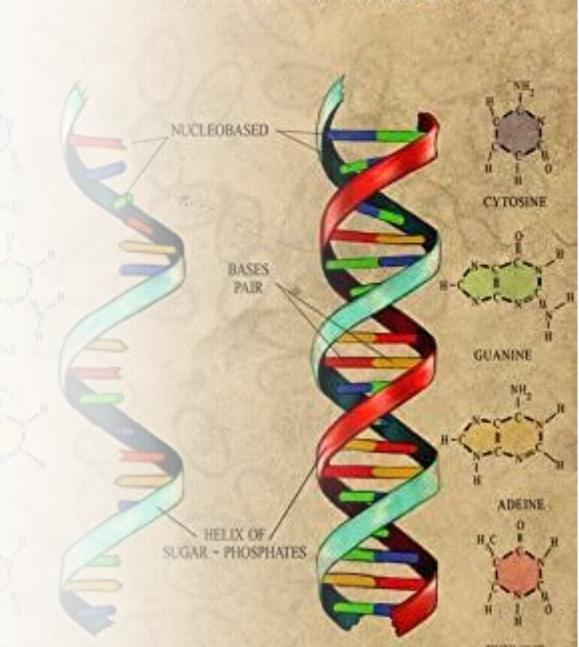
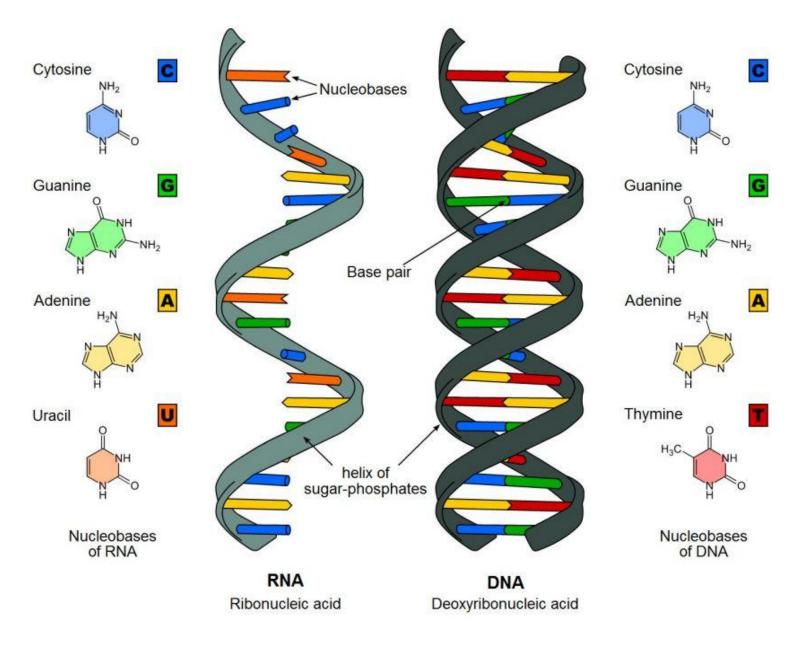
STRUCTURE OF RNA AND DNA

ACIDI NUCLEICI

- Forniscono le informazioni all'interno della cellula.
- La struttura di ogni proteina è il risultato di una informazione programmata nella sequenza nucleotidica degli acidi nucleici di una cellula.

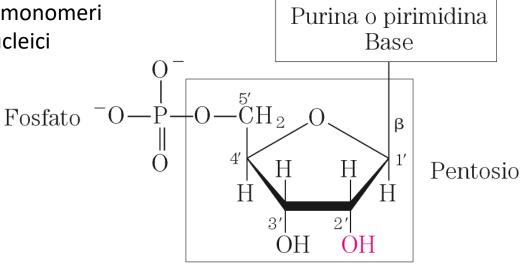


ACIDI NUCLEICI

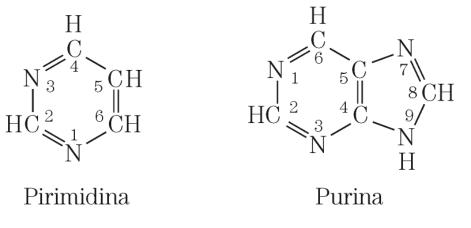


Struttura dei nucleotidi

I nucleotidi sono i monomeri degli acidi nucleici

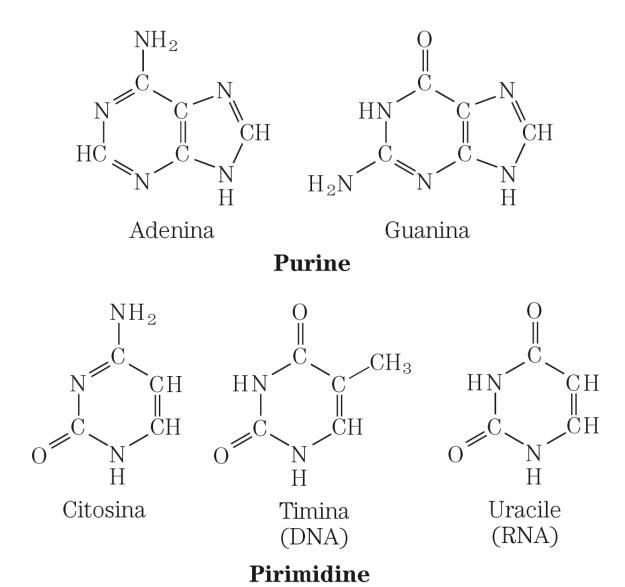


(a)

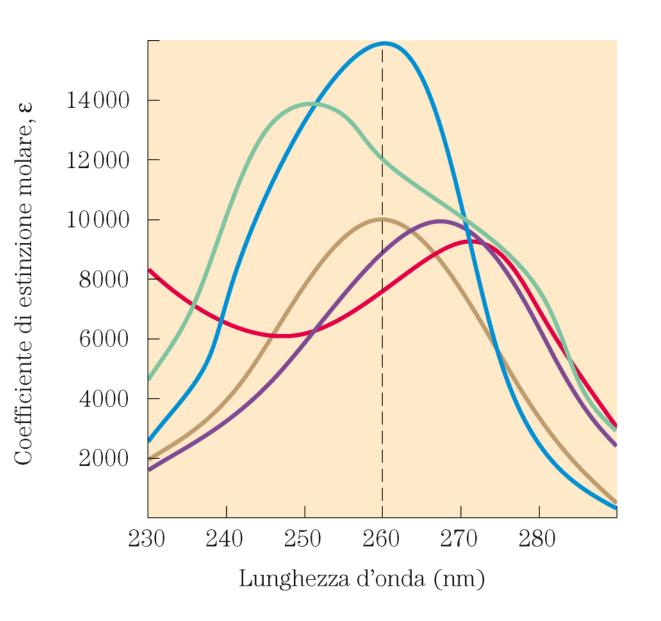


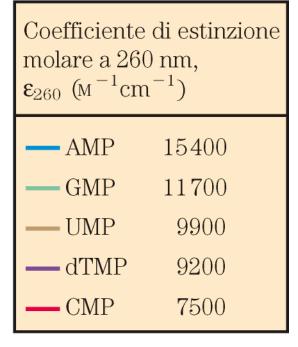
(b)

Principali basi puriniche e pirimidiniche degli acidi nucleici

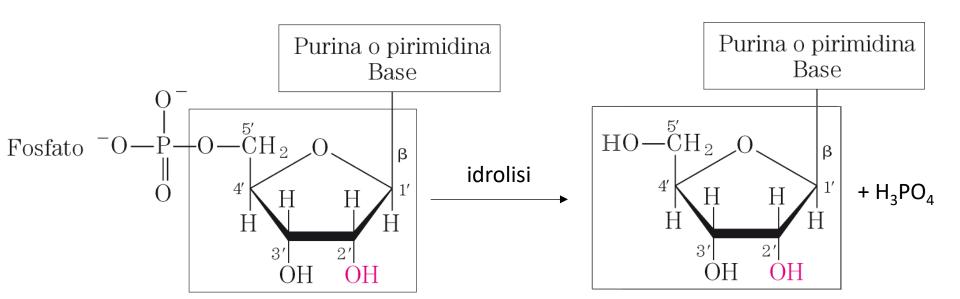


Spettri di assorbimento della luce dei principali nucleotidi

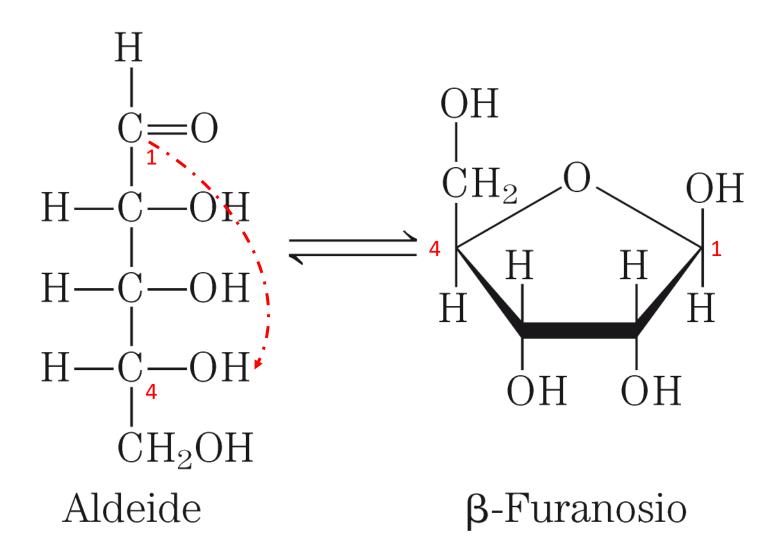




Nucleotide e Nucleoside

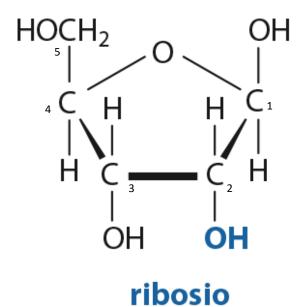


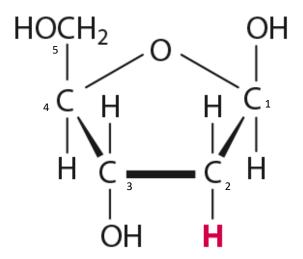
Conformazioni del ribosio in soluzione: La ciclizzazione ha luogo in seguito all'interazione tra i gruppi funzionali su carboni C1 e C4 per formare un emiacetale, oppure un emichetale ciclico.



