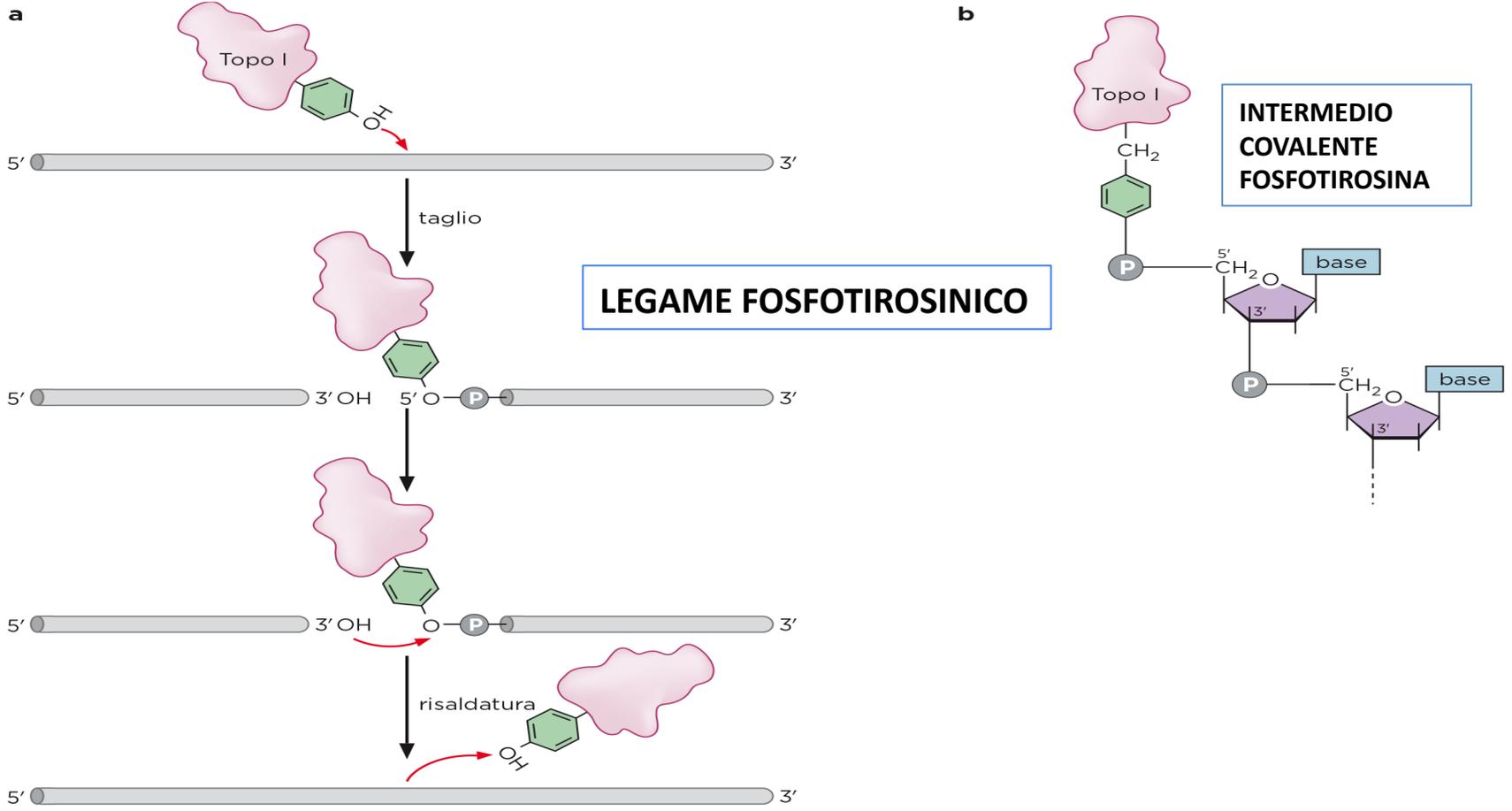
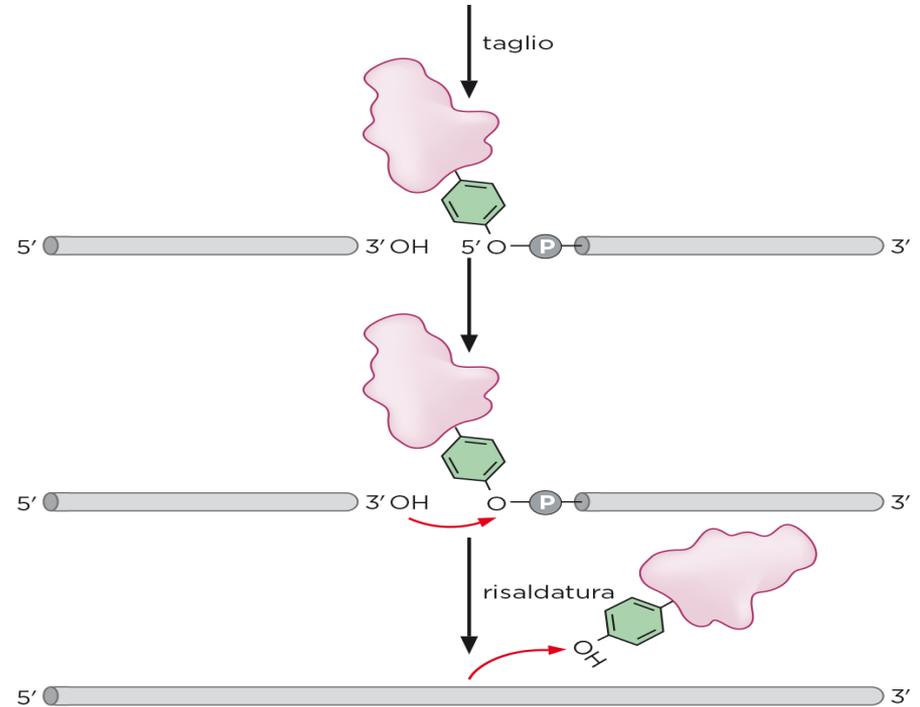
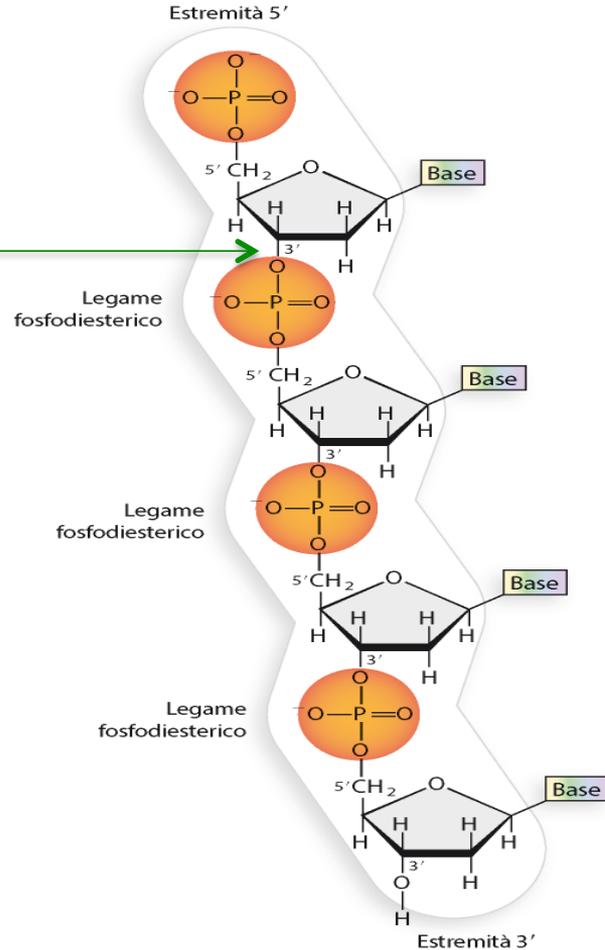


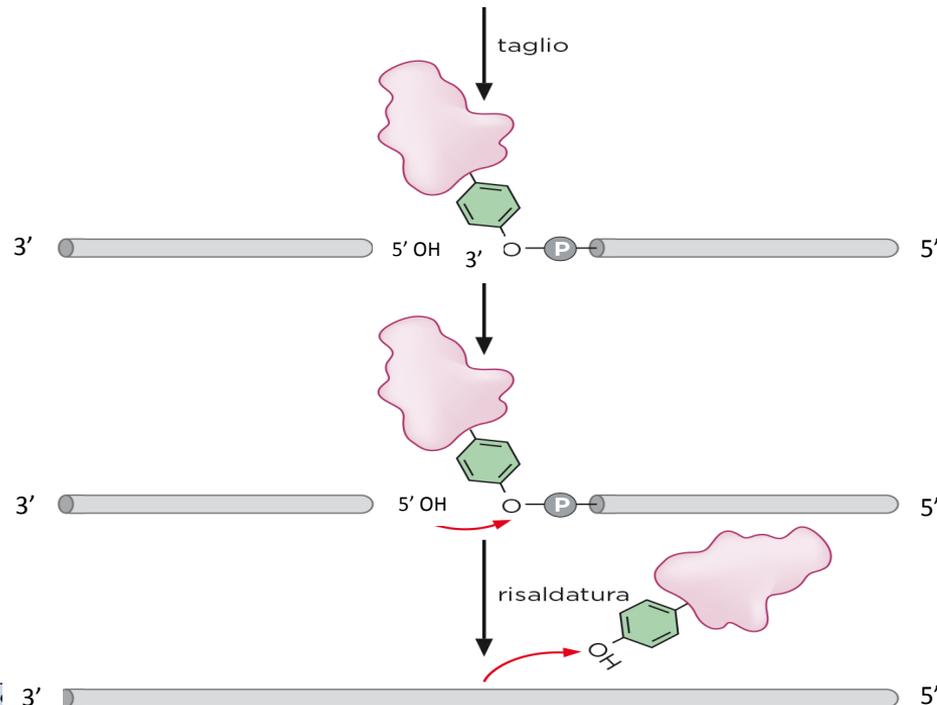
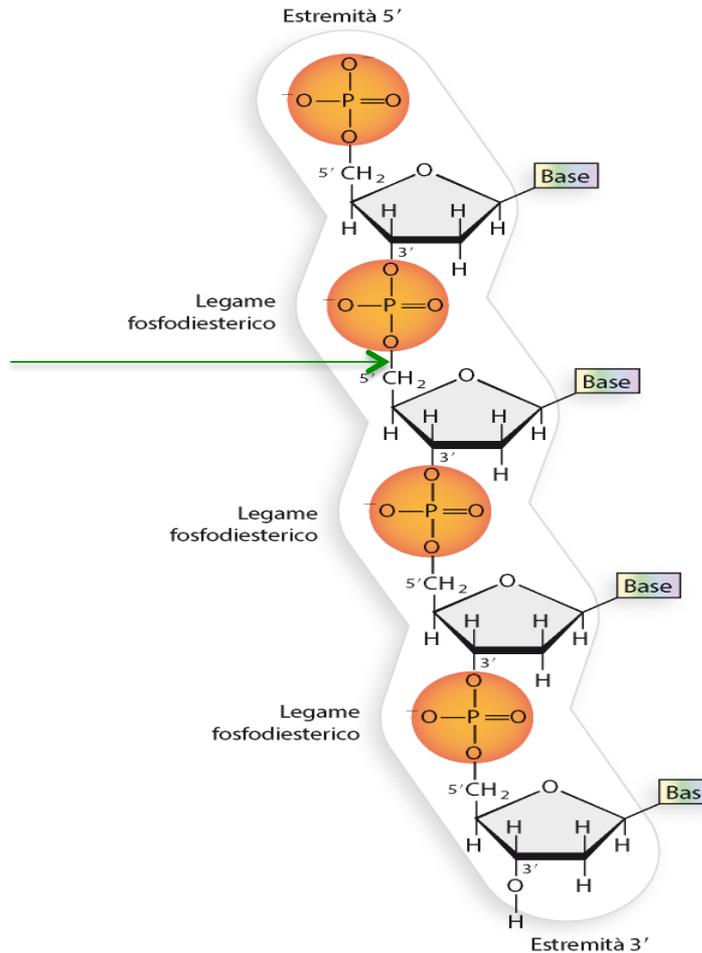
# LE TOPOISOMERASI TAGLIANO IL DNA USANDO COME INTERMEDIO UNA TIROSINA COVALENTEMENTE LEGATA AL DNA



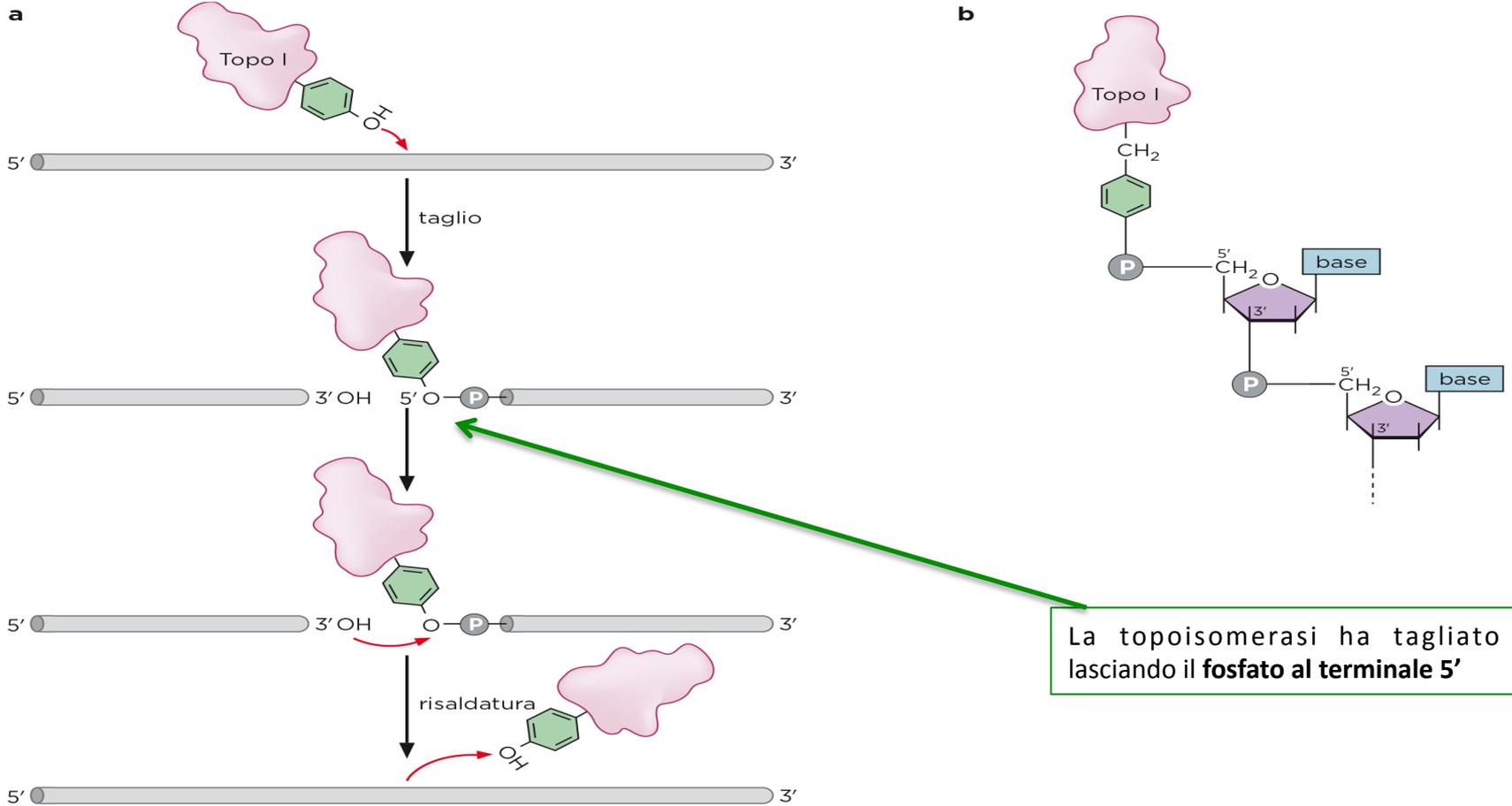
# LA TOPOISOMERASI TAGLIA LASCIANDO IL FOSFATO IN 5'



