

Sequenza ripetuta in modo diretto:



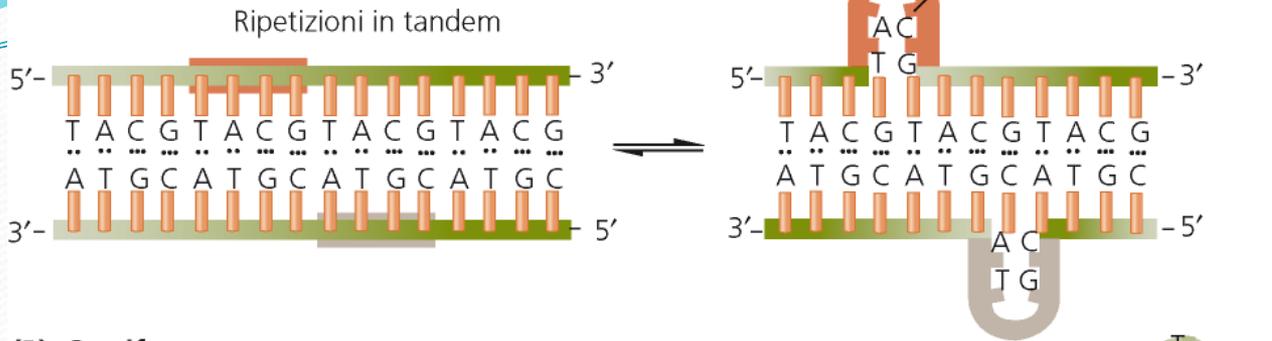
Sequenza ripetuta in modo speculare:



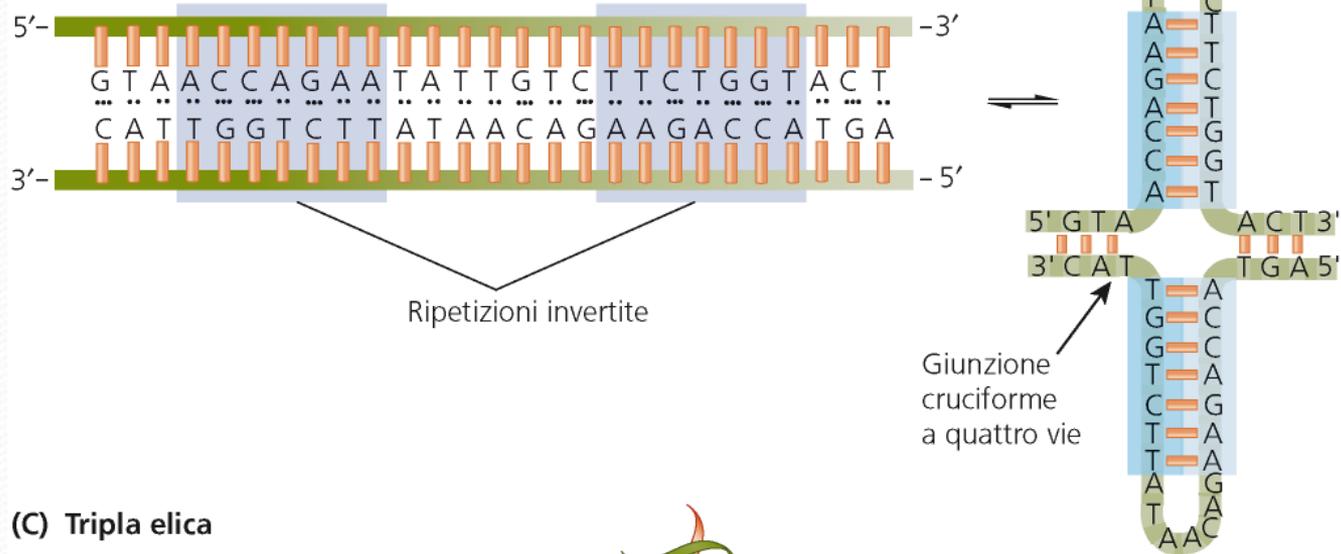
Sequenza "palindromica":



(A) Struttura scivolata



(B) Cruciforme



(C) Tripla elica

$(R \cdot Y)_n$
in ripetizioni
speculari

AAGAGG|GGAGAA
TTCTCC|CCTCTT

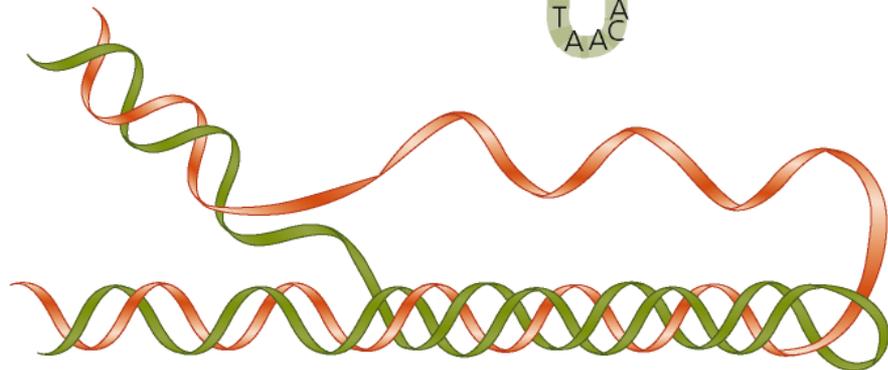


Figura 2.25 DNA a tripla elica. (A) Sequenza del DNA a tripla elica. (B) Assemblaggio delle eliche tra loro. (C) Struttura degli accoppiamenti tra le tre eliche. Il colore corrisponde alla struttura mostrata in B.

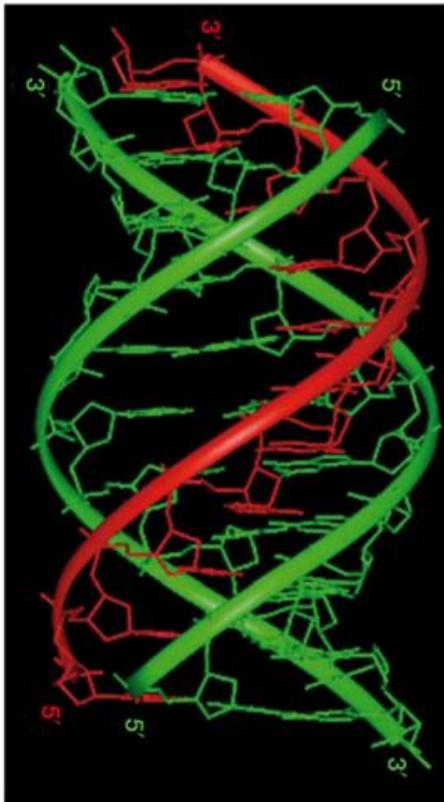


Figura 2.26 Struttura cristallografica di un tratto di DNA triplex.