FURANOSI = forma ciclica degli zuccheri a 5 atomi di carbonio

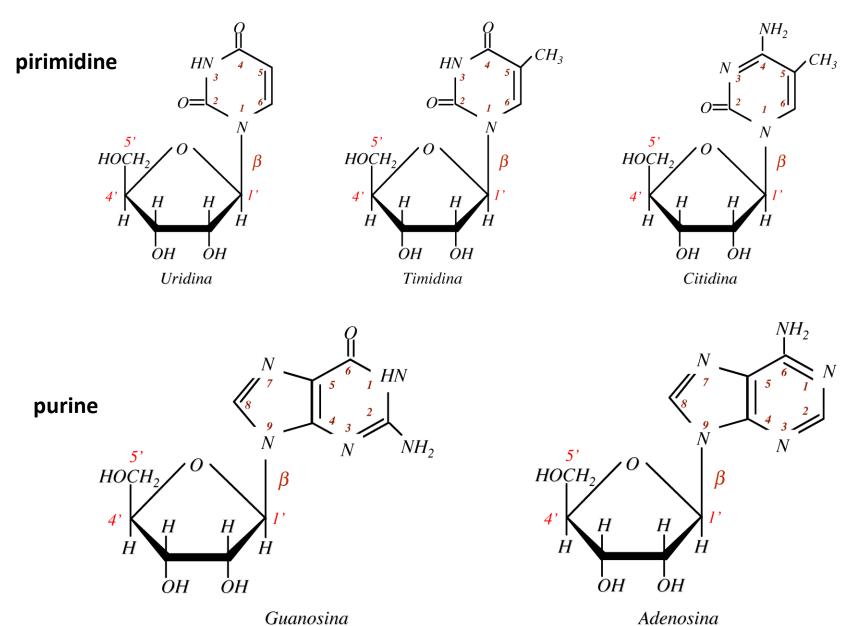
RNA DNA





2'-desossiribosio

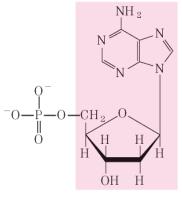
Legame N-β-glicosidico



Adenosina

9

Deossiribonucletidi e ribonucleotidi degli acidi nucleici



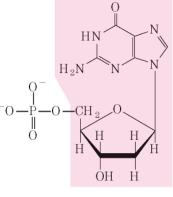
OH H

Deossiadenilato
(deossiadenosina

5'-monofosfato)

Simboli: A, dA, dAMP
Nucleoside: Deossiadenosina

Nucleotide:



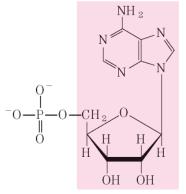
Deossiguanilato (deossiguanosina 5'-monofosfato) G, dG, dGMP Deossiguanosina $\begin{array}{c} O^{-} \\ O - P - O - CH_{2} \\ O \\ O \end{array}$

Deossitimidilato (deossitimidina 5'-monofosfato) T, dT, dTMP Deossitimidina

Deossicitidilato (deossicitidina 5'-monofosfato) C, dC, dCMP Deossicitidina

 NH_2

(a) Deossiribonucleotidi



Nucleotide: Adenilato (adenosina 5'-monofosfato)

Simboli: A, AMP Nucleoside: Adenosina $\begin{array}{c|c}
 & O \\
 & HN \\
 & N \\$

Guanilato (guanosina 5'-monofosfato) G, GMP

Guanosina

ina to)

O-P-O-CH₂OHHHHHOHOH

Uridilato (uridina 5'-monofosfato) U, UMP Uridina

> Citidilato (citidina 5'-monofosfato) C, CMP Citidina

(b) Ribonucleotidi

Alcuni nucleotidi dell'adenosina monofosfato

I nucleotidi ciclici sono utilizzati come segnali intracellulari e regolatori del metabolismo

Le basi purine e le pirimidine sono composti moderatamente basici.

Sono sostanze idrofobiche e relativamente poco solubile in acqua a un pH fisiologico.

Assorbono la luce UV: tutti i nucleotidi e gli acidi nucleici presentano un elevato assorbimento della luce ad una lunghezza d'onda di circa 260 nm.

Base	Nucleoside*	Nucleotide*	Nucleic acid
Purines			
Adenine	Adenosine	Adenylate	RNA
	Deoxyadenosine	Deoxyadenylate	DNA
Guanine	Guanosine	Guanylate	RNA
	Deoxyguanosine	Deoxyguanylate	DNA
Pyrimidines			
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	RNA
	Deoxycytidine	Deoxycytidylate	DNA
Thymine	Thymidine or deoxythymidine	Thymidylate or deoxythymidylate	DNA
Uracil	Uridine	Uridylate	RNA

^{*}Nucleoside and nucleotide are generic terms that include both ribo- and deoxyribo- forms. Note that here ribonucleosides and ribonucleotides are designated simply as nucleosides and nucleotides (e.g., riboadenosine as adenosine), and deoxyribonucleosides and deoxyribonucleotides as deoxynucleosides and deoxynucleotides (e.g., deoxyriboadenosine as deoxyadenosine). Both forms of naming are acceptable, but the shortened names are more commonly used. Thymine is an exception; the name ribothymidine is used to describe its unusual occurrence in RNA.

Base Azotata + Pentosio = **NUCLEOSIDE**

Base Azotata + Pentosio + Gruppo Fosforico = **NUCLEOTIDE**

ATP: ruolo centrale nel metabolismo energetico

GTP: importante per la sintesi proteica e nella trasduzione del segnale

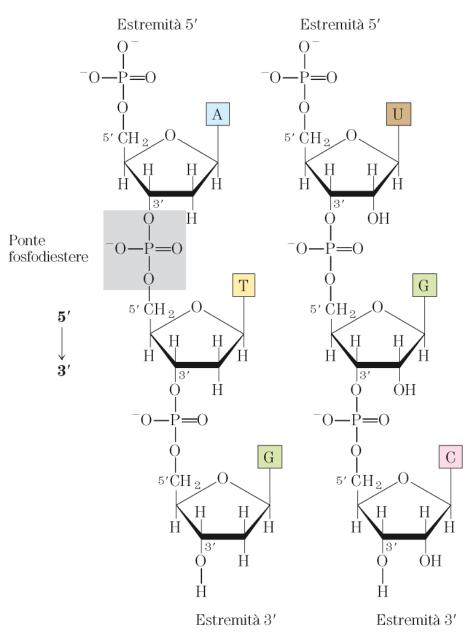
CTP: importante nella sintesi dei lipidi

UTP: importanti per il metabolismo dei

carboidrati



RNA



La polimerizzazione dei nucleotidi

Legami 3', 5'-fosfodiesterico

Tutti i legami fosfodiestere hanno lo stesso orientamento lungo la catena conferendo a ciascun filamento una specifica polarità, ed estremità 3' e 5' distinte.

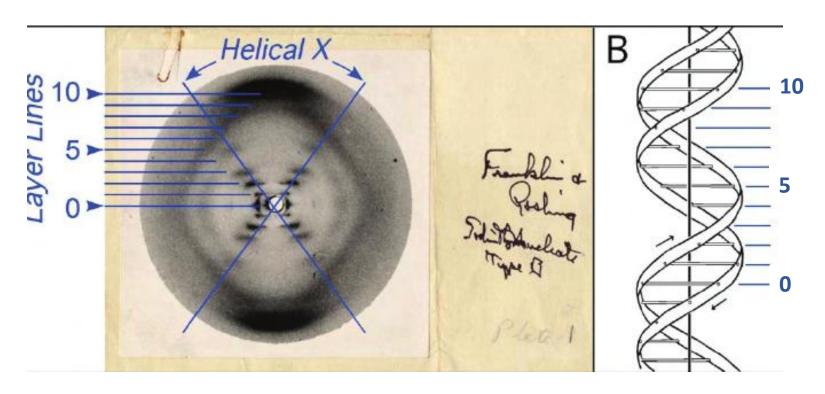
I residui nucleotidici di un acido nucleico sono numerati dall'estremità 5' che normalmente termina con un gruppo fosfato, all'estremità 3', che normalmente presenta un gruppo ossidrilico libero.

Per definizione l'estremità 5' è quella priva di nucleotide nella posizione 5' mentre la estremità 3' è quella priva di nucleotide nella posizione 3'.

La sequenza di un singolo filamento di acido nucleico è sempre scritta nella direzione:

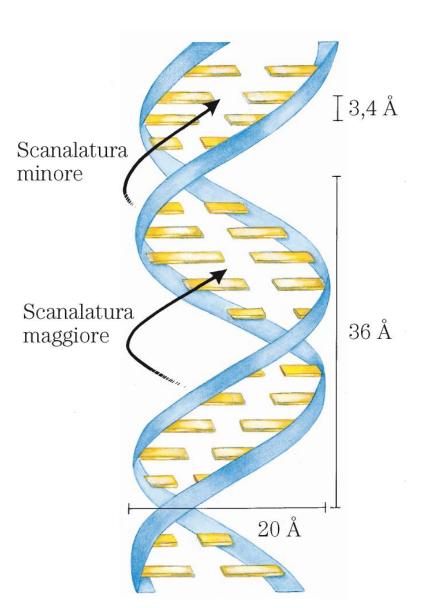
$$5' \rightarrow 3'$$

Diffrazione a raggi X del DNA



- La combinazione dei dati strutturali con quelli dell'analisi chimiche portò alla conclusione che l'appaiamento delle basi è complementare.
- Poiché l'appaiamento complementare delle basi si realizza per l'intera lunghezza della doppia elica, le due catene sono anche denominate filamenti complementare.

LA STRUTTURA DEL DNA: IL MODELLO DI WATSON E CRICK (1953)



Il modello prevedeva che vi fossero 10 coppie di basi oppure 34 Å (3,4 nm) per giro di elica. Il diametro esterno dell'elica è pari a 20 Å.

Due catene elicoidali avvolte intorno a uno stesso asse a formare una doppia elica destrorsa.

