

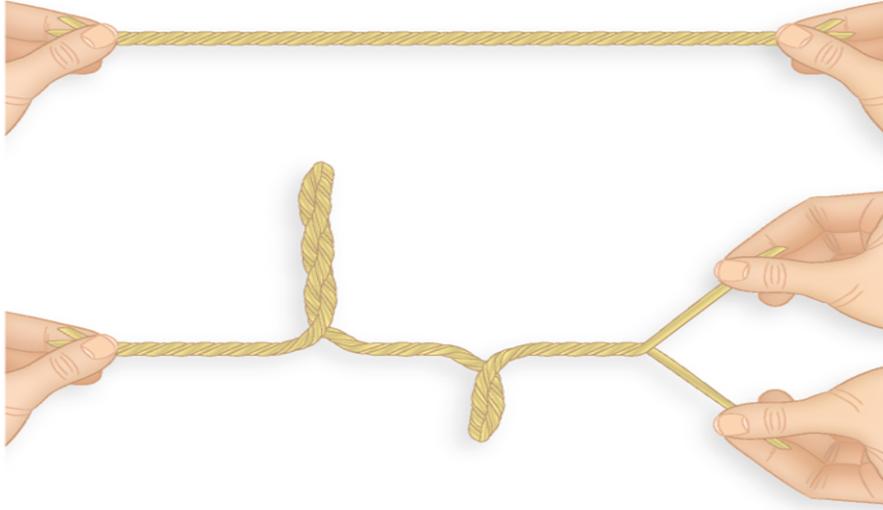
# LA STRUTTURA DEGLI ACIDI NUCLEICI

- Struttura chimica degli acidi nucleici
- Struttura fisica del DNA: la doppia elica e i suoi parametri strutturali
- **Topologia del DNA e DNA topoisomerasi**
- Struttura dell'RNA

# **TOPOLOGIA DEL DNA E DNA TOPOISOMERASI**

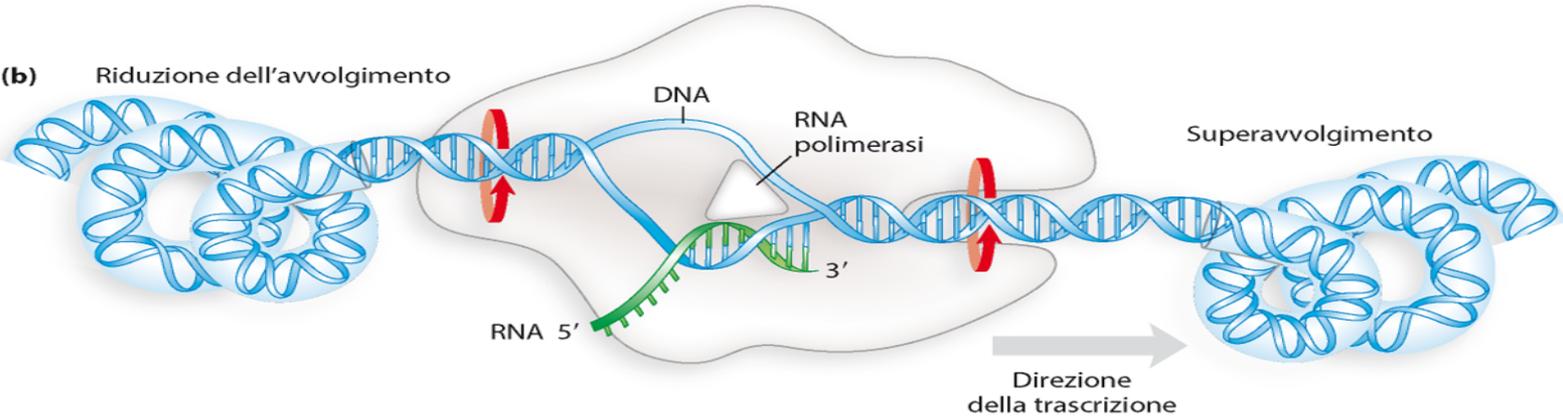
# EFFETTI DELLA REPLICAZIONE E DELLA TRASCRIZIONE SUL SUPERAVVOLGIMENTO DEL DNA

(a)

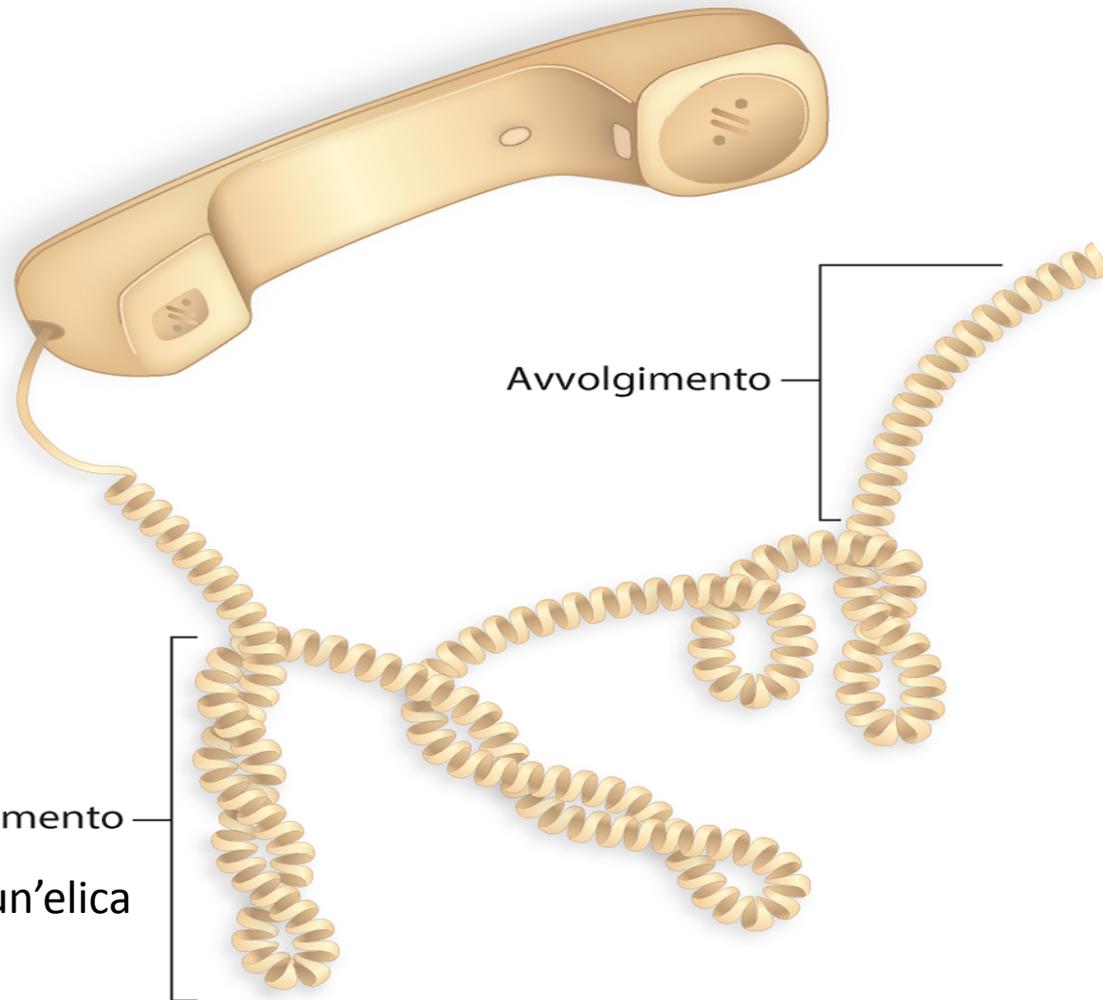


(b)