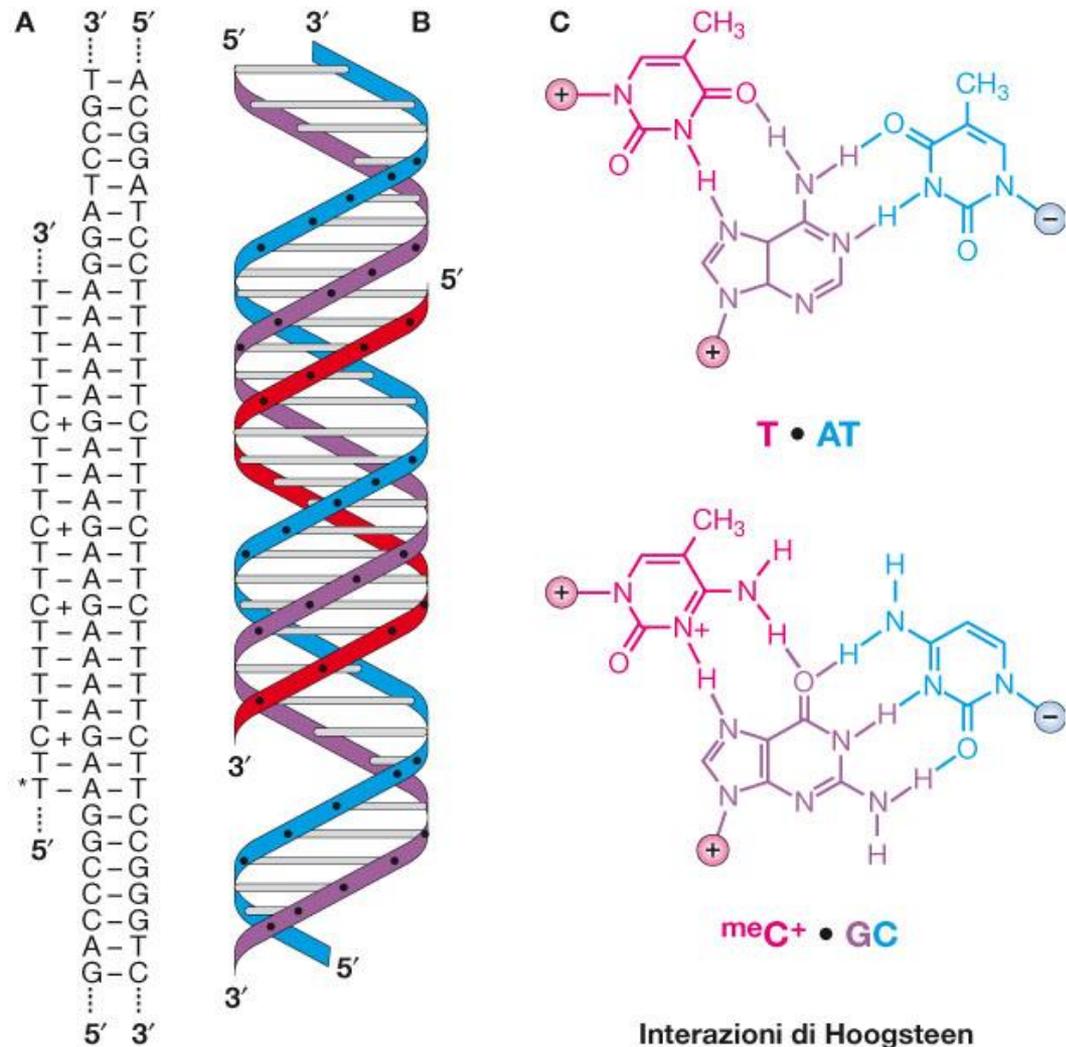
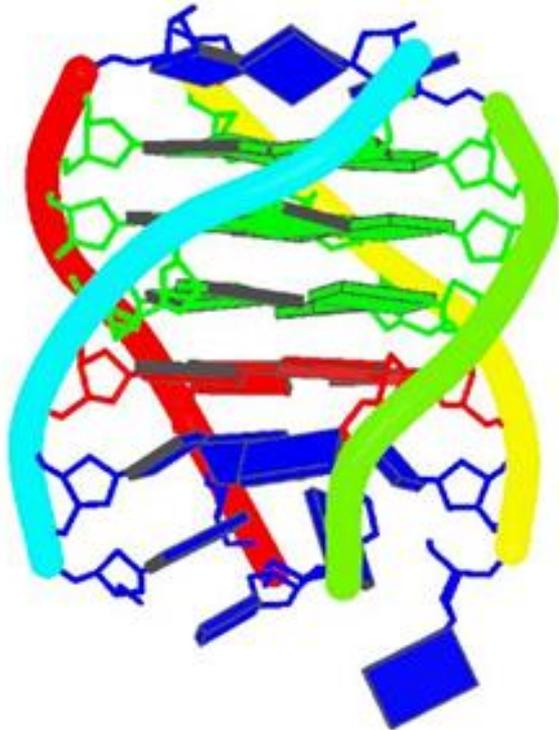


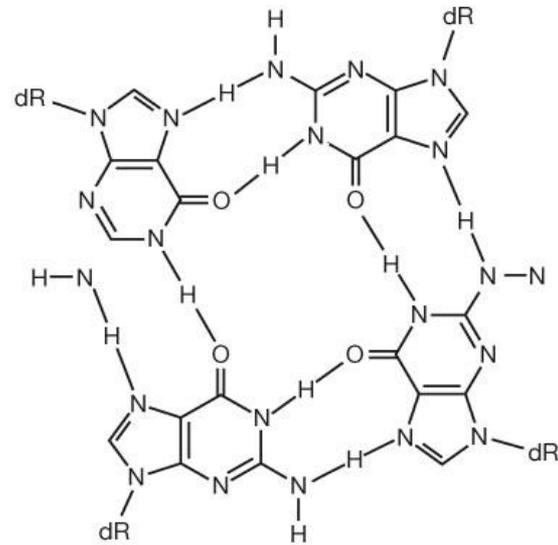
Figura 2.27 **Strutture a quattro eliche che si formano in presenza di quartetti G.**

(A) Struttura chimica del quartetto G. (B) Varie strutture che si possono formare con le combinazioni di tratti di DNA che contengono G ripetute.

