

Struttura e funzione degli Acidi Nucleici

1. Introduzione

Le funzioni principali degli acidi nucleici sono la conservazione e la trasmissione dell'informazione genetica. Esse sono svolte nella maggioranza dei casi dall'Acido DesossiriboNucleico (DNA) che è però sostituito dall'acido RiboNucleico (RNA) in alcuni virus, mentre in generale l'RNA ha ruoli regolatori e funzionali durante le fasi di trascrizione, replicazione e traduzione. Inoltre l'RNA può anche avere funzioni enzimatiche, grazie alla sua capacità di ripiegarsi in forme tridimensionali complesse. Data la versatilità dell'RNA, è stata avanzata l'affascinante ipotesi di una fase ancestrale della vita sulla terra unicamente basata su di esso¹, da cui solo successivamente si sarebbe differenziato il DNA come strumento principale per la conservazione dell'informazione mentre l'RNA si sarebbe specializzato nei ruoli regolatori della trasmissione. Le proteine sarebbero comparse in una fase ancora successiva per assumere la gran parte dei ruoli funzionali.

Come per le proteine, anche per gli acidi nucleici si possono distinguere la struttura primaria (sequenza), secondaria (vari tipi di eliche ed altri motivi strutturali) terziaria e quaternaria (organizzazione delle catene in complessi macromolecolari, eventualmente anche in associazione con proteine).

2. Struttura primaria

Gli acidi nucleici sono etero-polimeri i cui monomeri (i nucleotidi) sono composti da tre elementi: un gruppo fosfato, uno zucchero pentosio (ribosio in RNA, desossiribosio in DNA) e una base azotata, Purina (Adenina A, o Guanina G), o pirimidina (Citosina C, Timida T in DNA, Uracile U, solo in RNA). Il gruppo chimico formato dall'unione dello zucchero con una base azotata si chiama (desossi-)nucleoside (adenosina, guanidina, citidina, 5-metiluridina, uridina, Fig. 2.1). Quindi il nucleotide è un nucleoside-monofosfato. I nucleosidi di- o tri- fosfato sono presenti in diverse fasi nella sintesi della catena polinucleotidica. In RNA può essere presente l'inosina, una base purinica non standard necessaria nella corretta traduzione di certi tipi di RNA virale.

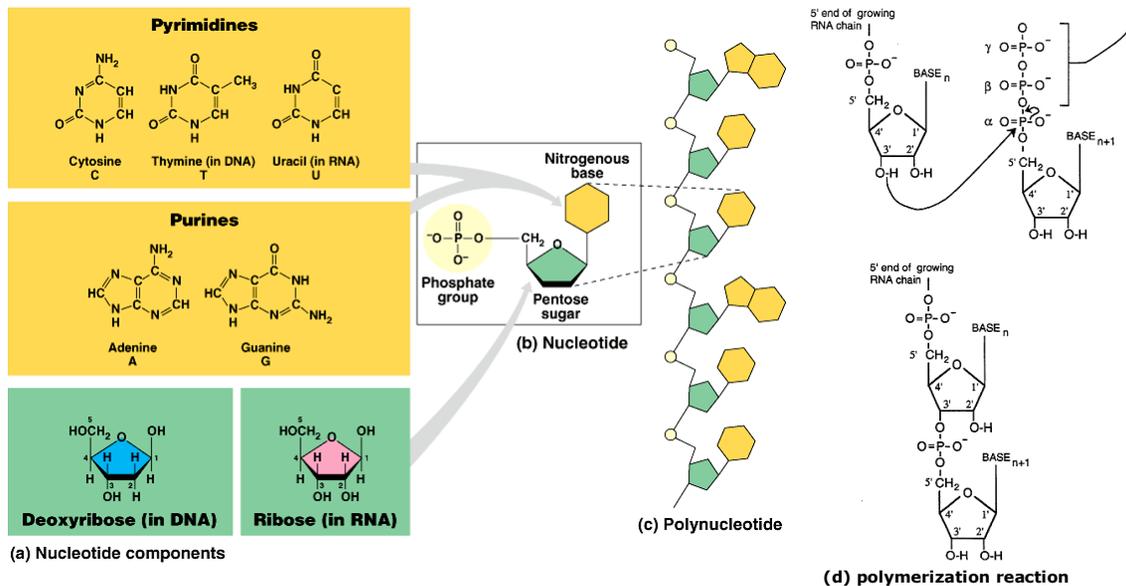


Fig 2.1 Chimica e struttura primaria degli acidi nucleici (a) Pirimidine, Purine e zucchero pentosio che con il gruppo fosfato, formano il nucleotide (b) ovvero il primidin(purin)-(2'deossi)ribosil fosfato. (d) Reazione di polimerizzazione-elongazione dell'RNA.

La catena polinucleotidica si forma nella cellula a partire da nucleosidi trifosfato attraverso una reazione catalizzata dalle (DNA- o RNA-) polimerasi², che consiste nella formazione di un legame tra gli zuccheri mediato dal gruppo fosfato (legame fosfodiester) con il rilascio di piro-fosfato³ (Fig 2.1, (d)). Si noti che il polinucleotide ha (formalmente) una carica netta negativa per monomero, localizzata principalmente sul gruppo fosfato. Tuttavia la carica effettiva è minore perché viene schermata dagli ioni in soluzione, in quantità dipendente dalla forza ionica e dalla

struttura del ripiegamento del polinucleotide stesso.

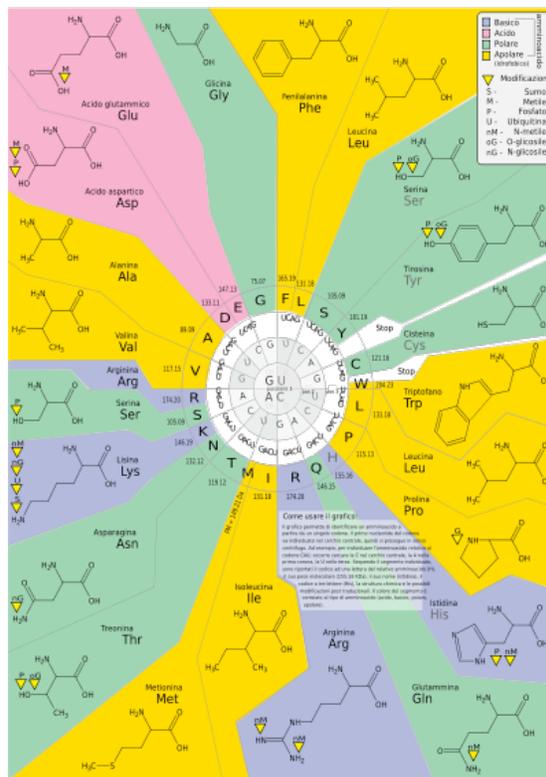
Mentre il polinucleotide è stabile rispetto ai nucleosidi trifosfato (per circa 1.5 kcal/mole), è altamente instabile (~6 kcal/mole) rispetto ai nucleotidi. Tuttavia la barriera di attivazione è talmente alta che l'idrolisi diretta in nucleotidi avviene solo raramente e per mezzo di speciali enzimi (nucleasi). Quindi il DNA a temperatura ambiente si considera stabile rispetto all'idrolisi in monomeri, anche se è in realtà meta-stabile. La stabilità dell'RNA è invece minore, perché il gruppo ossidrilico del ribosio è un punto di attacco per gli enzimi idrolizzanti. Questo porta ad una differenza sostanziale nella lunghezza delle catene dei due acidi nucleici: nei cromosomi umani le singole catene di DNA sono lunghe, se distese, diversi cm (centinaia di milioni di coppie di basi) mentre la lunghezza media delle singole catene di RNA si aggira intorno alle centinaia o migliaia di coppie di basi, rendendolo meno adatto del DNA alla funzione di conservazione dell'informazione genetica.

		seconda base			
		U	C	A	G
prima base	U	UUU fenilalanina	UCU serina	UAU tirosina	UGU cisteina
		UUC fenilalanina	UCC serina	UAC tirosina	UGC cisteina
		UUA leucina	UCA serina	UAA stop ocra	UGA stop opale
		UUG leucina	UCG serina	UAG stop ambra	UGG triptofano
	C	CUU leucina	CCU prolina	CAU istidina	CGU arginina
		CUC leucina	CCC prolina	CAC istidina	CGC arginina
		CUA leucina	CCA prolina	CAA glutammina	CGA arginina
		CUG leucina	CCG prolina	CAG glutammina	CGG arginina
	A	AUU isoleucina	ACU treonina	AAU asparagina	AGU serina
		AUC isoleucina	ACC treonina	AAC asparagina	AGC serina
		AUA isoleucina	ACA treonina	AAA lisina	AGA arginina
		AUG metionina, start	ACG treonina	AAG lisina	AGG arginina
G	GUU valina	GCU alanina	GAU acido aspartico	GGU glicina	
	GUC valina	GCC alanina	GAC acido aspartico	GGC glicina	
	GUA valina	GCA alanina	GAA acido glutammico	GGA glicina	
	GUG valina	GCG alanina	GAG acido glutammico	GGG glicina	

(a)

Ala	A	GCU, GCC, GCA, GCG	Leu	L	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG
Arg	R	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	Lys	K	AAA, AAG
Asn	N	AAU, AAC	Met	M	AUG
Asp	D	GAU, GAC	Phe	F	UUU, UUC
Cys	C	UGU, UGC	Pro	P	CCU, CCC, CCA, CCG
Gln	Q	CAA, CAG	Ser	S	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
Glu	E	GAA, GAG	Thr	T	ACU, ACC, ACA, ACG
Gly	G	GGU, GGC, GGA, GGG	Trp	W	UGG
His	H	CAU, CAC	Tyr	Y	UAU, UAC
Ile	I	AUU, AUC, AUA	Val	V	GUU, GUC, GUA, GUG
start		AUG, GUG	stop		UAG, UGA, UAA

(b)



(c)

Fig 2.2 Il codice genetico. (a) Codifica diretta. I nomi ocra, opale e ambra per i codoni di stop corrispondono a quelli dei geni in cui furono individuati per la prima volta. (b) Codifica inversa. (c) Schema grafico del codice genetico.

La struttura primaria assolve la funzione codificatrice (Fig. 2.2): ogni tripletta (insieme di tre nucleotidi consecutivi, anche chiamato codone) codifica per un singolo aminoacido, oppure per le istruzioni di avvio e fine della sintesi proteica (start o stop). Il codice che collega le triplette agli aminoacidi, detto codice genetico, è alla base della continuazione della vita come la conosciamo. In realtà il codice genetico non è unico: i mitocondri e certi protozoi (alcuni batteri, archeobatteri e alghe) utilizzano varianti del codice genetico principale usato dalle forme di vita "superiori" (Fig. 2.2), che consistono nella riassegnazione della codifica di alcuni aminoacidi e/o nell'introduzione della codifica di aminoacidi non comuni. Tuttavia, le variazioni sono minime, il che indicherebbe che questo particolare codice genetico si sia evoluto molto presto nella storia della vita sulla terra. Si noti che i possibili codoni sono 64, altamente ridondanti rispetto al numero di aminoacidi e istruzioni codificate, il che costituisce una difesa contro le mutazioni casuali, poiché diverse mutazioni puntuali dell'ultimo nucleotide del codone non risultano in una variazione di codifica. Il DNA (o l'RNA in certi virus) può però anche codificare senza l'ausilio del codice genetico: catene

di RNA con funzione enzimatica o regolatrice (ribozimi, parte di ribosomi, RNA messaggero o di trasferimento, si veda piú avanti) vengono sintetizzate attraverso una semplice trascrizione. Un tratto di DNA che codifica per un insieme coerente di proteine o altri elementi funzionali si chiama gene, ed è l'unità base di ereditarietà genetica. Un gene, oltre alle sequenze codificatrici, può contenere anche sequenze regolatrici, come promotori, ed elementi funzionali strutturali (Telomeri o Centromeri) che entrano in funzione durante la duplicazione cellulare. Comunque, esiste una buona parte del genoma non codificante la cui funzione non è ancora del tutto chiarita.

