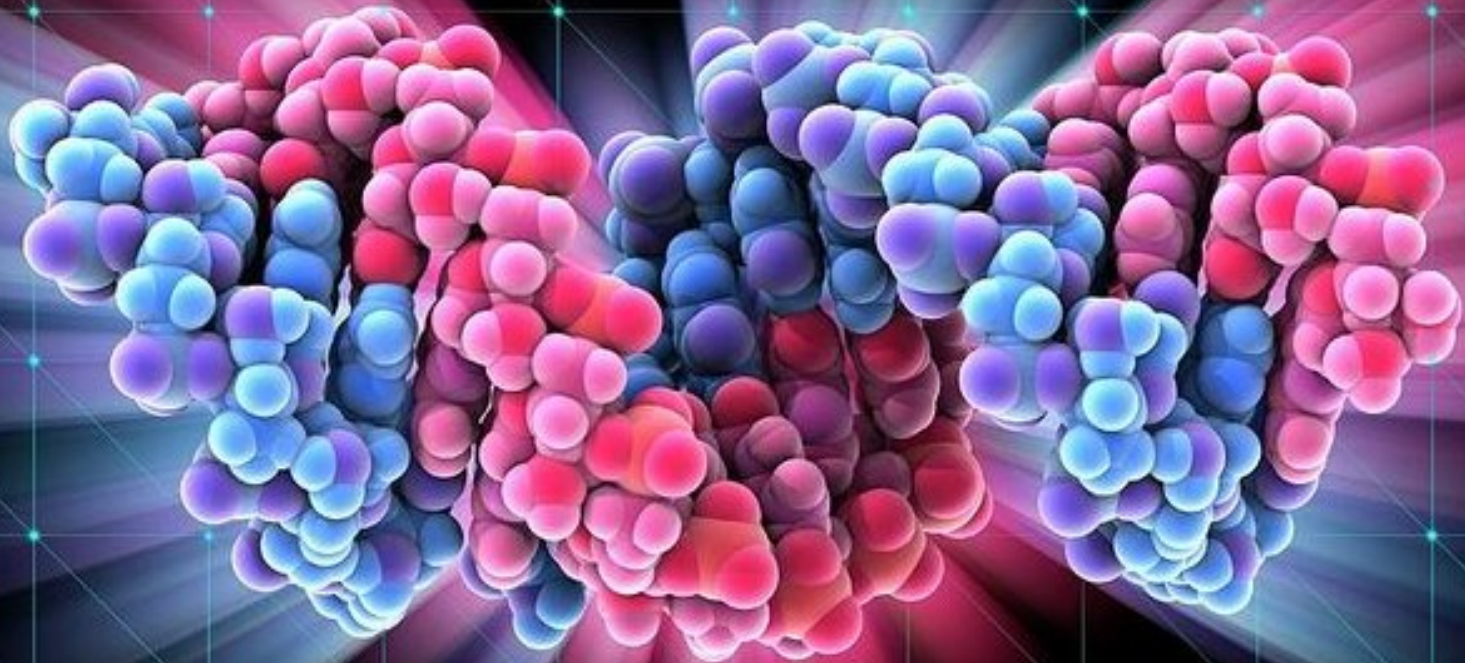


La struttura del DNA e dell'RNA



Protein (DNA) Data Bank: PDB

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More Documentation MyPDB

RCSB PDB PROTEIN DATA BANK 176773 Biological Macromolecular Structures Enabling Breakthroughs in Research and Education

Enter search term(s) [Search] Help

Advanced Search | Browse Annotations

Worldwide Protein Data Bank Foundation

EMDataResource

PROTEIN DATA BANK

Worldwide Protein Data Bank Foundation

Celebrating 50 YEARS OF Protein Data Bank

Welcome

Deposit

Search

Visualize

Analyze

Download

Learn

A Structural View of Biology

This resource is powered by the Protein Data Bank archive-information about the 3D shapes of proteins, nucleic acids, and complex assemblies that helps students and researchers understand all aspects of biomedicine and agriculture, from protein synthesis to health and disease.

As a member of the wwPDB, the RCSB PDB curates and annotates PDB data.

The RCSB PDB builds upon the data by creating tools and resources for research and education in molecular biology, structural biology, computational biology, and beyond.

COVID-19 CORONAVIRUS Resources

PDB50: A special symposium
May 4-5, 2021
Register by May 1
VIRTUAL EVENT

April Molecule of the Month

SARS-CoV-2 Spike and Antibodies

Latest Entries

As of Tue Apr 13 2021

7DBS

Crystal Structure Of Biotin Protein Ligase From Leishmania Major in complex with Biotin

Features & Highlights

Scientific Software Developers and Postdocs
Join RCSB PDB to design, develop, & deploy modern web and data applications & complex user interfaces. Help accelerate research and training in biology, medicine, & related disciplines. Positions at Rutgers and SDSC/UCSD.

Developers: HTTPS enforcement starts May 10
HTTPS will be required for RCSB PDB APIs and websites

Enter the 2021 CellPAINT Contest by May 1
Create images inspired by vaccines and by 50 years of the PDB with CellPAINT and win prizes

News

Register for PDB50 by May 1
Join the wwPDB May 4-5 for a symposium of speakers from around the world who have made tremendous advances in structural biology and bioinformatics » 04/18/2021

Spring Newsletter Published
PDB50 anniversary celebrations; CellPAINT image contest; new search tools; and more. Education Corner Explores the Structure-Function Relationship with Digital and Physical 3D Models of Proteins. » 04/13/2021

New pdb-I Bulletin Board
Send messages to the PDB user community using pdb-I@lists.wwpdb.org. » 04/09/2021

Publications

Visualizzazione 3D di macromolecole e complessi macromolecolari

Molecular Machinery: A Tour of the Protein Data Bank

Scale (nm): 1 5 10 1 nm (nanometer) = 10⁻⁶ millimeters

PDB ID: 1bna

DNA encodes genetic information in a chain of nucleotides. This historical structure was the first atomic structure of B-form DNA, and includes a short DNA double helix twelve nucleotides long.

Learn more from the *Molecule of the Month* article [DNA](#)

atom: [DG]10:A:C8

Spin
Spin
Style
Spheres
Cartoon
Ball and Stick
Color
Rainbow
Chain

Structure Function

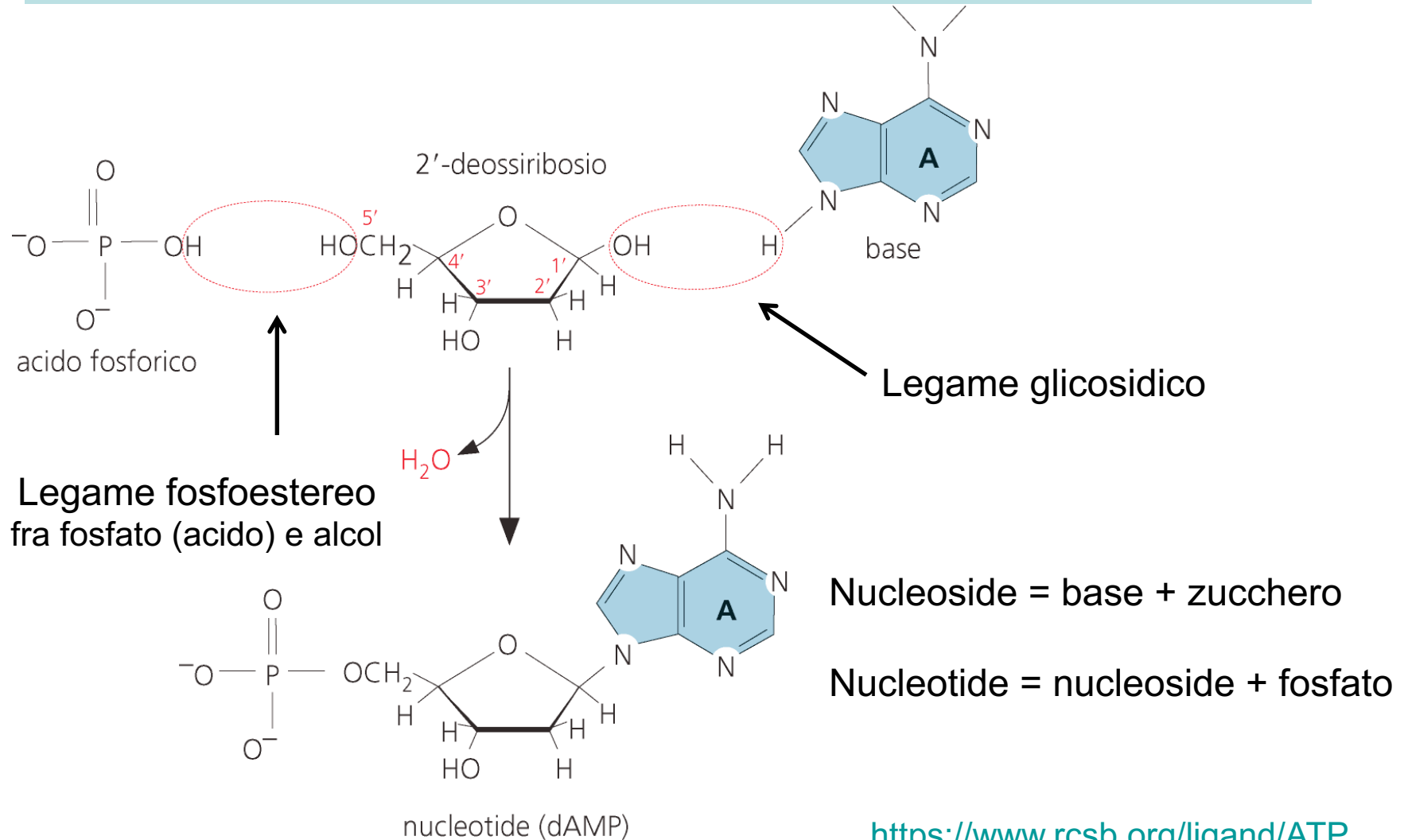
- Small molecules
- Digestive Enzymes
- Blood Plasma
- Viruses and Antibodies
- Hormones
- Channels, Pumps and Receptors
- Photosynthesis
- Energy Production
- Storage
- Enzymes
- Infrastructure
- Protein Synthesis
- DNA

Fullscreen
Auto
About

PCSB PDB PROTEIN DATA BANK
RCSB PDB-101

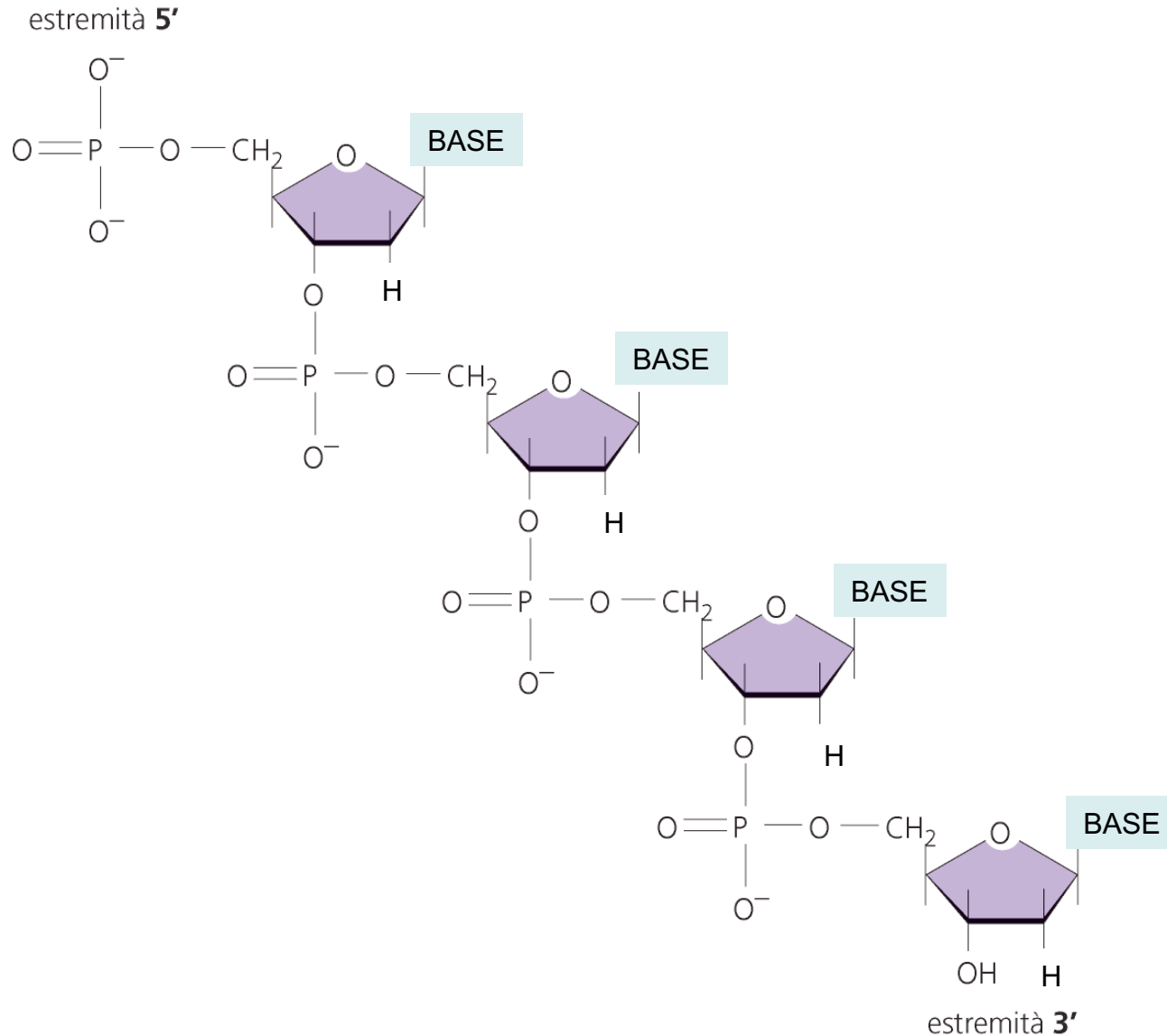
Extracellular Membrane Intracellular/Cytosol Intracellular/Nucleus Cellular Location

L'unità di base del DNA è il nucleotide:
un fosfato legato ad uno zucchero (2'-desossiribosio) a cui è
legata una base

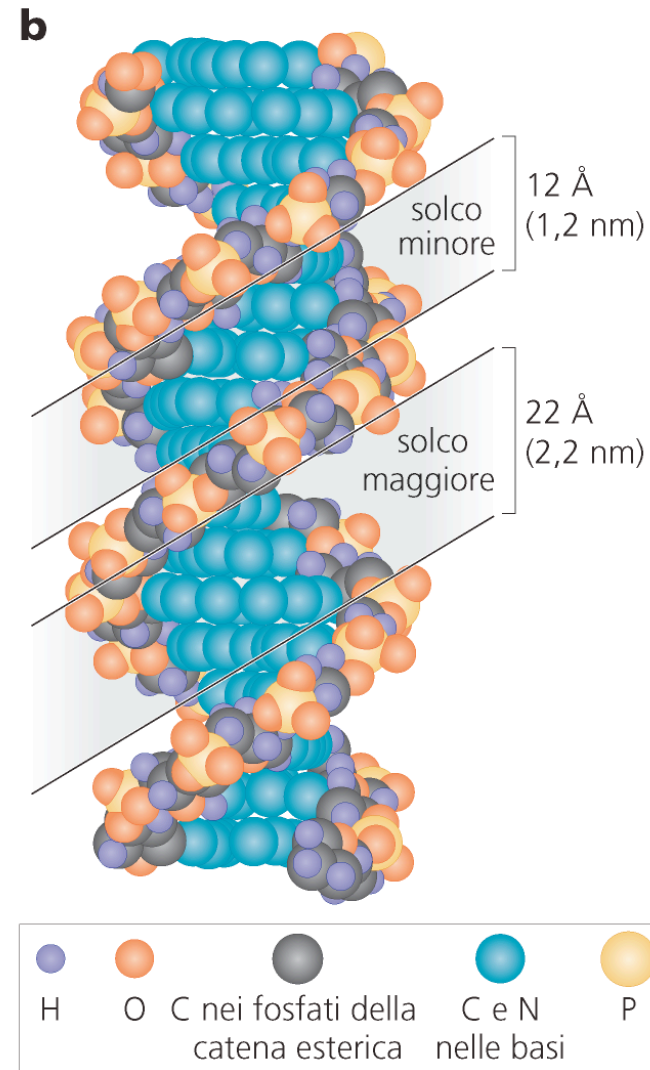
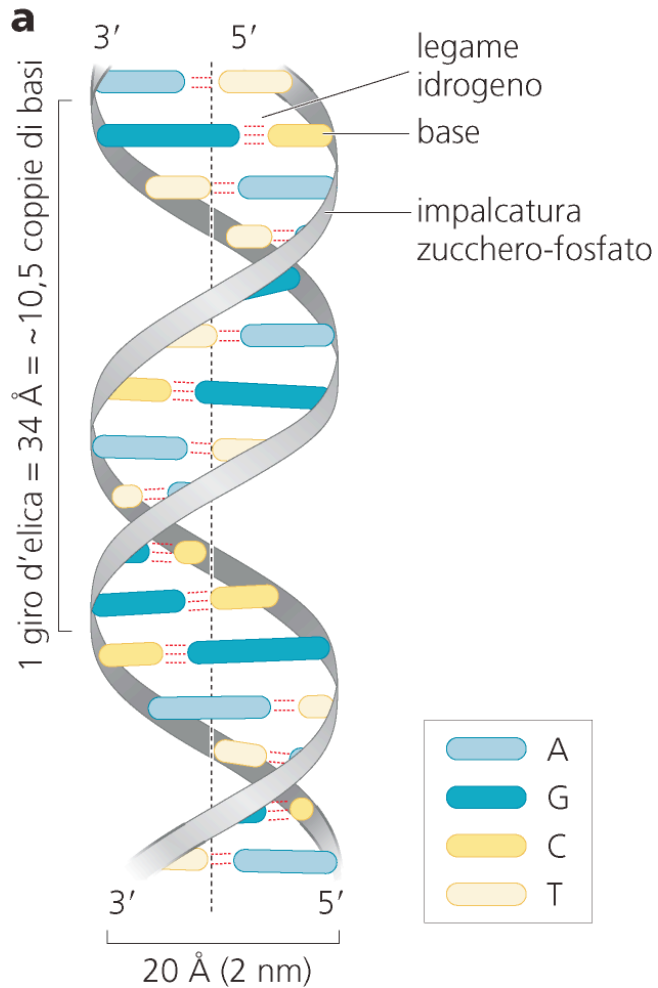


<https://www.rcsb.org/ligand/ATP>

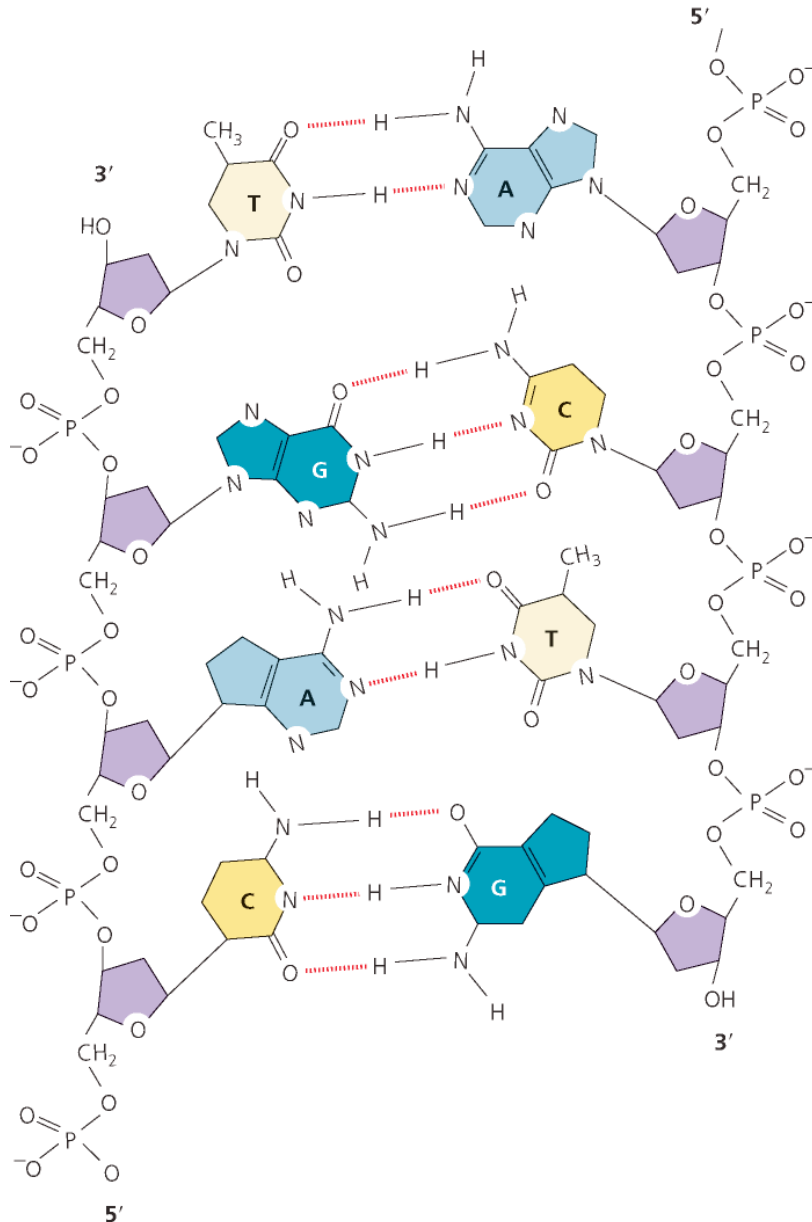
I nucleotidi possono formare catene polinucleotidiche attraverso legami del 5' con il 3'



Il DNA è formato da catene polinucleotidiche



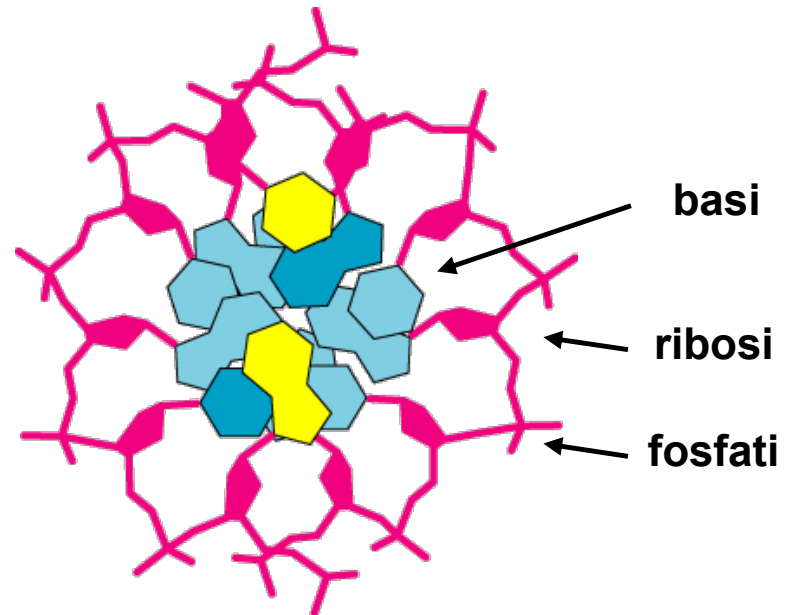
I nucleotidi sono legati l'un l'altro in catene polinucleotidiche (legame fosfodiesterico)