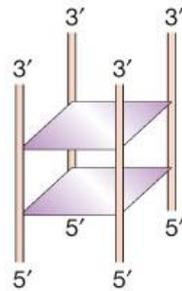


Struttura di un DNA quadruplex

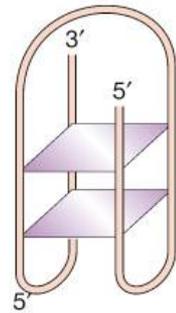
A



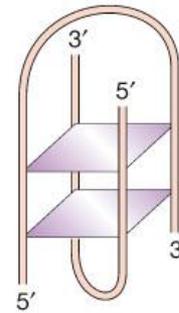
B



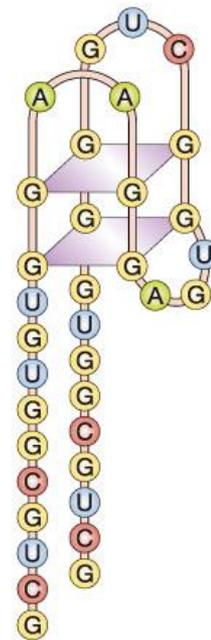
G4-DNA intermolecolare



"Basket" tipo G4 DNA intramolecolare



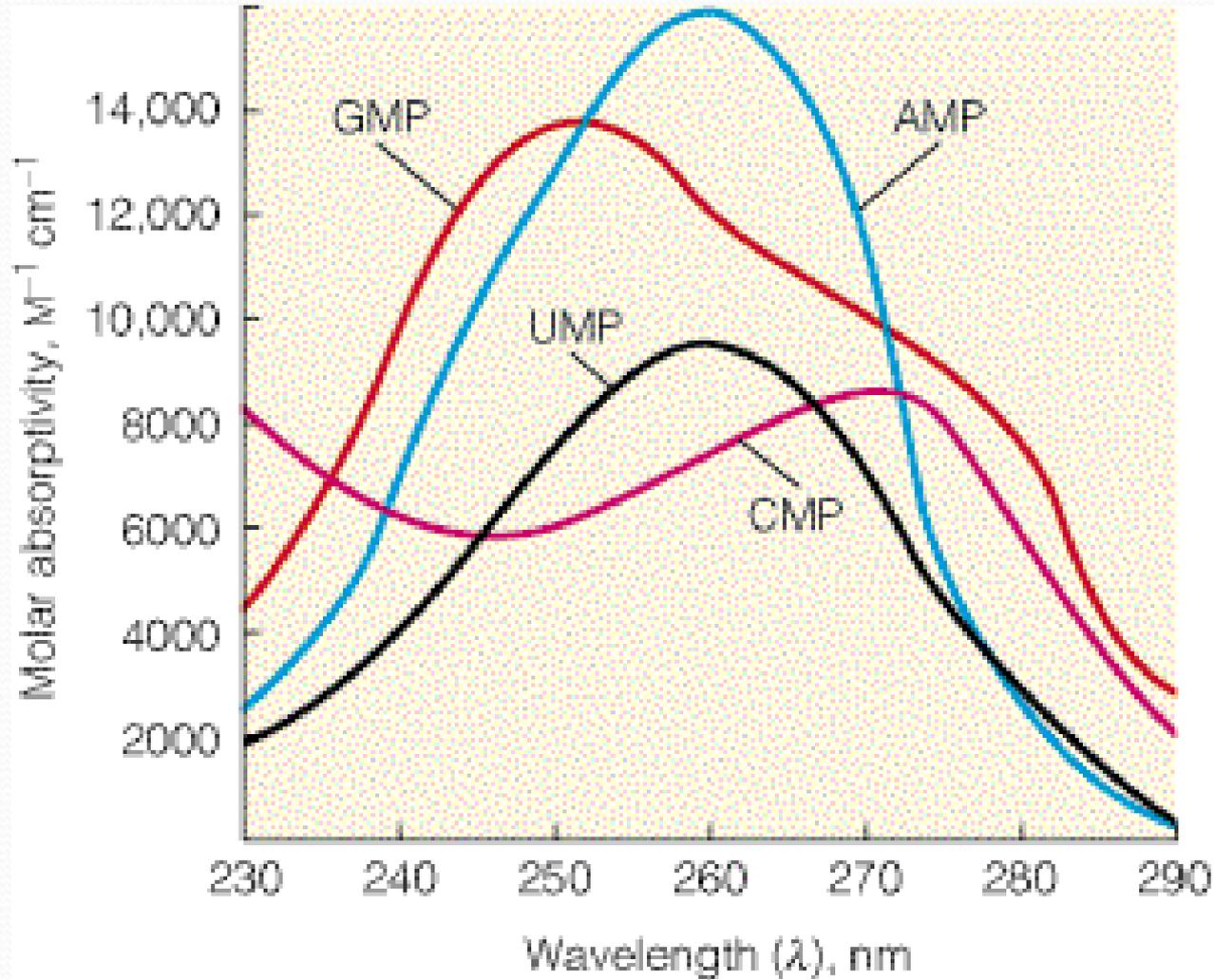
"Basket" tipo G4 DNA intermolecolare





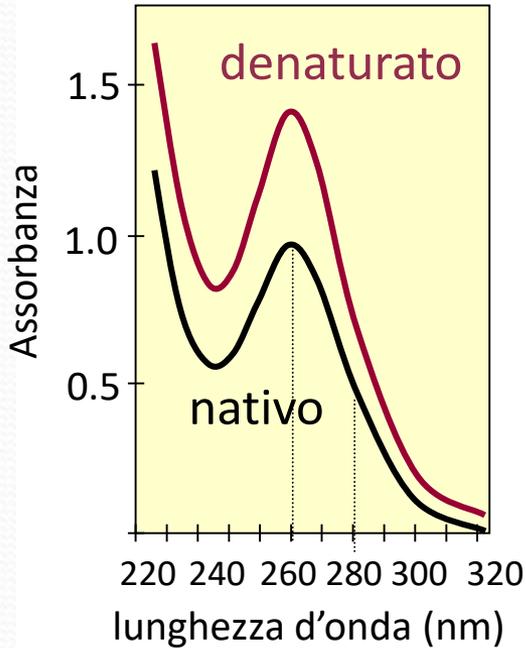
PROPRIETA' DEGLI ACIDI NUCLEICI

ASSORBIMENTO UV



DENATURAZIONE DEL DNA

Effetto ipercromico

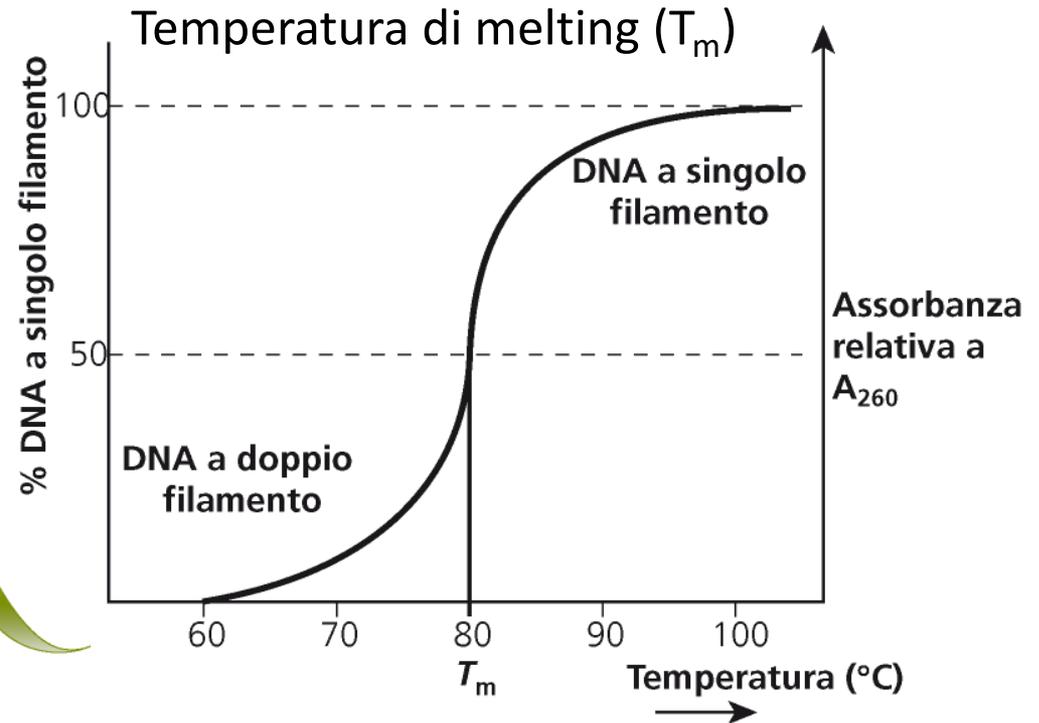


Spettro di assorbimento del DNA

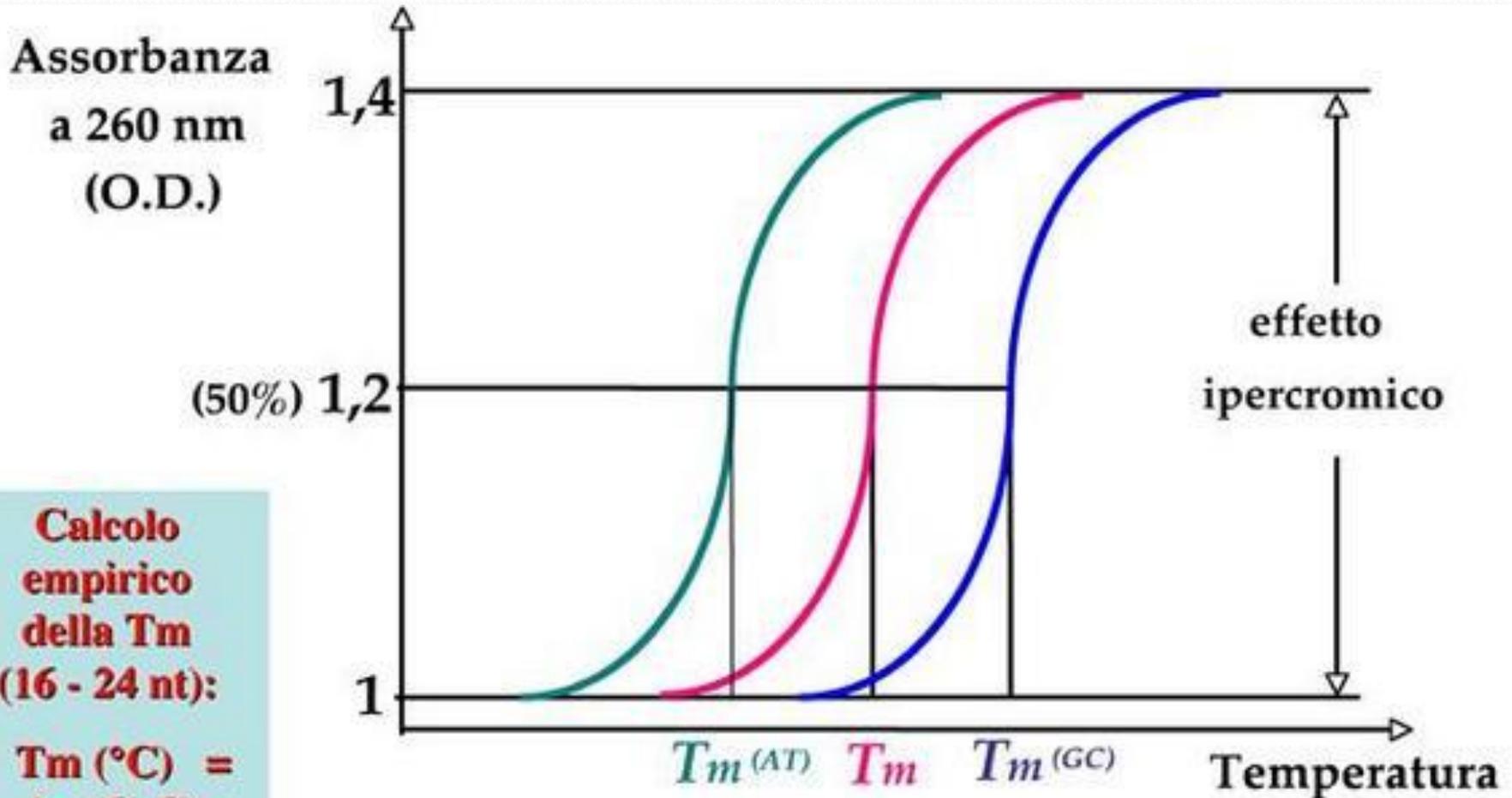


Calore, OH⁻,
formammide

denaturazione



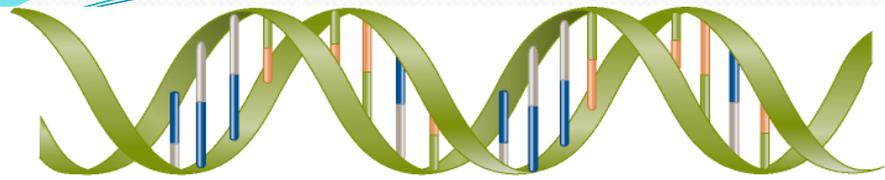
Temperatura di melting (T_m)