Riduzione dell'avvolgimento



# SUPERAVVOLGIMENTI



Avvolgimento

Superavvolgimento

Avvolgimento a elica di un'elica

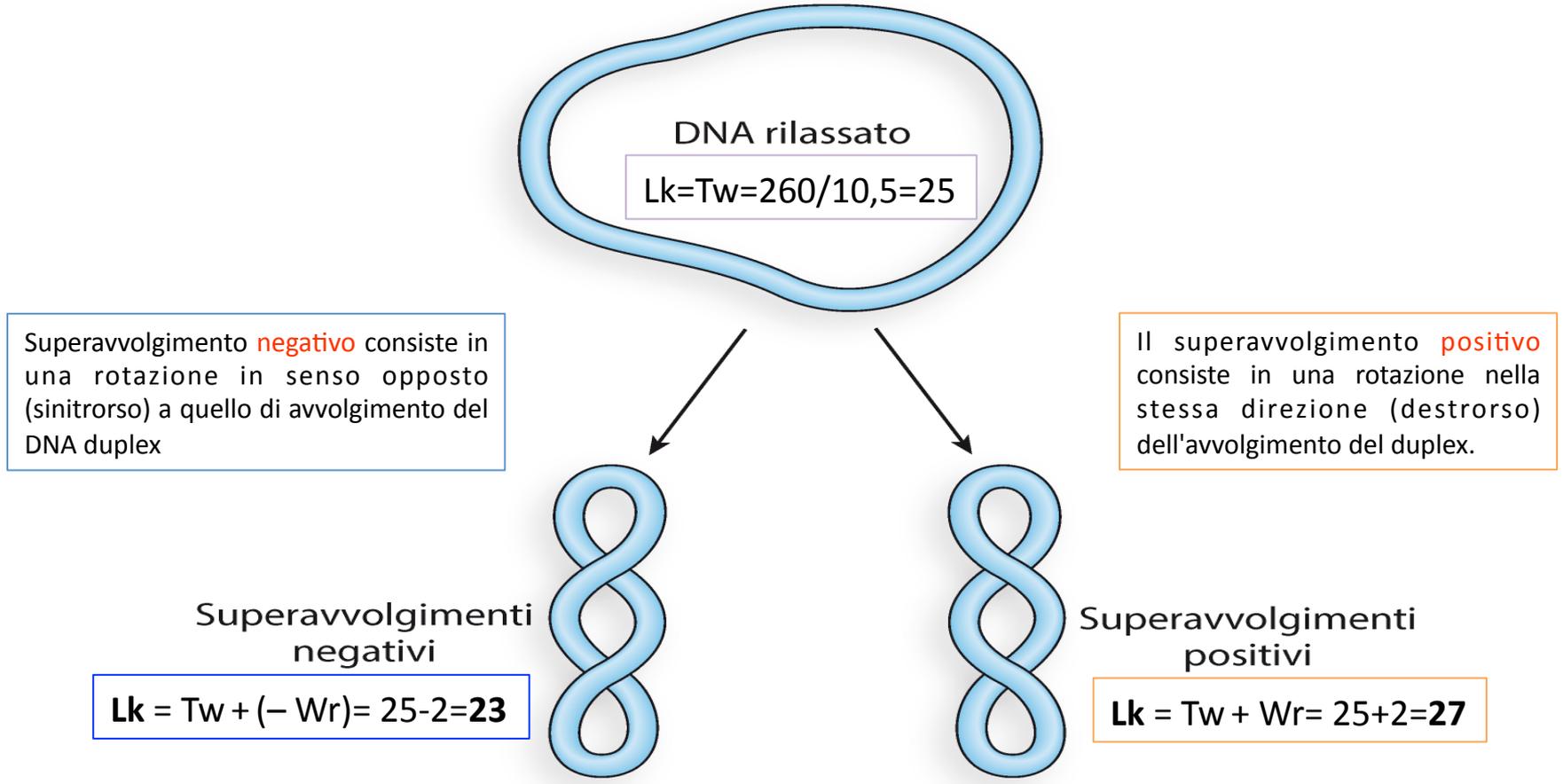
## LINKING NUMBER

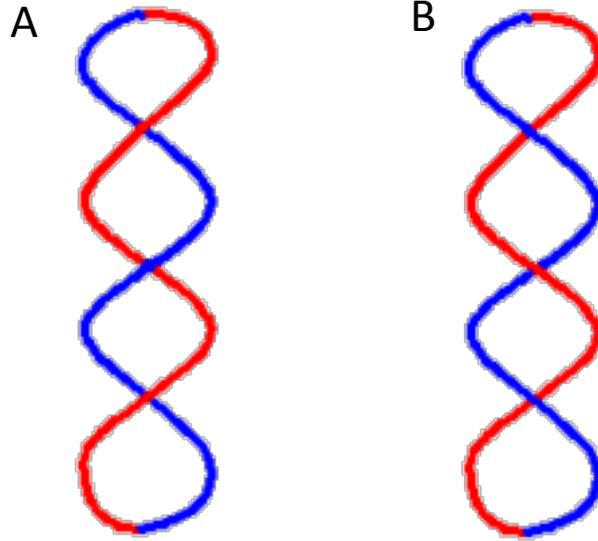
- Il **numero di legame (Lk, Linking number)** è una proprietà topologica del DNA a doppio filamento cioè una proprietà che non varia quando la molecola si piega o cambia forma, ma può essere modificata soltanto dalla rottura e riunione (formazione di legami fosfodiesterici) dell'ossatura di uno o entrambi i filamenti del DNA.
- Per calcolare il **Linking number (Lk)** si usa l'equazione:

$$Lk = Tw + Wr$$

- ***Tw*** = *Twist (torsione)*, ovvero il numero di giri della doppia elica rispetto all'asse centrale (grado di avvitamento (o avvolgimento) della doppia elica) (= numero di coppie di basi/ numero di coppie di basi per giro).
- ***Wr*** = *Writhe (contorsione)*, ovvero il numero di volte che l'asse centrale della doppia elica si ripiega su se stessa formando superavvolgimenti (numero di superavvolgimento).