Polarità della catena

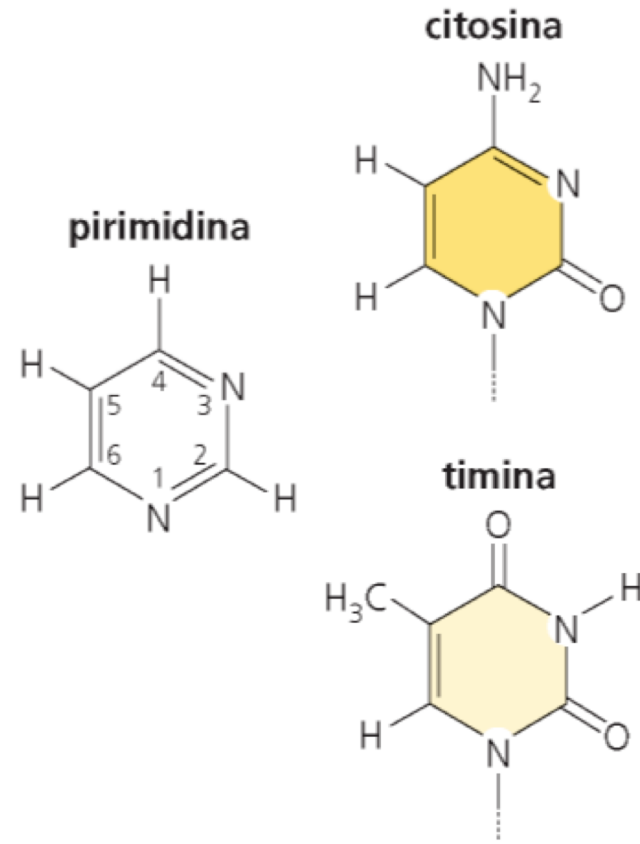
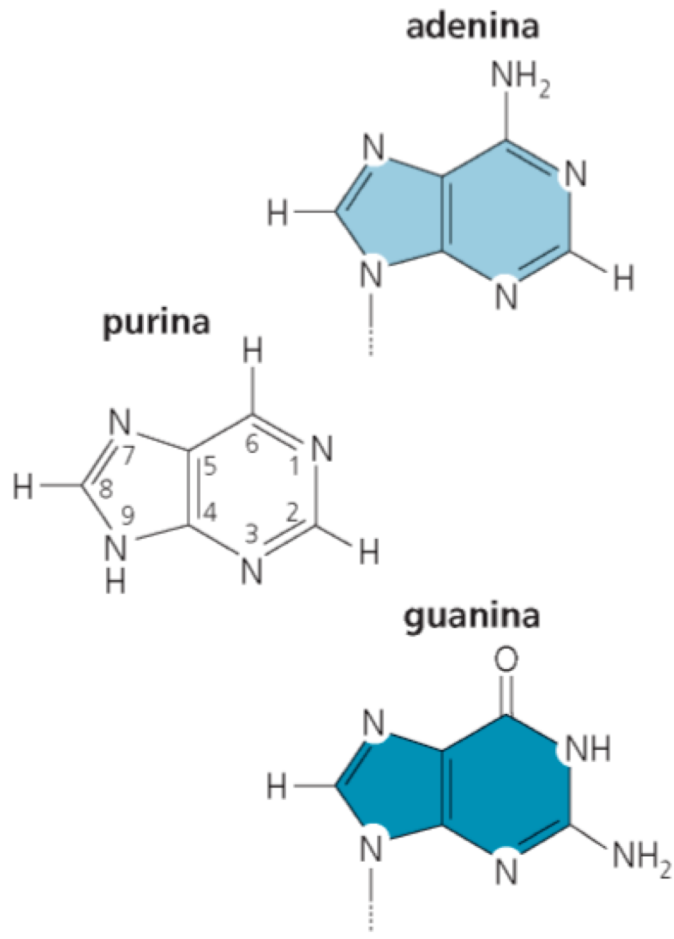
5' -> 3'

Entrambi i filamenti hanno cariche negative date dai fosfati



Struttura primaria: successione delle basi

Struttura secondaria: doppia elica

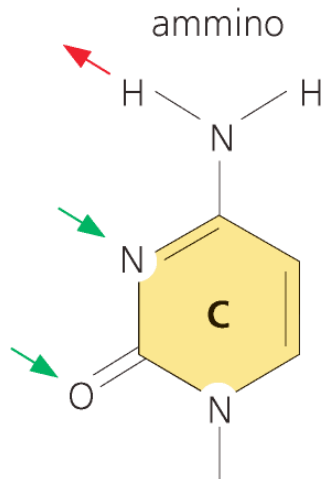


Basi purine : doppio anello con diversi gruppi legati
Basi pirimidine : singolo anello con diversi gruppi legati

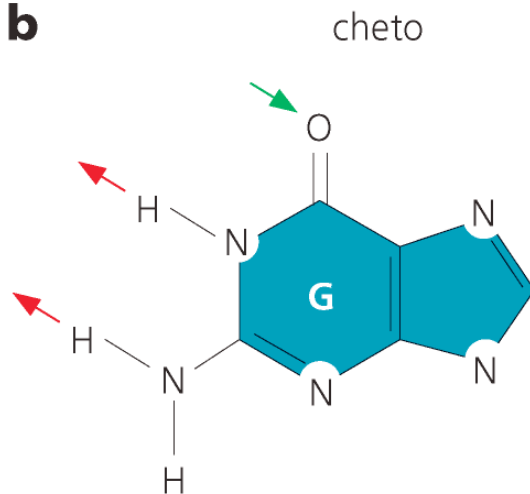
Legate al gruppo glicosidico mediante N9 (purine) o N1 (pirimidine)

Conformazioni tautomeriche delle basi

a



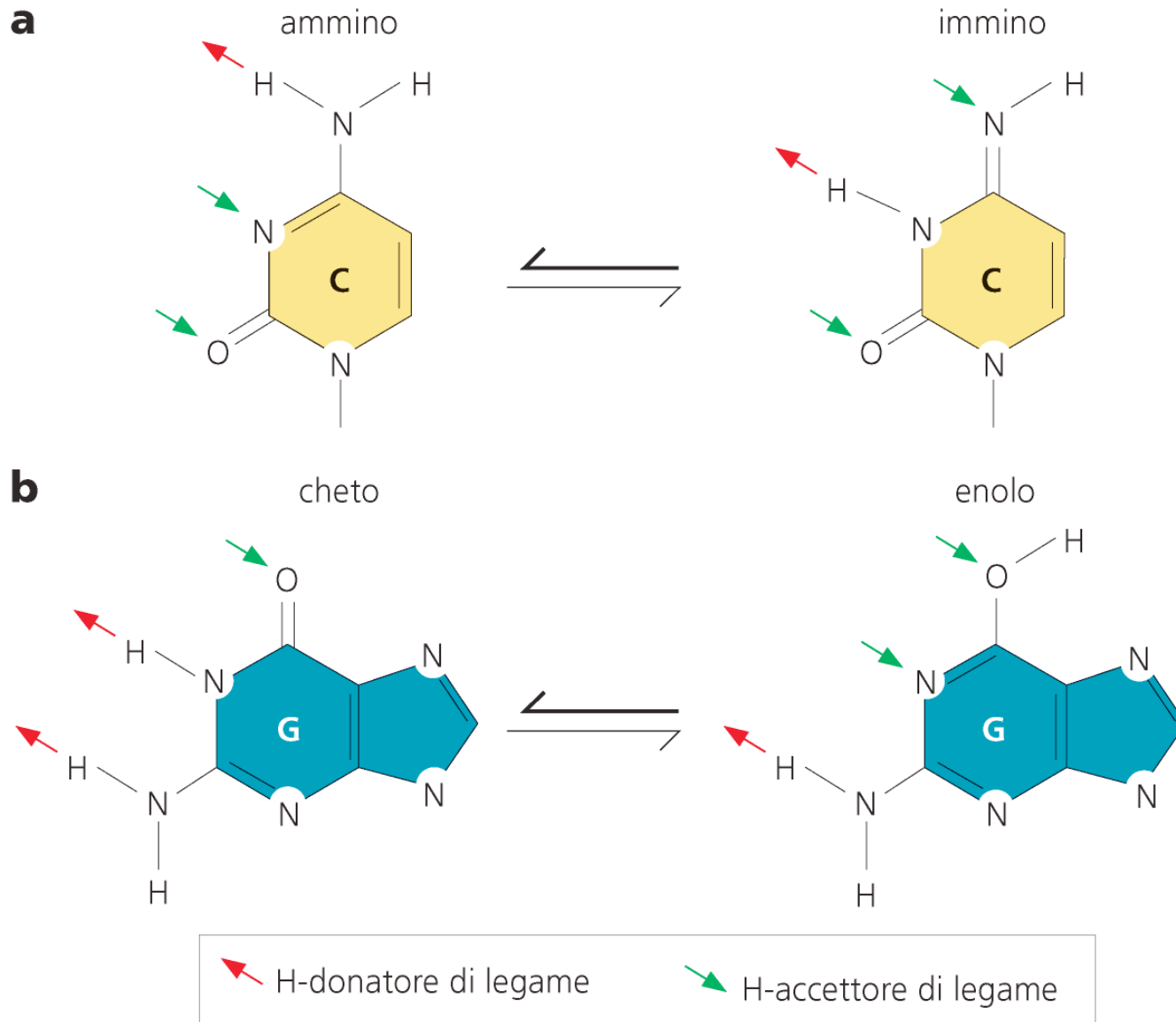
b



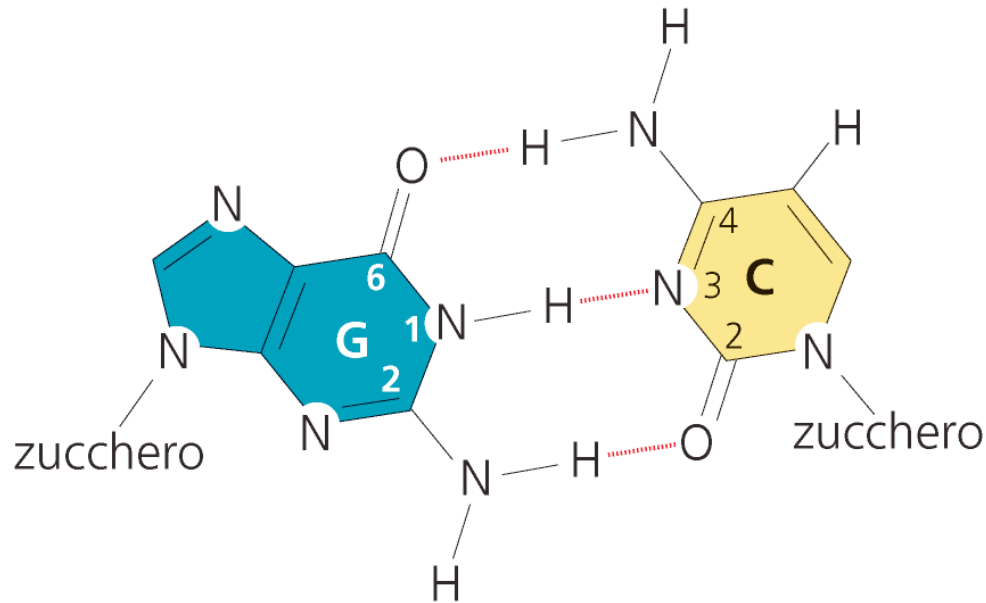
 H-donatore di legame

 H-accettore di legame

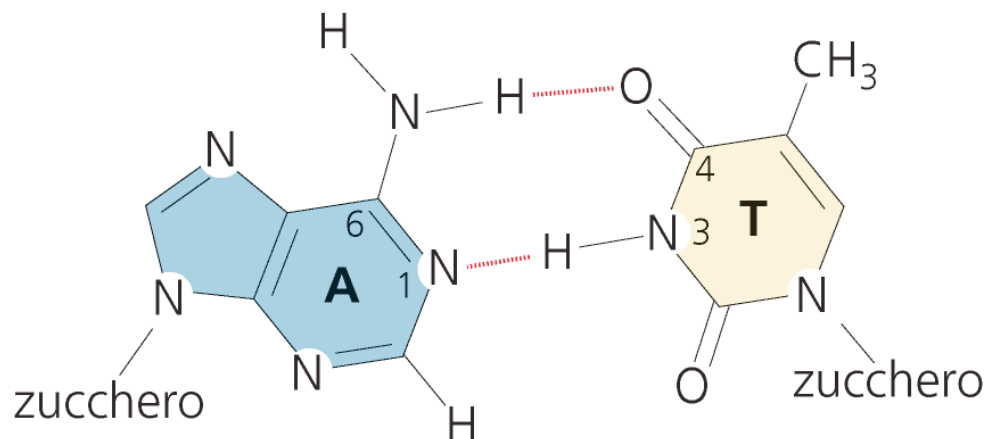
Conformazioni tautomeriche delle basi



I due filamenti della doppia elica sono tenuti assieme dall'appaiamento delle basi con un'orientazione antiparallela ed hanno sequenze complementari

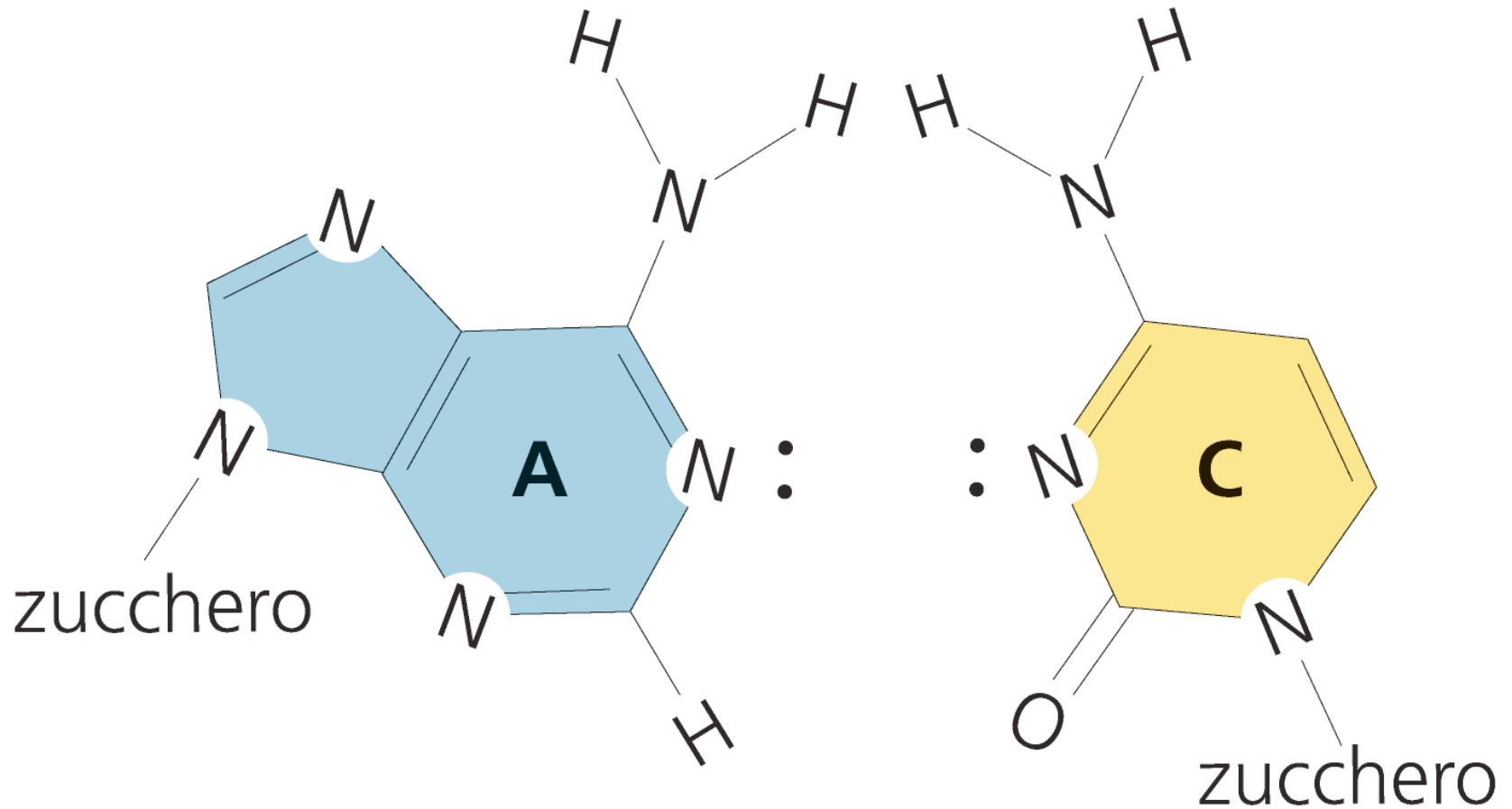


L'appaiamento secondo Watson-Crick richiede la corretta forma tautomerica (*tautomeri possono appaiarsi durante la replicazione con basi non canoniche - - > mutazioni*)



Tutte e 4 le coppie di basi possono essere posizionate nella doppia elica senza che si abbiano distorsioni nella struttura del DNA e possono impilarsi l'una sull'altra rimanendo all'interno dell'impalcatura dei zucchero-fosfati

Incompatibilità dell'accoppiamento A:C e G:T



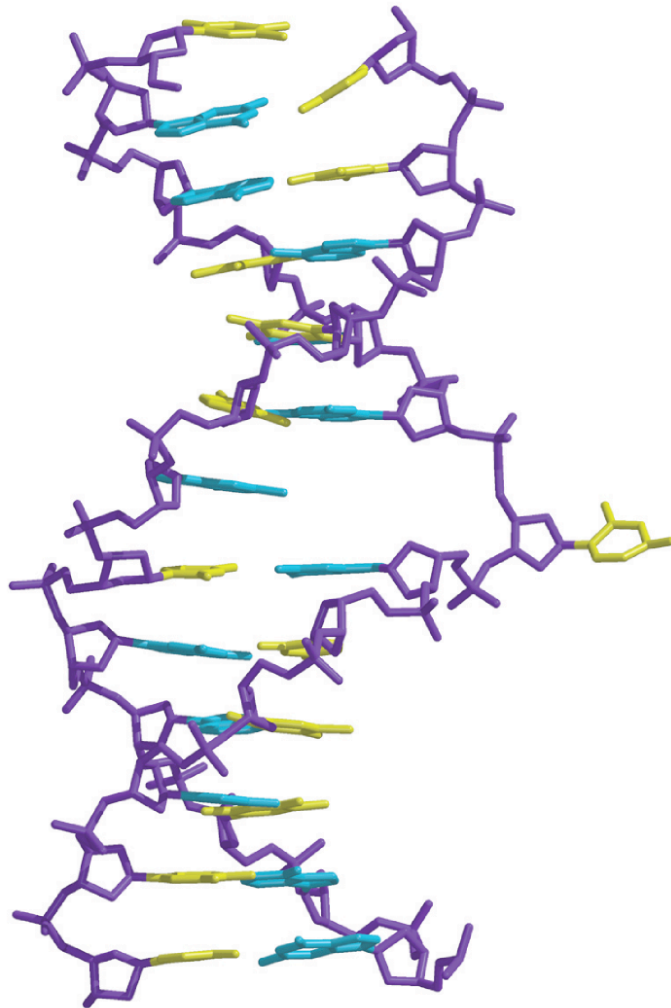
Interazioni che stabilizzano la doppia elica

I **legame idrogeno fra le basi complementari** sono una caratteristica fondamentale della doppia elica che contribuisce alla stabilità termodinamica dell'elica ed alla specificità delle coppie di basi.

Un secondo importante contributo che stabilizza la doppia elica viene dalle **interazioni di impilamento fra le basi**. Le basi hanno **struttura planare**, sono relativamente insolubili in acqua, per cui tendono ad **impilarsi** una sull'altra perpendicolarmente lungo l'asse longitudinale.

A queste forze si contrappongono quelle di **repulsione** fra i due filamenti che provengono dai gruppi fosfato.