**Calcolo
empirico
della T_m
(16 - 24 nt):**

$$T_m (^{\circ}\text{C}) = 4 \times (\text{G-C}) + 2 \times (\text{A-T})$$

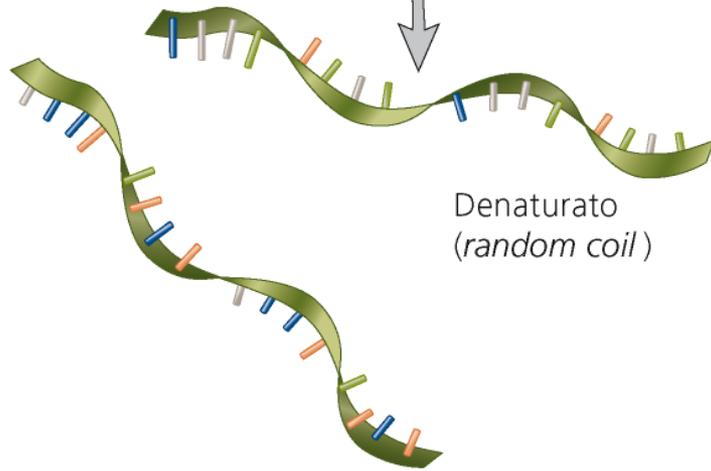
RINATURAZIONE DEL DNA



Nativo (doppia elica)



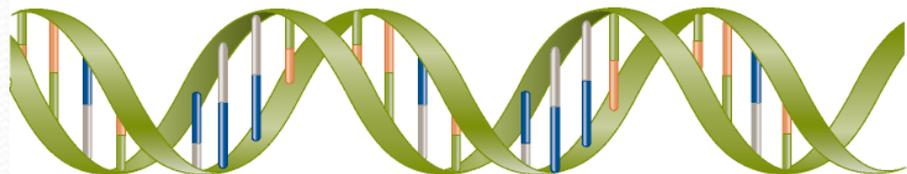
Calore, OH^- , formammide



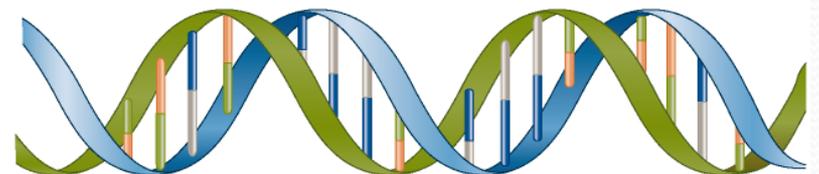
Denaturato
(*random coil*)



Rinaturazione



Ibridazione

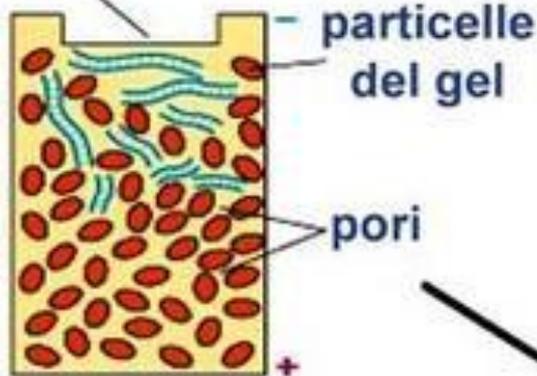


Separazione elettroforetica di frammenti di DNA

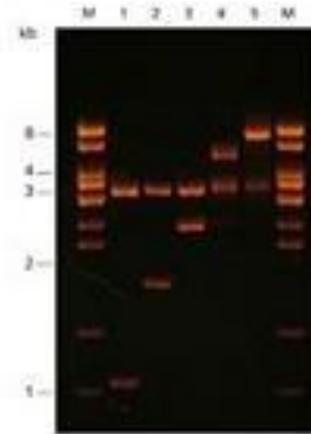


Caricare la miscela nel "pozzetto" di un gel di agarosio o poliacrilamide.

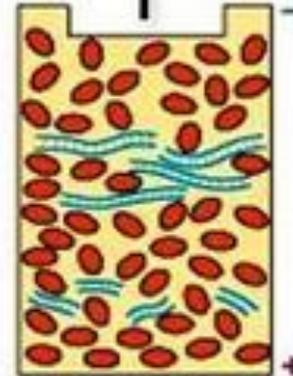
Applicare il campo elettrico.



I frammenti di DNA migrano nel gel ad una velocità inversamente proporzionale alla loro lunghezza.



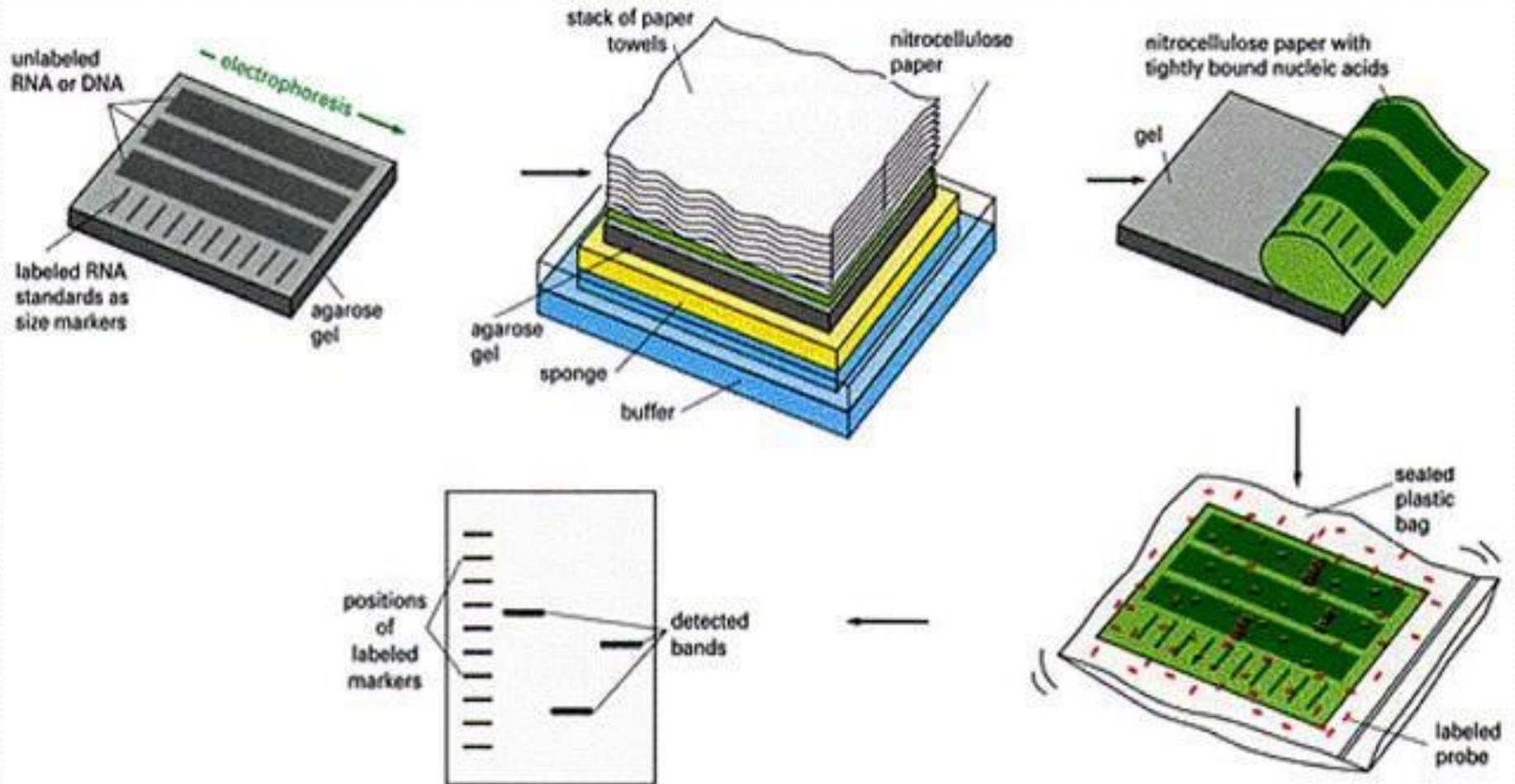
Frammenti di DNA di uguale dimensione formeranno "bande" discrete, evidenziate in luce UV per la presenza nel gel di un colorante fluorescente che s'intercala nella doppia elica del DNA (EtBr).