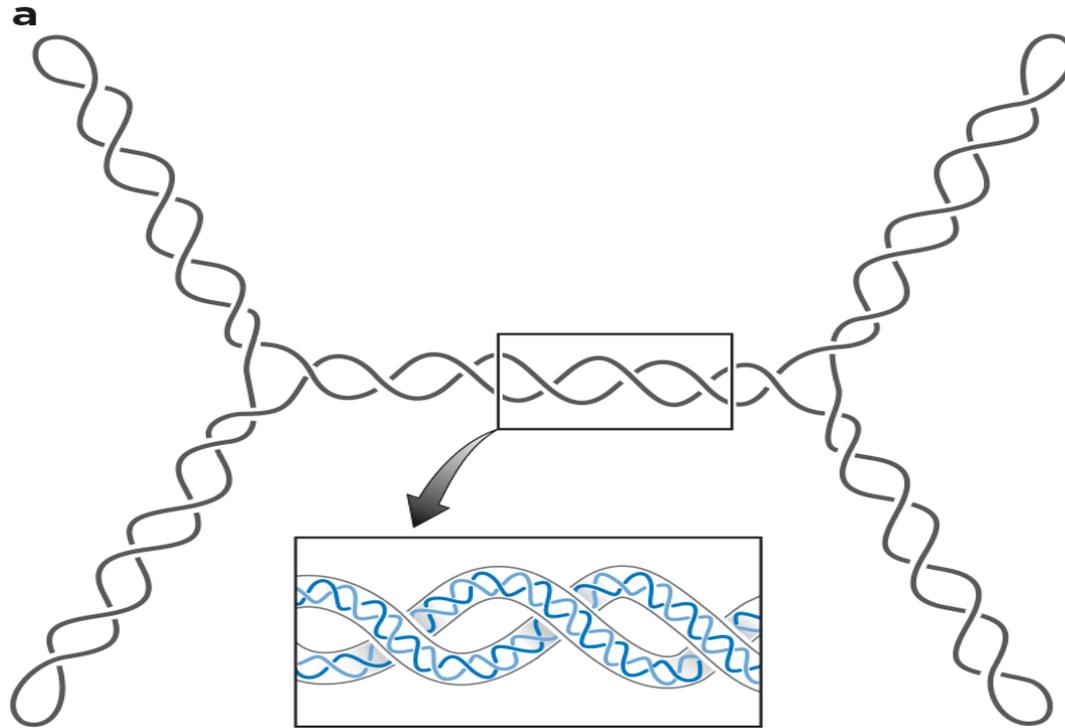
# SUPERAVVOLGIMENTI NEGATIVI E POSITIVI



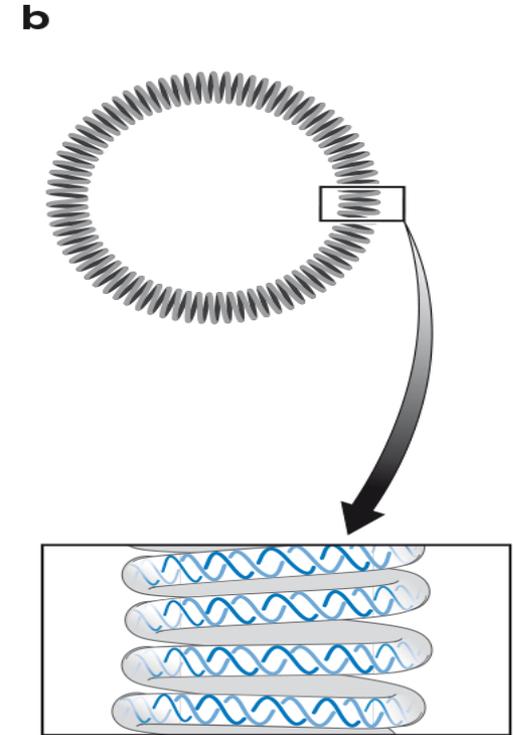


**(a)** Superavvolgimento negativo (sinistrorso): il segmento di DNA in avanti incrocia il segmento sotto da destra a sinistra; **(b)** Superavvolgimento positivo (destrorso): il segmento di DNA in avanti incrocia il segmento sotto da sinistra a destra

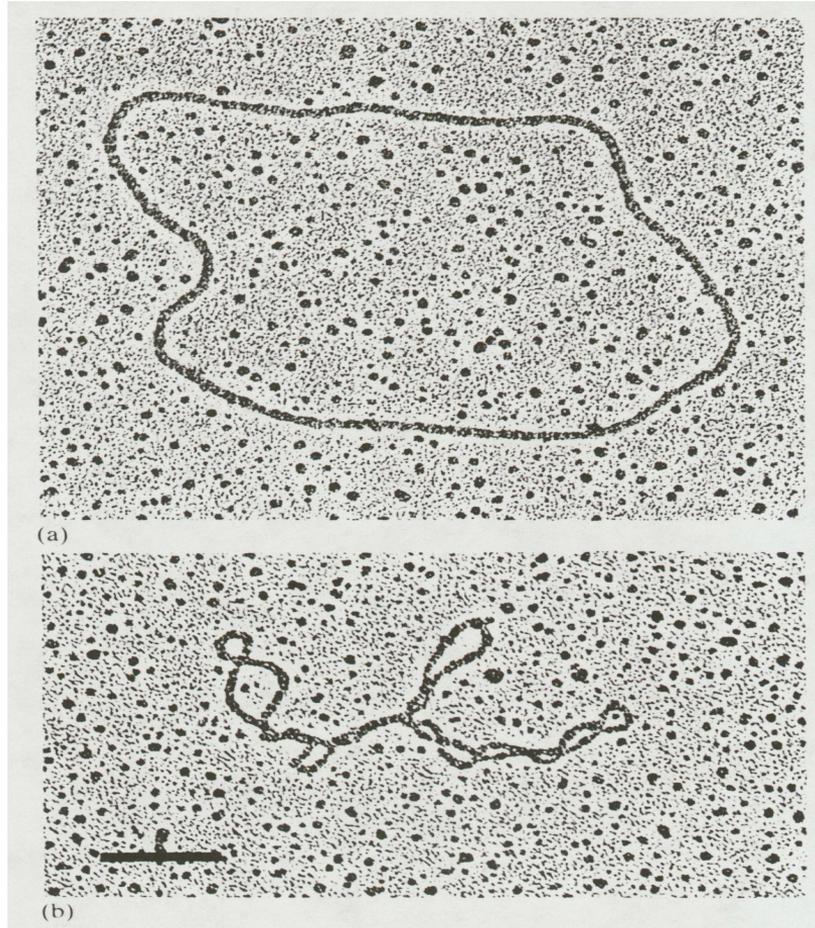
# DUE FORME DI WRITHE (SUPERAVVOLGIMENTO)