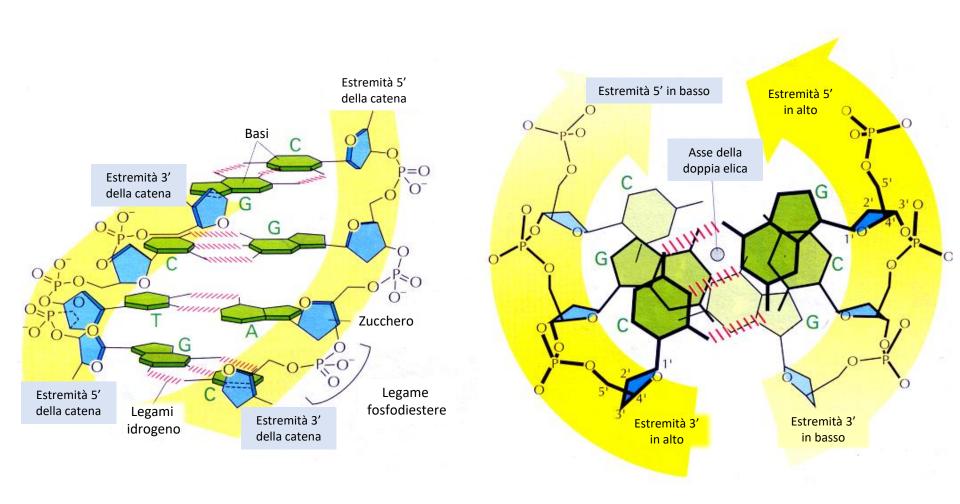
Lo scheletro composto da un'alternanza di deossiribosio e gruppi fosforici è all'esterno della doppia elica, mentre, le basi puriniche e pirimidiniche sono impilate all'interno.

Si viene così a creare una scanalatura maggiore e una scanalatura minore sulla superficie della doppia elica.

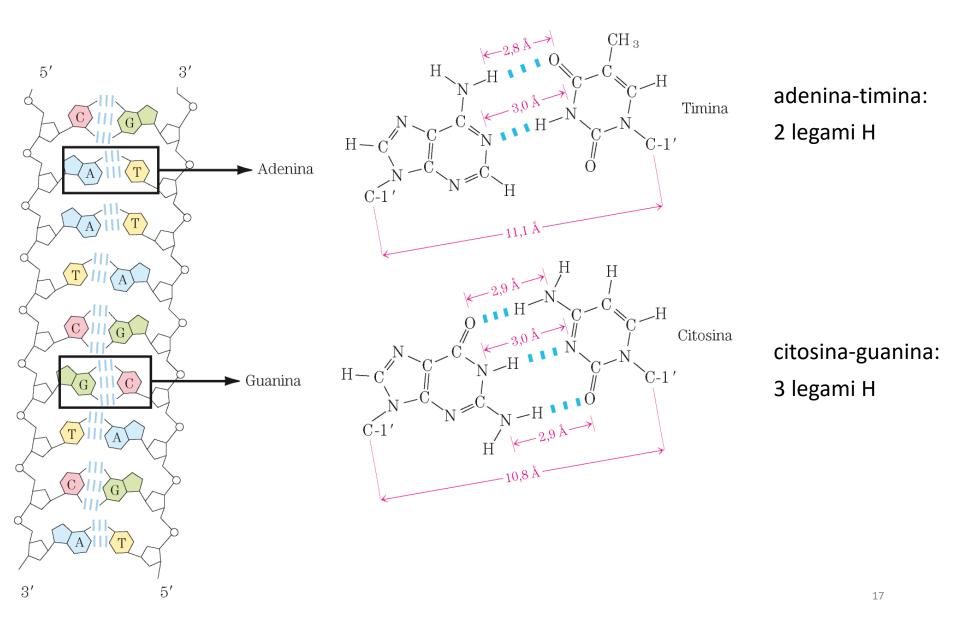
Le due eliche sono antiparallele e complementari l'una all'altra.

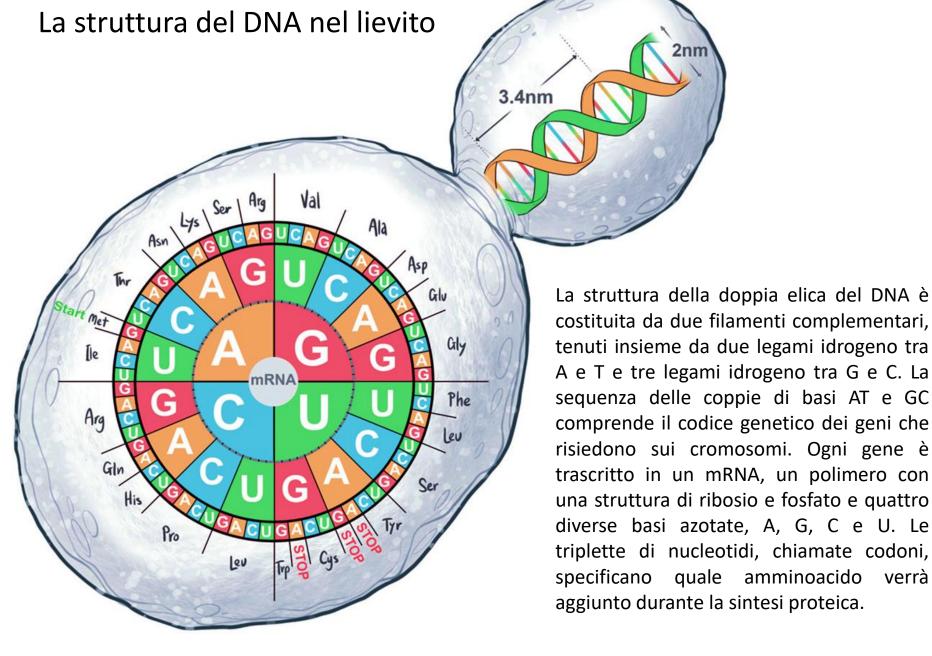
Le basi si trovano all'interno dell'elica, mentre i fosfati sono all'esterno.

Il piano degli zuccheri è quasi perpendicolare a quello delle basi ed il piano delle basi è perpendicolare all'asse dell'elica.

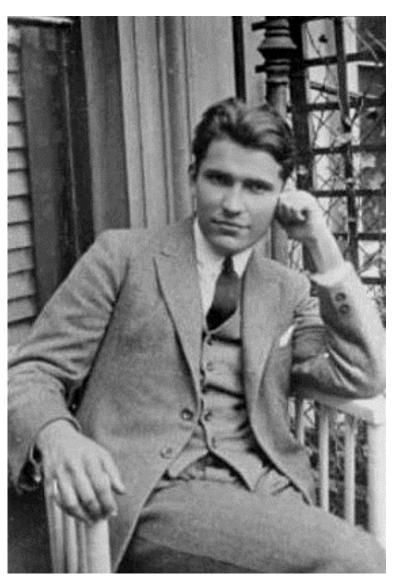


Complementarietà delle catene nella doppia elica del DNA e legami idrogeno nelle coppie di basi definite da Watson e Crick





Regole di Chargaff



- 1) I campioni di DNA isolati da tessuti diversi della stessa specie hanno la stessa composizione in basi.
- 2) la composizione in basi del DNA varia da una specie all'altra.
- 3) la composizione in basi del DNA in una data specie non cambia con l'età dell'organismo, il suo stato nutrizionale o per variazioni del suo ambiente di vita.
- 4) la somma delle purine é uguale alla somma delle pirimidine:

$$A = T e C = G \rightarrow A + G = T + C$$

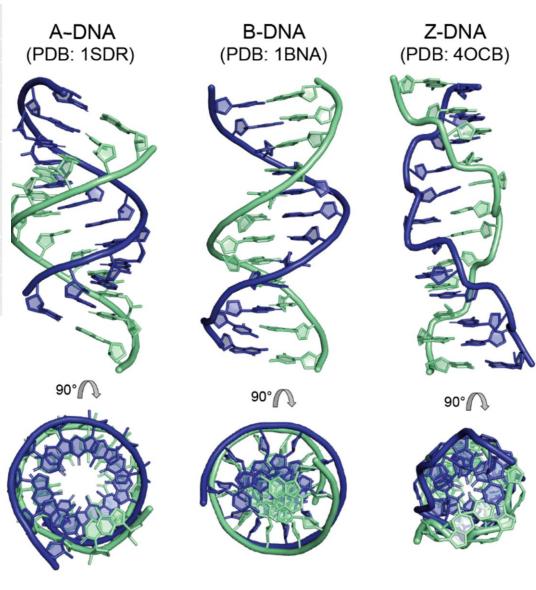
Parametri medi dell'elica e deviazioni standard dei tre tipi principali di DNA

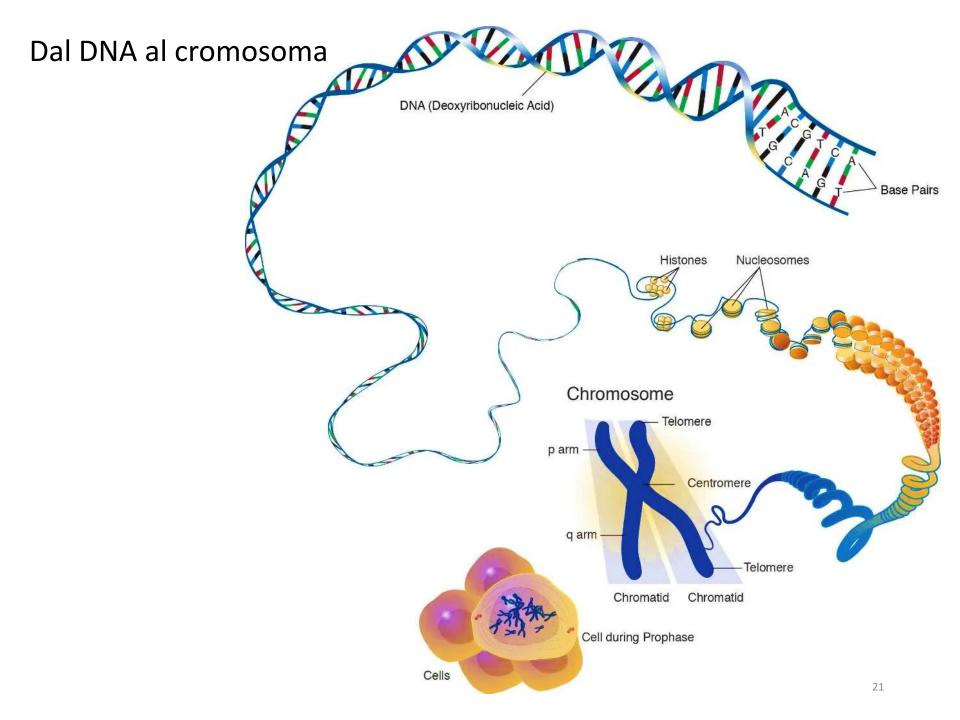
	DNA A	DNA B	DNA Z	
avvitamento	destrorso	destrorso	sinistrorso	
coppie di basi per giro	10,9	10,0	12,0	
innalzamento dell'elica per coppia di basi (nanometri)	0,292±0,039	0,336±0,042	G-C±0,352±0,022 C-G±0,413±0,018	
avvolgimento elicoidale (gradi)				
media e deviazione standard	33,1±5,9	35,9±4,3	G-C±-51±1,6 C-G±-8,5±1,1	
ambito di osservazione	da 16,1 a 44,1	da 27,7 a 42,0		
inclinazione delle basi (gradi)	13,0±01,9	-2,0±4,6	8,8±0,7	
curvatura delle coppie di basi (gradi)	15,4±6,2	11,7±4,8	4,4±2,8	