Tecniche di Blotting

southern = DNA

northern = RNA



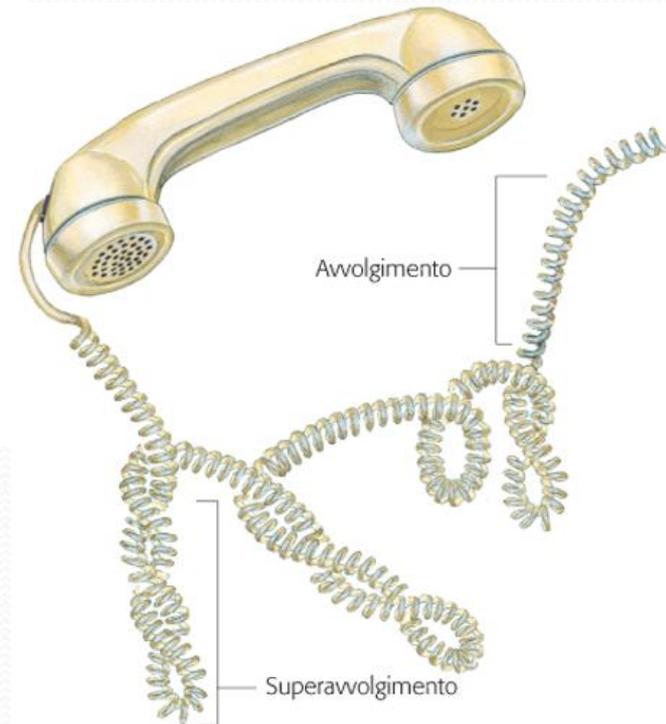


TOPOLOGIA DEL DNA

Superavvolgimenti nel DNA



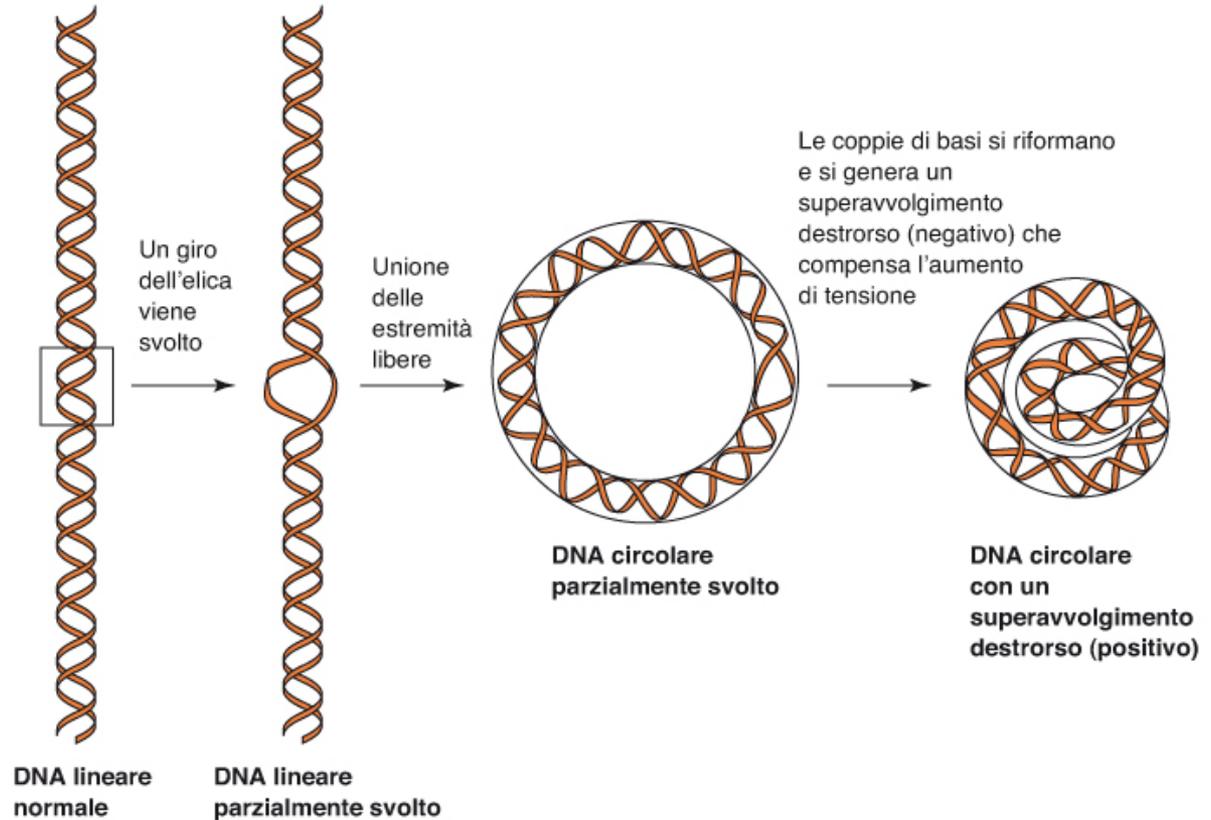
Se elimino degli avvolgimenti (apro la doppia elica per separare i due filamenti) introduco dei superavvolgimenti (solo se il DNA non è libero di ruotare = chiuso)



Superavvolgimenti nel DNA

Figura 2.33 Superavvolgimento negativo del DNA. Superavvolgimenti destrorsi (DNA superavvolto negativamente) si formano se il DNA rilassato viene parzialmente svolto. Lo svolgimento può condurre alla perdita di legami a idrogeno oppure può produrre superavvolgimenti negativi. Questi ultimi si formano per compensare l'aumento di tensione che si genera quando si riformano le coppie di basi interrotte.

Ridisegnato da Darnell, J., Lodish, H., and Baltimore, D. *Molecular Cell Biology*. New York: Freeman, 1986.



TOPOLOGIA DEL DNA

$$Lk = T + W$$

Il “linking number” (numero di legame topologico), Lk , uguale alla somma del numero di avvolgimenti (T) e del numero di superavvolgimenti (W).

Il numero di legame topologico
linking number (Lk)

Ha due componenti:

Tw (twist)= numero di volte che un filamento incrocia l'altro (N di giri dell'elica: N bp/ N di bp per passo dell'elica). Ha segno + se elica è destrorsa.

Wr (writhe)= N di volte in cui l'asse della doppia elica incrocia se stesso nello spazio (superavvolgimenti). Se sinistrorso -, destrorso +.