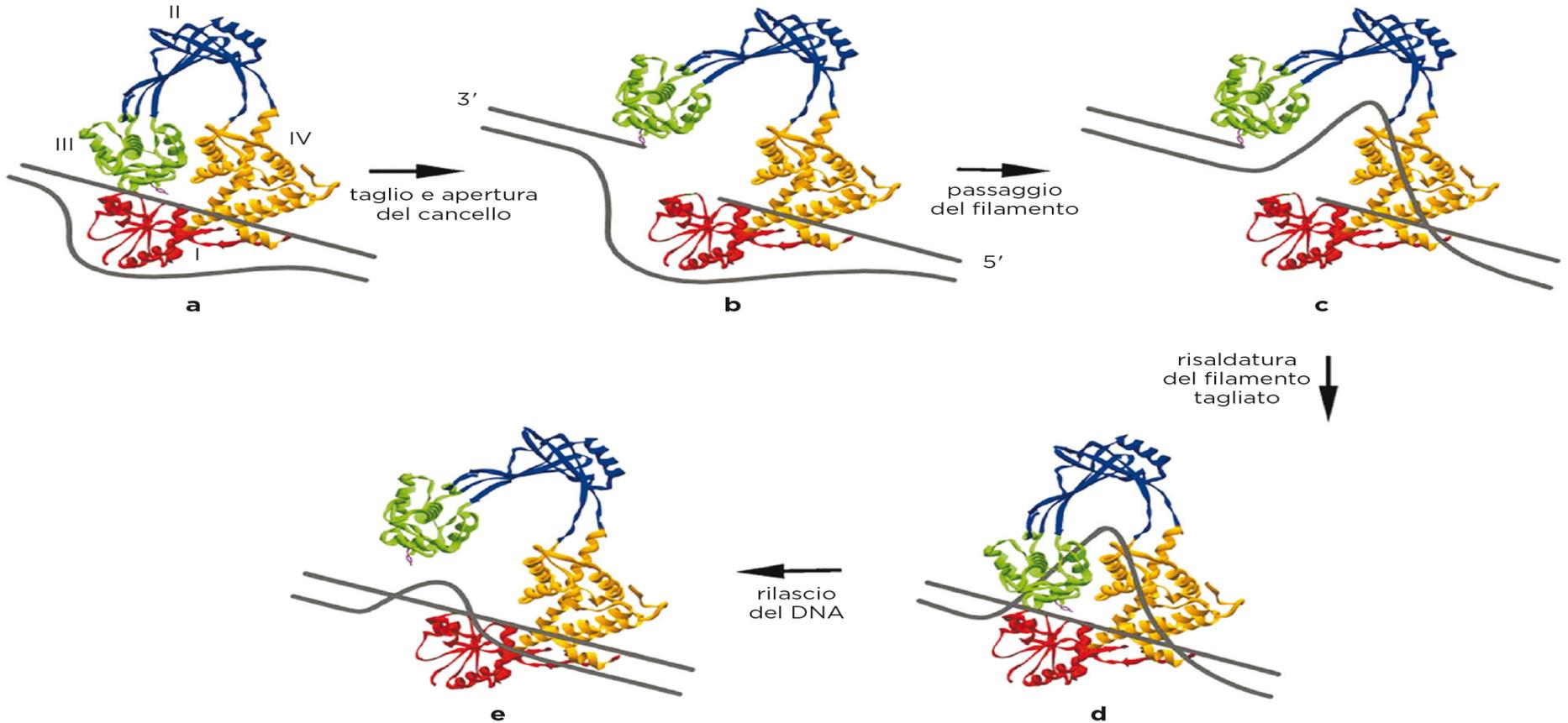
# OPPURE ...LA TOPOISOMERASI TAGLIA LASCIANDO IL FOSFATO IN 3'



# LE TOPOISOMERASI TAGLIANO IL DNA USANDO COME INTERMEDIO UNA TIROSINA COVALENTEMENTE LEGATA AL DNA

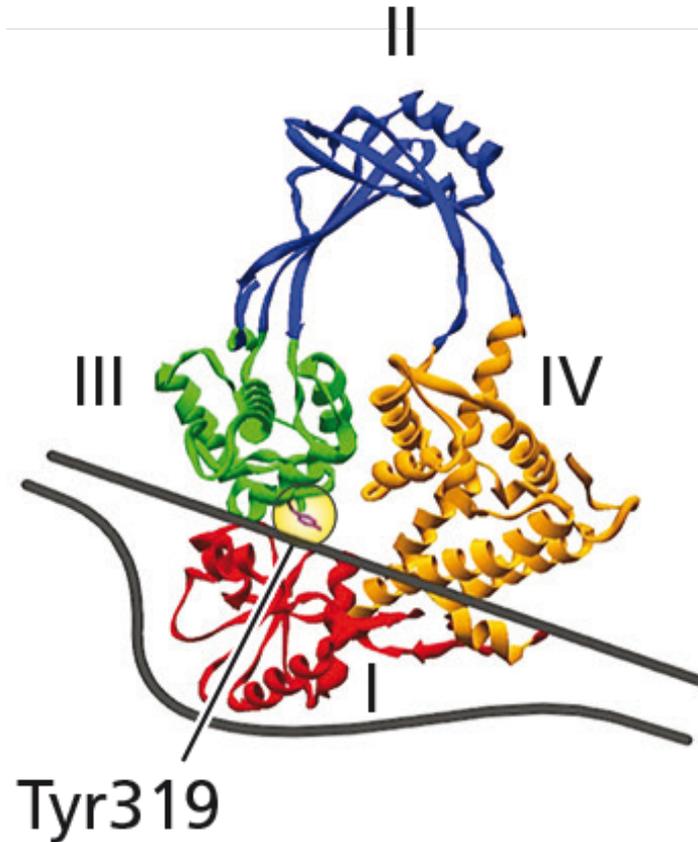


# TOPOISOMERASI I: MODELLO ENZIMA-PONTE



Le topoisomerasi I formano un ponte enzimatico e permettono il passaggio di un filamento di DNA intero attraverso l'altro

# LA TIROSINA “ATTIVA” DELLA TOPOISOMERASI I

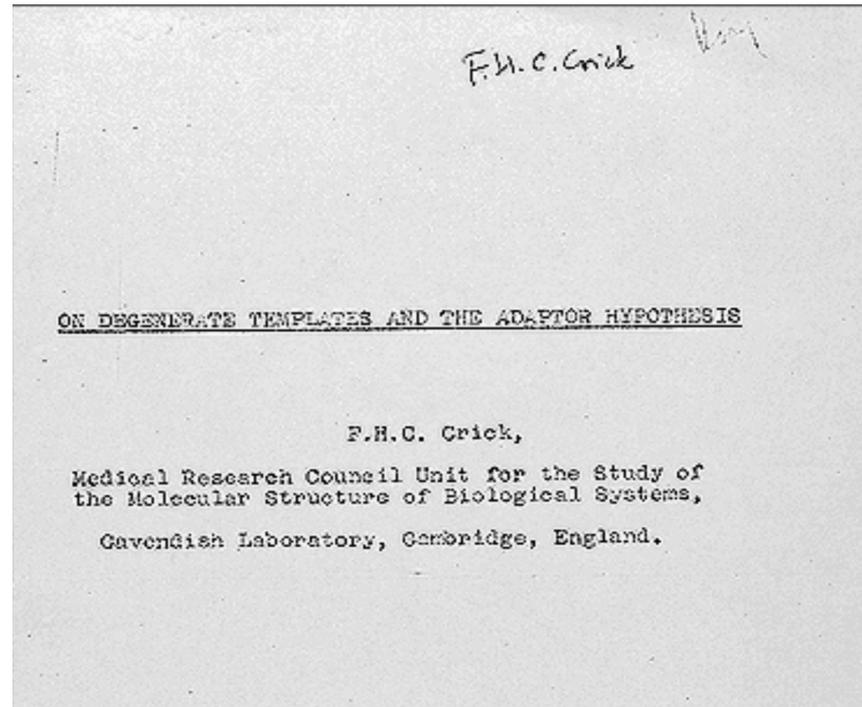


# LA STRUTTURA DEGLI ACIDI NUCLEICI

- 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**



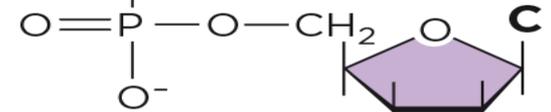
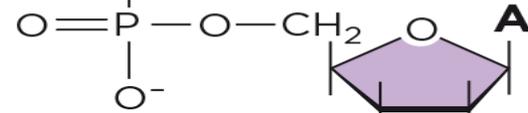
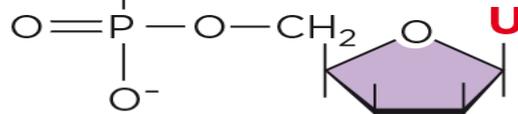
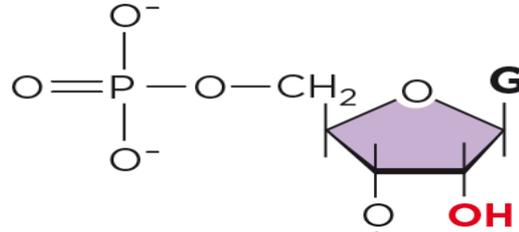
**Figura 2F2.1** Alcuni membri dell'RNA Tie Club.



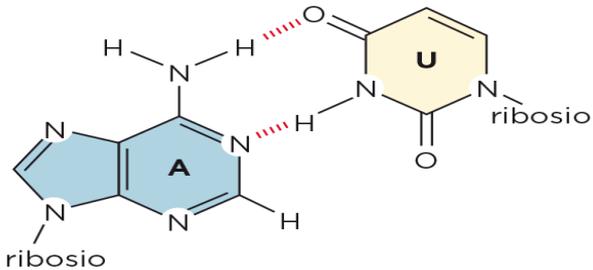
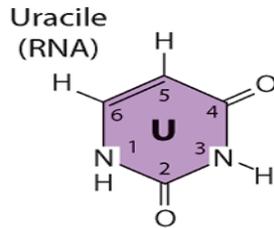
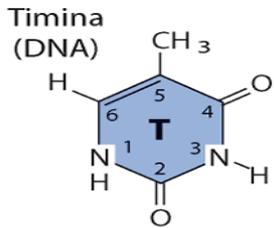
**Figura 2F2.2** La nota di F. Crick sull'ipotesi dell'adattatore del 1955.

# CARATTERISTICHE STRUTTURALI DELL'RNA

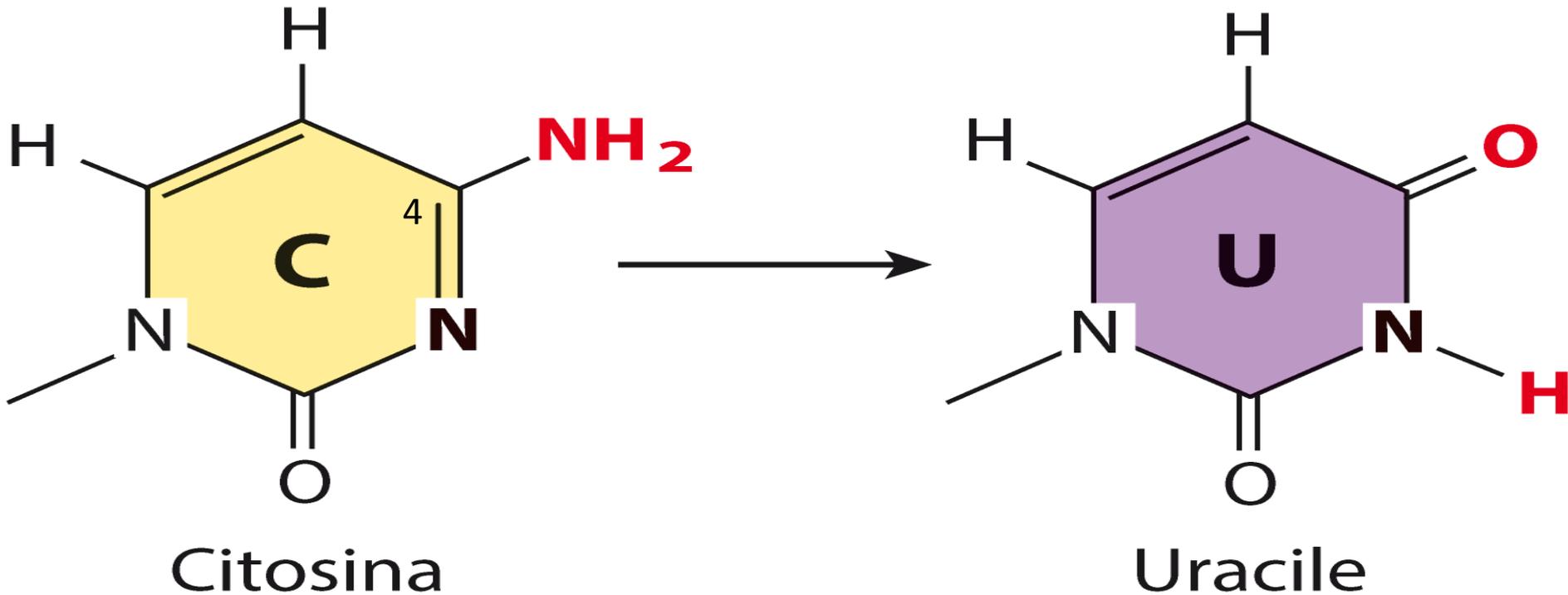
estremità 5'



estremità 3'



# DEAMINAZIONE DELLA CITOSINA IN URACILE



$10^7$  residui di C ogni 24 ore subiscono una deaminazione spontanea  
(100 eventi al giorno/cellula di mammifero)

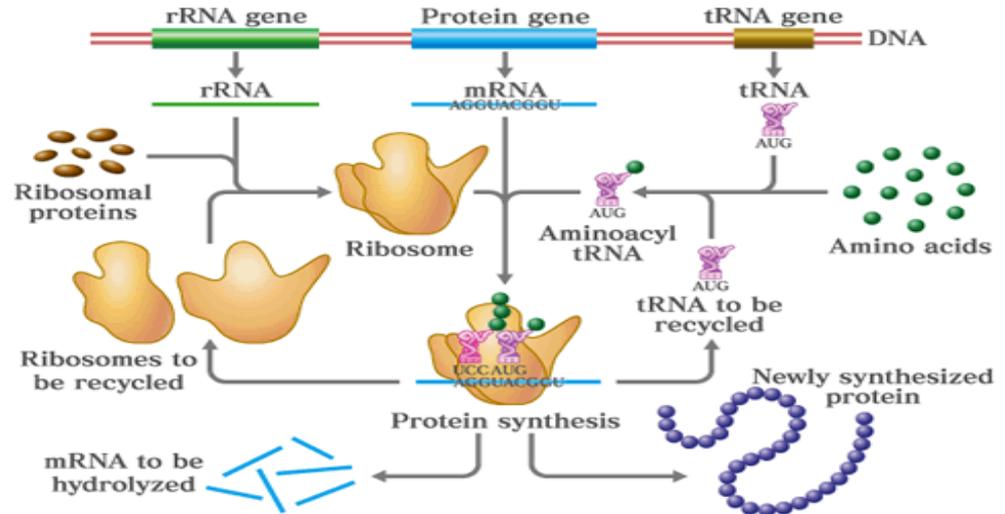
# CARATTERISTICHE DELL'RNA

Differenze strutturali rispetto al DNA:

1. Ribosio
2. Uracile
3. Singola catena polinucleotidica

Funzioni (ruoli) dell'RNA:

1. Intermediario (mRNA)
2. Adattatore (tRNA)
3. Strutturale (rRNA)
4. Regolatore (RNA regolatori)
5. Enzimatica (ribozimi)



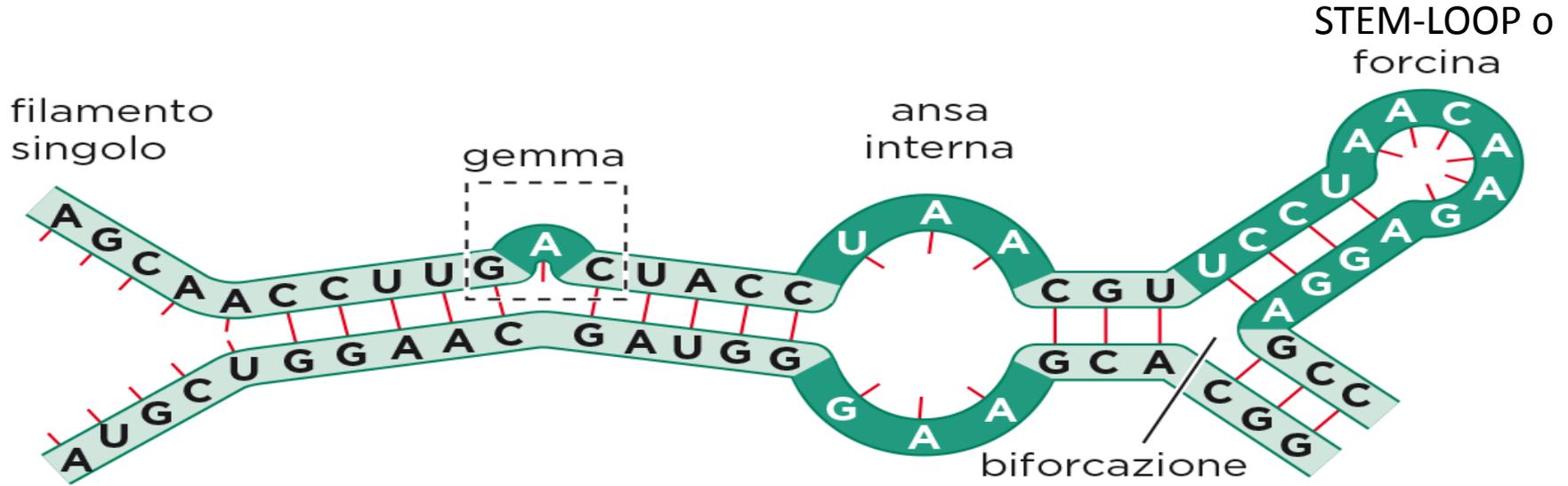
# TIPI DI RNA

## The Roles of Different Kinds of RNA

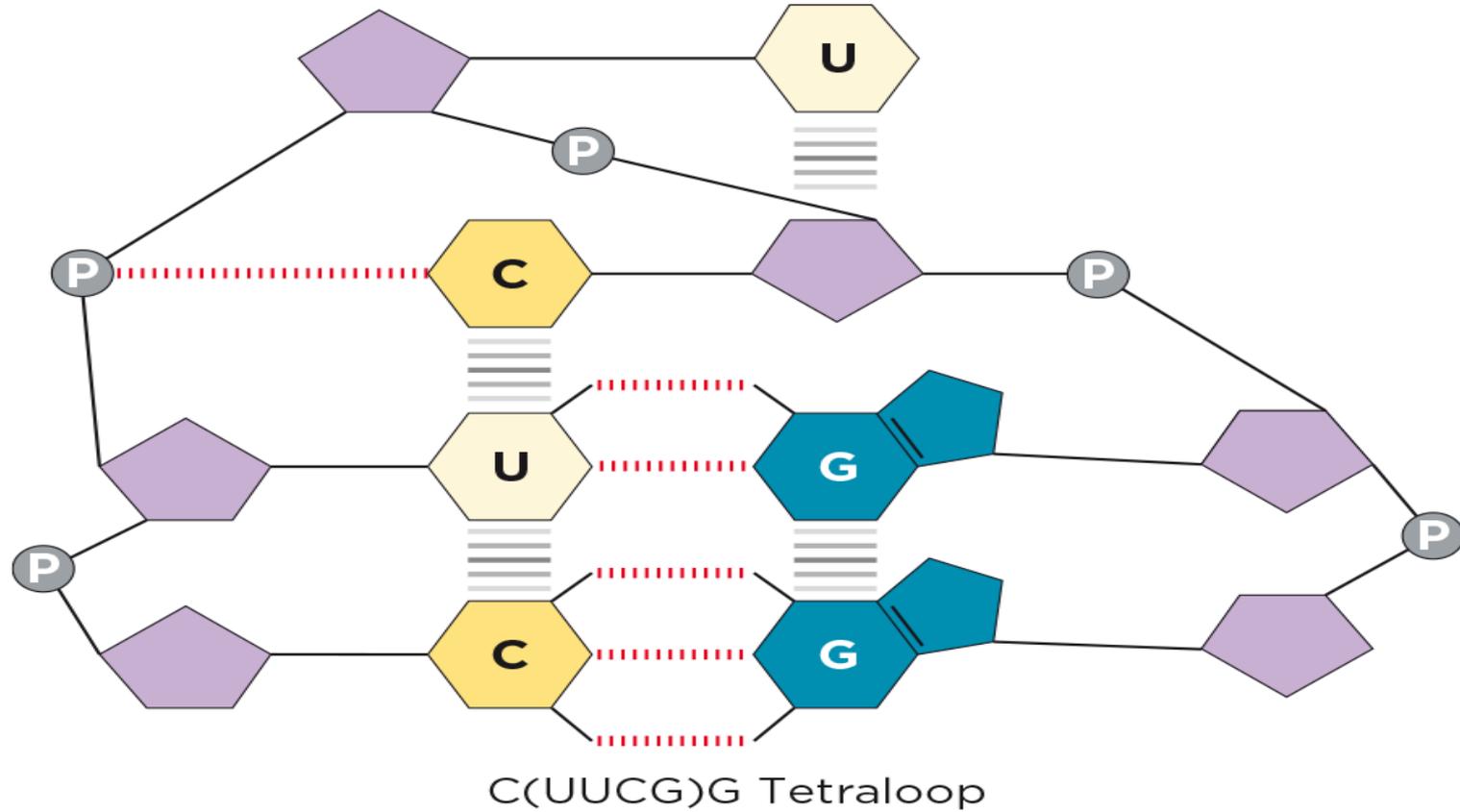
RNA Type	Size	Function
Transfer RNA	Small	Transports amino acids to site of protein synthesis
Ribosomal RNA	Several kinds—variable in size	Combines with proteins to form ribosomes, the site of protein synthesis
Messenger RNA	Variable	Directs amino acid sequence of proteins
Small nuclear RNA	Small	Processes initial mRNA to its mature form in eukaryotes
Small interfering RNA	Small	Affects gene expression; used by scientists to knock out a gene being studied
Micro RNA	Small	Affects gene expression; important in growth and development

Transfer RNA=tRNA; Ribosomal RNA=rRNA; Messenger RNA=mRNA; Small nuclear RNA=snRNA; Small interfering RNA=siRNA; Micro RNA=miRNA o miR

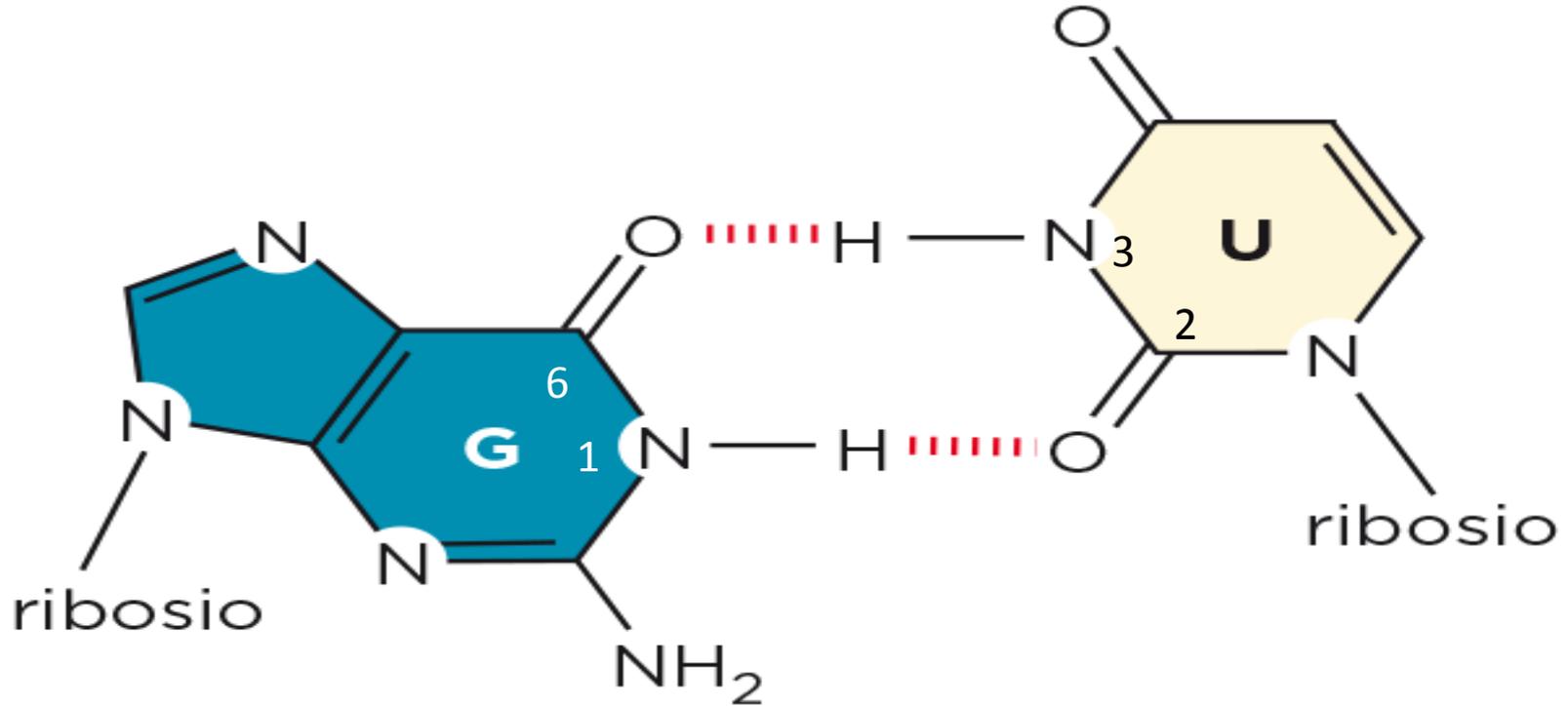
# LE CARATTERISTICHE DELLA DOPPIA ELICA DI RNA



# TETRALOOP DELLA SEQUENZA UUCG

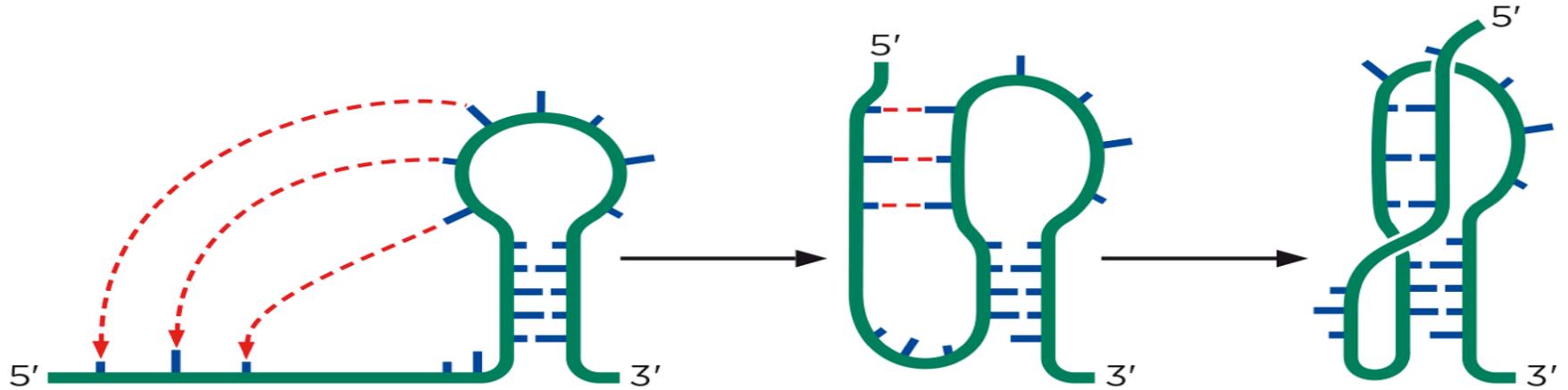


# APPAIAMENTO DELLE BASI G:U NELL'RNA



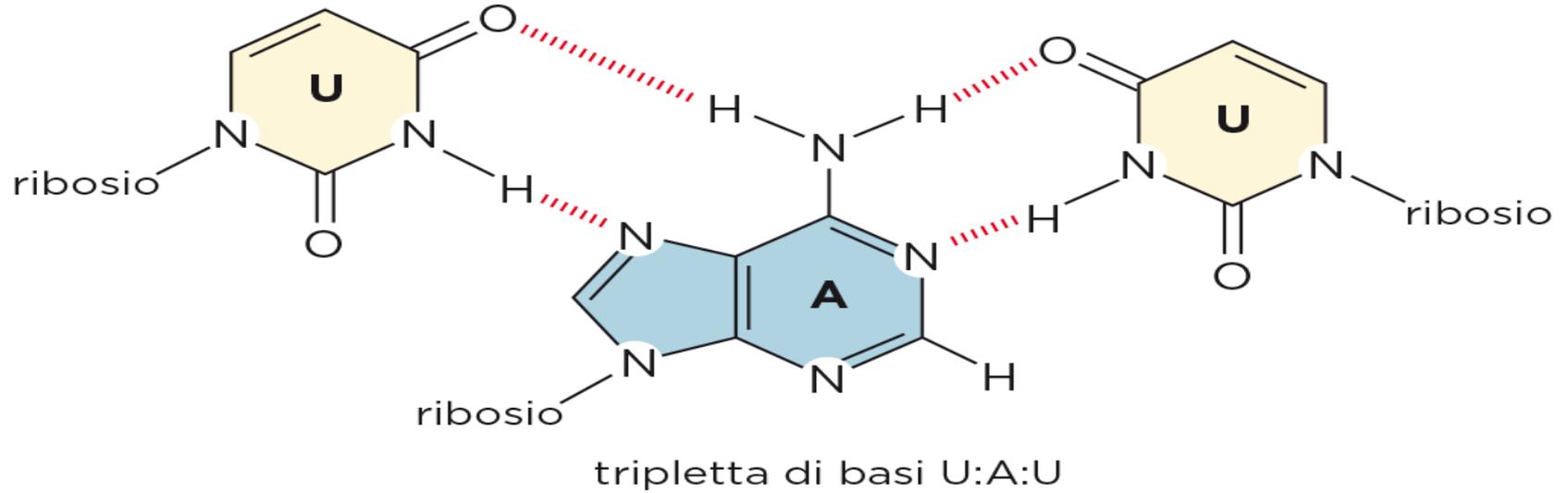
GA e GU le più abbondanti nell'RNA ribosomiale

# PSEUDONODI



Strutture formate da appaiamento di basi fra sequenze complementari non contigue

# LA TRIPLETTA DI BASI U:A:U



# STRUTTURA DEL GENOMA, CROMATINA E NUCLEOSOMA

*Biologia Molecolare, Amaldi F et al., Casa Editrice Ambrosiana, Edizione 2018*

*Biologia Molecolare del gene, Watson JD et al., Zanichelli Editore, Edizione 2015*