3. Struttura secondaria

Le singole catene di DNA o RNA si ripiegano o accoppiano tra loro attraverso legami molto specifici tra le basi azotate. La topologia di questi accoppiamenti e la conseguente geometria assunta dalla molecola definiscono la struttura secondaria. Gli accoppiamenti piú forti e specifici sono dovuti alla formazione di (due o tre) legami a idrogeno tra purine e pirimidine, specificamente C-G e T-A (U-A in RNA), come mostrato in Fig. 2.3 (a) e (b). Questo tipo di accoppiamenti detti anche "standard" o di Watson e Crick (WC), è predominante, soprattutto nel DNA, dove di solito si verifica per tutta la lunghezza di due singole catene accoppiandole nella tipica struttura tridimensionale a doppia elica (vedere sotto). Le due catene cosí accoppiate sono complementari (nel senso di WC) e non sono simmetriche rispetto all'elicità: si può distinguere una catena detta senso (o +senso) e una antisenso (o -senso) che hanno ruoli diversi nelle varie fasi della replicazione, traduzione e trascrizione. La specificità degli accoppiamenti WC è alla base della fedeltà nella trasmissione del codice genetico: i processi di trascrizione, traduzione e replicazione si basano sull'accuratezza della complementarità per duplicare e copiare tratti di DNA e RNA e per sintetizzare proteine con un basso tasso di errori.

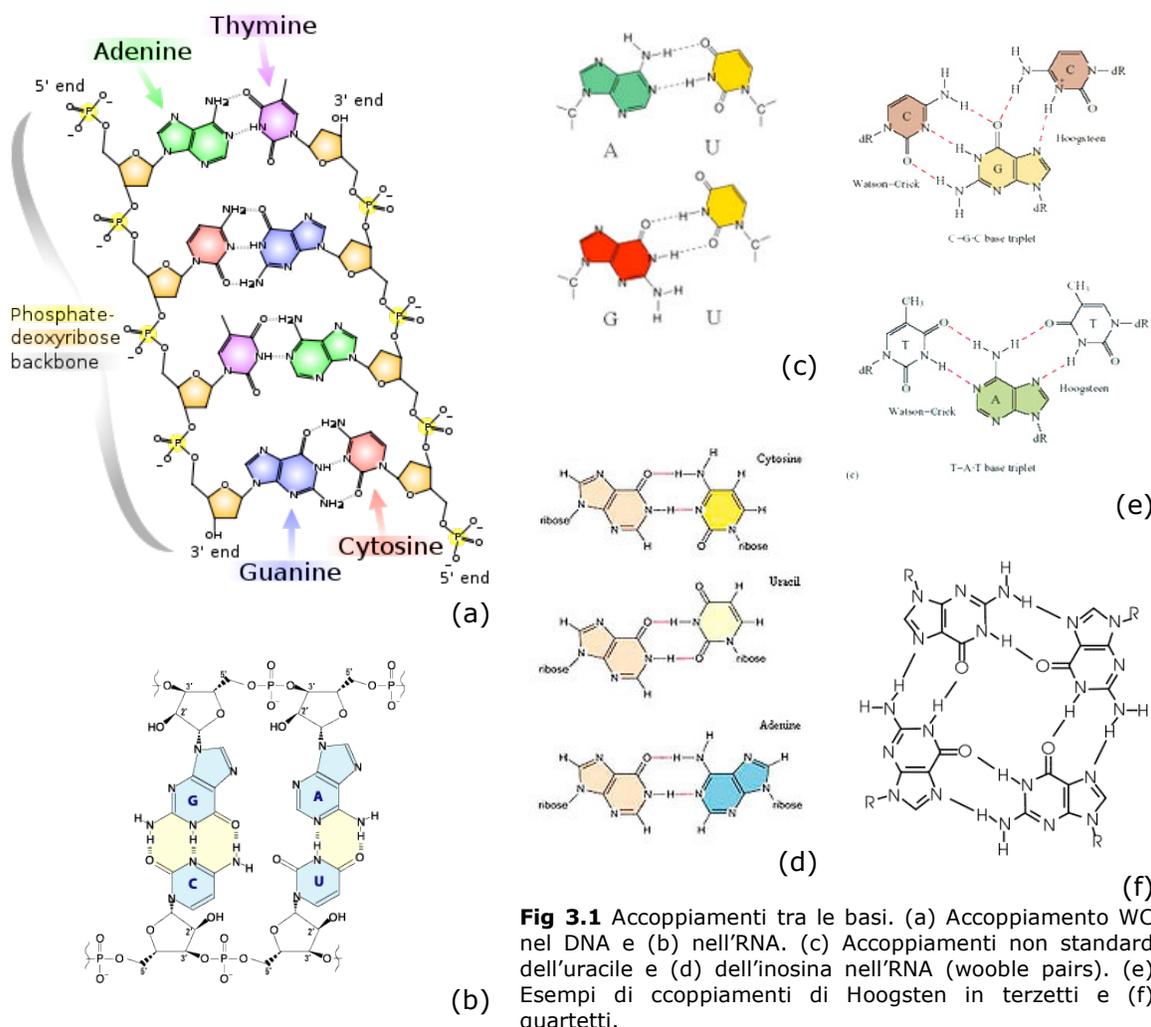


Fig 3.1 Accoppiamenti tra le basi. (a) Accoppiamento WC nel DNA e (b) nell'RNA. (c) Accoppiamenti non standard dell'uracile e (d) dell'inosina nell'RNA (wobble pairs). (e) Esempi di accoppiamenti di Hoogsteen in terzetti e (f) quartetti.

Nell'RNA, l'uracile e la più rara inosina possono formare accoppiamenti non standard (wooble pairs, (c) e (d) Fig 2.3). È interessante notare che l'uracile è un possibile prodotto del danneggiamento della citosina, fatto che nell'RNA rende possibile la mutazione della coppia WC G-C in G-U. L'RNA ha la possibilità di avere una composizione chimica più varia del DNA: anche se il prodotto di una trascrizione contiene solo A G C e U, possono avvenire diverse modifiche post-trascrizionali che introducono basi non standard, quali, oltre alla già citata inosina, la pseudouridina e la Timina (che di solito si trova solo in DNA). Questi cambiamenti, la cui funzione non è del tutto chiarita, avvengono generalmente in regioni altamente funzionali. Infine (sia in DNA che in RNA), in aggiunta agli accoppiamenti WC, sono possibili accoppiamenti purina-pirimidina detti di Hoogsteen, che coinvolgono l'anello pentagonale della purina, e rendono possibili la formazione di terzetti e quartetti (Fig 3.1 (e), (f)).

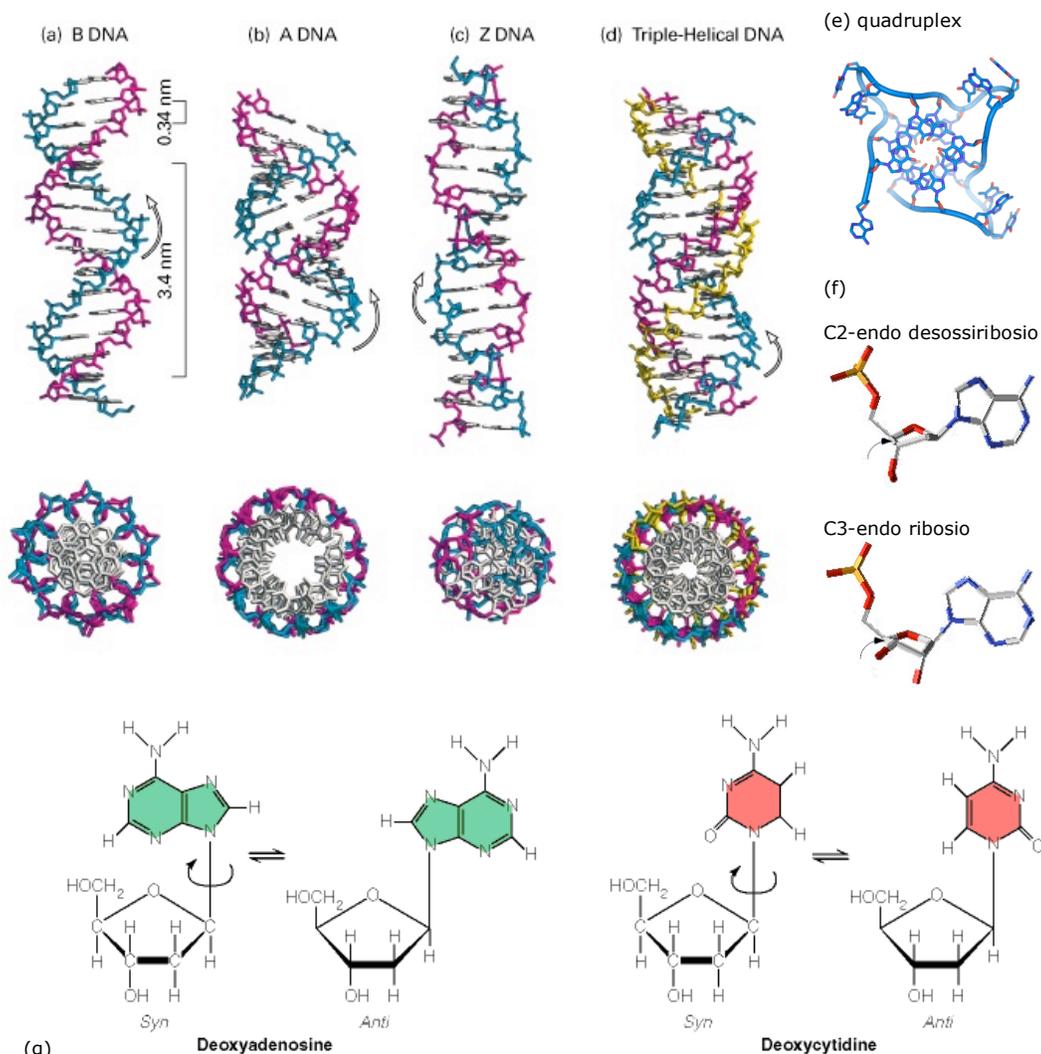


Fig 3.2 (a-c) Possibili conformazioni di doppie (d) triple e (e) quadruple eliche. (f) Conformazioni alternative dello zucchero (g) orientazioni alternative delle basi rispetto allo zucchero

Come già detto, l'accoppiamento WC per tutta la lunghezza di due singole catene produce la classica struttura tridimensionale a doppia elica scoperta nel 1953 da Rosalind Franklin, James Watson e Francis Crick⁴ tramite esperimenti di diffrazione su fibre. In realtà si è successivamente scoperto che la doppia elica di DNA può comparire in una dozzina di possibili conformazioni diverse per passo, diametro, elicità, inclinazione del piano delle basi rispetto all'asse e posizione di questo (indicate con lettere maiuscole A, B, C, D, E, H, L, S, P, Z⁵; A, B e Z sono illustrate in Fig 3.2 e Tab 3.1), dipendentemente dalle condizioni ambientali, dalla composizione e dall'eventuale interazione con altre molecole. La più comune per il DNA è la B, che compare in condizioni di idratazione normale o alta (bassa forza ionica), mentre condizioni di bassa idratazione (che si

verificano spesso nei campioni cristallizzati) favoriscono la forma A-DNA a causa di una diversa elettrostatica che modifica la forza di repulsione tra i gruppi fosfato e quindi la geometria dei due *grooves* (i solchi che separano i bordi dell'elica), la cui ampiezza risulta infatti diversa nei due tipi di elica. L'A-DNA è anche la forma favorita in lunghi tratti omo-purinici (o pirimidinici), e può quindi comparire anche all'interno di un'elica altrimenti in conformazione B. Le conformazioni A e B sono però in ultima analisi associate a due distinte conformazioni degli zuccheri, rispettivamente C3'-endo e C2'-endo che determinano diverse conformazioni dello scheletro della catena e in alcuni casi diverse orientazioni delle basi (Fig 3.2 (f)) e quindi forme diverse dell'elica.