$$Lk = Tw + Wr$$

Lk puo' cambiare solo se si rompono legami covalenti

Il numero di legame di una molecola rilassata è detto $Lk0$.
Una molecola rilassata:

$$Wr = 0 \quad \text{quindi} \quad Lk0 = Tw$$

Il linking number è un numero intero

Topoisomeri: stessa sequenza ma topologia diversa

TOPOLOGIA DEL DNA

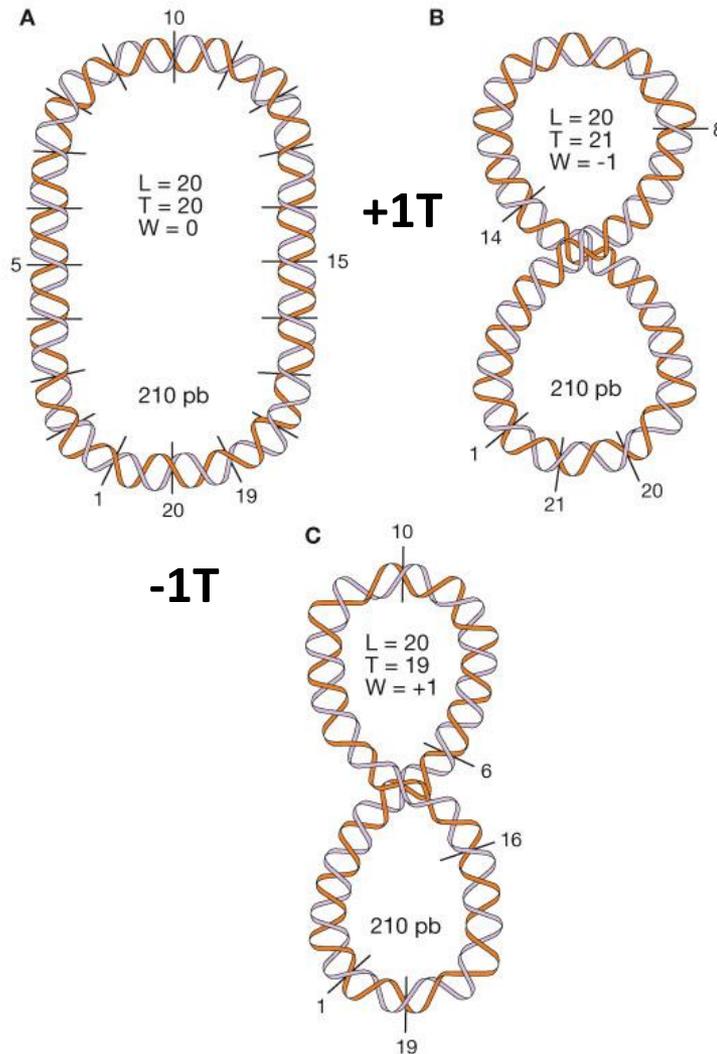


Figura 2.36
Relazione tra numero di legame e il twist e il writhe di una molecola di DNA circolare, covalentemente chiusa.

(A) Se si forza il DNA circolare a cambiare il suo writhe, senza tagliare la doppia elica, per compenso cambierà il twist, ma il numero di legame sarà lo stesso. (B) Il writhe è negativo e quindi il twist è positivo. (C) Il writhe è positivo e quindi il twist sarà negativo.

$$L = T + W$$

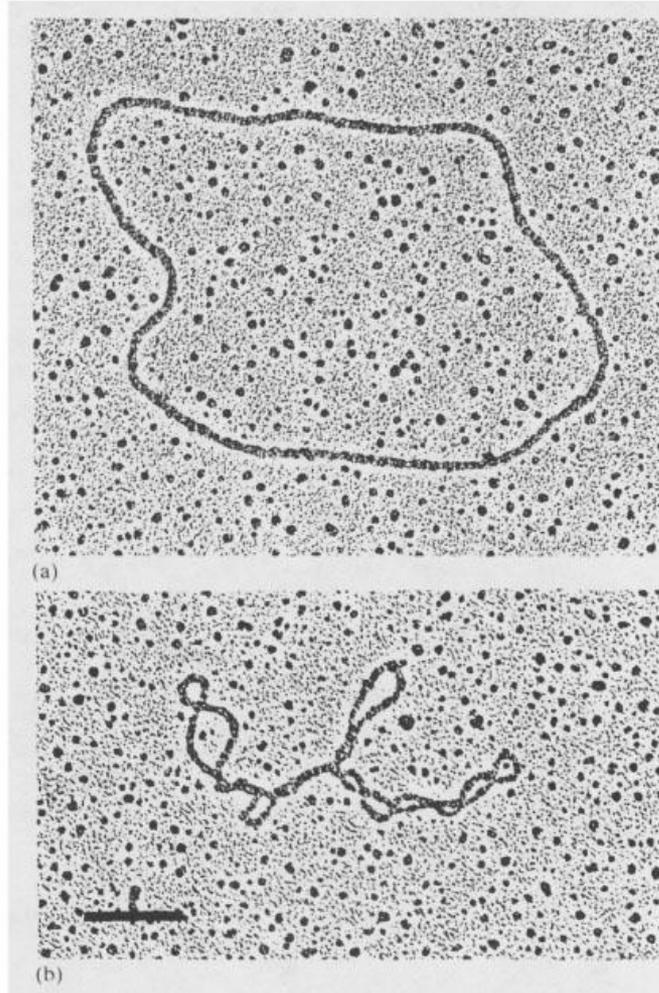
L = numero di legame

T = twist

W = writhe

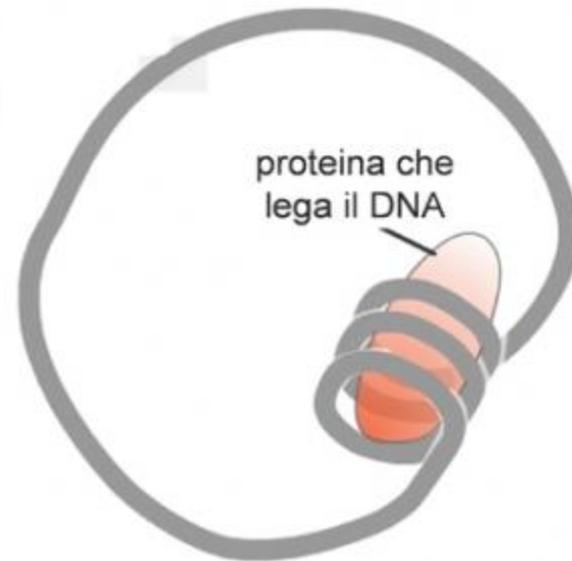
DNA superavvolto

Figura 2.35 DNA circolare rilassato e superavvolto.



DNA superavvolto

superavvolgimenti **plectonemici**:
la doppia elica si avvolge su se
stessa formando una "superelica"



superavvolgimenti **toroidali**:
la doppia elica si avvolge a spirale
su di un supporto cilindrico

Due tipi di superavvolgimenti

Topoisomerasi

La topologia del DNA influenza molti processi biologici (replicazione, trascrizione, ricombinazione ecc).

Per modificare la topologia del DNA intervengono appositi enzimi detti **Topoisomerasi**

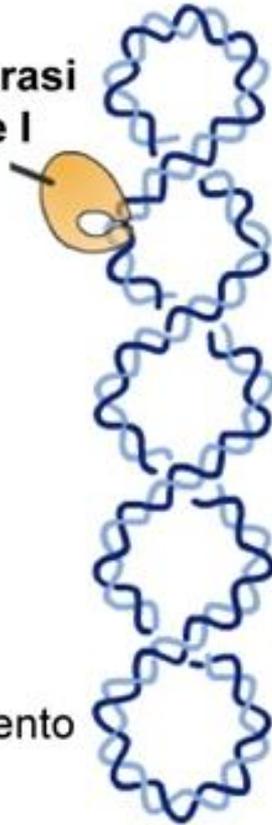
Esistono due classi di topoisomerasi

Tipo I (producono una rottura transitoria su un solo filamento della molecola di DNA permettendo la libera rotazione sull'altro filamento)

Tipo II (producono una rottura transitoria su entrambi i filamenti della molecola di DNA consentendo ad un tratto di doppia elica di attraversarne un altro)