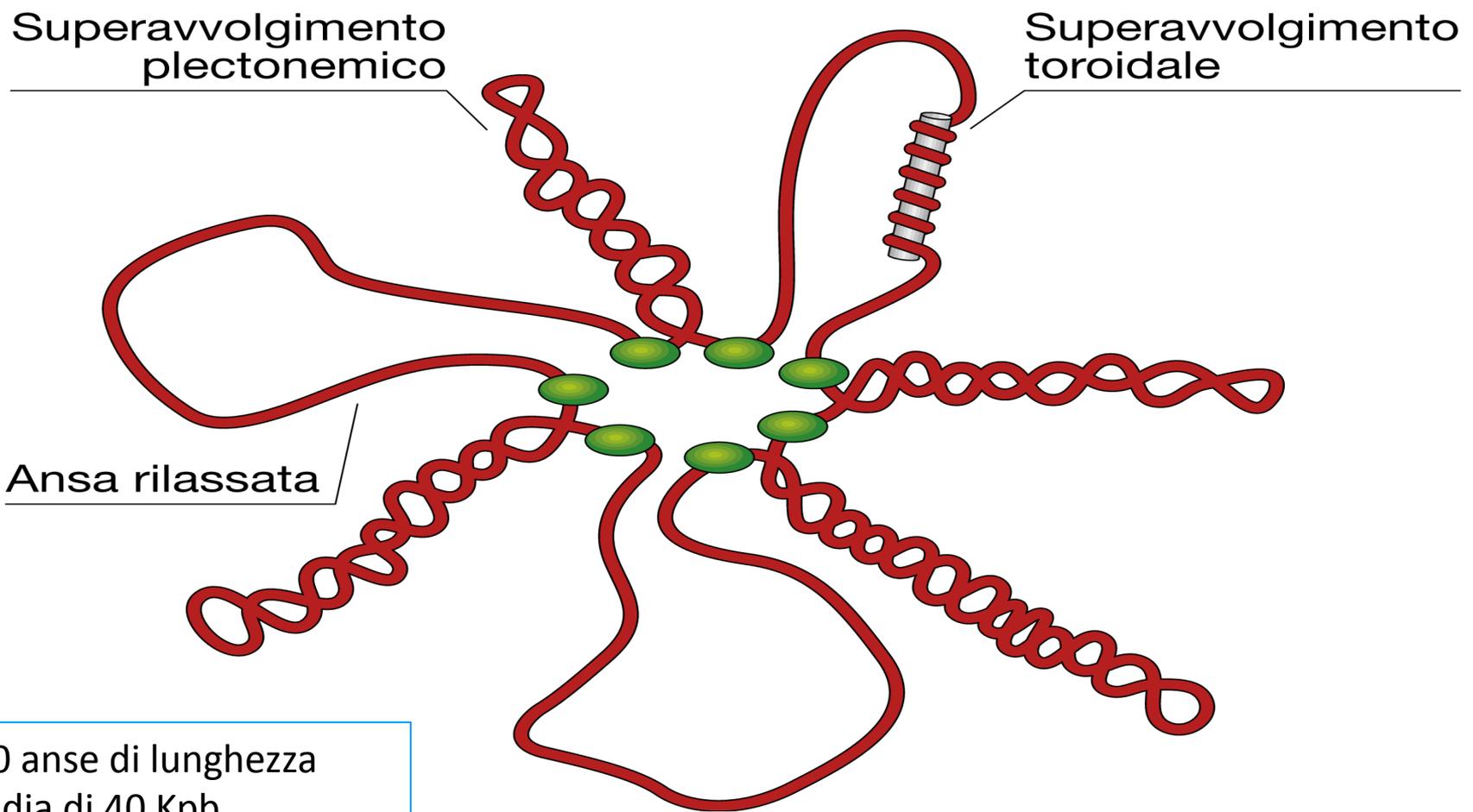
*Biologia Molecolare, Zlatanova J et al., Zanichelli Editore, Edizione 2018*

# STRUTTURA DEL GENOMA, CROMATINA E NUCLEOSOMA

- Impacchettamento del genoma batterico e del DNA eucariotico
- Nucleosomi e proprietà strutturali e funzionali della cromatina
- Regolazione della cromatina
- Genomi procariotici e eucariotici

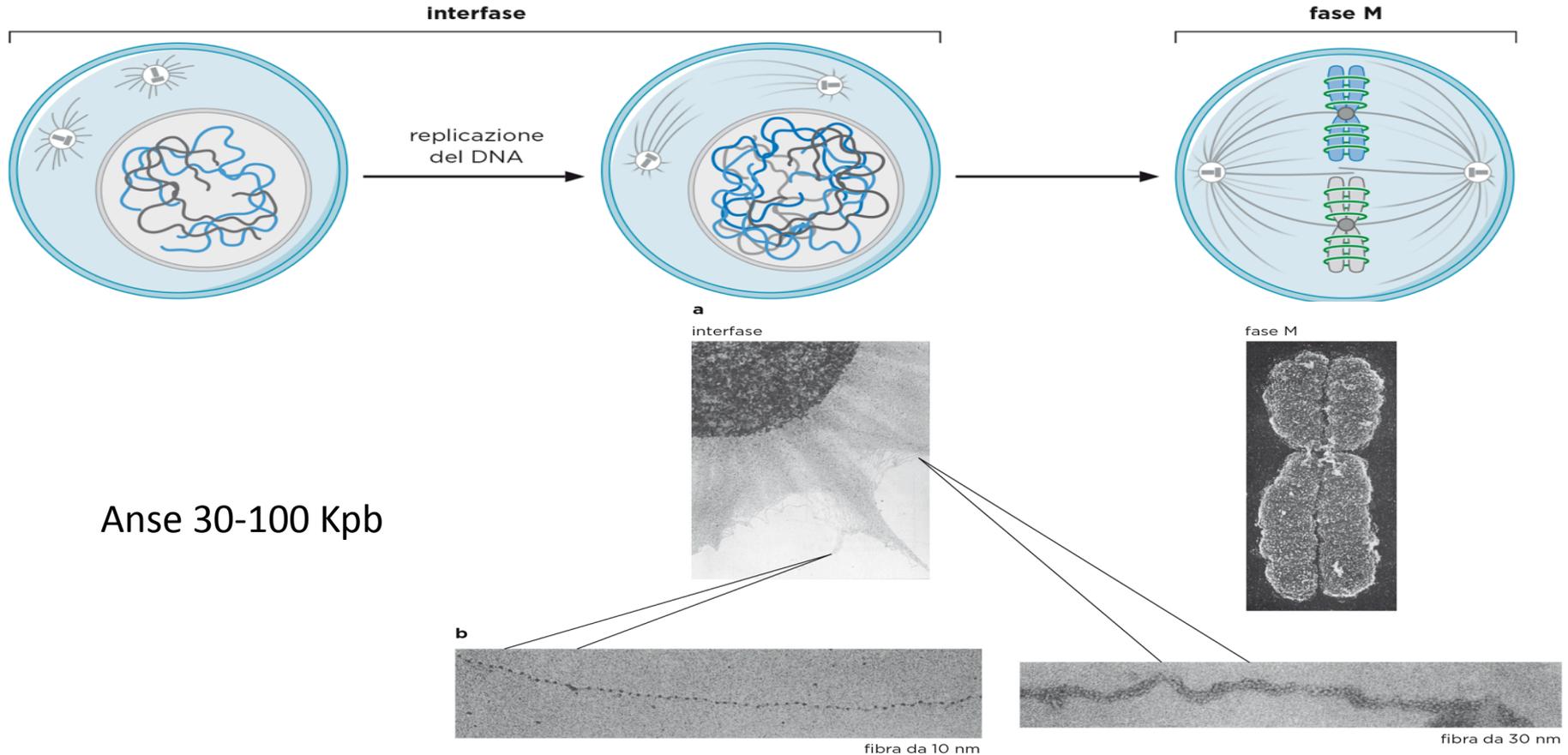
# **STRUTTURA DEL GENOMA, CROMATINA E NUCLEOSOMA**

- **Impacchettamento del genoma batterico e del DNA eucariotico**
- Nucleosomi e proprietà strutturali e funzionali della cromatina
- Regolazione della cromatina
- Genomi procariotici e eucariotici

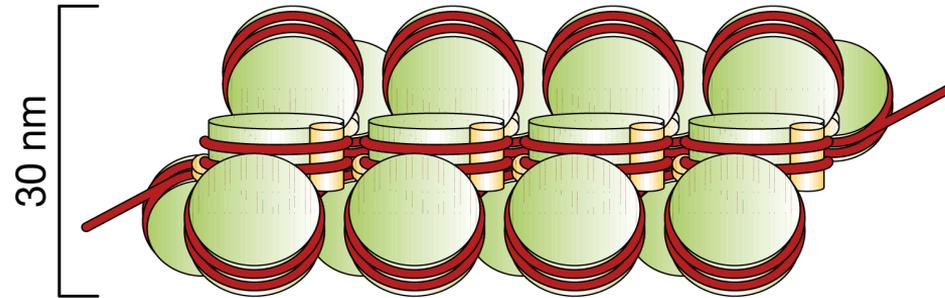
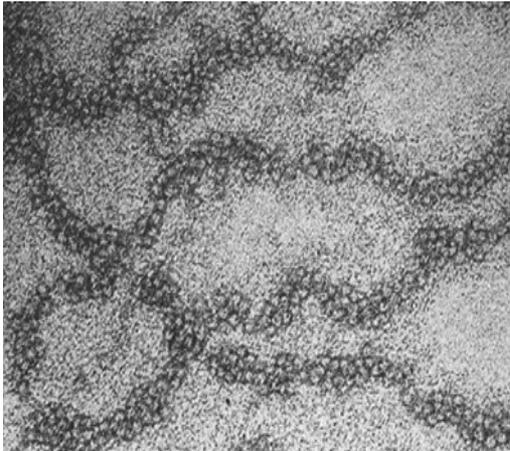
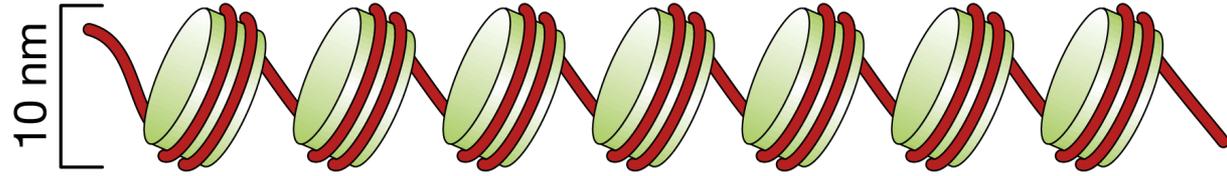
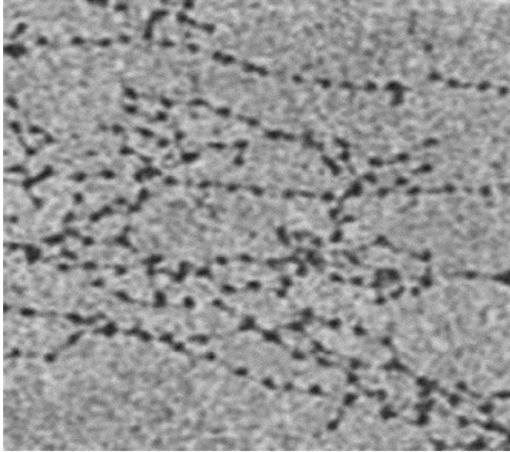


**Figura 4.4** Struttura del nucleoide di *E. coli*

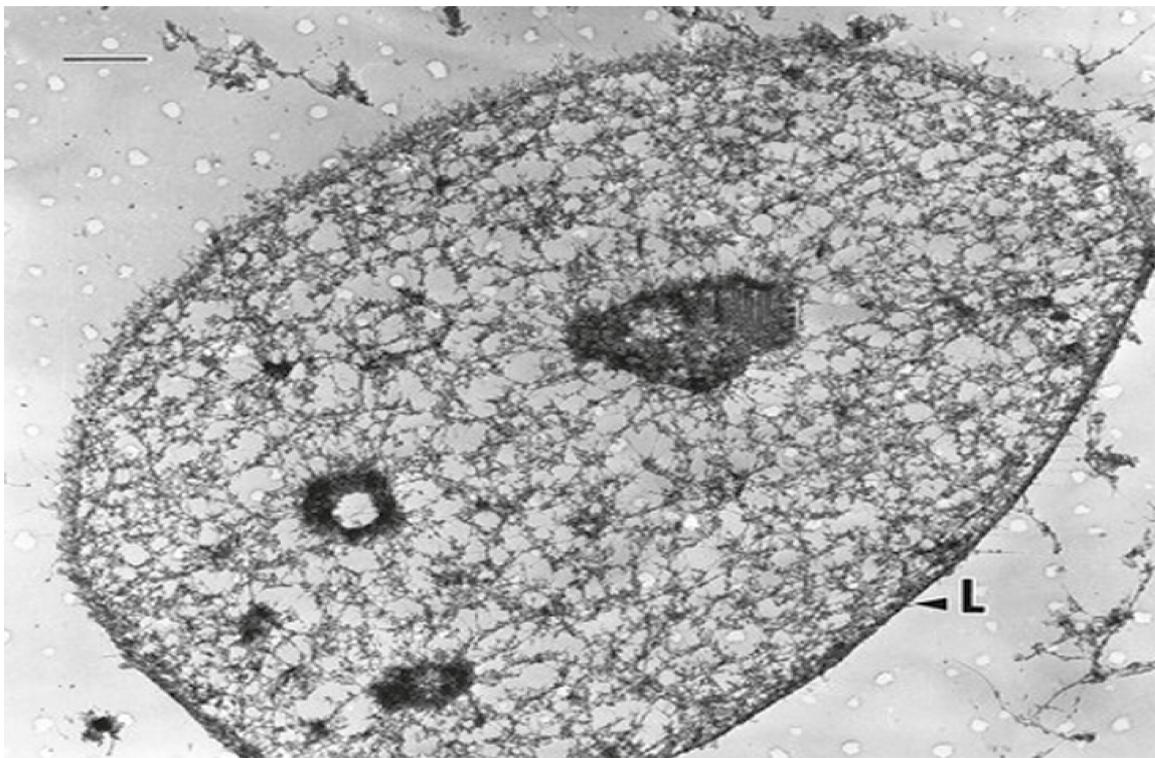
# CAMBIAMENTI DELLA STRUTTURA CROMATINICA: Cromatina interfascica e cromosomi mitotici