Globalmente, la conformazione A risulta meccanicamente più rigida rispetto alla curvatura (per un effetto di decentramento dell'asse rispetto all'impilazione delle basi), ma meno stabile nel DNA, che preferisce transire quando possibile alla forma B. Tuttavia questa forma meta-stabile pare avere un ruolo importante nel conferire al DNA una maggiore versatilità strutturale: compare infatti di preferenza quando il DNA partecipa ad una qualche funzione e quindi interagisce con proteine o RNA (ad esempio nelle eliche ibride DNA-RNA). Inoltre pare la conformazione preferita del DNA nelle triple eliche in cui una terza catena si sistema nel *major groove* stabilizzata da accoppiamenti di Hoogsten o nei tratti di quadrupla elica. In altre parole, mentre la forma B-DNA è quella del DNA in condizioni "statiche", la sua forma metastabile A-DNA compare in condizioni non standard quando il DNA partecipa a qualche processo di trasformazione o di interazione con altre molecole. Infine, la forma Z-DNA è tipica di tratti di catena a composizione purinica-pirimidinica alternata. La sua unità ripetuta è il dimero purina-pirimidina e le sue caratteristiche strutturali (elicità sinistrorsa, piccolo diametro, scheletro a zig-zag e orientazione *syn* delle purine, Fig. 3.2 (g)) sono piuttosto peculiari. Il loro ruolo non è ancora del tutto chiarito, anche se è noto che Z-DNA compare solo in locazioni specifiche del genoma e viene riconosciuto da specifiche proteine⁶.

	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
Senso dell'elica	destrorso	destrorso	sinistrorso
Unità ripetuta	1 bp	1 bp	2 bp
Conformazione dello zucchero	C3'-endo	C2'-endo	Pirimidine C2'-endo Purine C2'-exo
Orientazione delle basi	<i>anti</i>	<i>anti</i>	Pirimidine: <i>anti</i> Purine: <i>syn</i>
Rotazione/bp	33.6°	35.9°	-60°/2bp
bp medie/giro	10.7	10.0	12
Inclinazione delle bp rispetto all'asse	+19°	-1.2°	-9°
Passo/bp lungo l'asse	2.3 Å	3.32 Å	3.8 Å
Passo/giro d'elica	24.6 Å	33.2 Å	45.6 Å
Propeller twist medio	+18°	+16°	0°
Diametro	25.5 Å	23.7 Å	18.4 Å
Lunghezza di persistenza	~60 nm	~50 nm	

Tab 3.1 Caratteristiche geometriche dei tre tipi principali di doppia elica

Nell'RNA, l'ingombro sterico del gruppo ossidrilico destabilizza la conformazione C2'-endo del ribosio. Questo fatto, unito alla diversa elettrostatica che favorisce la conformazione dei *grooves* di tipo A, comporta che le doppie eliche dell'RNA compaiano esclusivamente in geometria A.

Si è già accennato alla minore stabilità dell'RNA rispetto alla separazione in monomeri: essa è dovuta in parte alla presenza del gruppo OH del ribosio, in parte alla differente geometria dei *grooves* nelle forme A, entrambi fattori che lo rendono più facilmente attaccabile dagli enzimi idrolizzanti. Diverso, invece, è il discorso per la denaturazione, ovvero per la separazione delle doppie eliche in singole catene e conseguente transizione alla struttura *random coil*. La doppia elica si separa alla temperatura e concentrazione in cui la variazione di energia libera di Gibbs è nulla ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S = 0$), ovvero quando l'entalpia di formazione ΔH , dovuta ai legami ad idrogeno delle coppie WC e alle interazioni di stacking tra basi successive, bilancia il fattore entropico $T\Delta S$ dovuto in parte alla maggior entropia intrinseca della conformazione *random coil* della singola catena rispetto alla doppia elica, in parte al maggior spazio configurazionale e volume accessibile alle due catene separate:

$$T_m = \frac{\Delta H}{\Delta S} = \frac{\Delta H^0}{\Delta S^0 + R \ln(C_i) + A}$$

dove l'apice 0 indica le quantità intrinseche, C_i è la concentrazione e A una correzione di simmetria per sequenze auto-complementari. ΔH^0 e ΔS^0 dipendono dalla lunghezza della catena (catene lunghe richiedono una maggiore energia per essere separate, ma hanno anche una maggiore variazione di entropia) e composizione (le coppie C-G hanno tre legami a idrogeno e quindi richiedono una maggiore energia per essere separate delle A-T (A-U) che ne hanno due), e si possono calcolare sulla base della sequenza aggiungendo valori tabulati per ciascun tipo di coppia di base aggiunta lungo la catena⁷. Per catene lunghe e considerando valori medi dei parametri la formula di sopra può essere linearizzata nella formula più semplice (parametri per DNA):

$$T_m = 81.5 + 41(n_{CG}/n) - 500/n + 16.6 \log(M)$$

dove n e n_{CG} sono il numero totale e di coppie CG rispettivamente, ed è stata aggiunta anche una correzione dovuta alla concentrazione molare di ioni. La dipendenza di T_m da n e n_{CG} è mostrata in Fig. 3.3. Ad esempio, la temperatura di denaturazione di un polinucleotide di DNA di lunghezza ~20 bp varia da 60 a 90°C, mentre oltre 50-100bp non si hanno più grandi variazioni rispetto a n e la formula satura verso valori 80-110°C. La dipendenza esplicita da n indica un effetto di cooperazione in questa transizione, che infatti normalmente viene iniziata dai bordi e procede come l'apertura di una cerniera. La separazione di una coppia di basi favorisce la separazione della successiva, e l'effetto è maggiore, ovviamente, per catene corte. La dipendenza da n_{CG} è invece lineare ed è spiegabile con il fatto che la maggiore concentrazione di coppie CG aumenta l'entalpia di separazione (il numeratore della frazione nell'espressione per T_m) ma non modifica sensibilmente l'entropia (il denominatore). Infine, l'effetto dell'aumento della forza ionica è quello di innalzare la temperatura di denaturazione: gli ioni in soluzione schermano l'interazione elettrostatica repulsiva tra i gruppi fosfato con un effetto stabilizzante sulla struttura. Per altro l'aumento di forza ionica tende anche a stabilizzare la forma A del DNA, per motivi analoghi.

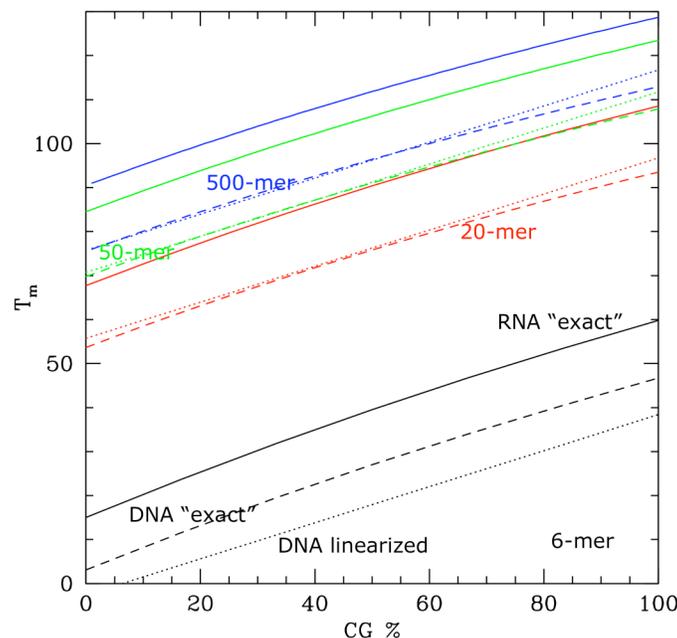


Fig 3.3 Temperatura di denaturazione per DNA e RNA di varie lunghezze, secondo le formule date nel testo. "esatta" e linearizzata. Come si vede la formula linearizzata per il DNA approssima bene quella esatta già per 20 bp. Per RNA è riportata solo la formula "esatta", che fornisce una temperatura di 10-12 gradi maggiore di quella del DNA. I dati sperimentali per il DNA (non riportati) si sovrappongono accuratamente sulle linee. Le linee a 50 e 500 bp sono solo teoriche per RNA, dal momento che catene di RNA così lunghe sono instabili. I parametri usati per il calcolo di delle variazioni di entalpia ed entropia intrinseca sono stati ottenuti mediando i valori tabulati per le varia possibili combinazioni di coppie di basi di DNA e RNA e sono $\Delta H_0^{DNA} = -9.8n_{CG} - 7n_{AT}$, $\Delta H_0^{RNA} = -10.2n_{CG} - 7.3n_{AT}$ (kcal/mole), $\Delta S_0 = -25n_{CG} - 19.7n_{AT}$ (unità st).

Le temperature di denaturazione di RNA e DNA sono confrontabili solo per oligo-nucleotidi perché man mano che la catena si allunga l'RNA tende a stabilizzarsi in strutture secondarie alternative alla doppia elica e quindi a diventare instabile per idrolisi. Ove il confronto è possibile, la temperatura di denaturazione di RNA risulta all'incirca 10°C maggiore che nell'omologo DNA, indicando che la doppia elica di RNA è intrinsecamente più stabile di quella di DNA. La maggiore propensione del DNA per la denaturazione è comprensibile considerata la sua funzione: il DNA deve potersi facilmente separare in singole eliche (e ricomporre) nelle varie fasi di trasmissione dell'informazione genetica. Invece l'RNA ha più spesso ruoli funzionali, quindi deve mantenere più stabilmente la sua struttura secondaria per assolverli. Coerentemente con questo, anche la rigidità dell'elica di RNA è mediamente maggiore, a causa del fatto che la conformazione A è mediamente più rigida della B. La rigidità si misura con la lunghezza di persistenza P definita da

$$\langle t_x \cdot t_{x+l} \rangle_x = \langle \cos \theta \rangle_x = \exp(-l/P)$$

dove t_x indica il vettore unitario tangente all'asse del polimero nel punto x e θ l'angolo tra i due vettori ed è la lunghezza oltre la quale le orientazioni dei vettori tangenti diventano scorrelate, ovvero oltre la quale l'elica (o più in generale il polimero) può essere descritto come un oggetto completamente snodato e flessibile. Maggiore P , meno flessibile il polimero.