Le basi possono ruotare all'esterno della doppia elica



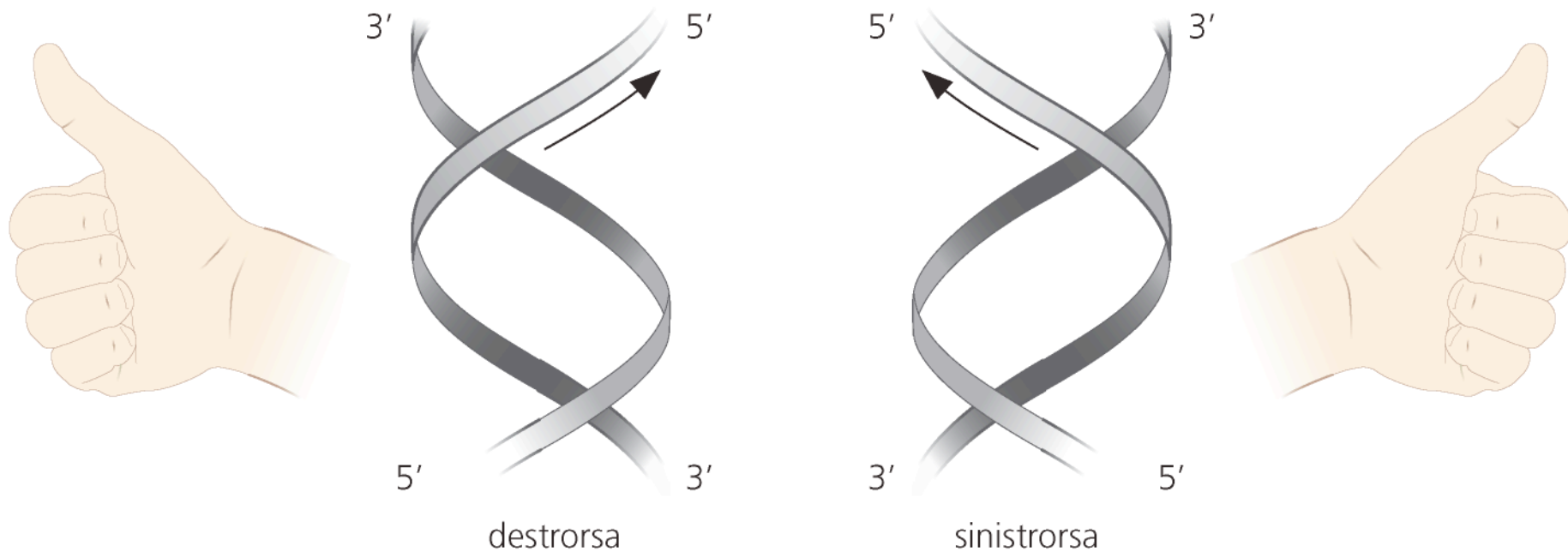
Rotazione della base
base flipping

Enzimi che **metilano** le basi o **rimuovono** basi danneggiate possono provocare questo fenomeno di rotazione

Enzimi coinvolti nella ricombinazione omologa e riparazione del DNA “scandagliano” il DNA per controllare l’omologia delle basi ruotando una base alla volta

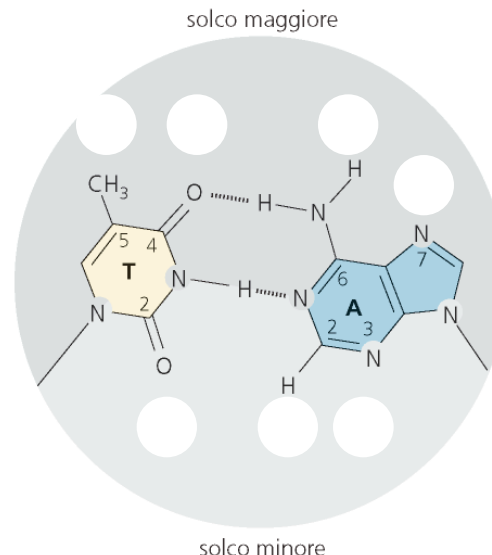
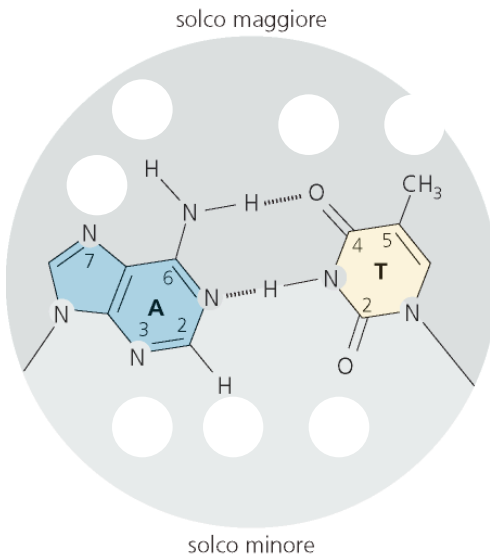
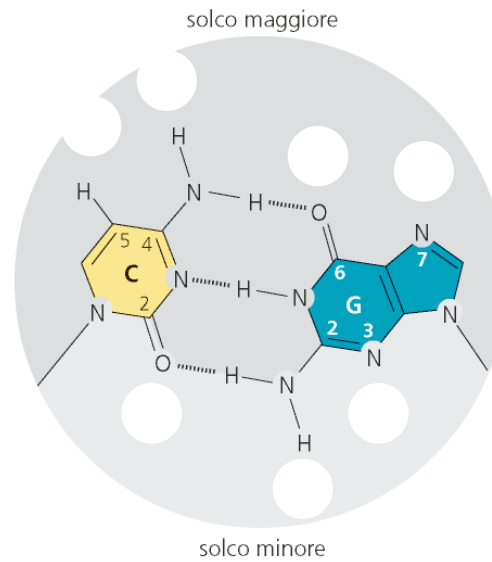
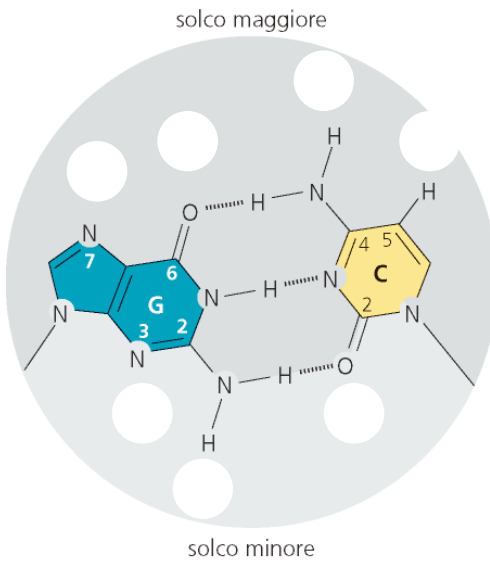
FLESSIBILITA' STRUTTURALE DEL DNA

Il DNA è normalmente una doppia elica destrorsa



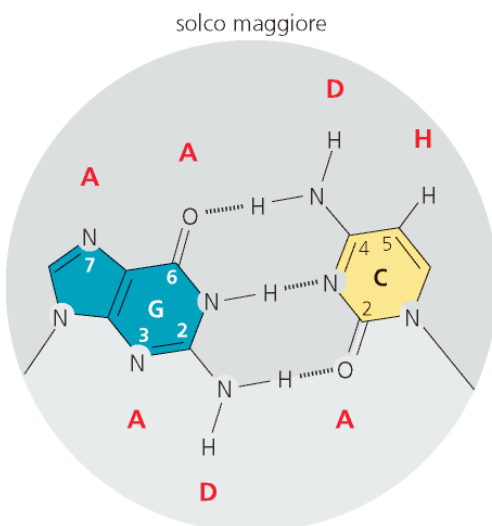
Periodicità della struttura: 10 pb ogni giro d'elica (360°)

La doppia elica presenta un solco maggiore ed uno minore

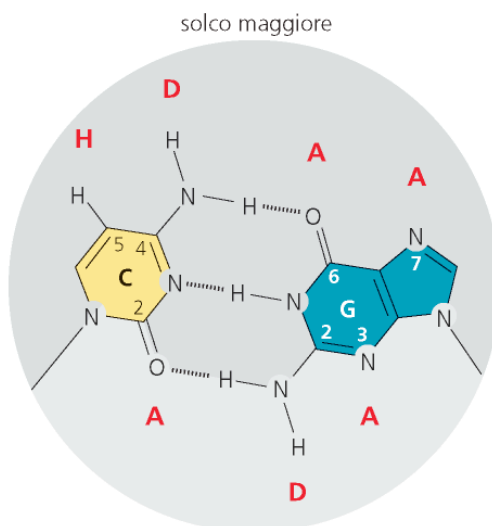


L'angolo fra i legami glicosidici è di circa 120° (formerà il solco minore) o 240° (formerà il solco maggiore)

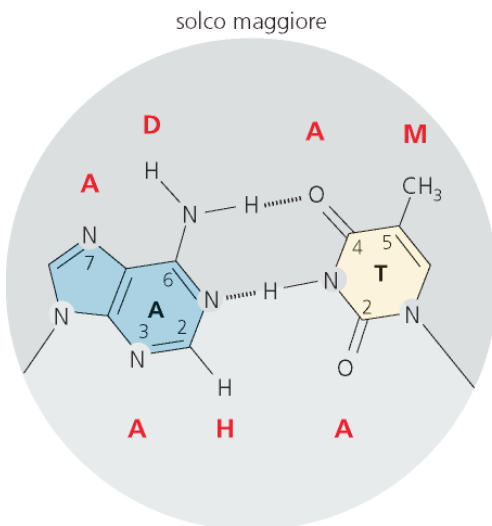
Il solco maggiore fornisce più informazioni di quello minore



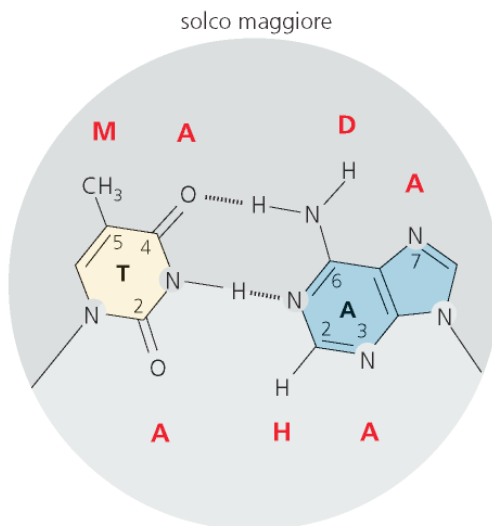
solco minore



solco minore



solco minore



solco minore

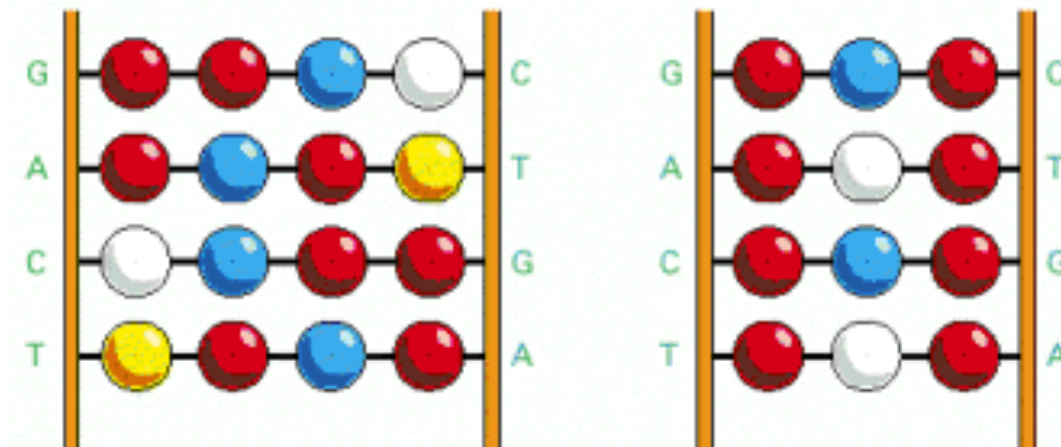
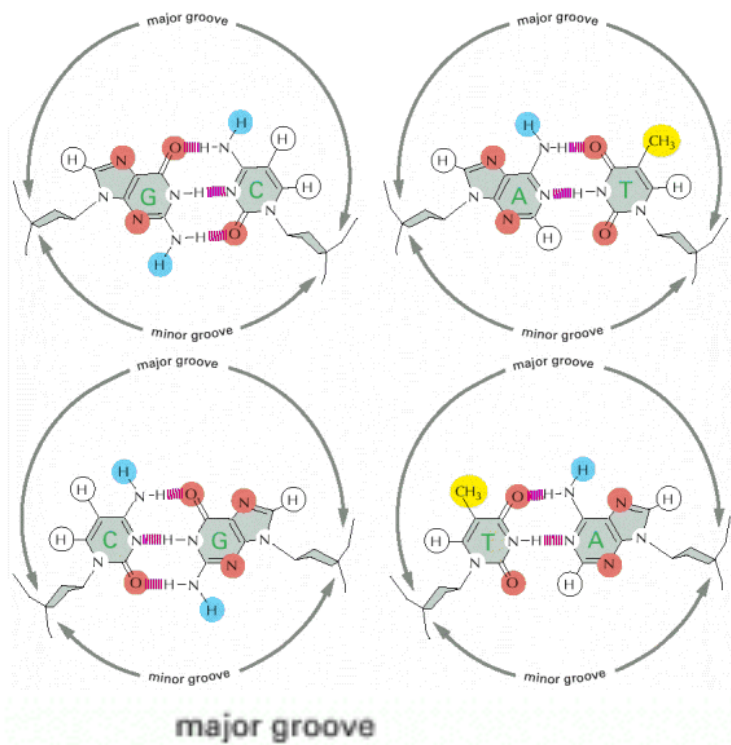
Le regioni delle basi che si affacciano nel solco maggiore ed in quello minore creano un sistema di donatori ed accettori di idrogeno e superfici di van der Waals.

A: accettore legame H
D: donatore legame H
M: gruppo metilico
H: idrogeno non polare

Le proteine possono riconoscere specifiche sequenze di DNA !!!

Come le **differenti paia di basi** del DNA possono essere **riconosciute** dai loro bordi **senza** la necessità di **aprire la doppia elica**.

Le **quattro** possibili configurazioni di paia di basi espongono nei solchi del duplex accettori (rossi) e donatori (azzurri) di legami idrogeno (nonché il metile idrofobico della timina – giallo) in modo specifico, presentando una sorta di **segnale di riconoscimento** alle proteine destinate all' **interazione** con determinate sequenze.



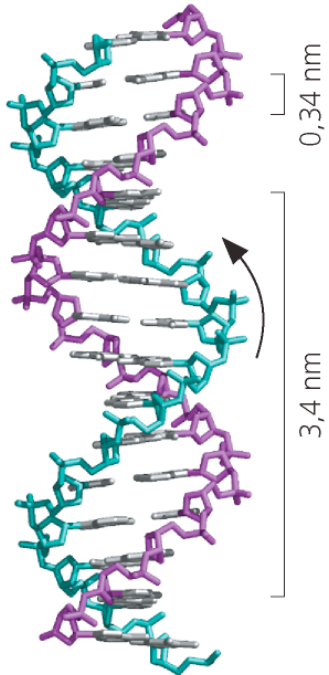
KEY:

-  = H-bond acceptor
-  = H-bond donor
-  = hydrogen atom
-  = methyl group

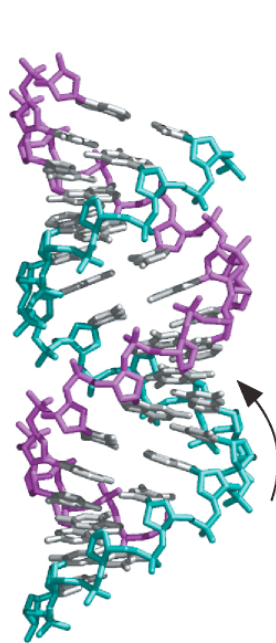
Da notare che soltanto l' **inversione** della coppia A:T con la T:A e della coppia G:C con la G:C non comporta rilevanti differenze nel lato del solco minore che risulta perciò meno **“informativo”** nei confronti delle proteine che vi interagiscono.

La doppia elica può trovarsi in diverse conformazioni

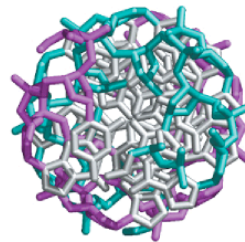
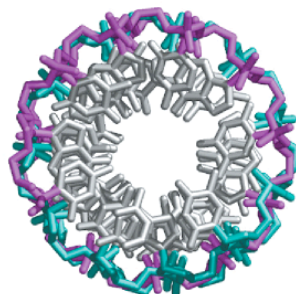
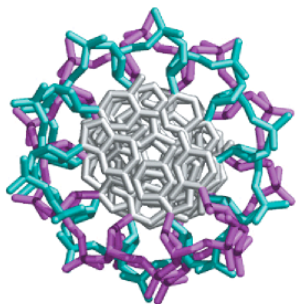
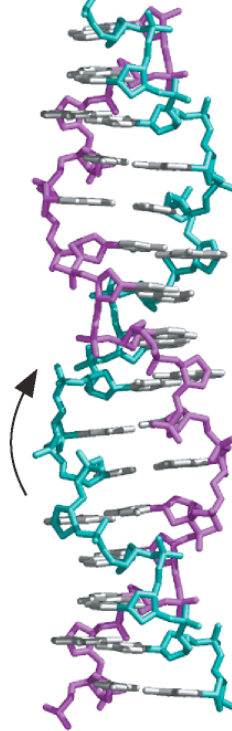
a DNA B



b DNA A



c DNA Z



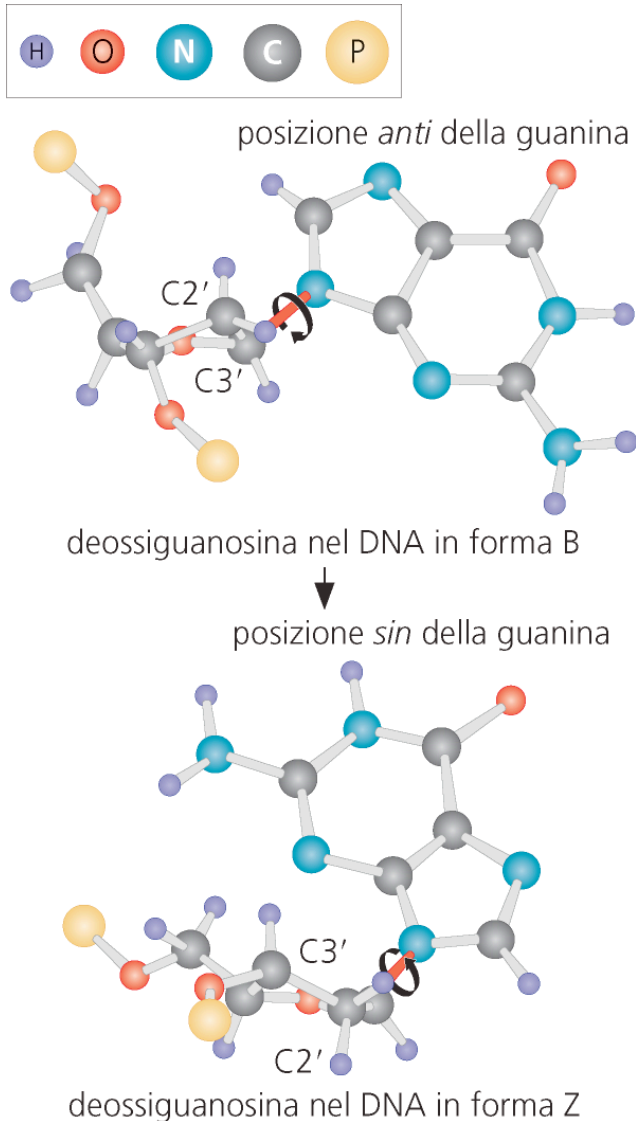
Cristallografia raggi X

Forma B (quando il DNA è meno concentrato): 10 pb giro d' elica, ampio solco maggiore.

Forma A (quando il DNA è più concentrato): 11 pb solco maggiore più stretto rispetto a B.

DNA nella cellula in **forma B** anche se 10,5 pb

Il DNA può formare anche elica sinistrorsa: il DNA Z



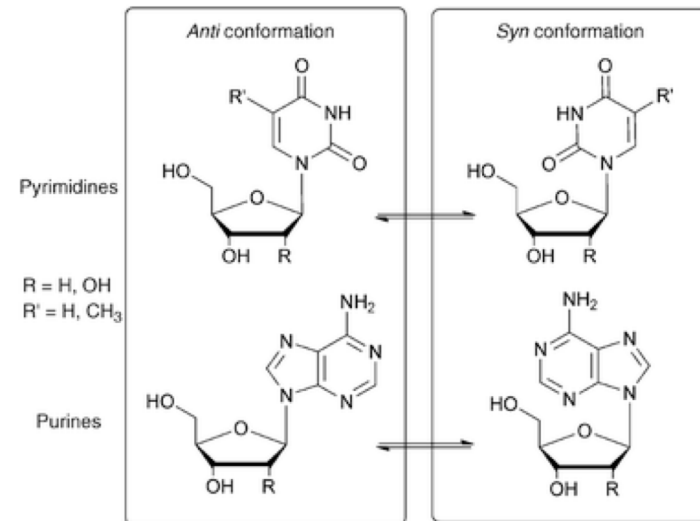
Il DNA con **purine e pirimidine alternate** può formare **eliche sinistrorse**.

Il legame glicosidico può presentarsi in due conformazioni: *sin* e *anti*

Nel DNA **destrorso** è sempre ***anti***, mentre nella forma **sinistrorso** è ***anti*** sui **pirimidinici**, ***sin*** sui **purinici**.

Conformazione a zig-zag (DNA Z)

Significato fisiologico incerto, si trova in piccole quantità nella cellula.



Visualizzazione 3D di macromolecole e complessi macromolecolari

Molecular Machinery: A Tour of the Protein Data Bank

Scale (nm): 1 5 10 1 nm (nanometer) = 10⁻⁶ millimeters

PDB ID: 1bna

DNA encodes genetic information in a chain of nucleotides. This historical structure was the first atomic structure of B-form DNA, and includes a short DNA double helix twelve nucleotides long.

Learn more from the *Molecule of the Month* article [DNA](#)

atom: [DG]10:A.C8

Spin
Spin
Style
Spheres
Cartoon
Ball and Stick
Color
Rainbow
Chain

Structure Function

- Small molecules
- Digestive Enzymes
- Blood Plasma
- Viruses and Antibodies
- Hormones
- Channels, Pumps and Receptors
- Photosynthesis
- Energy Production
- Storage
- Enzymes
- Infrastructure
- Protein Synthesis
- DNA

Fullscreen
Auto
About

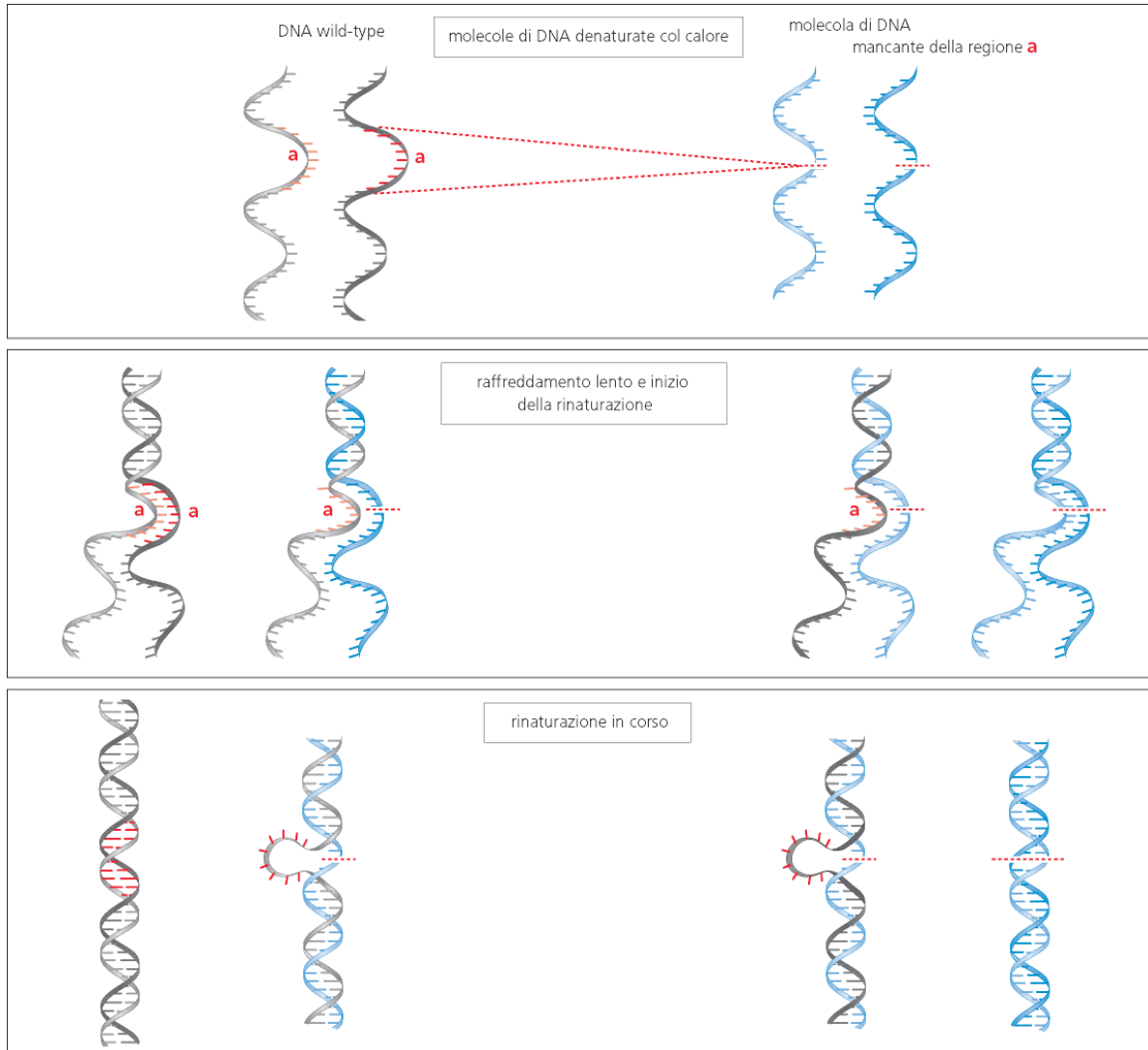
Cellular Location

- Extracellular
- Membrane
- Intracellular/Cytosol
- Intracellular/Nucleus

PDB PROTEIN DATA BANK
PDB-101

<https://cdn.rcsb.org/pdb101/molecular-machinery/>

I due filamenti di DNA possono separarsi e riassociarsi



Se il DNA viene riscaldato (100°) o posto a pH elevato si può denaturare.