**Interwound o writhe plectonemico**  
(asse longitudinale della doppia elica è avvolto su se stesso)

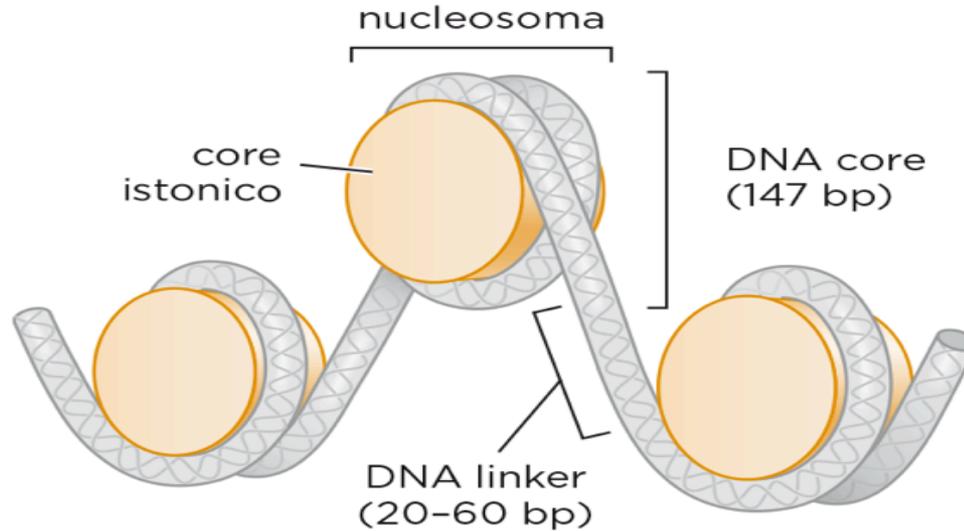


**Toroide o spirale**  
(asse longitudinale della doppia elica è avvolto come attorno ad un cilindro)



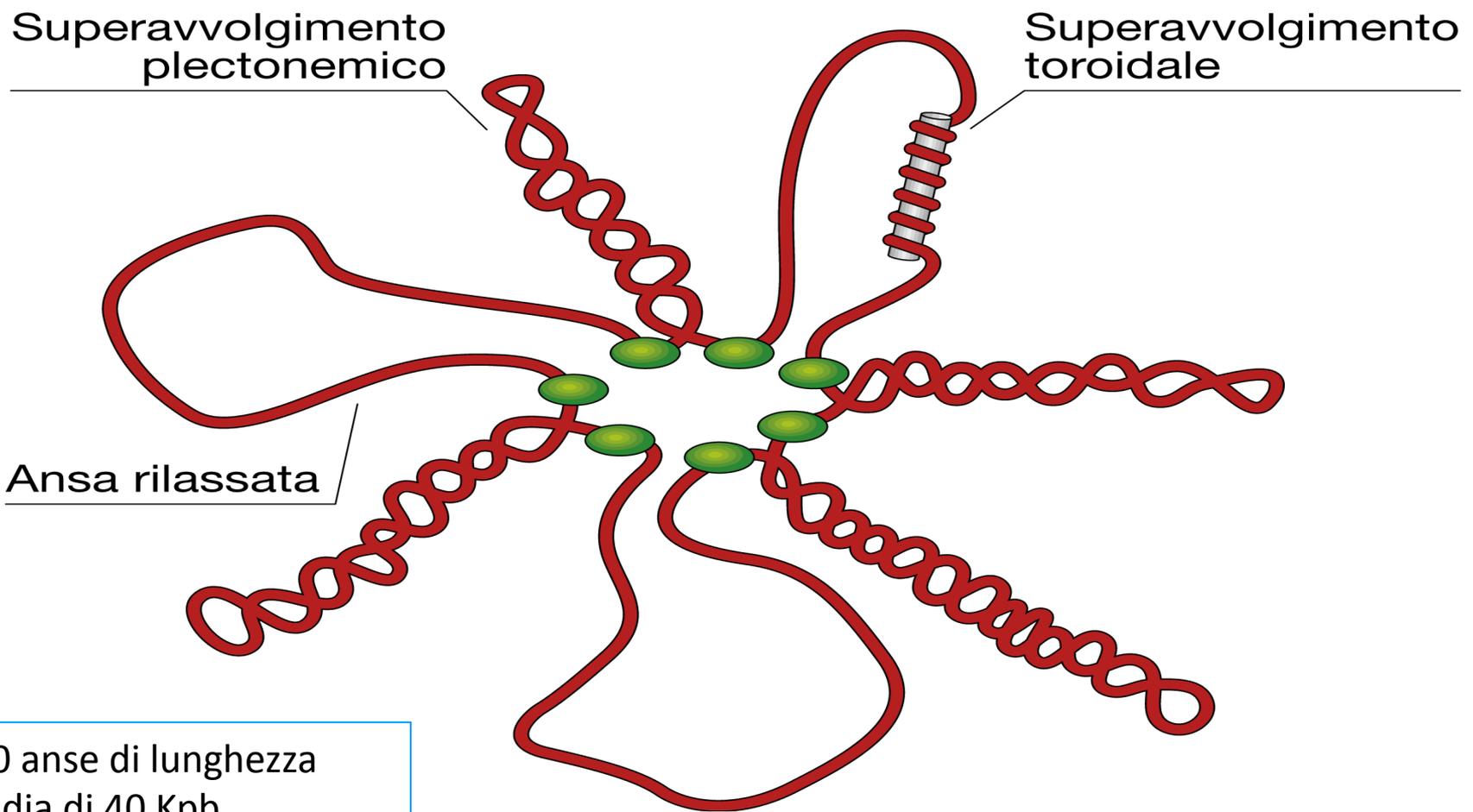
**Figura 2.32** DNA circolare rilassato e superavvolto.