Le eliche non sono le uniche strutture secondarie possibili. La Fig. 3.4 riporta i principali motivi strutturali secondari. Mentre in DNA si riscontrano (raramente) giunzioni quadruple a croce (di Holliday), in RNA si trova una maggiore varietà e frequenza di altri motivi strutturali, tipo tratti di singola elica, *hairpin*, *bulge*, *loop* interni anche asimmetrici e giunzioni, non solo quadruple, ma anche triple e quintuple. Se non sono molto grandi, bulge e loop interni possono apparire semplicemente come distorsioni locali della doppia elica. In alcuni casi si tratta di *mismatch* di singole basi, che producono un angolo di piegatura nella struttura globale dell'elica. Per una rassegna dei possibili motivi strutturali in RNA, si veda ⁸

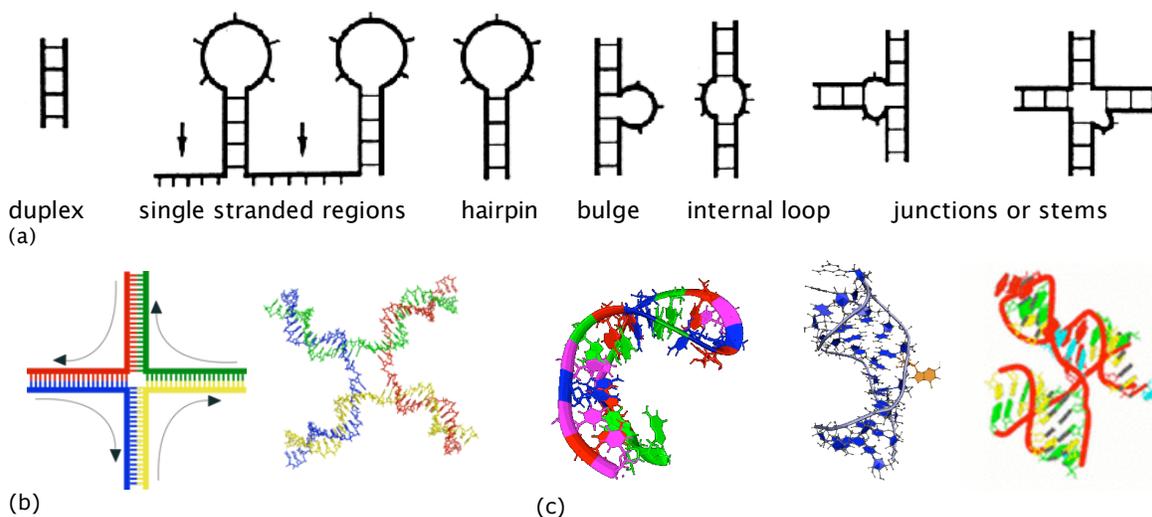


Fig 3.4 (a) Schema della topologia dei motivi strutturali secondari tipici. (b) Giunzione di Holliday, tipica in DNA. (c) Rappresentazione 3D di un hairpin, un loop interno e una giunzione tripla in RNA

4. Struttura terziaria

Il modo in cui i tratti di elica e le altre strutture secondarie si combinano a formare una struttura tridimensionale viene chiamato struttura terziaria. Dato il piccolo numero di motivi secondari possibili in DNA, anche le strutture terziarie possibili sono molto più semplici. Una molto frequente è il superavvolgimento. Se ad una doppia elica viene imposto uno stress torsionale rispetto alla situazione rilassata corrispondente a circa 10bp per giro, sia in senso negativo che positivo, essa tende ad attorcigliarsi su se stessa, esattamente come fa il filo del telefono (Fig. 4.1 (a)). Si possono definire due quantità geometriche associate al superavvolgimento: il *twist* (T) che misura l'eccesso di torsione di un tratto doppia elica intorno al suo asse (0 corrisponde a elica rilassata, +(-)1 significa che in un certo tratto l'elica ha compiuto un giro in più (in meno) rispetto alla situazione rilassata), e il *writhe* (W , attorcigliamento) che misura il numero di volte che l'asse dell'elica si attorciglia su se stesso. In generale le due quantità sono indipendenti l'una dall'altra.

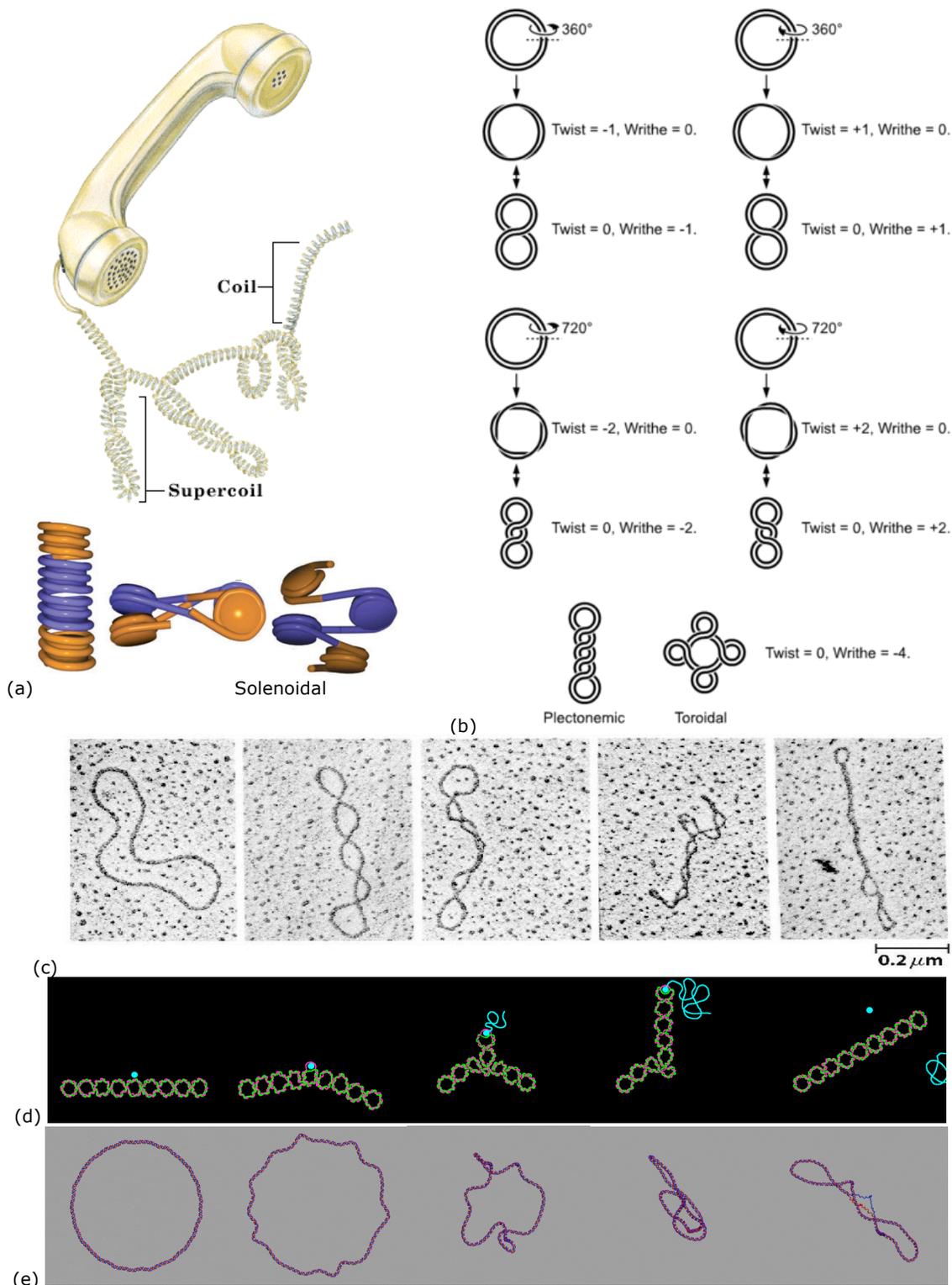


Fig 4.1 (a) Illustrazione del concetto di superavvolgimento con il filo del telefono. (b) Esempi di combinazioni di twist e writhe e tipi di superavvolgimenti (c) micrografia di un plasmide planare e superavvolto (d) Modello dell'azione di una polimerasi su un plasmide superavvolto (e) supercoiling e denaturazione locale di un plasmide di circa 900bp con $\sigma = -0.06^9$.

Ma se le estremità del polimero sono bloccate oppure collegate tra loro, come nel DNA circolare, che si trova nei cromosomi batterici o mitocondriali e nei plasmidi, lo stress torsionale in eccesso non può variare. In termini matematici questo si traduce nel fatto che T e W non possono variare

indipendentemente: la loro somma è costante ed è un "invariante topologico" il *linking number* $L = T + W$ che misura il numero di giri (in eccesso) rispetto ad una situazione rilassata. Ad esempio, un anello di DNA che possiede globalmente un giro di torsione in eccesso rispetto a quello che sarebbe il suo stato normale di avvolgimento si potrà trovare in due diverse situazioni estreme (e in quelle intermedie): o avrà tutto lo stress torsionale immagazzinato in una torsione intorno al suo asse, che risulterà in un minor numero di basi per giro ($T=+1$, positivo) e allora il suo asse potrà rimanere nella conformazione planare circolare ($W=0$, $L=T+W=1$), oppure potrà rilassare la sua torsione intorno all'asse al valore naturale e allora il suo asse si attorciglierà a forma di 8 ($T=0$, $W=+1$, $L=1$ Fig. 4.1 (b)). Per valori di L maggiori si formeranno strutture lineari con un maggior numero di anse (plectonemiche) o strutture toroidali o solenoidali, oppure una combinazione di queste.

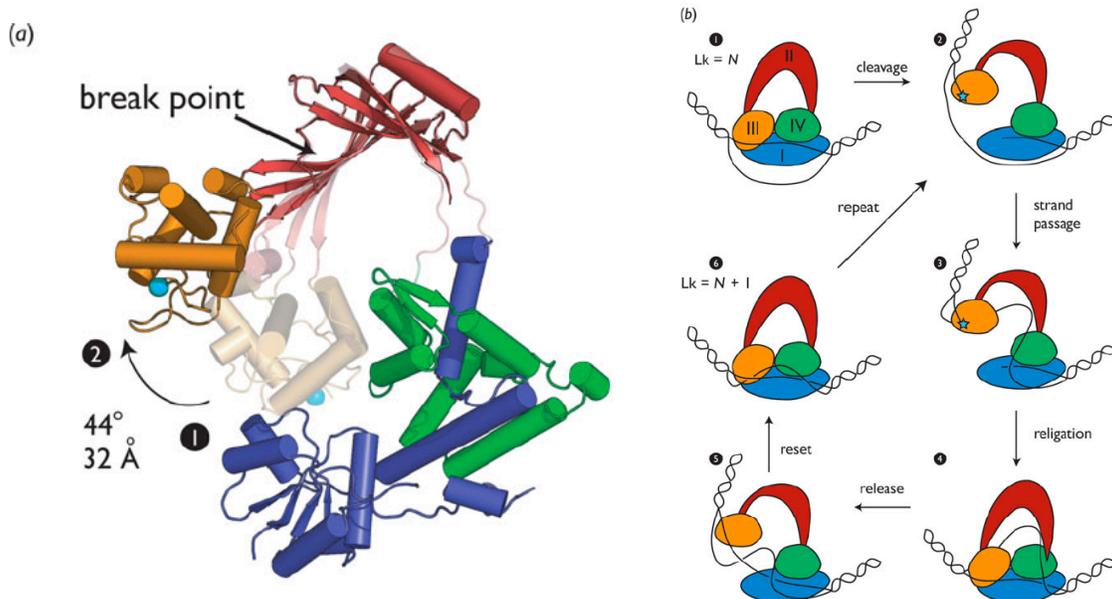


Fig 4.2 (a) Struttura di una topoisomerasi (Tipo IA). Sono mostrate le due conformazioni di sito aperto e chiuso coinvolte nel meccanismo di azione (b)