Se si ritorna lentamente alle condizioni di partenza il DNA può rinaturarsi e formare molecole ibride (ibridazione del DNA)

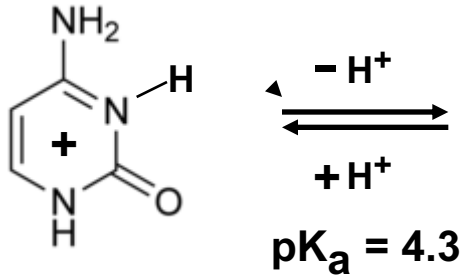
Stabilità termodinamica del duplex di DNA e sua denaturazione

Fattori intrinseci: composizione in basi, peso molecolare.

Fattori estrinseci: temperatura, pH, forza ionica, (cosoliti caotropi).

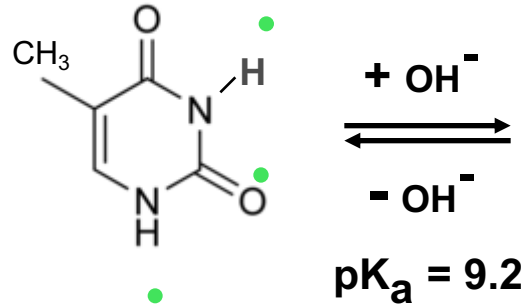
Fattori estrinseci: pH

citosina



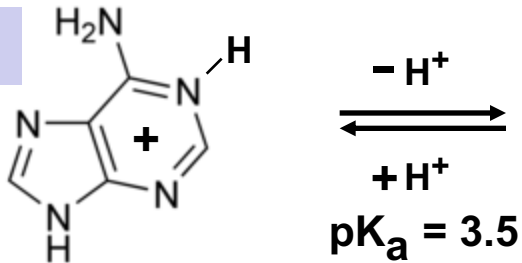
I valori di pK_a dati sono relativi alle basi isolate in soluzione, nel DNA sono più estremi

Equilibri di protonazione e deprotonazione delle basi del DNA



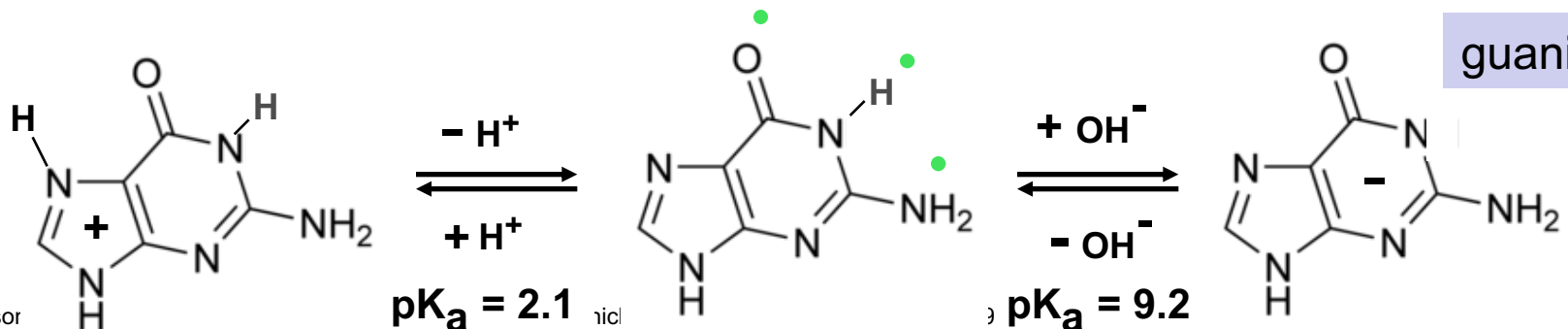
timina

adenina

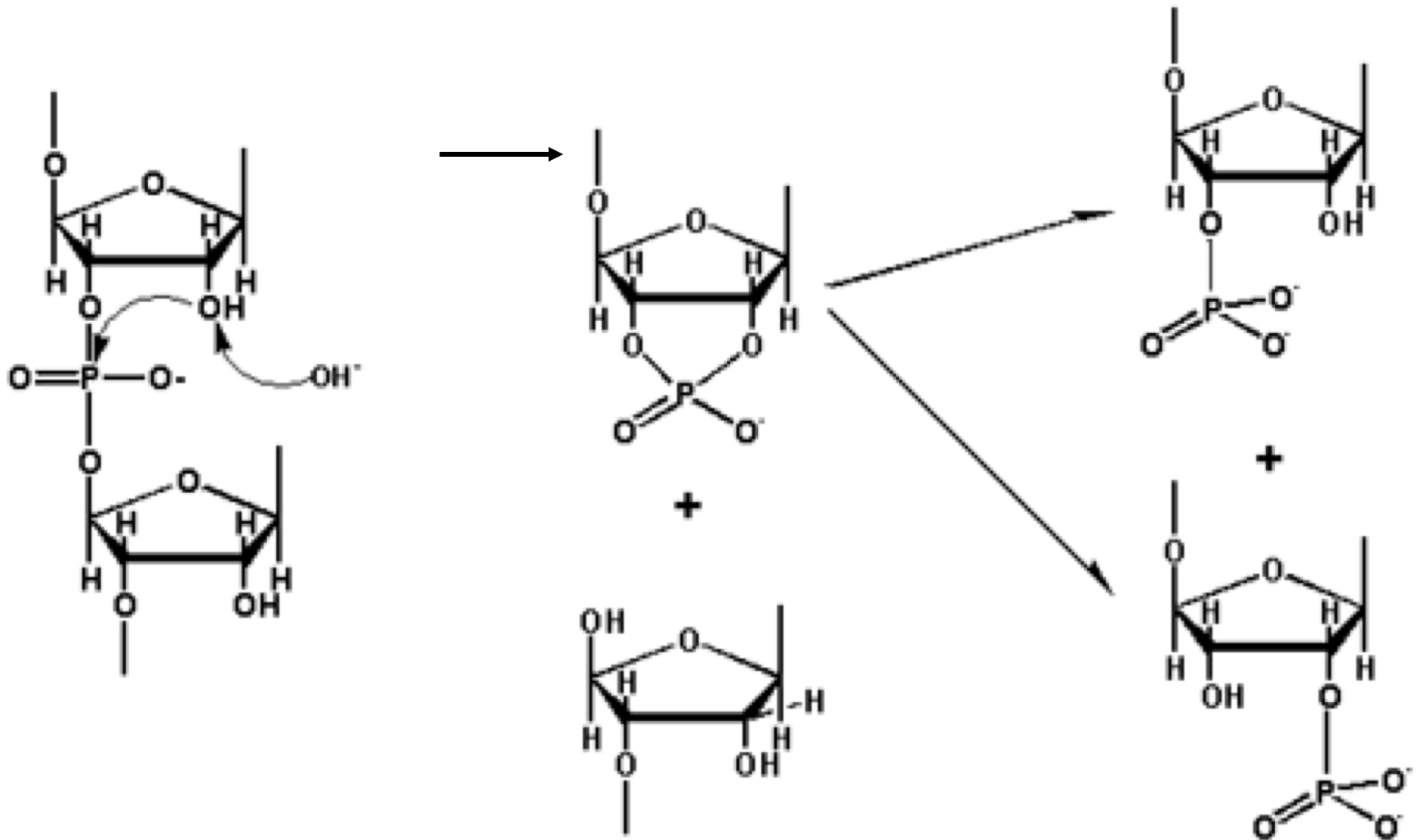


Le basi del DNA possono essere protonate o deprotonate solo a pH non fisiologici (acidi o basici rispettivamente) e sono incompatibili con la struttura a doppia elica.

guanina

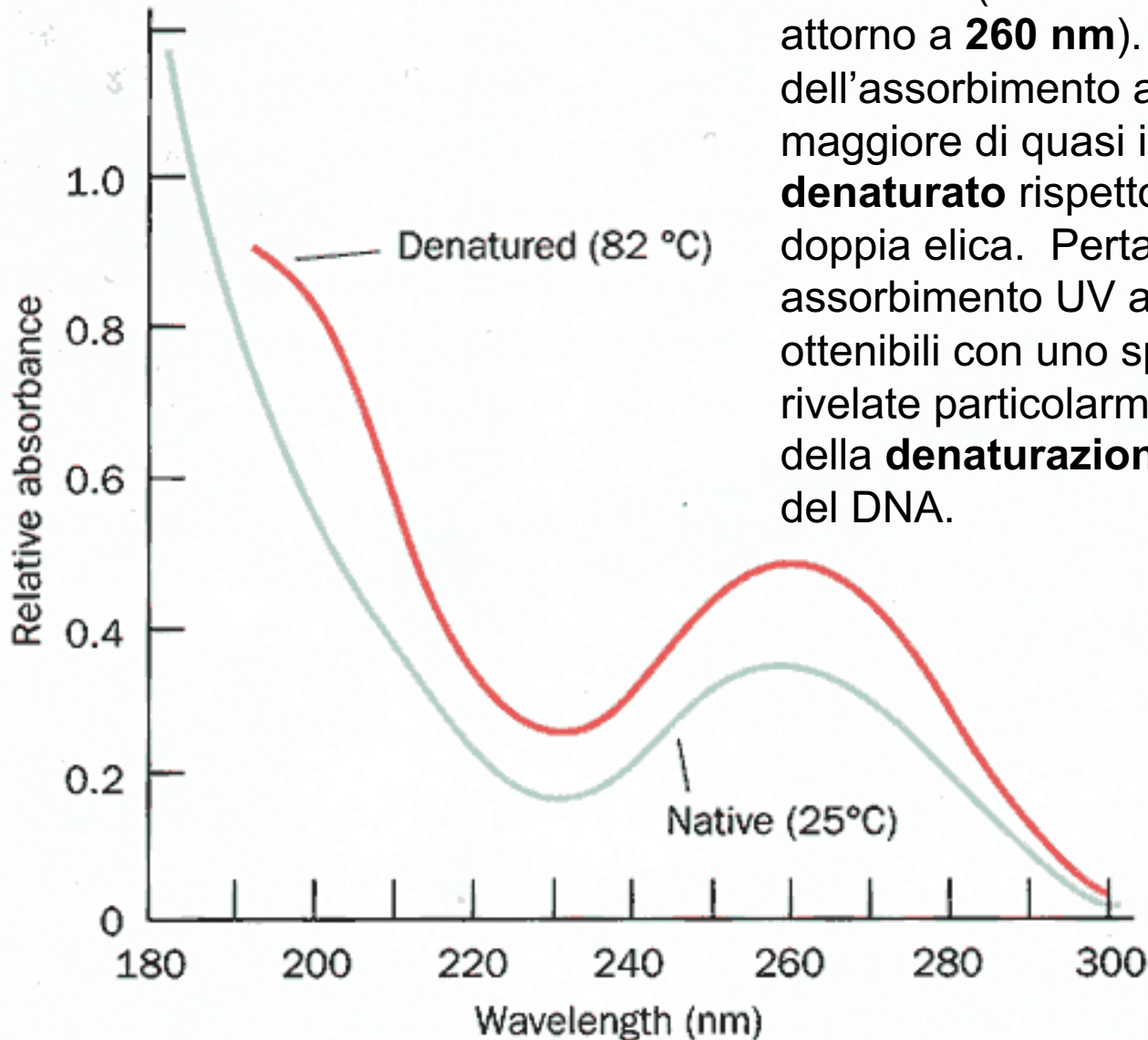


L' RNA in condizioni alcaline si idrolizza !!!!!



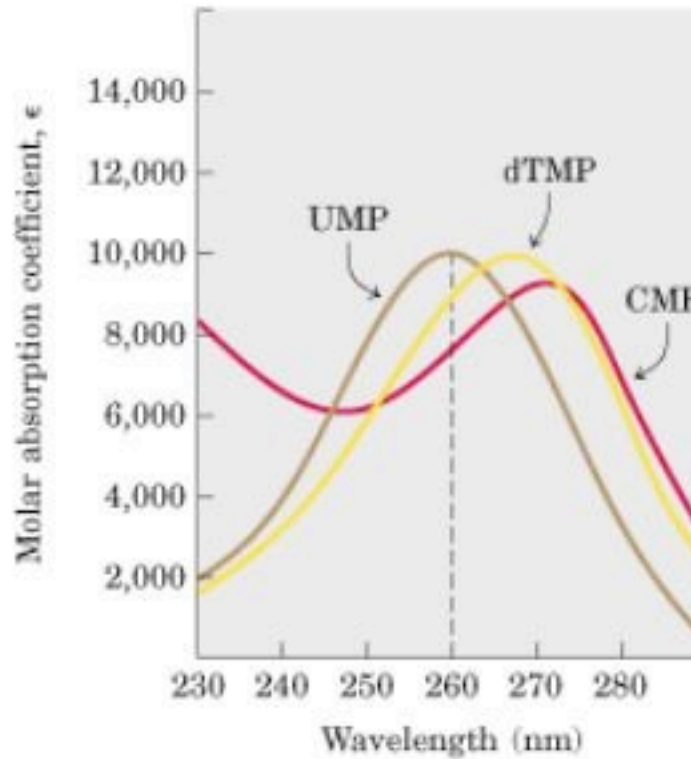
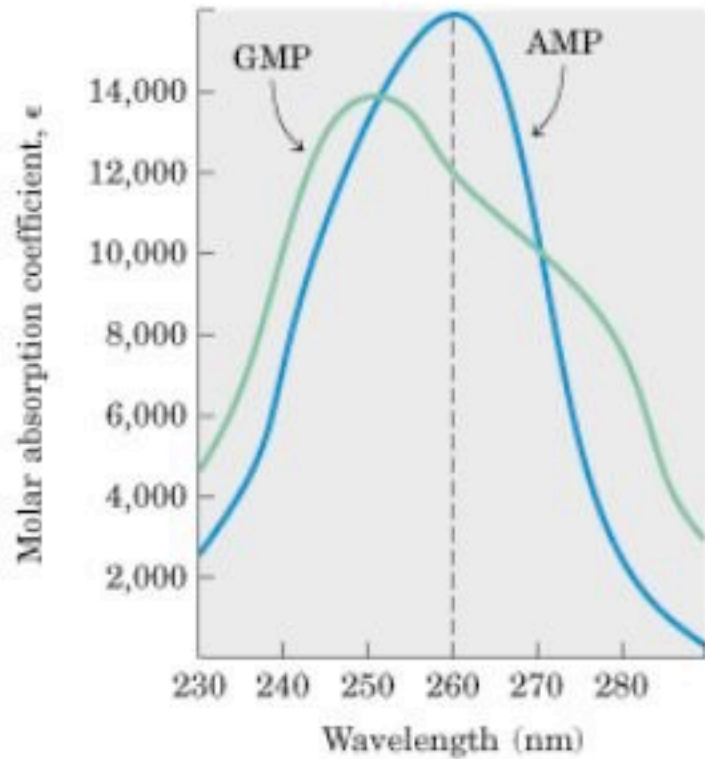
L'idrolisi alcalina dell'RNA è facilitata dalla presenza dell'ossidrile 2' del ribosio, che consente l'intermedio **fosfodiesterico ciclico**, impossibile nel caso del DNA.

Fattori estrinseci: la temperatura



Il fenomeno dell'ipercromismo del DNA: Le basi del DNA assorbono la luce UV tra 300 e 230 nm (con **massimo di assorbimento** attorno a **260 nm**). Ma l'entità dell'assorbimento a parità di concentrazione è maggiore di quasi il **50%** per il **DNA denaturato** rispetto al **DNA "nativo"**, cioè a doppia elica. Pertanto misure di assorbimento UV a 260 nm, facilmente ottenibili con uno spettrofotometro, si sono rivelate particolarmente comode nello studio della **denaturazione** (e della **rinaturazione**) del DNA.

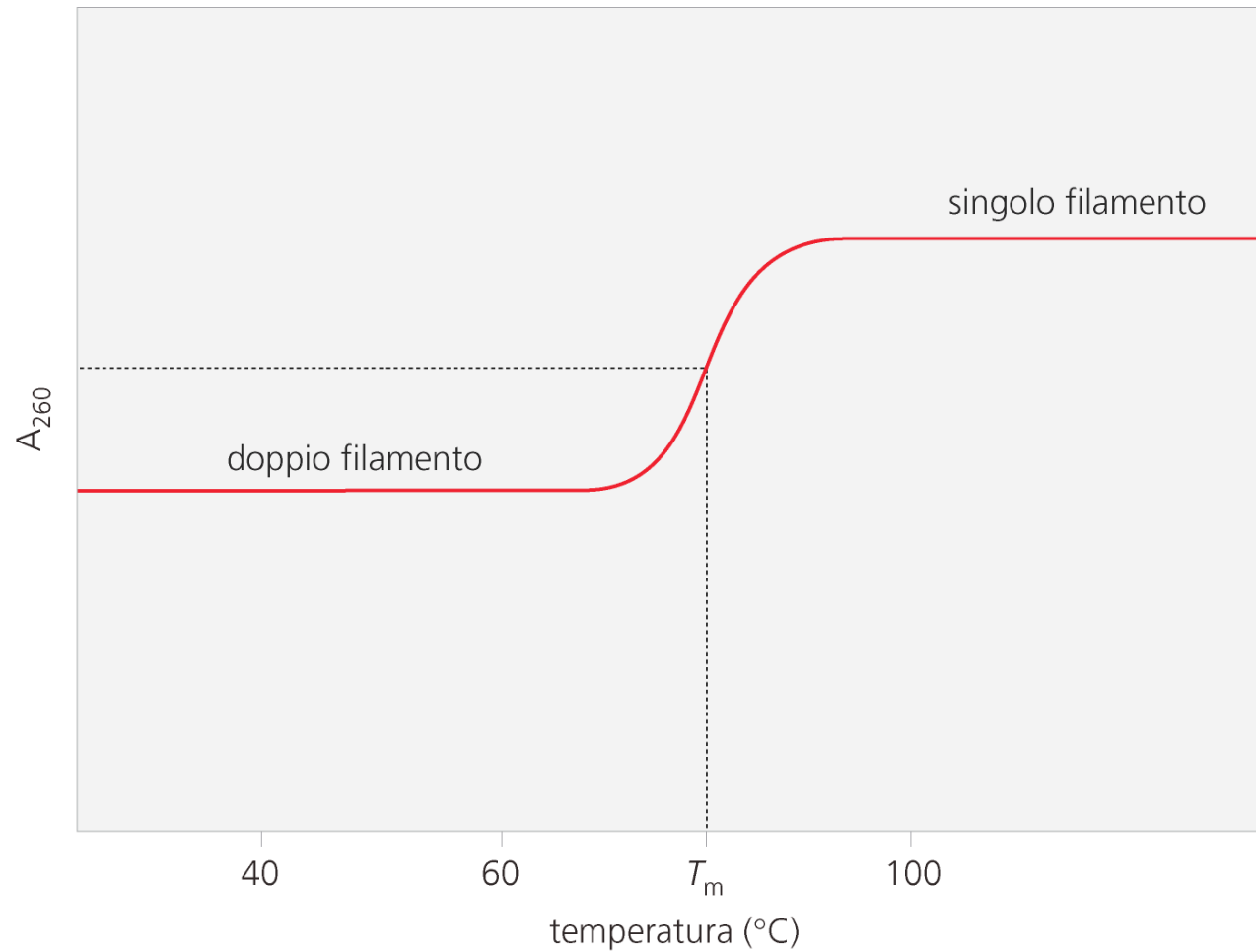
Nucleotides strongly absorb UV light at ~260nm



Molar absorption coefficient at 260 nm, ϵ_{260} ($M^{-1}cm^{-1}$)	
AMP	15,400
GMP	11,700
CMP	7,500
UMP	9,900
dTMP	9,200

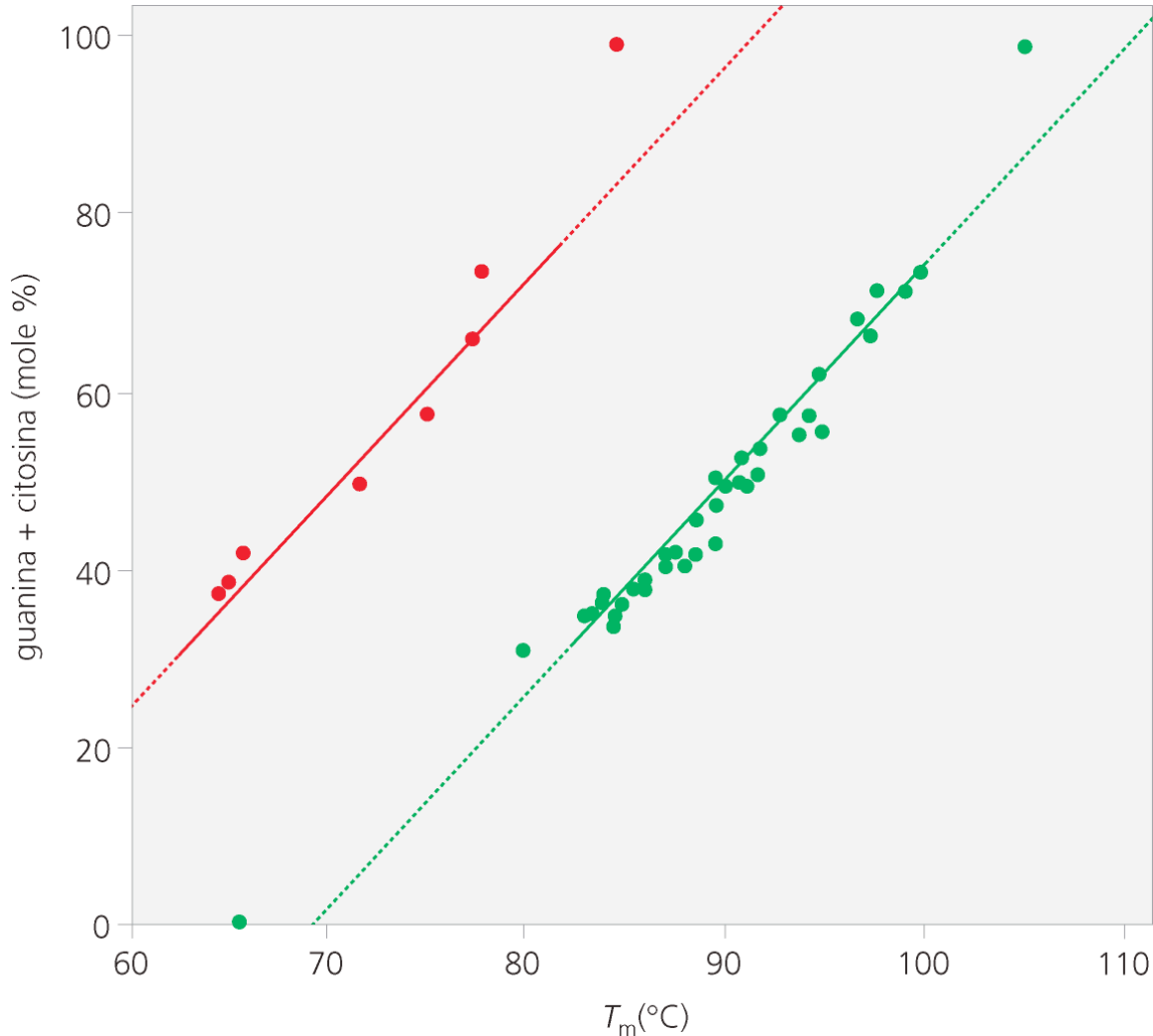
Gli spettri di assorbimento UV dei singoli nucleotidi sono leggermente diversi l'uno dall'altro, sia come posizione del massimo che come intensità. La banda centrata a 260 nm del DNA è la media pesata per la composizione in basi del dato DNA. Da notare che gli spettri somma delle coppie C:G e A:T sono molto simili, per cui la composizione di un DNA duplex influisce molto poco sull'assorbimento del DNA.