# I NUCLEOSOMI INTRODUCONO SUPERAVVOLGIMENTI NEGATIVI NEL DNA DEGLI EUCARIOTI



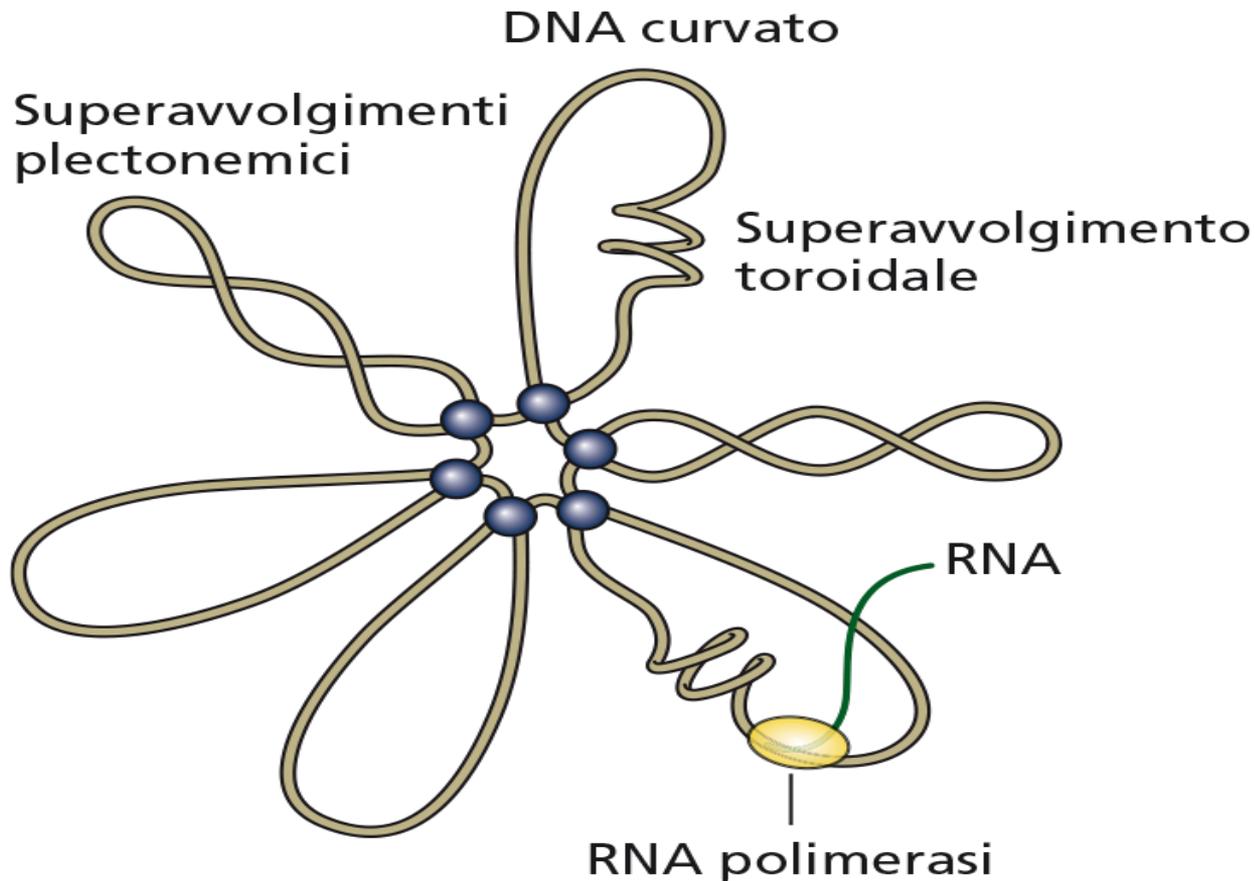
## AVVOLGIMENTO TOROIDE O SPIRALE

Il superavvolgimento toroidale è tipico del DNA eucariotico, di grandi dimensioni, impacchettato all'interno del nucleo.



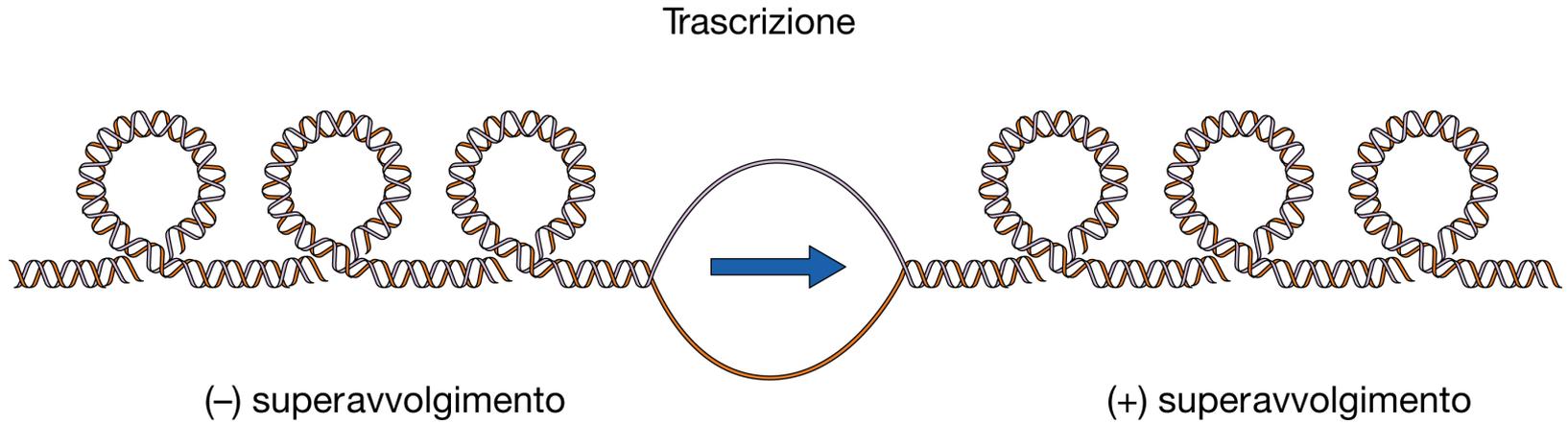
**Figura 4.4** Struttura del nucleotide di *E. coli*

## DOMINI DEL DNA SUPERAVVOLTO NEL CROMOSOMA DI *E. coli*



N.B. Non sono riportate le proteine coinvolte

- Il DNA nelle cellule (sia DNA circolari procariotici che DNA dei cromosomi eucariotici) è **normalmente superavvolto negativamente**.
- Dal punto di vista biologico i **superavvolgimenti negativi** possono essere considerati come un meccanismo di **immagazzinamento dell'energia libera (tensione)** che aiuta quei processi che richiedono una **separazione** dei **due filamenti** della **doppia elica** come la replicazione o la trascrizione.
- Le regioni di **DNA superavvolto negativamente** hanno la tendenza a **disavvolgersi localmente**, per cui la separazione dei due filamenti è più favorita nel DNA superavvolto negativamente piuttosto che nel DNA rilassato.