Lo stato superavvolto è comune: mediamente il DNA si trova in uno stato di supercoiling negativo con densità di superavvolgimento $\sigma = \Delta L / L_0 = -0.06$ pari a circa 1 giro in eccesso ogni circa 200bp (L_0 è il valore di giri nella situazione rilassata e $\Delta L = L - L_0$ è il suo valore in eccesso). Ad esempio, con questo valore di σ , un cromosoma mitocondriale con circa 16000 bp avrà $\Delta L \approx -80$ e potrà formare un'ottantina-cento anse. I plasmidi possono essere molto più piccoli (1000-2000 bp) e formare un numero di anse dell'ordine di 10 (Fig 4.1 (c-e)). Una funzione del superavvolgimento è la compattazione della struttura del DNA, che altrimenti avrebbe estensione macroscopica. Si noti che, nonostante superavvolgimenti sia positivi che negativi assolverebbero ugualmente bene questa funzione, il valore della medio della densità di superavvolgimento è normalmente negativo. Il motivo è che la torsione negativa (che tende a svolgere l'elica) favorisce la separazione delle catene⁹ (Fig 4.1 (e)) e l'azione delle polimerasi (Fig 4.1 (d)), mentre quella positiva la impedisce. Questo valore è quindi un compromesso per mantenere la necessaria debole stabilità della doppia elica rispetto a denaturazione, di cui si è ampiamente già discusso. Esso viene modificato e/o mantenuto da speciali enzimi (topoisomerasi e girasi) che tagliano, torcono e risaldano il DNA, in pratica variando il valore di L ¹⁰. La loro azione si rende necessaria ad esempio durante la trascrizione, quando lo stress torsionale varia per effetto delle polimerasi, che svolgono localmente la doppia elica. Tutto quanto detto vale anche per DNA non circolari, dal momento che in generale tratti anche lunghi di doppia elica hanno le estremità bloccate. In particolare, nel DNA nei cromosomi eucariotici la compattazione è ottenuta con un superavvolgimento di tipo solenoidale intorno alle proteine istoniche, come vedremo più avanti.

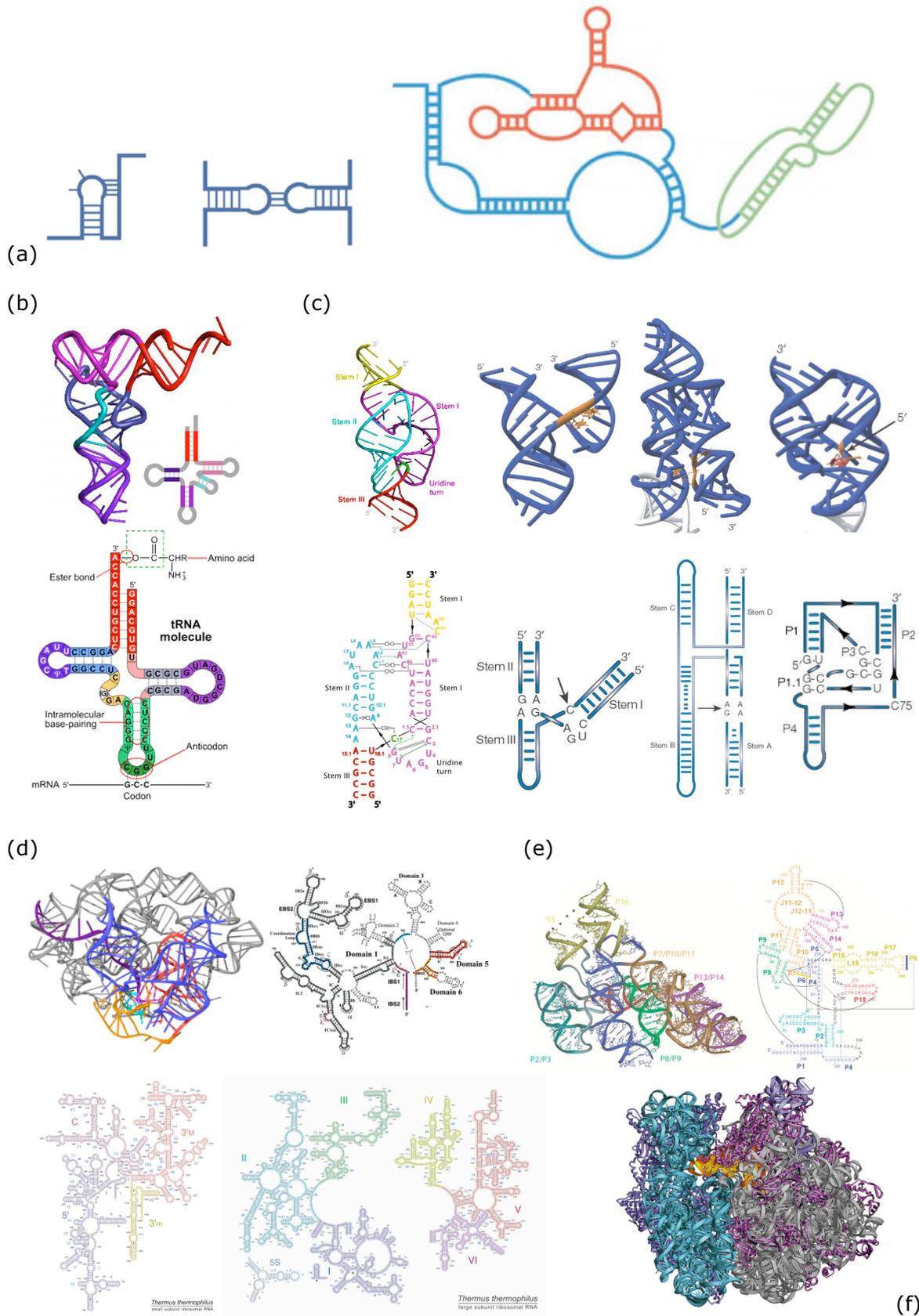


Fig 4.3 (a) Due tipici elementi di struttura terziaria (nell'ordine, *pseudoknot* e *kissing loops*) e un esempio di topologia complessa (b) tRNA (c) ribozimi con funzione di rottura del legame fosfodiesterico: hammerhead (primi due), hairpin, e il ribozima dell'epatite D (HDV)¹¹ (d) introne con funzione auto-catalitica di *self-splicing* (e) Ribonucleasi P (f) RNA ribosomiale: diagramma delle strutture delle sottounità e struttura del ribosoma.

Nell'RNA, come già accennato, il ripiegamento in strutture terziarie con specifiche forme tridimensionali ha principalmente ruoli funzionali. Per questo motivo, mentre il DNA superavvolto può avere una struttura piuttosto "fluttuante" (ad esempio le anse delle strutture plectonemiche si muovono) stabilizzata solo da interazioni di tipo "non-bonded", in RNA la struttura terziaria ha la necessità di essere stabilmente mantenuta. I tratti di elica e gli altri motivi strutturali secondari vengono mantenuti in posizioni e orientazioni relative stabili da accoppiamenti tra nucleotidi, che possono essere di tipo WC, oppure wobble o altro, ma comunque sono di tipo piuttosto specifico e coinvolgono solitamente almeno un legame a idrogeno tra basi. Alcune possibili topologie di formazione di strutture terziarie sono mostrate (Fig 4.3 (a)). Accoppiamenti estesi tra singoli strand e doppie eliche possono avvenire tramite la formazione di tratti di elica tripla. Sono anche possibili accoppiamenti tra doppie eliche parallele, tramite l'inserimento dei *grooves* l'uno nell'altro. Da quanto si è detto fin'ora sulle diversità tra DNA e RNA dovrebbe essere chiaro come questo sia possibile e avvenga più facilmente in RNA piuttosto che in DNA: l'RNA può più facilmente formare sia accoppiamenti non standard, sia strutture secondarie diverse dalla doppia elica, più propense a contatti di tipo terziario. Alcuni esempi di strutture terziarie tipiche sono riportati in Fig 4.3. Il tRNA (RNA transfer, Fig 4.3 (b)) è un esempio di struttura relativamente semplice, ma di fondamentale importanza: esso è la molecola chiave che realizza la decodificazione del codice genetico durante la traduzione dell'RNA messaggero (mRNA) in proteina, che avviene all'interno del ribosoma, come vedremo in dettaglio nella prossima sezione. I tre hairpin e il piccolo loop sono arrangiati in una struttura compatta con due estremità chiaramente riconoscibili: una di esse porta l'anticodone, cioè un loop con una tripletta complementare a quella codificante un amminoacido che è legato all'altra estremità. Esistono dunque diversi tRNA per i diversi amminoacidi.

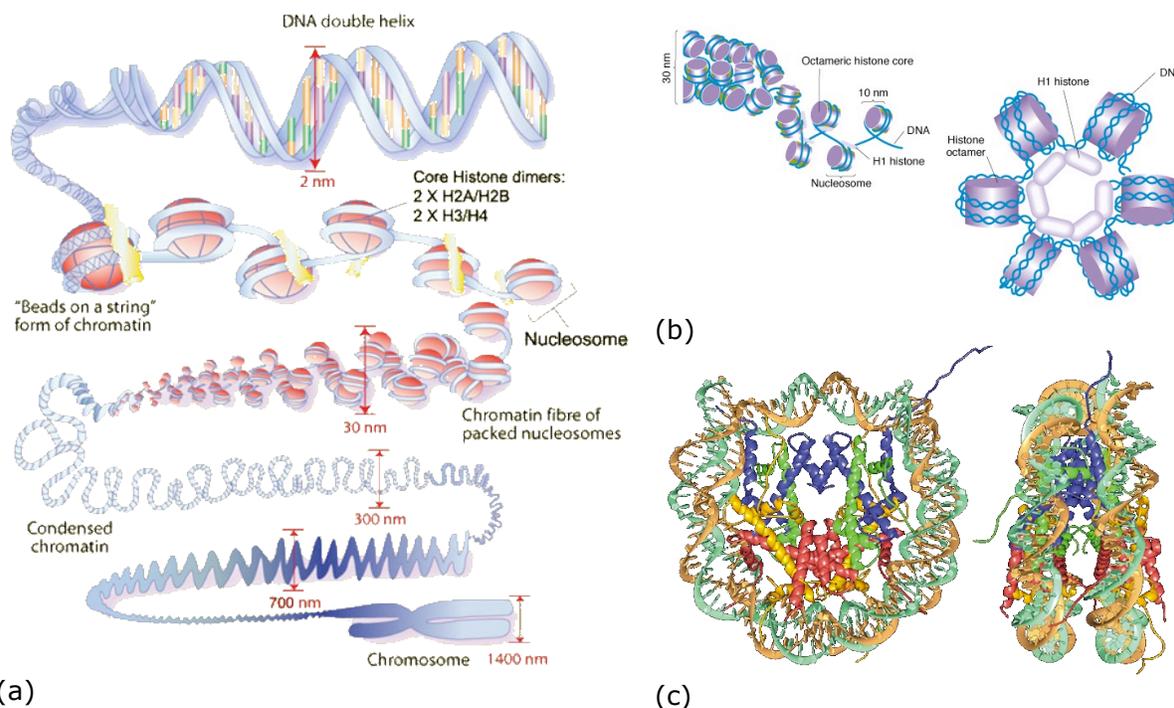


Fig 5.1 (a) Organizzazione gerarchica della struttura compatta del DNA. (b) Livello intermedio di compattazione: l'esamero di nucleosomi. (c) il nucleosoma: DNA in verde-ocra, proteine istoniche in blu-verde-giallo-rosso. È visibile la coda degli istoni.