Curva di denaturazione del DNA



Fattori estrinseci: la forza ionica

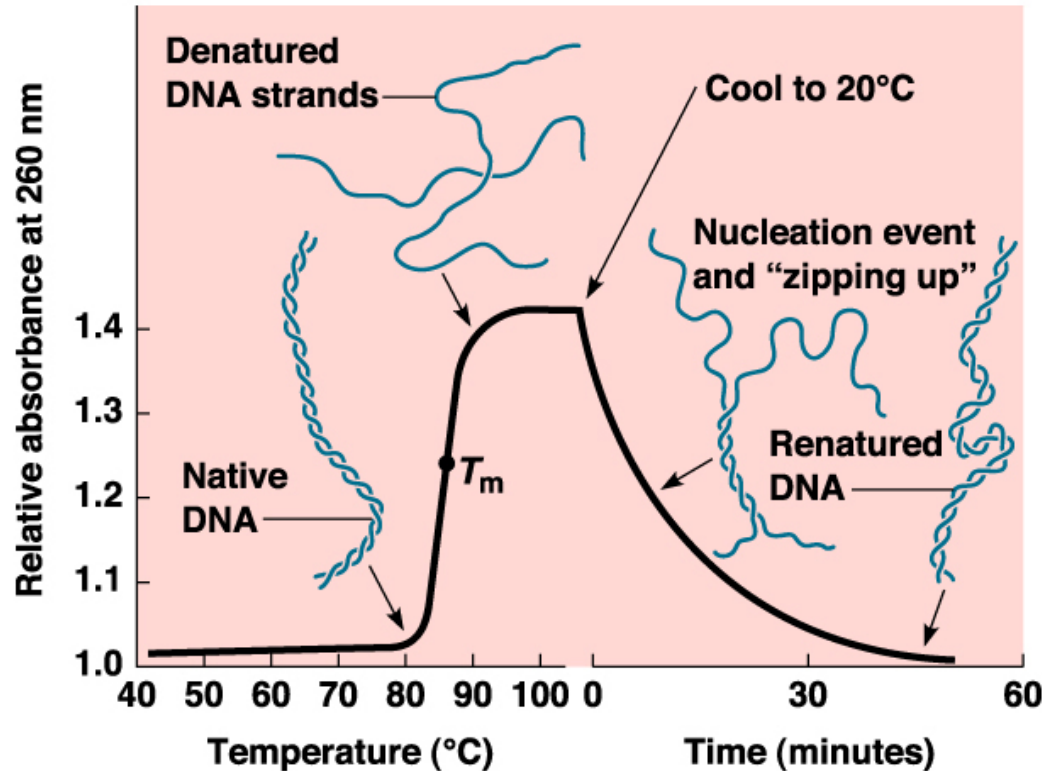
Dipendenza della denaturazione del DNA dal suo contenuto di G + C e dalla concentrazione salina



Bassa
concentrazione
salina

Alta
concentrazione
salina

Alcune applicazioni: determinare la T_m per l'ibridazione



©Addison Wesley Longman, Inc.

A roughly approximate formula for the semi-denaturation temperature of duplex DNA in Celsius degrees is:

$$T_m = 81.5 + 16.6(\log_{10} M) + 0.41(\% \text{ GC}) - 0.61(\% \text{ form}) - 500/L - \% \text{ mx}$$

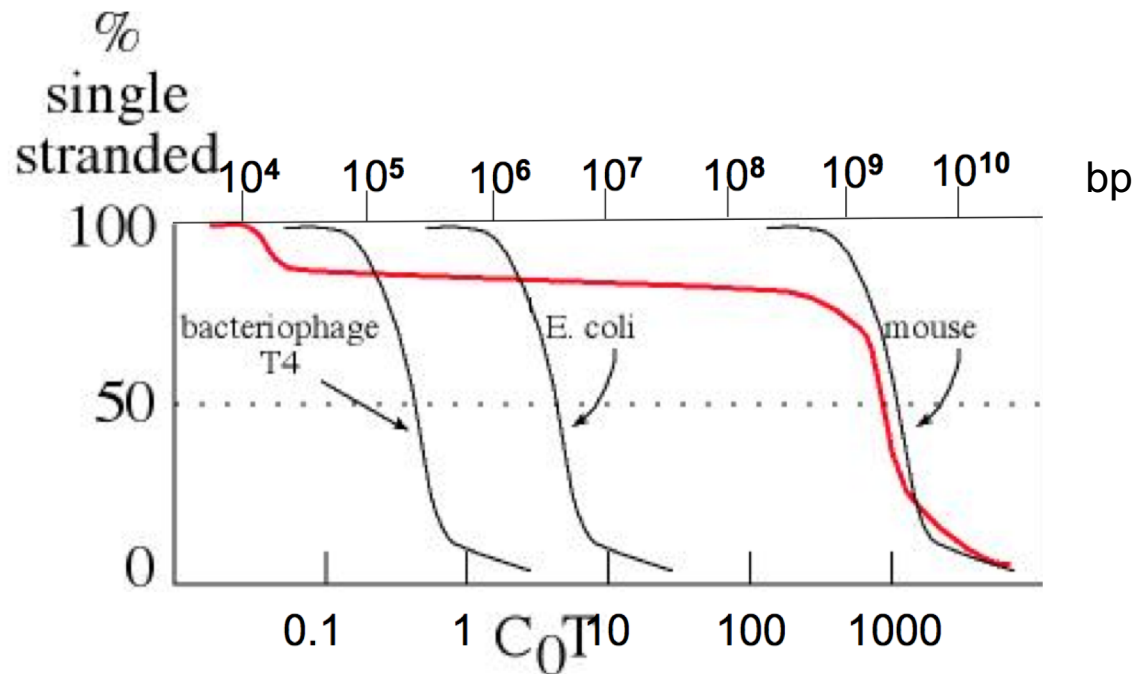
where

- M** is the molarity of salt or better its ionic strength
- %GC** is the percentage of G:C base pairs in the duplex
- %form** is the percentage of formamide in solution
- L** is the length of the duplex in base pairs
- %mx** is the percentage of mismatched base pairs

Alcune applicazioni: Studio delle cinetiche di rinaturazione (significato storico)

La **denaturazione** termica del DNA in soluzione è un **processo molto rapido**.

Il processo inverso, la **rinaturazione** (riformazione del duplex) in seguito ad abbassamento della temperatura, è un processo la cui velocità (cinetica) può essere **estremamente variabile a seconda della natura del DNA** all'esame, andando da velocità non molto minori di quelle di denaturazione nel caso di oligonucleotidi, o DNA costituito da sequenze brevi ripetute, a velocità talmente basse da richiedere giorni o addirittura mesi.

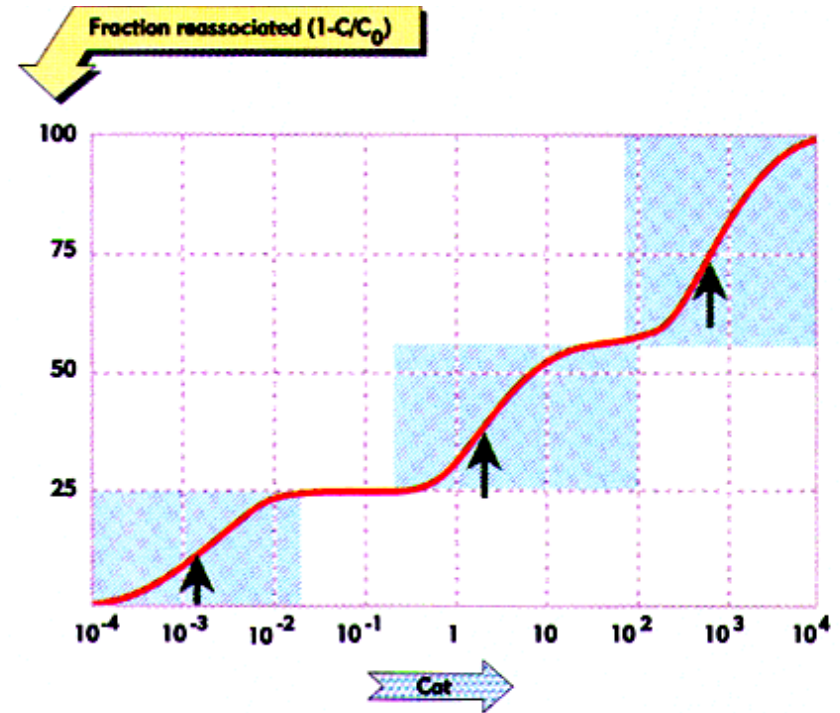


Alcune applicazioni: Studio delle cinetiche di rinaturazione

Se il **genoma**, come di solito nel caso **degli eucarioti**, contiene anche sequenze più o meno ripetute, **la rinaturazione avviene in più di un passo**, più rapidamente per le sequenze altamente ripetute, molto più lentamente per la parte non ripetuta nel genoma.

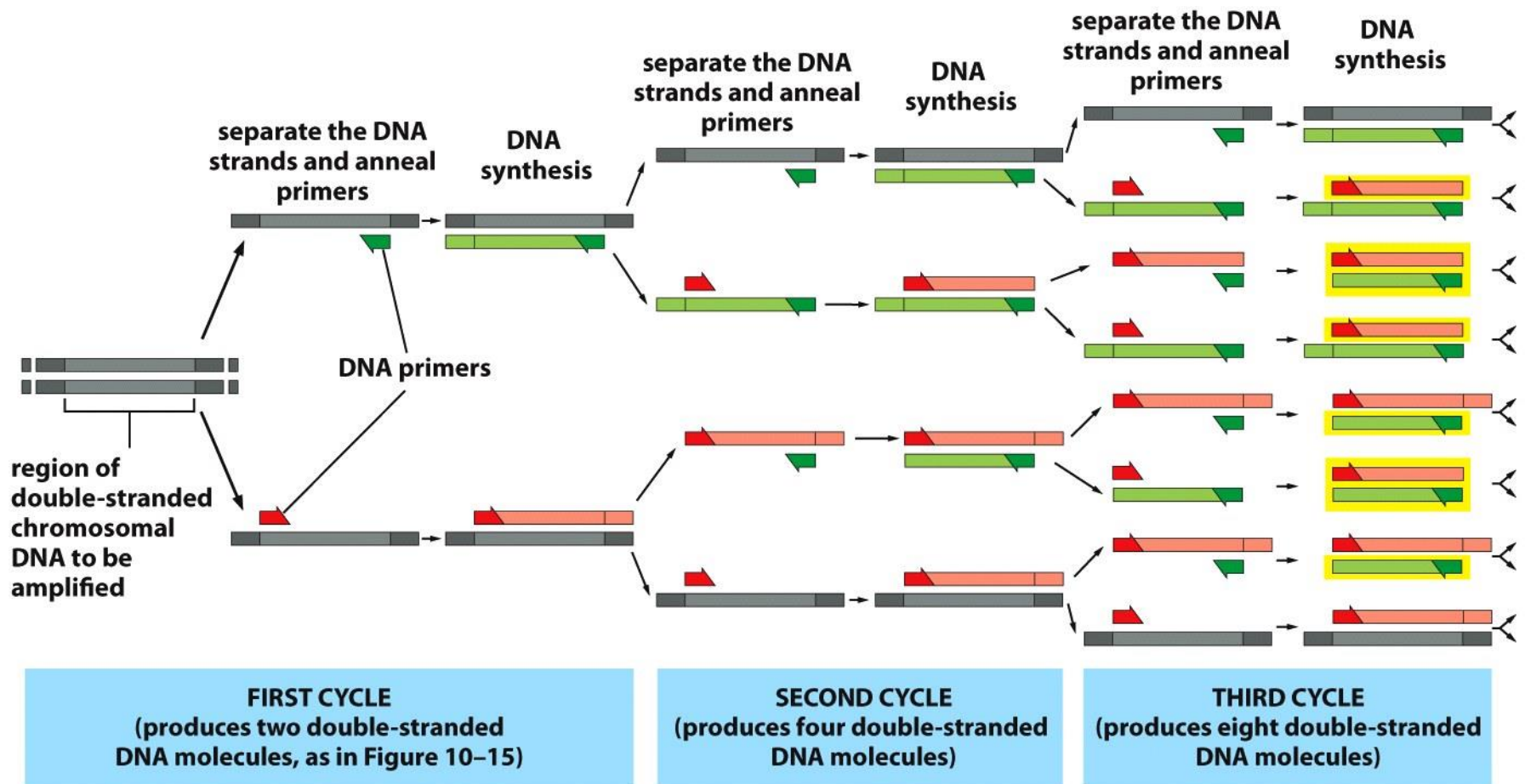
Renaturation kinetics of a eukaryotic DNA with a highly repetitive component, a moderately repetitive component and a non repetitive component.

C_0 = concentrazione di DNA
t = tempo



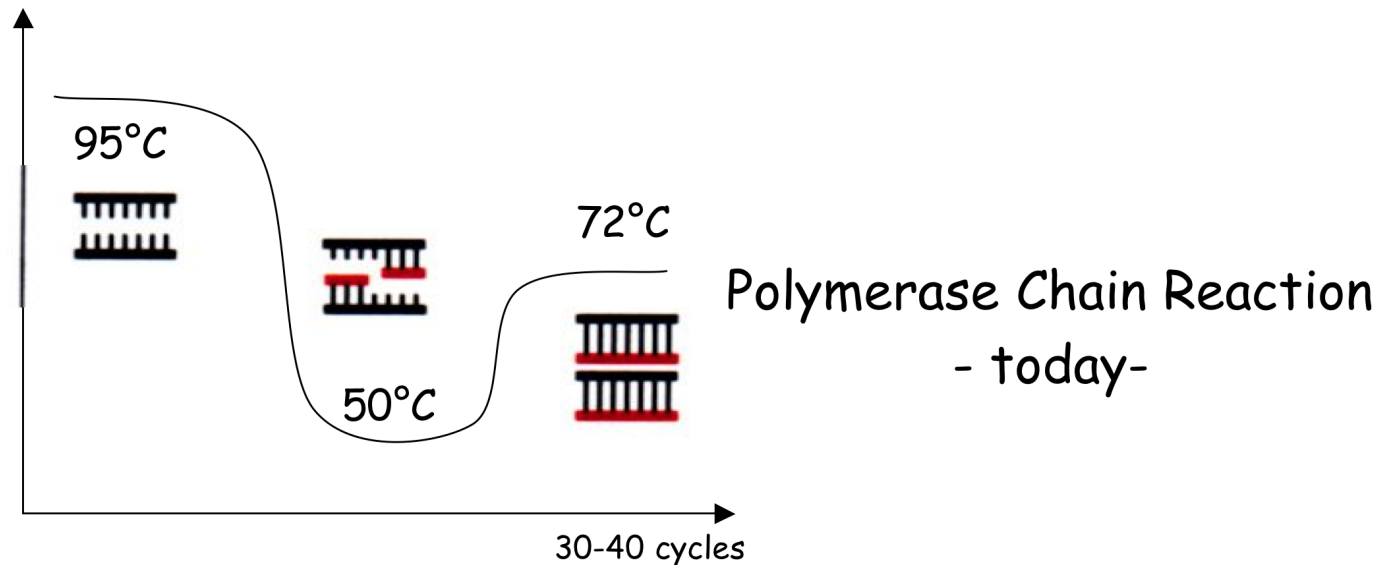
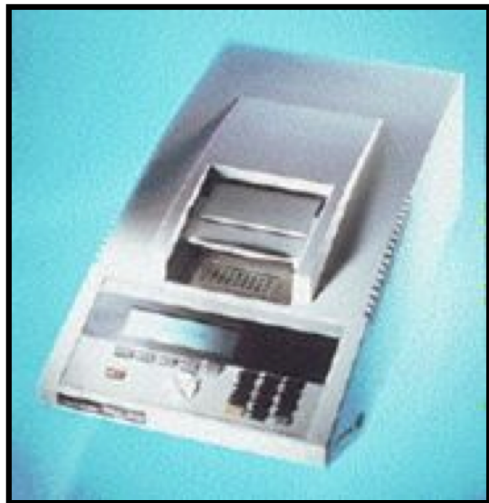
	Fast Component	Intermediate Component	Slow Component
Percent of genome	25	30	45
$Cot_{1/2}$	0.0013	1.9	630
Complexity, bp	340	6.0×10^5	3.0×10^8
Repetition frequency	500,000	350	1

PCR - Amplificazione in vitro del DNA





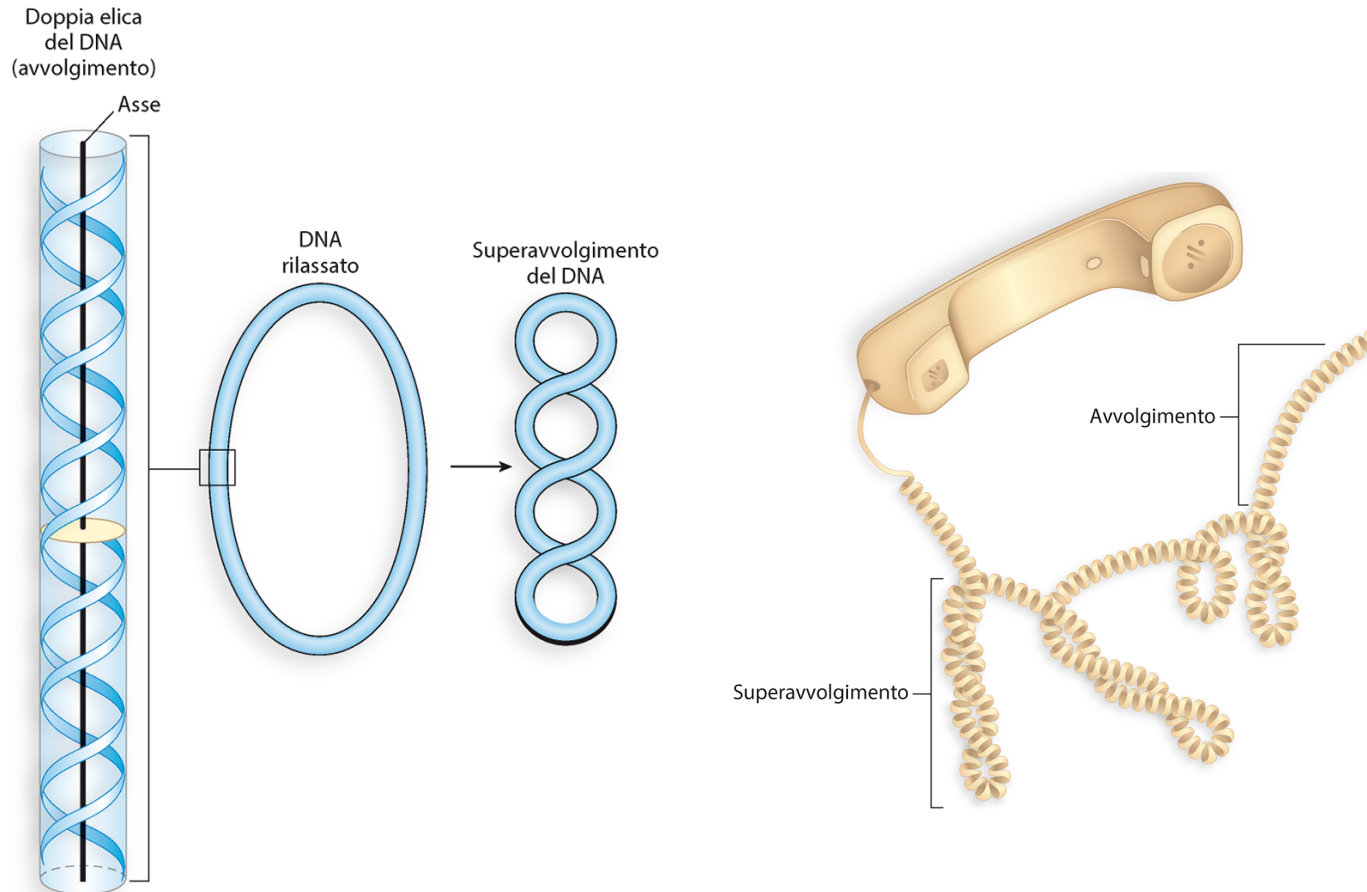
In the early days of PCR, tubes were shifted by hand among three different waterbaths or heating blocks that were kept at different temperatures. However, automation has quickly followed and amplification can now conveniently be performed in a DNA Thermal Cycler.



Example of a RT-PCR experiment

La topologia del DNA

Struttura terziaria: ulteriori avvolgimenti della doppia elica



Il DNA si presenta superavvolto (tensione strutturale) in tutte le cellule, perchè ci sono questi superavvolgimenti? -> compattazione ma non solo...

La topologia* del DNA

Nelle molecole lineari di DNA, poiché le terminazioni sono libere, il numero di avvolgimenti di un filamento sull'altro può essere variato mediante rotazione reciproca.

Nel DNA circolare covalentemente chiuso (**cccDNA**) questo non può cambiare.

Neanche nel DNA lineare presente nei **cromosomi eucariotici** (estrema lunghezza ed interazione con componenti cellulari).

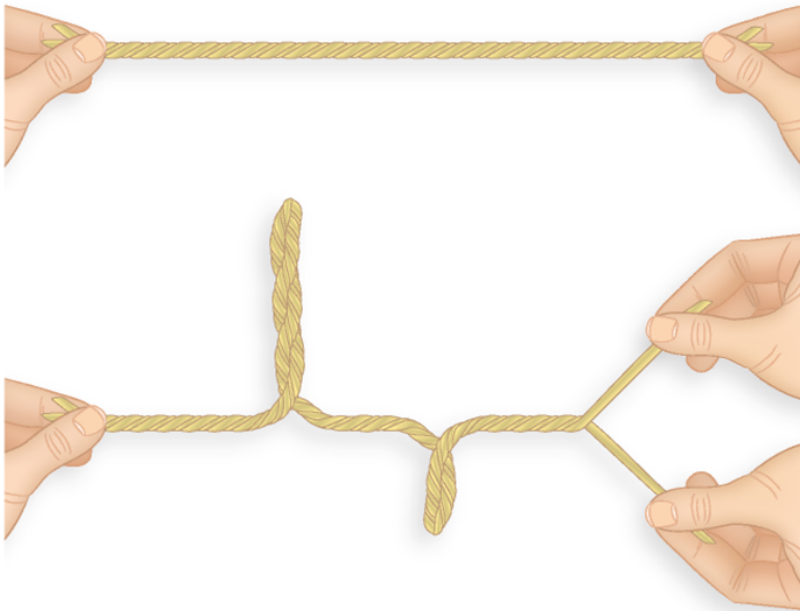
Questo comporta degli aspetti problematici in diversi processi ma, nonostante questi vincoli il DNA viene duplicato, trascritto, ecc. dove è richiesta la separazione dei due filamenti

Com'e' possibile??