**Figura 2.42** La trascrizione del DNA genera superavvolgimenti della doppia elica.

## **SUPERAVVOLGIMENTO NEGATIVO = $W_r$ = valore unitario negativo**

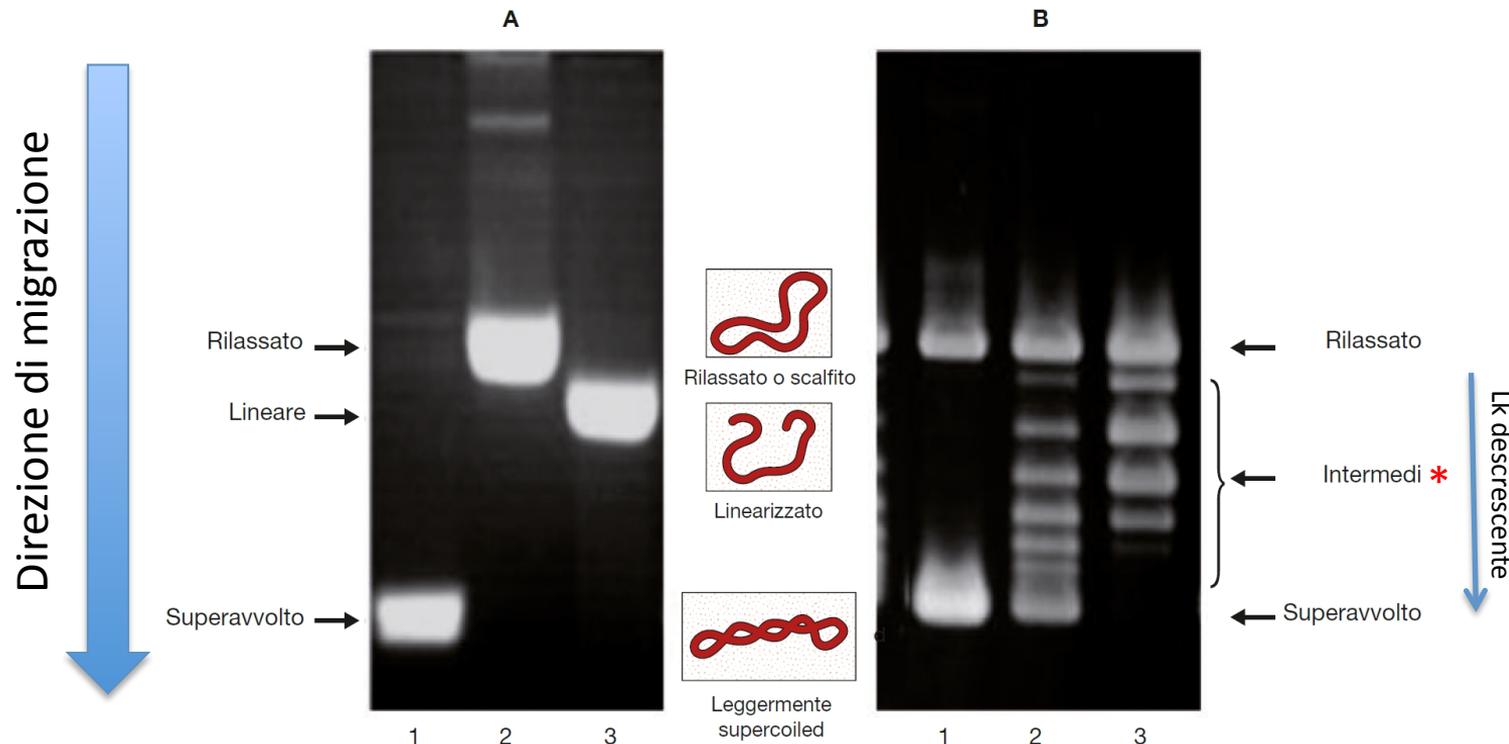
Il superavvolgimento negativo fa girare il DNA attorno al suo asse centrale in direzione sinistrorsa (contrario a quella della doppia elica di DNA, antiorario) a causando sottospiralizzazioni che favoriscono l'apertura della doppia elica

## **SUPERAVVOLGIMENTO POSITIVO = $W_r$ = valore unitario positivo**

Il superavvolgimento positivo fa girare il DNA in senso destrorso (lo stesso della doppia elica di DNA, orario) causando superspiralizzazioni che sfavoriscono l'apertura della doppia elica di DNA

# SEPARAZIONE DI TOPOISOMERI MEDIANTE ELETTROFORESI SU GEL DI AGAROSIO

**TOPOISOMERI:** molecole di DNA circolari covalentemente chiuse aventi la stessa lunghezza ma linking number differente



\* Intermedi con numero di giri di superavvolgimento progressivamente minori: Lk decrescente

# ELETTROFORESI SU GEL

camera di elettroforesi

soluzione tampone

frammenti di DNA

gel di agarosio

elettrodo



(CATODO)