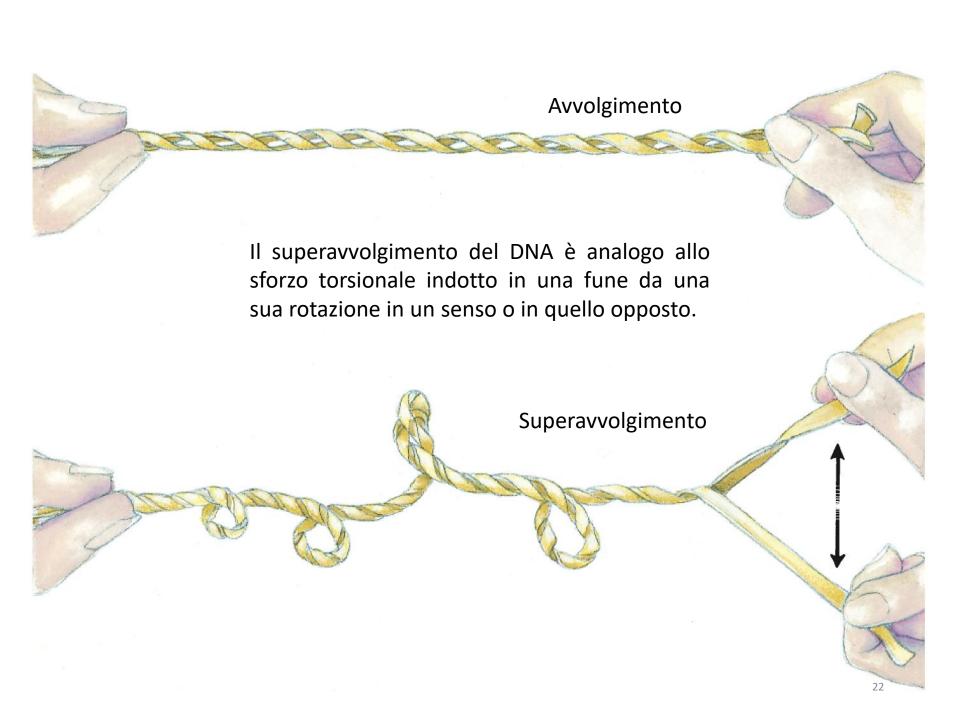
La forma A è destrorsa e favorita in un mezzo povero di acqua. Ha 11 coppie di basi per giro di elica, le sue coppie non sono perpendicolari all'asse, ma formano un angolo di circa 20 gradi rispetto al piano perpendicolare.

La forma Z è sinistrorsa, vi sono 12 coppie di basi per giro e la struttura appare più allungata e sottile. Lo scheletro ha un andamento a zig zag. La forma Z deriva dalla B in seguito a un capovolgimento di 180° di una parte dello scheletro.

Conformazioni del DNA







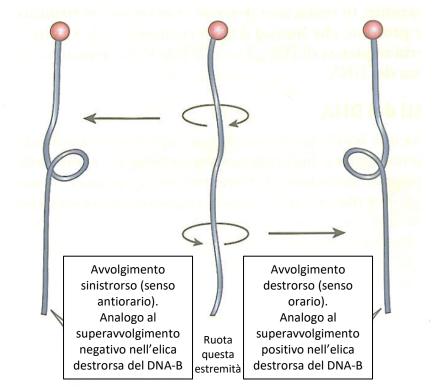
Topologia del DNA superavvolto

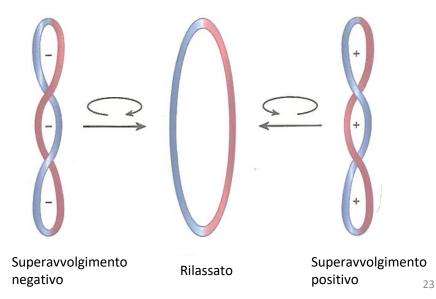
Il DNA a doppia elica può essere considerato una fune attorcigliata, se la fune è ruotata in senso antiorario si ha il superavvolgimento negativo; se la fune è ruotata in senso orario, il superavvolgimento sarà positivo.

Il superavvolgimento negativo introduce uno sforzo torsionale che favorisce lo svolgimento della doppia elica del DNA-B destrogiro, mentre il superavvolgimento positivo tende ad avvolgere ulteriormente questa elica. Entrambe le forme di superavvolgimento rendono il DNA più compatto.

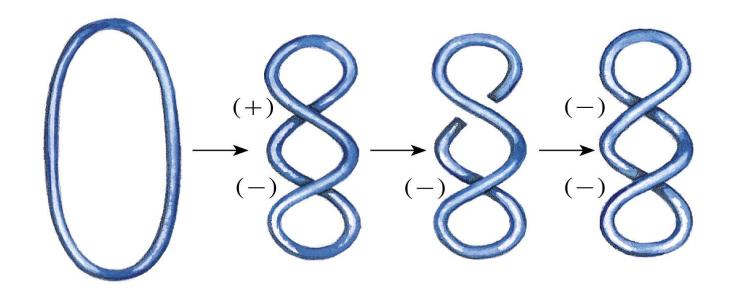
Gli enzimi coinvolti nelle modifiche dello stato di superavvolgimento del DNA sono le topoisomerasi. La topoisomerasi di classe I taglia lo scheletro di un filamento di DNA, la topoisomerasi di tipo II taglia entrambi i filamenti di DNA.

Il DNA naturale è superavvolto negativamente eccetto durante la replicazione che diviene superavvolto positivamente.





Meccanismo d'azione dell'enzima Topoisomerai II nel batterio

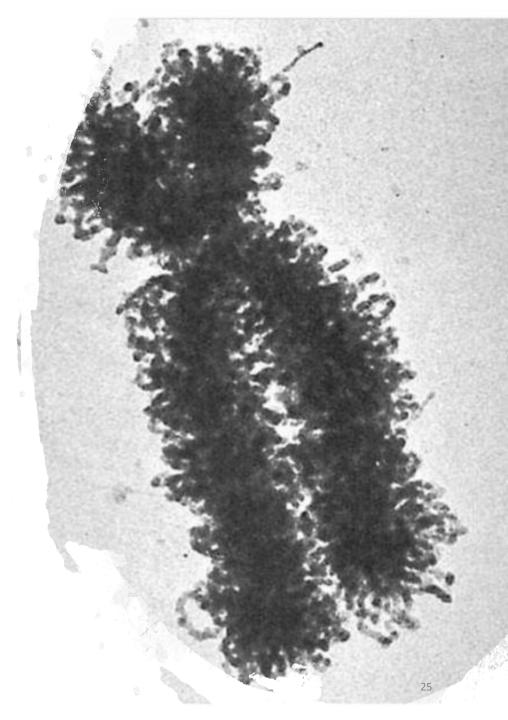


La topoisomerasi di tipo II taglia entrambi i filamenti di DNA passano una porzione dell'elica tra le estremità tagliate e quindi risigillano.

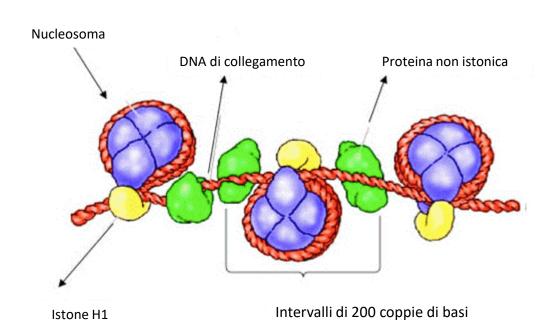
L'enzima riduce la tensione a monte della forcella, rompendo il filamento di DNA, con rotazione dei filamenti di DNA e successiva risaldatura altrimenti lo svolgimento dei filamenti diventerebbe energeticamente impossibile.

Come si superavvolge il DNA degli eucarioti?

- È associato a proteine basiche, gli istoni
- L'attrazione elettrostatica tra i gruppi fosfato del DNA e i gruppi delle proteine favorisce la formazione di complessi
- Il materiale che ne risulta si chiama cromatina



Le proteine che legano il DNA rientrano in due classi:



1) La classe principale, gli istoni, comprende 5 tipi di proteine (da 11 a 21 Kd):

H1 (é associato al DNA di collegamento)

H2A, H2B, H3 e H4 (due copie di ciascuno formano la struttura nucleosomiale)

Sono proteine basiche ricche di aminoacidi come lisina e arginina, che conferisce carica positiva.

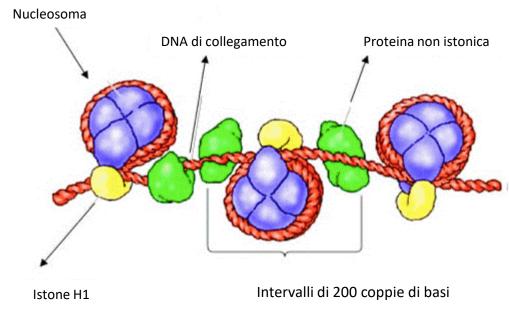
2) la seconda classe è costituita da un gruppo molto più eterogeneo di proteine chiamate proteine non istoniche.