* ambito della matematica che studia le proprietà geometriche di oggetti sottoposti a deformazione

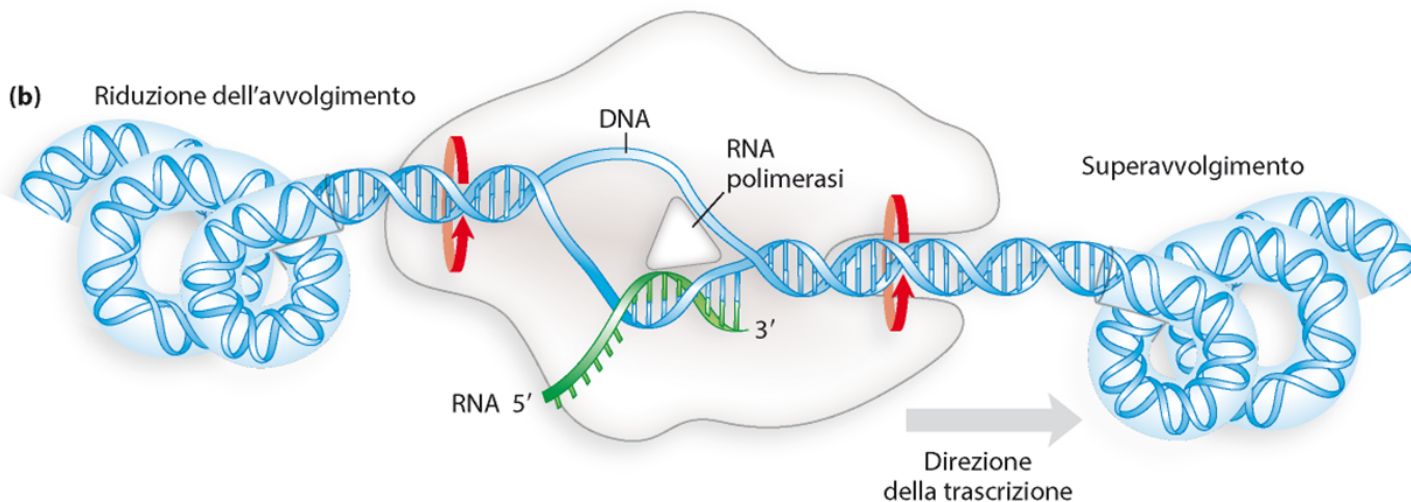
Effetti della replicazione e della trascrizione sul superavvolgimento del DNA

(a)



In tutti gli organismi ci sono enzimi che regolano questo superavvolgimento (topoisomerasi)

(b)



Effetti del grado di avvolgimento del DNA

Nei DNA ccc una riduzione del grado di avvolgimento della doppia elica genera tensione.

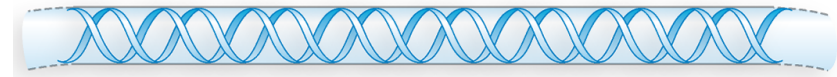
DNA di **84pb** -> **8 giri** (10,5 pb giro d'elica, forma B del DNA).

Se si **elimina** un giro d'elica 84pb -> **7 giri** (12pb giro d'elica).

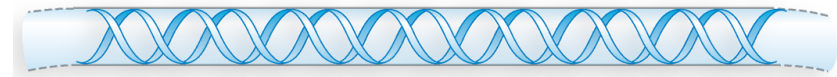
Questa **tensione** viene risolta con un **superavvolgimento** (avvolgimento dell'asse del DNA su se stesso) **oppure** potrebbe essere compensata **separando i due filamenti** per un tratto di circa 10pb.

In vivo facilita la separazione dei due filamenti -> replicazione, trascrizione,...

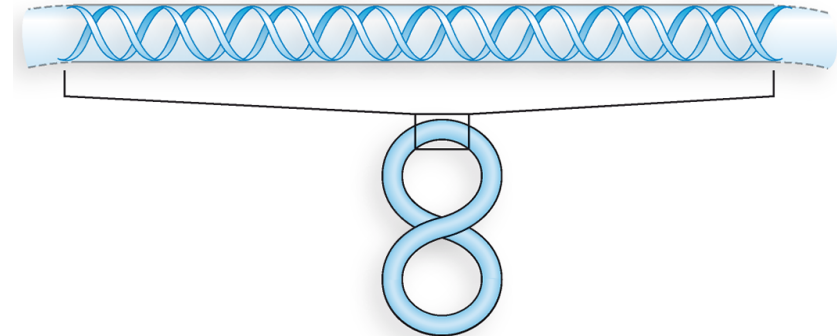
(a) Rilassato (8 giri)



(b) Tensione interna (7 giri)



(c) Superavvolgimento



(d) Separazione dei filamenti

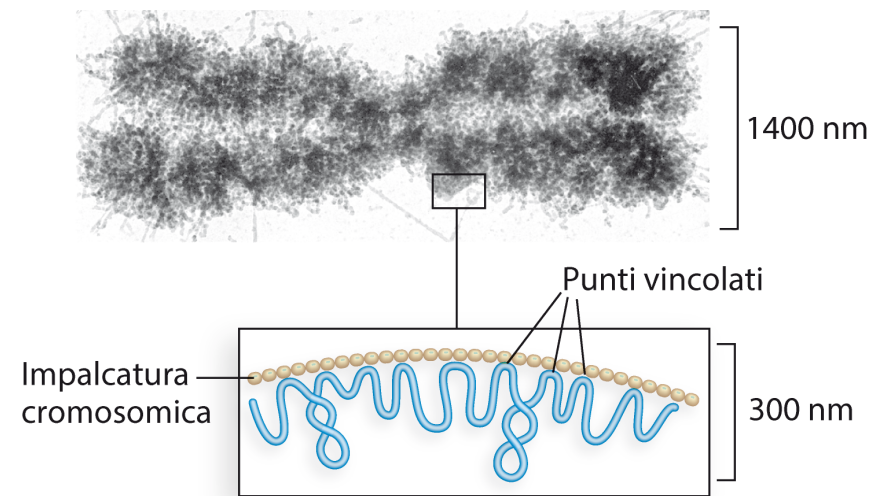
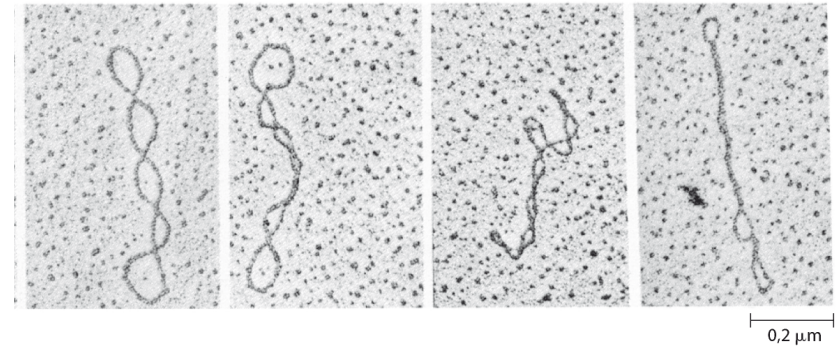


Effetti del grado di avvolgimento del DNA

Le cellule riducono attivamente l'avvolgimento del DNA grazie a degli enzimi (topoisomerasi) -> energia accumulata dallo stato di tensione ->

- 1) maggior compattazione del DNA;
- 2) facilita la separazione dei filamenti (replicazione, trascrizione)

Questo è possibile solo se il DNA è DNAccc oppure DNA lineare ma vincolato alle estremità.



Entità dell'avvolgimento: numero di legame

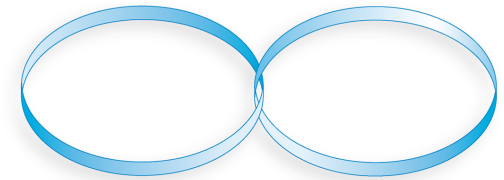
Il **numero di legame** Lk (linking number) proprietà topologica del DNA che non varia se la molecola si piega o cambia forma.
Numero di passaggi di un filamento attraverso la superficie definita dall'altro filamento.

DNAccc di 2100pb $\rightarrow Lk = 200 = Lk_0$ (nella molecola rilassata). Se eliminiamo due giri (nick su un filamento, svolto e poi risaldato) $\rightarrow Lk = 198$ $\Delta Lk = Lk - Lk_0 = -2$

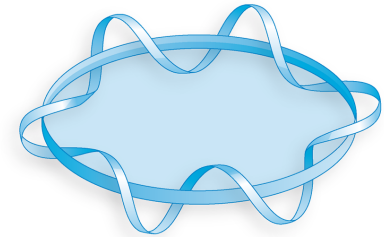
Densità di superelica $\sigma = \Delta Lk / Lk_0 = -0,01$ (cioè 1%, 2 su 200).

Nei DNA cellulari è compresa fra 5% e 7%.
(σ compreso fra **-0,05** e **-0,07**)
superavvolgimento negativo

(a) $Lk = 1$



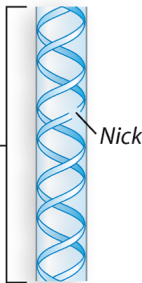
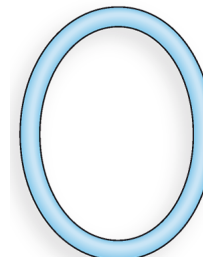
(b) $Lk = 6$



(b) Lk non definito

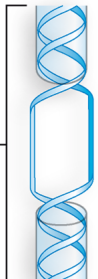
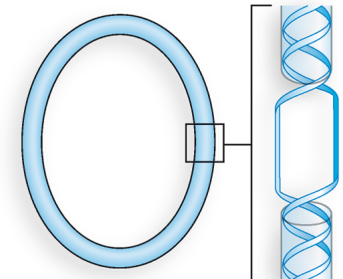
(a) $Lk = 200 = Lk_0$

Rottura di un filamento



(c) $Lk = 198$

$\Delta Lk = -2$



Superavvolgimenti
negativi
 $Lk = 198$



© 2005

Numero di legame, di superavvolgimento e di avvolgimento

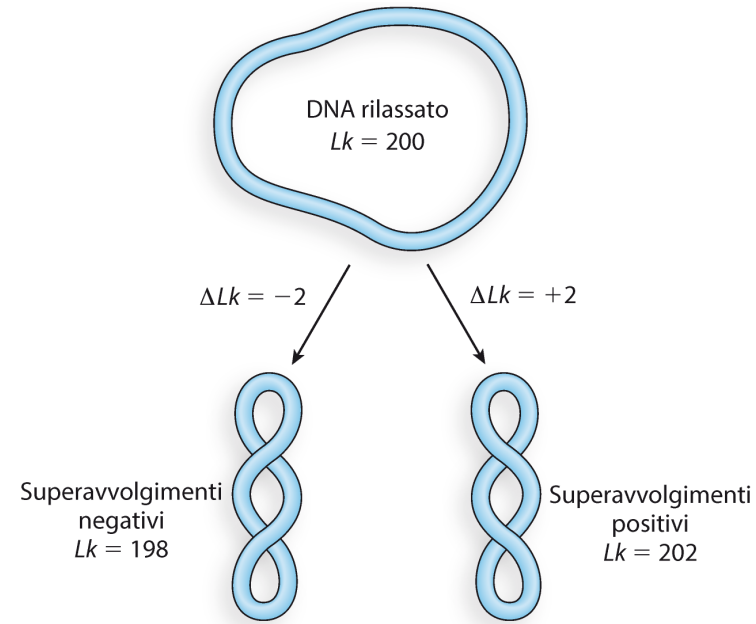
I superavvolgimenti possono essere **negativi** (superelica destrorsa) e **positivi** (sinistrorsa).

Numero di legame **Lk**: quante volte un filamento si avvolge sull'altro.

Numero di **superavvolgimento Wr** (write): numero di volte che l'asse centrale dell'elica incontra se stesso.

Numero di **avvolgimento Tw** (twist): numero di giri della doppia elica rispetto asse centrale (grado di avvitemento della doppia elica)

$$Lk = Tw + Wr$$

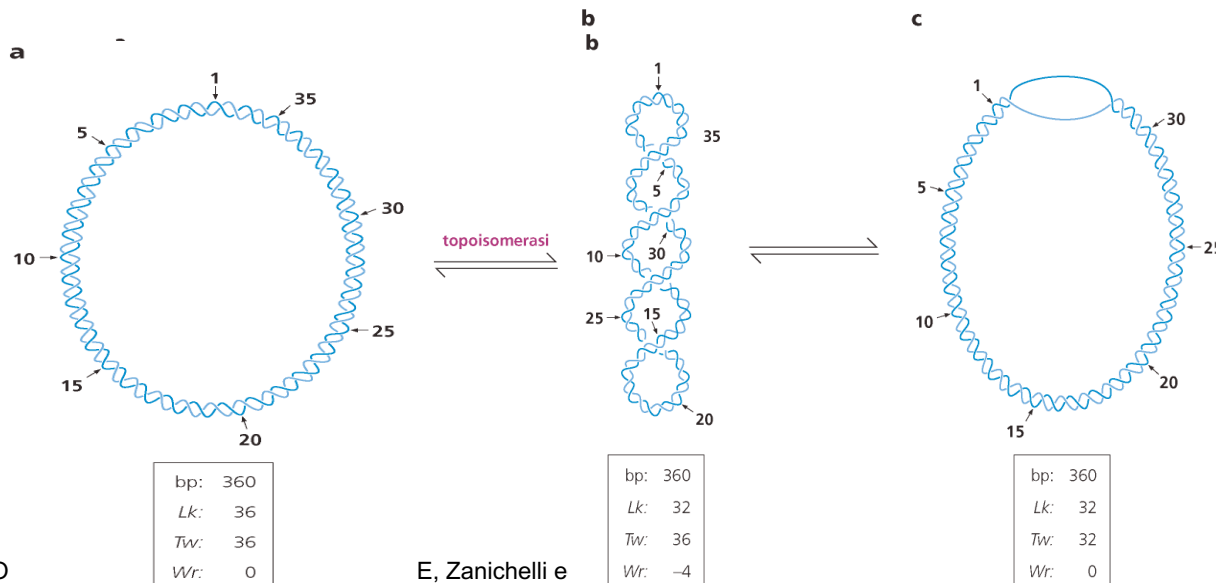


Che significato ha da un punto di vista biologico la densità di superelica?

Aiuta nei processi che richiedono la separazione dei due filamenti (replicazione del DNA e trascrizione).

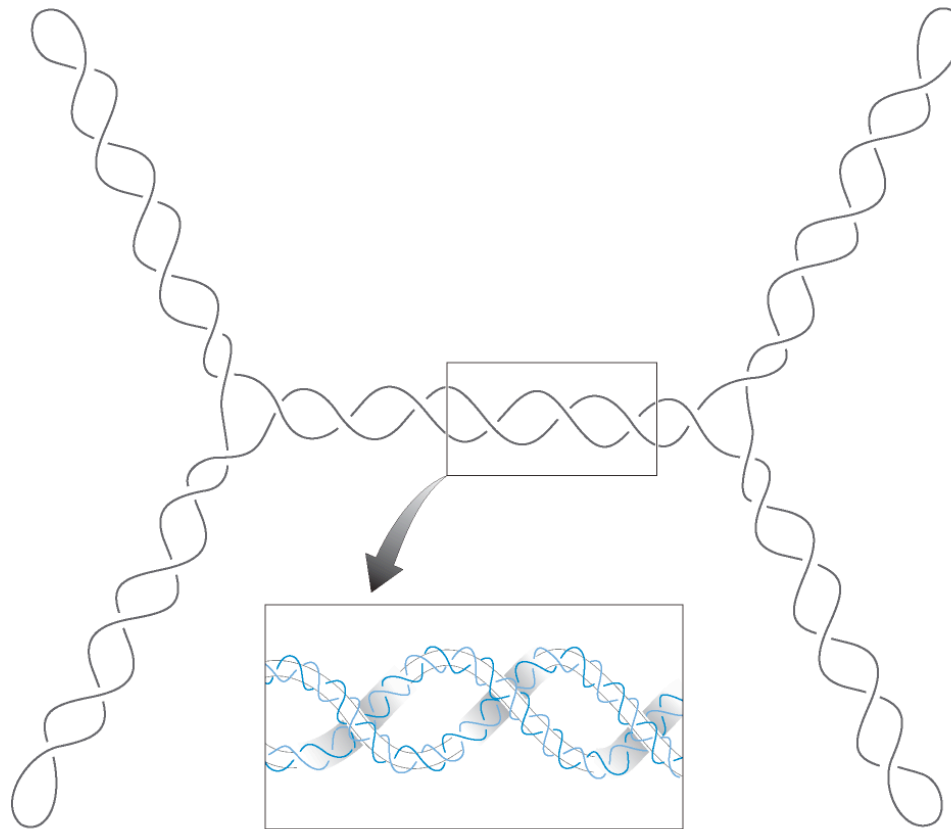
I **superavvolgimenti negativi** possono essere **convertiti** in tratti di **DNA a singolo filamento** (di solito ricco in AT).

Le regioni di DNA superavvolto negativamente tendono a eliminare localmente la doppia elica -> la **separazione** dei due **filamenti** è più **favorita** nel DNA superavvolto che nel DNA rilassato.



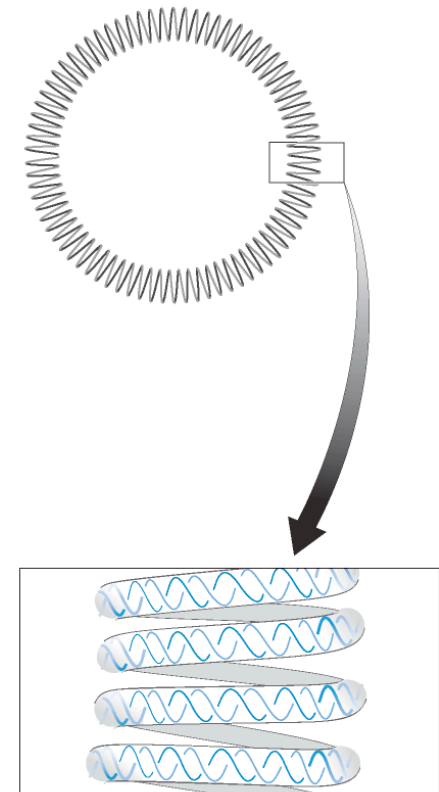
Il writhe può presentarsi sotto due forme diverse

a



plectonemico

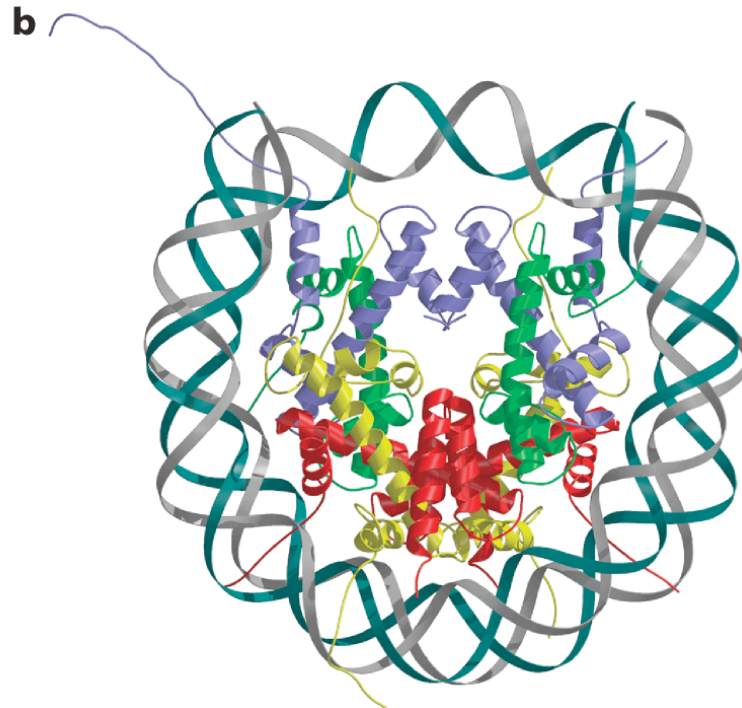
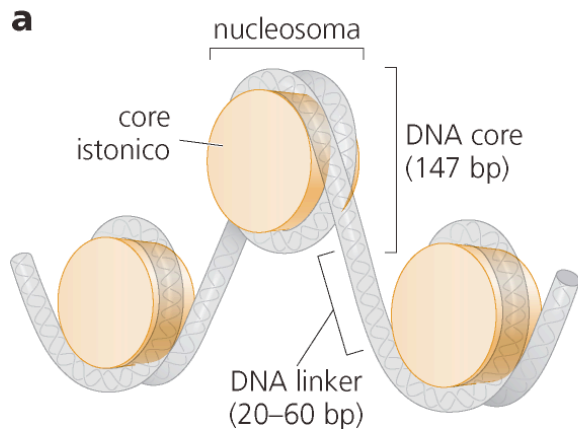
b



toroide o spirale

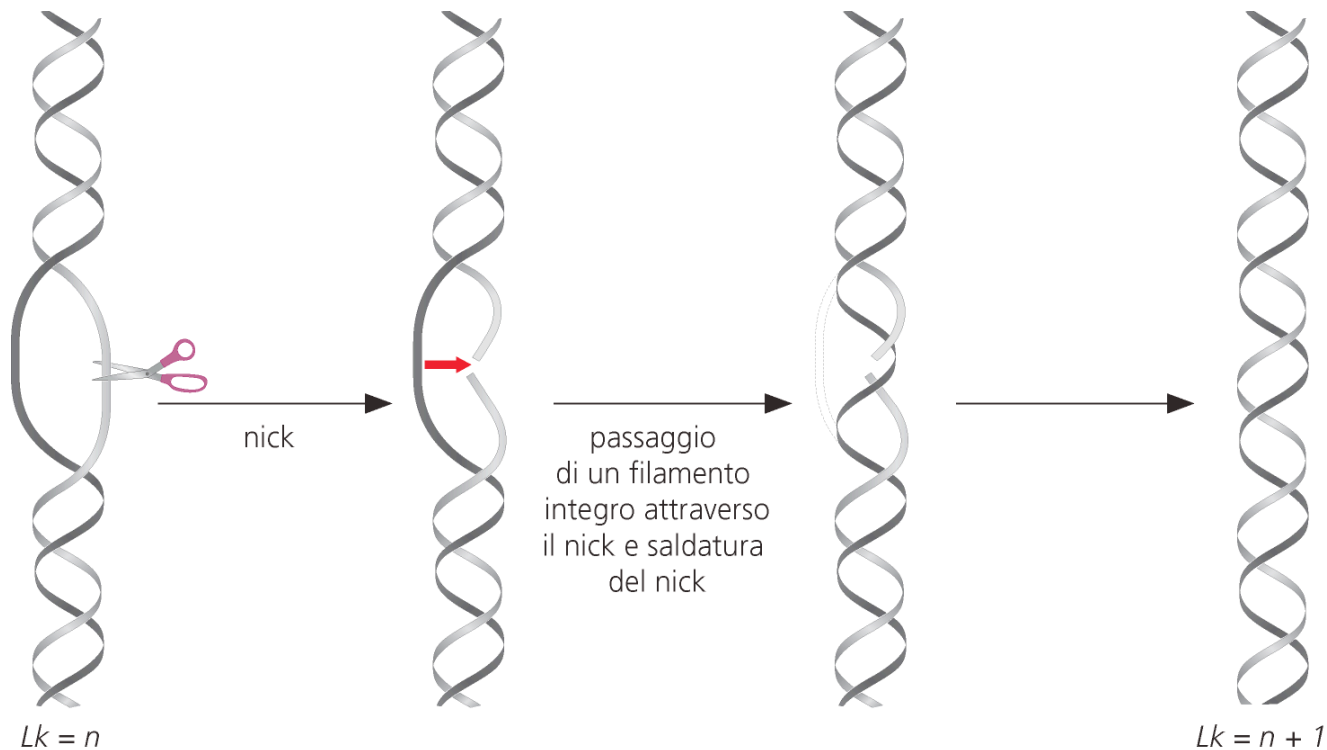
I nucleosomi introducono superavvolgimenti negativi nel DNA degli eucarioti

Il DNA nel nucleo delle cellule eucariotiche è compattato e la struttura di base è il nucleosoma (avvolgimento di due giri circa attorno all'ottamero istonico). E' un toroide o spirale sinistrorsa -> superavvolgimento negativo.