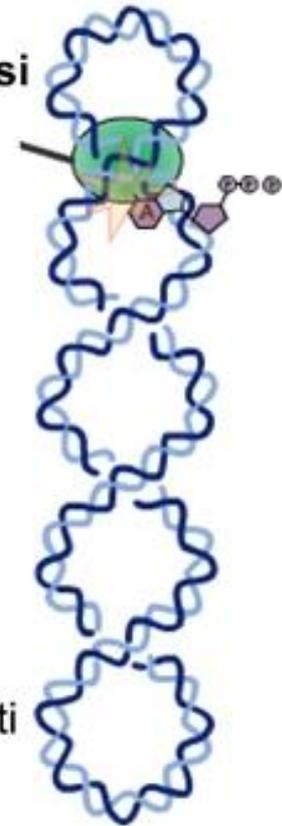
Topoisomerasi

topoisomerasi
di classe I



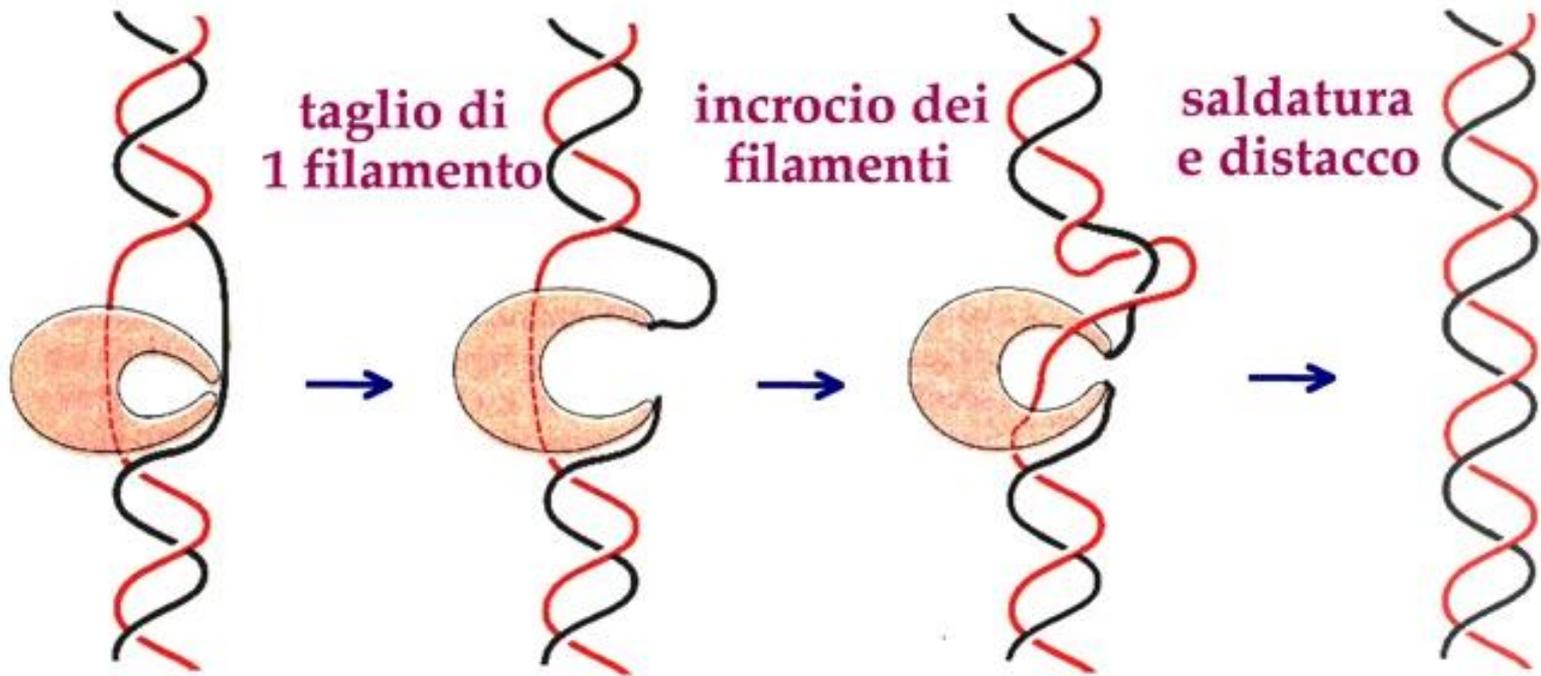
- incrementa Lk di 1
- taglia un solo filamento
- non richiede ATP

topoisomerasi
di classe II



- incrementa Lk di 2
- taglia entrambi i filamenti
- richiede ATP

Topoisomerasi I



Sfruttano l'energia torsionale del DNA

Topoisomerasi I

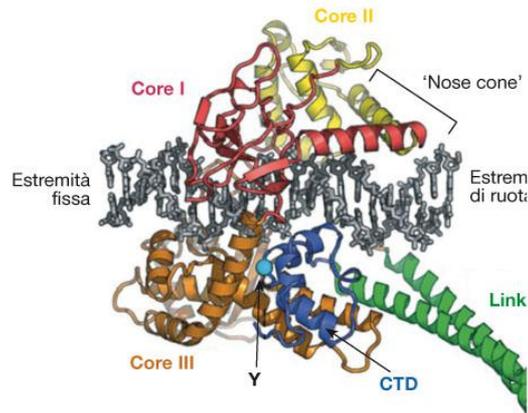
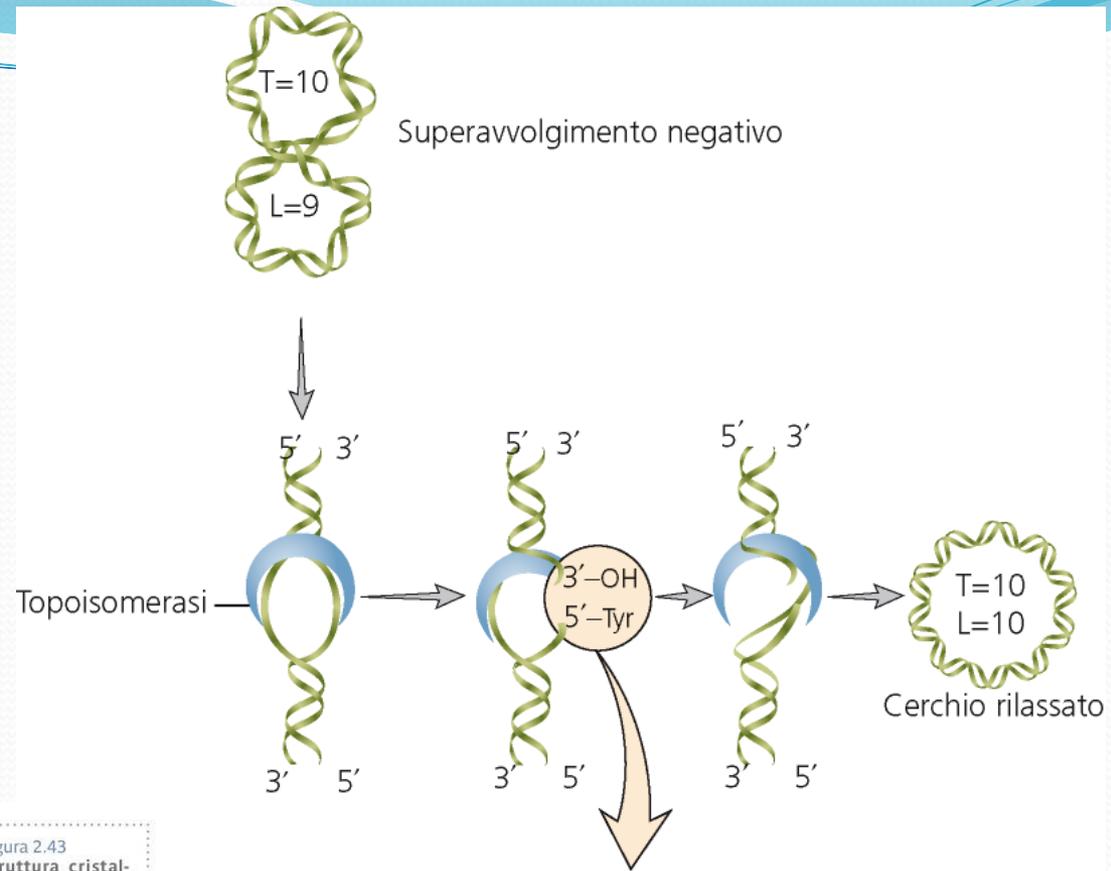
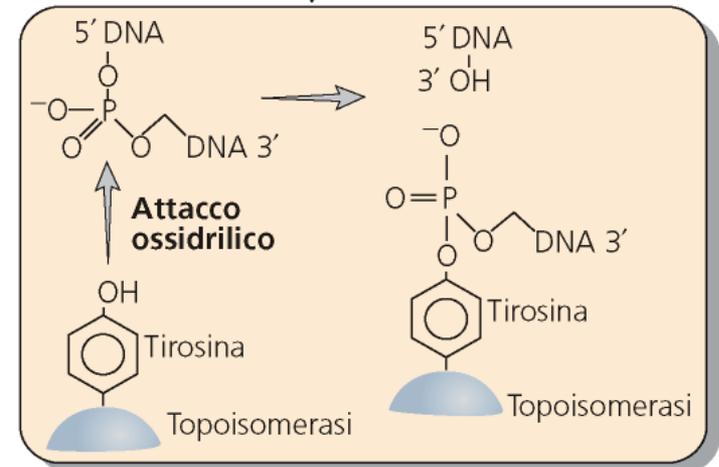
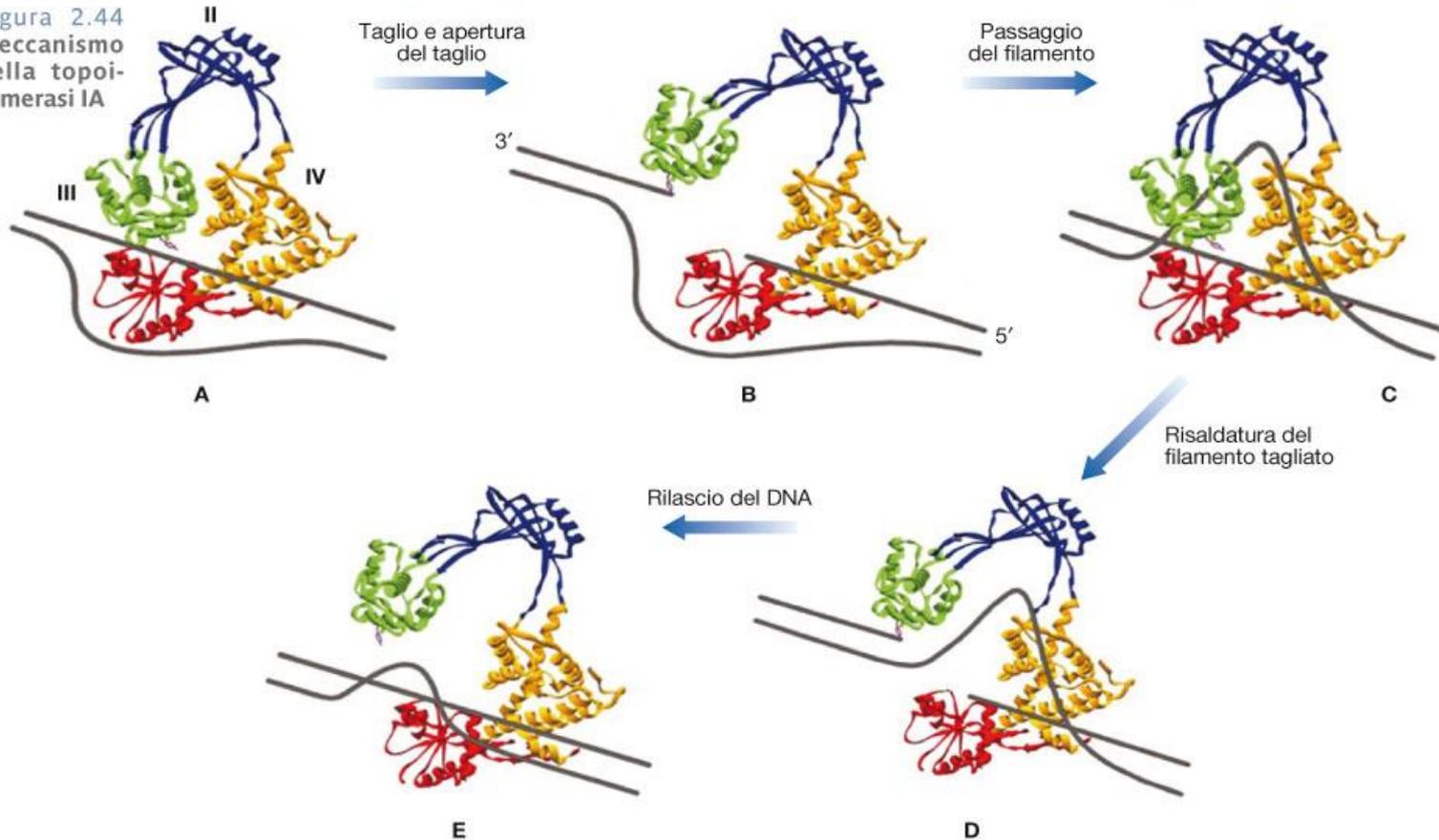