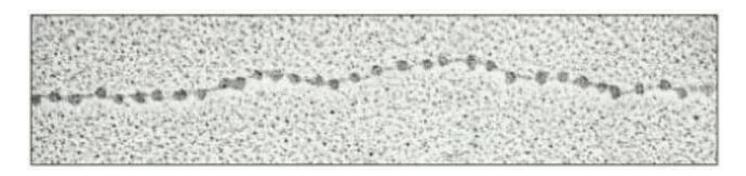
LE PROTEINE NON ISTONICHE

Proteine con funzione enzimatiche, sono coinvolte nella replicazione, ricombinazione e riparazione del DNA. Esempio: DNA ligasi e le polimerasi.

Proteine regolatrici dell'espressione genica, controllano l'inizio e la terminazione della trascrizione del DNA. Esempio: Fattori della trascrizione.

Alcune proteine non istoniche sono fondamentali per mantenere la struttura tridimensionale della cromatina. Esempio: Proteine per la condensazione della cromatina



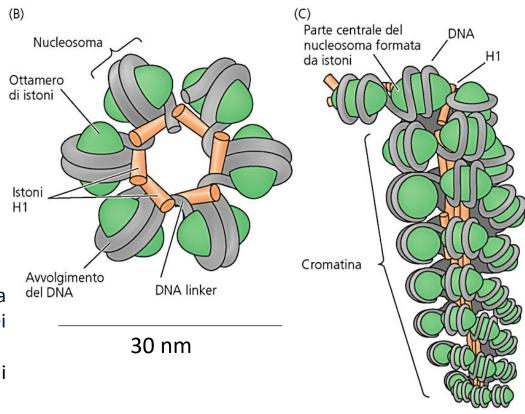


Ogni fibra di cromatina è una catena di nucleosomi uniti fra loro da giunzioni flessibili sime alle perle di una collana

Costituita da 30 a 50 coppie di basi **DNA** linker nucleosoma DNA H2A, H2B, H3, H4 55 Å H2A H4 istone (H1) + H₂A H4 Ha circa 150 coppie di basi 8 molecole di istoni diametro 11 nm con carica positiva

Impacchettamento dei nucleosomi nella fibra di cromatina





la fibra di cromatina è formata da circa sei nucleosomi per giro, 1200 bp per ogni giro del solenoide.

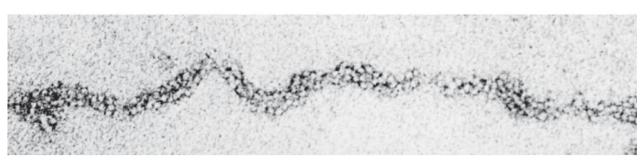
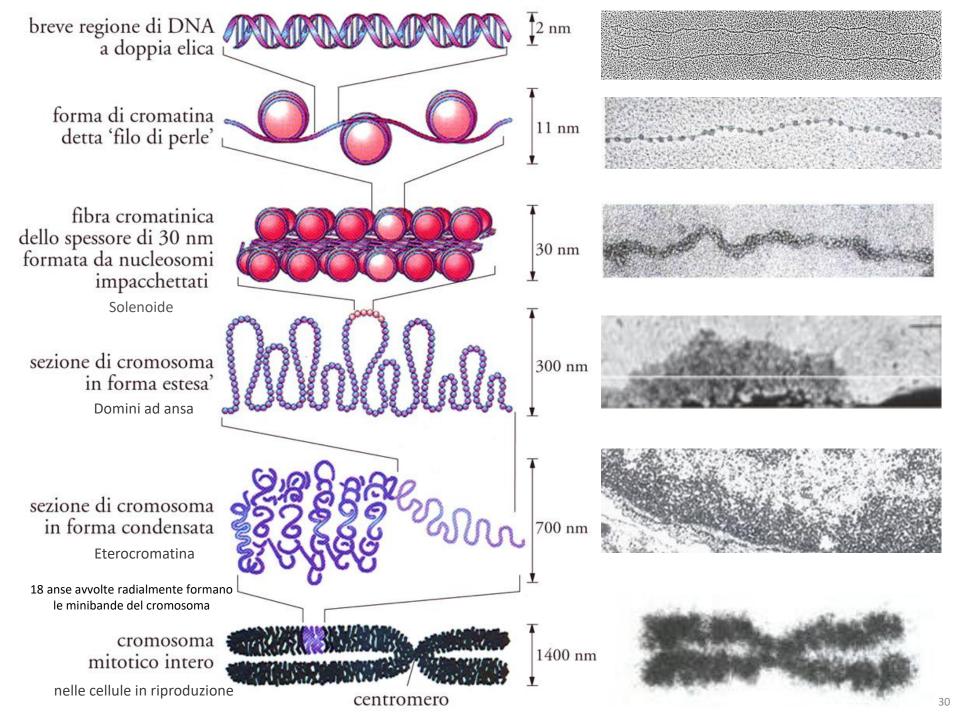
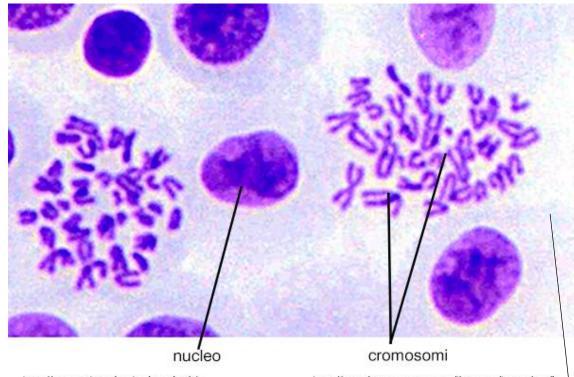


Immagine al M.E. della struttura





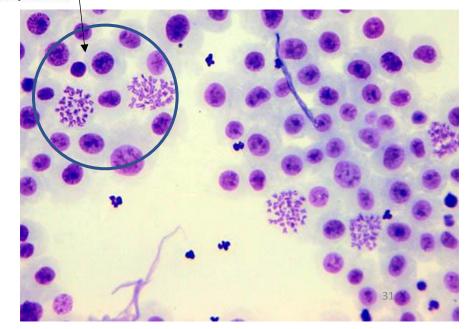
I 46 cromosomi umani sono suddivisi in 23 coppie:

- 22 di cromosomi omologhi (autosomi)
- 1 di cromosomi sessuali (eterosomi)

http://www.atlanteistologia.unito.it/

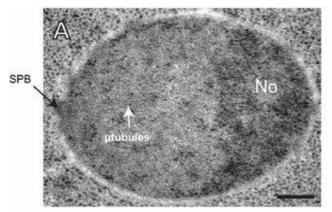
http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/it

XX		KK			NN 4	ξX
٩̈́X	XX	XX	8 _° K	XX	XX	XX
88 13	7 8	8 X X		XX	X X	አ አ 18
XX	X X	X X	X X		8 X	Å

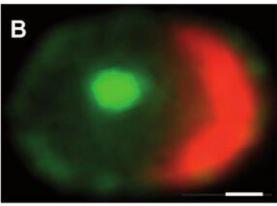


Il nucleo di lievito è sferico e si trova **vicino al vacuolo principale** nelle cellule non proliferanti, presenta poco DNA nucleare.

Rappresentazione schematica dell'organizzazione cromosomica del lievito: Il corpo polare del fuso (SPB) ancora i centromeri (CEN) tramite microtubuli, diametralmente opposti al nucleolo (No). I cromosomi (linee blu) sono concentrati nel nucleoplasma (Np). I telomeri formano cluster (TEL) alla periferia nucleare, vicino al poro nucleare.



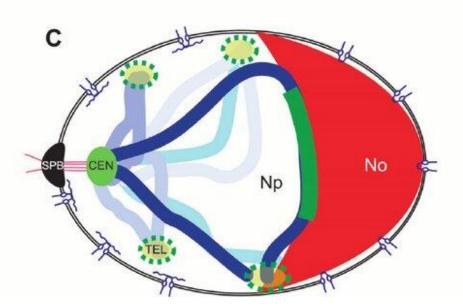


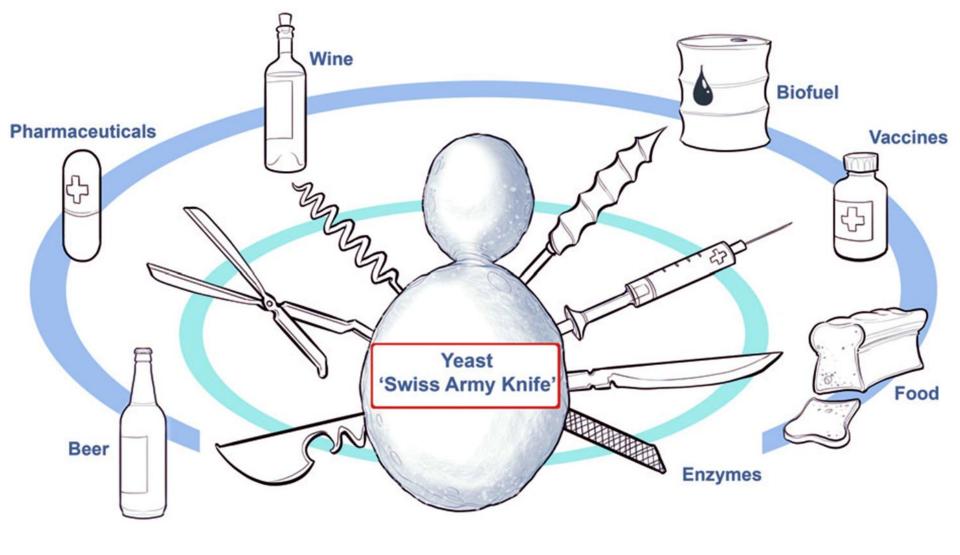


Sezione confocale di un nucleo di lievito

S. cerevisiae ha 16 cromosomi, questa specie ha un elevato polimorfismo cromosomico. Tale caratteristica ha reso l'analisi del cariotipo uno dei criteri principali per l'identificazione dei ceppi di S. cerevisiae.