# ORGANIZZAZIONE DEL DNA IN FIBRE CROMATINICHE



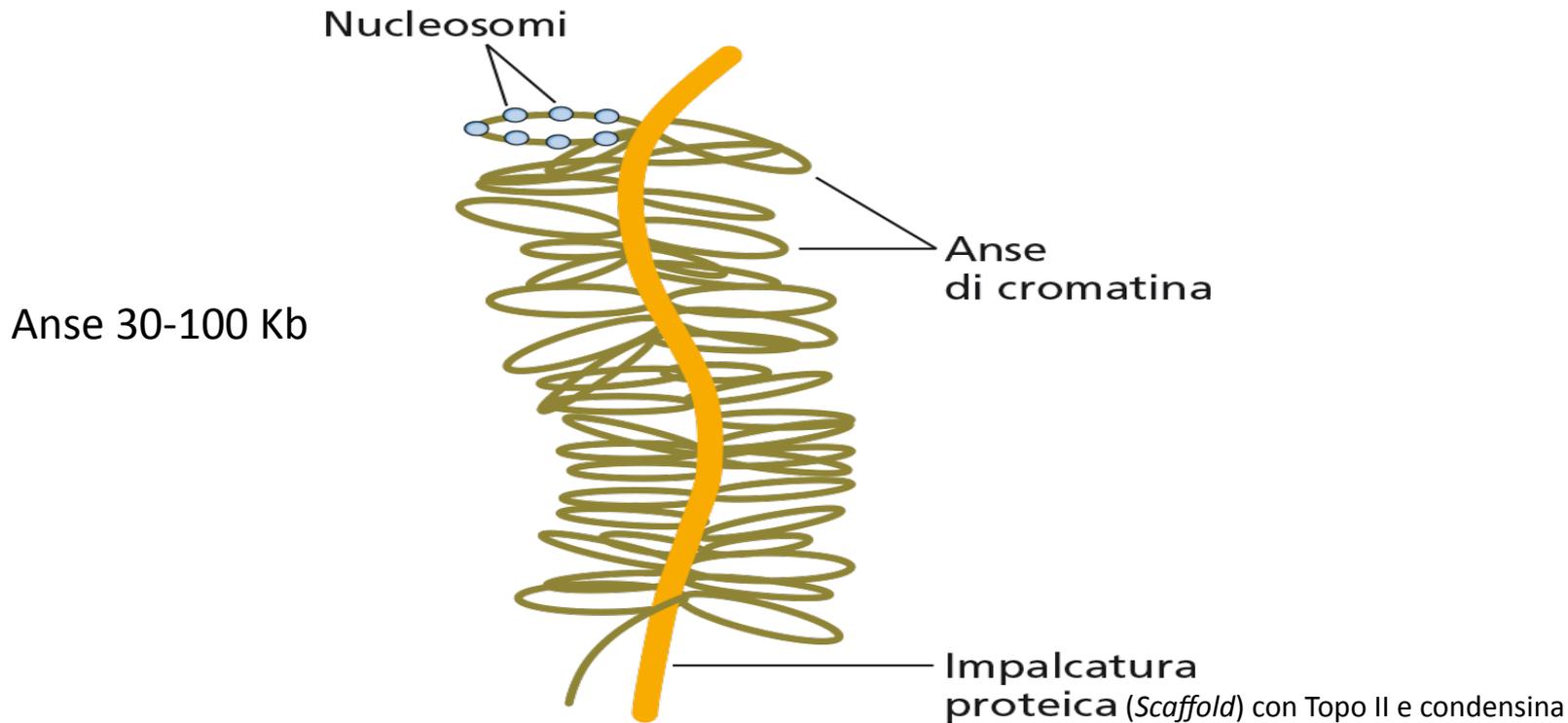
**Figura 4.15** Organizzazione del DNA in fibre cromatiniche.



**Figura 4.5** Matrice nucleare di una cellula umana visualizzata al microscopio elettronico.

- Nel DNA esistono sequenze specifiche per l'ancoraggio alla matrice nucleare durante l'interfase: MAR (*Matrix Attachment Region*)
- Le topoisomerasi II e le proteine SMC (*Structural Maintenance of Chromosome*) sono componenti essenziali della matrice nucleare

# STRUTTURA DEL CROMOSOMA MITOTICO

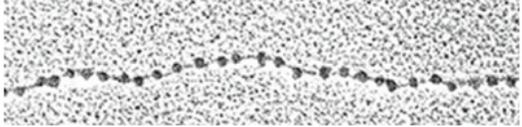
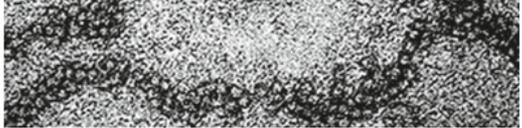
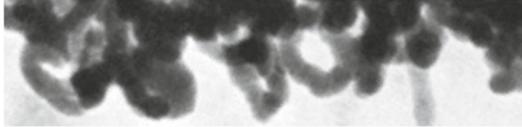


Nel DNA esistono sequenze specifiche per l'ancoraggio all'impalcatura dei cromosomi mitotici:  
SAR (*Scaffold Attachment Region*)

# LA CROMATINA INTERFASICA HA GRADI DIVERSI DI CONDENSAZIONE DEL MATERIALE GENETICO

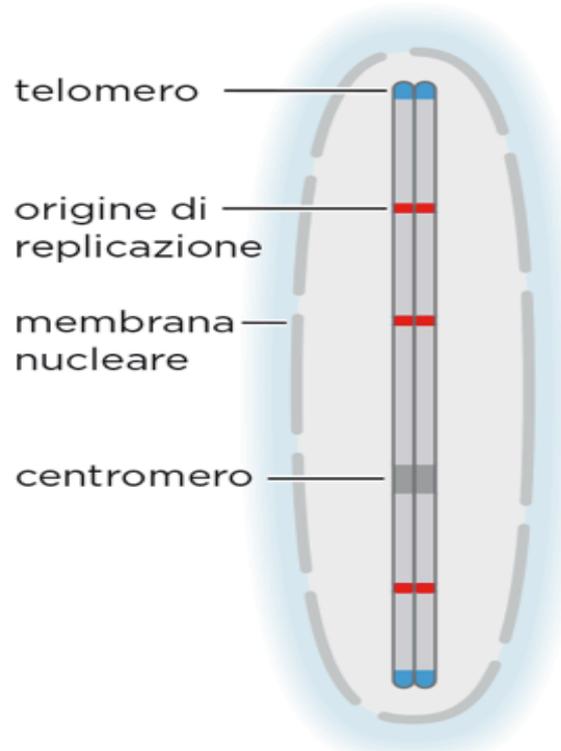
- **EUCROMATINA** (fibre cromatiniche meno condensate, con minori livelli di organizzazione; alti livelli di espressione genica)
- **ETEROCROMATINA** (forma altamente condensata con ridotta espressione genica)
  - **COSTITUTIVA** (per regioni del genoma non codificanti)
  - **FACOLTATIVA** (solo in alcune situazioni per regioni del DNA codificanti)

## LIVELLI DI IMPACCHETTAMENTO DELLA CROMATINA

Struttura	Rap. imp.	
Fibra da 10 nm “collana di perle”	6	
Fibra da 30 nm “solenioide”	40	
Anse cromosomiche da 100-400 nm	1000	
Cromosomi mitotici	10000	

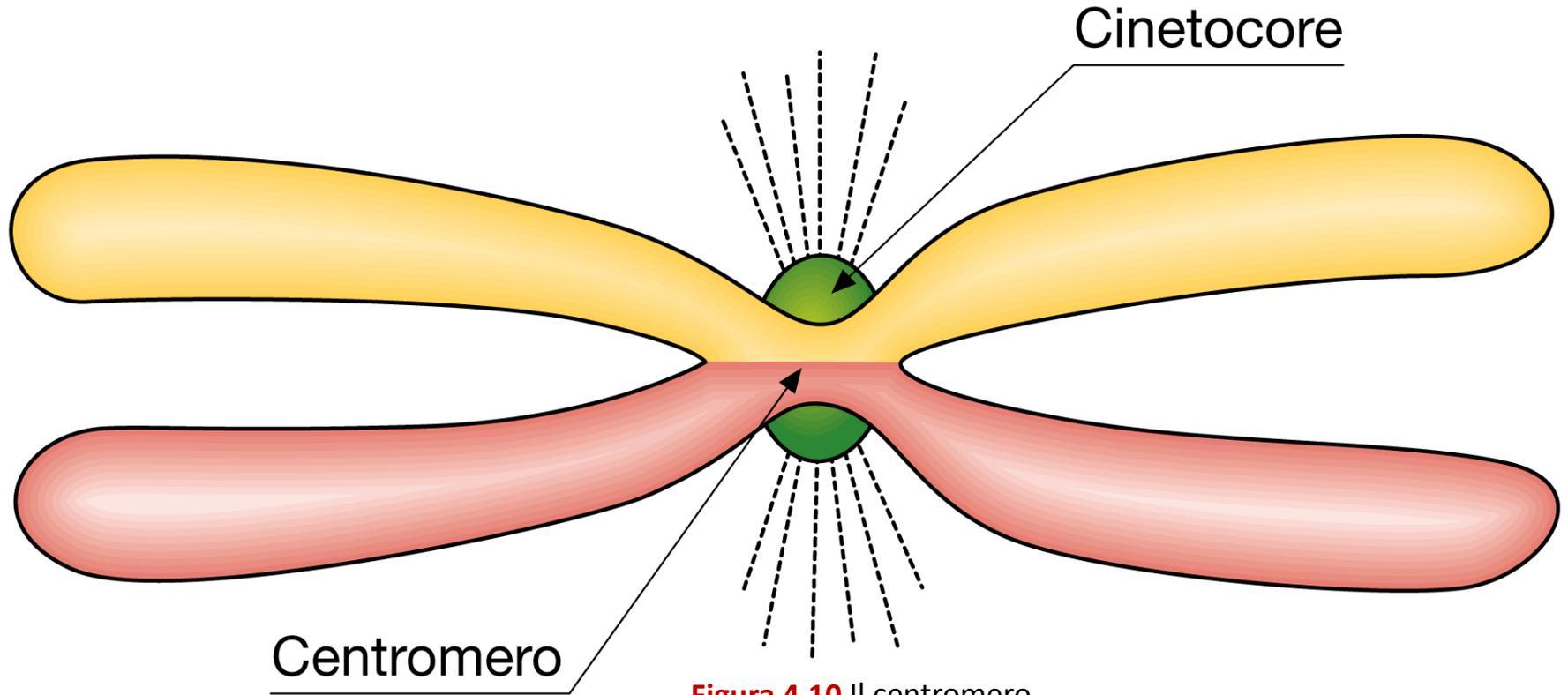
**Figura 4.21** Compattamento della cromatina.

# CROMOSOMA MITOTICO: MASSIMO GRADO DI COMPATTAMENTO



- Ogni cromosoma mitotico appare come due filamenti (cromatidi fratelli) tenuti insieme nella regione del centromero
- Ciascun cromatidio ( o cromosoma eucariotico) contiene due telomeri, un centromero e più origini di replicazione

## IL CENTROMERO

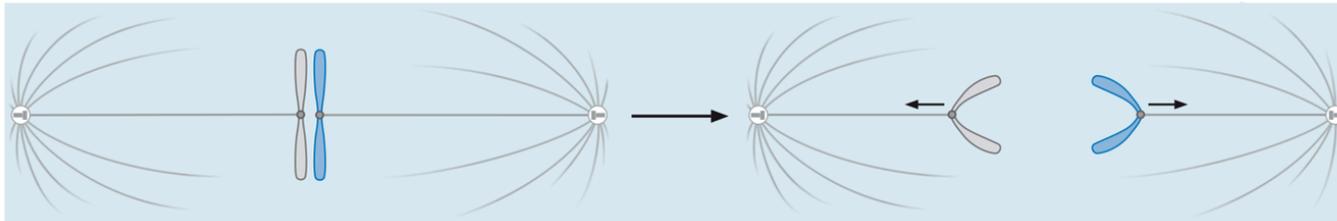


**Figura 4.10** Il centromero.

Nella maggior parte degli eucarioti i centromeri hanno dimensioni  $>40$  Kpb e con numerose sequenze ripetute di DNA

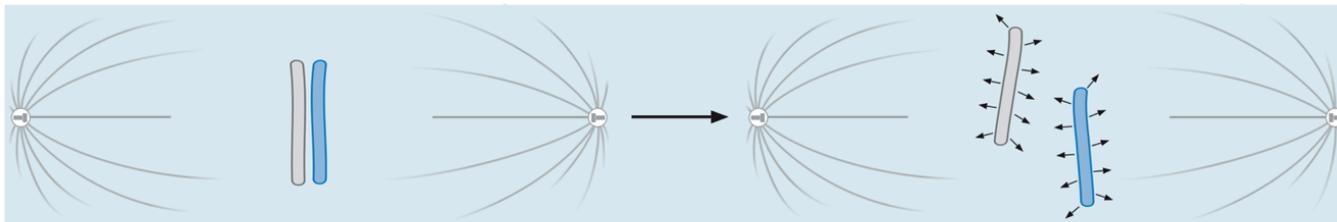
# E' FONDAMENTALE AVERE UN SOLO CENTROMERO PER OGNI CROMOSOMA

**a** un centromero



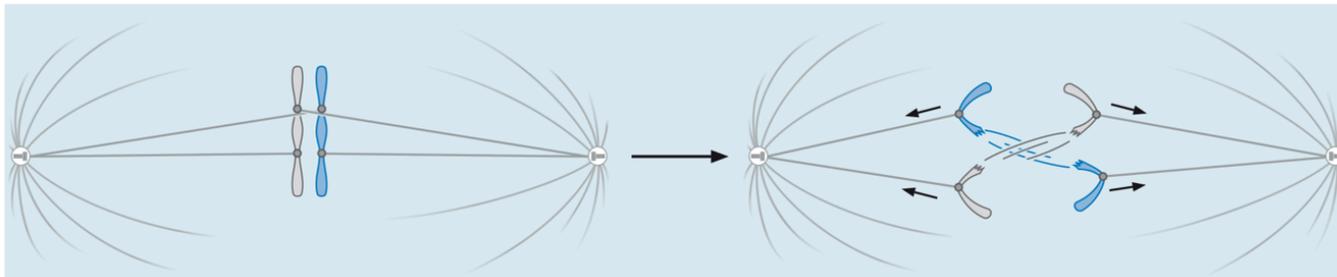
un cromosoma per ciascuna cellula

**b** assenza di centromeri



segregazione casuale dei cromosomi

**c** due centromeri



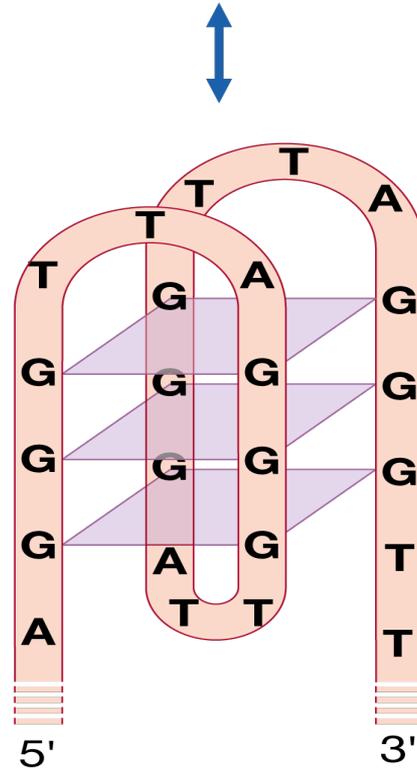
rottura dei cromosomi  
(dovuta a più di un centromero)