Un'altra classe importante di RNA funzionali sono i ribozimi, ovvero RNA con funzione enzimatica. Fig 4.3 (c) riporta alcuni esempi di ribozimi di vari virus la cui funzione è la rottura del legame fosfodiesterico in maniera sequenza-specifica. A differenza degli enzimi idrolizzanti, in questo caso il meccanismo di reazione è l'isomerizzazione del legame. A funzioni più complesse e specifiche corrispondono ovviamente strutture più complesse. Alcuni introni (Fig. 4.3 (d)) hanno funzione di operare lo splicing dei propri esoni, mentre la ribonucleasi P è una nucleasi altamente specifica che "matura" il tRNA separando una parte del suo precursore. Infine, le sottounità ribonucleiche

che compaiono nei ribosomi (Fig 4.3 (f)) in associazione con catene polipeptidiche, globalmente chiamate RNA ribosomiale (rRNA) sono altamente strutturate e assolvono specifiche fasi durante la traduzione e sintesi proteica. Accenniamo infine agli aptameri, ovvero catene foldate di RNA con funzione di riconoscimento molecolare, che fanno di solito parte di strutture funzionali più complesse.

5. Struttura quaternaria

La struttura quaternaria riguarda il modo in cui le singole catene ripiegate o accoppiate in doppie eliche si combinano a formare un complesso, che può assumere anche dimensioni molto grandi. Data la loro carica netta positiva, grandi complessi composti esclusivamente da acidi nucleici difficilmente potrebbero essere stabili, dunque, specialmente quando le dimensioni del complesso sono dell'ordine di decine di nm, DNA e RNA normalmente si trovano in associazione con proteine, che assumono il doppio ruolo di elementi funzionali e stabilizzanti. Questi agglomerati macromolecolari costituiscono il "macchinario cellulare", cioè un insieme di nano-bio oggetti che svolgono tutte le funzioni cellulari. La loro varietà e la complessità è vasta. Nel seguito verranno illustrati due esempi specifici e di enorme importanza: il nucleosoma e il ribosoma.

Nelle cellule, il materiale genetico è normalmente organizzato in una forma strutturale compatta (Fig 5.1). La compattazione è necessaria dal momento che le singole catene di DNA possono raggiungere dimensioni macroscopiche (cm) e l'intero genoma può arrivare ad una estensione lineare di metri. Il nucleosoma è l'unità base di compattazione e consiste di due giri di DNA per una lunghezza totale di circa 150-200bp (40-50nm) avvolti intorno ad un ottamero di proteine istoniche (H2A, H2B, H3 e H4). I singoli nucleosomi si susseguono e il sistema assume l'aspetto di una collana di perline. I nucleosomi sono poi organizzati in esameri (Fig. 5.2 (b)) compattati da altri istoni (H1) e arrotolati in una struttura globalmente solenoidale, la fibra di cromatina, Fig 5.2 (a). Durante la mitosi cellulare e più specificamente nella metafase le fibre sono compattate in strutture macroscopiche ordinate chiamate cromosomi, mentre nell'interfase, quando avviene la duplicazione del DNA, la cromatina deve ovviamente scompattarsi. Questi cambiamenti strutturali visibili su scala macroscopica sono causati in ultima analisi da variazioni degli istoni, regolate da specifici enzimi: questi, dipendentemente dalle condizioni ambientali possono cambiare chimicamente la "coda" dell'istone (tratto terminale destrutturato), tramite metilazione, acetilazione o altro. Questo comporta una variazione strutturale che a sua volta induce lo srotolamento del DNA e la dissociazione dei nucleosomi.

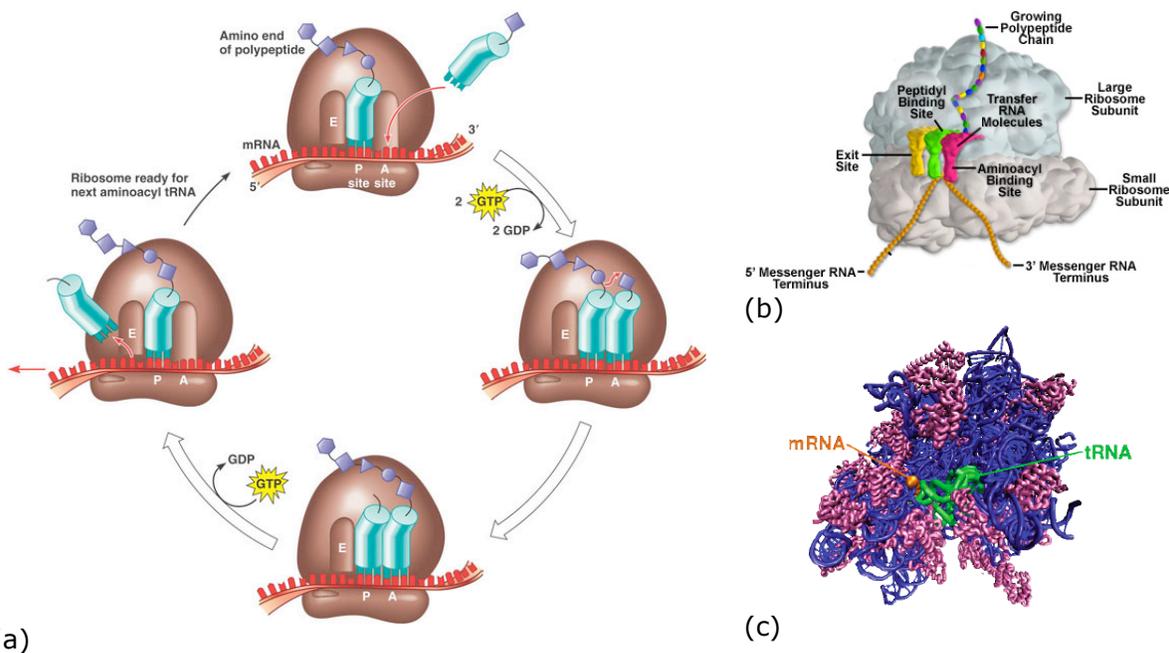


Fig 5.2 (a) Schema della fase di elongazione della sintesi proteica (b) struttura schematica del ribosoma con evidenziate le due sottounità, l'mRNA, il tRNA e i suoi tre siti di legame e il peptide in formazione (c) una rappresentazione in cartoon del ribosoma. Le catene proteiche sono rappresentate in rosa, quelle di acidi nucleici in blu. L'mRNA e il tRNA sono in arancio e verde.

Come già accennato, il ribosoma è un complesso macchinario cellulare che opera la traduzione dell'RNA messaggero (mRNA) e la sintesi proteica. Fig. 5.2 (a) riporta la fase dell'elongazione della catena peptidica quando il processo è già iniziato. L'mRNA è legato in una regione tra le due sottounità (chiamate piccola e grande, si veda Fig. 5.3 (b)). Dei tre siti di legame per il tRNA almeno uno è sempre occupato dal tRNA con l'amminoacido appena aggiunto. Il tRNA successivo si lega al sito adiacente, ma solo un tRNA con l'anticodone corrispondente al codone di mRNA esposto nel sito in quel momento si può legare. Una volta legato, il suo amminoacido si trova in posizione adiacente a quello della catena peptidica già formata e avviene la reazione di formazione del legame peptidico, tramite trasformazione di GTP in GDP. A questo punto il legame tra il vecchio tRNA e il peptide si stacca con un nuovo scambio tra GDP e GTP e tramite un "movimento" relativo tra le due sottounità, il ribosoma trasloca l'mRNA di un codone, e anche i due tRNA avanzano di una posizione e quello vecchio viene rilasciato, e il sistema torna alla conformazione di partenza per accettare un nuovo tRNA. Data la complessità delle operazioni che deve compiere, il ribosoma presenta una struttura molto complessa. Misura circa 25nm e le sue due sottounità sono composte da una cinquantina di catene tra proteine e tratti di RNA, tra cui anche i due substrati (mRNA e tRNA). Le altre catene di RNA e le proteine hanno funzione in parte strutturale in parte enzimatica.

In Tab 5.1 è riportato un sommario delle differenze principali tra DNA e RNA.

	DNA	RNA
Meccanismi di stabilità-degradazione	Scarsa propensione all'idrolisi della catena	Alta propensione all'idrolisi della catena
Denaturazione	Propensione a subire danni dai raggi UV Temperatura di denaturazione tra 30 e 110 gradi, dipendentemente da lunghezza e composizione	Suscettibilità di mutazione di C in U con formazioni di wobble pairs A parità di lunghezza e composizione, temperatura di denaturazione mediamente più alta di circa 10 gradi
Nucleotidi	Fosfato + desossiribosio + base azotata	Fosfato + ribosio + base azotata
Basi	Adenina Guanina Timina Citosina	Adenina Guanina Uracile Citosina (raramente: Inosina, ribotimina, pseudouridina...)
Struttura primaria	Catene molto lunghe, mediamente intorno ai 100 milioni di bp (~3 cm)	Catene relativamente corte, mediamente 20 -100 nucleotidi
Tipo di accoppiamenti tra basi	Principalmente accoppiamenti WC	Accoppiamenti WC, wobble pairs, accoppiamenti di Hoogsten
Conformazione del backbone	Zucchero in conformazione C2-endo (in BDNA) oppure in C3-endo (in ADNA)	Zucchero in conformazione esclusivamente C3-endo
Eliche	Conformazione principale: B-DNA A bassa idratazione: A-DNA Raramente, Z-DNA	solo A-RNA
Lunghezza di persistenza	~50nm	~60nm
Altri tipi di struttura secondaria	Piccoli tratti di triple o quadruple eliche Giunzioni di Hoilyday	Tratti di elica disaccoppiata, hairpins, bulges, internal loops, giunzioni
Struttura terziaria	Superavvolgimenti	Accoppiamenti estesi tra strutture secondarie tramite base pairing, knot e pseudoknot, eliche triple, accoppiamenti paralleli tra eliche.
Struttura quaternaria	Nucleosomi, elementi di organizzazione strutturale del genoma	Ribosomi, elementi del macchinario cellulare
Tipi principali-organizzazione	DNA codificante e non costituente il genoma, organizzato in cromosomi o plasmidi	mRNA, tRNA, ribozimi e altri tipi di RNA funzionale. RNA ribosomiale (rRNA). RNA codificante in virus
Funzioni	Conservazione e trasmissione dell'informazione genetica Ruoli strutturali (centromeri, telomeri)	Conservazione e trasmissione dell'informazione in alcuni virus. Trasporto dell'informazione all'interno della cellula (mRNA, tRNA). Ruoli funzionali nella duplicazione, trascrizione, traduzione del DNA o di RNA codificante, ruoli enzimatici (ribozimi) o altri ruoli funzionali

Tab 5.1 Caratteristiche e differenze principali tra DNA e RNA

Concludiamo questa sezione con un breve accenno alle nanostrutture artificiali di acidi nucleici. Grazie alla loro relativa semplicità almeno al livello di struttura primaria e secondaria e alla loro capacità di auto-assemblarsi in maniera prevedibile sulla base delle interazioni dominanti di WC, gli acidi nucleici si prestano particolarmente bene ad essere elementi da "costruzione" per nanostrutture artificiali modulari¹². Come nel caso degli aggregati naturali, le differenze strutturali di base tra DNA e RNA si riflettono in caratteristiche distinte nelle nanostrutture. Il "mattoncino base" del "lego" ad acidi nucleici è meno vario nel DNA: si tratta in generale di piccoli tratti di elica connessi da giunzioni di tipo Holliday (praticamente le uniche possibili nel DNA). Invece come abbiamo visto in RNA esistono naturalmente più motivi secondari strutturali, che portano ad una maggiore varietà di "mattoncini" e una maggiore possibilità di combinarli (Fig 5.3). Queste nanostrutture possono trovare applicazioni interessanti in biofisica molecolare (nano-bio-sintesi guidata, nano-bio strutturalistica, nano-bioelettronica, ...)