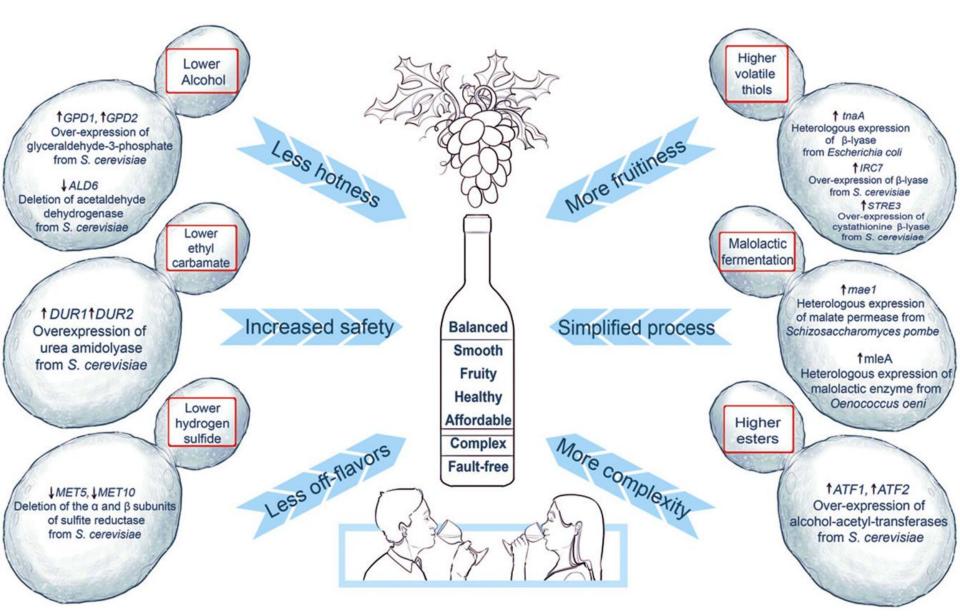
Il genoma di *Vitis vinifera* e oscilla tra 19 e 20 coppie di cromosomi.



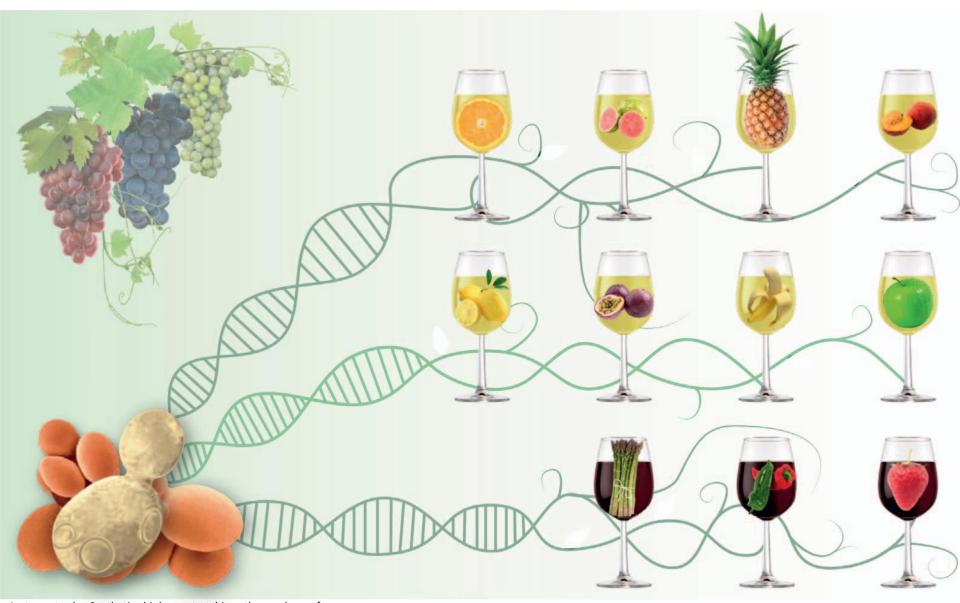


Il Saccharomyces cerevisiae è il cavallo di battaglia dell'industria della fermentazione perché produce un'ampia gamma di alimenti fermentati, bevande, biocarburanti e prodotti farmaceutici.

Il Saccharomyces cerevisiae geneticamente modificato nel vino



Il genoma modificato di un ceppo di lievito può potenzialmente produrre vino con un profilo aromatico personalizzato e per un particolare tipo di mercato.



Jagtap et al., Synthetic biology stretching the realms of possibility in wine yeast research. *International Journal of Food Microbiology* 252 (2017) 24–34

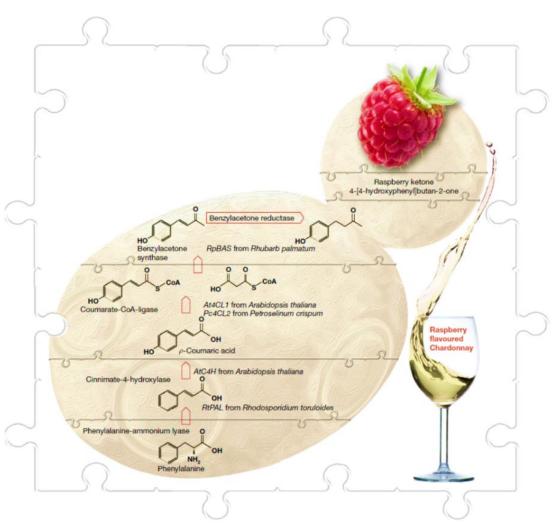
Il primo lievito semisintetico in grado di produrre vino Chardonnay dall'aroma di lampone.

I geni sintetici che codificano per la produzione di un chetone profumato al lampone (4-[4-idrossifenil]-butan-2-one) sono quattro e sono stati incorporati in un ceppo di lievito di vino.

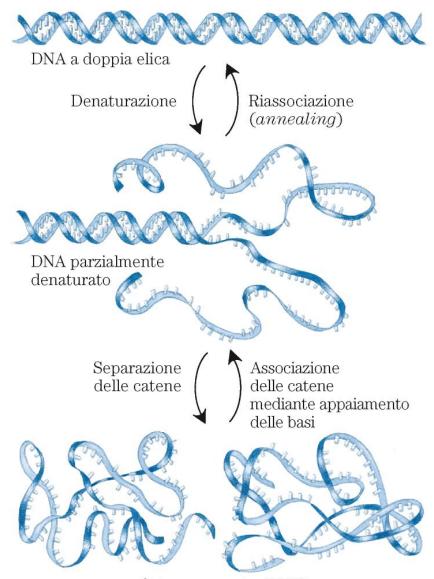
Attualmente in Italia è fatto divieto di coltivare OGM se non a scopo di ricerca scientifica. Esiste però anche un regolamento che sancisce la possibilità di commercializzare OGM, purché etichettati come tali.

Il vino viene spesso associato alla tradizione ed è considerato un "prodotto naturale". Data la tendenza attuale dei consumatori di vino italiani, ovvero di totale rifiuto dei prodotti OGM, i produttori sono frenati dalla possibile reazione negativa da parte dei consumatori.

Isak S Pretorius. Solving yeast jigsaw puzzles over a glas of wine. Synthetic genome engineering pioneers nev possibilities for wine yeast research. EMBO reports Vo 18, N° 11, 2017



Denaturazione reversibile e riassociazione (annealing) del DNA

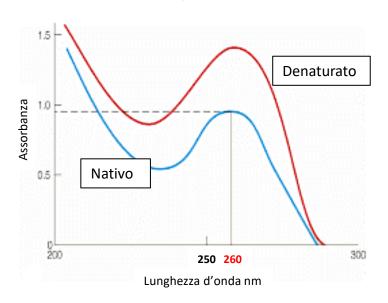


Catene separate di DNA con una struttura ad avvolgimento casuale

- Le soluzioni di DNA nativo sono altamente viscose a pH 7 e a T di 20-25°C.
- Quando la soluzione viene portata a pH estremi o T al di sopra di 80-90°C la viscosità diminuisce bruscamente causando la denaturazione o fusione del DNA a doppia elica.
- Il processo avviene mediante la rottura delle interazioni idrofobiche tra le basi impilate.
- Quando la temperatura o il pH ritornano a quelli normali fisiologici si segmenti srotolati si riavvolgono (annealing) spontaneamente rigenerando il filamento duplex intatto.

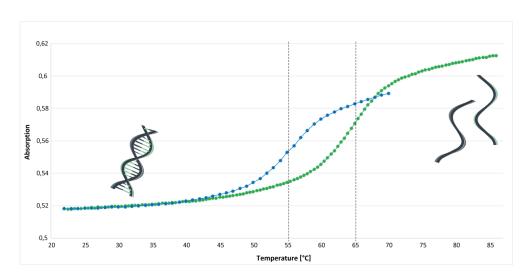
La doppia elica può fondere reversibilmente

L'effetto ipercromico

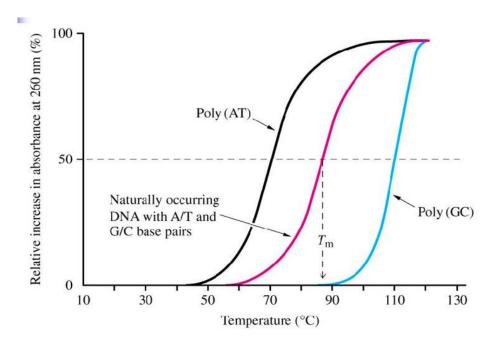


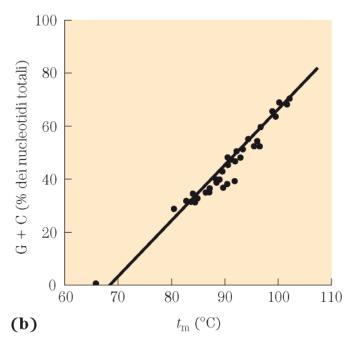
L'assorbimento della luce a 260 nm di una soluzione di DNA aumenta quando la doppia elica fonde in filamenti singoli. Lo svolgimento dell'elica e chiamato fusione perché avviene bruscamente ad una temperatura (T_m) alla quale metà della struttura ad elica viene perduta.