# STRUTTURA DI UN TIPICO TELOMERO



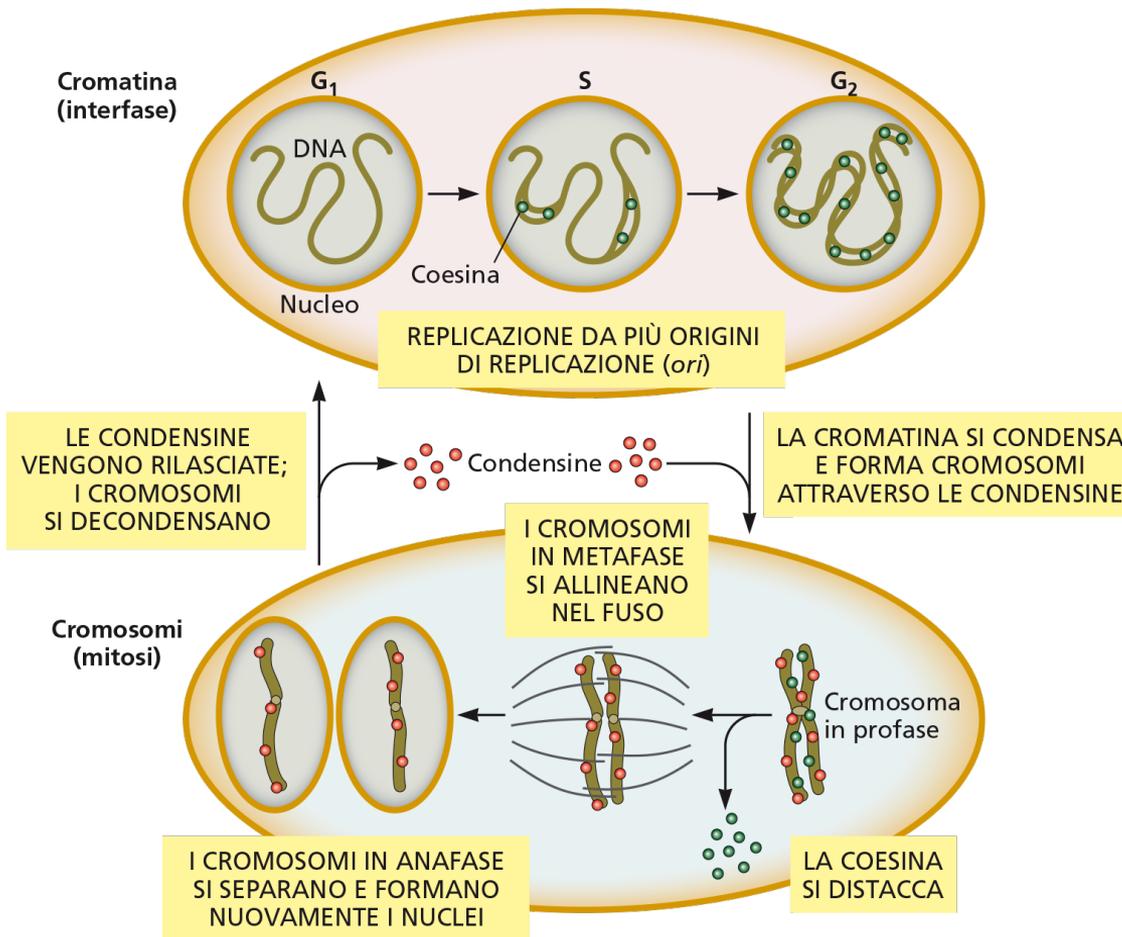
La regione del DNA a singolo filamento al 3' del cromosoma può essere lungo centinaia di basi

5' XXXXGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTT 3'  
 3' XXXXCCCAATCCCAATCCCAA 5'

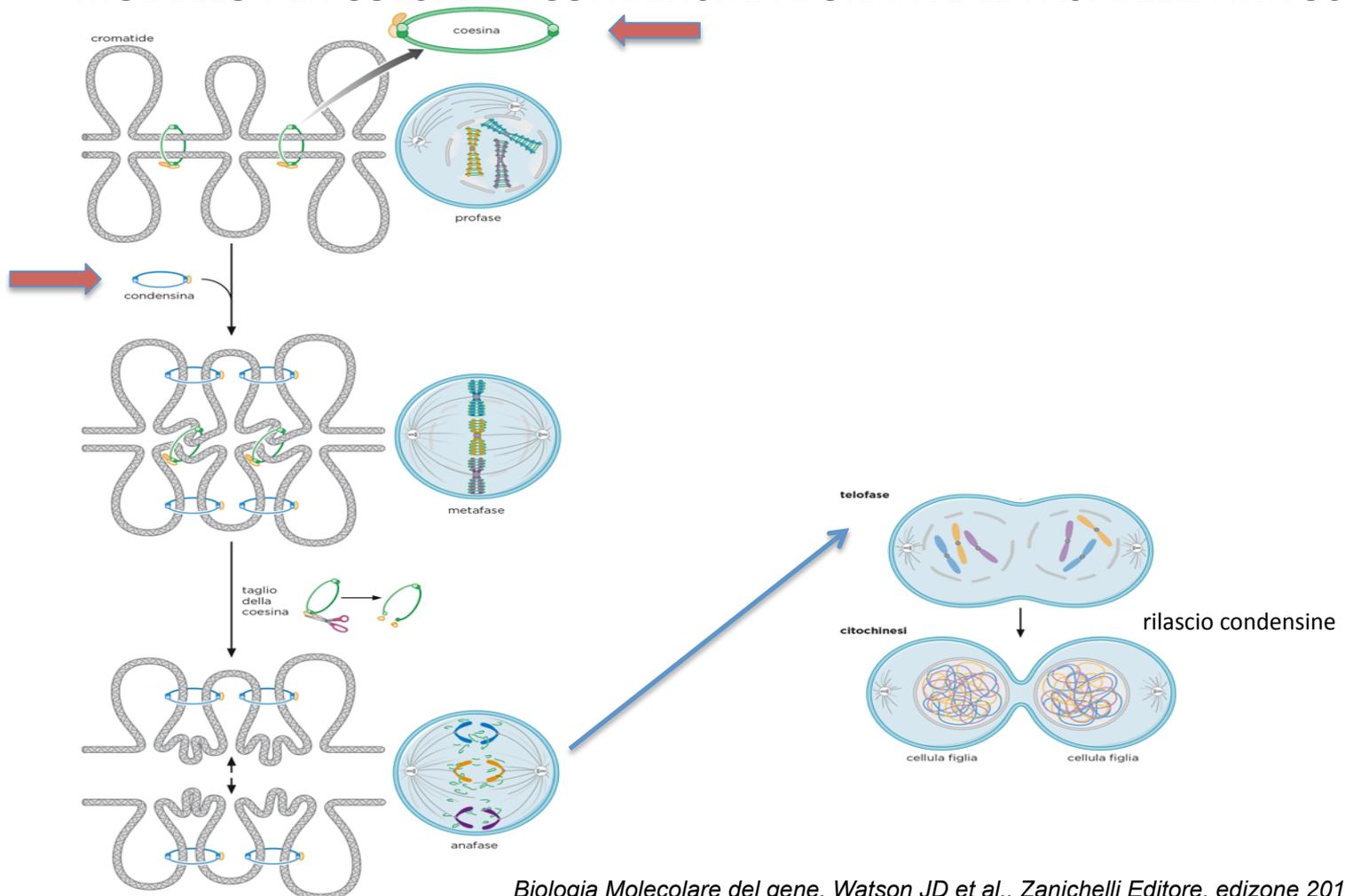


**Figura 4.13** Il DNA telomerico può adottare una struttura a quartetti di G.

# LA FORMAZIONE E IL MANTENIMENTO DEI CROMOSOMI MITOTICI RICHIEDONO PROTEINE SPECIFICHE: CONDENSINA E COESINA



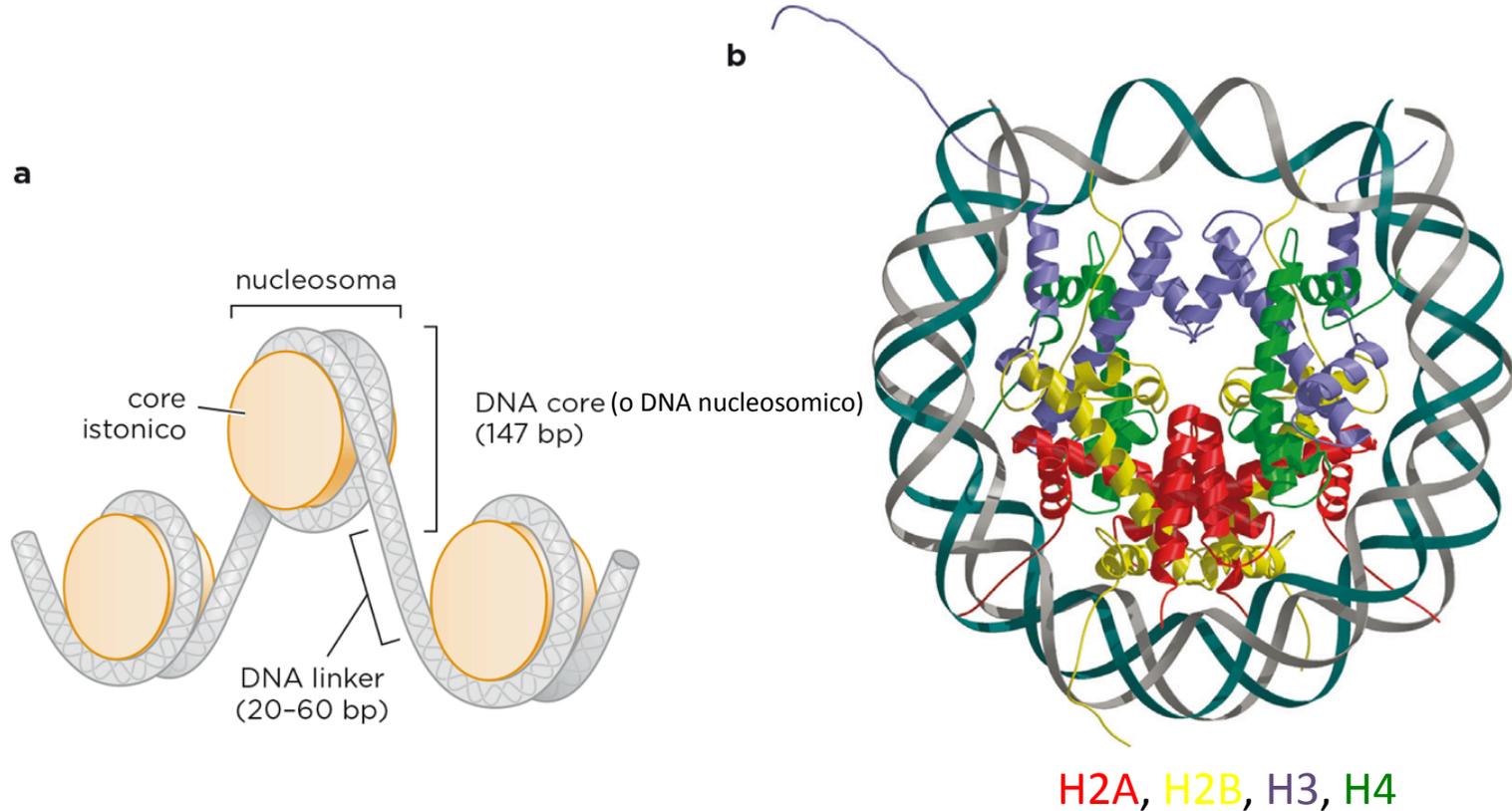
# MODELLO PER COESINA E CONDENSINA DURANTE LE FASI DELLA MITOSI



# STRUTTURA DEL GENOMA, CROMATINA E NUCLEOSOMA

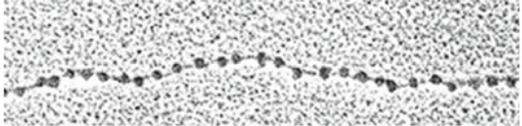
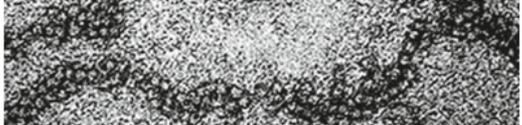
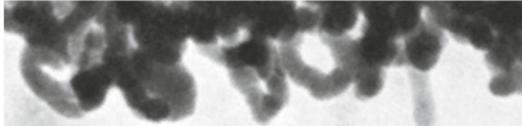
- Impacchettamento del genoma batterico e del DNA eucariotico
- **Nucleosomi e proprietà strutturali e funzionali della cromatina**
- Regolazione della cromatina
- Genomi procariotici e eucariotici

# NUCLEOSOMI: UNITA' DI BASE DELLA CONDENSAZIONE DEL DNA



Il nucleosoma rappresenta il primo livello di base dell'organizzazione dei cromosomi eucariotici ed è costituito da un complesso DNA-proteine istoniche. Essi rappresentano i mattoni fondamentali del cromosoma.

## LIVELLI DI IMPACCHETTAMENTO DELLA CROMATINA

Struttura	Rap. imp.	
Fibra da 10 nm “collana di perle”	6	
Fibra da 30 nm “solenoide”	40	
Anse cromosomiche da 100-400 nm	1000	
Cromosomi mitotici	10000	

**Figura 4.21** Compattamento della cromatina.

**TABELLA 8.4** Lunghezza media del DNA linker in differenti organismi

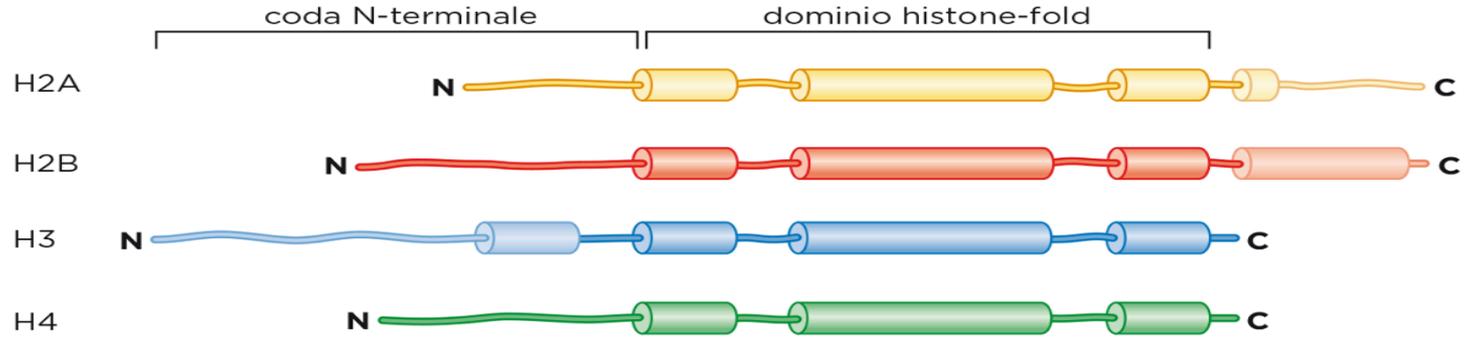
<b>Specie</b>	<b>Lunghezza media del DNA linker (bp)</b>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13–18
Riccio di mare (sperma)	~110
<i>Drosophila melanogaster</i>	~33
Uomo	38–53

**TABELLA 8.5** Proprietà generali degli istoni

Tipo di istone	Istone	Peso molecolare ( $M_r$ )	% di lisina e arginina
Proteine del core istonico	H2A	14 000	20
	H2B	13 900	22
	H3	15 400	23
	H4	11 400	24
Istone linker	H1	20 800	32