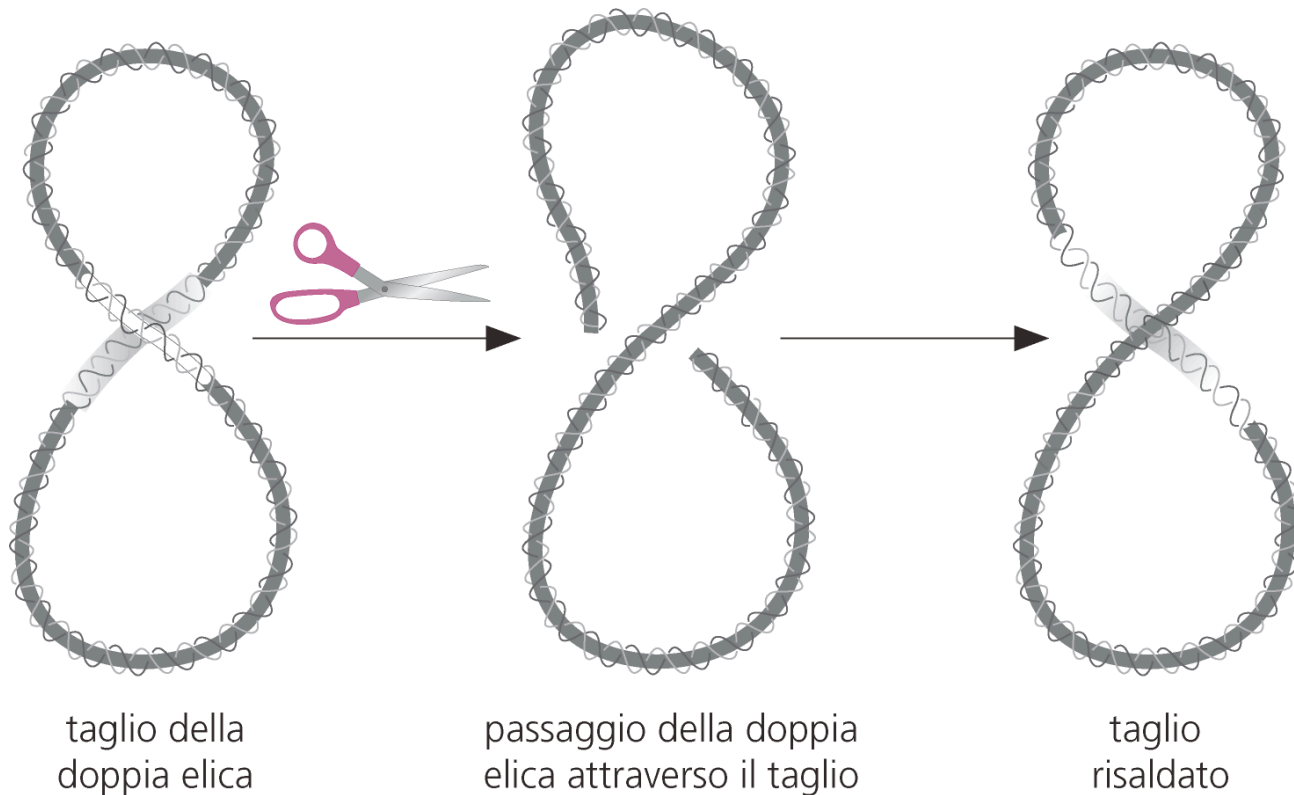
Le topoisomerasi possono rilassare il DNA superavvolto

Topoisomerasi di tipo I: cambiano il numero di legame topologico **uno alla volta**. Rotture temporanee sul **singolo filamento** permettendo a quello integro di passare attraverso la rottura prima che il nick venga eliminato. Non richiedono ATP.



Le topoisomerasi possono rilassare il DNA superavvolto

Topoisomerasi di tipo II: cambiano il numero di legami topologici di due unità per volta. Rottura temporanea dei **due filamenti** del DNA attraverso la quale passa un tratto di elica. **Richiedono** energia di idrolisi dell'**ATP**.



I procarioti hanno topoisomerasi che introducono superavvolgimenti nel DNA

Sia procarioti che eucarioti hanno topoisomerasi I e II che rimuovono superavvolgimenti.

I procarioti hanno anche una topo II (DNA girasi) che introduce superavvolgimenti negativi. Serve a facilitare lo svolgimento (denaturazione) della doppia elica (trascrizione, replicazione, ...).

Durante queste operazioni il DNA non si stacca mai dall'enzima per cui non può avvenire un rilassamento incontrollato

Le topoisomerasi permettono anche l'eliminazione di nodi e la separazione di molecole di DNA

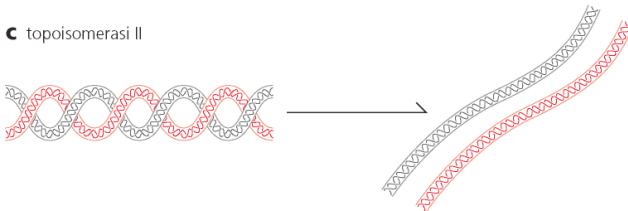
a topoisomerasi II



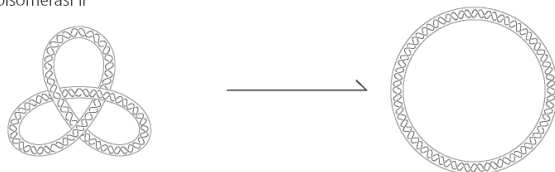
b topoisomerasi I



c topoisomerasi II



d topoisomerasi II



Le topoisomerasi possono **concatenare** o **decatenare** molecole circolari di DNA.

a) Essenziale per **decatenare** il DNA alla fine della **replicazione**.

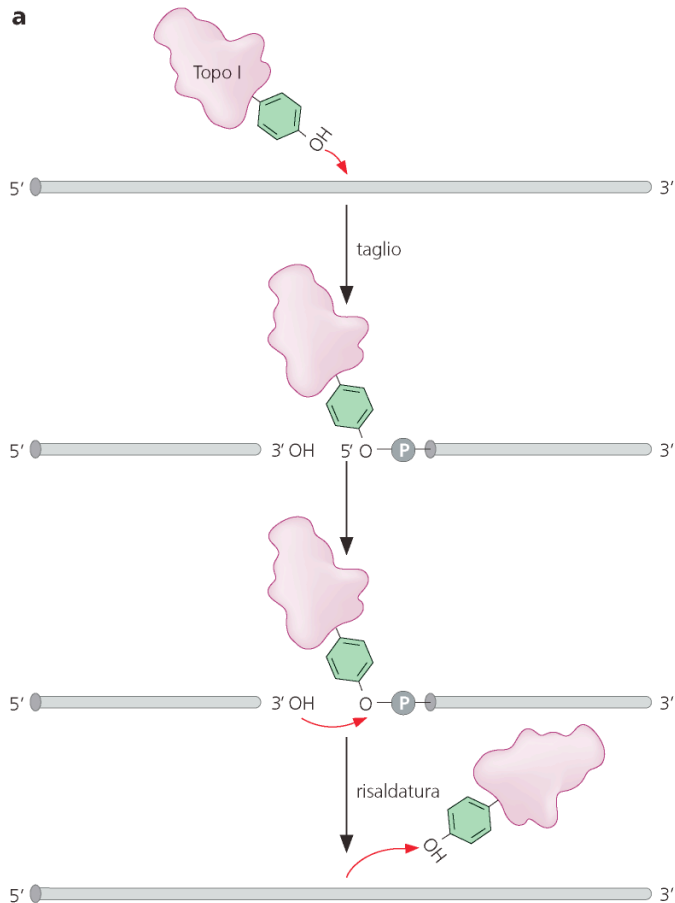
b) Anche topo I può decatenare però una delle due molecole deve avere un nick.

c) Non solo nel DNA circolare ma anche nei cromosomi lineari.

d) Il DNA può formare anche dei **nod**i (ad es. durante la **ricombinazione** sito-specifica).

ETOPOSIDE: inibitore della topoisomerasi II usato come farmaco antineoplastico (stabilizza il complesso topo-DNA tagliato), anche se ha effetti anche su altre cellule.

Le topoisomerasi usano un legame covalente proteina-DNA per tagliare e risaldare i filamenti del DNA



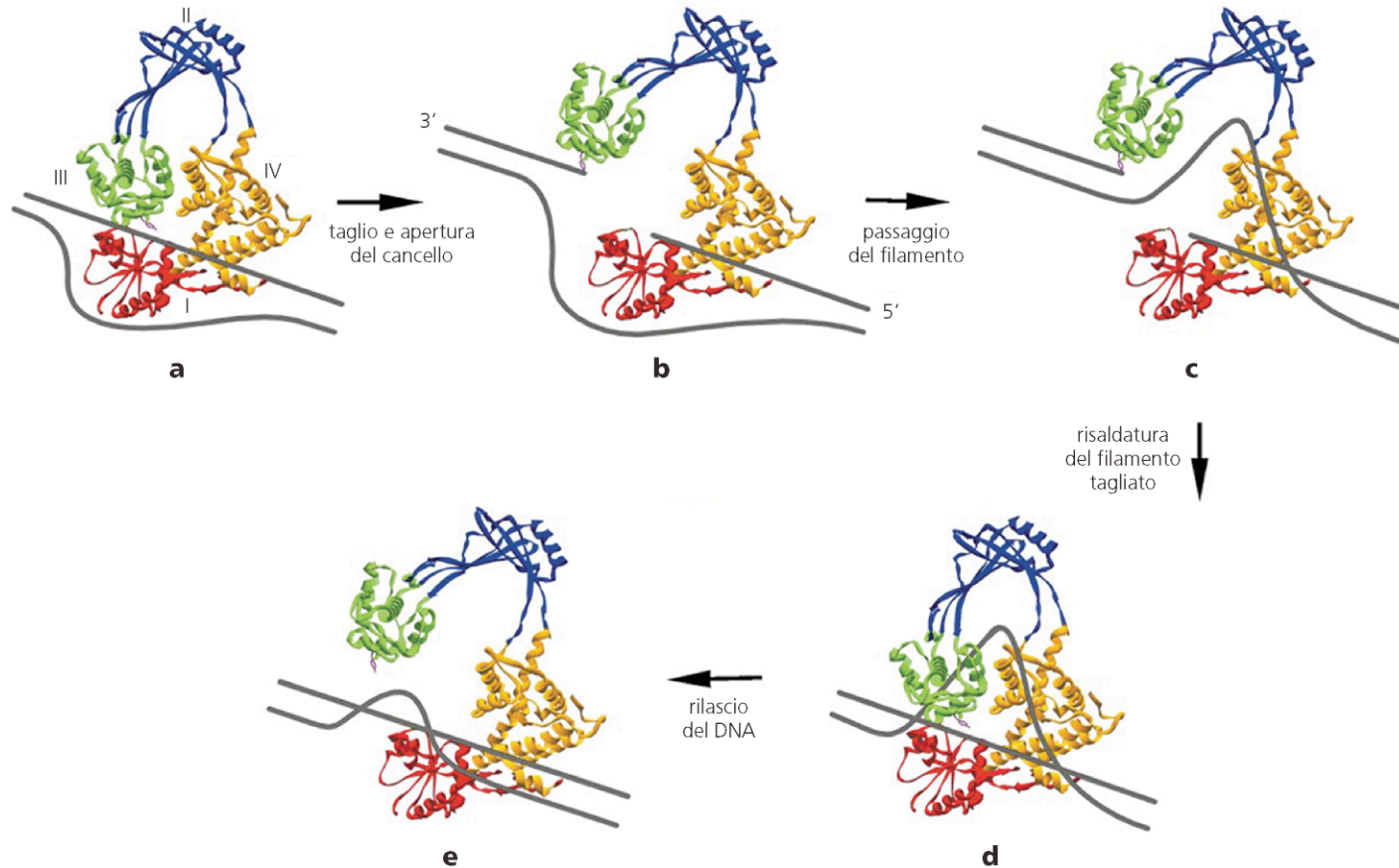
b

Il meccanismo è simile per topo I e topo II.

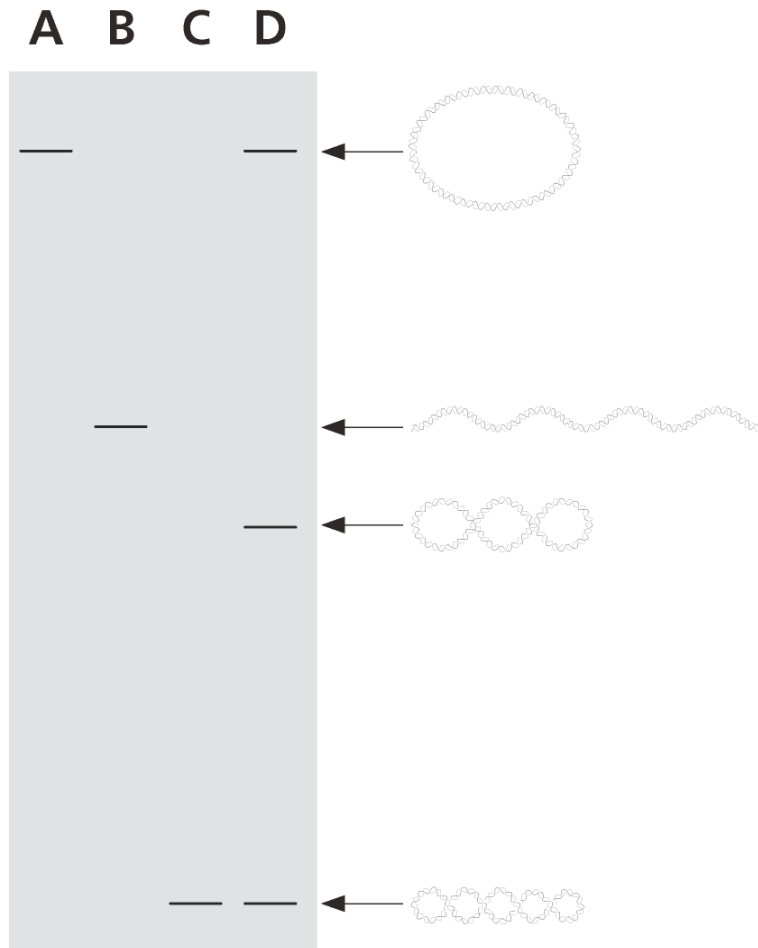
Un residuo di **tirosina** presente nel **sito catalitico** attacca un **legame fosfodiesterico** del DNA, ne provoca la rottura ma resta legata. Il **legame fosfotirosina** conserva l'energia per cui il DNA può essere risaldato. L'ATP serve per promuovere cambiamenti nella conformazione del complesso.

Modello della reazione catalizzata dalla topo I

Prima della chiusura del DNA la topoisomerasi promuove il passaggio di un tratto di DNA attraverso il taglio.

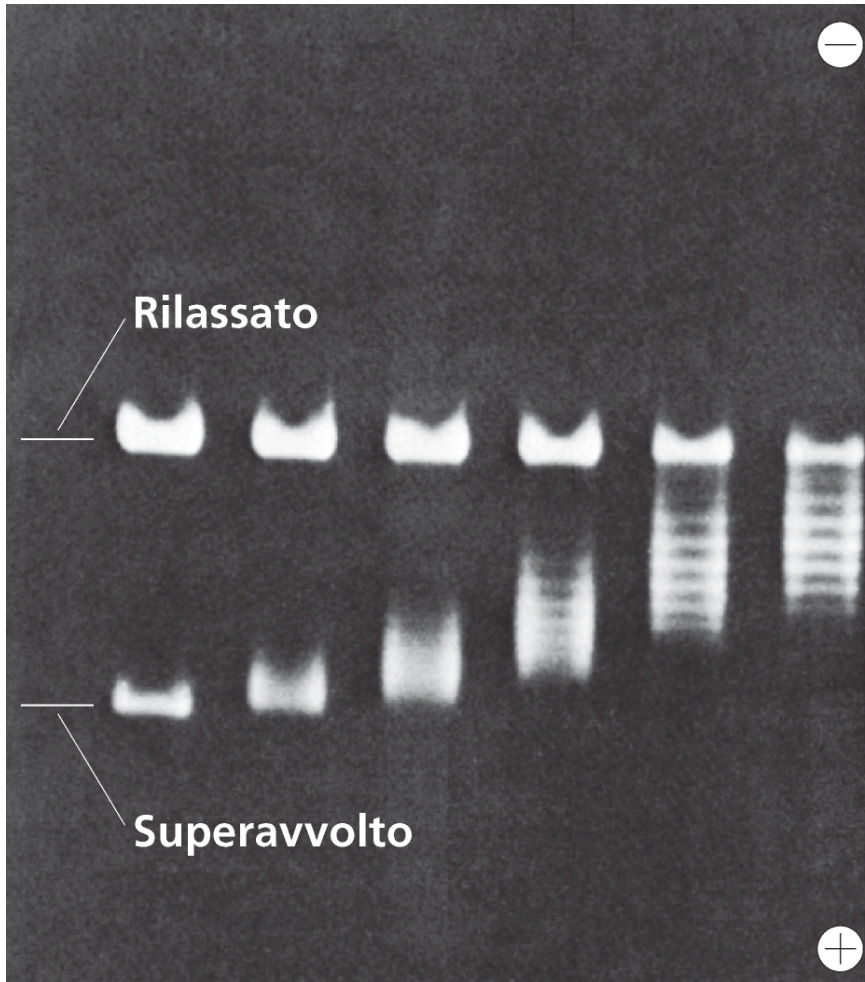


I topoisomeri di DNA possono essere separati mediante elettroforesi



Più elevato è il numero di write (più superavvolto) più compatto è il cccDNA più veloce migra in elettroforesi.

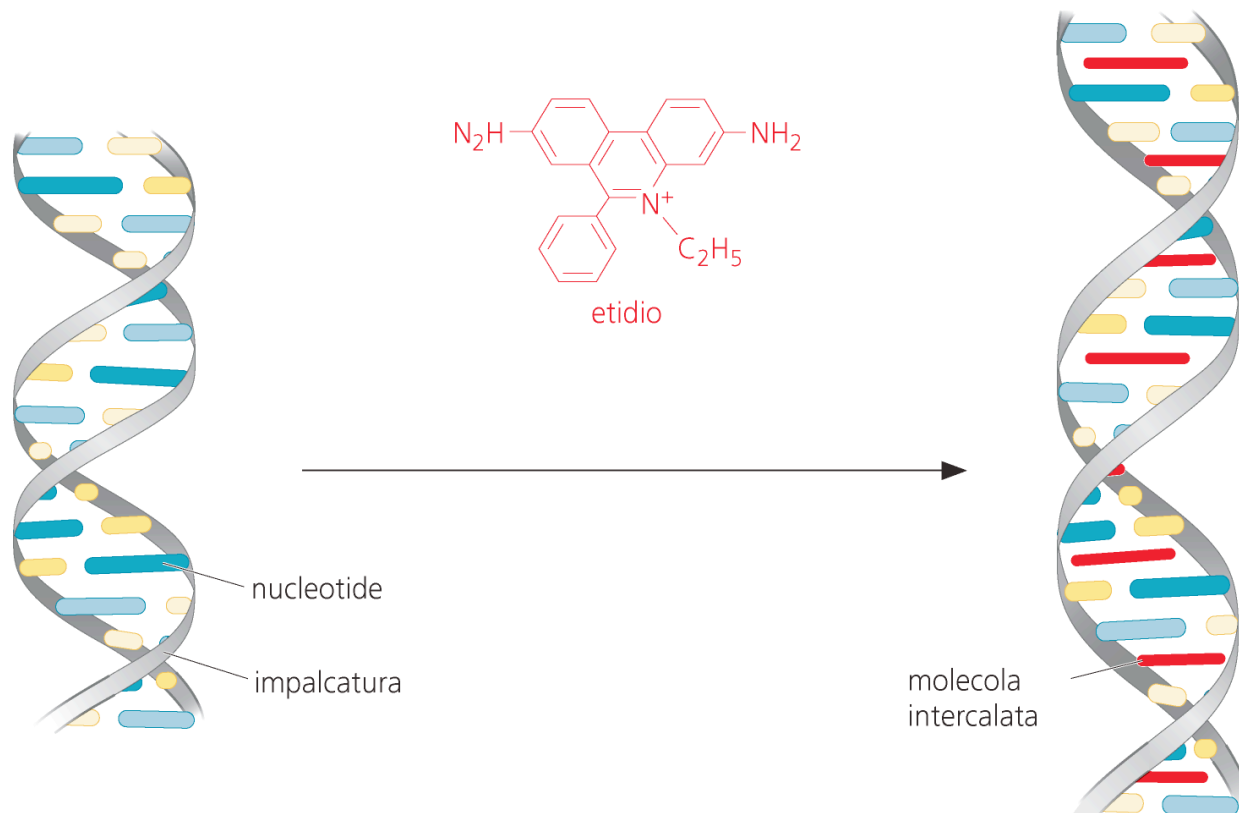
Separazione di DNA superavvolto e rilassato mediante elettroforesi



Diversi topoisomeri possono essere separati su gel.

L'etidio bromuro causa srotolamento della doppia elica

L'etidio aumenta molto la sua fluorescenza quando è intercalato al DNA. Causa uno srotolamento di 26° (da 36° a 10°) in pratica diminuisce il **twist** del DNA. Dal momento che il **linking** non cambia -> aumento di **wrighte**. L'aggiunta di etidio porta ad un DNA più rilassato.