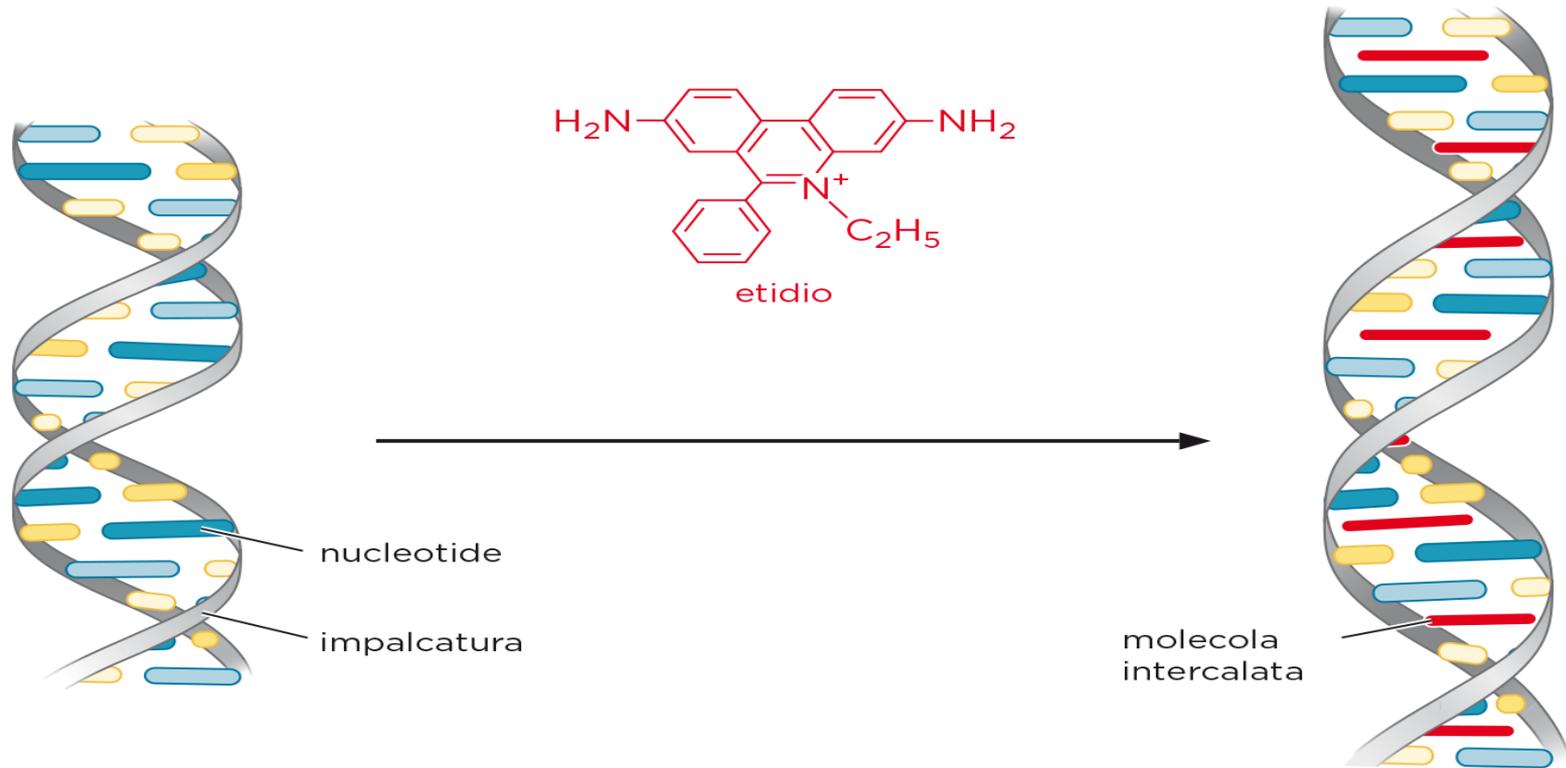
elettrodo



(ANODO)

i frammenti di DNA piccoli  
avanzano nel gel di più  
di quelli grandi

# L'ETIDIO BROMURO SI INTERCALA NEL DNA CAMBIANDONE LA TOPOLOGIA



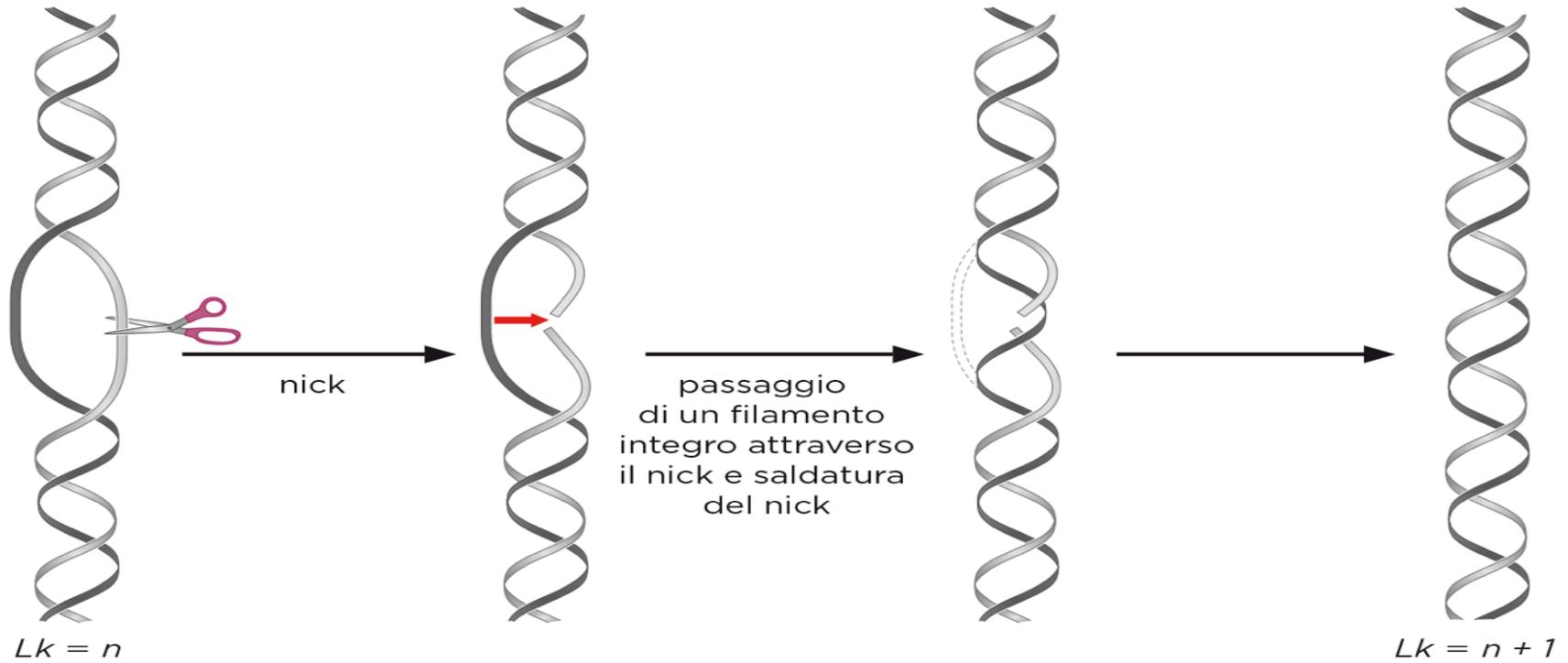
L'etidio bromuro aumenta lo spazio esistente tra le coppie di basi adiacenti, distorce il regolare andamento dell'impalcatura del DNA e fa diminuire il grado di avvolgimento dell'elica