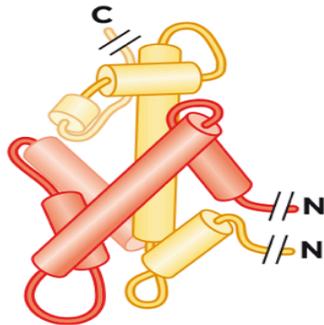
# I COMPONENTI DEL CORE ISTONICO

**a**

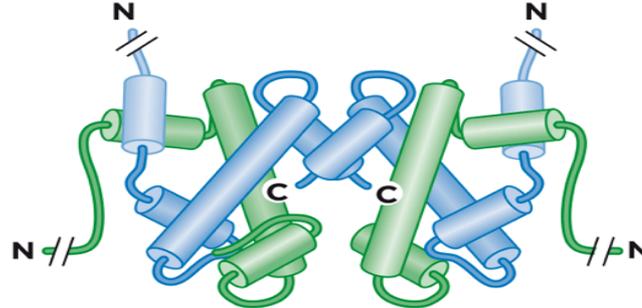


**b**

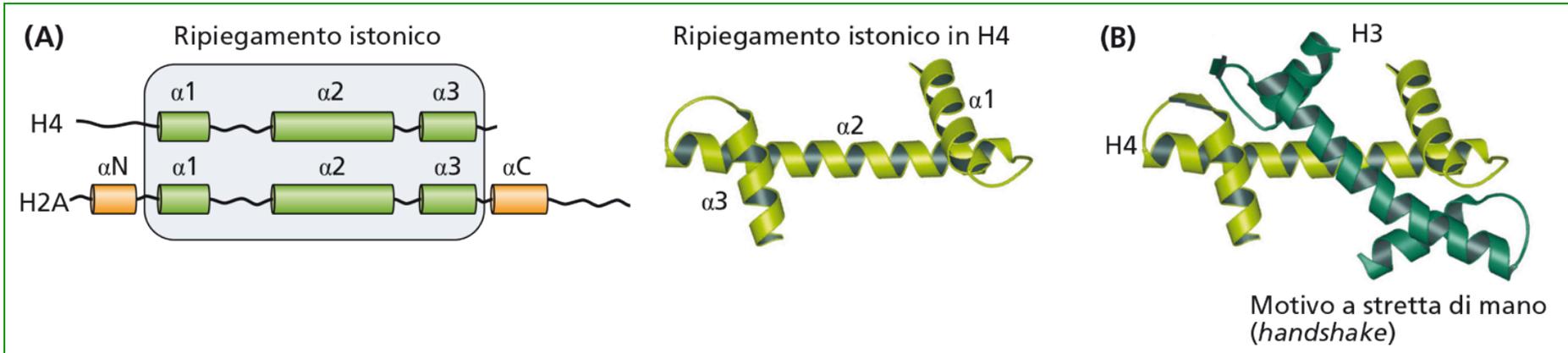
dimero H2A•H2B



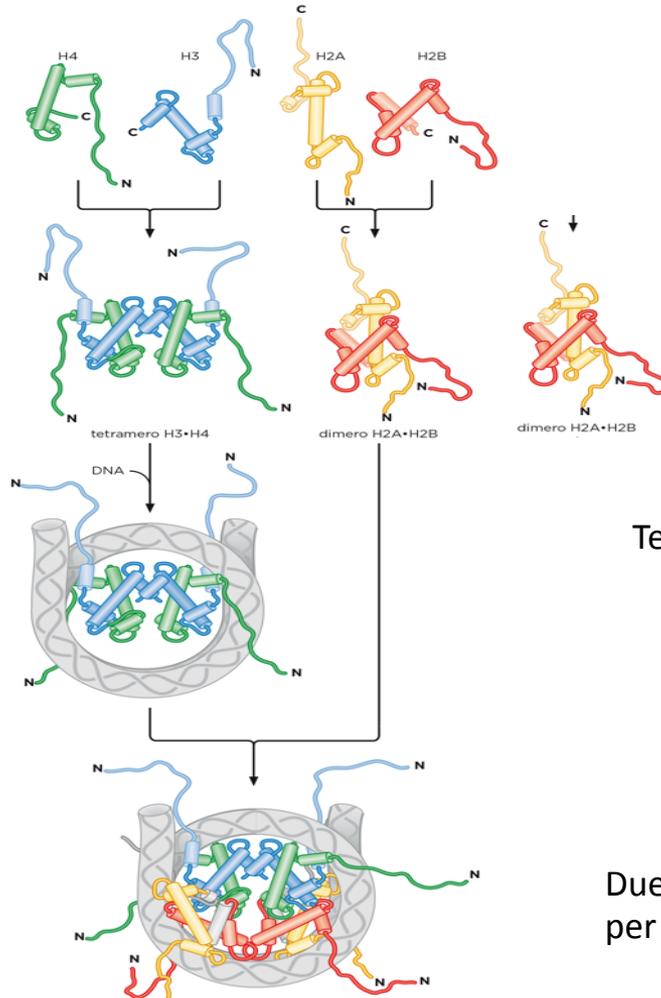
tetramero H3•H4



# IL RPIEGAMENTO ISTONICO E IL MOTIVO A STRETTA DI MANO



# ASSEMBLAGGIO DI UN NUCLEOSOMA

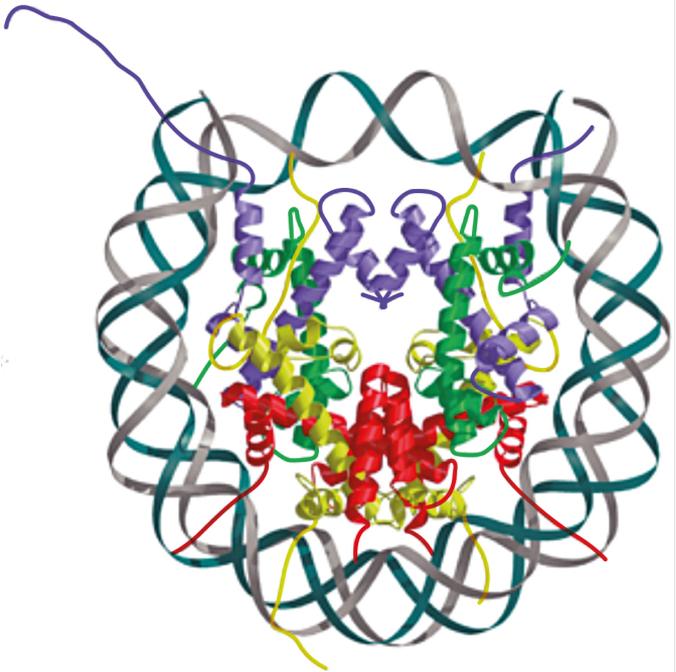
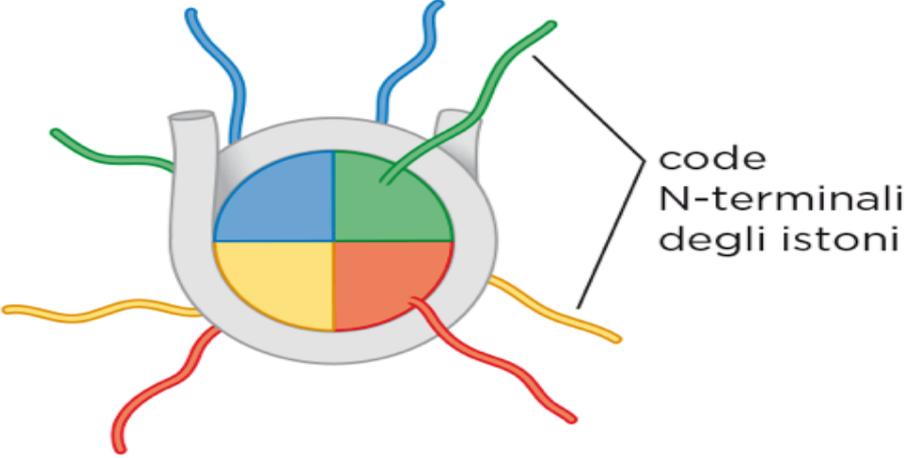
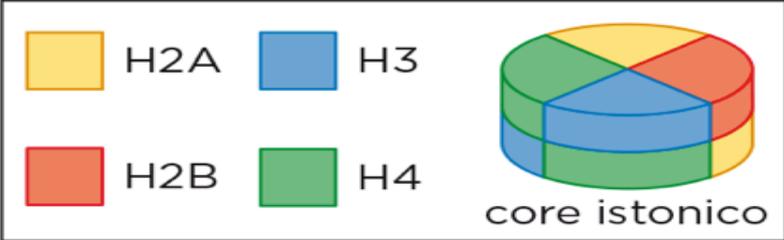


Tetramero H3•H4 e i due dimeri H2A•H2B si formano indipendentemente

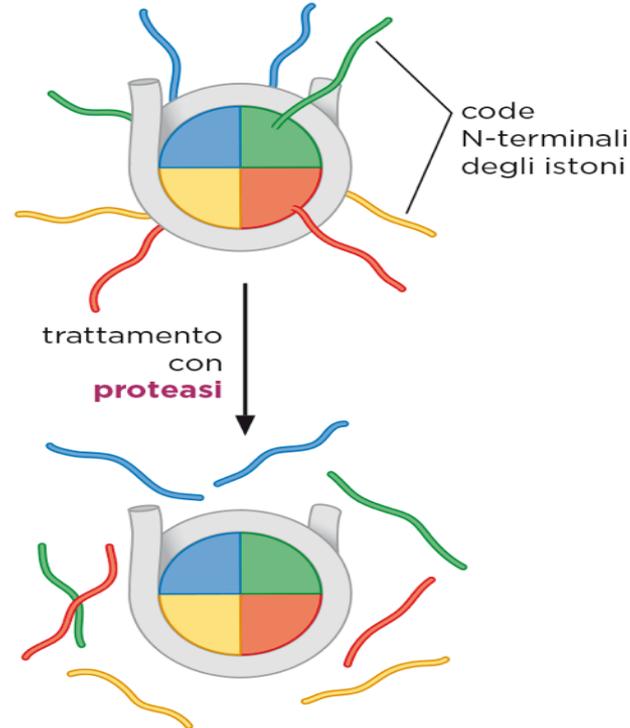
Tetramero H3•H4 si lega al DNA

Due Dimeri H2A•H2B si assemblano per ultimi

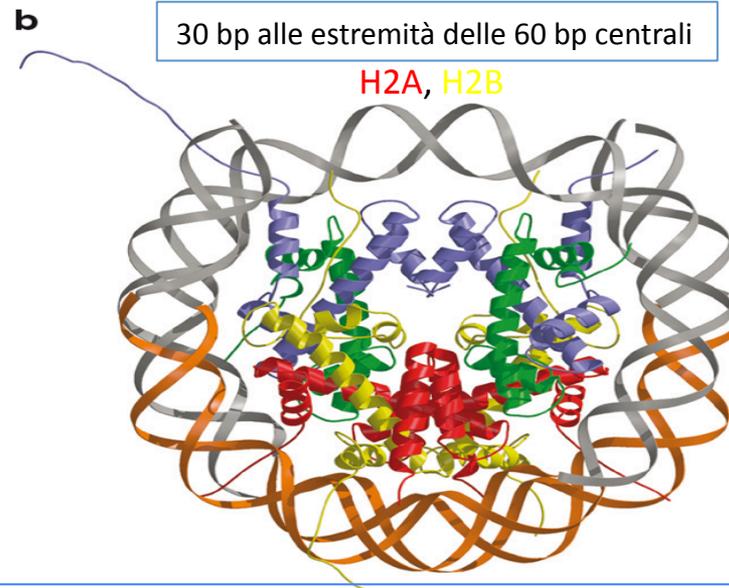
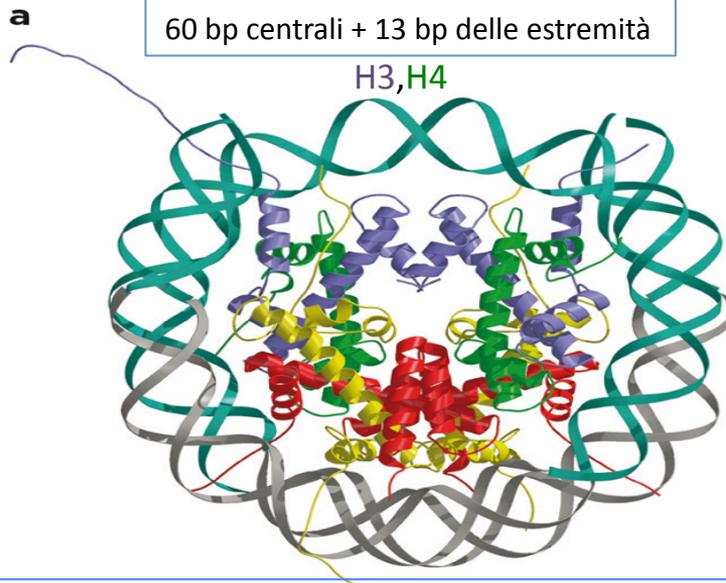
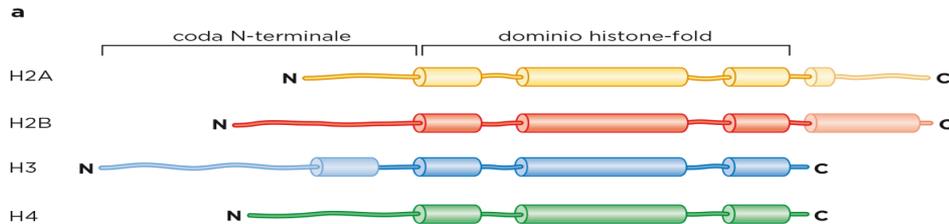
# I NUCLEOSOMI