Il fatto che la transizione avvenga bruscamente suggerisce che la doppia elica è una struttura cooperativa



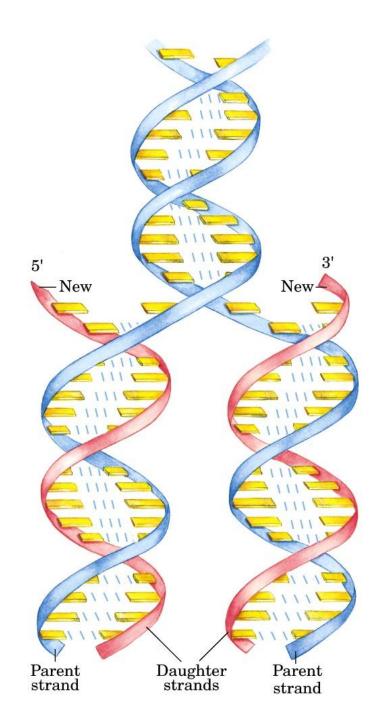
Le curve di fusione del DNA





La T_m del DNA varia linearmente con il contenuto in GC da 77° a 100°C

- La temperatura di fusione (T_m) di una molecola di DNA aumenta in proporzione alla % di GC presente nella molecola.
- Le coppie GC sono più stabili delle coppie AT, poiché formano tre legami idrogeno e non due.
- La transizione avviene bruscamente, essendo la doppia elica una struttura altamente cooperativa.

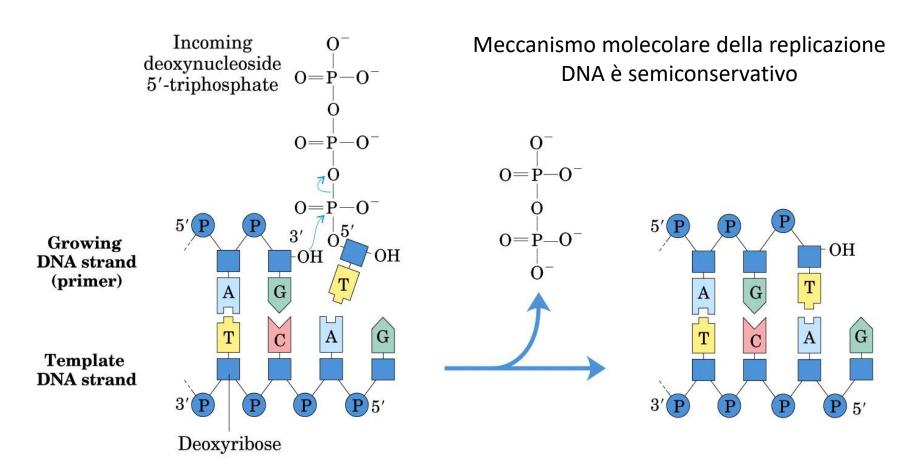


La natura semiconservativa della replicazione del DNA

Ciascun filamento funge da stampo per un nuovo filamento complementare.

Quando la replicazione è completata, ci saranno due molecole figlie di DNA a doppia elica, ciascuna identica nella sua sequenza alla molecola parentale.

LA SINTESI DEL DNA



La reazione di allungamento del DNA è catalizzata dalle DNA polimerasi

LA SINTESI DEL DNA

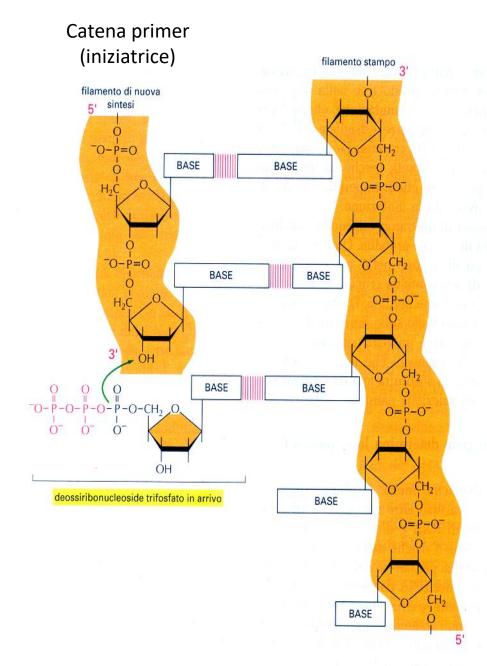
Le DNA polimerasi:

Catalizzano la reazione di sintesi in direzione $5' \rightarrow 3'$

Sono necessari:

- 4 deossiribonucleosidi 5'-trifosfati
- ioni magnesio (Mg²⁺)
- una catena primer (iniziatrice) con un gruppo 3'-OH libero
- uno stampo di DNA

Aggiunge alla catena un singolo deossiribonucleotide per volta.



La reazione catalizzata consiste nell'unione nucleofilica del terminale 3-OH' del primer all'atomo di fosforo più interno di un deossiribonucleoside trifosfato, per formare un ponte fosfodiestere con rilascio di PP_i.

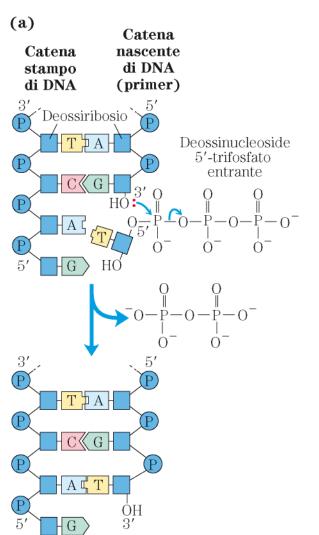
L'allungamento della catena di DNA procede in direzione $5' \rightarrow 3'$.

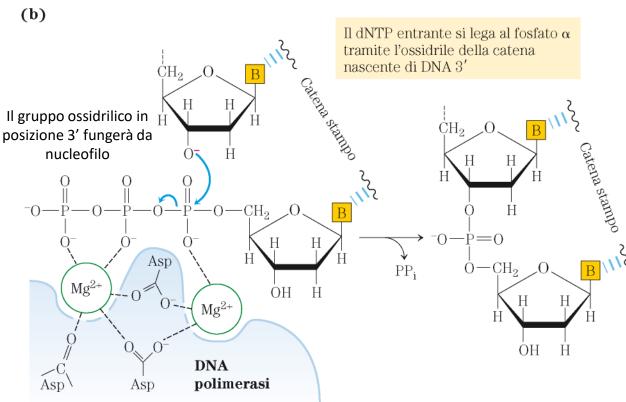
La polimerasi può aggiungere nucleotidi a una catena già preesistente.

Nella duplicazione del DNA, il primer è un breve filamento singolo di RNA. Questo filamento di RNA, complementare al filamento stampo del DNA, è sintetizzato, nucleotide dopo nucleotide, da un enzima chiamato *primasi*. Al termine della duplicazione, il primer viene eliminato e sostituito da DNA.

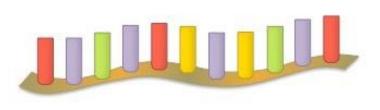
LA SINTESI DEL DNA

 $(DNA)_n + dNTP \leftrightarrows (DNA)_{n+1} + PP_i$

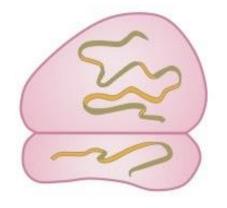




I principali tipi di RNA e la loro struttura

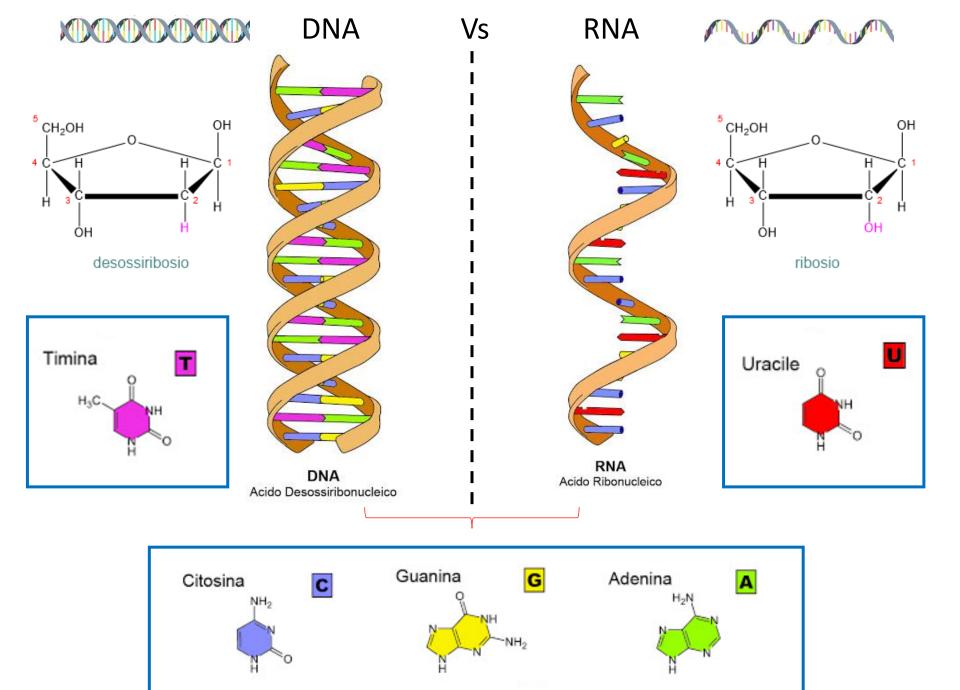


RNA messaggero (mRNA)

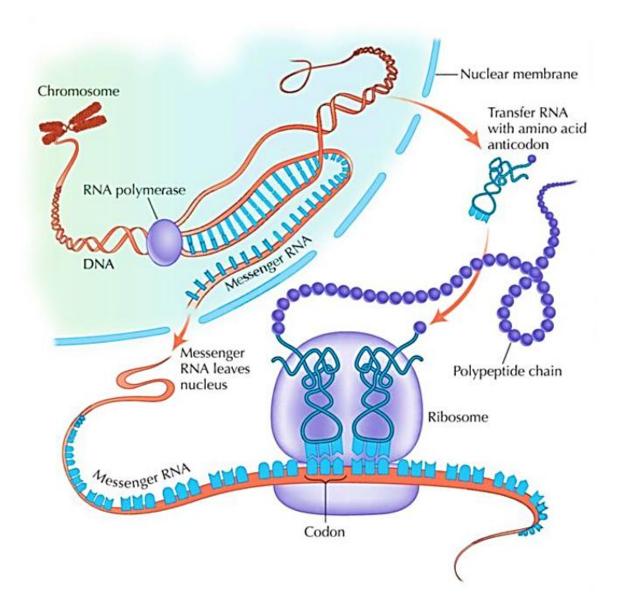


RNA ribosomiale (rRNA)





Trasmissione dell'informazione nelle cellule



Replicazione del DNA:

produce due molecole di DNA identiche a quella originaria, assicurando la trasmissione dell'informazione genetica alle cellule figlie con eccezionale fedeltà.