# DNA TOPOISOMERASI

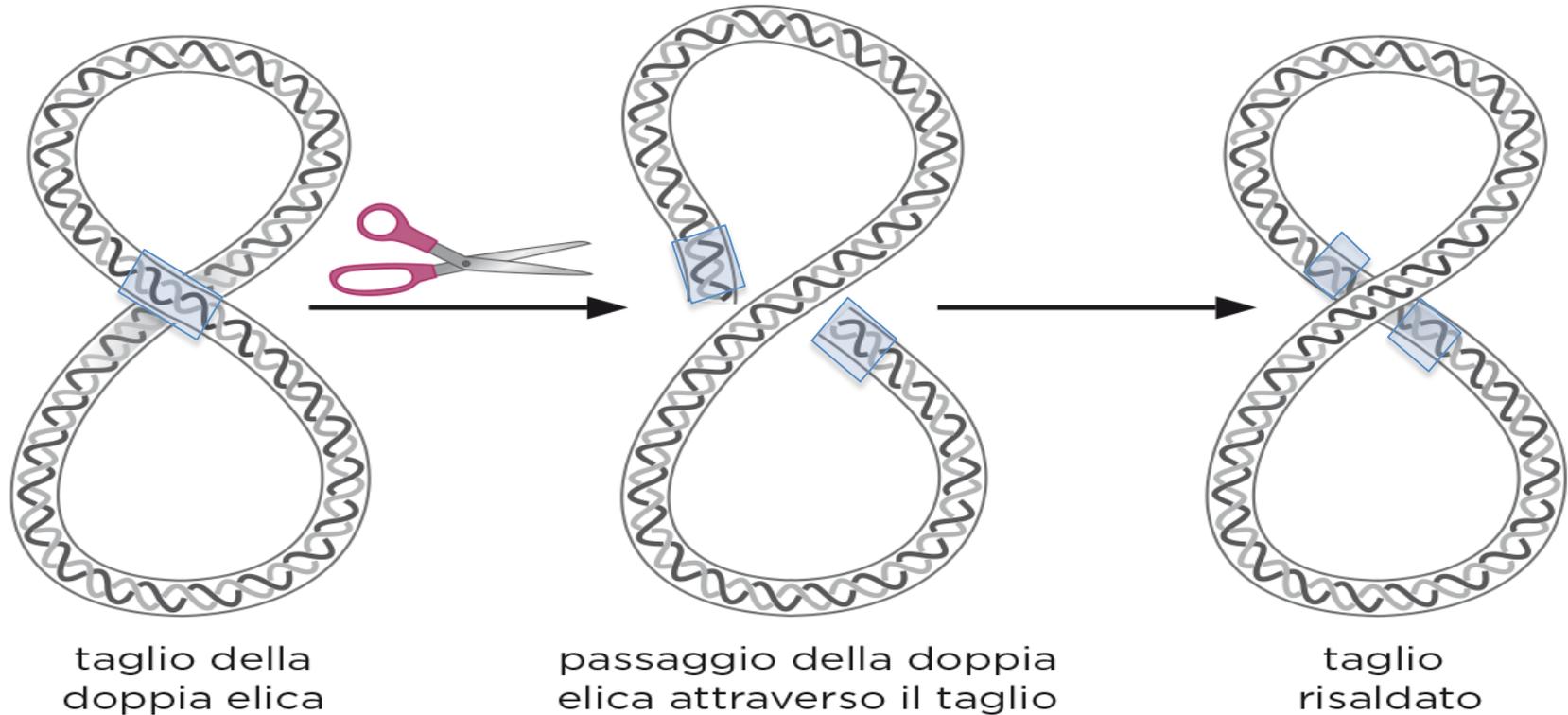
- **Lk** può essere modificato soltanto dalla rottura e riunione (formazione di legami fosfodiesterici) dell'ossatura di uno o entrambi i filamenti del DNA (proprietà topologica del DNA) grazie all'azione delle **DNA topoisomerasi**.
- Le **DNA topoisomerasi** possono **rilassare il DNA superavvolto**, modificando così la topologia del DNA.
- Esistono due classi:
  - **Topoisomerasi I**: permettono di modificare il valore di Lk di una unità alla volta. Esse determinano la rottura temporanea di un singolo filamento del DNA duplex, consentendo così al filamento integro di passare attraverso la rottura dell'altro prima che il nick venga saldato. Non richiedono ATP.
  - **Topoisomerasi II**: permettono di modificare il Lk di due unità. Esse determinano una rottura temporanea dei due filamenti del DNA attraverso la quale fanno passare il duplex integro, prima che il taglio venga risaldato. Richiedono l'energia di idrolisi dell'ATP.

N.B. Le topoisomerasi tagliano il legame fosfodiesterico dello scheletro zucchero-fosfato, senza eliminare i nucleotidi.

# MECCANISMO D'AZIONE DELLA TOPOISOMERASI I

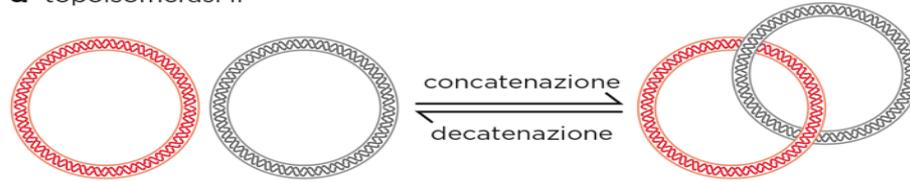


## MECCANISMO D'AZIONE DELLA TOPOISOMERASI II

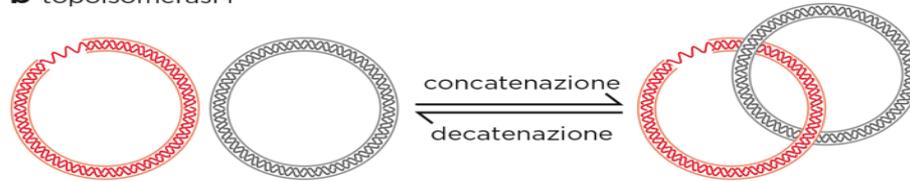


# LE TOPOISOMERASI DECATENANO, DISTRICANO E SNODANO IL DNA

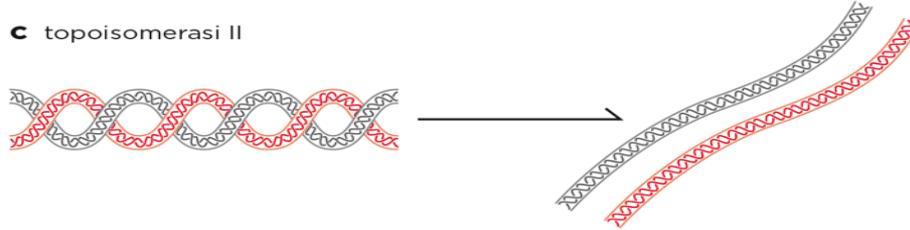
**a** topoisomerasi II



**b** topoisomerasi I



**c** topoisomerasi II



**d** topoisomerasi II



● **TABELLA 9.4 Topoisomerasi batteriche ed eucariotiche**

	Classe	Funzione
<b>Batteri</b>		
Topoisomerasi I	Tipo I	Fa rilassare i superavvolgimenti negativi
Topoisomerasi II (DNA girasi)	Tipo II	Introduce superavvolgimenti negativi
Topoisomerasi III	Tipo I	Interviene con specifiche funzioni nella riparazione e replicazione del DNA
Topoisomerasi IV	Tipo II	Decatenazione dei cromosomi replicati
<b>Eucarioti</b>		
Topoisomerasi I	Tipo I	Fa rilassare i superavvolgimenti negativi, particolarmente durante la replicazione
Topoisomerasi II $\alpha$	Tipo II	Fa rilassare i superavvolgimenti positivi o negativi; interviene nella condensazione, replicazione e trascrizione della cromatina
Topoisomerasi II $\beta$	Tipo II	Fa rilassare i superavvolgimenti positivi o negativi; interviene nella condensazione, replicazione e trascrizione della cromatina
Topoisomerasi III	Tipo I	Interviene con specifiche funzioni nella riparazione e replicazione del DNA