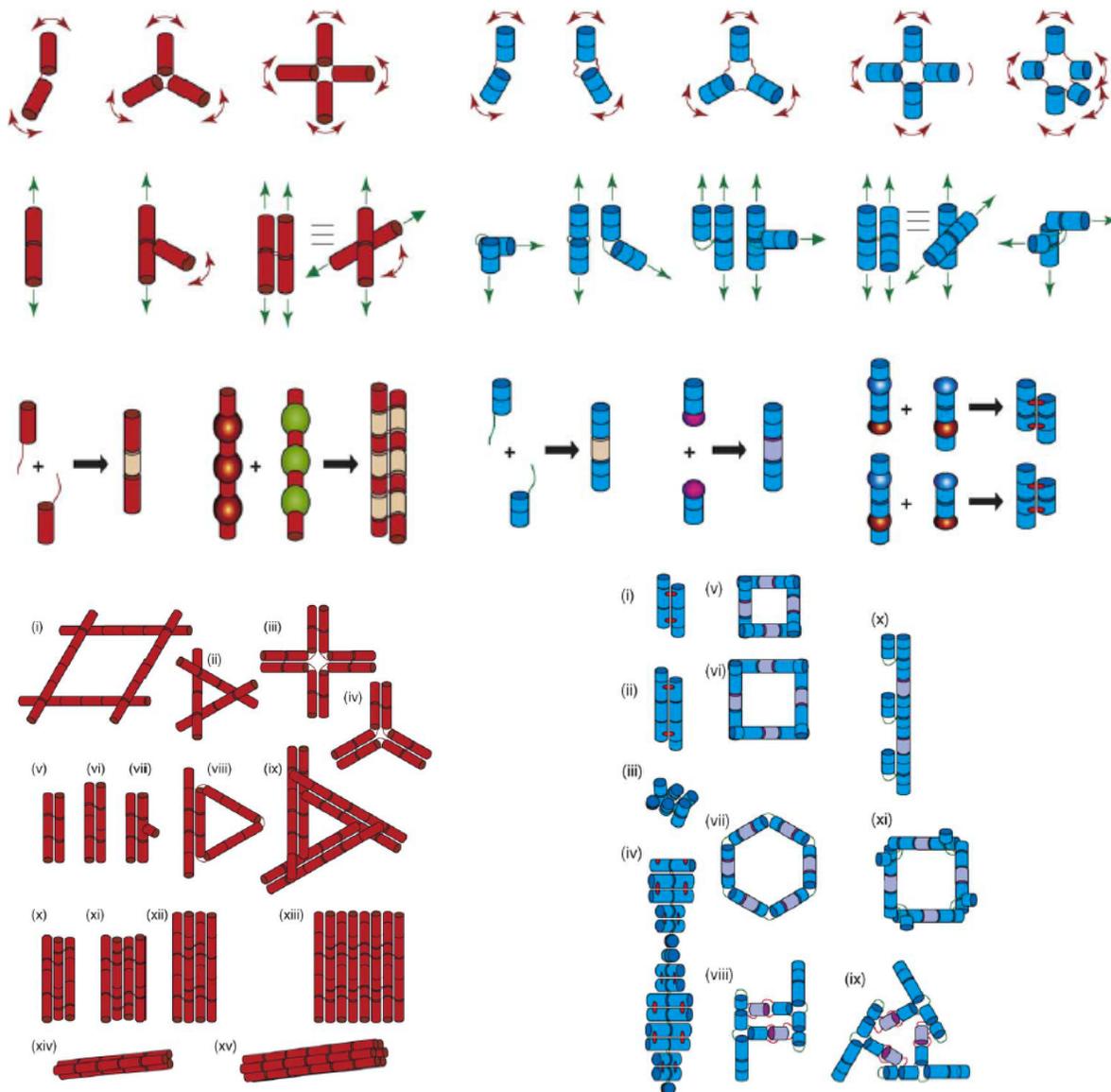
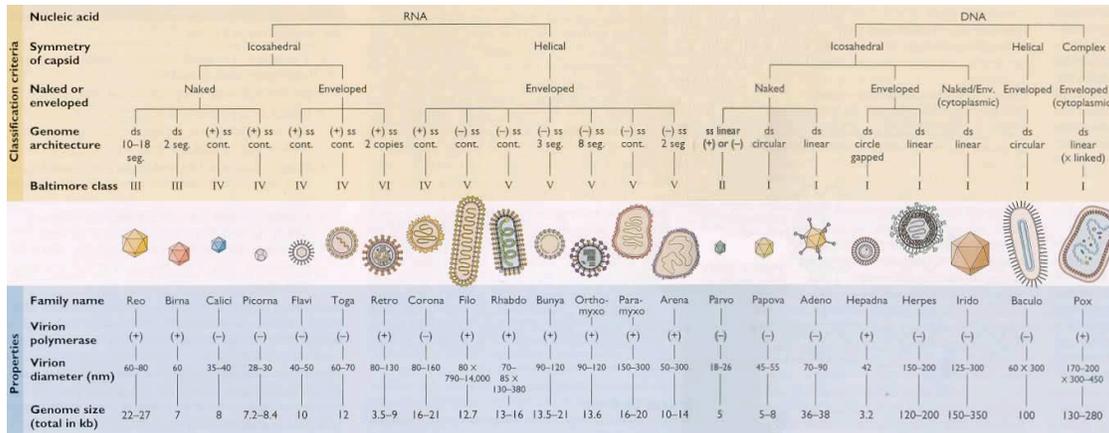


Fig 5.3 Mattoncini base e alcuni esempi di nanostrutture di DNA (in rosso) e RNA (in blu)

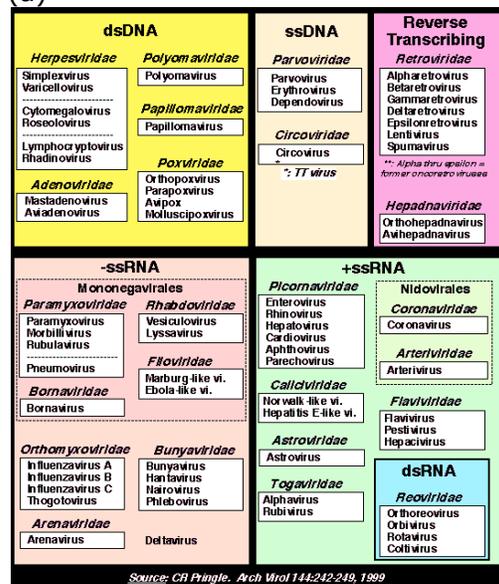
6. Virus ed altre entità auto-replicanti. Il limite della vita

I virus sono un esempio di entità la cui esistenza è interamente e quasi esclusivamente basata sugli acidi nucleici. Strutturalmente, consistono di una capsula proteica (capside) che contiene DNA o RNA (1000-200000 coppie di basi) con la sola l'informazione necessaria per la propria replicazione. La replicazione, tuttavia, necessita di una cellula ospite di cui il virus utilizza la

macchina replicatoria, e che muore dopo la replicazione, il che fa del virus un parassita. La discussione sul considerare i virus esseri viventi o meno non è ancora chiusa, come la questione delle loro origini. Ci sono diverse ipotesi: fuga di materiale genetico da organismi primitivi (come batteri) o coevoluzione con organismi più complessi. In ogni caso, la grande varietà dei virus attuali, che sfruttano meccanismi di infezione molto diversi, adattati praticamente ad ogni organismo vivente, suggeriscono una loro apparizione molto precoce nella storia dell'evoluzione della vita.



(a)



(b)

I: ds-DNA (Adenovirus, Herpesvirus, Poxvirus, ...) Si replicano direttamente nel nucleo usando le proteine cellulari (Adenovirus) oppure nel citoplasma (Poxviruses) producendo i loro propri enzimi per la replicazione.
 II: ss (+)DNA (Parvovirus) La replicazione avviene nel nucleo ma ha come passo intermedio la formazione di una catena (-) che serve come modello per la catena (+)mRNA usata nella replicazione.
 III: ds-RNA (Reoviruses, Birnaviruses) Questi virus hanno il genoma segmentato. Ogni segmento viene trascritto separatamente in singoli frammenti di mRNA.
 IV: ss(+)RNA (Picornavirus, Togavirus, etc)
 a) mRNA (Picornaviruses, Hepatitis A). Il genoma è utilizzato direttamente come mRNA, ed è direttamente infettivo, senza bisogno di polimerasi associate. La traduzione produce direttamente la poliproteina virale, che viene tagliata per produrre le proteine funzionali.
 b) a traduzione complessa (Togaviruses). Il genoma deve sottostare a uno o più passaggi di trascrizione per produrre l'mRNA.
 V: ss (-)RNA (Orthomyxovirus, Rhabdovirus, etc) necessita una polimerasi di RNA virale
 a) segmentati (Orthomyxovirus). Il primo passo è la trascrizione in mRNA per mezzo della polimerasi di RNA virale RNA-dipendente. L'mRNA viene poi usato come modello nella replicazione.
 b) non-segmentati (Rhabdovirus). La replicazione procede come sopra

VI: ss(+)RNA diploide con intermedio di DNA (Retrovirus) Contrariamente alla classe IV l'RNA non viene direttamente usato come mRNA, ma viene prima trascritto in DNA con una trascrittasi inversa, e successivamente usato nel macchinario cellulare
 VII: ds-DNA con intermedio RNA (Hepadnavirus) Anche questo gruppo di virus usa la trascrizione inversa, ma a differenza dei retrovirus, questa avviene all'interno della particella virale.

Fig 6.1 (a) classificazione gerarchica dei virus (b) classificazione di Baltimora

La classificazione dei virus può essere basata su diversi criteri. Il sistema di classificazione gerarchica fu proposto nel 1962 da Lwoff, Horne, e Tournier (Fig 6.1 (a)), e si basa sulle seguenti proprietà della particella virale: (1) La natura dell'acido nucleico (RNA o DNA) (2) simmetria del capsido (3) Presenza o assenza di una membrana esterna (involuppo) (4) architettura del genoma (doppia (ds) o singola elica (ss), senso (+) o antisenso (-)). Il cosiddetto sistema "Baltimora" è invece basato sul meccanismo di replicazione. Il punto centrale è che il macchinario replicativo della cellula utilizza esclusivamente tratti di mRNA +senso. Quindi per utilizzarlo il virus deve o avere in origine il proprio materiale genetico utilizzabile in quella forma, o altrimenti modificarlo in

tal senso. Perciò genomi con diversa architettura (DNA, o RNA, ds o +/- ss) devono usare diversi meccanismi e percorsi per la replicazione, e sulla base di questi si possono distinguere sette classi riportate in Fig 6.1.