# LE CODE AMMINO-TERMINALI DEGLI ISTONI

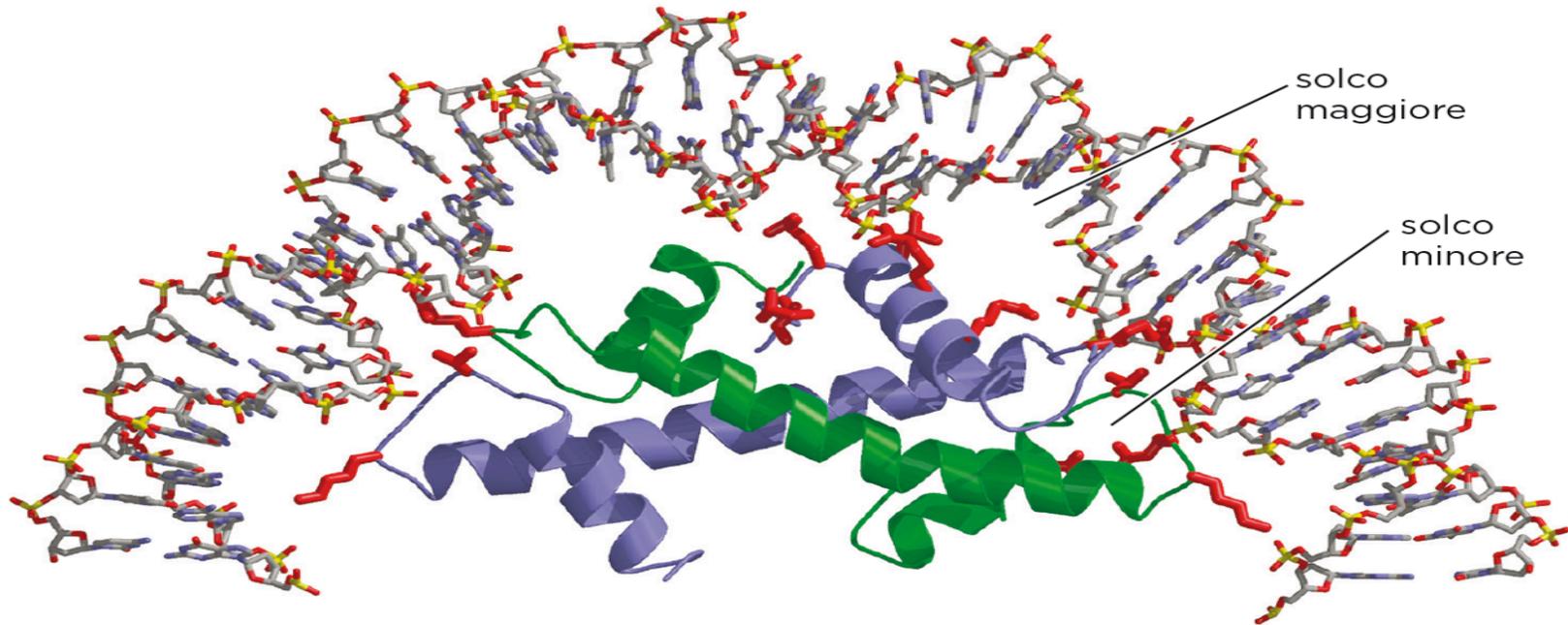


# GLI ISTONI DEL NUCLEOSOMA LEGANO TIPICHE REGIONI DEL DNA CORE



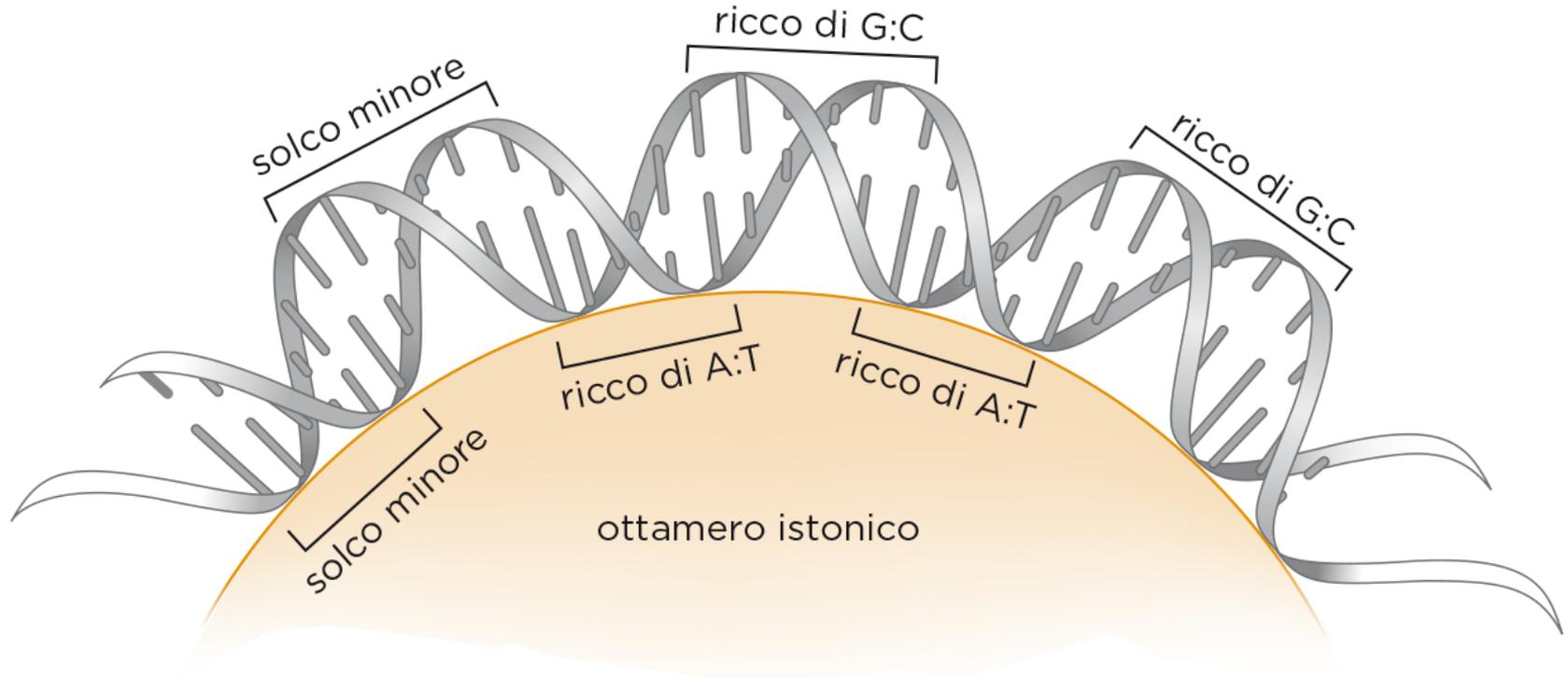
- I domini histone-fold del **tetramero H3-H4** interagiscono con le **60 bp centrali** del DNA core
- La regione **N-terminale** di ciascun **H3** interagisce con le **ultime 13 coppie di basi** di **ciascuna estremità** del DNA core (i punti di entrata e di uscita del DNA)
- Ciascun **dimero H2A-H2B** lega le **30 bp alle estremità delle 60 bp centrali** legate dal tetramero H3-H4

## SITI DI CONTATTO TRA ISTONI E DNA

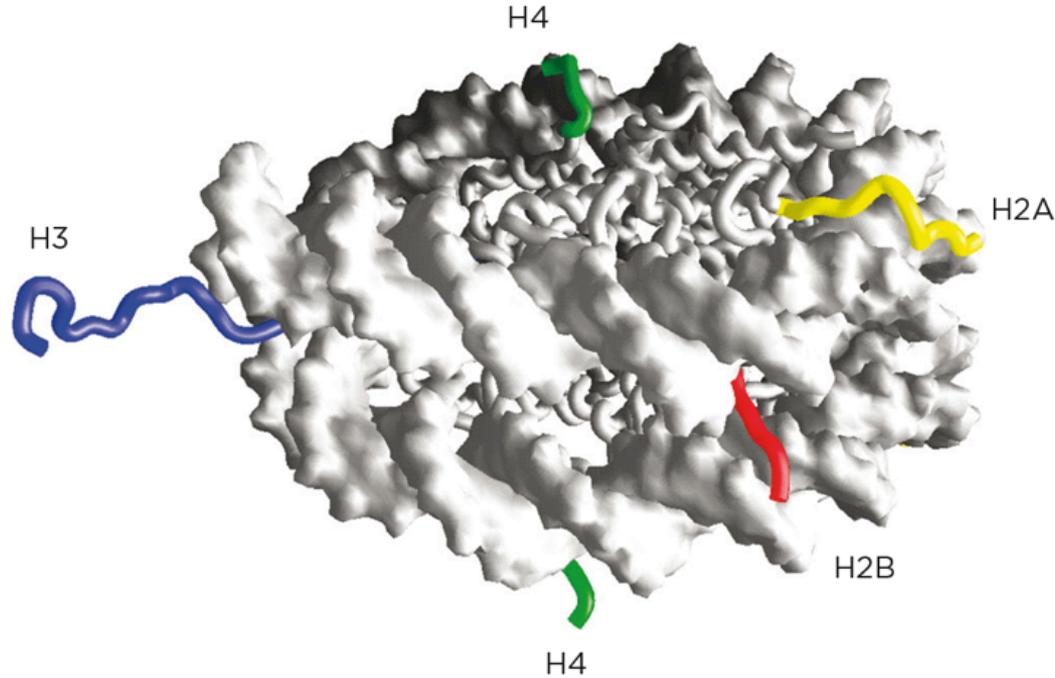


- L'associazione del DNA con il nucleosoma è mediata da un **numero elevato di legami idrogeno** (circa 140) fornendo l'energia necessaria per curvare il DNA
- Le interazioni fra il core istonico e il DNA sono mediate da molti contatti indipendenti dalla sequenza

# I NUCLEOSOMI SI FORMANO DI PREFERENZA SUL DNA CURVO INTRINSECAMENTE



## LE CODE DEGLI ISTONI SPORGONO DAL CORE NUCLEOSOMICO IN SPECIFICHE POSIZIONI



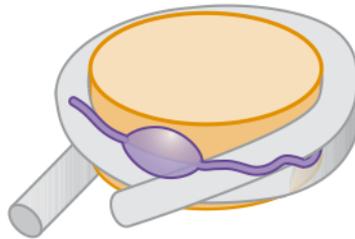
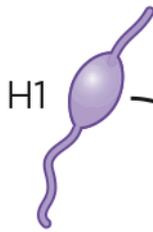
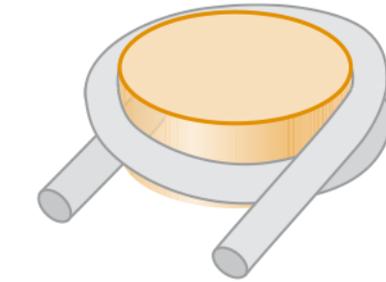
Le code degli istoni H2B e H3 sporgono in mezzo alle due eliche di DNA

Le code degli istoni H2A e H4 emergono sulla parte superiore o inferiore di entrambe le due eliche di DNA

# **STRUTTURE DI ORDINE SUPERIORE DELLA CROMATINA**

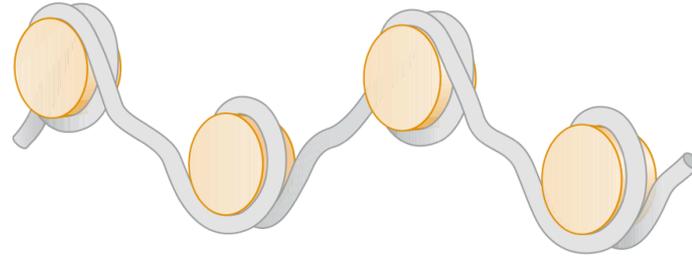
# LEGAME DEL DNA DA PARTE DELL'ISTONE H1

L'istone H1 si lega sia al DNA linker sia nella zona centrale del DNA core

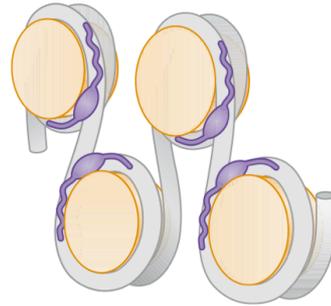
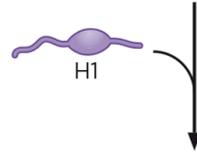


H1 legato

# LEGAME DEL DNA DA PARTE DELL'ISTONE H1



fibra 10 nm

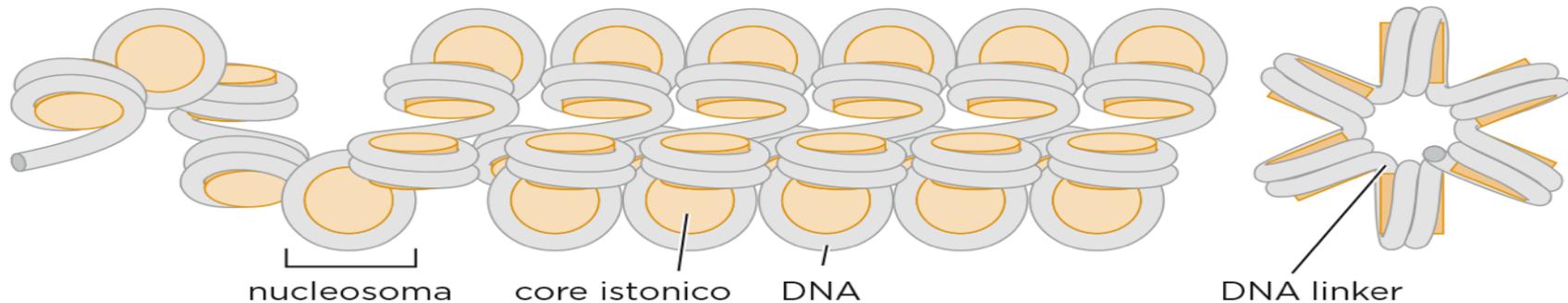


fibra 30 nm

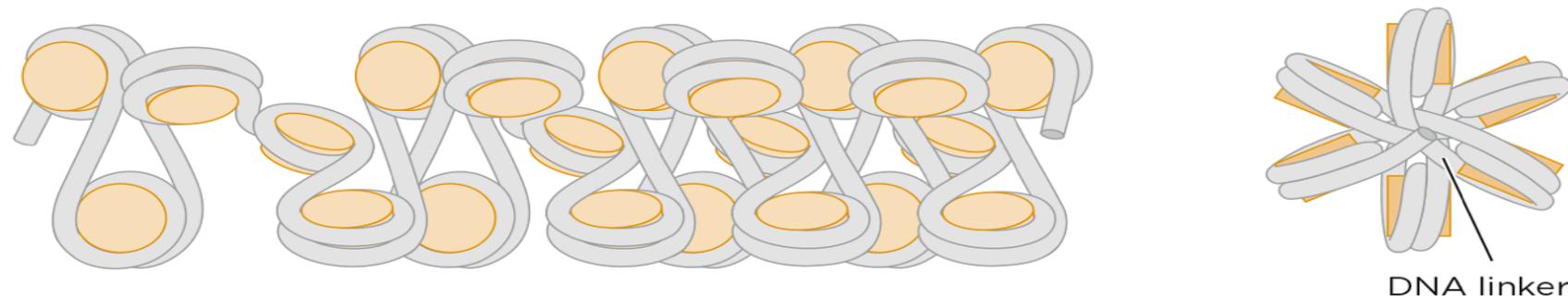
H1 aiuta a condensare i nucleosomi ad un ulteriore livello di impacchettamento: la fibra da 30 nm

# DUE POSSIBILI MODELLI STRUTTURALI PER LA FORMAZIONE DELLA FIBRA DA 30 nm

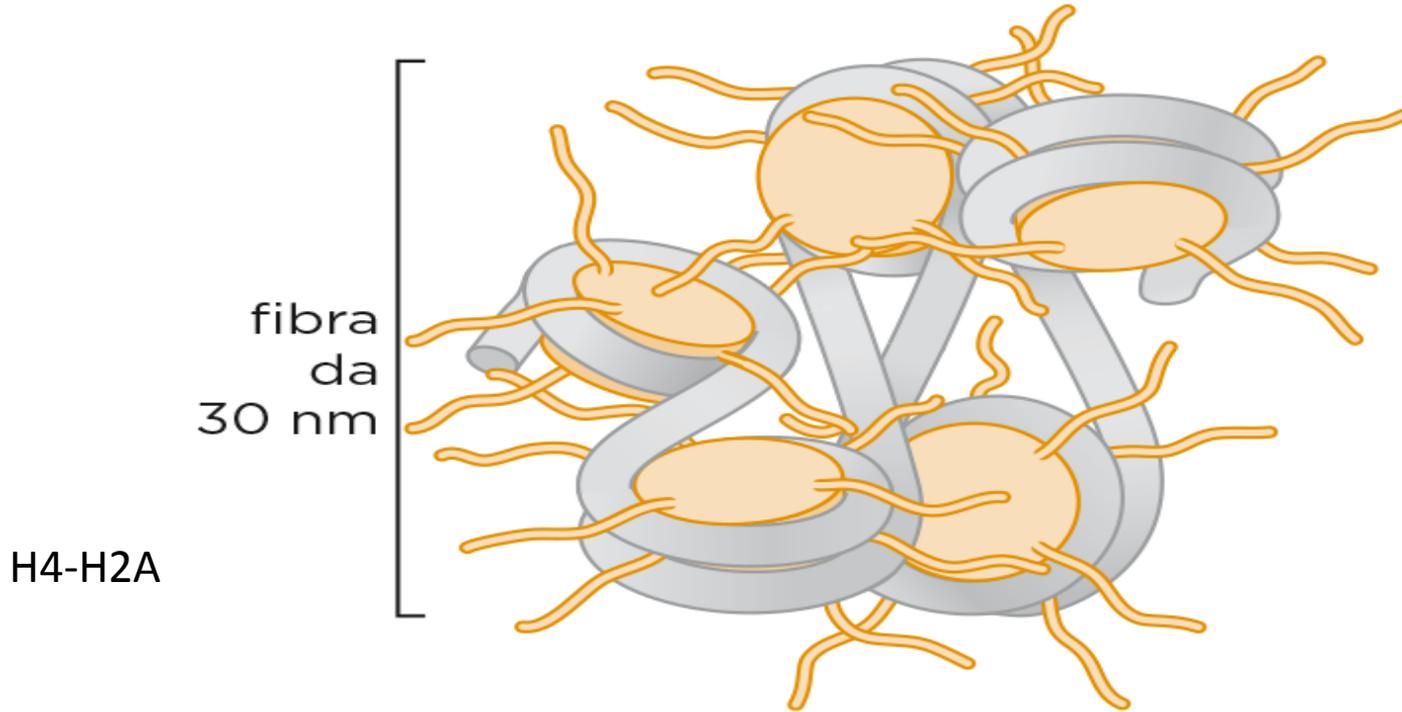
## a solenoide



## b zigzag



# MODELLO IPOTETICO PER SPIEGARE LA STABILIZZAZIONE DELLA FIBRA 30 nm DA PARTE DELLE CODE ISTONICHE AMMINO-TERMINALI



Le code ammino-terminali degli istoni intervengono nella formazione della fibra a 30 nm

**MA IL LIVELLO DI CONDENSAZIONE NON E' ANCORA SUFFICIENTE  
PER 1-2 METRI DI DNA IN UN NUCLEO DI DIAMETRO PARI A  $10^{-5}$  METRI!**