Alcuni video sulla topologia del DNA e sulle topoisomerasi

<http://www.youtube.com/watch?v=az2c6UbEdug>

<http://www.youtube.com/watch?v=3QWA-tFdGN8&feature=related>

<http://www.youtube.com/watch?v=EYGrEIVyHnU>

<https://www.youtube.com/watch?v=HyP0cEbqKTc>

My Zanichelli

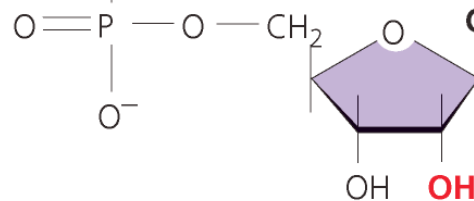
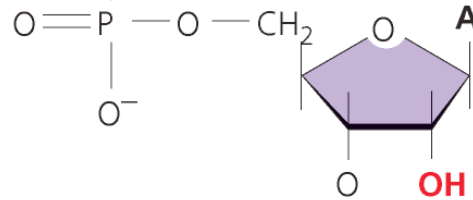
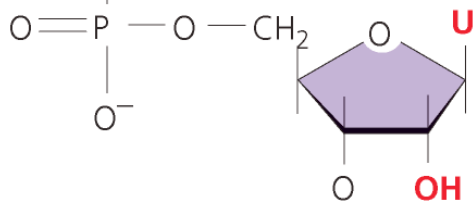
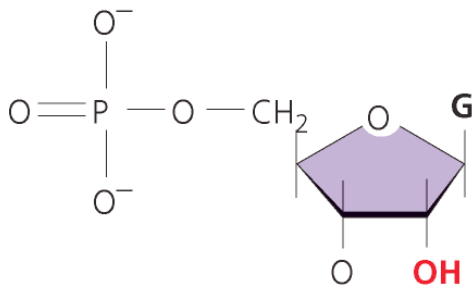
<https://my.zanichelli.it/index.php?error=NoLoginContext>

Capitolo 4: Struttura degli acidi nucleici – Il DNA

- Struttura degli acidi nucleici - DNA
- L'attività della topoisomerasi
- Struttura degli acidi nucleici – RNA
- Ribozimi

La struttura dell'RNA

estremità 5'

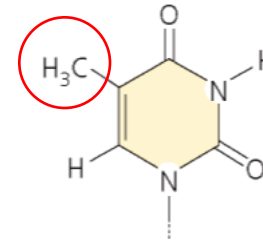


estremità 3'

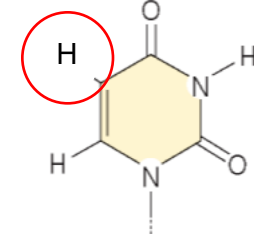
RNA differisce dal DNA **per 3 caratteristiche:**

- 1) Ribosio invece del 2'-desossiribosio
- 2) Uracile al posto della timina
- 3) E' una singola catena polinucleotidica

timina



uracile



Funzioni dell'RNA

Tranne alcune eccezioni è a singolo filamento
(Non è un materiale genetico che viene duplicato)

Funzione di intermediario: mRNA

Funzione di raccordo: tRNA

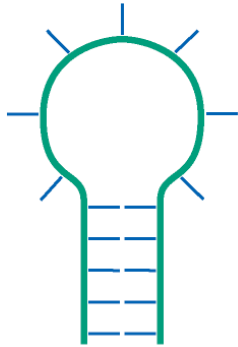
Funzione strutturale: rRNA

Funzione di regolazione: miRNA

Funzione catalitica: ribozimi

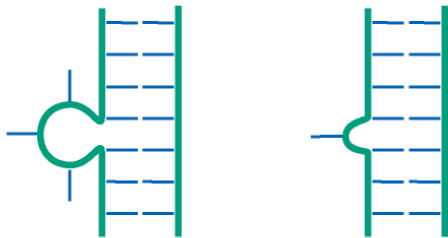
L'RNA può ripiegarsi su se stesso per formare tratti a doppia elica simili al DNA a forma A

a

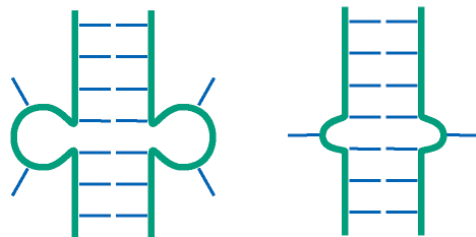


Se due tratti di sequenze complementari si trovano vicini può assumere varie strutture:
a) forcina b) gemma c) ansa

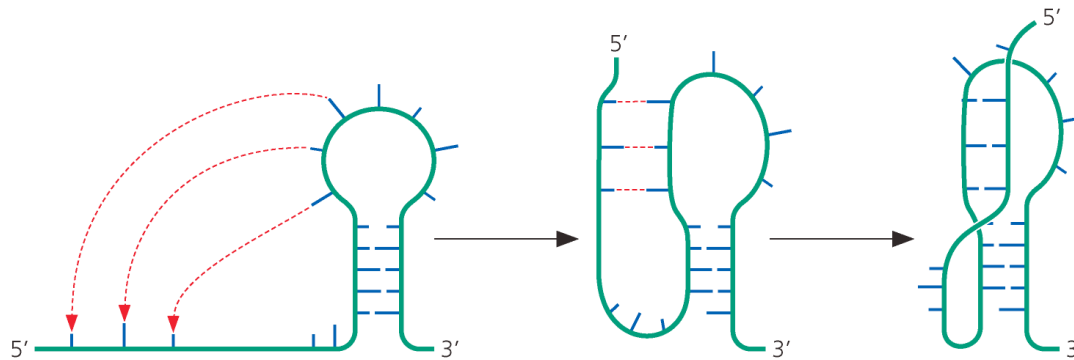
b



c

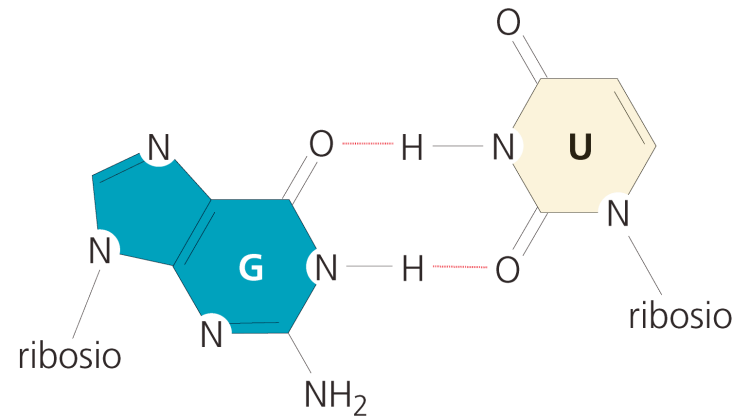


Altri esempi di struttura secondaria dell'RNA



L'appaiamento di basi può avvenire anche fra regioni non contigue.

Propensione a formare strutture a doppia elica utilizzando appaiamenti diversi da Watson e Crick.

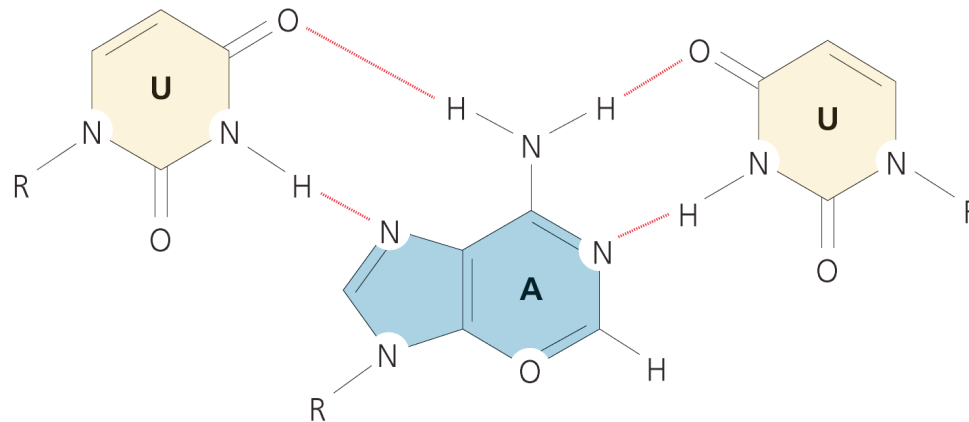


L'RNA può ripiegarsi per formare complesse strutture terziarie

RNA non forma eliche regolari come il DNA è quindi libero di ripiegarsi nelle più diverse strutture terziarie.

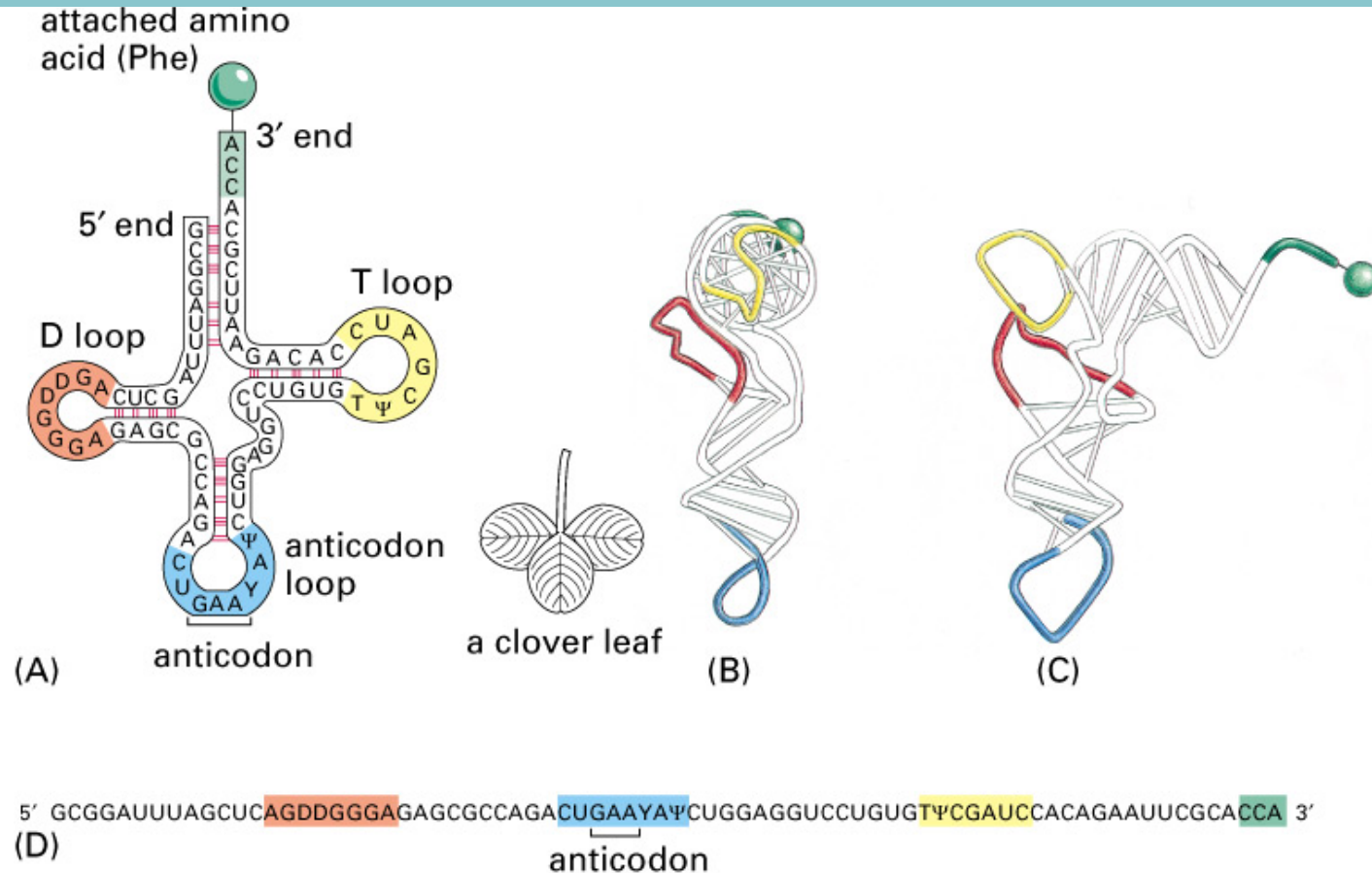
Sono possibili anche legami tra tre basi contemporaneamente.

Anche le proteine possono contribuire alla formazione di strutture terziarie (ribosomi).



tripletta di basi U:A:U

L'RNA può ripiegarsi per formare complesse strutture terziarie (ad es. tRNA)



Struttura primaria: successione delle basi

Struttura secondaria: appaiamenti delle basi a formare diverse strutture

Struttura terziaria: ulteriori ripiegamenti a formare la struttura tridimensionale

Alcuni RNA sono enzimi

Un enzima deve legare un substrato, accelerare una reazione chimica, rilasciare il prodotto della reazione e poter ripetere questa operazione. Di solito proteine, ma anche gli RNA: **ribozimi**.

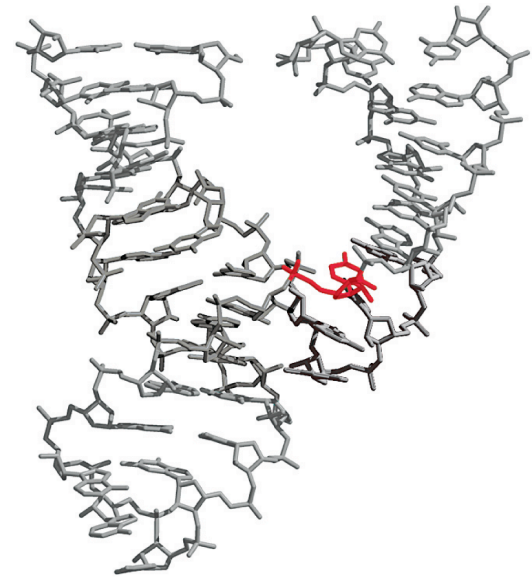
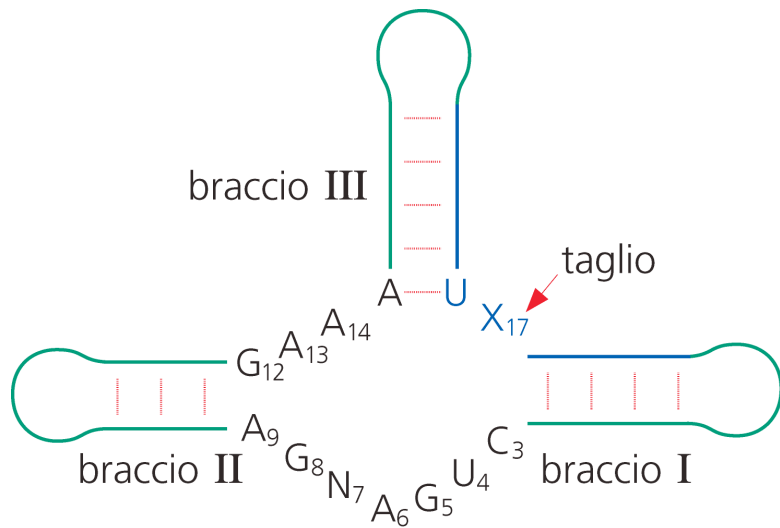
RNasiP: ribonucleasi coinvolta nella formazione dei tRNA a partire da precursori.

Ribozimi nello splicing dell'RNA.

Ribozima a martello (hammerhead): ribonucleasi trovata nei viroidi.

Hammerhead

Il viroide infetta cellule vegetali e quando si replica il suo RNA viene idrolizzato in molecole più piccole. Meccanismo di autoidrolisi.



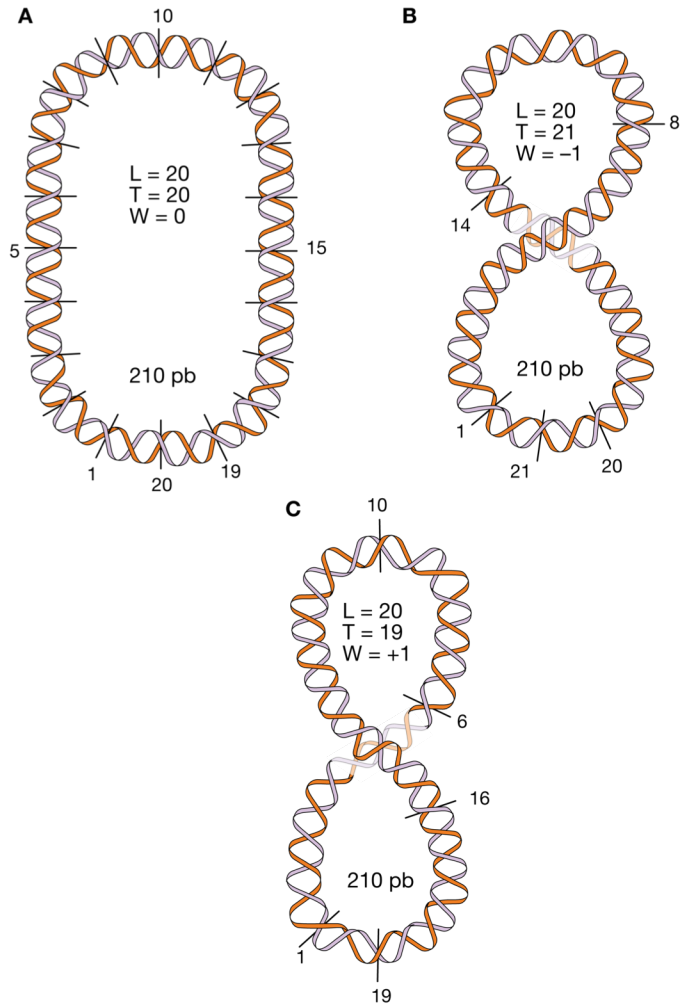
<https://www.rcsb.org/structure/1HMH>

<https://www.youtube.com/watch?v=eJkV8piHX20>

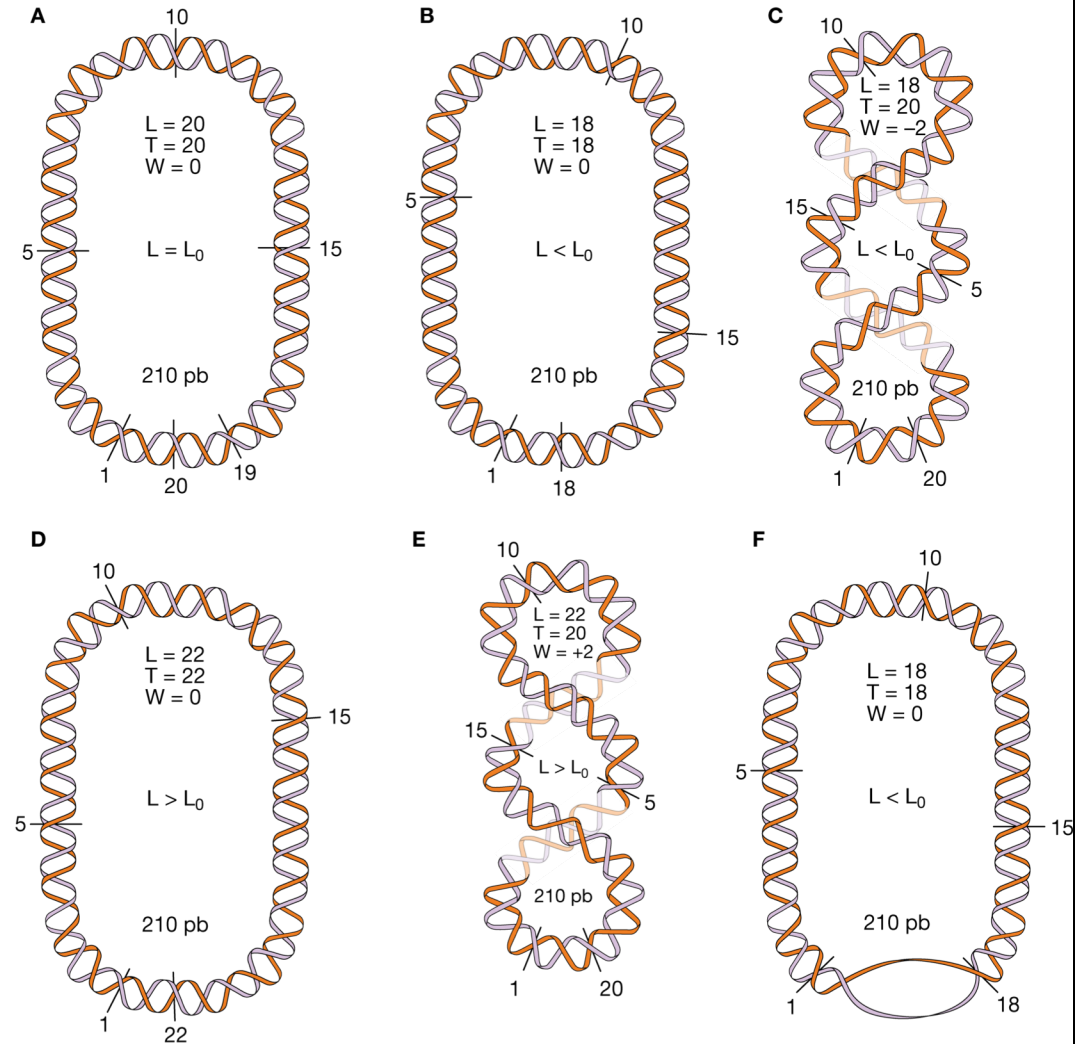
My Zanichelli

<https://my.zanichelli.it/index.php?error=NoLoginContext>

Numero di legame, di superavvolgimento e di avvolgimento



Variazioni del twist e del writhe



Variazione del numero di legame | 64

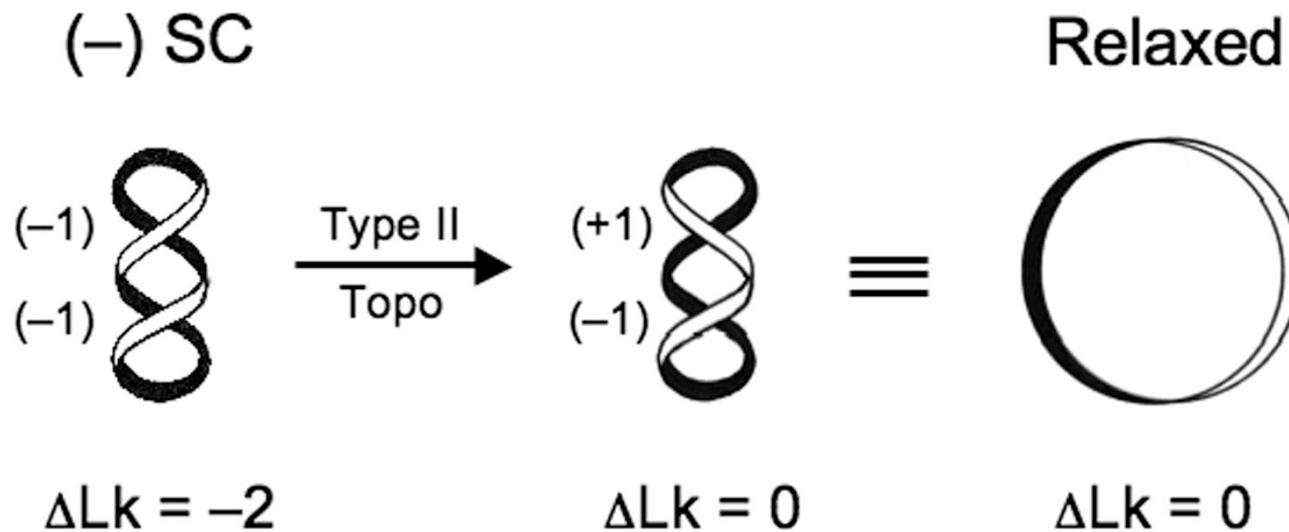


Fig. 4. DNA relaxation catalyzed by type II topoisomerases removes two supercoils per double-stranded DNA passage event

Type II topoisomerases relax DNA using a sign inversion mechanism. The double-stranded DNA passage reaction inverts the sign of a writhe (crossover). In the example shown, a negative writhe is converted to a positive writhe, changing the ΔLk from -2 to 0 .