Trascrizione:

La sequenza di basi presente nel DNA viene registrata sotto forma di sequenza di basi complementari in una molecola di mRNA a singolo filamento.

Traduzione:

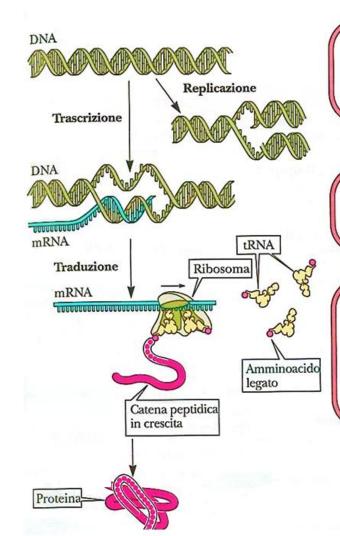
I codoni di tre basi presenti nell'mRNA, corrispondenti specifici amminoacidi, dirigono a di sintesi sequenza una Tali codoni proteina. sono riconosciuti dai tRNA che portano gli amminoacidi appropriati, i ribosomi costituiscono «macchinario» sintesi per la proteica.

RNA messaggero (mRNA): in una cellula costituisce circa il 5-10% dell'RNA

Le sequenze delle basi nei vari mRNA specificano l'ordine degli amminoacidi nelle proteine in una cellula.

La sequenza di basi dell'mRNA che dirige la sintesi proteica riflette la sequenza di basi del DNA del gene che codifica per quella proteina.

Dei quattro tipi di RNA il messaggero è quello che viene degradato più rapidamente.



Replicazione

La replicazione del DNA produce due molecole di DNA identiche a quella originaria, assicurando la trasmissione dell'informazione genetica alle cellule figlie con eccezionale fedeltà.

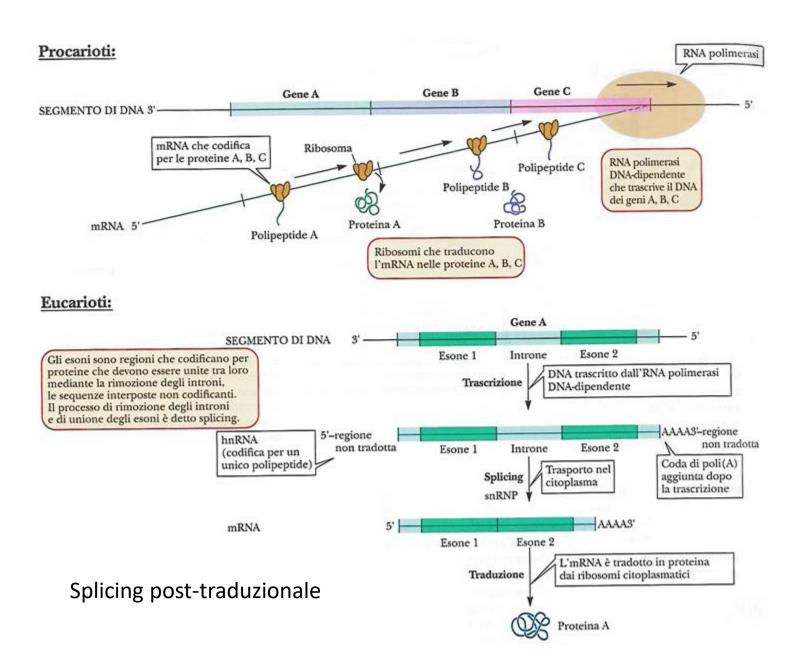
Trascrizione

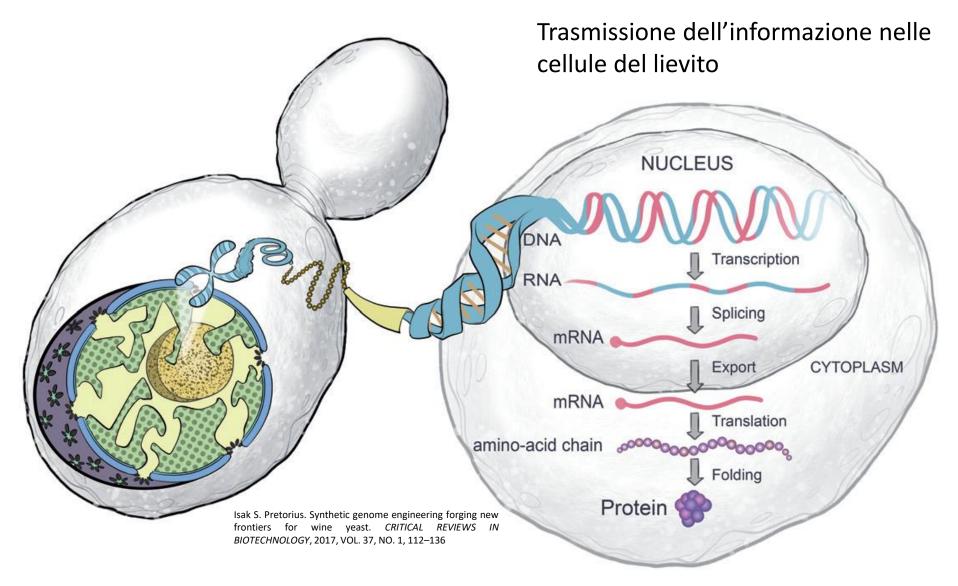
La sequenza di basi presente nel DNA viene registrata sotto forma di sequenza di basi complementari in una molecola di mRNA a singolo filamento.

Traduzione

I codoni di tre basi presenti nell'mRNA, corrispondenti a specifici amminoacidi, dirigono la sequenza di sintesi di una proteina. Tali codoni sono riconosciuti dai tRNA (RNA transfer) che portano gli amminoacidi appropriati.

I ribosomi costituiscono il "macchinario" per la sintesi proteica.





Il processo di biosintesi proteica inizia con la trascrizione del DNA di un gene in mRNA nel nucleo. Una volta processate le molecole di mRNA (con la rimozione degli introni non codificanti), vengono esportati attraverso i pori della membrana nucleare ai ribosomi dove vengono tradotti in proteine.

I vari tipi di RNA partecipano alla sintesi delle proteine

Le sequenze di basi di tutti i tipi di RNA sono determinate da quelle del DNA nel processo chiamo trascrizione

I ruoli dei diversi tipi di RNA

Tipo di RNA	Dimensioni	Funzioni
RNA transfer	Piccola	Trasporta gli amminoacidi al sito della sintesi proteica
RNA ribosomiale	Diversi tipi di dimensioni variabili	Si lega a proteine per formare i ribosomi (siti della sintesi proteica)
RNA messaggero	Variabile	Determina la sequenza amminoacidica delle proteine
Piccolo RNA nucleare	Piccola	Processa l'RNA messaggero iniziale nella sua forma matura negli eucarioti
Piccolo RNA interferente	Piccola	Inibisce l'espressione genica, usato in lab. per silenziare un gene in studio
MicroRNA	Piccola	Condiziona l'espressione genica, importante per la crescita e lo sviluppo
Lungo RNA non codificante	Variabile	Ancora in discussione, ma sembra influenzare lo sviluppo ed essere correlato ad alcuni stati patologici

Ruoli dell'RNA

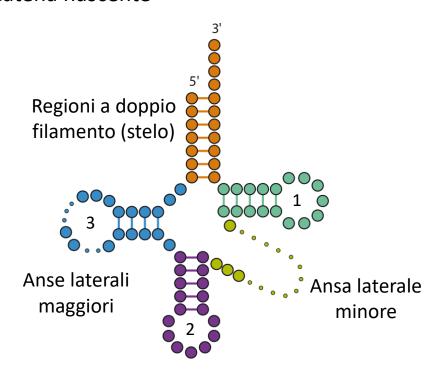
RNA transfer (tRNA):

Ogni tRNA lega specificamente uno degli amminoacidi che si trovano nelle proteine.

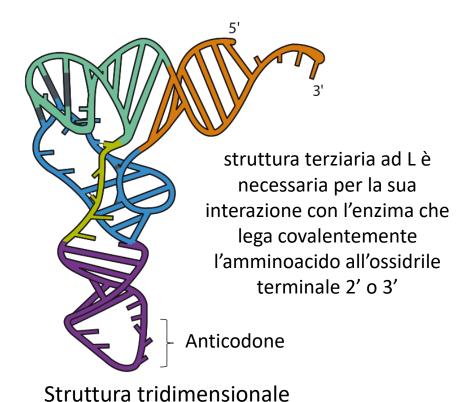
Ci sono più molecole di tRNA per ogni amminoacido.

Sono a singolo filamento, lungo da 73 a 94 residui nucleotidici.

I tRNA si legano al ribosoma che assicurano l'ordine corretto degli amminoacidi nella catena nascente



Rappresentazione a trifoglio



RNA ribosomiale (rRNA):

La porzione di RNA di un ribosoma ne costituisce il 60-65% del peso totale, mentre la porzione proteica copre il rimanente 35-40% Formati da due subunità, una più grande e una più piccola

rRNA in *Escherichia coli* è formato da due subunità con un coefficiente di sedimentazione di 70S:
La subunità 30S è costituita da un rRNA 16S e 21 proteine diverse
La subunità 50S è costituita da due rRNA il 5S e il 23S e 34 proteine diverse

rRNA negli eucarioti è formato da due subunità con un coefficiente di sedimentazione di 80S:
La subunità 40S è costituita da un rRNA 18S e 33 proteine diverse
La subunità 60S è costituita da tre rRNA il 5S, 5,8S e il 28S e 49 proteine diverse