Figura 2.43
Struttura cristallografica della topoisomerasi IB. È possibile distinguere i vari domini e la posizione del DNA libero di ruotare.



Topoisomerasi tipo II

Figura 2.44
Meccanismo
della topoi-
somerasi IA



Topoisomerasi II

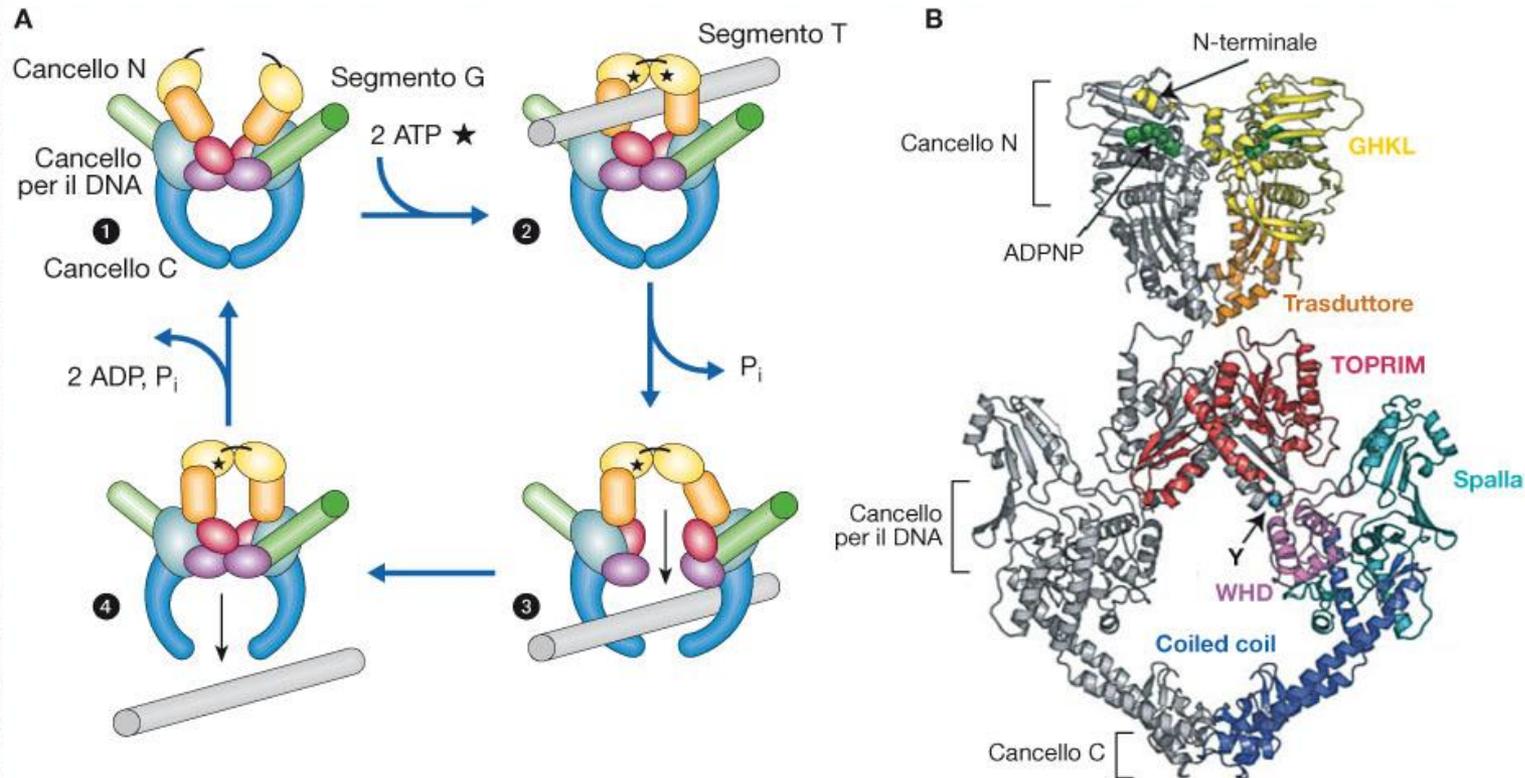


Figura 2.45 Struttura e meccanismo d'azione delle topoisomerasi di tipo II.

(A) Modello del "doppio cancello". (1) L'enzima ha una conformazione aperta pronta ad accettare al suo interno il segmento T (trasporto), mentre ha già al suo interno il segmento di DNA G (cancello). (2) Il legame con ATP genera un cambio di conformazione e il cancello N si chiude; successivamente l'idrolisi dell'ATP ge-

nera un nuovo cambio di conformazione (3), il DNA G viene aperto e il DNA T passa attraverso (4), provocando l'apertura del secondo cancello, e viene espulso dall'enzima.

(B) Struttura tridimensionale dell'enzima con il cancello N e in basso il cancello del DNA. Sono visibili anche i domini di legame dell'ATP (ADPNP).

(Per gentile concessione di James Berger, Università di Berkeley).