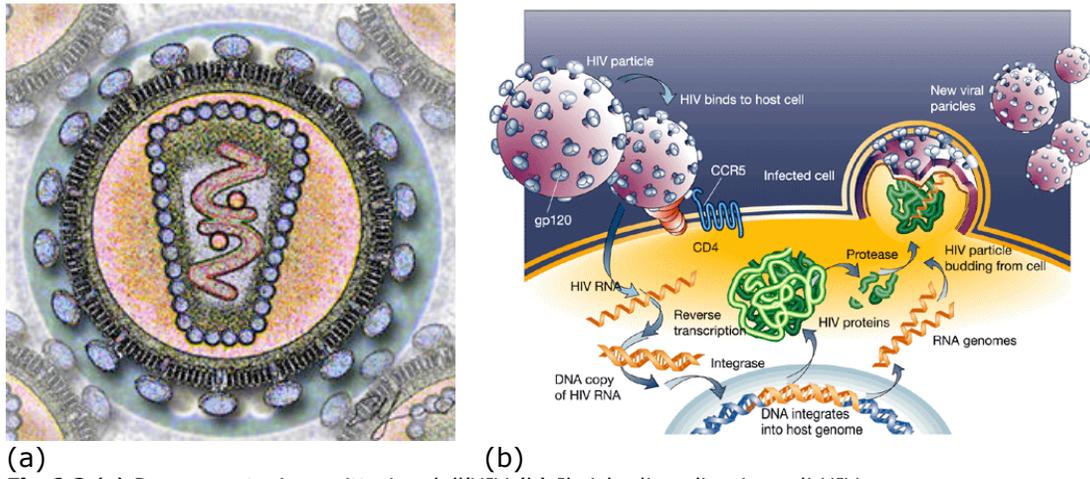


Fig 6.2 (a) Rappresentazione pittorica dell'HIV (b) Il ciclo di replicazione di HIV.

Nel seguito viene illustrata come esempio il ciclo di replicazione del virus dell'AIDS (HIV), un retrovirus (+)ss icosaedrico (Fig 6.2¹³). Dopo che il virus si è legato alla membrana cellulare con l'aiuto delle proteine dell'involucro, questo si fonde con la membrana cellulare e internalizza il capsido: l'RNA virale entra nella cellula. Nei retro-virus l'RNA è (+)senso, ma non viene usato direttamente come mRNA. Deve invece essere trascritto in DNA per mezzo della trascrittasi inversa del virus (da cui il nome retro-virus), iniettata nella cellula insieme al materiale genetico. In questo modo viene prodotto un DNA a doppia elica, che viene integrato nel genoma della cellula per mezzo di un altro enzima virale, l'integrasi di HIV. A questo punto il macchinario della cellula segue le fasi normali della replicazione: trascrizione in mRNA, traduzione del DNA virale nelle poli-proteine virali. Queste sono poi tagliate in segmenti funzionali dalla proteasi di HIV (iniettata nella cellula insieme all'RNA virale) per generare tutto l'insieme delle proteine virali (quelle del capsido e tutti gli enzimi necessari al virus, trascrittasi inversa, integrasi e proteasi). Queste, insieme alle copie dell'RNA virali sono poi assemblati in nuove particelle virali che "germogliano" fuori dalla cellula. Gli attuali farmaci anti-aids usano generalmente come bersaglio uno degli enzimi coinvolti nel ciclo (trascrittasi inversa, integrasi, proteasi).

Esistono agenti infettivi che sfuggono alla classificazione convenzionale dei virus. Essi sono particelle sub-virali chiamate viroidi (piccoli frammenti di acidi nucleici senza capsido che non codificano alcuna proteina) e satelliti (piccoli virus o frammenti di acidi nucleici che possono solo co-infettare una cellula insieme ad un "master virus").

Infine, è degna di menzione l'ipotesi dell'origine virale del nucleo delle cellule eucariote: il nucleo potrebbe essere evoluto da un grosso e persistente virus a DNA che si sarebbe stanzializzato all'interno di un procariote. Qualche supporto a questa idea viene dall'analisi delle sequenze delle DNA polimerasi: sembra che le sequenze delle polimerasi di eucarioti e procarioti siano più correlate a quelle dei virus che non tra loro. Inoltre, alcuni ricercatori ora ritengono che i virus abbiano avuto un ruolo strumentale (più una simbiosi che un parassitismo) nell'assemblaggio dei vari componenti che definiscono i diversi tipi di cellule. Questo indicherebbe che i virus sono tra i primi organismi apparsi sulla terra.

Se i virus sono considerati al confine tra vita e non vita, la questione è ancora più controversa per certe altre strutture autoreplicanti, come i prioni. I prioni sono agenti infettivi proteici. La malattia prionica si manifesta quando la proteina prionica, esistente in forma normale (non infettiva) nell'organismo, si ripiega in maniera scorretta, o subisce una trasformazione strutturale, di solito da un α -elica in un β -nastro (Fig 6.3 (a)). Questo provoca il comportamento infettivo della proteina, tipicamente l'aggregazione con formazioni di fibre che e placche che si accumulano nei tessuti¹⁴. Il meccanismo di aggregazione non è sempre chiaro, ma in generale avviene attraverso la formazione di fibrille amiloidi dovute alla tendenza dei beta-nastri ad aggregare in foglietti (Fig 6.3 (b)). Questa è la patogenesi di un gruppo di malattie chiamate encefalopatie spongiformi

trasmissibili (TSE, tra le quali la malattia della mucca pazza). In questo caso l'aggregato amiloide si deposita nel tessuto cerebrale, causando la nota sintomatologia e infine la morte. In generale, il meccanismo di moltiplicazione e trasmissione dei prioni è particolarmente interessante: le proteine mal ripiegate inducono la transizione nelle proteine normali (Fig 6.4), quindi in un qualche senso il prione si auto-replica. La transizione alla forma patologica può essere indotta da una mutazione e può essere inizialmente sporadica e quiescente. Ma quando viene raggiunto un certo livello la propagazione della forma infettiva può essere molto veloce e può passare ad altri individui attraverso la contaminazione con tessuti infetti o per via genetica. Questo è un esempio notevole di meccanismo di replicazione che coinvolge solo proteine.

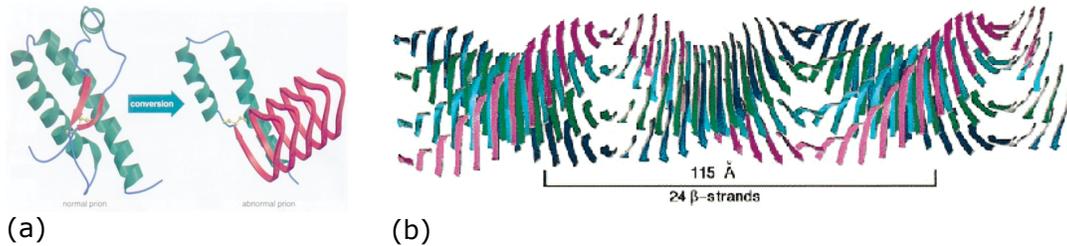
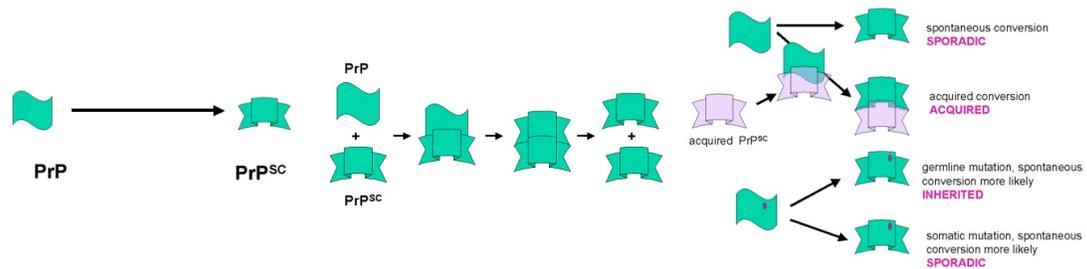


Fig 6.3(a) Modello per la conversione strutturale del prione. (b) Modello di una generica fibrilla amiloide.



Conversione strutturale e formazione della forma patologica (PrP^{Sc}) della proteina prionica, ricca in strutture beta-nastri.

La forma PrP^{Sc} induce la forma normale PrP a transire e aggregarsi (cioè "si replica"). Il processo si propaga e la malattia si sviluppa nell'individuo.

La transizione spontanea è molto rara. Sporadicamente può però essere causata da mutazioni somatiche o ereditate. Tuttavia la forma infettiva PrP^{Sc} può passare da un individuo malato ad uno sano ed indurre la malattia (contagio).

Fig 6.4 Il meccanismo di replicazione e trasmissione della TSE.

Riferimenti Bibliografici

- ¹ W Gilbert *The RNA World* Nature 319, 618 (1986)
- ² Joyce C, Steitz T (1995). *Polymerase structures and function: variations on a theme?* J Bacteriol 177 (22): 6321-9. PMID 7592405.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=177480&blobtype=pdf>
- ³ *Biochemistry* Matthews and Van Holden (1995) (Benjamin-Cummings)
- ⁴ a b Watson J.D. and Crick F.H.C. "A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid". (PDF) Nature 171, 737-738 (1953).
- ⁵ Richmond, et al (2003). The structure of DNA in the nucleosome core. Nature 423: 145-150. PMID 12736678; Hayashi G, Hagihara M, Nakatani K (2005). Application of L-DNA as a molecular tag. Nucleic Acids Symp Ser (Oxf) 49: 261-262; Vargason JM, Eichman BF, Ho PS (2000). The extended and eccentric E-DNA structure induced by cytosine methylation or bromination. Nature Structural Biology 7: 758-761; Wang G, Vasquez KM (2006). Non-B DNA structure-induced genetic instability. Mutat Res 598 (1-2): 103-119; Allemand, et al (1998). Stretched and overwound DNA forms a Pauling-like structure with exposed bases. PNAS 24: 14152-14157
- ⁶ A.Rich, S Zhang Timeline: Z-DNA: the long road to biological function. Nat Rev Genet 4, 566-572 (2003)
- ⁷ S M Freier et al Improved free-energy parameters for predictions of RNA duplex stability PNAS 83 9373-77 1986; J SantaLucia et al Improved nearest-neighbor parameters for predicting DNA Duplex stability Biochemistry 35 3555-62 (1996)
- ⁸ Donna K. Hendrix, Steven E. Brenner and Stephen R. Holbrook, *RNA structural motifs : building blocks of a modular biomolecule* Quarterly Reviews of Biophysics, 1 -23 2006
- ⁹ F Trovato, V Tozzini *Supercoiling and Local Denaturation of Plasmids with a Minimalist DNA Model* J Phys Chem B 112, 13197-13200 (2008)
- ¹⁰ Allyn J. Schoeffler and James M. Berger *DNA topoisomerases : harnessing and constraining energy to gover nchromosome topology* Quarterly Reviews of Biophysics 41, 1 (2008), pp. 41-101.
- ¹¹ Jennifer A. Doudna Thomas R. Cech The chemical repertoire of natural ribozymes Nature 418 222 (2002)
- ¹² L Jaeger and A Chworos *The architectonics of programmable RNA and DNA nanostructures* Curr Opin Struct Biol 16 531-543 (2006)
- ¹³ R.A. Weiss, EMBO reports 4, S1, S10-S14 (2003); D W Ussery *DNA structures: A-, B- and Z-DNA families* in Encyclopedia of life sciences (2002)
- ¹⁴ Interesting papers on prions: Nature 428 pp 265, 319, 323 (2004), F. Eghiaian, Curr Opin Struct Biol 15, 724-730 (2005)